

مقاله علمی - پژوهشی:

هیستومورفولوژی و مقایسه برخی آنزیم های گوارشی روده اصلی ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) در دو فصل گرم و سرد

آمنه مرادخانی^۱، رحیم عبدی^{۱*}، محمد علی سالاری علی آبادی^۱، سیدمحمدباقر نبوی^۱، زهرا بصیر^۲

*abdir@kmsu.ac.ir

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۹

چکیده

در این تحقیق تعداد ۱۰ عدد ماهی شیربت با شرایط زیست سنجی مشابه از هر جنس در فصول زمستان و تابستان سال ۱۳۹۵ صید گردیدند. سپس نمونه‌هایی به طول ۰/۵ سانتی متر از نواحی قدامی، میانی و خلفی روده تهیه و در محلول بوئن قرار داده شدند. در ادامه از نمونه‌ها به روش استاندارد و معمول تهیه مقاطع بافتی شامل آبگیری با الکل، شفاف سازی با گزیل و پارافینه شدن برش‌هایی به ضخامت ۴-۶ میکرون صورت گرفت و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و پریودیک اسید شیف بر آنها انجام گردید. برای تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ابتدا عصاره آنزیمی خام تهیه شد. سپس مراحل معمول اندازه گیری آنزیم‌ها همانند هموژیناسیون، سانتریفیوژ انجام گرفتند و در نهایت به دستگاه اتوآنالایزر منتقل شد و نتایج به دست آمده برحسب میکرومول بر میلی گرم پروتئین بیان شدند. نتایج مشاهدات بافت شناسی روده نشان از وجود چهار طبقه مخاط، زیر مخاط، عضلانی و سروزی بوده است. نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی بین گروه‌ها نشان داد که در میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تمام نواحی مختلف روده بین ماهی‌های نر و ماده در فصل سرد و گرم تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p \geq 0.05$). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تمام نواحی روده در ماهی‌های نر و ماده افزایش معنی داری نسبت به ماهی‌های نر به ویژه در فصل سرد نشان داد ($p \leq 0.05$). همچنین در میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تمام نواحی مختلف روده بین ماهی‌های نر و ماده و در هر دو فصل تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p \geq 0.05$).

لغات کلیدی: هیستومورفولوژی، آنزیم های گوارشی، روده، ماهی شیربت

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) از خانواده کپور ماهیان است که دارای پراکنش بسیار زیادی در رودخانه‌های جنوب ایران می‌باشد (Basir et al., 2011). این گونه به واسطه رشد مناسب و ارزش بالای کیفیت گوشت، دارای ارزش اقتصادی و طرفداران بسیاری زیادی می‌باشد. رژیم غذایی این ماهی همه‌چیزخواری می‌باشد که در سنین بالا به رژیم گوشت‌خواری تغییر می‌کند. همچنین در شرایط مختلف محیطی می‌تواند خصوصیات زیستی متفاوتی از جمله پارامترهای رشد، زاد و ولد، تغذیه و پراکنش متغیر داشته باشد (Pyka et al., 2001; Basir et al., 2012). پراکنش ماهی شیربت در حوضه آبریز خلیج فارس، رودخانه‌های دشت خوزستان و حوضه رودخانه‌های دجله و فرات می‌باشد. این ماهی در برخی نواحی ایران از جمله تالاب هورالعظیم، تالاب شادگان و رودخانه‌های واقع در بخش‌های شمالی خلیج فارس مانند رودخانه‌های کارون، دز، بهمن شیر و زهره نیز شناسایی شده است. این گونه دارای دامنه تحمل شوری و دما در تمام منابع آبی با ویژگی‌های اکولوژیک متفاوت می‌باشد که در آب شیرین، لب‌شور و مناطق مصبی استان خوزستان دیده می‌شود. علاوه بر دامنه تحمل شوری و دما، رژیم همه‌چیزخواری آن، ویژگی مهمی در این راستا به حساب می‌آید. مطالعات محققین بر گونه‌های مختلف آبی، نشان داده که روده در بیشتر ماهیان از چهار لایه بافتی عمومی تشکیل شده است و شامل لایه بافت پوششی یا اپیتلیوم که به صورت یک غشاء نفوذپذیر انتخابی عمل می‌کند و شامل سلول‌های استوانه‌ای بلند به همراه سلول‌های مخاطی می‌باشد (Roshanfekar et al., 2017). لایه دوم زیر مخاط که عمدتاً از بافت همبند تشکیل شده است و باعث حمایت لایه مخاطی می‌شود. سومین لایه «لایه عضلانی» و چهارمین لایه (خارجی‌ترین لایه) را «لایه سروزی» می‌نامند. مجرای گوارشی نقش مهمی در هضم و جذب مواد غذایی و در نتیجه رشد و نمو جانور ایفاء می‌کند (Cao and wang, 2015). از سویی، هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش به‌ویژه روده، مقدار زیادی به آنزیم‌های گوارشی ترشح شده در هر قسمت

بستگی دارد. همچنین برخی محققین به فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بالا بردن کارایی دستگاه گوارش در موجودات آبی اشاره کردند. گوارش یا هضم، به قابلیت جذب مواد غذایی از طریق حل کردن و شکستن آن به ترکیبات شیمیایی ساده گفته می‌شود که در بدن موجودات زنده اتفاق می‌افتد و عمدتاً از طریق آنزیم‌های ترشح شده در دستگاه گوارش انجام می‌شود (Akinyemi et al., 2010). تعداد آنزیم‌های گوارشی متفاوت است و هر کدام محل خاص ترشح و دارای اثر مخصوص به خود می‌باشند که در شرایط بهینه خاص، می‌توانند عمل کنند. این آنزیم‌ها به صورت اگزوکرین هستند (برای عمل موثر وارد مجرا می‌شوند) (Babaei et al., 2011). از جمله آنزیم‌های مورد بررسی در تحقیقات مختلف، آنزیم‌های لیپاز، آلکالین فسفاتاز و آمیلاز را می‌توان نام برد (Khodadadi et al., 2016). لیپاز آنزیمی است که دارای توانایی هیدرولیز استرها می‌باشد و در تبدیل تری‌گلیسرید به گلیسرول و اسید چرب، نقش اختصاصی ایفاء می‌کند که به این عمل «لیپولیز» می‌گویند (Ozpolat and Duman, 2017). آلکالین فسفاتاز آنزیمی است که از منطقه نوار مسواکی روده ترشح می‌شود و دارای انواع روده‌ای و کبدی می‌باشد. نوع روده‌ای آن از بافت روده ترشح می‌شود و میزان فعالیت این آنزیم در روده بیانگر وضعیت فعالیت روده می‌باشد به‌طوری‌که میزان فعالیت این آنزیم نشانگر تکامل سریع آنتروسیت‌ها، رشد و بلوغ روده است (Zhao et al., 2013). آنزیم آمیلاز باعث تجزیه زنجیره‌های کربوهیدرات مانند نشاسته می‌شود که ولی عمل هیدرولیز آنها مرتب نیست و در قسمت‌های مختلف زنجیره اثر می‌کنند. این آنزیم زنجیره کربوهیدراتی نشاسته را در مکان‌های تصادفی هیدرولیز کرده و الیگوساکاریدهای کوتاه، مالتوز و گلوکز تولید می‌کند (Franco et al., 2017). همچنین از تحقیقات مشابه می‌توان به بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی دوره گرسنگی و غذادهی، مقایسه فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی روده ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان و همچنین مطالعه فعالیت آنزیم‌های وابسته به گلوکز تیون در

نمونه‌های مورد نیاز برداشت گردیده و بدین منظور از روش معمول تهیه مقاطع بافتی استفاده گردید (Bocina *et al.*, 2017). در این روش پس از تثبیت با محلول بوئن، با استفاده از دستگاه هیستوکینت، مراحل مختلف پاساژ شامل آب‌گیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین انجام شد (Abdi *et al.*, 2007). سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شدند و با استفاده از میکروتوم دورانی مدل ۲۰۳۵ ساخت شرکت لایکا آلمان، برش‌هایی به ضخامت ۶-۴ میکرومتر تهیه گردیدند و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و رنگ‌آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف قرار گرفتند (Xiong *et al.*, 2010; Moradkhani *et al.*, 2020). در نهایت با میکروسکوپ نوری مجهز به لنز داینولیت و سیستم کامپیوتری مجهز به نرم افزار داینوکیپر مورد مطالعه قرار گرفتند. برای تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی، در ابتدا عصاره آنزیمی خام تهیه گردید. برای این منظور، نمونه‌ها از فریزر خارج و با ترازوی دیجیتالی وزن شدند. قبل از آب شدن یخ نمونه‌ها، به ظرف مخصوص هموژن منتقل شدند و به نسبت ۱ به ۹ محلول بافر هموژن (۱۰۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد Triton X100) روی آنها ریخته شد و با هموژنایزر هموژن شدند (Dostani Dezfoli *et al.*, 2020). همه مراحل نزدیک یخ و در دمای پایین انجام گرفت. سپس محلول هموژن از ظروف خارج و به داخل میکروتیوب منتقل شد. سپس میکروتیوب‌ها به سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۶۰۰۰ منتقل و سانتریفیوژ شدند (Namulawa *et al.*, 2013). بعد از سانتریفیوژ، محلول رویی که شفاف بود، برداشته شد و برای سنجش آنزیمی به دستگاه اتوانالایزر منتقل گردید و نتایج به دست آمده برای تعیین میزان فعالیت آنزیمی، برحسب میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان شدند (Alvarez-Gonzalez *et al.*, 2008). فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از کیت تولیدی شرکت پارس آزمون سنجیده شد. در این روش در ابتدا سوبسترای ۱۰۲-O-Dilauryl-rac-3-glycerin ester (6-methyresorufin) به واسطه آنزیم لیپاز و کولیپاز به ۱، ۲-3-O-Dilauryl-rac-glycerin و (6-ethylresorufin acid)-ester glutaric

کبد و روده ماهی برزم لب پهن نام برد (Staykov *et al.*, 2007; Merrifield *et al.*, 2009; Radovanovic *et al.*, 2015). بنابراین، با توجه به اهمیت گونه مورد نظر از لحاظ صید و صیادی و نقش تغذیه‌ای آن به‌ویژه در ناحیه جنوبی کشور، پژوهش حاضر بر صفات بافت‌شناسی ساختار روده به منظور درک فیزیولوژی و بررسی مهم‌ترین آنزیم‌های موثر بر فعالیت گوارشی جهت مشخص شدن نوع تغذیه به‌ویژه در فصول گرم و سرد انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق نمونه‌برداری در دو مرحله به صورت مجزا در فصول زمستان و تابستان سال ۱۳۹۵ انجام پذیرفت. نمونه‌های فصل گرم، تعداد ۱۰ قطعه ماهی بالغ از هر جنس به‌طوری‌که ماهی‌های شیربت نر با میانگین طولی $146 \pm 8/4$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $150/97 \pm 25$ گرم و ماهی‌های شیربت ماده، با میانگین طولی $157 \pm 40/4$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $32/156 \pm 70$ گرم بودند. برای این منظور ماهیان به ظاهر سالم از استخرهای با آب دارای درجه حرارت $28/5$ درجه سانتی‌گراد (در زمان صید)، شوری $1/2$ (ppt)، اکسیژن محلول $7/11$ (ml/L) و pH برابر ۶ از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان شهید احمدیان خرمشهر با تور ماهیگیری صید شدند و بلافاصله به کمک تانکر مخصوص حمل ماهی زنده که مجهز به سیستم هوادهی و کپسول اکسیژن بود، به آزمایشگاه بخش زیست شناسی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. همچنین برای نمونه‌های فصل سرد، در این مرحله نیز تعداد ۱۰ قطعه ماهی نر شیربت، بالغ و به ظاهر سالم با میانگین طولی $141 \pm 40/4$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $70/96 \pm 26$ گرم و ۱۰ قطعه ماهی شیربت ماده، بالغ و به‌ظاهر سالم با میانگین طولی $48/10 \pm 5$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $57/275 \pm 60$ گرم از استخرهای با آب دارای درجه حرارت $11/5$ درجه سانتی‌گراد (در زمان صید)، شوری ۱ (ppt)، اکسیژن محلول $9/22$ (ml/L) و pH برابر ۷ صید گردیدند. سپس از قسمت‌های ابتدایی، میانی و انتهایی روده جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی،

($p \leq 0.05$) مورد مطالعه و بررسی آماری قرار گرفت (Furne et al., 2012).

نتایج

نتایج مشاهدات بافت‌شناسی روده اصلی در ماهی شیربت نشان داد که این لوله دارای چهار طبقه مخاط، زیر مخاط، عضلانی و سروز می‌باشد. بافت پوششی طبقه مخاطی از سلول‌های استوانه‌ای بسیار بلند با حاشیه مخاط به همراه سلول‌های جامی شکل تشکیل شده است و بر تعداد این سلول‌ها به‌ویژه از ابتدا به سمت ناحیه انتهایی افزوده می‌شود. در ادامه، بافت همبند سست پارین که به‌وسیله عضله مخاطی از بافت همبند زیر مخاط جدا شده به‌طوری‌که بر ضخامت عضله مخاطی از ناحیه قدامی به سمت خلف روده افزوده می‌شود. همچنین ارتفاع کرک‌ها در ناحیه قدامی لوله گوارش بسیار بلند است اما به سمت انتهای لوله گوارش از ارتفاع کرک‌ها کاسته شده و بر ضخامت آنها افزوده می‌شود. هیچ‌گونه تفاوتی در ساختار میکروسکوپی روده در هر دو جنس و در فصول مختلف مشاهده نگردید (شکل ۱).

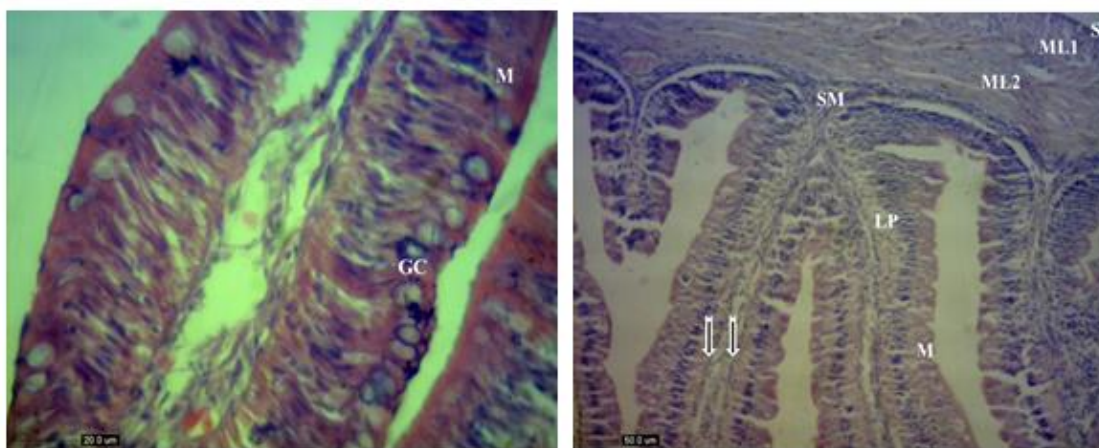
میانگین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت مورد مطالعه، ارائه شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در نواحی مختلف روده، مربوط به ماهی‌های ماده در فصل گرم در بخش ابتدایی روده ($1283/14 \pm 66/63$ میلی گرم پروتئین بر واحد) و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به ماهی‌های نر در فصل سرد در بخش انتهایی روده ($271/93 \pm 12/72$ میلی گرم پروتئین بر واحد) می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌ها به این صورت بود که میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تمام نواحی مختلف روده (بخش ابتدایی، میانی و انتهایی) بین ماهی‌های نر و ماده، در فصل سرد و گرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p \geq 0.05$) (شکل ۲).

بررسی میانگین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت مورد مطالعه، مشخص کرد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در نواحی مختلف روده، مربوط به ماهی‌های نر در فصل گرم در بخش انتهایی روده ($28954/64 \pm 481/72$ میلی گرم

شکسته شد و در ادامه 6- Glutaric acid ester- ethylresorufin) با استفاده از Degradation تبدیل به Glutaric acid و Methylresorufin گردید که یک واکنش رنگ‌زا می‌باشد (Gisbert et al., 2011; Imanpoor and Roohi, 2015). برای این منظور عصاره آنزیمی دستگاه گوارش ماهی به داخل کووت‌های دستگاه اتوانالایزر منتقل شده و میزان فعالیت آنزیم لیپاز با دستگاه محاسبه و گزارش گردید. برای سنجش آنزیم آلکالین فسفاتاز از کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز شرکت پارس آزمون استفاده شد. در این روش سوبسترای P-Nitrophenylphosphate با آنزیم آلکالین فسفاتاز به فسفات و پارانیتروفنول شکسته می‌شود که یک واکنش رنگ‌زا می‌باشد. برای این منظور ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی درون سینی نمونه دستگاه اتوانالایزر قرار گرفت. سپس میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر (۴۲۰-۴۰۰ نانومتر) با استفاده از دستگاه اتوانالایزر اندازه‌گیری و میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز توسط دستگاه محاسبه و گزارش گردید (Chan et al., 2004). فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش فتومتریک آنزیمی-کالری متری با استفاده از کیت تشخیص کمی α -Amylase شرکت پارس آزمون سنجیده شد. در این روش 4,6-ethylidene-(G7)-p-nitrophenyl- (G1) α -D-maltohepaside (EPS-G7) به‌وسیله آلفا آمیلازها به قطعات مختلفی شکسته شده و در مرحله دوم این قطعات گلوکوزیدازها هیدرولیز و منجر به تولید گلوکز و P-nitrophenol می‌شوند که از طریق رنگ‌سنجی میزان فعالیت آنزیمی محاسبه می‌شود. برای این منظور ۳۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی درون سینی نمونه دستگاه اتوانالایزر قرار داده شد. در ادامه دستگاه اتوانالایزر جذب نوری نمونه را در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری نمود و سپس میزان فعالیت آنزیم آمیلاز گزارش گردید. در نهایت اندازه‌گیری آنزیم‌ها ثبت و به‌وسیله نسخه شماره ۲۳ نرم‌افزار SPSS میانگین و انحراف معیار میزان فعالیت آنزیم‌ها در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت برحسب

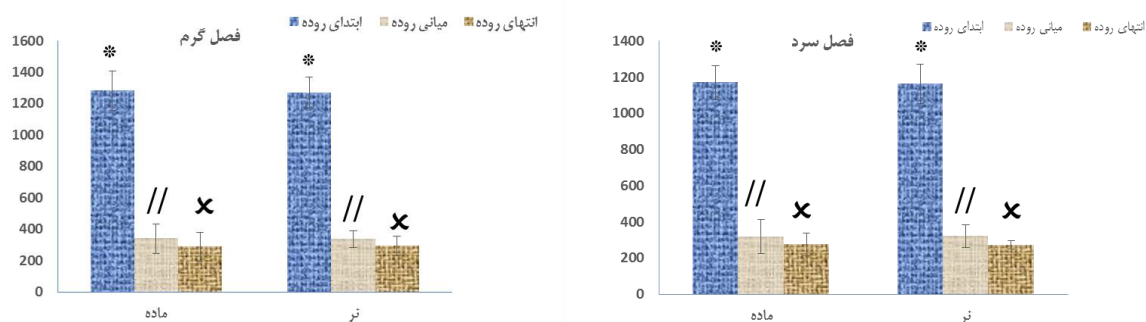
بود به این صورت که فعالیت این آنزیم در تمام نواحی روده در ماهی‌های ماده افزایش معنی‌داری نسبت به ماهی‌های نر داشت ($p \geq 0.05$). میزان فعالیت این آنزیم در تمام نواحی مختلف روده (بخش ابتدایی، میانی و انتهایی) بین ماهی‌های نر و ماده، در فصل گرم تفاوت معنی‌داری نداشت ($p \geq 0.05$) (شکل ۳).

پروتئین بر واحد) و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به ماهی‌های نر در فصل سرد در بخش ابتدایی روده ($25524/148 \pm 69/67$) میلی گرم پروتئین بر واحد) بوده است. نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌ها به این صورت بود که میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تمام نواحی مختلف روده (بخش ابتدایی، میانی و انتهایی) بین ماهی‌های نر و ماده، در فصل سرد دارای تفاوت معنی‌داری



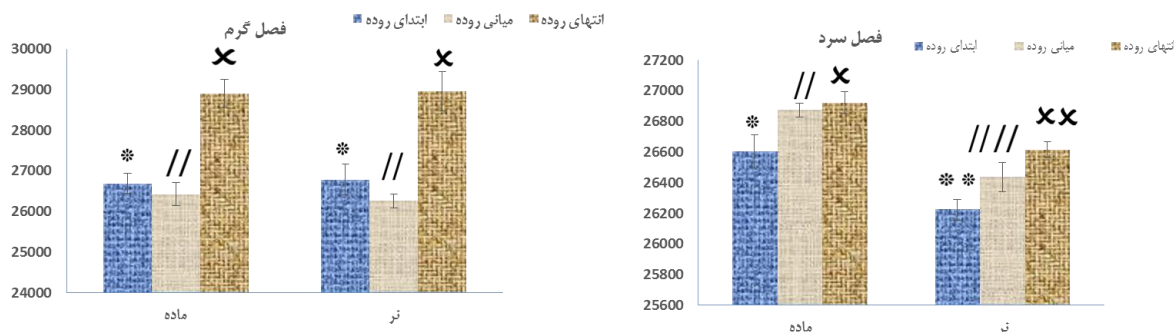
شکل ۱: نمای میکروسکوپی از ساختار بافت شناسی بخش ابتدایی (سمت راست) و بخش ابتدایی (سمت چپ) روده ماهی شیربت ماده فصل سرد (H&E, x725). در این تصویر لایه های تشکیل دهنده پرزهای روده شامل لایه مخاطی (M)، پارین (LP)، عضله مخاطی (پیکان)، لایه عضلانی داخلی (ML2)، خارجی (ML1)، لایه زیر مخاط (SM)، سلول های موکوسی (GC) و سروز (S) قابل مشاهده می باشند.

Figure 1: Microscopic view of the histological structure of the anterior part (right) and the posterior part (left) of the intestine of female *Arabibarbus grypus* in cold-season (H&E, x725). In this figure, the layers that make up the intestinal villi include the mucosal layer (M), lamina propria (LP), muscularis mucosa (arrow), inner muscle layer (ML2), outer muscle (ML1), submucosal layer (SM), mucosal cells (GC) and serosa (S) are visible.



شکل ۲: تغییرات میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت در دو فصل گرم و سرد برحسب میلی گرم پروتئین بر واحد در نواحی مختلف روده (حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می باشد، $p \leq 0.05$).

Figure 2: Changes in amylase enzyme activity in different areas of the intestine of *Arabibarbus grypus* in both warm and cold seasons in terms of mg of protein per unit in different areas of the intestine (different letters in each column indicate a significant difference, $p \leq 0.05$).

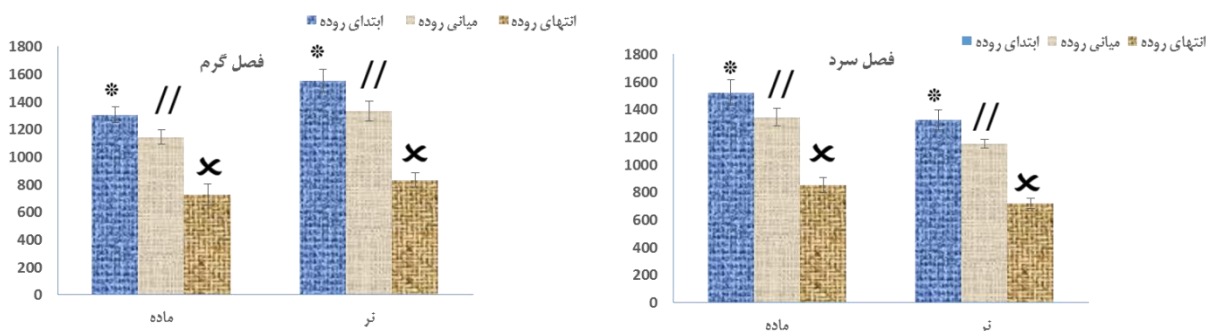


شکل ۳: تغییرات میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت در دو فصل گرم و سرد برحسب میلی‌گرم پروتئین بر واحد در نواحی مختلف روده (حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد، $p \leq 0.05$).

Figure 3: Changes in alkaline phosphatase enzyme activity in different areas of the intestine of *Arabibarbus grypus* in both warm and cold seasons in terms of mg of protein per unit in different areas of the intestine (different letters in each column indicate a significant difference, $p \leq 0.05$).

در فصل سرد در بخش انتهایی روده $719/37 \pm 57/61$ میلی‌گرم پروتئین بر واحد گزارش گردید. نتایج مقایسه میانگین بین گروه‌ها به این صورت بود که میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تمام نواحی مختلف روده (بخش ابتدایی، میانی و انتهایی) بین ماهی‌های نر و ماده، در فصل سرد و گرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p \geq 0.05$) (شکل ۴).

میانگین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت مورد مطالعه حاکی از آن بود که بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در نواحی مختلف روده، مربوط به ماهی‌های ماده در فصل گرم در بخش ابتدایی روده $1554/32 \pm 42/35$ میلی‌گرم پروتئین بر واحد بود و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به ماهی‌های ماده



شکل ۴: تغییرات میزان فعالیت آنزیم لیپاز در نواحی مختلف روده ماهی‌های شیربت در دو فصل گرم و سرد برحسب میلی‌گرم پروتئین بر واحد در نواحی مختلف روده (حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد، $p \leq 0.05$).

Figure 4: Changes in lipase enzyme activity in different areas of the intestine of *Arabibarbus grypus* in both warm and cold seasons in terms of mg of protein per unit in different areas of the intestine (different letters in each column indicate a significant difference, $p \leq 0.05$).

سرروزی می‌باشد. یافته‌های اخیر با بررسی‌های انجام‌شده بر ساختار دستگاه گوارش برخی ماهیان استخوانی مانند کپور معمولی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و تیلپیا هم‌خوانی و مطابقت دارد (Wilson and Castro, 2010;)

بحث

نتایج نشان دادند که دیواره لوله گوارش در ماهی شیربت از ۴ لایه اصلی تشکیل شده است که از داخل به خارج شامل لایه مخاطی، لایه زیرمخاطی، لایه عضلانی و

محققین با تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان، به میزان فعالیت و آگاهی از قدرت هضمی آنها پی بردند (Roshanfekar et al., 2018). فعالیت آنزیم آمیلاز و لیپاز را در ۶ گونه از ماهیان شامل کپور معمولی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، مارماهی اروپائی، لای ماهی، ماهی سیم دریایی سر طلایی و ماهی کاراس (*Carassius auratus*) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی‌ها مشخص گردید که بالاترین فعالیت آنزیم آمیلاز در لوله‌ی گوارشی مربوط به کپور معمولی و کاراس می‌باشد (Nasopoulou and Zabetakis, 2012). آنزیم آمیلاز در پاسخ به حضور زنجیره پلی‌ساکارییدی، گلیکوژن و نشاسته در سیستم گوارشی لارو و ماهی‌های جوان فعال می‌شود. اگرچه فعالیت آنزیم آمیلاز در ماهی‌های گوشت‌خوار بسیار اندک است، اما فعالیت این آنزیم در ماهی‌های همه‌چیزخوار مانند کپور نسبتاً بالا است (Tong et al., 2012). مطابق تحقیق اخیر بیشترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بخش انتهایی روده در ماهی‌های نر در فصل گرم و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به ماهی‌های نر در فصل سرد و در بخش انتهایی روده مشاهده گردید. میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نواحی مختلف روده ماهی‌های نر در فصل سرد با ماهی‌های ماده تفاوت معنی‌داری داشت، ولی در فصل گرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. سلول‌های آنتروسیست بالغ غشاء لبه مسواکی، آنزیم آلکالین فسفاتاز را تولید می‌کنند که شاخص عملکرد سلول‌های آنتروسیست روده است (Liu et al., 2009). این سلول‌ها برای هضم مواد غذایی و پروتئین‌های حامل برای جذب مواد غذایی هضم شده، دارای آنزیم‌های گوارشی هستند که در نهایت موجب افزایش عملکرد این سلول‌ها و ترشح بیشتر آنزیم‌ها به‌خصوص آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌گردد که سبب بهبود کارایی رشد موجود می‌شود (Oledo et al., 2011). در مقایسه بین جنس ماده و نر به‌ویژه در فصل سرد و افزایش معنی‌داری در میزان آنزیم در جنس ماده مشاهده گردید که می‌تواند به دلیل مراحل رسیدگی جنسی و نیاز بیشتر به این آنزیم جهت مصرف در زرده سازی در جنس ماده باشد. زیرا فسفر یکی از مواد اصلی سازنده زرده تخمک می‌باشد (Radovanovic et al.,

2013). بر اساس نتایج میکروسکوپی، ساختار بافتی دیواره روده ماهی شیربت در مقایسه با سایر ماهیان هم‌خانواده از نظر ضخامت کل دیواره و ارتفاع بافت پوششی و ضخامت طبقه مخاطی، در قسمت‌های مختلف روده شباهت‌هایی دارد. همچنین تغییرات تعداد سلول‌های جامی نیز در مناطق مختلف روده این ماهی با سایر ماهیان مشابه است. از جمله یافته‌های تحقیق اخیر، وجود لایه عضلانی مخاطی بسیار واضح بوده است که در بیشتر گونه‌های آبی مورد مطالعه گزارش گردید. اما در برخی از گونه‌ها نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نشده است (Bocina et al., 2017; Basir and Peyghan, 2018). آنزیم‌های گوارشی از طریق پیشبرد واکنش‌های بیوشیمیایی بر مواد غذایی، در تأمین انرژی و متابولیت‌های حیاتی برای رشد، تکامل و سایر فعالیت‌های زیستی ماهی‌ها نقش مهمی بازی می‌کنند. لذا، ارزیابی سطح سنتز و ترشح آنزیم‌های گوارشی شاخص بالینی و فیزیولوژیک مهمی در تعیین سلامت سیستم گوارشی و مطالعه وضعیت تغذیه‌ای و سازگاری آبی با تغییر رژیم غذایی است و به عنوان شاخصی از چگونگی نرخ رشد و همچنین نرخ بازماندگی آن می‌باشد (Galaviz et al., 2011). در این پژوهش، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی آمیلاز در بخش ابتدایی روده در ماهی‌های ماده در فصل گرم و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به ماهی‌های نر در فصل سرد و در بخش انتهایی روده بود. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در تمام نواحی مختلف روده بین ماهی‌های نر و ماده در فصل گرم و سرد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز از لوزالمعده منشأ می‌گیرند و بیشتر در بخش قدامی روده ترشح می‌شوند و در نتیجه بیشترین میزان تأثیر گوارشی این آنزیم‌ها در بخش‌های ابتدایی روده تمرکز می‌یابد (Oreilly and Horn, 2004). البته می‌توان گفت که از دیگر دلایل کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها در بخش خلفی روده، کاهش میزان سوبستراهای مورد نیاز آنها جهت فعالیت، شکسته شدن، باز جذب مجدد آنزیم‌ها و نیز تغییر pH در طول روده به‌ویژه افزایش ضخامت لایه موکوسی که در ناحیه انتهایی روده اتفاق می‌افتد، می‌باشد.

2015). همچنین آلکالین فسفاتاز با جدا کردن و انتقال گروه‌های فسفات، می‌تواند در فرایند استروئیدسازی سلول‌های تکا کمک کند. در یک تحقیق بر میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز در فیل ماهی خاویاری (*Huso huso*) مابین دو جنس در فصل سرد، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد که عواملی نظیر تغذیه، فصل تولیدمثل، مهاجرت و تغییر میزان هورمون‌های جنسی را دلیل آن ذکر کردند (Saleh et al., 2015). بر اساس نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری آنزیم لیپاز مشخص گردید که بیشترین میزان فعالیت مربوط به این آنزیم در ماهی‌های ماده در فصل گرم و در بخش ابتدایی روده و کمترین میزان فعالیت مربوط به ماهی‌های ماده در فصل سرد و در بخش ابتدایی روده می‌باشد. همچنین در میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تمامی نواحی روده در ماهی‌های نر و ماده و در هر دو فصل سرد و گرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. محققین با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپاز در روده ماهی تیلاپیا بیشترین فعالیت آن را در بخش‌های قدامی و میانی روده گزارش کردند (Sink and Lochmann, 2014; Hasanzadeh et al., 2016). از سویی، تعیین سطح فعالیت و مطالعه روند تغییرات سطح فعالیت آنزیم لیپاز در پاسخ به سطوح مختلف و نوع چربی موجود در جیره غذایی، گویای میزان حساسیت این آنزیم به کیفیت جیره غذایی است به‌نحوی که با افزایش میزان چربی جیره، سطح فعالیت آنزیم لیپاز افزایش می‌یابد و به حداکثر مقدار ممکن می‌رسد که این امر می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی حداکثر ظرفیت گوارشی چربی موجود در جیره گونه مورد مطالعه باشد (Tocher et al., 2008). در بررسی میزان فعالیت آنزیم لیپاز در قسمت‌های قدامی، میانی و خلفی روده در دو محیط وحشی و پرورشی مشخص گردید که در هر دو گروه ماهیان وحشی و پرورشی، فعالیت این آنزیم نسبت به سایر آنزیم‌های مورد بررسی بیشتر است و بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در بخش ابتدایی و میانی روده نسبت به بخش خلفی مشاهده شد. همچنین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در بخش قدامی، میانی با بخش خلفی اختلاف معنی‌دار در جنس‌های مختلف مشاهده نگردید. همچنین

در تحقیقی دیگر، میزان فعالیت این آنزیم در گونه‌های پرورشی نسبت به گونه وحشی با میانگین وزنی و طولی بیشتر گزارش گردید، اما همچنان روند کاهشی این آنزیم از قسمت ابتدایی به سمت انتهایی روده مشاهده شد (Venkatesan et al., 2017). زیرا میزان فعالیت آنزیم لیپاز وابسته به نمک‌های صفراوی مترشحه از پانکراس است که در قسمت ابتدایی روده از میزان بالایی برخوردار است. همچنین سایر محققین بر این باورند که این آنزیم در گوارش چربی‌ها به‌ویژه تری‌گلیسریدها در ماهی، نقش مهمی دارد و با نزدیک شدن به سمت قسمت انتهایی روده، بر میزان ممانعت‌کننده‌های فعالیت این آنزیم مانند مهارکننده تریپسین پانکراسی، سرین پروتئاز، پلی‌ساکاریدها، پلی‌لیزین و سایر ممانعت‌کننده‌ها افزوده می‌شود (Chan et al., 2004). به طور کلی، بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان بیان داشت که فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، آلکالین فسفاتاز و لیپاز در بخش‌های مختلف روده با توجه به ساختار بافت شناسی و عملکرد به‌ویژه در فصل گرم دارای فعالیت بیشتری نسبت به فصل سرد با تفاوت اندک در برخی موارد بوده است که می‌تواند با نوع زندگی گونه مورد نظر هم‌خوانی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان نهایت تشکر خود را از کارکنان زحمت‌کش و خدمتگزار شرکت پرورش ماهیان گرمابی شهید احمدیان خرمشهر برای زحمات بی‌دریغ آنها طی مدت زمان اجرای این پروژه به‌خصوص از همکاری مزرعه‌دار محترم، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abdi, R., Sheibani, M.T. Adibmoradi, M. and Sharifpour, I., 2007. Histological study of liver and pancreas in adult *Otolithes ruber* in Bushehr, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 15(4): 87-96.

- Akinyemi, A.J., Obon, G. and Akindahunsi, A.A., 2010.** Inhibitory effect of aqueous extracts of two varieties of ginger on α -amylase, α -glucosidase and acetyl cholinesterase activities. *Journal of Food and Nutrition Research*, 49: 14-20.
- Alvarez-Gonzalez, C.A., Moyano-Lopez, F.J., Civera-Cercedo, R., Carrasco-Chavez, V., Ortiz-Galindo, J. and Dumas, S., 2008.** Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass (*Paralichthys oblongus fasciatus*). I: Biochemical analysis. *Fish Physiology and Biochemistry*, 34: 373-384. DOI: 10.1007/s10695-007-9197-7.
- Babaei, S.S., Kenari, A.A., Nazari, R. and Gisbert, E., 2011.** Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. *Aquaculture*, 318: 138-144. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.04.032.
- Basir, Z., Morovvati, H., Khaksari Mahaadi, M., Masbah, M. and Abdi, R., 2011.** Skin histomorphometry of *Barbus grypus* in base of dorsal fin and caudal peduncle sections. *Journal of Animal Environment*, 3(2): 9-16.
- Basir, Z., Morovvati, H., Khaksari, M., Mesbah, M. and Abdi, R., 2012.** Histomorphology and histometric study of the head's skin in (*Barbus grypus*). *Journal of Cell and Tissue*, 3(1): 73-81.
- Basir, Z. and Peyghan, R., 2018.** Study of the effect of poultry by-product replacement instead of fish meal on skin cell profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of the Persian Gulf*, 9(31): 53-60.
- Bocina, I., Santic, Z., Restovic, I. and Topic, S., 2017.** Histology of the digestive system of the garfish *Belone belone* (Teleostei: Belonidae). *The European Zoological Journal*, 84: 41-49. DOI: org/10.1080/11250003.2016.1276977.
- Cao, X.J. and Wang, W.M., 2015.** Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Anatomy Histology Embriology*, 38: 254-261. DOI: 10.1111/j.1439-0264.2009.00932.x.
- Chan, A.S., Horn, M.H., Dickson, K.A. and Gawlicka, A., 2004.** Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: comparisons among four closely related prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat. *Journal of Fish Biology*, 65: 848-858. DOI: org/10.1111/j.0022-1112.2004.00495.x.
- Dostani Dezfoli, M., Rajabzadeh Ghatrami, E. and Abdi, R., 2020.** Effects of sodium diformate and citric acid on body composition, serum enzymes activity and alimentary canal tissue of the juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Animals Nutrition*, 5(2): 27-38. DOI:10.22124/janb.2020.15896.1082.
- Franco, R.R., da Silva Carvalho, D., de Moura, F.B.R., Justino, A.B., Silva, H.C.G., Peixoto, L.G. and Espindola, F.S., 2017.** Evaluation of α -amylase, α -

- glucosidase and lipase inhibitory activities of some medicinal plants used in type-2 Diabetes Mellitus and its anti-glycation and antioxidant roles. *Journal of Ethnopharmacology*, 12: 154-160. DOI: 10.1016/j.jep.2017.12.032.
- Furne, M., Morales, A.E., Trenzado, C.E., Garcia-Gallego, M. and Carmen, M., 2012.** The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology B*, 182: 63-76. DOI: 10.1007/s00360-011-0596-9.
- Galaviz, M.A., García-Gasca, A., Drawbridge, M., Alvarez-Gonzalez, C.A. and Lopez, L. M., 2011.** Ontogeny of the digestive tract and enzymatic activity in white sea bass, *Atracto scionnobilis*, larvae. *Aquaculture*, 318: 162-168. DOI: org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.014.
- Gisbert, E., Fernandez, I. and Alvarez-Gonzalez, C.A., 2011.** Prolonged feed deprivation does not permanently compromise digestive function in migrating European glass eels *Anguilla anguilla*. *Journal of Fish Biology*, 78: 580-592. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2010.02879.x.
- Hasanzadeh, S., Abdi, R., Salari Aliabadi, M., Movahednia, A. and Basir, Z., 2016.** Compare of some digestive enzymes in *Liza abu*, and *Johnius belangerii* of the Persian Gulf. *Journal of Marine Biology*, 8(1): 1-8.
- Imanpoor, M.R. and Roohi, Z., 2015.** Effect of a multi-strain probiotic (Primalac) on growth performance, some blood biochemical parameters, survival and stress resistance on Caspian kutum (*Rutilus kutum*) fry. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24: 95-103.
- Khodadadi, M., Arab, A. and Jaferian, A., 2016.** A preliminary study on sperm morphology, motility and composition of seminal plasma of shirbot, *Barbus grypus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16: 947-951. DOI: 10.4194/1303-2712-v164-22.
- Liu, H., Wu, X., Zhao, W., Xue, M and Guo, L., 2009.** Nutrients apparent digestibility coefficients of selected protein sources for juvenile Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*), compared by two chromic oxide analyses methods. *Aquaculture Nutrition*, 15: 650-656. DOI: 10.1907/J10695-011-9875-9.
- Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T. and Davies, S.J., 2009.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria post antibiotic treatment. *Aquaculture Nutrition*, 16(5): 496-503. DOI: org/10.1111/j.1365-2095.2009.00688.x.
- Moradkhani, A., Abdi, R., Salari Abadi, M.A., Nabavi, S.M. and Basir, Z., 2020.** Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in, shabbout, *Arabibarbus grypus* (actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae), in warm and cold season. *Acta Ichthyologica et*

- Piscatoria*, 50 (4): 423-432. DOI: 10.3750/AIEP/02910.
- Namulawa, V.T., Kato, C.D., Rutiaisire, J., Britz, P.J., Beukes, N., Pletschke, B.I. and Whiteley, C., 2013.** Enzyme activity I the Nile perch gut: Implications to Nile perch culture. *Intertational Journal of Fisheries and Aquaculture*, 5: 122-228. DOI: 10.5897/IJFA13.0349.
- Nasopoulou, C. and Zabetakis, I., 2012.** Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. *Food Science and Technology*, 47: 217-224. DOI: org/10.1016/j.lwt.2012.01.018.
- Nicknam Shiri, A., Abdi, R., Salati, A.P., Movahedinia, A.A. and Ghofleh Marammazi, J., 2013.** Effect of Different Dietary Protein Concentration on Hematological Parameters of Fingerling *Sparidentex hasta*. *Journal of Oceanography*, 4 (13): 29-35.
- Oledo, E.M., Moyano-Lopez, F.J., Tovar-Ramirez, D., Strussmann, C.A., Al varez-Gonzalez, C.A., Martinez-Chávez, C.C. and Martinez-Palacios, C.A., 2011.** Development of digestive biochemistry in the initial stages of three cultured Atherinopsids. *Aquaculture Research*, 42: 776-786. DOI: org/10.1111/j.1365-2109.2011.02853.x.
- Oreilly, K.M. and Horn, M.H., 2004.** Phenotypic variation among populations of (*Atherinopsa Vinis*) (Atherinopsidae) with insights from a geometric morphometric analysis. *Journal of Fish Biology*, 64: 1117-1135. DOI: 10.5887/IrdA154149.
- Ozpolat, E. and Duman, M., 2017.** Effect of black cumin oil (*Nigella sativa* L.) on fresh fish (*Barbus grypus*) fillets during storage at 2±1° C. *Food Science and Technology*, 37: 148-152. DOI: org/10.1590/1678-457x.09516.
- Pyka, J., Bartel, R., Szczerbowski, J.A and Epler, P., 2001.** Reporduction of gattan (*Barbus xanthopterus*), shabbot (*Barbus grypus*) and buni (*Barbus sharpeyi*) and rearing stocking material of these species, *Archives of Polish Fisheries*, 9: 235-246. (*Larmichthys crocea*) larvae. *Aquaculture*, 410: 122-128.
- Radovanovic, T.B., Prokic, M.D., Gavric, J.P., Despotovic, S.G., Gavrilovic, B.R., Borkovic-Mitic, S.S. and Saicic, Z.S., 2015.** Glutathione-dependent enzyme activities and concentrations of glutathione, vitamin E and sulfhydryl groups in barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Ecological Indicators*, 54: 31-38. DOI: org/10.1016/j.ecolind.2015.02.005.
- Roshanfekr, K., Abdi, R., Salari- Aliabadi M.A. and Basir, Z., 2017.** The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Esophagus Histological Indices of Some Cultured Warm Water Species. *Journal of Animal Biology*, 10(1): 23-33.
- Roshanfekr, K., Abdi, R., Salari- Aliabadi M.A. and Basir, Z., 2018.** The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Changes of Intestinal Tissue of Cultured Warm Water Species. *Journal of Animal*

- Physiology and Development*, 11(43): 11-25.
- Saleh, N.E., Michael, F.R. and Toutou, M.M., 2015.** Evaluation of garlic and onion powder as phyto-additives in the diet of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41: 211-217. DOI: org/10.1016/j.ejar.2015.03.008.
- Sink, T.D. and Lochmann, R.T., 2014.** The effects of soybean lecithin supplementation to a practical diet formulation on juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*): Growth, survival, hematology, innate immune activity, and lipid biochemistry. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45: 163-172. DOI: org/10.1996/j.2015.02.088.
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. and Sweetman, J., 2007.** Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 15: 153-161.
- Tocher, D.R., Bendiksen, E.Å., Campbell, P.J. and Gordon, Bell, J., 2008.** The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280: 21-34. DOI: org/10.1016/54328.20965.02.035.
- Tong, X.H., Xu, S.H., Liu, Q.H., Li, J., Xiao, Z.Z. and Ma, D.Y., 2012.** Digestive enzyme activities of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) during early developmental stages under culture condition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 715-724. DOI: org/10.1611/j.1395-2025.2009.00788.x.
- Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S.K. and Shim, M.S., 2017.** Marine fish proteins and peptides for cosmeceuticals: A review. *Marine Drugs*, 15:138-143. DOI: org/10.10168/5543.2015.08.022.
- Wilson, J.M. and Castro, C., 2010.** Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. *The Multifunctional Gut of Fish*, 30:1-55.
- Xiong, D., Zhang, L., Yu, H., Xie, C., Kong, Y., Zeng, Y., Huo, B. and Liu, Z., 2010.** A study of morphology and histology of the alimentary tract of *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Acta Zoolgica*, 92:161-169. DOI: org/10.1191/j.1399-2095.2009.00668.x.
- Zhao, J., Ai Q., Mai, K., Zuo, R. and Luo, Y., 2013.** Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker. *Aquaculture*, 410-411: 122-128. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.018.

Histomorphology and comparison of some digestive enzymes of proper intestine of, *Arabibarbus grypus* in both warm and cold seasons

Moradkhani A.¹; Abdi R.^{1*}; Salari Aliabadi M.A.¹; Nabavi S.M.B.¹; Basir Z.²

* abdir@kmsu.ac.ir

- 1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
2- Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Abstract

For this study 10 *Arabibarbus grypus* were caught with the same biometric conditions of each sex for two seasons. Then, 0.5 cm long specimen were taken from the anterior, middle and posterior regions of the intestine and placed in Boen's solution. Subsequently, routine histological procedure was done and 4-6 μ m section, stained with Haematoxylin-Eosin and periodic acid-Schiff. To determine the activity of digestive enzymes, raw enzyme extract was first prepared. The usual steps for measuring enzymes, such as homogenization, centrifugation, and finally were transferred to the autoanalyzer, and results obtained in terms of micromole per milligram of protein were expressed. The results of histological observations indicated that there were four layer of mucosa, submucosa, muscularis, and serousa, like other bony fish. The results of comparing the average activity of digestive enzymes between groups showed that the activity of amylase enzyme in all different regions of the intestine between male and female fish in cold and hot season was not significantly difference ($p \geq 0.05$). The activity of the alkaline phosphatase in all areas of the intestine in female increased significantly compared to male fish, especially in the cold season ($p \leq 0.05$). Also, there was no significant difference in the activity of lipase enzyme in all different areas of the intestine between male and female in both seasons ($p \geq 0.05$). Based on the results of this study, it was found that each part of the intestinal tissue has a structure appropriate to the active digestive enzymes in that area, which has differences and similarities with other species that have been addressed.

Keywords: Histomorphology, Digestive enzymes, Intestine, *Arabibarbus grypus*

*Corresponding author