



مطالعه هیستوشیمیایی بافت کبد ماهی مولی *Pocilia spheonops* ماده در سه گروه سنی مولد، پیش مولد و نابالغ

شبنم فراهانی^{*۱}

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی خصوصیات هیستوشیمیایی کبد ماهی مولی ماده در سه گروه سنی مولد، پیش مولد و نابالغ در تاریخ بهمن ماه ۱۳۸۸ در مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه علوم و تحقیقات واحد تهران انجام پذیرفت و تعداد ۶۰ عدد ماهی مولی ماده جهت انجام مراحل هیستوشیمیایی در تعیین عناصر لیپید، پروتئین، خاکستر و رطوبت کل بافت مورد بررسی گرفتند. کبد های استحصال شده در ماهیان فوق الذکر در فریزری با دمای ۷۰- تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند.

بر اساس آنالیز آماری داده ها، در بافت کبد اختلافات معنادار ($P < 0.05$) در میزان لیپید و پروتئین در هر سه گروه دیده شد. اما در میزان رطوبت و خاکستر در سه گروه اختلاف معنادار مشاهده نشد. بررسی میزان خاکستر، رطوبت و پروتئین بافت کبد در گروه های مربوطه نشان داد که میزان این عناصر در گروه نابالغ از دو گروه پیش مولد و مولد بیشتر بود. اندازه گیری مقدار لیپید در بافت کبد ماهیان حاکی از بالاتر بودن مقدار این عنصر در گروه پیش مولد نسبت به گروه مولد و نابالغ بود.

واژه های کلیدی: هیستوشیمیایی، کبد، تخمدان، مولی ماده (مولد، پیش مولد و نابالغ).

مقدمه

هدف از انجام این تحقیق بررسی خصوصیات هیستوشیمیایی (محاسبه درصد لیپید، پروتئین، خاکستر، رطوبت) کبد ماهی مولی سیاه ماده از خانواده *Mulliensiae* با نام علمی *Pocilia spheonops* در سه گروه سنی مولد، پیش مولد و نابالغ می باشد.

ماهیان متنوع ترین گروه مهره داران جهان اند که سازگاریهای مورفولوژی و فیزیولوژی بسیاری را از خود نشان می دهند (ستاری، ۱۳۸۱). تعداد این گونه ماهیان اخیرا در حدود ۲۵۰۰۰ گونه تخمین زده شده است. ماهی مولی از خانواده *Mulliensiae* است که ساکن آبهای ساحلی فلوریدا، از خلیج مکزیک تا رودهای آب شیرین مکزیک و گواتمالاست. این ماهیان زبیتی در رنگهای سفید، سیاه، پرتقالی، قرمز، زرد و نارنجی یافت می شوند. مولی ها زنده زا هستند، طبعی آرام دارند و علاقه مند به خوردن گیاه جلبک هستند. حداکثر طول بدن ماده ها ۱۰ cm و نرها به ۸ cm می رسد (ارجینی، ۱۳۸۱).

از آنجا که در ماهیان استخوانی، رشد و ساختار پروتئینی کیسه زرده به طور عمده به سنتز هورمونی و جذب اگزوزینوس پروتئین ها توسط تخمدان بستگی دارد (Vandervan, 2003) که در نهایت این تغییرات سبب رشد و نمو جنین شده و مهم ترین منابع در تامین مواد مغذی مورد نیاز تخم می باشد، لذا توسط بررسی هیستوشیمیایی کبد (به عنوان اندامی که نقش بسیار مهمی در متابولیسم لیپید ها، جذب عناصر مختلف، اکسیداسیون، انجام تبادلات اسید های چرب) مانند فراهم کردن زنجیره های بلند HUFAs در

*۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

Shabi.farahani@yahoo.com



اندوکرین ارگان های روده‌ای - معدی ۱۵ نمونه ماهی نیل (*Oreochromis niloticus*) را تعیین کردند. Vanderven و همکارانش در سال ۲۰۰۳ به و ارزیابی هیستوشیمی و ایمونوشیمی mRNA در زبیرای (*Denio* *rerio*) پرداختند. Ortiz و همکارانش در سال ۲۰۰۸ خصوصیات هیستوشیمیایی و ایمونوهیستوشیمی تخمک و زرده در ماهی دم شمشیری (*Xiphias gladius*) را مطالعه کردند. Cirrascaf و Scussel در سال ۲۰۰۸ ساختار هیستوشیمیایی گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) را آنالیز نمودند.

مواد و روش کار

ماهیان مولی ماده در گروه‌های سنی مولد (۴ ماهه)، پیش مولد (۳ ماهه) و نابالغ (۱.۵ تا ۲ ماهه) به تعداد ۶۰ عدد (هر گروه ۲۰ عدد ماهی مولی) جهت انجام بررسی های هیستوشیمیایی (اندازه گیری لیپید، پروتئین، خاکستر و رطوبت) لحاظ گردید. انتقال ماهیان در کیسه هایی که ۲/۳ حجم آن از هوا و ۱/۳ از آب پر شده بود صورت گرفت. دمای آب آکواریوم ها ۲۳ درجه سانتی گراد، pH آب آکواریوم ۸، سختی ۳۷۰ ppm، حجم آبگیری آکواریومها ۶۱/۲ لیتر و مدت زمان نگهداری هر گروه در آزمایشگاه یک روز بود. مولی ها به نور مستقیم خورشید نیازی ندارند. هیچ ماده دارویی به آب آکواریوم ها افزوده نشد. در مرحله بعد ماهیان بیومتری و کالبد شکافی شدند و کبد ها جهت انجام مراحل هیستوشیمیایی در فریزری با دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که گروه بندی ماهیان به سه دسته مولد، پیش مولد و نابالغ بر اساس سن، طول و وزن بدن، پهنای شکم و در آخر رسیدگی تخمدان ها انجام شد. در نهایت داده های حاصل از بیومتری وزن و طول بدن و کبد در جداول مربوطه ثبت گردید.

بافت های دیگر) می توان در آینده به تولید جیره های غذایی مناسب تر بر اساس درصد عناصر موجود در بافت های آبزیان، پرورش ماهیان اقتصادی (گوشتی و زینتی) و لاروهایی با ماندگاری و درصد لقاح بالاتر نائل آمد.

هیستوشیمی نیز روشی نوین در تعیین فعالیتهای هورمونی و ردیابی پروتئینها در اندامها و بافتهاست. این تکنیک در جسم زرده ماهیان آب شیرین و حتی کبد ماهیان دریایی و بررسی فعالیتهای استروژنیک حائز اهمیت است (Vanderven, 2003).

Nunomura و همکارانش در سال ۱۹۸۳ به روش ایمونوهیستوشیمیایی در سلول های کبدی ماهیان ماده بالغ و نابالغ از خانواده سالمونیده شامل (*Salmo gardinieri*, *Oncorhynchus keta*, *Salvelinus leucomaenis*) محل زرده سازی را تعیین نمودند. Hara و همکارانش در سال ۱۹۸۴ به روش هیستوشیمی به مطالعه ویتلوژنین و مشتقات آن در پروتئین های کیسه زرده ماهی Whitespotted char (*Salvelinus leucomaenis*) پرداختند. Castagnaro و همکارانش در سال ۱۹۹۱ توسط هیستوشیمی کلیه قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به بررسی بیماری های کلیوی پرداختند.

Parker و همکارانش در سال ۱۹۹۳ با ارزیابی خواص هیستوشیمیایی و بیوشیمیایی تومورهای هیپاتیک (کبدی) ۵۰ عدد قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و مطالعه تومورهای کبدی به تغییرات ساختاری کبد دست یافتند. Gaspar و همکارانش در سال ۱۹۹۸ به روش هیستوشیمی غدد سلولی در تفریح جنین قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را مورد مطالعه قرار دادند. Koprucu و Sisek koprucu در سال ۲۰۰۲ به روش ایمونوهیستوشیمی هورمون های پپتیدی در سلول های



محاسبات هیستوشیمیایی

روش سوکسله در اندازه گیری لیپید: برای اندازه گیری مقدار لیپید از اتردوپترول با نقطه جوش ۴۰-۶۰ درجه سانتیگراد استفاده شد و در اثر سرد شدن به صورت قطرات مایع داخل جداکننده ریخته بر گشته و چربی موجود در بافت را در خود حل می نماید. پس از اینکه حجم اتر در داخل جداکننده به مقدار معینی رسید، از لوله های جداری دوباره داخل بالن می شود و این عمل ساعتها ادامه می یابد تا چربی بافت کاملاً استخراج شود (AOAC, 1996).

روش کلدال در اندازه گیری پروتئین

هضم: بافت مورد آزمایش را در یک ورقه کوچک آلومینیومی و یا در کاغذ صافی کوچک دقیقاً وزن کرده و در داخل بالن هضم انداخته، سپس کاتالیزور و اسید سولفوریک غلیظ را به آن اضافه نموده و توسط یک گاز حرارت می دهیم، تا زمانی که مایع زلال و بی رنگی (آبی کم‌رنگ) متمایل به سبز که در اثر ماندن تقریباً بی رنگ می شود) حاصل شود (AOAC, 1996).

تقطیر ماده هضم شده: پس از تمام شدن مرحله هضم و سرد شدن بالن، در حدود ۲/۳ حجم آن آب مقطر ریخته، سپس قیف سودریز دستگاه را از سود یا پتاس ۵۰٪ پر کرده، مقدار ۵۰ میلی لیتر اسید بوریک ۲ درصد را در داخل یک ارلن مایر یا بالن گیرنده با حجم ۳۰۰ میلی لیتر ریخته و چند قطره معرف پروتئین قرمز رنگ به آن می افزاییم تا رنگ قرمز به رنگ فیروزه ای تبدیل می شود سپس آنرا با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتیر کرده تا تغییر رنگ (رنگ پوست پیازی) حاصل شود (AOAC, 1996).

روش محاسبه خاکستر: ابتدا کروزه چینی را در روی شعله یک گاز سوزانیده و پس از سرد کردن در داخل دسیکاتور آنرا

توزین و سپس بافت و کروزه را درون کوره الکتریکی با حرارت ۵۵۰-۵۰۰ درجه منتقل نموده و عمل حرارت دادن را ادامه می‌دهیم تا زمانیکه باقیمانده به صورت خاکستر سفید و کاملاً روشن در آید (AOAC, 1996).

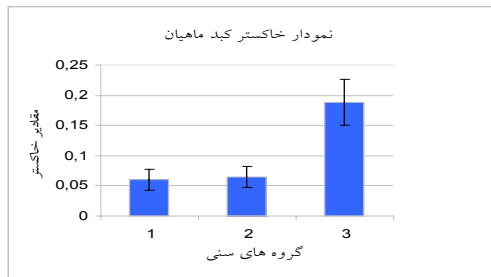
روش اندازه گیری رطوبت: برای اندازه گیری رطوبت ابتدا کروزه های چینی را به مدت نیم ساعت در اتوو ۱۰۰ تا ۱۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده و سپس به مدت ۶ ساعت در داخل اتوو یا آوون ۱۰۵ درجه می گذاریم. مجدداً به داخل آوون یا اتوو منتقل کرده و پس از ۱۵ الی ۲۰ دقیقه توزین می کنیم و عمل رطوبت گیری را تا حصول وزن های ثابت ادامه می دهیم (AOAC, 1996).

جهت محاسبه میانگین و انحراف معیار وزن کبد و تخمدان ماهیان در هر سه گروه و بررسی تفاوت های معنادار در میزان عناصر موجود در بافت مذکور از نرم افزار آماری SPSS و آزمون One way Anova و تست Tukey در فضای Excel استفاده گردید. $P < 0.05$ مرز استنتاج آماری در بررسی اختلافات داده ها تلقی شد.

نتایج

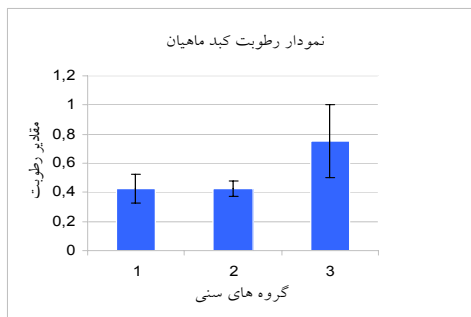
جدول ۱: داده های حاصل از وزن و طول بدن و کبد گروه مولد، پیش مولد و نابالغ

گروه های سنی	وزن کل بدن (گرم)	طول کل بدن (سانتی متر)	وزن کبد (گرم)
مولد	۳.۹۴۸ ± ۱.۱۲	۵.۷۰۳ ± ۰.۴۱	۰.۰۷۴ ± ۰.۰۳۹
پیش مولد	۲.۶۹۶ ± ۰.۸۳۱	۵.۲۱۳ ± ۰.۵۷۵	۰.۰۷۴ ± ۰.۰۸۸
نابالغ	۲.۴۶۱ ± ۰.۳۹۵	۵.۲۳۴ ± ۰.۲۹۳	۰.۰۴۸ ± ۰.۰۱۲



نمودار ۳: نمودار درصد خاکستر کبد ماهیان مولد (۱)، پیش مولد (۲) و نابالغ (۳)

نتایج بررسی درصد خاکستر کبد در هر سه گروه اختلاف معنادار ($P < 0.08$) دیده نشد. گروه نابالغ a (0.188 ± 0.038) از گروه پیش مولد b (0.065 ± 0.017) و گروه مولد ab (0.060 ± 0.018) مقدار بالاتر خاکستر در کبد را نشان دادند.



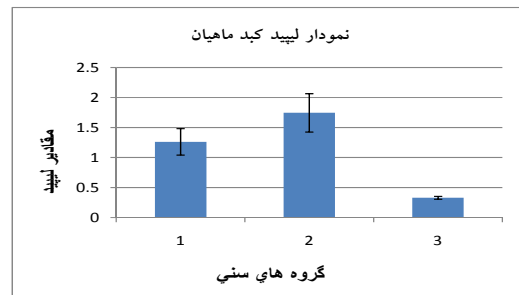
نمودار ۴: نمودار درصد رطوبت کبد ماهیان مولد (۱)، پیش مولد (۲) و نابالغ (۳)

نتایج بررسی درصد رطوبت کبد در هر سه گروه اختلاف معنادار ($P < 0.275$) دیده نشد. گروه نابالغ a (0.754 ± 0.249) از گروه مولد ab (0.426 ± 0.099) و گروه پیش مولد b (0.426 ± 0.053) مقدار بالاتر رطوبت در کبد را نشان داد.

بحث

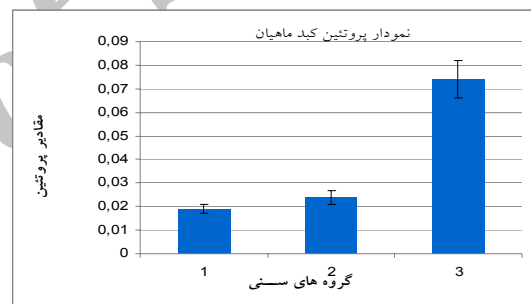
لیپید

بررسی نتایج حاصل از آنالیز آماری در این تحقیق در بافت کبد نشان داد که اختلاف معناداری ($p < 0/05$) میان محتوای لیپید کل سه گروه مولد، پیش مولد و نابالغ مولیهای ماده وجود دارد. در این میان گروه پیش مولد با محتوای لیپید



نمودار ۱: نمودار درصد لیپید کبد ماهیان بالغ (۱)، پیش مولد (۲) و نابالغ (۳)

نتایج بررسی درصد لیپید بافت کبد در هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار ($P < 0.03$) میان آنها است. از اینرو گروه پیش مولد ab (1.746 ± 0.320) از گروه مولد b (1.262 ± 0.220) و گروه نابالغ a (0.330 ± 0.025) مقدار بالاتر لیپید در کبد را نشان دادند.



نمودار ۲: نمودار درصد پروتئین کبد ماهیان مولد (۱)، پیش مولد (۲) و نابالغ (۳)

نتایج بررسی درصد پروتئین کبد در هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار ($P < 0.000$) میان آنها است که گروه نابالغ a (0.074 ± 0.008) از گروه پیش مولد b (0.024 ± 0.003) و گروه مولد ab (0.002 ± 0.002) مقدار بالاتر پروتئین در کبد را نشان دادند.



افزایش می یابد. در کبد نیز میزان لیپید بالغین از $0.9 \pm 0.3\%$ به $0.6 \pm 0.3\%$ در دوره post-spawning رسید. در تحقیق حاضر کبد گروه پیش مولد، مولد و نابالغ به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر را به خود اختصاص دادند.

بر اساس تحقیقات Min lee در سال ۲۰۰۰ بر روی *Rock fish (Sebastes schlegeli)* هایی با وزن $5/7 \text{ gr}$ انجام داد به این نتیجه رسید که تغذیه در میزان لیپید در کبد و ماهیچه موثر است. Njin koue و همکارانش با تحقیق بر روی محتوای لیپیدها و اسیدهای چرب در ماهیچه کبد و پوست ماهیان خوراکی ($0.9 \pm 0.1\%$) *Sardinella*، ($0.6 \pm 0.8\%$) *S. aurita*، ($0.9 \pm 0.12\%$) *madernesis* در سال ۲۰۰۱ به این نتایج دست یافتند که محتوای لیپید در کبد این سه ماهی با تغییر فصول تغییر یافت. با افزایش upwelling (جابه جایی لایه های آب از سطوح پایینی به سمت سطح یا لایه های بالاتر) در دریاها به سبب ازدیاد دسترسی به عناصر غذایی، لیپیدها افزایش و با افزایش دما محتوای لیپید کبد کاهش یافت.

مطالعات Korsgaard and Peterson در سال ۲۰۰۳ بر روی متابولیسم لیپید در طول مرحله بارداری مارماهی *Eel pout (Zoarces viviparous)* نشان داد که بیشترین میزان لیپید کبد قبل از مرحله ویتیلوژنیز یافت می شود و در طول دوره بارداری کبد از لیپید و گلیکوژن خالی است (پس از دوره بلوغ در زمانی که نزدیک به زایمان ماهیان زنده زا است) در این حال لیپید کل و فسفولیپید در خون تجمع می کند و استرادیول ها در زمان بارداری زایمان منجر به افزایش ویتیلوژنین در خون می شوند. در مطالعه حاضر بیشترین میزان لیپید در کبد در دوره پیش مولد (قبل از زایمان مولی های ماده یافت شد) مولد و نابالغ یافت شد. بر اساس تحقیقاتی که Ayes و همکارانش در سال ۲۰۰۶ بر روی *Cyprinus carpio*، ۱ تا ۲ ساله شامل (1.1 ± 0.2)

گروه بالغ با محتوای لیپید $0.32 \pm 0.1/746\%$ ، گروه نابالغ با محتوای لیپید $0.25 \pm 0.0/330\%$ به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر لیپید را در این بررسی به خود اختصاص دادند.

Segner and Witt در سال ۱۹۹۰ دریافتند که افزایش لیپید در کبد ماهی *Turbot (Scophthalmus maximus)* پس از شروع نوزادی ممکن است به دلیل تغییرات غذایی و مقاومت نسبت به سندرومهای پاتولوژیک باشد. در تحقیق حاضر نیز محتوای لیپید کبد پس از دوره نابالغ رو به افزایش نهاد. Kauslik در سال ۱۹۹۷ با مطالعه بر روی ماهیان دریایی دریافت که مقادیر بالای لیپید در کبد به منظور آدپتاسیون با شرایط محیطی جدید در آبهای با دمای پایین (با غنای غذایی بالا) ذخیره و نگهداری می شود بنابراین تغییرات در جیره غذایی میتواند در رشد بافتی از قبیل کبد، پوست، کلیه و تخمدان تاثیر گذار باشد.

Caballero و همکارانش در سال ۱۹۹۹ با بررسی اثرات ترکیبی سطوح لیپید در بافت کبد 1140 عدد ماهی *seabream (Sparu aurata)* با وزن متوسط 70 gr به این نتایج دست یافتند که کبد ماهیانی که لیپید کمتری در آن ذخیره باشد، رشد و انرژی کمتری خواهند داشت. از اینرو نیازمند استفاده از پروتئین بیشتر جهت تامین انرژی خود هستند. میتوان بیان کرد که پاسخهای فیزیولوژیک کبد نسبت به دسترسی به چربیها سبب می شود که این اندام به عنوان یک انبار ذخیره انرژی تلقی گردد. در تحقیق حاضر در بافت کبد گروه پیش مولد بیشترین مقدار لیپید و گروه نابالغ کمترین مقدار لیپید را در خود نشان دادند. بر طبق مطالعات Shirai و همکارانش در سال ۲۰۰۰ بر روی محتوای عناصر بافت های کبد و تخمدان ماهی *Cat fish (Silurus asotus)* مشخص شد که میزان لیپید تخمدان در ماهیان بالغ کم ($1.6 \pm 0.3\%$) و در دوره post-spawning (1.1 ± 0.2)

در دریاچه *Silurus glanis, Alburnus escherichii* در ترکیه انجام دادند به این نتایج رسیدند که استرسهای فیزیولوژیک و آلودگی های محیطی در طول دوره های پرورش و نگهداری مهمترین عوامل در تغییر ساختارهای هیستولوژیک می باشند که نهایتا سبب تغییر در متابولیسم و سطوح سلولی و کبد اندامی بود که بیشترین تغییرات فوق الذکر را در خود نشان داد.

بر اساس شواهد و مطالعات انجام شده در تحقیق حاضر می توان اذعان داشت که لیپید قبل از دوره اول غذایی در تامین انرژی ماهیان نسبت به پروتئین ها از اهمیت بالایی برخوردار است بالتبع گروه پیش مولد بنابر اهمیت زرده سازی بیشتر نسبت به بالغینی که در ابتدای مرحله تخم ریزی قرار دارند به لیپید بیشتری نیازمندند که این میزان لیپید از طریق کبد تامین خواهد شد که نتایج حاصل از لیپید در کبد گروههای پیش مولد و مولد خود بر این مطالب صحه می گذارد. بدین ترتیب عوامل موثر در محتوای لیپید در تمامی بافتها از جمله کبد، پوست و کلیه و تخمدان را می توان تغییر فصل، دما، جیره غذایی جنسیت، سن و اندازه ماهیان مرتبط دانست.

پروتئین

آنالیز آماری داده های این تحقیق نشان می دهد که اختلاف معناداری بین میزان پروتئین در بافت کبد در هر سه گروه وجود دارد و از طرفی میزان این عنصر در گروه نابالغ (0.074 ± 0.008) از گروه پیش مولد (0.024 ± 0.003) و مولد (0.019 ± 0.002) بیشتر بود.

بر اساس نتایج بدست آمده از تحقیقات Fagerlund و همکاران در سال ۱۹۸۲ حضور بیشتر پروتئین در کبد علاوه بر رشد محرکی برای ساخت فسفولیپیدهایی از قبیل ویتیلین می تواند باشد. بر اساس تحقیقات Minlee و همکارانش در سال ۲۰۰۰ پیرامون تاثیرات دفعات غذایی و رطوبت جیره بر رشد و محتوای ترکیبات بسدن

Rock fish (*Sebastesschlegeli*) دریافتند که محتوای پروتئین ماهیچه ها تغییری نکرد. با توجه به نقش این عنصر در رشد، تولید مثل و محرک ساخت فسفولیپیدهایی از قبیل ویتیلین و تولید گامتهایی با ماندگاری بالا و اندازه بزرگتر و رابطه ای که پروتئینهای جیره با پروتئین های بافتهای کبد و گنادها دارند می توان اذعان داشت که احتمالاً حضور این عنصر به مقدار بیشتر در گروه نابالغ و در دو گروه دیگر به سبب اهمیت و نیاز به انرژی و رشد به سبب آمادگی بیشتر در جهت تولید گامتهایی با مقاومت بالاتر است.

خاکستر

سوزاندن و تولید خاکستر سبب از بین بردن مواد آلی و ایجاد تغییرات عمده در املاح می شود. نتایج حاصل از آنالیز آماری محتوای خاکستر کبد در هر سه گروه اختلافات معناداری را نشان داد از طرفی میزان خاکستر در گروه نابالغ (0.38 ± 0.188) از دو گروه پیش مولد (0.17 ± 0.065) و مولد (0.18 ± 0.060) بیشتر بود. بر اساس مطالعات Hammer و همکاران در سال ۲۰۰۵ با افزایش درصد پروتئین در بافت های توتیای دریایی *Lytechinus variegates* میزان خاکستر نیز افزایش می یابد.

از آنجا که در ماهیان نابالغ وزن کبد کمتر از دو گروه دیگر است می توان گفت که با کاهش وزن بافت ها در این تحقیق میزان خاکستر افزایش یافت. از طرفی با توجه به افزایش درصد پروتئین و رطوبت در بافت کبد گروه نابالغ نسبت به دو گروه پیش مولد و مولد می توان بیان کرد که خاکستر بافت کبد مولی با درصد پروتئین و رطوبت رابطه مستقیم اما با درصد لیپید رابطه عکس را داراست.

رطوبت

آنالیز آماری نتایج پروژه حاضر در مورد بررسی درصد رطوبت بافت کبد اختلاف معناداری ($P < 0.05$) را در میان سه گروه نشان نداد و در گروه نابالغ (0.074 ± 0.008) از



biology. 06800 Beytepe, Ankara, Turkey.
5-Caballero, M.J., Lopez ,G., Socotto, J., J. Roo,F., S. Izquierd., M and Fernandez, A.1999. Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of Gilthead sea braem(*Sparus aurata*). Department of biology, University of Plamasde Granaria, campus University of Taira, 35017 Laspalmas of Canary Island. Spain.
6-Castagnaro, M; Marin, M; Chittino, C and Hedrick, R.P.1991. Lectin histochemistry and ultrastructure of rainbow Trout(*Oncorhynchus mykiss*) kidneys affected by proliferative kidney disease. Department of Medicine, University of California. 1-3.
7-Cirrascaff, R. M. and Scussel, V. M. 2008. Histochemical characterization of chanal catfish by FB1.
8-Department of Medicine, University of California. 1-4.
9-Fagerlund, U.H.M., A.Higgs, D., Mebride, J.R., Plotinkoff, M.D., Dosanjh, B.S and Market, J.R. 1982. Implication of varing dietary protein, lipid and 17 α -methyltestosterone content on growth and utilization of protein and energy in juvrnile coho salmon(*oncorhynchus kisutch*)
Vest Vancouver laboratory, fisheries research branch. Department of fisheries and oceans, 416, Marine drive, Canada.
10-Gaspar, I. D. and et. al. 1998. The hatching gland cell of trout embryos characterization of N- and O-linked oligosaccharides. Department of Anatomy Embryology University of Alcalá. 1-5.
11-Hammer, H., Hammer, B., Wattss, S., Lawrence, A and Lawrence, J.2005. The

دو گروه پیش مولد (0.003 ± 0.024) و مولد (0.002 ± 0.019) بیشتر بود.

مطالعات Min lee و همکارانش در سال ۲۰۰۰ که پیرامون اثرات دفعات غذایی و رطوبت محتوای جیره بر رشد و محتوای ترکیبات بدن انجام داد به این نتایج رسیدند که با کاهش دفعات غذایی در *Rock fish (Seabas)* های *tesschlegeli* ۵/۷ gr رطوبت در کبد و ماهیچه‌ها افزایش یافت. بر اساس تحقیق حاضر می‌توان بیان کرد که یکی دیگر از دلایل بالا بودن رطوبت به سبب افزایش پروتئین و بالتبع خاکستر در کبد نابالغ نسبت به دو گروه دیگر، وضعیت هیدراسیون متفاوت مولکولها و محدودیت بعضی عناصر در بافتها مثل لیپید نسبت داد. علاوه بر این تغذیه و نوع گونه آبزیان نیز عاملی تاثیر گذار در میزان رطوبت بافت‌ها است.

تشکر و قدردانی

از حمایت‌های دکتر شهلا جمیلی و دکتر فاطمه عباسی کمال تشکر را دارم.

فهرست منابع

۱- ارجینی، م. ۱۳۸۱. آکواریوم. انتشارات نقش مهر. ۱۵۰ صفحه.
۲- ستاری، م. ۱۳۸۱. ماهی شناسی عمومی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر دانشگاه گیلان. ۶۵۹ صفحه.
3-AOAC. 1996. Assotiation of official analytical chemists official methods of analysis chapter 39, 12 th Ed, washington, D. c. 1094 pp.
4-Ayes, Z., Ekmekci, G., Ozmena, M and K.Yerli,S. 2006. Histopathological changes in liver and kidneys of fish in Sariyar Reservoir, Turkey. Hacatepe University, Science faculty, Department of



acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*.

18-Nunomura, W. and et. al. 1983. Immunohistochemical localization of vitellogenin in hepatic cell of some salmonid fishes, 34(2). 1-2 .

19-Ortiz, J. B ؛ Porcelloni, S؛2008. Histochemical characterization of oocytes of swordfish

(*Xiphias gladius*). Department of Environmental biology, University of Siena, 72(3).1-13.

20-Parker, L. M. and et. al. 1993. Biochemical and histochemical properties of hepatic tumor of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Department of Medicine, University of California Davis, ca 95616.1-2.

21-Segner, H and Witt, U. 1990. Weaning experiments with Turbot(*Scophthalmus maximus*), election microscopic study of liver, Mar. Biol. 105, PP,353-361.

22-Shirai, N., Suzaki, H., Toukarian, Sh and Wads, Sh. 2000. Spawning and season affect lipid

content and fatty acid composition of ovary and liver in Japanese cat fish(*Silurus asotus*).

23-Department of Food science and Technology, Tokyo 108-8477.

Sisekkoprucu, S. and Koprucu, k. 2002. Immunohistochemical identification of peptide hormones in the endocrine cells of the gastrointestinal tract of the *Oreochromis niloticus*. Department of Histology and Embryology, Firat University. 2-4.

24-Vandervan, T.M and et.al. 2003. Vitellogenin expression in Zebra fish(*Deniro rerio*) evaluation

effect of dietary protein and carbohydrate concentration on the biochemical composition and gametogenic condition of sea urchin(*Lytechinus variegatus*). Department of biology University of Alabama at irmingham, 1300 University Drive, Birmingham Al 35294- 1170. USA.

12-Hara, A. and et. al. . Vitellogenin and its derivatives in egg yolk proteins of white spotted char

(*Salvelinus leucomaenis*), 35(3). 1-2.

13-Kauslik, S.J. 1997. Nutritional improvement of sea bass and sea bream production in the Mediterranean region, recent development in the nutrition and feeding of marine fin fish of interest to the Mediterranean. Alilla trade show the Ssaloniki, Greece.

14-Korsgaard, B and Peterson. I. 1978. Vitellogenin, lipid and carbohydrate metabolism during vitellogenesis and pregnancy and after hormonal induction in the Blenny(*Zoarces viviparus* L.).

15-Institute of biology and institute of biochemistry, Qdense University, DK 5230, Denmark.

16-Minlee, S., Hwang, Un- Gi and Hwoancho, S. 2000. Effect of feeding frequency moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rock fish(*Sebastesschlegeli*). Faculty of Marine bioscience and Technology, Kangnung National University , Kangnung 210- 707. South Korea.

17-Njinkoue, J. M., Barnathan, G., Miralles, J., M. Gaydon, E and Samb, A.2001. Lipids and fatty



فصلنامه علمی-پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال دوم، شماره سوم، بهار ۸۹، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

Ecotoxicology.1-6.

by histochemistry, immunochemistry and in situ mRNA hybridization. Department of chemical