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

شبنم فراهانی[1*]

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 لیپیدو 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 عنصردر 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 *Mullienesiae* با نام علمی *Pocilia sphenops* 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 زینتی 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 هستندحداکثر 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 اگزوژینوس پروتئین ها توسط تخمدان بستگی دارد(Vanderven,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 هیستوشیمیای 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 HUFA در

۱- *دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
Shabi.farahani@yahoo.com

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 gardineri* ،*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 ۱۹۹۱توسط هیستوشیمی کلیه قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) به بررسی بیماری های کلیوی پرداختند.

Parker و همکارانش در سال ۱۹۹۳ با ارزیابی خواص هیستوشیمیایی و بیوشیمیایی تومورهای هپاتیک(کبدی) ۵۰ عدد قزل آلای 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 تفریخ جنین قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را مورد مطالعه قرار دادند. Sisek koprucu و Koprucu در سال ۲۰۰۲ به روش ایمونوهیستوشیمی هورمون های پپتیدی در سلول های اندوکرین ارگان های روده‌ای – معدی ۱۵ نمونه ماهی نیل(*Oreachromis niloticus*) را تعیین کردند. Vanderven و همکارانش در سال ۲۰۰۳ به و ارزیابی هیستوشیمی و ایمونوشیمی mRNA در زبرای (*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 گروه۲۰ عدد ماهی مولی) جهت انجام بررسی های هیستوشیمیایی (اندازه گیری لیپید ، پروتئین، خاکستر و رطوبت) لحاظ گردید. انتقال ماهیان در کیسه هایی که۲/۳ حجم آن از هوا و ۱/۳ از آب پر شده بود صورت گرفت دمای آب آکواریوم ها ۲۳ درجه سانتی گراد، pH آب اکواریوم 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. درمرحله بعد ماهیان بیومتری و کالبد شکافی شدند و کبد ها جهت انجام مراحل هیستوشیمیایی درفریزری 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 وکبد در جداول مربوطه ثبت گردید.

محاسبات هیستوشیمیایی

روش سوکسله در اندازه گیری لیپید : برای اندازه گیری مقدار لیپید از اتردوپترول با نقطه جوش ۴۰-۶۰ درجه سانتیگراد استفاده شد ودر 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 کاملا 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 دقیقا 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 تقریبا 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 تیتر 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 کاملا 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. مجددا 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

جدول۱: داده های حاصل از وزن و طول بدن و کبد گروه مولد، پیش مولد و نابالغ

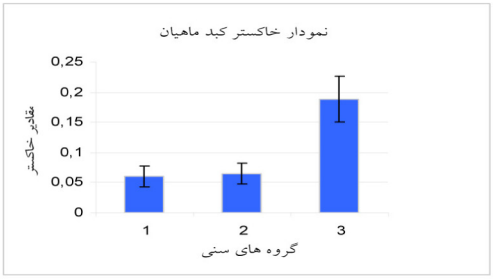
گروه های سنی	وزن کل بدن(گرم)	طول کل بدن(سانتی متر)	وزن کبد(گرم)
مولد	۳.۹۴۸± ۱.۱۲	۵.۷۰۳ ±۰.۴۱	۰.۰۷۴ ±۰.۰۳۹
پیش مولد	۲.۶۹۶±۰.۸۳۱	۵.۲۱۳±۰.۵۷۵	۰.۰۷۴±۰.۰۸۸
نابالغ	۲.۴۶۱±۰.۳۹۵	۵.۲۳۴±۰.۲۹۳	۰.۰۴۸±۰.۰۱۲

نمودار۱: نمودار درصد لیپید کبد ماهیان بالغ(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)

نتایج بررسی درصد لیپید بافت کبددر هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار ($P<0.03$) میان آنها است. ازاینرو گروه پیش مولدab(۱.۷۴۶±۰.۳۲۰ ٪) از گروه مولدb(۱.۲۶۲±۰.۲۲۰٪) و گروه نابالغa(۰.۳۳۰٪±۰.۰۲۵)مقدار بالاتر لیپید در کبد را نشان دادند.

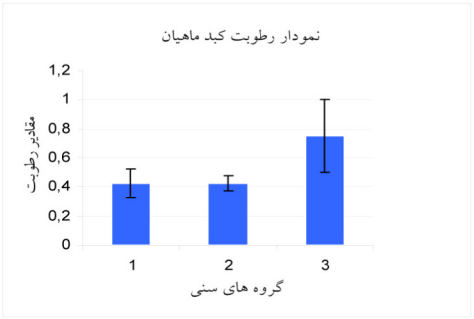
نمودار۲: نموداردرصد پروتئین کبد ماهیان مولد(۱)، پیش مولد(۲) و نابالغ(۳)

نتایج بررسی درصد پروتئین کبد در هر سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنادار ($P< 0.000$) میان آنها است که گروه نابالغa(۰.۰۷۴٪±۰.۰۰۸) از گروه پیش مولدb(۰.۰۲۴٪±۰.۰۰۳) و گروه مولد ab(۰.۰۰۲ ± ۰.۰۱۹٪) مقدار بالاتر پروتئین در کبد را نشان دادند.



نمودار۳: 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 نابالغa(۰.۰۳۸±۰.۱۸۸٪) از گروه پیش مولدb(۰.۰۱۷±۰.۰۶۵٪) و گروه مولد ab (۰.۰۱۸±۰.۰۶۰٪) مقدار بالاتر خاکستر در کبد را نشان دادند.



نمودار۴: نمودارردرصد 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 نابالغa(۰.۲۴۹±۰.۷۵۴٪) از گروه مولدab (۰.۰۹۹±۰.۴۲۶٪) وگروه پیش مولدb(۰.۰۵۳±۰.۴۲۶٪) مقدار بالاتررطوبت 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

۳۲۰ /۰ ± ۱/ ۷۴۶ /۱٪ گروه بالغ با محتوای لیپید ۲۲۰ /۰ ± ۲۶۲ /۱ ٪و گروه نابالغ با محتوای لیپید ۲۵ /۰/۰ ± ۳۳۰ /۰٪ 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 آداپتاسیون با شرایط محیطی جدید در آبهایی با دمای پایین (با غنای غذایی بالا) ذخیره و نگهداری می شود بنابراین تغییرات در جیره غذایی میتواند در رشد بافتهایی 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 ۱۱۴۰ عدد ماهی *seabream*(*Sparu aurata*) با وزن متوسط ۷۰ 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 حاضردر 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 ها ی کبد و تخمدان ماهیCat fish (*Silurus asotus*) مشخص شد که میزان لیپید تخمدان در ماهیان بالغ کم(۱.۶±۷.۳٪)و در دوره post- spawning(۱.۱ ±۲.۳) افزایش می یابد.در کبد نیز میزان لیپید بالغین از۰.۹ ±۵.۳٪ به ۰.۶±۳.۲٪ در دوره post- spawning رسید. درتحقیق 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 ۵/۷ 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(*Sardinella madernesis*, (۰.۹±۱۰٪) و *S . aurita* (۰.۹±۱۲٪) (۰.۶ ±۸٪ *Cephalopholis taeniops*) 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 ویتیلوژنزیز 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 درکبد 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 ۱۸۰ بافت ماهی ۱ تا ۲ ساله شامل(*Cyprinus carpio,*

(*Silurus glanis, Alburnus escherichii*) در دریاچه sarivar 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 غذادهی 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 اماری 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 (۰.۰۰۸ ± ۰.۰۷۴٪) از گروه پیش مولد (۰.۰۰۳ ± ۰.۰۲۴ ٪) ومولد (۰.۰۰۲ ± ۰.۰۱۹ ٪) بیشتر بود .

بر اساس نتایج بدست امده از تحقیقات Fagerlund و همکاران در سال ۱۹۸۲ حضور بیشتر پروتئین در کبد علاوه بر رشد محرکی برای ساخت فسفولیپیدهایی از قبیل ویتیلن می تواند باشد. بر اساس تحقیقات Minlee و همکارانش در سال ۲۰۰۰ پیرامون تاثیرات دفعات غذادهی و رطوبت جیره بر رشد و محتوای ترکیبات بدن Rock fish(*Seabastesschlegeli)* دریافتند که محتوای پروتئین ماهیچه ها تغییری نکرد. با توجه به نقش این عنصر در رشد ، تولید مثل و محرک ساخت فسفولیپیدهایی از قبیل ویتیلن 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 احتمالا 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 ازآنالیز 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 پیش مولد (۰.۰۱۷ ± ۰.۰۶۵٪) و مولد (۰.۰۱۸ ± ۰.۰۶۰ ٪) 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 اماری نتایج پروژه حاضر در مورد بررسی درصد رطوبت بافت کبد اختلاف معناداری ($P < ۰.۰۵$) را در میان سه گروه نشان نداد و در گروه نابالغ (۰.۰۰۸ ± ۰.۰۷۴ ٪) از

دو گروه پیش مولد (۰.۰۰۳ ± ۰.۰۲۴ ٪) و مولـد (۰.۰۰۲ ± ۰.۰۱۹ ٪) بیشتر بود .

مطالعات Min lee و همکارانش در سال ۲۰۰۰ که پیرامـون اثرات دفعات غذادهی و رطوبت محتـوای جیـره بـر رشـد و محتوای ترکیبات بدن انجام داد به این نتـایج رسـیدند کـه بـا کـاهش دفعـات غـذادهی در(*Rock fish(Seabas tesschlegeli* های gr ۵/۷ رطوبت در کبـد و ماهیچـه هـا افزایش یافت. بر اساس تحقیق حاضرمی توان بیـان کـرد کـه یکی دیگر از دلایل بالا بودن رطوبت به سبب افزایش پروتئین و بالتبع خاکسـتر در کبـد نابـالغ نسـبت بـه دو گـروه دیگـر، وضعیت هیدراسیون متفاوت مولکولهـا و محـدودیت بعضـی عناصر در بافتها مثل لیپید نسبت داد. علاوه بر ایـن تغذیـه و نوع گونه آبزیان نیز عاملی تاثیر گذار در میزان رطوبت بافـت ها است.

تشکر و قدردانی

از حمایت‌های دکتر شهلا جمیلی و دکتر فاطمه عباسی کمـال 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 Reseivor, Turkey.Hacaptepe University, Science faculty, Department of biology. 06800 Beytepe, Ankara, Turkey.

5-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.

6-Castagnaro, M؛ Marin, M؛ Chittino, C and Hedrick, R.P.1991. Lectinhistochemistry and ultrastructure of rainbow Trout(*Oncorhynchusmykiss*) 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 17α-methyltestosterone content on
growth and utilization of protein and energy in juvrnile coho salmon(*oncorhynchus kisutch*)
VestVancouver 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 Alcala.1-5.

11-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 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

(Salvelinusleucomaenis)، 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-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.).

15-Institue of biology and institute of biochemistry, Qdense University, DK 5230, Danmark.

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(*Seabastesschlegeli*). 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 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
(*Xiphiasgladius).*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*(Oncorhynchusmykiss)*. 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 *Oreochromisniloticus*.Department of Histology and Embryology، Firat University. 2-4.

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