

## بررسی تغییرات بافتی آبشش ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) در مواجهه کوتاه‌مدت با سطوح مختلف شوری

رضا فرشادیان<sup>۱</sup>، امیرپرویز سلاطی<sup>۱\*</sup>، سعید کیوان‌شکوه<sup>۱</sup>، حسین پاشا زانوسی<sup>۲</sup> و احمد نگین‌تاجی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده منابع طبیعی دریا، گروه شیلات

<sup>۲</sup> ایران، خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده علوم دریایی، گروه فیزیک دریا

<sup>۳</sup> ایران، خرمشهر، دانشگاه علوم و فنون دریایی، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۰



### چکیده

یکصد و هشت قطعه ماهی شانک زرد باله با محدوده وزنی  $100 \pm 20$  گرم، پس از گذراندن ۱۴ روز در محیط با شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، به‌طور ناگهانی به شوری‌های ۵، ۱۲ و ۳۴ قسمت منتقل و به مدت ۷ روز در محیط جدید نگهداری شدند. نمونه‌برداری از آبشش در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ ساعت و ۷ روز، پس از آسان‌کشی ماهی صورت گرفت. آبشش نمونه‌های زمان صفر دارای ساختاری کاملاً طبیعی بوده و تغییری در وضعیت و آرایش اجزای آبشش دیده نمی‌شد. فرارگرفتن ماهی شانک زردباله در شوری‌های تغییر یافته با افزایش اندازه سلول‌های کلراید همراه بوده، اما پس از یک هفته در شوری‌های ۱۲ و ۳۴ قسمت در هزار واحد کاهش اندازه سلول‌های کلراید ثبت شد. تغییرات متعددی شامل هیپرتروفی و هیپرپلازی اپیتلیوم آبشش، برآمدگی و جدا شدن اپیتلیوم آبششی، هیپرتروفی سلول‌های کلراید، تغییر اندازه سلول‌های غنی از میتوکندری، چسبندگی تیغه‌ها و آنوریسم در تمام گروه‌ها ثبت گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که علیرغم توانایی سازگاری شانک زرد باله با شوری‌های مختلفی محیطی، تغییرات متعدد بافتی در آبشش این ماهی برای سازگاری با این مقادیر شوری دیده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، تنظیم اسمزی، آبشش، *Acanthopagrus latus*

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۶۷۵۷۶۵۰۳، پست الکترونیکی: salatia@gmail.com

### مقدمه

الکترولیت‌ها و مطالعه بافت‌ها (آبشش، کلیه و روده) در ماهیان، مورد بررسی قرار می‌گیرد (۸ و ۱۸). با توجه به اهمیت تنظیم اسمزی در ماهیان، مطالعات مختلفی در زمینه میزان تحمل، نوع پاسخ‌های فیزیولوژیک و بافت‌شناختی و نیز تأثیر عوامل مختلف بر نوع و شدت پاسخ ماهی به شرایط شوری محیط انجام شده است (۱۵، ۲۴ و ۳۴). تنظیم تعادل اسمزی، عمدتاً توسط آب‌شش‌ها و کلیه‌ها انجام می‌شود (۴ و ۱۱). آبشش اندامی خارجی و در تماس مستقیم با آب می‌باشد و با توجه به نقش مهمی که در

موجودات آبی باید فشار اسمزی سلول‌های بدن خود را از طریق تنظیم تبادل آب و یون‌ها از غشای سلولی، با صرف انرژی، کنترل نموده و ثابت نگاه‌دارند (۵). تنظیم اسمزی، مکانیسم حفظ فشار اسمزی مایعات بدن است که مسئول کنترل اسمولالیت (یا فشار اسمزی مایعات بدن) می‌باشد. یوری‌هالین (Euryhaline)، ظرفیت تنظیم اسمزی تحت شرایط اسمزی مختلف (هیپواسموتیک تا هیپراسموتیک) را دارند. این ظرفیت فیزیولوژیک عموماً با استفاده از سنجش فعالیت آنزیمی، کمیت هورمون‌ها،

هورمونی (۳) در ماهی شانک زرد باله طی روند تطابق تدریجی با تغییرات شوری محیط مطالعه گردیده بود اما اثر تغییرات ناگهانی شوری محیط بر بافت آبشش این ماهی مورد بررسی قرار نگرفته بود. با توجه به اهمیت تجاری و اقتصادی شانک زردباله و یوری‌هالینیتی در این ماهی و اهمیت پرورش موفق آن، درک مکانیسم‌های تنظیم اسمزی آن بسیار مهم و ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این، توصیف این مکانیسم‌ها می‌تواند به سایر ماهیان استخوانی تعمیم داده‌شده و مورداستفاده قرارگیرد. لذا در این مطالعه، سازش‌های بافتی در آبشش ماهی شانک زردباله و همچنین تغییرات به وجود آمده در اندازه سلول‌های کلراید (Chloride cells) در شوری‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روشها

ماهیان شانک زردباله مورداستفاده در این مطالعه با وزن تقریبی  $110 \pm 20$  گرم از تالاب مصنوعی نیشکر (خرمشهر، ایران)، با میانگین شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد، صید شدند. به محض ورود ماهیان از محیط وحشی به محیط آزمایشگاهی، به مدت ۵ دقیقه در آب شیرین و سپس با اکسی‌تتراسایکلین ( $0/4$  میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۱۲ ساعت در آب با شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد (شوری تالاب در زمان صید) ضدعفونی شدند. ماهیان به مدت چهارده روز قبل از شروع آزمایش جهت سازگاری با شرایط جدید در تانک‌های فایبرگلاس استوانه‌ای ۳۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۲۷۰ لیتر) در آب با شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد نگهداری شدند. در این طول مدت، ماهیان به روش دستی و با غذای تجاری سی‌باس (۲۱ بیضا) به مقدار ۳٪ وزن بدن در ۳ نوبت در شبانه‌روز، غذادهی شدند و دوره روشنایی طبیعی (۱۱ ساعت روشنایی - ۱۳ ساعت تاریکی) اعمال گردید. هوادهی مناسب با پمپ و سنگ‌ها انجام شد. تراکم ذخیره‌سازی ۸ کیلوگرم بر مترمکعب (۱۵ قطعه در هر تانک) استفاده شد

مکانیسم‌های تنظیم یونی بر عهده دارد، در مواجهه با تغییرات شوری به سرعت دچار تغییرات می‌گردد. این بافت، سازش با تغییرات شوری را با تغییر در تعداد و ابعاد سلول‌های غنی از میتوکندری (یا سلول‌های کلراید)، به‌عنوان عامل اصلی تنظیم اسمزی و تبادلات یونی در ماهیان استخوانی در برابر تغییر شوری محیط، امکان‌پذیر می‌نماید (۲۳، ۲۵ و ۲۸).

ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) از خانواده شانک‌ماهیان می‌باشد. شانک‌ماهیان خانواده‌ای دریایی (به‌ندرت ساکن لب‌شور و شیرین) است که در آب‌های گرم، کم‌عمق و ساحلی (۳۸) اقیانوس اطلس، هند و آرام یافت شده و شامل ۳۳ جنس و ۱۱۵ گونه می‌باشد (۱۶ و ۲۹). شانک زردباله ساکن سواحل کم‌عمق و آب‌های گرم می‌باشد و به مصب‌ها و رودخانه‌ها نیز وارد می‌شود (۱۹). شانک زردباله پراکنش وسیعی در محدوده عرض‌های جغرافیایی ۳۴ درجه شمالی و ۲۷ درجه جنوبی و طول‌های جغرافیایی ۴۸-۱۵۴ درجه شرقی (خلیج فارس، اقیانوس هند و غرب اقیانوس آرام و امتداد سواحل شرقی هند تا فیلیپین و ژاپن و استرالیا و سواحل شرقی آفریقا) دارد (۱۴ و ۱۶) و از لحاظ آبی‌پروری جزء گونه‌های مهم تجاری محسوب می‌شود (۳۸)، همچنین اخیراً در ایران تمایل به تکثیر و پرورش گونه‌های جدید با قابلیت پرورش و بازارپسندی بالا افزایش یافته و با توجه به ارزش بالای ماهی شانک زردباله و دستیابی به فناوری تکثیر و پرورش این‌گونه در کشور، بررسی توان سازش این ماهی با تغییرات شوری و تحمل‌پذیری آن در جهت امکان انتقال آن به آب‌های با شوری‌های متفاوت از جمله آب‌های داخلی موردنیاز می‌باشد. کسب اطلاعات پایه و توصیف ویژگی‌های زیست‌شناختی در شرایط طبیعی و تغییرات و سازش‌های فیزیولوژیک و بافتی در مورد گونه شانک زردباله می‌تواند راهکارهای مفید و ارزشمندی در راستای مدیریت منابع، و پرورش موفق این‌گونه سودمند، ارائه دهد. پیش‌از این تغییرات فراساختار آبشش (۲) و پاسخ‌های

میکروسکوپی حاصل از یک لام متعلق به یک آبشش و از هر نمونه ۳ تکرار تهیه گردیده و بدین‌سان در ۱۸ میدان میکروسکوپی برای هر ماهی، مورد بررسی قرار گرفت. برای مشاهده و بررسی مقاطع و ساختار بافتی از میکروسکوپ نوری BEL-BIO2T (Bell, Italy) استفاده شد. برای تعیین اندازه سلول‌های کلراید از نرم‌افزار Dino Capture نسخه ۲ استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل اندازه سلول‌های کلراید با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده است. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk بررسی گردید. داده‌های به دست آمده با کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. معنی‌دار بودن اختلافات آماری در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید. جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار 2007 Microsoft Excel استفاده شد.

### نتایج

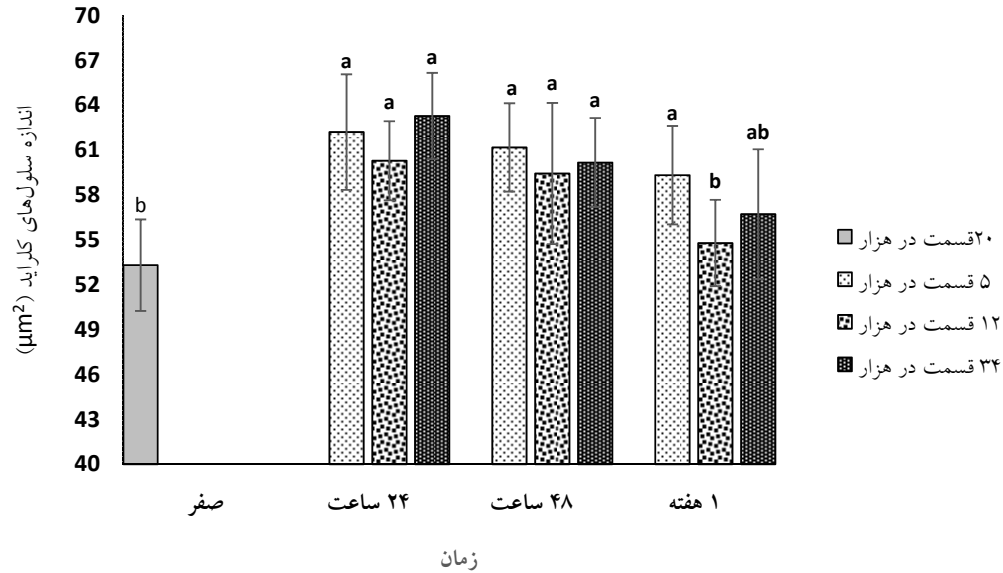
سلول‌های کلراید در آبشش ماهی شانک زردباله در فضای بین تیغه‌ها (Lamellae) و پایه تیغه‌ها وجود دارند و حضور آن در روی تیغه به ندرت مشاهده گردید (شکل ۱). در شانک زردباله، سازگاری با شوری‌های مختلف، با تغییراتی در اندازه سلول‌های کلراید همراه بود. الگوی این تغییرات در تیمارهای مختلف بدین صورت می‌باشد که در تمامی شوری‌ها ابتدا اندازه سلول‌ها با افزایش زمان تا ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) و مجدداً در نمونه برداری زمان ۴۸ ساعت روند کاهشی این فاکتور مشاهده شد. پس از یک هفته در شوری‌های ۱۲ و ۳۴ قسمت در هزار واحد کاهش معنی‌دار اندازه سلول‌های کلراید ثبت شد (نمودار ۱).

در مطالعات میکروسکوپی، آبشش نمونه‌های زمان صفر دارای ساختاری کاملاً طبیعی بوده و تغییری در وضعیت و

(۳۲). آب دریای تصفیه شده مورد نیاز برای پروژه، از مرکز تحقیقات آبی‌پروری جنوب کشور (بندر امام خمینی، خوزستان، ایران) تأمین گردید (شوری این آب تقریباً ۴۳ قسمت در هزار واحد است که برای کاهش شوری به ۲۰ قسمت در هزار واحد، با آب شهری کلرزدایی شده، مخلوط می‌شد). پس از سازگاری، ۱۰۸ قطعه ماهی شانک زردباله به صورت تصادفی، در ۹ تانک توزیع شدند. با توجه به این‌که این‌گونه در مناطق ساحلی زیست می‌کند، سه تیمار با شوری متوسط آب دریا، حد بالایی و پایینی آب‌های لب‌شور به ترتیب شامل شوری ۳۴، ۱۲ و ۵ قسمت در هزار واحد و برای هر تیمار ۳ تکرار مورد مطالعه قرار گرفت. مدت زمان انجام آزمایش ۷ روز بود. شرایط نوری، هوادهی و تغذیه برای همه تیمار و تکرارها، یکسان و طبق دوران سازگاری ادامه یافت. تعویض آب، هر ۷۲ ساعت یکبار به میزان ۸۰٪ انجام می‌گرفت. در طول دوره پرورش تلاش بر این بود که حداقل شرایط استرس‌زا برای ماهیان اعمال شود. نمونه برداری در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و ۱ هفته صورت گرفت. ماهیان پس از صید در محلول فنوکسی اتانول ۲٪ بیهوش شدند. نمونه‌ها شامل ۷ رشته آبششی از کمان دوم آبشش سمت چپ جدا شده و جهت تثبیت در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. به منظور انجام مطالعات بافت‌شناسی نمونه‌های آبشش تثبیت شده در فیکساتیو بافر فرمالین پس از ۲۴ ساعت به الکل ۷۰ درصد منتقل شده سپس آب‌گیری با سری‌های افزایشی اتانول (۸۰، ۹۰ و ۱۰۰٪) انجام و در ادامه در زایلن وارد نموده و سرانجام پارافینه شدند. تمامی این مراحل توسط دستگاه پاساژ بافت (Tissue processor, Triangle biomedical sciences USA) صورت گرفت. سپس، بافت‌ها با پارافین قالب‌گیری شدند (۱۳). برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از بافت‌ها تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. از اسلایدهای تهیه شده، فوتومیکروگراف تهیه گردید و مورد مطالعه قرار گرفت. مقاطع بافتی در ۶ میدان

آرایش اجزای آبشش مشاهده نگردید (شکل ۲). ساختار آبشش ماهیان قرارگرفته در معرض شوری‌های بالاتر و پایین‌تر از شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد (دوره سازگاری)، تغییرات و ضایعات متعددی را نشان داد. این تغییرات شامل هیپرتروفی (Hypertrophy) و هیپرپلازی (Hyperplasia) اپیتلیوم آبشش، برآمدگی و جدا شدن اپیتلیوم آبششی، هیپرتروفی سلول‌های کلراید، تغییر اندازه سلول‌های کلراید، چسبندگی تیغه‌ها و آنوریسیم بودند (شکل‌های ۴، ۵ و ۶).

آرایش اجزای آبشش مشاهده نگردید (شکل ۲). ساختار آبشش ماهیان قرارگرفته در معرض شوری‌های بالاتر و پایین‌تر از شوری ۲۰ قسمت در هزار واحد (دوره سازگاری)، تغییرات و ضایعات متعددی را نشان داد. این تغییرات شامل هیپرتروفی (Hypertrophy) و هیپرپلازی (Hyperplasia) اپیتلیوم آبشش، برآمدگی و جدا شدن اپیتلیوم آبششی، هیپرتروفی سلول‌های کلراید، تغییر اندازه سلول‌های کلراید، چسبندگی تیغه‌ها و آنوریسیم بودند (شکل‌های ۴، ۵ و ۶).



نمودار ۱- اندازه سلول‌های کلراید (μm<sup>2</sup>) ماهیان شانک زردباله در شوری‌های مختلف و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری. حروف مختلف نشانگر تفاوت معنی‌دار بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در هر تیمار می‌باشد.



شکل ۱- مقطع میکروسکوپی بخشی از فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله و جایگاه سلول‌های کلراید (H&E, 2980X) (مربع مقیاس با اضلاع ۱۰ میکرومتر).



شکل ۲- مقطع میکروسکوپی بخشی از فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله زمان صفر (H&E, 745X) (مربع مقیاس با اضلاع ۵۰ میکرومتر).

سلول‌های کلراید را تغییر نداده است، اما با تغییراتی در اندازه سلول‌های کلراید همراه بود. در *Oreochromis mossambicus niloticus* و *Carassius auratus gibelio saxatilis* تفاوت در تراکم سلول‌های کلراید پس از چالش شوری گزارش نشده است (۱۰، ۲۶ و ۳۹). در مطالعه‌ای مشابه پژوهش حاضر بر روی شانک زردباله گزارش شده که انواع سلول‌های کلراید در سطوح مختلف شوری به سازگاری و تنظیم اسمزی کمک می‌کنند (۲). برخی مطالعات نیز تفاوت در تعداد و اندازه سلول‌های غنی از میتوکندری را نشان می‌دهند (۶). ماهیان یوری‌هالین طیف وسیعی از تغییرات اسمزی را تحمل می‌کنند که این پدیده با تغییرات مورفولوژیک در سلول‌های کلراید همراه است (۳۷). سلول‌های کلراید مکان اصلی جذب و ترشح یون بوده که نقش مهمی در سازگاری ماهیان با تغییر شرایط فیزیوشیمیایی آب‌شور و شیرین دارند (۲۰ و ۳۱). با تصور این مطلب که سلول‌های بزرگتر می‌توانند تعداد بیشتری پمپ در خود جای‌داده باشد و بنابراین افزایش اندازه را به افزایش فعالیت آنزیمی در ارتباط است، لذا این پاسخ (افزایش اندازه سلول‌های کلراید) با نیاز به ظرفیت انتقال بیشتر یون، مرتبط بوده و

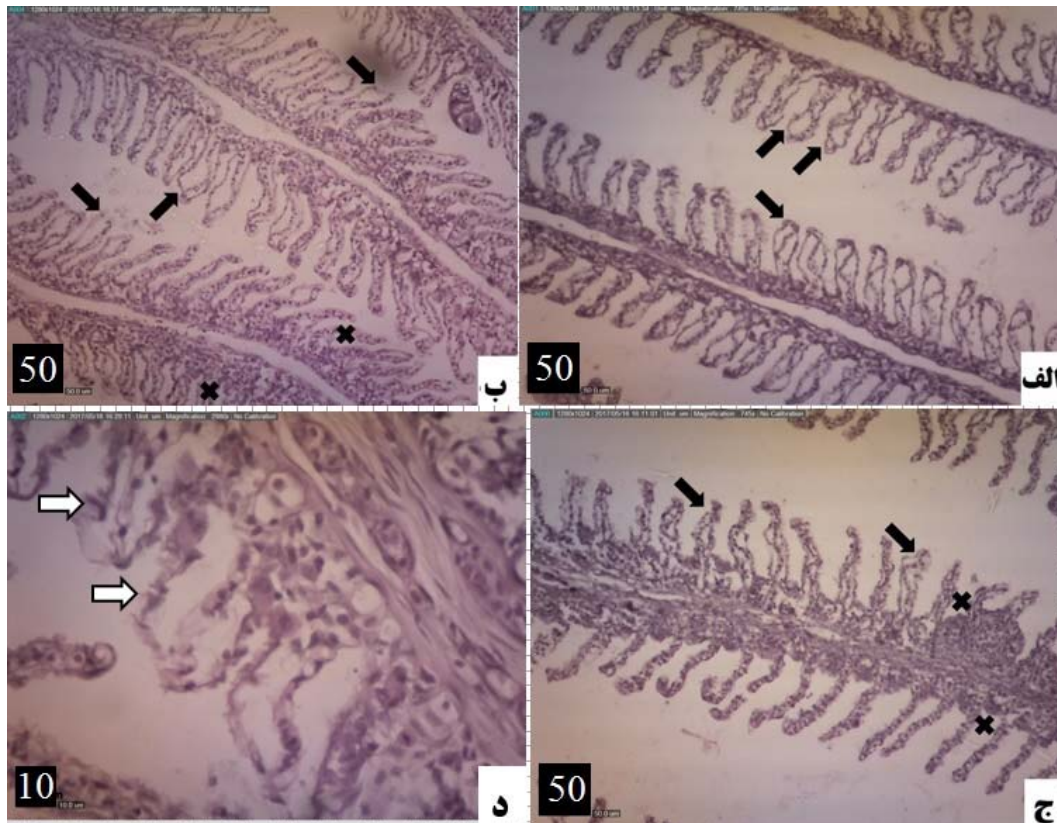
در ماهیان تیمار شده با شوری ۵ قسمت در هزار واحد، پس از ۲۴ ساعت تغییرات بافت آبشش شامل جدا شدن اپیتلیوم آبشش، هیپرپلازی و افزایش سلول‌های اپیتلیومی دیده شد (شکل ۳-الف). در ماهیان تیمار شده با شوری ۱۲ قسمت در هزار واحد پس از ۲۴ ساعت تغییرات بافت آبشش مانند جدا شدن اپیتلیوم، هیپرپلازی و افزایش حجم سلول‌های اپیتلیومی (شکل ۳-ب) و در ماهیان تیمار شده با شوری ۳۴ قسمت در هزار واحد پس از ۲۴ ساعت تغییرات بافت آبشش مانند هیپرپلازی و افزایش حجم سلول‌های اپیتلیومی، تجمع گلبول‌های قرمز و به‌ندرت جدا شدن اپیتلیوم (شکل ۳-ج و ۳-د) قابل‌رویت بود.

### بحث

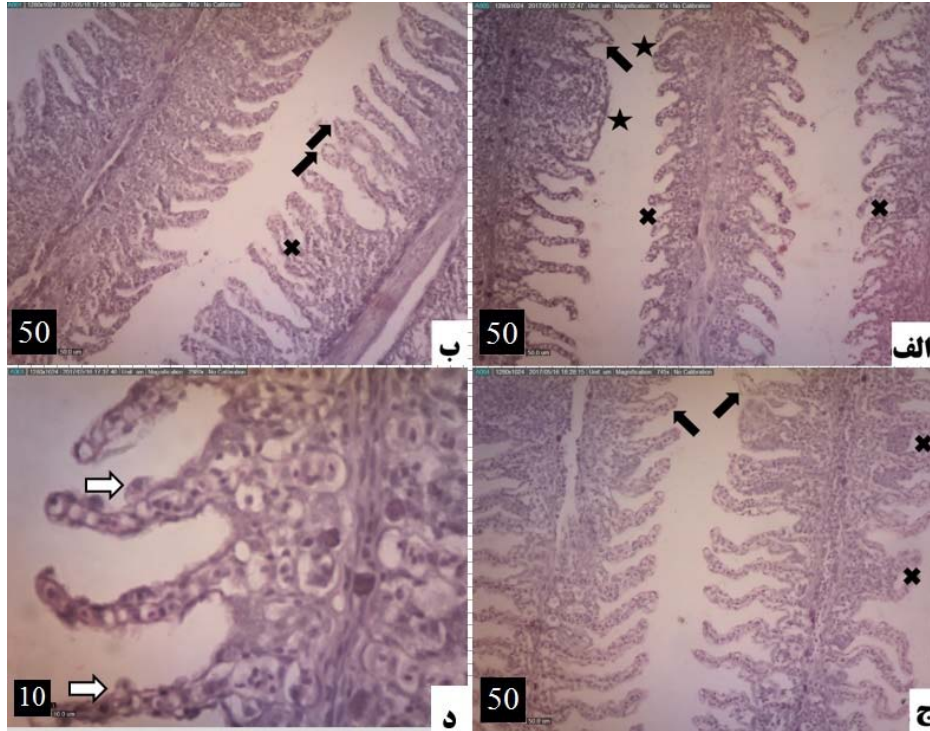
در مطالعات مختلف الگوهای متفاوتی در مورد سازش‌های سلولی و بافتی آبشش طی سازش با سطوح مختلف شوری ارائه شده است. برخلاف گزارش‌های اعلام‌شده درباره گونه‌های دیگر از قبیل *Oncorhynchus keta* (۳۶)، *Lateolabrax japonicas* (۱۷)، *Dicentrarchus labrax* (۳۷) و *Chanos chanos* (۲۵)، در شانک زردباله، سازگاری با شوری‌های مختلف، محل قرارگیری

رخ داده است (۱۲). نتایج این مطالعه با یافته‌های پورخواجه و همکاران (۱۳۹۰)، در بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) مشابهت داشت (۱). در شانک زرد باله تطابق یافته با آب شیرین و آب شور نیز وضعیت مشابهی با این مطالعه گزارش شده است. (۲۸). همچنین افزایش اندازه سلول‌های کلراید آبششی *Pagrus auratus* طی سازش با شوری ۴۵ قسمت در هزار واحد گزارش شده است (۱۲). تغییرات در تعداد و ساختار سلول‌های کلراید در پاسخ به تغییر شوری‌های محیطی در مطالعات متعددی گزارش شده است (۲۱، ۳۲ و ۳۷).

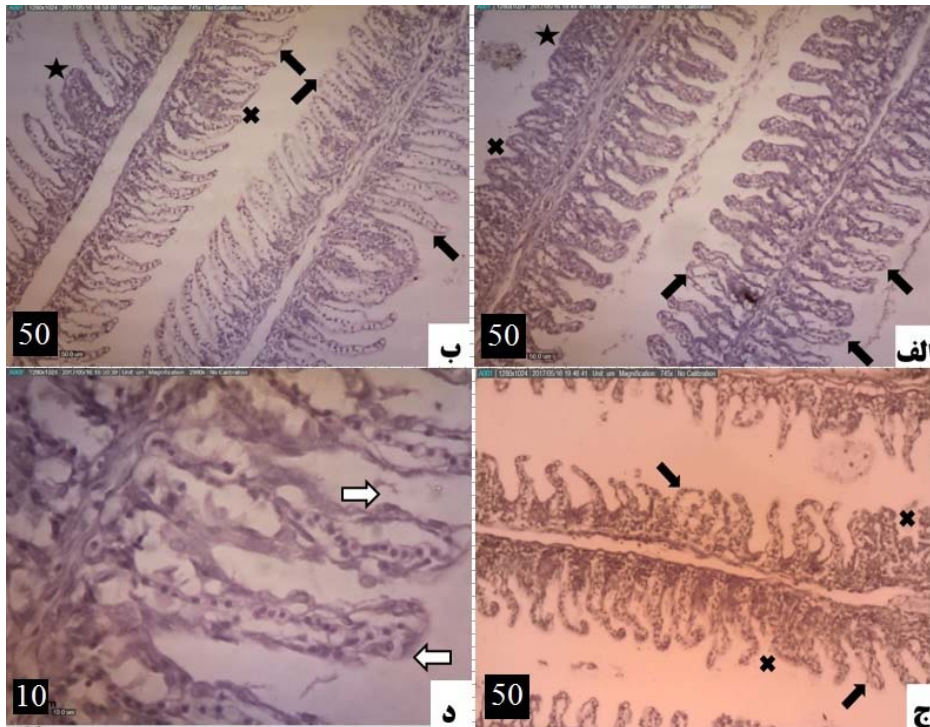
احتمالاً نشانه افزایش در ظرفیت انتقال یون می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز روند تغییرات اندازه سلول‌های کلراید با افزایش زمان تا ۲۴ ساعت و در تمامی شوری‌ها شامل افزایش در اندازه این سلول‌ها بود و سپس در روز هفتم اندازه این سلول‌ها در تیمارهای ۱۲ و ۳۴ قسمت در هزار واحد کاهش پیدا کرد که مؤید نقش آبشش در پاسخ اولیه به تغییرات فشار اسمزی محیط می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش اندازه سلول‌های غنی از میتوکندری (Mitochondria rich cells: MRCs) در اثر کاهش نقش آبشش و دخیل شدن کلیه در تنظیم درازمدت فشار اسمزی



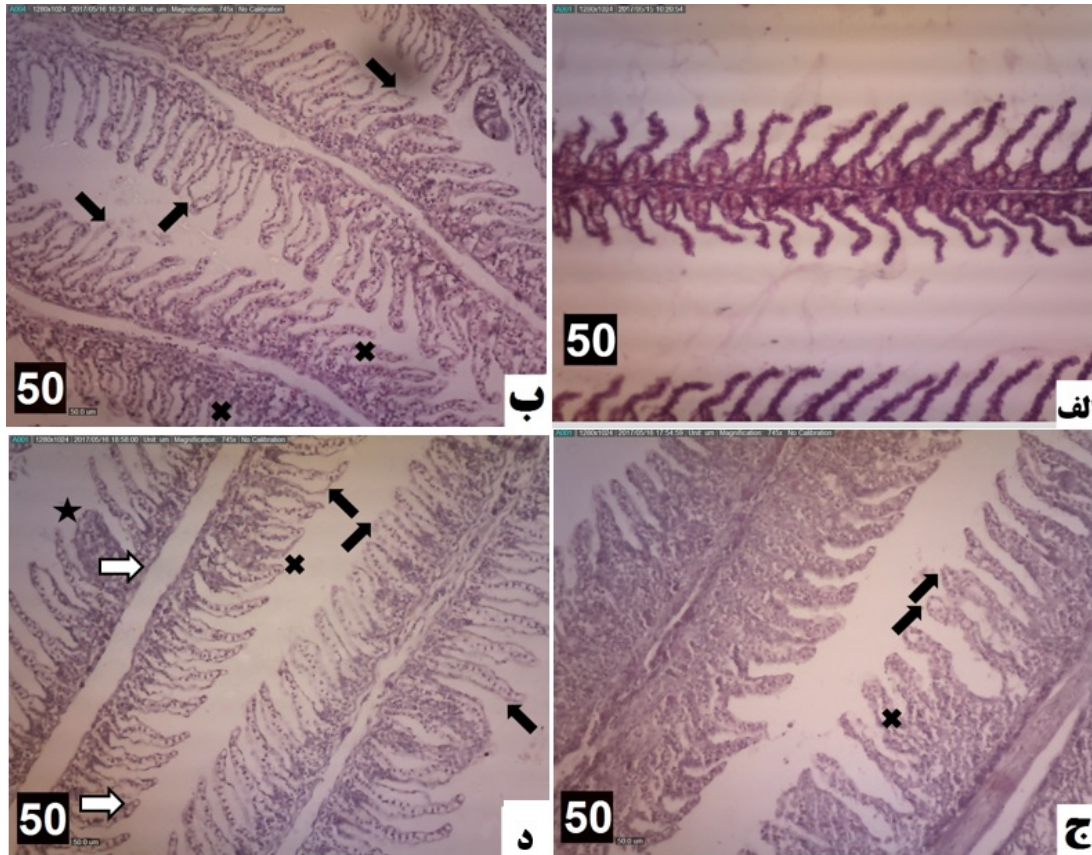
شکل ۳- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی شانک زردباله بعد از ۲۴ ساعت (الف): تیمار ۵ قسمت در هزار واحد، ب: تیمار ۱۲ قسمت در هزار واحد. ج: تیمار ۳۴ قسمت در هزار واحد. ضایعات متعددی از جمله هایپرپلازی در قاعده تیغه (علامت ضربدر)، جداسدن و برآمدگی اپیتلیوم (پیکان مشکی) و تورم سلول‌های سنگفرشی (پیکان سفید) قابل مشاهده است. د: نمونه‌ای از تورم سلول‌های سنگفرشی که در تمام تیمارها قابل مشاهده است. (طول اضلاع مربع مقیاس برحسب میکرومتر درون تصویر نمایش داده شده است).



شکل ۴- مقطع میکروسکوپی بخشی از فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله بعد از ۴۸ ساعت (الف: تیمار ۵ قسمت در هزار واحد، ب: تیمار ۱۲ قسمت در هزار واحد، ج: تیمار ۳۴ قسمت در هزار واحد). ضایعات متعددی از جمله هایپرپلازی در قاعده تیغه (علامت ضربدر)، چسبندگی کامل تیغه (علامت ستاره)، جداشدن و برآمدگی اپیتلیوم (پیکان مشکی) و تورم سلول‌های سنگفرشی (پیکان سفید) قابل مشاهده است. د: نمونه‌ای از تورم سلول‌های سنگفرشی که در تمام تیمارها قابل مشاهده است. (H&E, 745 X- 2980 X) (طول اضلاع مربع مقیاس برحسب میکرومتر درون تصویر نمایش داده شده است).



شکل ۵- مقطع میکروسکوپی بخشی از فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله بعد از ۷ روز (الف): تیمار ۵ قسمت در هزار واحد، ب: تیمار ۱۲ قسمت در هزار واحد. ج: تیمار ۳۴ قسمت در هزار واحد). ضایعات متعددی از جمله هایپرپلازی در قاعده تیغه (علامت ضربدر)، چسبندگی کامل تیغه (علامت ستاره)، جداسدن و برآمدگی اپیتلیوم (پیکان مشکی) و تورم سلول‌های سنگفرشی (پیکان سفید) قابل مشاهده است. د: نمونه‌ای از تورم سلول‌های سنگفرشی که در تمام تیمارها قابل مشاهده است. (H&E, 745 X- 2980 X) (طول اضلاع مربع مقیاس برحسب میکرومتر درون تصویر نمایش داده شده است).



شکل ۶- مقطع میکروسکوپی بخشی از فیلامنت آبشش ماهی شانک زردباله و سیر تغییرات بافت پس از انتقال به محیط جدید با شوری ۱۲ قسمت در هزار واحد. (الف: قبل از رویارویی با تغییر شوری؛ ب: پس از گذشت ۲۴ ساعت؛ ج: پس از گذشت ۴۸ ساعت؛ د: پس از گذشت ۷ روز). ضایعات متعددی از جمله هایپرپلازی در قاعده تیغه (علامت ضربدر)، چسبندگی کامل تیغه (علامت ستاره)، جداسدن و برآمدگی اپیتلیوم (پیکان مشکی) و تورم سلول‌های سنگفرشی (پیکان سفید) قابل مشاهده است. (H&E, 745X) (مربع مقیاس با اضلاع ۵۰ میکرومتر)

می‌تواند منجر به اثرات زیان‌بار بر تنظیم یونی و تبادلات گازی در این بافت گردد. در مطالعات میکروسکوپی آبشش، نمونه‌های زمان صفر دارای ساختاری کاملاً طبیعی بوده و تغییری در وضعیت و آرایش اجزای آبشش مشاهده نگردید.

ساختار آبشش ماهیان شانک زردباله قرار گرفته در معرض شوری‌های بالاتر و پایین‌تر از ۲۰ قسمت در هزار واحد، تغییرات و ضایعات متعددی دیگری را نشان داد. این

تغییرات بافتی ایجادشده به‌منظور سازگاری با تغییر شوری محیطی جدید رخ داده است و منجر به مرگ ماهی نگردید. با این حال می‌تواند در درازمدت اثر منفی بر شاخص‌های رشد و تکامل موجود ایجاد نماید. آبشش به دلیل انتقال گازهای تنفسی، تنظیم اسمزی و تعادل یونی یکی از اندام‌های حیاتی در آبزیان می‌باشد. این اندام به دلیل ارتباط با محیط خارجی به تغییرات کیفیت آب حساس است و واکنش نشان می‌دهد (۹). بنابراین ایجاد ضایعه در آبشش



مطالعه حاضر نیز در ماهیان با تیمارهای مختلف شوری، همه آسیب‌های بافتی ذکر شده مشاهده گردید.

مشخص گردید ماهی شانک زردباله توانایی سازگاری موفق و بدون مرگ و میر را با دامنه وسیع شوری دارد به طوری که در این مطالعه پس از مواجهه ناگهانی با محیط هایپو و هایپر اسموتیک قادر بود با این محیط‌ها تطابق یابد. نتایج این پژوهش نشان داد که تغییرات شوری می‌تواند مسبب تغییرات و آسیب‌هایی در بافت آبشش ماهی شانک زردباله گردد. پس از گذشت هفت روز، شاهد کاهش این آسیب‌ها بودیم که بیانگر قدرت تنظیم اسمزی مناسب این ماهی و سازگاری با شوری‌های ۱۲ و ۳۴ قسمت در هزار واحد می‌باشد که البته این تطابق در محیط ۱۲ قسمت در هزار واحد به‌عنوان شوری شناخته شده تحت عنوان شوری ایزوتونیک (۳۳)، بهتر صورت پذیرفته است. با این حال، ماهیان تیمار شده با شوری ۵ قسمت در هزار واحد سازگاری کمتری در مدت زمان این آزمون نشان دادند.

باتوجه به یافته‌های این مطالعه مبنی بر کاهش اندازه سلول‌های کلراید و سازش ماهی با شوری‌های ایجادشده پس از یک هفته، پیشنهاد می‌شود جهت درک بهتر اثرات شوری بر فیزیولوژی این گونه، شاخص‌های رشد ماهی طی یک دوره طولانی مدت چالش شوری مورد بررسی قرار گیرد.

تغییرات شامل هیپرتروفی و هیپرپلازی اپیتلیوم آبشش، برآمدگی و جداشدن اپیتلیوم آبششی، چسبندگی تیغه‌ها و آنورسیم بودند. استرس شوری موجب ایجاد هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیومی و به دنبال آن چسبیدن تیغه‌ها گردید. باتوجه به نقش سلول‌های کلراید در تنظیم اسمزی، با افزایش شوری تعداد این سلول‌ها در آبشش ماهی افزایش می‌یابد. افزایش تعداد سلول‌های کلراید در بافت آبشش منجر به ضخیم شدن سلول‌های اپیتلیال، تحریک هیپرتروفی و چسبیدن و هم‌جوشی تیغه‌ها می‌گردد (۷). جوش خوردن و چسبیدن تیغه‌ها به یکدیگر باعث افزایش فاصله خون با محیط و کاهش تبادلات یونی و گازی و نیز کاهش کیفیت فعالیت آبشش می‌گردد. هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های آبششی ماهیان شانک در تیمارهای مختلف شوری شایع بود. هیپرتروفی و هیپرپلازی اپیتلیوم آبشش علاوه بر کاهش سطح تنفسی در دسترس برای انتشار اکسیژن، فاصله بین اکسیژن آب و خون را افزایش داده که این عمل می‌تواند باعث کاهش عملکرد تنفسی و هیپوکسی شود (۲۲ و ۲۷). تغییرات رشته‌های آبششی و تیغه‌های ثانویه احتمالاً می‌تواند ناشی از افزایش نفوذپذیری عروق باشد (۳۰). افزایش جریان خون به درون تیغه‌ها سبب آسیب به مویرگ‌های تیغه‌ای و منجر به آنورسیم می‌گردد (۳۵). از طرف دیگر، تجمع خون در مویرگ‌های تیغه‌ای باعث اتصال تیغه‌ها به یکدیگر می‌گردد. در

## منابع

- پورخواجه، م.، عبدی، ر.، ذوالقرنین، ح.، صحافی، ه. ح. ز. و مروتی، ح.، ۱۳۹۰. بافت‌شناسی و مکان‌یابی ایمینیایی سلول‌های یونوسیت در آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*). اقیانوس‌شناسی، ۶، صفحات ۴۱-۴۷.
- موحدی‌نیا، ع.، سواری، ا.، و سلاطی، ا. پ.، ۱۳۹۱. سازگاری‌های فراساختاری آبشش ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) تحت شرایط اسمزی مختلف. تحقیقات دامپزشکی، ۶۷، صفحات ۱۶۵-۱۷۴.
- موحدی‌نیا، ع.، سواری، ا.، مروتی، ح.، کوچنین، پ.، و هدایتی، ع.، ۱۳۸۸. پاسخ‌های هورمونی ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) در سازش با شوری‌های مختلف محیطی. علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۸، صفحات ۲۱-۳۰.
- میرعالی، آ.، موحدی‌نیا، ع.، عبدی، ر. و سلاطی، ا. پ.، ۱۳۹۲. بررسی ساختار بافتی کلیه ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*). زیست‌شناسی دریا، ۱۸، صفحات ۷۱-۸۰.

5. Alderdice, D., 1988. 3 Osmotic and Ionic Regulation in Teleost Eggs and Larvae. *Fish physiology*, 11, PP: 163-251.
6. Altinok, I., Galli, S. M., and Chapman, F. A., 1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchusdesotoi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120, PP: 609-616.
7. Alvarado, N. E., Quesada, I., Hylland, K., Marigomez, I., and Soto, M., 2006. Quantitative changes in metallothionein expression in target cell-types in the gills of turbot (*Scophthalmus maximus*) exposed to Cd, Cu, Zn and after a depuration treatment. *Aquatic Toxicology*, 77, PP: 64-77.
8. Boutet, I., Ky, C. L., and Bonhomme, F., 2006. A transcriptomic approach of salinity response in the euryhaline teleost, *Dicentrarchus labrax*. *Gene*, 379, PP: 40-50.
9. Camargo, M. M., and Martinez, C. B., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5, PP: 327-336.
10. Cioni, C., Merich, D., Cataldi, E., and Cataudella, S., 1991. Fine structure of chloride cells in freshwater-and seawater-adapted *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Biology*, 39, PP: 197-209.
11. Evans, D. H., Piermarini, P. M., and Choe, K. P., 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological reviews*, 85, PP: 97-177.
12. Fielder, D. S., Allan, G. L., Pepperall, D., and Pankhurst, P. M., 2007. The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper (*Pagrus auratus*). *Aquaculture*, 272, PP: 656-666.
13. Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J. V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S. M., Carrola, J., Matos, P., and Fontainhas-Fernandes, A., 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27, PP: 103-109.
14. Fishbase, 2013. <http://www.fishbase.org/summary/Acanthopagrus-latus.html> [Online Accessed on October 2017].
15. Giari, L., Manera, M., Simoni, E., and Dezfuli, B. S., 2006. Changes to chloride and rodlet cells in gills, kidney and intestine of *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to reduced salinities. *Journal of Fish Biology*, 69, PP: 590-600.
16. Hesp, S. A., Potter, I. C., and Hall, N. G., 2004. Reproductive biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. *Environmental Biology of Fishes*, 70, PP: 257-272.
17. Hirai, N., Tagawa, M., Kaneko, T., Seikai, T., and Tanaka, M., 1999. Distributional changes in branchial chloride cells during freshwater adaptation in Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus*. *Zoological Science*, 16, PP: 43-49.
18. Hirose, S., Kaneko, T., Naito, N., and Takei, Y., 2003. Molecular biology of major components of chloride cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 136, PP: 593-620.
19. Iwatsuki, Y., 2013. Review of the *Acanthopagrus latus* complex (Perciformes: Sparidae) with descriptions of three new species from the Indo-West Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*, 83, PP: 64-95.
20. Kaneko, T., Shiraishi, K., Katoh, F., Hasegawa, S., and Hiroi, J., 2002. Chloride cells during early life stages of fish and their functional differentiation. *Fisheries Science*, 68, PP: 1-9.
21. Katoh, F., and Kaneko, T., 2003. Short-term transformation and long-term replacement of branchial 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, PP: 4113-4123.
22. Lappivaara, J., Nikinmaa, M., and Tuurala, H., 1995. Arterial oxygen tension and the structure of the secondary lamellae of the gills in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after acute exposure to zinc and during recovery. *Aquatic Toxicology*, 32, PP: 321-331.
23. Lee, K. M., Kaneko, T., Katoh, F., and Aida, K., 2006. Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu *Takifugu rubripes* exposed to a hypoosmotic environment. *General and Comparative Endocrinology*, 149, PP: 285-293.
24. Leguen, I., and Prunet, P., 2004. Effect of hypotonic shock on cultured pavement cells from freshwater or seawater rainbow trout gills. *Comparative Biochemistry and Physiology Part*

- A: *Molecular & Integrative Physiology*, 137, PP: 259-269.
25. Lin, H. C., and Sung, W. T., 2003. The distribution of mitochondria-rich cells in the gills of air-breathing fishes. *Physiological and Biochemical Zoology*, 76, PP: 215-228.
  26. Madsen, S. S., McCormick, S. D., Young, G., Endersen, J. S., Nishioka, R. S., and Bern, H. A., 1994. Physiology of seawater acclimation in the striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). *Fish Physiology and Biochemistry*, 13, PP: 1-11.
  27. Mariara, N., Dumitrescu, G., Petculescu-Ciochina, L., Banatean-Dunea, I., Mot, M., Tapalaga, I., Lunca, M., and Boca, L., 2009. Pathological tissue lesions induced by chronic cadmium intoxication in silver Crucian carp *Carassius auratus gibelio*. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 42, PP: 78-83.
  28. Movahinia, A., Savari, A., Morovvati, H., Koochanin, P., Marammazi, J., and Nafisi, M., 2009. The Effects of Changes in Salinity on Gill Mitochondria-Rich Cells of Juvenile Yellowfin Seabream, *Acanthopagrus latus*. *Journal of Biological Sciences*, 9, PP: 710-720.
  29. Nelson, J. S., Grande, T. C., and Wilson, M. V., 2016. *Fishes of the World*, John Wiley and Sons, PP: 156-194.
  30. Olurin, K., Olojo, E., Mbaka, G., and Akindele, A., 2006. Histopathological responses of the gill and liver tissues of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings to herbicide, glyphosate. *African Journal of Biotechnology*, 5, 2480 p.
  31. Pritchard, J. B., 2003. The gill and homeostasis: transport under stress. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285, PP: R1269-R1271.
  32. Sakamoto, T., Uchida, K., and Yokota, S., 2001. Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of teleost fishes to different salinities. *Zoological Science*, 18, PP: 1163-1174.
  33. Sampaio, L. A., and Bianchini, A., 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269, PP: 187-196.
  34. Schreiber, A. M., and Specker, J. L., 2000. Metamorphosis in the summer flounder, *Paralichthys dentatus*: thyroidal status influences gill mitochondria-rich cells. *General and Comparative Endocrinology*, 117, PP: 238-250.
  35. Takashima, F., and Hibiya, T., 1995. An atlas of fish histology: normal and pathological features. 147 p. Stuttgart/New York: Gustav Fischer Verlag.
  36. Uchida, K., Kaneko, T., Miyazaki, H., Hasegawa, S., and Hirano, T., 2000. Excellent salinity tolerance of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*): elevated chloride cell activity in the branchial and opercular epithelia of the fish adapted to concentrated seawater. *Zoological Science*, 17, PP: 149-160.
  37. Varsamos, S., Diaz, J. P., Charmantier, G., Flik, G., Blasco, C., and Connes, R., 2002. Branchial chloride cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) adapted to fresh water, seawater, and doubly concentrated seawater. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 293, PP: 12-26.
  38. Xia, J., Xia, K., and Jiang, S., 2006. Characterization of 11 polymorphic microsatellite loci in the yellowfin seabream *Acanthopagrus latus*. *Molecular Ecology Notes*, 6, PP: 484-486.
  39. Yoshikawa, J. S., McCormick, S. D., Young, G., and Bern, H. A., 1993. Effects of salinity on chloride cells and Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase activity in the teleost *Gillichthys mirabilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105, PP: 311-317.

## Effect of short-term exposure with different salinity levels on the gill histology in Yellowfin Seabream (*Acanthopagrus latus*)

Farshadian R.<sup>1</sup>, Salati A.P.<sup>1</sup>, KeyvanShokooh S.<sup>1</sup>, Pasha-Zanoosi H.<sup>2</sup>, NeginTaaji A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Physical Oceanography, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Dept. of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, I.R. of Iran

### Abstract

One hundred and eight yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* with approximate weight  $110 \pm 20$ g, adapted to salinity 20 ppt for 14 days, then challenged suddenly to salinity levels of 5 ppt, 12 ppt, 34 ppt and kept in these treatments for 7 days. Gill samples were taken at 0, 24, 48 hours and 7 days after transferring the fishes. According to the results, at the treatment 0, the structure of gill was preserved normally and no changes were observed in the distribution of gill elements. However, the area of chloride cells increased in all groups after salinity challenge, but after one week at 12 and 34 ppt salinity levels, the average area of chloride cells were decreased. On the other hand, the gill microscopic structure was found to be normal and no significant changes were recorded in the arrangement of gill components. The size of chloride cells increased in fish samples kept in the changed salinities, but decreased in 12 and 34 ppt treatments passing one week. Some changes including hypertrophy and hyperplasia of gill epithelium, displacement and disarticulation of the gill epithelium, hypertrophy of chloride cells, changes in the average area of chloride cells, adhered gill lamella and aneurysm events were observed in all groups. In spite of the proven compatibilities of *A. latus* for adaptation to different salinity levels, these findings suggest that some structural changes occur in the gills as a result of maintaining such adaptations.

**Key words:** Histology, Osmoregulation, Gill, *Acanthopagrus latus*