

مطالعه هیستولوژیکی و هیستوشیمیایی هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب

شیرین (*Astacus leptodactylus*)ابراهیم پیراسته^۱، بهنام سلیمی^{۱*} و احسان سلیمی ناغانی^۲^۱ سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان^۲ سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، دانشکده دامپزشکی، گروه آناتومی و بافت‌شناسی دامپزشکی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۷

چکیده

در این بررسی ۴۰ قطعه شاه‌میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) بالغ، بصورت زنده از سد ارس تهیه شده و پس از تجویز خوراکی فرمالین ۱۰ درصد و برداشت کوتیکول به مدت یک‌هفته در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شدند. پس از تهیه مقاطع بافتی به روشهای استاندارد توسط روش هماتوکسیلین-ئازوین، پرئودیک اسیدشیف، آلسین بلو، وون کوسا و ماسون‌تری کروم رنگ‌آمیزی و بوسیله میکروسکوپ نوری بررسی شدند. نتایج نشان داد هپاتوپانکراس از خارج توسط کپسولی نازک از بافت همبندی پوشیده شده و غدد لوله‌ای مرکب بوده که در مقطع عرضی، این لوله‌ها دارای مجرای ستاره‌ای شکل متشکل از یک ردیف سلول هرمی تا استوانه‌ای شامل سلول‌های استوانه‌ای بازوفیلیک با هسته یوکروماتینه (سلول‌های رشته‌ای) و سلول‌های ترش‌حی با سیتوپلاسم مملو از ترشحات واکونله می‌باشد. تراکم سلول‌های ترش‌حی جدار غدد هپاتوپانکراس بیشتر از سلول‌های استوانه‌ای بازوفیلیکی بوده که بر روی یک غشاء پایه قرار دارند. ترشحات موجود در سیتوپلاسم سلول‌های ترش‌حی از نوع ترکیبات غیرکربوهیدراته بوده و بافت همبندی از نوع سست است و در سیتوپلاسم سلول‌های جدار غدد هپاتوپانکراس هم ترکیبات کلسیمی وجود دارد، که تراکم آن در سلول‌های رشته‌ای به حداکثر خود می‌رسد. می‌توان گفت که هپاتوپانکراس سلول‌های متفاوت با وظایف گوناگون دارد که برخی سلولها مانند سلول‌های S شرح‌کننده آنزیم بوده و سلول‌های F رشته‌ای ممکن است محل اندوسیتوز باشند. همچنین سلول‌هایی که حاوی مقادیر زیادی کلسیم هستند را می‌توان بعنوان سلول‌های R نامگذاری نمود که نقش ویژه‌ای در ذخیره کلسیم و استفاده از آن در جریان چرخه‌های زیستی از قبیل پوست‌اندازی خواهند داشت.

واژه‌های کلیدی: هیستولوژی، هیستوشیمیایی، هپاتوپانکراس، شاه‌میگوی آب شیرین، *Astacus leptodactylus*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۷۴۰۰۶۹، پست الکترونیکی: Bsalimi@iausdj.ac.ir

مقدمه

جانوری از رده سخت‌پوستان (Crustacea) زیررده نرم پوششان (Malacostraca) و راسته ده‌پایان (Decapoda) می‌باشد. سه خانواده شاه‌میگوی آب شیرین در دنیا وجود دارد که خانواده آستاسیده (Astacidae) بومی منطقه آسیای غربی است. بطورکلی زیستگاه طبیعی شاه‌میگوی آب شیرین، هر قاره‌ای بجز آفریقا است و حداقل ۵۰۰ گونه مختلف از آن شناسایی شده است که تقریباً همه آنها در

امروزه تکثیر و پرورش آبزیان بویژه میگو در اکثر نقاط دنیا بعنوان یک شغل پردرآمد در حال توسعه است. در رده سخت‌پوستان راسته‌ای بنام ده‌پایان وجود دارد که از جنس‌های مختلفی تشکیل شده است. در میان جنس‌های مختلف ده‌پایان، میگو از فراوانی گونه‌ای نسبتاً خوبی برخوردار است و در اغلب آبهای جهان اعم از آب شیرین و آب‌شور ادامه حیات می‌دهد (۱۳). شاه‌میگوی آب شیرین

واقع شده است. این کیسه دارای دو قسمت بوده به شکلی که قسمت جلویی و بزرگ آن به مری متصل است تحت عنوان اتاق قلبی (Cardiac chamber) و قسمت عقبی و کوچک‌تر این کیسه باب المعده اتاق پیلور (Pyloric chamber) نام دارد و به یک روده میانی و کوتاه متصل است. در امتداد این روده میانی یک روده کوتاه و بدن پیچ‌خوردگی در ناحیه پشتی شکم قرار می‌گیرد. در انتها این لوله گوارشی، مخرج قرار گرفته که در وسط باله شنای این حیوان واقع شده است. دو غده گوارشی بزرگ (کبد و لوزالمعده) ضمیمه لوله گوارشی این شاه‌میگو است که در زیرمعده قرار دارند و از هریک از آن‌ها دو مجرا به روده میانی مربوط می‌شود و وظیفه آن‌ها انتقال مواد زائد آلی از خون و مایعات بدن، به خارج از بدن است (۶ و ۹).

هپاتوپانکراس بزرگترین غده ترشحی - ذخیره‌ای در بدن میگو است که وظایفی شبیه کبد و پانکراس در بدن مهره‌داران دارد. این غده در سطح فوقانی قسمت ابتدایی روده میانی و در سطح خلفی کیسه پشتی معده پیلوریک قرار گرفته و تقریباً تمامی فضای حفره سینه‌ای را پرمی‌کند (۱۴). آنزیمهای هضمی توسط این عضو ترشح شده و توسط مجاری پانکراس به کیسه شکمی معده خلفی منتقل می‌گردد. مخلوط مواد غذایی و آنزیمها از طریق همان مجاری مجدداً به هپاتوپانکراس برمی‌گردند و توسط پاره-ای از سلولهای این غده جذب می‌شوند. حرکات هپاتوپانکراس شبیه حرکات آکاردئون بوده و این حرکات موجب هدایت آنزیمها به طرف معده و حرکت عکس موجب برگشت مایعات به هپاتوپانکراس می‌گردد. هپاتوپانکراس در ده‌پایان واجد چهار نوع سلول است (۲، ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۲۰).

بطورکلی هپاتوپانکراس در ده‌پایان و از جمله میگوها یک ارگان حیاتی و مهم است که وظایف کبد، لوزالمعده، روده و برخی اندامهای دیگر در مهره‌داران را باهم انجام میدهد. عملکرد صحیح هپاتوپانکراس تأثیر بسزایی بر

آبهای شیرین و تعداد محدودی در آب‌های شور بسر می‌برند. مهم‌ترین شاه‌میگوی آب شیرین که در ایران یافت می‌شود گونه *Astacus leptodactylus* است که پراکنش طبیعی این‌گونه در جهان شامل اروپای شرقی، شوروی سابق، ترکیه، ترکمنستان و ایران است. در کشور عمده پراکنش آن در سواحل و رودخانه‌های واقع در بخش غربی دریای خزر و همچنین تالاب انزلی است. که از این نوع شاه‌میگو بمنظور ایجاد ذخایر جدید، به دریاچه‌های شمالی و سایر مناطق دیگر کشور از جمله سد ارس واقع در آذربایجان غربی منتقل و رهاسازی شده است. به دلایلی همچون قدرت سازگاری بالای این شاه‌میگو نسبت به سایر گونه‌های دیگر، رشد سریعتر، مقاومت بیشتر در مقابل بیماری‌ها، رژیم غذایی متنوع‌تر و بیشترین هم‌آوری نسبت به سایر گونه‌ها اهمیت آن را دوچندان نموده است. در حال حاضر یکی از بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده این‌گونه آبی‌زی کشورهای ترکیه و ایران می‌باشند (۷ و ۹). هرچند صید این‌گونه از زیستگاه‌های طبیعی و صادرات آن به صورت زنده مرسوم‌ترین شیوه عرضه این آبی‌زی می‌باشد، ولی باتوجه به محدودیت طبیعی و ارزش اقتصادی بالای آن کشورهای زیادی اقدام به تکثیر و پرورش این‌گونه نموده‌اند. در ایران این‌گونه در دریاچه سد ارس در حال پرورش است. یکی از عواملی که می‌تواند باعث موفقیت بیشتر در پرورش تکثیر و پرورش مصنوعی هرگونه آبی‌زی گردد شناخت کامل از فیزیولوژی، آناتومی و بافت‌شناسی آن موجود می‌باشد. خصوصاً شناخت خصوصیات دستگاه گوارش و غدد ضمیمه آن می‌تواند کمک شایانی برای انجام هرچه بهتر پروسه پرورش مصنوعی و برنامه‌ریزی‌های افزایش تولید در آینده گردد.

از دید مرفولوژیکی، دستگاه گوارش این حیوان از دهان، مری، معده‌ای بزرگ، روده، مخرج و دو غده گوارشی بزرگ تشکیل یافته است. دهان در سطح شکمی این خرچنگ واقع شده و دارای مری کوتاهی در دنباله آن است. معده آن بزرگ و با دیواره‌ای نازک در قسمت شکمی

فرمالین بافر ۱۰ درصد نگهداری شدند و بعد از ۲۴ ساعت فرمالین تعویض گردید و پس از گذشت یک هفته، آنها را بیرون آورده بطور کامل هپاتوپانکراس را جدا نموده و از تمام نواحی هپاتوپانکراس نمونه‌هایی تهیه شد. و سایر مراحل آماده‌سازی بافت همانند آبیگری، شفاف‌سازی، آغشتگی به پارافین توسط دستگاه پاساژ بافت و قالب‌گیری، برش و چسباندن برشها بر روی لام، مقاطع حاصله توسط رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین - ائوزین (H&E)، پریودیک اسید شیف (PAS)، آلسین بلو (pH=۲/۵)، وون کوسا و ماسون تری کروم به روش استاندارد رنگ‌آمیزی شده و چسباندن لامل بر روی لام حاوی نمونه تهیه نهایی لامها انجام گرفت (۴ و ۱۶).

نتایج

هپاتوپانکراس در شاه‌میگوی آب شیرین غده‌ای است که در بخش عقبی بدن و زیر قلب قرار دارد. این عضو توسط دو محفظه به محفظه پیلوریک معده راه دارد. هپاتوپانکراس، سلولهای متفاوت با وظایف گوناگون دارد که هنوز نامگذاری و طبقه‌بندی مشخصی برای هرکدام از آنها ارائه نشده است. باین‌حال نتایج این تحقیق نشان داد برخی سلولها مانند سلولهای S که ترشح کننده آنزیم هستند و سلولهای F رشته‌ای که ممکن است محل اندوسیتوز باشند از سلولهای مهم این اندام هستند. همچنین سلولهایی که حاوی مقادیر زیادی کلسیم هستند را می‌توان بعنوان سلولهای R نامگذاری نمود که نقش ویژه‌ای در ذخیره کلسیم و استفاده از آن در جریان چرخه‌های زیستی از قبیل پوست‌اندازی خواهند داشت.

نتایج حاصله از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین نشان می‌دهد که هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین از خارج توسط کپسولی نازک از بافت همبندی پوشیده شده است و از آن انشعابات فراوانی وارد این غدد شده و آن را به لب‌ها و لبول‌هایی تقسیم می‌کند. غدد موجود در این لبول‌ها از نوع غدد لوله‌ای مرکب بوده که در مقطع عرضی، این

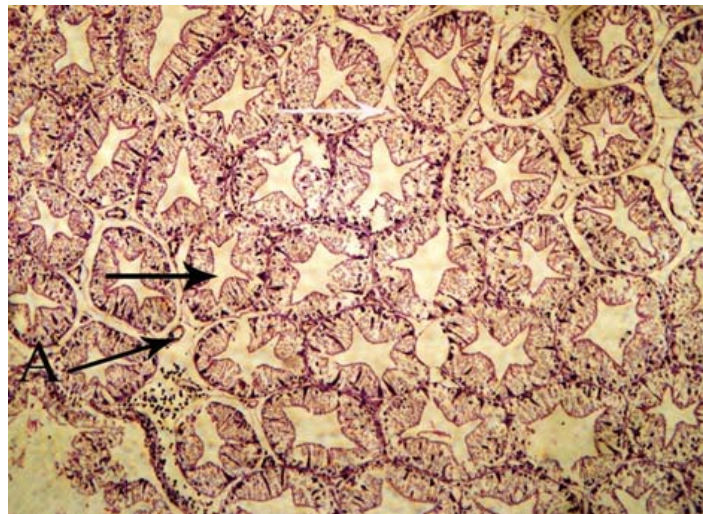
سلامت و رشد میگوها داشته و از آن به‌عنوان شاخص سلامت میگو در بررسی‌ها استفاده میگردد (۱۵). وظایف این ارگان مهم سنتز و ترشح آنزیمهای گوارشی، جذب مواد غذایی و در ادامه هضم نهایی آنها، ذخیره مواد آلی و متابولیت‌های چربیها و کربوهیدراتها، تولید مواد مورد نیاز جهت دوره‌های دگرذیسی و ویتلوژنز، انجام عمل سم‌زدایی با نگهداری فلزات سنگین در سلولهای جذبی، ذخیره‌سازی کلسیم، فسفات، گلیکوژن و چربیهای اسکلتی در مراحل مختلف عملکرد این دگرذیسی است. این اندام در طول دوره زندگی میگو دستخوش تغییراتی می‌گردد که این تغییرات در ساختار بافت‌شناسی آن تأثیر مستقیم و مشهود می‌گذارند. میزان ذخیره چربی و گلیکوژن در این بافت شاخص سلامت، تغذیه و مرحله زندگی این جانور می‌باشد. بنابراین بررسی هیستولوژی و هیستوشیمیایی هپاتوپانکراس می‌تواند نتایج کاربردی برای برنامه‌ریزی رژیم غذایی داشته باشد (۱۷). از آنجا که شاه‌میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) از گونه‌های بومی ایران بوده و از گونه‌های مهم تجاری محسوب می‌شود مطالعه زیر بنایی اندامهای مختلف آن ضروری به نظر می‌رسد. تحقیق اخیر که برای اولین بار در ایران انجام می‌گیرد غده هپاتوپانکراس را در این‌گونه مورد بررسی هیستولوژی و هیستوشیمیایی قرار داده است.

مواد و روشها

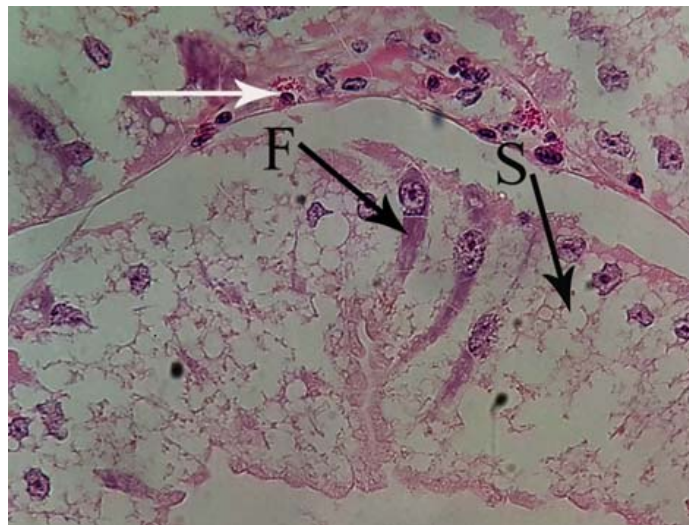
در این مطالعه تعداد ۴۰ نمونه (۲۰ قطعه جنس نر و ۲۰ قطعه ماده) شاه‌میگوی آب شیرین مورد تأیید اداره کل دامپزشکی و حفاظت محیط‌زیست آذربایجان غربی از سد ارس که محل زیست این آبزی می‌باشد تهیه گردید و پس از صید، شاه‌میگوها در فلاسک محتوی آب و پمپ هوا بصورت زنده به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج منتقل گردید. پس از خوراندن فرمالین ۱۰ درصد از طریق دهان و سوند مری و برداشت پوشش کوتیکولی شاه‌میگوها، آنها را در

لوله‌ها دارای مجرای ستاره‌ای شکل متشکل از یک ردیف سلول هرمی تا استوانه‌ای می‌باشند. در بافت همبند بین این غدد لوله‌ای، سلول‌های بافت همبندی، عروق مویرگی، سلول‌های عضلانی از نوع صاف و سلول‌هایی شبیه به ماستوسیت‌ها همراه گرانول‌های ائوزینوفیلیک در سیتوپلاسم آنها بوفور مشاهده می‌گردد. جدار غدد لوله‌ای هپاتوپانکراس، متشکل از سلول‌های استوانه‌ای بارنگ پذیری بیشتری نسبت به سایر سلول‌ها (بازوفیلیک تر) و هسته یوکروماتینه که تحت عنوان

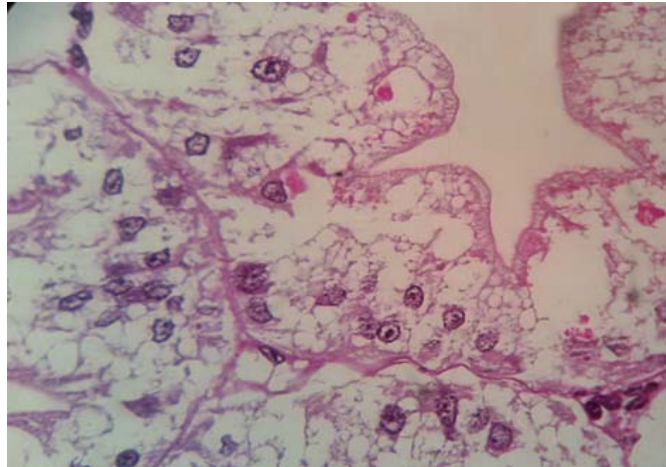
لوله‌های رشته‌ای نامیده می‌شوند و سلول‌های ترشحی با سیتوپلاسم مملو از ترشحات واکوئله و هسته‌ای یوکروماتینه می‌باشد که ترشحات خود به شکل هلوکراین وارد مجرای غدد لوله‌ای هپاتوپانکراس کرده و از طریق مجاری با اپیتلیوم استوانه‌ای ساده به روده قدامی وارد می‌کند. تراکم سلول‌های ترشحی در جدار غدد هپاتوپانکراس بیشتر از سلول‌های رشته‌ای بوده که تماماً بر روی یک غشاء پایه قرار دارند (شکل‌های ۱ و ۲).



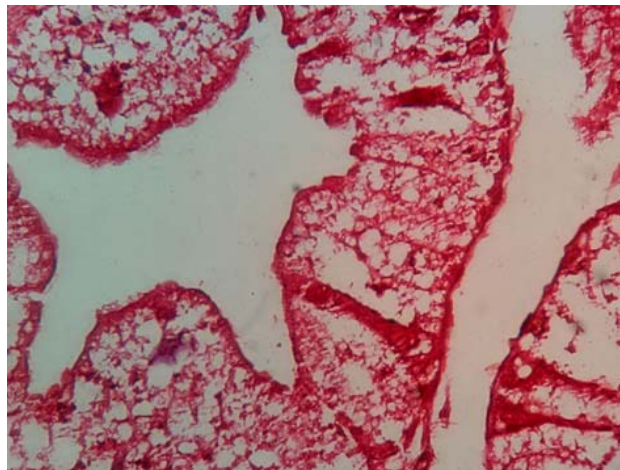
شکل ۱- برش عرضی هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین. پیکان سیاه‌رنگ: مجرای ستاره‌ای شکل غدد لوله‌ای، پیکان سفیدرنگ: بافت همبند بین غدد، A: عروق مویرگی. (H&E)(40X)



شکل ۲- برش عرضی غدد هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین. پیکان سفیدرنگ: بافت همبند بین غدد، S: سلول‌های ترشحی، F: سلول‌های رشته‌ای. ای. (H&E)(400X).



شکل ۳- برش عرضی غدد هپاتوپانکراس شاهمیگوی آب شیرین (PAS)(400X).

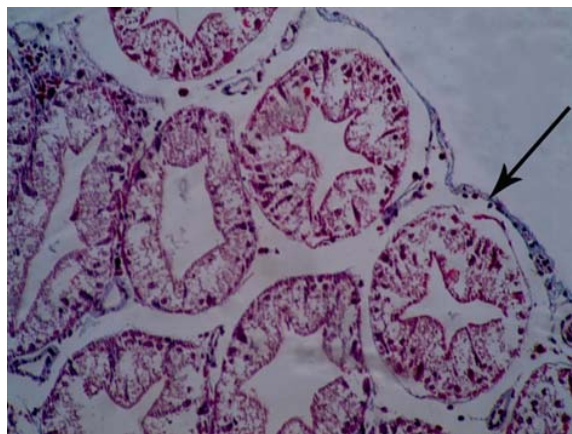


شکل ۴- برش عرضی غدد هپاتوپانکراس شاهمیگوی آب شیرین (Alcian blue, pH= 2.5)(400X).

نتایج حاصله از رنگ آمیزی وون کوسا که با محلول نیترات نقره ۵ درصد انجام گرفت، نشان می‌دهد که در سیتوپلاسم سلول‌های جداری غدد هپاتوپانکراس شاهمیگوی آب شیرین ترکیبات کلسیمی وجود دارد، که تراکم این ترکیبات در سلولهای رشته‌ای به حداکثر خود می‌رسد و منظره‌ای قهوه‌ای رنگ به سیتوپلاسم این سلول‌ها می‌دهد. سلول‌های ترشچی جداری غدد هپاتوپانکراس نیز حاوی مقادیر بسیار اندکی از ترکیبات کلسیمی نسبت به سلول‌های رشته‌ای بوده، که می‌تواند به دلیل وجود ترشحات واکوئله فراوان در سیتوپلاسم این سلول‌ها باشد (شکل ۷).

در رنگ آمیزی‌های پرئودیک اسید شیف و آلسین بلو (pH=۲/۵) سلول‌های ترشچی غدد هپاتوپانکراس شاهمیگوی آب شیرین هیچ واکنش مثبتی نسبت به این دو رنگ آمیزی نشان نداده و بیانگر آن است که، ترشحات موجود در سیتوپلاسم سلول‌های ترشچی هپاتوپانکراس از نوع ترکیبات غیرکربوهیدراته می‌باشند (شکل‌های ۳ و ۴).

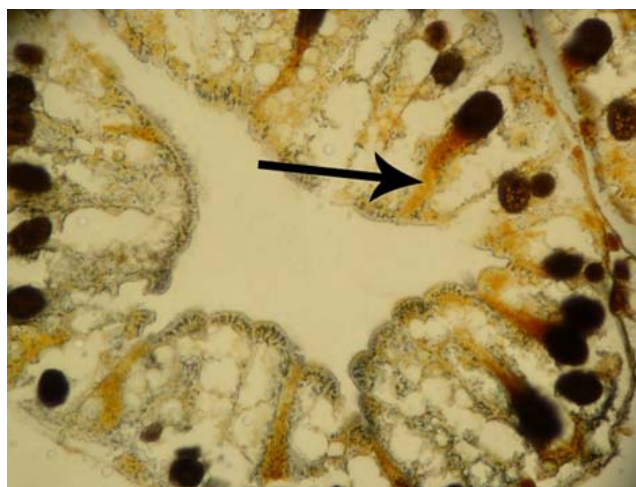
در رنگ آمیزی ماسون تری کروم رشته‌های کلاژن موجود در بافت همبندی کپسول و بین غدد لوله‌ای هپاتوپانکراس از تراکم پایینی برخوردار می‌باشند. این نتیجه بیانگر آن است که بافت همبندی در هپاتوپانکراس شاهمیگوی آب شیرین از نوع بافت همبند سست می‌باشد (شکل‌های ۵ و ۶).



شکل ۵- برش عرضی هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین، پیکان سیاه‌رنگ: بافت همبند سست کپسول غده هپاتوپانکراس به همراه رشته‌های کلاژن به رنگ آبی. (Masson's trichrome)(100X).



شکل ۶- برش عرضی غدد لوله‌ای هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین، پیکان سیاه‌رنگ: بافت همبند سست بین غدد هپاتوپانکراس به همراه رشته‌های کلاژن به رنگ آبی (Masson's trichrome)(100X).



شکل ۷- برش عرضی غدد لوله‌ای هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین، پیکان سیاه‌رنگ: سیتوپلاسم قهوه‌ای‌رنگ سلول‌های رشته‌ای مملو از ترکیبات کلسیمی (Von kossa)(400X).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که ساختار آناتومیکی، بافت‌شناسی و سلول‌شناسی هپاتوپانکراس شامل سلول‌های اصلی توبوله‌ای هپاتوپانکراس که خود شامل سلول‌های جنینی، سلول‌های رشته‌ای، سلول‌های جذبی-ترشحی، سلول‌های کیسه‌ای شکل، سلول‌های روده‌ای و سلول‌های میوآپیتلیال می‌باشند که با مطالعات زبلی در سال ۲۰۰۷، سانچز در سال ۲۰۰۷ و جردالین و ساراوانا در سال ۲۰۰۰ که بر روی انواع سلول‌های هپاتوپانکراس گزارش کرده‌اند، هم‌خوانی دارد. همچنین این محققین بر این باورند که اندازه هپاتوپانکراس، شکل و تعداد انواع سلول‌های آن تحت تأثیر فاکتورهای محیطی مثل گرسنگی، سموم و موادشیمیایی و عوامل داخلی یا فیزیولوژیک قرار می‌گیرد (۱۸، ۱۹ و ۲۱). همچنین براساس مطالعات رضائیان در سال ۱۳۸۰ بر روی غده هپاتوپانکراس در میگوی سفید هندی در خلیج فارس، گزارش گردید که این غده از دو لوب تشکیل شده است و تقریباً تمام فضای سینه‌ای را پر کرده، معده پیلوریک و ابتدای روده میانی را نیز بطور کامل در برمی‌گیرد. قسمت خارجی غده توسط کپسولی از بافت همبند سخت پوشیده شده است و واحدهای ترشحی از نوع لوله‌ای ساده بوده که قاعده آنها بر روی غشای پایه و دهانه آنها به سمت مرکز غده قرار دارد. بافت پوشاننده واحدهای ترشحی از نوع استوانه‌ای ساده و واجد سلول‌های متعددی می‌باشد. همچنین تنوع سلول‌ها در ناحیه پروکسیمال و دیستال توبول نیز متفاوت بوده است و در ناحیه پروکسیمال سلول‌ها اکثراً از نوع سلول‌های جنینی و سلول‌های کیسه‌ای شکل بوده، در حالیکه در ناحیه دیستال سلول‌ها بیشتر از نوع رشته‌ای و جذبی-ذخیره‌ای می‌باشند (۵). همچنین نتایج مطالعات بصیر و همکاران در مورد هیستومورفولوژی هپاتوپانکراس میگوی *(Litopenaeus vannamei)* به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسلین ائوزین (H&E) بیانگر این است که کپسولی از بافت همبند سخت هپاتوپانکراس را از خارج فراگرفته و

هپاتوپانکراس در نمونه‌های سالم بصورت یک اندام توبولار متشکل از چندین لوله به هم چسبیده می‌باشد که لوله گوارش را بجز در ناحیه شکمی آن احاطه می‌کند. سطح داخلی توبولها متشکل از واحدهای ترشحی شامل بافت پوششی استوانه‌ای ساده می‌باشد. مجرای توبولها دارای اشکال نامنظم بوده و در برخی از موارد بصورت ستاره‌ای شکل می‌باشد. در بافت پوششی توبولها چندین نوع سلول شرح ذیل مشاهده گردید، یکسری از سلول‌ها دارای اشکال مکعبی با سیتوپلاسمی که از سایر سلول‌های توبول رنگ‌پذیری بیشتری داشتند (بازوفیل تر)، هسته این سلولها بزرگ و کرومی بوده و دارای هستک مشخص نیز بودند این سلولها در واقع سلول‌های رشته‌ای نامیده می‌شوند. همچنین سلول‌های مکعبی دیگری نیز مشاهده گردید که سیتوپلاسم آنها نسبت به سلول‌های جذبی رنگ‌پذیری کمتری داشتند. هسته این سلولها بیضی‌تر بوده و فاقد هستک مشخص می‌باشند و با توجه به این مشخصات، این سلول‌ها، بنام سلول‌های جذبی-ذخیره‌ای نامیده می‌شوند. سلول‌های دیگر واجد یک واکوئول بسیار بزرگ بوده و هسته آنها در قاعده سلول متمرکز است. به این سلولها، سلول‌های کیسه‌ای شکل گفته می‌شود، سطح لومینال این سه نوع سلول واجد حاشیه مسواکی است (۳). که با مطالعه حاضر بر روی هپاتوپانکراس *Astacus leptodactylus* هم‌خوانی دارد.

در مطالعه دیگری که سانچز-پاز و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی تأثیرات گرسنگی و تغییرات گلوکز، گلیکوژن، پروتئین محلول، کل چربی، استرول‌ها، و *Acylglycerides* در پلاسما و هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین انجام دادند مشاهده گردید که پروتئین، ذخیره اصلی انرژی میگو برای مقابله با گرسنگی است. تحت گرسنگی کوتاه‌مدت یک کاهش سریع پلاسما و قند هپاتوپانکراس و کاهش مهم در گلیکوژن هپاتوپانکراس تشخیص داده شد. علاوه بر این، محتوای *Acylglycerides* در هپاتوپانکراس به‌طور قابل توجهی در زمان بعد کاهش می‌یابد، در حالی که پروتئین در پلاسما و هپاتوپانکراس در طول آزمایش نسبتاً ثابت

نر و ماده و تقسیم بدن شاه‌میگو به ۶ قسمت چنگال، پوست کاراپاس، امعاء واحشاء، گوشت شکم، پوست شکم و دم، ترکیب شیمیایی قسمت‌های مختلف تعیین شد. مقدار درصد چربی و خاکستر بدن در شاه‌میگوهای آزمایشی با افزایش سن افزایش پیدا کرد. میزان چربی در شاه‌میگوهای آزمایشی بین ۲ تا ۳/۵ درصد، مقدار پروتئین بین ۳۷ تا ۴۵ درصد و میزان فیبر بین ۳۳ تا ۳۵ درصد نوسان داشت. میانگین مقدار ترکیب شیمیایی بدن در شاه‌میگوهای نر و ماده تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). بیشترین میزان پروتئین در گوشت شکم (در جنس نر و ماده بترتیب ۷۴/۱۳ و ۷۲/۸ درصد) و بیشترین مقدار چربی در امعاء و احشاء (در جنس نر و ماده بترتیب ۸/۴۳ و ۱۰/۴۹ درصد) این‌گونه برآورد گردید. پوست شکم، پوست کاراپاس و دم با مقدار حدود ۱۶-۱۵ درصد فیبر مهمترین اندام‌های حاوی فیبر در شاه‌میگو بودند. میزان خاکستر قسمت‌های مختلف بدن عمدتاً از ۳۰ تا ۵۰ درصد متغیر بود و کمترین مقدار آن در گوشت شکم (حدود ۸ درصد) تعیین گردید (۸). که می‌توان نتیجه گرفت سلول‌های دستگاه گوارش شاه‌میگو برای جذب ترکیبات تغذیه‌ای خاصی که در سنین مختلف بیشتر مورد نیاز این جاندار می‌باشد تخصص یافته‌اند.

همچنین در مطالعه‌ای که ژیاودن و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی میزان رشد، ترکیبات بدنی، تحمل میزان آمونیاک و هیستولوژی هپاتوپانکراس در میگوی سفید *Litopenaeus vannamei* تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی منابع مختلف کربوهیدراتی در شوری پایین انجام دادند مشخص گردید که میگوهای تغذیه‌شده با منابع غذایی حاوی نشاسته سلول‌های B بیشتری در توبول‌های هپاتوپانکراس دارند نسبت به زمانی که با منابع غذایی حاوی گلوکز و ساکارز تغذیه شده‌اند دارند همچنین استفاده از منابع متخلف کربوهیدراتی (CBH) می‌تواند باعث تغییر در تعداد سلول‌های R هپاتوپانکراس گردد (۲۲). که اهمیت هیستولوژی سلول‌های هپاتوپانکراس را در

باقی‌مانده است (۱۸). نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی پرئودیک اسید شیف (PAS) و آلسین بلو ((pH= 2.5, AB)) در این پژوهش نشان داد که در این رنگ‌آمیزی‌ها سلول‌های ترش‌حی غدد هپاتوپانکراس شاه‌میگوی آب شیرین هیچ واکنش مثبتی نسبت به این دورنگ آمیزی نشان نداده و بیانگر آن است که، ترشحات موجود در سیتوپلاسم سلول‌های ترش‌حی هپاتوپانکراس از نوع ترکیبات غیرکربوهیدراته می‌باشند، که می‌توان نتیجه گرفت در شاه‌میگوی آب شیرین هم همانند سایر سخت‌پوستان انرژي متابولیسم بجای متکی بودن بر چرخه گلیکولیزیک، بیشتر بر مصرف لیپیدها می‌تواند استوار باشد.

مشاهدات انجام‌شده بارنگ آمیزی محلول نیترا نقره ۵ درصد نشان داد که در سیتوپلاسم سلول‌های جداری غدد هپاتوپانکراس *A. leptodactylus* ترکیبات کلسیمی وجود دارد، که تراکم این ترکیبات در سلول‌های رشته‌ای به حداکثر خود میرسد و منظره‌ایی قهوه‌ای رنگ به سیتوپلاسم این سلول‌ها می‌دهد. سلول‌های ترش‌حی جداری غدد هپاتوپانکراس نیز حاوی مقادیر بسیار اندکی از ترکیبات کلسیمی نسبت به سلول‌های رشته‌ای بوده، که می‌تواند به دلیل وجود ترشحات واکوئله فراوان در سیتوپلاسم این سلول‌ها باشد. که با مطالعه زیلی و همکاران در سال ۲۰۰۷ که راجع به نوسان غلظت کلسیم داخل سلولی در سلول‌های R هپاتوپانکراس میگوی *Marsupenaeus japonicas* بود هم‌خوانی دارد. این محققین با استفاده از روش فلورسانس نشان دادند که غلظت کلسیم آزاد سیتوزولی و کل کلسیم در سلول R به شدت به چرخه پوست‌اندازی بستگی دارد (۲۱). همچنین کریم‌زاده و همکاران به بررسی تغییرات ترکیب بدن شاه‌میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) در سنین و اوزان مختلف پرداختند در این تحقیق حدود ۱۰ هزار عدد نوزاد در استخر خاکی رهاسازی شدند. نمونه‌برداری در سه مرحله از شاه‌میگوهای ۱ ماهه، ۴ (۳-۴) گرم) ماهه و ۱۶ ماهه انجام گرفت. پس از تفکیک جنس

در بین گونه‌های مختلف مشاهده می‌شود (۱). مورفولوژی و فیزیولوژی هپاتوپانکراس و رفتارهای غذایی آبزیان بطور شگفت‌آوری متنوع است. همین تنوع بسیار زیاد در سیستم‌های هضم و جذب گونه‌های مختلف نیازمند شناخت آناتومی و بافت‌شناسی و نحوه عملکرد دستگاه گوارش در هرگونه است. لذا درک مناسب از نحوه عمل و شناخت کافی از شرایط فیزیکی، آناتومیک، بافت‌شناسی و هیستوشیمی هپاتوپانکراس میگوها بویژه گونه‌های مورد استفاده در آبی‌پروری بسیار اهمیت دارد.

جهت تنظیم یک جیره غذایی متناسب نشان می‌دهد. بطورکلی آبزیان از منابع مختلفی که در اعماق مختلف آب یافت می‌شود تغذیه می‌کنند و تشریح دستگاه گوارش و عادات تغذیه‌ای آن‌ها اطلاعات اکولوژیکی و بیولوژیکی مفیدی را فراهم می‌کند، با توجه به توسعه پرورش آبزیان و نیاز به اطلاعات بیشتر در زمینه عادات غذایی و روش تغذیه اهمیت مطالعات بافت‌شناسی دستگاه گوارشی آبزیان بیشتر می‌شود. اگرچه شباهت‌های بنیادین در بافت‌شناسی مجرای گوارشی و غدد ضمیمه گونه‌های مختلف آبزیان و حتی سایر مهره‌داران وجود دارد ولی همیشه تفاوت‌هایی

منابع

- ۱- اسدی، ط. و قارزی، ا.، ۱۳۹۴. مطالعه بافت‌شناسی و هیستوشیمی لوله گوارشی ماهی زرده (*Capoeta damascina*)، در رودخانه سزار، استان لرستان، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، دوره ۲۸، شماره ۴، صفحات ۳۸۹-۳۹۸.
- ۲- افشار نسب، م.، ۱۳۸۶. بیماری‌های ویروسی میگو، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۱۷-۱.
- ۳- بصیر، ر.، عبدی، ر.، کوچنیز، پ.، مروتی، ه.، پیغان، ر.، موحدی نیا، ع. و بصیر، ز.، ۱۳۸۹. هیستومورفولوژی و هیستوپاتولوژی هپاتوپانکراس میگوی لیتوپنائوس وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در اثر بیماری لکه سفید، مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره ششم، صفحات ۱۳ تا ۱۸.
- ۴- پوستی، ا. و ادیب مرادی، م.، ۱۳۸۵. روش‌های آزمایشگاهی بافت‌شناسی، چاپ اول، شماره ۲۸۰۶، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۹۶ صفحه.
- ۵- رضائیان، م.، ۱۳۸۰. بررسی بافت‌شناسی غده هپاتوپانکراس در میگوی سفید هندی خلیج فارس، طب جنوب خلاصه مقالات اولین کنگره سراسری طب و دریا، سال چهارم، ویژه‌نامه زمستان (۲)، صفحات ۲۹-۲۵.
- ۶- طاهرگورابی، ر.، ۱۳۸۲. خرچنگ دراز آب شیرین (بیولوژی، پرورش و تولیدمثل) با تأکید بر گونه بومی ایران، انتشارات نسل نیکان، ۷۶ صفحه.
- ۷- قربان‌زاده، ر. و نظری، س.، ۱۳۹۱. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۰-۱۳۸۰، انتشارات سازمان شیلات ایران، صفحات ۴۰-۴۲.
- ۸- کریم‌زاده، ک.، زحمتکش کومله، ع. و ولی‌پور، ع.، ۱۳۹۳. مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، دوره ۲۷، شماره ۲، صفحات ۲۷۰-۲۸۱.
- ۹- ناظرانی هوشمند، ح.، ۱۳۸۰. زیست‌شناسی و پرورش شاه‌میگوی آب شیرین، انتشارات راه دانایی، ۹۸ صفحه.
- 10- Al Mohanna, S. Y., 1987. M-midget cell and Moulting cycle in *Penaeus semisulcatus*, J.Mar, Biol.Ass.U.K.67, PP: 803-813.
- 11- Al Mohanna, S. Y., and Nott, J. A., 1985. Mitotic E and secretory F cell in the Hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda), T.Mar.biol.Ass.U.K. 65, PP: 901-910.
- 12- Bell, T. A., and Lighner, D. V., 1988. A hand book of normal Penaeid shrimp histology, Word Aquaculture Society. PP: 26-39.
- 13- Brown, L., 2003. Aquaculture for Veterinarians, Fish Husbandry and Medicine, Pergomon Press, 2st Edition, chapter, 16, PP: 285-299.
- 14- Friesen, J. A., Mann, K. H., and Willison, J. H. M., 1986. Gross Anatomy and fine structure of the gut of the marine mysid shrimp *Mysis stenolepis* Smith. Canadian Journal of Zoology. 64(2), PP: 431-441.
- 15- Liaco, I. C., and Chao, N. H., 1983. Development of prawn culture and its related studies in Taiwan, In Proceeding of the International Warm Water Aquaculture Conference (eds Rogers, G. L., Day, R. and Lim,

- A.), Brigham Young University, Hawaii Campus.
- 16- Lightner, D. V., and Bell, T. A., 1988. Handbook of Normal Penaeidae Shrimp Histology, PP: 58-63.
- 17- Millamena, O. M., and Trino, A. T., 1997. Low-cost feed for *Penaeus monodon* reared in tanks and under semi-intensive and intensive conditions in brackish water ponds. *Aquaculture*, 154, PP: 69-78.
- 18- Sanchez-Paza, A., Garcia-Carrenob, F., Hernandez-Lopez, J., Muhlia-Almazana, A., and Yepiz-Plascencia, G., 2007. Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 340, Issue 2, PP: 184-193.
- 19- Saravana, B. P., and Gerdaline, P., 2000. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn (*Macrobrachium malcolmsonii*) exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*, vol 50, No. 4, PP: 331-339.
- 20- Schrom, F. R., 1986. Crustacea, chapter 20, Denrobran-chiatal, PP: 242-254.
- 21- Zilli, L., 2007. Analysis of calcium fluctuation in hepatopancreatic R-cells of (*Marsupenaeus japonicus*) during the moulting cycle, *Biol Bull*, vol. 212, PP: 161-168.
- 22- Xiaodan W., Erchao L., Chang X., Jian G. Q., Shifeng W., Xuefen C., Yan C., Ke C., Lei G., Na Y., Zhen-Yu D. & Liqiao C., 2014. Growth, body composition, ammonia tolerance and hepatopancreas histology of white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed diets containing different carbohydrate sources at low salinity. *Aquaculture Research*, 2014, 1-12.

Histological and histochemical study of the hepatopancreas freshwater cray fish (*Astacus leptodactylus*)

Pirasteh E.¹, Salimi B.¹ and Salimi Naghani E.²

Aquatic animal Health and Disease Dept., Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I.R. of Iran

Veterinary Anatomy and Histology Dept., Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I.R. of Iran

Abstract

In this study, 40 adult live, crayfish (*Astacus leptodactylus*) of Aras dam was prepared. After oral administration of 10% formalin and remove cuticular cover, they kept in formalin 10%. Then tissue sections were prepared using standard methods. The tissue sections were stained by H&E, PAS, Alcian blue, Von Kossa and Masson's trichrome and examined under a light microscope. Results showed that the hepatopancreas is covered by a thin capsule of connective tissue from outside and tubular glands are complex which in cross-section, these tubes have a star-shaped channel consists of a row from pyramidal to cylindrical cells which contains filamentous cells with basophilic cytoplasm and euchromatin nucleus (Fibrillar cell) and secretive cells including cytoplasm filled with vacuolated secretions and euchromatin nucleus. Density of secreting cells in the lining glands is more than filamentous cells which all are placed on a basement membrane. Secretions in cytoplasm of secretary cells were non-carbohydrate compounds and connective tissue were of loose connective tissue. Also there are calcium compounds in the cytoplasm of parietal cells of glands which concentration of these compounds in filamentous cells reaches to its maximum. In general it can be said that hepatopancreas have different cells with different tasks that some of them such as S cells that secrete enzymes and F cells that may be the site for endocytosis. Also cells containing large amounts of calcium can be named as R cells that will have special role in calcium storage and use of it during biological cycles such as molting.

Key words: Histology, Histochemical, Hepatopancreas, Crayfish, *Astacus leptodactylus*