مطالعه شیمی بافتی لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از زمان تفریخ تا مرحله بچه ماهی یک تابستانه (Parr)

معصومه بحرکاظمی*[۱]، باقر مجازی امیری[۲]، ایرج پوستی[۳] و امیرسعید ویلکی[۴]

[۱] عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

[۲] دانشیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران

[۳] استاد گروه دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

[۴] کارشناس‌ارشد سازمان شیلات ایران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۳/۲/۲۶، تاریخ تصویب: ۸۴/۳/۷)

چکیده

این پژوهش به‌منظور دستیابی به اطلاعات پایه‌ای در مورد چگونگی تغذیه بچه ماهیان آزاد دریای خزر، با مطالعه شیمی بافتی لوله گوارشی آنها انجام پذیرفت. در عمل، نوع ترشحات سلول‌های تشکیل‌دهنده لایه مخاطی لوله گوارش از نظر کربوهیدراتی، پروتئینی و چربی از زمان تفریخ تا مرحله بچه ماهی یک تابستانه مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌برداری لوله گوارشی در مراحل یک روزگی (روز اول تفریخ)، ۱۰ روزگی، ۲۵ روزگی (شروع تغذیه فعال)، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و۶ ماهگی (مرحله پار) بچه ماهیان به‌صورت کاملاً تصادفی و عملیات بافت‌شناسی با استفاده از رنگ‌آمیزی خاص (پریودیک اسیدشیف و برومونفل بلو) صورت پذیرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که در لارو یک‌روزه، قسمت اعظم بدن را کیسه زرده تشکیل می‌دهد و با اینکه دهان تا حدی باز شده است، سایر اندام‌های گوارشی شکل نگرفته‌اند. در این زمان، دستگاه گوارش فقط یک لوله ابتدایی است که هیچ‌گونه ترشحات مخاطی در آن مشاهده نمی‌شود. کیسه زرده اغلب شامل ترکیبات پروتئینی، پلی‌ساکاریدهای خنثی و به میزان کمتری چربی است. فعالیت ترشحی در لوله گوارش با ظهور سلول‌های ترشحی جامی شکل در اپیتلیوم دهان، حلق و مری در لارو ۱۰ روزه آغاز می‌شود. در این زمان سطح مخاط لوله گوارش را لایه‌ای از ترکیبات موکوپلی‌ساکاریدی خنثی می‌پوشاند که علاوه بر تسهیل انتقال ذرات غذایی در محافظت لایه اپیتلیومی نقش دارد. با شروع تغذیه فعال در لارو ۲۵ روزه، علاوه بر ترشحات پلی‌ساکاریدی، ترکیبات پروتئینی نیز بویژه در چینهای مخاطی مری خلفی دیده می‌شود که نشان از فعالیت هضمی بالای آن منطقه در این مرحله دارد و چند روز پس از شروع تغذیه خارجی با افزایش فعالیت آنزیمی معده و روده، این حالت بتدریج برطرف می‌شود. وجود ترشحات پلی‌ساکاریدی خنثی در سطح مخاط معده و روده در طول نمونه‌برداری، نشان‌دهنده نقش آنها در هضم و جذب مواد غذایی و همچنین حفاظت از لایه مخاطی است. همچنین با شروع تغذیه خارجی و ظهور ترشحات پروتئینی در مجاری غدد معدی، فعالیت هضمی آنزیم‌های معده آغاز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ماهی آزاد، لوله گوارش، یک تابستانه، تغذیه فعال.

* نویسنده مسئول: تلفن: فاکس: E-mail: mbkazemy@yahoo.com

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر در میان ماهیان استخوانی ارزش اقتصادی زیادی دارد. کاهش نسل گونه مزبور به علل مختلف، سازمان شیلات ایران را بر آن داشت تا برای بازسازی ذخایر این گونه بومی، از سال ۱۳۶۲ به تکثیر ماهیان مولد رهسپار به رودخانه، پرورش بچه ماهیان تا مرحله اسملت (Smolt) و رهاسازی آنها به دریای خزر، اقدام کند (۲).

با وجود اطلاعات موردی درباره دستگاه گوارش ماهیان مولد آزاد دریای خزر (۵) و همچنین ساختار مورفومتریک آن، هیچ‌گونه اطلاعی از چگونگی رشد مرحله به مرحله لوله گوارش و فعالیت‌های ترشحی و هضمی آن در دست نیست.

در چند دهه اخیر، استفاده از شیوه‌های بافت‌شناسی و انجام مطالعات میکروسکوپی در جهت شناخت وضعیت فیزیولوژیک ارگان‌های مختلف ماهیان بسیار متداول شده است. مطالعه بافت‌شناسی دستگاه گوارش نیز که در خصوص هضم و جذب غذا بوده و برای درک فیزیولوژی تغذیه لازم است، امروزه در مواردی چون تنظیم فرمولهای غذایی مناسب برای ماهیان مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (۶، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۴). شایان ذکر است که مطالعه فیزیولوژیکی دستگاه گوارش به سه صورت مطالعه بافت‌شناسی[۱]، شیمی بافتی[۲] و آنزیمی[۳] دستگاه گوارش صورت می‌گیرد. در مطالعه بافت‌شناسی، نحوه شکل‌گیری و اندام‌زایی در دستگاه گوارش و در مبحث شیمی بافتی، ترشحات سلول‌های مختلف لایه مخاطی که سراسر لوله گوارش، از دهان تا مخرج را می‌پوشاند و نقش مهمی در گوارش غذا دارد، بررسی می‌شود. در مطالعه آنزیمی نیز نوع و زمان ترشح آنزیم‌های مختلف گوارشی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در این‌باره، ابتدا مطالعه بافت‌شناسی دستگاه گوارش ماهی آزاد دریای خزر از مرحله تفریخ تا پار انجام شد (۱). به دنبال آن با بررسی شیمی بافتی لوله گوارش سعی شد، علاوه بر دستیابی به اطلاعات اولیه در مورد فعالیت ترشحی لوله گوارش، که در تعیین زمان مناسب شروع تغذیه خارجی و تنظیم فرمول غذایی مناسب می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد، همچنین مقایسه گونه مورد نظر و سایر گونه‌هایی که مورد بررسی قرار گرفته‌اند، زمینه‌ای برای انجام مطالعات گسترده‌تر همچون بررسی آنزیمی و یا هیستوپاتولوژیک دستگاه گوارش فراهم شود.

مواد و روش‌ها

در این بررسی مولدین وحشی ماهی آزاد دریای خزر در طول مهاجرت تولید مثلی خود به رودخانه‌های بخش جنوبی دریای خزر در آبان ۱۳۸۱ صید و برای تکثیر مصنوعی به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت منتقل شدند. پس از انجام عمل لقاح به روش خشک تخم‌ها به سالن انکوباسیون منتقل شدند که در دمای ۸-۶ درجه سانتی‌گراد آب سالن انکوباسیون تخم‌ها پس از گذشت ۶۴-۶۰ روز تفریخ شدند. از آنجا که هدف مطالعه لوله گوارش ماهی آزاد از زمان تفریخ تا مرحله پار بود، نمونه‌برداری به‌صورت کاملاً تصادفی در مراحل یک روزگی، ۱۰ روزگی، ۲۵ روزگی (مرحله شروع تغذیه فعال)، لارو یک ماهه و از آن پس تا مرحله پار (بچه ماهی ۶ ماهه)، ماهانه یک بار انجام شد. از هر مرحله تقریباً ۳۰ نمونه برداشته شد. نیمی که برای مطالعه موکوپلی‌ساکاریدی (رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف، PAS[۴]) در نظر گرفته شدند، توسط محلول بوئن (۷۰ درصد اسید پیکریک، ۲۵ درصد فرمالین، ۵ درصد اسید استیک) و بقیه که برای مطالعه پروتئینی (رنگ‌آمیزی برموفنل بلو، BPB[۵]) در نظر گرفته شدند، توسط محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد (۱۰۰cc فرمالین ۴۰ درصد، ۴ گرم فسفات مونوسدیک، ۶/۵ گرم فسفات دی سدیک و ۹۰۰ سی‌سی آب مقطر) تثبیت شدند (۳). سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شدند و بعد از گذشت

۱- Histology
۲- Histochemistry
۳- Enzymetic
۴- Periodic Acid Schiff
۵- Brom Phenol Blue

حداقل ۴۸ ساعت، عملیات تهیه بافت از آنها به روش پارافینه کردن (Parraffinization) صورت گرفت (۳). پس از آماده‌سازی لام‌ها، کار رنگ‌آمیزی بافت‌ها صورت گرفت که از دو روش رنگ‌آمیزی استفاده شد؛ روش PAS که در نتیجه آن ترکیبات موکوپلی‌ساکاریدی خنثی به رنگ ارغوانی و سایر ساختمان‌ها به رنگ زرد در می‌آیند (۳) و روش BPB که در آن ترشحات پروتئینی به رنگ آبی و بقیه به رنگ سبز در می‌آیند (۱۳). برای تعیین سطوح چربی از نتایج دو رنگ‌آمیزی مذکور استفاده شد. بدین صورت که طی تهیه بافت‌ها و در مرحله شفاف‌سازی، ترکیبات چربی در گزیلل حل شده و پس از رنگ‌آمیزی به‌صورت حفرات خالی دیده می‌شوند (۳).

نتایج

ـ کیسه زرده

بررسی کیسه زرده نشان می‌دهد که دیواره آن که از چند لایه سلول سنگفرشی مطبق تشکیل شده است، با رنگ‌آمیزی PAS، به‌خوبی ارغوانی رنگ می‌شود. این مسئله در مورد سلول‌های ترشحی جامی شکل که به تعداد فراوان در میان سلول‌های پوششی جداره کیسه زرده وجود دارند نیز صادق است (شکل ۱). میزان رنگ‌پذیری زرده با رنگ‌آمیزی PAS کمتر از میزان آن با رنگ‌آمیزی BPB است و واکوئل‌های چربی به‌صورت اندک و پراکنده در آن دیده می‌شوند (شکل ۱).

ـ دهان و حفره دهانی – حلقی

با پیدایش سلول‌های جامی شکل در لایه اپیتلیومی منطقه دهانی – حلقی در لارو ۱۰ روزه، ترشح ترکیبات موکوپلی‌ساکاریدی خنثی توسط آنها آغاز می‌شود. همچنین وجود ترکیبات پلی‌ساکاریدی خنثی در وزیکول‌های سیتوپلاسیمی سلول‌های بافت پوششی در ناحیه دهان و حلق سبب می‌شود که سطح اپیتلیوم در این نواحی در مقابل رنگ‌آمیزی PAS، ارغوانی شود (شکل ۲). در این مرحله اثری از حضور ترکیبات پروتئینی در لایه مخاطی نیست، چرا که هیچ منطقه‌ای از آن به رنگ‌آمیزی BPB پاسخ نمی‌دهد. با شروع تغذیه فعال و افزایش تعداد سلول‌های جامی شکل[1] در لایه اپیتلیوم، نقش ترشحی فقط به آنها اختصاص می‌یابد که اغلب از نوع پلی‌ساکاریدی و به میزان کمتری، پروتئینی است (BPB, PAS). تا رسیدن به مرحله پار، بجز افزایش میزان ترشحات گلیکوپروتئینی خنثی توسط گابلت سل‌ها، تغییری در الگوی شیمیایی ترشحات لایه موکوسی دهان و حلق مشاهده نمی‌شود (شکل ۳و۴).

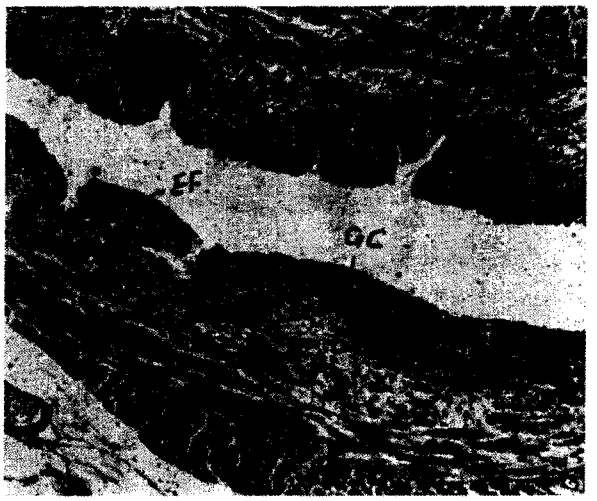
ـ مری

در لارو ۱۰ روزه، تعداد اندکی گابلت سل در نقاط مختلف مری به‌صورت پراکنده مشاهده می‌شود که الگوی رنگ‌آمیزی آنها با روشهای PAS و BPB نشان‌دهنده وجود مقادیر بیشتر ترکیبات پلی‌ساکاریدی خنثی و مقدار ناچیز ترکیبات پروتئینی است. در زمان شروع تغذیه خارجی، با رشد مری و شکل‌گیری بخش‌های قدامی و خلفی مری و ایجاد چین‌خوردگی‌های طویل در مری خلفی، میزان رنگ‌پذیری در مقابل PAS افزایش می‌یابد که این مسئله در بخش خلفی مری مشهودتر است. اما در بخش قدامی مری که محل قرارگیری تعداد فراوان گابلت سل است، نقش ترشحی اغلبً بر عهده آنهاست (اشکال ۵و۶). رنگ‌پذیری لایه پوششی مری نسبت به رنگ‌آمیزی BPB بدین صورت است که در مری قدامی به‌صورت جزئی در ترکیبات گابلت سل‌ها مشاهده می‌شود درحالی‌که سلول‌های استوانه‌ای‌شکل تشکیل‌دهنده چین‌های مخاطی مری خلفی در این روش تا حد زیادی رنگ می‌پذیرند که نشان‌دهنده بیشترین میزان ترشحات پروتئینی در مری خلفی در این مرحله است و پس از آن به تدریج کمتر می‌شود (شکل ۷). اما الگوی ترشحات پلی‌ساکاریدی آن تا مرحله parr ثابت می‌ماند.

۱- Goblet cells

شکل ۱ـ برش طولی کیسه زرده در بچه ماهی آزاد یک‌روزه، PAS×400، F_V: واکوئل چربی، Y_S: کیسه زرده، G_C: سلول جامی شکل

شکل ۲ـ برش طولی انتهای حلق و ابتدای مری در بچه ماهی آزاد ۱۰ روزه، PAS×1000، E: مری، GC: سلول جامی شکل، L: کبد، ph : حلق



شکل ۳ـ برش طولی ناحیه حلق در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، PAS×1000، EF: چین پوششی، GC: گابلت سل، BL: غشاء پایه، EP: بافت پوششی

شکل ۴ـ برش طولی انتهای دهان و ابتدای حلق در بچه ماهی آزاد ۲ ماهه، BPB×1000، EP: بافت پوششی، GC: گابلت سل

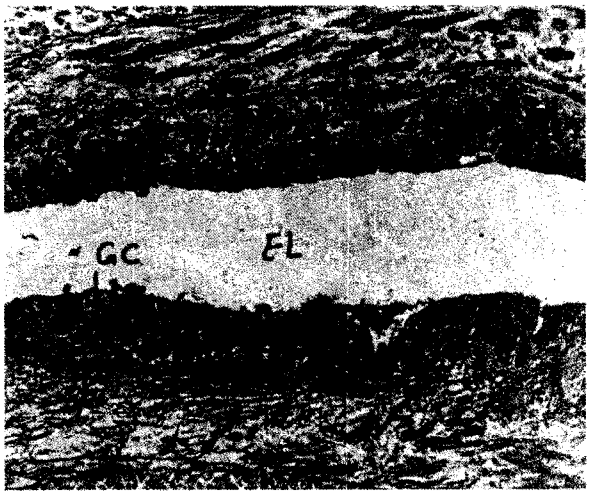
ـ معده

در لارو تازه تفریخ شده، ساختاری به نام معده وجود ندارد. اما در لارو ۱۰ روزه در مطالعه لوله گوارش، لایه گلیکوپروتئینی سطح سلول‌های استوانه‌ای‌شکل بافت پوششی معده غده‌ای و غیر غده‌ای را می‌پوشاند. به‌طور طبیعی چون در دو بخش معده، سلول ترشحی جامی شکل وجود ندارد، نقش ترشحی آن در این اندام حذف می‌شود و به وزیکول‌های سیتوپلاسمی سلول‌های ترشحی لایه

اپیتلیومی سطح چین خوردگی‌ها در دو بخش معده غده‌ای و غیر غده‌ای و همچنین سلول‌های تشکیل‌دهنده غدد معدی اختصاص دارد (شکل ۸). در زمان شروع تغذیه فعال، ترکیبات مثبت در مقابل رنگ‌آمیزی PAS و BPB در یک سوم انتهایی سلول‌های استوانه‌ای‌شکل مخاط مشاهده می‌شود. در مراحل بعدی بر شدت رنگ‌پذیری سطح لایه اپیتلیومی در مقابل PAS افزوده می‌شود و در مجاری غدد معدی نیز حضور آنها را می‌توان مشاهده کرد (شکل ۹). سطح چین‌خوردگی‌های معده در مقابل BPB نیز به میزان جزئی حساس است و این مسئله در مجرای داخلی غدد معدی به‌صورت رگه‌های آبی رنگ مشاهده می‌شود که دلالت بر وجود ترشحات پروتئینی در آنها دارد (شکل ۱۰).

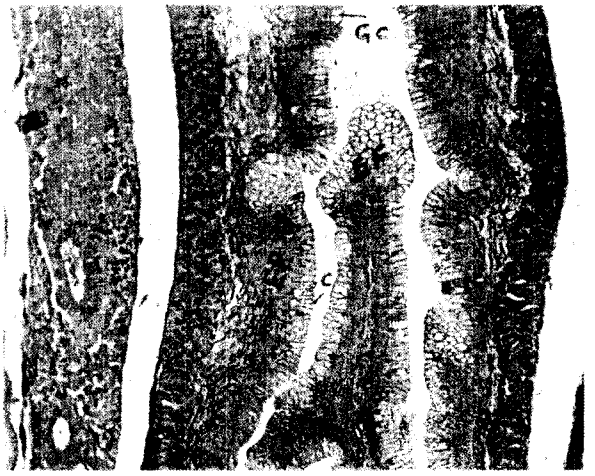
- روده

در لارو ۱۰ روزه، اپیتلیوم استوانه‌ای تا شبه مطبق روده در سه بخش قدامی، میانی و خلفی، فاقد گابلت سل است. همچنین در این مرحله، اثری از ترشحات موکوپلی‌ساکاریدی و یا پروتئینی دیده نمی‌شود. افزایش چشمگیری در تعداد واکوئل‌های چربی لایه اپیتلیوم روده مشاهده می‌شود که با شروع تغذیه خارجی و همزمان با جذب کیسه زرده، بتدریج محو می‌شود و پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای خنثی در وزیکول‌ها قابل تشخیص‌اند. همچنین با پیدایش گابلت سل‌ها در اپیتلیوم بخش میانی و بویژه خلفی روده، در زمان شروع تغذیه خارجی، نقش ترشحی روده نیز آغاز شده است. در سنین بعد، رنگ‌پذیری لایه اپیتلیومی و میکروکرک‌های روده‌ای نسبت به رنگ‌آمیزی PAS کاملاً مشهود است. این مورد در روده میانی که محل شکل‌گیری دریچه‌های مارپیچی است، مشهودتر است (شکل ۱۱)، درحالی‌که در این منطقه تعداد گابلت سل‌ها به مراتب کمتر از روده قدامی و خلفی است. الگوی شیمیایی در منطقه رکتوم نیز همانند روده خلفی است. در رنگ‌آمیزی BPB نیز، ترشحات آبی رنگ در راس سلول‌های استوانه‌ای‌شکل لایه اپیتلیوم در قسمت‌های مختلف روده مشاهده می‌شود (شکل ۱۲). الگوی شیمیایی سکوم‌های پیلوریک نیز که به‌عنوان جزئی از روده قدامی مطرح‌اند، مانند سایر نقاط روده است و تا مرحله پار، ثابت می‌ماند.



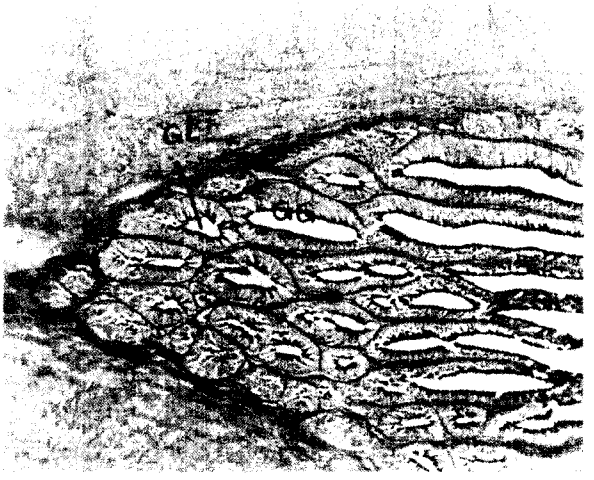
شکل ۵ـ برش طولی مری قدامی در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، PAS×1000. GC: گابلت سل، EL: فضای مری، EP: بافت پوششی

شکل ۶ـ برش طولی مری خلفی در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، PAS×1000. EP: بافت پوششی، EF: چین پوششی، GC: گابلت سل



شکل ۷ـ برش طولی مری خلفی در بچه ماهی آزاد ۲۵ روزه، BPB×1000، EP: بافت پوششی، C: مژه‌ها، EF: چین پوششی، GC: کابلت سل

شکل ۸ـ معده اولیه در بچه ماهی آزاد در ۱۰ روزگی، PAS×1000، GS: معده غده‌ای، NS: معده غیرغده‌ای، Y_S: کیسه زرده



شکل ۹ـ برش طولی معده غده‌ای در بچه ماهی آزاد در ۳ ماهگی، PAS×1000، GL: مجرای غدد، GG: غدد معدی،

شکل ۱۰ـ برش طولی معده غده‌ای در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، BPB×4000، EF: چین پوششی، C: مژه‌ها، EP: بافت پوششی، GG: غدد معدی

شکل ۱۱ـ برش طولی روده میانی در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، PAS×1000، GC: گابلت سل، SV: دریچه‌های مارپیچی، EP: بافت پوششی

شکل ۱۲ـ مقطع یک کرک روده‌ای در بچه ماهی آزاد ۳ ماهه، BPB×4000، MV: میکروکرک‌های روده‌ای، EP: بافت پوششی، VI: کرک روده‌ای

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه شیمی - بافتی کیسه زرده و محتویات آن در لارو ماهی آزاد دریای خزر، نشان می‌دهد که زرده اغلب حاوی پروتئین، گلیکوژن و پلی‌ساکاریدهای خنثی و به میزان کمتری، چربی است. انجام مطالعات شیمی – بافتی مشابه و آنزیمی در ماهی خاویاری سیبری و کفشک دم زرد مبین این مطلب است که در طول دوره تغذیه داخلی و در زمان جذب کیسه زرده، به دلیل کم بودن فعالیت آنزیمی، جذب زرده از طریق فرایندهای پینوسیتوز و آندوسیتوز توسط سلول‌های لایه اپیتلیومی کیسه زرده صورت می‌گیرد (۶ و ۱۰). وجود واکوئل‌های چربی در سیتوپلاسم سلول‌های اپیتلیومی روده که در ماهی آزاد ۱۰ روزه مشاهده شده و با شروع تغذیه خارجی محو می‌شود، نشان می‌دهد که نخست پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های زرده جذب می‌شوند، درحالی‌که چربی به‌صورت واکوئل در روده و کبد ذخیره می‌شود که این مسئله به دلیل نبودن آنزیم لیپاز در دوران قبل از شروع تغذیه خارجی است (۹).

در لارو ۱۰ روزه، در منطقه دهان و حلق، گابلت سل‌ها ابتدا با پیدایش در لایه اپیتلیومی شروع به تولید ترکیبات موکوپلی‌ساکاریدی خنثی می‌کنند که در زمان شروع تغذیه فعال، با افزایش تعداد آنها، ترکیبات پروتئینی نیز به آن افزوده می‌شود. بنابراین مشاهده می‌شود که پیدایش گابلت سل‌ها در محوطه دهان و حلق ماهی آزاد و شروع فعالیت آنها زودتر از شروع تغذیه فعال (لارو ۲۵ روزه) صورت می‌گیرد. این مسئله بیان‌کننده حد بالای قابلیت گوارشی این گونه است. این مورد در ماهی خاویاری سیبری، ۲ روز زودتر از شروع تغذیه فعال روی می‌دهد، درحالی‌که در گونه *Solea solea* تا زمان اولین تغذیه روی نمی‌دهد و در گونه *Sparus auratus* بعد از شروع تغذیه فعال شکل می‌گیرد (۷، ۹ و ۱۴).

به نظر می‌رسد وجود گابلت سل‌های فراوان در اپیتلیوم مخاط دهان و حلق و ترشح موکوس فراوان توسط آنها علاوه بر ایجاد لغزندگی در این منطقه و تسهیل در انتقال ذرات غذایی، نقش بزاق را در ماهیان برعهده داشته باشد و مخاط این نواحی را در برابر آسیب ناشی از ذرات غذایی سفت و سخت حفظ می‌کند (۱۱).

نقش ترشحی مری در لارو ۱۰ روزه با پیدایش گابلت سل‌ها شروع می‌شود که ترشحات آن از نوع گلیکوپروتئینی

خنثی است. مری قدامی با شکل‌گیری در زمان شروع تغذیه خارجی و حضور تعداد زیاد گابلت سل در این قسمت که ترکیبات گلیکوپروتئینی خنثی را ترشح می‌کنند، همانند مخاط دهان و حلق در تسهیل انتقال ذرات غذایی نقش دارد. درحالی‌که در مری خلفی که دارای چین‌خوردگی‌های طویل است، بیشترین میزان پاسخگویی به رنگ‌آمیزی BPB در زمان شروع تغذیه خارجی، بیان‌کننده نقش احتمالی این قسمت در گوارش است. به نظر می‌رسد که بخش خلفی مری در ابتدای شروع تغذیه فعال که احتمال ناکافی بودن آنزیم‌های گوارشی وجود دارد، به گونه‌ای در عمل هضم ذرات غذایی وارد می‌شود. مشابه این نتیجه در بررسی لوله گوارش کفشک دم زرد نیز حاصل شد (۱۲). اما ترشحات PAS مثبت در مری خلفی که همچنان تا مرحله پار ادامه می‌یابد، نقش تسهیل انتقال غذا و حفاظت مخاط را بر عهده دارد.

در معده غده‌ای و غیر غده‌ای ماهی آزاد که از روز دهم پس از تفریخ به‌صورت چین‌خوردگی‌هایی با بافت پوششی استوانه‌ای‌شکل، مشخص می‌شود، گابلت سل‌ها حذف می‌شوند و نقش ترشحی به سایر سلول‌های بافت پوششی منتقل می‌شود. به‌طوری‌که ترشحات PAS و BPB مثبت در راس سلول‌های استوانه‌ای شکل چین‌های معده غده‌ای و غیر غده‌ای و در مجرای غدد معده در لارو تازه به غذا افتاده مشهود است و تا مرحله پار بر شدت آن افزوده می‌شود. این نتایج بیانگر وجود ترشحات حاوی مواد پلی‌ساکاریدی خنثی و پروتئینی و همچنین ترشح آنزیم پپسینوژن است که توسط سلول‌های مکعبی شکل تشکیل‌دهنده غدد معدی ساخته می‌شود. حضور ترشحات گلیکوپروتئینی خنثی در سطح مخاط، برای حفظ جداره معده در برابر هضم توسط آنزیمها و اسید کلریدریک ترشحی غدد معده است (۹). در تاس ماهی ایرانی، سلول‌های بافت پوششی معده بچه ماهیان در ۱۲-۱۱ روزگی PAS مثبت و فاقد سلول‌های جامی شکل است (۴). در کفشک دم زرد، سیتوپلاسم سلول‌های معده از روز دهم به بعد دارای موسین کمی خنثی و اپیتلیوم مکعبی شکل غدد معده در ۴۶-۳۶ روزگی فاقد موسین است (۶).

نقش ترشحی مخاط روده در مقایسه با سایر نواحی لوله گوارش کمی دیرتر شروع می‌شود، به‌طوری‌که در لارو ده‌روزه هنوز اثری از حضور گابلت سل‌ها در مخاط روده و یا ترشحات PAS یا BPB مثبت دیده نمی‌شود. در شروع تغذیه خارجی، علاوه بر پیدایش گابلت سل در روده میانی، خلفی و رکتوم، ترشحات گلیکوپروتئینی خنثی در سطح سلول‌های استوانه‌ای‌شکل روده، میکروکرک‌ها و گابلت سل‌ها مشاهده می‌شود. الگویی که در تمام قسمت‌های روده، سکوم‌های پیلوریک و رکتوم در تمام مراحل ثابت است. وجود مواد موکوسی خنثی در روده خلفی و رکتوم در جهت تسهیل دفع ضایعات از بدن است و در سایر نقاط روده می‌تواند نقش هضمی داشته باشد. وجود ترکیبات موکوسی خنثی در روده قدامی و سکوم‌ها، همچنین در خنثی کردن اثر اسید معدی نقش دارد (۴ و ۱۱).

اولین گابلت سل‌ها در روده ماهی خاویاری سیبری، ۵-۴ روز پس از تفریخ نمایان می‌شوند که بیشتر در روده میانی و خلفی است و ترکیبات موکوسی خنثی ترشح می‌کنند (۹). در تاس ماهی ایران، در ۸-۵ روزگی در سلول‌های استوانه‌ای‌شکل روده، کمی ترشحات PAS مثبت به چشم می‌خورد و تعداد گابلت سل‌ها بسیار کم است. در لارو ۱۲-۱۱ روزه، تعداد گابلت سل افزایش می‌یابد و راس سلول‌های استوانه‌ای‌شکل مخاط روده هم PAS مثبت است (پهلوان یلی، ۱۳۸۰)، درحالی‌که در کفشک دم زرد، موسینی با ترکیبات اسیدی و خنثی در میکروکرک اپیتلیوم روده از روز هفتم ترشح می‌شود و الگوی شیمیایی در رکتوم هم همین‌طور است (۶).

منابع

۱. بحرکاظمی، معصومه، ۱۳۸۲. مطالعه بافت‌شناسی و شیمی ـ بافتی لوله گوارش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از زمان تفریخ تا بچه ماهی یک تابستانه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ص ۹۱-۷۶.

۲. بهرامیان، بهروز، ۱۳۸۰. نقش اداره کل تکثیر وبازسازی ذخایر و اهمیت فزاینده مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت در حفظ و افزایش ماهی آزاد حوزه جنوبی دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، گزارش نهایی، موسسه تحقیقات شیلات مازندران، ۳۰ ص.

۳. پوستی، ایرج، ۱۳۸۲. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک، انتشارات دانشگاه تهران، ص ۴۸۵-۴۶۲.

۴. پهلوان یلی، مرتضی، ۱۳۸۰. مطالعه بافت‌شناسی مراحل تکاملی دستگاه گوارش تاس ماهی ایران (*A. persicus*) از مرحله شروع تغذیه فعال تا زمان رهاسازی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ص ۳۲-۲۲.

۵. ویلکی، امیرسعید، ۱۳۷۳. بهبود روش تغذیه ماهی قزل آلای دریای خزر، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده علوم دریایی گروه زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، ص ۱۶-۵.

6. Baglole, C. J., Murray, H. M., Goff, G. P. and Weight, G. M. 1997. Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail flounder: a light microscopic and mucous histochemical study, Journal of fish Biology (51), 120-134.

7. 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 102, 373-396.

8. Ferraris, R.P., Tan, J.D. and Delacruz M.C., 1987. Development of the digestive tract of milk fish, *Chanos chanos*: Histology and histochemistry, Aguaculture, 61, 241-257.

9. Gisbert, E., Rodriguez, A., Castello- or Vay, F., Williot, P. 1998. A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. Aquaculture, 197: 195-209.

10. Gisbert. E., Doroshov, S.M.C., Williot, P. & Castello-or Vay, F. 1999. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. J. Fish Biol 55:596-616.

11. Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology, normal and pathological features, published by: Kodansha LTD, 143.

12. Murray, H.M., Wright, G.M. and Goff, G.P. 1994. A study of the posterior esophagus in the winter flounder *Pleuronectes americanus*, and the yellow tail flounder, *Pleuronectes ferruginea*, Canadian journal of zoology, 72, 1191-1198.

13. Pearse, A. G. E. 1985. Histochemistry, theoretical and Applied, Vol2, Analytic Technology, New York: Churchill Livingstone, 121-132.

14. Sarasquete, M.C., Polo, A., Yufera, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, (*Sparus aurata*). Aquaculture, 130:79-92.

A Histochemical Study of the Digestive tract of Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*) from Hatching to Parr Stage

M. Bahrekazemi[*1], B. Mojazi Amiri[2], I. Pousti[3] and A.S. Vilaki[4]
[1] Fisheries Sciences. Islamic Azad University, Ghaemshahr, I. R. Iran
[2] Fisheries & Environmental Sciences. Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I. R. Iran
[3] Veterinary Science, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran
[4] Iranian Fisheries Organization, Tehran, I. R. Iran
(Received: 15 May 2004, Accepted: 28 May 2005)

Abstract
This research was conducted to determine the histological features as well as distribution of proteins, carbohydrates and fatty rich tissue of alimentary canal in Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) from hatching to parr stage. Samplings were carried out from one-day stage (just after hatching), 10 and 25 days, and then in 1, 2,3,4,5, and 6 month post hatching. Light microscopical observation was carried out after preparing tissue based on conventional method tissue processing and special staining method. (PAS & Bromo Phenol Blue). Light microscopic results indicated that, in one –day post – hatch larvae, yolk sac makes the greatest part of the body. The alimentary canal is a simple, undifferentiated tube with mouth opening to some extent. Yolk sac contains mainly proteins, neutral polysaccharides, and to a lesser extent fats. Secretion activity begins in the mouth, pharynx and esophagus epithelium with appearance of neutral mucopolysaccharide components, covering the digestive tract's epithelium which indicate it's protective activity. When exogenous Feeding started in 25 days post hatch larvea, secretion of protein components began in mucose layer which was stronger in the esophagus mucosal folds. This indicated high enzymatic activity in this region which decreased after start of exogenous feeding and being compensated for by stomach and intestine enzyme activity.

Keywords: Caspian salmon, Digestive tract, Parr, Exogenous feeding

* Corresponding author: Tel: , Fax: E-mail: mbkazemy@yahoo.com