فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۵، جلد ۱۲، شماره۲، بهار ۹۸، صفحه ۷۳تا ۸۳
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

اثرات دوره های گرسنگی طولانی مدت بر ساختار بافت کبد و روده در تاس ماهیان سیبری(*Acipenser baeri*)

شیرین حامدی[۱]، ایمان ناصری فرد[۲]، **هادی ابراهیمی**[۱]، مریم عضدی[۱]
۱-پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ایران.**ebrahimi.hadi121@yahoo.com**
۲-دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر.ایران.

تاریخ دریافت:۹۷/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: تعداد زیادی از ماهیان دوره‌های طبیعی گرسنگی را در طول سال، در مدت زمستان، هنگام مهاجرت‌های تخم‌ریزی و یا زمانی که کاهش غذا در محیط زندگی تحمل می‌کنند. در این مطالعه اثرات دوره های گرسنگی طولانی مدت بر ساختار بافت کبد و روده تاس ماهیان سیبری با میانگین وزنی ۰/۵٤ ±٥٦ گرم به مدت ۵ هفته انجام گرفت.

روش کار: ۲۲۵ قطعه تاس ماهی سیبری انتخابی به روش کاملاً تصادفی بین ۹ تانک ۵۰۰ لیتری استوانه ای شکل توزیع گردیدند. ماهیان به مدت ۲ هفته در ابتدا با شرایط آزمایشی سازگار شدند. گروه شاهد در تمام مدت آزمایش ٤ بار در روز تا حد سیری تغذیه شد. تیمار اول ۲ هفته گرسنگی و تیمار دوم ۳ هفته گرسنگی را تجربه کرد. به منظور مطالعه ساختار کبد و روده در پایان دوره های گرسنگی از هر یک از تیمارها و گروه شاهد ٦ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و در محلول بوئن تثبیت گردید. سپس با استفاده از روش استاندارد پس از طی مراحل قالب گیری برش های ۷ میکرومتری از آن ها تهیه و سپس با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: شاخص های دستگاه گوارش و کبدی(HSI و DSI) و هم چنین طول پرزهای ماهیان گروه شاهد به صورت معنی داری(P <۰/۰۵) بالاتر از تیمارهای ۲ هفته و ۳ هفته گرسنگی بود. طول انتروسیت های روده هیچ اختلاف معنی داری(P>۰/۰۵) را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد. نتایج بررسی های میکروسکوپی نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد اکثر علائم پاتولوژیک از جمله دژنرسانس زیاد چربی، نکروز سلولی، پرخونی زیاد و رکورد صفراوی در کبد تاس ماهیان سیبری در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. هم چنین در تیمارهای ۲ هفته گرسنگی پرخونی، آتروفی و رکورد صفراوی کمتری نسبت به تیمارهای ۳ هفته گرسنگی در کبد مشاهده گردید.

نتیجه گیری: نتایج حاصل نشان داد که دوره های گرسنگی طولانی مدت می تواند بر ساختار کبد و روده تاس ماهیان سیبری از طریق مصرف ذخایر این بافت ها و متابولیسم چربی در دستگاه گوارش و گلیکوژن کبد اثرگذار باشد.

واژه های کلیدی: تاس ماهی سیبری، *Acipenser baeri* ، گرسنگی، بافت کبد، بافت روده.

مقدمه

منظور از گرسنگی تنها عدم دریافت مواد غذایی از طریق رژیم غذایی نیست، بسیاری از بیماری‌ها و حالات طبیعی که همراه با کاهش اشتها یا بار کاتابولیک باشند، باعث بروز علائم گرسنگی می‌گردند(۲۳). تعداد زیادی از ماهیان دوره‌های طبیعی گرسنگی را در طول سال، در مدت زمستان، هنگام مهاجرت‌های تخم‌ریزی و یا زمانی

که غذا در محیط زندگی ماهی، به دلایل مختلفی کاهش پیدا نموده، تحمل می‌کنند. این دوره‌های گرسنگی معمولاً فصلی است، ولی زمان آن می‌تواند بسیار متغیر بوده و از چند هفته تا حتی چندین ماه نیز ادامه پیدا کند و باعث کاهش ذخایر انرژی در بدن ماهی به مقدار بسیار زیادی شود و موجب تحلیل بافت‌ها به منظور زنده ماندن گردد(۱۷). گرسنگی هم چنین منجر به هیدراته شدن بافت‌های بدن می گردد(۱۴،۱۷). در گرسنگی‌های کوتاه کاهش وزن بافتی با جذب آب، جبران می گردد(۳۳،۳۴) و این عامل یک نقش اساسی در جلوگیری از کاهش وزن بدن در اوایل دوران گرسنگی دارد(۱۷). گونه‌های مختلف ماهیان استراتژی‌های متفاوتی برای مقابله گرسنگی دارند. برخی از ماهیان در مواجهه با محرومیت غذایی پروتئین ماهیچه را به عنوان منبع اصلی انرژی مصرف نموده و برخی دیگر در ابتدا از چربی و گلیکوژن استفاده می‌کنند(۱۲،۳۰). قسمت اعظم چربی در ماهی به صورت ذخیره در کبد و احشاء داخلی وجود دارد. این چربی در اثر گرسنگی و محرومیت غذایی خیلی سریع شکسته شده و موجب افزایش سطح اسید چرب آزاد پلاسما می‌گردد(۱۲،۱۳). البته در گروهی ازماهیان نیز مقدار اسید چرب ثابت مانده و یا حتی کاهش پیدا می-کند(۱۶). در پستانداران ذخیره کربوهیدراتی گلیکوژن کبد، مهم‌ترین منبع تأمین کننده انرژی در دوران گرسنگی می‌باشد، ولی در ماهیان نتایج متفاوتی گزارش گردیده است. به عنوان مثال در کپور معمولی بعد از ۲۲ روز گرسنگی سطح گلوکز خون و گلیکوژن کبد هیچ تغییری نکرد(۱۹). Jezierska و همکاران(۱۹۸۲) گزارش کردند که در ماهی کفشک در ۳۵ روز اول گرسنگی بیشتر چربی موجود درکبد و دستگاه گوارش مصرف شده است ولی در مراحل بعدی گرسنگی ۲۵-۲۰ درصد انرژی از کاتابولیسم پروتئین خصوصاً پروتئین سفید تأمین می‌شود. در کنار تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی که به وسیله گرسنگی در ماهیان شکل می گیرد، تغییرات بافت شناسی نیز در روده، کبد رخ می دهد. علاوه بر این تخریب سلول ها در لوله گوارش در اثر گرسنگی نیز مشاهده شده است(۵،۳۲). با این حال، به نظر می رسد اثرات دوره های گرسنگی بر روی ساختار بافت های کبد و روده از نقطه نظر بافت شناسی کمتر مورد توجه قرار گرفته است و به جز در زمینه اثرات دوره های گرسنگی در لارو ماهیان(به ویژه ماهیان دریایی)، اطلاعات خیلی کمی در مورد سایر مراحل زندگی ماهیان وجود دارد. به عنوان مثال Ostaszewska و همکاران(۲۰۰۵) تغییرات مورفولوژیکی بافت های دستگاه گوارش لای ماهی نوجوان(روده، کبد و پانکراس) را در طی دوره های گرسنگی کوتاه مدت مورد مطالعه قرار دادند. Krogdahl و Bakke-McKellep(۲۰۰۵) اثرات دوره های گرسنگی و غذادهی را بر روی تغییرات سریع در بافت روده و فعالیت آنزیم های گوارشی ماهی آزاد اقیانوس اطلس را گزارش کردند. هم چنین Sheibani و همکاران(۲۰۱۳) تأثیرات گرسنگی و تغذیهٔ مجدد در بافت کبد بچه ماهی آزاد دریای خزر را مورد بررسی قرار دادند. تاس ماهی سیبری یک گونه آب شیرین و یا نیمه رود کوچ است(در برخی منابع به عنوان گونه آب شیرین غیر مهاجر معرفی شده است) که غالباً در بخش های میانی و پایین دست رودخانه ها منتهی به آب‌های لب شور دیده می-شوند(۱۰). آشفتگی های جریان آب و نوسان میزان آب در این نواحی ممکن است تغییراتی در کیفیت آب(دما، گازهای محلول) و تولیدات اولیه و ثانویه آب را موجب شود. این عوامل دسترسی به مواد غذایی را محدود کرده و ماهیان را با شرایط گرسنگی مواجه می کند. از آن‌جایی

که روند سازش با شرایط گرسنگی و توانایی تکاملی برای تحمل دوران محرومیت غذایی و برگشت به شرایط اولیه پس از دریافت مجدد غذا در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت می‌باشد(۱۷). از این رو، تحقیق اثرات دوره‌های گرسنگی بر بافت کبد و روده تاس ماهیان سیبری را با هدف به دست آوردن تغییرات آسیب شناسی این بافت ها در طی دوره‌های گرسنگی، مورد مطالعه قرار داد.

مواد و روش‌ها

بچه تاس ماهیان سیبری مورد استفاده در این مطالعه در پاییز سال ۱۳۸۸ از یک مزرعه خصوصی واقع در استان فارس خریداری شد. قبل از ذخیره سازی ماهیان، تانک ها به وسیله مواد ضدعفونی کننده کاملاً ضدعفونی شده و سپس با آب شستشو داده شدند. پس از گذراندن دوره سازگاری به شرایط آزمایشی به مدت ۲ هفته، تعداد ۲۲۵ قطعه بچه ماهی انتخابی با میانگین وزنی ۰/۵۴± ۵۶ گرم به صورت کاملاً تصادفی بین ۹ تانک ۵۰۰ لیتری استوانه ای شکل توزیع گردیدند. در طول مدت سازگاری ماهیان به وسیله‌ی پلت خشک(۴۴/۸٪پروتئین، ۱۸/۰۹٪ چربی، ۱۸/۳۵٪ کربوهیدرات، رطوبت ۷/۳۱٪، ۱۰/۲۸٪ خاکستر، ساخته شده توسط شرکت چینه) در چهار مرحله و در ساعت های ۱۲،۸، ۱۶، ۲۰ تا حد سیری تغذیه شدند. در طول مدت آزمایش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دمای آب ۰/۹±۱۷/۹ درجه سانتی گراد، pH آب ۰/۱±۷/۲ و اکسیژن محلول ۰/۸۵±۷/۵ میلی گرم در لیتر در نوسان بود. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۳ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. تیمارها در واقع تلفیقی از زمان های مختلف گرسنگی(۰، ۲ و ۳ هفته گرسنگی) بود. بدین صورت که : گروه شاهد در تمام مدت آزمایش ۴ بار در روز و در حد سیری تغذیه شد، تیمار اول ۲ هفته گرسنگی و تیمار دوم ۳ هفته گرسنگی را تجربه کرد. به منظور مطالعه ساختار کبد و روده در پایان دوره های گرسنگی به صورت کاملاً تصادفی از هر یک از تیمارها و گروه شاهد تعداد ۶ قطعه ماهی انتخاب و به آزمایشگاه بافت شناسی منتقل و پس از بیهوشی در عصاره گل میخک، طول و وزن ماهیان ثبت و بلافاصله بعد از خالی کردن روده ماهیان دستگاه گوارش(از مری تا مخرج) و کبد به دقت جدا گردید و برای محاسبه شاخص دستگاه گوارش(DSI) و کبدی(HSI) وزن و با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردیدند(۶،۱۱).

HSI (Hepatosomatic index) = 100 × liver weight / body weight

DSI (Digestosomatic index) =100 × digestive weight / body weight

نمونه های بافتی جهت مشاهده توسط میکروسکوپ نوری در محلول بوئن تثبیت و سپس برای نگهداری در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند. مراحل آبگیری با استفاده از الکل های ۹۰ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً با الکل بوتیلیک(۱۲ ساعت) انجام گرفت. سپس نمونه ها با استفاده از گزیلین شفاف سازی شده و به مدت ۱۲ ساعت در داخل آون(دمای ۶۰ درجه سانتی گراد) در پارافین مایع قرار داده و سپس قالب‌گیری شدند(۲،۲۹). پس از قالب‌گیری با استفاده از میکروتوم (Leitz مدل ۱۵۱۲) مقاطع نمونه بافت ها به ضخامت ۷ میکرون برش داده شد و به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری(مدل نیکون E-600) متصل به برنامه محاسبه‌گر میکروسکوپی مدل NIKON DIGITAL SIGHT مورد مطالعه و اندازه گیری قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (version 15.1) تحت سیستم عامل Windows

XP انجام گرفت. از آزمون Kolmogrove-Smirnove به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها و از آزمون لون برای تعیین برابری واریانس ها استفاده شد. تفاوت‌های احتمالی بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون Tukey بررسی شد. در همه آزمون های آماری سطح اطمینان ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

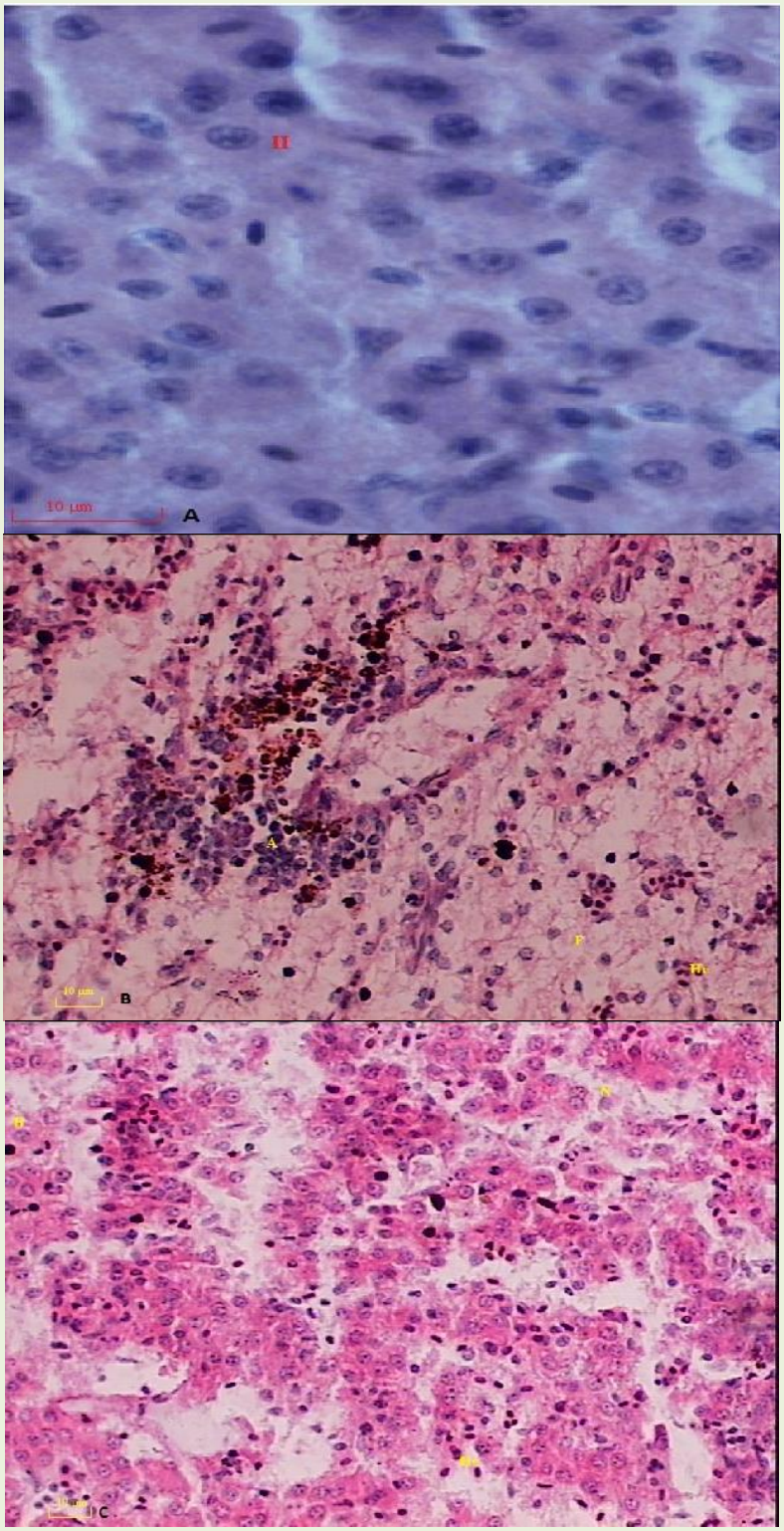
نتایج

شاخص دستگاه گوارش در پایان آزمایش اختلاف معنی‌داری($P <۰/۰۵$) را بین گروه شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ هفته گرسنگی نشان دادند. بیشترین میزان این شاخص(۱۲/۷۹±۰/۳۹) در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان آن(۶/۶۵±۰/۲۱) در تیمار ۲ هفته گرسنگی گزارش شد(جدول ۱). در گروه شاهد شاخص کبدی ماهیان به صورت معنی داری($P <۰/۰۵$) بالاتر از تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. بیشترین میزان این شاخص(۳/۲۱±۰/۱۶) در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان آن(۱/۶±۰/۴۷) در تیمار ۳ هفته گرسنگی گزارش شد(جدول ۱). در پایان آزمایش میزان بازماندگی اختلاف معنی داری($P <۰/۰۵$) را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد. از بررسی و مطالعه نمونه-های میکروسکوپی تهیه شده از بافت کبد تغییراتی در تیمارهای با محرومیت غذایی و گروه شاهد مشاهده شد که در شکل ۱ ارائه شده است. در ساختار کبد ماهیان گروه شاهد علائمی مثل آتروفی، پرخونی و رکود صفراوی خیلی کم مشاهده گردید. هم چنین سلول‌های کبدی ماهیان مطالعه شده سالم گزارش شد. در ساختار کبد ماهیان تیمار ۱(۲ هفته گرسنگی) رکود صفراوی و آتروفی کم، هیپرتروفی، نکروز سلولی، پرخونی و دژنرسانس چربی زیاد مشاهده گردید. علاوه بر این سلول‌های کبدی این ماهیان سالم گزارش نشد. در ساختار کبد ماهیان تیمار ۲(۳ هفته گرسنگی) رکود صفراوی کم، آتروفی، هیپرتروفی، نکروز سلولی، پرخونی و دژنرسانس چربی زیاد مشاهده شد. سلول های کبدی این ماهیان نیز سالم گزارش نشد. مطالعه و بررسی نمونه های میکروسکوپی تهیه شده از روده(جدول ۱ و شکل ۲) نشان داد که در گروه شاهد طول پرزهای روده به صورت معنی داری($P<۰/۰۵$) بالاتر از تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. اما طول انتروسیت های روده هیچ اختلاف معنی داری($P>۰/۰۵$) را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد.

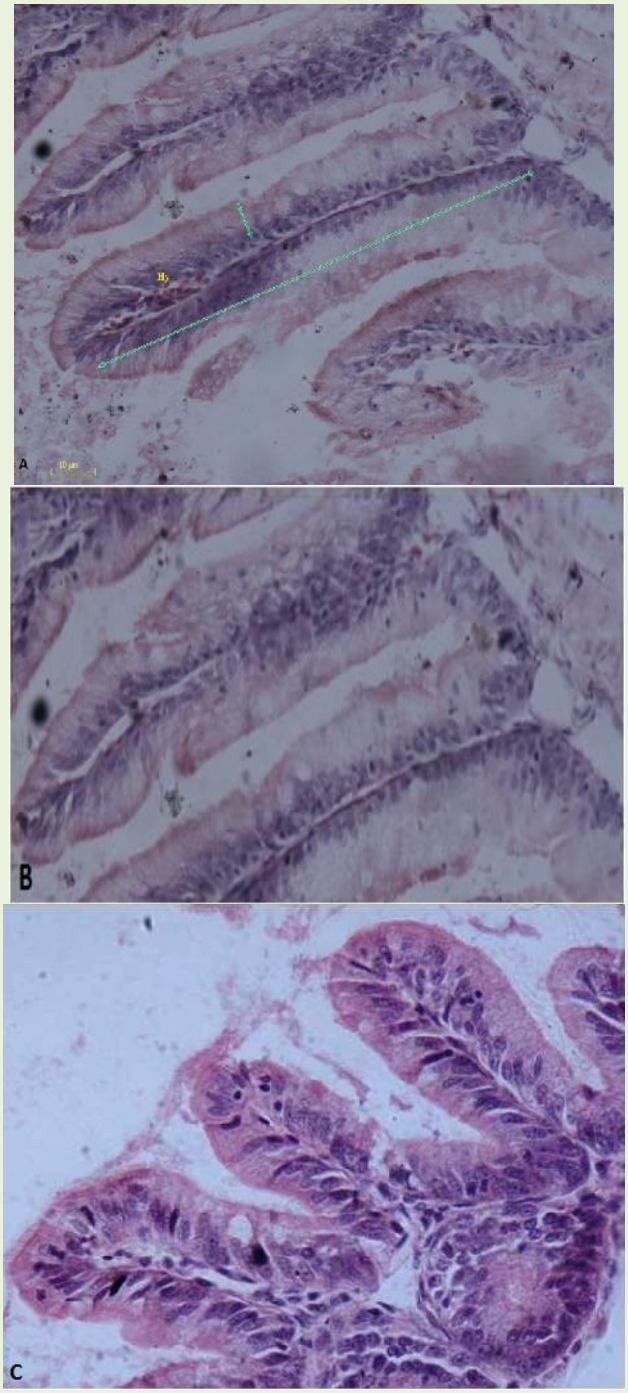
جدول ۱- بازماندگی، شاخص های دستگاه گوارش و کبدی بچه تاس ماهیان سیبری در تیمارهای مختلف(میانگین ± انحراف معیار)

پارامترها	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲
بازماندگی(٪)	۸۵±۲/۰۵ [a]	۸۲±۲/۱۳ [a]	۷۸±۲/۰۹ [a]
شاخص دستگاه گوارش(٪)	۱۲/۷۹±۰/۳۹ [a]	۶/۶۵±۰/۲۱ [b]	۶/۷۳±۰/۱۱ [b]
شاخص کبدی(٪)	۳/۲۲±۰/۳۹ [a]	۱/۹۱±۰/۲۱ [b]	۱/۶۷±۰/۱۱ [b]
طول پرزهای روده(میکرومتر)	۳۰۶/۲۴±۴/۲۲ [a]	۱۵۲/۱۹±۸/۷۸ [b]	۱۹۱/۸۵±۴/۴۹ [b]
طول انتروسیت های روده(میکرومتر)	۲۳/۵۴±۰/۷۹ [a]	۲۳/۶۲±۲/۷۲ [a]	۲۴/۸۳±۱/۱۳ [a]

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار می‌باشد($P<۰/۰۵$).



شکل ۱- مشاهده سلول های هپاتوسیت کبد(H) در گروه شاهد(H&E, X۱۰۰, A)؛ دژنرسانس چربی(F) آتروفی سلولی(A) و خونریزی (He) بافت کبد در تیمار ۱(۲ هفته گرسنگی)(H&E,X۲۰, B)؛ هیپرتروفی (H)، نکروز سلولی(N) و خون ریزی(He) بافت کبد در تیمار ۲(۳ هفته گرسنگی)(H&E,X۲۰, C)



شکل ۲- مشاهده پرخونی(Hy)، پیکان بزرگ = طول موکوس های (Mucosa) قاعده ای (پرزهای روده) و پیکان کوچک = طول انتروسیت های روده (H&E, 20X, A, B, C)

بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر شاخص های کبدی و دستگاه گوارش در ماهیان گروه شاهد به طور معنی داری بالاتر از ماهیان با محرومیت غذایی بود. این نتایج نشان دهنده ذخیره شدن انرژی و چربی در کبد و دستگاه گوارش گروه شاهد و مصرف این مواد در گروه با محرومیت غذایی در طول این دوره می‌باشد. این نتیجه بیان‌گر نقش مؤثر کبد و دستگاه گوارش در تأمین نیازهای انرژی در دوران گرسنگی است. ذخایر کبدی نخستین منبع تأمین کننده انرژی در مدت گرسنگی بوده و در زمان گرسنگی نه تنها ذخیره سازی مواد در کبد متوقف می گردد، بلکه گلیکوژن و چربی کبدی نیز برای تأمین نیازهای انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۷،۲۰). نتایج مشابهی در خصوص کاهش شاخص های کبدی و دستگاه گوارش در اثر گرسنگی توسط محققین گزارش شده است. Hung و همکاران(۱۹۹۷) کاهش معنی داری را پس از ۴، ۶، ۸ و ۱۰ هفته گرسنگی در تاسماهی سفید *Acipenser transmontanus* مشاهده نمودند. Ali و همکاران(۲۰۰۳) بیان کردند زمانی که کپور در معرض ۲ ماه گرسنگی و ۱۲ روز تغذیه مجدد قرار گرفت، اولین مرحله(تا روز هشتم گرسنگی) با یک کاهش کلی در شاخص کبدی به دلیل مصرف گلیکوژن کبدی همراه می باشد. Krogdahl و Bakke-McKellep(۲۰۰۵) کاهش معنی داری را در قسمت های مختلف دستگاه گوارش(ابتدایی، میانی و انتهایی) پس از ۱۱، ۱۹ و ۴۰ هفته گرسنگی در ماهی آزاد اقیانوس اطلس مشاهده نمودند.گرسنگی سبب کاهش معنی‌داری در شاخص کبدی و گلیکوژن کبدی در باس دریایی اروپایی *Dicentrarchus labrax* گردید(۲۴). Montserrat و همکاران(۲۰۰۷) کاهش معنی‌داری را در شاخص کبدی ماهی سیم دریایی سر طلایی *Sparus aurata* پس از یک، دو و سه هفته گرسنگی مشاهده کردند. در نوجوان‌های قزل‌آلای رنگین کمان *O. mykiss* شاخص کبدی پس از سه هفته گرسنگی به طور معنی داری کاهش یافت(۲۷). اما در همین مطالعه در مقایسه، در نوزادان گرسنه تغییر معنی-داری در شاخص کبدی مشاهده نگردید. فقدان پاسخ HSI با این دلیل بیان شد که وزن بدن و کبد، هر دو به طور پیوسته تحت تأثیر گرسنگی قرار گرفتند. در واقع یکی از دلایل اصلی این که عموماً ذخایر کبدی نخستین منبع مورد استفاده در طی محرومیت غذایی هستند، این است که این منابع تحرک راحتی دارند(۲۰). در تحقیق حاضر ساختار کبد و روده تاس ماهیان سیبری(*Acipenser baeri*) به منظور شناخت و تشخیص تغییرات احتمالی ایجاد شده توسط محرومیت غذایی مورد مطالعه آسیب شناسی قرار گرفته است. دوره های گرسنگی طولانی می تواند تغییرات قابل توجهی را در لوله گوارش ماهیان ایجاد کند. این تغییرات ممکن است هضم را سخت و یا حتی غیر ممکن کند(۲۱). ارتفاع آنتروسیت ها به عنوان یک شاخص مناسب گرسنگی یا سوء تغذیه مورد بررسی قرار می گیرد. کاهش ارتفاع آنتروسیت ها ممکن است با طول استاندارد و سن ماهیان گرسنه مانده و یا لیز شدن پروتئین های اپیتلیوم روده در ارتباط می باشد(۹،۱۷). در مطالعه مورفولوژی روده تیمارهای ۲ و ۳ هفته گرسنگی، پرزهای روده طول کمتری نسبت به گروه شاهد داشتند. فضای داخلی لوله گوارش ماهیان با پرزه های روده ای اشغال شده است که علاوه بر افزایش نسبت سطح به حجم، افزایش جایگاه جهت اتصال باکتری های مفید را در روده فراهم می کند. با توجه به این که در طول دوره محرومیت غذایی ماهیان هیچ گونه مواد غذایی دریافت نکرده اند، بنابراین منطقی

به نظر می رسد که طول پرزهای روده به دلیل عدم استفاده و کارایی در مقایسه با گروه شاهد که همواره مواد غذایی را دریافت کرده کاهش نشان دهد. Abolfathi و همکاران(۲۰۱۲) با اعمال گرسنگی بر روی ماهی کلمه(*Rutilus caspicus*) گزارش کردند که طول موکوس های قاعده ای روده در ماهیان با ۲ و ۳ هفته گرسنگی در مقایسه با گروه شاهد کاهش نشان داد. مطالعات سایر محققین نیز نشان داده است که طول روده، چین خوردگی های روده و طول میکروپرزهای روده در طول دوره های گرسنگی می تواند کاهش یابد(۷،۲۸). موکوس های قاعده ای روده مشخص شده است که حرکات بسیاری دارند و واکنش های زیادی نسبت به دسترسی غذا نشان می دهند(۱). ماهیان در موقع روبرو شدن با دوره های گرسنگی و عدم دسترسی به غذا می-توانند نواحی سطحی روده را به دو روش تغییر دهند: راه اول از طریق تغییر دادن اندازه چین خوردگی های روده(نواحی موکوسی) و راه دوم به وسیله تغییر دادن نواحی سطحی لبه های بروسی روده(۸). مشخص شده که در هردو این تغییرات، سبب ایجاد اختلالاتی در ساختار موکوس و هضم درون سلولی شده، که در نتیجه آن رشد و متابولسیم بدن مختل می گردد(۲۲). نتایج مطالعه حاضر و مطالعات سایر محققین در تایید یافته های مذکور می-باشد. اصلی ترین ماده ذخیره ای در کبد ماهیان گلیکوژن است که در حدود ۱ تا ۶ درصد وزن کبد را تشکیل می-دهد و در مرحله بعدی چربی است. در برخی گونه ها مانند کپور معمولی(*Cyprinus carpio*)، گلیکوژن می-تواند مقادیری بیش از ۱۰ درصد را تشکیل دهد(۲۰،۲۶). مصرف ذخایر چربی در طی دوره محرومیت غذایی بین گونه ها بسته به بافت مورد نظردر ذخیره چربی و هم چنین بسته به استراتژی استفاده از دیگر منابع مانند کربوهیدرات ها متفاوت است. برخی گونه ها در ابتدا ذخایر گلیکوژن را به مصرف می رسانند و سپس به سراغ منابع چربی می روند و برخی دیگر از گونه ها منابع چربی را ترجیح می دهند(۴،۲۰). با توجه به مطالعه بافت شناسی به نظر می رسد که در زمان گرسنگی ماهیان تنها به مصرف ذخایر گلیکوژن کبد اکتفای کرده اند و ذخایر چربی دست نخورده باقی مانده اند. همان طور که در شکل های ۲ و ۳ مشاهده می شود دژنرسانس چربی در ساختار بافت ها در ماهیان با محرومیت غذایی حکایت از تجمع بافت چربی در سیتوپلاسم بافت کبد دارد. تحقیقات نشان داده اند که دژنرسانس چربی در بافت کبد غالباً توام با آتروفی کم همراه می باشد(۲۵)، که این مسئله در تحقیق حاضر به وضوح قابل مشاهده شد. تحقیق حاضر نشان داد که اندازه کبد در مدت ۲ هفته گرسنگی کاهش معنی داری را به همراه داشت و با طولانی تر شدن دوره گرسنگی اندازه کبد کاهش بیشتری را نشان داد. این نتایج مشابه با تحقیق Sheibani و همکاران(۲۰۱۳) و Ostaszewska و همکاران(۲۰۰۵) می باشد که به ترتیب تأثیرات گرسنگی و تغذیهٔ مجدد در بافت کبد بچه ماهی آزاد دریای خزر و تغییرات مورفولوژیکی بافت های دستگاه گوارش لای ماهی نوجوان(روده، کبد و پانکراس) را در طی دوره های گرسنگی کوتاه مدت مورد مطالعه قرار دادند. محققان مذکور گرسنگی را عامل آتروفی هپاتوسیت های کبدی و دژنره شدن بافت کبد در ماهی عنوان کردند. این محققان تغییرات مشاهده شده در کبد ماهیان با محرومیت غذایی را ناشی از مصرف ذخایر کبدی برای تأمین انرژی مورد نیاز بدن ماهی بیان کردند. به طور کلی، در تحقیق حاضر پاسخ های فیزیولوژیک مشاهده شده به دوره های گرسنگی(کبد و روده)، در مطالعات صورت گرفته توسط سایر محققین در سایر گونه

ها نیز گزارش شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دوره های گرسنگی طولانی مدت می تواند به صورت مستقیم تغییرات بافتی در ساختار بافت کبد و روده ایجاد کند و بر مصرف ذخایر این بافت ها و هم چنین متابولیسم چربی در دستگاه گوارش و گلیکوژن کبد اثرگذار باشد. با توجه به اهمیتی که طول دوره گرسنگی می تواند در میزان مقاومت و سازش ماهیان در برابر این دوره های داشته باشد، پیشنهاد می شود که اثرات دوره های گرسنگی کوتاه مدت نیز بر ساختار بافت کبد و روده و سایر اندام های بدن در آینده مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از همکاری مدیریت و کارکنان مزرعه خصوصی پرورش ماهیان خاویاری گرمه به جهت تامین ماهیان آزمایشی و شرایط انجام آزمایش کمال تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Abolfathi, M., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Zamani, A. (2012). Compensatory growth in juvenile roach *Rutilus caspicus*: effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area. Journal of Fish Biology, 81; 1880–1890.

2.Akhundov, M.M., Federov, K.F. (1995). Effects of endogenous estradiol on the formation of ovaries in juvenile sterlet, *Acipenser ruthenus*. Journal of Ichthyology, 35; 109-120.

3.Ali, M., Nicieza, A., Wootton, R.J. (2003). Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. Fish and Fisheries, 4; 147–190.

4.Black, D., Love, R.M. (1986). The sequential mobilization and restoration of energy reserves in tissues of Atlantic cod during starvation and refeeding. Journal of Comparative Physiology, 156; 469–479.

5.Diamond, J., Hammond, K. (1992). The matches, achieved by natural selection, between biological capacities and their natural loads. *Experientia*, 48; 551–557.

6.Furne, M., Garsia-Gallego, M., Kidalgo, M.C., Morales, A.E., Domezahn, A., Domezain, J. (2008). Effect of starvation and re-feeding on digestive enzyme activities in sturgeon(*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Comparative Biochemistry and Physiology A, 149; 420-425.

7.Gas, N., Noailliac-Depeyre, J. (1976). Studies on intestinal epithelium involution during prolonged fasting. Journal of Ultrastructure Research, 56; 137–151.

8.German, D. P., Neuberger, D. T., Callahan, M. N., Lizardo, N. R., Evans, D. H. (2010). Feast to famine: the effects of food quality and quantity on the gut structure and function of a detritivorous catfish(Teleostei: Loricariidae). Comparative Biochemistry and Physiology A, 155; 281–293.

9.Green, B.S., McCormick, M.I. (1999). Influence of larval feeding history on the body condition of *Amphiprion melanops*. Journal of Fish Biology, 55; 1273-1289.

10. Holcik, J. (1989). The fresh water fishes of Europe. Aulaverlag Wiesbaden, 1(2); 227- 262.

11. Hung, S.S.O., Liu, W., L, H., Storebakken, T., Cui, Y. (1997). Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, Acipenser transmontanus. Aquaculture, 151; 357-363.

12. Ince, B.W., Thorpe, A. (1976). The effects of starvation and force feeding on the metabolism of the Northern Pike, Esox lucius L. Journal of Fish Biology, 8; 79–88.

13. Jezierska, B., Hazel, J.R., Gerking, S.D. (1982). Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with attention of fatty acids. Journal of Fish Biology, 21; 682-692.

14. Jobling, M. (1980). Effects of starvation on proximate chemical composition and energy utilization of plaice, Pleironectes platessa L. Journal of Fish Biology, 17; 325-334.

15. Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. (2005). Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comparative Biochemistry and Physiology, 141; 450-460.

16. Larsson, A., Lewander, K. (1973). Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla*

L. Comparative Biochemistry and Physiology, 44A; 367-374.
17. Love, R. M. (1970). The chemical biology of fishes. Academic Press, Michigan, 547 p.
18. Montserrant, N., Gabillard, J.C., Capilla, E., Navarro, M.I., Gutiérrez, J. (2007). Role of insulin, insulin-like growth factors, and muscle regulatory factors in the compensatory growth of the trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and Comparative Endocrinology, 150; 462–472.
19. Nagai, M., Ikeda S. (1971). Carbohydrate metabolism in fish. I. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid contents in carp. Nippon Suisan Gakkaishi, 37; 404-410.
20. Navarro, I., Gutierrez, I. (1995). Fasting and starvation. P 393-434, In: Hochachka, P.W., T.P. Mommsen (eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Elsevier, New York, 470 p.
21. Ostaszewska, T., Korwin-Kossakowski, M., Wolnicki, J. (2005). Morphological changes of digestive structures in starved tench *Tinca tinca* (L.) juveniles. Aquaculture International, 14; 113-126.
22. Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Kamaszewski, M., Grochowski, P., Verri, T., Rzepkowska, M., Wolnicki, J. (2010). The effect of plant protein-based diet supplemented with dipeptide or free amino acids on digestive tract morphology and PepT1 and PepT2 expressions in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* A, 157; 158–169.
23. Pasalar, P., Maleknia, N., Shahbazi, A.R. (2000). Harper's biochemistry. Samat Publication, 434 p (in Persian).
24. Perez-Jimenez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., Oliva-Teles, A. (2007). Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax* Effect of dietary composition. Aquaculture, 265; 325–335.
25. Posti, A., Sedigh-Marosti, S.A. (1997). Atlas of fish histology. Tehran University Publication, 328 p (in Persian).
26. Power, D.M., Melo, J., Santos, C.R.A. (2000). The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream. Journal of Fish Biology, 56; 374–387.
27. Raine, J.C., Cameron, C., Vijayan, M.M., MacKenzie, D.S., Leatherland, J.F. (2005) .Effect of fasting on thyroid hormone levels, and TRα and TRβ mRNA accumulation in late-stage embryo and juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry and Physiology, 140A; 452–459.
28. Rios, F. S., Kalinin, A. L., Fernandes, M. N., Rantin, F. T. (2004). Changes in gut grossmorphometry of traira, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding. Brazilian Journal of Biology, 64; 683–689.
29. Roberts, R.J. (2012). Fish pathology. John Wiley and Sons, 592 p.
30. Stimpson, J. (1965). Comparative aspects of the control of glycogen utilisation in vertebrate liver. Comparative Biochemistry and Physiology, 15; 187-197.
31. Sheibani, M., Mojazi Amiri, B., Khodabandeh, S. (2013). The effect of food deprivation and refeeding on liver structure of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) Parr. Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources, 66; 71-79 (in Persian).
32. Wang, T., Hung, C., Randall, D. J. (2006). The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine. Annual Review of Physiology, 68; 223–251.
33. Weatherley, A.H., Gill, H.S. (1981). Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Biology, 18: 195–208.
34. Weatherley, A. H., Gill, H.S., Casselman, J.M. (1987). The biology of fish growth. Academic Press, California, 443 p.

Effects of Long-Term Starvation on Structure of Liver and Intestine Tissue in Siberian Sturgeon, *Acipenser baeri*

Sh. Hamedi[1], I. Naserfard[2], **H. Ebrahimi[1]**, M. Azodi[1]
1. Persian Gulf Research Center, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran. **ebrahimi.hadi121@yahoo.com**
2. Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran

Received:2019.29.1 **Accepted: 2019.10.3**

Abstract

Inroduction & Objective: Many fish tolerate natural fasting periods throughout the year, the winter, during reproductive migration, or when they endure a reduction in food in the living environment. In this study effect of long-term starvation periods on liver and intestine structure of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, with an initial body weight of 56±0.54 g was carried out for 5 weeks.

Materials and Methods: After adaptation for 2 weeks to experimental conditions, 225 experimental fish were randomly distributed in nine 500L fiberglass tanks. The fish were exposed to 3 different feeding regimes; Control (fed four times daily); T1 (2 weeks starvation) and T2 (3 weeks starvation). At the end of the experiment, to investigate the changes of liver and intestine structure, 6 fish specimens from each treatment was randomly selected and fixed into Bouin solution for histological examination. Then, the samples were placed in Paraffin and 7 µm microscopic slides were prepared using standard histological methods and after coloration were investigated under light microscope.

Results: Digestivo and hepato somatic indices (DSI and HSI) and length of villi in the control group were significantly higher (P< 0.05) than the fish starved for 2 and 3 weeks. Length of enterocytes did not show any significant variation among experimental treatments (P> 0.05). The results of microscopy investigations indicated that most pathological signs such as hyperemia, necrosis, fatty degeneration and bile stagnation in the liver of Siberian sturgeon in the deprived fish were observed when compared to the control fish. However, hyperemia, fatty degeneration and bile stagnation in the deprived fish for 2 weeks were lower than that of the deprived fish for 3 weeks, but not significantly.

Conclusion: Overall, the results showed that long-term starvation period on liver and intestine structure of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, can be effective by utilizing reserves of these tissues.

Keywords: *Acipenser baeri*, Starvation, Liver Tissue, Intestine Tissue.