اثر سطوح مختلف پروتئین به انرژی جیره بر تغییرات بافتی کبد در ماهی صبیتی *Sparidentex hasta*

اعظم نیک نام شیری[۱]، رحیم عبدی[۱*]، امیر پرویز سلاطی[۲]، عبدالعلی موحدی نیا[۱]، جاسم غفله مرمضی[۳]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۳. پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور

* نویسنده مسؤل: abdir@kmsu.ac.ir

چکیده

ماهی صبیتی یکی از ماهیان با ارزش از نظر اقتصادی در خلیج فارس میباشد که در طول سال‌های اخیر در آبزی پروری مورد توجه زیادی قرار گرفته است. سطوح بهینه اجزای جیره غذایی تضمین کننده رشد و سلامتی ماهی می باشد. در مطالعه حاضر تاثیر سطوح مختلف پروتئین به انرژی جیره بر هیستوموفولوژی کبد در ماهی صبیتی پرداخته شده است. برای این منظور ماهیان پس از ۲ هفته تطابق با یک جیره غذایی بدون چربی، به مدت ۸ هفته در ۳۶ تانک ۳۰۰ لیتری با جیره‌های غذایی آزمایشی حاوی مقادیر مختلف پروتئین و لیپید تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، نمونه‌های بافتی از کبد برداشته و پس از انتقال به آزمایشگاه مراحل روتین بافت شناسی انجام و پس از آماده سازی برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون رنگ آمیزی H&E بر روی آنها انجام گرفت. تغییرات پاتولوژیک در بافت کبد از جمله واکوئله شدن هپاتوسیتها، رانده شدن هسته ها به گوشه های سلول و احتقان رگ‌های خونی در بافت کبد در بعضی از جیره ها مشاهده گردید که این تغییرات می تواند در اثر نسبت‌های نامناسب پروتئین و انرژی جیره ایجاد گردد. بر اساس این مطالعه گروه تغذیه شده با ۴۷/۷ درصد پروتئین و ۱۸/ ۹۵ درصد انرژی برای سایر فاکتورهای بافت کبد از نظر بافت شناسی در حد بهینه گزارش گردید.

واژگان کلیدی: پروتئین،انرژی، تغییرات بافتی کبد، ماهی صبیتی

مقدمه

در پرورش ماهیان، تغذیه به طور واضح نقش مهمی در نگهداری سلامتی (Pieterse *et al.*, 2000) آنها دارد. نیازهای غذایی ماهیان هم مشابه دیگر مهره داران است، یعنی آنها هم برای رشد، تولید مثل ودیگر عملکردهای فیزیولوژیکی معمول خود نیاز به مصرف پروتئین، مواد معدنی، ویتامین ها، فاکتور رشد ومنابع انرژی دارند(Babalola *et al.*, 2011). از این رو نقص در یک یا چند ماده مغذی ضروری می تواند باعث کاهش میزان کارایی حیوان، بیماری یا حتی مرگ شود (Barrows *et al.*, 2007) . پروتئین گران‌ترین ماده تشکیل دهنده جیره ماهی می باشد. در واقع پروتئین یک ماده مغذی ضروری است که برای اطمینان از سلامتی، رشد و نمو سلولی باید به مقادیر کافی تأمین شود. پروتئین های رژیم غذایی منبع آمینواسیدهای ضروری هستند و نیتروژن رابرای سنتز آمینواسیدهای غیرضروری فراهم می کنند (Craig and Helfrich, 2002). از طرف دیگر نگهداری یک نسبت مناسب پروتئین به انرژی در جیره غذایی حایز اهمیت می باشد. انرژی کافی باید فراهم باشد تا پروتئین جیره برای رشد مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از منابع انرژی غیر پروتئینی (لیپید و کربوهیدرات) جهت تأمین نیاز انرژی ماهی موجب کاهش اکسیداسیون اسیدهای آمینه و در پی آن افزایش مصرف پروتئین جیره غذایی جهت رشد می شود. این اثر لیپید و کربوهیدرات در تغذیه آبزی، صرفه‌جویی یا حفظ

پروتئین گفته می شود (Yilmaze & Genc, 2006; Zakes *et al*., 2010). اگر مقدار انرژی جیره غذایی اضافی باشد، در بدن ماهی ایجاد چربی می کند و اگر میزان انرژی کافی نباشد، پروتئین رژیم غذایی به عنوان منبع انرژی استفاده می شود و در نتیجه باعث کاهش رشد می شود. بنابراین، حفظ تعادل میان انرژی و پروتئین (Mekbungwan & Yamauchi, 2004) در ساخت غذای ماهی ضروری است. ماهی صبیتی با نام علمی *Sparidentex hasta* بومی خلیج فارس، غرب اقیانوس هند و سواحل هند می باشد. زیستگاه آن از آب های ساحلی تا اعماق آب بوده و گزارش شده که در بیشتر ماههای سال در خوریات حضور دارد و بیشتر از بی‌مهره‌گان و سخت پوستان تغذیه می کند. با توجه به ذائقه پسندی، این ماهی به عنوان یک گونه بومی ارزش بالایی برای تکثیر و پرورش دارد. همچنین در خصوص اثر سطوح مختلف پروتئین به انرژی جیره بر هیستوموفولوژی کبد این گونه مطالعه ای صورت نگرفته است بنابراین در این تحقیق سعی شده است تا به این موضوع بصورت مبسوط پرداخته شود.

مواد و روش کار

۶۱۲ عدد بچه ماهی صبیتی با میانگین وزنی اولیه ۲۷/۹۹ گرم که در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام تکثیر شده بود جداسازی و به طور تصادفی با تراکم ۱۷ عدد ماهی در هر ۳۶ مخزن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلنی رها سازی شدند. تانک‌ها در یک فضای سرپوشیده که مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی، شیرهای تنظیم آب و هوا و همچنین سیستم گرمایشی بود قرار گرفته بودند. دما در محدوده ۱/۸۵ ± ۲۴/۶۳ درجه سانتی گراد تنظیم شد. تیمارها به مدت دو هفته با غذای دستی که کمترین میزان پروتئین و انرژی را دارا بودند برای تطابق نگهداری شدند. در این مدت تغذیه ماهیان ۲ بار در روز در ساعات ۱۰ صبح و ۵ بعد از ظهر تا حد سیری انجام پذیرفت. در این مطالعه برای ماهیان صبیتی انگشت قد ۱۲ جیره غذایی آزمایشی با ۴ سطح پروتئین مختلف (۴۵٪، ۵۰٪، ۵۵٪و ۶۰٪) تعریف گردید و سه تکرار برای هر تیمار غذایی در نظر گرفته شد (جدول ۱). ماهیان به مدت ۶۰ روز با جیره های فوق الذکر تغذیه شدند. بعد از هر غذا دهی فاکتور های فیزیکی و شیمیایی (دما، شوری، pH) در دو نوبت صبح و ظهر اندازه گیری شدند.

در انتهای دوره‌ی آزمایش از هر تانک ۳ ماهی و در کل از هر تیمار ۹ ماهی با غلظت‌های بالای گل میخک آسان کشی شده و با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با حساسیت ۱ گرم توزین گردیدند. سپس محوطه شکمی ماهی شکافته شده وکبد ماهی برداشته و قطعاتی به ابعاد mm ۵ از آنها (قطعه میانی) جدا گردید و جهت فیکس شدن به داخل محلول بوئن انتقال گردید. سپس سایر مراحل روتین پاساژ بافتی شامل آبگیری، شفاف سازی و پارافینه شدن در دستگاه هیستوکینت مدل (RX 11B,tissue tek rotary, Japan) صورت گرفت. آب-گیری بافت ها، توسط سری افزایشی اتانول(۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ ٪) انجام شده و جهت شفاف سازی نمونه‌های بافتی به محلول گزیلول انتقال یافت. پارافینه شدن در داخل پارافین مذاب (Merck- آلمان) در دمای $^{\circ}C$ ۵۸-۵۶ انجام شد. قالب گیری نمونه‌ها ، با استفاده از قالب‌های لوکهارت آغشته به گلیسیرین و پارافین مذاب انجام شد. با استفاده از دستگاه روتاری میکروتوم نیمه دیجیتال مدل(LECA RM2245) برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر از نمونه بافتی تهیه کرده و با استفاده از رنگ‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند لازم به یادآوری می باشد که جهت مطالعه لامهای بافت شناسی مطابق روش معمول تعداد ۵ لام میکروسکوپی برای کبد هر ماهی و از هر لام ۱۰ میدان میکروسکوپی ودر مجموع ۵۰ میدان دید برای یک بافت کبد از یک نمونه ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت. و برای بیان ضایعات ایجاد شده و

شدت آن در هر نمونه از علامت (+ یا++) و در مواردی که تغییری در بافت ایجاد نشده است از علامت (-) استفاده شده است(Przybyl *et al.*, 2006).

نتایج

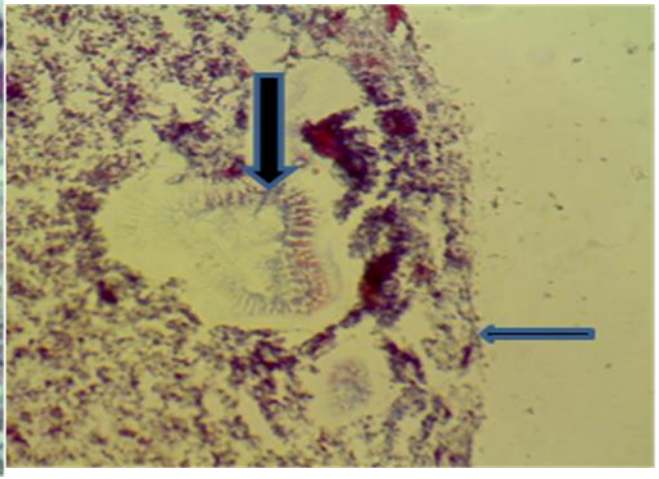
بر اساس مطالعات بافت شناسی بر روی بافت کبد کپسولی نازک از بافت همبند سخت کبد را ازخارج احاطه نموده که انشعاباتی از آن وارد بافت کبد شده و آن را به لوبولهای مشخصی تقسیم می نماید (تصویر شماره۱). لوبول‌های کبدی دارای اندازه و اشکال متفاوت بودند. هر لوبول کبدی از تعداد زیادی هپاتوسیت کوچک تشکیل شده که این سلولهای کبدی به اشکال کروی تا چند وجهی و برخی از آنها نیز مکعبی به نظر می‌رسیدند. همچنین هر سلول کبدی دارای یک هسته‌ی کروی بوده که بیشتر یوکروماتین و دارای هسته‌های مشخصی می باشند. سیتوپلاسم این سلولها به طور کامل رنگ اسیدی به خود گرفته که در بیشتر سلولها این سیتوپلاسم بصورت غیر یکنواخت رنگ گرفته بود بطوری که برخی ازقسمت‌های سیتوپلاسم حاوی نقاط متراکم و پررنگ‌تر و برخی نواحی آن واکوئوله و روشن تر دیده می‌شدند. در بعضی از برش‌های بافتی تهیه شده دستجات هپاتوسیت در یک لوبول کبدی بصورت سلول‌های موازی هم قرار گرفته که اشعه وار به شکل ردیف‌های شعاعی به نظر می‌رسیدند(تصویر شماره ۲).

جدول ۱- در این جدول جیره های استفاده شده در ماهی صبیتی طی دوره آزمایش نشان داده شده است(CP: پروتئین خام).

٪CP	٪۴۵			٪۵۰			٪۵۵			٪۶۰		
مواد(٪)	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
پودر ماهی	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵
پودر سویا	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۰	۱۵	۸	۴/۴۵	۸	۴/۵۰	۰/۱۵
ژلاتین	۳	۳	۲/۷۰	۷/۳۲	۷/۶۰	/۶۲ ۱۱	/۹۳ ۱۲	۱۳	۱۴/۵۰	۱۶	۱۷/۷۰	۱۹/۹۲
کازئین	۱۳/۵۰	۱۳/۵۵	۱۴	۱۵	/۷۵ ۱۴	۱۳	۱۵	۱۹/۲۵	۱۹/۶۰	۳/۳	۲۳/۴۰	۲۳/۴۰
روغن ماهی	۱/۵۰	۵/۷۲	۹	۱	۴/۹۰	۷/۹۰	۰/۵۰	۳/۶۵	۷/۱۰	۰/۲۵	۳	۵/۹۱
روغن گیاهی	۱/۵۰	۵/۷۲	۹	۱	۵	۸	۰/۵۰	۳/۸۵	۳	۰/۲۰	۳	۶
مخلوط ویتامین	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۵۰	۰/۲۵	۰/۸۰	۰/۵۰	۰/۲۵
مخلوط عناصر معدنی	۱	۱	۰/۷۵	۱	۱	۰/۷۲	۱/۱۰	۱	۰/۵۰	۱	۱	۰/۲۵
دکسترین	۱۴	۵/۵۵	۱/۷۵	۹	۲	۲	۴	۳	۰/۶۰	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۱۵
بافت همبند	۴	۴/۹۵	۲/۳۰	۵/۱۸	۴/۲۵	۱/۲۵	۵/۴۰	۲/۷۵	۱	۶	۲/۵۰	۰/۵۰

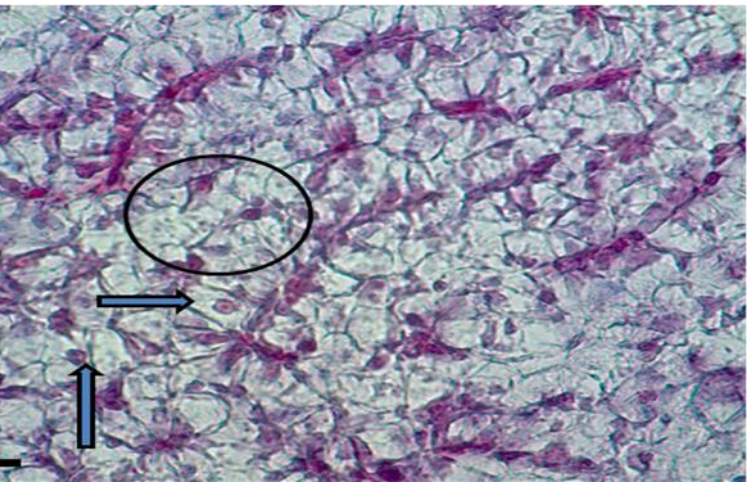
در لابه‌لای دسته‌جات هپاتوسیت‌ها سینوزوئیدهای خونی فراوانی مشاهده گردید که دارای دیواره‌های بسیار نازک و نامنظم با سلول‌های آندوتلیال ریز و کشیده درسطح داخلی خود بودند. سیتوپلاسم این

سلولها بسیا نازک و نامحسوس بوده و تنها با هسته-های بازوفیلیک و تیره خود قابل تشخیص بودند. در داخل هر لوبول کبدی تعداد زیادی هپاتوسیت همراه با سینوزوئیدهای خونی فراوان مشاهده گردید و در فضای بین لوبول‌ها جایی که انشعابات کپسول همبندی کبد آنها را از یکدیگر جدا می‌کردند فضاهایی از بافت همبندی با وسعت بیشتر مشاهده گردید که از آنها انشعاباتی از ساختارهای وریدی، شریانی و مجاری صفراوی عبور نموده و همانند فضاهای مشابه بافت کبد پستانداران می‌باشد. البته اندازه این فضاهای همبندی محصور در بین لوبول-های کبدی متغیر بوده و ممکن است در برخی فضاهای کوچکتر یکی از ساختارهای عروقی و یا یک مجرای صفراوی قابل مشاهده باشند دیواره مجاری صفراوی موجود در فضاهای باب از یک ردیف سلول مکعبی تا استوانه‌ای کوتاه تشکیل شده که بافت همبندی رشته ای آنها را ازخارج در بر می‌گیرد (تصویر شماره۱). همچنین ساختار پانکراس بصورت پراکنده لابلای هپاتوسیت‌ها در قسمت‌های مختلف ساختار بافتی کبد مشاهده گردید (تصویر شماره ۳).

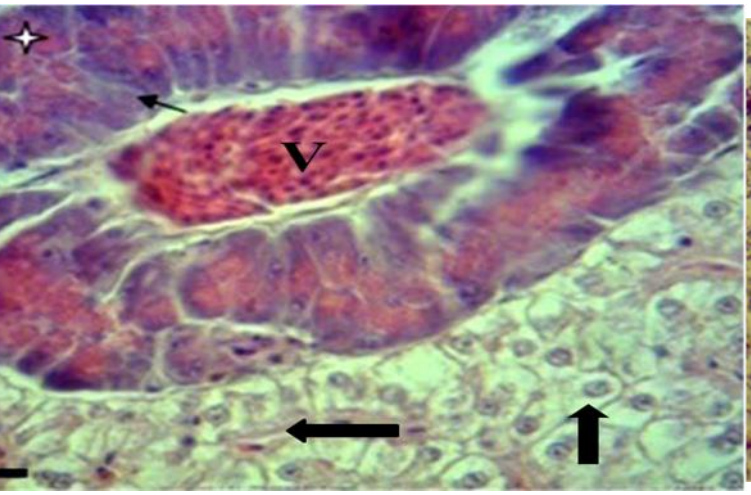


تصویر شماره ۱- در این تصویر بافت همبند کپسول و مجرای صفراوی به همراه بافت همبند محصور کننده نشان داده شده است (H&E, x4).

در مطالعات میکروسکوپی کبد ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در تیمارهای با دریافت مقدار پروتئین ۴۵٪ در هر سه دسته ضایعات بافتی از جمله واکوئول‌های جذبی، رانده شدن هسته ها به گوشه سلول و احتقان رگ‌های خونی مشاهده گردید اما شدت ضایعه از نوع واکوئول‌های جذبی و رانده شدن هسته به دور از مرکز مطابق جدول در گروه D3 شدید تر بود.



تصویر شماره ۲- در این تصویر هپاتوسیت‌ها در اشکال مختلف (دایره) و هسته بازوفیل سلول هپاتوسیت(پیکان افقی) سیتوپلاسم اسیدوفیلی(پیکان افقی) نشان داده شده است (H&E, x10).



تصویر شماره ۳- تصویر میکروسکوپ نوری از کبد و پانکراس (هپاتوپانکراس) ماهی صبیتی که در این شکل بخش برون ریز پانکراس را نشان می دهد. بخش رأسی سلول‌های ترشحی (ستاره) بخش قاعده‌ایی (پیکان مورب)، یک هپاتوسیت(فلش عمودی)، سینوزوئید(فلش افقی) و یک رگ خونی(V) در مرکز پانکراس نشان داده شده است(H&E, x40).

در مطالعات انجام شده در تیمارهای با مقدار پروتئین ۵۰٪ در هر سه دسته ضایعات بافتی بجز رانده شدن هسته ها به گوشه سلول در D4 و احتقان رگهای خونی در D5 و D6 دیده شد. همچنین تیمارهای با دریافت مقدار پروتئین ۵۵٪ ضایعات به نسبت ارائه شده مطابق جدول بطوری‌که در گروه‌های D7 و D8 که رانده شدن هسته‌ها به گوشه در سلول مطلقاً دیده نشد. در تیمارهای ۶۰٪ پروتئین واکوئول-های جذبی در هر سه دسته دیده شد اما رانده شدن هسته ها به گوشه در هیچکدام دیده نشد. همچنین احتقان رگهای خونی تنها در گروه D11 مشاهده گردید.

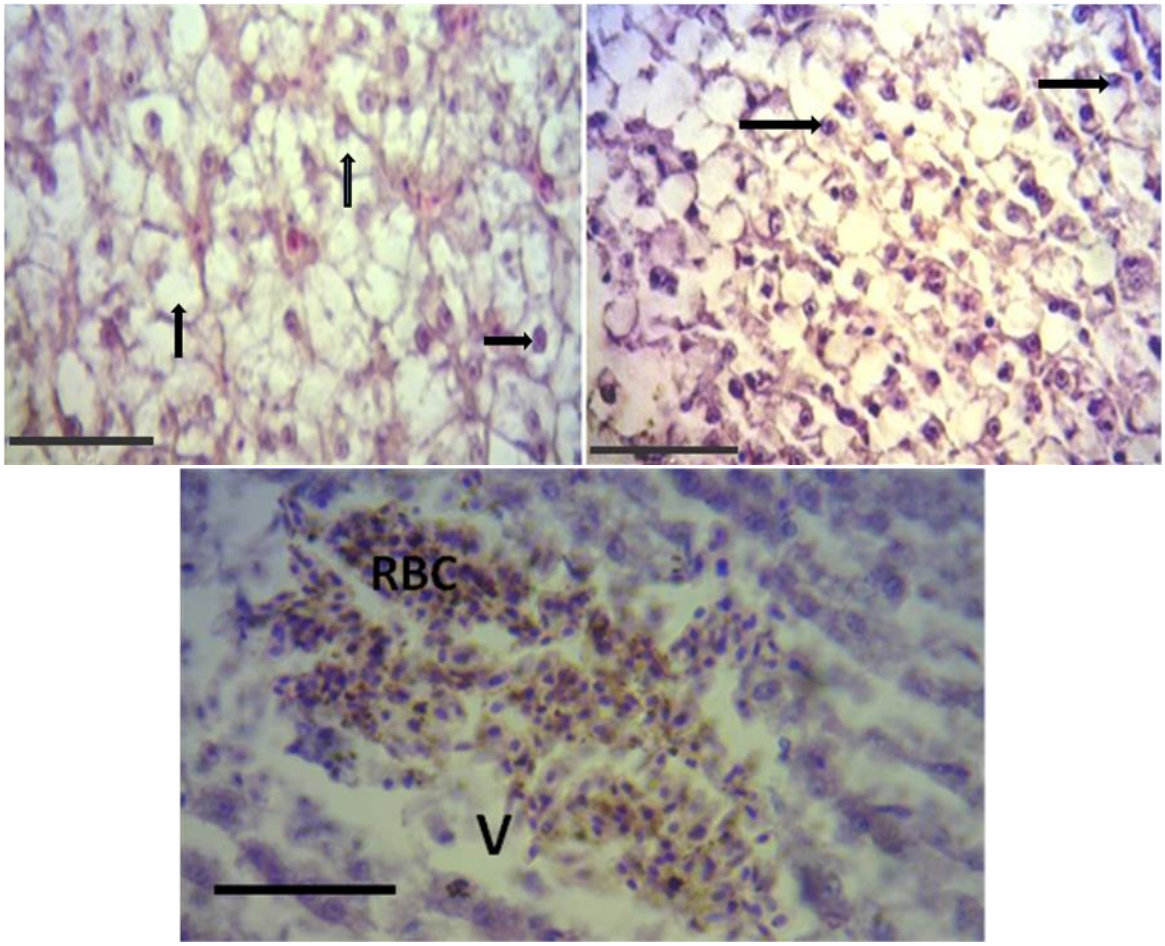
در تصویر شماره ۴ که در ادامه خواهد آمد به مختصر تغییرات بافتی ایجاد شده در بافت کبد در جیره های مختلف با درصد های متفاوت پروتئین آمده است و از ذکر تمامی میکروگرافهای میکروسکوپی بدلیل محدودیت تعداد صفحات خودداری به عمل آمد.

جدول ۲- در این جدول انواع ضایعات در جیره های استفاده شده در ماهی صبیتی طی دوره آزمایش و شدت آنها نشان داده شده است(+ با شدت کم)، (++ با شدت زیاد)، (- عدم مشاهده).

جیره / ضایعه	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
واکوئولهای جذبی	+	-	++	+	++	++	+	+	++	+	+	+
رانده شدن هسته ها به گوشه سلول	-	-	++	-	++	++	-	-	++	-	-	-
احتقا رگهای خونی	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-

بحث

با توجه به این که تغذیه، نقش مهمّی در کیفیت رشد و سلامت آبزیان در سیستم‌های پرورشی دارد، استفاده از یک جیره‌ی غذایی مناسب به‌سزایی را در تأمین نیازهای غذایی آبزی ایفا می‌کند. ماهیان گوشت‌خوار، به مقدار بالایی پروتئین و چربی در جیره‌های غذایی خود نیاز دارند (Watanabe, 2002). در مشاهدات مورفولوژی خارجی کبد، این اندام در ماهی صبیتی کرم رنگ و از دو لب تشکیل شده بود. در ماهیانی مانند کپور علفخوار و ماهی کور نیز کبد دو لبی گزارش شده است سلول‌های پارانشیم کبدی، هپاتوسیت‌ها می‌باشند که دارای یک هسته مرکزی هستند. با وجود اینکه در اغلب ماهیان هپاتوسیت‌ها تک هسته‌ای هستند اما نوع دو هسته‌ای آن نیز در کپور علفخوار و ماهی شش دار آفریقایی دو هسته گزارش شده است. در ماهی صبیتی نیز مشابه دیگر ماهیان از جمله ماهی آزاد ژاپنی و کپور علفخوار، سلول‌های کبدی طناب‌های کبدی را تشکیل می‌دهند. به علت خاصیت رنگ پذیری کم چربی و گلیکوژن با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ساختمان واکوئلی فراوانی در هپاتوسیت‌ها مشاهده می شود (Yonkos *et al*, 2001)، که براساس شکل می توان این دو نوع واکوئل را از هم تفکیک کرد؛ قطرات چربی کروی شکل و به صورت تکی یا مجتمع می‌باشند درحالی که دانه‌های گلیکوژن غالبا اشکال نامنظمی دارند. در این ماهی نیز مثل اغلب ماهیان دیگر، بافت لوزالمعده در کنار انشعابات سیاهرگ باب قرار می‌گیرد و مجموع بافت کبد و پانکراس (Dieter Dellmann et al., 1998) هپاتوپانکراس نامیده می‌شود.



تصویر شماره ۴- تصویر میکروسکوپ نوری از بافت کبد که در آنها ضایعات بافتی در جیره های مختلف از جمله واکوئول-های جذبی که با فلش‌های عمودی، هسته هپاتوسیت با فلش افقی (تصویر سمت راست بالا)، رانده شدن هسته ها به گوشه سلول، فلش‌های افقی (تصویر سمت چپ بالا)، و احتقان رگ خونی، V و گلبول‌های قرمز به‌صورت مجتمع، RBC (تصویر پایین) را نشان می‌دهد (H&E, x40).

از آنجایی‌که لیپیدها در کبد متابولیزه می‌شوند، ساختار بافت‌شناسی آن به وسیله کمیت یا کیفیت ترکیبات پروفیل لیپیدی رژیم غذایی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. سطوح لیپیدی رژیم غذایی، لیپوزنز در کبد ماهی را تغییرمی‌دهند. افزایش سطوح لیپیدی رژیم غذایی با محدود کردن چند آنزیم درگیر در لیپوژنز کبدی، استیل کو آنزیم A کربوکسیلاز و آنزیم‌های تولید کننده NADPH مثل گلوکز ۶- فسفات-دهیدروژنار و ۶-فسفوگلوکونات دهیدروژناز سنتز اسید های چرب جدید را کاهش می‌دهد Brauge و همکاران (۱۹۹۵) تاثیر رژیم‌های غذایی با چربی بالا را بر بافت شناسی کبد بررسی کردند، نتایج آنها ایجاد پاتولوژی کبد چرب را نشان داد. مشابه همین نتایج را Stoskopf (۱۹۹۳) گزارش کرد . چربی اضافی باعث فعالیت غیر نرمال کبد می شود، که می تواند عملکرد کلیه ها را تغییر بدهد و باعث ماندگاری آب بدن و اِدِم اعضای مختلف از جمله کبد می شود. در مطالعه روی دو ماهی ***Pseudotropheus socolofi*** و ***Haplochromis ahli*** لیپید بیشتر از ۱۰ درصد این حالت اتفاق می افتد. البته برخی از گونه ها مثل *H. ahli* توانایی بیشتری (Royes et al., 2004) برای متابولیزه کردن چربی‌های بالاتر دارند. که با نتیجه مشاهده شده توسط Juli-Anne و همکاران در سال ۲۰۰۶ در ماهی *P. socolofi* هم‌خوانی

دارد. در تحقیق حاضر واکوئله شدن در هپاتوسیت ماهی صبیتی با شدت متفاوتی رخ داد، به نحوی که در جیره‌هایی که سطوح بالاتری از نظر بالانس پروتئین-لیپید بودند، واکوئله شدن به وضوح مشاهده شد. در واقع به خاطر این که کبد محل اصلی متابولیسم اسیدهای چرب در بدن است، آسیب های کبدی ناشی از خوب متابولیزه نشدن و یا کم متابولیزه شدن اسیدهای چرب امگا ۳ موجود در روغن ماهی و ایجاد تغییرات ناشی از تجمع چربی در کبد می تواند عوارض نامطلوبی به دنبال داشته باشد. با این حال ، در مورد اثر اسیدهای چرب امگا - ۳ موجود در روغن ماهی بر تغییرات بافت شناسی در کبد مطالعات محدودی انجام شده است.

ماهیان تغذیه شده با جیره‌های ۲، ۳ ، ۵، ۹، ۱۱ و ۱۲ بیشترین درجه واکوئله شدن را نشان دادند که با نتایج مشاهده شده در ماهی *H. ahli* که با جیره غذایی حاوی ۵۵ درصد پروتئین و ۱۹ درصد لیپید تغذیه شده بودند؛ مطابقت داشت (Royes et al., 2004). کاهش میزان پروتئین و لیپید در رژیم غذایی کاهش در رسوب لیپید در کبد در ماهیانی که از جیره‌های غذایی ۱ ، ۴ و ۷ که سطوح پایین تری از پروتئین و لیپید را داشتند؛ مشاهده شد،که با نتایج به دست آمده در دو گونه ماهی *H.ahli* و *P. socolofi* که تحت رژیم غذایی نسبتا مشابهی با مطالعه حاضر بودند، مطابقت دارد (Royes et al., 2006). افزایش انتشار چربی درکبد، در ماهیان باس خورشیدی که با جیره غذایی حاوی ۱۶ درصد لیپید در مقایسه با ماهیانی که با جیره محتوی ۱۳ درصد لیپید تغذیه شده بودند؛ گزارش شده است (Gallagher, 1996). در تحقیق حاضر، در جیره-هایی که سطوح بالاتری از پروتئین را در بالانس پروتئین-لیپید خود داشتند، هسته‌های هپاتوسیت‌ها به سمت گوشه‌ی سلول انتقال یافته بود و در واقع هپاتوسیت‌ها به شکل هسته‌ی کناری مشاهده شدند. که البته این جابه جایی هسته‌ها به دلیل رشد چربی در سلول‌های هپاتوسیت می‌باشد. مطابق همین نتایج را Caballero و همکاران (۱۹۹۹) در سیم دریایی که با جیره غذایی محتوی ۲۷ درصد لیپید تغذیه شده بودند ؛ گزارش کردند. البته Morais و همکاران (2001) پیشنهاد دادند که حضور قطرات لیپیدی زیاد و حجیم در هپاتوسیت‌ها ممکن است یک پاسخ فیزیولوژیک، به لیپید اضافی است و بنابراین یک منبع ذخیره انرژی می‌باشد و نشان دهنده یک وضعیت پاتولوژیک نیست. هنگامی که ظرفیت سلول‌های کبد برای اکسید کردن اسیدهای چرب کاهش می‌یابد و یا سنتز پروتئین دچار اختلال شود، سنتز و رسوب تری‌گلیسریدها در واکوئل‌ها شدت می‌یابد، یک الگوی مورفولوژیکی جدید به نام ایجاد چربی در کبد ظاهر می‌گردد. احتقان رگ‌های خونی کبدی در مطالعات بسیاری که در ارتباط با نامتعادل بودن جیره‌ی غذایی در ماهیان پرورشی بوده‌اند گزارش شده است(Przybyl *et al*., 2006) در ماهی سیم دریایی نیز پدیده احتقان پس از تغذیه با جیره لیپیدی که فاقد اسید های چرب ضروری بود مشاهده شد (Przybyl *et al*., 2006). پارانشیم کبد قزل آلاهایی که با پودر سویا تغذیه شده بودند که سطح بالاتری از تجمع لیپیدی در مقایسه با گلیکوژن را نشان داد(Sakamoto, Yone 1978) . همچنین Refstie و همکاران (2000) اختلال در جذب لیپید به دلیل حضور پلی ساکارید های غیر قابل هضم موجود در سویا میل را در ماهی سالمون گزارش کردند. احتقان رگ های خونی در جیره های غذایی ۱، ۲ ، ۴ ، ۷ ، ۸ ، ۹ و ۱۱ مشاهده شد. Schulz و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که در اردک ماهیانی که با انواعی از روغن‌های گیاهی تغذیه شده بودند بیشترین درجه واکوئله شدن و تغییرات پاتولوژیکی مثل احتقان خون در سینوزوئیدها در گروهی که با روغن سویا تغذیه شده بودند مشاهده گردید. در واقع این نتایج نشان دهنده-ی این است که آسیب‌های کبدی ناشی از رژیم های غذایی تنها وابسته به نوع روغن گیاهی و یا سایر ترکیبات موجود در جیره نمی‌باشد، بلکه نوع گونه نیز

مؤثر است. هر گونه‌ای ظرفیت و توان مشخص و محدودی در جذب و یا دفع مواد غذایی دارد و همچنین نیازهای تغذیه‌ای گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Zakes, et al., 2010).

تشکر و قدر دانی

نویسندگان این مقاله بدین وسیله کمال تشکر و قدر دانی خود را از کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام که نهایت سعی و تلاش و همکاری خود را مبذول داشتند اعلام می دارند.

منابع

Babalola, TO., Apata, DF., Omotosho, JS. and Adebayo, MA. (2011). Differential effects of directory lipids on growth performance, digestibility, Fatty of african catfish (*Heterobranchus longifilis*) fingerlings. *Food and Nutrition Sciences*, No, 2.pp: 11-21.

Barrows, TF., Gaylord, GT., Stone, AJD and smith, E.C. (2007). Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout(*Onchorhynchus mykiss Walbaum*), *Aquaculture Research*, No, 38. pp: 1747-1158.

Brauge C., Corraze G.and Medale F.(1995). Effect of dietary levels of lipid and carbohydrate on growth performance, body composition, nitrogen excretion and plasma glucose levels in rainbow trout rear at 8 or 18c .*Reproduction Nutrition Development*., No,35.pp: 517-520.

Caballero, M., Lopez-Calero, G., Socorro, J., Roo, F.J., Izquierdo, M.S., and Fernandez.O.(1999). Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, No,179. pp: 277-290.

Craig, S. and Helfrich, LA. (2002). Undrestanding fish nutrition , and feeds and feeding Extension Specialists, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine , and Department of Fisheris and Wildlife Sciences, Virginia Tech. 420-256.

Dieter Dellmann, H. and Eurell, J.(1998). Textbook of Veterinary Histology 5th ed. Philadelphia, 199-200, 301.

Gallagher, M.L.(1996). Growth responsesand liver changes in juvenile sunshine bass (*Morone chrysopsM. saxitilis*) associated with dietary protein and lipid level. *Animal Feed Science and Technology*, No, 6. pp:75–85.

Juli-Anne, B., Royes, B. and Murie, D.J. (2006). Effects of varying dietary protein and lipid levels on growth performance and hepatocyte changes in juvenile African cichlids (*Pseudotropheus scolofi* and *Haplochromis ahli*). *World Aquaculture Society*, No, 37. pp: 48-59.

Morais,S., Bell, JG., Robertson, DA., Roy, WJ.(2001). Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (Gadus morhua L.): effects on growth, feed utilisation, muscle composition and liver histology, *Aquaculture*, No, 32. Pp: 325-333.

Mekbungwan, A and Yamauchi, K. (2004). Growth performance and histological intestinal alterations in piglets fed diet aryraw and heated pigeon pea seed meal *Histology and Histopathology*, No,19. pp:381–389

Pieterse, E.; Goly, E.L. and Viljoen, J. (2000). The effects of dietry Soyabean oil-cake meal on performance and gut histology of piglets. *Animal Science*. 62-66

Przybyl, A., Ostaszewska, T., Mazurkiewicz, J. and Wegner, A., (2006). The effect of exeperimental starters on morphological changes in the intestine and liver of Common carp (*Cyprinus carpio L.)*larvae reared. *Archives of Polish Fisheries*, No, 14(1). Pp: 67-83.

Royes J-A.B and Murie D.J..(2006). Effects of varying dietary protein and lipid levels on growth performance and hepatocyte changes in juvenile African cichlids (*Pseudotropheus socolofi* and

W.B.Saunders ,Co., Philadelphia, Pennsylvania,USA, No, 5. Pp:354–356.

Watanabe, T. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, No, 68. pp: 242-252.

Yilmaze, E.and Genc, E.(2006). Effects of alternative dietary lipid sources(soy-acid oil and yellow grease) on growth and hepatic lipidosis of common carp(*Cyprinus carpio*) fingerling: Apreliminary study, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, No, 6. pp: 37-42.

Yonkos, L. T. and Kane, A. S. (2001). Atlas of Fat Head Minnow, Normal Histology. *University of Maryland wye Research and Education Center*, 1-5.

Zakes, Z.; Demska-Zakes, K.; Kowalska, A.; Hancz, C. and Jarmolowicz S. (2010). Impact of diets supplemented with rapeseed, soy, and sunflower oils on growth rates and the histological picture of the livers of juvenile pikeperch,(*Sander Iucioperca* L.), *Arch. Pol.fish*, No, 8. pp:67-75.

Haplochromis ahli), *Journal of the World Aquaculture Society*, No,37(1). pp: 48-59.

Refstie, S., Korsoen O. J., Storebakken T., Baeverfjord G., Lein I., and Roem A. J. (2000). Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and Atlantic salmon (Salmo salar). *Aquaculture*, No, 90. pp: 49-63.

Sakamoto, S. and Yone, Y.(1978). Effect of dietary phosphorus level on chemical composition of red seabream. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, No, 44. pp:227–229.

Schulz C.,Knaus U.,Wirth M.,Rennert B. (2005). Effects of Fatty acid,body and tissue composition of juvenile pike varying dietary fattyacid profile on growth performance, perch(Sanderlucioperca. *Aquaculture Nutrition*, No ,11. pp: 403-413.

Stoskopf, M.K. (1993). Nutrition and nutritional diseases of salmonids in *M. Stoskopf, editor. Fish medicine.*

Effect of diet different protein ratio to energy levels on liver histodeformity of *Sparidentex hasta*

Nicknam A.[1], Abdi R.[1]*, Salati A.[2], Movahedinia A.[1], Marammazi G.[3]

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
3- Institude research of Fisheries Science,,south of Iran
*Corresponding author's Address: Khoramshahr, IRAN, P.O. Box: 669, Department of Marine Biology, School of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
E. Mail Address: abdir@kmsu.ac.ir

Abstract

Sparidentex hasta is benefitcailt and economical fish in Persian Gulf that has attracted more attention during this years and is a good candidate for marine aquaculture in coastal zone of Iran. It is understood that the optimal ratio of diet ingredients guarantee appropriate growth rates, condition and health of the fish. After adaptation in 2 weeks by a lipid-free diet, fish were fed for 8 weeks by experimental diets in 300 L tanks (n=36). The routine procedures of preparation of tissues were followed and the paraffin blocks were cut at 5 microns , stained with H&E and studied under light microscope. In some unsuitable ratio, histopathological changes for example congestion, margination of nucleous and vaculation in hepatocyte were seen. Results showed for culture of *Sparidentex hasta*, with protein(47.7%) and energy(18.95%) was optimized for other liver histological parameters.

Key words: protein, diet, histodeformity, *Sparidentex hasta*