

اثرات دمای دوران انکوباسیون و لاروی بر روی تغییرات بافت ماهیچه ای لارو ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877)

حمیدرضا عزیزاده ثابت^۱، محمدرضا کلباسی^{۲*}، محمد پورکاظمی^۳، مجید صادقی زاده^۴

* kalbassi_m@modares.ac.ir

- ۱- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی، گروه محیط زیست پردیس نور، ایران
- ۲- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم دریایی، گروه آبی پروری پردیس نور، ایران
- ۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۴- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: دیماه ۱۳۹۴

چکیده

در این تحقیق اثرات دما بعنوان یکی از مهمترین عوامل زیست محیطی و آثار احتمالی آن در مراحل مختلف زندگی ماهی آزاد دریای خزر با شبیه سازی شرایط انکوباسیون طبیعی و مقایسه با درجه حرارت سرد و گرم در سه دستگاه انکوباتور مدار بسته با سه تیمار در دماهای ثابت ۴، ۸ و ۱۲ درجه سانتیگراد برای تخم های سبز مولدین وحشی و سه تیمار با دماهای فوق برای تخم های سبز مولدین پرورشی مورد مطالعه قرار گرفت. دوره انکوباسیون در شرایط تاریکی و با استفاده از آب برداشت شده از محل طبیعی تخم ریزی این ماهی و با پایش دیجیتال دما و اکسیژن محلول در آب در طول مدت انکوباسیون تا پایان جذب کیسه زرده و شروع مرحله لاروی انجام شد. تعداد و قطر رشته های ماهیچه ای سفید اختلاف معنی داری بین سه تیمار سرد، شاهد و گرم در هر دو گروه وحشی و پرورشی نشان داد. تعداد مقاطع ماهیچه ای در تیمار گرم بیشترین میانگین (۷۲/۵۴ عدد) و قطر رشته های ماهیچه ای سفید کمترین میانگین (۸/۴۶ میکرون) و در تیمار سرد بیشترین قطر رشته های ماهیچه ای سفید با کمترین تعداد بترتیب با میانگین های ۲۰/۵۹ میکرون و ۵۰/۷۲ عدد ملاحظه گردید. با محاسبه موفقیت در تفریح تلفات قابل توجه تخم در دمای سرد ثبت و بهترین دما در انکوباتور شاهد (۸°C) در نسل وحشی ماهی آزاد دریای خزر ملاحظه گردید. دمای انکوباسیون با ایجاد تأثیر معنی داری در رشته های ماهیچه ای سفید بعنوان نشانگر مهمی از وضعیت عضلات تشکیل دهنده گوشت ماهی و تغییرات شکلی شناخته شد که می تواند در ملاحظات بازسازی ذخایر طبیعی و برنامه های اهلی سازی این ماهی مورد توجه قرار گیرد.

لغات کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، دما، رشته ماهیچه سفید، اهلی سازی، بازسازی ذخایر.

* نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر زیرگونه ای رودکوج بومی حوضه جنوبی دریای خزر از نظر تنوع زیستی و اقتصادی از ارزش بسیار بالایی برخوردار است. در میان ۳۴ خانواده شناسایی شده از ماهیان آب شیرین ایران، خانواده آزادماهیان (Salmonidae)، دارای دو گونه بومی (Native) می باشد (Coad, ۲۰۱۵). در مقیاس جهانی ۱۱ جنس و حدود ۲۱۳ گونه از آزادماهیان در آب های سرد نیمکره شمالی تاکنون شناسایی گردیده اند (Nelson, ; Eschmeyer & Fong, 2011) (2006)، این ماهی از تبار ماهی قزل آلائی قهوه ای (Brown trout)، زیرگونه ای بومی در دریای خزر با قدمت حدود پانزده هزار سال می باشد (فریدپاک، ۱۳۷۰). ماهی آزاد دریای خزر در مقایسه با معیارهای اتحادیه جهانی حفاظت از طبیعت بطور بحرانی در معرض خطر بوده (Jalali & Mojazi Amiri, 2009) و موقعیت ویژه ای در برنامه های شیلات ایران دارد (Kalbassi et al., 2012). بخاطر سپاری ویژگی های محیط زیست^۱ و نیز برنامه حرارتی طبیعی در چرخه زندگی این ماهی سبب گردیده تغییر در شرایط طبیعی محیط زیست آثار مخربی بر ذخایر وحشی آن داشته باشد. به نظر می رسد فشار صید و مهم تر از آن تنگنای زیستگاهی موجب انحراف چرخه زندگی از مسیر طبیعی شده و آسیب پذیری این زیرگونه در مقابل شرایط نامساعد محیطی طی یک قرن اخیر تشدید گردیده است.

با توجه به سابقه تاریخی حضور ماهی آزاد در آبهای سرزمینی ایران و ارزش زیستی _ بوم شناختی، اقتصادی و مقبولیت ویژه برای مصرف کنندگان، سرمایه گذاری هنگفتی طی پنجاه سال گذشته از طریق سازمان های دولتی برای حفظ نسل و بازسازی ذخایر این ماهی انجام شده است. نیاز به پژوهش های کاربردی برای بررسی ابعاد مختلف زیست شناسی این ماهی با اختصاص برنامه راهبردی تحقیقات از طریق وزارت جهاد کشاورزی به ماهی آزاد دریای خزر از سال ۱۳۸۷ شکل رسمی بخود گرفته و مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور نیز بعنوان نهاد تدوین کننده اسناد راهبردی تحقیقات شیلات در

کشور موضوع ضرورت پژوهش های بنیادی - کاربردی ماهی آزاد دریای خزر را در دستور کار قرار داده است. عدم وجود رویکرد دمایی مناسب در دوران انکوباسیون و مراحل بحرانی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد موجب این نگرانی شده است که دمای نامناسب و تغییرات دمایی منجر به تولید لاروهایی آسیب دیده از این ماهی گردد. منابع علمی بررسی شده نشان می دهند که الزاماً عوارض این آلودگی دمایی تا دوران لاروی و در مرحله زندگی آب شیرین ماهی (مرحله Parr تا Smolt که در معرض دید ناظران است) بروز نکرده و پس از رهاسازی و در محیط آبی لب شور، احتمال ناهنجاری های بوجود آمده در دوران تکامل جنینی سبب خسارت به ذخایر گردد (Wargelius et al., 2005). به نظر می رسد این موضوع که از چشم مجریان پنهان مانده، یکی از اسباب تضعیف موفقیت شیلات در بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر باشد.

از نظر ساختاری ماهیچه های مخطط در ماهی در مقایسه با ماهیچه های اسکلتی مهره داران عالی از سه بخش اصلی پروتئین های منقبض شونده، چربی ها و بافت پیوندی تشکیل شده اند که هم از نظر شکل شناسی و هم از نظر کیفیت گوشت ماهی بعنوان ماده غذایی بسیار تأثیرگذار است. در ماهیان علی رغم مهره داران عالی، رشته های ماهیچه ای مخطط بصورت لایه های مجزا تمایز یافته و رشته های ماهیچه ای سفید از نوع بی هوازی و گلیکولیتیک بوده و با اختصاص ۹۵-۹۰٪ کل ماهیچه ها در بیشتر ماهیان بر انواع دیگر رشته های ماهیچه ای غالب هستند. رشته های ماهیچه ای قرمز عموماً محدود به نوار باریکی به موازات خط جانبی بوده و تنها کمتر از ۱۰٪ بافت ماهیچه ای ماهی را به خود اختصاص می دهند. رشته های ماهیچه ای حدواسط (صورتی) به نظر می رسد در آزادماهیان وجود نداشته و اعتقاد بر این است که نسبت رشته های ماهیچه ای با عملکرد اختصاصی شان به برهم کنش دو عامل ژنتیکی و محیط زیست بستگی داشته باشد (Kiessling et al., 2006).

دمای محیط آبی به ویژه در دوران حساس انکوباسیون به نظر می رسد از مهمترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر

^۱ Imprinting

برای تیمار آب تازه و زدودن مواد بیولوژیک احتمالی پس از تعویض آب روزانه در ورودی سیستم تصفیه آب به مدت ۹۰ دقیقه خارج از انکوباتورها انجام می گرفت. برای جلوگیری از تغییر دمای آب در مخزن تصفیه هنگام پرتودهی روزانه با UVC، از قطعات یخ که با استفاده از آب REDD قبلاً تهیه و آماده شده بود استفاده شد. حجم آب در گردش در هر انکوباتور ۱۷ لیتر و تعویض آب به میزان ۲ لیتر در شبانه روز برای انکوباتورها منظور گردید. یک هفته قبل از شروع انکوباسیون، انکوباتورها از نظر پایداری گردش آب، هوادهی و برخی فراسنجه های فیزیکی و شیمیایی به ویژه دمای آب و اکسیژن محلول در آب کنترل شدند و سه دستگاه پمپ هوادهی، یک کپسول اکسیژن و سیستم برق اضطراری (UPS) در مدار سه انکوباتور قرار داده شدند.

آب مورد استفاده در این عملیات آزمایشگاهی از یک سرشاخه های رودخانه دوهزار تنکابن (شاخه دریاسر) برداشت شده و پس از گذراندن از صافی چشمه ریز در محل، به کارگاه منتقل و ذخیره سازی گردید. کلیه مراحل انکوباسیون در شرایط تاریکی با الگوی طبیعی، در انکوباتورهایی با قابلیت تثبیت دمای آب انجام شد. به منظور حذف سایر عوامل محیطی در تکامل جنینی ماهی آزاد از آب تیمار شده عاری از عوامل بیماریزا، پایش فاکتورهای pH و DO بترتیب در دامنه $0/2 \pm 8/5$ درجه و $0/5 \pm 10$ میلی گرم در لیتر استفاده شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در انکوباسیون در جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱: مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در

انکوباسیون	
مشخصه	اندازه
دمای آب	۵/۵ درجه سانتیگراد
pH	۸/۴۳
EC	۳۱۳ میکروزیمنس بر سانتیمتر
DO	۱۰/۱۸ میلی گرم بر لیتر

بافت ماهیچه ای می باشد و نقش بسزایی در شکل گیری بدن ماهی از نظر ارتفاع بدن، طول و وزن بدن و ضریب چاقی داشته باشد. با توجه به هدف عملیات بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر برای جبران خسارت وارده به زی توده این ماهیان، منطقی به نظر می رسد که بچه ماهیان Pre Smolt آماده رهاسازی به طبیعت، از نظر شکلی مشابه نمونه های تولید شده و رشد یافته در طبیعت باشند و هرگونه تغییر ساختاری در ماهیان تولید شده در کارگاه های بازسازی ذخایر می تواند منجر به تضعیف عملیات پرهزینه بازسازی ذخایر و تأثیر منفی در بازماندگی و ضریب بازگشت شیلاتی شود. بسیاری از گونه های آزادماهیان از جمله ماهی آزاد دریای خزر رودکوچ هستند و این خصوصیت باعث شده است هم در آب شیرین و هم در محیط زیست دریایی شور و لب شور امکان پرورش آنها وجود داشته باشد (Pennell & Barton, 1996). در سال های اخیر برخی کارگاه های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی بخش خصوصی اقدام به تکثیر و پرورش ماهی آزاد دریای خزر نموده با اینکه هنوز پروژه اهلی سازی ماهی آزاد دریای خزر توسط مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور گام های نخست را برداشته (ذبیحی و همکاران، ۱۳۸۵) و هنوز دستورالعمل تکثیر و پرورش این زیرگونه بعنوان ماهی پرورشی منتشر نگردیده است (ذبیحی، ۱۳۹۳). با تقسیم بندی چرخه زندگی ماهی آزاد در طبیعت به دو بخش زندگی در آب شیرین و زندگی دریایی، مسأله مورد نظر در این پژوهش در بخش زندگی آب شیرین این زیرگونه تعریف شده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیرپذیری ماهی آزاد دریای خزر در مراحل اولیه رشدونمو از دمای آب انکوباسیون تا لاروی با ارزیابی تعداد و سطح مقطع فیبرهای ماهیچه ای در مرحله لاروی به روش بافت شناسی صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

مطالعات میدانی

عملیات کارگاهی در سالن تکثیر و پرورش آزادماهیان مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن انجام شد. پرتودهی

تعداد ۱۸۶۵۳ عدد تخم سبز ماهی آزاد دریای خزر شامل ۱۰۵۱۱ عدد تخم سبز وحشی و ۸۱۴۲ عدد تخم سبز پرورشی (پس از هم دمایی تدریجی به مدت یک ساعت) در سه تیمار دمایی (سه دستگاه انکوباتور دارای دمای ثابت ۴، ۸ و ۱۲ درجه سانتیگراد) و سه تکرار برای هر دو گروه وحشی و پرورشی با مشخصات جدول ۲ خوابانده شد:

در این پژوهش از دو گروه مولد ماهی آزاد دریای خزر به شرح زیر استفاده شد:

گروه اول: تخم های سبز پنج جفت از مولدین فرم پاییزه ماهی آزاد دریای خزر صید شده از مصب رودخانه چشمه کیله تنکابن که در مرکز تکثیر و پرورش آزادماهیان شهید باهنر کلاردشت تکثیر گردیده و با استفاده از جعبه مخصوص حمل تخم آزادماهیان به کارگاه محل انجام تحقیق انتقال یافتند.

گروه دوم: تخم های سبز استحصال شده از پنج جفت مولدین نسل اول پرورشی ماهی آزاد مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور (تنکابن)

جدول ۲: ترکیب بارگذاری انکوباتورها

تعداد تخم	وزن تخم	تعداد تخم	تعداد تخم	وزن تخم	تعداد تخم	دمای انکوباتور (°C)
پرورشی	پرورشی	پرورشی	وحشی	وحشی	وحشی	
در ۱ گرم	(گرم)	(عدد)	در ۱ گرم	(گرم)	(عدد)	
(عدد)			(عدد)			
۹/۵	۲۶۶	۲۵۲۵	۹/۵	۳۸۳/۰۹	۳۶۳۰	۴
۹/۵	۳۰۱/۰۲	۲۸۵۴	۹/۲	۳۸۴/۷۱	۳۵۲۶	۸
۹/۲	۳۰۰/۶۲	۲۷۶۳	۹/۲	۳۶۵/۹۷	۳۳۵۵	۱۲

پردازش آماری داده ها

طرح آزمایشات در این پژوهش در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی انجام شد. نرمال بودن داده های حاصل از اندازه گیری قطر رشته های ماهیچه ای سفید و تعداد آنها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و شاپیرو بررسی شد، سپس با آزمون T مستقل میانگین های محاسباتی مورد سنجش قرار گرفتند. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) برای مقایسه میانگین های قطر و تعداد رشته های ماهیچه ای سفید بین تیمارهای مختلف استفاده شد. همچنین جهت بررسی معنی دار بودن میانگین ها از آزمون تک دامنه دانکن استفاده شد. جهت تعیین میزان همبستگی بین پارامترهای محاسباتی از آزمون اسپیرمن (با توجه به نرمال بودن داده ها) استفاده گردید.

مطالعات بافت شناسی

پس از جذب کیسه زرده و در مرحله لاروی نمونه های لارو (کل بدن) در محلول بوئن تثبیت شده و با استفاده از تنظیم درجات الکلی برای مطالعات بافت شناسی به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس (پردیس نور) منتقل شدند. بافت شناسی کلاسیک طبق دستورالعمل Hesni و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. مراحل مختلف رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین- ائوزین طبق دستور العمل Fischer و همکاران (۲۰۰۸) صورت گرفت. از هر تیمار دمایی ۲۵۰۰ مورد اندازه گیری قطر رشته های ماهیچه ای سفید انجام شد.

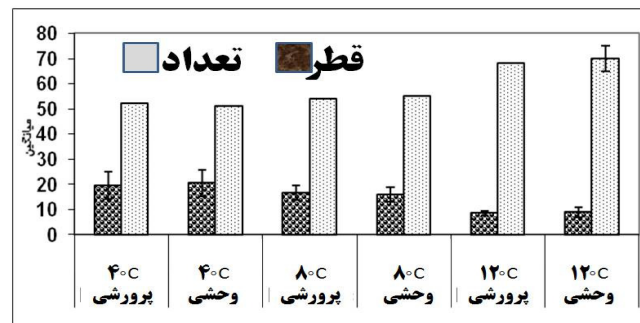
نتایج

۱۹/۴۹ میکرون در گروه پرورشی و $۵/۳۲ \pm ۲۰/۵۹$ میکرون در گروه وحشی با میانگین وزن $۰/۰۶۳$ گرم هر دو با تعداد ۵۱ عدد دسته رشته های ماهیچه ای سفید اندازه گیری شد. در تیمار شاهد (۸°C) قطر رشته های ماهیچه ای سفید $۲/۹۳ \pm ۱۶/۵۹$ و $۳/۰۶ \pm ۱۵/۹۴$ میکرون بترتیب در گروه پرورشی (میانگین وزن $۰/۰۵۴$ گرم) و وحشی (میانگین وزن $۰/۰۵۶$ گرم) هر دو با تعداد ۵۴ عدد دسته رشته های ماهیچه ای سفید محاسبه گردید. در تیمار دمایی گرم (۱۲°C) میانگین قطر رشته های ماهیچه ای سفید $۱/۰۱ \pm ۸/۴۶$ میکرون در گروه پرورشی (میانگین وزن $۰/۰۴۵$ گرم) با ۶۸ عدد دسته رشته های ماهیچه ای و $۲/۱۱ \pm ۸/۸۴$ میکرون در گروه وحشی (میانگین وزن $۰/۰۴۷$ گرم) با تعداد ۷۰ عدد دسته رشته های ماهیچه ای سفید اندازه گیری شد.

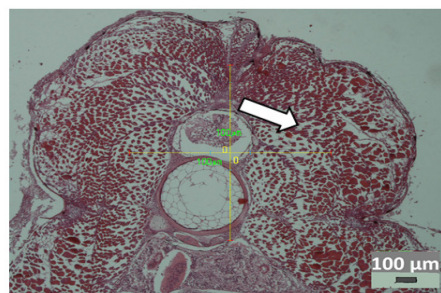
با ثبت وقایع زمانی دوره انکوباسیون ماهی آزاد دریای خزر، تخم های سبز در هر دو گروه وحشی و پرورشی در ۵۲۸، ۶۷۲ و ۷۲۰ روز- درجه بترتیب در تیمارهای دمایی ۴، ۸ و ۱۲ درجه سانتیگراد پس از جذب کیسه زرده به مرحله لاروی رسیدند.

مقاطع میکروسکوپی تیمارهای مختلف با استفاده از میکروسکوپ نیکون ECLIPSE - E200 مجهز به دوربین دیجیتال DS-Fi1 با بزرگنمایی 400 X مشاهده و تصویربرداری شد (مساحت محدوده بررسی در هر اسلاید میکروسکوپی $۰/۰۳۵$ میلی متر مربع) همزمان با اندازه گیری قطر، تعداد رشته های ماهیچه ای سفید به کمک نرم افزار Nikon Digital Sight DS-L2 اندازه گیری شد.

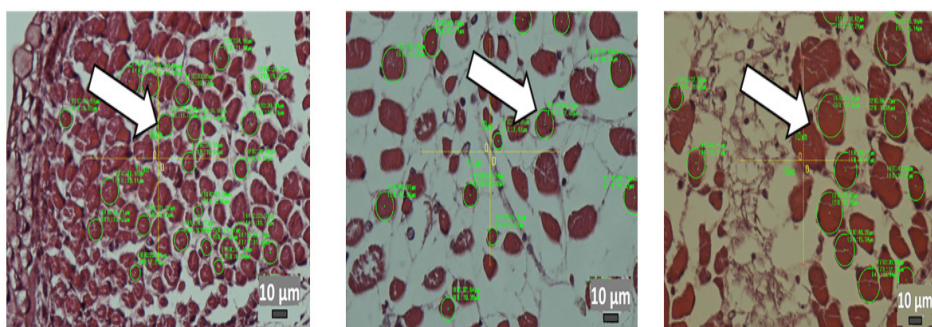
در تیمار دمایی سرد (۴°C) با میانگین وزن $۰/۰۵۹$ گرم و میانگین قطر رشته های ماهیچه ای سفید $۵/۴۹ \pm$



شکل ۱: مقایسه میانگین های قطر (MD) با مقیاس میکرون و تعداد (Numbers) رشته های ماهیچه ای سفید با مقیاس عدد لارو ماهی آزاد دریای خزر در سه تیمار دمایی ۴، ۸ و ۱۲ درجه سانتیگراد



شکل شماره ۲: برش عرضی از بافت عضله زیر ناحیه باله پشتی لارو وحشی ماهی آزاد دریای خزر
مقاطع رشته های ماهیچه ای سفید پس از رنگ آمیزی همتوکسیلین-انئوزین به صورت نقاط قرمز در تصویر دیده می شوند.
علامت پیکان نشاندهنده موقعیت رشته های ماهیچه ای سفید است.



سمت راست (تیمار سرد) وسط (تیمار شاهد) سمت چپ (تیمار گرم) (بزرگنمایی $400 \times$ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین) دایره های سبز ابزار اندازه گیری نرم افزار Nikon Digital Sight DS-L2 است. علامت پیکان نشاندهنده مقطع رشته های ماهیچه ای سفید است.

جمله آزادماهیان (Ojanguren & Brana, 2003, Bascinar & Okumus, 2004, Alp *et al.*, 2010, Finn, 2007, Kupren *et al.*, 2011) مطالعه قرار گرفته است. عبدالباقیان و همکاران (۱۳۹۴) اثر دما و غذا بر روی رشد و بازماندگی نوزادان فرشته ماهی که گرم آبی و آکواریومی است را مورد مطالعه قرار داده اند. پژوهشی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان به کاهش مدت زمان مناسب جهت تخم کشی در دمای 2°C درجه سانتیگراد و نقش دما در حفظ کیفیت تخمک ها اشاره نمودند و در این پژوهش تایید گردید که در دامنه دمایی مناسب برای تولید مثل با افزایش دمای آب دوره مناسب جهت تخم کشی از مولدین کوتاهتر می گردد. بطوری که باقی ماندن تخمک ها در محوطه شکمی مولدین در دمای 2°C درجه سانتیگراد نسبت به دمای 8°C درجه سانتیگراد نتایج بهتری را در خصوص نرخ چشم زدگی و تخم گشایی نشان داد (محقق ثمرین و همکاران، ۱۳۸۶). در پژوهش اخیر از هیچگونه آزمون های تشخیصی آسیب های احتمالی به تخم ماهی و یا در مرحله جنینی و لاروی ماهی قزل آلابی رنگین کمان اشاره ای نگردیده است. اما در مورد ماهی آزاد دریای خزر مطالعات محدودی با رویکرد مورفولوژیک انتشار یافته که در اینجا مورد بررسی قرار گرفته است. گزارشی در خصوص روند تفریح و جذب کیسه زرده ماهی آزاد دریای خزر توسط Kocabas (2012) منتشر شده و Vera و همکارانش (۲۰۱۰) نیز

بهترین وضعیت برای مشاهده رشته های ماهیچه ای سفید در میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $400\times$ برابر بدست آمد. مقطع عرضی لارو ماهی آزاد دریای خزر در زیر ناحیه باله پشتی در شکل شماره ۲ و نمونه های تصاویر مقاطع عرضی سه تیمار دمایی برای نمایش وضعیت رشته های ماهیچه ای سفید در شکل شماره ۳ آورده شده است.

بحث

طی پنج سال گذشته برخی از فعالان صنعت آبی پروری سردآبی را برآن داشته تا برای تکثیر و پرورش مصنوعی این ماهی در حوضچه های گرد، هشت ضلعی و کانال های دراز طراحی شده برای ماهی قزل آلابی رنگین کمان آزمون و خطا نمایند. توسعه قفس های شناور و ترویج پرورش ماهی در قفس، متقاضی ماهیان سازگار با شرایط اقلیمی و محیط زیستی دریای خزر می باشد و ماهی آزاد دریای خزر بعنوان یک ماهی پرورشی جذاب مورد توجه قرار گرفته است. این در حالی است که هنوز جنبه های مهمی از زیست شناسی این ماهی مورد توجه دست اندرکاران شیلات و آبی پروری قرار نگرفته، اثرات فرار ماهیان آزاد دریای خزر با ضایعات ساختاری پنهان از قفس های شناور به دریای خزر و نیز چگونگی محصول آبی پروری این گونه ماهیان از نظر کیفیت گوشت مورد مطالعه قرار نگرفته است.

تأثیر دمای محیط آبی بر رشد و نمو ماهیان از جنبه های مختلف پیش از این بر گونه های مختلف ماهی از

سطح مقطع عرضی بزرگتری بوده و در شش هفتگی و دوازده ماهگی در مقایسه با ماهیان گرم سازش یافته که در درجات حرارت گرم تر پرورش یافته بودند از نظر طول و وزن بزرگتر و سنگین تر بودند (Johnston *et al.*, 2000). به نظر می رسد انعطاف پذیری ماهیچه ای معلول القای حرارتی یا واپس رانی ژن ها طی مراحل بحرانی نمو باشد (Johnston & Hall, 2004, Johnston, 2006). رشته های ماهیچه ای سفید بخش اصلی ماهیچه های اسکلتی ماهی را تشکیل می دهند (Sanger & Stoiber, 2001). بطور کلی بیشترین قطر رشته های سفید بین ۵۰ تا ۱۰۰ میکرومتر و در بعضی موارد بیشتر گزارش شده است (Kießling *et al.*, 2006) در آزادماهیان رشته های ماهیچه ای سفید حدود ۶۶ - ۵۶ درصد توده بدن را شامل می شوند، بسیار جزئی دارای رگ های خونی بوده و عملکرد غیرهوازی دارند، در فعالیت های نیازمند به حرکت سریع نظیر شکار طعمه یا فرار از شکارچی با مکانیسم هورمونی و عصبی ویژه ای باعث حرکت سریع ماهی می شوند (Pennell & Barton, 1996).

با توجه به اهمیت شناخته شده رشته های ماهیچه ای سفید در آزادماهیان (کیفیت گوشت و بازماندگی ماهی در طبیعت) و تأثیرپذیری مستقیم قطر و تعداد این رشته ها در ماهی آزاد دریای خزر از دمای پرورش به ویژه در دوران انکوباسیون بعنوان یک عامل فیزیکی و محیطی تأثیرگذار برای صنعت شیلات و آبی پروری اجتناب ناپذیر است. بدیهی است شروط لازم برای موفقیت بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر: ۱- تنظیم فعالیت های صید، ۲- بازسازی محل های طبیعی تخم ریزی و پرورش لارو در طبیعت و در نهایت ۳- تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان برای ترمیم ذخایر بترتیب اولویت می باشد و حال که دو اولویت اول رها شده و تنها بازسازی ذخایر به اولویت سوم اشاره شده در بالا خلاصه شده است، مقتضی است تا بوجود آمدن تغییر دیدگاه در مدیریت کلان شیلات برای پرداختن به دو اولویت اول، تکثیر مصنوعی تا پرورش اسمولت ماهی آزاد با استفاده از بهترین اطلاعات علمی بدست آمده انجام شود.

گزارشی در مورد پراکنش جغرافیایی، فیلوژنی، ساختار ژنتیکی و حفاظت ماهی آزاد دریای خزر منتشر نموده اند. گزارش شده است که ۲ درجه سانتیگراد افزایش دمای انکوباسیون ماهی آزاد دریای خزر منجر به کوتاه تر شدن دوران انکوباسیون به مدت ۲۰ روز شده بطوریکه هیچگونه بدشکلی و اشکالات مورفولوژیک تا پایان جذب کیسه زرده مشاهده نگردیده است (Pourramezani & Kalbassi, 2008). همچنین مطالعات انجام شده در دوران انکوباسیون قزل آلاهی قهوه ای محدوده پایین و بالای دمای انکوباسیون را بترتیب ۴ و ۱۴ درجه سانتیگراد بیان نموده است (Ojanguren & Brana, 2003). نکته حائز اهمیت در هر دو گزارش فوق عدم وجود ضایعه و خسارت قابل مشاهده در بچه ماهیان آزاد و قزل آلاهی قهوه ای است بدون اینکه از آزمون های تأییدکننده بافت شناسی و یا ژنتیکی برای بررسی خسارت های احتمالی و پنهان بافتی و یا ژنومیک ماهیان زنده استفاده شده باشد. در این پژوهش با ایجاد شرایط انکوباسیون کاملاً مشابه در سه دستگاه انکوباتور مداربسته با سه درجه دمای ثابت ۴، ۸ و ۱۲ درجه سانتیگراد، تخم سبز ماهی آزاد دریای خزر مراحل رشد و نمو جنینی را طی نموده و در مرحله لاروی در سه تیمار دمایی سرد (۴°C)، شاهد (۸°C) و گرم (۱۲°C) نمونه برداری شد. با در نظر گرفتن یک متغیر (دمای انکوباسیون)، نتایج حاصل از مطالعه میکروسکوپی بافت لاروها حاکی از تفاوت معنی دار لاروهای رشد یافته در دماهای ثابت ذکر شده بود. گرچه بین گروه های وحشی و اهلی در تیمارهای دمایی مشابه تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. بطوری که در شرایط سرد انکوباسیون رشته های ماهیچه ای سفید قطورتر با تعداد کمتر و در شرایط گرم انکوباسیون تعداد زیادتری از رشته های ماهیچه ای سفید با قطر کمتر و وضعیت بینابینی در تیمار شاهد ملاحظه گردید. در مطالعاتی که توسط Johnston و همکارانش (2000) انجام شده، لاروهای - سرد سازش یافته- ۲ هنگامی که در شرایط دمای سردتر تفریح می شدند دارای

عبدالباقیان، س.، متین فر، ع. و جمیلی، ش.، ۱۳۹۴. اثر دما و غذا بر روی رشد و بازماندگی نوزادان فرشته ماهی *Pterophyllum scalare*. فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۱۵۱-۱۴۳: ۱۷(۲).
 فریدپاک، ف.، ۱۳۷۰. چگونگی و زمان راهیابی ماهی آزاد به دریاها، خزر، سیاه و اورال. ماهنامه آبیان. ۲۳-۲۲: ۷.

محققی ثمرین، آ.، رفیعی، غ.، مجازی امیری، ب.، احمدی م. ر. و ویلکی، ا.، ۱۳۸۶. تاثیر دما بر کیفیت تخمک ها، پس از سیال شدن آن ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران. ۲۶۸-۲۶۳: ۶۲(۵).

Alp, A., Erer, M. and Kamalak, A., 2010.

Eggs Incubation, Early Development and growth in fries of Brown trout (*Salmo trutta macrostigma*) and Black Sea trout (*Salmo trutta labrax*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 10: 387-394.

Bascinar, N. and Okumus, I., 2004. The early development of Brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill): Survival and growth rates of alevins. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences . 28: 297-301.

Eschmeyer, W.N. and Fong, J.D., 2011.

Pisces. In Z.-Q. Zhang (ed.), Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Zootaxa. 3148, 23: 26-38.

Finn, R.N., 2007. The physiology and toxicology of salmonid eggs and larvae in relation to water quality criteria. Aquatic toxicology. 81: 337-354.

Fischer, A.H., Jacobson, K.A., Rose, J. and Zeller, R., 2008. Hematoxylin and eosin

در جمع بندی نهایی دمای ۸ درجه سانتیگراد با بیشترین موفقیت در تفریح و کمترین مرگ و میر بعنوان دمای بهینه برای انکوباسیون نسل وحشی و یا پرورشی ماهی آزاد دریای خزر بدون ایجاد تأثیر معنی داری در رشته های ماهیچه ای سفید که بعنوان نشانگری مهم از وضعیت عضلات تشکیل دهنده گوشت ماهی و بالطبع ایجاد تغییرات شکلی بدن این ماهی در مراحل بعدی رشد قابل استناد است مورد ملاحظه قرار گرفت و به نظر می رسد تسریع و یا تاخیر در مدت زمان انکوباسیون این گونه مخاطراتی را در آینده برای این ماهی ایجاد نماید که مطالعات تکمیلی مورفولوژیک، اکوفیزیولوژیک و ژنتیک در آینده جنبه های ناشناخته از چرخه زندگی این ماهی با ارزش را هم برای بخش شیلات و هم صنعت آبی پروری روشنتر خواهد نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و همچنین از صندوق ملی حمایت از پژوهشگران جهت تامین بخش مهمی از اعتبارات و تجهیزات و امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز این تحقیق اعلام می دارند. از مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و از مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور (تنکابن) برای در اختیار گذاشتن کارگاه تخصصی تکثیر و پرورش آزادماهیان و مرکز تکثیر و پرورش آزادماهیان شهید باهنر کلاردشت به جهت در اختیار گذاشتن تخم سبز نسل وحشی ماهی آزاد دریای خزر جهت انجام عملیات لقاح مصنوعی و تیمارداری سپاسگزار است. از آقای مهندس میلاد اسماعیل بیگی دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات نیز برای همکاری در عملیات آزمایشگاهی بافت شناسی کمال تشکر و امتنان را دارد.

منابع

ذبیحی، م.، ۱۳۹۳. تولید نسل G3 ماهی آزاد دریای خزر. کتاب سال ۹۳ مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور- تنکابن .

(<http://cfrc.ifro.ir/portal.aspx?tabid=2370>)

- Protocols, 2008, pdb.prot4986.
- Hesni, M.A., Savari, A., Sohrab, A.D. and Mortazavi, M.S., 2011.** Gill Histopathological Changes in Milkfish (*Chanos chanos*) Exposed to Acute Toxicity of Diesel Oil, World Applied Sciences Journal 14 (10): 1487-1492.
- Jalali, M.A. and Mojazi Amiri, B., 2009.** Threatened fishes of the world: *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) (Salmoniforms: Salmonidae). Environmental Biology of Fishes. 86(3): 375-376.
- Johnston, I.A., McLay, H.A., Abercromby, M. and Duncan, R., 2000.** Early thermal experience has different effects on growth and muscle fibre recruitment in spring- and autumn-running Atlantic salmon populations. Journal of Experimental Biology. 203: 2539–2564.
- Johnston, I.A., 2006.** Environmental plasticity of myogenesis in teleost fish. Journal of Experimental Biology. 209: 2249–2264.
- Johnston, I.A. and Hall, T.E., 2004.** Mechanisms of muscle development and responses to temperature change in fish larvae. American Fisheries Society Symposium. 40.
- Kalbassi, M.R., Abdollahzadeh, E. and Salarijoo, H., 2012.** A review on aquaculture development in Iran. Journal of Ecopersia. 1(2): 159-178.
- Kiessling, A., Ruohonen, K. and Bjornevik, M., 2006.** Muscle fiber growth and quality in fish. Archives Animal Breeding., Dummerstorf. Special Issue. 49: 137-146.
- staining of tissue and cell sections. CSH
- Kocabas, M., Bascinar, N., Sahin, S.A. and Kutluyer, F., 2012.** Hatching performances and yolk sac absorptions of Caspian Brown trout (*Salmo trutta caspius* T., 1954). The Journal of Animal & Plant Sciences. 22 (1): 88-92.
- Kupren, K., Mamcarz, A. and Kucharczyk, D., 2011.** Effects of variable and constant thermal conditions on embryonic and early larval development of fish from the genus *Leusiscus* (Cyprinidae, Teleostei). Czech Journal of Animal Science. 56(1): 70-80.
- Nelson, J.S., 2006.** Fishes of the World, 4th Edition. 624 p.
- Ojanguren, A.F. and Brana, F., 2003.** Thermal dependence of embryonic growth and development in Brown trout. Journal of Fish Biology. 62: 580-590.
- Pennell, W. and Barton, B.A., 1996.** Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Principles of Salmonid Culture. Chapter 2 - General Biology of Salmonids. (29)2: 29-95.
- Pourramezani, M. and Kalbassi, M.R., 2008.** Hatching Acceleration of Caspian Brown Trout (*Salmo trutta caspius*) in an Experimental Incubator and its Effect on some Larval Quality Parameters. Tarbiat Modares Univ. M.Sc dissertation, 97 p.
- Sänger, A. M. and Stoiber, W., 2001.** Muscle fibre diversity and plasticity In Muscle Development and Growth. Fish Physiology. San Diego: Academic Press. Vol. 18 (ed. I. A. Johnston), pp.141-184.

- Stoiber, W., Haslett, J.R., Wenk, R., Steinbacher, P., Gollmann, H.P. and Sanger, A.M., 2002.** Cellularity changes in developing red and white fish muscle at different temperatures: simulating natural environmental conditions for temperate freshwater Cyprinid. *The Journal of Experimental Biology*. 205: 2349-2364.
- Vera, M., Sourinejad, I., Bouza, C., Vilas, R., Vilas, Pino-Querido, Kalbassi, M. R. and Martínez, P., 2010.** Phylogeography, genetic structure, and conservation of the endangered Caspian Brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877), from Iran. *Hydrobiologia*, 664 (1): 51-67.
- Wargelius, A., Fjelldal, P.G. and Hansen, T., 2005.** Heat shock during early somitogenesis induces caudal vertebral column defects in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Development Genes and Evolution*. 215: 350–357.

Effects of incubation and larval rearing temperature on histological changes of muscles in Caspian trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) larvae

Alizadeh Sabet H.R.¹; Kalbassi M.R.^{2*}; Pourkazemi M.³, Sadeghizadeh M.⁴

* kalbassi_m@modares.ac.ir

1-Department of Environment, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2-Department of Aquaculture, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Training and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4-Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Out of considerable environmental factors, temperature and its possible effects on life stages of Caspian trout investigated by natural incubation (8°C) condition simulation comparing with cold (4°C) and warm (12°C) constant incubation temperatures in 3 well equipped incubators by water recycling systems. Green eggs triple treatments of wild and F1 cultured brooders were incubated. Incubation implemented in dark by using REDD water and DO-pH – temperature digital monitoring ended to yolk sac absorption and entering larval stage. Numbers and diameters of white fiber muscles measured and significant differences considered between three thermal treatments ($P < 0.05$) in both wild and cultured stocks. The numbers of white fiber muscles in warm treatment by highest means (72.54) and lowest diameter (8.46 micrometer) compared with Cold treatment white fiber muscles diameter (20.59 micrometer) and numbers (50.72) which were the highest diameter and lowest numbers means between treatments. Hatching success stated considerable mortality for cold treatments and 8°C incubator improved the best temperature in wild treatment. Incubation temperature induced significant effect on white fiber muscles stated considerable index for flesh precursor muscles condition which is subject of natural stocks rehabilitation and domestication projects considerations.

Keywords: Caspian trout, Temperature, White fiber muscle, Domestication, Stocks rehabilitation

*Corresponding author