

آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مواجهه با

سطوح مختلف شوری

امید کوهکن*

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی ضایعات بافتی ناشی از شوری‌های مختلف بر آبشش ماهی بنی می‌باشد. پس از یک هفته سازگاری، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی بنی انگشت قد در ۴ آکواریوم حاوی شوری‌های ۰، ۸، ۱۰ و ۱۲ گرم در لیتر و یک گروه شاهد به مدت ۹۶ ساعت مواجه شدند. سپس نمونه‌های بافتی تهیه و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافت، آبیگری، شفاف‌سازی و تهیه بلوک‌های پارافینه، مقاطع ۵ میکرومتری تهیه و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه گردید. نتایج تغییرات عمده‌ای را در ساختار آبشش ماهیان مواجهه شده با شوری‌های مختلف نسبت به ماهیان شاهد نشان داد. جدا شدن بافت پوششی در تمامی غلظت‌ها مشاهده گردید اما غلظت‌های بالاتر صدمات شدیدتری را نشان دادند. در این بافت‌ها هایپرپلازی سلول‌های پوششی، افزایش سلول‌های کلراید، جدا شدن اپی تلیال و بزرگ شدن اندازه سلول‌های موکوسی و کلراید به راحتی دیده شد. این نتایج نشان داد که نمک اثرات سمی بر ماهی بنی دارد و باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در آبشش این ماهی می‌گردد.

واژگان کلیدی: تیمار، شوری، صدمات بافتی، اپیتلیوم، ماهی بنی.

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۰

مقدمه

ماهی بنی با نام علمی *Barbus sharpeyi* عضوی از خانواده کپور ماهیان و از جنس باربوس ماهی است. نام‌های دیگر این گونه *Barbus faoensis* و *Mesopotamichthys sharpeyi* می‌باشد. ماهی بنی از نسب هندی Torini یک تیره در کپور ماهیان است و عمدتاً بومی حوزه دجله و فرات بوده و برخی نواحی ایران از جمله مارش‌های هورالعظیم، تالاب شادگان و رودخانه‌های واقع در بخش شمالی خلیج فارس مانند زهره و تالاب الحامر در کشور عراق زیستگاه این ماهی محسوب می‌شوند. در ایران در رودخانه‌های کارون و کرخه، بهمن‌شیر، هورالعظیم و هور شادگان گزارش شده است (۱۰ و ۹، ۳).

اغلب ماهیان استخوانی می‌توانند با شوری‌های مختلف سازگاری پیدا کنند، و این امر به دلیل وجود چندین مکانیسم تنظیم اسمزی در اپیتلیوم‌های تنفسی و کلیه و کمک آن به حفظ و نگهداری محیط درونی بدن می‌باشد. یکی از این مکانیسم‌ها فعالیت پمپ سدیم - پتاسیم است که برای قرارگیری در محیط‌های با شوری جدید ضروری است (۶). تغییر فعالیت این پمپ در طی سازگاری با شوری اغلب با تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های کلریدی آبشش همراه است. چرا که این بخش بیشترین فعالیت یونی را دارد (۲۶، ۲۷ و ۳۰). آبشش جزو اولین قسمت‌هایی است که با آب تماس مستقیم دارد و به دلیل موقعیت خارجی آن همیشه تحت تاثیر عوامل خارجی موجود در محیط و آب قرار می‌گیرد. این امر آبشش را به یکی از حساس‌ترین اندام‌های ماهی تبدیل کرده است. مطالعات بسیار زیادی بر روی آبشش و تغییرات ایجاد شده در آن در اثر مواجهه با شوری‌های مختلف صورت پذیرفته است، اما اغلب این تحقیقات روی تغییرات کلراید، کوتیزول، پمپ‌های سدیم و پتاسیم، میزان رشد و مرگ و میر و بقا انجام شده است (۲۰ و ۱۱، ۸) و تنها مطالعات محدودی روی تغییرات آسیب‌شناسی خود آبشش در اثر شوری و NaCl انجام پذیرفته است (۸). جمیلی (۱۳۷۲) میزان تحمل ماهی بنی را نسبت به تغییرات شوری سنجیده و اثر شوری بر روی رشد و ضریب بازماندگی را در این ماهی بررسی کرد (۵). همچنین میزان بقا و تحمل شوری در ماهی باراکودا (*Centropomus parallelus*) توسط Tsuzuki و همکاران (۲۰۰۷) مطالعه شد (۲۸).

*گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریا، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، سیستان و بلوچستان، ایران. (O.kohkan@cmu.ac.ir)

آب لوله کشی (شوری ۱/۶ گرم در لیتر) به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در طول سازگاری و مدت زمان آزمایش متغیرهای موثر فیزیکی شیمیایی آب شامل pH، اکسیژن محلول و دما به طور روزانه ثبت گردید، و غذایی و هوادهی بطور منظم انجام شد.

نمونه برداری و مطالعات ریزی

نمونه برداری از تیغه دوم آبشش سمت راست و پس از ۹۶ ساعت مواجهه انجام گرفت. بافت‌ها جداسازی و پس از فیکس کردن در فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه منتقل شد. پس از ۴۸ ساعت مراحل آماده سازی بافت، شامل آبگیری و شفاف سازی انجام گرفت و بلوک های پارافینه تهیه گردید. در نهایت مقاطع ۵ میکرومتری توسط میکروتوم روتاری ساخت شرکت پویان تهیه و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین توسط میکروسکوپ نوری مطالعه شد. تصاویر توسط لنز دیجیتال Dinolite و نرم افزار Dinocapture تهیه گردید.

نتایج

ماهیان در هیچ یک از تیمارهای مختلف شوری تلفاتی نشان ندادند. در هیچ یک از نمونه‌ها علائم خاص مورفولوژیک و غیرطبیعی مشاهده نگردید و تنها در تیمارهای ۱۰ و ۱۲ کم تحرکی و بیحالی مشاهده شد. در بعضی از نمونه‌ها آبشش تیره تر و متورم به نظر می‌رسید.

در مطالعات میکروسکوپی آبشش نمونه‌های شاهد دارای ساختار کاملاً طبیعی بوده و لاملا و فیلامنتها آرایش منظم خود را حفظ کرده بودند (نگاره ۱). اما ساختار آبشش ماهیان مواجه شده با نمک تغییرات عمده‌ای را نشان داد. انواع و شدت ضایعات در تیمارهای مختلف در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. اولین تغییری که مشاهده گردید شامل جدا شدن بافت پوششی فیلامنت‌های آبششی بود (نگاره ۲) که این حالت در تمامی غلظت‌های نمک با شدت‌های متفاوت قابل مشاهده بود. اما با افزایش غلظت نمک بویژه در غلظت‌های ۱۰

بطور کلی اطلاعات موجود در ارتباط با سمیت و یا استفاده از نمک در گونه‌های آب شیرین نادر و کمیاب است (۸)، این در حالی است که بافت‌شناسی در واقع یک پارامتر مناسب برای بررسی اثرات آلاینده‌ها و محرک‌های محیطی یک اکوسیستم بر روی موجودات آن محسوب می‌شود (۹ و ۲). اهمیت مطالعات بافت‌شناسی به عنوان معیار و مقیاس شناسایی به حدی است که در برخی موارد به عنوان زیر مجموعه‌ای از علم شیلات و آبی‌پروری در نظر گرفته می‌شود (۴). در این میان بافت آبشش به دلیل تماس مستقیم با محیط و نقش بسیاری که در مکانیسم‌های تنظیم یونی بر عهده دارد، بافت مناسب برای مطالعه بوده و از اولین بافت‌هایی است که در مواجهه با شوری تغییرات را نشان خواهد داد. لذا به منظور بررسی امکان و صرفه اقتصادی انتقال ماهیان آب شیرین به آبهای لب شور و با نمک بالاتر این آزمایش طراحی گردید تا میزان تحمل پذیری ماهی بنی نسبت شوری آب و میزان صدمات هیستوپاتولوژیک آن مشخص گردد. هدف از این تحقیق مطالعه اثرات هیستوپاتولوژیک و تغییرات بافتی آبشش ماهی بنی در مواجهه با شوری‌های مختلف به منظور مطالعه میزان تحمل شوری در این ماهی است.

مواد و روش کار

تیمار بندی

تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی بنی انگشت قد با میانگین وزنی ۴-۳ گرم حاصل از تکثیر مصنوعی به ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) وابسته به پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور منتقل و پس از یک هفته سازگاری در آب لوله کشی به آکواریوم‌های ۲۰ لیتری انتقال داده شدند. مقادیر مورد نیاز از نمک تبخیری دریا تهیه و شوری‌های مختلف تهیه گردید. پس از این مدت ماهیان در ۳ تیمار حاوی شوری‌های ۴، ۸، ۱۰، ۱۲ گرم در لیتر و در هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی با ۳ تکرار با نمک مواجه شدند. ۳ تکرار نیز بدون افزودن نمک با

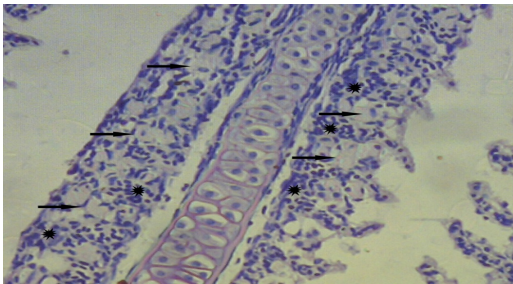
فیلامنت‌های آبشش دچار به هم چسبیدگی یا فیوژن در تمام طول فیلامنت گردیده بود (نگاره ۳). با افزایش میزان شوری، تراکم سلول‌های کلراید و موکوسی افزایش نشان دادند و حداکثر تراکم در شوری ۱۲ گرم در لیتر مشاهده شد (نگاره ۴).

و ۱۲ گرم در لیتر، صدمات شدیدتری را نشان دادند. در این بافت‌ها افزایش و هایپرپلازی سلول‌های پوششی و هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های کلراید و سلول‌های موکوسی به خوبی قابل مشاهده بود (نگاره‌های ۲ و ۳). این تغییرات در غلظت ۱۲ گرم در لیتر بسیار بیشتر دیده شد و بطور کلی ساختار

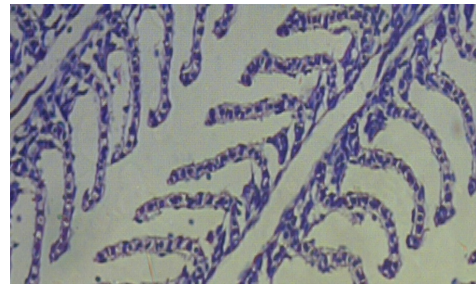
جدول ۱- شدت ضایعات مشاهده شده در آبشش ماهی بنی انگشت قد در غلظت‌های مختلف پس از ۹۶ ساعت

تیمار (گرم در لیتر)	هایپرپلازی	هایپرتروفی	افزایش سلول‌های کلراید	افزایش سلول‌های موکوسی	جداشدن اپیتلیوم
۴	-	-	+	+	++
۸	++	+	++	++	+++
۱۰	++	+	++	+++	+++
۱۲	+++	++	+++	+++	+++

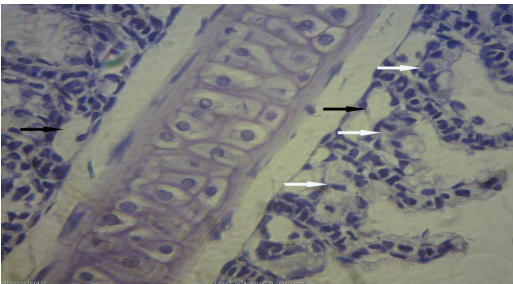
(-): بدون ضایعه. (+): ضایعه >۲۰٪. (++) : ۶۰٪ < ضایعه < ۲۰٪. (+++): ضایعه < ۶۰٪.



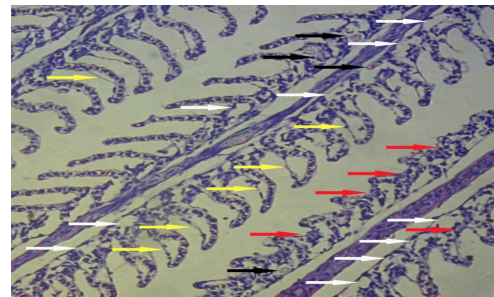
نگاره ۳- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی مواجه شده با غلظت ۱۲ گرم در لیتر. در این تیمار سلول‌های اپیتلیومی به شدت افزایش یافتند (ستاره) و در نهایت منجر به چسبندگی تیغه‌های آبششی (فیوژن) گردیدند. افزایش سلول‌های کلراید (فلش) بنحوی در این تیمار مشاهده شد (۴۰X, H&E).



نگاره ۱- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی گروه شاهد. تیغ‌ها دارای ساختاری کاملاً طبیعی بوده و سالم به نظر می‌رسند (۲۰X, H&E).



نگاره ۴- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی مواجه شده با غلظت ۱۲ گرم در لیتر. هایپرتروفی سلول‌های موکوسی (فلش سیاه) و هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های کلراید (فلش سفید) در تمامی نمونه‌های این غلظت مشاهده شد (۱۰۰X, H&E).



نگاره ۲- مقطع میکروسکوپی از آبشش ماهی بنی مواجه شده با غلظت ۱۰ گرم در لیتر. در این تیمار ضایعات بسیاری از جمله جداشدن اپیتلیوم (فلش زرد)، هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های موکوسی (فلش سفید)، هایپرتروفی سلول‌های یونوسیت (فلش سیاه) و هایپرپلازی و افزایش سلول‌های اپیتلیومی (فلش قرمز) قابل مشاهده است (۱۰X, H&E).

بحث

اندکس میتوزی در نمونه‌های مواجه شده نسبت به نمونه شاهد را گزارش کردند (۲۲).

ارگانسیم‌های آب شیرین در یک محیط هیپواسمیتیک قرار دارند، بدین معنا که غلظت مواد محلول داخل بدن نسبت به محیط اطراف موجود بیشتر است که این امر نیازمند حرکت یونی برخلاف گرادیان اسمزی می‌باشد (۱۳). این حرکت توسط سلول‌های کلراید انجام می‌پذیرد که به سلول‌های غنی از میتوکندری و یونوسیت‌ها معروفند (۲۴ و ۱۵). سلول‌های کلراید در آبشش و اپیتلیوم یافت می‌شوند و با مصرف انرژی یونها را برخلاف گرادیان اسمزی پمپ می‌کنند (۳۱). به نظر می‌رسد که در این حالت یون‌های غیرارگانیک باعث ایجاد صدمات می‌شوند و فلزات سنگین و ترکیبات غیرقطبی ارگانیک دخالت ندارند (۱۳).

یکی از تغییرات مشاهده شده در تحقیق حاضر افزایش در تعداد و اندازه سلول‌های کلراید بود. این امر به دلیل دخالت این سلول‌ها در ترشح یونها بویژه یون کلر و سدیم می‌باشد که با افزایش درجه شوری، افزایش فعالیت این سلول‌ها طبیعی به نظر می‌رسد. Movahedinia و همکاران (۲۰۰۹) افزایش در تعداد سلول‌های کلراید را در اثر افزایش شوری گزارش کردند. ترشح کلر از سلول‌های کلراید بصورت یک فرآیند پیچیده و با دخالت چند گروه عمده از ناقلها و کانال‌های حاضر در غشاء راسی و قاعده‌ای جانبی به انجام می‌رسد. در تحقیقی که توسط عبدی و همکاران (۱۳۸۹) صورت گرفت اثر شوری بر میتوکندری‌های سلول‌های کلراید در آبشش بچه هامور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با تغییر میزان شوری، تغییرات عمده‌ای در تعداد و سطح سلول‌های کلراید رخ می‌دهد (۷). انتقال یونی از عرض غشاهای مسطح آبششی به خوبی مطالعه شده است. وجود سلول‌های کلراید در غشای اپیتلیوم بویژه در نواحی غشای اپرکولار و پوست، نمونه خوبی برای مطالعه عملکرد سلول‌های کلراید در انتقال یونی، ترشح کلرید سدیم

ورود مواد شیمیایی به بدن موجود زنده مطمئناً تغییرات مورفولوژیکی را حداقل در سطح سلول ایجاد می‌نماید، بنابراین بررسی بافت شناسی یک پارامتر مناسب برای تشخیص سلامت ماهی می‌باشد (۲۹ و ۸). آبشش اولین اندامی است که پس از قرارگرفتن در معرض محرک‌های محیطی تحریک شده و دچار تغییر می‌گردد (۴ و ۱). آبشش بافتی پر خون می‌باشد و به دلیل موقعیت خارجی که دارد و تماس مستقیم آن با آب، مرتباً تحت تاثیر محرک‌های مختلف قرار می‌گیرد و محیط مناسبی را جهت ایجاد ضایعات اولیه فراهم می‌کند. این تغییرات عکس العمل طبیعی این اندام نسبت به تغییرات محیطی و عوامل خارجی است (۱).

نتایج مشاهده شده در مطالعات بافتی آبشش در نمونه شاهد هیچگونه تغییر خاصی را نشان نداده و ساختار طبیعی خود را حفظ کردند. لاملا و فیلامنتها دارای آرایش منظم بوده و سلول‌های کلراید و موکوسی در فضای بین لاملایی و در قاعده لاملا مشاهده شد. سلول‌های کلراید در هیچ نمونه ای روی لاملا ثبت نگردید که نشان دهنده این است که اپیتلیوم فیلامنتی درگیر تبادل یون و لاملای ثانویه مسئول مبادله گاز است (۱۷). صدمات مشاهده شده در تحقیق حاضر شامل هیپرپلازی و تورم لایه پایه، جداشدن بافت اپیتلیوم از لاملا، هیپرتروفی و افزایش سلول‌های موکوسی و کلراید بود. در اکثر نمونه ها تیغه های آبششی شکل منظمی نداشتند و در برخی نمونه‌ها چسبندگی فیلامنت‌ها دیده شد.

در تحقیقی که توسط Nero و همکاران (۲۰۰۶) صورت پذیرفت نتایج مشابهی بدست آمد. وی به بررسی تغییرات ایجاد شده در اثر مواجهه با نمک‌های Na روی سوف زرد (*Perca flavescens*) پرداختند. آنها تغییرات زیادی از قبیل تکثیر و هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیال، افزایش سلول‌های کلراید و افزایش سلول‌های موکوسی و در نهایت تغییر معنادار

(۱۳۹۲) روی ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*) گزارش شده است (۶). تمامی این نتایج بجز پرخونی در تحقیق حاضر نیز مشاهده گردید. کبریتی و همکاران (۱۳۸۹) در مطالعه ای روی ماهی کپور انگشت قد (*Hypophthalmichthys molitrix*) هایپرپلازی، ادم و جداسدن بافت اپیتلیوم، پرخونی و اتصال لاملا را مشاهده کردند (۸). نتایج این تحقیق و مقایسه آن با مطالعات مشابه نشان داد که نمک و شوری اثرات سمی بر ماهی بنی داشته و باعث ایجاد تغییرات هیستوپاتولوژیک در آبشش این ماهی می‌گردد.

فهرست منابع

۱. افضل، ف.، شریف پور، ع.، سلطانی، م. و ابطی، ب. (۱۳۸۹): بررسی تغییرات بافتی کبد، کلیه و آبشش ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) ناشی از حمام با ماده ضد عفونی کننده آکواجرم. فصلنامه علمی تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده، ۱(۱): ۷۰-۶۳.
۲. آقامحمدی، م.، فرخی، ف.، توکمه چی، ا. (۱۳۹۰): بررسی اثرات سمی غلظت های مختلف علف کش پاراکوات بر بافت کبد ماهی قزل آلی رنگین کمان پرورشی *rainbow trout*. همایش ملی تغییر اقلیم و تاثیر آن بر کشاورزی و محیط زیست.
۳. بساک کاهکش، ف.، نیک پی، م. (۱۳۸۹): پرورش توام ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) با کپور ماهیان چینی و مقایسه اقتصادی آن با روش پرورش مرسوم، مجله شیلات، ۴(۳): ۸۵-۷۳.
۴. پوستی، ا.، صدیق مروستی، م. (۱۳۷۸). اطلس بافت شناسی ماهی - اشکال طبیعی و آسیب شناسی (تالیف تاکاشی هایبیا)، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۵۲، ۱۶۵-۱۴۹.
۵. جمیلی، ش. ۱۳۷۲. تعیین اثر شوری بر روی رشد و ضریب بازماندگی در ماهی بنی. بولتن علمی شیلات ایران، ۴۵-۵۰.
۶. رجبی، ح.، خدابنده، ص. (۱۳۹۲): ارتباط وزن بدن بچه ماهیان دوتابستانه آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*) با توان تنظیم اسمزی در آب لب شور (۱۳ppt)، مجله پژوهشهای جانوری، ۲۶(۴): ۴۰۵-۳۹۴.

و بازجذب کلسیم، خواهد بود (۱۸ و ۱۷، ۱۶، ۱۴). Mount و همکاران (۱۹۹۷) در مطالعه ای که بر روی *Ceriodaphnia dubia* به منظور بررسی اثرات سمی یونها انجام گرفت، مشاهده کرد که این ماهی نسبت به NaCl کاملاً حساس بوده و صدمات هیستوپاتولوژیک نشان داد (۲۱). افزایش تعداد سلول‌های کلراید و روی هم رفته فعالیت پمپ $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ رابطه مستقیم دارد با میزان NaCl و با افزایش غلظت نمک فعالیت این پمپ نیز بصورت خطی افزایش می‌یابد (۲۵). این امر می‌تواند توجیه کند که چگونه نمک دهی در مزارع پرورشی می‌تواند ماهی آزاد را برای انتقال به آب دریا کمک کند. به نظر می‌رسد اپیتلیوم آبشش خروج ثانویه Na^+ در ماهیان را تسهیل می‌کند (۱۹ و ۱۲). گزارش شده است که تغذیه بلند مدت با NaCl در ماهی قزل آلی رنگین کمان آب شیرین باعث ایجاد تغییر در مورفولوژی آبشش و بیان ژنهایی می‌شود که در زمان ورود ماهی آزاد به آب دریا نیز بیان می‌شود (۲۵ و ۲۳). این ژنها mRNA مربوط به سه ناقل پروتئینی را تولید می‌کنند که در ترشح NaCl به خارج از بدن ماهیان آب شور نقش دارند و شامل CFTR، NKCC1 و $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ هستند (۳۲). بنابراین افزایش فعالیت پمپ $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ اولین تغییری است که در اثر افزایش غلظت نمک در آب پیرامون ماهی دیده می‌شود. نتیجه این تغییر، ظهور و افزایش سلول‌های کلراید (سلول‌های غنی از میتوکندری) و همچنین سلول‌های ترشحی کمکی می‌باشد (۲۳). اتفاقی که در این تحقیق نیز دیده شد، یعنی افزایش تعداد و اندازه سلول‌های کلراید به عنوان سلول‌های اصلی ترشحی که حاوی میتوکندری فراوان و در نتیجه میزان بالایی از پمپ $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ هستند و همچنین هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های موکوسی به عنوان سلول‌های کمک ترشحی در هنگام تغییر میزان نمک. چسبندگی در لاملا در اثر هایپرپلازی، پرخونی و جدایی اپیتلیال از سطح فیلامنت مشاهداتی است که توسط رجبی و خدابنده

15. Hobe, H., Wood, C.M., McMahon, B. (1984): Mechanisms of acid/base and ionoregulation in white suckers *Catostomus commersoni* in natural soft water, *J. Comp. Physiol.* 154(1): 35-46.
16. Karnaky, K.J., Degnan, K.J., Garretson, L.T., Zadunaisky, J.A. (1984): Identification and quantification of mitochondria-rich cells in transporting epithelia. *Am. J. Physiol.* 246(5): 770-775.
17. Marshal, W.S. (2002): Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} and Zn^{2+} Transport by Fish Gills: Retrospective Review and Prospective Synthesis, *J. Exp. Zoo.* 293(3): 264-283.
18. Marshall, W.S., Bryson, S.E. (1998): Transport mechanisms of seawater teleost chloride cells: an inclusive model of a multifunctional cell. *Comp. Biochem. Physiol.* 119(1): 97-106.
19. Marshall, W.S., Grosell, M. (2006): Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance. In: *The Physiology of Fishes*, pp. 177-230. CRC Press, Boca Raton.
20. Moser, M.L., Miller, M. (1994): Effects of salinity fluctuation on routine metabolism of juvenile spot, *Leiostomus Xanthurus*, *J. Fish. Biol.* 45: 335-340.
21. Mount, D.R., Gulley, D.D., Hockett, J.R., Garrison, T.D., Evans, J.M. (1997): Statistical models to predict the toxicity of major ions to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, and *Pimephales promelas* (fathead minnows). *Environ. Toxicol. Chem.* 16(10): 2009-2019.
22. Nero, V., Farwell, A., Lee, L.E.J., Van Meer, T., MacKinnon, M.D. and Dixon, D.G. (2006): The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: Gill and liver histopathology. *Ecotox. Envir. Saf.* 65(2): 252-264.
23. Perry, S. F., Rivero-Lopez, L., McNeill, B., Wilson, J. (2006): Fooling a freshwater fish: how dietary salt transforms the rainbow trout gill into a seawater gill phenotype. *J. Exp. Biol.* 209(23): 4591-4596.
24. Perry, S.F. (1997): The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annu. Rev. Physiol.* 59: 325-347.
۷. عبدی، ر.، پورخواجه، ح.، ذوالقرنین، ح.، حسین زاده صحافی، ه.، مروتی، ح. (۱۳۸۹): اثر شوری بر میتوکندری های سلول های کلراید آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) فصلنامه محیط زیست جانوری، ۲(۴): ۳۷-۴۲.
۸. کبریتی، م.، پیغان، ر.، محمدیان، ب. (۱۳۸۹): بررسی تلفات و ضایعات پاتولوژیکی ناشی از حمام نمک ۱-۲۴ ساعته در آبشش ماهیان انگشت قد کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، فصلنامه تالاب، ۲(۶): ۴۹-۵۶.
۹. کوهکن، ا.، عبدی، ر.، سلیقه زاده، ر. و جدادی، ی. (۱۳۹۳): آسیب شناسی بافتی ناشی از مسمومیت تحت حاد علف کش پاراکوات در بافت کبد ماهی بنی انگشت قد (*Barbus sharpeyi*): مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای: ۱۱(۱): ۱۱۷۲-۱۱۶۷.
۱۰. محمدیان، ت.، کوچنین، پ.، نیکو، س.، شیخ الاسلامی، م.، بیتا، س.، اسکندری، غ.، ابهری سه گنبد، ح. (۱۳۸۸): مقایسه تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) بر شاخص های تولیدمثلی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)، مجله دامپزشکی ایران: ۲(۵): ۷۰-۸۰.
11. Deacon, N., Hecht, T. (1999). The effect of reduced salinity on growth, food conversion and protein efficiency ration in juvenile spotted grunter, *Pomadasys commersonii* (Lacépède) (Teleostei: Haemulidae), *Aquacult. Res.* 30(1): 13-20.
12. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P. (2005): The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Phys. Rev.* 85(1): 97-177.
13. Farag, A.M., Harper, D.D. (2014): A review of environmental impacts of salts from produced waters on aquatic resources. *Int. J. Coal. Geol.* 126: 157-161.
14. Hirose, S., Kaneko, T., Naito, N., Takei, Y. (2003): Molecular biology of major components of chloride cells, *J. Com. Biochem. Physiol.* 136(4): 593-620.

25. Salman, N.A., Eday, F.B. (1987): Response of chloride cell number and gill Na ATPase activity of freshwater trout (*Salmo gairneri*) to salt feeding. *Aquacult.* 61(1): 41-48.
26. Skamoto, T., Uchida, K., Yolota, S. (2001): Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of teleost fishes to different salinities. *Zool. Sci.* 18(9): 1163-1174.
27. Tipsmark, C. K., Madsen, S. S., Seidelin, M., Christensen, A. S., Cutler, C. P., Cramb, G. (2002): Dynamics of Na⁺,K⁺,2Cl⁻ cotransporter and Na⁺,K⁺-ATPase expression in the branchial epithelium of brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Exp. Zool.* 293(2): 106-118.
28. Tsuzuki, M.Y., Cerqueira, V.R., Teles, A., Doneda, S. (2007): Salinity tolerance of laboratory reared juveniles of the fat snook *centropomus parallelus*. *Brazilian. J. Ocean.* 55(1): 97-102.
29. Van der Oost, R.J., Beyer, J. Vermeulen, N. (2003): Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13(2): 57-149.
30. Wagner, H. H. (1974): Seawater adaption independent of photoperiod in steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Zool.* 52(7): 805-812.
31. Wilson, J.M., Laurent, P. (2002): Fish gill morphology: inside out. *J. Exp. Zool.* 293(3): 192-213.
32. Wood, C.M. Bucking, C. (2011): The role of feeding in salt and water balance. *The Multifunctional Gut of Fish, Fish. Phys.* 30: 165- 212.

