تأثیر وضعیت تغذیه‌ای بر پروفایل شیمیایی خون و انتخاب شاخص‌های مناسب در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

هاشم خندان بارانی[1*]، محمدرضا حیدری[2] و محدثه میری[1]

[1] **دانشگاه زابل، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون**

[2] **دانشگاه زابل، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات**

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۷

چکیده

مطالعه حاضر جهت مشخص کردن پارامترهای بیوشیمیایی خون با پتانسیل تشخیصی برای ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای و سلامت در ماهی کپور معمولی انجام شد. براین اساس ۹۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۹/۵±۱۵۷ گرم در سه تیمار و سه تکرار به ازای هر تیمار، در ۹ مخزن ۳۰۰ لیتری به طور تصادفی رهاسازی شدند و تحت شرایط متفاوت تغذیه‌ای قرار گرفتند، تیمار اول ۱۴ روز تا حد سیری غذا دهی شدند، تیمار دوم ۷ روز غذا دهی و به دنبال آن ۷ روز گرسنه نگه‌داشته شدند و تیمار سوم ۱۴ روز تحت شرایط گرسنگی قرارگرفتند. در پایان آزمایش خونگیری انجام شده و پارامترهای بیوشیمیایی با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی استاندارد اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که میزان تری‌گلیسیرید، پروتئین کل، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و هورمون T_3 پس از یک هفته گرسنگی بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$) و این‌روند کاهشی در هفته دوم گرسنگی تنها برای تری‌گلیسیرید و آنزیم AST بطور معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$). همچنین از نظر کلسیم، فسفر، منیزیم، کلسترول و هورمون تیروکسین (T4) بین تیمارها تفاوت معنی‌داری ثبت نشد. از این‌رو تری گلیسیرید و AST با توجه به کاهش مداوم در طول دوره گرسنگی، پتانسیل استفاده بعنوان شاخص نشان‌دهنده وضعیت تغذیه‌ای را در ماهی کپور معمولی سالم دارند و میزان پروتئین کل، T_3 و آلکالین فسفاتاز (ALT) که پس از پایان هفته اول گرسنگی نسبتاً مستقل از شرایط تغذیه‌ای بوده‌اند تنها می‌توانند بعنوان شاخص نشان‌دهنده گرسنگی در کوتاه مدت برای ماهی کپور مفید باشند.

واژه‌های کلیدی: کپور معمولی، گرسنگی، پارامترهای بیوشیمیایی خون، آنزیم‌های متابولیک

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۳۲۲۵۱۵۲۱ ، پست الکترونیکی: Hashem.Barani@UOZ.ac.ir

مقدمه

پارامترهای بیوشیمیایی خون منعکس کننده فرایندهای فیزیولوژیک هستند که در بدن یک جانور اتفاق افتاده و ابزار مناسبی جهت ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک آن جانور می‌باشند (۸). در حیوانات اهلی خانگی و همچنین در مزارع پرورشی شرایط تغذیه‌ای و سلامت جانوران بطور معمول از طریق انجام آزمایش‌های خون و با توجه به شاخص‌های بیوشیمیایی خون در سطحی بالا و دقیق مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این جانوران آنالیز خون بعنوان یک ابزار معمول، اطلاعات زیادی را در ارتباط با تشخیص و پیش‌بینی بیماری‌های ناشی از تغییرات مواد متابولیک بدن و یا پاتوژن در اختیار قرار می‌دهد و درمان بموقع را ممکن می‌سازند (۲۵)، اما در آبزی پروری در طول دوره پرورش ماهیان تشخیص سلامتی آنها از طریق بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک صورت می‌گیرد و وجود هرگونه

بیماری و یا وضعیت سوءتغذیه تنها با مشاهده علامت‌های ظاهری و یا کاهش وزن استنباط می‌شود. این در حالی است که مطالعات قبلی نشان داده‌اند که در ماهیان نیز شرایط تغذیه‌ای، استرس‌های محیطی و بیماری بر ترکیب خون اثرگذار هستند (۳۵، ۳۸)، اما با این وجود استفاده از ساختار بیوشیمیایی خون بعنوان یک ابزار تشخیصی بطور معمول و عادی در ماهیان مورد توجه نبوده و نتیجه این امر محدود بودن اطلاعات قابل اعتماد در ارتباط با ارزش فیزیولوژیک خون و ترکیب بیوشیمیایی آن بعنوان ابزار تشخیصی مناسب برای وضعیت تغذیه‌ای مطلوب و سلامتی ماهی می‌باشد. لذا آنالیز بیوشیمیایی خون می‌تواند بعنوان یک روش سریع، غیرکشنده و ارزان جهت تشخیص شرایط سوءتغذیه، وجود استرس یا بیماری که اثرات منفی بر تولید آبزی دارند به کار رود (۴۹).

شاخص‌های بیوشیمیایی خون که جهت بررسی سلامت جانوران مورد استفاده قرار می‌گیرند آنزیم‌های متابولیک، هورمون‌ها، مواد مغذی و الکترولیت‌ها را شامل می‌شود (۲۰، ۳۸، ۵۰). برای تفسیر داده‌های خونی انتخاب متابولیت‌ها و یا آنزیم‌های معین و حساس به شرایط خاص (مانند سوءتغذیه، بیماری و استرس) برای یک‌گونه خاص ضروری است (۲۳). تاکنون اطلاعات مرجع با هدف خون‌شناسی و بیوشیمیایی کلینیکی در آبزی پروری برای تعداد محدودی از ماهیان شامل دو گونه کپور گوشتخوار (۶)، ماهی خاویاری بینی کوتاه و خاویاری هیبرید (۱۱، ۲۴)، لای ماهی (Tench) (۴۸)، هیبرید تیلاپیا (۲۱)، گربه‌ماهی کانالی (۴۹)، ماهی سیم‌دریایی (Sea bream) (۳۷) و باس دریایی اروپایی (۳۸) در دسترس می‌باشد و در مورد برخی گونه‌ها از قبیل کپور معمولی بویژه در کشورمان چنین اطلاعاتی مشاهده نمی‌شود.

تغذیه مناسب یکی از عوامل مؤثر در رشد مطلوب، عملکرد بهتر سیستم دفاعی و بطور کلی سلامت ماهی می‌باشد (۲۷، ۳۰، ۳۶). ماهیان ممکن است در شرایط طبیعی و یا پرورشی دوره‌های گرسنگی کوتاه یا بلند مدتی را تحمل کنند. این محرومیت تغذیه‌ای می‌تواند به علت اجرای یک برنامه تغذیه‌ای بمنظور ذخیره و صرفه‌جویی در هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری از غذا، اشتباه در برآورد میزان غذای مورد نیاز برای ماهیان و یا تغییر در شرایط محیطی به علت آب و هوای بد و تغییرات فصلی ایجاد شود (۷، ۱۶، ۲۸). در شرایط محرومیت غذایی و گرسنگی ماهیان مکانیسم‌های مختلف رفتاری، فیزیولوژیک و ساختاری را بمنظور پوشش نیازهای متابولیکی و حفظ بقاء خود بکار می‌برند که تغییر در محتوی چربی، مواد مغذی خون، عضلات و سایر ارگان‌های بدن از آن جمله می‌باشند (۳۳). در این مطالعات آنزیم‌های سرمی از جمله آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) بعنوان شاخص‌های بسیار مهمی در ارزیابی سلامتی ماهیان مورد توجه قرارگرفته‌اند (۳۷،۵۰). آلکالین فسفاتاز یک آنزیم با چند عملکرد است که در شرایط قلیایی بعنوان ترانس فسفوریلاز عمل کرده و نقش اساسی در معدنی کردن اسکلت جانوران آبزی ایفا می‌کند. همچنین دو آنزیم ALT و AST در متابولیسم پروتئین و آمینواسیدها نقش دارند. همچنین مشخص شده که ترکیبات دیگر موجود در سرم خون مانند پروتئین کل، گلوکز، تری-گلیسیرید و یون‌ها نیز که برای سلامتی ماهی بسیار مهم هستند در اثر گرسنگی و سایر استرس‌های محیطی دچار تغییر شده‌اند (۳، ۴۳) تغییر در میزان برخی هورمون‌های مؤثر در سوخت ساز بدن نیز در این شرایط در ماهیان گزارش شده است (۵، ۲۰).

برای تفسیر اطلاعات حاصل از آنالیز خون مشخص کردن ترکیبات متابولیک و یا آنزیم‌های حساس و متأثر از شرایط گرسنگی و محرومیت غذایی با توجه به نوع گونه ماهی امری ضروری است. با توجه به اینکه این‌گونه مطالعات در کشور ما کمتر مورد توجه قرارگرفته است از این‌رو در مطالعه حاضر به بررسی تغییر ترکیبات متابولیک (فسفر غیر آلی، کلسیم و منیزیم) و آنزیمی (ALT، ALP، AST و

LDH) و هورمون‌های تیروئیدی (T_3، T_4) تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت در ماهی کپور معمولی پرداخته شد تا پارامترهای بیوشیمیایی خون که به محرومیت غذایی حساس بوده و می‌توانند نشان دهنده وضعیت تغذیه‌ای و سلامت ماهی کپور در شرایط پرورشی باشند بعنوان یک شاخص مفید مشخص شوند.

مواد و روشها

تحقیق حاضر در اواسط فروردین ماه سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون (دانشگاه زابل) انجام شد. به این منظور ماهیان کپور معمولی (با میانگین وزن ۹/۵±۱۵۷ گرم) از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی زهک به آزمایشگاه منتقل شدند و به مدت دو هفته سازش‌دهی ماهیان با شرایط آزمایشگاه و غذای دستی انجام شد. پس از پایان دوره سازگاری ماهیان در سه تیمار و سه تکرار به ازای هر تیمار در مجموع در ۹ تانک ۳۰۰ لیتری و هر تانک محتوی ۲۰۰ لیتر آب و شامل ۱۰ قطعه ماهی که بطور تصادفی رهاسازی شدند. تیمار اول به مدت ۱۴ روز تا حد سیری و دو بار در روز غذا دهی شدند، تیمار دوم به مدت ۷ روز تا حد سیری مانند گروه اول غذادهی شدند و پس از این مدت غذادهی قطع‌شده و ماهیان به مدت ۷ روز در شرایط گرسنگی قرارگرفتند و تیمار سوم به مدت ۱۴ روز در شرایط گرسنگی نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش جهت تأمین کیفیت آب روزانه میزان ۳۰ درصد از حجم مخازن با آب کلرزدایی شده جایگزین شد و دو بار در روز کار سیفون کردن مواد باقیمانده غذایی و زائد از هر مخزن انجام شد. همچنین تأمین اکسیژن مورد نیاز مخازن از طریق هوادهی مداوم صورت گرفت. در طول دوره آزمایش سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول، اسیدیته و آمونیاک بصورت روزانه انجام‌شده و بترتیب ۱±۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد، ۰/۳±۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر، ۰/۱۹±۷/۸ وکمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد. این شرایط محیطی برای تمام تیمارها یکسان بود.

آنالیز فاکتورهای متابولیک خون: در پایان دوره آزمایش از هر تیمار بطور تصادفی ۹ قطعه ماهی (۳ قطعه از هر تکرار) بمنظور خون‌گیری انتخاب شدند. خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگ‌های تزریقی از ساقه دمی صورت گرفت و سپس سرم خون با انجام سانتریفوژ (۴۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) استحصال شد و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سرم خون ماهیان جهت سنجش گلوکز، تری-گلیسیرید، کلسترول، پروتئین کل، الکترولیت‌ها (فسفر غیرآلی، کلسیم و منیزیم)، آنزیم‌های متابولیک شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و هورمون‌های تیروئیدی شامل T_3 و T_4 مورد آنالیز قرارگرفت. میزان الکترولیت‌ها، گلوکز (روش گلوکز اکسیداز)، کلسترول (کلسترول اکسیداز)، تری‌گلیسیرید (گلیسرول-۳-فسفات اکسیداز)، پروتئین کل (بیورت) با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون مشخص گردید (۴۴). سنجش آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و براساس دستورالعمل کیت انجام شد (۴۴) و اندازه‌گیری هورمون-های T_3 و T_4 به روش رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت T_3,T_4 RIA (Immunotech, France) انجام شد (۲۰).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: ابتدا همگن بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و پس از اطمینان از همگن بودن داده‌ها تجزیه و تحلیل با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و $P<0/05$ بعنوان مرز استنتاج آماری در

نظرگرفته شد. برای انجام کلیه آنالیزهای آماری فوق از نرم‌افزار SPSS16 استفاده شد (۲۰).

نتایج

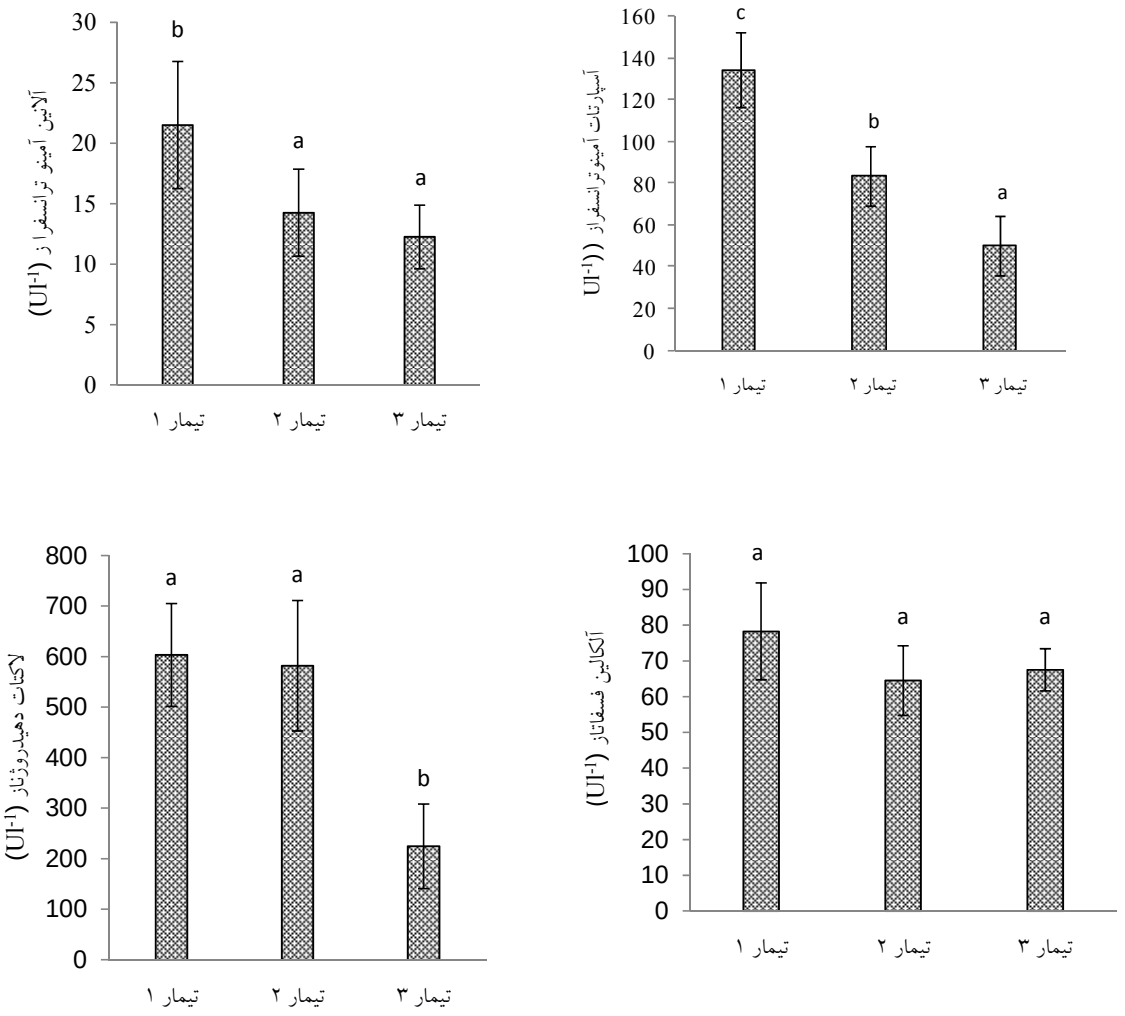
مقایسه میانگین پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما در ماهی کپور معمولی در تیمارهای تحت دوره‌های متفاوت گرسنگی نشان داد که پس از یک هفته گرسنگی (تیمار ۲) اکثراً پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما از یک روند کاهشی پیروی کرده که این کاهش برای پروتئین کل، کلسترول و تری‌گلیسیرید معنی‌دار بوده است (جدول ۱). بطوری‌که بعد از یک هفته گرسنگی میزان پروتئین کل از ۳/۵ به ۲/۹ گرم در دسی لیتر، میزان کلسترول از ۱۵۴/۲ به ۱۲۹/۷ میلی گرم در دسی لیتر و تری‌گلیسیرید از ۱۵۷/۵ به ۱۲۵/۷ میلی گرم در دسی لیتر کاهش‌یافته است، اما کاهش میزان کلسیم و منیزیم و تغییر در میزان فسفر در این دوره گرسنگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). در هفته دوم گرسنگی (تیمار ۳) نیز تنها میزان تری گلیسیرید بطور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۱) و از میزان ۱۲۵/۷ به ۱۰۵/۲ میلی گرم در دسی لیتر رسیده است و تغییر معنی‌داری در مورد سایر پارامترها مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱- تغییرات میانگین میزان پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما در ماهی کپور معمولی تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت

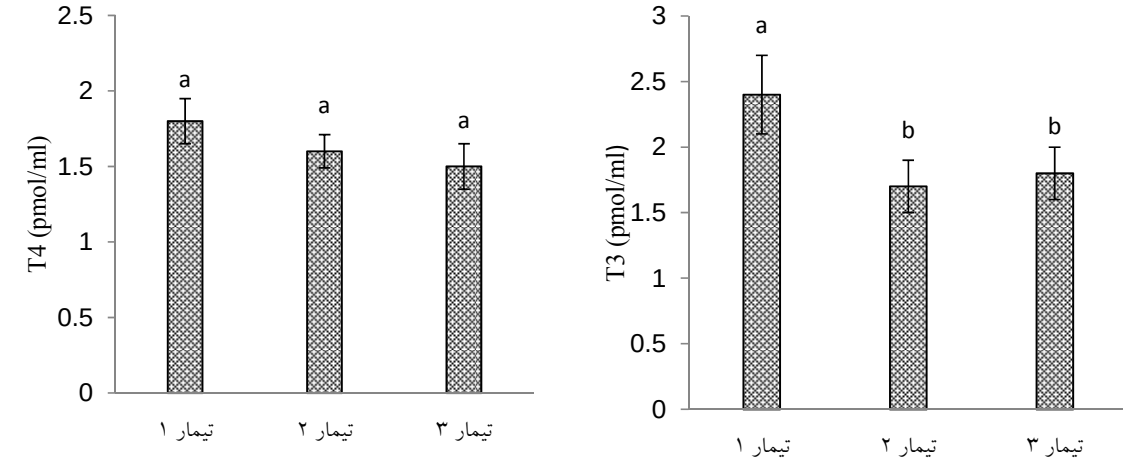
پارامتر / تیمار	تیمار 1	تیمار 2	تیمار 3
گلوکز (mg/dl)	۷۳/۵±۸/۰۴[a]	۵۶/۷±۷/۲[a]	۶۱/۷±۹/۶[a]
پروتئین (g/dl)	۳/۵±۰/۶[b]	۲/۹±۰/۳[a]	۲/۵±۰/۴[a]
کلسترول (mg/dl)	۱۵۴/۲±۱۵/۱[b]	۱۲۹/۷±۹/۸[ab]	۱۲۳/۷±۱۲/۷[a]
تری گلیسیرید (mg/dl)	۱۵۷/۵±۱۱/۲[c]	۱۲۵/۷±۵/۹[b]	۱۰۵/۲±۸/۵[a]
کلسیم (mg/dl)	۹/۷±۰/۵[a]	۹/۱±۰/۸[a]	۹/۹±۱/۸[a]
فسفر (mg/dl)	۵/۲±۱/۰۸[a]	۴/۱±۰/۷[a]	۴/۸±۰/۸[a]
منیزیوم (mg/dl)	۲/۴±۰/۲[a]	۳/۰۳±۰/۴[a]	۲/۸±۰/۱[a]

تغییر فعالیت آنزیم‌ها تحت تأثیر شرایط متفاوت تغذیه‌ای: تغییرات میانگین فعالیت آنزیم‌های متابولیک پلاسما در ماهی کپور معمولی تحت شرایط متفاوت تغذیه‌ای نشان داد که پس از یک هفته گرسنگی (تیمار۲) میزان آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز به‌طور معنی‌داری کاهش‌یافته است (نمودار ۱). به‌طوری‌که در این مدت میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز از ۱۳۴/۵ به ۸۳/۷ Ul^{-1} و آنزیم آلانین آمینوترانسفراز از ۲۱/۳ به ۱۴/۲ Ul^{-1} تنزل یافته است (نمودار ۱) اما در این مدت تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز مشاهده نشد. در هفته دوم گرسنگی نیز علاوه بر آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز، فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز نیز بطور معنی‌داری کاهش یافت و میزان فعالیتشان بترتیب از ۷۶/۲ به ۵۱/۷ و ۵۸۱/۷ به ۲۲۴/۵ Ul^{-1} کاهش‌یافته است و تغییر در فعالیت دو آنزیم دیگر معنی‌دار نبود (نمودار ۱).

اثر شرایط تغذیه‌ای متفاوت بر هورمون‌های تیروئیدی: تغییرات میانگین میزان هورمون‌های تیروئیدی پلاسما (T_3، T_4) نشان داد اگرچه میزان هر دو هورمون پس از یک هفته القای گرسنگی کاهش یافته است اما تنها در مورد هورمون T_3 گرسنگی توانسته سبب کاهش معنی‌دار شود. با افزایش دوره القای گرسنگی (دو هفته) میزان این دو هورمون تقریباً پایدار بوده و کاهش معنی‌داری در میزان آنها مشاهده نشده است (نمودار ۲).



نمودار ۱- تغییرات میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های متابولیک پلاسما در ماهی کپور معمولی تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت



نمودار ۲- تغییرات میانگین میزان هورمون‌های تیروئیدی پلاسما در ماهی کپور معمولی تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت

بحث

آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما می‌تواند در تشخیص وضعیت تغذیه‌ای، استرس و بیماری‌های جانوران از جمله گونه‌های آبزی نقش مهمی داشته باشد که برای این منظور مشخص کردن شاخص‌ها و دامنه تغییرات این پارامترها در انواع ماهیان پرورشی و شرایط فیزیولوژیک مختلف ضروری است. یکی از مهمترین این پارامترها، گلوکز موجود در خون ماهیان است که میزان آن تحت تأثیر دوره گرسنگی در گونه‌های مختلف متغیر است (۵). در مطالعه حاضر مشاهده شد که هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر میزان گلوکز وجود ندارد و پس از ۱۴ روز القای گرسنگی میزان گلوکز در ماهی کپور ثابت باقیمانده است. عدم تغییر گلوکز خون در ماهی کپور بعد از ۲۲ روز گرسنگی در مطالعه ناقا و آیکدا (۱۹۷۱) نیز به ثبت رسیده است که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است. حفظ میزان گلوکز در حد متعادل در طول دوره گرسنگی با توجه به نیاز برخی اندام‌ها به آن از طریق گلوکونئوژنز (Gluconeogenesis) و گلیکوژنولیز (Glycogenolysis) صورت می‌گیرد (۳۳). پتانسیل انجام گلیکوژنولیز در کبد ماهی کپور معمولی در دوره گرسنگی مشاهده شده است (۵) و این امر ظرفیت کبد را در جلوگیری از کاهش گلوکز پلاسما در هنگام محرومیت غذایی کوتاه مدت در ماهی کپور نشان می‌دهد. البته کاهش معنی‌دار قندخون در اثر گرسنگی در مدت زمان کوتاه در برخی گونه‌ها مشاهده شده است بعنوان مثال در ماهی باس دریایی اروپایی (۱۷) و قزل‌آلای رنگین کمان (۳۴) بترتیب پس از ۵ و ۱۰ روز قندخون کاهش یافته است. این تفاوت در پاسخ به شرایط گرسنگی می‌تواند به عوامل مختلفی از جمله نوع گونه، سن ماهی، شرایط تغذیه‌ای در گذشته، ذخایر در دسترس و فصل مرتبط باشد (۳۹، ۴۷). از اینرو با توجه به توانایی ماهی کپور در حفظ تعادل گلوکزخون و ثابت بودن میزان گلوکزخون در شرایط محرومیت غذایی کوتاه مدت (۱۴ روز)، نمی‌توان گلوکز را بعنوان یک شاخص بالقوه جهت ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای در این ماهی بحساب آورد.

میزان پروتئین کل پلاسما بعنوان یک شاخص نشان دهنده وضعیت تغذیه‌ای در برخی از ماهیان شناخته شده است و اطلاعات مفیدی را در مورد متابولیسم بدن ماهی فراهم می‌کند (۳۰). القای گرسنگی در مطالعه حاضر باعث کاهش معنی‌دار میزان پروتئین شد ولی این‌روند در طول دوره آزمایش مداوم نبوده است بطوری که بین تیمار دوم و سوم تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. کاهش پروتئین در اثر گرسنگی در ماهی باس دریایی (۳۷) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (۱) نیز گزارش‌شده است. حسینی و قلیچ پور (۲۰۱۳) نیز کاهش میزان پروتئین پلاسما را پس گرسنگی کوتاه مدت در ماهی کپور گزارش کردند که نتایج مطالعه حاضر را تائید می‌کند. اگرچه که میزان پروتئین در جانورانی که بخوبی تغذیه می‌شوند ثابت و پایدار است ولی در شرایط گرسنگی میزان آن کاهش می‌یابد و علت آن استفاده از پروتئین جهت تأمین انرژی بدن برای بقاء است (۳۳). در شرایط سوءتغذیه و یا استرس کاهش میزان پروتئین در نتیجه اکسیداسیون اسیدهای آمینه و یا پروتئولیز محیطی روی می‌دهد (۱۱، ۳۱).

روند کاهشی پروتئین پلاسما در این مطالعه با کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم AST (بطور مداوم)،ALT و LDH (کمی با تأخیر) همراه بود. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در اثر محرومیت غذایی قبلاً در چندین مطالعه دیگر نیز گزارش شده است (۳۷، ۳۸)، که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. این آنزیم‌ها نقش مهمی در متابولیسم پروتئین و آمینواسیدها دارند و کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در دوره گرسنگی به کاهش سنتز و سرعت تغییر و تبدیل این آنزیم‌ها مرتبط بوده که خود ناشی از پایین بودن تقاضای متابولیک در ماهیان گرسنه (غذادهی نشده) است (۱۲). در واقع کاهش فعالیت این آنزیم‌ها نشان‌دهنده سرعت پایین

تبدیل آمینواسید از طریق فرایند ترانس آمیناسیون (transamination) می‌باشد (۱۴).

محرومیت غذایی در این مطالعه باعث کاهش معنی‌دار میزان تری‌گلیسیرید شد اما میزان کلسترول اگرچه روند کاهشی نشان داد ولی بین تیمارها ازاین نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که این نشان‌دهنده کاهش میزان تری‌گلیسیرید با سرعت بیشتری نسبت به کلسترول می‌باشد. پرز- جیمنز و همکاران (۲۰۰۷) نیز الگوی مصرف مشابهی را برای این فاکتور متابولیک ثبت کردند. پرس و همکاران (۲۰۱۴) نیز کاهش معنی‌دار این دو فاکتور را در ماهی *Dicentrarchus labrax* در اثر گرسنگی گزارش کردند. در مهره‌داران رده‌های بالاتر کاهش تری‌گلیسیرید پلاسما به کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپوژنیک نسبت داده شده است (۱۸) و در ماهیان نیز مطالعات نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (۲۲، ۴۶). از این‌رو کاهش میزان تری‌گلیسیرید می‌تواند به علت شرکت در تأمین نیاز انرژی بهمراه کربوهیدات‌ها در ماهی کپور معمولی باشد و همچنین ممکن است نتیجه مقدار غذای کم جذب شده باشد (۳۳). کاهش ناچیز کلسترول نیز می‌تواند ناشی از کوتاه بودن دوره گرسنگی باشد. شیمنو و همکاران (۱۹۹۷) کاهش میزان کلسترول را در ماهی کپور بعد از ۳۰ روز گرسنگی گزارش کردند. این در حالی است که افزایش ناچیز این متابولیت‌ها در برخی ماهیان در طول دوره گرسنگی کوتاه و بلند مدت ثبت شده است (۳، ۲۹، ۴۵). مرشدی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که تغییر در پارامترهای خون در ارتباط با محرومیت غذایی در بین گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است. از این‌رو با توجه به نوع گونه مورد مطالعه، شدت استفاده از ذخایر چربی و مدت زمان محرومیت غذایی نتایج متفاوتی قابل انتظار است.

الکترولیت‌های پلاسما می‌توانند نشان‌دهنده وضعیت تغذیه‌ای در ماهی باشند (۳۷، ۴۳) در مطالعه حاضر محرومیت غذایی بر تغییر میزان فسفر، کلسیم و منیزیم بین تیمارها معنی‌دار نبود. نتایج مشابهی در مطالعه حسینی و همکاران (۲۰۱۳) و کانگلتون و وگنر (۲۰۰۶) نیز به ثبت رسیده است، اما کاهش فسفر و کلسیم پلاسما در اثر محرومیت غذایی در گونه‌های دیگر گزارش شده است (۳۷، ۳۸). اگرچه وجود الکترولیت‌ها در غذای ماهی ضروری است ولی ماهی می‌تواند این عناصر مورد نیاز خود را از طریق جذب از محیط نیز به دست آورد (۲۶)، و اگر میزان الکترولیت‌ها در محیط (آب) کافی باشد ماهی نیاز چندانی به دریافت این عناصر از طریق غذا ندارد (۲۶، ۵۱). از این‌رو ثبات میزان این الکترولیت‌ها در طول دوره گرسنگی هنگامی که غلظت مناسبی از آنها در محیط وجود داشته باشد در پلاسمای خون ماهی قابل انتظار است، بنابراین عدم تغییر معنی‌دار این الکترولیت‌ها در مطالعه حاضر می‌تواند احتمالاً با جذب از طریق آب مرتبط باشد.

هورمون‌های تیروئیدی هورمون‌های بافت‌سازی هستند که باعث افزایش رشد در ماهیان می‌شوند (۴۰). میزان هورمون‌های تیروئیدی در هنگام تغذیه ماهی افزایش می‌یابد و در شرایط گرسنگی کاهش می‌یابد (۳۳)، در مطالعه حاضر میزان هورمون T_3 از این الگو پیروی کرده و در اثر القای گرسنگی کاهش یافته است. کاهش معنی‌دار هورمون تیروئیدی (T_3) در اثر گرسنگی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲۰)، گربه‌ماهی کانالی (۱۵)، لای ماهی (۱۰) و ماهی سیم دریایی (۴۱) نیز گزارش‌شده است. میزان هورمون T_4 نیز در اثر محرومیت غذایی در مطالعه حاضر اگرچه کاهش یافت اما از این نظر بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. عدم تغییر معنی‌دار هورمون T_4 در اثر گرسنگی در ماهی قزل‌آلای جویباری (۱۳) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (۴۲) نیز گزارش شده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. میزان پایین‌تر هورمون T_3 در ماهیان گرسنه می‌تواند به علت کاهش فرایند تغییر و تبدیل هورمون T_4 به T_3 و درنتیجه کاهش رهاسازی آن به پلاسما باشد (۱۳). درواقع کاهش فعالیت تیروئیدی یک مکانیسم

سازگاری است تا متابولیسم بدن ماهی در شرایط گرسنگی در یک حد معین و ضروری باقی‌مانده و بقای جانور تضمین شود (۲۴).

نتیجه‌گیری

شرایط تغذیه‌ای (محرومیت غذایی) در مطالعه حاضر بسیاری از پارامترهای بیوشیمیایی خون را در ماهی کپور معمولی تحت تأثیر قرارداد که تغییر میزان این پارامترها تحت تأثیر طول دوره محرومیت غذایی متفاوت بود. از میان پارامترهای اندازه‌گیری شده در این مطالعه تری-گلیسیرید و آنزیم AST بطور مداوم در طول دوره گرسنگی کاهش نشان دادند و لذا پتانسیل استفاده بعنوان شاخص نشان‌دهنده وضعیت تغذیه‌ای را در ماهی کپور معمولی دارند. از طرف دیگر پروتئین کل، هورمون T_3 و فعالیت آنزیم ALT پس از پایان هفته اول گرسنگی نسبتاً مستقل از شرایط تغذیه‌ای بوده و می‌توانند بعنوان شاخص نشان‌دهنده محرومیت کوتاه مدت برای ماهی کپور مفید باشند و در طرف مقابل فسفر، کلسیم، منیزیم، گلوکز و کلسترول و هورمون T4 که تحت تأثیر شرایط گرسنگی قرارنگرفتند بعنوان شاخص نشان‌دهنده شرایط تغذیه‌ای در کپور معمولی نمی‌توانند در کوتاه مدت مفید باشند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این پژوهش مراتب سپاس و قدردانی خود را از جناب آقای دکتر قرایی ریاست محترم پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون و آقای مهندس میثم امیری به دلیل مساعدت و همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق، ابراز می‌دارند.

منابع

۱- حاجی‌مرادی، م.، محبوبی صوفیانی، ن.، و علامه، س.ک.، ۱۳۸۶. اثر گرسنگی بر کلسترول، گلوکز و پروتئین پلاسمای خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله علوم و فنون دریایی، جلد۶، شماره ۳ – ۴، صفحات ۳۰-۲۳.

۲- عضدی، م.، ابراهیمی، ع.، متقی، ا.، و مرشدی، و.، ۱۳۹۳. بررسی برخی عوامل بیوشیمیایی پلاسمای خون ماهی انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره‌های گرسنگی کوتاه مدت، مجله اقیانوس‌شناسی، جلد ۵، شماره ۱۹، صفحات ۵۹-۵۳.

۳- محبوبی صوفیانی، ن.، حاجی‌مرادی، م.، علامه، س.ک.، و پیله وران، ع.ا.، ۱۳۸۹. اثر گرسنگی بر پاره‌ای از ویژگی‌های مورفولوژیکی و هماتولوژیکی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۳، شماره ۲، صفحات ۲۴۸-۲۳۴.

۴- مرشدی، و.، کوچنین، پ.، بهمنی، م.، یزدانی، م.ع.، پورعلی، ح.ر.، عشوری، ق.، عضدی، م.، ۱۳۹۳. مقایسه تغییرات در هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید و قرمز در طول محرومیت غذایی بچه تاس ماهیان سیبری (*Acipenser baeri*) و بچه فیل‌ماهیان (*Huso huso*) پرورشی، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۲۷، شماره ۲، صفحات ۲۹۰-۲۸۲.

5- Blasco, J., Fernandez, J., and Gutierrez, J., 1992. Fasting and refeeding in carp, *Cyprinus carpio* L.: the mobilization of reserves and plasma metabolite and hormone variations, Comparative Physiology, 162, PP: 539-546.

6- Cao, X., and Wang, W., 2010. Haematological and biochemical characteristics of two aquacultured carnivorous cyprinids, topmouth culter *Culter alburnus* (Basilewsky) and yellowcheek carp *Elopichthys bambusa* (Richardson). Aquaculture Research, 41, PP: 1331–1338.

7- Chaoui, L., Hicem, K.M., Faure, E., and Quignard, J.P., 2006. Growth and reproduction of the gilthead sea bream *Sparus aurata* in Mellah lagoon (north-eastern Algeria), Scientia Marina, 70, PP: 546–552.

8- Chatzifotis, S., Papadaki, M., Despoti, S., Roufidou, C., Antonopoulou, E., 2011. Effect of starvation and re-feeding on reproductive indices, body weight, plasma metabolites and oxidative enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Aquaculture, 316, PP: 53–59.

9- Congleton, J.L., and Wagner, T., 2006. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids, Fish biology, 69, PP: 473–490.

10- De Pedro, N., Delgado, M.J., Gancedo, B., and Alonso-Bedate, M., 2003. Changes in glucose, glycogen, thyroid activity and hypothalamic catecholamines in tench by starvation and refeeding. Comparative Physiology, B., 173, PP: 475–481.

11- Di Marco, P., Priori, A., Finoia, M.G., Petochi, T., Longobardi, A., Donadelli, V., and Marino, G., 2011. Assessment of blood chemistry reference values for cultured sturgeon hybrids (*Acipenser naccarii* female × *Acipenser baerii* male). Applied Ichthyology, 27, PP: 584–590.

12- Echevarria, G., Martinezbebia, M., and Zamora, S., 1997. Evolution of biometric indices and plasma metabolites during prolonged starvation in European sea bass (Dicentrarchus Labrax, L). Comparative Physiology, B., 118, PP: 111–123.

13- Eales, J.G., 1974. Creation of chronic physiological elevations of plasma thyroxine in brook trout *Salvenilus fontinalis* and other teleosts. General and. Comparative, Endocrinology, 22, PP: 209-217.

14- Evans, G.O., and Watterson, C.L., 2009. General enzymology. In: Animal clinical chemistry, a practical guide for toxicologists and biochemical researchers, 2nd ed. CRC Press, New York, 337 p.

15- Gaylord, T.G., MacKenzie, D.S., and Gatlin, D.M., 2001. Growth performance, body composition and plasma thyroid hormone status of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in response to short-term feed deprivation and refeeding. Fish Physiology and Biochemistry, 24, PP: 73–79.

16- Grigorakis, K., Alexis, M.N., Taylor, K.D.A., and Hole, M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*), composition, appearance and seasonal variations. International Journal of Food Science and Technology, 37, PP: 477–484.

17- Gutierrez, J., Perez, J., Navarro, I., Zanuy, S., and Carrillo, M., 1991. Changes in plasma glucagon and insulin associated with fasting in sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Fish Physiology and Biochemistry, 9, PP: 107-112.

18- Herzberg, G.R., 1991. Dietary regulation of fatty acid and triglyceride metabolism, Canadian journal of Physiology and Pharmacology, 69, PP: 1637–1647.

19- Hoseini, S.M., and Ghelichpour, M., 2013. Effects of pre-sampling fasting on serum characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*). International journal of Aquatic Biology, 1, PP: 6-13.

20- Hoseini, S.M., Yousefi, M., Rajabiesterabadi, H., and Paktinat, M., 2014. Effect of short-term (0–72 h) fasting on serum biochemical characteristics in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Applied Ichthyology, 30, PP: 569–573.

21- Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., and Smith, S.A., 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (Oreochromis hybrid). Veterinary Clinical Pathology, 29, PP: 7–12.

22- Hung, S.S.O., Liu, W., Li, H.B., Storebakken, T., and Cui, Y.B., 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 151, PP: 357–363.

23- Kerr, M.G., 2008. Veterinary laboratory medicine: Clinical biochemistry and haematology. 2nd ed. Blackwell Science Ltd, London, 368 p.

24- Knowles, S., Hrubec, T.C., Smith, S.A., and Bakal, R.S., 2006. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*), Veterinary Clinical Pathology, 35, PP: 434–440.

25- Knox, K.M.G., Reid, S.W.J., Irwin, T., Murray, M., Gettinby, G., 1998. Biochemistry interpretation of bovine clinical data: application of bayes law to a database model. Preventive Veterinary Medicine, 33, PP: 147–158.

26- Lall, S.P., 2002: The minerals. In: Fish nutrition, 3rd ed. Academic Press, London, PP: 259–308.

27- Li, X.F., Tian, H.Y., Zhang, D.D., Jiang, G.Z., and Liu, W.B., 2014. Feeding frequency affects stress, innate immunity and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. Fish and Shellfish Immunology, 38, PP: 80-87.

28- Luzzana, U., Coutteau, P., Bavcevic, L., Colak, S., Francolini, E., Di Giancamillo, A., and Domenegini, C., 2003. Nutritional solutions to winter syndrome in Gilthead Sea bream verification at cage farm in Croatia. International Aquaculture Feed, PP: 14–18.

29- Mac Farlane, B.R., Harvey, H.R., Bowers, M.J., and Patton, J.S., 1990. Serum lipoproteins in striped bass (*Morone saxatilis*): effects of starvation. Canadian journal of Fisheries and Aquatic, 47, PP: 739–745.

30- Maita, M., 2007. Fish health assessment. In: Dietary supplements for the health and quality

of cultured fish. CAB International, Washington, 230 p.

31- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M., and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 9, PP: 211–268.

32- Nagha, M., and Ikeda., S., 1971. Carbohydrate metabolism in fish. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and hepatica creatic glycogen and lipid contents in carp. Japan Society Science Fishery, 37, PP: 404-409.

33- Navarro, I., and Gutierrez, J., 1995. Fasting and starvation. In: Biochemistry and molecular biology of fishes. Elsevier Science, New York, 515 p.

34- Navarro, I., Gutierrez, J., and Planas, J., 1992. Changes in plasma glucagon, insulin and tissue metabolites associated with prolonged fasting in brown trout (*Salmo trutta fario*) during two different seasons of the year. Comparative Biochemistry and Physiology, 102, PP: 401-407.

35- Ni, M., Wen, H., Li, J., Chi, M., Bu, Y., Ren, Y., Zhang, M., Song, Z., and Ding, H., 2013. The physiological performance and immune responses of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) to stocking density and hypoxia stress. Fish and Shell fish Immunology, 36, PP: 325-335.

36- Oliva-Teles, A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. Fish Diseases, 35, PP: 83–108.

37- Peres, H., Santos, S., and Oliva-Teles, A., 2013. Selected plasma biochemistry parameters in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. Applied Ichthyology, 29, PP: 630–636.

38- Peres, H., Santos, S., and Oliva-Teles, A., 2014. Blood chemistry profile as indicator of nutritional status in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Fish Physiology and Biochemistry, 40, PP: 1339–1347.

39- Perez-Jimenez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E., and Oliva-Teles, A., 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax* effect of dietary composition. Aquaculture, 265, PP: 325– 35.

40- Pickering, A.D., 1993. Growth and stress in fish production. Aquaculture, 111, PP: 51–63.

41- Power, D.M., Melo, J., and Santos, C.R.A., 2000. The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream, Fish Biology, 56, PP: 374–387.

42- Raine, J.C., Cameron, C., Vijayan, M.M., MacKenzie, D.S., Leatherland, J.F., 2005. Effect of fasting on thyroid hormone levels, and TRa and TRh Mrna accumulation in late-stage embryo and juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Comparative Biochemistry and Physiology, 140, PP: 452-459.

43- Roque, A., Yildiz, H.Y., Carazo, I., and Duncan, N., 2010. Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H_2O_2) exposure. Aquaculture, 304, PP: 104–107.

44- Shahsavani, D., Mohri, M., Kanani, H.G., 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus Pallas*. Fish Physiology and Biochemistry, 36, PP: 39-43.

45- Shi, X., Zhuang, P., Zhang, L., Chen, L., Xu, B., Feng, G., and Huang, X., 2010. Optimal starvation time before blood sampling to get baseline data on several blood biochemical parameters in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*. Aquaculture Nutrition, 16, PP: 544–548.

46- Shimeno, S., Shikata, T., Hosokawa, H., Masumoto, T., and Kheyyali, D., 1997. Metabolic response to feeding rates in common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 151, PP: 371–377.

47- Soengas, J.L., Strong, E.F., Fuentes, J., Veira, J.A.R., and Andres, M.D., 1996. Food deprivation and refeeding in Atlantic salmon, *Salmo salar*: effects on brain and liver carbohydrate and ketone body's metabolism. Fish Physiology and Biochemistry, 15, PP: 491–511.

48- Svoboda, M., Kouril, J.; Hamackova, J.; Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z., and Vykusova, B., 2001. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca*): during pre- and post-spawning period. Acta Veterinaria. Brno, 70, PP: 259–268.

49- Tavares-Dias, M., and Moraes, F.R., 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. Fish Biology, 71, PP: 383–388.

50- Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E.I., and Uysal, E., 2008. Levels of transaminases, alkaline phosphatase, and protein in tissues of *Clarias gariepienus* fingerlings

exposed to sublethal concentrations of cadmium chloride. Environmental Toxicology, 23, PP: 672–678.

51- Ye, C.X., Tian, L.X., Mai, K.S., Yang, H.J., Niu, J., Liu, Y.J., 2010. Dietary magnesium did not affect calcium and phosphorus content in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture Nutrition, 16, PP: 378–384.

Effects of nutritional status on blood chemistry profiles and selection of acceptable indices of common carp (*Cyprinus carpio*)

Hashem Khandan barani[1], Mohammad reza Heydari[2] and Mohadeseh Miri[1]

[1] International Hamoon Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

[2] Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran

Abstract

Present study was conducted to determine biochemical parameters with potential diagnostic value to assess the nutritional status and healthy common carp. For that purpose, Ninety Species with average weight 157.9±8. 5g were stocked into each 300-l tank with triplicate in three treatments and were submitted to different feeding protocols: The first treatment fed for 14 days; the second treatment fed for 7 days followed by 7 days of fasting and the third treatment fasted for 14 days. At the end of the trial, Fish from each group were selected and their blood was collected and the following plasma parameters were analyzed by standard clinical methods. The results showed that levels of triglycerides, total protein, AST, ALT and T3 decreased significantly during the first week of starvation and the decline in the second week of fasting were significantly only for triglycerides and AST. There was no significant difference between treatments in calcium; inorganic phosphorus; magnesium; cholesterol and T4. Among those parameters measured in this study plasma triglycerides and AST decreased continuously during starvation, thus having potential for use as indicators of the nutritional status of common carp. On the contrary, total protein, ALT and T_3 were relatively independent of previous feeding conditions after 1 week starvation and may be useful as indicators of the short-term starvation and health status in common carp.

Key words: Common carp, Starvation, Blood biochemical parameters, Metabolic enzymes.