نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ١، بهار ١٣٩٢
٧١

تاریخ دریافت: ١٣٩٠/٨/١
تاریخ پذیرش: ١٣٩١/٧/١١

بررسی تأثیرات گرسنگی و تغذیهٔ مجدد در بافت کبد بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius Kessler*, ١٨٧٧)

مینا عمادی شیبانی؛ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا
باقر مجازی امیری؛ گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
صابر خدابنده *؛ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

چکیده

تأثیرات رژیم‌های غذایی گرسنگی و تغذیهٔ مجدد، در تغییرات بافت کبد بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، بررسی شد که در مرحلهٔ پار (وزن متوسط g ١ ± ١٢) بودند و در ١٢ تانک بتنی (٤٠ ماهی در هر تانک) در یک سیستم باز نگهداری می‌شدند. دوره‌های غذادهی شامل ٦ هفته غذادهی کامل (شاهد)، ٣ هفته گرسنگی، ٦ هفته گرسنگی کامل و ٣ هفته گرسنگی – ٣ هفته غذادهی بود. در این آزمایش از ٥ ماهی در هر تکرار (٣ تکرار از هر تیمار) اندام کبد جدا و در محلول بوئن تثبیت شد. بافت‌های تثبیت‌شده آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدند و از آنها مقاطع میکروسکوپی ٤ میکرونی تهیه شد و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی سپس، به وسیلهٔ میکروسکوپ نوری، عکس‌برداری و تفسیر شدند. دوره‌های گرسنگی باعث آتروفی هپاتوسیت‌ها و کاهش اندازهٔ آنها ($P<0,05$)، افزایش فضاهای بین سلولی و فروریختن سیتوپلاسم در کبد شد. با تغذیهٔ مجدد به مدت ٣ هفته در بچه ماهیان، افزایش اندازهٔ هپاتوسیت‌ها و ترمیم و بازسازی بافت کبد مشاهده شد. این پژوهش نشان داد که بچه ماهی آزاد دریای خزر در اثر محدودیت غذایی و مصرف ذخایر موجود در بافت کبد دچار آسیب‌های بافتی در این اندام می‌شود، اما در صورت تغذیهٔ مجدد و بازسازی سطح ذخایر انرژی کبد قادر به جبران و ترمیم خسارات ناشی از گرسنگی است.

واژگان کلیدی: بافت‌شناسی، تغذیهٔ مجدد، ، کبد، گرسنگی، ماهی آزاد دریای خزر.

* نویسنده مسئول تلفن: ٠٩١٤٤٤٧٢٠٣٣
E. mail: surp78@yahoo.com

۱. مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (Salmo trutta caspius)، یکی از ۹ زیرگونهٔ قزل‌آلای قهوه‌ای (Salmo trutta) از خانوادهٔ آزاد ماهیان در جهان، با بزرگ‌ترین اندازه و وزن است (Dorafshan *et al*., 2008). این گونه آنادرموس به طور عمده در سواحل جنوبی دریای خزر وجود دارد و برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های استان‌های گیلان، مازندران و گلستان از جمله رودخانه‌های چالوس، بابلرود، سفیدرود، سردآبرود، تنکابن و شفارود وارد می‌شود (Kiabi *et al*., 1999; Jalali and Mojazi Amiri, 2009). به علت آلودگی دریا و منابع آبی و ورود فاضلاب‌های شهری به آب رودخانه‌ها، ازبین‌رفتن زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، مسدودشدن مسیر مهاجرت همچنین، حضور صیادان سودجو که اقدام به گستردن دام در مسیر مهاجرت می‌کنند، بقای نسل این گونهٔ اقتصادی مهم به خطر افتاده است. بنابراین، به منظور افزایش تکثیر و پرورش این گونه به تولید مصنوعی آن در ایران توجه ویژه‌ای شده است (ibid). این گونه در مراکز تکثیر و پرورش مصنوعی در ایران تا رسیدن به وزن تقریبی ۲۰ گرم نگهداری می‌شود سپس، هر ساله بیش از ۳۰۰ هزار قطعه از آنها در رودخانه‌های مشرف به دریای خزر رهاسازی می‌شوند (Ramezani, 2009).

عملیات رهاسازی ماهیان تکثیریافته به صورت مصنوعی، در محیط طبیعی، به‌تازگی باعث نگرانی محققان علم شیلات و آبزی‌پروری شده است، چرا که دامنه‌ای از مشکلات اکولوژیک این عملیات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Einum and Fleming, 2001). بعد از رهاسازی، ماهیان رهاشده در یک محیط با مشکلاتی همچون واکنش‌های رقابتی، دسترسی به غذا و افزایش شکارگری مواجه‌اند که باعث تأثیر در جمعیت ماهی در نهایت، رشد و میزان بقای آن در ابتدای رهاسازی می‌شود. توانایی ماهی در مقابله با این شرایط سخت به نوع گونه نیز بستگی دارد. کمبود غذا یکی از موقعیت‌هایی است که بسیاری از ماهیان در محیط طبیعی با آن مواجه می‌شوند. بنابراین، مطالعهٔ پدیدهٔ گرسنگی، بعد از رهاسازی ماهی، مورد توجه محققان علم آبزی‌پروری بوده است و مطالعهٔ تغییرات ساختاری و متابولیکی در شرایط سخت می‌تواند دستاورد خوبی برای رسیدن به شرایط ایده‌آل ماهی باشد (Mizuno *et al*., 2002; Furné *et al*., 2008).

در ماهیان، تغییرات مربوط به گرسنگی باعث اختلال در متابولیسم و گوارش مواد مغذی می‌شود که ممکن است به زوال بافت‌های بدن موجود منجر شود. سیستم گوارشی و غدد مرتبط با آن، همچون کبد و پانکراس، اولین اندام‌هایی‌اند که از کمبود غذا متأثر می‌شوند (Green and McCormick, 1999; Gisbert and Doroshov, 2003). کبد بزرگ‌ترین و مهم‌ترین غدهٔ بدن است که در بسیاری از اعمال متابولیکی بدن از جمله متابولیسم و ذخیرهٔ چربی و گلیکوژن، گلوکونئوژنز و سم‌زدایی شرکت دارد (Rocha *et al*., 1994). در واقع منابع اولیهٔ انرژی، در زمان گرسنگی، گلیکوژن و لیپیدهای ذخیره‌شده در سلول‌های کبدی‌اند و با طولانی‌شدن دوران گرسنگی، آمینواسیدهای پروتئین‌ها می‌توانند منبع مهم انرژی باشند (Gisbert and Doroshov, 2003). افت شرایط فیزیولوژیکی ماهی در فاز آخر پرورش می‌تواند تأثیرات سوئی در کارایی ماهی در مراحل بعدی رشد در محیط طبیعی بگذارد (Ostaszewska *et al*., 2005). این تحقیق دربارهٔ گونه‌های متعدد ماهیان مواجه با گرسنگی و شرایط بچه ماهیان آزاد پرورش‌یافته، در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت، انجام شد که معمولاً قبل از رهاسازی از غذای کنسانتره تغذیه کرده بودند و در محیط رهاسازی به دلایل مختلف از جمله نبود شکار، نداشتن مهارت شکار یا نامساعدبودن شرایط محیطی به غذا دسترسی نداشتند. این تحقیق به منظور بررسی تغییرات ناشی از گرسنگی کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت در کبد این ماهیان، که اندام اصلی برای متابولیسم مواد مغذی و اعمالی همچون گلیکولیز، گلوکونئوژنز و متابولیسم لیپیدهاست، همچنین بررسی

امکان بازسازی و ترمیم این بافت در صورت تغذیهٔ مجدد بعد از قرارگرفتن در شرایط گرسنگی، صورت گرفته است و می‌تواند ما را برای درک بهتر شرایط بعد از رهاسازی بچه ماهیان و مدیریت رهاسازی آنها کمک کند.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. نمونه‌برداری

این تحقیق به مدت ٦ هفته در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت انجام شد. بچه ماهی‌ها با میانگین وزنی ۱±۱۲ گرم به تعداد ٤٨٠ عدد در مرحلهٔ پار بودند و در ۱۲ تانک بتنی (٤٠ ماهی در هر تانک) در یک سیستم باز نگهداری می‌شدند. آب حوضچه‌ها به طور دائم با آب رودخانه با متوسط دمای روزانه ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد و دبی ۱۵ لیتر در دقیقه تأمین می‌شد. شرایط تغذیه‌ای اعمال‌شده در این آزمایش شامل ٤ تیمار و در هر تیمار ۳ تکرار بود. دوره‌های غذادهی شامل ٦ هفته غذادهی کامل (FFF شاهد)، ۳ هفته گرسنگی (FS گرسنگی کوتاه‌مدت)، ٦ هفته گرسنگی کامل (SSS گرسنگی بلندمدت) و ۳ هفته گرسنگی – ۳ هفته غذادهی بود (SF) (جدول ۱).

جدول ۱. تیمارهای غذادهی در بچه ماهیان آزاد دریای خزر (S:Starvation F:Feeding)

تیمار	هفتهٔ اول	هفتهٔ دوم	هفتهٔ سوم	هفتهٔ چهارم	هفتهٔ پنجم	هفتهٔ ششم
FFF	+	+	+	+	+	+
SSS	–	–	–	–	–	–
FS	+	+	+	–	–	–
SF	–	–	–	+	+	+

۲.۲. بافت‌شناسی

پس از پایان مرحلهٔ پرورش، از ۵ ماهی در هر تکرار اندام کبد جدا شد. سپس، نمونه‌های جداسازی‌شده در محلول تثبیت‌کنندهٔ بوئن برای بافت‌شناسی کلاسیک تثبیت شدند. مراحل آبگیری نمونه‌ها با استفاده از الکل‌های ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً با الکل بوتیلیک (۱۲ ساعت) انجام گرفت. نمونه‌ها شفاف‌سازی و پارافینه شدند و از آنها مقاطع میکروسکوپی ٤ میکرونی تهیه شد. سپس، به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) نمونه‌ها رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری Nikon مطالعه و عکس‌برداری شدند (Khodabandeh et al., 2009).

۳.۲. اندازه‌گیری مساحت هپاتوسیت

تعداد ۵۰ سلول کبدی، به صورت تصادفی از لام‌های مختلف به طور متناوب، از تصاویر تهیه‌شده از مطالعات بافت‌شناسی (x٤٠) از هر تیمار انتخاب و مساحت آنها با نرم‌افزار tools Image اندازه‌گیری شد.

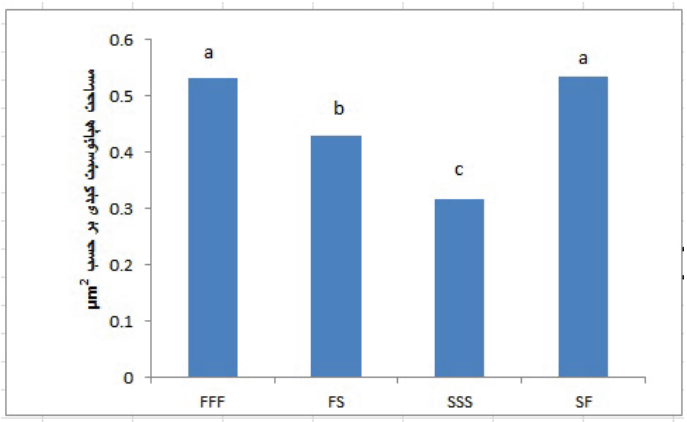
٤.۲. مطالعات آماری

از نرم‌افزارSPSS:۱۷ برای آنالیز داده‌ها، از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودار و از آزمون Kolmogorov–Smirnov برای بررسی نرمال‌بودن یا نبودن داده‌ها استفاده شد، و با توجه به نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون One way ANOVA برای مقایسهٔ کلی و از آزمون LSD برای مقایسهٔ گروه‌ها با هم استفاده شد.

۳. نتایج

اندازه‌گیری مساحت سلول‌های کبدی نشان داد که در هر دو تیمار گرسنگی کوتاه‌مدت (FS) و طولانی‌مدت (SSS) مساحت هپاتوسیت‌ها کاهش یافته است ($P<0,05$) که این تغییرات در تیمار گرسنگی

طولانی‌مدت نسبت به تیمار گرسنگی کوتاه‌مدت به صورت معناداری افزایش یافته است. با تغذیهٔ مجدد به مدت ۳ هفته در تیمارSF (پس از طی گرسنگی به مدت ۳ هفته) مساحت سلول‌های کبدی نسبت به تیمارهای گرسنگی افزایش یافت و با گروه شاهد اختلاف معناداری را نشان نداد (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسهٔ مساحت هپاتوسیت‌ها (۵۰ عدد) در تیمارهای مختلف گرسنگی و غذادهی. مقادیر به صورت میانگین± انحراف معیار استانداردند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که اختلاف داده‌ها معنادار است (P<۰,۰۵).

٤. بافت‌شناسی کبد

دوره‌های تغذیهٔ مختلف باعث تغییراتی در بافت کبد بچه ماهیان شد که آسیب‌های بافتی مشاهده‌شده در همهٔ تیمارها در جدول ۲ ذکر شده‌اند.

٤.١. ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار شاهد

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که هپاتوسیت‌ها بیشترین جمعیت سلول‌های کبدی را تشکیل می‌دهند. هپاتوسیت‌ها سلول‌هایی چندضلعی با هسته‌های کروی

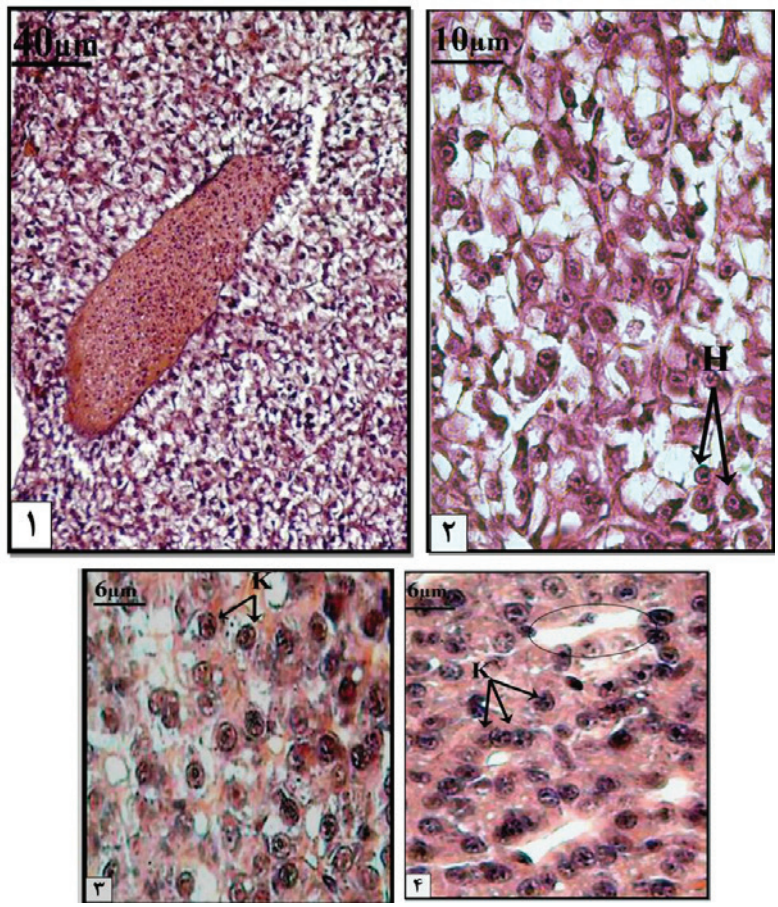
جدول ۲. مقایسهٔ آسیب‌های بافتی در تیمارهای مورد آزمایش

تیمارها / آسیب‌های بافتی	FFF شاهد	FS ۳ هفته گرسنگی	SSS ۶ هفته ۳ گرسنگی	SF ۳ هفته گرسنگی- ۳ هفته تغذیهٔ مجدد
آتروفی هپاتوسیت‌ها	–	+	+	–
کاریورکسیس هپاتوسیت	–	+	+	–
پیکنوزیس هپاتوسیت	–	–	+	–
فروریختن سیتوپلاسم	–	–	+	–
کاهش واکوئل‌های چربی	–	+	+	–

و پررنگ بودند و حد و مرز آنها واضح و مشخص بود. در این چینش، پایهٔ هپاتوسیت‌ها به سمت سینوزوئیدها قرار گرفته است و حضور واکوئل‌های چربی در بین سلول‌ها به صورت ذرات سفید رنگ مشهود است (شکل‌های ۱ و ۲).

۲.٤. ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار ۳ هفته گرسنگی

ساختار کلی کبد در بچه ماهیان این تیمار تقریباً منظم بود، اما در بعضی نواحی سیتوپلاسم حالت فروریخته و به‌هم‌ریخته داشت. هپاتوسیت‌ها دچار آتروفی شدند و در بعضی از مناطق نیز پدیدهٔ کاریورکسیس در هستهٔ آنها مشاهده‌شدنی بود (شکل‌های ۳ و ٤).



برش عرضی بافت کبد در بچه ماهی آزاد دریای خزر (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین).

شکل ۱. (گروه شاهد)، در بافت کبد، هپاتوسیت‌ها به صورت منظم قرار گرفته و حضور لیپیدها به صورت ذرات سفید رنگ مشاهده‌شدنی است.

شکل ۲. (گروه شاهد)، هپاتوسیت‌ها با هسته‌های مشخص به طور منظم اطراف سینوزوئیدها قرار گرفتند.

شکل ۳. (۳ هفته گرسنگی)، در بعضی از هسته‌ها پدیدهٔ کاریورکسیس مشاهده می‌شود.

شکل ٤. (۳ هفته گرسنگی)، افزایش فضاهای بین‌سلولی در بافت کبد دیده می‌شود.

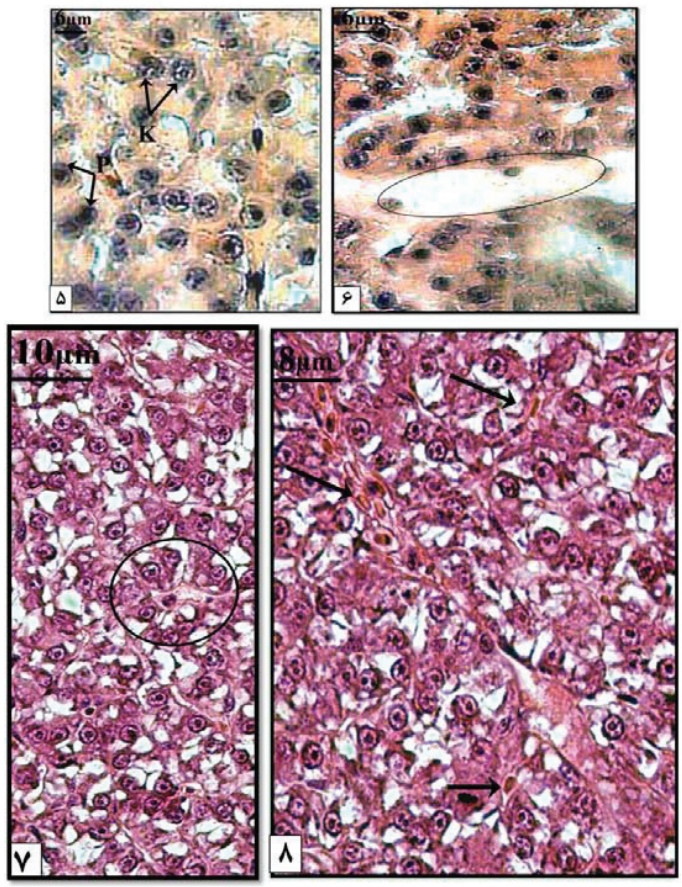
H:Hepatocyte cell, K: Karyorrhexi

۳.٤. ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار ٦ هفته گرسنگی

در تیمار ٦ هفته گرسنگی بی‌نظمی‌هایی در بافت کبد مشاهده شد. آتروفی هپاتوسیت‌ها، افزایش فضاهای بین سلولی، فروریختن سیتوپلاسم و کاهش لیپیدها مشاهده‌شدنی بود. همچنین، در این تیمار در بعضی نواحی غشای سیتوپلاسمی سلول‌ها پاره شد و حد و مرز مشخصی میان آنها رؤیت‌شدنی نبود. در بعضی از هپاتوسیت‌ها هسته دچار تغییرات عمده شد و پدیده‌های پیکنوزیس و کاریورکسیس مشاهده‌شدنی بود (شکل‌های ۵ و ٦).

٤.٤. ساختار کبد در بچه ماهیان تیمار ۳ هفته گرسنگی – ۳ هفته تغذیهٔ مجدد

در این تیمار پرخونی در نواحی مختلف کبد مشاهده شد و هپاتوسیت‌ها دارای هسته‌های مشخص و پررنگ شده بودند و به طور منظم اطراف سینوزوئیدها قرار گرفته بودند. افزایش لیپیدها و واکوئل‌های چربی در این تیمار مشخص بود (شکل‌های ۷ و ۸).



برش عرضی بافت کبد در بچه ماهی آزاد دریای خزر (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین).

شکل ۵. (تیمار ٦ هفته گرسنگی)، پدیدهٔ پیکنوزیس و کاریورکسیس در هستهٔ سلول‌ها دیده می‌شود.

شکل ٦. (تیمار ٦ هفته گرسنگی)، افزایش فضاهای بین‌سلولی، فروریختن سیتوپلاسم و آسیب هسته‌ها مشاهده می‌شود.

شکل ۷. (تیمار ۳ هفته گرسنگی و ۳ هفته تغذیهٔ مجدد)، هپاتوسیت‌ها با هسته‌های پررنگ و با حد و مرز مشخص قرار گرفته‌اند، تجمع ذرات چربی مشاهده‌شدنی است.

شکل ۸. (تیمار ۳ هفته گرسنگی و ۳ هفته تغذیهٔ مجدد)، افزایش جریان خون (پیکان‌های سیاه) و پرخون‌شدن سینوزوئیدها مشهود است.

K: Karyorrhexis P: Pyknosis

۵. بحث و نتیجه‌گیری

در مهره‌داران، در زمان مواجهه با گرسنگی، سازگاری‌هایی برای حفظ عملکرد متابولیسم بدن رخ می‌دهد. یکی از مهم‌ترین این سازگاری‌ها، کاهش هزینه‌های انرژی و صرف ذخایر انرژی بدن به منظور حفظ عملکرد متابولیسم است (Geiger *etal* ., 2010). در واقع، با گذار جاندار از حالت سیری به حالت گرسنگی، مقدار گلوکزی که از مواد غذایی به‌دست می‌آید کمتر می‌شود و گلیکوژن کبد برای حفظ گلوکز خون استفاده می‌شود. در این دوران بسیاری از مواد گلوکوژنیک نیز در روند گلوکونئوژنز به گلوکز و گلیکوژن تبدیل می‌شوند، زیرا برخی از نسوج و سلول‌ها از جمله سیستم عصبی مرکزی و گلبول‌های قرمز به تأمین مداوم گلوکز وابسته‌اند (Hajimoradi *et al*., 2007).

در تحقیق حاضر، گرسنگی به مدت ۳ هفته به کاهش اندازهٔ سلول‌های کبدی و آتروفی آنها منجر شد. در این تیمار سیتوپلاسم سلول‌های هپاتوسیت حالت فروریخته داشتند و در بعضی از مناطق هسته‌ها دچار کاریورکسیس شدند و قطعه‌قطعه شدند. با بیشترشدن زمان گرسنگی به مدت ٦ هفته، اندازهٔ سلول‌ها کاهش بیشتری داشت و افزایش فضاهای بین‌سلولی، پیکنوزه‌شدن هسته‌ها و کاهش ذرات لیپید نیز مشاهده شد. این نتایج با نتایج دیگر محققان مطابقت داشت (Green and McCormick, 1999; Gisbert and Doroshov, 2003; Ostaszewska *et al*., 2005; Rios *et al*., 2007). این محققان بیان کردند که گرسنگی باعث آتروفی هپاتوسیت‌های کبدی و دژنره‌شدن بافت کبد در ماهی می‌شود. محققان مزبور تغییرات مشاهده‌شده در کبد ماهیان گرسنه را ناشی از کمبود مواد مغذی و به جریان‌افتادن ذخایر کبدی برای تأمین انرژی مورد نیاز بدن ماهی عنوان کردند.

در واقع، منابع اولیهٔ انرژی، در زمان گرسنگی، گلیکوژن و لیپیدهای ذخیره‌شده در سلول‌های هپاتوسیت‌اند. گلیکوژن کبد که فرم ذخیره‌ای کربوهیدرات‌هاست حدود ۱ – ٦ درصد از وزن کل کبد ماهی را تشکیل می‌دهد که بعد از واکنش‌های آنزیمی به صورت گلوکز منتقل می‌شود. گلوکز در مسیر متابولیسم قرار می‌گیرد یا برای بازسازی دوبارهٔ گلیکوژن استفاده می‌شود (Storch and Juario, 1983; Smutna *et al*., 2002; Ostaszewska *et al*., 2005).

این جریان طی دوران گرسنگی اتفاق می‌افتد. بنا بر تحقیقات Navarro و همکاران در سال ۱۹۹۳، ذخیرهٔ گلیکوژن در کبد ماهی trutta Salmo ٤/٤ درصد در ابتدا و ۰/٦ درصد در انتهای دوران گرسنگی ۵۰ روزه بوده است. در برخی دیگر از ماهیان، همانند کپور معمولی یا قزل‌آلای رنگین‌کمان، لیپیدها (از دیگر منابع مهم انرژی ماهیان) در زمان گرسنگی به‌سرعت کاهش پیدا می‌کنند، در حالی که، ممکن است ذخیرهٔ گلیکوژن کمتر استفاده شود (Smutna *et al*., 2002). کاهش تدریجی در اندازهٔ هپاتوسیت‌ها در این ماهیان این نظریات را تأیید می‌کند. طی دوران گرسنگی، با کاهش مواد مغذی در بدن بچه ماهی آزاد دریای خزر، ذخایر انرژی موجود در کبد برای صرف انرژی در فرایندهای حیاتی مصرف می‌شود که منجر به آتروفی هپاتوسیت‌ها و دژنره‌شدن بافت کبد می‌شود. تغییرات صورت‌گرفته در کبد ماهیان مواجه با گرسنگی ممکن است تأثیرات سوئی در فرایندهای سوخت و ساز، نظیر کاتابولیسم گلوکز و گلوکونئوژنز و متابولیسم لیپید، طی این دوران داشته باشد (Green and McCormick, 1999; Ostaszewska *et al*., 2005).

با افزایش دوران گرسنگی در بچه ماهی آزاد مورد آزمایش، آسیب‌های بیشتری در کبد مشاهده شد. در واقع انتظار می‌رود که با افزایش دوران گرسنگی و افزایش مصرف ذخایر انرژی، آسیب‌های واردشده به کبد نیز افزایش پیدا کند. نتایج تحقیقی دربارهٔ ماهی Hoplias malabaricus نیز نشان داد که بعد از ۳۰ روز گرسنگی سلول‌های کبدی دچار آتروفی شد و سطح آنها در کبد این ماهی کاهش یافت و با بیشترشدن طول دوران گرسنگی، ماهی با تغییرات هیستوپاتولوژیکی نیز در کبد مواجه شد (Rios *et al*., 2007).

در تحقیق حاضر، تغذیهٔ مجدد در بچه ماهیانی که ۳ هفته گرسنگی را سپری کرده بودند منجر به افزایش اندازهٔ هپاتوسیت‌های کبدی نسبت به دوران گرسنگی شد. همچنین، تصاویر بافت‌شناسی تهیه‌شده از این تیمار نشان داد که هپاتوسیت‌ها دارای هسته‌های مشخص و پررنگ بودند و، به طور منظم و با حد و مرز مشخص، اطراف سینوزوئیدها قرار گرفته بودند. افزایش لیپیدها و واکوئل‌های چربی و پرخونی در نواحی مختلف کبد بچه ماهیان آزاد این تیمار مشاهده شد. نتایج نشان داد که تغذیهٔ مجدد منجر به ورود مواد مغذی و به گردش‌درآمدن آنها به وسیلهٔ جریان خون در کبد و هایپرتروفی هپاتوسیت‌ها شده است. هایپرتروفی هپاتوسیت‌ها طی دوران تغذیهٔ مجدد در کبد بچه ماهی آزاد خزر حاکی از بازسازی سطح ذخایر انرژی کبد طی این دوران است و اهمیت نقش این منابع انرژی را روشن می‌کند. در دیگر تحقیقات مشابه نیز بازگشت سطح گلیکوژن در همان فازهای اولیهٔ تغذیهٔ مجدد به همراه کنترل‌کردن فعالیت آنزیم‌های دخیل در فرایندهای گلیکولیز و گلوکونئوژنز گزارش شده است که این نتایج را تأیید می‌کند .(Meto´n, *et al*., 2003) Rios و همکاران، در سال ۲۰۰۷، در تحقیق خود روی ماهی Hoplias malabaricus دریافتند که تغذیهٔ مجدد بعد از دوران گرسنگی به صورت کامل باعث بازسازی و ترمیم بافت کبد نخواهد شد؛ به طوری که، در این ماهی بافت کبد بعد از ۳۰ روز تغذیهٔ مجدد به دنبال دوران گرسنگی ۹۰ روزه، تا حدود زیادی ترمیم شد و هپاتوسیت‌های کبدی فعالیت سلولی خود را از سر گرفتند، اما بر خلاف تحقیق حاضر نتوانستند به اندازهٔ اولیه برسند. بازنگشتن هپاتوسیت‌ها به اندازهٔ اولیه در این ماهی می‌تواند ناشی از طولانی‌بودن دوران گرسنگی همچنین، ناکافی‌بودن دوران تغذیهٔ مجدد باشد که حاکی از آن است که هر دو عامل طول دوران گرسنگی و تغذیهٔ مجدد می‌تواند از فاکتورهای مهمی در میزان بازسازی بافت کبد و بازگشت فعالیت آن به حالت طبیعی باشد.

کاهش ذخایر انرژی هپاتوسیت‌های کبد و آتروفی آنها در بچه ماهیان آزاد دریای خزر منجر به کاهش دسترسی به انرژی بی‌واسطه برای ماهی می‌شود و ممکن است باعث اختلال در متابولیسم‌های وابسته به کبد در زمان رویارویی با کمبود مواد غذایی پس از رهایی ماهیان در محیط جدید شود، اما به نظر می‌رسد که، در صورت تغذیهٔ مجدد در مدت زمان کافی و بازسازی ذخایر انرژی، این جانداران تا حدود زیادی قادر به جبران خسارات ناشی از گرسنگی و ترمیم و بازسازی بافت کبدند. با توجه به نتایج حاضر و نتایج دیگر محققان در این زمینه، می‌توان گفت که میزان مقاومت ماهیان در برابر گرسنگی که خود نوعی استرس محسوب می‌شود زیاد است. بسیاری از این ماهیان در بازگشت از دوران محدودیت غذایی و دسترسی مجدد به منبع غذایی، سازگاری از خود نشان می‌دهند (Krogdahl and Bakke-McKellep, 2005; Furné *et al*., 2008). البته طول دوران گرسنگی خود می‌تواند در میزان مقاومت ماهیان و سازگاری آنها تأثیرگذار باشد. از طرف دیگر، باید در نظر داشت که، با رهاکردن بچه ماهیان آزاد پرورشی به یک‌باره در محیط طبیعی و قرارگرفتن در شرایط گرسنگی، آسیب‌های فیزیولوژیکی ناشی از گرسنگی و اختلال در متابولیسم ممکن است آنها را تا زمان کسب مهارت شکار و دسترسی مجدد به غذا با مشکلاتی مواجه کند که در میزان بقای این گونهٔ ارزشمند تأثیرگذار باشد. بنابراین، با توجه به اهمیت پدیدهٔ گرسنگی و طول مدت آن، پیشنهاد می‌شود پدیدهٔ کمبود مواد غذایی بعد از رهاسازی در بچه ماهیان در ابعاد وسیع‌تر و دوره‌های متنوع‌تری مطالعه و بررسی شود.

تقدیر و تشکر

از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی کلاردشت و آقای جمشید امیری مقدم برای همکاری در مراحل نمونه‌برداری تقدیر و تشکر می‌شود.

References

[1]. Dorafshan, S., Kalbasi, M.R., Pourkazemi, M., Mojazi Amiri, B., Soltan Karimi, S., 2008. Effects of triploidy on the caspian salmon (Salmo trutta caspius)haematology. Fish Physioly and Biochemistery 34,195-200

[2]. Einum, S., Fleming, I.A., 2001. Implications of stocking: Ecological interactions between wild and released Salmonids. Nordic Journal of Freshwater Research 75, 56–70.

[3]. Furné, M., García-Gallego, M., Hidalgo, M. C., Morales, A. E., Domezain, A., Domezain, J., Sanz, A. 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (Acipenser naccarii) and trout (Oncorhynchus mykiss). Comparative Biochemistry and Physiology 149, 420-425.

[4]. Geiger, S., Wagner, C., Lignot, J.H., Le Maho, Y., Robin J.P., 2010. Intestinal response to prolonged fasting and subsequent feeding in mallard (anas platyrhynchos).Wildfowl Special 2, 167-175.

[5]. Gisbert, E., Doroshov, S.I., 2003. Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (Acipenser medirostris). Aquatic Living Resources 16, 77-89.

[6]. Green, B.S., McCormick M.I., 1999. Influence of larval feeding history on the body condition of Amphiprion melanops. Fish Biology 55, 1273-1289.

[7]. Hajimoradi, M., Mahboubi soufiani, N.A., Alameh, S.K.A.D., 2007. Effect of starvation on plasma levels of cholesterol, glucose and protein in raninbow trout, Oncorhynchous mykiss. Journal of Marine Sciences and Technology 6,23-30, (In Farsi).

[8]. Jalali, M.A., Amiri. M.B., 2009. Threatened fishes of the world: Salmo trutta caspius (Kessler, 1877) (Salmoniforms: Salmonidae). Environmental Biology of Fishes 86, 375-376.

[9]. Khodabandeh, S., Shahriari, M., Abtahi, B. 2009. Effects of salinity on the immunolocalization, gene expression and activity of the Na+/K+-ATPase gills of golden grey mullet, Liza aurata. Yakhteh (the cell), 11, 49-54.

[10]. Kiabi, B.H., Abdoli, A., Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the south Caspian Basin of Iran. Zoology in the Middle East 18, 57-65.

[11]. 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.). Comparetive Biochemistry and Physiology 141, 450-460.

[12]. Meto´n, I., Ferna´ndez, F., Baanante, IV., 2003. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis– gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (Sparus aurata). Aquaculture 225, 99-107.

[13]. Mizuno, S., Misaka, N., Miyakoshi, Y., Takeuchi, K., Kasahara, N. 2002. Effects of starvation on melano-macrophages in the kidney of masu salmon (Oncorhynchus masou). Aquaculture 209, 247-255.

[14]. Navarro, I., Gutie´rrez, J., 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka P.W. and Mommsen T.P. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes 4, 393-434.
[15]. 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.
[16]. Ramezani, H. 2009. Effects of different protein and energy levels on growth performance of Caspian Brown Trout, Salmo trutta caspius (Kessler, 1877). Fish Aquaculture. Science 4, 203-209.
[17]. Rios, F.S., Donatti, L., Fernandes M.N., Kalinin A.L., Rantin F.T., 2007. Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in Hoplias malabaricus after long-term food deprivation and re-feeding. Fish Biology 71, 1393-1406.
[18]. Smutna, M., Vorlova L., Svobodova, Z., 2002. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (review). Acta veterinaria Brno. 71, 169-181.
[19]. Storch, V., Juario J.V. 1983. The effect of starvation and subsequent feeding on the hepatocytes of Chanos chanos (Forsskal) fingerlings and fry. Fish Biology 23, 95-103.