

مطالعه بافت شناسی مراحل تکامل لاروی غدد ضمیمه گوارشی بچه تاس ماهی ایرانی از زمان تفريح تا رهاسازی

دکتر محمد تقی شیبانی^{*} مرتضی پهلوان یلی^۱

دریافت مقاله: ۱۵ دی ماه ۱۳۸۱

پذیرش نهایی: ۳۰ تیر ماه ۱۳۸۲

Histological study of larval development of accessory digestive glands of *Acipenser persicus* from fry to fingerling

Sheibani, M.T.¹ Pahlavan, M.²

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran. ²Graduated in Fisheries from Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: To determine situation of liver and pancreas in different stages of growth and the features of development of the glands from the first day after hatching upto two months of larval life.

Design: Descriptive study.

Animals: A total number of 80 larvae and fingerling of *Acipenser persicus*.

Procedure: Collecting larvae on days 1 to 56 and fixation in bouin's solution and then conducting routine histological procedures by autotechnicon. Sections of 6 microns were stained with hematoxylin-eosin and mallory and studied under light microscope.

Statistical analysis: Descriptive statistics.

Results: At first day there were no traces of liver and pancreas, but upto day 5 some evidence of formation of liver with a serosa covering was observed. Also pancreas was present as a simple gland only consisting of exocrine portion. By day 16, a high vacuolates were seen, in hepatolites which decreased number of during following days. Many glycogen deposits were also present there. In pancreas until day 25 the evidence of langerhans islets was observed along with the extension of blood vessels. From day 32 to day 56, beside increasing liver bulk and the expansion of sinusoids and portal tracts, the major part of pancreas was composed of secretory acini with zymogenic granules.

Conclusion: In this species of sturgeon, like other osteichthyes, liver and pancreas are of the first simple organs forming on the first days. Moreover these glands are very similar to those of other fishes and even mammals. Liver from day 5 was present as an independent organ, cranial to intestines. By day 16, rate of lipid vacuoles was more and then decreased and glycogen deposits was seen due to decreasing fat needs and increasing liver activity. Besides sinusoids and portal tracts were developing. Pancreas was formerly consisted of exocrine portion but from day 32 endocrine portion was developed and by day 56 pancreas was increased. Gradually developments are dependent their nutritional requirement. Especially in final stages of development they have a major role in metabolism of proteins, lipids and carbohydrates. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 58, 4:341-345, 2003.

Key words: Liver, Pancreas, *Acipenser persicus*.

Corresponding author email: sheibanim@vetmed.ut.ac.ir

و جذب غذا در مراحل لاروی ضروری به نظر می رسد. این مطالعات در تعیین چگونگی مکانسیم تغذیه ای و اثرات رژیمهای غذایی اولیه بر سیستم تکاملی این اندامها مؤثر بوده و در گسترش الگوهای تغذیه ای در صنعت تکثیر و پرورش مصنوعی بچه تاسماهیان می توانند روشنگر و تعیین کننده باشند. با توجه به تغذیه برجم این گونه از ماهیان و در نتیجه تحمیل حجم زیادی

هدف: بررسی وضعیت غدد کبدی و پانکراس در مراحل مختلف رشد و نحوه شکل گیری و تکامل این غدد در نمونه های لاروی و بچه تاس ماهیان ایرانی از اولين روز تفريخ تا دو ماهگی.

طرح: مطالعه توصیفی.

حيوانات: تعداد هشتاد نمونه از لارو و بچه تاس ماهیان ایرانی.

روش: جمع آوری نمونه های از لاروهای یک روزه تا ۵۶ روزه و تشییت در محلول بوئن و سپس انجام مراحل معمول بافت شناسی توسط دستگاه اوتکنیکون.

برشهای ۶ میکرونی به روش هماتوکسیلین ائوزین و مالوری رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مطالعه گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری: آمار توصیفی.

نتایج: در این مطالعه در روز اول نشانه ای از وجود کبد و پانکراس مشخص مشاهده نگردید، ولی تا روز پنجم نشانه هایی از شکل گیری کبد وجود داشته که یک بوش سروزی نیز آن را در بر می گرفت. به علاوه پانکراس بصورت غده ای ساده در مجاورت کبد مشاهده شده که تنها شامل بخش برون ریز آن یعنی آسینی های سروزی بود. تارو شائزدهم و اکتوول های فراوانی در هپاتوسیت ها مشاهده گردید که از این پس از میزان آنها کاسته شده و ذخایر گلیکوژنی فراوانی حضور داشتند.

در پانکراس تا سن ۲۵ روزگی آثاری از جزایر لانگرهانس مربوط به بخش درون ریز نیز مشاهده شده که همراه با توسعه عروق خونی در این غده بود. از سن ۳۲ تا ۵۶ روزگی علاوه بر افزایش حجم کبد و توسعه سینوزوئیدها و فضاهای باب، کماکان بخش اعظم پانکراس را آسینی های ترشحی با اگرتوول های زیموژن تشکیل می داد.

نتیجه گیری: در این گونه از تاس ماهیان مانند ماهیهای استخوانی، کبد و پانکراس ندامهای ساده ای می باشند که در اوایل دوران زندگی به وجود می آیند. به علاوه غدد مزبور شاهت زیادی به اندامهای فوق در رسایر گونه های ماهیان و حتی پستانداران دارند. بافت کبدی در قره برون از روز پنجم به عنوان یک عضو مستقل در بخش قدمای روده ها مشاهده گردید. تارو شائزدهم میزان اکتوول های چربی در کبد بیشتر بوده و پس از آن کاهش آنها و افزایش ذخایر گلیکوژنی مشهود بود

که به دلیل کاهش احتیاجات چربی و افزایش فعالیت عملی کبد می باشد به علاوه تدریج بر وسعت سینوزوئیدها و فضاهای باب افزوده می گردد. پانکراس در ابتداء تنها دارای بخش برون ریز بوده ولی از روز ۳۲ به بعد بخش درون ریز یا جزایر لانگرهانس توسعه یافته و تارو شائزدهم بروزت پانکراس افزوده می گردد. رشد و تکامل تدریجی غدد ضمیمه متناسب با نیازهای تغذیه ای آنها می باشد. بویژه در مراحل نهایی تکاملی خود در متابولیسم پروتئینها، چربیها و کربوهیدراتها نقش ساسی را دارند. مجله دانشکده دانپژوهشی دانشگاه تهران، ۱۳۸۲(۴)، دوره ۵۸ شماره ۳۴۱-۳۴۵.

ازه های کلیدی: کبد، پانکراس، بچه تاس ماهی ایرانی.

قش تاس ماهیان در تامین پروتئین و اهمیت اقتصادی آنها به لحاظ تولید خاویار حائز اهمیت می باشد. به علاوه عدم وجود مطالعات کافی در زمینه های مختلف هیستولوژیکی بر روی برخی گونه ها بررسیهای بیشتری را در ساخت ساختارهای میکروسکوپی اندامها در مراحل مختلف رشد و نمو نهایا ایجاد می نماید. به دلیل اهمیت تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری بویژه بن گونه خاص که بومی آبهای جنوبی دریای خزر می باشد مطالعه تغییرات تکاملی اندامهای گوارشی بویژه غدد ترشحی آنها در ارتباط با اعمال هضم

گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد سیلات دانشکده مهندسی طبیعی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) نویسنده مسؤول sheibanim@vetmed.ut.ac.ir



نشانه های بارزی از شکل گیری کبد بصورت یک ساختار غدهای مشخص در بخش قدامی لوله گوارش نمایان گردید. سطح غده از خارج توسط یک پوشش سروزی شامل یک ردیف سلولهای سنگفرشی همراه با لایه ظریفی از رشتہ های رتیکول در بر گرفته شده بود. هپاتوسمیت ها در ابتدا به صورت سلولهای کروی کوچک در زمینهای از بافت همبندی و رتیکول مشاهده شدند. در این مرحله بجز هپاتوسمیت ها، قسمت اعظم غده کبدی را گردیدند. در علاوه روشنی روزن دیده سلولهای واکوئولهای چربی فراوان که به صورت حفرات کروی روشن دیده می شدند تشکیل می داد. به علاوه سیتو پلاسم سلولهای کبدی نیز مملو از قطرات و ذرات چربی بوده و بقیه سیتوپلاسم را که اسیدوفیل رنگ گرفته ذرات گلیکوژن شامل می گردید. هسته این سلولها به صورت کروی شکل و در مرکز سلول قرارداد استند. در فضای بین سلولهای فوق ساختمنهای مویرگی و سینوزوئیدی فراوان حاوی گلوبولهای قرمز مشاهده گردید. به علاوه شکل گیری مجرای صفرایی اولیه نیز در پارانشیم کبد مشهود بود. پانکراس در ۵ روزگی به صورت یک نوراداسی شکل در مجاورت و متصل به کبد مشاهده می گردید. واحدهای ترشحی آن شامل تجمعات سلولی متتشکل از سلولهای استوانهای تا هرمی بوده که به صورت ساختمنهای کروی، بخش برون ریز پانکراس را تشکیل می دادند. در این مرحله اثری از ساختارهای اندکرینی مشاهده نگردید. سلولهای تشکیل دهنده غده پانکراس بیشتر رنگ بازو فیلیک به خود گرفته و بنابراین نمای ظاهری غده را تیره تراز کبد نشان می داد (تصویر ۱).

در ۱۲ روزگی اندازه کبد بزرگتر شده و علاوه بر سلولهای کبدی حجم زیادی از کبد را حفرات چربی تشکیل می داده و بر وسعت سینوزوئیدهای خونی نیز افزوده گردیده بود. بخششایی از پانکراس به کبد جسبیده و شکل کلی پانکراس به صورت ساختاری سه گوش مشاهده می گردید. در سیتو پلاسم رأسی سلولهای تشکیل دهنده بخش برون ریز واکوئولهای ترنسحی درشتی مشاهده می گردید. به علاوه در این مرحله عروق خونی بزرگی نیز در پانکراس توسعه یافته بودند (تصویر ۲).

کبد در ۳۲ روزگی حجیم تر شده و طباوهای سلولی هپاتوسیت‌ها کاملاً مشخص بودند. به علاوه تشکیل فضاهای باب با حضور عروق خونی بزرگ و همچنین وسعت سینوزوئیدهای خونی در بین دستجات هپاتوسیتی کاملاً مشهود بود. سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها حاوی ذخایر گلیکوزنی فراوان همراه

از مواد غذایی وظیفه دستگاه گوارش را در هضم و جذب آنها دشوار می نماید و لذا نیازمند یک سیستم غدد ضمیمه ای برای ترشح مکملهای آنزیمی دخیل در گوارش می باشند. نقش غدد ضمیمه هم به ترشح آنزیمهای مکمل گوارشی کمک می نماید هم در روند متابولیسمی مواد غذایی حائز اهمیت فراوانی است. اندامهای گوارشی و ساختار فیزیولوژیک آنها در بچه تاس ماهیان مانند سایر گونه های آبزیان در مراحل اولیه رشد تکامل کافی نیافتند به طوری که قبل از رسیدن به مرحله تعذیب فعال دستخوش تغییرات تکاملی می گردند و در این مرحله سیستم گوارشی آنها از لحاظ مورفو لولوژیک تکامل می یابند.

مطالعات انجام شده در ایران شامل مطالعه بافت شناسی دستگاه گوارشی تاسی ماهی ایرانی بالغ توسط شبیانی و همکاران در سال ۱۳۷۵ بوده (۲) و همچنین بافت شناسی مراحل تکاملی دستگاه گوارش از مرحله شروع تغذیه فعال تا مرحله رهاسازی توسط پهلوان و همکاران در سال ۱۳۷۹ مم. باشد (۲).

از مطالعات انجام شده در جهان می‌توان به بررسی تغییرات هیستولوژیک و هیستوشیمیایی دستگاه گوارش در مرحله لاروی تاس ماهی سفید توسط Gawlicka در سال ۱۹۹۵ اشاره نمود (۹). همچنین در سال ۱۹۸۶ مطالعه ویزگیهای مورفولوژیک دستگاه گوارشی تاس ماهی سفید توسط Doroshov و Gisbert صورت پذیرفت (۵). همکاران نیز Buddington در سال ۱۹۹۹ بررسی بافت شناسی دستگاه گوارشی تاس ماهی سبیری را در مراحل لاروی انجام دادند (۱۰).

مواد و روش کار

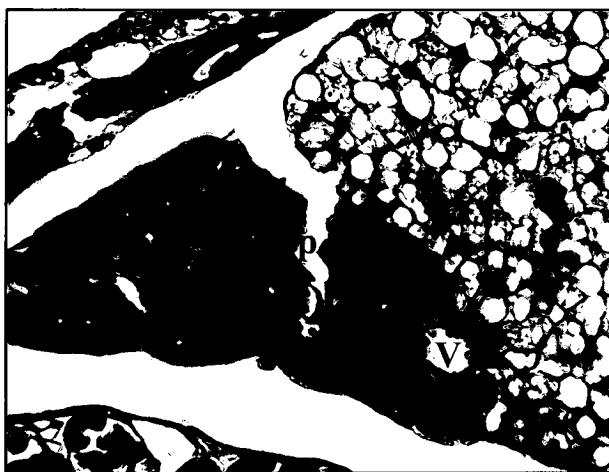
در این مطالعه نمونه های بچه تاس ماهیان ایرانی از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری سد سنگر رشت (شهید بهشتی) تهیه گردید. کلاً تعداد ۸۰ نمونه از لا رو تاس ماهی ایرانی، از زمان تفریخ (یکروزگی)، مرحله تغذیه فعال تا لارو قابل رها سازی به استخر در بخش ونیر و بعد از آن در استخرهای خاکی تازمان رها سازی به دریا به صورت تصادفی انجام گرفت. در مراحل اولیه نمونه برداری در روزهای اول، پنجم، دوازدهم، چهاردهم و شانزدهم انجام شده و پس از آن نمونه برداری در حوضچه های ونیر و به وسیله ساقچوک کوچک و در استخر خاکی به وسیله تور تراال انجام شد. پس از انتقال بچه ماهیان به استخر خاکی، نمونه برداری از آمها به فواصل یک هفته ای یعنی ۴۸، ۵۶، ۴۰ و ۲۲، ۲۵ میلیمتری با تور تراال انجام گرفت. پس از آن نمونه ها در داخل محلول تثبیت کننده بوئن نگهداری گردیدند. در بچه ماهیان بزرگتر نمونه های غدد کبد و پانکراس از حفره شکمی آنها خارج و فیتکس گردیدند. سپس مراحل آبگیری، شفاف سازی و آغشتنگی با پارafین در دستگاه اتو تکنیکون (MSE Model Histokinette) انجام گرفته و پلوكهای، با افینت، از نمونه ها تهیه گردید.

برشهایی به ضخامت ۶ میکرون به صورت ممتد به وسیله میکروتوم GUNG آلمانی تهیه شده و سپس رنگ آمیزی برشهای روش هماتوکسیلین و ائوزین و روش مالوری انجام گرفته و در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

شایع

در اولین روز پس از تفريح، حفره بطني مملو از مواد زرده اي بوده و
بنادر اي: نشانه اي از وجود کيد و یانکراس مشاهده نگردید. تا روز پنجم

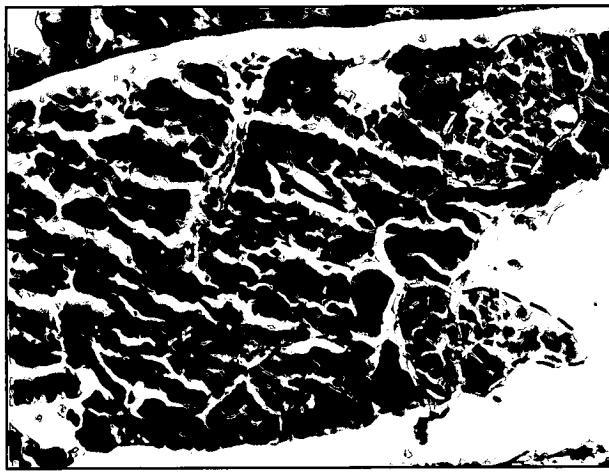




تصویر ۲- کبد و پانکراس در ۱۲ روزگی: کبد حاوی واکنولهای چربی فراوانتر (L) در سمت راست و پانکراس حاوی آسینی ها و عروق خونی (V) در سمت چپ تصویر دیده می شوند. (x۴۰۰ H&E)



تصویر ۱- کبد و پانکراس در ۵ روزگی: بافت کبدی حاوی واکنولهای چربی (L) و ذرات گلیکوژن اسیدوفیلی (فلشها) در نیمه بالای و غده پانکراس (P) شامل آسینی ها در نیمه پایینی تصویر مشاهده می گردد. (x۴۰۰ H&E)



تصویر ۴- پانکراس در ۲۵ روزگی: در سمت چپ آسینیهای بخش برون ریز و در سمت راست جزای لانگرهانس (نقطه چین) مشاهده می گردد. (x۲۵۰ H&E)



تصویر ۳- کبد و بخشی از پانکراس در ۲۵ روزگی: سینوزوئیدهای کبدی (S) توسعه یافته و هپاتوسیت‌ها به رنگ اسیدوفیلی و فقدان واکنولهای چربی قابل مشاهده می باشد. در سمت راست بخشی از آسینیهای پانکراس (P) دیده می شود. (x۲۵۰ H&E)

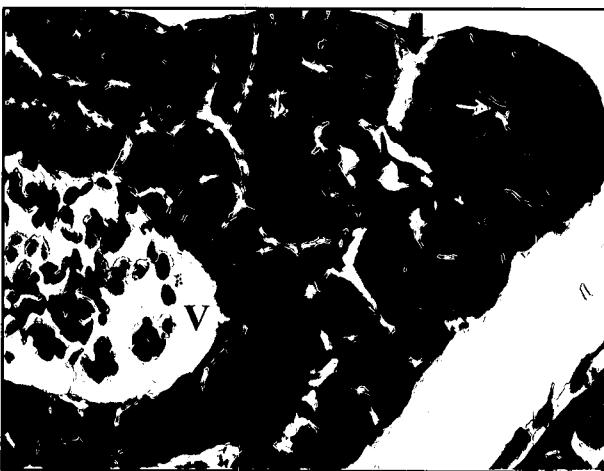
از ماقرو مولکولهای از قبیل آلبومین، فیبرینوژن، لیپوپروتئین، وغیره توسط هپاتوسیتها به داخل خون ترشح می شوند و کبد بسیاری از آنها را متابولیزه می کند. بنا بر این از آنجاییکه هپاتوسیتها در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدراتها نقش دارند در گونه های مختلف تاس ماهیان سیتوپلاسم حاوی ارگانلهای اصلی فراوانی مانند دستگاه گلزاری و شبکه آندوبلاسمی وسیع و متیوکندریهای فراوان مانند گونه های پستانداران می باشند (۵). کبد به سرعت توسعه یافته و در ذخیره سازی فعال می باشد، طبق نظر Gawlicka و همکاران در سال ۱۹۹۵ کاهش واکنولهای هپاتوسیتی مشاهده شده از روز شانزدهم در تاس ماهی سفید، نشان دهنده امکان بروز تغییرات عملی در متابولیسم یا نیازهای چربی است (۶). این یافته با کاهش فعالیت لیپاز مشاهده شده در همان مرحله از رشد در تاس ماهی سفید امریکای شمالی (۵) و تاس ماهی دریاچه ای (۶) همراه می باشد که با یافته های موجود در مطالعه حاضر در لارو تاس ماهی ایرانی نیز هماهنگی دارد. کاهش لیپاز بدون ارتباط با رژیم غذایی بوده و احتمالاً به وسیله کاهش احتیاجات چربی تعیین می گردد (۷). با اینحال تغییرات مشاهده شده در کبد ممکن است در ارتباط با تغییرات حاصله در ذخیره و استفاده از گلیکوژن باشد (۸).

با هسته های کروی درشت و یوکروماتین بوده که برخی از سلولها بصورت دو هسته ای نیز مشاهده می گردید (تصویر ۵). مطالعات میکروسکوپیک نشان می دهد که اندازه هپاتوسیت ها بستگی به میزان فعالیت فیزیولوژیک آنها دارد و اندازه سلولها در فعالیتهای کم و یا زیاد آنها متفاوت است. بهترین نمونه این اختلاف، هیپرتروفی جسم سلولی و هسته های آنها می باشد که در اکثر مواقع بویژه در زمان ویتلوزن ماهیهای ماده مثل ماهی آزاد زبانی و ماهی آبی مشاهده می شود (۱).

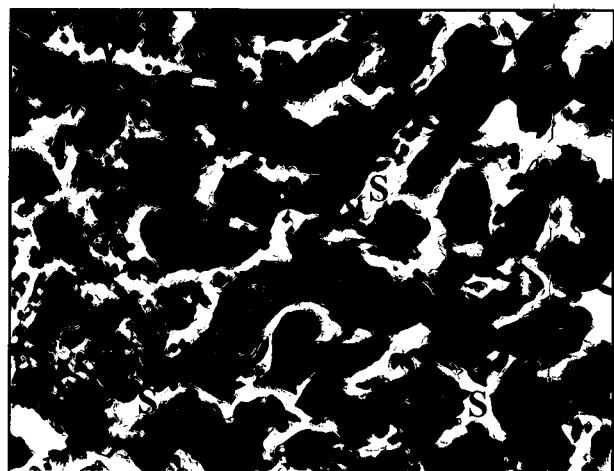
Gawlicka و همکاران در سال ۱۹۹۵ در تاس ماهی سفید نشان داده اند که در روز چهاردهم، در روز پنجم از تغذیه فعال، کبد با هپاتوسیت‌های حفره دارو مجاري اولیه مشخص بوده که واکنولهای چربی در آن دیده می شوند. بر اساس اظهارات Dettlaff و همکاران در سال ۱۹۹۳ در ماهیان خاویاری در طول مرحله تغذیه از کیسه زرد، در اثر هضم زرد به تدریج تجمع چربی در کبد افزایش می یابد (۸). این مورد با یافته های حاصل از مطالعه حاضر در لارو تاس ماهی ایرانی نیز مطابقت دارد. همزمان با رشد کبد سینوزوئیدها نیز توسعه یافته و عروق کبدی گسترش بیشتری می یابند.

سینوزوئیدهای کبدی حجم زیادی از خون را در خود ذخیره داشته تا شرایط لازم برای متabolیسم کبدی را فراهم نماید. به عنوان مثال تعداد زیادی

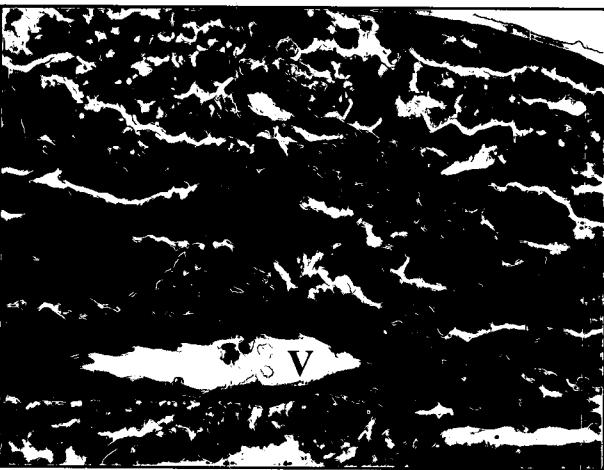




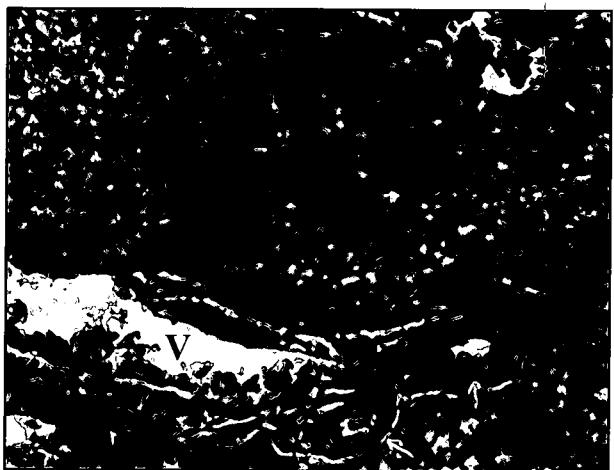
تصویر ۶- پانکراس در ۳۲ روزگی: پانکراس کاملاً توسعه یافته که آسینی های حاوی گرانولهای زیموژن حاوی سلولهای مرکز آسینی (فلشها) و نیز یک ورید (V) در بین آسینیها مشاهده می گردد. (x۴۰۰ H&E)



تصویر ۵- کبد در ۳۲ روزگی: تجمع هپاتوسیت ها به صورت دستجات منسجم به خوبی توسعه یافته و سینوزوئیدهای خونی (S) نیز همراه با یک ورید در بالای تصویر مشاهده می گرددند. (x۴۰۰ H&E)



تصویر ۸- پانکراس در ۵۶ روزگی: در بین آسینیها و در اطراف ورید (V) بافت همبند فراوانی حضور دارد که رشته های آن به رنگ آبی دیده می شود. (مالوری x۲۵۰)



تصویر ۷- کبد در ۴۸ روزگی: یک فضای باب بزرگ حاوی یک ورید (V) و دو مجرای صفراء (فلشها) دیده می شود. به علاوه رشته های همبندی به رنگ آبی مشاهده می گرددند. (مالوری x۲۵۰)

فعالیت بخش برون ریز پانکراس ابتدا به وسیله دو هormon کوله سیستوکینین و سکرتین توسط سلولهای انترواندوكرین مخاط ابتدای روده تولید می گرددند که هormون اول سرشار از آنزیم و پروتئین بوده و برانگیزندۀ سلولهای آسینی پانکراس به تخلیه گرانول های زیموژن می باشد در حالی که سکرتین، سلولهای مجرای پانکراس را به ترشحات آبکی آلتالین محتوی یونهای بی کربنات تحریک می کند (۶، ۱۲).

References

- پوستی، ا. و صدیق مروستی، س.ع. (۱۳۷۸): اطلس بافت شناسی ماهی، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۱۵۵.
- پهلوان یلی، م. (۱۳۸۰): مطالعه بافت شناسی مراحل تکاملی دستگاه گوارشی تاس ماهی ایران از مرحله شروع تغذیه فعل تا زمان رهاسازی، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، صفحه: ۹۲.
- شیبانی، م.ت. (۱۳۷۵): بررسی میکروسکوپیک لوله گوارشی تاس ماهی ایران، پایان نامه دکترای تخصصی علوم تشریحی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

پانکراس در ۵ روزگی در بخش پشتی کبد کاملاً مشخص می باشد که شامل آسینی های کروی بخش برون ریز بوده ولی بخش درون ریز آن نامشخص می باشد. تا ۲۵ روزگی در آسینی های ترشحی گرانولهای زیموژن مشاهده می شود (۲). در تاس ماهی سفید دور روز پس از شروع تغذیه فعل، گرانول های زیموژنی در سلولهای برون ریز پانکراس حضور دارند (۹). در آسینی های پانکراس در مراحل اولیه رشد تاس ماهی سیبری، توسط Gisbert و همکاران در سال ۱۹۹۹ سلولهای آسینی به شکل گلچه ای در اطراف مجرای مرکزی مشاهده گردیده و گرانول های زیموژن، حاوی پروتئینهای غنی از تریپتوфан، آرژینین و لیزین ذکر شده است (۱۰). در ۴۰ روزگی بخش درون ریز پانکراس به صورت سلولهای پراکنده دیده می شود و در مرکز آسینی ها، سلولهای مرکزی مجرای کوچکی را به وجود می آورند و لوبوله شدن غده مشخص می گردد (۲). پانکراس به عنوان غده ضمیمه اصلی مولد آنزیم دستگاه گوارشی می باشد و در پستانداران نشان داده شده پس از هر بار تغذیه تنوعی از آنزیمهای تجزیه کننده تمام رده های اصلی ترکیبات آلی غذایی (پروتئینها، کربوهیدراتها، چربیها و اسیدهای نوکلئیک) حضور داشته و همچنین دو هormون انسولین و گلوکاجن را ترشح می کند که متabolیسم کربوهیدرات ها را تنظیم می نماید (۷).



4. Buddington, R.K.(1985): Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. *J. Fish Biol.* 26: 715-723.
5. Buddington, R.K. and Doroshov, S.I. (1986): Structural and functional relations of the white sturgeon alimentary canal. *J. Morph.* 190: 201-213.
6. Cahu, C.L. and Zambonino-Infante, J.I. (1995): Maturation of the pancreatic and intestinal function in sea bass: effect of weaning with different protein sources. *Fish physiol and biochem.* 14: 431-437.
7. Cormack, D.H. (2001): Essential Histology, 2th ed. Lippincott Williams & Wilkins. P: 322.
8. Detlaff, T.A., Ginsburg, A.S. and Schmalhausen, O.I. (1993): Sturgeon fishes. Developmental biology and aquaculture, Springer Verlag. P:300.
9. Gawlicka, A., Teh, S.J., Hung, S.S., Hinton,D.E. and de la nove, J. (1995): Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiol, Biochem.* 14: 357-371.
10. Gisbert, E., Sarasquete, M.C., Williot, P.F. and Castello-orvay (1999): Histochemistry of the development of the digestive system of siberian sturgeon during early ontogeny. *J. Fish Biol.* 55: 596-616.
11. Kawai, S. and Ikeda, S. (1971): Studies on digestive system of fishes. I. Carbohydrases in digestive organs of several fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 37: 333-337.
12. Sarasquete, M.C., Polo, A. and Gonzalez de canales, M.L. (1993): A histochemical and immunohistochemical study of digestive enzymes and hormones during the larval development of the sea bream, *J. Histochem.* 25: 430-437
13. Teh, S.J. and Hinton, D.E. (1993): Detection of enzyme histochemical markers of the hepatic preneoplasia and neoplasia in *medaka orgyias latipes*. *Aqua. Toxicol.* 24: 163-182.



