

بررسی مقایسه‌ای مورفولوژی، هیستوشیمی و هیستولوژی دستگاه گوارش ماهی شاه کولی دریای خزر (*Alburnus chalcoides*) در دوره لاروی، بچه ماهی و پیش بلوغ

- **مسرور ذاکری نسب:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
 - **شهلا جمیلی:** موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
 - **علیرضا ولی پور*:** پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، صندوق پستی: ۶۶
 - **سیدمحمد رضا فاطمی:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
 - **احسان رمضانی فرد:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
- تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۶

چکیده

ماهی شاه کولی از خانواده کپورماهیان است که مطالعه اندکی بر روی اندام‌های داخلی آن صورت گرفته است. با توجه به این که دستگاه گوارش بر روی رشد و بقای جانوران اهمیت دارد در این تحقیق به این مورد پرداخته شد. نمونه برداری از این ماهی از روز اول بعد از تخم گشایی تا پیش بلوغ در فواصل زمانی متفاوت به صورت تصادفی صورت گرفت. در واقع رشد این ماهی از طریق مطالعه مورفولوژیکی و مطالعه بافت شناسی به روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بررسی شد و ترشحات سلول‌های لایه مخاطی لوله گوارش از نظر کربوهیدراتی با استفاده از عملیات بافت‌شناسی به وسیله رنگ آمیزی اسید پرئودیک شیف انجام شد. مطالعه آناتومیک بر روی این ماهی نشان داد که دستگاه گوارش آن از دو بخش اصلی مری و روده تشکیل شده است. در روزهای اولیه دستگاه گوارش یک لوله ابتدایی و ساده بوده که فعالیت ترشحات مخاطی در آن دیده نشد. اما بعد از ظهور سلول‌های جامی شکل این فعالیت آغاز شد و لایه‌ای از ترکیبات پلی ساکارید خنثی بر روی لوله گوارش مشاهده شد. وجود ترشحات پلی ساکاریدی خنثی در مخاط لوله گوارش نشان داد که در هضم و جذب مواد غذایی نقش داشته و در محافظت لایه اپیتلیومی لوله گوارش و عبور مواد غذایی اهمیت دارد. ویژگی‌های تکاملی در این ماهی تا حدودی شبیه به سایر ماهیان خانواده کپورماهیان بوده اما تفاوت‌های نیز به صورت ویژه در آن دیده شد.

کلمات کلیدی: ماهی شاه کولی، هیستوشیمی، مورفولوژی، هیستولوژی



مقدمه

ساختار دستگاه گوارش در گونه‌های مختلف در ماهیان براساس شکل بدن، رفتارهای تغذیه‌ای و نوع غذا متفاوت است حتی در یک گونه نیز می‌تواند براساس سن، محل زندگی، فصل و زمان تولیدمثل متفاوت باشد (Witcomb و Clarke، ۱۹۷۹). شناخت و مطالعه ساختار لوله گوارش برای درک شرایط فیزیولوژیکی ماهی اهمیت دارد (اسدی و قارزی، ۱۳۹۴). دستگاه گوارش در جنین ناقص است که بعد از تخم‌گذاری یا شکفته شدن تخم در طول دوره لاروی تکمیل می‌شود که در ابتدا به شکل یک لوله ساده و باریک پشت کیسه زرده دیده می‌شود (بانان‌خجسته و همکاران، ۱۳۸۸). لارو ماهیان بعد از تخم‌گذاری از ذخایر کیسه زرده استفاده می‌کنند و بعد از جذب شدن آن و اتمام ذخایر از تغذیه خارجی استفاده می‌کنند. در واقع لوله گوارش لاروها در شروع تغذیه فعالیت بالایی دارد که همراه با تغییرات ریخت‌شناسی می‌باشد (Gisbert و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین اطلاع و تحقیق در خصوص نحوه تکامل سیستم گوارشی می‌تواند در تشخیص عوامل محدودکننده رشد در پرورش لارو، تهیه جیره مناسب غذایی و کاهش تلفات در زمان تغذیه فعال موثر باشد (Bolasina و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین این بررسی‌ها شاخصی مطمئن از شرایط تغذیه‌ای ماهیان مخصوصاً لاروها و فعالیت‌های گوارشی آن‌ها می‌باشد (Gisbert و همکاران، ۲۰۰۴). بررسی هیستولوژی و هیستوشیمیایی لوله گوارش نشان می‌دهد که بیش‌ترین مخاط در قسمت سطحی بافت پوششی دستگاه گوارش و مخصوصاً روده توسط سلول‌های جامی ترشح می‌شود (Senol و Cinar، ۲۰۰۶). این تحقیق بر روی ماهی شاه کولی انجام شده که از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر است (عمادی و همکاران، ۱۳۸۷). مشابه این تحقیق توسط خیاط‌زاده و همکاران (۱۳۸۸) بر روی هیستولوژیک و هیستوشیمیایی لوله گوارش ماهی قره برون در بازه زمانی ۲ هفته پس از تخم‌گذاری و بررسی بافت‌شناسی تکامل دستگاه گوارش لارو ماهی کلمه دریای خزر توسط یعقوبی و همکاران (۱۳۹۳) انجام شده است. همچنین مطالعه بافت‌شناسی و هیستوشیمی لوله گوارش ماهی زرده در رودخانه سزار استان لرستان توسط اسدی و قارزی (۱۳۹۴) انجام شده است. بحرکاظمی و همکاران (۱۳۸۵) نیز تحقیقی بر روی مطالعه شیمی بافت لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر از تفریخ تا تا مرحله بچه ماهی یک تابستانه انجام داده است. اساس و تاکید تحقیق انجام‌شده بر روی شاه کولی بر روی بررسی روند تغییرات شیمیایی و تغییرات بافتی ایجاد شده در لوله گوارش این ماهی در طی رشد می‌باشد. هدف از انتخاب بررسی دستگاه گوارش به‌دلیل اهمیت آن بر روی هضم و جذب مواد غذایی است که از عوامل

موثر و اصلی بر روی رشد و نمو ماهی بوده و در نتیجه با بررسی آن می‌توان ماهیان با کیفیت را تکثیر نمود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از فروردین تا خرداد ۱۳۹۵ در مرکز شهید انصاری رشت انجام شد. دمای آب از اواسط فروردین از ۱۶ درجه سانتی‌گراد تا خرداد ۲۴ درجه سانتی‌گراد و در مورد دمای هوا این طیف از ۱۶/۵ درجه سانتی‌گراد تا ۲۶ متغیر بوده است. همچنین pH آب از ۷/۲ تا ۸/۵ متغیر بوده که برای بررسی آن از دستگاه pH متر استفاده شد و O₂ آب از ۵/۳ تا ۶/۷ متغیر بوده است. ماهی‌های مولد بعد از این‌که از رودخانه‌های حویق، لمیر و سفید رود به مرکز شهید انصاری منتقل شدند عمل تخم‌کشی انجام شد و اسپرم و تخمک در دستگاه هم‌زن مکانیکی ترکیب شد و تخم‌های لقاح یافته به‌داخل ویس منتقل شدند. بعد از گذشت ۳ روز و بعد از تخم‌گذاری نمونه‌ها وارد زوک و از آن‌جا به ترفا منتقل شدند (شکل ۱). نمونه‌برداری بعد از تخم‌گذاری به‌صورت تصادفی در روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۵، ۹۰ و پیش بلوغ انجام شد. برای تهیه نمونه‌هایی که بعد از رهاسازی برداشته شدند از جمله سه ماهه و پیش بلوغ قفس ساخته شد. برای بررسی کار مورفولوژی لاروها ۱۰ عدد نمونه و برای کار هیستولوژی و هیستوشیمی نیز برای هر کدام ۱۰ عدد نمونه برداشته شد (خیاط‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). تعداد نمونه‌های برداشته شده با افزایش سن ماهی کاهش یافت. کاهش تعداد نمونه با افزایش سن به این دلیل است که ذخایر این ماهی ارزشمند بوده و نباید این مسئله را نادیده گرفت زیرا با افزایش سن ماهی انجام کار راحت‌تر بوده و دقت بالایی نیاز ندارد بنابراین می‌توان با نمونه‌های کم‌تر در مراحل بالاتر نسبت به دوره لاروی کار را انجام داد. برای بررسی مورفولوژی نمونه‌ها طول استاندارد (SL) آن‌ها با کولیس دقت ۰/۰۲ و وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم ثبت شد و نمونه‌ها در الکل ۷۰٪ فیکس شدند (یعقوبی و همکاران، ۱۳۹۳). برای کار هیستوشیمی از فرمالین ۱۰ درصد به‌عنوان فیکساتور استفاده شد (تاکاشیما و هیبایا، ۱۹۹۵) و سپس این محلول با الکل ۷۰٪ تعویض شد (Ramezani-Fard و همکاران، ۲۰۱۱). برای تهیه برش‌های بافتی کار هیستوشیمی نمونه‌ها در قالب‌های پارافینی قرار گرفته و سپس از این قالب‌ها به‌وسیله دستگاه میکروتوم برش‌های ۶ میکرونی تهیه شد (خوشنود و همکاران، ۱۳۹۳). در نهایت رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف برای بررسی ترکیبات قندی انجام شد (Pearse، ۱۹۸۵). برای کار هیستولوژی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین نیز همانند مراحل بخش هیستوشیمی کار انجام شد اما در این مرحله به‌جای فرمالین از محلول بوئن به‌عنوان فیکساتور استفاده گردید. برای



بررسی برش‌های تهیه شده ۶ میکرون بافتی از میکروسکوپ نوری استفاده شد (یعقوبی و همکاران، ۱۳۹۳).



شکل ۱: ظروف نگهداری لارو (ویس، زوک، تراف)

نتایج

مورفولوژی: برای بررسی مورفولوژی نمونه‌ها طول و وزن آن‌ها در تمام سنین نمونه‌برداری محاسبه شد (جدول ۱). لاروها در اولین روز بعد از تفریخ (۳-۴ روز بعد از لقاح) مورد بررسی قرار گرفتند. در روز اول بیش‌ترین قسمت بدن را کیسه زرده به خود اختصاص داده بود که به شکل اشک گرد در ابتدا و کشیده در انتها مشاهده شد (شکل ۲ a). بدن شفاف بوده و چشم‌ها رنگی نداشتند. لاروها در این دوره در کف مخزن قرار گرفته و حرکتی نداشتند و بسیار کوچک بودند. هیچ باله‌ای در این روز مشاهده نشد. دهان قابل تشخیص نبود. در روز دوم همانند روز ۱ لارو هم‌چنان بی‌حرکت بوده و تنها تفاوتش با روز قبل تکمیل شدن بخش مغز لارو بود که به چشم می‌خورد (شکل ۲ b). هم‌چنین گره قلبی دیده شد. روز سوم بدن هم‌چنان شفاف بود و در قسمت سر لارو از بخش مغز به سمت بدن سیستم عصب تکامل بیش‌تری پیدا کرده بود. کیسه زرده در بخش ابتدایی کمی از حالت اشک گرد به حالت کشیده تبدیل شده بود. روز چهارم دارای ویژگی مشخص نسبت به روزهای قبل بوده که درشت شدن و سیاه شدن چشم بود (شکل ۲ c). به‌نظر می‌آید که چشم‌ها برای جذب نور از محیط اطراف بزرگ شده‌اند. بدن شفاف بوده و سیستم گردش خون به‌وضوح دیده شد. تا حدودی شنای عمودی به سطح آب دیده شد. در این روز باله دمی دیده شد (شکل ۲ d) ولی باله سینه‌ای دیده نشد. در روز پنجم بدن لارو کشیده‌تر و کیسه زرده کمی جمع‌تر شد. در بخش جلوی سر فرم دهان در حال شکل گرفتن بود که کمی به سمت جلو آمده و شکاف

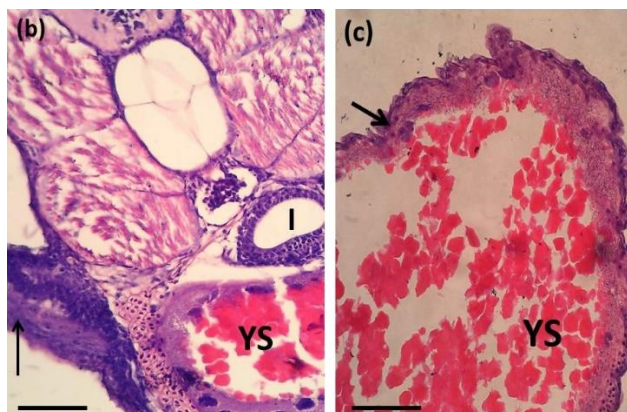
دهانی در این روز باز شد. اعصاب محیطی تکمیل‌تر شده بود. در این روز باله سینه‌ای نیز تشکیل شد و لاروها توانایی شنا کردن به سطح آب را داشتند. در این روز تغذیه فعال شروع شد. روز هفتم کیسه زرده تقریباً کشیده و باریک شد. اولین نقطه‌های ملانوفوری در این روز در قسمت سر لارو دیده شد. روز هشتم کیسه زرده به جذب دو سوم رسید و به‌نظر می‌رسد ذخیره کیسه زرده برای لارو کافی نبوده و لارو نیاز دارد از محیط غذا دریافت کند. استفاده از تغذیه پلت از روز ۸-۷ تا روز ۱۰ برآورد شد. به‌علاوه با توجه به بررسی‌های بافتی این امر مشاهده شد زیرا دستگاه گوارش نیز در روز ۸ تکمیل شد. ملانوفورها در تمام بدن پخش شده اما کم‌رنگ بودند. باله دمی بزرگ‌تر شد اما هم‌چنان گرد بود. چشم‌ها به نسبت روزهای قبل کمی جمع‌تر شد. لارو حرکات سریع برای جابه‌جایی داشت. روز دهم کیسه زرده به‌جذب کامل رسید. فاصله بین چشم‌ها بیش‌تر شد و دهان به‌صورت برآمده و هلالی به سمت جلو دیده شد که در حال فرم گرفتن بود. ملانوفورها پراکنده بوده و تعدادشان بیش‌تر شد و وجود این لکه‌ها در ناحیه سر زیادتر بود و رنگ آن‌ها تیره‌تر شده بود. در روز پانزدهم ملانوفورها کمی کوچک‌تر شده بودند اما تعداد آن‌ها بیش‌تر و پررنگ‌تر بود و از حالت پراکنده به‌صورت منظم در دو طرف بدن به‌خصوص در قسمت پشتی و سر دیده می‌شد. بدن هم‌چنان شفاف بود و غذایی که لارو خورده بود به‌وضوح قابل مشاهده بود. در روز بیستم لب‌ها تشکیل شد و کاملاً فرم دهانی واضح بود. در روز بیست و پنجم فرم لب‌ها کاملاً مشخص بود که به حالت فوقانی - انتهایی در حال شکل‌گیری بود. هم‌چنین دم از حالت گرد به شکل اصلی خود در حال تغییر بود. ملانوفورها در تمام بدن پخش شده بودند. در روز سی‌ام لارو کاملاً به‌شکل بچه‌ماهی تغییر کرده بود (شکل ۲ e) و چشم‌ها رنگی شده و لب‌ها کاملاً قابل تشخیص و دم برای شنا تکمیل شده بود. در این روز بدن شاه کولی دیگر شفاف نبود و پوست تشکیل شده بود. شنای بچه‌ماهی خیلی سریع بود. روز چهارم پوست کاملاً رنگی تشکیل شده بود که از طیف نقره‌ای تا خاکستری دیده می‌شد. دهان فوقانی بچه‌ماهی کاملاً مشخص بود. در روز پنجاه، شصت، هفتاد و پنجاه، نود و پیش بلوغ تغییر آن‌چنانی دیده نشد و فقط وزن و طول ماهی رو به افزایش بود به‌علاوه رنگ پشت بدن ماهی از نقره‌ای کمی به سمت سبز زیتونی در حال تغییر بود. به‌علاوه سیبیلک دیده نشد و دهان کاملاً فوقانی شده و فک بالا و پایین از هم قابل تشخیص بود. در این مطالعه مشاهده شد که هم‌زمان با افزایش سن ماهی و رشد آن در دوره‌های نامبرده، طول و وزن ماهی نیز افزایش یافت.



(d) دیده شد. کیسه زرده در روزهای ابتدایی تقریباً بیشترین قسمت در بخش جلویی بدن را به خود اختصاص داده و از روز ۵ کم کم جمع تر شد (شکل ۳ b). در بررسی کیسه زرده مشخص شد که دیواره آن توسط سلول‌های سنگفرشی مطابق احاطه شده است (شکل ۳ c). محتویات کیسه زرده به رنگ آمیزی PAS واکنش نشان داده است (شکل ۴ a و b).



شکل ۳: (a). برش طولی لارو یک روزه ماهی شاه کولی دارای کیسه زرده بزرگ. (H-E - 40x). خط مقیاس: ۱ میلی‌متر



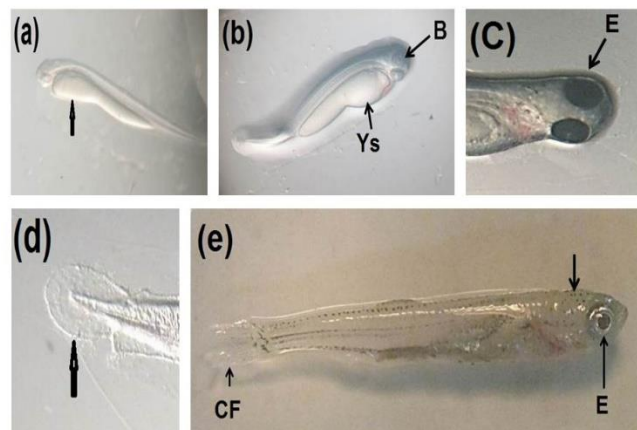
شکل ۳: (b). برش عرضی: لارو پنج روزه شاه کولی و کم تر شدن محتویات کیسه زرده (H-E - 400x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (c). سلول‌های سنگفرشی (فلش) دیواره کیسه زرده (H-E - 400x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر
I = روده، L = کبد، YS = کیسه زرده (فلش شکل b باله سینه‌ای را نشان می‌دهد).



شکل ۳: (d). برش طولی: جذب کیسه زرده در روز دهم (H-E - 100x). خط مقیاس: ۵۰۰ میکرومتر

جدول ۱: بررسی طول استاندارد و وزن نمونه‌های ماهی شاه کولی

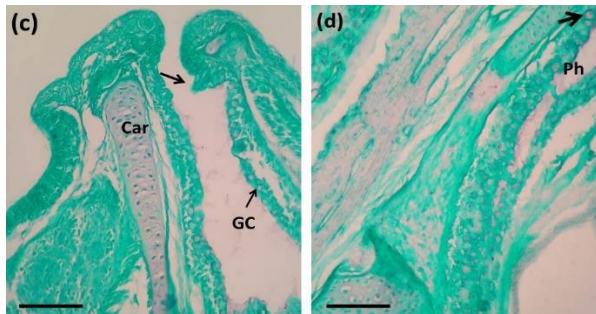
سن نمونه بعد از هج	طول استاندارد (میلی‌متر)	وزن کل (گرم)
روز ۱	۲/۸	۰/۰۰۲
روز ۲	۳/۵	۰/۰۰۵
روز ۳	۳/۹	۰/۰۰۷
روز ۴	۴/۲	۰/۰۰۸
روز ۵	۴/۶	۰/۰۱۰
روز ۷	۵/۲	۰/۰۱۲
روز ۸	۵/۵	۰/۰۱۳
روز ۱۰	۵/۸	۰/۰۱۵
روز ۱۵	۶/۳	۰/۰۲۸
روز ۲۰	۷/۴	۰/۰۳۳
روز ۲۵	۹/۲	۰/۰۴۸
روز ۳۰ (یک ماهگی)	۱۲/۸	۰/۰۶۳
روز ۴۰	۱۷/۴	۰/۰۸۹
روز ۵۰	۲۶/۱	۰/۱۷۴
روز ۶۰ (دو ماهگی)	۳۳/۴	۰/۲۵۹
روز ۷۵	۴۰/۶۲	۰/۳۴۱
روز ۹۰ (سه ماهگی و سن رهاسازی)	۵۲/۱۴	۰/۵۷۵
پیش بلوغ	۶۸/۴۲	۱/۰۹۷



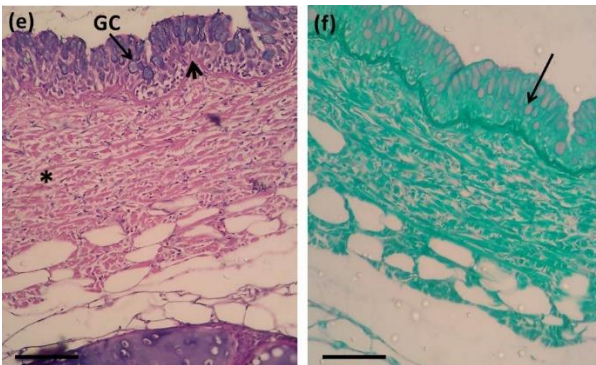
شکل ۴: عکس‌های تهیه شده با لوپ (استریومیکروسکوپ) از مورفولوژی ماهی شاه کولی. (a). کیسه زرده اشکی شکل روز ۱. (b). مشخص شدن مغز در روز ۲. (c). چشم‌های تیره روز ۴ بعد از هج. (d). باله دم در روز ۴. (e). بچه ماهی ۳۰ روزه (یک ماهه)
YS = کیسه زرده، B = مغز، E = چشم، CF = باله دم

هیستوشیمی و هیستولوژی بافت

کیسه زرده: کیسه زرده فقط در دوره لاروی مشاهده شد یعنی از روز اول (شکل ۳ a) تا روز دهم که جذب کامل آن می‌باشد (شکل ۳

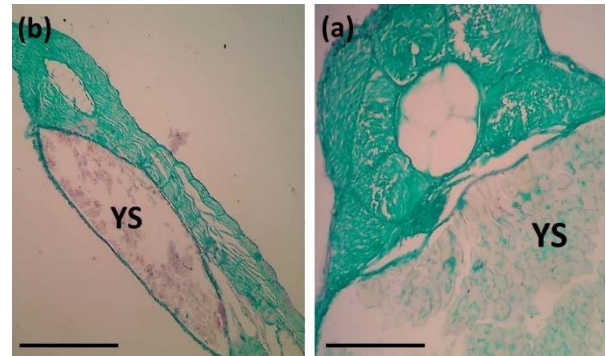


شکل ۵: (c). برش طولی از بخش دهانی بچه ماهی و واکنش سلول‌های گابلت با PAS. (فلش بلند جوانه چشایی را نشان می‌دهد) (PAS - 400x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (d). برش طولی از مری بچه ماهی و واکنش سلول‌های مخاطی (فلش کوتاه) با رنگ آمیزی PAS (PAS - 400x). GC = سلول‌های مخاطی یا گابلت سل، Car = غضروف، Ph = حلق



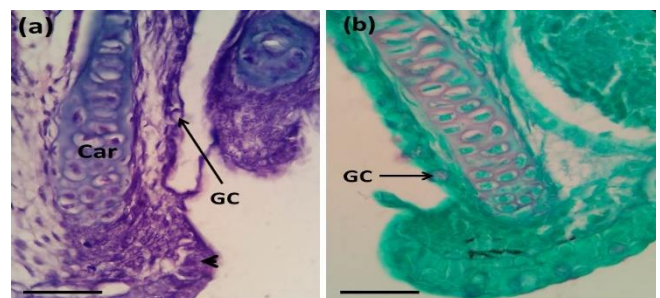
شکل ۵: (e) برش عرضی از حلق شاه کولی نابالغ (فلش کوتاه زیر مخاط مری و علامت ستاره لایه عضلانی را نشان می‌دهد) (H-E - 400x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، GC = گابلت سل، (f). برش عرضی حلق نمونه نابالغ و واکنش شدید گابلت سل‌ها به PAS (PAS - 400x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر

مری: مری در امتداد حلق قرار گرفته است و در انتها با یک پیچ باریک به روده متصل می‌شود. خارجی‌ترین لایه مری ادوانتیس است که لایه‌ای نازک بوده و در اطراف مری دیده می‌شود. همچنین مری دارای لایه عضلانی یا ماهیچه‌ای است که این لایه از دو بخش طولی و حلقوی تشکیل شده که در ماهی نابالغ تشخیص آن ساده‌تر است. در لایه مخاطی مری می‌توان چین خوردگی‌های آن را مشاهده کرد که در نمونه پیش بلوغ این چین خوردگی‌ها عمیق‌تر است. در بین سلول‌های اپیتلیوم ساده استوانه‌ای مری (شکل ۶ a و b)، سلول‌های شاخی و گابلت سل دیده می‌شد که ترشح مخاط را برعهده دارند. گابلت سل‌ها در روز ۵ قابل مشاهده بوده و با رشد ماهی تعداد آن‌ها افزایش یافته است. این سلول‌ها در تمام دوره‌های لاروی، بچه ماهی و مخصوصاً ماهی نابالغ به خوبی با رنگ آمیزی PAS واکنش نشان داده‌اند (شکل ۶ c و d).



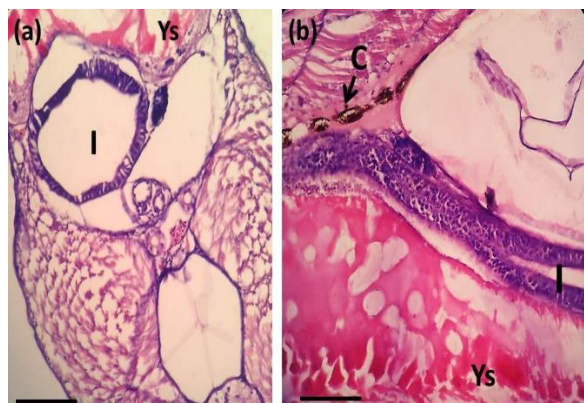
شکل ۴: (a). برش عرضی: محتویات کیسه زرده در روز اول (PAS - 100x). خط مقیاس: ۵۰۰ میکرومتر، (b). برش طولی: کیسه زرده روز سوم (PAS - 100x). خط مقیاس: ۵۰۰ میکرومتر

حفره دهانی - حلق: در روز پنجم پس از تفریخ دهان باز شد و با پیدایش سلول‌های مخاطی در لایه‌های سلول‌های لایه اپیتلیوم سنگفرشی یک لایه دهانی - حلقی (شکل ۵ a)، ترشح ترکیبات پلی ساکارید خنثی نیز آغاز شد. غضروف‌های اولیه نیز به شکل قطعات کوچک در بخش دهانی دیده شد. در دوره لاروی سلول‌های گابلت واقع از روز پنجم دیده شده و در روز ۱۰-۸ با شروع تغذیه فعال تعدادشان بیش‌تر شده و ترشحات این سلول‌ها با رنگ آمیزی PAS واکنش مثبت نشان داد (شکل ۵ b). حلق در این دوره بسیار کوتاه بوده و به سختی قابل تشخیص است و در انتهای رشته‌های آبششی قرار گرفته است. با گذر از مرحله لاروی و با بررسی بچه ماهی مشخص شد که قطر اپیتلیوم سنگفرشی دهان افزایش یافته و رفته رفته به سمت حلق به تعداد سلول‌های جامی، ضخامت اپیتلیوم و ضخامت عضلات اطراف حلق افزوده می‌شود (شکل ۵ c و d). در پیش بلوغ این موارد کاملاً مشهود و بارزتر است که می‌توان واکنش شدید سلول‌های گابلت به خصوص در مری را نسبت به PAS مشاهده کرد (شکل ۵ e و f).

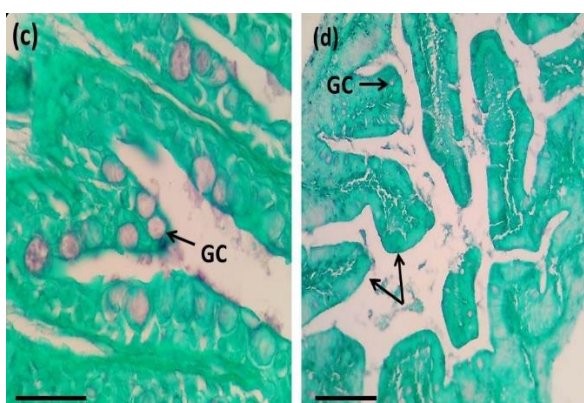


شکل ۵: (a). برش طولی در دوره لاروی روز ۸ (فلش کوتاه سلول‌های اپیتلیوم سنگفرشی دهان و فلش بلند سلول مخاطی یا گابلت سل (H-E - 1000x) خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (b). برش طولی از دهان در دوره لاروی روز ۸ و واکنش گابلت سل به رنگ آمیزی PAS (PAS - 1000x). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، GC = گابلت سل، Car = غضروف

ماهی ندارد. سلول‌های جامی مخصوصاً در روده بچه‌ماهی با PAS واکنش مثبت نشان داده‌اند (شکل ۷ c و d).

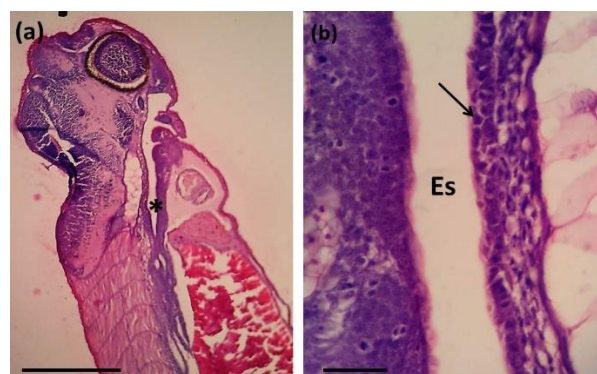


شکل ۷: (a). برش عرضی از ماهی ۷ روزه و شروع چین‌های ابتدایی روده (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (b). برش طولی از روده ماهی ۷ روزه (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر
YS = کیسه زرده، I = روده، C = کروماتوفور

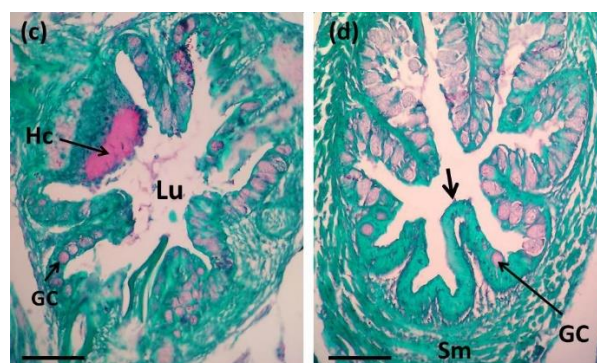


شکل ۸: (c). برش عرضی از روده بچه‌ماهی و واکنش شدید گابلت سل‌ها با PAS (PAS - x1000). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (d). برش عرضی از روده ماهی نابالغ و واکنش سلول‌های مخاطی با پربودیک اسیدشیف (PAS - x400). فلش‌ها پرزهای روده را نشان می‌دهد. خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، GC = گابلت سل یا سلول‌های مخاطی

اندام‌های ضمیمه: کبد و پانکراس (شکل ۸ a و b) در تمام دوران رشد قابل تفکیک بوده و در دوره لاروی تقریباً از روز ۸ هپاتوپانکراس قابل تمایز از کبد است. سلول‌های کبدی نیز به شکل چندوجهی دیده می‌شوند که هسته کروی در وسط آن‌ها قرار گرفته است. در بچه‌ماهی شاه کولی این اندام‌ها رشد بیش‌تری داشته و سینوزوئید کبدی به خوبی مشخص است. سلول‌های کبدی در این دوره به شدت با PAS واکنش مثبت نشان داده است (شکل ۸ e و f). در ماهی نابالغ تفاوت چندانی در این دو اندام دیده نشد و فقط اندازه این اندام‌ها افزایش یافته است



شکل ۹: (a). برش طولی از روز ۳ دوره لاروی (علامت ستاره جایگاه مری را نشان می‌دهد). (H-E - x100). خط مقیاس: ۵۰۰ میکرومتر (b). برش طولی از مری همان نمونه (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر (فلش، سلول اپیتلیوم مری را نشان می‌دهد).



شکل ۱۰: (c). برش عرضی از مری بچه‌ماهی و واکنش سلول‌های شاخی (Horney cell) و گابلت سل با PAS (PAS - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر، (d). برش عرضی از مری شاه کولی نابالغ و واکنش شدید سلول‌های مخاطی با PAS. (فلش کوتاه چین مری را نشان می‌دهد) (PAS - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر

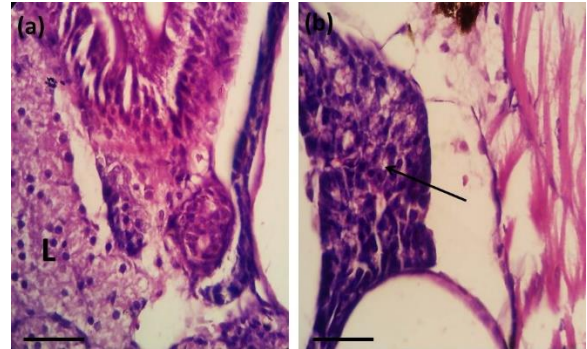
GC = گابلت سل، Lu = لومن مری، Sm = لایه عضلانی مری، Hc = سلول‌های شاخی

روده: روده در ابتدا و در دوران لاروی نازک و بدون چین خوردگی بوده و رفته رفته با رشد ماهی روده مشخص‌تر و بزرگ‌تر شده و چین‌خوردگی‌های آن دیده شد (شکل ۷ a و b) که می‌توان بخش قدامی، میانی و خلفی را تفکیک کرد. تقریباً از یک ماهگی به بعد که بچه‌ماهی شکل ماهی بالغ را به خود می‌گیرد و در حال رشد است اندام‌های گوارش آن نیز تکمیل شده که روده مهم‌ترین بخشی است که می‌توان تفاوت‌های آن را نسبت به دوران لاروی به وضوح دید. روده شاه کولی در بخش قدامی دارای پرزهای بلندتری بوده اما در بخش خلفی این پرزها کوتاه‌تر و کم‌تر است. در لایه‌لای سلول‌های اپیتلیوم ساده استوانه‌ای روده، سلول‌های مخاطی دیده شد که در بخش خلفی روده تعداد آن‌ها بیش‌تر است. این شواهد در ماهی نابالغ واضح‌تر است اما تفاوت زیادی با بچه

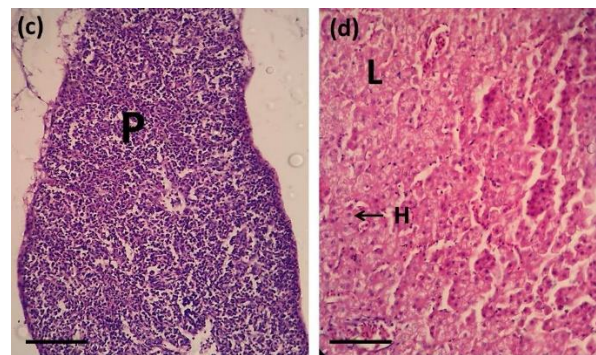
بحث

مرحله لاروی یک دوره زندگی در ماهیان است که به سرعت گذشته و در آن رشد و آنتوژنی اتفاق افتاده و تغییراتی در اندازه، شکل و ساختمان بدن و فیزیولوژی ماهی اتفاق می‌افتد (امیری‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). تغییرات رشد و نمو لوله گوارش بر رشد و نمو ماهیان و همچنین تکثیر و پرورش آن‌ها اهمیت دارد. بنابراین مطالعه تغییرات رشد و نمو این اندام از نظر مورفولوژیک، هیستولوژیک و هیستوشیمی مورد مطالعه محققان زیادی بوده است. به علاوه بررسی این مسئله دارای اهمیت اقتصادی و مخصوصاً اهمیت شیلاتی است (خیاط‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). ماهی شاه کولی نیز از جمله ماهیانی است که از این نظر دارای اهمیت بوده و از این امر مستثنی نیست بنابراین چون تا به حال مطالعات هیستوشیمی و تغییرات بافتی به صورت مقایسه‌ای بر روی بافت گوارش این ماهی انجام نشده، تحقیق حاضر بر روی این مسئله از روز اول بعد از هچ تا پیش بلوغ انجام شده است. لوله گوارش در ماهی قره‌برون طی استفاده از تغذیه داخلی در دوره لاروی از نظر مورفولوژیک کامل نیست اما با افزایش سن و با شروع تغذیه خارجی کامل می‌شود (خیاط‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). این مورد در شاه کولی نیز به همین صورت بوده و در یک تا دو ماهگی به طور کامل همانند ماهی پیش بلوغ بوده و فقط از نظر اندازه و حجم اندام‌ها با یکدیگر متفاوت است. در ماهی ازون برون گزارش شده که کیسه زرده در روز اول بعد از هچ پر از زرده بوده که بخش زیادی را به خود اختصاص داده و این در ماهی شاه کولی نیز مشاهده شد. در واقع حضور مقادیر بالایی از زرده تا شروع تغذیه فعال، انتقال مرحله تغذیه‌ای از داخل به خارج را برای لاروها آسان‌تر می‌کند (یعقوبی و همکاران، ۱۳۹۳). در ماهی قره‌برون تغذیه داخلی تا ۸ روز بعد از تخم‌گذاری ادامه داشته و با افزایش سن میزان زرده کاهش یافته و نوع غذا تغییر کرده است. در ماهی کلمه این کاهش در ۱۸ روز بعد از تفریخ دیده شده و در شاه کولی در روز دهم جذب کامل اتفاق افتاده است. مطالعات شیمی بافت کیسه زرده و محتویات آن نشان داد که اغلب حاوی پلی‌ساکاریدهای خنثی بوده و این مطالعات در ماهی آزاد دریای خزر (بحرکاظمی و همکاران، ۱۳۸۵)، ماهی خاویاری سیبری (*Acipenser baeri*) (Gisbert, ۱۹۹۸) و کفشک دم‌زرد (*Yellowtail flounder*) (در مطالعات Baglolle ۱۹۹۷) گزارش شده است. در شاه کولی بعد از باز شدن دهان در روز پنجم دوره لاروی، سلول‌های گابلت در دهان نیز حدوداً با شروع تغذیه فعال در روز هفتم دیده شد و با رشد ماهی میزان ترشح موکوس آن‌ها افزایش یافت که حضور این سلول‌ها در ماهی *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) در مطالعات Ramezani-Fard (۲۰۱۱) از روز دوم بعد از هچ و در ماهی آزاد دریای خزر از روز دهم گزارش شده است

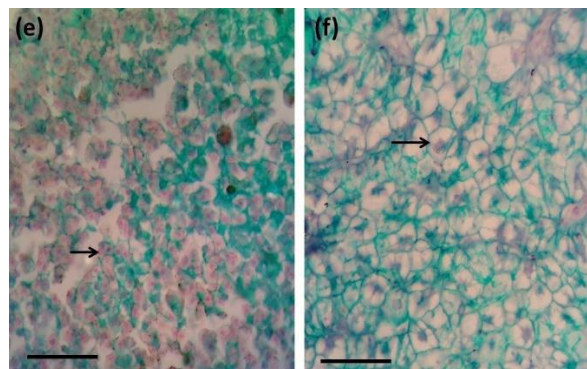
(شکل ۸ c و d). در بخش ابتدایی روده کیسه صفرا دیده شد که بین کبد و روده ارتباط برقرار کرده است.



شکل ۸: (a). برش عرضی از کبد لارو ماهی شاه کولی (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر. (b). برش عرضی از هیپاتوپانکراس (فلش) لارو شاه کولی (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر. L = کبد



شکل ۸: (c). برش عرضی از پانکراس پیش بلوغ شاه کولی (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر. (d). برش عرضی از کبد پیش بلوغ شاه کولی (H-E - x400). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر. L = کبد، P = پانکراس، H = هیپاتوسیت



شکل ۸: (e). واکنش شدید سلول‌های کبدی بجه ماهی شاه کولی به اسید پرئودیک شیف (PAS - x1000). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر. (f). واکنش هیپاتوسیت کبد ماهی نابالغ به اسید پرئودیک شیف (PAS - x1000). خط مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر



خلفی مانند ماهی زرده کم‌تر است. سلول‌های جامی در بخش خلفی روده بیش‌تر است. اندازه این چین‌خوردگی‌ها به‌خصوص از یک ماهگی به بعد دارای طول بیش‌تری نسبت به دوره لاروی دارد که در هامور معمولی نیز گزارش شده اما در *Acipenser baeri* یا ماهی خاویاری سبیری (Gisbert, ۱۹۹۸) ارتفاع چین‌های بخش میانی از بخش قدامی و خلفی بلندتر است. در کبد سلول‌های چندوجهی با هسته‌های گرد مرکزی مانند هامور معمولی (امیری‌پور، ۱۳۹۴) و کپور علفخوار (زهدتابور، ۱۳۹۰) دیده می‌شود که با رشد ماهی تعدادشان افزایش یافته و اندازه آن‌ها بزرگ‌تر می‌شود که در ماهی کلمه و شاه ماهی دم زرد نیز گزارش شده است. در برش‌های عرضی این عضو به شکل دو قسمت خلفی و قدامی قرار گرفته که در بخش خلفی پانکراس نیز به‌صورت پیوسته با کبد و در قسمت‌های دیگر به‌صورت پخش در آن (هپاتوپانکراس) دیده می‌شود. سلول‌های کبدی و سلول‌های هپاتوپانکراس مانند گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Ikeguchi, ۲۰۱۲) در پاسخ به PAS واکنش مثبت نشان داده است. با افزایش سن ماهی به‌خصوص در دوره پیش بلوغ تشخیص پانکراس در بخش خلفی کبد واضح‌تر می‌باشد.

از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که دستگاه گوارش شاه کولی شباهت‌های زیادی با دیگر خانواده کپورماهیان داشته اما تفاوت‌هایی نیز در آن دیده می‌شود. به‌علاوه با بررسی این اندام مهم داخلی می‌توان یک جیره غذایی مناسب را در دوره لاروی برای ماهی در نظر گرفت که این امر می‌تواند در نهایت باعث تولید ماهیان با کیفیت‌تر باشد. هم‌چنین می‌توان با بررسی‌های فیزیولوژیکی درخصوص دستگاه گوارش ماهی، مطالعات مربوط به این مسئله را تکمیل‌تر کرد که این مطالعات می‌تواند مکمل کارهای بافتی مخصوصاً در بخش هیستوشیمی باشد.

تشکر و قدردانی

لازم است که درخصوص انجام این تحقیق از ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت آقای مهندس رضا خمیرانی و همه کارکنان این مرکز ازجمله آقای مهندس علی علیزاده، آقای مهندس مهدی سبحانی، آقای مهندس دانیال گروهی و آقای مهندس ولی‌زکی که در انجام این تحقیق همراهی نمودند قدردانی می‌گردد. هم‌چنین از اساتید و پرسنل آزمایشگاه مجتمع رازی و مجتمع ابن سینا دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران از جمله بخش علوم دامی آقای مهندس سعید توتونچی، بخش بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی آقای دکتر ایرج پوستی و آقای مهندس محمد عابدی و بخش بیولوژی دریا آقای مهندس رضا محسنیان صمیمانه تشکر می‌گردد.

(بحر کاظمی و همکاران، ۱۳۸۵). با پیدایش این سلول‌ها در بین سلول‌های اپیتلیومی ترشح ترکیبات پلی‌ساکراید خنثی نیز با رنگ‌آمیزی PAS مشاهده شد که این ترشحات در ماهی (*Solae solae* (Linnaeus, 1758) در بررسی Boulhic (۱۹۹۸) و آزاد ماهی دریای خزر نیز هم‌زمان با شروع تغذیه فعال بوده اما در ماهی خاویاری سبیری دو روز بعد از تغذیه فعال و در ماهی *Sparus auratus* بعد از شروع تغذیه فعال می‌باشد (Saraquete, ۱۹۹۵). مری در شاه کولی از روز سوم بعد از هچ قابل تشخیص بوده و سلول‌های استوانه‌ای ساده و به‌ندرت مطبق اپیتلیوم آن دیده می‌شود که در ماهی زرده نیز به‌همین صورت بوده (اسدی، ۱۳۹۴) و در ماهی کپور معمولی (بانان‌خجسته، ۱۳۸۸) و *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) این سلول‌ها به‌شکل مطبق گزارش شده است. در بخش ابتدایی مری همانند ماهی سفید و ماهی کلمه سلول‌های شاخی دیده می‌شود و سلول‌های گابلت در لابه‌لای سلول‌های اپیتلیوم مری با رنگ PAS واکنش نشان داده که در آزاد ماهی دریای خزر نیز گزارش شده است. تشخیص روده شاه کولی در دوره لاروی در روزهای ابتدایی مشکل است و در روز اول فقط بخش کمی از روده خلفی مانند ماهی سفید مشاهده شد (خوشنود، ۱۳۹۳)، اما در ماهی کلمه در روز اول بخش خلفی روده مشاهده نشده (یعقوبی، ۱۳۹۳) و در ماهی قره برون بخش ابتدایی (اسپیرال) گزارش شده است. سلول‌های استوانه‌ای ساده روده مانند ماهی *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) و قره‌برون بوده با رشد ماهی بهتر قابل تشخیص است. این سلول‌ها در ماهی آزاد دریای خزر به شکل اپیتلیوم ساده و شبه مطبق و در کلمه اپیتلیوم روده مطبق و شبه مطبق گزارش شده است. سلول‌های گابلت در روز پنجم هم‌زمان با باز شدن دهان شاه کولی دیده شد که در ماهی *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) در روز دوم و در آزاد ماهی دریای خزر هم‌زمان با شروع تغذیه خارجی در ۲۵ روزگی و در قره‌برون در هفته اول دوره لاروی ترشح این سلول‌ها شروع شده و با رنگ PAS واکنش نشان داده است. سلول‌های موکوسی روده در شانک ماهی (*Serrasalmus nattereri* (Raji, ۲۰۱۰) و *Claris batrachus* (Silva, ۲۰۱۲) نیز به‌اسیدپریودیک شیف واکنش مثبت نشان داده است. با رشد ماهی شاه کولی در دوره بچه ماهی و نابالغ واکنش این سلول‌ها به PAS بیش‌تر شده که در بچه آزاد ماهی خزر نیز گزارش شده است. پرزهای انگشتی شکل ویلی با رشد شاه کولی عمیق‌تر شده و به‌وضوح دیده می‌شود که در *Notopterus notopterus* (Khadse, ۲۰۱۷) نیز گزارش شده است. از بخش قدامی به سمت بخش خلفی پرزها به مرور کاهش می‌یابد و بخش قدامی روده نسبت به بخش خلفی چین‌های مخاطی بیش‌تری دارد مانند (ماهی اسکار) (*Astronotus ocellatus*) (Mortazavtabrizi, ۲۰۱۵) و (سنجاقک ماهی) (*Stegastes fuscus* (Canan, ۲۰۱۲) اما چین‌خوردگی‌های روده



منابع

۱. اسدی، ط. و قارزی، ا.، ۱۳۹۴. مطالعه بافت‌شناسی و هیستوشیمی لوله گوارشی ماهی زرده (*Capoeta damascina*). مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران). جلد ۲۸، شماره ۴، صفحات ۳۸۹ تا ۳۹۸.
۲. امیری‌پور، ل.؛ عبدی، ر.؛ موحدی‌نیا، ع. و صحرائیان، م.، ۱۳۹۴. مطالعه ساختار بافتی کبد و روده ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) طی مراحل رشد و نمو لاروی. مجله اقیانوس‌شناسی. سال ۶، شماره ۲۳، صفحات ۸۷ تا ۹۲.
۳. بانان‌خجسته، م.؛ ابراهیمی، س.؛ رضانی، م. و حق‌نیا، ح.، ۱۳۸۸. مطالعه هیستولوژی، هیستوشیمیایی مری و روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله زیست‌شناسی جانوری. سال ۱، شماره ۴، صفحات ۱۷ تا ۲۶.
۴. بحرکاظمی، م.؛ مجازی‌امیری، ب.؛ پوستی، ا. و ویلکی، ا.، ۱۳۸۵. مطالعه شیمی بافتی لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از زمان تفریح تا مرحله بچه‌ماهی یک تابستانه (Parr). نشریه منابع طبیعی. جلد ۵۹، شماره ۳، صفحات ۶۳۹ تا ۶۴۸.
۵. تاکاشیما، ا. و هیبایا، ت.، ۱۹۹۵. اطلس بافت‌شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی). پوستی، ا. و صدیق‌مروستی، س.ع.، ۱۳۸۷. انتشارات دانشگاه تهران. تهران. ۲۹۷ صفحه.
۶. خوشنود، ز.؛ جمیلی، ش.؛ خداپنده، ص.؛ ماشینچیان‌مرادی، ع. و مطلبی، ع.، ۱۳۹۳. بررسی ساختار و فراساختار بافت آبششی و مکان‌یابی سلول‌های کلراید آبششی به‌روش ایمونوهیستوشیمی در بچه‌ماهی سفیددریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) (Kamensky, 1901). مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران). جلد ۲۷، شماره ۴، صفحات ۴۹۸ تا ۵۰۸.
۷. خیاط‌زاده، ج.؛ خوش‌نگاه، ث.؛ فاطمی، ف.؛ سعادت‌فر، ز. و شاهسونی، د.، ۱۳۸۸. بررسی هیستولوژیک و هیستوشیمیایی لوله گوارش (روده و معده) ماهی قره‌برون (*Acipenser persicus*) در بازه زمانی ۲ هفته پس از تخم‌گذاری (Hatching). مجله زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار. دوره ۱، شماره ۴، صفحات ۲۱ تا ۳۱.
۸. زهتاب‌ور، ا.؛ طوطیان، ز.؛ کرامت‌امیرکلایی، ع.؛ داودی‌پور، س. و شادی‌مزدقانی، م.، ۱۳۹۰. کالبدشناسی لوله گوارش کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*). نشریه دامپزشکی. شماره ۹۳، صفحات ۴۵ تا ۵۱.
۹. عمادی، ح.؛ عبدلی، ا. و حسن‌زاده‌کیایی، ب.، ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آریان. تهران، ۲۳۷ صفحه.
۱۰. یعقوبی، م.؛ مجازی‌امیری، ب.؛ نعمت‌اللهی، م. و یلقی، س.، ۱۳۹۳. بافت‌شناسی تکامل دستگاه گوارش لارو ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) دریای خزر. شیلات (مجله منابع طبیعی ایران). دوره ۶۷، شماره ۴، صفحات ۶۲۵ تا ۶۳۹.
۱۱. Baglolle, C.J. and Murray, H.M., 1997. Ontogeny of the digestive tract during larval development of Yellowtail flounder: a light microscopic and mucous histochemical study, Journal of fish biology. Vol. 51, pp: 120-134.
۱۲. Bolasina, S.; Perez, A. and Yamashita, Y., 2006. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. Vol. 252, pp: 503-515.
۱۳. Boulhic, M. and Gabaudan, J., 1992. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the over sole, (*Solea solea* Linnaeus, 1758). Aquaculture. Vol. 102, pp: 373-396.
۱۴. Canan, B.H.; Nascimento, W.S.; Silva, N.B. and Chellappa, S., 2012. Morphohistology of the Digestive Tract of the Damsel Fish *Stegastes fuscus* (Osteichthyes: Pomacentridae). The Scientific World Journal. Vol 10, pp: 1-9.
۱۵. Carrasson, M.; Grau, A.; Dopazo, L.R. and Crespo, S., 2006. A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of dentex (*Pisces Sparidae*) Journal of Histology and Histopathology. Vol. 21, pp: 579-593.
۱۶. Cinar, K. and Senol, N., 2006. Histological and histochemical characterization of the Mucosa of the digestive tract in flower fish (*Pseudophoxinus antalyae*). Anatomia histologia embryologia. Journal of Veterinary Medicine. Vol. 35, No. 3, pp: 147-151.
۱۷. Clarke, A.J. and Witcomb, D.M., 1979. A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). Journal of fish biology. pp: 159-170.
۱۸. Gisbert, E.; Piedrahita, R.H. and Conklin, D.E., 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture. Vol. 232, pp: 455-470.
۱۹. Gisbert, E.; Rodriguez, A.; Castello, F. and Williot, P., 1998. A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. Aquaculture. Vol. 167, pp: 195-209.
۲۰. Khadse, T. and Gadghikar, Y.A., 2017. Histological and ultrastructural study of intestine of Asiatic knife fish, *Notopterus notopterus*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. Vol. 5, No. 1, pp: 18-22.



۲۱. **Ikpegbu, E.; Nlebedum, U.C.; Nnadozie, O. and Agbakwuru, I.O., 2012.** Histological structures of the accessory glands of the digestive system in adult farmed African catfish (*Clarias gariepinus* B.). Journal of Agriculture and Veterinary Science. Vol. 1, No. 6, pp: 41-46.
۲۲. **Mortazavi tabrizi, S.A.; Mortazavi, P. and Pousti, I., 2015.** Histomorphologic study on oscar fish (*Astronotus ocellatus*) intestine. International journal of biology, pharmacy and allied sciences. IJBPAS. Vol. 4, No. 2, pp: 739-750.
۲۳. **Pearse, A.G.E., 1985.** Histochemistry, theoretical and applied. Analytic technology. Vol. 2, pp: 121-132.
۲۴. **Raji, A.R. and Norouzi, E., 2010.** Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. Vol. 11, No. 3, pp: 255-261.
۲۵. **Ramezani-Fard, E.; Kamarudin, M.S.; Harmin, S.A.; Saad, C.R.; Abd Satar, M.K. and Daud, S.K., 2011.** Ontogenic development of the mouth and digestive tract in larval Malaysian mahseer, *Tor tambroides* Bleeker, 1854. Applied Ichthyology. Vol. 27, pp: 920-927.
۲۶. **Sarasquete, M.C.; Polo, A. and Yufera, A., 1995.** Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, (*Sparus aurata*). Aquaculture. Vol. 130, pp: 79-92.
۲۷. **Silva, M.R.; Natali, M.R.M. and Hahn, N.S., 2012.** Histology of the digestive tract of *Satanoperca pappaterra* (Osteichthyes, Cichlidae). Acta Scientiarum Biological Sciences. Vol. 34, No. 3, pp: 319-326.

