

## مطالعه ساختار بافتی کبد و روده ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) طی مراحل رشد و نمو لاروی

لیدا امیری پور<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۲\*</sup>، عبدالعلی موحدی‌نیا<sup>۳</sup>، محمدرضا صحرائیان<sup>۴</sup>

- ۱- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، پست الکترونیکی: [amiripour@yahoo.com](mailto:amiripour@yahoo.com)
- ۲- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، پست الکترونیکی: [abdir@kmsu.ac.ir](mailto:abdir@kmsu.ac.ir)
- ۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، پست الکترونیکی: [amovahedinia@yahoo.com](mailto:amovahedinia@yahoo.com)
- ۴- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، پست الکترونیکی: [sahraian@yahoo.com](mailto:sahraian@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۸

\* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۶

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۴، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

### چکیده

هدف از مقاله حاضر، بررسی تغییرات بافتی و ریخت‌سنجی رشد و توسعه کبد و روده در مراحل اولیه رشد در ماهی هامور معمولی است. پس از تغذیه لاروها با جیره تعیین شده در زمان‌های پنج روز یک‌بار، نمونه‌ها تشریح شدند و پس از خارج نمودن کبد و روده مراحل استاندارد و معمول پاساژ بافتی انجام گرفت. سپس مقاطع پنج تا شش میکرونی از آن‌ها تهیه و در نهایت برش‌ها با روش H&E و PAS رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعات میکروسکوپی و ریخت‌سنجی نشان دادند که مساحت هپاتوسیت‌ها، طول و قطر پرزها با رشد لارو افزایش داشته، اما بیشترین تغییر مساحت هپاتوسیت‌ها از هفته ششم تا پایان دوره لاروی مشاهده گردید. همچنین بیشترین تغییر در طول پرز از روز ۳۵ تا ۶۰ روز پس از تخم‌گشایی و بیشترین تغییرات قطر پرز مربوط به سه هفته ابتدایی از زمان تخم‌گشایی بوده است. رشد و توسعه دستگاه گوارش در بافت‌های کبد و روده در لارو ماهی هامور معمولی الگویی مشابه با سایر ماهیان استخوانی دارد. اما تفاوت‌هایی در رابطه با زمان تمایز و عملکرد اندام‌ها در میان گونه‌های مختلف وجود دارد که به تاریخچه زندگی و شماری از عوامل ژنتیکی و محیطی از جمله تغذیه بستگی دارد.

کلمات کلیدی: هیستومورفولوژی، کبد، روده، لارو ماهی هامور معمولی.

### ۱. مقدمه

و استفاده از روش‌های صید تخریب کننده، ذخایر آن در بسیاری از مناطق رو به کاهش است. بنابراین استفاده از روش‌های پیشرفته در تکثیر و پرورش لارو این ماهی برای تامین نیاز بازار اهمیت زیادی دارد. توسعه موفق دستگاه گوارش به‌ویژه کبد و

ماهی هامور معمولی یکی از مهم‌ترین ماهیان تجاری خلیج فارس است که به علت بازارپسندی، قیمت بالا، صید نسبتاً آسان

امکان ذخیره اندک کیسه زرده در برخی لاروها و جذب سریع آن، به مخازن جلبک نانوکلوپسیس<sup>۱</sup> با تراکم ۵۰۰۰۰۰ (جهت تغذیه روتیفر) و روتیفر با تراکم ۲۰ عدد در هر سی سی در روز اول ذخیره سازی اضافه گردید (جدول ۱).

جهت مطالعه رشد و توسعه بافت کبد و روده در لارو ماهی هامور معمولی پس از تخم‌ریزی و در صورت انجام لقاح، نمونه‌گیری به مدت ۶۰ روز از ایستگاه تحقیقاتی بندر امام خمینی (ره) آغاز گردید. برای این منظور نمونه‌برداری به صورت کاملاً تصادفی شامل حداقل ۲۰ عدد لارو از تانک‌های پرورش و هر پنج روز یکبار انجام گرفت (Couturier et al., 2011). نمونه‌های مورد نظر جهت مطالعات بافتی و زیست-سنجی در محلول بوئن به مدت ۴۸ ساعت تثبیت و سپس برای نگهداری به الکل ۷۰٪ منتقل شدند. مراحل معمول بافت‌شناسی انجام و قالب‌های پارافینی به ضخامت شش میکرون برش داده شدند. در نهایت لام‌های تهیه شده به روش هماتوکسیلین - ائوزین و پریودیگ اسید شیف رنگ‌آمیزی گردیده و در زیر میکروسکوپ نوری مجهز به لنز داینولیت متصل به کامپیوتر مسلح به نرم افزار Dino capture مورد مطالعه قرار گرفتند (عبدی و همکاران، ۱۳۹۰). به منظور اندازه‌گیری تغییرات اندازه مساحت سلول‌های کبدی و همین‌طور طول و قطر پرزهای روده، در هر اسلاید ۳ میدان دید یکسان و از هر تیمار ۳ اسلاید انتخاب شد. یک میانگین برای هر کدام از موارد مذکور در هر اسلاید محاسبه گردید. تغییرات اندازه طول و قطر پرزهای روده، در سنین مختلف لاروی با آنالیز واریانس یک‌طرفه در نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ مقایسه شد و جهت بررسی داده‌ها از پس آزمون Tukey استفاده گردید. اختلافات در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد پذیرش قرار گرفت.

### ۳. نتایج

مطالعات میکروسکوپی نشان داد که سلول‌های پارانشیم کبدی یا هپاتوسیت‌ها فضای سینوزوئیدی را احاطه کرده و طناب‌های کبدی را ایجاد می‌کنند. هپاتوسیت‌ها دارای اشکال چند ضلعی بوده که هسته‌های نسبتاً گرد در مرکز آن‌ها و هستک‌ها در کنار هسته قرار گرفته‌اند.

روده برای بقا و رشد و نمو لاروی ماهی بسیار حیاتی است (Hachero-Cruzado et al., 2009). زیرا سیستم گوارشی کارآمد، ماهی را قادر به گرفتن، خوردن، هضم و جذب مطلوب مواد غذایی می‌سازد (Chen et al., 2006). به منظور افزایش جذب غذا، ترشح آنزیم‌های گوارشی متعدد از کبد و روده بسیار حایز اهمیت است (Hattori et al., 2003). همچنین سطح روده از پرزهای زیادی تشکیل شده است و این پرزها سطح جذب روده-ای را تا چندین برابر افزایش داده و به حرکت غذا در روده کمک می‌کنند (Kozaric et al., 2008). بنابراین با توجه به نقش بسیار مهمی که پرزها در گوارش ایفا می‌کنند، علم شناخت چگونگی رشد و توسعه آن در دوره لاروی بسیار مهم است (Ramezani-Fard et al., 2011). بیشتر ماهیان استخوانی مانند هامور معمولی در زمان تخم‌گشایی، دارای لوله گوارش تمایز نیافته هستند. که به تدریج به دنبال تکامل لارو تمایز یافته و تا زمان شروع تغذیه خارجی، جانور مواد غذایی و انرژی مورد نیاز خود را از کیسه زرده به‌دست می‌آورد (Trevino et al., 2011). بنابراین بررسی روند تغییرات دستگاه گوارش و غدد ضمیمه در قسمت کبد و روده‌ها به دلیل اهمیت خاص آن در جذب و گوارش مواد غذایی و در نتیجه رشد و نمو بهتر لارو و افزایش بازدهی تکثیر مصنوعی و موفقیت در امر پرورش ماهیان دارای جایگاه ویژه‌ای است (Jafari et al., 2009). هدف از مطالعه حاضر، بررسی تغییرات رشد و توسعه کبد و روده در ماهی هامور معمولی در مراحل اولیه رشد است. همین‌طور دستیابی به اطلاعات و یافته‌های کامل‌تر از عملکرد این اندام‌ها به منظور موفقیت در امر پرورش می‌باشد. با توجه به مطالعات انجام گرفته هیچ‌گونه مطالعه بافت‌شناسی در زمینه رشد و توسعه دستگاه گوارش ماهی هامور معمولی انجام نگرفته است. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع و به‌ویژه رشد و نمو دستگاه گوارش در مراحل لاروی به عنوان سرلوحه این تحقیق قرار گرفته است.

### ۲. مواد و روش‌ها

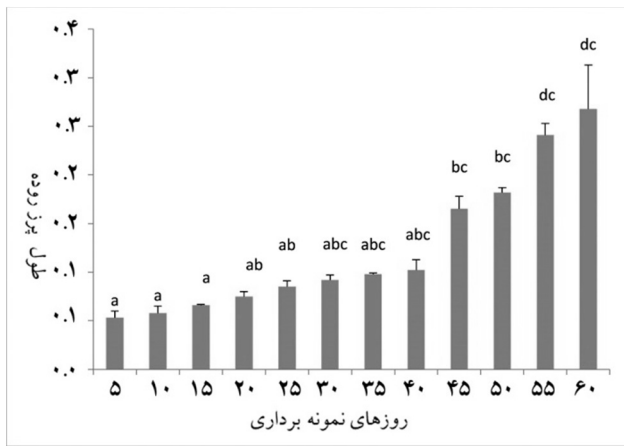
#### ۲-۱. پرورش لاروها

در ابتدا به مدت ۲ تا ۳ روز پس از تخم‌گشایی به دلیل حساسیت لاروها نسبت به نور، نوردهی ملایم صورت گرفته و غذادهی لاروها پس از جذب کیسه زرده آغاز گردید. اما به دلیل

<sup>1</sup> *Nannochloropsis*

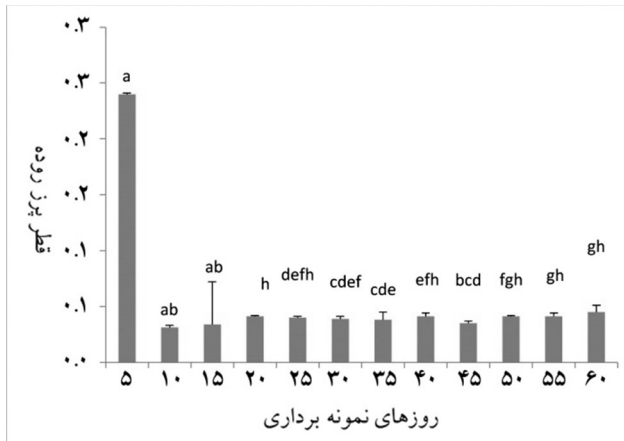
جدول ۱: نوع و میزان غذایی به لارو ماهی هامور معمولی

روز پرورش	نوع غذا	تراکم (Ind/cc)	دفعات غذایی
هفته اول	روتیفر نوزاد	۲۰	دو بار در روز
هفته دوم	روتیفر بزرگتر	۲۰	دو بار در روز
هفته سوم	ناپلی آرتمیا	۱	سه بار در روز
هفته چهارم	ناپلی آرتمیا	۱	چهار بار در روز
هفته پنجم	ناپلی آرتمیا	۲	پنج بار در روز
هفته ششم	پلیت + ناپلی آرتمیا	۵	پنج بار در روز
هفته هفتم	پلیت + ناپلی آرتمیا + میگو و ماهی خرد شده	۶-۷	سه تا پنج بار در روز
هفته هشتم	پلیت + ناپلی آرتمیا + میگو و ماهی خرد شده	۶-۷	شش تا هفت بار در روز

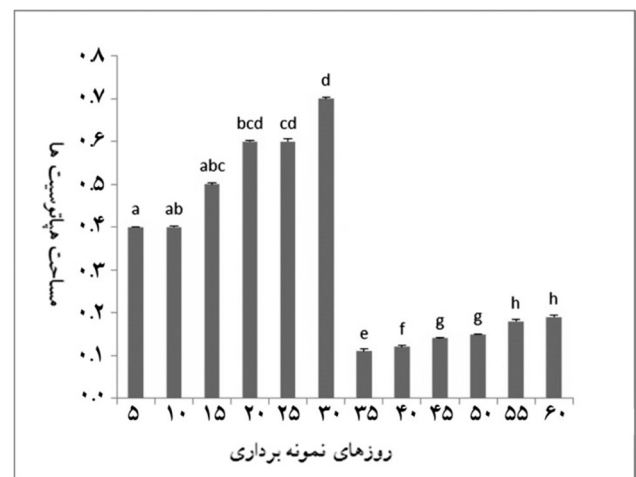


نمودار ۲: نمودار محور عمودی تغییرات طول پرز روده لارو ماهی هامور معمولی در روزهای مختلف نمونه برداری (حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار است) ( $P < 0.05$ ).

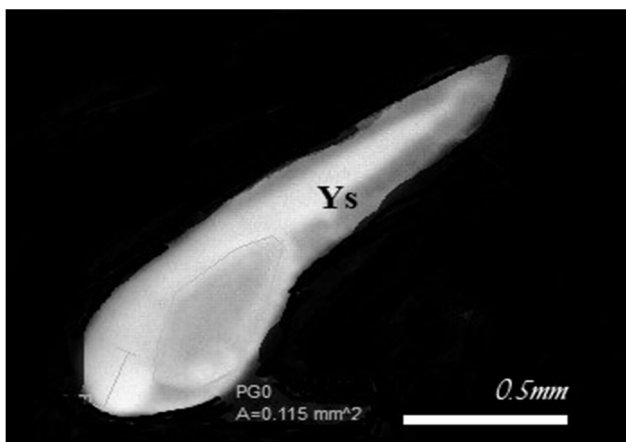
همچنین دیواره روده لارو ماهی هامور معمولی همانند دیگر ماهیان استخوانی از طبقات مختلفی تشکیل شده که از داخل به خارج شامل طبقه مخاط، زیر مخاط، طبقه عضلانی و سروزی هستند که این لایه ها در هفته سوم پس از تخم گشایی به صورت کاملا واضح قابل مشاهده هستند (شکل های ۱، ۲، ۳). مطالعات ریخت سنجی نشان داد که مساحت هیاتوسیت ها با رشد لارو افزایش یافته، و همین طور بیشترین تغییر مساحت هیاتوسیت ها از هفته ششم تا پایان دوره لاروی مشاهده گردید (نمودار ۱). همچنین با توجه به نمودارهای ۲ و ۳ طول پرزهای روده ای طی دوره لاروی افزایش یافته، به طوری که این افزایش در برخی از روزها بیشتر بود. بیشترین تغییر در طول پرز از روز ۳۵ تا ۶۰ روز پس از تخم گشایی مشاهده گردید. همچنین بیشترین تغییرات قطر پرز مربوط به سه هفته ابتدایی از زمان تخم گشایی بوده است.



نمودار ۳: نمودار تغییرات قطر پرز روده لارو ماهی هامور معمولی در روزهای مختلف نمونه برداری (حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار است) ( $P < 0.05$ ).



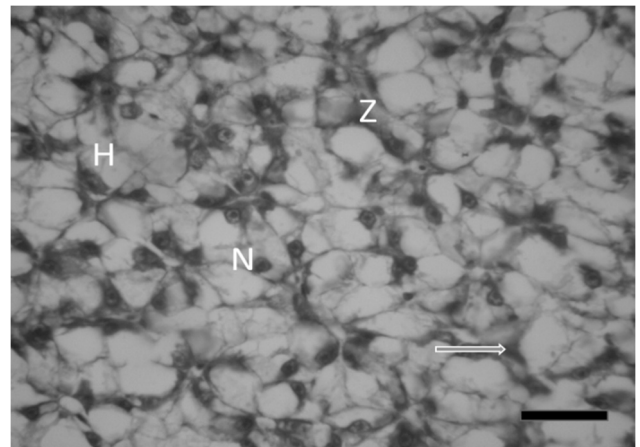
نمودار ۱: نمودار تغییرات اندازه مساحت هیاتوسیت های کبد لارو هامور معمولی در روزهای مختلف نمونه برداری (حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار است) ( $P < 0.05$ ).



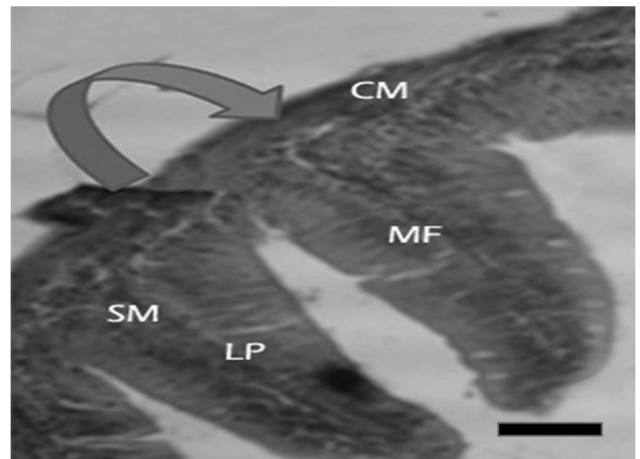
شکل ۱: لارو ماهی هامور معمولی یک روز پس از تخم گشایی. Ys: کیسه زرده

باشد، اما دستگاه گوارش نیازمند یک سری تغییرات تکاملی جهت کامل شدن کارایی آن است، که از مهمترین آن تغییرات رشد و توسعه روده و کبد است. این دو اندام نقش بسیار مهمی را در فرآیند هضم و جذب غذا بر عهده دارند (Abol-munafi et al., 2006). در لارو ماهی هامور معمولی نیز مشابه دیگر ماهیان از جمله ماهی آزاد ژاپنی و کپور علفخوار، سلول‌های پارانشیم کبدی، هپاتوسیت‌ها هستند که دارای یک هسته مرکزی می‌باشند. به علت خاصیت رنگ‌پذیری کم چربی و گلیکوژن با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ساختمان واکوئلی فراوان در هپاتوسیت‌ها مشاهده شد که بر اساس شکل می‌توان این دو نوع واکوئل را از هم تفکیک کرد. قطرات چربی کروی شکل بوده و به صورت تکی یا مجتمع هستند، در حالی که دانه‌های گلیکوژن غالباً اشکال نامنظمی دارند. در لارو ماهی هامور معمولی با گذشت زمان و افزایش سن، هپاتوسیت‌ها بزرگ‌تر شده و بر تعداد آن‌ها افزوده گردید. به طوری که بیشترین تغییرات مساحت هپاتوسیت‌ها از هفته ششم تا پایان دوره لاروی بود. مطالعات گوناگونی توسط محققین در ارتباط با افزایش حجم هپاتوسیت‌ها در لارو ماهیان صورت گرفته است که این افزایش را به درجه واکوئل شدن در هپاتوسیت‌ها نسبت داده‌اند.

Sánchez و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه بر اندام‌زایی لارو *Pagrus auriga* نشان دادند که اندازه کبد طی روزهای ۵ تا ۱۵ پس از تخم‌گذاری با افزایش تعداد هپاتوسیت‌ها و پدیده واکوئل شدن در هپاتوسیت‌ها تغییر کرده و بزرگ‌تر می‌شود (Sanchez-Amaya et al., 2007). Chen و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه روی لارو شاه ماهی دم زرد (*Serio lalandi*) گزارش نمودند که همزمان با تغذیه لارو از ناپلی آرتمیا از روز ۱۲ پس از تخم‌گذاری تا پایان دوره لاروی، واکوئل‌های زیادی برای ذخیره گلیکوژن و لیپید در کبد پدیدار می‌شوند. به همین دلیل حجم هپاتوسیت‌ها بیشتر شده و اندازه کبد تغییر کرده و بزرگ‌تر خواهد شد (Chen et al., 2006). در لارو ماهی هامور معمولی نیز با تغذیه از پلیت و ناپلی آرتمیا از هفته ششم حجم هپاتوسیت‌ها افزایش بیشتری پیدا نمود که می‌توان این افزایش را به پدیده واکوئل شدن در هپاتوسیت‌ها نسبت داد. همچنین ۴ تا ۱۰ روز پس از تخم‌گذاری در لارو (*Dentex dentex* L.)، اندازه کبد تا پایان دوره لاروی بزرگ شده که این تغییر اندازه در کبد به دلیل افزایش در حجم هپاتوسیت‌ها و ذخیره لیپید و گلیکوژن در آن و از دید سینوزوئیدها گزارش گردیده است (Santamaria et al.,



شکل ۲: برش از بافت کبد در مرحله لاروی بیست روزگی (H: هپاتوسیت، Z: سینوزوئید، N: هسته، ماکروفاز؛ با فلش مشخص شده است) (H&E, x10).



شکل ۳: دیواره روده لارو ماهی هامور معمولی. MF: طبقه مخاطی، LP: پارین، SM: طبقه زیر مخاط، CM: طبقه عضلانی، فلش: طبقه سروزی (H&E, x10).

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

مرحله لاروی یک دوره عبوری سریع در زندگی ماهیان محسوب می‌شود که در آن هم رشد و هم آنتوژنی صورت می‌گیرد و باعث تغییراتی در اندازه، شکل بدن، ساختمان و فیزیولوژی لارو می‌شود. بنابراین مرحله لاروی، دوره‌ای مهم در رشد ماهیان محسوب می‌شود. از مهمترین اندام‌ها و دستگاه‌های مورد توجه در مراحل لاروی، دستگاه گوارش و غدد ضمیمه است. زیرا ارتباط قابل توجهی بین تکامل دستگاه گوارش با رشد، تکامل و بقای سایر اندام‌ها وجود دارد (Micale et al., 2006). بر اساس گزارش محققین، اگرچه ممکن است لارو ماهی از نظر ریخت‌شناسی قابلیت گرفتن غذا را در تغذیه خارجی داشته

کند و تنوع غذایی را برای لارو بوجود آورد می‌تواند باعث موفقیت در پرورش لارو گردد.

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، رشد و توسعه دستگاه گوارش لارو ماهی هامور معمولی در بافت‌های کبد و روده الگویی مشابه با سایر ماهیان استخوانی دنبال می‌کند. هرچند تفاوت‌هایی در رابطه با زمان تمایز و عملکرد اندام‌ها در میان گونه‌های مختلف وجود دارد که این تفاوت‌ها به تاریخچه زندگی هر یک از گونه‌ها و شماری از عوامل ژنتیکی و محیطی از جمله تغذیه بستگی دارد.

## ۵. سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی نویسندگان از مسولین محترم ایستگاه تحقیقاتی بندر امام خمینی (ره) به دلیل همکاری صمیمانه آن مرکز ابراز می‌گردد.

## منابع

عبدی، ر.؛ پورخواجه، م.؛ ذوالقرنین، ح.؛ حسین زاده صحافی، ه.؛ مروتی، ح.، ۱۳۹۰. بافت‌شناسی و مکان‌یابی ایمنیایی سلول‌های یونوسیت در آبشش بچه ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*). نشریه اقیانوس‌شناسی، شماره ۶، سال دوم، صفحات ۱-۶.

Abol-munafi, A.T.; Liem, M.; Van, M.; Ambak, A., 2006.

Histological ontogeny of the digestive system. *Journal of Sustainability Science and Management*, 1(2): 79-86.

Chen, B.; Qin, J.; Kumar, M.; Hutchinson, W.; Clarke, S., 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish, *Serio lalandi* larvae. *Journal of Aquaculture*, 256: 489-501.

Francisco, J.; Neira, P.; Keane, M.; Sean, R., 2008. Development of eggs and larvae of *Emmelichthys nitidus* (Percoidei: Emmelichthyidae) in south-eastern Australia, including a temperature-dependent egg incubation model. *Journal of Fish Biology*, 79: 35-44.

Hachero-Cruzado, A.; Ortiz-Delgado, B.; Borrega, B.; Herrera, A.; Navas, A.; Sarasquete, B., 2009. Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus*

(2004). با توجه به اطلاعات به‌دست آمده می‌توان گفت که، افزایش مساحت هپاتوسیت‌ها می‌تواند به‌دلیل تغییر غذای لارو از ناپلی آرتمیبا به پلیت و ناپلی آرتمیبا به صورت توام باشد. با تغییر غذای لارو میزان پروتئین و چربی در رژیم غذایی لارو افزایش می‌یابد که بخشی از آن به صورت واکوئل در هپاتوسیت‌ها ذخیره می‌شود. با افزایش حجم واکوئل‌ها، مساحت هپاتوسیت نیز افزایش می‌یابد. زیرا از مهمترین خصوصیات مربوط به تکامل کبد، افزایش واکوئل‌های چربی، ذخیره گلیکوژنی و تکثیر سینوزوئیدهای کبد است. مطالعه روی لارو (*Pagellus erythrinus*) نشان داد که میزان پروتئین جیره غذایی به طور معنی‌داری بر ارتفاع و قطر پرزها، تعداد لنفوسیت‌های موجود در لایه اپیتلیال و اندازه سلول‌های اپیتلیال تاثیرگذار است (Francisco et al., 2008). در لارو ماهی هامور معمولی نیز با تغییر نوع غذا و افزایش میزان پروتئین در جیره غذایی لارو تغییر نمایی در ارتفاع پرز صورت گرفت. یکی از عواملی که می‌تواند ارتفاع پرزها را تحت تاثیر قرار دهد، نوع غذا و میزان هضم-پذیری پروتئین‌های خام آن است. طول پرزها در لاروهای *Emmelichthys nitidus* و برخی گونه‌های تغذیه شده با آرتمیبا و پاروپایان نشان داد که، طول پرز لاروهای تغذیه شده با آرتمیبا در مقایسه با لاروهای تغذیه شده با پاروپایان تغییرات کمی داشته و نشان‌دهنده افزایش سطح جذب پرزها در لاروهای تغذیه شده با پاروپایان است (Onal et al., 2010; Yang et al., 2010). همچنین گزارش گردید که لاروهایی که از مخلوط دو نوع غذا آرتمیبا و رورینا<sup>۱</sup> استفاده نمودند نسبت به آن‌هایی که تنها آرتمیبا دریافت نمودند طول و قطر پرز، رشد بیشتری داشته است (Zambunino-Infante et al., 2008). محققین تاثیر نوع تغذیه (Ramezani-Fard et al., 2011)، ترکیب مواد غذایی (Mai et al., 2005) و ساختار ژنتیکی (Ming-Yih et al., 2005) را که برای هر گونه منحصر به فرد است را در شکل‌گیری پرز از لحاظ ارتفاع و قطر آن دخیل دانسته‌اند. در تحقیق حاضر، لارو ماهی هامور معمولی تنها با یک نوع غذا تغذیه نشده بلکه در رژیم غذایی آن ترکیبی از غذاهای مختلف دیده شد. و همزمان با افزایش نوع غذا افزایش معنی‌داری در طول و قطر پرز روده مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). تغذیه لارو با مخلوطی از غذاهای مختلف که هر نوع غذا بتواند کمبودهای سایر غذاها را جبران

<sup>1</sup> Rorina

- Ramezani-Fard, E.; Kamarudin, M.S.; Harmin, S.A.; Saad, C.R.; AbdSatar, M.K.; Daud, S.K., 2011. Ontogenic development of the mouth and digestive tract in larval Malaysian mahseer, *Tor tambroides Bleeker*. Journal of Applied Ichthyology, 27: 920-927.
- Sanchez-Amaya, A.; Ortiz-Delgado, A.; Garcia-Lopez, A.; Cardenas, B., 2007. Larval ontogeny of red banded seabream *Pagrus auriga*. Journal of Aquaculture, 151: 254-265.
- Santamaria, C.; Marin de Mateoa, R.; Traveseta, R.; Salab, A.; Grauc, E.; Pastorc, C.; Sarasqueted, S.; Crespoa, B., 2004. Larval organogenesis in common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae): Histological and histochemical aspects. Journal of Aquaculture, 237: 207-228.
- Trevino, L.; Alvarez-Gonzalez, C.A.; Perales-Garcia, N.; Arevalo-Galan, L.; Uscanga-Matrtinez, A.; Marquez-Couturier, G.; Fernandez, I.; Gisbert, E., 2011. A histological study of the organogenesis of the digestive system in bay snook *Petenia splendida* from hatching to the juvenile stage. Journal of Applied Ichthyology, 27: 73-82.
- Yang, R.; Xie, C.; Fan, Q.; Gao, C.; Fang, L., 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow cat fish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. Journal of Aquaculture, 302: 112-123.
- Zambunino-Infante, J.; Gisbert, E.; Sarasquete, C.; Navarro, I.; Gutierrez, J.; Cahu, C.L., 2008. Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. Science Publishers, Inc. Enfield, 277-344PP.
- L.: Histological and histochemical aspects. Journal of Aquaculture, 286: 138-149.
- Hattori, M.Y.; Sawada, Y.; Takagi, R.; Suzuki, T.; Kumai H.J., 2003. Vertebral deformities in cultured red sea bream, *Pagrus major*, Temminck and Schlegel. Aquaculture research, 34: 1129-1137.
- Jafari, M.; Kamarudin, M.S.; Saad C.R., 2009. Development of morphology in hatchery-reared *Rutilus frisii kutum* Larvae. European Journal of Scientific Research, 296-305.
- Kozaric, Z.; Kuzir, S.; Petrinc, Z.; Gjurcevic, E.; Bozic, M., 2008. The development of the digestive tract in larval European catfish *Silurus glanis* L. Journal of Anatomy Histology Embryology, 37: 141-146.
- Mai, K.; Yu, H.; Duan, Q.; Gisbert, E.; Zambonino, J.L.; Cahu, C., 2005. A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. Journal of Fish Biology, 67(4): 1094-1106.
- 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. Journal of Aquaculture, 251: 354-365.
- Ming-Yih, L.O.; Chyng-Hwa, L.; Lee-Shing, F., 2005. Embryonic and larval development of the Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus* (Pisces: Serranidae). Journal of Marine Biology, 85: 1249-1254.
- Onal, U.; Celik, I.; Cirik, S., 2010. Histological development of digestive tract in discus, *Symphysodon* spp. Larvae. Journal of Aquacultur, 18: 589-601.