فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۹، جلد ۱۰، شماره ۴، پائیز۹۶، صفحه۴۵ تا ۵۶

بافت شناسی غدد ضمیمه دستگاه گوارش در لارو تازه تفریخ یافته ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii kutum*

زهرا خوشنود
گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول. ایران.**ZKhoshnood@gmail.com**

تاریخ دریافت:۹۶/۵/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱

چکیده

زمینه و هدف: دریای خزر اکوسیستم بسته ای است که گونه های ارزشمندی از آبزیان را در خود جای داده است. این دریا امروزه به شدت تحت تاثیر آلاینده ها و عوامل محیطی مختلفی است که حیات گونه های ساکن در آن را در خطر قرار داده اند. به منظور مطالعه ی ساختار و بافت شناسی غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum*، لاروهای تازه تفریخ یافته ی این ماهی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش کار: لاروها ابتدا در محلول بوئن فیکس شده و پس از طی مراحل متداول بافت شناسی از آن ها برش هایی به ضخامت ٦ میکرومتر تهیه گردید، سپس با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شده و در نهایت توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند.

یافته ها: غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش شامل: کبد، هپاتوپانکراس، کیسه صفرا و کیسه ی زرده بود. کیسه ی زرده ساختاری بزرگ در بخش تحتانی بدن متشکل از سلول های زرده ای بود. بافت کبد، متشکل از هپاتوسیت های چند وجهی بود که در اطراف سینوزوئیدهای کبدی قرار داشتند. مجاری صفراوی در بافت کبد شکل گرفته و به کیسه ی صفرا منتهی می شدند. در بخش انتهایی بافت کبد، ساختار هپاتوپانکراس قابل مشاهده بود که از سلول های ائوزینوفیل اگزوکرین شکل گرفته بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد که غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید بصورت کامل شکل گرفته و در نتیجه به مجرد باز شدن دهان می توانند وظایف ترشحی خود را به انجام برسانند.

واژه های کلیدی: ماهی سفید، کبد، هپاتوپانکراس، کیسه زرده، لارو.

مقدمه

دریای خزر پهنه ی آبی بسته ای است که گونه های ارزشمندی از ماهیان خاویاری، ماهی سفید و ماهی آزاد را در خود جای داده است(۳). این دریا امروزه به شدت تحت تاثیر آلاینده های مختلفی است که از راه پساب-های شهری، کشاورزی و صنعتی وارد آن می شوند و حیات گونه های ساکن در آن را در خطر قرار داده اند(۹). ماهی سفید(*Rutilus frisii kutum*)، از خانواده کپور ماهیان، از مهم ترین ماهیان استخوانی اقتصادی سواحل و رودخانه‌های حاشیه جنوبی دریای خزر می-باشد که ذخایر آن به دلیل صید بیش از حد مجاز در حال کاهش است. به منظور بازسازی ذخایر این ماهی سالانه بیش از ۲۰۰ میلیون قطعه بچه ماهی ۱-۲ گرمی توسط سازمان شیلات ایران در کارگاه های تکثیر تولید و به رودخانه ها رهاسازی می شوند(۹). ماهی سفید با توجه به ارزش غذایی بالا، کیفیت عالی گوشت و لذیذ بودن مورد توجه صیادان، ساحل نشینان و مردم کشور ما و حتی سایر کشورهای حاشیه دریای خزر می باشد. این ماهی رودکوچ(anadromous) است و بخش عمده زندگی خود را در دریا گذرانده و در فصل بهار و یا پاییز جهت تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند(۹).

ماهی سفید از نظر رژیم غذائی جزو ماهیان همه چیزخوار بوده ولی برخلاف سایر ماهیان همه چیزخوار به دلیل کوتاه بودن طول روده دارای طیف غذایی محدودی می-باشد. این ماهی از انواع فیتوپلانکتون‌های گیاهی، زئوپلانکتون‌های جانوری و لارو حشرات به عنوان غذای آغازین استفاده نموده ولی پس از رسیدن به وزن بالاتر و در مراحل پس از مهاجرت به دریا عمدتاً از صدفه ای دو کفه ای تغذیه می نماید(۷). بررسی و مطالعه مراحل نموی یک موجود زنده از ابتدای شروع زندگی انتوژنی(Ontogeny) نامیده می شود، مراحل ابتدایی نمو به عنوان حساس ترین مراحل چرخه ی زندگی نسبت به اثرات آلاینده های شیمیایی، فاکتورهای محیطی و غیره شناخته می شوند(۳۰). دستگاه گوارش یکی از مهم ترین دستگاه های بدن لاروهای تازه تفریخ یافته به شمار می رود که می تواند در تغذیه، تنظیم اسمزی، خون سازی و غیره نقش داشته باشد. در روزهای نخست پس از تفریخ در اکثر ماهیان، دهان که بخش ابتدایی این دستگاه است عمدتاً بسته بوده و تغذیه ی فعال خارجی وجود ندارد، اما غدد ضمیمه ی این دستگاه از جمله کیسه زرده به صورت فعالانه وظایف مختلف خود را انجام می دهند(۳۰). دستگاه گوارش در لارو ماهی سفید دریای خزر متشکل از دهان، حلق، مری، روده ی قدامی، روده ی خلفی و مخرج بوده و این ماهی فاقد بخش مشخصی به نام معده می باشد، گشودگی دهان در روزهای ۴-۵ پس از تفریخ رخ می دهد و لارو شروع به تغذیه ی خارجی می کند، در طی چند روز پس از گشودگی دهان، کیسه زرده جذب می شود(۹). غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش، کبد، پانکراس و کیسه ی صفرا، نقش مهمی در فرآیندهای تغذیه ای و حفظ هموستاز بدن ماهی دارند(۱۵). کبد اندامی بسیار مهم است که نقش آن نه تنها در متابولیسم مواد غذایی، تبدیل و انتقال آن ها به بافت های محیطی، بلکه تولید صفرا و سمیت زدایی از ترکیبات مضر با منشا درونی(متابولیت ها) و بیرونی است. پانکراس متشکل از یک بخش برون ریز است که ترشح کننده ی آنزیم های گوارشی بوده و در هضم روده ای مواد غذایی نقش ایفا می کند و یک بخش درون ریز دارد که جزایر لانگرهانس نامیده می شود و ترشح کننده‌ی هورمون هایی نظیر انسولین، سوماتوستاتین، پپتیدپانکراسی و یا گلوکاگون می باشد. کیسه ی صفرا نیز یکی دیگر از غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش می‌باشد که ترشح کننده ی صفرایی است که در کبد تولید شده و به منظور امولسیفیه کردن ذرات غذایی(مانند لیپیدها) و افزایش pH معده به کار برده می شود. در ماهیان تلئوست هپاتوسیت ها در اطراف سیاهرگ اصلی کبدی چیده شده اند. مطالعات میکروسکپی انجام شده بر بافت کبد نشان می دهد که می توان انواعی از هپاتوسیت ها را بر اساس اندامک های سلولی، مواد ذخیره ای و سطوح سلولی شناسایی کرد(۳۳). مهم ترین ماده ی ذخیره ای در کبد ماهیان گلیکوژن و در موارد کمتری لیپید است. زمان تمایز کبد در گونه های مختلف متفاوت و به طور کلی وابسته به روند چرخه ی زندگی می باشد(۱۵). کبد(liver) بزرگ ترین غده ی ضمیمه ی دستگاه گوارش به شمار می رود. وظیفه ی این اندام شامل جذب نوترینت ها، تولید صفرا، سم زدایی، حفظ هموستاز متابولیک بدن، شامل کنترل متابولیسم کربوهیدرات ها، پروتئین ها، لیپیدها و ویتامین ها می باشد. هم چنین کبد نقش مهمی در سنتز پروتئین های پلاسما مانند آلبومین، فیبرینوژن و عوامل سیستم کمپلمان برعهده دارد(۲۰). بافت کبد از مهم ترین بافت های دخیل در فرآیند سمیت‌زدایی محسوب می گردد، این بافت محل اصلی فرآیندهای سمیت زدایی در مورد آلاینده های مختلف به شمار می رود. این در حالی است که بسیاری از سموم و آلاینده ها می توانند خود منجر به ایجاد آسیب بافتی در بافت کبد گردند که از این منظر آسیب هایی نظیر

سرکوب فعالیت آنزیم هم- اکسیژناز کبدی، کاهش ذخیره ی گلیکوژنی کبد، تجمع ذرات لیپیدی در کبد، دژنرسانس بافت چربی، پرخونی، خونریزی، نکروز بافت کبدی، هجوم لنفوسیت ها، تورم کپسول کبدی، ادم هپاتوسیت ها، در مواجهه ی ماهی ها با آترازین، مس، آمونیاک، سوین، آلاینده های نفتی و جیوه در بافت کبد مشاهده شده است(۸، ۵، ۲). کیسه ی صفرا در ماهیان یک اندام کمکی در دستگاه گوارش بوده و وظیفه ی آن ذخیره و ترشح صفرای غلیظ شده است. صفرا عملکردهای مختلفی بر عهده دارد، از جمله، آسان کردن عملکردهای مختلف گوارشی و حذف متابولیت های کونژوگه در کبد، از جمله زنوبیوتیک ها(۲۱، ۱۱). کیسه ی زرده(yolk sac) اندام مهمی در دوران جنینی و روزهای آغازین تفریخ به شمار می رود. این کیسه محل ذخیره ی زرده ای یا ذخیره ی غذایی جنین و لارو تازه تفریخ یافته است و وظیفه ی تغذیه ای خود را حتی بعد از گشودگی دهان تا مدت زمانی پس از آن ادامه می دهد(۷). شناخت دستگاه ها و بافت هایی که در لاروهای تازه تفریخ یافته وظایف حیاتی برعهده داشته و هرگونه آسیب یا تغییر در این بافت ها می تواند فرآیند بازسازی ذخایر آن ها را به خطر اندازد از اهمیت فراوانی برخوردار بوده و می تواند به بهبود فرآیندهای رهاسازی ماهیان کمک نماید، چرا که در زمان فرآیند رهاسازی، ماهی ها با انواعی از استرس های محیطی از جمله، غذایی، اسمزی، دمایی، شکارچیان، آلاینده ها و غیره مواجه می شوند که در این میان تامین انرژی لازم به منظور رفع کلیه ی این استرس ها از اهمیت فراوانی برخوردار است(۶). تغذیه ی مناسب و هضم و جذب مواد غذایی به کمک ترشحات دستگاه گوارش و غدد ضمیمه ی آن، متابولیسم و پاکسازی آلاینده های وارد شده به بدن و نیز متابولیسم مناسب ترکیبات مورد نیاز سلول های دخیل در فرآیندهای تنظیم اسمزی و غیره موجب بالابردن کارایی فرآیند رهاسازی ماهیان شده و در صورتی که مشخص شود که ماهی مورد نظر در سن پایین تری این توانایی ها را کسب می کند، از نظر اقتصادی فرآیند مقرون به صرفه تری خواهد بود(۴). از آن جایی که در مطالعه ی دستگاه گوارش ندرتاً به غدد و بافت های ضمیمه پرداخته می شود، منظور از مطالعه ی حاضر بررسی بافت شناسی غدد ضمیمه ی دستگاه گوارش لاروهای تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید با هدف شناخت ساختار این اندام ها و بافت شناسی آن ها می باشد.

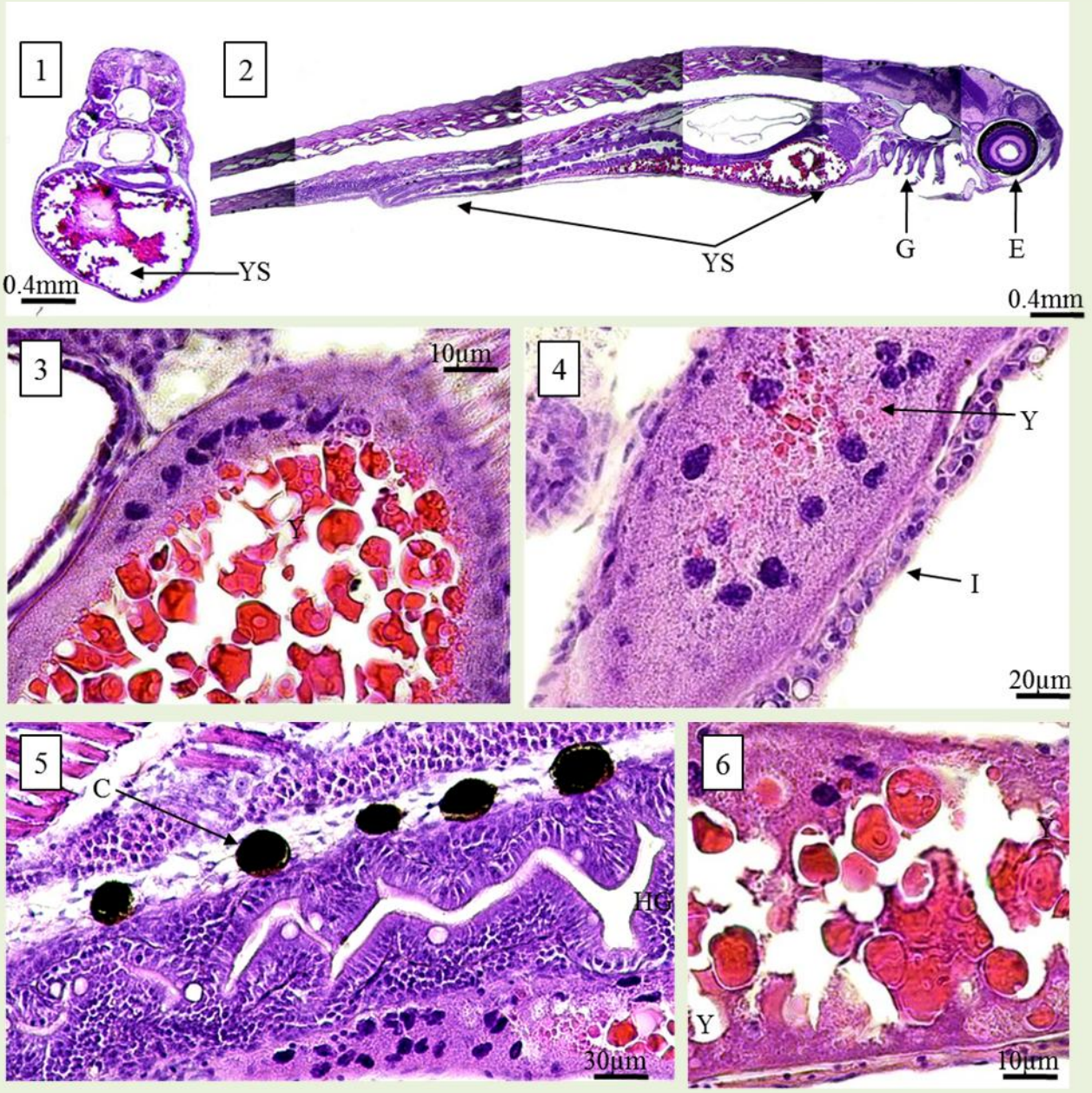
مواد و روش ها

به منظور مطالعه ی بافتی غدد ضمیمه دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ یافته ماهی سفید، تعداد ۶۰ لارو تازه تفریخ یافته(روز اول پس از تفریخ) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان شهید انصاری رشت تهیه شده و به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن فیکس گردیدند. جهت خارج شدن رنگ زرد بوئن از بافت ها چندین بار توسط اتانول ۷۰ مورد شستشو قرار گرفتند و در نهایت پس از چند مرحله آبگیری(توسط اتانول ۹۰ و ۱۰۰) و نیز شفاف سازی(توسط بوتانول و زایلن) و پارافینه کردن در پارافین مایع(در آون) توسط پارافین قالب گیری گردیدند(۱۷). سپس، از قالب های تهیه شده، به کمک میکروتوم(Leica RM2255)، برش های ۶ میکرومتری به صورت سریالی تهیه و بر روی لام های شیشه ای قرار داده شد. پس از پارافین زدایی توسط سری های زایلن و بوتانول، لام ها به روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین(H & E) توسط دستگاه رنگ آمیزی(Microm) رنگ آمیزی شدند(۱۹). سپس لام ها به وسیله ی لامل و چسب انتالن(Merck) مونتاژ گردیده و به کمک میکروسکوپ نوری(Nikon DS-Fi1 و Olympus DP72) مجهز به دوربین دیجیتال و توسط عدسی های ۴،

۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۱۰۰ مورد مطالعه و عکس‌برداری قرار گرفتند(۱۸).

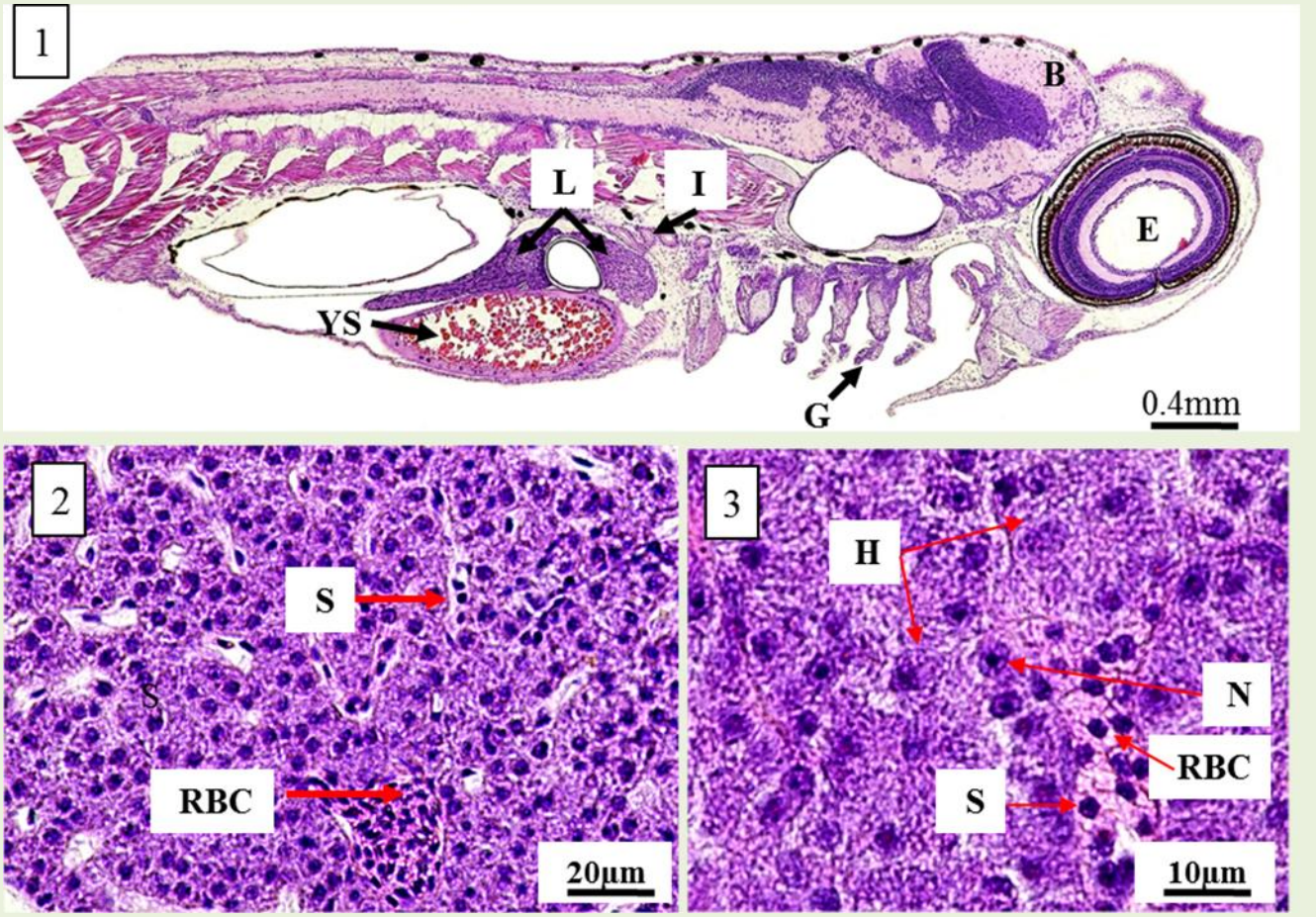
نتایج

در بافت شناسی دستگاه گوارش لاروهای تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید، *Rutilus frisii kutum*، غدد و بافت‌های ضمیمه ی دستگاه گوارش شامل کیسه ی زرده، کبد، کیسه صفرا و بافت هپاتوپانکراس بود. کیسه ی زرده در سطح شکمی بدن قرار داشت(شکل۱-۱)، این کیسه که متشکل از پلاک های زرده ای محتوی مواد غذایی ذخیره ای بود(اشکال(۱-۱،۳-۶) در بخش جلویی بدن بزرگ تر بوده و به سمت انتهای بدن باریک تر شد(شکل ۱-۲)، در روز ابتدایی پس از تفریخ این کیسه بسیار بزرگ بوده و به همین دلیل لاروهای تازه تفریخ یافته در حفظ تعادل خود در هنگام شنا با سختی مواجه بودند. در طول نمو با مصرف ذخیره ی زرده ای این کیسه، به تدریج از حجم این کیسه کاسته شده و در نهایت ناپدید گردید. سطح بیرونی کیسه ی زرده در سطح شکمی توسط سلول های اپی تلیال سنگفرشی پوشیده شده بود(شکل۱-۴) که در لابلای آن ها تعدادی سلول های موکوسی نیز مشاهده گردید(شکل۱-۴). این کیسه در ارتباط مستقیم با دستگاه گوارش بود(شکل۱-۵).بافت کبد در لارو ماهی سفید در اطراف بخش جلویی روده قرار گرفته است(شکل ۲-۱). بافت پارانشیم کبد تماماً از سلول های هپاتوسیت (hepatocytes) چندوجهی با هسته های مرکزی تشکیل شده اند(شکل ۲-۲). سینوزوئیدهای کبدی توسط لایه ی نازکی از یک ردیف سلول اندوتلیال پوشیده شده بودند. هسته های این سلول های اندوتلیال کشیده ب و به طرف فضای داخلی سینوزوئید برجسته شده اند(شکل ۲-۳). مجاری صفراوی(Bile ducts) نیز در پارانشیم کبد دیده شدند(اشکال ۳-۲ و ۳-۳)، مجاری بزرگ تر از به هم پیوستن مجاری کوچک تر شکل گرفته اند. این مجاری صفرای تشکیل شده را به کیسه ی صفرا(gall bladder) منتهی شده و توسط اپی تلیوم سنگفرشی مطبق کاذب پوشیده شده بودند(اشکال ۳-۱ و ۳-۴). صفرای ذخیره شده در کیسه ی صفرا از راه مجرای صفراوی به ابتدای روده می ریزد. مجاری کوچک صفراوی در کبد توسط یک لایه اپی تلیوم مکعبی پوشیده ولی مجاری بزرگ تر توسط بافت پیوندی و یا حتی لایه ای از بافت عضلانی احاطه شده بودند(شکل ۳-۳). در کبد لارو ماهی سفید، حالت لوبوله نظیر آن چه به طور مشخصی در پستانداران دیده می شود مشاهده نگردید. در بخش انتهایی بافت کبد بافت هپاتوپانکراس وجود داشت(شکل ۴-۱)، سلول های اگزوکرین بافت پانکراس که در لابلای هپاتوسیت ها پراکنده هستند(اشکال ۴-۲ و ۴-۳)، دارای تعداد زیادی وزیکول های ترشحی ائوزینوفیل در سیتوپلاسم خود بودند که در رنگ آمیزی با حضور ائوزین به رنگ قرمز مشاهده گردیدند(اشکال ۴-۲ و ۴-۳)



شکل ۱- بافت شناسی در بخش کیسه ی زرده در لارو ماهی سفید (رنگ آمیزی H & E).

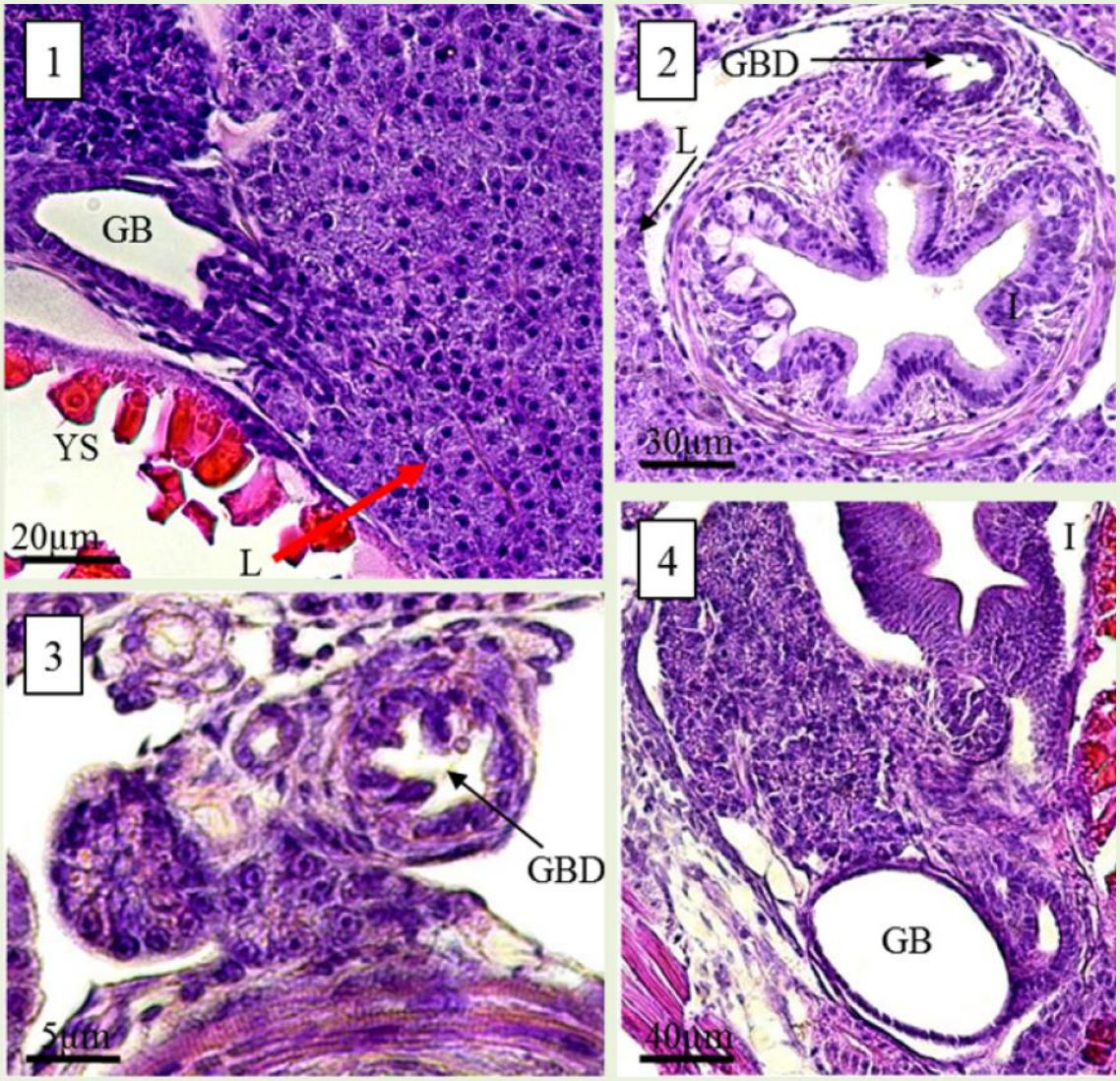
(۱):کیسه ی زرده در سطح شکمی بدن قرار گرفته و در روزهای ابتدایی بسیار بزرگ است. (۲):کبد قطره اشکی شکل بوده و در طول بدن امتداد دارد. (۳ و ۶):کیسه زرده از پلاکت های زرده ای پر شده است. (۴):کیسه زرده با بافت سنگفرشی پوست پوشیده شده است. (۵):کیسه ی زرده در ارتباط مستقیم با بافت دستگاه گوارش می باشد. E: چشم (Eye)؛ G: آبشش(Gill)؛ YS: کیسه زرده(Yolk Sac)؛ Y: زرده(Yolk)؛ I: پوست(Integument)؛ C:کروماتوفور (Chromatophore)؛ HG: روده عقبی(Hind Gut).



شکل۲- بافت شناسی کبد در لارو ماهی سفید(رنگ آمیزی H & E).

(۱):کبد بافتی نسبتاً یک بوده و بیشترین سلول های تشکیل دهنده ی آن هپاتوسیت ها می باشندو در لابلای آن ها مویرگ های ویژه ی کبدی که سینوزوئید نامیده می شوند دیده می شوند.(۲): هپاتوسیت ها دارای هسته های درشتی هستند.

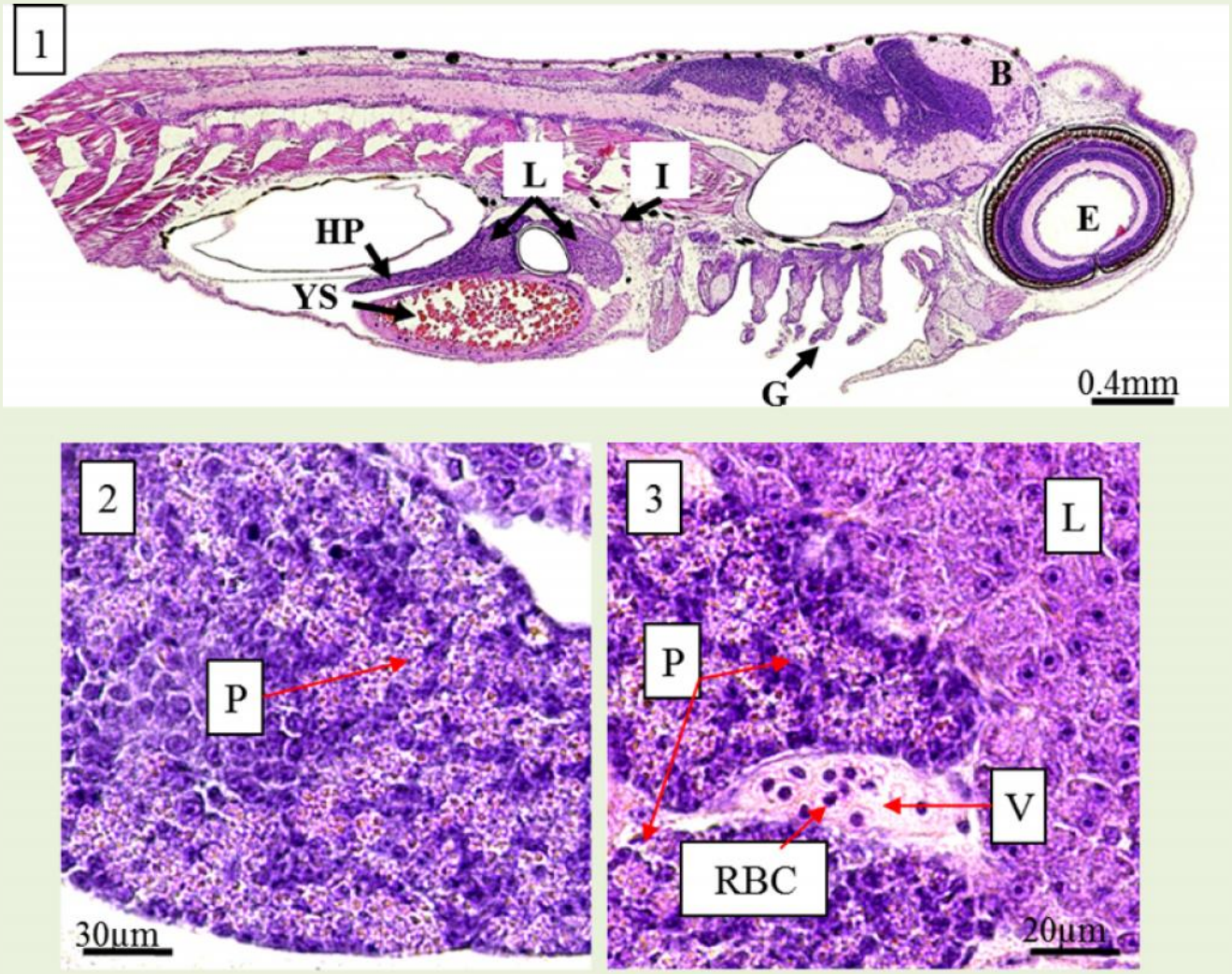
E: چشم (Eye)؛ G: آبشش (Gill)؛ YS: کیسه زرده (Yolk Sac)؛ I: پوست (Integument)؛ H : هپاتوسیت (Hepatocyte)؛ N: هسته (Nucleus)؛ S: سینوزوئید (Sinusoide)؛ RBC: گلبول قرمز (Red Blood Cell).



شکل۳-بافت شناسی کیسه ی صفرا و مجاری صفراوی در لارو ماهی سفید (رنگ آمیزی H & E).

(۱ و ۴): کیسه ی صفرا کیسه ی نسبتاً کوچکی است که در سطح شکمی بافت کبدی قرار گرفته است. سطح درونی این کیسه از بافت سنگفرشی پوشیده شده است. (۲ و ۳): کیسه صفرا ترشحات خود را که شامل صفرا می باشد توسط مجرای صفراوی به روده می ریزد.

GB: کیسه صفرا (Gall Bladder)؛ YS: کیسه زرده (Yolk Sac)؛ L: کبد (Liver)؛ GBD: مجرای کیسه صفرا(Gall Bladder Duct)؛ I: روده (Intestine).



شکل ٤- بافت شناسی هپاتوپانکراس در لارو ماهی سفید (رنگ آمیزی H & E).

(۱): بافت پانکراس که خود متشکل از بخش های درون ریز و برون ریز می باشد در لارو ماهی سفید در دنباله ی بافت کبدی دیده می شود. (۲ و ۳): سلول های بافت پانکراس در اطراف وریدهای کبدی قرار گرفته اند.

P: پانکراس (Pancreas)؛ L: کبد (Liver)؛ V: ورید (Vein)؛ RBC: گلبول های قرمز (Red Blood Cell).

بحث و نتیجه گیری

محققین مختلف بیان نموده اند که نمو کبد به طور مشخص نشان دهنده ی مرحله ی نموی در زمان تفریخ گونه های مختلف به شمار می رود. برای مثال، کبد در گونه های کاد اطلس(۲۳)، هادوک(۱۴)، گرگ ماهی معمولی(۱۵)، سیم دریایی سفید(۲۶)، دلقک ماهی پرکولا(*Amphiprion percula*)(۲۵)، تیلاپیا(۲۴)، و اسنوک خلیج(۱۰) کبد در زمان تفریخ شکل و نمو یافته است، این امر در لارو ماهی سفید نیز مشاهده گردید، که در نخستین روز تفریخ کبد به صورت یک اندام کاملاً مشخص قابل مشاهده بود، این در حالی است که در گونه‌های دیگری مانند سیم دریایی(۳۲)، هالیبوت کالیفرنیا(۱۳)، هالیبوت اطلس(۱۵)، دنتکس معمولی(۳۱)، پاندورای معمولی(۲۲)، باس ماسه ای منقوط(۲۸)، گروپر کلپی(*Epinephelus bruneus*)(۱۶)، تاسماهی سبز(۱۲)، سوف(۲۷) و گربه ماهی اروپایی(۲۱)، کبد پس از خروج لارو از تخم و در طی روند تغذیه ی اندوژنیک نمو می یابد.

صفرا توسط سلول های کبدی ترشح شده و به درون کانال های کوچک برون سلولی صفراوی ریخته می‌شود. کانالچه های صفراوی به هم متصل شده و مجرای صفراوی را بوجود می آورند که در نهایت به مجرای کبدی منتهی می شوند. این مجرا کبد را ترک کرده و به درون روده ی جلویی باز می شود. در بسیاری از گونه‌های ماهیان، مجرای کبدی، دارای شاخه ای به نام ductus cysticus می باشد که صفرا را به کیسه ی صفرا برده و در آن جا ذخیره می کند. دیواره های مجاری صفراوی از یک لایه سلول مکعبی تا استوانه ای که بر روی یک لایه از بافت پیوندی قرار گرفته تشکیل شده است. تشکیلات بافت شناسی مجرای کبدی نیز مشابه با این بخش بوده اما دارای یک لایه عضله ی صاف نیز می‌باشد(۳۳). نمو بافتی کبد و سیستم انتقال صفرا در ارتباط با نمو هپاتوسیت ها و افزایش توانایی آن ها در سنتز، ذخیره و تبادل کربوهیدرات ها و لیپیدها می باشد(۱۵). بخش برون ریز پانکراس در ماهیان تلئوست یک اندام پراکنده در مزانتر احاطه کننده ی دستگاه گوارش بوده و در مجاورت بافت چربی قرار دارد. بخش‌هایی از پانکراس در طول رگ های خونی اصلی کبدی در برخی گونه ها دیده می شود و هپاتوپانکراس را در گروه هایی مانند کپورماهیان، کاراسین ها و برخی گربه ماهیان شکل می دهد(۳۳، ۲۹)، در حالی که در سایر گونه ها مانند مارماهیان آنگوئیلید، اردک ماهی شمالی و یا گربه ماهی ژاپنی، پانکراس همانند آنچه در مهره داران عالی تر دیده می شود یک اندام مستقل می-باشد(۱۵). مطالعه ی حاضر نشان داد که در لارو تازه تفریخ یافته ی ماهی سفید با وجود این که گشودگی دهان در روزهای چهارم به بعد صورت می گیرد، اما بافت های دخیل در عملکردهای گوارشی دستگاه گوارش از نظر ساختاری کاملاً شکل گرفته و آماده ی شروع عملکرد خود به محض گشودگی دهان می باشند. هم چنین در این مطالعه، ساختار کیسه ی زرده به خوبی مورد بررسی قرار گرفته و مطالعه ی حاضر نشان داد که با افزایش رشد لارو و استفاده از ذخیره ی زرده ای تا هنگام گشودگی منفذ دهان اندازه ی این کیسه رو به کاهش می گذارد.

منابع

۱–حسین زاده صحافی، ه.، رجبی، ن.، طلوعی، م. ح.، سبحانی، م. ۱۳۸۷. شاخص های رشد بچه ماهی نورس کپور هندی روهو(*Labeo rohita*) تا مرحله ی یک ساله در شرایط اقلیمی استان گیلان. پژوهش و سازندگی. ۷۸; ۱۶۷–۱۷۵.

۲–خوشنود، ز. ۱۳۹۱. بررسی اثرات علف کش آترازین بر بیومارکرهای فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و هیستولوژیک مراحل تکوین لارو و بچه ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frisii kutum*) رساله دکتری تخصصی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

۳–خوشنود، ز.، مسافر خورجستان، س. ۱۳۹۰. مروری بر دو کفه ای های دریای خزر. فصلنامه دنیای آبزیان. ۹(۲۳); ۳۴–۳۸.

٤–زهتاب ور، ا.، طوطیان، ز.، صادقی نژاد، ج.، کرامت امیرکلایی، ع.، محمدشاه علی، ش.، شادی مزدقانی، م. ۱۳۹۴. مطالعه مورفولوژیک و مورفومتریک لوله گوارش و غدد ضمیمه کپور معمولی(*Cyprinus carpio*). پژوهش و سازندگی. ۱۰۶; ۴۳–۴۹.

۵–شاپوری، م.، عریان، ش.، اسماعیلی ساری، ع. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر فلز مس بر تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت های کبد، عضله و گناد ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. سال سوم. ۶; ۲۳–۲۹.

٦–شیبانی، م. ت.، پهلوان یلی، م. ۱۳۸۲. مطالعه بافت شناسی مراحل تکامل لاروی غدد ضمیمه گوارشی بچه تاسماهی ایرانی از زمان تفریخ تا رهاسازی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۸(۴); ۳۴۱–۳۴۵.

۷–فلاحی، م.، دقیق روحی، ج.، نهرور، م.، مرادی چافی، م.، سرپناه، ع. ۱۳۸۳. بررسی رشد و بقای لارو ماهی سفید با تغذیه ی روتیفر و مقایسه آن با غذای کنستانتره. پژوهش و سازندگی. ۶۳; ۶۶-۷۱.

۸–ناجی، ط.، خارا، ح.، رستمی، م.، نصیری پرمان، ا. ۱۳۸۸. بررسی اثر سمیت آمونیاک بر بافت کبد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره یازدهم. ۱; ۱۳۱-۱۴۸.

۹–ولی پور، ع.، خانی پور، ع. ا.، کریم پور قنادی، م. ۱۳۸۹. ماهی سفید جواهر دریای خزر. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. صفحه ۱۴.

10. Alvarez-González , A., Márquez-Couturier, G., Arias-Rodriguez, L. (2008). Advances in the digestive physiology and nutrition of bay snook *Petenia splendida*. In: Cruz, E. L., Ricque, D., Tapia, M.,(eds.) Avances Em Nutrición Acuícola IX. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Mexico, 135–235.

11. Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. (2009). Atlas of fish histology. Science Publishers. Enfi eld, New Hampshire 03748. United States of America, 144.

12. Gisbert , E., 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.

13. Gisbert , E., Piedrahita, R. H., Conklin, D. E. (2004). Ontogenetic development of the digestive system in California halibut(*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture, 232(4); 455–470.

14. Hamlin, H. J., Hunt Von Herbing, I., King, L. J. (2000). Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post– hatching ontogeny. Journal of Fish Biology, 57(3); 716–732.

15. Hoehne-Reitan, K., Kjørsvik, E. (2004). Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish. In: Govoni , J.J.(ed.) The development of form and function in fishes and the question of larval adaptation . american fisheries society, symposium 40. American Fisheries Society, Bethseda, 9 – 36 .

16. Kato, K., Ishimaru, K., Sawada, Y. (2004). Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory. Fisheries Science, 70(6); 1061–1069.

17. Khoshnood, Z. (2015a). Histological structure of visual system in Caspian Kutum (*Rutilus frsisii kutum*) larvae and fingerling. Romanian Journal of Biology and Zoology, 60(1); 61-68.

18. Khoshnood, Z. (2015b). Histopathological Alterations in the Kidney of Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*, Larvae and Fingerlings Exposed to Sublethal Concentration of Atrazine. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94; 158-163.

19. Khoshnood, Z., Jamili, S., Khodabandeh, S. (2015). Histopathological effects of atrazine on gills of Caspian kutum *Rutilus frisii kutum* fingerlings. Diseases of Aquatic Organisms, 113; 227-234.

20. Khoshnood, Z., Mokhlesi, A., Khoshnood, R. (2010). Bioaccumulation of some heavy metals and histopathological alterations in liver of Euryglossa orientalis and *Psettodes erumei* along North Coast of the Persian Gulf. African Journal of Biotechnology, 9(41); 6966-6972.

21. Kozarić, Z., Kužir, S., Petrinec, Z. (2008). The development of the digestive tract in larval European catfish (*Silurus glanis* L.). Anatomia Histologia Embryologia, 37(2); 141–146.

22. Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L. (2006). The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. Aquaculture, 251(2–4); 345– 365.

23. Morrison, C. M. (1993). Histology of the Atlantic Cod, Gadus morhua: An Atlas. Part Four. Eleutheroembryo and Larva. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, 119. National Research Council of Canada, Ottawa.

24. Morrison, C., Miyake, M., Wright, J. R. J T.. (2001). Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Journal of Morphology, 247(2); 172–195.

25.Önal, U., Langdon, C., Celik, I. (2008). Ontogeny of the digestive tract of larval *Percula clownfish, Amphiprion percula*(Lacepede 1802): a histological perspective, Aquaculture Research, 39(11); 1077–1086.

26. Ortiz-Delgado, J. B., Darias, M. J., Canavate, J. P., Yufera, M., Sarasquete, C. (2003). Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, Diplodus sargus. Histological and histochemical approaches. Histol Histopathol, 18; 1141-1154.

27. Ostaszewska, T. (2005). Developmental changes of digestive system structures in pike-perch (Sander lucioperca L.). Electronic Journal of Ichthyology, 2(2); 65–78.
28. Peña, R., Dumas, S., Villalejo-Fuerte, M. (2003). Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. Aquaculture, 219(1-4);633 – 644.
29. Petcoff , G. M. , Díaz, A. O., Escalante, A. H. (2006). Histology of the liver of *Oligosarcus jenynsii* (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina. Iheringia, Série Zoolologia, 96(2); 205 – 208.
30. Sahlmann, C., Gu, J., Kortner, T. M., Lein, I., Krogdahl, A., Bakke, A. M. (2015). Ontogeny of the digestive system of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and effects of soybean meal from start feeding. Plos One, 10(4); 1-23.
31. Santamaría, R., Marínde Mateo, M., Traveset, R. (2004). Organogenesis in larval common *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and histochemical aspects. Aquaculture, 237; 207–228.
32. Sarasquete, C., Polo, A., Yúfera, M. (1995). Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. Aquaculture, 130; 79– 92.
33. Takashima, F., Hibiya, T. (1995). An atlas of fish histology. Normal and Pathological Features , 2nd edition. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.

Histology of Digestive System Accessory Glands in Newly Hatched Larvae of Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*

Z. Khoshnood
Department of Biology, College of Science, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran. **ZKhoshnood@gmail.com**

Received:2017.4. 8 **Accepted: 2017.23. 10**

Abstract

Inroduction & Objective: Caspian Sea is an enclosed ecosystem, which contains valuable aquatic species. This ecosystem is under the influence of pollutants and environmental factors which put the life of inhabitant species in danger. To investigate the structure and histology of digestive system accessory glands of newly hatched larvae of Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*, the larvae of this fish were examined.

Material and Method: First of all, the larvae were fixed in bouin solution and after the common protocol of the histology, 6 µm thick sections were modified and after the staining of haematoxylin and eosin the sections were studied using light microscope.

Results: The accessory glands of digestive system were: liver, hepatopancreas, gall bladder and the yolk sac. Yolk sac was a large structure at the ventral side of the body made of the yolk cells. Liver was made up of hepatocytes which were multidimensional cells sited around the hepatic sinusoids. Bile ducts were observed in liver and ended up in to a gall bladder. At the terminal part of the liver tissue there was a hepathopancreas composed of eosinophilic exocrine cells.

Counclusion:Results of the present study showed that the accessory glands of digestive system in newly hatched larvae of Caspian kutum were totally formed and practical waiting for opening of the mouth to complete the secretory duty of themselves.

Keywords: Caspian Kutum, Liver, Hepathopancreas, Yolk sac, Larvae.

.