

## Comparative histomorphology of cartilage tissue of vertebral column with dorsal fin in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*)

## مقایسه ساختار بافتی غضروف ستون فقرات با باله پشتی در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

T. Ghanbari<sup>1</sup>, R. Abdi<sup>2\*</sup>, M. Bahmani<sup>3</sup>,  
R. Kazemi<sup>4</sup>, A. Savari<sup>5</sup>

تراب قنبری<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۲\*</sup>، محمود بهمنی<sup>۳</sup>،  
رضوان الله کاظمی<sup>۴</sup>، احمد سواری<sup>۵</sup>

1. Master degree of animal science, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
  2. Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
  3. Professor, Department of Physiology and Histology, Dr Dadman Rashat Sturgeon International Research Institute
  4. Assistant Professor, Department of Physiology and Histology, Dr Dadman Rashat Sturgeon International Research Institute
  5. Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of Marine Science and Technology
- (Received: Apr. 27, 2014 - Accepted: Jun. 9, 2015)

۱. کارشناسی ارشد علوم جانوری گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
  ۲. استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
  ۳. استاد بخش فیزیولوژی و بافت‌شناسی، انیستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت
  ۴. استادیار بخش فیزیولوژی و بافت‌شناسی، انیستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت
  ۵. استاد گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۳/۱۹)

### Abstract

In this study, cartilage tissue of vertebral column and dorsal fin of 40 days, 70 days, one and 4 years old of Persian sturgeon after preparation were fixed in buen fixative. Then rutin procedure of histology examination were done and paraffin blocks cut at 6 microne and then stained with H&E, Safranin-O and Verhoff staining. In photomicrographs were compared cell structure and compounds of substance grounds in cartilage tissues. It showed that perichondrium layer of dorsal fin was more advanced from perichondrium layer of vertebral column and their componants were different. Microscopic masurement of two cartilage tissue showed the cells of dorsal fin were larger than the cells of vertebral column but in cells number, decrised with physiological maturation. Comparative study of volume of extracellular matrix and number of isogenous groups by SPSS software showed that growth of cartilage tissue of vertebral column was interstitial but in dorsal fin was appositional.

**Keywords:** Cartilage Tissue, Vertebral Column, Dorsal Fin, *Acipenser persicus*.

### چکیده

جهت مطالعه حاضر از بافت غضروف ستون فقرات و باله پشتی تاسماهی ایرانی در مراحل ۴۰ روزه (قبل از رهاسازی)، ۷۰ روزه (زمان رهاسازی) یکساله و چهارساله نمونه‌های ۵ میلی‌متری تهیه و در فیکساتیو بوئن قرار داده شدند. سپس سایر مراحل رایج بافت‌شناسی انجام و از بلوک‌های پارافینی برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرون تهیه شد. در نهایت برای مطالعات بافت‌شناسی از رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین-اوتوزین، سافرانین-او و ورهوف استفاده گردید. پس از تهیه فتومیکروگراف‌های لازم بخش‌های مختلف بافت غضروف باله پشتی و ستون فقرات را مشخص کرده و از نظر ساختار سلولی و ترکیبات ماده زمینه‌ای مقایسه گردیدند که مشخص شد لایه پری‌کندریوم غضروف باله پشتی ضخیم‌تر از پری‌کندریوم غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی بوده و ترکیبات این لایه در این دو نوع غضروف با هم متفاوت می‌باشند. در اندازه‌گیری‌های میکروسکوپی مشخص گردید که سلول‌های غضروفی باله پشتی از سلول‌های غضروفی ستون فقرات بزرگتر می‌باشند. بررسی‌های مقایسه‌ای حجم ماتریکس خارج سلولی و تعداد گروه‌های ایزوژنیک با استفاده از نرم‌افزار SPSS در غضروف باله پشتی و ستون فقرات تاسماهی ایرانی حاکی از آن بود که رشد غضروف ستون فقرات بیشتر از نوع درون بافتی و رشد غضروف باله پشتی بیشتر از طریق تمایز سلول‌های پری‌کندریومی و سلول‌های جوان غضروفی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** بافت غضروف، ستون فقرات، باله پشتی، تاسماهی ایرانی.

## مقدمه

راسته تاسماهیان شامل دو خانواده و ۲۷ گونه می‌باشد (Hatef *et al.*, 2010). در حال حاضر دریاچه خزر و حوضه آبریز آن دارای ۱۰ جمعیت بزرگ از ۶ گونه تاسماهیان می‌باشد (Sheibani & Betyar, 2011) که ۵ گونه ی آن شامل تاسماهی ایرانی، تاسماهی روسی، فیل ماهی، ازون برون و شپیدر دریای خزر و یک گونه به نام استرلیاد در رودخانه‌هازیست می‌کند و وارد آب‌های شور دریای خزر نمی‌گردد (Lukyanenko *et al.*, 1999). قره‌برون یکی از مهمترین ماهیان خاویاری است که بومی حوضه جنوبی دریای خزر می‌باشد (Ovissipour *et al.*, 2009). این ماهی به‌طور طبیعی برای تخم‌ریزی وارد رودخانه‌های کورا، ولگا و اورال می‌شود (Holchik, 1989). جنس نر تاسماهی ایرانی در سن ۸ سالگی و جنس ماده آن در سن ۱۲ سالگی به بلوغ می‌رسد (Lucas & Baras, 2001). تاسماهی ایرانی از زیر رده ماهیان غضروفی - استخوانی بوده و اسکلت داخلی آنها عمدتاً غضروفی می‌باشد (Emadi, 2009). بافت غضروف از ماتریکس خارج سلولی و کندروبلاست‌ها و کندروسیت‌ها تشکیل شده است. ترکیب و تغییرات تدریجی ماتریکس به فعالیت زیستی کندروسیت‌ها وابسته است (Wilson *et al.*, 2005) و در نتیجه احتیاجات عملکردی متفاوت، غضروف‌های شفاف، الاستیک و فیبرو پدید آمده است. غضروف هیالین شایعترین شکل بافت غضروف است که محتوی کلاژن نوع ۲ می‌باشد. غضروف الاستیک با قابلیت انحنای پذیری، علاوه بر کلاژن نوع ۲ دارای فیبرهای الاستیک نیز می‌باشد. غضروف فیبرو محتوی شبکه متراکمی از کلاژن نوع ۱ می‌باشد. غضروف الاستیک بسیار انعطاف پذیرتر از غضروف شفاف بوده و فیبرهای الاستیک در آن قابل تشخیص می‌باشد (Light, 2004). تکامل بافت غضروف با دو فرآیند رشد درون بافتی که با تقسیم میتوزی کندروسیت‌ها

و رشد خارجی ناشی از تمایز سلول‌های پریکوندریومی انجام می‌گیرد (Junquera, 1995). ماهیان دارای غضروف‌های تخصص یافته متنوعی هستند که تا حدی با مهره داران عالی فرق دارند. اسکلت ماهیان، از استخوان و غضروف تشکیل شده است که توسط وترها و رباط‌ها به هم متصل می‌گردند. بافت غضروف از کندروسیت‌ها و ماده زمبیه غضروفی تشکیل شده است که دارای پوششی به نام پری‌کندریوم می‌باشد (Takashima & Hybaya, 2000). هدف مطالعه حاضر بررسی روند تغییرات بافت‌شناسی و رشد سلولی بافت غضروف در دوران مختلف زندگی تا بلوغ فیزیولوژیک و مقایسه بافت‌شناسی غضروف ستون فقرات و باله پشتی بوده و نتایج حاصل از این مطالعه اطلاعات بافت‌شناختی پایه‌ای از بافت غضروف تاسماهی ایرانی را ارائه خواهد داد.

## مواد و روش‌ها

جهت مطالعه حاضر از بافت غضروف ستون فقرات و باله پشتی تاسماهی ایرانی ۴۰ روزه (قبل از رهاسازی)، ۷۰ روزه (زمان رهاسازی) یکساله و چهار ساله پرورشی تهیه شده از مرکز بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به تعداد ۱۰ عدد از هر گروه پس از بیهوشی نمونه‌های ۵ میلی‌متری تهیه و جهت فیکس شدن در محلول بوئن قرار داده و به آزمایشگاه بافت‌شناسی انیستیتو تحقیقات این مرکز منتقل شدند. نمونه‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت از بوئن خارج و برای از بین بردن بقایای رنگ زرد فیکساتیو چندین بار در الکل ۷۰٪ شستشو داده و سپس سایر مراحل معمول بافت‌شناسی مانند پاساژ بافت انجام شد. در نهایت از بلوک‌های پارافینی برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرون توسط میکروتوم Leitz 1512 ساخت آلمان تهیه گردیدند (Witten\_ & Huysseune, 2012). برای رنگ‌آمیزی مقاطع بافتی از روش‌های هماتوکسیلین-ئوزین، سافرانین-

ساله بوده است (نمودار ۲). در رنگ آمیزی سافرانین-اوماتریکس کناری شدیدتر از ماده زمینه‌ای رنگ گرفت که نشان‌دهنده این بود که غضروف ستون فقرات از نوع شفاف می‌باشد. همچنین ماده زمینه‌ای بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی به شکل کاملاً همگن و فاقد دستجات فیبری دیده شد (شکل ۱D). که این امر نیز حاکی از هیالین بودن بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی است. بافت غضروف باله پستی تاسماهی ایرانی نیز از پری کندریوم، کندروبلاست و کندروسیت تشکیل شده بود (شکل ۲). اندازه‌گیری لایه پریکوندریوم در غضروف ستون فقرات و باله پستی در مراحل مختلف با یکدیگر اختلاف معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ) و لایه پری کندریوم غضروف باله پستی به نسبت پری کندریوم بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی ضخیم تر دیده شد (نمودار ۱). که نشان‌دهنده نقش بیشتر این لایه در رشد غضروف باله پستی تاسماهی ایرانی است، بدین صورت که رشد خارج غضروفی باله پستی به نسبت از رشد خارج بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی بیشتر است. کندروبلاست‌های غضروف باله پستی به شکل گرد یا کشیده و فاقد لاکونا در مناطق اطراف و نزدیک پریکوندریوم مشاهده شدند (شکل ۱C، ۲C). شمارش سلولی کندروبلاست‌ها و کندروسیت‌ها در واحد سطح و اندازه‌گیری مساحت و قطر بزرگ این سلول‌ها در بافت غضروف باله پستی و ستون فقرات تاسماهی ایرانی با یکدیگر اختلاف معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین در مطالعات میکروسکوپی میکروگراف‌ها مشاهده گردید که تعداد این سلول‌ها در بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی بیش از بافت غضروف باله پستی بوده ولی سلول‌های غضروفی باله پستی از سلول‌های غضروفی ستون فقرات تاسماهی ایرانی بزرگ‌تر دیده گردید (نمودار ۳). کندروسیت‌ها به شکل تقریباً گرد و هسته‌ای مدور و لاکونای معین تشخیص داده شدند

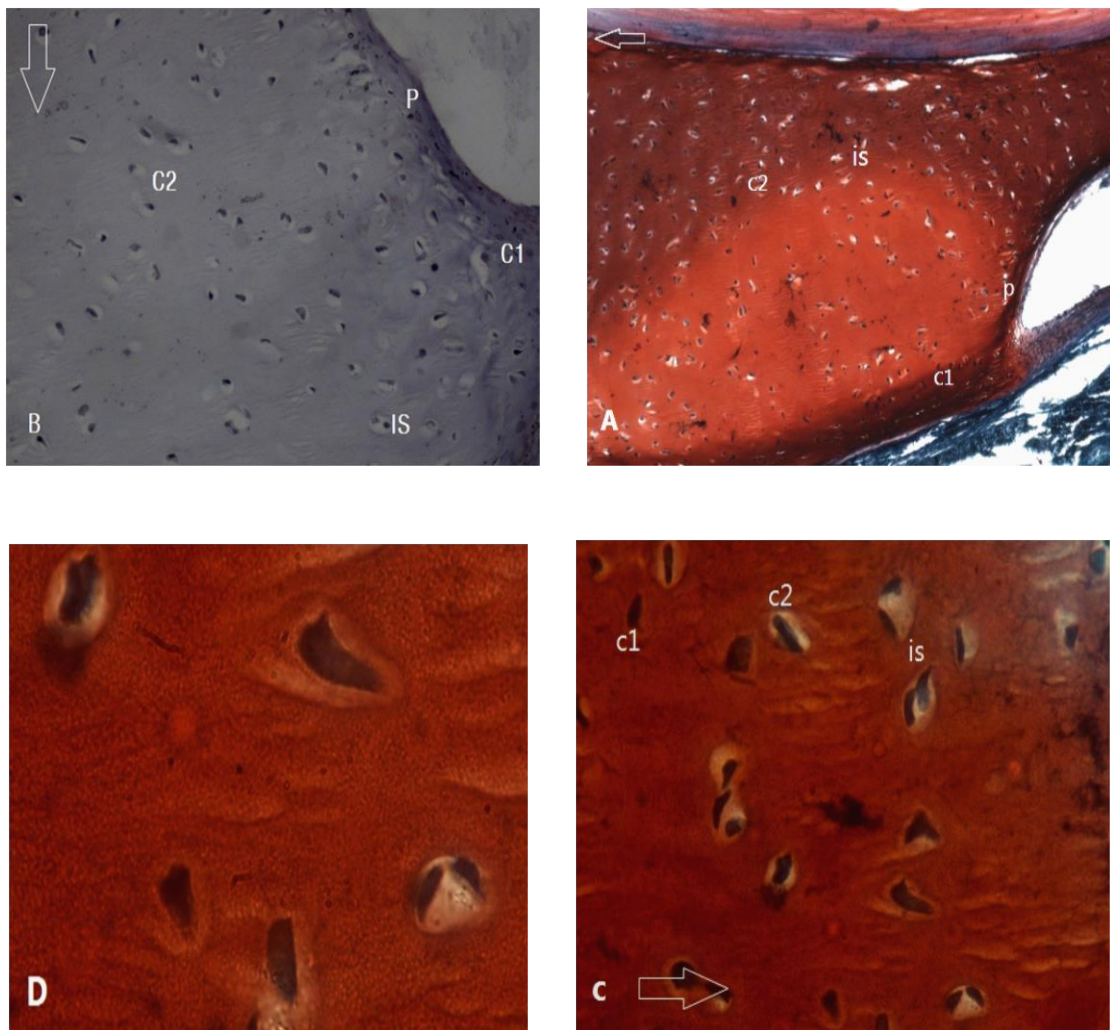
او وورهورف استفاده گردید. پس از طی مراحل مونته کردن، لام‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری E-600 Nikon ساخت ژاپن مورد مطالعه قرار گرفته و فتومیکروگراف‌های لازم تهیه گردیدند. شاخص‌های مورفوسیتولوژی بافت غضروف ستون فقرات و باله پستی با استفاده میکروسکوپ نوری مجهز به نرم‌افزار Biocom با استفاده از ده میدان میکروسکوپی مطالعه و مقایسه در محیط نرم‌افزار SPSS انجام گرفت (Willems *et al.*, 2012).

## نتایج

مطالعات میکروسکوپی بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی نشان داد که این بافت از قسمت‌های مختلف به نام هایپریکوندریوم، کندروبلاستو کندروسیت تشکیل شده است (شکل ۱). همچنین پریکوندریوم غضروف ستون فقرات به شکل غلاف بسیار نازکی که سلول‌های غضروفی را احاطه کرده بود مشاهده گردید (شکل ۱P). کندروبلاست‌ها در مجاورت پری کندریوم اغلب بیضی شکل بوده ولی به صورت چند وجهی نیز لابلای سلول‌های بیضی شکل دیده شدند که هر دوی آنها فاقد لاکونا تشخیص داده شدند (شکل ۱C). کندروسیت‌ها نیز سلول‌هایی به شکل تقریباً گرد با هسته مرکزی و دارای لاکونای مشخص مشاهده گردیدند (شکل ۱، ۲C). اینها به صورت فردی و گروه‌های چندتایی در بخش میانی بافت غضروف ستون فقرات دیده شدند (شکل ۱، ۲C). در بررسی مقاطع مختلف تعداد قابل توجهی از گروه‌های ایزوژنیک مشاهده شد. تعداد زیاد کندروسیت‌های هم منشأ حاکی از رشد درون بافتی غضروف ستون فقرات بود. تعداد گروه‌های ایزوژنیک در غضروف ستون فقرات در مراحل متفاوت اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ) که به ویژه در مورد نمونه‌های بافتی ماهیان چهل روزه و چهار ساله نشان‌دهنده این مطلب بود که در تاسماهی چهل روزه رشد درون بافتی بسیار بیشتر از تاسماهی چهار

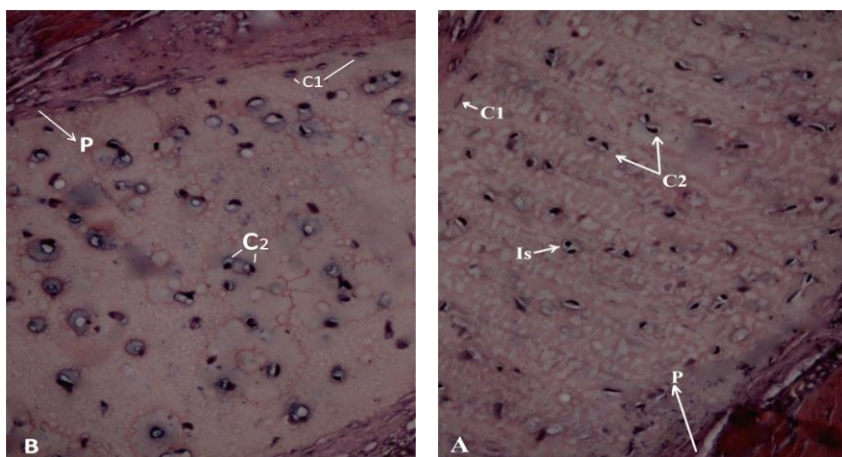
ایزوژنیک بود. مشاهده فتومیکروگراف‌ها موید این مطلب بود که بیش از ۵۰ درصد از حجم غضروف باله پشتی تاسماهی ایرانی از ماده زمینه‌ای خارج سلولی تشکیل شده است (شکل ۲). همچنین ماده زمینه‌ای غضروف باله پشتی نسبت به ماده زمینه‌ای بافت غضروف ستون فقرات ساختاری ناهمگن و آشفته‌تری را نشان داد که از خصوصیات غضروف الاستیک می‌باشد.

(شکل ۲، C2). تعداد کمی از کندروسیت‌های هم منشاء در غضروف باله پشتی تاسماهی ایرانی شمارش شده و تفاوت تعداد این گروه‌ها در غضروف باله پشتی و بافت غضروف ستون فقرات اختلاف معناداری داشتند ( $p < 0.05$ ) که نشان‌دهنده این مطلب است که رشد درون بافتی در غضروف باله پشتی به نسبت کمتر است. شمارش میکروسکوپی آنها حاکی از کاهش تدریجی در تعداد گروه‌های

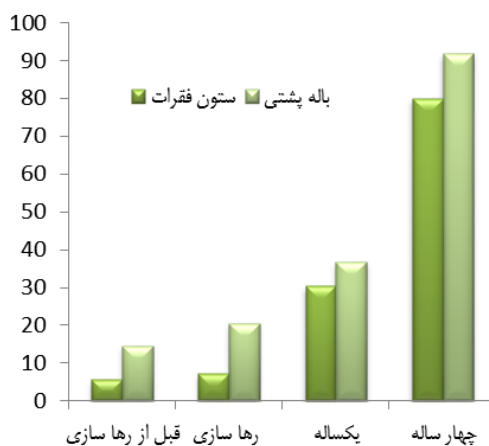


شکل ۱. مقطع عرضی بافت غضروف ستون فقرات تاسماهی ایرانی یکساله (*Acipenser persicus*)

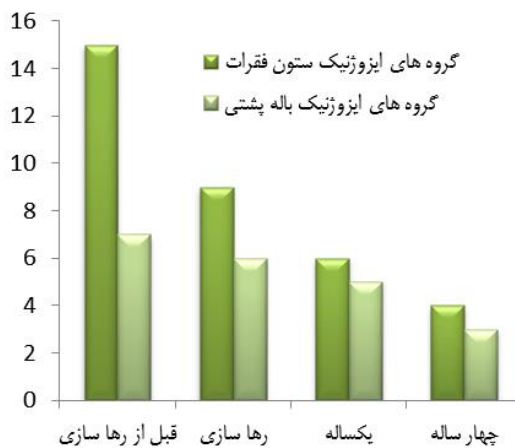
A, SafraninO,  $\times 10$ , B, SafraninO,  $\times 20$ , C, H&E,  $\times 40$ , D, SafraninO,  $\times 100$ , x پری کندریوم . C1, کندروبلاست، C2، کندروسیت. is، گروه‌های ایزوژنیک. سلول‌های غضروفی ستون فقرات به وفور در مقاطع بافتی دیده شدند (A)، که توسط پری کندریوم دو لایه احاطه شده بودند (B). تعداد زیادی از سلول‌های غضروفی ستون فقرات به به صورت هم منشا در ماده زمینه ای همگن و یکنواخت این بافت مشاهده شدند (C&D).



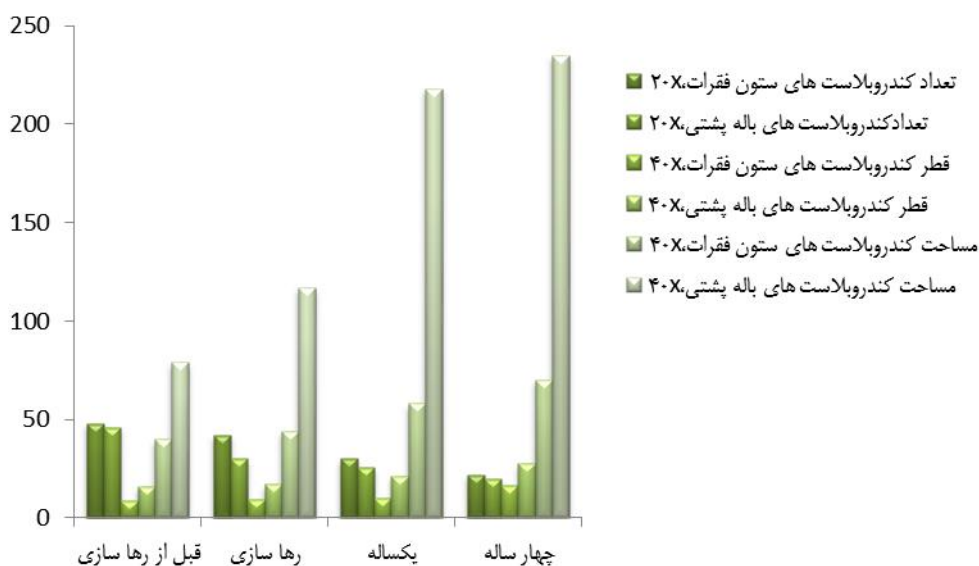
شکل ۲. مقطع عرضی بافت غضروف باله پشتی تاسماهی ایرانی یکساله (*Acipenser Persicus*)  $\times 200$  verhoeff، P، پری کندریوم، C1، کندروبلاست، C2، کندروسیت، Is، گروه‌های ایزوژنیک. لایه‌ی پری کندریوم بشکل غلافی در اطراف کندروبلاست‌ها و کندروسیت‌های منفرد و تعداد کمی از کندروسیت‌های هم منشأ مشاهده گردید (A) تعداد سلول‌های بافت غضروف باله پشتی تاسماهی ایرانی نسبت به ماده‌ی زمینه‌ای ناهمگن اطراف آن در تعادل دیده نشد (B).



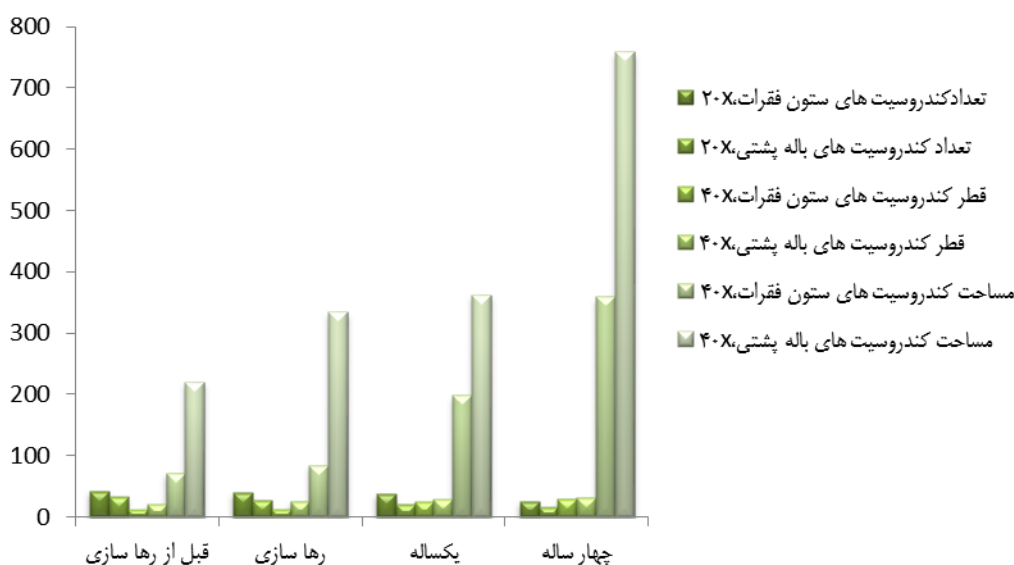
نمودار ۱. اندازه‌گیری پری کندریوم بر حسب میکرومتر  $\times 200$



نمودار ۲. تعداد گروه‌های ایزوژنیک در ده میدان میکروسکوپی



نمودار ۳. مقایسه کندروبلاست‌های بافت غضروف ستون فقرات و باله پشتی تاسماهی ایرانی (*Acipenser Persicus*)



نمودار ۴. مقایسه کندروسیت‌های بافت غضروف ستون فقرات و باله پشتی تاسماهی ایرانی (*Acipenser Persicus*)

دیگر گونه‌ها گزارش گردید مطابقت دارد (Hatef et al., 2010). بر اساس مطالعات Huggenberger et al. (2006) مشخص گردید که بافت غضروفی پوزه *Physter macrocephalus* از سلول‌های گرد که به صورت فردی یا گروهی در مرکز و سلول‌های کشیده‌تر در اطراف تشکیل شده و ماتریکس خارج سلولی آنها به شکل همگن تقریباً ۵۰ درصد از حجم غضروفی را پر کرده است. همچنین مشاهده کردند که پریکندریوم در

### بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه میکروسکوپی بافت غضروف تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* مشخص گردید که پری کندریوم بافت غضروف باله پشتی تاسماهی ایرانی ضخامت بیشتری نسبت به غضروف ستون فقرات داشت، که نشان‌دهنده این امر است که رشد خارجی در غضروف باله پشتی بیشتر از رشد خارجی غضروف ستون فقرات است که با یافته سایر محققین که بر روی

گروه‌های ایزوژنیک کمتری را مشاهده کردند. همچنین این محققین در مطالعات دیگر بیان داشتند که ماتریکس خارج سلولی غضروف سقف بینی بیشتر از ۵۰ درصد از حجم بافت را به خود اختصاص داده و دستجات فیبرهای الاستیک در اطراف و نزدیک پری کوندریوم بیشتر از دستجات فیبر مرکزی است. در این پژوهش کندروبلاست‌ها و کندروسیت‌های غضروف باله پستی بزرگتر از سلول‌های غضروفی ستون فقرات دیده شدند. همچنین در مقایسه با مطالعات Huggenberger *et al.* (2006) در این مطالعه مشخص گردید که نسبت ماده زمینه‌ای به سلول‌های غضروفی در غضروف ستون فقرات کمتر از غضروف باله پستی می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر مشخص گردید که ساختار بافتی و سلولی کندروبلاست‌ها و کندروسیت‌ها در واحد سطح و اندازه‌گیری مساحت و قطر این سلول‌ها در بافت غضروف باله پستی و ستون فقرات تاسماهی ایرانی با دیگر گونه‌های مطالعه شده توسط سایر محققین دارای شباهت‌ها و اختلافاتی بوده که به آنها پرداخته شده است.

#### سپاسگزاری

از مرکز بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به جهت همکاری صمیمانه در تهیه نمونه‌ها، تشکر و قدردانی می‌گردد.

این بافت به مقدار کمی تکامل یافته است که خود گویای رشد درون بافتی غضروف می‌باشد که در مطالعه اخیر نیز گزارش گردید. همچنین کندروبلاست‌هایی بیضوی و فاقد لاکونا در نزدیکی پری کوندریوم گونه مورد مطالعه مشاهده گردید و کندروسیت‌ها نیز به اشکال کشیده یا گرد دارای لاکونا دیده شدند که در مطالعه بر روی سایر گونه‌ها نیز گزارش گردید (Yuehwei *et al.*, 2003). در مقاطع بافتی غضروف ستون فقرات تعداد گروه‌های ایزوژنیک بیشتر از غضروف باله پستی دیده شد که مؤید این مطلب بود که رشد درون بافتی در غضروف ستون فقرات بیشتر از غضروف باله پستی است. مطالعات ساختار بافتی غضروف در سایر موجودات توسط Bagheban *et al.* (2007) نشان داد که پری کوندریوم‌توده سلول‌های غضروفی با مرفولوژی گرد و بیضی را از خارج احاطه کرده بود. Yang *et al.* (2004) بیان داشتند که تنها سلول‌های موجود در بافت غضروف کندروسیت‌ها هستند که توسط ماتریکس خارج سلولی متشکل از فیبریل‌های کلاژن و مولکول‌های پروتوگلیکان در بر گرفته هستند. پژوهش‌های Huggenberger *et al.* (2006) بر روی بافت غضروف الاستیک سقف بینی *Physter macrocephalus* نشان داد که ترکیب و ساختار این بافت متفاوت از بافت غضروف پوزه *Physter macrocephalus* بوده و در بافت سقف بینی کندروسیت‌ها بیشتر به صورت انفرادی مشاهده شدند و

#### REFERENCES

- Bagheban Eslaminejad, MR.; Taghiyar, L.; Piryaii, A.; (2007). Study of cartilage structure of mezanshim steam cells in rat compare to costal hyaline cartilage. *Journal of Medical Science*; 14 (3): 23-30.
- Emadi, H.; (2009). Systematic and classification of fishes. Marine Scientific Press. Pp: 109-110.
- Hatef, A.; Alavi, SM.; Novairi, SB.; Poorbagher, H.; Alipour, AR.; Pourkazemi, M.; Linhart, O.; (2010). Morphology and fine Structure of *Acipenser Persicus* (Acipenseridae; Chondrostei) Spermatozoon. Inter-Species comparison in Acipenseriformes. *Animal Reproduction Science*; 3 (2):1-28.
- Huggenberger, S.; Ridgway, SH.; Oelschlager, HA.; Kirschenbauer, I.;

- Vogi, TJ.; Klima, M.; (2006). Histological analysis of the nasal roof Cartilage in neonate Sperm Whale (*Physeter macrocephalus*-Mammalia. Odontoceti). *Zoologischer Anzeiger*; 244: 229-238
- Holcik, J.; (1989). *The Freshwater Fishes of Europe*. Aula-Verlag GmbH, Wiesbaden Verlag für Wissenschaft und Forschung; 32 (4):345-365.
- Huggenberger, S.; Ridgway, SH.; Oelschlager, HA.; Kirschenbauer, I.; Vogt, TJ.; Klima, M.; (2006). Histological analysis of the nasal roof Cartilage in neonate Sperm Whale (*Physeter macrocephalus*-Mammalia. Odontoceti). *Zoologischer Anzeiger*; (244): 229-238
- Junquera, J.; (1995). *Basic Histology*. Translated by Sadeghi A, Askari M. Iran Medical Institute Press. Pp: 164-173.
- Light, D.; (2004). *Cell, Tissue and Skin*. Chelsea House; 81-83.
- Lukyanenko, VI.; Vasilev, AS.; Lukyanenko, VV.; Khabarov, MV.; (1999). On the increasing threat of extermination of the unique caspian sturgeon population and the urgent measures required to save them. *J. Appl Ichthyol*; (5): 99-102.
- Lucas, MC.; Baras, E.; (2001). *Migration of freshwater*. University of Durham, UK. 146p.
- Ovissipour, M.; Abedian, A.; Motamedzadegan, A.; Rasco, B.; Safari, R.; Shahi, H.; (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*; 238-242.
- Sheibani, MT.; Betyar, M.; (2011). Histology study of intestine in (*Acipenser nudiventris*). *Veterinary Bulletin*; (6): 49-56.
- Takashima, F.; Hybaya, T.; (2000). *Atlas of fish Histology*. Translated by Posti I, Marvasti A. University of Tehran Press. 328p.
- Wilson, W.; Donkelaar, CC.; Rietbergen, R.; Huiskes, R.; (2005). The role of computational models in the search for the mechanical behavior and damage mechanisms of articular Cartilage. *Medical Engineering & Physics*; (27): 810-826.
- Witten, PE.; Huysseune, A.; (2012). Ongoing research supports healthy fish skeletons. *Global Aquaculture Advocate March/April*; (3): 46-47.
- Willems, B.; Buettner, A.; Huysseune, A.; Renn, J.; Witten, PE.; Winkler, C.; (2012). Conditional ablation of osteoblasts in medaka. *Developmental Biology*; 364(2): 128-137.
- Yang, IH.; Kim, YH.; Sun, HJ.; Kim, SJ.; Lee, JW.; (2004). Comparison of Phenotypic Characterization between alginate bead and pellet culture Systems as hondrogenic differentiation modeles for human mesenchymal Stem Cells. *Yonsei Med J*; (45): 891-900.
- Yuehuei, AN.; Martin, KL.; (2003). *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*. Humana press Inc. 999Riverview Drive.suite; (28): 406-413.