J. Oceanography (JOC). Volume (14)(53): 69-78, spring, 2023

Journal of Oceanography
Homepage: joc.inio.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

Histological and enzymatic study of the liver of Nile tilapia, Oreochromis niloticus during the replacement of blood powder instead of fish meal in the diet

Masoumeh Matrodzadeh[1], Rahim Abdi[2] *, Zahra Basir[3], Rahim Peyghan[4]

1. *Graduate MSc Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran*
2. *Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran*
3. *Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*
4. *Professor, Department of Clinical Sciences and Excellence Center of Warm Water Fish Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 2022/03/2
Revised: 2023/08/1
Accepted: 2023/06/5

Keywords:
Liver
Tissue
Blood powder
Diet
Nile tilapia

*Corresponding author:
✉ abdir@kmsu.ac.ir

Orcid:0000-0003-2737-1373

doi: 10.52547/joc.14.53.6

dor:20.1001.1.15621057.1402.14.53.6.0

ABSTRACT

Background and Objectives: Most tilapias are microphytic, but some prefer higher plants .The aim of this study was to evaluate the histomorphology of the liver and enzymes under the influence of replacing blood powder with fish powder in the diet of Nile tilapia.

Methods: After preparation, fish were fed with designed diets containing 0, 25, 50, 75, and 100% blood powder for 8 weeks, and each treatment was performed with three replications. After this period, the fish were anesthetized and blood samples were taken from the caudal stalk with a heparin syringe for liver enzymatic factors. The tissue samples were taken 0.5 cm from the liver, fixed in 10% formalin buffer, and after dehydration with alcohol, clarification with xylol, blocking with paraffin, and cutting 4-6 microns thick with microtome were done. General and specific staining were performed and the study of microscopic slides was performed under a light microscope.

Findings: The results of this study showed that in the group receiving whole blood powder, several complications such as sinusoidal hyperemia, diffuse vacuolar degeneration, necrosis of hepatocytes, and melanomacrophage were observed. The results of tissue studies and measurement of liver enzymes in the treated groups showed that they were higher than the control group, with the difference that the level of the two enzymes ALT and AST played a more important role, and the level of the ALP enzyme played a lesser role in this relationship.

Conclusion: According to the results of this research, it can be said that blood powder in the diet is tolerable and replaceable to some extent for the desired species.

NUMBER OF TABLES	NUMBER OF FIGURES	NUMBER OF REFERENCES
0	5	30

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

مطالعه بافتی و آنزیمی کبد تیلاپیای نیل (Oreochromis niloticus) طی جایگزینی پودرخون بجای پودر ماهی در جیره غذایی

معصومه مطرودزاده[1]، رحیم عبدی*[2]، زهرا بصیر[3]، رحیم پیغان[4]

۱. کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲. دانشیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۳. استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۴. استاد گروه علوم درمانگاهی و قطب علمی بهداشت ماهیان گرمابی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۱
تاریخ بازبینی: ۱۴۰۲/۵/۱۰
تاریخ پذیرش:۱۴۰۲/۳/۱۵

واژگان کلیدی:
بافت کبد
پودر خون
جیره غذایی
تیلاپیای نیل

*نویسنده مسئول

✉ abdir@kmsu.ac.ir

Orcid:0000-0003-2737-1373

doi: 10.52547/joc.14.53.6
dor:20.1001.1.15621057.1402.14.53.6.0

چکیده

پیشـــینه و اهداف: بیشـــتر تیلاپیاها میکروفیت خوار بوده اما تعدادی از آن‌ها گیاهان عالی‌تر را ترجیح می‌دهند. مطالعه حاضر با هدف هیستومورفولوژی بافت کبد و آنزیم ها تحت تأثیر جایگزینی پودر خون بجای پودر ماهی در جیره غذایی تیلاپیای نیل صورت گرفت.

روش‌ها: ماهیان تیلاپیا پس از آماده سازی به مدت ۸ هفته با جیره‌های طراحی شده حاوی ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و۱۰۰ در صد پودر خون تغذیه و هر تیمار با سه تکرار انجام پذیرفت. پس از این مدت ماهیان بیهوش شده و خون‌گیری از ساقه دمی با سرنگ هپارینه جهت فاکتورهای آنزیمی کبدی انجام گرفت. نمونه بافتی به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر از کبد برداشت، ثبوت در فرمالین بافر ۱۰ در صد و پس از طی مراحل آبگیری با الکل، شفاف ســـازی با گزیلول، بلوک‌گیری با پارافین، برش گیری به ضـــخامت ۴-۶ میکرون با میکروتوم و رنگ‌آمیزی عمومی و اختصاصی در نهایت مطالعه با میکروسکوپ نوری انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه دریافت کننده پودر خون به‌صورت کامل عوارض متعددی مانند پرخونی سینوزوئید، دژنرسانس واکوئولی منتشر، نکروز هپاتوسیت ها و ملانوماکروفاژ مشاهده گردید. نتایج حاصل مطالعات بافتی و اندازه گیری آنزیم های کبدی در گروه‌های تحت تیمار نشان از بالا بودن آن نسبت به گروه شاهد بوده با این تفاوت که سطح دو آنزیم ALT و AST نقش مهم تر و سطح آنزیم ALP نقش کم‌رنگ‌تری را در این رابطه داشته است.

نتیجه‌گیری: بنا بر نتایج این تحقیق می توان بیان کرد که پودر خون در جیره غذایی تا حدودی برای گونه مورد نظر قابل تحمل و جایگزینی می باشد.

مقدمه

بیشتر تیلاپیاهایی که در آبزی پروری بکار می روند از جنس اورئوکرومیس هستند. انواع مختلفی از هیبریدهای تیلاپیا درنتیجه آمیزش بین گونه های مختلف آن ها تولید شده که برخی از آنها ویژگی های مطلوب مورد نظر آبزی پروران را دارند [1]. به طور معمول تیلاپیا در برابر شوری زیاد، درجه ی حرارت بالای آب، اکسیژن محلول پایین و غلظت های بالای آمونیاک نسبت به بیشتر ماهیان پرورشی آب شیرین قدرت تحمل بیشتری دارد. امروزه تیلاپیا به عنوان گونه ای بومی در بیشتر ملیت های آسیا شناخته می شود [2] . مهمترین شاخص پرورش این ماهیان رشد سریع، مقاومت بالا در برابر طیف وسیعی از شرایط زیست محیطی، مقاومت نسبت به بیماری ها، تحمل بالا در برابر کیفیت پایین آب، قدرت تولیدمثل بالا و دوره کوتاه تولیدمثلی در اسارت، تغذیه از مواد غذایی کم ارزش، دسترسی آسان به منابع غذایی و امکان استفاده از غذای مصنوعی پس از جذب کیسه زرده می باشد بطوری که در حال حاضر پرورش تیلاپیا در جهان پس از کپور ماهیان در درجه‌ی دوم اهمیت قرار دارد [3] . از مهمترین مسائل در پرورش آبزیان به صورت غیر متراکم توجه به امر تغذیه می باشد به طوری که در آبزی پروری بیش از نیمی از هزینه های جاری یک مزرعه پرورشی ماهی به این امر اختصاص داده می شود. کیفیت جیره غذایی در روند رشد ماهیان بسیار با اهمیت می باشد بنابراین می توان با دستیابی به ترکیبات بهینه مواد غذایی و مقادیر مناسب آنها در یک جیره بالانس شده به این روند بهبود بخشید [4] . استفاده از فراورده های غنی از پروتئین از صنایع فرآوری ضایعات مانند پوست، استخوان و خون حاصل از کشتارگاه به عنوان عناصر کاربردی در سیستم‌های غذایی یک جایگزین بسیار مناسب ارزیابی شده است [5]. کبد عضوی ضروری در ساختار بدن آبزیان بوده و از سلول های کبدی که هپاتوسیت نامیده می‌شوندمی‌شوند تشکیل شده است. سلول‌های کبدی علاوه بر نقش متابولیسم در تولید ترکیبات مختلفی نظیر تولید صفرا، آنزیم ها ی ALT، AST، ALP، هورمون ها، ذخیره برخی مواد مانند گلیکوژن و فعالیت‌های حیاتی متعدد شرکت دارد [6]. تغییر در میزان آنزیم های کبدی ممکن است در طی یک آزمایش خونی مشخص شود. در بیشتر موارد، آنزیم های کبدی به آرامی و به طور موقتی تغییر پیدا می کنند که در بیشتر مواقع علامت یک مشکل کبدی در آبزی می باشد. حساس‌ترین و پر مصرف‌ترین آنزیم های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند بطوری که این آنزیم ها به‌طور معمول داخل سلول های کبدی قرار داشته زمانی که کبد دچار آسیب می شود سلول های کبدی آنزیم ها را وارد جریان خون کرده و باعث بالا رفتن سطح آنزیم ها در خون می‌شوند [7, 8]. هپاتوسیت ها نقش مهمی در ذخیره، تجمع، بیوترانسفرماسیون و خنثی نمودن سموم ایفا می کنند از این رو کبد را به عنوان اندام سم زدا و پالایشگر سموم بدن می شناسند و در اغلب مطالعات توکسیکولوژیک به عنوان اندام هدف مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این‌ها کبد در خون‌سازی و تولید آنتی‌بادی ها در طی دوره لاروی نقش دارد. اندازه سلول‌های کبدی بستگی به حالات فیزیولوژیکی دارد و در وضعیت کم کاری و پرکاری متفاوت است. بیوسنتز پروتئین از جمله بیوسنتز اکثر پروتئین‌های پلاسمای خون، انتقال اسیدهای آمینه از کبد به سایر بافت ها توسط گردش خون و بیوسنتز هورمون ها نیز توسط این بافت انجام می‌گیرد. بنابراین کبد به عنوان مرکز توزیع مواد غذایی در بدن عمل کرده و با انتقال آن با نسبت های مناسب به سایر بافت ها باعث کنترل توازن انرژی در بدن می شود [9]. بنابراین با توجه به ارزان و سهل الوصول بودن پودرخون مطالعه اخیر به منظور بررسی مقدماتی امکان جایگزینی پودرخون بجای پودر ماهی در جیره غذایی و تأثیر آن بر بافت و آنزیم های کبدی تیلاپیای نیل به مرحله اجرا درآمده است.

روش پژوهش

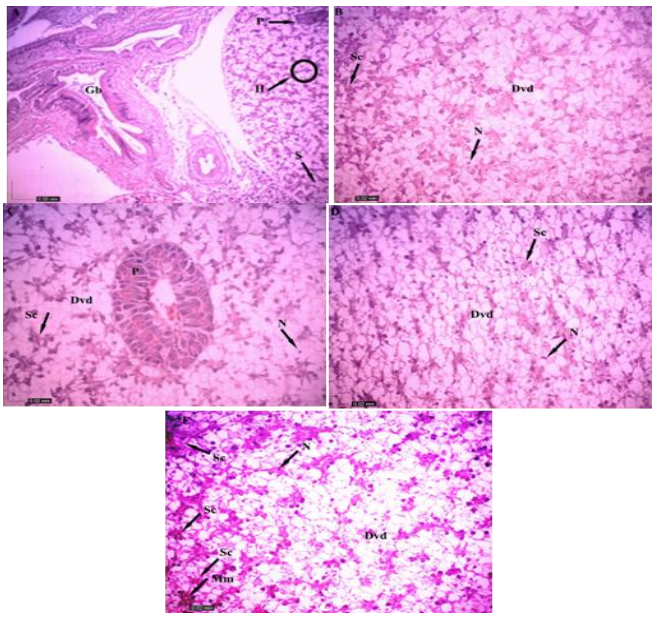
پس از انتقال ماهی های تیلاپیای تهیه شده از یک مزرعه پرورشی به آکواریوم های ۱۰۰ لیتری از قبل ضدعفونی شده موجود در بخش بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز جهت هوادهی و تأمین اکسیژن در هر یک از آکواریوم ها دو عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب گردید و تنها در هنگام غذا دهی، هوادهی موقتاً قطع و سپس مجدداً برقرار می شد. آب مورد نیاز از آب لوله کشی شهری کلرزدایی شده استفاده و به مدت دو هفته سازگاری انجام پذیرفت. پس از این مدت ۱۵۰قطعه ماهی با وزن حدود ۰/۵ ± ۳۰ گرم به‌طور تصادفی به ۵ گروه با سه تکرار شامل گروه شاهد دریافت کننده جیره تجاری فاقد پودر خون، گروه یک دریافت‌کننده جیره تجاری حاوی ۲۵ درصد پودر خون، گروه دو دریافت‌کننده جیره تجاری حاوی ۵۰ درصد پودر خون، گروه سه دریافت‌کننده جیره تجاری حاوی ۷۵ درصد پودر خون، گروه چهار دریافت‌کننده جیره تجاری حاوی ۱۰۰ درصد پودر خون با پروتئین پایه ۴۰ درصد در تمامی گروه‌ها به مدت ۸ هفته دسته بندی شدند. پودر خون پس از تهیه از کشتارگاه و خشک کردن با دقت به‌وسیله ترازوی دیجیتال وزن و برای هر گروه اندازه گیری شدند. سپس پودر ماهی مورد نظر نیز با درصدهای مختلف تهیه و پس از خیساندن به‌وسیله پودر خون ترکیب شدند. ترکیب بدست آمده از چرخ گوشت رد شده تا سایز مناسب جهت دریافت به‌وسیله ماهی بدست آید. در طول مدت آزمایش سنجش خصوصیات فیزیکو شیمیایی آب از قبیل شوری، دما، pH و اکسیژن محلول به ترتیب با استفاده از رفرکتومتر

نوری (Horiba U-10، ژاپن)، ترمومتر دیجیتالی (Horiba U-10، ژاپن)، دستگاه قابل‌حمل سنجش pH مدلebro.PHT-3140 انجام شد. همچنین اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن مدل TECPEL DO-1609بطور روزانه اندازه گیری می شد. همچنین جهت اندازه گیری فاکتورهای آمونیاک، نیتریت، نیترات و سختی کل آب از دستگاه کالریمتر هک (مدل ۸۹، شرکت هک، آمریکا) استفاده گردید. در طول مدت نگهداری و آزمایش، آب آکواریوم ها به میزان ۲۰ درصد حجم آکواریوم به صورت روزانه و پس از اتمام تغذیه جهت جلوگیری از افزایش آمونیاک و متابولیت‌های دیگر از ناحیه کف سیفون و تخلیه می گردید غذا دهی ماهیان به میزان ۳ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر با غذای تهیه شده انجام می گرفت [10]. به منظور مطالعات بافتی نمونه‌هایی به ابعاد ۰/۵ سانتی متر از بافت کبد جدا شده و درون سبدهای نمونه‌گیری قرار داده شد و بعد از نامگذاری در محلول ثبوتی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده و پس از ۴۸ ساعت اقدام به تعویض فرمالین نمونه ها و جایگرینی آن ها با الکل ۷۰ درصد انجام شد [11]. در ادامه جهت انجام پاساژ بافتی نمونه‌ها پس از ثبوت، طبق روش معمول بافتی آماده و پس از گذراندن مراحل پاساژ بافتی شامل آبگیری توسط الکل با درصدهای صعودی سپس شفاف سازی به‌وسیله محلول گزیلول و آغشتگی به پارافین در دمای ۵۸-۶۰ درجه سانتیگراد با استفاده از دستگاه پاساژ بافت(مدل RX-11B,Tissue tekrotary, Japan) انجام و در نهایت نمونه ها برای انجام قالب گیری آماده سازی شدند[12, 13]. در نهایت برش های بافتی با ضخامت ۶-۴میکرون به‌وسیله میکروتوم مدل LEICA-RM2245 ساخت کشور آلمان تهیه شدند. برش های پارافینی به‌وسیله رنگ آمیزی معمول هماتوکسیلین - ائوزین و رنگ آمیزی اختصاصی بروش هیستوشیمی شامل پریودیک اسید شیف و تری کروم ماسون برای گروه دریافت کننده فقط پودرخون که توسط میکروسکوپ نوری مجهز به لنز Dino-Lite و سیستم کامپیوتر مجهز به نرم افزار داینو کپچر بررسی و عکسبرداری بر روی آنها انجام گرفت [14, 15]. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های کبدی پس از بیهوش نمودن ماهی ها با قرار دادن آنها در محلول پودر گل میخک به میزان ۷۵ میلی گرم بر لیتر خونگیری به وسیله سرنگ و سرسوزن شماره ۲۱ از طریق ورید ساقه دمی به میزان ۲ سی سی صورت گرفت. نمونه های خون پس از جمع آوری در تیوب های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه ســـانتریفیوژ شدند تا سرم آنها جدا شود. نمونه های سرم در میکروتیوب های۲/۵ میلی لیتری تخلیه و تا زمان انجام آزمایشات بیوشیمیایی در فریزر۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد تا از آن ها برای سنجش فاکتورهای کبدی خون استفاده شود [16]. آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) با کیت تشخیصی پارس آزمون و به روش آنزیمی سنجش شدند به‌طوری که در سنجش آنزیمAST، آنزیم آلفاکتوگلوتارات به عنوان ماده اولیه واکنش مورد استفاده قرار گرفته و اگزالواستات تولید شده از واکنش مقداری هیدرازون تولید که باعث تولید رنگ قهوه ای در محیط می شود. این واکنش به روش رنگ سنجی در طول موج۳۴۰ نانومتر ردیابی شد [17]. در سنجش آنزیم ALT ، پیروات شکل گرفته در واکنش با DNPH مقادیری هیدرازون تولید می‌نماید که در محیط آلکالینی تولید رنگ قهوه ای می کند. این واکنش به روش رنگ سنجی در طول موج ۳۴۰نانومتر ردیابی گردید. آلکالین فسفاتاز (ALP) بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول موج ۴۰۵ نانومتر سنجش گردید [18, 19]. داده های به دست آمده بر اساس میانگین ± خطای معیار از میانگین آماری گزارش گردیدند. همچنین برای آنالیز آماری داده ها از نرم افزار SPSS ver. 21 استفاده شد. برای مقایسه از آزمون آنووای یک طرفه استفاده و گروه‌ها بر اساس تغذیه‌های متفاوت مورد مقایسه قرار گرفتند. در مواردی که تداخل بین تیماری وجود داشت جزئیات مقایسه درون گروهی و بین گروهی ارائه و در مواردی که اختلاف آماری بین گروه‌ها معنی دار بود از پس آزمون توکی برای مشخص نمودن اختلاف معنی‌دار بین تک تک گروه‌ها استفاده شد. در تمامی موارد ($p<0.05$) به عنوان معنی دار بودن در نظر گرفته شد [20].

نتایج و بحث

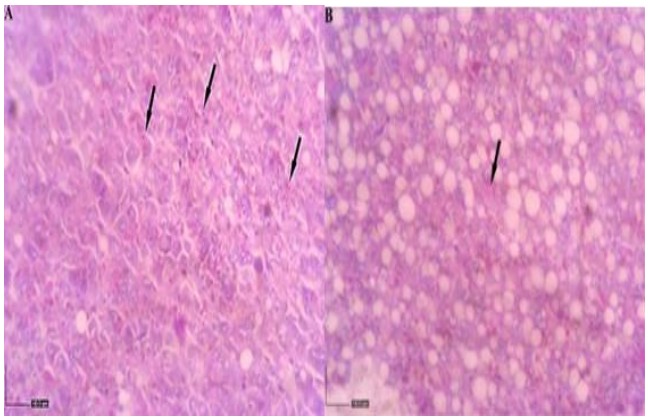
میکروگراف های میکروسکوپی ساختار کبد در جیره های مختلف نشان داد که بافت کبد به‌صورت کاملاً لوبوله و پانکراس به‌صورت یک غده ضمیمه در داخل بافت کبد و در بین لوبول‌های آن به صورت پراکنده جای گرفته به‌طوری که کپسولی از بافت همبند کبد را از خارج احاطه کرده و انشعاباتی از آن وارد بافت کبد شده و آن را به لوبول های مشخصی تقسیم کرده بود. لوبول های کبدی دارای اندازه و اشکال مختلف و هر لوبول از تعداد زیادی هپاتوسیت تشکیل شده که در اشکال کروی تا چند وجهی و برخی از آن‌ها نیز مکعبی به نظر می‌رسیدند. هر هپاتوسیت دارای یک هسته کروی یوکروماتین و واجد هسته‌های مشخص بود. سیتوپلاسم هپاسیت ها رنگ اسیدوفیلی به خود گرفته و در برخی موارد رنگ آن به‌صورت غیر یکنواخت به نظر می رسید. در لابلای دسته‌های هپاتوسیت ها سینوزوئیدهای خونی فراوانی مشاهده گردید که هر یک دارای دیواره‌های بسیار نازک و نامنظم با سلول‌های آندوتلیال ریز و کشیده درسطح داخلی خود

بودند. ساختار بافتی پانکراس به‌صورت جزایری متشکل از آسینی‌هایی متمایل به بازوفیلی در داخل و بین لوبول‌های کبدی مشاهده گردید. آسینی‌ها به‌صورت ردیف‌های موازی هم و در حدفاصل آن‌ها عروق پرخون و متسع قرار گرفته بود. هرآسینی پانکراس به‌صورت ساختمانی کروی شکل بوده که از تعدادی سلول استوانه‌ای و برخی هرمی تشکیل‌شده بود. سلول‌های دیواره آسینی دارای هسته‌هایی کروی نزدیک به قاعده و سیتوپلاسم سلول‌ها حاوی گرانول‌های ترشحی فراوان گزارش گردید. زیرا افزایش مقدار پودرخون نسبت به پودرماهی در گروه‌های دریافت کننده باعث افزایش پرخونی، دژنرسانس واکوئولی منتشر، نکروز و افزایش مراکز ملانوماکروفاژ به‌ویژه در گروه دریافت کننده پودرخون به تنهایی گردید. در مطالعات هیستوشیمی بر اساس رنگ آمیزی اختصاصی بافت کبد افزایش گلیکوژن در تیمار کنترل و کاهش شدید و در نهایت افزایش رشته های بافت پیوندی در تیمار دریافت کننده ۱۰۰ درصد پودر خون قابل مشاهده بوده است (تصاویر ۱-۳).



تصویر۱: میکروگراف نوری از بافت کبد در تیمارهای مختلف شامل کنترل (A) (فاقد پودرخون) (H&E, x10)، گروه ۱ (B) (حاوی ۲۵ درصد پودر خون) ، گروه ۲ (C) (حاوی ۵۰ درصد پودر خون) ، گروه ۳ (D) (حاوی ۷۵ درصد پودر خون) ، گروه ۴ (E) (حاوی ۱۰۰ درصد پودر خون) (H&E, x40).

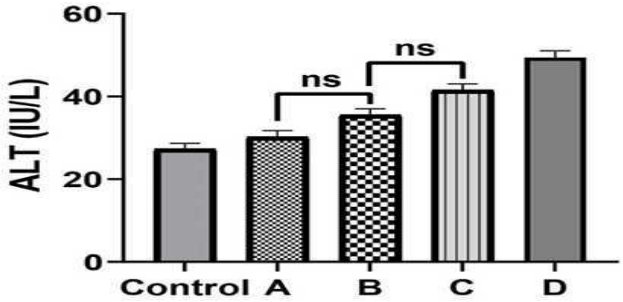
در این تصاویر هپاتوسیت (H)، سینوزوئید (S)، پرخونی سینوزوئید (Sc)، کیسه صفرا (Gb)، دژنرسانس واکوئولی منتشر (Dvd)، نکروز (N)، ملانوماکروفاژ (Mm) قابل مشاهده می باشد.



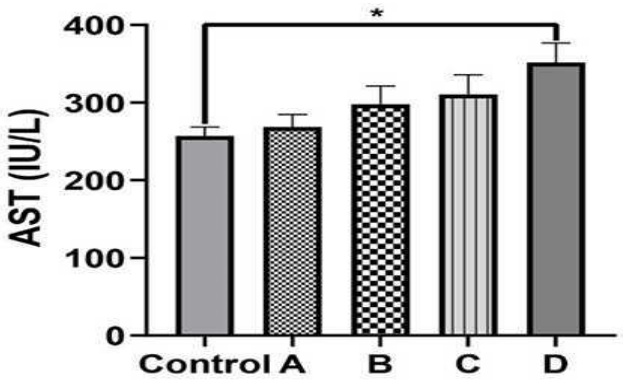
تصویر۲: میکروگراف بافتی مربوط به کبد گروه‌های کنترل و چهارم (PAS, x40).

افزایش مقدارگلیکوژن در تیمار کنترل (A) و کاهش آن در تیمار دریافت کننده ۱۰۰ درصد پودر خون (B) که در رنگ آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف (پیکان) قابل مشاهده می باشد.

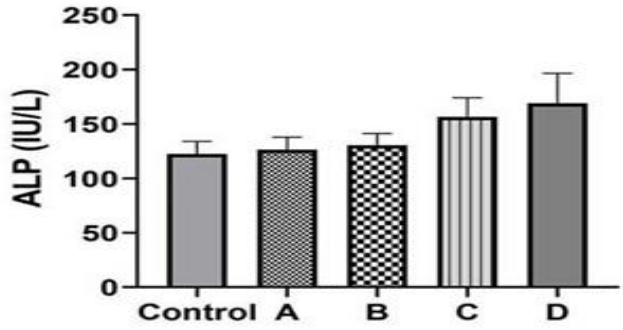
نتایج حاصل از اندازه گیری آنزیم های کبدی ALT، AST و ALPدر گروه‌های تیمار سطح بالاتری نسبت به گروه شاهد داشته با این تفاوت که سطح دو آنزیم ALT و AST نقش موثرتر و سطح آنزیم ALP نقش کم‌رنگ‌تری داشته است. کمترین مقدار ALT برابر (۲۷/۳۵±۱/۳۱) برای گروه شاهد و بیشترین مقدار (۴۹/۴۴±۱/۵۸) برای گروه چهارم گزارش گردید. کمترین مقدارAST برابر (۲۵۶/۸۴±۲۱/۶۲) برای گروه شاهد و بیشترین مقدار (۳۵۱/۴۹±۲۵/۲۹) برای گروه چهارم گزارش گردید. کمترین مقدار ALP برابر (۱۲۲/۴۷±۱۱/۵۷) برای گروه شاهد و بیشترین مقدار (۱۶۹/۱۹±۷/۳۱) برای گروه چهارم گزارش گردید (نمودار ۱ تا ۳).



نمودار۱: افزایش مقدار آنزیم ALT در گروه‌های ۱ (A)، گروه ۲ (B)، گروه ۳ (C)، گروه ۴ (D) نسبت به گروه کنترل (Control) در مدت ۸ هفته نشان داده شدند (علامت ns نشان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های ۱ و ۲ همچنین گروه‌های ۲ و ۳ و عدم اختلاف معنی‌داری بین سایر گروه‌ها در بازه (p <۰/۰۵) می باشد.



نمودار۲: افزایش مقدار آنزیم AST در گروه‌های ۱ (A)، گروه ۲ (B)، گروه ۳ (C)، گروه ۴ (D) نسبت به گروه کنترل (Control) در مدت ۸ هفته نشان داده شدند (علامت ستاره نشان از وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های کنترل و چهارم و عدم اختلاف معنی‌داری بین سایر گروه‌ها در بازه (p <۰/۰۵) می باشد).



نمودار۳: افزایش مقدار آنزیم ALP در گروه‌های ۱ (A)، گروه ۲ (B)، گروه ۳ (C)، گروه ۴ (D) نسبت به گروه کنترل (Control) در مدت ۸ هفته نشان داده شدند (بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی دار مشاهده نشد (p >۰/۰۵).

همان‌طوری که محققین علوم تغذیه آبزیان گزارش کردند ماهی ها از منابع مختلفی که در سطوح مختلف آب در دسترس می باشند تغذیه می کنند. با توجه به توسعه صنعت آبزی پروری و نیاز به اطلاعات بیشتر در زمینه عادات غذایی و روش تغذیه ای جایگزین با استفاده از مواد با ارزش غذایی بالا اما با قیمت مناسب بیشتر می شود. بر اساس مطالعات متعدد در خصوص جایگزینی رژیم غذایی ماهیان مشخص گردید که ضایعات پروتئینی جانوری مانند پودر خون و پودر پر یک جایگزین کم هزینه و بسیار مناسب به جای پودرماهی که نسبتا گران قیمت می باشد در جیره غذایی آبزیان به شمار می آید. پودرخون ارزانترین فرآورده به دست آمده ازضایعات حیوانی به شمار آمده که به دلیل دارا بودن پروتئین بالا65 تا 85 درصد و قابلیت هضم مناسب 65تا70درصد به طورگسترده ای در جیره آبزیان مورد استفاده قرار می گیرد [21]. اگر چه شباهت های بنیادین در ساختار بافت شناسی مجرای گوارشی و غدد ضمیمه گونه های مختلف ماهیان وجود دارد ولی همیشه تفاوت هایی در بین گونه های مختلف و حتی درون یک گونه نیز مشاهده می شود [22]. میکروگراف های میکروسکوپی ساختار کبد در جیره های مختلف نشان داد که بافت کبد به‌صورت کاملاً لوبوله و پانکراس به‌صورت یک غده ضمیمه در داخل بافت کبد و در بین لوبول‌های آن به صورت پراکنده جای گرفته بود. کپسولی بسیار ظریف از بافت همبند سخت کبد را از خارج احاطه نموده و انشعاباتی از آن وارد بافت کبد شده و آن را به لوبول‌های مشخصی تقسیم کرده بود [23]. لوبول‌های کبدی دارای اندازه و اشکال مختلف گزارش گردید . 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. هر سلول کبدی دارای یک هسته کروی بوده که بیشتر یوکروماتین و واجد هسته‌های مشخص بودند. سیتوپلاسم هپاسیت ها رنگ اسیدوفیلی به خود گرفته و در بیشتر موارد این رنگ سیتوپلاسم به‌صورت غیریکنواخت به نظر می رسید. سایر محققین با مطالعه بر روی دیگر گونه های آبزی نتایج مشابهی را گزارش کردند [24, 25]. مطالعات آسیب شناسی بافتی به ویژه در بافت هایی مانند کبد می تواند راه مناسبی برای بررسی و ارزیابی اثرات زیان بار موادغذایی دریافتی در جیره ماهی باشد [26]. کبد به یک اندام کلیدی که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی و سم زدایی را انجام می‌دهد ممکن است تحت تأثیر مواد هیستوپاتولوژیک تغییرات دچار می شود. در مطالعه حاضر آسیب های کبدی از قبیل نکروز، پرخونی سینوزوئید، مراکز ملانوماکروفاژی و دژنرسانس واکوئولی که ازعوارض شایع و واضح در آسیب های بافتی می باشدکه در اثر تجمع بیش از حد چربی در سیتوپلاسم سلول ایجاد می شود مشاهده گردید که بدلیل مهار سنتز پروتئین، ادغام میکروتوبول ها و رانده شدن هسته هپاتوسیت ها به کنار سلول می شود [27]. همچنین نکروز سلول های کبدی نیز ممکن است به دلیل تجمع نوتروفیل و لنفوسیت در آنها باشد. مراکز ملانوماکروفاژی گروهی از سلول های رنگ‌دانه دار در بسیاری از اندام های ماهی هستند که معمولاً حاوی رنگدانه ملانین و هموسیدرین هستند. تجمع این مراکز یکی از آسیب های شناخته شده بافتی است که در ماهیان در معرض آلاینده ها و تجمع فلزات سنگین نیز گزارش شده است [28]. کبد در ماهیان نقش های مهمی را در فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله متابولیسم، ترشح و ذخیره مواد برعهده دارد. کبد یک اندام پیچیده و بزرگ است که نقش اصلی آن طراحی و مدیریت متابولیسم کربوهیدارت، پروتئین و چربی است. همچنین یکی از مهمترین ارگان‌های بدن در ماهی می باشد که آنزیم‌های مهمی از جمله ALT ، AST و ALP را ترشح می‌کند. این آنزیم ها اغلب در بیماری‌هایی که سلول‌های کبدی یا

هپاتوسیت‌ها درگیر می‌شوند افزایش می‌یابند. در مطالعه حاضر با افزایش مقدار پودر خون نسبت به پودر ماهی در جیره غذایی بر مقدار آنزیم های کبدی به‌ویژه ALT و AST نسبت به گروه افزوده شد. محققین بر این باورند که افزایش آنزیم های کبدی در ماهیان تغذیه شده با مقدار بالای پودر خون به دلیل افزایش محتوای لازم جهت تولید انرژی در کبد این ماهیان باشد در یک تحقیق با افزایش پنبه دانه در جیره غذایی تیلاپیای نیل نسبت به پودرماهی بر مقدار آنزیم های ALT و AST نسبت به گروه شاهد افزوده گردید که بدلیل افزایش آسیب به بافت کبد توسط این محققین گزارش گردید. افزایش فعالیت آنزیم های مذکور در بافت کبد بدلیل افزایش فعالیت ترانس آمیناسیون و افزایش کاتابولیسم اسیدهای آمینه باشد. ALT و AST یکی از مسیرهای اصلی برای سنتز و دآمیناسیون کردن برای اسیدهای آمینه می باشند. همچنین محققین گزارش کردند که افزایش فعالیت AST نشان از شروع آسیب به بافت کبد از طریق آزاد شدن AST میتوکندیایی می‌باشد. به‌طوری که برای ارزیابی میزان صدمه سلول های کبدی آنزیمALT از آنزیمAST مهم تر بوده این آنزیم به طور اختصاصی در کبد یافت شده و به عنوان معیاری اختصاصی برای آسیب سلول های کبدی می باشد ALP یک آنزیم متصل به غـــشاء و در اکثر بافت ها وجود دارد و در اثر بیماری های کبدی و برخی بیماری های عفونی و التهابی تغییرات آشکاری دارد. برای سنجش میزان آسیب سلول های کبدی نشانگرهای مناسبی هستد زیرا در مراحل اولیه ی تخریب کبد، آنزیم های سیتوپلاسمی از هپاتوسیت ها ً به داخل جریان خون نشت پیدا می کنند که در نتیجه باعث افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به مواد خارجی می شود. همچنین، افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها همراه با گلوکونئوژنز که باعث متابولیک کربوهیدرات‌ها از پیش‌سازهای غیر کربوهیدراتی در موجودات زنده و مسئول افزایش ترانس آمینازها در جریان خون جانور می شود [29, 30].

منابع

[1] Da Silva, M.A.; de Alvarenga, É.R.; Alves, G.F.; Manduca, L.G.; Turra, E.M., (2018). Crude protein levels in diets for two growth stages of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) in a biofloc system. Aquac. Res., 49: 2693–2703.

[2] El-Naby, F.S.A.; Naiel, M.A.E.; Al-Sagheer, A.A.; and Negm, S.S., (2019). Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in Oreochromis niloticus. Aquac., 501: 82–89.

[3] Ahmad Mohamad, S., (2009). Effect of different artificial on growth rate condition and histological structure of Nile tilapia (Oreochromus niloticus). Res. Fish. Hydrobiol., 4(1):29- 34.

[4] Aanyu, M.; Betancor, M.B.; Monroig, O., (2018). Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquac., 488: 217-226.

[5] Kabir, K.A.; Verdegem, M.C. J.; Verreth, J.A.J.; Phillips, M.J.; Schrama, J.W., (2019). Effect of dietary protein to energy ratio, stocking density and feeding level on performance of Nile tilapia in pond aquaculture. Aquac., 511: 634200.

[6] Younis, E.M.; Abdel-Warith, A.A.; AL-Asgan, N.A., (2012). Hematological and enzymatic responses of Nile tilapia, Oreochromis niloticus, during short and long term sub lethal exposure to zinc. Afr. J. Biotechnol., 11: 4442–4446.

[7] Roshanfekr, K.; Abdi, R.; Salari- Aliabadi, M.A.; Basir, Z., (2018). The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Changes of Intestinal Tissue of Cultured Warm Water Species. J. Anim. Physiol. Develop., 4 (43): 11-25. (Persian).

[8] Li, Y.; Kortner, T.M.; Chikwati, E.M.; Belghit, I.; Lock, E.J.; Krogdahl, A., (2020). Total replacement of fish meal with black soldier fly (Hermetia illucens) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (Salmo salar). Aquac., 520:734967.

[9] Wardani, W.W.; Alimuddin, A.; Zairin, M.; Setiawati, M.; Nuryati, S.; Suprayudi, M.A., (2020). Evaluation of cysteamine supplementation in red tilapia (Oreochromis sp.) diet: Serum insulin and somatostatin, IGF-1 and GLUT4 genes expression, growth performance, and robustness against stress. Aquac., 528: 735514.

[10] Aanyu, M.; Betancor, M.B.; Monroig, O., (2018). Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquac., 488: 217-226.

[11] Amiripour, L.; Abdi, R.; Movahedinia, A.A.; Sahraian, M., (2015). Study of liver and intestine tissue structure

Antioxidant Defensein Farmed Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Fed with a Diet Supplemented by the Waste Derived from the Supercritical Fluid Extraction of Basil (Ocimum basilicum). Antioxid., 11: 415.

[20] Hasanzadeh, S.; Abdi, R.; Salari-Aliabadi, M.A.; Movahedinia, A.; Basir, Z., (2018). Comparative histomorphology of esophagus and intestine in two carnivorous and phytoplankton feeder fish of persian gulf. J. Anim. Environ., 10 (4): 381-388.

[21] Raji, A.R.; Norouzi, E., (2010). Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (Claris batrachus) and piranha (Serrasalmus nattereri). Iran. J. Vet. Res., 11(3): 255-261.

[22] Adeniran, A.; Adeyemo, O.K.; Emikpe, B.; Alarape, S., (2017). Organosomatic Indices, Haematological and Histological Assessment as Biomarkers of Health Status in Feral and Cultured Clarias gariepinus. Afr. J. Biomed. Res., 20(2): 189-194.

[23] Moradkhani, A.; Abdi, R.; Salari-Aliabadi, M.A.; Nabavi, S.M.B.; Basir, Z., (2020). Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in, shabbout, Arabibarbus grypus (actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae), in warm and cold seasons. Acta. Ichthyol. Piscat., 50(4): 423-432.

[24] Ahmad Mohamad, S., (2009). Effect of different artificial on growth rate condition and histological structure of Nile tilapia (Oreochromus niloticus). Res. Fish. Hydrobiol., 4(1):29- 34.

[25] Roshanfekr, K.; Abdi, R.; Salari- Aliabadi, M.A.; Basir, Z., (2017). The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Esophagus Histological Indices of Some Cultured Warm Water Species. J. Anim Biol., 10 (1): 23-33. (Persian).

[26] Ale, A.; Bacchetta, C.; Rossi, A.S.; Galdoporpora, J.; Desimone, M.F.; Fernando, R., (2018). Nanosilver toxicity in gills of a Neotropical fish: Metal accumulation, oxidative stress, histopathology and other physiological effects. Ecotoxicol. Environ. Saf., 148: 976-984.

in orange spotted grouper (Epinephelus coioides) during larval development. J. Oceanogr., 6 (23): 87-92.(Persian).

[12] Atabati, A.; Savari, A.; Movahedinia, A.; Abdi, R., (2014). Histopathological studies on liver of Euryglossa orientalis, in coastal areas of the northern Persian Gulf. J. Animal Environ., 6(2): 135-144.(Persian).

[13] Mekbungwan, A.; Yamauchi, K., (2004). Growth performance and histological intestinal alterations in piglets fed diet aryraw and heated pigeon pea seed meal. Histol. Histopathol., 19: 381–389.

[14] Moallem, Z.; Abdi, R.; Movahedinia, A.; Shirali, S.; Salati, A.P., (2015). Gonad histology and gonadosomatic index variations during gonadal development of wild female Tenualosa ilisha. J. Persian Gulf., 6(19): 53-58. .(Persian).

[15] Khodabakhshian, M,; Shirali, S,; and Abdi, R: 2022. Microscopic survey of Balbiani bodies in Yellowfin seabream (Acanthopagrus latus), Abu Mullet (Planiliza abu), Common carp (Cyprinus carpio), and Benni (Barbus sharpeyi). J Anim Res., 34 (4): 375-389. .(Persian).

[16] Razmara, P.; Heyrati Peykan, F.; Dorafshan, S., (2014). Effect of silver nanoparticles on some hematological indices of rainbow catfish (Pangasius hypophthalmus). J. Cell. Tissue., 5: 263–272.

[17] Shuisheng, L.; Xiaohui, D.; Dong, H.; Liu, X., (2022). Effect of dietary oxidized fish oil on liver function in hybrid grouper (♀ Epinephelus fuscoguttatus × ♂ Epinephelus lanceolatus). Aquac. Rep., 22. 101000.

[18] Ranjan, A.; Srivastava, P.P.; Jain, K.K.; Muralidhar, P.A., (2020). Comparative evaluation of metabolic enzymes activities in different tissues of striped catfish, Pangasianodon hypothalamus (Sauvage, 1878) fingerlings reared at ambient and higher temperatures. Iran. J. Fish. Sci., 19(2): 893-903.

[19] Magara, G.; Prearo, M.; Vercelli, C.; Barbero, R.; Micera, M.; Botto, A., (2022). Modulation of

[27] Abdelhamed, H.; Ibrahim, I.; Baumgartner, W.; Lawrence, M.L.; Karsi, A., (2017). Characterization of histopathological and ultrastructural changes in channel catfish experimentally infected with virulent Aeromonas hydrophila. Front. Microbiol., 8: 1519.

[28] Roshanfekr, K.; Abdi, R.; Salari- Aliabadi, M.A.; Basir, Z., (2018). The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Changes of Intestinal Tissue of Cultured Warm Water Species. J. Anim. Physiol. Develop., 4 (43): 11-25. (Persian).

[29] Foysal, M.J.; Alam, M.; Kawser, A.; Hasan, F.; Rahman, M.M.; Tay, C.Y., (2020). Metaomics technologies reveals beneficiary effects of Lactobacillus plantarum as dietary supplements on gut microbiota, immune response, and disease resistance of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquac., 520: 734974.

[30] Amiripour, L.; Abdi, R.; Movahedinia, A.; Sahraian, M. R., (2015). Study of Liver and Intestine Tissue Structure in Orange Spotted Grouper (Epinephelus coioides) During Larval Development. J. Oceanogr., 6 (23) :87-92. (Persian).

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Masoumeh, M., Msc. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

Abdi, R., Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

✉ *abdir@kmsu.ac.ir* orcid: 0000-0003-2737-1373

Basir, Z., Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Peyghan, R., Professor, Department of Clinical Sciences and Excellence Center of Warm Water Fish Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

این قسمت توسط نشریه تکمیل می‌گردد:

HOW TO CITE THIS ARTICLE

http://doi.org/10.52547/joc.14.53.6

http://joc.inio.ac.ir/article-1-1705-fa.html

https://orcid.org/0000-0003-2737-1373

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.