# بررسی اثرات شوری های مختلف بر بافت کلیه ماهی بنی (*Barbuss harpeyi*)

حسن مروتی[1*]، رحیم عبدی[2]، محمد مهدی شمسی[3]

[*] hmorovvati@ut.ac.ir

۱-استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲-استادیار گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۳- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۵

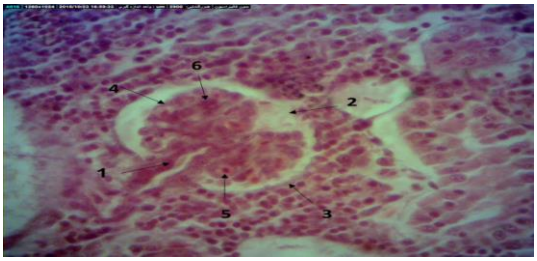
**کلمات کلیدی:** ماهی، بافت شناسی، شوری، انتقال تدریجی

کلیه نقش خود را در تنظیم اسمزی ماهیان استخوانی از طریق تغییر در میزان ادرار و ایجاد تعادل و توازن بین ترشح و بازجذب یون با توجه به شوری و اسمولالیته محیط آبی ایفا می کند (Kultz, 2015). قابلیت تنظیم اسمزی و یونی در جانوران آبزی آنها را برای تطابق با شرایط مختلف محیط از جمله تغییرات شوری توانمند ساخته است (Logan *et al*., 1980). در مطالعه ای که به جهت بررسی افزایش پاسخ های آنزیم و پتانسیل آن در راه اندازی بازجذب یون در کلیه به منظور حفظ هومئوستازی خامه ماهی *Chanos chanos* زمانیکه در معرض محیط هیپوتونیک قرار می گیرد در سال ۲۰۱۰ توسط Tang و همکاران انجام شد، گزارش کردند که آنزیم Na+, K+ -ATPase در محیط های مختلف در توبول های پروکسیمال، دیستال و جمع کننده حضور دارد اما در گلومرول ها غایب است. لذا با توجه به عدم وجود اطلاعات کامل در خصوص پارامترهای ذکر شده و ارتباط آن با درجات مختلف شوری آب محیط زندگی ماهی بنی، بررسی حاضر با اهداف شناسایی تغییر ساختار بافتی گونه در شوری های مختلف انجام پذیرفت.

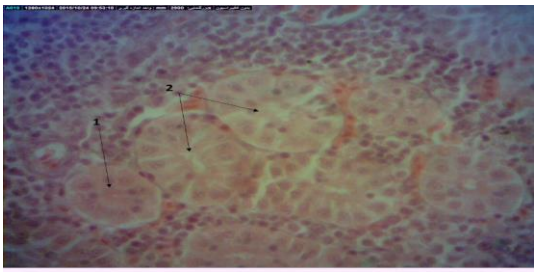
درمطالعه حاضر تعداد ۱۴۴ قطعه ماهی بنی سالم از مزارع پرورش ماهی دشت آزادگان با میانگین وزنی ۲/۳۶±۳۵۰ گرم و طول ۱/۲۵± ۲۵ سانتیمتر در ۵ گروه مورد استفاده قرار گرفت. این تحقیق در ۵ گروه که گروه اول به عنوان گروه شاهد درآب شهری، گروه دوم در محیط با شوری ۴ppt، گروه سوم در محیط با شوری ۸ppt، گروه چهارم در محیط با شوری ۱۲pptو گروه پنجم در شوری ۱۶ppt و در شرایط یکسان نگه‌داری شدند صورت گرفت. بدین ترتیب جهت نموه برداری در فاصله زمانی (۲۸ و۲۱، ۱۴، ۷، ۳، ۱) روز پس از انتقال ماهیان به تیمارهای مختلف پس از ثبت میزان تلفات، بطور تصادفی ۳ عدد ماهی از هر گروه از تیمارها صید و بلافاصله در داخل وان فایبر گلاس ۲۰ لیتری حاوی ۱۰۰ppm ماده بیهوشی عصاره ی میخک سپس نمونه‌ها بوسیله محلول هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (Kultz, 2015). برای مطالعه بافت شناسی، هیستومتری، آسیب بافتی و اندازه گیری قطر توبولهای ادراری بافت کلیه از میکروسکوپ نوری مجهز به لنز Dino Lite و نرم افزارDino Capture نسخه 2.0 استفاده گردید. تمامی تجزیه و تحلیل های آماری همانند (Mean±Se) مربوط به توبول های ادراری

و بررسی تاثیر شوری و زمان بر روی آن و برای مقایسه تاثیر شوری و زمان در تغییر قطر توبول ها و میزان بقاء توسط نرم افزار SPSS 18 انجام گرفت.

مشاهدات ماکروسکوپی نشان داد که گروهی از ماهیان که در شوری ۱۶ گرم در لیتر قرار گرفته بودند این شوری را تحمل نکرده و پس از ۱۲ ساعت همگی تلف گردیدند. همچنین ماهیانی که در شوری ۱۲ppt قرار گرفته بودند تنها یک قطعه و در روز ۲۶ تلف گردید. اما سایر ماهیانی که در شوری های ۴ppt، ۸ppt قرار گرفته بودند تا آخر دوره هیچ گونه تلفاتی مشاهده نگردید. این تغییرات نشان داد ماهی بنی یک ماهی نیمه شور پسند تا غلظت ۸ گرم در لیتر می باشد و حتی می‌تواند غلظت-های تا ۱۲ گرم در لیتر را نیز تحمل کند. کلیه ماهی بنی در نمونه شاهد به رنگ قرمز تیره، در مجاورت ستون فقرات و به صورت خارج صفاقی، در بالای کیسه شنا و در امتداد ستون فقرات از ناحیه سر تا انتهای خلفی بدن کشیده شده بود. مطالعات میکروکوپی بافت کلیه نشان داد که سطح خارجی کلیه توسط کپسول بسیار ظریفی از بافت همبند سست و یک ردیف سلول های مزوتلیایی از نوع سنگفرشی در سطح خارج پوشیده شده و بخش دفعی کلیه نفرونها شامل جسمک کلیوی و لوله های ادراری شامل بخش لوله پیچیده نزدیک، لوله پیچیده دور و لوله های جمع کننده ادراری مشاهده گردید. آسیب های بافتی همانند نکروز و دژنرسانس بافتی نیز در برخی از شوری ها گزارش گردید (اشکال۱ الی ۶). در مطالعات هیستومتری بیشترین تعداد و قطر گلومرول ها در روز ۲۸ مربوط به شوری ۱۲ppt و کمترین آن مربوط به آب شیرین و روز اول بوده است. همچنین کمترین قطر گلومرول ها متعلق به شوری ۴ppt و در همین روز بوده است. همچنین در طی این مدت بیشترین قطر لوله های جمع کننده در آب شیرین و در روز ۲۸ و کمترین قطر لوله های جمع کننده متعلق به شوری ۸ppt و در روز اول گزارش گردید. همچنین در طول این دوره در سازش با شوریهای مختلف بیشترین و کمترین ضخامت دیواره لوله های جمع کننده به ترتیب مربوط به آب شیرین در روز ۲۸ و ۸ppt و در روز اول گزارش گردید (جدول ۱ الی ۲).

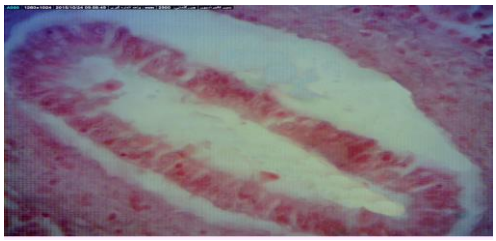



**شکل ۱: گلومرول کلیوی ماهی بنی آب شیرین، پل عروقی (۱)، فضای ادراری (۲)، اپیتلیوم جداری (۳) و احشایی (۴)، سلول مزانژیال (۵) و سلول پودوسیت (۶)، (H&E, x2900).**

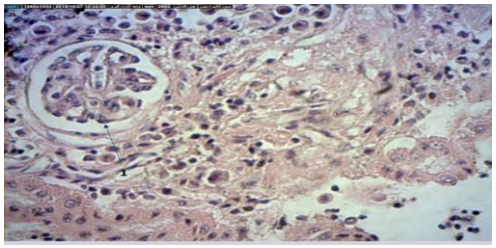



**شکل ۲: برش عرضی توبول های ادراری ماهی بنی آب شیرین، توبول پروکسیمال اولیه به همراه تراکم زیاد میکروویلی (۱)، توبول های پروکسیمال ثانویه به همراه تراکم اندک میکروویلی (۲)، (H&E, x2900).**

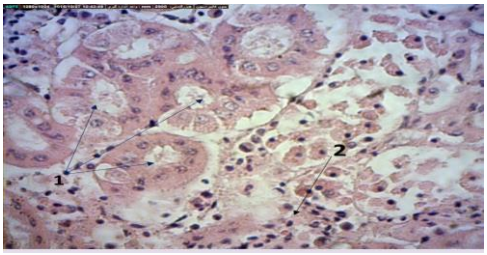
**شکل۳: برش عرضی توبول دیستال ماهی بنی آب شیرین به همراه تراکم بسیار اندک میکروویلی (۱)، (H&E, x2900).**



**شکل ۴: برش عرضی توبول جمع کننده ماهی بنی آب شیرین فاقد میکروویلی، (H&E, x2900).**



**شکل ۵: برش عرضی توبول گلومرول با سلول های نکروتیک (۱) کلیوی ماهی بنی تلف شده در آب با شوری ۱۶ppt، (H&E, x2900).**



**شکل ۶: برش عرضی توبول های ادراری به همراه دژنرسانس (۱) و پرخونی (۲) ماهی بنی تلف شده در آب با شوری ۱۶ppt، (H&E, x2900).**

**جدول ۱: (Mean ± Se) تعداد (ردیف بالا) و قطر (ردیف پایین) گلومرول ها کلیه ماهی بنی در آب شیرین و شوری های مختلف (p<0.05).**

| روز | ۱ | ۳ | ۷ | ۱۴ | ۲۱ | ۲۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شیرین | ۴/۴۳±۰/۲۱ | ۴/۴۳±۰/۲۱ | ۴/۷۳±۰/۲۶ | ۴/۸۵±۰/۲۹ | ۵/۰۳±۰/۲۲ | ۵/۱۱±۰/۲۴ |
| | ۶۰/۱۱±۱/۴۱ | ۶۰/۲۳±۱/۰۱ | ۶۰/۶۵±۱/۸۱ | ۶۰/۹۸±۱/۴۱ | ۶۱/۲۱±۱/۴۵ | ۶۱/۶۱±۱/۸۱ |
| ۴ppt | ۵/۳۳±۰/۲۶ | ۵/۶۷±۰/۲۴ | ۵/۸۴±۰/۱۶ | ۵/۹۳±۰/۱۱ | ۶/۳۲±۰/۲۴ | ۶/۵۴±۰/۲۹ |
| | ۵۲/۱۳±۱/۴۱ | ۵۲/۴۳±۱/۴۵ | ۵۲/۶۳±۱/۳۱ | ۵۲/۹۳±۱/۰۱ | ۵۳/۱۳±۱/۸۱ | ۵۳/۱۴±۱/۴۷ |
| ۸ppt | ۵/۶۶±۱/۰۱ | ۵/۶۹±۱/۸۱ | ۵/۸۱±۱/۹۸ | ۵/۹۱±۱/۰۱ | ۶/۶۴±۱/۳۱ | ۶/۹۸±۱/۴۴ |
| | ۵۳/۰۴±۱/۵۱ | ۵۳/۹۴±۱/۶۱ | ۵۴/۱۴±۱/۶۱ | ۵۴/۱۴±۱/۶۱ | ۵۵/۱۴±۱/۷۳ | ۵۵/۱۴±۱/۷۴ |
| ۱۲ppt | ۶/۲۱±۱/۷۳ | ۶/۲۶±۱/۷۸ | ۶/۸۹±۱/۲۳ | ۶/۹۷±۱/۷۱ | ۷/۷۱±۱/۷۴ | ۷/۸۹±۱/۷۹ |
| | ۶۲/۳۵±۱/۱۶ | ۶۲/۱۳±۱/۰۶ | ۶۳/۱۵±۱/۲۳ | ۶۳/۱۴±۱/۷۶ | ۶۴/۱۵±۱/۲۸ | ۶۵/۱۵±۱/۲۶ |

**جدول ۲: (Mean ± Se) قطر (ردیف بالا) و ضخامت دیواره (ردیف پایین) توبول های جمع کننده ادراری کلیه ماهی بنی در آب شیرین و شوری های مختلف (p<0.05).**

| روز | ۱ | ۳ | ۷ | ۱۴ | ۲۱ | ۲۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شیرین | ۱۲/۴۱±۱/۲۱ | ۱۲/۶۱±۱/۲۷ | ۱۲/۸۱±۱/۷۶ | ۱۲/۹۱±۱/۸۸ | ۱۳/۴۱±۱/۰۱ | ۱۴/۴۶±۱/۸۱ |
| | ۲۰/۴۱±۱/۴۶ | ۲۰/۶۱±۱/۳۶ | ۲۰/۷۱±۱/۱۶ | ۲۱/۴۶±۱/۴۴ | ۲۱/۴۴±۱/۴۹ | ۲۱/۴۱±۱/۴۸ |
| ۴ppt | ۱۰/۳۶±۱/۸۵ | ۱۰/۷۳±۱/۲۴ | ۱۰/۹۳±۱/۲۳ | ۱۲/۳۳±۱/۵۵ | ۱۳/۳۳±۱/۷۵ | ۱۴/۳۳±۱/۲۹ |
| | ۱۶/۱۶±۱/۹۷ | ۱۶/۸۴±۱/۴۱ | ۱۷/۱۴±۱/۲۱ | ۱۸/۱۴±۱/۹۶ | ۱۸/۹۷±۱/۵۱ | ۱۹/۱۴±۱/۷۱ |
| ۸ppt | ۷/۸۶±۱/۱۱ | ۷/۱۶±۱/۱۷ | ۸/۴۶±۱/۱۷ | ۹/۸۳±۱/۹۱ | ۹/۸۶±۱/۶۱ | ۱۰/۸۶±۱/۷۶ |
| | ۱۴/۰۹±۱/۵۸ | ۱۴/۵۹±۱/۰۸ | ۱۴/۹۹±۱/۵۱ | ۱۵/۶۹±۱/۰۸ | ۱۶/۰۷±۱/۵۴ | ۱۷/۱۹±۱/۵۹ |
| ۱۲ppt | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ | ۱۱/۵۱±۱/۶۴ |
| | ۱۸/۷۹±۱/۱۴ | ۱۸/۸۹±۱/۷۴ | ۱۸/۹۶±۱/۱۹ | ۱۹/۳۹±۱/۶۴ | ۲۰/۳۹±۱/۱۵ | ۲۱/۳۹±۱/۱۸ |

Kato و همکاران (۲۰۰۵) با مقایسه ساختار نفرون ها در گونه‌های مختلف نشان دادند که گونه های یوری هالین هنگام سازگاری با آب دریا گلومرول ها بصورت آزاد و وسیعی در فضای کپسول بومن گسترده شده بودند و قطر آنها نسبت به ماهیانی که در آب شیرین قرار گرفته بودند بزرگتر بود چنین سیستم انعطاف پذیری به خوبی برای تنظیم خودکار تولید ادرار هنگامی که ماهی در شوری های بالاتر از محیط زندگی خود قرار می گیرد مناسب است (Katoh *et al*., 2005). همچنین در ماهی شانک نقره ای سازگار شده به شوری های مختلف محیطی قطر لومن، ضخامت دیواره و تعداد لوله های جمع کننده در شوری های ۶ و ۱۲ ppt نسبت به شوری ۵ و ۳۳ ppt افزایش معنی داری در لوله های جمع کننده نشان داد که این افزایش در دیواره را دلیل بر افزایش جریان ادرار در

مجـرای مزونفریـک و تسـهیل در دفـع ادرار بیـان گردیـد (Tseng & Hwang, 2008). قطـر لـومن توبـول پروکسیمال در شوری ۱۰ و ۲۰ ppt در ۲۴ ساعت بعـد از اعمال شوری افزایش یافته و در روزهـای بعـدی بـا شـیب کمتری همراه بوده است (Kaneko *et al*., 2002) که بـا مطالعه اخیر بر روی بافت کلیه ماهی بنـی همخـوانی دارد. ورود ماهی به محیط هایپواسمتیک و ورود حجم زیـاد آب و کشیدگی بیشتر لومن می تواند از دلایل این افزایش قطر باشد که ممکن است به تدریج با فعال شدن مکانیسم های مختلف تنظیم اسمزی مانند کاهش در میزان نوشیدن آب، تغییر در نفوذپذیری پوست، برداشت فعال یون ها در حفره آبششی و همچنـین سـرعت زیـاد جریـان فیلتراسـیون در نفرون ها و تغییـر در تعـداد نفـرون هـای تصـفیه کننـده موجب بازگشت قطر لومن توبـول پروکسـیمال بـه حالـت عادی شـود (Townsely & Scott, 1963). توبـول هـای کلیوی برای سازگاری بـا شـرایط هایپواسـمتیک تغییـرات موفولوژی سریعی را نشان می دهد، تغییـرات سـاختاری و بـافتی مراحلـی تـدریجی در شـرایط اسـمزی نیسـت. در تحقیقی که بروی مـاهی شـیرین *Etroplus maculates* طی قرار گرفتن در شـوری هـای ۳۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ ppt انجام شد مشاهده شد که قطر لـومن بافـت کلیـه کـاهش معنی داری نشان داد که طـی سـازگاری، قطـر لـومن بـه مقادیر اندازه گیری در آب شیرین بازگشت که این کاهش در قطر لومن را بـه دلیـل کـاهش در میـزان فیلتراسـیون گلومرولی بیان کردند (Nebel *et al*., 2005). در بررسـی کلیه لامپری رودخانـه ای *Lamprey lamperta* سـازش یافته با آب شور، در ماهی سازش یافتـه بـا ۵۰٪ آب دریـا نسبت به همین ماهی در آب شـیرین، میـزان تولیـد ادرار کاهش یافت که این کاهش با کـاهش میـزان فیلتراسـیون گلومرولی و افزایش بازجذب آب مرتبط بود (Kaneko *et al*., 2002).

بر اساس این تحقیق مشخص گردید گه گونه مورد نظر دارای توانایی تنظیم حیاتی در برابر شوری های مختلف بطوری که تا ۴ppt مطلوب آن بوده و شوری های ۸ppt تا ۱۲ppt برای آن قابل تحمل اما مقدار ۱۶ppt همراه با عوارض می باشد.

## منابع

**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, 68: 1–9. DOI:org/10.1046/j.1444-2906.2002.00382.

**Katoh, F., Kaneko, T., Shiraishi, K., Hasegawa, S. and Hiroi J., 2005.** Chloride cells during early life stages of fish and their functional differentiation. Fisheries Sci, 68: 1-9. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01050.x.

**Kultz, D., 2015.** Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. Journal of Experimental Biology, 218: 1907-1914. DOI: 10.1242/jeb.118695

**Lin, C.H., Tsai, R.S. and Lee, T.H., 2004**. Expression and distribution of Na, K-ATPase in gill and kidney of the spotted green pufferfish, *Tetraodon nigroviridis*, in response to salinity challenge. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 138: 287– 295. DOI: 10.1013/*j*.com.20024.07.014.

**Logan, A., Moriarty, R. and Rankin, J., 1980.** Micropuncture study of kidney function in the river lamprey *(Lampetra fluviatilis)*, adapted to fresh water. Journal of Experimental and Biology, 85: 137-147. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.07.020.

**Nebel, C., Negre-Sadargues, G., Blasco, C. and Charmantier, G., 2005.** Morphological ontogeny of the urinary system of the European sea bass *Dicentrachus labrax*. Anatomy and

Embryology, 209: 193-206. DOI: 10.1047/s03338-012-1106-6.

**Tang, C. Tsai, S. and Lee, T., 2010.** Elevated Na+/K+-ATPase responses and its potential role in triggering ion reabsorption in kidneys for homeostasis of marine euryhaline milkfish (Chanoschanos) when acclimated to hypotonic fresh water. Journal of Comparative Physiology B, 180: 813-824. DOI: 10.1007/s00360-010-0458-x.

**Tseng, Y. and Hwang, P., 2008.** Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. Comparative Biochemical Physiology C, 148: 419-429. DOI: 10.1186/s12864-016-2537-1.

**Townsely, P. and Scott, M., 1963.** Systolic muscular action of the kidney tubules of flounder. Journal of Fish Research, 20: 243-244. DOI: https://doi.org/10.1017/S002531540003784X.

# Effect of different salinity concentration on kidney of benni, *Barbus sharpey*i

Morovvati H.[1]*; Abdi R.[2]; Shamsi M.M.[3]

*hmorovvati@ut.ac.ir

1-Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran
2-Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology
3- Faculty of Veterinary Medicine, Ahvaz university of Shahid Chamran

## Abstract

For this study, 144 healthy *Barbus sharpeyi* with an average weight of 350 ± 2.36 grams and length 25 ± 1.25 cm in five groups were studied. The first group as control located in municipal dechlorination water and the next four groups respectively were kept in salinity 4ppt, 8ppt, 12ppt and 16ppt in the same condition. On days 1 , 3 , 7 , 14 , 21 and 28 sample of kidney with maximum thickness of 0.5 cm prepare and were placed in bouin's solution.Then the standard method of parafin sections were done and 5- 6 micrometer thick of tissue sections prepared and stained with H&E methods. Results showed the gradual transfer of fish to water with high salinity caused obvious changes as increase the number and diameter of the glomeruli especially in high salinity but the severity was reduced at the end of the period ($p<0.05$). Also highest diameter and thickness of the collecting tubules were reported in fresh water at 28 days ($p<0.05$). These findings suggest that fish *Barbus sharpeyi* was friendly with salinity and ability to set vital to different salinity.

**Keywords:** Fish, Histology, Salinity, Gradation

*Corresponding author