

مطالعه برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهیان بنی انگشت‌قد (*Mesopotamichthys sharpeyi*) به گرسنگی کوتاه مدت و تغذیه مجدد

آسیه نجفی^۱، امیر پرویز سلاطی^{۲*}، وحید یآوری^۳، فرزاد اسدی^۴

۱- کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

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

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۴- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

چکیده

در این مطالعه اثر گرسنگی کوتاه مدت و تغذیه مجدد برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی ماهیان بنی انگشت‌قد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سه تیمار ۴، ۸ و ۱۶ روز گرسنگی در نظر گرفته شد. آزمایش به گونه‌ای طراحی شد که پایان دوره گرسنگی و آغاز دوره غذایی همه تیمارها به صورت هم‌زمان با یکدیگر باشد. نمونه‌های خونی در ابتدای دوره، همچنین پایان گرسنگی و پایان غذایی پس از بیهوشی با محلول ۰/۲ درصد فنوکسی اتانول از کمان ساقه دمی جمع‌آوری شد. براساس نتایج به دست آمده تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمار ۱۶ روز گرسنگی به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه پایه بود ($P < 0/05$). در بین اندیس‌های خونی، MCH و MCHC در تیمارهای ۴ و ۸ روز گرسنگی در مقایسه با گروه پایه کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). اما اختلاف معنی‌داری در شاخص MCV پس از دوره گرسنگی و در پایان تغذیه مجدد بین تیمارها و گروه پایه مشاهده نشد ($P > 0/05$). در پایان گرسنگی هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید مشاهده نشد ($P > 0/05$), در حالی که تغذیه مجدد باعث افزایش معنی‌دار تعداد این سلول‌ها شد ($P < 0/05$). محتوای ایمونوگلوبولین M و لیزوزیم تحت تأثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار نگرفت به صورتی که در پایان گرسنگی و همچنین پس از غذایی مجدد در مقایسه با گروه پایه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار را نشان نداد ($P > 0/05$). یافته‌های این مطالعه نشان داد که گرسنگی تا ۱۶ روز و تغذیه مجدد تأثیری بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی بنی انگشت‌قد، *Mesopotamichthys sharpeyi* ندارد.

واژگان کلیدی: گرسنگی، تغذیه مجدد، هماتولوژی، پارامترهای ایمنی، *Mesopotamichthys sharpeyi*

تاریخ پذیرش: خرداد ۹۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۳

* نویسنده مسئول: salatia@gmail.com

مقدمه

گرسنگی یک پدیده معمول است، که ماهیان در محیط طبیعی و شرایط پرورشی با آن روبه‌رو می‌شوند (Barcellos et al., 2010). در محیط طبیعی، ماهیان در طول زندگی خود، دوره‌های محرومیت غذایی را به علت نوسانات فصلی در قابلیت دسترسی به غذا و مهاجرت تجربه می‌کنند. گزارش شده است که ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) و مارماهی بدون دریافت غذا مسافت‌های طولانی را به منظور تولید مثل سپری می‌کنند (Sridee and Boonanuntanasarn, 2012). در سیستم‌های آبی‌پروری هم با وجود در دسترس بودن غذا، در طول شرایط استرس مانند افت کیفیت آب و شیوع بیماری، تعدادی از ماهی‌ها دستخوش دوره‌هایی از گرسنگی می‌شوند. گاهی اوقات ماهیان دوره‌هایی از گرسنگی را در طول صید، انتقال، سازگاری با شرایط موجود در مزرعه (Sridee and Boonanuntanasarn, 2012) و همچنین برخی رژیم‌های غذایی که در آن محرومیت غذایی گنجانده شده، تجربه می‌کنند (Barcellos et al., 2010). روند سازگاری با شرایط گرسنگی و توانایی تکاملی به منظور تحمل دوران محرومیت غذایی و بازگشت به شرایط اولیه پس از غذادهی مجدد در گروه‌های مختلف ماهیان بسیار متفاوت است (Love, 1970). بازگشت از محدودیت غذایی به وضعیت اولیه به عواملی از قبیل گونه مورد نظر، طول دوره محدودیت غذایی، شرایط محیطی و پیشینه غذایی حیوان بستگی دارد (Navarro and Gutierrez, 1995).

در بسیاری از مطالعات، استفاده بالقوه از پارامترهای هماتولوژیکی را به منظور بررسی وضعیت سلامت ماهی مطرح شده است (Silveira-Coffigny et al., 2004; Gingerich et al., 2010; Rios et al., 2011). علاوه بر این، پارامترهای هماتولوژیکی به عنوان شاخص‌های مناسب جهت ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sridee and Boonanuntanasarn, 2012). خون یک بافت حیاتی سیال و یکی از فاکتورهای مهم به منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی موجودات زنده است (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۸). خون به دلیل دارا بودن ترکیبات مختلف در ایجاد پاسخ ایمنی معین، حفظ فشار اسمزی و ایجاد حالت بافری در مقابل تغییرات pH، همواره نقش مهمی را ایفا می‌کند. گلبول‌های قرمز در نقل و انتقال مواد غذایی و گازها، و گلبول‌های سفید در تولید پادتن و بیگانه‌خواری باکتری‌ها حائز اهمیت هستند (Morshedi et al., 2011a).

بر طبق گزارش‌های موجود، محرومیت غذایی پارامترهای خونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتایج حاصل از مطالعات انجام شده در ارتباط با اثرات محرومیت غذایی بر روی پارامترهای خونی در ماهیان ضد و نقیض است (Kawatsa, 1966; Larsson and Lewander 1973; Morshedi et al., 2011a) که نشان می‌دهد پاسخ به محرومیت غذایی ممکن است وابسته به شرایط آزمایشی باشد. از آن جا که بررسی تغییرات پارامترهای خونی در طول دوره‌های گرسنگی کوتاه مدت تأثیر به‌سزایی در تشخیص بیماری‌ها و کنترل آن‌ها دارد و از طرف دیگر وضعیت‌های مختلف تغذیه‌ای بر روی سیستم ایمنی ماهیان تأثیرگذار است، در این مطالعه مقادیر فاکتورهای خونی و برخی از پارامترهای ایمنی و روند تغییرات آن‌ها در طی دوره‌های مختلف گرسنگی در ماهیان بنی انگشتقد مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی ماهیان بنی انگشتقد با میانگین وزنی 61.3 ± 0.4 گرم از مهرماه تا آذرماه سال ۹۱ انجام گرفت. ماهیان انگشتقد مورد نیاز از کارگاه تکثیر و پرورش شهید ملکی اهواز تهیه و به دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شدند. قبل از شروع آزمایش، ماهیان با آب لب شور ضدعفونی شدند و به منظور سازگاری با شرایط جدید به مدت ۲ هفته در تانک‌های ۳۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. در طول این مدت برای عادت کردن بچه ماهیان به غذای دستی، جیره تجاری پلت شده رایج در بازار (پروتئین ۴۱/۰۴٪، چربی ۵/۸۳٪، کربوهیدرات ۳۷/۱۱٪ و خاکستر ۱/۴۵٪)، روزانه در ۲ نوبت (۹:۰۰ و ۱۷:۰۰) تا حد سیری مورد استفاده قرار گرفت. پس از سپری شدن دوره سازگاری، ماهیان در ۹ تانک فایبرگلاس مدور ۳۰۰ لیتری (۳۰ ماهی در هر تانک) مجهز به سیستم هوادهی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بین تیمارها و تکرارهای مربوط به هر تیمار تقسیم شدند.

برای مطالعه اثر گرسنگی بر پارامترهای فیزیولوژیکی سه تیمار (تیمارهای ۴، ۸ و ۱۶ روز گرسنگی) با سه تکرار در نظر گرفته شد. آزمایش به گونه‌ای طراحی شد که پایان دوره گرسنگی و آغاز دوره غذادهی همه تیمارها به صورت هم‌زمان با یکدیگر باشد. پس از گرسنگی همه گروه‌ها به مدت ۳۲ روز غذادهی شدند. طول دوره آزمایش ۴۸ روز بود. در طول دوره آزمایش بچه ماهیان به

همان روش دوره سازگاری، روزانه به صورت دستی در دو نوبت (۹ صبح و ۵ بعدظهر) و تا حد سیری غذایی شدند. پارامترهای فیزیوشیمیایی آب مخازن شامل دما، اکسیژن محلول و pH روزانه در طی دوره آزمایش اندازه‌گیری و ثبت شد. میانگین دما $25/6 \pm 0/09$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $7/61 \pm 0/05$ میلی‌گرم بر لیتر و pH $8/05 \pm 0/03$ بود. در ابتدای دوره از ۹ ماهی از تکرارهای مختلف (گروه پایه)، همچنین در پایان گرسنگی و پایان غذایی به صورت تصادفی از ۱۵ عدد ماهی در هر تیمار (۵ ماهی از هر تکرار) پس از بیهوشی با محلول ۰/۲ درصد ۲- فنوکسی اتانول، از سیاهرگ دمی واقع در انتهای باله مخرجی خون‌گیری انجام گرفت. نمونه‌های خون به ۲ بخش تقسیم شدند، یک بخش به منظور بررسی پارامترهای خونی به میکروتیوب‌های هپارینه منتقل شد و بخش دیگر به منظور ارزیابی پارامترهای ایمنی بلافاصله سانتریفیوژ شده، سرم آن جدا شد و در دمای ۲۰- درجه تا زمان انجام آنالیزهای مربوطه ذخیره‌سازی شد (غذایی به ماهیان یک روز قبل از خون‌گیری قطع شد). به دلیل ناکافی بودن خون یک ماهی، خون‌های تهیه شده از هر تکرار با یکدیگر مخلوط و پس از جمع‌آوری به منظور انجام مطالعات خون‌شناسی به آزمایشگاه سلامت خرمشهر منتقل شدند. جهت تعیین مقادیر پایه، خونگیری از ماهیان تانک اصلی برداشت گردید. پس از انتقال، بلافاصله فاکتورهای خونی شامل تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و قرمز (RBC) به وسیله لام هموسیتومتر (نئوبار) و هموگلوبین (Hb) به روش Blaxhall و Daisley (۱۹۷۳) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. به منظور سنجش درصد هماتوکریت (Hct) از روش میکروهماوکریت استفاده شد (Houston, 1990). شاخص‌های گلبول قرمز (MCV, MCH, MCHC) به روش زیر محاسبه شدند:

$$\text{MCV} = (\text{Hct}/\text{RBC}) \times 10 \quad (\text{فرمول ۱})$$

$$\text{MCH} = (\text{Hb}/\text{RBC}) \times 10 \quad (\text{فرمول ۲})$$

$$\text{MCHC} = (\text{Hb}/\text{Hct}) \times 100 \quad (\text{فرمول ۳})$$

به منظور ارزیابی میزان ایمونوگلوبولین M (IgM) پلاسما از روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) استفاده شد. سنجش فعالیت لیزوزیم پلاسما مطابق با روش Sankaran و Gurnani (۱۹۷۲) انجام گرفت.

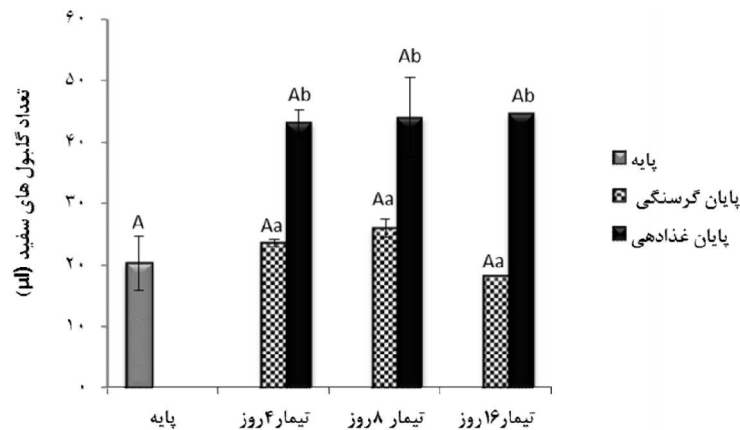
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در محیط نرم افزار SPSS 16 (SPSS 16.0, Chicago, IL) در سطح خطای ۵٪ انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مشخص شد. با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) مقایسه سطوح کلیه فاکتورها در بین تیمارهای مختلف در هر یک از زمان‌های نمونه‌گیری انجام شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار به کمک پس آزمون tukey مقایسات چندگانه‌ای صورت گرفت. سپس از آزمون t-test به منظور مقایسه میانگین تمامی فاکتورها در بین زمان‌های مختلف یک تیمار استفاده شد.

نتایج

پارامترهای خونی

در پایان دوره گرسنگی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای مختلف و گروه پایه مشاهده نشد ($P > 0/05$). در حالی که در پایان دوره غذایی تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه پایه افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). مقایسه تغییرات تعداد گلبول‌های سفید در هر تیمار نیز نشان دهنده افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید پس از غذایی مجدد در مقایسه با پایان گرسنگی است ($P < 0/05$ ؛ شکل ۱).

تعداد گلبول‌های قرمز در پایان گرسنگی در کلیه تیمارها در مقایسه با گروه پایه کاهش نشان داد که این کاهش تنها در تیمار ۱۶ روز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار شاهد ($2/06 \pm 0/07$) و کم‌ترین تعداد آن‌ها در تیمار ۱۶ روز ($1/48 \pm 0/13$) ثبت شد. تعداد گلبول‌های قرمز در پایان غذایی تنها در تیمار ۱۶ روز گرسنگی اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). مقایسه تعداد گلبول‌های قرمز در هر تیمار نشان داد که در تیمار ۸ روز در پایان غذایی مجدد در مقایسه با پایان گرسنگی، تعداد گلبول‌های قرمز کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند ($P < 0/05$).



شکل ۱: اثر گرسنگی کوتاه مدت و تغذیه مجدد بر روی تعداد گلبول‌های سفید ماهیان بنی انگشت‌قد. حروف بزرگ یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها پس از دوره گرسنگی و پایان تغذیه مجدد، حروف کوچک تغییرات تعداد گلبول‌های سفید در هر تیمار را نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف متفاوت بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح 0.05 هستند.

میزان هموگلوبین در پایان گرسنگی در هر سه تیمار در مقایسه با گروه پایه کاهش پیدا کرد که این کاهش تنها در تیمار ۱۶ روز معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در پایان دوره غذایی هیچ اختلاف معنی‌داری در مقدار هموگلوبین تیمارهای مختلف و گروه پایه مشاهده نشد ($P > 0.05$). آنالیز آماری تغییرات میزان هموگلوبین در هر تیمار بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در کلیه تیمارها است ($P > 0.05$).

درصد هماتوکریت در پایان دوره گرسنگی در تیمار ۱۶ روز گرسنگی در مقایسه با گروه پایه کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین سایر تیمارها با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$). مقایسه درصد هماتوکریت در پایان غذایی مجدد و پایان گرسنگی در هر تیمار نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارهای ۴ و ۸ روز است ($P < 0.05$)، در حالی که در تیمار ۱۶ روز اختلاف معنی‌داری بین پایان گرسنگی و غذایی ثبت نشد ($P > 0.05$).

براساس نتایج به دست آمده هیچ اختلاف معنی‌داری در شاخص MCV پس از دوره گرسنگی و در پایان تغذیه مجدد بین تیمارها و گروه پایه مشاهده نشد ($P > 0/05$). مقایسه این شاخص در پایان گرسنگی و پس از غذادهی مجدد در هر تیمار نیز بیان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در کلیه تیمارها است ($P > 0/05$; جدول ۱).

همان گونه که جدول ۱ نشان می‌دهد گرسنگی باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های MCH و MCHC در تیمارهای ۴ و ۸ روز در مقایسه با گروه پایه شد ($P < 0/05$), اما در پایان غذادهی مجدد هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان این شاخص‌ها بین گروه پایه و تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$). روند تغییرات MCH در هر تیمار در پایان گرسنگی و غذادهی مجدد نشان داد که فقط در تیمار ۱۶ روز اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$), در حالی که مقایسه شاخص MCHC در هر تیمار بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در هر سه تیمار است ($P < 0/05$).

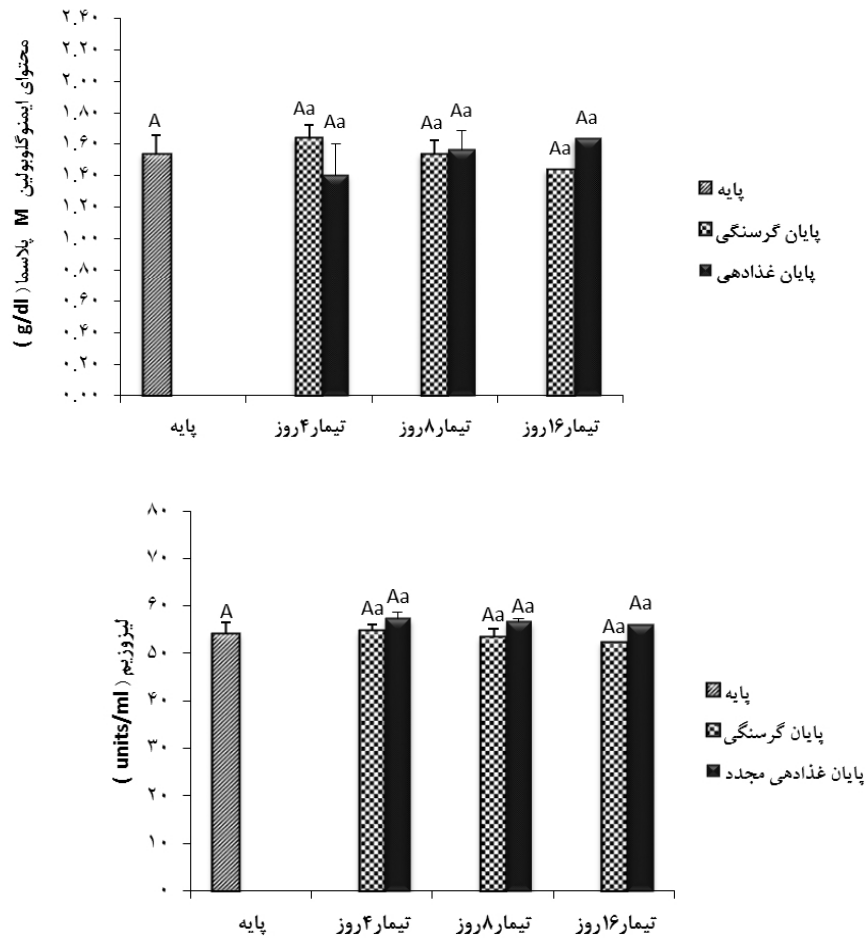
پارامترهای ایمنی

اثر گرسنگی کوتاه مدت و تغذیه مجدد بر شاخص‌های ایمنی در شکل ۲ ارائه شده است. از نظر آماری هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت لیزوزیم و محتوای ایمنوگلوبین M پلاسما پس از دوره گرسنگی و نیز در پایان تغذیه مجدد بین تیمارها و گروه پایه وجود ندارد ($P > 0/05$). آنالیز آماری مقادیر لیزوزیم و محتوای ایمنوگلوبین M در پایان گرسنگی و غذادهی مجدد در هر تیمار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در کلیه تیمارها است ($P > 0/05$).

جدول ۱. مقادیر فاکتورهای خونی و شاخص‌های گلبولی ماهیان بنی انگشت قد در تیمارهای مختلف آزمایشی

شاخص	شاهد	تیمار ۴ روز		تیمار ۸ روز		تیمار ۱۶ روز	
		پایان گرسنگی	پایان غذادهی	پایان گرسنگی	پایان غذادهی	پایان گرسنگی	پایان غذادهی
RBC ($\times 10^9/\text{mm}^3$)	۲/۰۶ $\pm 0/07^A$	۱/۸۴ $\pm 0/05^{ACa}$	۱/۵۰ $\pm 0/27^{ACa}$	۱/۹۶ $\pm 0/08^{Aa}$	۱/۳۰ $\pm 0/17^{ACb}$	۱/۴۸ $\pm 0/11^{BCa}$	۱/۱۴ $\pm 0/15^{BCa}$
Hb (g/dL)	۱۲/۲۶ $\pm 0/17^{Aa}$	۱۱/۵۳ $\pm 0/14^{Aa}$	۱۱/۵۶ $\pm 0/18^{Aa}$	۱۱/۸۰ $\pm 0/33^{Aa}$	۱۱/۳۰ $\pm 0/47^{Aa}$	۹/۶۰ $\pm 0/61^{Ba}$	۱۰/۸۰ $\pm 0/96^{Aa}$
Hct (%)	۲۸/۹۰ $\pm 0/65^A$	۲۷/۴۳ $\pm 0/46^{Aa}$	۲۰/۳۵ $\pm 0/41^{Bb}$	۲۹/۱۰ $\pm 0/05^{Aa}$	۱۹/۰۰ $\pm 2/17^{Bb}$	۲۰/۷۳ $\pm 2/38^{Ba}$	۱۷/۵۰ $\pm 2/38^{Ba}$
MCV (fL)	۱۶/۴۶ $\pm 0/25^A$	۱۶/۳۸ $\pm 0/29^{Aa}$	۱۶/۳۸ $\pm 0/73^{Aa}$	۱۶/۱۲ $\pm 0/46^{Aa}$	۱۴/۶۹ $\pm 0/49^{Aa}$	۱۵/۲۰ $\pm 0/28^{Aa}$	۱۵/۲۵ $\pm 0/21^{Aa}$
MCH (pg)	۸۹/۱۶ $\pm 5/19^A$	۶۸/۳۰ $\pm 1/24^{Ba}$	۷۸/۸۳ $\pm 7/24^{Aa}$	۶۵/۴۶ $\pm 3/51^{Ba}$	۸۶/۹۳ $\pm 7/22^{Aa}$	۷۱/۴۶ $\pm 5/94^{Ba}$	۹۵/۲۳ $\pm 4/63^{Ab}$
MCHC (g/dL)	۵۶/۱۱ $\pm 3/49^A$	۴۲/۰۳ $\pm 0/64^{Ca}$	۵۷/۸۳ $\pm 1/82^{Ab}$	۴۰/۶۰ $\pm 1/16^{BCa}$	۵۹/۰۴ $\pm 3/35^{Ab}$	۴۷/۱۶ $\pm 4/05^{ACa}$	۶۲/۴۶ $\pm 2/86^{Ab}$

مقادیری که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند. حروف بزرگ متفاوت اختلاف معنی‌دار بین تیمارها پس از دوره گرسنگی و پایان تغذیه مجدد را نشان می‌دهند و حروف کوچک متفاوت بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در هر تیمار است (میانگین \pm خطای استاندارد).



شکل ۲: اثر گرسنگی کوتاه مدت و تغذیه مجدد بر روی محتوای ایمنوگلوبولین M و لیزوزیم پلاسما. حروف بزرگ یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها پس از دوره گرسنگی و پایان تغذیه مجدد، حروف کوچک تغییرات محتوای ایمنوگلوبولین M و لیزوزیم پلاسما در هر تیمار را نشان می دهد. داده ها به صورت میانگین انحراف معیار بیان شده اند. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ هستند.

بحث

براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه گرسنگی هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید ایجاد نکرد ($P > 0.05$)، در حالی که تغذیه مجدد باعث افزایش معنی‌دار تعداد این سلول‌ها شد ($P < 0.05$). به صورت مشابه Sala-Rabanal و همکاران در سال ۲۰۰۳ هیچ تغییر معنی‌داری در کل گلبول‌های سفید خون *gilthead sea bream* (*Sparus aurata*) در نتیجه گرسنگی مشاهده نکردند. بنابراین با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت که گرسنگی کوتاه مدت نه تنها باعث تضعیف سیستم ایمنی در این گونه نمی‌شود بلکه تغذیه مجدد پس از گرسنگی موجب افزایش سطح ایمنی بدن و افزایش مقاومت ماهی در برابر بیماری‌ها می‌شود. Smirnova در سال ۱۹۶۵، Kawatsa در سال ۱۹۶۶ و Johansson-Sjoberg و همکاران در سال ۱۹۷۵ با مطالعه بر روی ماهی بوروبوت، *Salmo girdneri* و مارماهی اروپایی گزارش کردند که تعداد گلبول‌های سفید در طی دوره‌های گرسنگی به طور مداوم کاهش پیدا می‌کنند. علاوه بر این، مطالعات صورت گرفته توسط Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a,b) نیز نشان دادند که گرسنگی کوتاه مدت موجب کاهش تعداد گلبول‌های سفید در فیل‌ماهیان پرورشی و بچه تاس‌ماهیان سیبری می‌شود. Johansson-Sjoberg و همکاران (۱۹۷۵) و Smirnova (۱۹۶۵) عنوان کردند که کاهش در تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند به علت ظرفیت آسیب دیده سامانه دفاعی بدن در طول دوره‌های گرسنگی باشد.

نتایج مربوط به تعداد گلبول‌های قرمز نشان دهنده کاهش معنی‌دار تعداد آن‌ها پس از ۱۶ روز گرسنگی است. نتایج مشابهی در دوره‌های طولانی مدت گرسنگی توسط Rios و همکاران (۲۰۰۵) در ماهی *Hoplias malabaricus* پس از ۲۴۰ روز گرسنگی مشاهده شد. علاوه بر این Rios و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای دیگر، کاهش مشابهی را در *Prochilodus lineatus* پس از ۵ هفته گرسنگی گزارش کردند. Sridee و Boonanuntanasarn در سال ۲۰۱۲ نیز کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز را پس از ۴ هفته گرسنگی در *Oxyleotris marmorata* مشاهده کردند. با این وجود هیچ تغییر معنی‌داری در RBC گریماهی کانالی پس از ۲ و ۴ هفته محرومیت غذایی مشاهده نشد. پژوهش‌های صورت گرفته توسط Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a,b) نیز نشان داد که دوره‌های کوتاه مدت گرسنگی تأثیری بر روی تعداد گلبول‌های قرمز

بچه تاس ماهیان سیبری و فیلم ماهیان پرورشی ندارد. تعداد گلبول‌های قرمز تأثیرات معنی‌داری ($P < 0/05$)، بر توازن کل انرژی بدن دارد، بنابراین هنگامی که ماهی فعالیت کم‌تری داشته باشد، شمار زیادی از اریتروسیت‌ها مورد نیاز نیستند و تعداد آن‌ها رو به کاهش می‌گذارد (ستاری، ۱۳۸۱). از این رو کاهش مشاهده شده در مطالعه حاضر منطقی به نظر می‌رسد.

نتایج متناقضی در مقالات علمی در ارتباط با اثرات گرسنگی بر روی محتوای هموگلوبین و هماتوکریت وجود دارد. Sano (۱۹۶۲)، Smirnova (۱۹۶۵) و Johansson-Sjoberg و همکاران (۱۹۷۵) افزایش در میزان هماتوکریت را به ترتیب در پاسخ به دوره‌های گرسنگی ۹۰، ۱۴۵ و ۴۷ روز در مارماهی ژاپنی، بوربوت و مارماهی اروپایی گزارش کردند. افزایش میزان هماتوکریت در بچه فیلم ماهیان توسط Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a) نیز گزارش شده است. از طرف دیگر Kawatsa (۱۹۶۶) کاهش محتوای هموگلوبین و هماتوکریت را در قزل‌آلای رنگین‌کمان محروم شده از غذا، مشاهده کرد. Kristofferson و Broberg در سال ۱۹۷۱، Rios و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Morshedi و همکاران (۲۰۱۱b) نتایج مشابهی را در ارتباط با کاهش هماتوکریت در اردک ماهی، *Hoplias malabaricus* و بچه تاس ماهیان سیبری گزارش کردند. در حالی که Larsson و Lewander (۱۹۷۳) در مطالعه بر روی مار ماهی اروپایی نشان دادند که ۱۵۰ روز گرسنگی میزان هموگلوبین و هماتوکریت را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. به صورت مشابه Caruso و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که میزان هموگلوبین و هماتوکریت پس از ۵۸ روز گرسنگی در مارماهی اروپایی هیچ تغییری پیدا نکرد. علاوه بر این Caruso و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که گرسنگی هیچ تأثیری در میزان هماتوکریت *Dicentrarchus European sea bass* (blackspot sea bream و *labrax*) و *Pagellus bogaraveo* محروم شده از غذا ندارد. Sala-Rabanal و همکاران (۲۰۰۳) و Caruso و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه بر روی gilthead sea bream و red porgy نیز چنین نتیجه‌ای را گزارش کردند. همچنین Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a,b) با مطالعه بر روی بچه فیلم ماهیان و بچه تاس ماهیان سیبری عدم تغییر در غلظت هموگلوبین را مشاهده کردند.

طبق پژوهش‌های صورت گرفته تغییر حجم پلاسما، تغییر شکل گلبول‌های قرمز و کاهش یا افزایش تولید گلبول‌های قرمز از بافت‌های خونساز از جمله عواملی هستند که میزان هموگلوبین و

هماتوکریت را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تغییر هر یک از این فاکتورها قادر به تحت تأثیر قرار دادن هماتوکریت است، اما تنها فاکتور ۱ و ۳ غلظت هموگلوبین را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Benfey and Biron, 2000) در بررسی فوق با توجه به عدم تغییر شاخص MCV، کاهش هموگلوبین و هماتوکریت در طی آزمایش می‌تواند به علت کاهش تولید گلبول‌های قرمز از بافت‌های خونساز و ناتوانی بدن ماهی‌های گرسنه در تولید گلبول‌های قرمز جدید باشد. در همین راستا Lane و همکاران در سال ۱۹۸۱ کاهش معنی‌دار هماتوکریت در اثر گرسنگی و وجود همبستگی مثبت در تغییرات تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین را گزارش کردند. از طرف دیگر از آن جا که در این مطالعه شاخص MCH و MCHC که بیان‌گر مقادیر هموگلوبین یک سلول هستند، روندی کاهش را در طول دوره گرسنگی نشان دادند، کاهش هموگلوبین در هر سلول، یکی دیگر از دلایل کاهش غلظت هموگلوبین است.

در مطالعه حاضر شاخص MCV در طول دوره گرسنگی و پس از تغذیه مجدد بدون تغییر باقی ماند. Rios و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه بر روی *Hoplias malabaricus* محروم شده از غذا نیز چنین نتیجه‌ای را گزارش کردند. علاوه بر این، Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a,b) با مطالعه بر روی بچه فیل ماهیان و تاس ماهیان سیبری هیچ تغییر معنی‌داری در شاخص MCV مشاهده نکردند. در حالی که Sridee و Boonanuntanasarn در سال ۲۰۱۲ با مطالعه بر روی *Oxyleotris marmorata* افزایش در MCV را مشاهده کردند. تناقض به وجود آمده در نتایج می‌تواند به علت تفاوت در شرایط آزمایشی باشد.

در پایان دوره گرسنگی شاخص‌های MCH و MCHC در تیمارهای ۴ و ۸ روز کاهش معنی‌داری را نشان دادند. کاهش در MCHC توسط Sridee و Boonanuntanasarn (۲۰۱۲) در ماهی *Oxyleotris marmorata* نیز گزارش شده است. به صورت متناقض با نتایج به دست آمده Rios و همکاران در سال ۲۰۰۵ افزایش معنی‌دار در شاخص‌های MCH و MCHC را پس از ۱۸۰ روز گرسنگی در *Hoplias malabaricus* محروم شده از غذا مشاهده کردند. در حالی که Morshedi و همکاران (۲۰۱۱a,b) با مطالعه بر روی بچه فیل ماهیان و بچه تاس ماهیان سیبری هیچ تغییر معنی‌داری را در شاخص MCH گزارش نکردند. مطابق مطالعات صورت گرفته اثرات گرسنگی‌های آزمایشی به فاکتورهای داخلی و خارجی وابسته است. از این رو انتخاب فصل، دوره

نوری، دما و سن ماهی از جمله عواملی هستند که تأثیرات قابل توجهی در نتایج آزمایش دارند (Navarro and Gutierrez, 1995). این مسئله می‌تواند اختلاف موجود در گزارش‌های مربوط به اثرات هماتولوژیکی محرومیت غذایی در ماهیان و تناقض به وجود آمده در مطالعه حاضر با سایر مطالعات صورت گرفته را توجیه کند.

ماهی‌ها همانند دیگر مهره‌داران دارای یک سیستم ایمنی کارآمد هستند که از آن‌ها در برابر عوامل و ارگانسیم‌های بیماری‌زا حفاظت می‌کند (Effros et al., 1991). اطلاعات محدودی در باره رابطه گرسنگی و تغذیه مجدد و پارامترهای ایمنی وجود دارد. در مطالعه حاضر هیچ تغییر معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم و محتوای Igm پلاسما پس از گرسنگی و تغذیه مجدد مشاهده نشد. مطابق با گزارش‌ها Caruso و همکاران (۲۰۱۰) گرسنگی موجب افزایش میزان لیزوزیم در عصاره پوستی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) شد، در حالی که هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان لیزوزیم کلیه و پلاسما مشاهده نشد. Caruso و همکاران به صورت مشابه در سال ۲۰۱۱ هیچ تغییر معنی‌داری در لیزوزیم خون *Dicentrarchus labrax* پس از ۳۱ گرسنگی مشاهده نکردند، در حالی که در *Pagellus bogaraveo* میزان لیزوزیم در ماهی‌های گرسنه در مقایسه با ماهی‌های تغذیه شده پایین‌تر بود. علاوه بر این، میزان فعالیت لیزوزیم در کلیه و خون مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) پس از ۵۸ روز گرسنگی تحت تأثیر قرار نگرفت (Caruso et al., 2011). افزایش فعالیت لیزوزیم به عنوان بخشی از عملکرد ایمنی در پاسخ به استرس گزارش شده است (Demers and Bayne, 1997)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدت گرسنگی در این مطالعه پاسخ استرس جهت افزایش فعالیت لیزوزیم را تحریک نکرده است.

میزان Igm تحت تأثیر گرسنگی و تغذیه مجدد قرار نگرفت. تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی گونه‌های ماهی صورت نگرفته است، اما در *Mongolian gerbils* نتایج مشابهی گزارش شده است (Xu et al., 2010). افزایش (, Zysling et al., 2004; Jolly, 2004; Effros et al., 1991) یا کاهش (Martin et al., 2008; Liang et al., 2004; Bilbo and Nelson, 2009) پس از گرسنگی در دیگر گونه‌ها گزارش شده است. تعداد گلبول‌های سفید پس از تغذیه مجدد در همه گروه‌ها افزایش پیدا کرد اما هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان Igm ثبت نشد که نشان دهنده عدم ارتباط مستقیم بین تولید Igm و WBC است.

برای جمع‌بندی می‌توان عنوان کرد که با وجود مقاومت نسبتاً بالای موجودات خونسرد از جمله ماهی برای تحمل گرسنگی و با وجود قدرت هومئوستاز خون، اغلب پارامترهای خونی مورد بررسی در این مطالعه در طول دوره‌های گرسنگی کاهش معنی‌داری را نشان دادند، اما پس از تغذیه مجدد همه فاکتورها به استثنای RBC و Hct به میزان پایه برگشتند. از طرف دیگر از آن جا که پاسخ ایمنی تحت تأثیر گرسنگی و همچنین طول مدت گرسنگی قرار نگرفت، از این رو می‌توان گفت ارزیابی این پارامترها به تنهایی تصویر واضحی از وضعیت فیزیولوژیکی ماهی را نشان نمی‌دهد، بنابراین آنالیز سایر پارامترهای فیزیولوژیکی در مطالعات آینده برای این گونه توصیه می‌شود.

منابع

- ستاری م. ۱۳۸۰. ماهی شناسی: فیزیولوژی و تشریح. انتشارات حق شناس، رشت.
- شاهسونی د.، وثوقی غ. و خضرای نیاب. ۱۳۷۸. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. فصل نامه پژوهش و سازندگی، شماره ۴۴، ۱۴-۱۸.
- Barcellos L.J.G., Marqueze A. Trapp M. Quevedo R. M. and Ferreira D. 2010.** The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundia *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 300: 231-236.
- Benfey T.J. and Biron M. 2000.** Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 184: 167-176.
- Bilbo S.D. and Nelson R.J. 2004.** Photoperiod influences the effects of exercise and food restriction on an antigen-specific immune response in Siberian hamsters. *Endocrinology*, 145: 556-564.
- Blaxhall P.C. and Daisley K.W. 1973.** Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6): 771-781.
- Caruso G., Denaro M.G. Caruso R., Genovese L., Mancari F. and Maricchiolo G. 2012.** Short fasting and refeeding in red porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758): Response of some haematological, biochemical and non specific immune parameters. *Marine Environmental Research*, 81: 18-25.
- Caruso G., Denaro M.G., Caruso R., Mancari F., Genovese L. and Maricchiolo G. 2011.** Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *Marine Environmental Research*, 72(1-2): 46-52.
- Caruso G., Maricchiolo G. Micale V. Genovese L. Caruso R. and Denaro M.G. 2010.** Physiological responses to starvation in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects on haematological, biochemical, non-specific immune parameters and skin structures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(1): 71-83.
- Demers N.E. and Bayne C.J. 1997.** The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental and Comparative Immunology*, 21: 363-373.

- Effros, R.B.; Walford, R.L. Weindruch, R. and Mitcheltree, C., 1991.** Influences of dietary restriction on immunity to influenza in aged mice. *Journal of Gerontology*, 46: B142–B147.
- Gingerich A.J., Philipp D.P. and Suski C.D. 2010.** Effects of nutritional status on metabolic rate, exercise and recovery in a freshwater fish. *Journal of Comparative Physiology B.*, 180(3): 371–384.
- Houston A.H. 1990.** Blood and circulation .In: *Methods for fish biology*. Schreck C.B. and Moyle P.B. (Eds) Bethesda, USA, Am. Fish. Soc. pp: 273–334.
- Johansson-Sjoberg M.L., Dave J., Larsson A., Lewander K. and Lidman U. 1975.** Metabolic and hematological effects of starvation in the European eel, *Anguilla anguilla* Hematology. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 52(3): 431–434.
- Jolly C.A. 2004.** Dietary restriction and immune function. *The Journal of Nutrition*, 134: 1853–1856.
- Kamara, S. K. 1966.** Effect of starvation and refeeding on some liver and blood constituents of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *J. Fish. Res. Bd Can.* 27: 975-982.
- Kawatsa H. 1966.** Studies on the anemia of fish. I Anaemia of rainbow trout caused by starvation. *Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory Tokyo*, 15: 167–173.
- Kristofferson, R. and Broberg, S., 1971.** Effect of temperature acclimation on some blood constituents of the pike, *Esox lucius*. L. *Annual of Zoology Fennici*, 8: 427-433
- Lane H.C., Rolfe A.E. and Nelson G.R. 1981.** Changes in the nucleotide triphosphate/haemoglobin and nucleotide triphosphate/red cell ratios of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, subjected to prolonged starvation and bleeding. *Journal of Fish Biology*, 18(6): 661–668.
- Larsson A. and Lewander K. 1973.** Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 44: 367–374.
- Liang H., Zhang J.J. and Zhang Z.B. 2004.** Food restriction in pregnant rat-like hamsters (*Cricetulus triton*) affects endocrine, immune function and odor attractiveness of male offspring. *Physiology and Behavior*, 82: 453–458.

- Love R.M. 1970.** The chemical biology of fishes. Vol. I. Academic Press, London and New York, P: 574.
- Martin L.B., Navara K.J., Bailey M.T. Hutch C.R., Powell N.D., Sheridan J.F. and Nelson R.J. 2008.** Food restriction compromises immune memory in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) by reducing spleen-derived antibody-producing B cell numbers. *Physiological and Biochemical Zoology*, 81: 366–372.
- Morshedi V., Ashouri G., Khochanian P., Yavari V., Bahmani M., Pourdehghani M., Yazdani M.A. Fashtami H.R.P. and Azodi M. 2011a.** Effects of short-term starvation on hematological parameters in cultured juvenile Beluga. *Journal of Veterinary Research*, 66(4): 363–368.
- Morshedi V., Kochanian P., Bahmani M., Yazdani M.A., Pourali H.R. and Ashouri G. 2011b.** Changes in some hematological factors during short-term starvation in juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*. *Oceanography*, 5(2): 59–66.
- Navarro I. and Gutierrez J. 1995.** Fasting and starvation. In: *Biochemistry and molecular biology of fishes*. Vol. 4. Hochachka P.W. and Mommsen T. (Eds.). Elsevier, New York, NY, USA. pp: 393–434.
- Rios F.S., Carvalho C.S., Pinheiro G.H.D., Donatti L., Fernandes M.N. and Rantin F.T. 2011.** Utilization of endogenous reserves and effects of starvation on the health of *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Environmental Biology of Fishes*, 91(1): 87–94.
- Rios F.S., Oba E.T., Fernandes M.N., Kalinin A.L. and Rantin F.T. 2005.** Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traira, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140(3): 281–287
- Sala-Rabanal M., Sanchez J., Ibarz A., Fernandez-Borras J., Blasco J. and Gallardo M.A. 2003.** Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 29(2): 105–115.
- Sankaran K. and Gurnani S. 1972.** On the variation in the catalytic activity of lysozyme in fishes. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 9: 162–165.
- Sano T. 1962.** Haematological studies of the culture fishes in Japan. 6. Variation in blood constituents of Japanese eel, *Anguilla japonica*, during starvation. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 48: 105

- Silveira-Coffigny R., Prieto-Trujillo A. and Ascencio-Valle F. 2004.** Effects of different stressors in haematological variables in cultured *Oreochromis aureus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139(4): 245–250.
- Siwicki A.K. and Anderson D.P. 1993.** Nonspecific defense mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. In: *Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods*. Siwicki A.K., Anderson D.P. and Waluge J. (Eds). Olsztyn, Poland, pp: 105–122.
- Smirnova L.J. 1965.** Blood indices of the burbot during prolonged total fasting and subsequent feeding. *Transactions (Doklady) of the Academy of Sciences of the USSR. Biological Sciences Section*, 160: 107–109.
- Sridee N. and Boonanuntanasarn S. 2012.** The effects of food deprivation on hematological indices and blood indicators of liver function in *Oxyleotris marmorata*. *International Journal of Medical and Biological Sciences*, 6(5): 254–258.
- Xu D.L., Liu X.Y. and Wang D.H. 2011.** Food restriction and refeeding have no effect on cellular and humoral immunity in Mongolian gerbils (*Meriones sunguiculatus*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 84: 87–98.
- Zysling D.A., Garst A.D. and Demas G.E. 2009.** Photoperiod and food restriction differentially affect reproductive and immune responses in Siberian hamsters *Phodopus sungorus*. *Functional Ecology*, 23: 979–988.

Effects of short-term starvation and refeeding on some physiological parameters in *Mesopotamichthys sharpeyi* (Gunther, 1874) fingerlings

Asieh Najafi¹, Amir Parviz Salati^{1*}, Vahid Yavari¹, Farzad Asadi²

1- Msc in Aquaculture, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

2- Assistant professor in Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

3- Associate professor in Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

4- Professor in Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: May 2014

Accepted: Jun 2014

Abstract

The present study investigated the effects of short-term starvation and Re-feeding on some physiological indices of *Mesopotamichthys sharpeyi* (Günther, 1874) fingerlings. Three experimental groups (each in 3 replicate) including 4, 8 and 16-days of starvation were used in this study. End of starvation period and the beginning of re-feeding in all treatments were concurrently occurred. Blood samples were collected from 15 fish in each treatment (5 fish from each replicate) at the initial and the end of starvation and also end of re-feeding periods, from the caudal vasculature vein using heparinized syringes after anesthetization with an aqueous solution of 2-phenoxy-ethanol (%2). Results showed that the number of red blood cells (RBCs), Hemoglobin concentration (Hb) and Hematocrit (Ht) was significantly lower in 16-days starvation group compared to basal values ($P < 0.05$). Food deprivation caused a significant reduction in MCH and MCHC indices in 4 and 8 days- starvation groups compared with the control sample at the start of experiment ($P < 0.05$), but MCV at the end of starvation and re-feeding period did not show significant changes between experimental groups ($P > 0.05$). Starvation showed no significant changes in the number of white blood cells ($P > 0.05$), while their number increased significantly after re-feeding period ($P < 0.05$). Lysozyme and immunoglobulin M did not affected by starvation and re-feeding ($P > 0.05$). These findings showed that fasting up to 16 days and re-feeding could not affect physiological responses in *M. sharpeyi*.

Key words: Fasting, Refeeding, Hematology, Immune Parameters, *Mesopotamichthys sharpeyi*.

*Corresponding Author: salatia@gmail.com