ساختار میکروسکوپی روده فیل ماهی (*Huso huso*) از مرحله تفریخ تا زمان رهاسازی به دریا

سارا جرجانی[۱]، عبدالمجید حاجی مرادلو[۲]، افشین قلیچی[۱]،نور محمد مخدومی[۳]، رضوان ا... کاظمی[۴]

۱. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی – واحد آزاد شهر
۲. گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳.کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان
۴. بخش فیزیولوژی و بیوشیمی، انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت

چکیده

ساختار میکروسکوپی روده فیل ماهی از مرحله تفریخ تا زمان رهاسازی به دریا با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. لاروها در محلول بوئن فیکس شد. سپس مراحل آبگیری و آغشتگی به پارافین انجام گردید. مقاطع بافتی به ضخامت ۷- ۵ میکرون تهیه و به روش‌های هماتوکسیلین و ائوزین و پریودیک اسید شیف رنگ آمیزی شدند. لارو یک روزه دارای روده ابتدایی است که توسط بافت پوششی استوانه‌ای مژه‌دار پوشیده شده است. در روز سوم پس از تفریخ در دیواره لوله گوارش شیاری مورب در قسمت پشتی- خلفی کیسه زرده ایجاد می‌شود و لوله گوارش را به دو ناحیه معده و روده میانی تقسیم می‌کند. در این زمان دریچه‌های اسپیرال تمایز می‌یابد. در لومن دریچه‌های اسپیرال، رنگدانه‌های جنینی تجمع یافته و ملانین پروپکا را تشکیل می‌دهند. در روز هفتم پس از تفریخ بافت اپیتلیوم روده میانی و روده مارپیچ از نوع استوانه‌ای مژه‌دار است. بخش انتهایی دستگاه گوارش به مجاری کوتاه مخرجی که بافت پوششی آن مکعبی است، تمایز می‌یابد. مجاری ادراری در این زمان به رکتوم متصل می‌شود. در روز سیزدهم پس از تفریخ تعداد واکوئل‌های محتوی چربی در روده میانی و روده مارپیچ افزایش می‌یابد. بین روزهای ۱۷ تا ۱۹ پس از تفریخ لاروهای فیل ماهی دارای یک دوره تغذیه توأم هستند. ۲۵ روز پس از تفریخ سلول‌های روده میانی دارای میکروویلی‌های بلند است. در ۳۶ روزگی تعداد سلول‌های جامی شکل در روده مارپیچ افزایش می‌یابد. در ۴۳ روزگی، غدد روده‌ای با بافت پوششی استوانه‌ای مژه‌دار در بافت همبندی روده میانی، قابل مشاهده است. بین روزهای ۵۷ تا ۷۵ تعداد و اندازه چین‌های مخاطی روده افزایش می‌یابد. چنین اطلاعات و یافته-های پایه‌ای می‌تواند به منظور ارتقاء پرورش لارو ماهیان خاویاری به‌ویژه فیل ماهی بسیار مفید باشد.

واژگان کلیدی: ساختار میکروسکوپی، دستگاه گوارش، روده، فیل ماهی، مرحله لاروی

۱. مقدمه

دربین ماهیان خاویاری فیل ماهی(*Huso huso*) از جایگاه خاصی برخوردار است. اهمیت فیل‌ماهی به دلیل خاویار ممتاز، درشت و بسیار لذیذ و گرانبهای آن است.در علوم پایه بررسی ساختمان میکروسکوپی اندام‌ها اهمیت ویژه‌ای در تحقیقات کاربردی دارد. دستگاه گوارش لاروفیل ماهی همانند بیشتر گونه‌های ماهیان در زمان تفریخ کاملاً رشد و تکوین نیافته است و باید قبل از تغذیه خارجی به منظور بلع بهتر، گوارش و جذب بیشتر مواد غذایی، تکوین و تمایز بیشتری کسب نماید (Gisbert, 1998). لوله گوارش در ماهیان، همانند سایر مهره‌داران منشا آندودرمی داشته و از لوله گوارش اولیه یا آرکنترون منشأ می-گیرد. این دستگاه در جنین به طور ناقص باقی مانده و در زمان تفریخ به صورت لوله مستقیم تمایز نیافته-ای در سطح پشتی کیسه زرده قرار می‌گیرد. مدت کوتاهی پس از خروج لارو از تخم ساختار دستگاه گوارش به سرعت تغییر می‌کند. لاروهایی که تازه تفریخ شده‌اند از نقطه نظر تغذیه‌ای کاملاً وابسته به ذخیره کیسه زرده خود می‌باشند. لاروها پس از جذب کیسه زرده جهت تأمین انرژی لازم برای رشد به تغذیه بیرونی روی می‌آورند و دستگاه گوارش آنها دستخوش تغییرات ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی می‌شود (Gawlicka*et al.*, 1995) (Buddington and Doroshov, 1986). برخلاف ماهیان استخوانی، ماهیان خاویاری تکوین هولوبلاستیک دارند و در آنها کیسه زرده مستقیماً در تشکیل دستگاه گوارش شرکت می‌کند (Gawlicka*et al.*, 1995).

بررسی سوابق مطالعاتی در دسترس حاکی از آن است که در ایران در مورد تکوین دستگاه گوارش لارو فیل‌ماهی مطالعات بافت‌شناسی صورت نگرفته است، ولی مطالعاتی بر روی تکامل دستگاه گوارش مراحل لاروی قره‌برون توسط پهلوان‌یلی (۱۳۸۰) و نیز مطالعات بافت شناسی بر روی دستگاه گوارش ماهی قره‌برون و ازون‌برون توسط شیبانی در سالهای ۱۳۷۵ و ۱۳۷۹ و شیبانی و پوستی در سال ۱۳۸۲ انجام شده است. همچنین مطالعه ساختار میکروسکوپیک طحال و بافت‌های لنفاوی همراه دستگاه گوارش در ماهی قره‌برون توسط شیبانی (۱۳۸۴) انجام شده است. تحقیقاتی در مورد تکامل بافتی دستگاه گوارش تاس‌ماهی سیبری در مراحل لاروی توسط Gisbert و همکاران (۱۹۹۸)، تکامل دستگاه گوارش تاس‌ماهی سفید توسط Domeneghini و همکاران (۱۹۹۹)، ویژگی‌های فراساختاری دستگاه گوارش تاس ماهی سفید توسط Radaelli و همکاران (۲۰۰۰)، بافت شناسی تکوین دستگاه گوارش تاس‌ماهی سبز و تأثیر محرومیت غذایی بر آن توسط Gisbert و همکاران (۲۰۰۳) و همچنین مطالعات جامعه‌ای در مورد تنوع مورفولوژیکی دستگاه گوارش در ماهیان مختلف توسط Wilson و Castro (۲۰۱۰) انجام شده است.

روشن شدن ساختارهای میکروسکوپی اندام‌های گوارشی فیل ماهی(حفره‌دهانی- حلقی ،مری، معده، روده، مخرج) در مراحل اولیه رشد، همچنین مقایسه آن با دیگر گونه‌های ماهیان خاویاری و دستیابی به اطلاعات و یافته‌های کامل تر از اندام زایی و عملکرد این دستگاه به منظور موفقیت در امر پرورش مصنوعی، بکارگیری رژیم‌های غذایی اولیه و توسعه و توصیه الگوهای تغذیه‌ای از اهمیت زیادی برخوردار است. لذا این تحقیق به منظور دستیابی به روند تکوین روده فیل‌ماهی از مرحله لاروی تا زمان رهاسازی به دریا صورت پذیرفته است.

۲. مواد و روش کار

لارو فیل‌ماهیان مورد استفاده جهت بررسی رشد و تکوین لوله گوارش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان تهیه شدند. این لاروها پس از تفریخ به حوضچه‌های فایبرگلاس (ونیرو) انتقال داده شدند. یکی از حوضچه‌ها به صورت تصادفی برای نمونه‌برداری انتخاب شد و هر بار نمونه-برداری از همان حوضچه انجام گرفت. نمونه‌برداری در

روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۳، ۱۵، ۲۵، ۳۶، ۴۳، ۵۷ و ۷۵ روزگی تا رسیدن به سن لازم برای رهاسازی به دریا به صورت کاملاً تصادفی انجام شد. در هر بار نمونه‌برداری ۱۰ عدد لارو پس از اندازه‌گیری طول کل در محلول بوئن فیکس گردید. نمونه‌ها پس از ۷۲ ساعت نگهداری در این محلول تا زمان آبگیری در الکل ۷۰ درجه قرار گرفت. پس از طی مراحل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین، بلوکهای پارافینی تهیه و توسط میکروتوم برشهایی به ضخامت ۵، ۶ و۷ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین - ائوزین و پریودیک اسیدشیف رنگ‌آمیزی شدند (کاظمی و همکاران، ۱۳۷۷). نمونه‌های بافت‌شناسی تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

۳. نتایج

روده در ماهیان خاویاری از سه قسمت کاملا متمایز تشکیل شده است. قسمت اول، روده میانی (Intermediate gut) به دنبال معده غیر غدهای قرار گرفته است. قسمت دوم، روده مارپیچ (Spiral gut) می‌باشد. این قسمت پس از یک انحنای کوچک بدنبال قسمت میانی قرار دارد. از مشخصات این بخش تیغه‌های مخاطی در یچه مانندی است که در سطح داخلی روده مارپیچ مشاهده می‌شود. این تیغه-ها به شکل برآمدگی‌های قطوری از جدار روده به حفره داخلی آن کشیده می‌شود. تیغه‌های مذکور بسیار بلند می‌باشند به صورت مارپیچ طول روده مارپیچ را طی کرده و در ابتدای روده انتهایی خاتمه می‌یابند. قسمت سوم روده انتهایی یا رکتوم (Hind gut) است که در حد فاصل روده مارپیچی و مخرج واقع گردیده است. طول این قسمت بسیار کوتاه است. در نمونه‌های بالغ در سطح داخلی آن چین‌های طولی برجسته و مشخصی دیده می‌شود که تا مخرج امتداد می‌یابد.

در لارویک روزه فیل ماهی (طول کل ۱۳ میلیمتر) روده بسیار ابتدایی وجود دارد. بافت پوششی این قسمت از سلولهای استوانه‌ای مژه‌دار تشکیل شده است.

در لارو سه روزه (طول کل ۱۴/۵ میلیمتر) با ایجاد شیاری در ناحیه پشتی- خلفی کیسه زرده، معده از روده جدا می‌شود. بافت پوششی بخش اول روده یا روده میانی، از نوع استوانه‌ای ساده تا شبه مطبق مژه‌دار است. بخش دوم روده که روده مارپیچ می‌باشد در این سن تشکیل شده است. بافت پوششی روده مارپیچ از نوع استوانه ای ساده مژه‌دار است. هسته آن قاعده‌ای و فاقد واکوئل می‌باشد.رنگدانه‌های ملانین که در روز اول و دوم به صورت پراکنده دیده‌می‌شدند، در روز سوم به صورت توده‌ای در آمده و تشکیل لکه ملانین پروپکارا می‌دهند (شکل ۱). قسمت انتهای روده (رکتوم) در این سن فاقد دریچه و کرک است. مخاط آن بسیارساده است و اپی‌تلیوم آن از نوع استوانه‌ای ساده‌تاشبه مطبق مژه‌دار می‌باشد. مژه و ریزکرکها در این بخش فراوان است. بافت همبندی روده بسیار ضعیف است وفاقد لایه ماهیچه‌ای است. یک ردیف سلول‌های سنگفرشی ساده از خارج آنها را احاطه می‌کند.

در ماهی ۵ روزه (طول کل ۱۵ میلیمتر) بافت شناسی قسمت‌های مختلف روده تفاوت خاصی نشان نداده است.

درلارو۷ روزه(طول کل ۱۶ میلیمتر) چین-خوردگی‌های روده میانی شکل می‌گیرد که در مقایسه با روده مارپیچ، تعداد و اندازه چین‌ها کمتر و کوچکتر است. بافت پوششی روده میانی از نوع استوانه‌ای ساده مژه‌دار با هسته قاعده‌ای و دارای تعدادی واکوئل چربی است. بافت پوششی روده مارپیچ نیزاز نوع استوانه‌ای ساده مژه‌دار و فاقد واکوئل‌چربی است. با رشد دریچه‌های مارپیچ فضای بین آنها کمتر می‌شود. ذرات ملانین در لابه‌لای دریچه‌های مارپیچی به‌ویژه دربخش‌های انتهایی آن تجمع یافته‌اند (شکل۲).

راست روده ساختار سنین قبل خود را دارد. مجاری ادراری در انتهای راست روده به آن مرتبط

می‌شود و به صورت یک مجرای واحد به خارج باز می‌شود (شکل ۳).

بافت پوششی اطراف مخرج از نوع سنگفرشی‌مطبق است که اطراف آن را یک لایه ماهیچه‌ای ضخیم احاطه می‌کند(شکل ۴).

تعداد واکوئل‌های حاوی ذرات چربی در روده میانی و روده مارپیچ در لارو ۱۳ روزه (طول کل ۱۹ میلیمتر) بسیار بیشتر بوده و به سمت مخرج، تعداد آنها کمتر می‌شود. اندازه این واکوئل‌ها در روده میانی بزرگترازروده مارپیچ است. اپیتلیوم روده مارپیچ از نوع استوانه‌ای ساده بلند تا شبه‌مطبق است و دارای میکروکرک‌های فراوان است. بافت همبندی ظریفی در مرکز دریچه‌ها وجود دارد که از رگ‌های خونی و عضلات صاف تشکیل شده است. در لومن روده مارپیچ و بین دریچه‌ها ملانین پروپکا قابل مشاهده‌است. راست روده ساختار سنین قبلی را دارد. در انتهای رکتوم به طرف مخرج بافت پوششی تدریجاً از استوانه‌ای ساده‌مژه‌دار تا شبه مطبق مژه‌دار به سنگفرشی مطبق تبدیل می‌شود، به‌طوریکه اپیتلیوم مخرج کاملاً سنگفرشی مطبق می‌شود. مجاری ادراری در این سطح به روده مرتبط می‌شود.

در بچه فیل‌ماهی ۱۵ روزه (طول کل ۲۰/۵ میلیمتر) بافت پوششی روده میانی از نوع استوانه‌ای با میکروکرک‌های فراوان است که منظره حاشیه مسواکی ایجاد می‌کند. واکوئل‌ها کاملاً مشخص وتعداد آنها افزایش می‌یابد. هسته در آنها قاعده‌ای است (شکل ۵). دریچه اسپیرال ساختار سنینقبلی را دارد. لاروهای فیل‌ماهی در بین روزهای هفدهم الی نوزدهم در دمای میانگین ۱۴/۵درجه سانتیگراد تغذیه توأم (Andoexogen feeding)دارند.

در لارو ۲۵ روزه (طول کل ۲۳/۵میلیمتر) سطح آزاد سلول‌های اپیتلیوم در داخل روده میانی دارای میکروکرک‌هایی است که سطح جذب را به بالاترین حد خود می‌رساند. اسکلت داخلی چین خوردگی‌های روده میانی از بافت همبند تشکیل شده و شامل رگهای خونی، مجاری لنفاوی و رشته‌های عضلانی صاف و پراکنده است. در خارجی‌ترین لایه، لایه سروزی قرار دارد که شامل سلول‌های سنگفرشی ساده است. در این سن چین‌های مخاطی راست روده بسیار کم عمق‌اند. بافت پوششی آن از نوع استوانه‌ای شبه‌مطبق مژه‌دار است. این مژه‌ها به‌سمت مخرج بلندتر می‌شوند، لابه‌لای آنها سلول‌های جامی شکل (Goblet cells) وجود دارد (شکل۶).در انتها بافت پوششی مخرج به سنگفرشی مطبق تبدیل می‌گردد و در اطراف آن لایه عضلانی ضخیمی دیده می‌شود.

تعداد سلول‌های جامی شکل بافت پوششی روده مارپیچدر لارو ۳۶ روزه (طول کل ۲۶ میلیمتر) بیشتر می‌شود. در این سن فقط سر سلول‌های استوانه‌ای روده مارپیچ PAS مثبت است.

در لارو ۴۳ روزه (طول کل ۳۰ میلیمتر)، در بافت همبند روده میانی غدد روده‌ای مشاهده شد. احتمالاً این غدد در طول یک تا دو روز قبل، تشکیل شده‌اند. این غدد از نوع لوله‌ای ساده می‌باشند و از یک لایه سلول استوانه‌ای با مژه‌های بلندتشکیل شده‌اند. تعداد این غدد در روده میانی چندان زیاد نیست و به سمت انتهای روده میانی و روده مارپیچ محو می‌شوند (شکل ۷). به‌طرف انتهای روده، تعداد سلول‌های جامی شکل در اپیتلیوم بیشتر می‌شود. در ضمن ترشحات موکوسی PAS مثبت تقریباً منحصر به سلول‌های جامی شکل می‌گردد. در راست روده ترشحاتPAS مثبت تنها در سلول‌های جامی شکل و دررأس سلول‌های استوانه‌ای دیده می‌شود.

در بچه فیل‌ماهی ۵۷ روزه (طول کل ۳۵ میلیمتر) ساختمان بافتی روده باسنین قبل تفاوتی ندارد. فقط تعداد سلول‌های جامی شکل بیشتر می‌شود.

در لارو ۷۵ روزه (طول کل ۴۵ میلیمتر) روده میانی بعد از دریچه پیلوربه‌صورت لوله‌ای قطور شروع می‌شود که سطح داخلی آن مشبک است. این قسمت بزرگتر و حجیم‌تر از سنین قبلی است. در قسمت

میانی آن خمیدگی s شکل واضح‌است. انتهای این بخش باریک‌تر شده و در ادامه آن روده مارپیچ با دریچه‌های مارپیچی و تاحدی با افزایش قطر مشاهده می‌شود. مهمترین تفاوت روده مارپیچ در این سن با سنین قبلی این است که علاوه بر دریچه‌های مارپیچی در این سن چین‌ها و کرک‌های ثانویه در فضای بین دریچه‌ها و روی دریچه‌ها مشاهده می‌شود.

اپیتلیوم روده مارپیچ از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژه‌دار می‌باشد. در محور مرکزی این دریچه‌ها در بافت همبند عروقخونی، اعصاب و عضلات صاف وجود دارد. در راست روده بافت پوششی از نوع استوانه‌ای شبه مطبق مژه‌دار است. در این ناحیه مژه‌ها بسیار بلند است. سلول‌های جامی شکل به تعداد زیاد در این ناحیه یافت می شوند. به سمت مخرج تعداد سلول‌های جامی شکل بیشتر می‌شود (شکل ۸). به دلیل توسعه کم ماهیچه‌های مخاطی مرز بین پارین وزیر مخاط چندان واضح نیست. بافت همبندی زیرین شامل اعصاب، عروق خونی و لنفاوی، فراوان است.در انتهای روده طبقه عضلانی ضخیم‌تر می‌شود. لایه سروزی از خارج لایه عضلانی را احاطه کرده و شامل یک ردیف سلول‌های سنگفرشی است. در انتهای راست روده بافت پوششی به سنگفرشی مطبق تبدیل شده و مخرج را تشکیل می‌دهد.

۴. بحث و نتیجه گیری

لوله گوارش در ماهیان، همانند سایر مهره‌داران منشا آندودرمی داشته و از لوله گوارش اولیه یا آرکنترون منشأ می‌گیرد. این دستگاه در جنین به طور ناقص باقی مانده و در زمان تفریخ به صورت لوله مستقیم تمایز نیافته‌ای در سطح پشتی کیسه زرده قرار می‌گیرد. مدت کوتاهی پس از خروج لارو از تخم ساختار دستگاه گوارش به سرعت تغییر می‌کند (بیلارد و دپشی ۱۳۸۱).

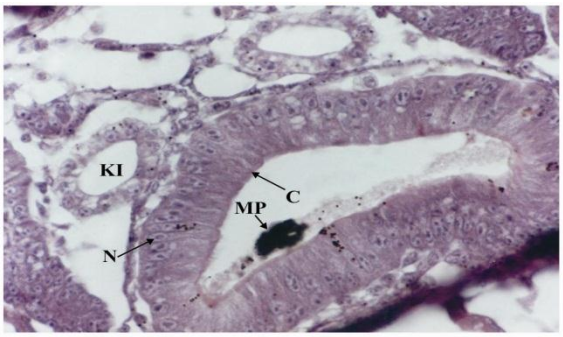
از آنجا که در مراحل اولیه لاروی اندام زایی با سرعت بیشتری انجام می‌شود (Dettlaf *et al.*, 1993) نمونه‌برداری در روزهای ابتدایی با فواصل زمانی کمتر انجام شده است و با افزایش سن ماهی فواصل نمونه برداری نیز بیشتر شده است، لذا هدف از تحقیق، بررسی روند تکوین روده تا زمان رهاسازی به دریا بوده است.پس از تخم گشایی دستگاه گوارش فیل ماهی تقریبا به صورت دو قسمت جدا از هم که هیچ گونه ارتباطی با محیط خارج نداشته، نمایان می‌گردد. ناحیه شکمی که تقریباً بوسیله مواد زرده‌ای پر شده و ناحیه خلفی بدن که به‌طور جزیی آثاری از ناحیه خلفی روده را نشان می‌دهد. در این مرحله تغذیه کاملاً درونی صورت گرفته و به‌تدریج با افزایش سن از میزان زرده کاسته و سلول‌های سازنده لوله گوارشی جایگزین می‌گردند.

در روز سوم پس از تفریخ با ایجاد شیاری در ناحیه پشتی- خلفی کیسه زرده جدایی معده از روده صورت می‌گیرد. در تاسماهی سیبری نیز در روز سوم با ایجاد شیاری معده از روده جدامی‌شود. بخش جلویی این شیار که شامل سلول‌های سنگفرشی است، دیواره پایینی معده را تشکیل می‌دهد. در حالی که بخش خلفی شیار که با اپیتلیوم سنگفرشی مژه‌دار مفروش شده دیواره بالایی روده میانی را تشکیل می‌دهد (Gisbert*et al.*, 1998).

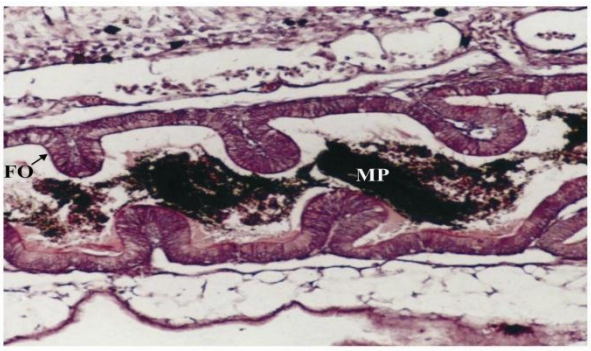
در لارو تاسماهی آدریاتیک در سن دوروزگی دریچه مارپیچی به‌صورت ابتدایی مشاهده می‌شود (Boglione *et al.*, 1993).

در این تحقیق در لارو هفت روزه، چین خوردگی‌های مخاطی روده میانی مشاهده شد.همچنین در روده میانی و روده مارپیچ مواد زرده‌ای و تعدادی واکوئل چربی در قسمتهای مختلف روده قابل رویت است.

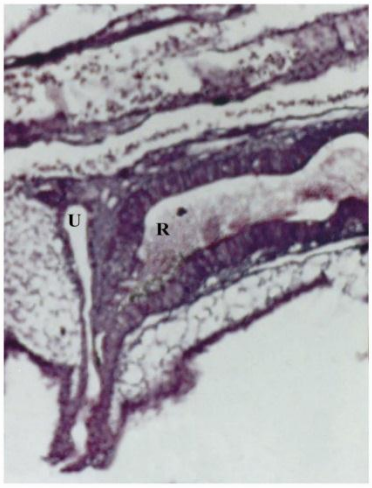
در تاسماهی ایرانی در سن هشت الی نه روزگی در روده میانی و روده مارپیچ به همراه سلول‌های جامی شکل تعدادی واکوئل مشاهده می‌شود که احتمالاً چربی است. این واکوئل‌ها در سن چهارده الی شانزده روزگی در روده مشاهده نشده و احتمالاً از بین می‌رود (پهلوانیلی، ۱۳۸۰).



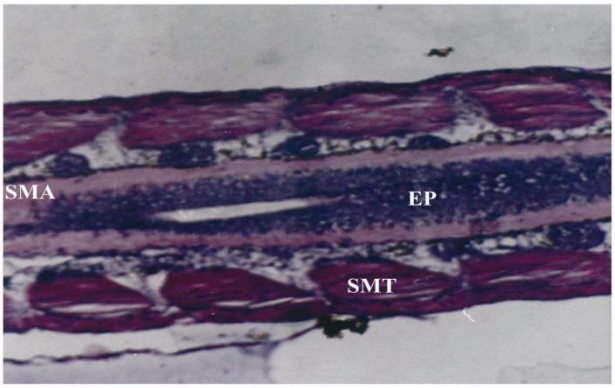
شکل ۱) برش عرضی رودهٔ مارپیچ فیل ماهی در سه روزگی (H&E X400)
MP: ملانین پروپکا C: مژه N: هسته KI: کلیه



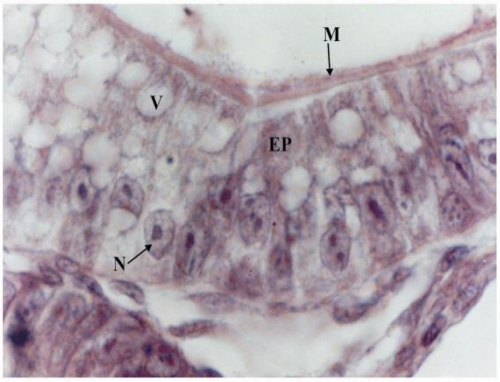
شکل ۲) برش طولی روده فیل ماهی در سن هفت روزگی (H&E X100)
FO: چین‌های روده‌ای MP: ملانین پروپکا



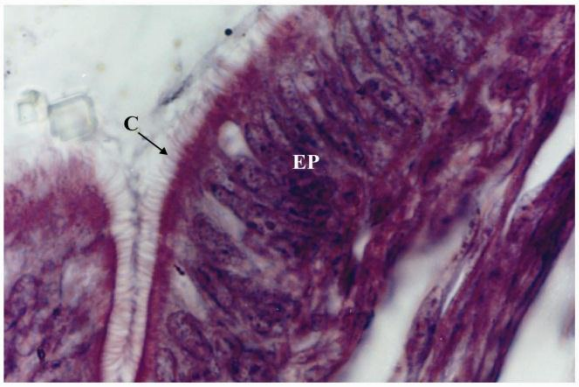
شکل ۳) برش طولی بخش انتهایی راست رودهٔ فیل ماهی در سن هفت روزگی (H&E X100)
R: رکتوم U: مجاری ادراری



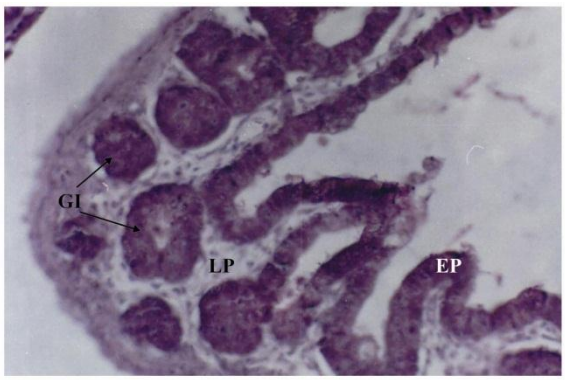
شکل۴) برش طولی مخرج فیل ماهی در سن هفت روزگی (H&E X100)
EP: بافت پوششی SMA: لایهٔ عضلانی مخرج SMT: لایهٔ عضلانی پیکر



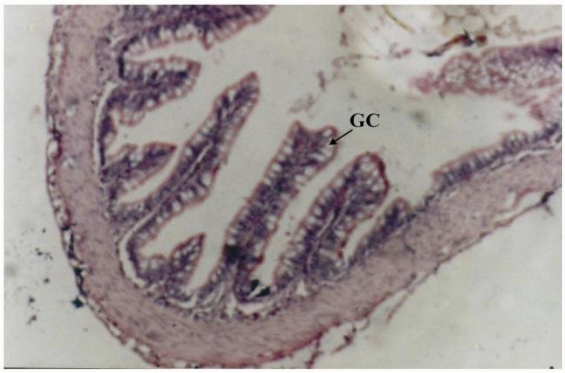
شکل۵) برش عرضی روده مبانی فیل ماهی در سن ۱۵ روزگی (H&E X1000)
EP: بافت پوششی M: میکرو کرک N: هسته V: واکوئل



شکل۶) برش عرضی راست رودهٔ فیل ماهی در سن ۲۵ روزگی (H&E X1000)
EP: بافت پوششی C: مژه



شکل۷) برش عرضی روده میانی فیل ماهی در سن ۴۳ روزگی (PAS X200)
EP: بافت پوششی LP: پارین GI: غدد روده



شکل۸) برش طولی راست روده فیل ماهی در سن ۷۵ روزگی (PAS X100)
GC: سلولهای جامی شکل

در تاسماهی سیبری نیز تعداد واکوئل‌های فوق هسته‌ای با ذخایر چربی در سلول‌های اپیتلیوم در سن پنج‌الی هفت روزگی بطور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Gisbert*et al.*, 1998).

با رشد لارو بتدریج ذرات چربی در سلول‌های استوانه‌ای روده ذخیره می‌شوند. این ذرات در نتیجه هضم مواد زرده‌ای ایجاد می‌شوند. همین امر منجر به بزرگتر شدن تدریجی‌سلول‌های استوانه‌ای روده می‌گردد. این ذرات چربی در کبد نیز تجمع می یابند. تجمع ذرات چربی تا زمان شروع تغذیه فعال ادامه‌می‌یابد. این ذرات بتدریج از روده و سپس از کبد جذب می‌شوند (دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳) (Gisbert*et al.*, 1998).

در شرایطی که ذخایر غذایی در زمان جستجوی غذا برای لارو مناسب نباشد، ذخایر چربی منبع انرژی برای لاروها است (Dettlaf *et al.*, 1993). تجمع ذرات چربی در سیتوپلاسم سلول‌های آنتروسیت به عنوان ذخیره موقتی مورد توجه می‌باشد. این امر احتمالاً در اثر عدم هضم چربی و ناتوانی در سیال کردن آن می‌باشد (پهلوان‌یلی، ۱۳۸۰).

تغذیه فعال در تاس ماهیان با خروج لکه ملانین پروپکا از انتهای روده شروع می‌شود (Dettlaf *et al.*, 1993).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که لاروفیل ماهی در روز پانزدهم به مقدار قابل توجهی دارای ذخایر زرده‌ای است. ملانین پروپکا در تعدادی از نمونه‌ها دفع نشده و در تعدادی نیز تا نیمه از مخرج خارج شده ولی به صورت کامل دفع نشده بود. در این روز برای جلوگیری از کانیبالیسیم مقدار قابل توجهی ناپلیوس آرتمیا و دافنی به محیط پرورش لاروها اضافه شد، ولی بررسی وضعیت تغذیه‌ای نشان داد که لاروها هنوز تغذیه خارجی خود را آغاز نکرده بودند. درروز هفدهم تعدادی از لاروها به تغذیه خارجی روی آوردند. این در حالی بود که هنوز ذخایر زرده‌ای در قسمت‌هایی از روده وجود داشت و لکه ملانین پروپکا نیز در برخی از نمونه‌های تغذیه‌شده مشاهده‌گردید.

بر اساس گزارش Gisbert و همکاران (۱۹۹۷) تغذیه ابتدایی لارو تاسماهی سیبری با دفع ملانین همراه است، ولی در برش‌های بافتی بعدی حضور همزمان ذرات غذا و ملانین پروپکا در مجاری گوارشی مشاهده‌شده است. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر و نیز نتایج ذکر شده در مورد دیگر گونه‌های ماهیان خاویاری چنین به نظر می‌رسد که خروج لکه ملانین پروپکا معیار مناسب دیداری برای انتخاب بهترین زمان جهت شروع تغذیه در لارو ماهیان خاویاری نمی‌باشد (Gibsert *et al.*, 1998).

چین‌های مخاطی روده قابلیت جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد (Al Abdulhadi, 2005). روده مارپیچ جایگاه اصلی هضم و جذب دستگاه گوارش تاس ماهیان می‌باشد (شیبانی، ۱۳۸۲). وجود دریچه مارپیچی باعث کند و آرام شدن حرکت توده غذایی

شده و عمل جذب بخوبی انجام می‌گیرد. از طرفی وجود این چین‌های مخاطی بزرگ در افزایش سطح جذب روده‌ای مؤثر است (پهلوان پلی، ۱۳۸۰). در قره‌برون بالای ده سال، چنین ساختاری بسیار کاملتر و وسیع‌تر می‌شود. لذا حرکات توده غذایی در دریچه‌های مارپیچی از نقطه نظرمورفوفیزیولوژیک نظیر دستگاه‌گوارش مهره‌داران نوعی حرکت دودی محسوب می‌شود (شیبانی، ۱۳۷۵).

در بررسی‌های بافتی تاس‌ماهی ایرانی در سنین بالای ده سال، تغییر تدریجی اپیتلیوم استوانه‌ای ساده یا شبه مطبق راست روده به سنگفرشی مخرج مشاهده شده است (شیبانی، ۱۳۷۵). این وضعیت در مطالعات بافت شناسی دستگاه گوارش لارو فیل‌ماهی نیز دیده شد. اما در ماهی کپور معمولی تشخیص محدوده بین روده (روده کوچک و بزرگ) از نظر بافتی مشکل است (بانان خجسته و همکاران، ۱۳۸۸). در حالی که در ماهی گلی قسمت انتهایی روده بر خلاف قسمت‌های ابتدایی و میانی فاقد چین‌های مخاطی است (Cinar and Senol, 2006).

نوع ماده موکوسی ترشح شده بر اساس گونه ماهیان و نیز مسیرهای مختلف دستگاه گوارش متفاوت است (Cinar and Senol, 2006). چنین به نظر می‌رسد که در لارو فیل‌ماهی وجود تعداد زیاد سلول‌های جامی و همچنین مژه‌های بلند و فراوان در ناحیه راست روده در جذب بیشتر و سهولت دفع ضایعات غذایی مؤثر می‌باشد. رنگ آمیزی PAS این مطلب را تأیید می‌کند. ازدیاد سلول‌های جامی شکل و افزایش ترشحات موکوسی، جهت به خارج راندن مواد و ضایعات غذایی ضروری است.

افزایش سلول‌های جامی شکل ترشح کننده مخاط در میان سلول‌های استوانه‌ای در قسمت انتهایی روده کپور معمولی بیشتر از قسمت ابتدایی روده بوده است (بانان خجسته و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش سلول‌های جامی به سمت انتهای کانال گوارشی در ماهی قزل آلا رنگین کمان (Banan Khojastehet *al.*, 2009) و ماهی گلی (Cinar and Senol, 2006) نیز دیده می‌شود.

وجود مواد مخاطی روده به تنظیم اسمزی، لغزنده سازی و دفع مواد زاید کمک می‌کند اما مطالعه انجام گرفته در گربه ماهی اروپایی نشان داد که سلول‌های جامی در بین چین‌های مخاطی روده به‌ندرت دیده می‌شود (Kozaric *et al.*, 2008).کیفیت مواد مخاطی روده به‌طور مستقیم با شرایط محیطی، تغذیه و همچنین نوع عملکرد کانال ارتباط دارد (Goff *etal.*, 1996).

در لارو فیل‌ماهی در سن ۲۵ روزگی طبقه‌عضلانی موجود در راست روده بسیار ضخیم شده و با افزایش سن بر ضخامت این لایه افزوده می‌شود. به نظر می‌رسد که طبقه عضلانی موجود در راست روده در راندن موکوس و مواد حاصل از گوارش نقش عمده‌ای داشته باشد.

در لارو فیل ماهی در ۷۵ روزگی در ناحیه رأسی دریچه‌ها توده‌های لنفاوی وجود دارد که در قسمت‌های انتهایی روده وسیع‌تر می‌شوند. وجود تشکیلات لنفاوی دربافت پارین قسمت‌های انتهایی روده در لارو و بچه‌ماهی انگشت قدفیل ماهی بواسطه آسیب پذیری مخاط روده‌که در معرض پاتوژنهای مختلف می‌باشند، جهت محافظت و افزایش قدرت دفاعی بافت‌های مزبور بسیار مؤثر باشد.

مراحل تکاملی لارو ماهیان در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی و همچنین در ماهیان خاویاری بسته به نوع گونه، درجه حرارت، کیفیت تخم و اندازه تخم متفاوت می‌باشد. همچنین تکوین قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش نیز از نظر زمانی متفاوت است. از طرفی شروع تغذیه فعال زمانی صورت می‌گیرد که دستگاه گوارش آمادگی هضم غذای خارجی را داشته باشد. بنابراین هرگونه تأخیر در شروع تغذیه خارجی باعث تلفات زیادی خواهد شد. لذا داشتن اطلاعات بنیادی از اندام‌زایی و عملکرد این دستگاه به منظور موفقیت در امر پرورش لارو،

به‌کارگیری رژیم‌های غذایی اولیه و توسعه و توصیه الگوهای تغذیه‌ای مفید خواهد بود.

منابع

بانان خجسته، س.م.، ابراهیمی، س.، رمضانی، م.، و حسق‌نیا، ح. ۱۳۸۸. مطالعه هیستولوژی، هیستوشیمیایی مری و روده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه علمی-پژوهشی زیست شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ۴: ۱۷ تا ۲۶.

بیلارد، ر.، و دپشی، ژ. ۱۳۸۱. مروری بر جنین-شناسی ماهی، ترجمه: عابدی، م. انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر. صفحات ۷۲ تا ۷۵.

پهلوان یلی، م. ۱۳۸۰. مطالعه بافت‌شناسی مراحل تکاملی دستگاه گوارش تاسماهی ایران *(A.persicus)* از مرحله شروع تغذیه فعال تا زمان رهاسازی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه منابع طبیعی تهران، ۱۰۱ صفحه.

شیبانی، م.ت. ۱۳۸۲. مطالعه ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک بخش خلفی لوله گوارش تاس‌ماهی چالباش. مجلهٔ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۸: ۴۵ تا ۴۸.

شیبانی، م.ت. ۱۳۸۴. بررسی ساختار میکروسکوپیک طحال و بافت‌های لنفاوی همراه دستگاه گوارش در ماهی قره‌برون. مجلهٔ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۶۰: صفحات ۳۷ تا ۴۲.

شیبانی، م.ت. ۱۳۷۵. بررسی میکروسکوپیک لوله گوارش تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*). پایان‌نامه دکترای تخصصی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ۱۲۲ صفحه.

شیبانی، م.ت.، و پوستی، ا.، ۱۳۷۹. مطالعه بافت‌شناسی روده در ماهی قره‌برون. مجله پژوهشی و سازندگی، ۴۹: صفحات ۸۹ تا۹۱.

کاظمی، ر.، و بهمنی، م.، ۱۳۷۷. دستورالعمل رنگ‌آمیزی بافت‌ها برای مطالعات بافت‌شناسی. بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، ۱۴ صفحه.

Al Abdulhadi, H.A. 2005. Some comparative histological studies on alimentary tract of Tilapia fish (*Tilapla spilurusi*) and seabream (*Mylio cuvieri*). Egyptian Journal of Aquatic Research. 31(1): 387-396.

Banan Khojasteh, S.M.; Sheikhzadeh, M. and Azami, A. 2009. Histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Applied Scinces Journal. 6(11): 525-1531.

Boglione, C.; Bronzi, P.; Cataldi, E.; Serra, S.; Gogliardi, F. and Cataudella, S. 1999. Aspects of early development in the Adriatic sturgeon (*Acipensernaccarii.)* J. Ichthyol. 15: 207-213.

Buddington, R.K. and Doroshov, S.L. 1986. Structural and functional relations of white sturgeon alimantary Canal *(A. transmontanus)*. J. Morph. 190: 201-213.

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. 35(3): 147-151.

Dettlaf, T.A.; Ginsburg, A.S. and Schmal Hansen, O.I. 1993. Sturgeon fishes, Developmental Biology and Aquaculture. Springer Verlag, 300p.

Domeneghini, C.; Arrighi, S.; Radaelli, G.; Bosi, G. and Mascarello, F., 1999. Morphological and histochemical peculiarities of the gut in the white sturgeon, Acipenser transmontanus. Eur. J. Histochem. 43(2): 135-145.

Gawlicka, A.; Teh, S.J.; Hung, S.S.O.; Hinton, D.E. and De lanoue, J. 1995. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during antogeny. J. Fish physiology. Biochem. 14: 357-371.

Gisbert, E. and Doroshov, S.I. 2003. Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris*). Aquatic Living Resources. 16(2): 77-89.

Gisbert, E. and Williot, P. 1997. Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon larvae under small scale hatchery production. Aquaculture. 156: 63-79.

Gisbert, E.; Robriguez, A.; Castello-Orvay, F. and Williot, P. 1998. A histological study of the development of the digestive tract of sibrian sturgeon *(Acipenser baeri)* during early ontogeny. Aquaculture. 167: 195-209.

Goff, G.P.; Murray, H.M. and Wright, G.M. 1996. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canalfrom three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. Journal of Fish Biology. 48: 187-206.

Kozaric, Z.; Kuzir, S.; Petrinec, Z.; Gjurcevic, E. and Bozic, M. 2008. The development of the digestive tract in larval European catfish (Silurus glanis L.). Anat Histol. Embryol. 37(2): 141-146.

Radaelli, G.; Domeneghini, C.; Arrighi, S.; Francolini, M. and Mascarello, F. 2000. Ultrastructural features of the gut in the white sturgeon, *Acipenser ransmontanus*. Histol. Histopathol. 15(2): 429-439.

Wilson, J.M. and Castro, L.F.C. 2010. Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. Fish Physiology. 30: 1-55.