



بررسی اثر کلرید سدیم در جیره غذایی بچه‌ماهی نوری کپور بر بقاء و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، یونی و بافت‌شناسی در مواجهه با تنش ناگهانی اسمزی

سید مرتضی حسینی^۱، سید حسین حسینی‌فر^{۲*}، عیسی شریف‌پور^۳، ملیکا قلیچ‌پور^۴، عباسعلی آقایی‌مقدم^۱، بهروز قره‌روی^۱

^۱ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان، ایران

^۲ گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۳ موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

^۴ گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر افزودن نمک (کلرید سدیم) به جیره غذایی بر بقاء، شاخص‌های بیوشیمیایی و بافت‌شناسی بچه‌ماهی نوری کپور دریایی در مواجهه با تنش شوری انجام شد. بچه‌ماهی کپور (حدود ۱/۱ گرم) به مدت ۱۵ روز با جیره‌های غذایی حاوی ۰، ۵ و ۱۰ درصد کلرید سدیم تغذیه و سپس به طور مستقیم به آب لب‌شور ۱۳ گرم در لیتر منتقل و پس از ۳ و ۱۰ روز نمونه‌گیری شدند. جیره غذایی و زمان نمونه‌برداری اثر معنی‌داری بر بقاء ماهی‌ها نداشت. سدیم، گلوکوتیون ردوکتاز و گلوکوتیون پراکسیداز بدن سه روز بعد از تنش شوری به طور معنی‌داری افزایش یافته و پس از ۱۰ روز مواجهه با تنش شوری به مقادیر نرمال بازگشتند. رطوبت بدن پس از تنش شوری به طوری معنی‌داری کاهش یافت ولی مقدار پتاسیم و کلراید بدن افزایش یافت و تا ۱۰ روز بعد از تنش شوری به طور معنی‌داری بالاتر از قبل از تنش بود. قبل از تنش، گلوکوتیون در تیمارهای نمک بالاتر از تیمار شاهد، و ۱۰ روز پس از تنش در تیمار نمک-۱۰ بالاتر از دو تیمار دیگر بود. مالون‌دی‌آلدئید بدن در تیمارهای نمک به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. آسیب بافتی چشمگیر و مهمی در مقایسه با شاهد در آبشش و کلیه بعد از تنش شوری مشاهده نشد. این تحقیق نشان می‌دهد که کپور دریایی نوری توانایی تحمل انتقال مستقیم به آب دریای خزر را بدون غنی‌سازی جیره با نمک دارد. افزودن ۱۰ گرم در کیلوگرم نمک به جیره می‌تواند باعث کاهش پراکسیداسیون چربی شود.

واژه‌های کلیدی:

تنظیم اسمزی، نمک، گلوکوتیون، آبشش، کلیه

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

<https://doi.org/10.22034/jair.11.1.60>

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۲۰۲۳/۰۲/۲۰

پذیرش: ۲۰۲۳/۰۳/۲۹

نویسنده مسئول مکاتبه:

سید حسین حسینی‌فر، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

ایمیل: hoseinifar@gau.ac.ir

۱ | مقدمه

نشان دهنده عدم کارایی کافی برنامه بازسازی ذخایر است (Bandani et al., 2020). در سال‌های اخیر، به دلیل کم آب شدن رودخانه و عوامل دیگر، صید ماهی کپور کاهش شدیدی داشته که نشان می‌دهد برنامه بازسازی ذخایر کارایی بالایی ندارد. مشاهدات مستقیم نشان داده‌اند که در زمان رهاسازی بچه ماهی‌های کپور، رودخانه‌های استان گلستان اغلب کم‌آب هستند و در واقع آبی که در رودخانه‌ها وجود دارد، برگشت آب دریا بوده و شوری حدود ۱۳ گرم در لیتر دارد. به این ترتیب، بچه ماهی‌های کپور با تنش اسمزی روبرو می‌شوند که برای آنها کشنده است (Hoseini and Hosseini, 2010; Gholami et al., 2013). لذا ارائه راهکاری برای مقاوم‌سازی بچه ماهی‌های کپور می‌تواند کارایی برنامه بازسازی ذخایر را افزایش دهد. همچنین، در صورت مقاوم شدن بچه ماهی‌ها به تنش شوری، می‌توان به جای رودخانه، آنها را مستقیماً به دریا رهاسازی نمود. این کار دارای مزایای دیگری نیز می‌باشد که از

ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، نقش به‌سزایی در تأمین پروتئین موردنیاز کشور دارد و مردم به دلایل کیفیت گوشت و ذائقه غذایی از این ماهی استفاده می‌کنند. در سال‌های اخیر، صید این ماهی در دریای خزر کاهش زیادی داشته است به طوری که صید آن از بیش از ۲۸۰۰ تن در دهه ۸۰ به حدود ۱۲ تن در اواسط دهه ۹۰ رسیده است (Bandani et al., 2020). برنامه بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی یکی از برنامه‌های حاکمیتی جهت حفظ ذخایر دریای خزر و ایجاد اشتغال پایدار و اقتصادی برای صیادان منطقه است. سالانه میلیون‌ها قطعه بچه ماهی کپور به رودخانه‌های منتهی به خزر رهاسازی می‌شوند تا ذخایر این ماهیان افزایش یابد. در این راستا میزان رهاسازی بچه ماهی کپور از حدود ۵ میلیون قطعه در سال ۱۳۸۴ به حدود ۵۰ میلیون قطعه در سال ۱۳۹۵ رسیده است؛ اما در همین زمان مقدار صید در واحد تلاش از حدود ۵۰ به نزدیک به صفر رسیده است که

طعام دامی (پودری) به عنوان منبع نمک استفاده شد. خوراک پودری کپور ماهیان دانسو (شرکت مهدانه) به عنوان جیره غذایی شاهد استفاده شد. جیره شاهد به روش استاندارد (AOAC, 2005) آزمایش شد و مشخص گردید که حاوی ۳۹/۲ درصد پروتئین، ۱۴/۹ درصد چربی، ۷/۷۴ درصد خاکستر و ۱/۰۰ درصد باز فرار کل بود. به این خوراک مقادیر ۵ و ۱۰ درصد نمک (Farabi et al., 2020) و ۰/۱۲ درصد ژلاتین اضافه شد. مقدار مناسب نمک و ژلاتین در آب حل و ۵۰۰ میلی لیتر از این محلول به هر کیلوگرم جیره اضافه شد تا حالت خمیر پیدا کند. مقادیر ژلاتین و آب اضافه شده به جیره‌ها براساس آزمون و خطا به دست آمد. خمیر به دست آمده توسط یک توری با اندازه چشمه یک میلی‌متر تبدیل به رشته و در برابر وزش باید پنکه خشک شد. دوره تغذیه ماهی‌ها ۱۵ روز بود (Farabi et al., 2020) و در این دوره روزانه ۳ درصد وزن بدن غذایی صورت گرفت. پس از پایان دوره غذایی، تغذیه ماهی‌ها به مدت یک روز قطع و سپس نمونه کل بدن ماهی از هر تیمار گرفته شد. پس از نمونه‌گیری، آب دریای خزر وارد مخازن شده و ماهی‌ها به صورت ناگهانی در معرض تنش شوری (آب دریای خزر؛ ۱۳ گرم در لیتر) قرار گرفتند. نمونه‌گیری‌های بعدی ۳ و ۱۰ روز پس از مواجهه با آب لب‌شور انجام شد. در کل دوره پرورش شاخص‌های کیفی آب توسط دستگاه پرتابل دیجیتال (Hach multi-parameter checker, USA) ثبت شدند (اکسیژن = $0.36 \pm 7/72$ میلی‌گرم بر لیتر، $pH = 7.11 \pm 0.11$ ، دما = 25.32 ± 0.24 درجه سانتی‌گراد). در این تحقیق نمونه‌های جداگانه‌ای برای بررسی ساختار میکروسکوپی آبشش و کلیه، اندازه‌گیری یون‌های بدن، و اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بدن گرفته شد. جهت تهیه مقاطع بافتی، تعداد ۳ ماهی از هر تیمار قبل از تنش شوری و ۱۰ روز بعد از تنش شوری نمونه‌گیری شدند. ابتدا ماهی‌ها با قطع نخاع کشته شده و به صورت کامل در محلول بوئن قرار گرفتند. جهت انجام مراحل آبگیری و پارافینه کردن مقاطع بافتی، از دستگاه تیشوپروسور استفاده شد و نهایتاً نمونه‌ها در بلوک‌های پارافینی قرار گرفتند. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و پس از قرار گرفتن بر روی لام، با استفاده از رنگ اتوزین-هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. از هر نمونه ماهی تعداد ۳ مقطع با فواصل ۲۰۰ میکرون تهیه گردید. در نهایت مقاطع بافتی تهیه شده جهت ارزیابی تغییرات بافتی در آبشش و کلیه استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت کل بدن، تعداد ۳ ماهی از هر تیمار پس از قطع نخاع وزن شده و بعد در آن (۱۰۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت) خشک شدند (AOAC, 2005) تا میزان از دست رفتن آب بدن در آب به دست آید (Grant et al., 2010). پس از ثبت رطوبت بدن، ماهی‌های خشک شده برای اندازه‌گیری یون‌های بدن استفاده شدند (Grant et al., 2009). نمونه‌ها در اسید نیتریک یک مولار (به نسبت ۱ به ۴) هضم شدند. اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم در نمونه‌ها به روش فلیم فتومتر انجام و اندازه‌گیری یون کلر به روش ترسیب جیوه انجام شد (EPA Method 9250; Wu et al., 2003). به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، از هر آکواریوم ۲ ماهی با هم مخلوط شدند تا یک نمونه به دست آید. نمونه-

آن جمله می‌توان به فراوانی غذای طبیعی که باعث بهبود سیستم تنظیم اسمزی می‌شود (Mohiseni et al., 2016) و ثبات پارامترهای محیطی استرس زا (دما، آلاینده‌ها و ...) نسبت به رودخانه‌ها اشاره نمود. استفاده از افزودنی‌های غذایی می‌تواند به افزایش مقاومت ماهی در برابر تنش شوری کمک زیادی کنند. افزودن کلرید سدیم به جیره آبزیان به منظور رشد و تغییرات فیزیولوژیکی انجام شده است و مشخص شده که باعث افزایش توانایی ماهی برای مقابله با تنش شوری می‌شود. این پدیده در ماهی‌های گوناگونی شامل ماهی آزاد چینوک، *Oncorhynchus tshawytscha* (Salman and Eddy, 1990)، شار جویباری، *Salvelinus fontinalis* (Zaugg, 1992)، قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss* (Perry et al., 2006; et al., 1983) و تیلپپای موزامبیک، *Oreochromis mossambicus* (Al-Amoudi, 1987)، به اثبات رسیده است. افزودن نمک به جیره غذایی ماهی‌ها به منظور تامین الکترولیت‌های مورد نیاز و یا فعال نمودن سیستم تنظیم اسمزی انجام می‌شود. به عنوان مثال، افزودن نمک به جیره ماهی‌های آب شور که در آب شیرین یا لب شور نگهداری می‌شوند باعث افزایش تعداد سلول‌های کلراید و کاهش مصرف انرژی جهت تنظیم یون‌های بدن می‌شود (Alam et al., 2015; Santos et al., 2014). همچنین، در برخی مطالعات مشخص شده است که افزودن نمک به جیره غذایی ماهیان آب شیرین می‌تواند باعث بهبود عملکرد تنظیم اسمزی پس از انتقال به آب شور شود (Fontainhas-Fernandes et al., 2001; Perry et al., 2006). همچنین، مشخص شده است که تنش شوری منجر به بروز استرس اکسیداتیو (اکسیداسیون مواد بیولوژیکی بدن مانند پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع و آسیب به DNA) در ماهی می‌شود که می‌تواند منجر به تلفات گردد (Caxico Vieira et al., 2020; Ghelichpour et al., 2017). به همین دلیل کاهش تنش اسمزی می‌تواند بقاء ماهی در مواجهه با آب شور را افزایش دهد. بر اساس اطلاعات موجود، افزودن نمک در جیره غذایی ماهی‌های آب شیرین می‌تواند باعث تسهیل سازگاری با آب شور شود. با این حال چنین اطلاعاتی در مورد ماهی کپور دریایی موجود نیست؛ لذا این تحقیق به بررسی اثر افزودن نمک به جیره غذایی بر تلفات، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، یونی و بافت‌شناسی آبشش و کلیه ماهی کپور پرداخته است.

۲ | مواد و روش‌ها

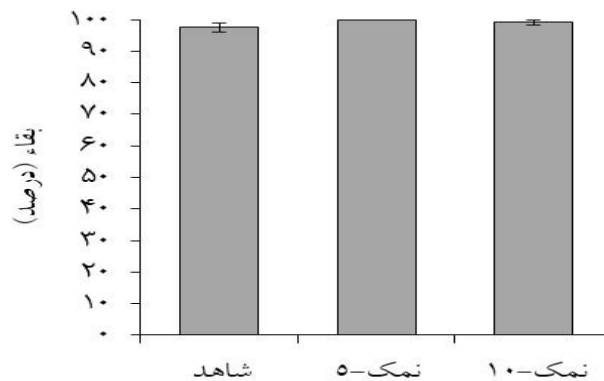
در این تحقیق از بچه ماهیان کپور دریایی با وزن حدود ۱/۱ گرم استفاده شد. تعداد ۵۰۰ بچه‌ماهی از مرکز تکثیر ماهیان استخوانی سیجوال به مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان داخلی منتقل شد. ماهی‌ها در یک مخزن ۱۰۰۰ لیتری متصل به سیستم هوادهی به مدت سه روز ذخیره‌سازی و سپس به ۹ آکواریوم ۴۵ لیتری منتقل شدند. در هر آکواریوم ۴۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی وارد شد و هوادهی از طریق پمپ هوای مرکزی انجام گرفت. در این تحقیق ۳ جیره غذایی با افزودن صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ درصد کلرید سدیم آماده شد. از نمک

شدند. مقایسه جفتی بین زمان‌ها، تیمارهای غذایی، یا ترکیب تیمار زمان \times تیمار غذایی (در صورت معنی‌دار شدن برهم‌کنش) توسط آزمون LSD انجام شد. معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ بررسی شد و کلیه آنالیزها در SPSS-22 انجام شدند. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه شدند.

۳ | نتایج

بقاء بچه ماهی‌ها پس از ۱۰ روز مواجهه با آب لب‌شور اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نداشت (شکل ۱). بقا در تیمار شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ به ترتیب $1/44 \pm 97/5$ ، $0/00 \pm 100$ و $0/83 \pm 99/2$ درصد بود.

های ماهی بلافاصله پس از صید در نیتروژن مایع منجمد شده و سپس توسط هاون چینی هموژن شدند. پس از هموژن سازی، بافر فسفات سرد با pH ۷ به میزان ۵ برابر وزن ماهی به آنها اضافه (Lionetto *et al.*, 2003) و بعد سانتریفیوژ شدند (۱۵ دقیقه، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه). قسمت رویی نمونه در لوله‌های مجزا جمع‌آوری شده و برای اندازه‌گیری گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون پرکسیداز، گلوکاتایون احیائی و مالون دی‌آلدئید استفاده شدند. اندازه‌گیری پارامترهای آنتی‌اکسیدانی با استفاده از کیت‌های زل بایو (آلمان) و دستگاه میکروپلیت ریدر انجام شد. ابتدا داده‌ها از نظر پراکنش نرمال و همگن بودن واریانس توسط آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لون بررسی شدند. پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس، داده‌ها به استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک عاملی اندازه‌گیری مکرر آنالیز



شکل ۱- بقاء بچه ماهی کپور پس از ۱۰ روز مواجهه با آب لب‌شور

جدول ۱- نتایج (p-value) تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر

| نمک \times زمان | زمان | نمک | |
|-------------------|--|--|---------------------|
| <0/001 | 0/115 | 0/006 | گلوکاتایون |
| 0/035 | <0/001 | <0/001 | مالون دی‌آلدئید |
| 0/985 | <0/001 | 0/934 | گلوکاتایون ردوکتاز |
| 0/343 | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^a | 0/414 | گلوکاتایون پرکسیداز |
| 0/098 | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^a | 0/823 | سدیم |
| 0/367 | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^a | 0/031 | پتاسیم |
| 0/071 | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^b | شاهد ^b ، نمک-۵ ^a ، نمک-۱۰ ^a | کلراید |
| 0/704 | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^b | 0/089 | کلراید |
| | قبل از تنش ^a ، ۳ روز ^b ، ۱۰ روز ^a | 0/253 | رطوبت |

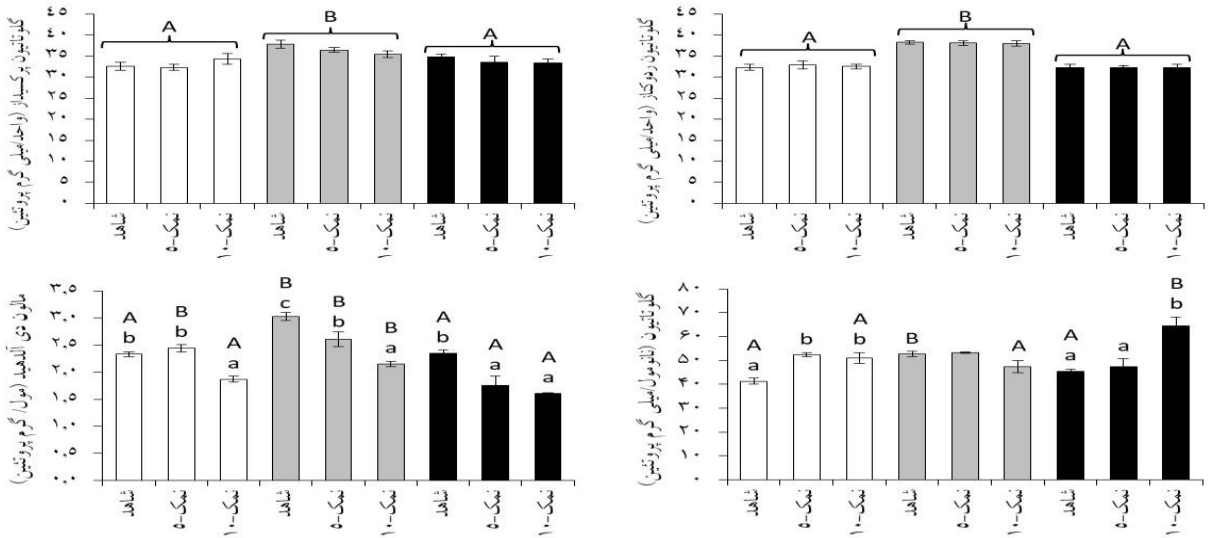
اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای غذایی مختلف یا زمان‌های نمونه‌برداری با حروف انگلیسی مختلف مشخص شده است.

بازگشت (جدول ۱ و شکل ۲). جیره‌های غذایی و زمان برهم‌کنش معنی‌داری روی مقدار گلوکاتایون و مالون دی‌آلدئید بدن داشتند (جدول ۱). مقدار گلوکاتایون بدن در تیمارهای نمک قبل از تنش به‌طور

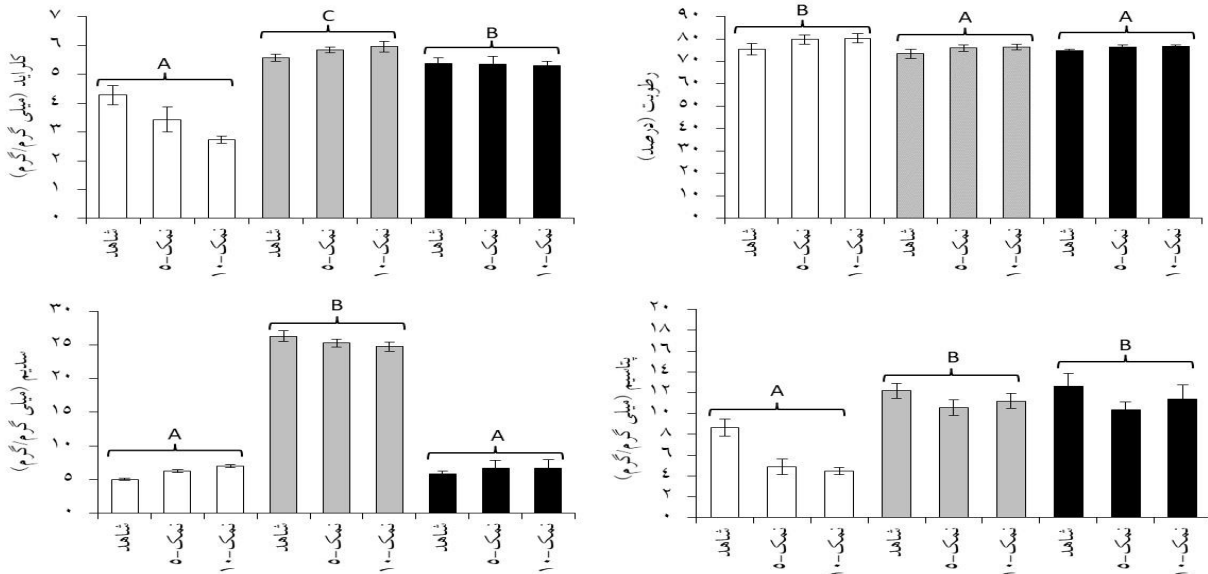
جیره‌های غذایی اثر معنی‌داری بر فعالیت گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکاتایون پرکسیداز نداشتند ولی فعالیت این دو آنزیم ۳ روز پس از تنش شوری افزایش یافت و پس از ۱۰ روز به مقادیر قبل از تنش

برداری اثر معنی‌داری بر غلظت پتاسیم بدن داشتند (شکل ۳). قبل از تنش شوری، تیمارهای نمک-۵ و نمک-۱۰ غلظت پتاسیم کمتری از تیمار شاهد داشتند. تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم پس از ۳ و ۱۰ روز شد. مقدار کلراید و سدیم بدن تحت تاثیر معنی‌دار زمان بود. مقدار سدیم و کلراید بدن به‌طوری معنی‌داری پس از ۳ روز مواجهه با آب لب‌شور افزایش و پس از ۱۰ روز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ با این حال تنها سدیم بدن در این زمان به مقادیر قبل از تنش بازگشت (شکل ۳).

معنی‌داری بالاتر از شاهد بود. همچنین، مقدار گلوکوتایون بدن در تیمار نمک-۱۰ پس از ۱۰ روز تنش شوری به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود (شکل ۲). مقدار مالون دی‌آلدئید بدن قبل از تنش در تیمار نمک-۱۰ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ همچنین ۳ و ۱۰ روز پس از تنش، تیمارهای نمک دارای مالون دی‌آلدئید کمتری نسبت به شاهد بودند (جدول ۱ و شکل ۲). زمان اثر معنی‌داری بر رطوبت بدن داشت به‌طوری‌که پس از تنش شوری، مقدار رطوبت بدن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱ و شکل ۳). جیره غذایی و زمان نمونه-



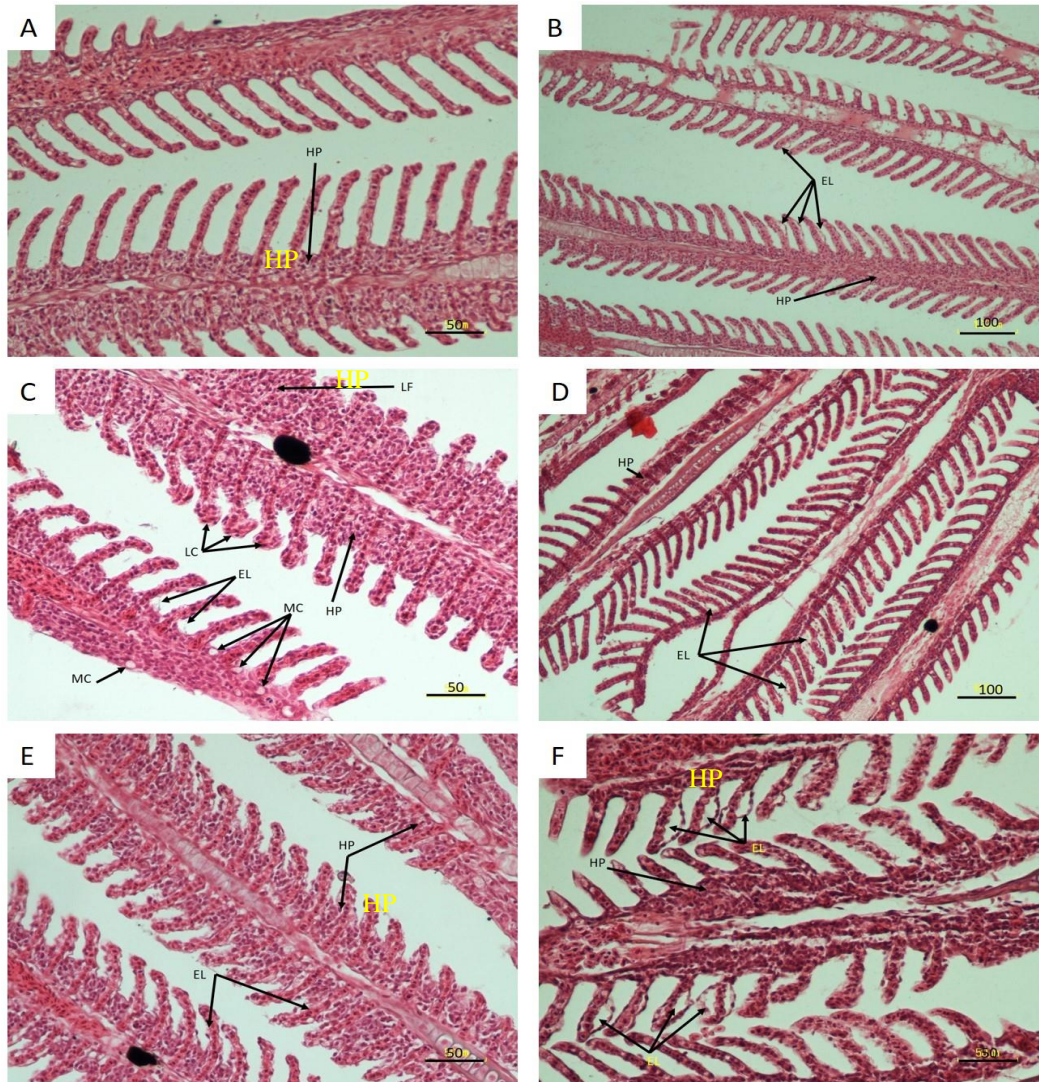
شکل ۲- فعالیت گلوکوتایون ردوکتاز، گلوکوتایون پراکسیداز، و مقدار گلوکوتایون و مالون دی‌آلدئید بدن قبل (میله‌های سفید)، ۳ روز (میله‌های خاکستری) و ۱۰ روز (میله‌های سیاه) پس از مواجهه مستقیم با آب دریا (شوری ۱۳ گرم در لیتر) در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰. حروف انگلیسی بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در زمان‌های مختلف است. حروف انگلیسی کوچک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارهای غذایی مختلف است (تعداد تکرار = ۳).



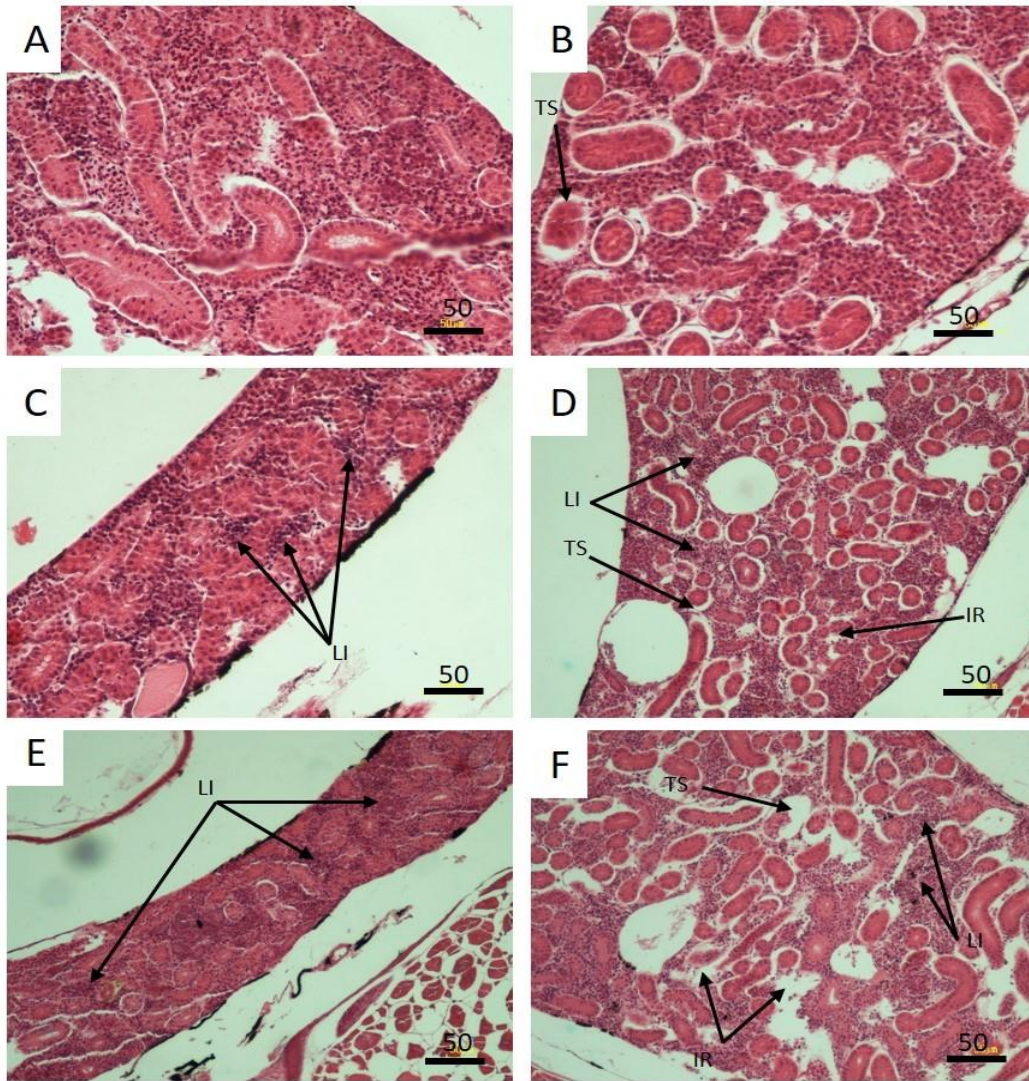
شکل ۳- درصد رطوبت بدن و غلظت پتاسیم، کلراید و سدیم بدن قبل (میله‌های سفید)، ۳ روز (میله‌های خاکستری) و ۱۰ روز (میله‌های سیاه) پس از مواجهه مستقیم با آب دریا (شوری ۱۳ گرم در لیتر) در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰. حروف انگلیسی بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در زمان‌های مختلف است. حروف انگلیسی کوچک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارهای غذایی مختلف است (تعداد تکرار = ۳).

لاملاهای ثانویه مشاهده گردید. در تیمار نمک-۱۰، بافت آبشش نسبتاً سالم بود و تنها مقداری جدا شدن لیفت لایه اپیتلیال و هایپرپلازی در لاملاهای ثانویه مشاهده شد (شکل ۴). قبل از تنش شوری، بافت کلیه در تیمار شاهد عوارضی نداشت ولی تیمارهای نمک تا حدودی نفوذ گلبول‌های سفید در بافت بینابینی داشتند. تنش شوری باعث چروکیدگی لوله‌های ادراری در تیمارها شد که شدت این عارضه در تیمارهای نمک بالاتر از شاهد بود. در تیمارهای نمک تا حدودی از هم گسیختگی بافت بینابینی و تجمع زیاد گلبول‌های سفید پس از تنش مشاهده شد (شکل ۵).

قبل از تنش شوری، مقداری هایپرپلازی در لاملاهای ثانویه در همه تیمارها مشاهده شد که شدت آن به این صورت بود: شاهد > نمک-۱۰ > نمک-۵ بود که در تیمار نمک-۵ تبدیل به چسبیدن لاملا به هم شده بود. جدا شدن لایه اپیتلیال در رشته‌های ثانویه در تیمارهای نمک مشاهده شد. همچنین در تیمار نمک-۵ عوارض چماقی شدن لاملاها و افزایش تعداد سلول‌های موکوسی مشاهده شد (شکل ۴). پس از تنش شوری، بافت آبشش در تیمار شاهد نسبتاً سالم بود و تنها کمی هایپرپلازی لاملاهای ثانویه و جدا شدن لایه اپیتلیال در برخی لاملاها مشاهده شد. در تیمار نمک-۵، جدا شدن لایه اپیتلیال و هایپرپلازی در



شکل ۴- مقطع بافتی آبشش ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ قبل و بعد از ۱۰ روز تنش شوری. A و C به ترتیب تیمارهای شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ قبل از تنش. B، D و F به ترتیب تیمارهای شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ بعد از تنش. HP: هایپرپلازی، EL: جداشدگی لاملا، LC: چماقی شدن لاملا، MC: سلول‌های موکوسی، LF: چسبیدگی لاملا. شاخص مقیاس ۱۰۰ و ۵۰ میکرون (زیر عکس‌ها) به ترتیب نشان دهنده بزرگنمایی ۱۰۰ و ۲۰۰ برابر هستند.



شکل ۵- مقطع بافتی کلیه ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ قبل و بعد از ۱۰ روز تنش شوری. A، C و E به ترتیب تیمارهای شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ قبل از تنش. B، D و F به ترتیب تیمارهای شاهد، نمک-۵ و نمک-۱۰ بعد از تنش. TS: چروکیدگی لوله‌های ادراری، LI: تجمع گلبول‌های سفید، IR: از هم گسیختگی بافت بینابینی. شاخص مقیاس ۵۰ میکرون (زیر عکس‌ها) نشان دهنده بزرگنمایی ۲۰۰ برابر است.

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

در لیتر دریای خزر داشته است؛ درحالی‌که میزان تلفات در شوری‌های ۵ و ۱۰ گرم در لیتر تا ۹۶ ساعت گزارش نشده است. میزان سدیم و پتاسیم خون به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری ۲۴ ساعت پس از مواجهه با آب لب‌شور ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر داشته است که نشان دهنده تنش اسمزی مرگبار در بچه ماهیان است (Gholami *et al.*, 2012). بچه ماهی کپور دریایی که پس از ۴۵ روز پرورش در آزمایشگاه به وزن ۴/۵ گرم رسیده بود، در مواجهه با تنش شوری ۱۳ گرم در لیتر (منشاء آب شور نامشخص) پس از ۷ روز تلفاتی نداشته است (Imanpoor *et al.*, 2015). در آزمایشی مشابه بچه ماهی کپور دریایی با وزن اولیه حدود ۲/۵ گرم به مدت ۸ هفته در شرایط آزمایشگاهی پرورش یافته و سپس به‌طور مستقیم به شوری ۱۳ گرم در لیتر (منشاء آب شور نامشخص) تلفات ناچیزی (کمتر از ۵ درصد) نشان داده است (Roohi *et al.*, 2017). بچه ماهی کپور دریایی (۱۰ گرمی)

ماهیان استنوهالین توانایی تنظیم اسمزی سریع در مواجهه با محیط‌های دارای شوری‌های مختلف را ندارند (Altinok and Grizzle, 2003). به‌طور کل ماهی کپور معمولی یک گونه استنوهالین محسوب می‌شود و این دیدگاه وجود دارد که رهاسازی مستقیم آن به دریای خزر می‌تواند برای آن کشنده باشد (Van der Linden *et al.*, 1999). از طرفی، به دلیل کمبود آب رودخانه‌ها و سفره غذایی گسترده‌تر در دریای خزر، رهاسازی مستقیم به دریا به عنوان یکی از گزینه‌های بازسازی ذخایر این گونه مطرح شده است (Mohiseni *et al.*, 2016). نتایج این تحقیق نشان داد که بچه ماهی کپور دریایی توانایی ذاتی تحمل انتقال مستقیم به آب لب‌شور دریای خزر را دارد. تحقیقات پیشین در این زمینه نتایج متفاوتی داشته‌اند. بچه ماهی کپور دریایی با وزن ۲/۱ گرم پس از یک هفته نگهداری در شرایط آزمایشگاهی، تلفات ۱۰۰ درصدی پس از ۲۴ ساعت مواجهه مستقیم با آب ۱۵ و ۲۰ گرم

پروکسیداز مسئول خنثی‌سازی پرکسید هیدروژن و سایر هیدرو-پروکسیدها است و در خلال فعالیت این آنزیم گلوکاتایون اکسید می‌شود که این شکل از گلوکاتایون از نظر زیستی فعالیت ندارد (Pastore *et al.*, 2001). گلوکاتایون ردوکتاز مسئول احیاء گلوکاتایون اکسید شده است (Galano and Alvarez-Idaboy, 2011). پس از انتقال ماهی به محیط هایپرتونیک، تعادل بیوشیمیایی غشای سلولی در اثر تنش شوری مختل می‌شود که مقدار زیادی ملکول اکسیژنی واکنشگر (reactive oxygen species) تولید می‌کند که می‌تواند باعث بروز استرس اکسیداتیو شوند (Huang *et al.*, 2021). در این تحقیق، انتقال ماهی به آب لب‌شور باعث افزایش فعالیت گلوکاتایون پروکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز و غلظت گلوکاتایون و مالون دی‌آلدهید شد. در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Huang *et al.*, 2021) و تیلایپای نیل (Shukry *et al.*, 2021) نیز تنش شوری منجر به فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بروز استرس اکسیداتیو (افزایش مالون دی‌آلدهید) شده است. نکته جالب توجه تحقیق حاضر این است که افزودن نمک به جیره غذایی (مخصوصاً ۱۰ درصد) منجر به کاهش مالون دی‌آلدهید و افزایش گلوکاتایون شد که نشان‌دهنده کاهش پروکسیداسیون چربی در این تیمارها است. در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بچه‌ماهی نوری کپور دریایی توانایی ذاتی تحمل انتقال مستقیم به آب دریای خزر را دارد و افزودن نمک به جیره غذایی اثر مثبتی بر تحمل تنش شوری ندارد. نتایج شاخص‌های بافت‌شناسی و آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند که ۵ گرم در کیلوگرم نمک باعث بروز آسیب‌های بافتی در ماهی می‌شود و افزودن ۱۰ گرم در کیلوگرم نمک باعث کاهش پروکسیداسیون چربی می‌شود. مطالعات بیشتر در زمینه عوامل موثر بر توانایی تحمل تنش شوری در این گونه مانند دمای آب و استرس‌های رایج در استخر خاکی و حمل و نقل به رودخانه می‌تواند دلیل تلفات این گونه در زمان رهاسازی به آب لب‌شور در شرایط میدانی را مشخص نماید.

پست الکترونیک نویسندگان

سیدمرتضی حسینی: seyedmorteza.hoseini@gmail.com
 سیدحسین حسینی‌فر: hoseinifar@gau.ac.ir
 عیسی شریف‌پور: isasharifghrh@gmail.com
 ملیکا قلیچ‌پور: ml.ghelichpour@gmail.com
 عباسعلی آقایی‌مقدم: t.ghaeifishery@gmail.com
 بهروز قره‌وی: behroozgharavy@yahoo.com

REFERENCES

- Alam M.S., Watanabe W.O., Myers A.R., Rezek T.C., Carroll P.M., Skrabal S.A. 2015. Effects of dietary salt supplementation on growth, body composition, tissue electrolytes, and gill and intestinal Na⁺/K⁺ ATPase activities of black sea bass reared at low salinity. *Aquaculture*, 446: 250-258.
- Al-Amoudi, M.M. 1987. The effect of high salt diet on the direct transfer of *Oreochromis mossambicus*, *O. spilurus* and *O. aureus*/*O. niloticus* hybrids to sea water. *Aquaculture*, 64: 333-338.

که به مدت ۱۰ روز در شوری آب ۳ گرم در لیتر (شوری طبیعی آب چاه) نگهداری شده بود پس از افزودن ۵ گرم در لیتر کلرید سدیم به آب تلفاتی نداشت ولی میزان کورتیزول، گلوکز و سدیم سرم ماهی افزایش داشت (Hoseini and Hosseini, 2012). در آزمایشی دیگر با استفاده از بچه ماهیان ۱۴ گرمی کپور (با منشاء مشابه مطالعه قبل) که در همان آب چاه نگهداری شده بودند، پس از افزودن ۷ گرم در لیتر کلرید سدیم، طی سه روز تلفات ۹۴ درصدی داشتند و افزایش میزان کورتیزول، گلوکز، کلراید و سدیم سرم در ماهی‌ها مشهود بود (Hoseini and Hosseini, 2010). ضروریست برای مقایسه نتایج عوامل مؤثری مانند ترکیب یونی آب (استفاده از آب دریا یا کلرید سدیم)، سن و وزن ماهی، منشاء ماهی (دریایی یا پرورشی) و دوره نگهداری در شرایط آزمایشگاهی مد نظر قرار گیرد. در این تحقیق تنش شوری باعث کاهش رطوبت و افزایش غلظت سدیم، کلراید و پتاسیم کل بدن شد که نشان می‌دهد ماهی تا حدودی دهیدراته شده است که با مطالعه قبلی روی این گونه در مواجهه با کلرید سدیم همخوانی دارد (Van der linden *et al.*, 1999). براساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که غلظت یون‌های ماهی کپور در مواجهه با محیط هایپراسمتیک، افزایش می‌یابد (Van der Linden *et al.*, 1999; De Boeck *et al.*, 2000; Hosseini and Hoseini, 2012) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. با این حال، افزودن نمک به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر غلظت یون‌ها و میزان رطوبت بدن نداشت. مطالعه مشابه روی ماهی کپور انجام نشده است ولی افزودن نمک از ۲/۵ تا ۱۲/۵ درصد به جیره غذایی سی‌باس سیاه اثر معنی‌داری بر غلظت سدیم و پتاسیم بدن ماهی نداشته است ولی میزان کلراید بدن در تیمار ۷/۵ درصد نمک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی در مقادیر بالاتر نمک جیره مجدداً کاهش یافت (Alam *et al.*, 2015). مکانیسم دقیق چنین تغییرات یونی در این تحقیق مشخص نیست و مطالعات بیشتری در خصوص میزان جذب یون‌ها از طریق جیره و دفع آنها از طریق آبشش و کلیه می‌تواند به درک این مکانیسم‌ها کمک نماید. مقاطع بافتی ماهی در این تحقیق به‌طور کل نشان می‌دهد که افزودن نمک به جیره غذایی اثر مثبتی بر اندام‌های دخیل در تنظیم یونی نداشته است. وجود آسیب در آبشش ماهیان قبل از تنش شوری می‌تواند ناشی از وضعیت سلامتی آنها در استخر خاکی قبل از شروع آزمایش باشد. این آسیب‌ها می‌توانند به‌دلیل وجود انگل‌ها یا مواد مضر در آب استخر باشد (Roberts, 2012) که پس از ورود به آب لب‌شور کاهش یافتند و می‌تواند به‌دلیل نقش درمان‌کنندگی آب لب‌شور باشد که در متون مختلفی به آن استناد شده است (Noga, 2010). همچنین، افزودن نمک به جیره غذایی (به‌خصوص ۵ گرم در کیلوگرم) باعث بروز آسیب‌هایی به آبشش و کلیه ماهی شد که دلیل آن مشخص نیست ولی نشان‌دهنده اثرات منفی این مقدار نمک در این گونه است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در حفاظت سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارند. گلوکاتایون یک ملکول آنتی‌اکسیدانی است که ضمن داشتن نقش روبش رادیکال آزاد، به‌عنوان کو-فاکتور در عملکرد آنزیم گلوکاتایون پروکسیداز نقش دارد (Xie *et al.*, 2017). گلوکاتایون

- Altinok I., Grizzle J.M. 2003. Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline and stenohaline freshwater fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 113-117.
- AOAC 2005. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA
- Bandani G., Larijani M., Frazli H., Daryanabard G. 2020. Analyzing the trend of catch rate and reconstruction of carp and roach in the Iranian waters of Caspian Sea. *Utilization and Cultivation of Aquatics*, 9: 45-56.
- Caxico Vieira C.A.S., Vieira J.S., Bastos M.S., Zancanela V., Barbosa L.T., Gasparino E., Del Vesco, A.P. 2018. Expression of genes related to antioxidant activity in Nile tilapia kept under salinity stress and fed diets containing different levels of vitamin C. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 81: 20-30.
- De Boeck G., Vlaeminck A., Van der Linden A., Blust R. 2000. The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation?. *Physiological and Biochemical Zoology*, 73: 102-111.
- Eddy F.B., Smith N.F., Hazon N., Grierson C. 1990. Circulatory and ionoregulatory effects of atrial natriuretic peptide on rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) fed normal or high levels of dietary salt. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8: 321-327.
- EPA Method 9250. Chloride (Colorimetric, Automated Ferricyanide). Available at: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/9250.pdf>
- Farabi S.M.V., Matinfar A., Behrouzi S., Sharifian M., Ghaneei Tehrani M. 2020. Investigation effect of salt supplementation on change of gill and kidney tissues of *Rutilus kutum*. *Journal of Aquaculture Development*, 14: 63-78
- Fontainhas-Fernandes A., Russell-Pinto F., Gomes E., Reis-Henriques M.A., Coimbra J. 2001. The effect of dietary sodium chloride on some osmoregulatory parameters of the teleost, *Oreochromis niloticus*, after transfer from freshwater to seawater. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23: 307-316.
- Galano A., Alvarez-Idaboy J.R. 2011. Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals. *Rsc Advances*, 1: 1763-1771.
- Ghelichpour M., Taheri Mirghaed A., Zargar A. 2020. The response of lufenuron-And flonicamid-exposed *Cyprinus carpio* to saltwater challenge: Study on ion-regulation and stress genes expression and plasma antioxidant characteristics. *Aquaculture Research*, 51: 4829-4837.
- Gholami F., Tajari M., Yosef Nejad S., Shahkar E., Kolangi Miandare H., Azimi A. 2013. Examination of some biochemical factors of blood serum in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings at different levels of salinity. *Journal of Fisheries*, 7: 37-44.
- Grant A.M., Gardner M., Hanson L.M., Farrell A.P., Brauner C.J. 2010. Early life stage salinity tolerance of wild and hatchery-reared juvenile pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha*. *Journal of Fish Biology*, 77: 1282-1292.
- Grant A., Gardner M., Nendick L., Sackville M., Farrell A.P., Brauner C.J. 2009. Growth and ionoregulatory ontogeny of wild and hatchery-raised juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Canadian Journal of Zoology*, 87: 221-228.
- Hoseini S.M., Hosseini S.A. 2010. Effect of dietary L-tryptophan on osmotic stress tolerance in common carp, *Cyprinus carpio*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 1061-1067.
- Hosseini S.A., Hoseini S.M. 2012. Effect of acute crowding stress on subsequent osmotic challenge and recovery in juvenile common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Comparative Clinical Pathology*, 21: 583-588.
- Huang M., Yang X., Zhou Y., Ge J., Davis D.A., Dong Y., Dong S. 2021. Growth, serum biochemical parameters, salinity tolerance and antioxidant enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to dietary taurine levels. *Marine Life Science & Technology*, 5: 1-14.
- Imanpoor M.R., Roohi Z., Salaghi Z., Beykzadeh A., Davoudipoor A. 2015. Effect of Primalac probiotic on growth indices, blood biochemical parameters, survival and resistance to salinity stress in *Cyprinus carpio*. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 4: 17-28.
- Lionetto M.G., Caricato R., Giordano M.E., Pascariello M.F., Marinosci L., Schettino T. 2003. Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 324-330.
- Mohiseni M., Banaee M., Nematdust Haghi B., Farabi S.M.V. 2016. Effects of feed deprivation on chloride cell development in kuttum fish (*Rutilus frisii kuttum*) during sea water challenge. *Journal of Aquatics Ecology*, 5: 88-97.
- Noga E.J. 2010. Fish disease: diagnosis and treatment. John Wiley & Sons.
- Pastore A., Piemonte F., Locatelli M., Lo Russo A., Gaeta L.M., Tozzi G., Federici G. 2001. Determination of blood total, reduced, and oxidized glutathione in pediatric subjects. *Clinical Chemistry*, 47: 1467-1469.
- Pellertier, D., Besner, M. 1992. The effect of salty diets and gradual transfer to sea water on osmotic adaptation, gill Na⁺, K⁺-ATPase activation, and survival of brook charr, *Salvelinus fontinalis*, Mitchill. *Journal of Fish Biology*, 41: 791-803.
- 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. *Journal of Experimental Biology*, 209: 4591-4596.
- Roberts R. J. 2012. Fish pathology. John Wiley & Sons.
- Roohi Z., Imanpoor M.R., Jafari V., Taghizadeh V. 2017. The effect of salinity stress on survival, biochemical and blood parameters in fingerling *Cyprinus carpio* fingerling fed with herbal supplement of *Carum carvi*. *Nova Biologica Reperta*, 4 (1): 48-55.
- Salman, N.A., Eddy, F.B. 1990. Increased sea-water adaptability of non-smolting rainbow trout by salt

- feeding. *Aquaculture*, 86: 259-270.
- Santos R.A., Bianchini A., Jorge M.B., Romano L.A., Sampaio L.A., Tesser M.B. 2014. *Cobia *Rachycentron canadum* L.* reared in low-salinity water: does dietary sodium chloride affect growth and osmoregulation?. *Aquaculture Research*, 45: 728-735.
- Shukry M., Abd El-Kader M.F., Hendam B.M., Dawood M.A., Farrag F.A., Aboelenin S.M., Abdel-Latif H.M. 2021. Dietary *Aspergillus oryzae* modulates serum biochemical indices, immune responses, oxidative stress, and transcription of HSP70 and cytokine genes in Nile tilapia exposed to salinity stress. *Animals*, 11: 1621.
- Smith N., Eddy F., Talbot C. 1995. Effect of dietary salt load on transepithelial Na⁺ exchange in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Experimental Biology*, 198: 2359-2364.
- Van der Linden A., Vanaudenhove M., Verhoye M., De Boeck G., Blust R. 1999. Osmoregulation of the common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to an osmotic challenge assessed *in-vivo* and non-invasively by diffusion-and T2-weighted magnetic resonance imaging. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 124: 343-352.
- Wu S.M., Jong K.J., Kuo S.Y. 2003. Effects of copper sulfate on ion balance and growth in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45: 357-363.
- Xie S., Tian L., Niu J., Liang G., Liu Y. 2017. Effect of N-acetyl cysteine and glycine supplementation on growth performance, glutathione synthesis, and antioxidative ability of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Fish physiology and biochemistry*, 43: 1011-1020.
- Zaugg W.S., Roley D.D., Prentice E.F., Gores K.X., Waknitz F.W. 1983. Increased seawater survival and contribution to the fishery of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by supplemental dietary salt. *Aquaculture*, 32: 183-188.

نحوه استناد به این مقاله:

حسینی س.م.، حسینی فر س.ح.، شریف‌پور ع.، قلیچ‌پور م.، آقایی‌مقدم ع.، قره‌وی ب. بررسی اثر کلرید سدیم در جیره غذایی بچه‌ماهی نوری کپور بر بقاء و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، یونی و بافت‌شناسی در مواجهه با تنش ناگهانی اسمزی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۲. ۶۹-۶۰: ۱۱(۱).

Hoseini S.M., Hoseinifar S.H., Sharifpour I., Ghelichpour M., Aghaei Moghaddam A., Gharavi B. The Effect of Sodium Chloride Supplementation in the Diet of Juvenile Wild Common Carp on Survival, Antioxidant and Ionic Characteristics, and Tissue Histology under Sudden Salinity Stress. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2023, 11(1): 60-69.

The Effect of Sodium Chloride Supplementation in the Diet of Juvenile Wild Common Carp on Survival, Antioxidant and Ionic Characteristics, and Tissue Histology under Sudden Salinity Stress

Hoseini S.M¹., Hoseinifar S.H^{2*}., Sharifpour I³., Ghelichpour M⁴., Aghaei Moghaddam A¹., Gharavi B¹.

¹ Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.

² Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

³ Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

⁴ Dept. of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Type:

Original Research Paper

<https://doi.org/10.22034/jair.11.1.60>

Paper History:

Received: 20-05-2023

Accepted: 19-06- 2023

Corresponding author:

Hoseinifar S.H. Dept. of Fisheries,
Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources, Gorgan,
Iran.

Email: hoseinifar@gau.ac.ir

Abstract

This study aimed to investigate the effect of salt (sodium chloride) supplementation in the diet on survival, biochemical indices, and tissue histology of juvenile wild common carp under salinity stress. Fish fry (approximately 1.1 g) were fed diets containing 0%, 5%, and 10% sodium chloride for 15 days, then directly transferred to brackish water (13 g/L) and sampled after 3 and 10 days. Diet or sampling time had no significant effect on survival and body moisture of fish. Sodium, glutathione reductase, and glutathione peroxidase levels in the body significantly increased three days after salinity stress, and returned to pre-stress levels after 10 days. Body moisture levels significantly decreased after salinity stress, but potassium and chloride levels in the body increased and remained significantly higher than pre-stress levels for up to 10 days. Prior to salinity stress, glutathione levels were higher in high salt treatment groups compared to control groups, and 10 days after salt stress, glutathione levels were higher in the 10% salt treatment group compared to the other two groups. Malondialdehyde in the body was significantly lower in sodium chloride treatments than the control. No significant and important histological lesions were found in the fish gill and kidney after salinity stress. This study suggests that wild carp fry can tolerate direct transfer to the Caspian Sea brackish water, without dietary sodium chloride supplementation. Dietary 10 g/kg salt supplementation decreases lipid peroxidation in the fish.

Keywords: osmoregulation, salt, glutathione, gill, kidney.