اثر تنش شوری بر سلول‌های کلراید و هیستوپاتولوژی آبشش ماهیان کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) انگشت قد تغذیه شده با کورتیزول خوراکی

آذر بیک‌زاده تاکری*، محمدرضا ایمانپور، وحید تقی‌زاده

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول مکاتبات:beikzad@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۳۰

چکیده

کورتیزول کورتیکواستروئیدی است که به صورت مستقیم یا غیرمستقیم نقش مهمی در جنبه‌های مختلف فیزیولوژی ماهی شامل تنظیم یونی و اسمزی، رشد، استرس و عملکرد ایمنی بازی می‌کند. گیرنده‌های کورتیکواستروئیدی بیش‌ترین غلظت را در آبشش، روده و کلیه دارند و فراوانی آن‌ها اغلب تحت تاثیر شوری محیط تغییر می‌کند. در این مطالعه اثر کورتیزول خوراکی بر بافت آبشش ماهیان کپور دریایی *Cyprinus carpio* انگشت قد تحت تاثیر استرس شوری بررسی شد. برای این منظور، کپور معمولی با میانگین وزنی (۰/۱۲g ±۱/۳۶) به مدت ۸ هفته با غذای تجاری حاوی ۰ (شاهد)، ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذای هیدروکورتیزون تغذیه شدند (۴تیمار و ۳ تکرار) سپس مقاومت در برابر تنش شوری، طی ۷ روز مقابله با شوری ppt ۱۲ بررسی شد و بافت آبشش مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بررسی بافت آبشش نشان داد، میزان آسیب‌های بررسی شده (هایپرپلازی، هایپرتروفی، پرخونی و ادم) در گروه شاهد بیش-تر از ماهیان تحت تیمار کورتیزول بود و در تیمار کورتیزول آسیب‌های کم‌تری مشاهده شد و با اعمال استرس شوری تعداد سلول‌های کلراید افزایش یافت که می‌تواند ناشی از عملکرد بهتر تنظیم اسمزی این ماهیان در برابر تنش شوری باشد.

کلمات کلیدی: کورتیزول، آبشش، تنش شوری، کپور معمولی

مقدمه

کورتیزول عمده‌ترین کورتیکواستروئیدی است که از بافت بین کلیوی به داخل جریان خون ماهیان استخوانی آب شیرین و دریا ترشح می‌شود. گزارش شده است که کورتیزول هیپرگلیسمیک (بالابرنده‌ی قند خون) است و گلیکولیز (تجزیه‌ی گلیکوژن) و گلیکوژنز از پروتئین‌ها و چربی‌ها را تحریک می‌کند [۳]. کورتیزول هورمونی است که در تنظیم اسمزی نقش دارد و به توانایی ماهی در نگهداری آب و الکترولیت‌های بدن کمک می‌کند [۲۴]. این هورمون به صورت مستقیم یا غیرمستقیم نقش مهمی در جنبه‌های مختلف فیزیولوژی ماهی شامل متابولیسم واسطه، تنظیم یونی و اسمزی، رشد، استرس و عملکرد ایمنی بازی می‌کند [۳۴، ۲۴، ۲۳، ۱۲]. گیرنده‌های کورتیکواستروئیدی بیش‌ترین غلظت را در آبشش، روده و کلیه دارند و فراوانی آن‌ها اغلب تحت تاثیر شوری محیط تغییر می‌کند [۲۲]. تحقیقات ثابت کرده است که کورتیزول اثر مهمی بر جذب یون در نتیجه تنظیم اسمزی در آب شور و شیرین دارد. تاثیر کورتیزول برای افزایش قدرت مواجهه با شرایط اسمولالیته جدید، چشمگیرتر از سایر هورمون‌هاست. اثر پاسخ هورمونی، سلول‌های غنی از میتوکندری آبششی را تحریک به تغییرات سازشی می-کند. این سلول‌ها نقش بسیار مهمی در تنظیم آب و مواد معدنی و سازش با شوری‌های جدید دارند [۳۳]. آبشش با تغییر دادن سطح و تعداد سلول‌های کلراید یا سلول‌های غنی از میتوکندری یا سلول‌های یونوسیت به عنوان مهم-ترین اندام دخیل در تنظیم یونی و اسمزی در ماهیان استخوانی نسبت به شوری‌های مختلف می‌باشد [۱۸، ۱۴، ۹]. کپور معمولی با نام علمی *Cyprinus carpio* جزء ماهیان استخوانی و اقتصادی دریای خزر می‌باشد. به طور طبیعی در حوضه دریای خزر، سیاه، آرال و حوضه‌های کم عمق رودخانه ولگا زندگی می‌کند. بیش‌ترین فراوانی

این گونه در جنوب شرقی دریای خزر (خلیج گرگان و تالاب گمیشان) است. در بین ماهیان پرورشی، ماهی کپور معمولی از سهولت زیادی جهت پرورش برخوردار است و در مقابل تنگناهای محیطی، مقاومت بیشتری نسبت به سایر ماهیان دارد و با وجودی که یک ماهی آب شیرین است، ولی می تواند در آب‌های لب‌شور نیز زندگی کند [۶]. در چند سال اخیر تکثیر نیمه طبیعی این ماهی رواج یافته است، زیرا صید مولدین این ماهی به آسانی امکان-پذیر است و همچنین رهاسازی فاضلاب کارخانه‌ها و فاضلاب کشاورزی به آب رودخانه‌ها باعث آلودگی آب‌ها به کودهای شیمیایی و دیگر آلاینده‌ها شده است. در نتیجه تخم‌ریزی اندک مولدین باقی‌مانده با مشکل مواجه می-باشد [۵]. برای جبران این مساله و به منظور بازسازی ذخایر اقدام به تکثیر نیمه طبیعی ماهی شده است. ولی بقا و بازدهی پایین در مراکز تکثیر و پرورش ماهی یکی از بزرگترین عوامل موثر در جلوگیری از بازسازی مناسب ذخایر ماهی می‌باشد [۲۵، ۲۱]. یکی از مشکلات عمده مربوط به تلفات بچه‌ماهیانی است که از مراکز تکثیر رهاسازی می‌شوند [۲۵]. لذا الگوی مناسبی برای کاهش مرگ ومیر بعد از رهاسازی ضروری می‌باشد. آگاهی از فیزیولوژی ماهی و سازگاری آن با تغییرات شرایط محیطی از اساسی‌ترین کاربردها در رهاسازی و پرورش ماهی می‌باشد. یکی از مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیک موثر درموفقیت رهاسازی ماهیان توانایی تنظیم اسمزی توسط بچه ماهیان در محل رهاسازی و نیز در هنگام انتقال از محل رهاسازی به مقصد نهایی یعنی دریا می‌باشد [۴].

تنش شوری به شدت روی بقاء بچه‌ماهیان کپور (یگ گونه‌ی استنوهالین) و در نتیجه موفقیت عملیات بازسازی ذخایر موثر می‌باشد و یافته‌های موجود نشان‌دهنده‌ی آن است که محل‌های رهاسازی لاروهای کپور وحشی به علت کم‌آبی و یا برگشت آب دریا در مصب‌ها و تبخیر زیاد گاهی در مناطقی دارای شوری بالاتر از حد نرمال می‌باشد. لذا باید تمهیداتی جهت افزایش بقا کپورماهیان رهاسازی شده، اندیشید. در کنار ارتقاء مدیریت رهاسازی، یکی از تمهیداتی که می‌توان برای مقابله با این فرآیند زیست‌محیطی به کار برد، افزایش تحمل استرس از طریق دستکاری جیره‌ی غذایی ماهیان است.

به نظر می‌رسد که هورمون‌تراپی با هورمون‌های کورتیکوستروئیدی ممکن است با افزایش سطح کورتیزول، ماهی را برای مقابله با استرس‌ها از جمله استرس اسمزی آماده کند. دستکاری‌های هورمونی به عنوان یک ابزار مطالعاتی و کاربردی در جهت شناخت بهتر از نقش و عملکرد هورمون مربوطه روی سیستم‌های فیزیولوژیک ماهیان به کار گرفته می‌شود [۱۵]. روش‌های مختلفی برای هورمون‌تراپی با کورتیکوستروئیدها شامل غوطه‌وری و تزریق وجود دارد که بیش‌تر در ماهیان بزرگ و مولدین استفاده شده است [۲۰]. استفاده از روش خوراکی بیش‌تر در ماهیان کوچک و جوان تجویز می‌شود [۱]. به کار بردن روش مناسب هورمون‌تراپی هنوز در ماهی‌ها کاملا مشخص نشده است.

با توجه به اهمیت تنظیم اسمزی در بقای ماهیان رهاسازی شده و نظر به این که یکی از مشکلات عمده در رهاسازی مربوط به تلفات بچه‌ماهیانی است که از مراکز تکثیر رهاسازی می‌شوند و همچنین نقش و اهمیت هورمون کورتیزول، در بهبود عملکرد تنظیم اسمزی طبق مطالعات انجام شده و با تکیه بر این مطلب که به کار بردن روش مناسب هورمون‌تراپی در ماهی‌ها هنوز کاملا مشخص نشده است؛ در این تحقیق سعی می‌شود با استفاده از این هورمون به روش خوراکی توانایی تنظیم اسمزی، میزان بازماندگی ماهی را هنگام رهاسازی افزایش داد. به طورکلی هدف تولید بچه ماهیان مقاوم‌تر جهت رهاسازی به محیط طبیعی می‌باشد.

مواد و روش کار

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات آبزی-پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به مدت ۱۰ هفته (دو هفته سازگاری، هشت هفته پرورش) انجام شد. تعداد ۲۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی۰/۱۲

±۱/۳۶ گرم و میانگین طولی ۰/۱۹± ۴/۱۵ سانتی‌متر از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی سیجوال تهیه شدند. ماهیان ابتدا با غوطه‌وری در محلول نمک دو درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی و سپس در تانک‌های ۴۰۰ لیتری (با حجم مفید آبگیری ۲۰۰ لیتر) و با تراکم ۲۰ قطعه در هر تانک ذخیره‌سازی شدند (دما ۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH برابر۰/۰۷ ± ۷/۸ و میزان اکسیژن برابر ۰/۶۵ ± ۵/۹ میلی‌گرم بر لیتر و میزان سختی آب ۲۶۰میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم و شرایط نوری در طول دوره‌ی آزمایش به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود).

پس از دو هفته تغذیه با جیره کنترل جهت سازگاری، ماهیان سپس به مدت هشت هفته با غذای حاوی صفر (گروه شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم کورتیزول (هیدروکورتیزون، سیگما، آلمان) به ازای هر کیلوگرم غذا و به میزان سه درصد وزن بدن و در سه وعده در طول روز، تغذیه شدند و همه گروه‌ها دارای سه تکرار بودند. به منظور تهیه جیره ابتدا مقادیر موردنیاز کریستال‌های کورتیزول در اتانول ۹۶ درصد حل شد سپس بر سطح پلت‌های غذایی اسپری شد و پلت‌ها به منظور تبخیر اتانول در معرض هوای آزاد و خنک قرار داده شدند سپس تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۲۹]. در پایان دوره قبل از تنش شوری و در روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم پس از آن، جهت بررسی از هر تیمار به صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. ابتدا آبشش‌ها را از نظر ضایعات خارجی (پرخونی، تخریب بافت آبشش) بررسی کرده و پس از آن سرپوش آبشش‌ها را برداشته و سپس به وسیله‌ی قیچی کمان دوم آبششی هر ماهی جدا شد. جهت مطالعات آسیب‌شناسی و جهت تثبیت بافت، ابتدا تمامی بافت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند و پس از این مدت، محلول اولیه تخلیه و به ظرف حاوی بافت‌های تثبیت شده مجددا فرمالین ۱۰ درصد افزوده شد و در آزمایشگاه برش‌های ۵ میکرونی از آن‌ها تهیه گردید و مقاطع به دست آمده با روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی ولام‌های تهیه شده به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مدل (Nikon eclipse TS 100) مجهز به مانیتور و دوربین عکاسی مورد مطالعه قرار گرفت و از قسمت‌های مختلف با بزرگنمایی‌های مختلف (عدسی‌های ۴، ۱۰ و ۴۰) عکسبرداری گردید و تغییرات ساختاری نظیر هایپرتروفی، هایپرپلازی، ادم و سایر تغییرات محتمل ریختی و همچنین تعداد سلول‌های کلراید آبششی در مقایسه با گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفت. برای توصیف شدت تغییر آسیب‌شناسی از روش پیشنهادی ریبا و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد [۳۱]. به عنوان مثال برای بررسی هایپرپلازی رشته‌ها و تیغه‌های ثانویه آبششی در صورتی که تعداد رشته‌های آسیب‌دیده صفر بود، بافت بدون آسیب و با علامت (-) در نظر گرفته شد. آسیب ۱ تا ۳ رشته با علامت (+) و به صورت آسیب خفیف، ۳ تا ۵ رشته با علامت (++)، به عنوان آسیب متوسط و آسیب بیش از ۵ رشته با علامت (+++) و به عنوان آسیب شدید در نظر گرفته شد.

نتایج

آبشش به دلیل انتقال گازها تنفسی، تنظیم اسمزی و تعادل یونی، یکی از اندام‌های حیاتی در آبزیان می‌باشد. آبشش‌ها با محیط خارجی در ارتباط بوده و به تغییرات کیفیت آب بسیار حساس می‌باشند. سلول‌های کلراید آبشش در پایه‌ی لاملاو فضای بین لاملایی وجود دارند، شناسایی آن‌ها با توجه به رنگ‌پذیری بیش‌تر این سلول‌ها نسبت به ائوزین در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مشخص گردید. سلول‌ای کلراید در مقاطع میکروسکوپی آبشش به صورت یکسری سلول‌های اسیدوفیل از سایر سلول‌های بافت پوششی آبشش قابل تشخیص بودند. تاثیر سطوح مختلف هیدروکورتیزون بر بافت آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی پس از مواجهه با تنش شوری در جدول ۱ تا ۴ نشان داده شده است. تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش بچه‌ماهیان کپور معمولی در گروه‌های مختلف آزمایشی در شکل ۱ تا ۸ نشان داده شده است.

جدول۱ـ درجه‌بندی کمی آسیب آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح متفاوت هیدروکورتیزون، روز اول پس از مواجهه با تنش شوری ppt ۱۲

آسیب	شاهد (۱)	۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۲)	۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۳)	۲۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۴)
هایپرپلازی	++	+	+	+
چماقی شدن	–	+	–	–
خونریزی	–	–	–	–
ادم	++	+	–	–
هایپرتروفی	++	+	+	–
پرخونی	+	++	–	+++

ارزش نمره : بدون آسیب (–)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++)، آسیب شدید (+++)

جدول ۲ـ درجه‌بندی کمی آسیب آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح متفاوت هیدروکورتیزون، روز سوم پس از مواجهه با تنش شوری ppt ۱۲

آسیب	شاهد (۱)	۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۲)	۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۳)	۲۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول (۴)
هایپرپلازی	+	+	+	–
چماقی شدن	++	++	+	–
خونریزی	–	–	–	–
ادم	–	–	–	–
هایپرتروفی	++	–		+
پرخونی	++	+++	+	++

ارزش نمره : بدون آسیب (–)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++)، آسیب شدید (+++)

جدول ۳ـ درجه‌بندی کمی آسیب آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح متفاوت هیدروکورتیزون، روز پنجم پس از مواجهه با تنش شوری ppt ۱۲

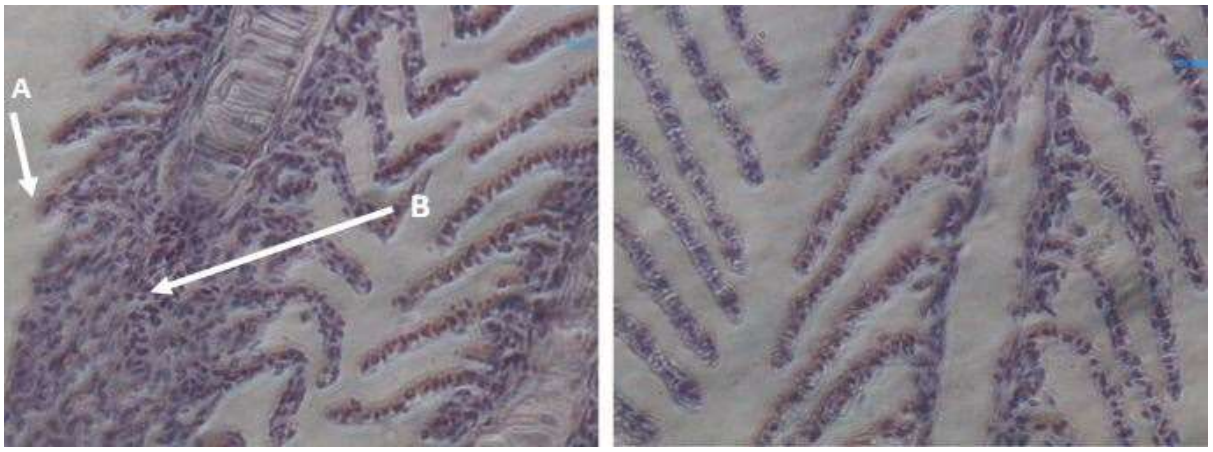
آسیب	شاهد(۱)	۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۲)	۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۳)	۲۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۴)
هایپرپلازی	+++	++	++	+
چماقی شدن	–	–	–	–
خونریزی	–	–	–	–
ادم	–	–	–	–
هایپرتروفی	++	–	+	–
پرخونی	++	+	+++	++

ارزش نمره : بدون آسیب (–)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++)، آسیب شدید (+++)

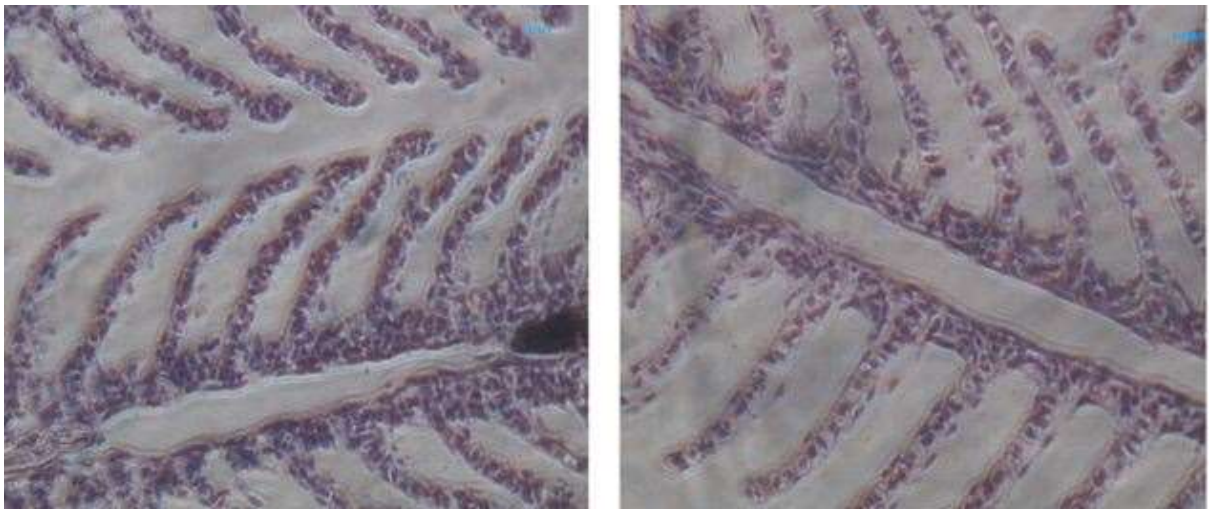
جدول ۴ـ درجه‌بندی کمی آسیب آبشش بچه‌ماهی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح متفاوت هیدروکورتیزون، روزهفتم پس از مواجهه با تنش شوری ۱۲ppt

آسیب	شاهد(۱)	۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۲)	۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۳)	۲۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم غذای کورتیزول(۴)
هایپرپلازی	+++	++	++	+
چماقی شدن	–	–	–	–
خونریزی	–	–	–	–
ادم	+	–	–	–
هایپرتروفی	++	–	+	–
پرخونی	+++	++	+	+

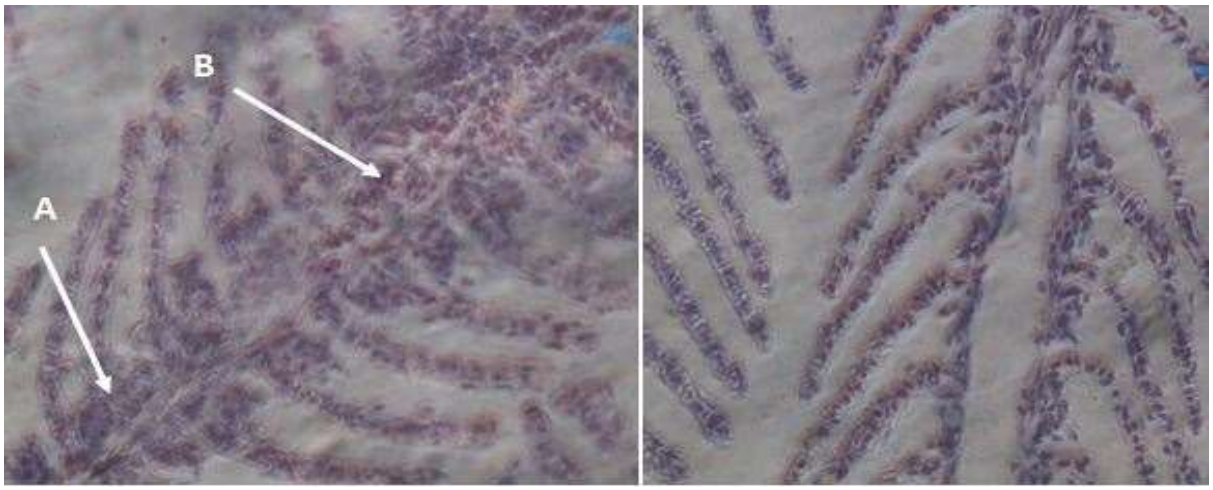
ارزش نمره : بدون آسیب (–)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++)، آسیب شدید (+++)



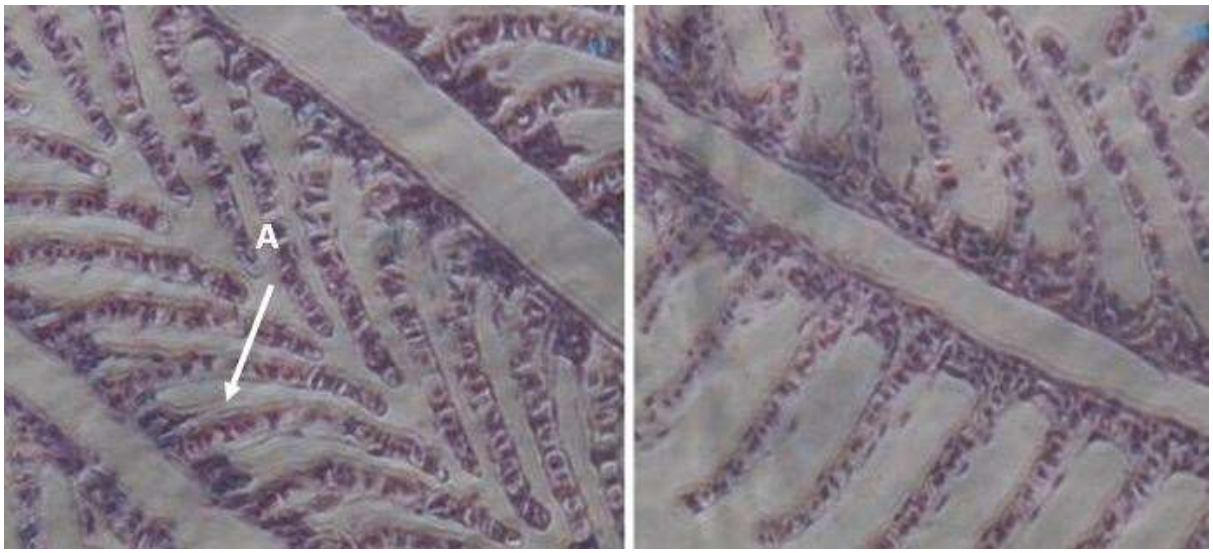
شکل۱ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز اول پس از مواجهه با تنش شوری (شاهد). A) هایپرپلازی، **B**) پرخونی



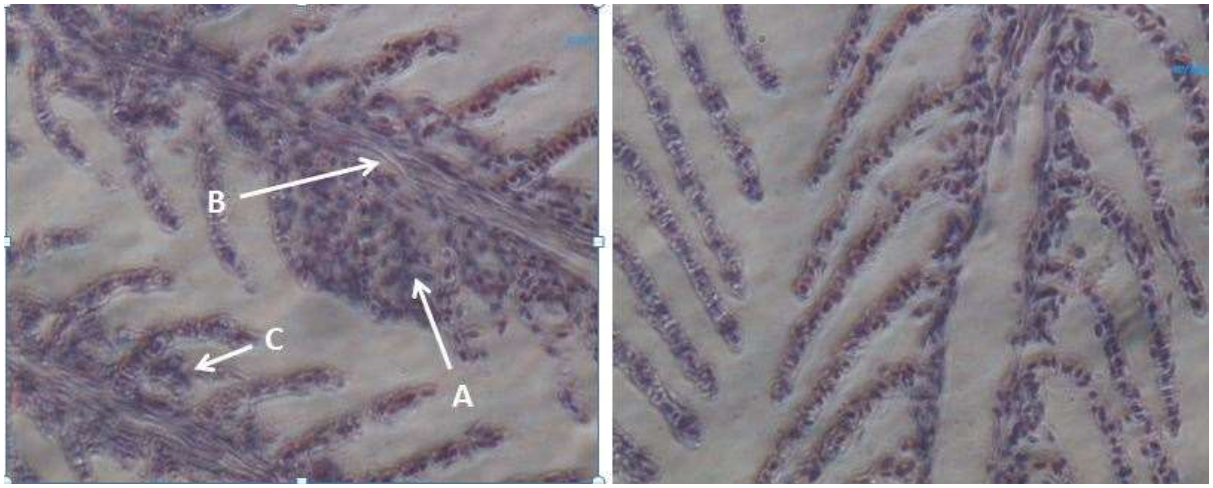
شکل۲ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز اول پس از مواجهه با تنش شوری (تیمارکورتیزول)



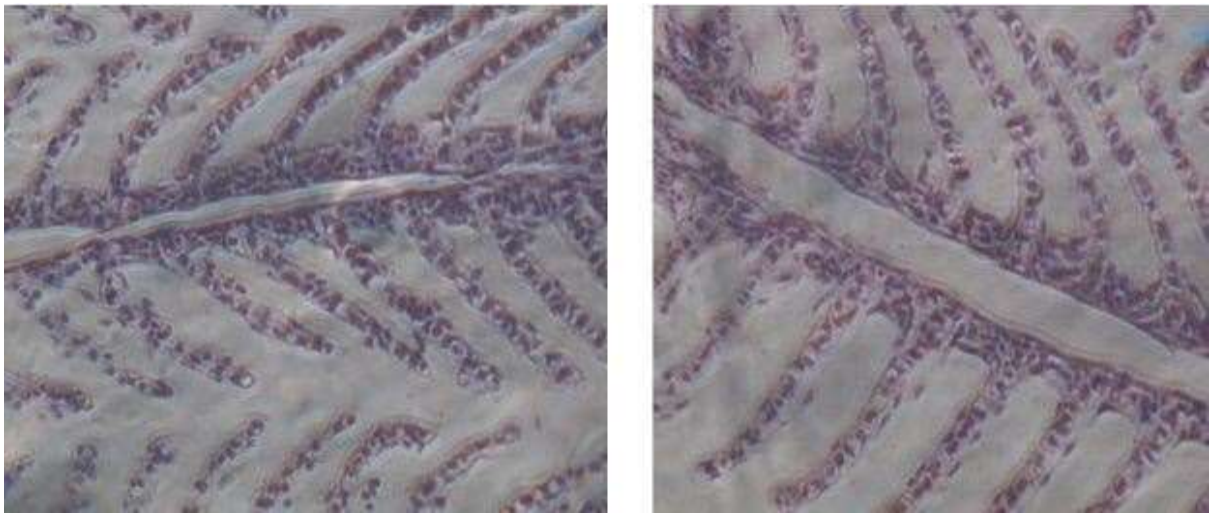
شکل ۳ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز سوم پس از مواجهه با تنش شوری(شاهد). A) هایپرپلازی، B) پرخونی



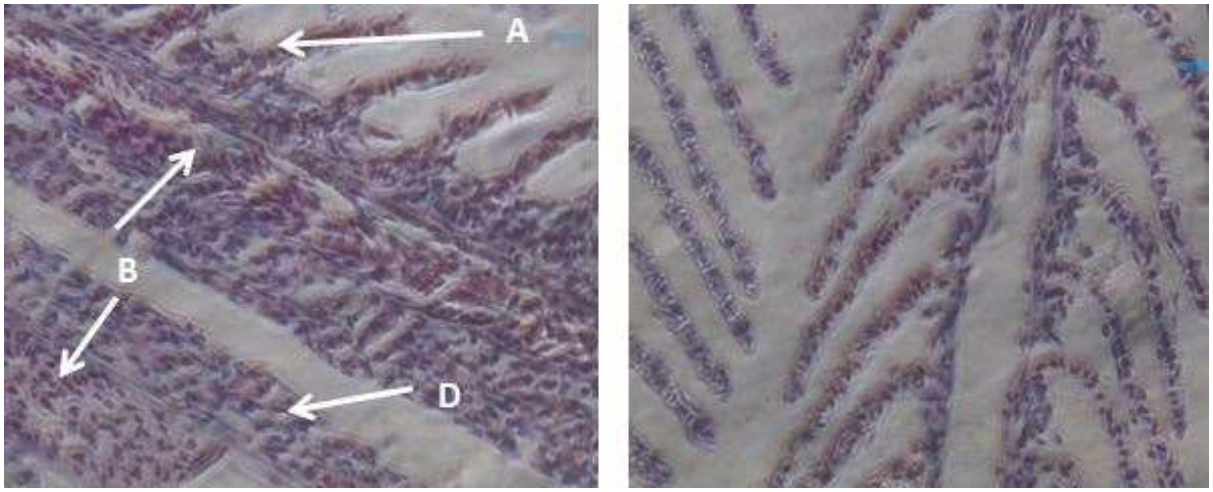
شکل ۴ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز سوم پس از مواجهه با تنش شوری(تیمارکورتیزول). A) هایپرتروفی



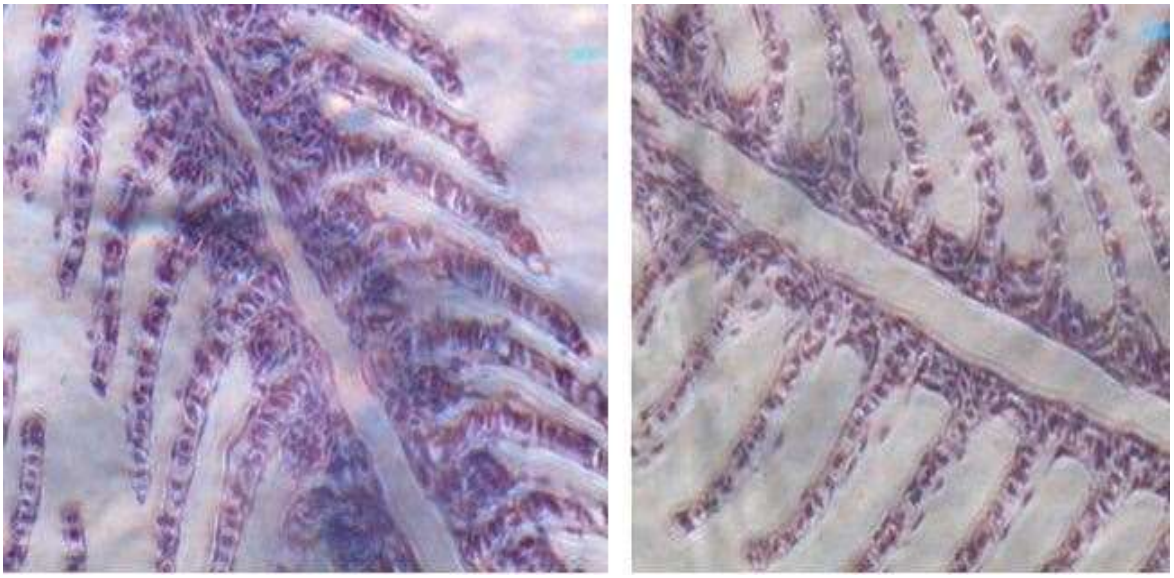
شکل ۵ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز پنجم پس از مواجهه با تنش شوری(تیمارشاهد). A) هایپرپلازی، B) پرخونی، C) هایپرتروفی



شکل ۶ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز پنجم پس از مواجهه با تنش شوری(تیمار کورتیزول).



شکل ۷ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز هفتم پس از مواجهه با تنش شوری (شاهد). A) هایپرپلازی، B) پرخونی، D) ازبین رفتن لاملاها



شکل ۸ـ تغییرات بافتی در آبشش بچه ماهی کپور معمولی روز هفتم پس از مواجهه با تنش شوری(تیمارکورتیزول)

بحث

آبشش ماهیان به عنوان یکی از حیاتی‌ترین اندام‌ها محسوب می‌شود که علاوه بر تبادلات گازی نقش مهمی در تنظیم اسمزی به عهده دارد لذا مطالعه‌ی تاثیر فاکتورهای محیطی بر ساختار و عملکرد آن از اهمیت بالایی برخوردار است. فاکتورهای محیطی نظیر شوری، pH و آلاینده‌های صنعتی با تاثیر بر بافت آبشش، عملکرد آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

آبشش به دلیل اپی‌تلیوم ویژه موجود و ارتباط مستقیم با محیط پیرامون، مهم‌ترین اندامی است که تنظیم اسمزی در آن صورت می‌گیرد [۱۶]. مهم‌ترین جایگاه تبادلات یونی بین بدن و محیط به‌شمار می‌رود [۸]. در اپی‌تلیوم آن سلول‌های کلراید مهم‌ترین جایگاه تبادلات یونی هستند که این سلول‌ها علاوه بر تنظیم تعادل اسیدی- بازی مسئول ترشح یون‌ها در آب شور و جذب یون‌ها در آب شیرین به شمار می‌روند [۳۵]. بهبود هوموستازی با تغییراتی که در ساختار سلول‌های کلراید اتفاق می‌افتد در ارتباط است [۱۳]. مالات و همکاران (۱۹۸۵) نشان دادند که بیش‌ترین آسیب حاصله از مواد سمی و شیمیایی و طی استرس‌های محیطی شامل نکروز، هایپرپلازی، هایپرتروفی و گسستگی بافت آبشش، چسبندگی لاملاها، افزایش ترشح سلول‌های موکوس، تغییر در سلول‌های کلراید و توسعه‌ی رگ‌های خونی می‌باشد [۱۹].

پری (۱۹۹۷) گزارش کرد که آبشش‌ها نقش مهمی در هموستازی مواد موجود در آب دارد و در ماهیان آب شیرین وظیفه سلول‌های کلراید در غشای آبشش جذب یون‌ها از محیط اطراف می‌باشد. در حالی که پس از قرار گرفتن در آب شور پس دادن این یون‌ها را انجام می‌دهند [۲۷]. پیدایش سلول‌های کلراید لاملایی در *Areachromis mossambicus* [۷] همچنین افزایش تعداد این سلول‌ها در لاملاهای ماهیانی مانند *Oncorhynchus kisutch* [۳۲] و *Ictalurus nebulosus* [۱۱] در تیمار غلظت‌های مختلفی از کورتیزول نیز گزارش شده است. پلیس و مک کورمیک (۲۰۰۱) با مطالعه‌ی اثرات هورمون کورتیزول بر آبشش سالمون آتلانتیک (*salmo salar*) بیان داشتند که این هورمون موجب افزایش تعداد سلول‌های کلراید آبششی نسبت به تیمار شاهد می‌گردد [۲۸]. در مطالعه‌ی وونگ و چان (۲۰۰۱) تعداد سلول‌های کلراید در *Anguilla japonica* که به مدت ۱۰ روز مورد تیمار با هورمون کورتیزول قرار گرفته بود به ترتیب بیشتر از این میزان در ماهیانی بود که به مدت ۵ رروز و ۲ روز مورد تیمار قرار گرفته بودند [۳۶]. لیز کرین و همکاران (۲۰۰۳) اثر کورتیزول را بر تنظیم اسمزی و متابولیسم انرژی در سیم دریایی(*Sparus aurata*) بررسی کردند. در این مطالعه که برای اولین بار در ماهی‌ها صورت گرفته، تیمارهای کورتیزول (روش کاشت هورمون) موجب تغییر در استفاده از گلوکز اگزوژن در آبشش (کاهش فعالیت آنزیم HK) و افزایش پتانسیل گلیکولیتیک و گلیکوژنیک در مغز (افزایش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک، PK ،Pase (PFK) شدند و همچنین افزایش توانایی تنظیم هیپواسمزی در تیمارهای کورتیزول دیده شد که به نظر می‌رسد با افزایش مشاهده شده در فعالیت آنزیم Na^{+}-K^{+}ATPase و کاهش مشاهده شده با غلظت یون‌هایی پلاسما (Na^{+} Cl^{-}) و اسمولالیته در ارتباط باشد [۱۷]. عطایی‌مهر و همکاران (۱۳۸۵) به بررسی تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبششی و میزان تلفات بچه‌آزادماهیان دریای خزر(*Salmo trutta caspius*) در مواجهه با انواع شوری‌های مختلف آب پرداختند. نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد سلول‌های کلراید آبششی با افزایش در وزن، افزایش و نیز اندازه‌ی آن‌ها تغییر نامحسوسی در جهت افزایش از خود نشان می‌دهند. همچنین تعداد سلول‌های کلراید آبشش با افزایش شوری، افزایش پیدا کرده و اندازه‌ی آن‌ها تغییر نامحسوسی در جهت کاهش از خود نشان می‌دهد [۴]. پارتریج و لیمبری (۲۰۰۸) به بررسی اثر شوری روی نیاز به پتاسیم در بارامونـدی (*Lates calcarifer*) (ماهی بزرگ

رودخانه‌ای و یا سوف غول‌پیکر)، در آب‌های زیرزمینی شور پرداختند. برای این کار اثر تراکم‌های مختلف پتاسیم بین ۱۰۰-۲۵ درصد و آب شور (۵، ۱۵، ۴۵ گرم در لیتر) روی رشد، بقا و پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی مورد بررسی قرار گرفت. این ماهی ها کاهش آب ماهیچه ای داشتند ولی افزایش فعالیت Na^{+}- K^{+}-ATPase در آبشش، کلیه و روده از خود نشان دادند. افزایش مقدار سدیم و کلر در خون این ماهیان نشان دهنده‌ی یک استرس اسمتیک توسط این ماهیان می‌باشد [۲۶]. خشنود و همکاران (۱۳۸۸) دریافتند که بچه‌تاسماهیان ایرانی نسبت به هورمون کورتیزول با منشا خارجی پاسخ داده و سبب ایجاد تغییرات مورفولوژیک، مورفومتریک و بیوشیمیایی در بافت آبششی در جهت آمادگی ماهی در مواجهه با شوری می‌گردد [۲]. فخارزاده و همکاران (۲۰۱۱) اثر تیمارهای هیدروکورتیزون به دو روش حمام و دافنی غنی‌سازی شده با غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ میلی-گرم بر لیتر را بر استرس شوری ppt ۷ به مدت ۲۴ ساعت در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بررسی کردند. نتایج نشان داد میزان مرگ و میر در ماهیان تحت تیمار هیدروکورتیزون به روش غنی‌سازی به صورت معنی‌داری کم تر از سایر تیمارها بود ($P<$ ۰/۰۵). و تیمار دافنی غنی‌سازی شده با ۷ میلی‌گرم بر لیتر هیدروکورتیزون بالاترین سطح کورتیزول خون و سطح هماتوکریت را قبل از استرس داشت و پس از استرس شوری نیز هیچ مرگ و میری در آن مشاهده نشد [۱۰]. کورتیزول به عنوان عامل افزایش دهنده‌ی رونویسی پروتئین‌های ناقل مهم درگیر در ترشح نمک به وسیله‌ی آبشش (NKA، NKcc، FTR) شناخته شده، کورتیزول خارجی فعالیت NKA را تحریک می‌کند، همچنین افزایش نوشیدن آب در سالمونیدهای تحت تیمار کورتیزول بعد از انتقال به آب شور مشاهده شد [۲۲]. در مطالعه‌ی رید و همکاران (۲۰۰۶) افزایش سطح آبشش در ماهی *Metynnis orinocensis* که در معرض شوری قرار گرفته بود مشاهده شد که می‌تواند به دلیل هایپرپلازی لاملاها، ناشی از هیپوکسی ایجاد شده از تحریک گیرنده‌های شیمیایی O_2 در حفره‌ی اوروبرنشیال باشد [۳۰] که در مطالعه‌ی انجام شده میزان آسیب‌های بررسی شده در گروه شاهد بیش‌تر از ماهیان تحت تیمار کورتیزول بود که می‌تواند ناشی از عملکرد بهتر تنظیم اسمزی این ماهیان در برابر تنش شوری باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش بیانگر تاثیر مثبت کورتیزول خوراکی در مواجهه‌ی بچه‌ماهیان با تنش شوری می‌باشد و بررسی‌های بافت آبشش و آسیب کم‌تر در ماهیان تحت تیمار کورتیزول این موضوع را تایید می‌کند. با توجه به نتایج آزمایش به نظر می‌رسد استفاده از هورمون کورتیزول به صورت خوراکی پیش از رهاسازی بچه‌ماهیان کپور به دریای خزر به منظور بازسازی ذخایر در مراکز تکثیر و پرورش موجب عملکرد بهتر بچه‌ماهیان در مواجهه با تنش شوری می‌شود.

منابع

۱- پورسعید، س.، فلاحتکار، ب. و مجازی امیری، ب. ۱۳۹۲. اثر کاشت مکرر هورمون تری یدوتیرونین بر عملکرد فیزیولوژیک فیل‌ماهی ماده پرورشی. مجله علوم و فنون دریایی. سال دوازدهم، شماره ۱، صفحات ۱۰۵-۹۰.

۲- خشنود، ز.، خدابنده، ص.، خشنود، ر.، مسافر، س. ۱۳۸۸. اثرات هورمون کورتیزول بر سلولهای کلراید آبششی در بچه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). فصلنامه پزشکی یاخته، سال یازدهم، شماره ۴، صفحات ۴۲۵-۴۳۱.

۳- ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. چاپ اول. انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان. ۶۵۹ صفحه.

۴- عطایی‌مهر، ب.، امیری مجازی، ب.، عبداحی، ح. و

میرواقفی، ع. ۱۳۸۵. بررسی تغییرات تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبششی و میزان تلفات بچه‌آزادماهیان دریای خزر با اوزان گوناگون در شوری‌های مختلف آب، مجله علمی شیلات ایران. سال یازدهم. ۴، صفحات ۱۲۷-۱۱۹.

۵- غنی نژاد، د.، مقیم، م.، عبدالملکی، ش. ۱۳۷۷. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۱۳۷۷-۱۳۷۶. بندر انزلی، مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان, ۷۴ صفحه.

۶- وثوقی، غ.، ب مستجیر.۱۳۶۵. ماهیان آب شیرین. دانشگاه تهران، موسسه انتشارات و چاپ, ۳۱۷ صفحه.

7- Dang Z., Balm P., Flik G., Wendlaar Bonga S. (2000), Cortisol increases Na (+)/K(+)-ATPase density in plasma membranes of gill chloride cells in the freshwater tilapia, *Oreochromis mossambicus. Journal of Experimental Biology*, 203(15): 2349-2355.

8- Evans D.H. (1993), Osmoregulation. Edited by Evans, D. H. *The Physiology of Fishes*, 1993: 157-176.

9- Evans D.H. (1997), The physiology of fisheis. Boca Raton, CRC Press, 519 P.

10- Fakharzadeh S.M.E., Farhangi M., Mojazi Amiri B., Ahmadi M., Mazloumi N. (2011), The effect of hydrocortisone treatment by bathing and daphnia enrichmenton the salinity stress in Persian sturgeon, *Acipenser persicus* juvenile. *International Aquatic Research*. 3: 125-133.

11- Goss G., Perry S., Laurent P. (1995), Ultrastructural and morphometric studies on ion and acid-base transport processes in freshwater fish. Edited by Wood, C. M. and Shuttleworth, A. D. *Cellular and Molecular Approaches to fish ions regulation* (Oxford:Academic Press), 14: 257-284.

12- Henderson I.W., Garland HO. 1980. The interregnal gland in piscis. Part2. Phisiology. In: chester Jones I, Henderson IW, editors. *General, Comparative and Clinical Endocrinology of the Adrenal Cortex*. New York: Academic Press. 3: 473-523.

13- Kelly S.P., Woo N.Y.S. (1999), The response of sea bream following abrupt hypoosmotic exposure. *Journal of Fish Biology*, 55: 732-750.

14- Katoh F., Hyodo S., Kaneko T. (2004), Vacuolar- type proton pump in the basolateral plasma membrane energizes ion uptake in branchial mitochondria-rich cells of killifish, *Fundulus heteroclitus*, adapted to a low ion environment. *Journal of Experimental Biology*. 206: 793-803.

15- Lankford S.E., Adams B.M., Adams T.E., Cech J.J. (2006), Using specific antisera to neutralize ACTH in sturgeon: A method for manipulating the interregnal response during stress. *General and Comparative Endocrinology*, 147: 384-390.

16- Lin Y.M., Chen C.N., Lee T.H. (2003), The expression of gill Na,K-ATPase in milkfish, Chanos chanos, acclimated to sea water, brakish water and fresh water. *Comparative Biochemistry and Physiology part A: Molecular & Integrative Physiology*, 135(3): 489-497.

17- Laiz Carrion R., Martin del Rio M., Miguez J., Mancera J.M., Soengas J.L. (2003), Influence of cortisol on osmoregulation and energy metabolism in gilthead seabream Sparus aurata. *Journal of experimental zoology. Part A, Comparative experimental biology*, 298: 105-118.

18- Laize-Carrion R., Gaurreiro P.M., Fuentes J., Canario A.V.M., Martin del Rio M.P., Mancera J.M. (2005), Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, *Sparus auratus*.

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

28- Pelis M.R., McCormick S.D. (2001), Effects of growth hormone and cortisol on Na^+-K^+-2Cl co transporter localization and abundance in the gills of atlantic salmon. *General and comparative endocrinology*, 124: 134-143.

29- Pickering A.D., Stewart A. (1984), Acclimation of the interregnal tissue of the brown trout, *Salmo trutta* to chronic crowding stress. *Journal of Biology*. 4(6): 731-740.

30- Reid S.G., Sundin L., Milson W.K. (2006), The cardiorespiratory system in tropical fishes: structure, function, and control. Edited by Val, A.L., De Almeida-Val, V.M.F. and Randall, D.J. *The Physiology of Tropical Fishes*, Elsevier (Academic Press), 634.

31- Riba I., Blasco J., Jimenez-Tenorio N., Gonzalez M.L., Angel Delvallas T. (2005), Heavy metal bioavailability and effects: II Histopathology bioaccumulation relationships caused by mining activities in the gulf of cadiz (SW. Spain). *Chemosphere*, 58(5): 671-682.

32- Richman N.H., Zaugg, W.S. (1987), Effect of cortisol and Growth Hormone on osmoregulation in pre- and desmoltified coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*. 65: 189-198.

33- Varsamos S. (2002), Tolerance range and osmoregulation in hypersaline conditions in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82(6): 1047-1048.

34- Wendelaar Bonga S.E. (1997), The stress response in fish. *Physiological* Reviews, 7: 591-625.

Journal Experimental Zoology, 303:563-570.

19- Mallat J. (1985), Fish giil structural changes induced by toxicants and other irritants. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42: 630-648.

20- Madsen S.S., Korsgaard B. (2004), Opposite effects of 17β-estradiol and combined growth hormone-cortisol treatment on hypoosmoregulatory performance in sea trout presmolts, *Salmo trutta*. *Aquaculture*, 23: 64-72.

21- Maynard D., Flagg T., Mahnken C. (1995), A review of semi-culture strategies for enhancing the post-release survival of anadromous salmonids. American Fisheries Society Symposium. 15: 307–314.

22- McCormick S.D. (2011), Tthe hormonal control of osmoregulation in teleosts fish. Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Enviroment. 2: 1466-1473.

23- McCormick S.D. (1995), Hormonal control of gill Na+, K+-ATPase and chloride cell function. In: wood CM, Shuttlewoth TJ, editors. *Fish Physiology*. San Diego: Academic Press. 14, 285-315.

24- Mommsen T.P, Vijayan M.M., Moon T.W. (1999), Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 9, 211-268.

25- Olla B.L., Davis M.W., Ryer C.H. (1998), Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. *Bulletin of Marine Science*. 62: 531-550.

26- Partridge G.J., Lymbery A.J. (2008), The effect of salinity on the requirement for potassium by barramundi (*Lates calcarifer*), in saline growndwater. *Aquaculture*, 278: 164-170.

35- Wood C.M., Marshal W.S. (1994), Ion balance, acid-base regulation and chloride cell function in the common killifish (*Fundulus heteroclitus*) a euryhaline teleosts. *Estuaries*, 17: 34-52.

36- Wong C.K., Chan D.K. (2001), Effect of cortisol on chloride cells in the gill epithelium of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Journal of Endocrinology*, 168: 185-192.