

بررسی ساختار بافت مری در ماهی سییم معمولی *Abramis brama* در مراحل اولیه تکوین با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی گذاره (TEM)

محمد رضا صحرائیان^۱، سهیل ایگدري^{*۱}، غلامرضا رفیعی^۱، آرش زیبایی^۲، خوزه مسغر^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز

۲- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

۳- گروه سلولی مولکولی و بافت‌شناسی، دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه مورسیا، مورسیا

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۳

چکیده

در این تحقیق روند تکوین مری ماهی سییم معمولی (*Abramis brama*) در طی مراحل اولیه توسعه، توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی گذاره تا ۶۰ روز پس از تفریح بررسی شد. لاروهای این ماهی از زمان تفریح تا ۶ روز بعد از آن به صورت روزانه، از زمان ۸ الی ۲۰ روز بعد از تفریح به صورت یک روز در میان و از زمان ۲۰ الی ۴۰ روز بعد از تفریح با فاصله زمانی ۵ روز نمونه برداری شدند و دو نمونه برداری آخر در روزهای ۵۰ و ۶۰ بعد از تفریح انجام شد. سپس این لاروها در محلول بوئن و گلو تار آلدئید ۴٪ تثبیت شدند. نتایج نشان داد که توسعه مری از بخش جلویی لوله گوارش از زمان تفریح آغاز می‌شود. در این زمان، اپیتلیوم مری از نوع بافت پوششی سنگفرشی بود. در یک روز بعد از تفریح، مری به شکل یک لوله نازک با بافت اپیتلیوم مکعبی تمایز یافت. اولین سلول موکوسی در لایه مخاطی مری در روز دوم بعد از تفریح، تمایز یافت و از روز سوم بعد از تفریح، مواد ذخیره ای متنوعی در سلول‌های موکوسی مشاهده شد. همچنین، در این روز سلول‌های بافت اپیتلیوم به صورت کاملاً استوانه‌ای درآمد. اولین غنچه چشایی در روز پنجم پس از تفریح مشاهده شد و ایجاد حالت مضرس در رأس لایه مخاطی، اتفاق دیگر این روز بود. در ادامه، چین‌های طولی مری در روز هشتم بعد از تفریح متمایز شدند و پس از آن تا روز ۲۵ پس از تفریح، تغییر محسوس در ساختار بافت مری به جز تغییرات در اندازه، تعداد و سلول‌ها مشاهده نشد. از روز ۲۵ الی ۶۰ روز بعد از تفریح و با تجمع سلول‌های موکوسی در بخش عقبی و سلول‌های چشایی در بخش جلویی، بافت مری به دو بخش قابل تفکیک است.

کلمات کلیدی: تکوین مری، سییم معمولی، *Abramis brama*

بعد از گذشت حدود ۸۵ ساعت در دمای ۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد تفریح شدند. تعداد ۱۰ هزار لارو تازه تفریح شده به سه تانک ۴ هزار لیتری منتقل، و به مدت دو ماه در این تانک‌ها پرورش یافتند. در طی دو ماه دوره پرورش، پارامترهای فیزیوشیمیایی آب (دما، شوری و pH) تانک‌های پرورش در چهار نوبت صبح، ظهر، عصر و شب اندازه‌گیری شدند. تغذیه لاروها در چهار تا شش نوبت توسط غذای زنده (روتیفر و ناپلیوس دافنی) و غذای خشک انجام شد (صحرائیان و همکاران، ۱۳۹۳). نمونه‌برداری از لاروها به تعداد بیست عدد در هر مرحله و در زمان‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از تفریح (DPH) به صورت تصادفی انجام شد و بعد از زیست‌سنجی، به نسبت مساوی در محلول‌های بوئن برای بررسی با میکروسکوپ نوری و گلوئوتارالدئید ۴٪ (pH: ۷/۴) به منظور مطالعه با میکروسکوپ الکترونی (TEM) تثبیت شدند. تهیه مقاطع بافتی لارو ماهیان برای مطالعه با میکروسکوپ نوری (Zeiss, YJ 2005B) بعد از انجام مراحل آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین بر اساس Eagderi et al. 2013 و صحرائیان و همکاران (۱۳۸۸) انجام شد. نمونه‌های تثبیت شده در گلوئوتارالدئید به مدت دو ساعت در محلول ۱٪ تتراکسیداسمیوم (pH: ۷/۲) و ۱ مولار کاکودیلات (۷/۲: pH) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و توسط اپون قالب‌گیری شدند. سپس توسط اولترامیکروتوم (LEICA EMUC6) از نمونه‌های تثبیت شده، مقاطع بافتی تهیه شد. در نهایت، مقاطع بافتی با یورانیل استات و سیترات سرب رنگ‌آمیزی شدند (García Hernández et al. 2001). آنالیز و عکس‌برداری داده‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی مدل JEOL-Jem 1011 انجام شد.

نتایج

تمایز و توسعه اندام مری همزمان با تفریح لارو ماهی از بخش قدامی لوله گوارش آغاز شد و به سمت روده ادامه یافت (شکل ۱-A). در زمان تفریح بافت اپیتلیوم مری از نوع بافت پوششی سنگفرشی (Squamous epithelium) بود. در روز اول DPH، مری به صورت یک مجرای نازک بود که حلق را به روده متصل می‌کرد و

مقدمه

از جمله مشکلات صنعت آبرزی پروری، عدم وجود اطلاعات کافی در مورد نیازهای غذایی لارو ماهیان است. این امر می‌تواند منجر به تلفات بالا در این مرحله از زندگی لارو شود که دارای تغذیه داخلی یا کیسه زرده‌اند و سپس به تغذیه خارجی روی می‌آورند. برای موفقیت در پرورش لارو ماهیان باید اطلاعات کافی در مورد ویژگی‌های مختلف تغذیه‌ای آنها از جمله تکوین ریختی و فیزیولوژیک دستگاه گوارش فراهم شود (Abramis brama and Kiron, Watanabe, Cahu, 2001; 1994; Zambonino Infante and Rønnestad et al. 2013). چنین داده‌هایی به همراه اطلاعاتی از جمله ویژگی‌های غذایی، رفتار تغذیه‌ای و تأثیر عوامل محیطی بر رژیم غذایی، می‌تواند منجر به تهیه یک پروتکل تغذیه‌ای مناسب برای بهینه کردن شرایط پرورش لارو ماهیان شود (and Barriga Battini, 2009; Rønnestad et al. 2013).

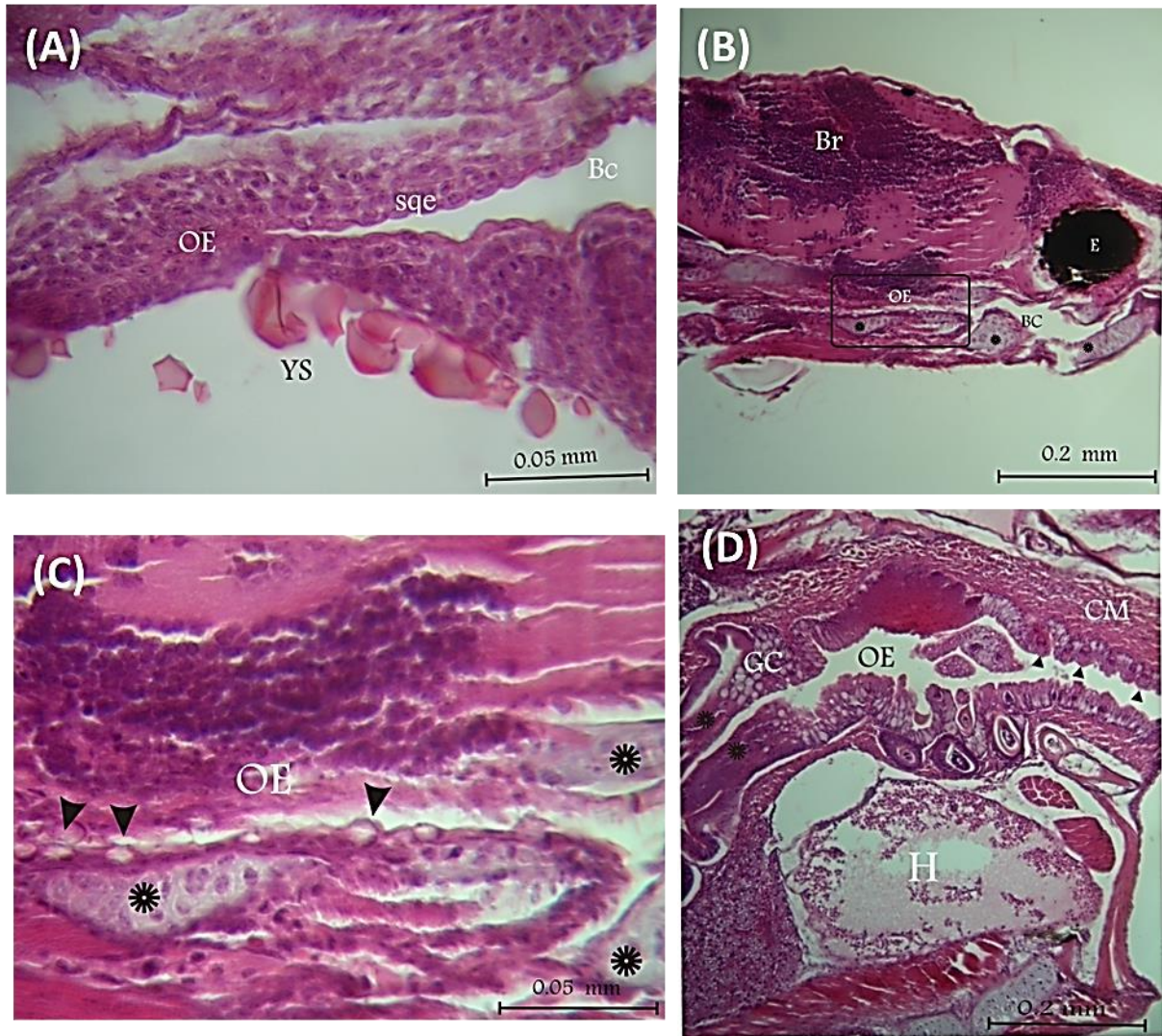
ماهی سیم معمولی (*Abramis brama*) از جمله گونه‌های بومی کشور و متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است که در حوضه آبریز دریای خزر پراکنش دارد. اگرچه بیوتکنیک تکثیر این گونه فراهم شده (قناعت پرست، ۱۳۷۲) و سالانه میلیون‌ها قطعه بچه‌ماهی سیم معمولی برای بازسازی ذخایر دریای خزر تولید می‌شود (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۱)، ولی تاکنون پروتکل تغذیه‌ای مناسب و مستقلی برای بهینه‌سازی پرورش این گونه به خصوص در دوران لاروی در دسترس نیست. تهیه چنین پروتکلی نیازمند وجود اطلاعاتی در مورد تکوین آناتومیک و فیزیولوژیک آن گونه به خصوص دستگاه گوارش است. از این‌رو، در راستای فراهم کردن چنین داده‌های پایه‌ای، مطالعه حاضر با هدف مطالعه تکوین ساختار بافتی مری ماهی سیم معمولی در دوران لاروی با استفاده از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission Electron Microscope) به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

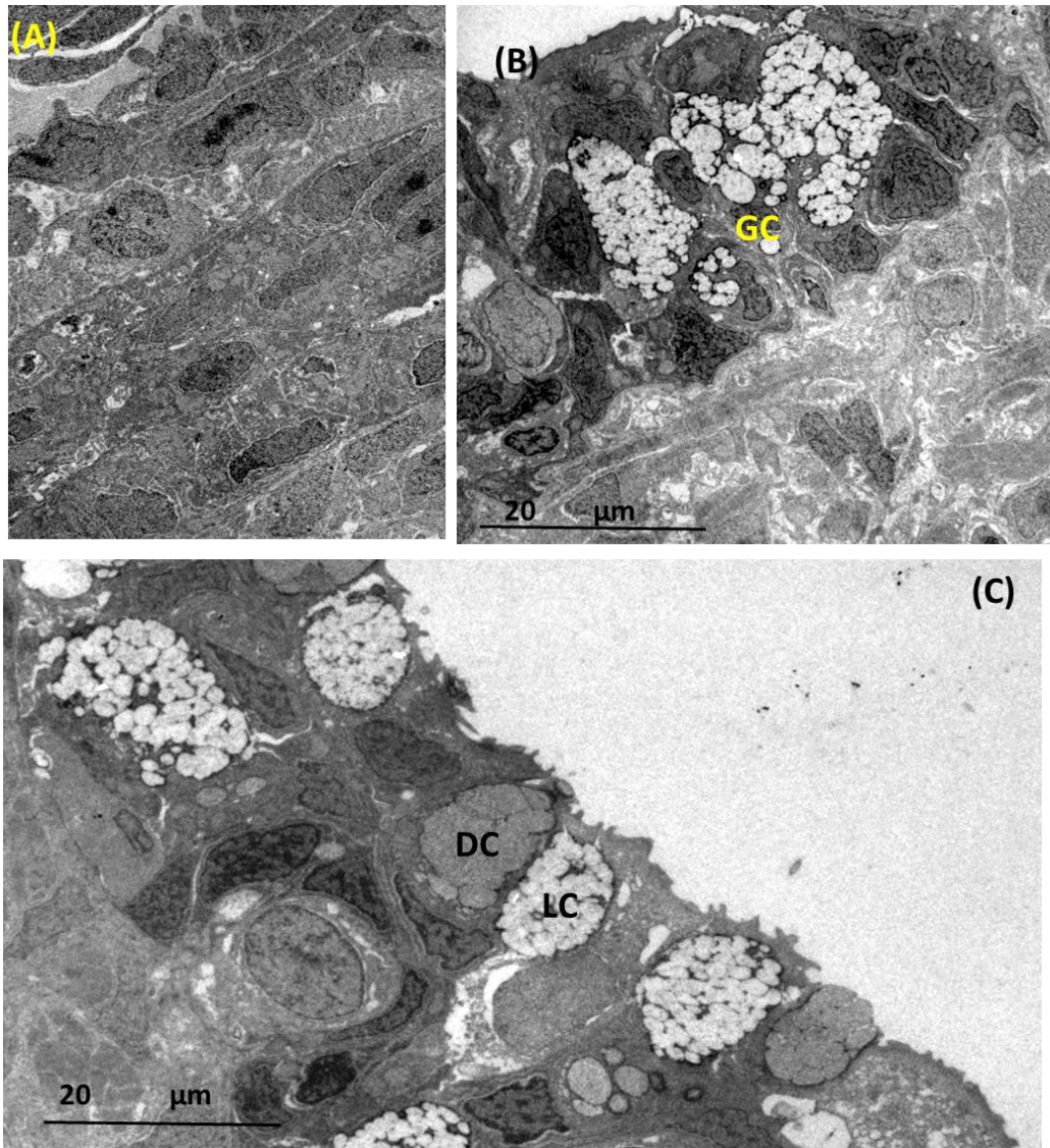
لاروهای مورد مطالعه حاصل تکثیر مصنوعی ماهیان مولد سیم معمولی در مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری (رشت، گیلان) بود. تخم‌های حاصل از تکثیر به انکوباتورهای ویس منتقل و

دسته روشن و تیره (خاکستری) قابل تفکیک بودند. در روز پنجم بعد از تفریح، با توسعه ریزدندانه‌ها، رئوس لایه مخاطی مری حالت مژرس یا دندانانه دندانانه به خود گرفت (شکل ۲-۲C). در این روز، همچنین غنچه‌های چشایی کاملاً توسعه یافته و بر تعداد سلول‌های موکوسی نیز افزوده شد. به علاوه، در این زمان یک بافت متراکمی به نام دریچه مری (Esophagus valve) در حد واسط بین مری و روده تشکیل شد. در روز هشت بعد از تفریح، توسعه ریزپرزها (Microvilli) بر روی دریچه مری اتفاق افتاد. چین‌های طولی (Longitudinal folds) در بخش میانی مری توسعه یافتند (شکل ۳-۱A). از روز هشتم بعد از تفریح تا بیست و پنج DPH تغییر محسوسی به جز افزایش تعداد و اندازه سلول‌های موکوسی و غنچه‌های چشایی در روند تکوین مری مشاهده نشد. در روز بیست و پنجم تا ۶۰ روز بعد از تفریح با ادامه افزایش تعداد سلول‌های چشایی در بخش جلویی و افزایش سلول‌های موکوسی در بخش عقبی، مری به دو بخش جلویی و عقبی قابل تفکیک بود (شکل ۱-۱D).

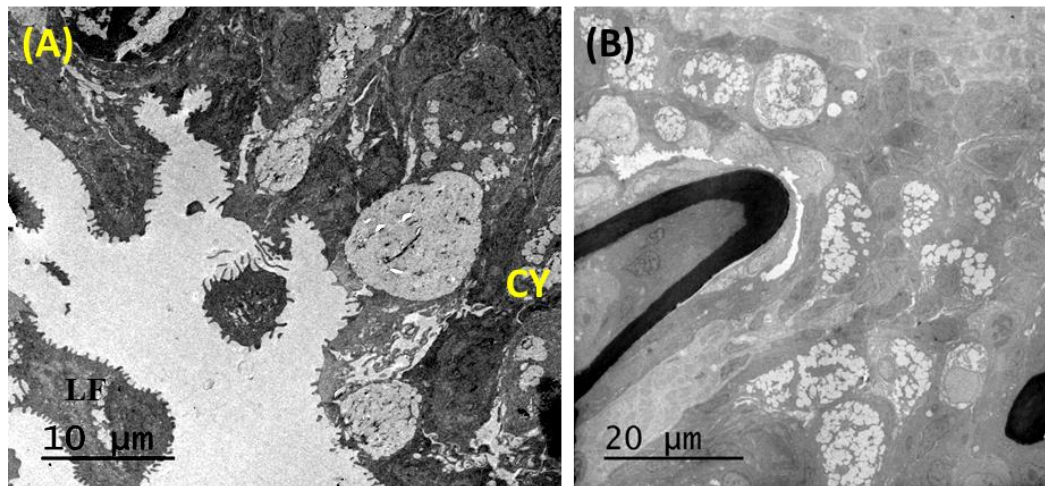
بافت پوششی آن در این روز از نوع مکعبی (Cuboidal epithelium) با هسته بزرگ در قسمت تحتانی سلول‌ها بود (شکل ۲-۱A). در این روز همچنین سلول‌های جامی شکل ترشح کننده موکوس در حال تمایز به همراه وزیکول‌های پینوسیتوزی در بخش بالایی سلول‌ها مشاهده شد. در روز دوم DPH سلول‌های موکوسی تمایز بیشتری پیدا کرده و در حال ذخیره کردن ماده موکوسی بودند. همچنین توده غنچه‌های چشایی متشکل از سلول‌های پایه‌ای، سلول‌های حاشیه‌ای و سلول‌های درونی در بافت پوششی مری در حال تمایز مشاهده شدند. در روز سوم بعد از تفریح، بافت پوششی مری کاملاً مطبق (Columnar epithelium) شد. به علاوه، یک لایه نازک ماهیچه‌ای مری را احاطه می‌کرد که ضخامت آن با افزایش سن لارو، ازدیاد می‌یافت (شکل‌های ۱-۱B, C). در این روز با توسعه کامل سلول‌های موکوسی و ذخیره موکوس، بافت پوششی مری بسیار توسعه یافت (شکل ۲-۱B).
نتایج همچنین نشان داد که سلول‌های موکوسی به دو



شکل ۱- میکروگراف میکروسکوپ نوری بافت مری در مراحل اولیه تکوین لارو ماهی سیبم معمولی (*Abramis brama*):
 ۱ DPH-A، ۳ DPH-B، ۳ DPH-C و ۲۵ DPH (OE: مری، sqe: لایه پوششی سنگفرشی، BC: حفره دهانی، Br: مغز، E: چشم، CM: لایه ماهیچه، نوک پیکان: غدد چشایی).



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی ناحیه مری لارو ماهی سیم معمولی (*Abramis brama*). A- روز اول بعد از تفریخ، B- روز سوم بعد از تفریخ و C- روز پنجم بعد از تفریخ. GC: سلول موکوسی. DC: سلول موکوسی با مواد تیره. LC: سلول موکوسی با مواد روشن).



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی ناحیه مری لارو ماهی سیب معمولی (*Abramis brama*)، A- روز هشتم بعد از تفریخ و B- روز یازدهم بعد از تفریخ (LF: چین طولی و CY: سیست).

بحث

مشاهده شد. بیشتر تراکم مواد تشکیل دهنده موکوس مری، گلیکوپروتئین‌هایی با خاصیت اسیدی یا خنثی هستند (Sarasquete et al. 1995; Elbal et al. 2004). موکوس‌های اسیدی بیشتر برای تسهیل انتقال غذا (Sarasquete et al. 2001) و موکوس‌های خنثی بیشتر بر جذب مواد تأثیر دارند (Osman and Osman and 1992; Caceci, 1991; Grau et al. 1992). تمایز غنچه‌های چشایی در مری از روز پنجم بعد از تفریخ، بیانگر اهمیت چنین ساختارهای حسی شیمیایی در انتخاب غذاست. با افزایش سن لارو، توسعه غنچه‌های چشایی ادامه می‌یابد. در بسیاری از ماهیان، اولین غنچه چشایی در بخش‌های دهانی-حلقی و آبششی گزارش شده است (Zimmer et al. 1992). تحقیقات قبلی در مورد شروع تمایز غدد ترشح کننده موکوس در ماهیان آب شیرین از قبیل دو نوع گربه ماهی *Hemisorubim platyrhynchos* (Faccioli et al. 2016) و *Pelteobagrus fulvidraco* (Yang et al. 2010) به ترتیب در روز دوم و سوم بعد از تفریخ و در ماهی آب شور مانند سرخو قرمز اطلس *Lutjanus peru* (Pena et al. 2017) و نوعی شوریده ماهی *Argyrosomus regius* (Papadakis et al. 2013) به ترتیب در روزهای چهارم و پنجم بعد از تفریخ گزارش شده است. بررسی‌ها همچنین نشان داد که در روز سوم بعد از تفریخ دو نوع سلول موکوسی با شدت تراکم الکترونی متفاوت

مشاهده شد. بیشتر تراکم مواد تشکیل دهنده موکوس مری، گلیکوپروتئین‌هایی با خاصیت اسیدی یا خنثی هستند (Sarasquete et al. 1995; Elbal et al. 2004). موکوس‌های اسیدی بیشتر برای تسهیل انتقال غذا (Sarasquete et al. 2001) و موکوس‌های خنثی بیشتر بر جذب مواد تأثیر دارند (Osman and Osman and 1992; Caceci, 1991; Grau et al. 1992). تمایز غنچه‌های چشایی در مری از روز پنجم بعد از تفریخ، بیانگر اهمیت چنین ساختارهای حسی شیمیایی در انتخاب غذاست. با افزایش سن لارو، توسعه غنچه‌های چشایی ادامه می‌یابد. در بسیاری از ماهیان، اولین غنچه چشایی در بخش‌های دهانی-حلقی و آبششی گزارش شده است (Zimmer et al. 1992). تحقیقات قبلی در مورد شروع تمایز غدد ترشح کننده موکوس در ماهیان آب شیرین از قبیل دو نوع گربه ماهی *Hemisorubim platyrhynchos* (Faccioli et al. 2016) و *Pelteobagrus fulvidraco* (Yang et al. 2010) به ترتیب در روز دوم و سوم بعد از تفریخ و در ماهی آب شور مانند سرخو قرمز اطلس *Lutjanus peru* (Pena et al. 2017) و نوعی شوریده ماهی *Argyrosomus regius* (Papadakis et al. 2013) به ترتیب در روزهای چهارم و پنجم بعد از تفریخ گزارش شده است. بررسی‌ها همچنین نشان داد که در روز سوم بعد از تفریخ دو نوع سلول موکوسی با شدت تراکم الکترونی متفاوت

ماهی سیم معمولی، همگام با تغییرات تغذیه‌ای این گونه از تغذیه داخلی به تغذیه کاملاً خارجی است. همچنین، بروز تغییرات در مراحل پیشرفته لارو از روز هشت بعد از تفریح به بعد، امکان تغذیه از دامنه وسیعی از پلانکتون‌های گیاهی و جانوری را در این گونه فاقد معده فراهم می‌کند.

قدردانی

نویسندگان از پرسنل مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری و همچنین پرسنل بخش میکروسکوپ الکترونی دانشگاه موریسیا و دانشگاه تهران کمال تشکر و قدردانی می‌کنند. این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی دانشگاه تهران و در قالب طرح شماره ۲/۱/۲۵۷۸۲ به اجرا در آمد.

منابع

صحرائیان، م.ر.، یآوری، و.، مرمضی، ج.غ.، کر، ن.م.، رومیانی، ا. ۱۳۸۸. تأثیر سطوح مختلف انرژی جیره غذایی بر روی شاخص‌های رشد و بافت‌شناسی کبد ماهی شانک باله زرد (*Acanthopagrus latus*).
مجله علوم فنون دریایی ایران ۸: ۲۱-۱۰.
صحرائیان، م.ر.، ایگدری، س.، زیبایی، آ.، رفیعی، غ.، قناعت پرست، ا.، درویشی، ص. ۱۳۹۳. انتوژنی آنزیم آلفا آمیلاز در طی مراحل اولیه تکوین ماهی سیم معمولی (*Abramis brama*). تغذیه آبزیان ۳: ۴۴-۳۷.

پاندورا *Pagellus erythrinus* در روز ۱۷ بعد از تفریح (Micale et al. 2006) گزارش شده است.

شروع توسعه شیارها در رأس لایه مخاطی اندام مری اتفاق دیگر روز پنجم پس از تفریح بود. این امر در هنگام عبور یک سیست غذایی در درون مری لارو یازده روزه نشان داده شده است. مضرس بودن رأس لایه مخاطی مری علاوه بر نگهداری ذرات غذایی، می‌تواند سبب ایجاد خراش در مواد غذایی شود. اصطکاک همزمان دیواره مری و ذره غذایی، احتمالاً می‌تواند سبب ترشح موکوس در بافت اپیتلیوم مری شده و به هضم و جذب برخی از ترکیبات با زنجیره کوتاه کمک کند (Osman and Caceci, 1991; Grau et al. 1992). به علاوه، ظهور چین‌های طولی مری در روز هشتم بعد از تفریح می‌تواند در راستای عملکرد مری برای نگهداری و هدایت بیشتر و مؤثرتر مواد غذایی یا عملکرد بهتر در برگشت غذا در این گونه فاقد معده باشد (Abol-Munafi et al. 2006; Diaz et al. 2008; Papadakis et al. 2013; Faccioli et al. 2016). تفکیک مری به دو بخش جلویی و عقبی به ترتیب بر اساس توزیع بیشتر غنچه‌های چشایی و سلول‌های موکوسی در روز ۲۵ پس از تفریح و بعد از آن، احتمالاً به نبود معده و مسیر طولانی رسیدن غذا به روده مرتبط است. مشابه این نتیجه در دیگر گونه‌های ماهیان استخوانی حقیقی نیز گزارش شده است (Chen et al. 2006; Yang et al. 2010).

در نتیجه‌گیری کلی، می‌توان بیان کرد که ظهور زود هنگام غدد موکوسی همزمان با تغییر ساختاری بافت پوششی از سنگفرشی به ستونی، به همراه وجود لایه مضرس بر روی لایه مخاطی مری در مراحل اولیه تکوین

Abol-Munafi, A.B., Liem, P.T., Van, M.V., Ambak, M.A., Effendy, A.W.M., Awang Soh, M. 2006. Histological ontogeny of the digestive system of Marble Goby (*Oxyeleotris marmoratus*) larvae. Journal of Sustainability Science and Management 1: 79-86.
Asgari, R., Rafiee, G.H.R., Eagderi, S., Noori, F., Agh, N., Poorbagher, H., Gisbert, E. 2013. Ontogeny of the digestive enzyme activities in hatchery produced Beluga (*Huso huso*) Aquaculture 416-417: 33-40.

Barriga, J.P., Battini, M.A. 2009. Ecological significances of ontogenetic shifts in the stream-dwelling catfish, *Hatcheria macraei* (siluriformes, trichomycteridae), in a patagonian river. Ecology of Freshwater Fish 18: 395-405.
Cataldi, E., Crosetti, D., Conte, G., D'Ovidio, D., Cataudella, S. 1988. Morphological changes in the oesophageal epithelium during adaptation to salinities in *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus* and their

- hybrid. *Journal of Fish Biology* 32: 191-196.
- Chen, B.N., Qin, J.G., Kumar, M.S., Hutchinson, W. Clarke, S. 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) larvae. *Aquaculture* 256: 489-501.
- Diaz, A.O., García, A.M., Figueroa, D.E., Goldemberg, A.L. 2008. The mucosa of the digestive tract in *Micropogonias furnieri*: a light and electron microscope approach. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 37: 251-256.
- Elbal, M.T., García-Hernandez, M.P., Lozano, M.T., Agulleiro, B. 2004. Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Light and electron microscopic studies. *Aquaculture* 234: 215-238.
- Faccioli, C.K., Chedid, R.A., Mori, R.H., Amaral, A.C.D., Belmont, R.A.F., Vicentini, I.B.F., Vicentini C.A. 2016. Organogenesis of the digestive system in Neotropical carnivorous freshwater catfish *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). *Aquaculture* 451: 205-212.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, C., González de Canales, M.L. 1992. The digestive tract of the amberjack, (*Seriola dumerili* Risso): A light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology* 41: 287-303.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M.T., Muglia, U. 2006. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora (*Pagellus erythrinus* L.) *Aquaculture* 251: 354-365.
- Osman, A.H.K., Caceci, T. 1991. Histology of the stomach of (*Tilapia nilotica* Linnaeus, 1758). from the river Nile. *Journal of Fish Biology* 38: 221-223.
- Østergaard, P., Munk, P., Janekarn, V. 2005. Contrasting feeding patterns among species of fish larvae from the tropical Andaman Sea. *Marine Biology* 146: 595-606.
- Papadakis, I.E., Kentouri, M., Divanach, P., Mylonas, C.C. 2013. Ontogeny of the digestive system of meagre (*Argyrosomus regius*) reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juvenile. *Aquaculture* 388-391: 76-88.
- Pena, R., Dumas, S., Contreras-Olguin, M. 2017. Organogenesis of the digestive system in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) larvae. *Aquaculture Research* 48: 1561-1575.
- Pradhan, P.K., Jena, J.K., Mitra, G., Sood, N., Gisbert, E. 2012. Ontogeny of the digestive tract in butter catfish (*Ompok bimaculatus*) (Bloch) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 1601-1617.
- Qu, M., Ding, Sh., Xu, X., Shen, M., You., Y., Su., Y. 2012. Ontogenetic development of the digestive system and growth in coral trout (*Plectropomus leopardus*). *Aquaculture* 334-337: 132-141.
- Rønnestad, L., Yufera, M., Ueberscha, R.B., Ribeiro, L., Sæle, O., Boglione, C. 2013. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture* 5: 59-98.
- Sarasquete, M.C., Polo, A., Yufera, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead sea bream, (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 130: 79-92.
- Sarasquete, C., Gisbert, E., Ribeiro, L., Vieira, L., Dinis, M.T. 2001. Glycoconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, (*Solea senegalensis*) and Siberian sturgeon, (*Acipenser baeri*) development. *European Journal of Histochemistry* 45: 267-278.

- Watanabe, T., Kiron, V. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124: 223-251.
- Yang, R., Xie, C., Fan, Q., Gao, C., Libao Fang, L. 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) larvae. *Aquaculture* 302: 112-123.
- Yufera, M., Darias, M.J. 2007. The onset of feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268: 53-63.
- Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 130C: 477-487.
- Zimmer, G., Reuter, G., Schauer, R. 1992. Use of influenza c-virus for detection of 9-oacetylated sialic acids on immobilised conjugates by esterase activity. *European Journal of Biochemistry* 204: 209-215.

Histostructural ontogeny of esophagus in common bream (*Abramis brama*) during early developmental study using light microscopy and transmission electron microscope (TEM)

Mohammad Reza Sahraein¹, Soheil Eagderi^{1*}, Gholamreza Rafiee¹, Arash Zibae², Jose Meseguer³

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

2- Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran

3- Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology, University of Murcia, Murcia, Spain

Received 13 June 2017; accepted 17 February 2018

Abstract

This study aimed to investigate the histoarchitecture of the esophagus in common bream (*Abramis brama*) during early development using light microscopy and transmission electron microscope (TEM) from hatching up to day 60 post hatch (DPH). Larvae were sampled randomly every day from hatching time to 6 DPH, on every alternate day from 8 DPH to 20 DPH, every 5 days from 25 DPH to 40 DPH, and two last samples have down at 50 and 60 DPH. Then fish larvae were fixed by immersion in Bouin's solution and 4% glutaraldehyde (pH = 7.4). Results showed that the esophagus differentiated from the anterior part of the alimentary tract at hatching time. At 1 DPH, the esophagus lined by squamous cells and forming a fine tubular structure lined with cubical cells. First goblet cell was observed at 2 DPH in the mucosal layer of the esophagus. At 3 DPH, they showed presence of the various mucosal material. In addition, epithelium of the esophagus changed to columnar cells. The first taste bud was detected at 5 DPH and the main phenomenon was the appearance of a serrated outline of the esophagus apical cells. Longitudinal folds of the esophagus were developed at 8 DPH. No remarkable histological changes were observed till 25 DPH, but the number of the taste buds and goblet cells and their size were increased. From 25 to 60 DPH, low dense of goblet cell, increasing in posterior esophagus region, led to differed histological characteristics with anterior esophagus segment encompassed increasing number of taste buds.

Keywords: Esophagus ontogeny, Common bream, *Abramis brama*

*Corresponding author: soheil.eagderi@ut.ac.ir