فصلنامه علمی – پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال دوم، شماره چهارم، تابستان ۸۹، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

مطالعه هیستوشیمیایی و بررسی تجمع یون کلسیم وکربوهیدرات در بافت‌های کبد و تخمدان ماهی مولی سیاه ماده (*Pocilia sphenops*)

شبنم فراهانی[۱*]، شهلا جمیلی[۱]، مهدی سلطانی[۱] و فاطمه عباسی[۲]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا، تهران، ایران

۲ـ دانشگاه الزهرا، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

Shabi.farahani@yahoo.com

چکیده

تحقیق حاضر با هدف محاسبه درصد خاکستر و رطوبت و بررسی کیفی تجمع یون کلسیم و کربوهیدرات در بافت‌های کبد و تخمدان ماهی مولی سیاه ماده(*pocilia sphenops*) بر روی ۳۰ نمونه و در سه گروه بالغ (مولد و پیش‌مولد) و نابالغ در بهمن ماه ۱۳۸۸ انجام پذیرفت. بر اساس آنالیز آماری، میزان خاکستر و رطوبت تخمدان در هر سه گروه مولد (۴ ماهه)، پیش‌مولد (۳ ماهه) و نابالغ(۱/۵ تا ۲ ماهه) تفاوت‌های معناداری ($P<0.05$) از خود نشان دادند که در این میان تخمدان گروه نابالغ، پیش‌مولد و مولد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان خاکستر و رطوبت را به خود اختصاص دادند، اما در میزان خاکستر و رطوبت در بافت کبد هر سه گروه اختلاف معنادار مشاهده نشد. بررسی میزان خاکستر و رطوبت بافت کبد در گروه‌های مربوطه نشان داد که میزان این عناصر در گروه نابالغ از دو گروه پیش‌مولد و مولد بیشتر بود. رنگ‌آمیزی کلسیم به روش Von-kossa در بافت‌های کبد و تخمدان نیز نشان دهنده افزایش تراکم این عنصر با نزدیک شدن به دوره بلوغ است. برای رنگ‌آمیزی کربوهیدرات کبد و تخمدان از روش PAS استفاده گردید. تجمع کربوهیدرات در تخمدان به ترتیب در گروه‌های مولد، پیش‌مولد و نابالغ و در کبد در گروه‌های نابالغ، مولد و پیش مولد به ترتیب افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: هیستوشیمی، کلسیم، کربوهیدرات، کبد، تخمدان، مولی ماده

مقدمه

ماهیان متنوع ترین گروه مهره‌داران جهان‌اند که سازگاری‌های مرفولوژی و فیزیولوژی بسیاری را از خود نشان می‌دهند [۳]. ماهی مولی *Pocilia sphenops* ساکن آب‌های ساحلی فلوریدا است. این ماهیان زینتی زنده زا هستند، طبعی آرام دارند و علاقه‌مند به خوردن گیاهانند [۱]. هیستوشیمی روشی نوین در تعیین فعالیت‌های هورمونی و ردیابی عناصر و یون ها در اندام‌ها و بافت‌هاست. این تکنیک در جسم زرده ماهیان آب شیرین و حتی کبد ماهیان دریایی و بررسی فعالیت‌های استروژنیک حائز اهمیت است. لذا توسط مطالعات هیستوشیمیایی کبد (به عنوان اندامی مهم در متابولیسم لیپیدها، گلیکوژن، جذب عناصر مختلف، اکسیداسیون، انجام تبادلات اسیدهای چرب و تخمدان) ماهی مولی مولد، پیش مولد و نابالغ می‌توان در مقیاسی کوچک با تهیه رژیم غذایی کارآمد موجبات رشد بیشتر ماهیان را فراهم آورد [۱۷]. Hara به روش هیستوشیمی به مطالعه ویتلوژنین و مشتقات آن در پروتئین های کیسه زرده ماهی چار (*Salvelinus leucomaenis*) پرداخت [۱۸]. Castagnaro و همکاران توسط هیستوشیمی کلیه قزل آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به بررسی بیماری‌های کلیوی پرداختند [۸]. Gaspar و همکارانش به روش هیستوشیمی به مطالعه غدد سلولی در تفریخ جنین قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دست یافتند [۱۴]. Ortiz و

Archive of SID

www.SID.ir

همکارانش خصوصیات هیستوشیمیایی و ایمونوهیستوشیمی تخمک و زرده در ماهی دم شمشیری (*Xiphias gladius*) را بررسی کردند [۲۵]. Cirrascaf و Scussel ساختار هیستوشیمیایی گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) را آنالیز نمودند [۹]. مقالات مرتبط دیگری نیز در رابطه با این تحقیق موجود است [۲۲ تا ۲۴ و ۲۶ تا ۳۲].

مواد و روش کار

این تحقیق در بهمن ماه ۱۳۸۸ در مجتمع آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد. ماهیان مولی ماده که در گروه‌های سنی مولد (۴ ماهه)، پیش مولد (۳ ماهه) و نابالغ (۱.۵ تا ۲ ماهه) به تعداد ۳۰ عدد جهت محاسبه درصد خاکستر و رطوبت و رنگ‌آمیزی کلسیم و هماتوکسیلین- ائوزین در بافت‌ها لحاظ گردیدند. انتقال ماهیان در کیسه‌هایی که ۲/۳ حجم آن از هوا و ۱/۳ از آب پر شده بود صورت گرفت دمای آب آکواریوم‌ها 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. مولی‌ها به نور مستقیم خورشید نیازی ندارند. هیچ ماده دارویی به آب آکواریوم‌ها افزوده نشد. درمرحله بعد ماهیان بیومتری و کالبد شکافی شدند و تخمدان‌ها و کبدها 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، پیش‌مولد و نابالغ بر اساس سن، طول و وزن بدن، پهنای شکم و در آخر رسیدگی تخمدان‌ها انجام شد. در نهایت داده‌های حاصل از بیومتری وزن و طول بدن و کبد و تخمدان در جدول ۱ ثبت گردید. در مرحله اول محاسبه میزان خاکستر و رطوبت در بافت کبد و تخمدان به روش AOAC,۱۹۹۶ انجام شد [۴.] در مرحله دوم نیز روش Von kossa در رنگ آمیزی کلسیم و روش PAS در رنگ آمیزی کربوهیدرات به کار گرفته شد [۳].

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 سانتی‌گراد قرار می‌دهیم تا زمانیکه خاکستر سفید و کاملا روشن حاصل شود(AOAC, 1996).

روش اندازه‌گیری رطوبت: برای اندازه گیری رطوبت ابتدا کروزه چینی را به مدت نیم ساعت در اتوو ۱۰۰ تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا رطوبت آن گرفته و خشک شود، سپس به مدت شش ساعت در داخل اتوو یا آوون ۱۰۵ درجه می-گذاریم. مجددا به داخل آوون یا اتوو منتقل کرده و پس از ۱۵ الی ۲۰ دقیقه توزین ظرف‌های حاوی بافت را تکرار و یادداشت می‌کنیم [۴].

روش‌های آماری مورد استفاده در تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت مطالعه اقلام آماری (میانگین و انحراف معیار وزن کبد و تخمدان ماهیان در هر سه گروه) و بررسی تفاوت‌های معنادار در میزان خاکستر و رطوبت موجود در هر دو بافت مذکور از فضای Excel و نرم افزار SPSS (تست Tukey و آزمون One Way ANOVA) استفاده گردید.

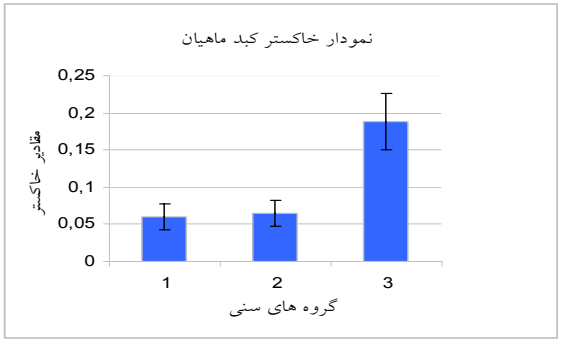
نتایج

مراحل انجام آزمایشات تحقیق حاضر به دو قسمت هیستوشیمیایی (اندازه گیری عناصر در بافت) و بافت شناسی تقسیم شد. نخست نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌های مرحله اول در قالب اندازه‌گیری خاکسترو رطوبت انجام پذیرفت و بر اساس آن نمودارهای مربوطه رسم گردید. در مرحله دوم، به منظور مشاهدات کیفی توسط میکروسکوپ نوری رنگ آمیزی-های Von- kossa (کلسیم) و PAS (کربوهیدرات) صورت گرفت. نتایج بررسی درصد خاکستر کبد در هر سه گروه اختلاف معنادار ($P<0.08$) نشان نداد. گروه نابالغ (۰.۰۳۸±۰.۱۸۸٪) از گروه پیش مولد (۰.۰۱۷±۰.۰۶۵٪) و گروه مولد (۰.۰۱۸±۰.۰۶۰٪) مقدار بالاتر خاکستر در کبد را نشان دادند (نمودار ۱). نتایج بررسی درصد خاکستر تخمدان در

Archive of SID

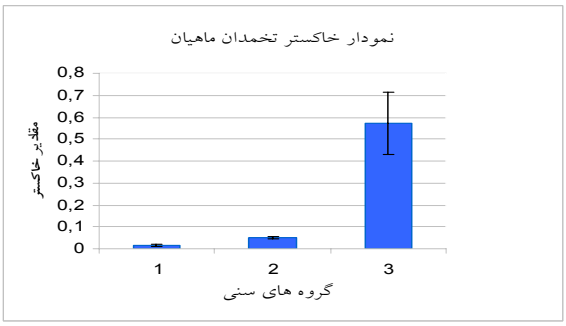
www.SID.ir

هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار (P<0.001) میان آنها است که بر این اساس گروه نابالغ (۰.۵۷۲٪±۰.۱۴۲) از گروه پیش‌مولد (۰.۰۵۲٪±۰.۰۰۶) و گروه مولد (۰.۰۱۵٪±۰.۰۰۳) مقدار بالاتر خاکستر در تخمدان را نشان داد (نمودار ۲). نتایج بررسی درصد رطوبت کبد در هر سه گروه اختلاف معنادار (P<0.275) دیده نشد. گروه نابالغ (۰.۷۵۴٪±۰.۲۴۹) از گروه مولد (۰.۴۲۶٪±۰.۰۹۹) وگروه پیش‌مولد (۰.۴۲۶٪±۰.۰۵۳) مقدار بالاتررطوبت در کبد را نشان داد (نمودار ۳). نتایج بررسی درصد رطوبت تخمدان در هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار (P<0.001) میان آنها است که بر این اساس گروه نابالغ (۰.۸۶۰٪±۰.۰۹۰) و گروه پیش‌مولد (۰.۵۵۸٪±۰.۰۳۳)از گروه مولد (۰.۳۸۸٪±۰.۰۴۶) مقدار بالاتررطوبت در تخمدان را نشان داد (نمودار ۴).

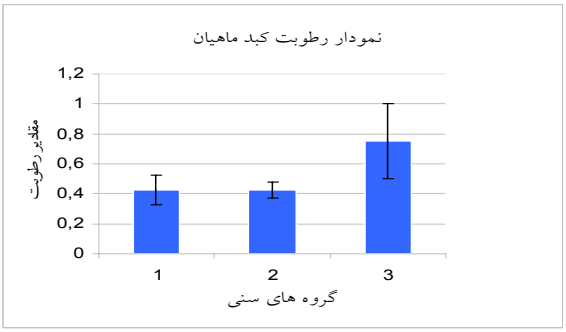


نمودار۱ـ درصد خاکستر کبد ماهیان مولد(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)

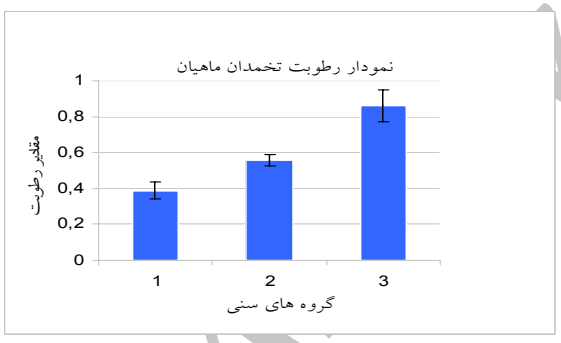
نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی Von-kossaدر بافت کبد و تخمدان مولی‌های ماده نشان می‌دهد که ذخایر کلسیمی در هر دو بافت به رنگ قهوه‌ای تیره و هسته و سایر مواد ساختمانی سلول به رنگ قرمز کم رنگ در می‌آید. نتایج حاصل از رنگ-آمیزی PAS در بافت کبد و تخمدان مولی‌های ماده نشان



نمودار۲ـ درصد خاکسترتخمدان ماهیان مولد(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)



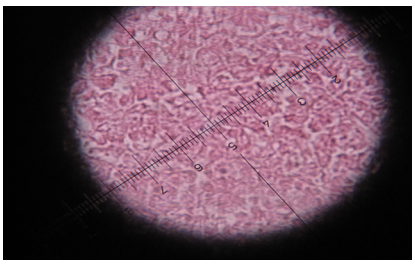
نمودار۳ـ درصد رطوبت کبد ماهیان مولد(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)



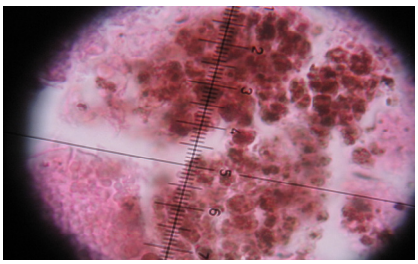
نمودار۴ـ درصد رطوبت تخمدان ماهیان مولد(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)

می‌دهد که تجمعات کربوهیدراتی اعم از گلیکوژن‌ها در هر دو بافت، قرمز مایل به بنفش و هسته آبی‌رنگ می‌شود.

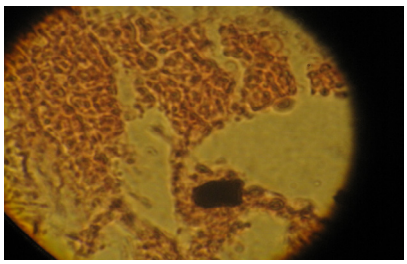
www.SID.ir



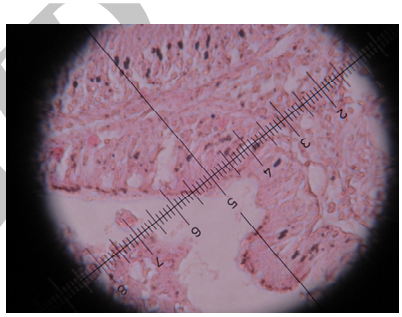
بافت کبد گروه نابالغ(×۱۰۰)



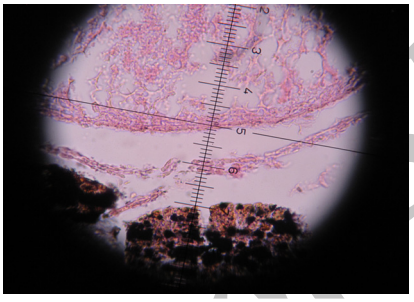
بافت کبد گروه پیش‌مولد(×۱۰۰)



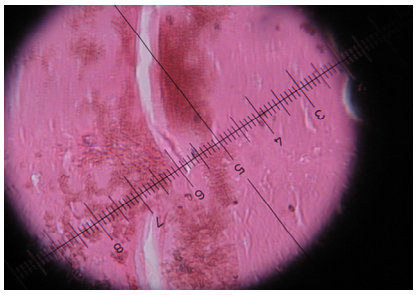
بافت کبد گروه مولد(×۱۰۰)



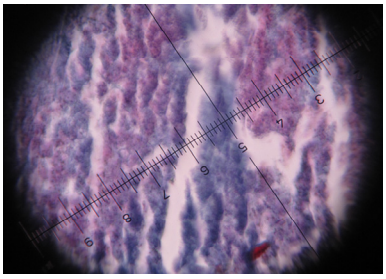
بافت تخمدان گروه نابالغ(×۱۰۰)



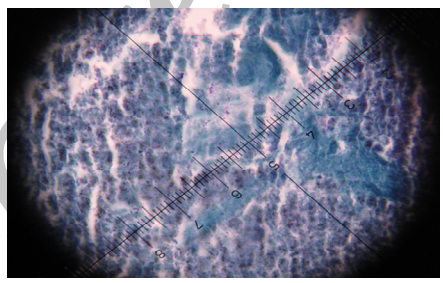
بافت تخمدان گروه پیش‌مولد(×۱۰۰)



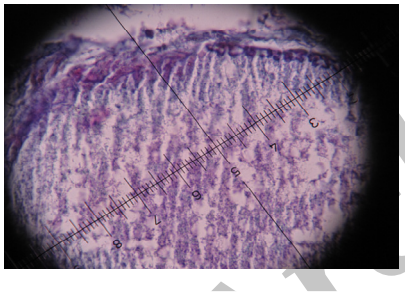
بافت تخمدان گروه مولد(×۱۰۰)



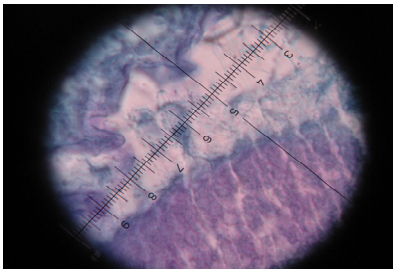
بافت کبد گروه نابالغ(×۴۰)



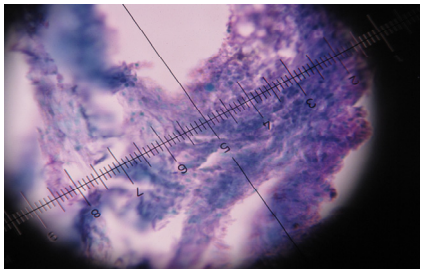
بافت کبد گروه پیش مولد(×۴۰)



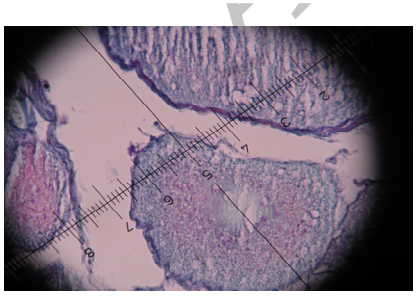
بافت کبد گروه مولد(×۴۰)



بافت تخمدان گروه نابالغ(×۱۰۰)



بافت تخمدان گروه پیش‌مولد(×۱۰۰)



بافت تخمدان گروه مولد(×۱۰۰)

بحث

سوزاندن و تولید خاکستر سبب از بین بردن مواد آلی و ایجاد تغییرات عمده در املاح می‌شود. نتایج حاصل از آنالیز آماری محتوای خاکستر کبد در هر سه گروه اختلافات معناداری را نشان داد از طرفی میزان خاکستر در گروه نابالغ (۰.۰۳۸ ± ۰.۱۸۸ ٪) از دو گروه پیش‌مولد (۰.۰۱۷ ± ۰.۰۶۵٪) و مولد

www.SID.ir

(۰.۰۱۸ ± ۰.۰۶۰ ٪) بیشتر بود. بررسی محتوای خاکستر در تخمدان ماهیان مولی نیز حاکی از وجود اختلافات معناداری بود و میزان این ماده در گروه نابالغ (۰.۱۴۲ ± ۰.۵۷۲٪) از دو گروه پیش‌مولد (۰.۰۰۶ ± ۰.۰۵۲ ٪) و مولد (۰.۰۰۳ ± ۰.۰۱۵ ٪) بیشتر بود. مطالعات Refstie و Austreng [۵] بر روی ۵ خانواده گوناگون از قزل آلای رنگین کمان *Salmo gairdneri*) دریافتند که ماهیانی که با کربوهیدرات بیشتری تغذیه شدند خاکستر کمتری در کبد خود داشتند اما در تحقیق حاضر میزان خاکستر در گروه نابالغ (۰.۰۳۸ ± ۰.۱۸۸ ٪) از دو گروه پیش مولد (۰.۰۱۷ ± ۰.۰۶۵ ٪) و مولد (۰.۰۱۸ ± ۰.۰۶۰ ٪) بیشتر بود. بر اساس مطالعات Hammer و همکارانش [۱۷] بر روی تأثیر پروتئین و کربوهیدرات جیره بر ترکیبات بیوشیمیایی توتیای دریایی (*Lytechinus variegates*) به این نتیجه دست یافتند که افزایش در محتوای خاکستر تخمدان ممکن است به سبب افزایش پروتئین در جیره وسپس در بافت بوده باشد که به سبب افزایش مواد معدنی مورد نیاز برای متابولیسم و رشد سبب افزایش خاکستر اندام‌های مزبور شده است. در این تحقیق با کاهش وزن بافت-ها میزان خاکستر افزایش یافت. بر اساس مطالعات تقریبا مشابه هر قدر که میزان کربوهیدرات موجود در جیره بیشتر باشد میزان خاکستر در کبد کمتر است. از این‌رو شاید بتوان گفت که میزان کربوهیدراتی که ماهیان هر سه گروه در طی دوران نابالغی دریافت کردند از دوره پیش‌مولدی و مولدی کمتر بوده است. از طرفی افزایش پروتئین و لیپید در جیره به منزله حضور بیشتر این عناصر در گنادها خواهد بود. در نتیجه شاید بتوان یکی از دلایل حضور بیشتر خاکستر در بافت تخمدان را به سبب حضور بیشتر پروتئین و لیپید در بافت تخمدان این گروه نسبت به دو گروه دیگر دانست.

رطوبت: آنالیز آماری نتایج پروژه حاضر در بررسی درصد رطوبت بافت کبد اختلاف معناداری ($P < ۰.۰۵$) را در میان سه گروه نشان نداد و میزان این عنصردر گروه نابالغ (۰.۰۰۸ ± ۰.۰۷۴ ٪) از دو گروه پیش‌مولد (۰.۰۰۳ ± ۰.۰۲۴ ٪) و مولد (۰.۰۰۲ ± ۰.۰۱۹ ٪) بیشتر بود. در محتوای رطوبت در تخمدان هر سه گروه اختلاف معناداری مشاهده شد و بر این اساس گروه نابالغ (۰.۰۹۰ ± ۰.۸۶۰) از دو گروه پیش‌مولد (۰.۰۳۳ ± ۰.۵۵۸ ٪) ومولد (۰.۰۴۶ ± ۰.۳۸۸ ٪) بیشتر بود. مطالعات Min lee و همکارانش در سال ۲۰۰۰ پیرامون اثرات دفعات غذادهی و رطوبت محتوای جیره بر رشد و محتوای ترکیبات بدن نشان داد که با کاهش دفعات غذادهی در *Rock fish* (*Seabastes schlegeli*) رطوبت در کبد و ماهیچه‌ها افزایش یافت. اما در تحقیق حاضر درصد رطوبت در کبد گروه نابالغ از گروه پیش‌مولد و مولد بیشتر بود. بر اساس مطالعات Marsh و Watts [۳۶] و Hammer و همکارانش[۱۶] پیرامون بررسی ترکیبات تخمدان‌ها و رشد و نمو اووسیت انواعی از توتیای دریایی شامل *Lividus variegates* و *Strongylocentrotus droebachinsis* نشان دادند با افزایش پروتئین در گنادها میزان رطوبت بافت‌ها نیز بالامی‌رود و همچنین محتوای بالای رطوبت گنادها ممکن است به دلیل هیدراسیون متفاوت مولکول‌های ذخیره شده در گنادها باشد و شاید هم با محدودیت عناصر در بافت‌ها محتوای آب بافت افزایش یابد. در تحقیق حاضر نیز درصد رطوبت در گروه نابالغ (۰.۰۹۰ ± ۰.۸۶۰) از دو گروه پیش مولد (۰.۰۳۳ ± ۰.۵۵۸ ٪) ومولد (۰.۰۴۶ ± ۰.۳۸۸ ٪) بیشتر بود از طرفی حضور مقادیر بیشتر پروتئین در تخمدان‌های گروه نابالغ نسبت به پیش‌مولد و مولد موید مطلب فوق است. علاوه بر موارد مذکور، تغذیه نیز عاملی تاثیرگذار در میزان رطوبت بافت‌ها بر اساس مطالعات محققین است. میزان رطوبت در بافت‌های آبزیان به نوع گونه نیز بستگی دارد.

کلسیم: ماهیان علاوه بر کلسیم جیره غذایی به کلسیم موجود درآب نیز دسترسی دارند که تقریبا در آب دریا میزان آن ۱۰ mmol به ازای هر لیتر است که به میزان قابل توجهی بیشتر از یون کلسیم موجود در سلول‌ها است یا در آب شیرین، ۰/۱ تا ۴ میلی مول به ازای هر لیتر است که مشابه یا کمتر از غلظت‌های داخلی سلول است [۳]. کمبود مواد مغذی ماکرو

Archive of SID

www.SID.ir

مانند کلسیم سبب افزایش استرس‌های فیزیولوژیک و کاهش توان تولید مثلی تخمک در آبزیان شده و کیفیت و ترکیب تخم‌ها را دگرگون می کند . یکی دیگر از نقش های مهم کلسیم مرتبط بودن با پدیده ویتلوژنز و بلوغ جنسی ماهیان است [۱۳]. بر اساس مطالعات و مشاهدات کیفی و بافت-شناسی انجام شده از طریق روش رنگ‌آمیزی Von-Kossa در تخمدان‌های مولی مولد ، پیش‌مولد و نابالغ می توان دریافت که میزان کیفی این عنصر در بافت کبد و تخمدان ماهیان مولد و پیش‌مولد از گروه نابالغ بیشتر است . میزان کلسیم در بافت-های آبزیان از جمله کبد و تخمدان، تحت تاثیر شیمی آب، نوع گونه، بلوغ و به میزان کمتری تحت تاثیر جیره‌های غذایی است زیرا که آبزیان کلسیم مورد نیاز در پروسه‌های فیزیولوژیک خود را از محیط آبی دریافت می‌کنند. به طور کلی می‌توان این طور اذعان داشت که تغییرات کلسیم در بافت‌های تخمدان و کبد می تواند به عنوان شاهدی در تعیین تخم‌ریزی و تولیدمثل ماهیان به حساب می‌آید. بر اساس مطالعات Fletcher میزان عنصر کلسیم در کبد ماهی *Sacheye salmon* در طول مهاجرت برای تخم‌ریزی افزایش می یابد [۱۳]. مطالعات انجام شده توسط Hoar و همکارانش بر روی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان نیز حاکی از ارتباط کلسیم با پدیده ویتلوژنز و میزان هورمون استروژن است [۱۹]. که با پدیده بلوغ جنسی و ویتیلوژنز ماهیان مرتبط است. بر اساس مطالعات Tsai و Wang نیز می‌توان دریافت که جنس ماده به سبب هورمون استروژن و القای افزایش کلسیم در خون ماهی، میزان کلسیم بیشتر از جنس نر بوده است [۳۴]. با بلوغ نهایی اووسیت‌ها، عنصر کلسیم در خون افزایش می‌یابد. تحقیقات انجام شده توسط Evans و همکارانش نیز نتایج مشابهی را در خصوص غلظت کلسیم در زمان بلوغ نهایی اووسیت‌ها نشان می‌دهد [۱۰]. Sarasquete و همکارانش نیز بیان کردند که کلسیم در ارتباط با ویتیلوژنز در ماهیان نیز عمل می‌کند [۲۸].

کربوهیدرات: کربوهیدرات‌ها علاوه بر تولید انرژی، انجام اعمال حیاتی و انتقال پیام‌های عصبی در جانداران را تسهیل می کنند. غیاب کربوهیدرات‌ها در جیره غذایی سبب کاهش فعالیت‌های آنزیمی می‌گردد. نقش کربوهیدرات‌ها در تنظیم آنزیم‌های لیپوژنیک کبدی، در مهره‌داران پیشرفته به خوبی شناخته شده است. در صورت افزودن کربوهیدرات‌ها در حد نیاز به جیره غذایی آبزیان، جذب آمینو اسیدهای مورد نیاز در فرایند گلیکونئوژنز و تولید انرژی از طریق ذخایر پروتئینی بیشتر می‌شود. از این‌رو ظرفیت استفاده از کربوهیدرات‌ها در جیره محدود است. این مطلب پیرامون ماهیان گوشتخوار مانند سالمونیده‌ها که قابلیت آنها در هضم کربوهیدرات ها و تنظیم گلوکز در خون کم است روشن‌تر است. مشاهدات کیفی کربوهیدرات در بافت کبد در هر سه گروه ماهیان مولی در این تحقیق نشان داد که میزان این عنصر در گروه نابالغ از دوگروه مولدو پیش‌مولد بیشتر بود. در تخمدان نیز حضور کربوهیدرات در گروه مولد از گروه پیش‌مولد و نابالغ بیشتر بود. مطالعات Valtonen بر روی تفاوت‌های فصلی و جنسی متابولیسم کربوهیدرات در کبد ماهی سفید (*Coregonus nasus*) نشان داد که در فصول گرم در ماهیان بزرگتر تجمع کربوهیدرات در کبد کمتر و در فصول سرد بیشتر است.این امر می‌تواند به سبب حضوربیشتر موانع استروژنی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در فصول گرم باشد [۳۳]. در تحقیق حاضرکربوهیدرات در کبد گروه نابالغ از دو گروه مولد و پیش‌مولد بیشتر بود. Korsgord و Peterson پیرامون متابولیسم لیپید و کربوهیدرات در دوران بارداری مار ماهی (*Zoarces viviparous*) اذعان داشتند که کبد در زمان بارداری (پس از بلوغ) از گلیکوژن خالی است [۲۱]. در تحقیق حاضرکربوهیدرات در کبد گروه نابالغ از دوگروه مولد و پیش مولد بیشتر بود اما کبد گروه مولد و پیش مولد از کربوهیدرات خالی نبود. Austreng و Refestie نیز با بررسی پنج خانواده گوناگون از قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Salmo gairdneri*) دریافتند که حضور این عنصر در کبد با میزان آن در جیره رابطه مستقیم دارد [۵]. از طرفی وزن کبد در این گروه بیشتر و رنگ آن ملایم‌تر بود. در تحقیق

www.SID.ir

حاضر میانگین وزن کبد مولدین از سایر گروه‌ها بالاتر بود از طرفی حضور این عنصر در گروه نابالغ از دوگروه مولد و پیش مولد بالاتر بود. بر اساس مطالعات انجام شده توسط Fernandez بر روی محتوای عناصر گنادهای بالغین *Paracentrotus lividus* حضور کربوهیدرات در گناد با میزان آن در جیره رابطه مستقیم دارد [۱۲] و می‌توان گفت که محل تجمع اولیه کربوهیدرات‌ها در گنادها است و کربوهیدرات منبع اولیه تولید انرژی در فرایند گامتوژنزیز می‌باشد. در تحقیق حاضر نیز با توجه به نزدیک شدن به دوره بلوغ کربوهیدرات در تخمدان‌ها افزایش یافت. بر اساس یافته‌های Yenshiau برروی تاثیر و عملکرد کربوهیدرات در جیره تیلاپیا (*Oreochromis niloticus aureus*) می‌توان اذعان داشت که توانایی استفاده از کربوهیدرات‌ها در جیره و به فراخور آن در بافت‌های آبزیان باتوجه به سن و اندازه ماهیان تغییرپذیر است [۳۶]. همانطور که در تحقیق حاضر نیز کربوهیدرات در بافت کبد و تخمدان در هر سه گروه سنی ماهیان مولی با اوزان و اندازه‌های مختلف، متفاوت بود. بر طبق مطالعات kaushik بر روی سطوح گلیکوژنی در گنادهای قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Salmo gairdneri*)، افزایش گلیکوژن در گنادها با کاهش گلیکولیز در فعالیت‌های متابولیک کبدی همراه است [۱۹ و ۲۰]. استفاده از کربوهیدرات بالا(۳۸٪) در جیره و به تبع آن در گناد و کبد علاوه بر تاثیر مخرب بر رشد و انرژی، سبب کاهش ویتلوژنز در کبد می‌شود. در تحقیق حاضر با افزایش کربوهیدرات در تخمدان با کاهش گلیکولیز در کبد مواجه بودیم. Hammer و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با بررسی اثر پروتئین و کربوهیدرات‌های جیره بر ترکیبات بدن توتیای دریایی (*Lytechinus variegates*) به این نتیجه دست یافتند که افزایش تمرکز کربوهیدرات‌ها در تخمدان و بیضه با کاهش حجم گامت‌ها همراه است [۱۷]. پیرو نتایج حاصل از این تحقیق و بررسی مطالعات مشابه در ارتباط با تجمع کربوهیدرات‌ها در تخمدان و کبد می توان گفت که یکی از دلایل کاهش این عنصر در کبد گروه‌های پیش‌مولد و مولد نسبت به مولی‌های نابالغ می تواند به سبب نزدیک شدن دوره تخم‌ریزی باشد زیرا که کبد مولی‌های پیش‌مولد و نابالغ با نزدیک شدن به دوره تخم‌ریزی از کربوهیدرات‌ها و گلیکوژن خالی می‌گردد. شاید بتوان یکی دیگر از دلایل افزایش کربوهیدرات در کبد مولی‌های نابالغ نسبت به سایرین را به سبب عملکرد ضعیفتر موانع استروژنی در متابولیسم کربوهیدرات دانست. علاوه بر این بیشترین میزان رشد زمانی است که کربوهیدرات‌ها در جیره و سپس در بافت کبد در حد متوسط (فقط در اندازه‌ای که بتوان در مصرف پروتئین جهت تولید انرژی صرفه جویی نمود) حضور یابند و نه بیشتر. از آنجا که کربوهیدرات و گلیکوژن ذخیره شده حاصل از جیره در بافت کبد در فرآیند ویتلوژنزیز بسیار موثرند، می توان بیان کرد که شاید دلیل افزایش حضور این عنصر در بافت کبد مولی‌های نابالغ نسبت به مولد و پیش‌مولد به دلیل نزدیک شدن مولدین و پیش‌مولدها به فرآیند ویتلوژنز باشد زیرا که در گروه مولد و پیش‌مولد جسم زرده تشکیل شده (با در نظر گرفتن نقش تعیین کننده کربوهیدرات‌ها) که حاوی کربوهیدرات فراوان است جهت انجام پروسه گامتوژنز به تخمدان منتقل گردیده است. از این رو در تخمدان گروه مولد و پیش‌مولد با افزایش این عنصر نسبت به گروه نابالغ مواجهیم. پس می توان اینطور بیان کرد که افزایش سطوح گلیکوژنی در تخمدان‌های بالغین (پیش‌مولد و مولد) نسبت به گروه نابالغ نیزبا کاهش میزان این عنصردر بافت کبد مولدین در ارتباط است. احتمالا در تخمدان مولی‌ها با افزایش سن ماهیان و نزدیک شدن به دوره تخم‌ریزی میزان این ماده افزایش یافته‌است زیرا که وجود کربوهیدرات بیشتر در جیره سبب تجمع بیشتر این عنصر در گنادها می‌گردد که می‌تواند در تامین انرژی در فرآیند گامتوژنز مؤثر باشد و افزایش کربوهیدرات (خصوصا گلیکوژن) با کاهش گلیکولیز در متابولیک کبدی همراه بوده است. هم چنین با استفاده از قدرت بیشتر آنزیم‌های متابولیک کربوهیدراتی در دوران بلوغ

Archive of SID

www.SID.ir

پیش‌مولدی نسبت به دوره نابالغ نیز می‌توان حضور بیشتر کربوهیدرات‌ها در بافت تخمدان در دوره مولد نسبت به دو گروه دیگر را توجیه کرد. بر اساس مطالعات محققین برروی میزان کربوهیدرات در جیره و بافت آبزیان مشخص شد که افزایش کربوهیدرات در دوره نابالغ سبب تجمع لیپید در در کبد شده و احتمال بروز بیماری کبد چرب را فراهم می‌آورد.

منابع

۱- ارجینی، م. ۱۳۸۱. آکواریوم. انتشارات نقش مهر. ۱۵۰ صفحه.

۲- پوستی، ا؛ ادیب مرادی، م. ۱۳۸۵. روش های آزمایشگاهی بافت شناسی. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۸۵ صفحه.

۳- ستاری، م. ۱۳۸۱. ماهی شناسی عمومی(۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر دانشگاه گیلان.۶۵۹ صفحه.

4- AOAC. 1996. Assotiation of official analytical chemists official methods of analysis, chapter 39, 12 th Ed,washington, D. c. 1094 pp.

5- Austreng, E and Refestie, J. 1980. Carbohydrate in rainbow trout diets (*Salmo gardineri*), growth and chemical composition of fish from different families fed four level of carbohydrate in the diet. Department of animal genetics and breeding, Agricultural University of Norway, 1432 As- NLH Norway.

6- Ayes, Z., Ekmekci, G., Ozmena, M and K.Yerli, S. 2006.Histopathological changes in liver and kidneys of fish in Sariyar Reseivor, Turkey.Hacaptepe University, Science faculty, Department of biology. 06800 Beytepe, Ankara, Turkey.

7- Caballero, M.J., Lopez, G., Socotto, J., J. Roo, F., S. Izuierd., 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 Tafira, 35017 Laspalmas of Canary Island. Spain.

8- Castagnaro, M., et al. 1992. Lectinhistochemistry and ultrastructure of rainbow Trout(*Oncorhynchusmykiss*) kidneys affected by proliferative kidney disease. Department of Medicine, University of California.1-3.

9- Cirrascaff, R. M. and Scussel, V. M. 2008. Histochemical characterization of chanal catfish by FB1. Department of Medicine, University of California,1-4.

10- Evans, D. H. 1998. The physiology of fishes (second edition) C.R.C press L.L.C. P: 45-50.

11- Fageriund, 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 17α-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.

12- Fernandez, F. 1997. Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* under natural and raering condition. Comparative biochemistry and physiology,118A: 1377-1384.

13- Fletcher, G.l and king, M.J. 1977. Cooper, zinc, calcium, magnesium and phosphate in the gonads and liver of sockeye salmon(*Oncorhynchus nerka*) during spawning migration. Marine science research laboratory, Memorial University of Newfoundland, ALC5S7, Canada.

14- Gaspar, I. D. and et. al. 1998. The hatching gland cell of trout embryos characterizaTion of N- and O- linked oligosaccharides. Department of Anatomy. University of Alcala.1-5.

15- Grisdole, B., Sharer, k., Gatlin, D and Helland, S. J.2008. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, protein digestibility, feed utilization and body

Archive of SID

www.SID.ir

composition and gastric evacuation of juvenile Korean rock fish(*Seabastes schlegeli*). Faculty of Marine bioscience and Technology, Kangnung National University, Kangnung 210- 707. South Korea.

23- Njinkoue, J. M., Barnathan, G., Miralles, J., M. Gaydon, E and Samb, A.2001. Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*.

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

25- Ortiz, J. B. and et, al. 2008. Histochemical characterization of oocytes of sowrd fish (*Xiphiasgladius).*Department of Environmental Biology, University of Siena, 72(3):1-13.

26- Parker, L. M. and et. al. 1993. Biochemical and histochemical properties of hepatic tumor of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). Department of Medicine, University of California Davis,ca 95616:1-2.

27- Rainuzzo, J., Reitan, K and Olsent, Y. 1998. The significance of lipid at early of marine fish. Sintef applied chemistry, section of aquaculture, N- 7034, Trondheim, Norway. PP, 1-1

28- Sarasquete, C., Canales, C and Pascu, E. 2002. Oogenesis in Blue fin tuna(Thunnus thynnus L.), a histological and histochemical study, histology and histopathology, 17:(3)775- 788.

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

30- 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)*. Department of composition of Atlantic cod(*Gadus morhua*).Aquaculture 283, Issue 1-4.PP,156- 162.

16- Hammer, B., Hammer, H., Wattss, S., Desmond, R., Lawrence, J and Lawrence, A.2004. The effect of dietary protein concentration on feeding and growth of small *Lytechinus variegatus*. Journal of marine biology, 149: 1143-1157.

17- Hammer, H., Hammer, B., Wattss, S., Lawrence, A and Lawrence, J.2005. The 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 Birmingham, 1300 University Drive, Birmingham Al 35294- 1170. USA.

18- Hara, A. and et. al. . Vitellogenin and its derivatives in egg yolk proteins of white spotted char(*Salvelinus leucomaenis*), 35(3): 1-2.

19- 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 shows the Ssaloniki, Greece.

20- Kauslik, S.J., Medale, F., Fauconneau, B and Balance, D. 2003. Effect of digestive carbohydrates on protein/ energy utilization and on glucose metabolism in Rain bow trout (*Salmo gardineri*). Laboratory of nutrition and pooissons, I.N.R.A G4310, saint pee-sur- Nivelle, France.

21- Korsgoard, B and Peterson. I. 1978. Vitellogenin, lipid and carbohydrate metabolism during vitellogenesis and pregnancy and after hormonal induction in the Blenny (Zoarces viviparous L.). Institue of biology and institute of biochemistry, Qdense University, DK 5230, Danmark.

22- Minlee, S., Hwang, Un- Gi and Hwoancho, S. 2000. Effect of feeding frequency moisture content on growth, body

Archive of SID

www.SID.ir

Food science and Technology, Tokyo 108-8477.

31- Sisekkoprucu¸ S. and Koprucu¸ k. 2002. Immunohistochemical identification of peptide hormones in the endocrine cells of the gastrointestinal tract of the *Oreoch romisniloticus*.Department of Histology and Embryology¸ Firat University. 2-4.

32- Vandervan, T.M and *et.al*. 2003. Vitellogenin expression in Zebra fish(*Deniro rerio*) evaluation by histochemistry, immunochemistry and in situ mRNA hybridization. Department of chemical Ecotoxicology:1-6.

33- Valtonen, T. 1973. Seasonal and sex-bound variation in the carbohydrate metabolism of the liver of the White fish*(Coregonus nasus*). Department of zoology and bothanian Ouluto, Finland.

34- Wang, L.H. and Tsai, C.L. 2000. Sex differences in the response of serum calcium concentration to temprature and estrogen in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), zoological studies, 39(1) 55-60.

35- Watts, S. A. and Marsh, A. G. 2001. Energy metabolism and gonad development. In: Lawrence, J.M, Editor. Edible sea urchins, biology and ecology, Elsevier science, B. V, Amesterdam. PP: 27- 42.

36- Yenshiau, S.H. 1997. Utilization of carbohydrate in warm water fish with particular refrence to Tilapia (Oreochromis niloticus xo. Aureus). Department of Marine food science, National Taiwan.

Archive of SID

www.SID.ir