

Apsorpcija intaktnog proteina u riba; određivanje i fiziološko značenje

E. McLean, R. Ash E. Teskeredžić, Z. Teskeredžić

Sažetak

Apsorpcija intaktnoga proteina u probavnome traktu riba zanimljiv je fiziološki fenomen. Nažalost, detaljni mehanizam (mehanizmi), njezina odvijanja, ni nakon niza eksperimenata, nije u potpunosti razjašnjen.

U ovom radu prikazane su različite hipoteze vezane uz resorpciju proteina, kao i načini njezina odvijanja.

Istraživanja su pokazala da se nakon unosa hrenova (horseradish) enzima kroz usta ili čmar u krvotoku utvrdi dvostruko veća količina, pri unosu kroz čmar negoli pri unosu kroz usta. Mnogi su autori utvrdili propusnost crijeva sluznice za makromolekule upotrebom proteinskog trasera. Jednako tako postignuti su rezultati koji pokazuju da ribe koje nemaju želuca (šaran, karas), za razliku od riba sa želucem (pastrva, losos) pokazuju veći potencijal za resorpciju kroz usta unešenih intaktnih proteina u krvotok.

Ewen McLean, Ph. D., Research Fellow, Dept. Fisheries and Oceans, West Vancouver Laboratory, 4160 Marine Drive, West Vancouver, B.C., Canada; Roger Ash, Ph.D., Senior Lecturer Metabolic Biochemistry, School of Biomedical Sciences, University of Bradford, Richmond Road, Bradford BD7 1DP, West Yorkshire, U.K.; Emin Teskeredžić, dr. sc. viši znanstveni suradnik, Zlatica Teskeredžić, dr. sc. znanstveni suradnik, Institut »Ruđer Bošković«, Centar za istraživanje mora Zagreb, Zagreb, Yugoslavia.

Hranidbena hipoteza pokazuje da je unutarstanična probava pinocitoznih proteina nadomjestak normalnome kapacitetu probave riba. Jednako tako, kroz razdoblje povećanog gladovanja, aktivnost crijevne proteaze može biti nedostatna prema kompletnoj hidrolizi probavljenih hrana.

Utvrđeno je da postoji crijevni sekretorni imunološki sustav, te da je moguć pasivni prijenos imuniteta. Moguće je da mukofagne larve proizvedu pasivni imunitet kongestijom roditeljskih protutijela.

Iskoristivost fenomena apsorpcije intaktnog proteina u probavnome traktu riba bit će iscrpno obrađena u idućem članku.

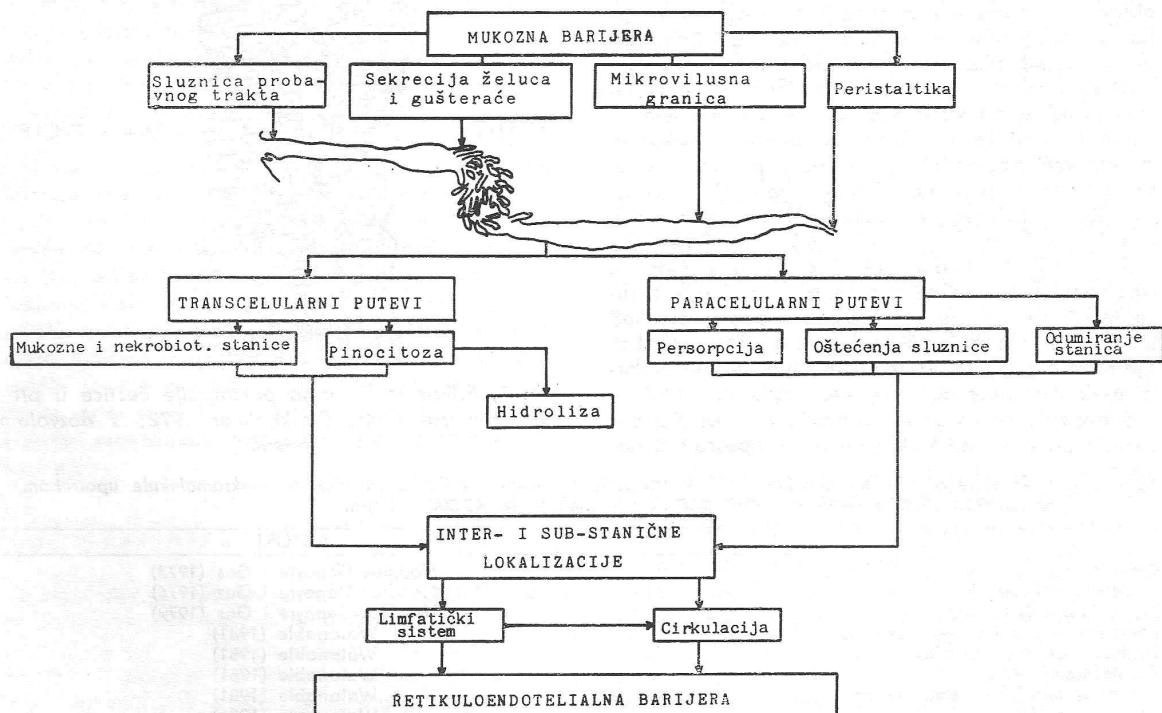
UVOD

Probavni trakt vertebrata nepropusan je za makromolekule zbog fizikalnih, kemijskih i imunoloških komponenata probave koje tvore tzv. mukoznu barijeru (sl. 1). Sekrecija sluzi, mikrovilusna stijenka i peristaltičke kontrakcije probavnoga trakta predstavljaju fizikalnu opstrukciju za makromolekule, dok kemijska barijera apsorpcije makromolekula proizlazi iz želučane i gušteračne sekrecije. Imunološka barijera nastaje zbog izlučivanja imunoglobulina koji inhibira apsorpciju makromolekule obavijajući je i čineći je mnogo pogodnijom za enzimsku degradaciju.

Pokusi izvedeni kod riba (kalifornijske pastreve) u nošenjem HRP-a (horseradish peroxidase – hrenovog enzima), peroralno ili kroz rektum, pokazali su da se u krvotoku nalazi dvostruko više proteina pri rektalnom unašanju nego pri peroralnom. Ovaj fenomen je vjerojatno nastao zbog davanja HRP-a u srednji dio crijeva. Istraživanja su također pokazala da proteazni inhibitori (McLean i Ash, 1990) i antacidi (Solar et al., 1990) zaštićuju uzete proteine i peptide od želučane i gušteračne sekrecije. Imunološka komponenta probavnoga trakta riba može također djelovati na smanjenje apsorpcije intaktnih proteinskih čestica. Unutar mukoznog sloja probavnoga trakta protutijela, kao sekretorna forma imunoglobulina – tip M (slgM), smanjuju prijenos makromolekula iz crijevnog lumena u krvotok. Misli se da je produkcija slgM smještena u stanicama sasvim blizu epitelijalne površine. Kao što je već poznato, antigeni su materijali probavljeni, a limfoblasti u lamini proprijji probavnoga trakta stimulirani su na sekreciji slgM. Pretpostavlja se da protutijela (slgM) – antigen kompleks uzrokuje mnogo značajnije djelovanje proteolitičkih enzima. Razna dosadšnja istraživanja upozorila su na postojanje imunološkog sustava sekrecije unutar probavnoga trakta koštunjača (Lob, 1988; Rombout et al., 1989).

Eksperimentalna istraživanja pokazuju da neke makromolekule zaobiđu degradaciju i uđu u krvotok. Precizni mehanizam apsorpiranja intaktnih proteina ostaje nerazjašnjen. Mogući su parcelularni i transcelularni putevi unosa (sl. 1). Histokemijska istraživanja (tabl. 1) utvrdila su da je najvažniji način apsorpcije oralno uzetog proteina preko pinocitotnog mehanizma. Pinocitoza je sličan fenomen kao i fagocitoza, uz napomenu da je u ovom slučaju uzeta otopina. Može se pretpostaviti da makromolekule mogu ući u krvotok prolazeći između enterocita. Postojanje takva puta je prvi put još godine 1844. zabilježio Herbst (cit. po Volkheimer, 1972). Parcelularan put (sl. 2) moguć je samo na crijevnoj sluznici gdje postoji jedan sloj stanica. Mikroskopske čestice zajedno s tekućinom mogu za vrijeme peristaltike i pulzatorne akcije krvotoka, u sluzničnim naborima biti ugurane između epitelijalnih stanica probavnoga trakta. Prirodno ljuštenje sluzničnog sloja kao i njegovo oštećenje zbog parazitarne infekcije ili oštih predmeta također mogu uzrokovati prolaz čestica s tekućinom kroz sluznicu (Volkheimer, 1972).

Histološke i histokemijske analize probavnoga trakta u riba pokazale su da u njih srednji i stražnji dio probavnoga trakta sudjeluje u apsorpciji intaktnoga



Sl. 11. Sumarni diagram mukozne barijere i način apsorpcije proteina u probavnom traktu riba (McLean & Donaldson 1990)

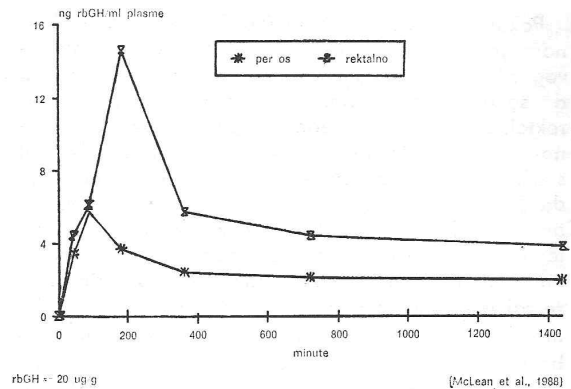
proteina (Noaillac-Depeyre i Gas, 1973; Stroband i van der Veen, 1981; Georgopoulou i sur., 1988). Ovaj je fenomen niz autora utvrdilo kod mnogih morskih i slatkovodnih riba (tabl. 1).

MEHANIZAM APSORPCIJE

Točan mehanizam ili mehanizmi resorpcije intaktnog proteina još su nejasni. Histokemijske analize pokazuju da je najznačajniji prolaz proteina preko tekuće faze pinocitoze (Watanabe, 1981; Lida i Yamamoto, 1985; Lida i sur., 1986; Georgopoulou i sur., 1988). Druga su istraživanja dala indicaciju da je protein možda apsorbiran preko srednjih receptorskih putova (Rambout i sur., 1985, 1989); dok je udjel paracelularnih mehanizama također prihvatljiv kao mogućnost (McLean i Donaldson, 1990).

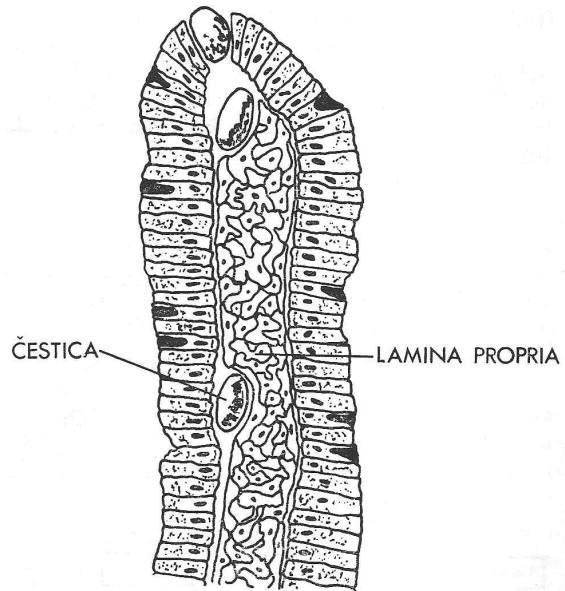
Noaillac-Depeyre i Gas (1973) dokazali su histokemijskom metodom peroralni prolaz unesenog proteinskog trasera (horseradish peroxidase; HRP) u izvanstanični prostor i osnovnu membranu probavnog trakta šarana *Cyprinus carpio*. To isto potvrdilo je više dosadašnjih istraživanja, primjerom oralnog davanja proteinskog trasera te je on utvrđen u krvnožilnom (McLean i Ash 1986, 1987a, 1989) i/ili u limfatičnome sustavu riba (Georgopoulou i sur., 1988). Izravna je usporedba objavljenih podataka otežana zbog različitih količina unesenog proteina, razlika u vrstama i dobi eksperimentalnih riba, kao i s obzirom na njihovo kondicijsko i zdravstveno stanje. Iz dosadašnjih rezultata proizlazi da vrste riba bez želuca, kao što su šaran i zlatni karas *Carrasius auratus*, pokazuju mnogo veći potencijal za resorpciju peroralno unesenih intaktnih proteina od vrste koje imaju želudac, kao što su kalifornijska pastrva *Oncorhynchus mykiss* (prije *Salmo gairdneri*, Smith i Stearly 1989, Gall i Groot 1990), chanook salmon *O. tshawytscha*, i coho salmon *O. kisutch*. Takve razlike mogu se odraziti na različitu probavljivost kod tih riba, a također proširuju važnost i želučane barijere koja ograničava iskorištavanje makromolekula u daljnoj apsorpciji crijevnog epitela.

S obzirom na podatke iz literature postoji mala sumnja da probavni trakt riba može apsorbirati ne-



Sl. 2. Vrijeme zadržavanja rbGH u krvotoku riba nakon per os i rektalnog unosa

LUMEN CRIJEVA



Sl. 3. Prikaz mehanizma persorpcije čestice u probavnom traktu riba (Volkheimer 1972; s dozvolom izdavača)

Tablica 1. Neke vrste riba koštunjača kod kojih je utvrđena propusnost crijevne sluznice za makromolekule upotrebom proteinskog trasera — horseradish peroxidase, mol. težine 40 000 daltona.

VRSTE	AUTORI
<i>Cyprinus carpio</i> — šaran	Noaillac-Depeyre i Gas (1973)
<i>Tinca tinca</i> — linjak	Noaillac-Depeyre i Gas (1976)
<i>Perca fluviatilis</i> — grgeč	Noaillac-Depeyre i Gas (1979)
<i>Oncorhynchus masou</i> — masou losos	Watanable (1981)
<i>Tilapia nilotica</i> — tilapija	Watanable (1981)
<i>Cottus nozawae</i>	Watanable (1981)
<i>Carassius auratus</i> — zlatni karas	Watanable (1981)
<i>Hypomesus olidus</i>	Watanable (1981)
<i>Clarias lazera</i> — afrički som	Stroband i Kroon (1981)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> — kalifornijska pastrva	Nagai i Fujino (1983)
<i>Ameiurus nebulosus</i> — somić	Noaillac-Depeyre i Gas (1983)
<i>Plecoqlossus altevelis</i>	Nagai i Fujino (1984)

hidrolizirane proteine. Može se međutim postaviti pitanje što je fiziološka značajnost (ako je ima) apsorpcije intaktnog proteina na ribu.

Ukratko, hipoteze prikazane u objašnjavanju fenomena apsorpcije intaktnoga proteina mogu biti svrstane u jednu od dviju kategorija: hranidbenu ili imunološku.

a) Hranidbena

Jedna od najranijih hipoteza o mogućnosti apsorpcije intaktnih proteina u probavnome traktu riba sugerirala je da je razlog tome nedostatak želučane faze probave (Yamamoto, 1966; Iwai, 1969; Noaillac-Depeyre i Gas, 1976). Takva se hipoteza potvrđuje činjenicom da nije zapažena smanjena mogućnost apsorpcije intaktnih proteina u riba koštunjača bez želuca (Noaillac-Depeyre i Gas, 1979, 1983).

Hofer (1982) ustanovio je da unos makromolekula može biti u odnosu na apsorpciju endogenih probavnih enzima kao zaštitni mehanizam (enteropankreatična recirkulacija probavnih enzima). Sadašnji eksperimenti označavaju da su probavni enzimi s pomoću reverzibilne veze prema glicokaliksi sačuvani bolje nego kroz resorpciju (Pedersen i Hjelmeland, 1988).

Drugu hipotezu postavili su Ezeasori i Stokoe (1981). Ti autori tvrde da apsorpcija intaktnog i djelomično razgrađenih proteina može biti metoda maksimalnog iskorištavanja probavljivog proteina. Za vrijeme uzimanja hrane, koje je vrlo često u vezi s povećanim temperaturama, vrijeme crijevne evakuacije može biti djelomično skraćeno. Pod takvim okolnostima djelatnost probave proteaze crijevnoga lumena može biti zadovoljavajuća. Zbog toga bi intracelularna probava pinocitoznih proteina bila nadomjestak normalnome kapacitetu probave crijeva u riba. Slično Ezeasorovim i Stokoeovim idejama (1981), Strobandi van der Veen (1981) upozoravaju da apsorpcija intaktnih proteina može djelovati na privremenu značajnost kroz razdoblje povećana gladovanja, kada aktivnost crijevne proteaze može biti nedostatna prema kompletnoj hidrolizi probavljenih hrana (npr. odmah nakon hranjenja).

b) Imunološka

Mogućnost da apsorpcija intaktnoga proteina daje imunološku prednost najprije su odredili Noaillac-Depeyre i Gas (1979). Ti su autori utvrdili da je postojao funkcionalni odnos između aktivnih pinocitoznih enterocita srednjega dijela crijeva kod grgeča (*Perca fluviatilis*) i stanica lociranih unutar osnovnoga crijevnog epitela. Noaillac-Depeyre i Gas iznose da te stanice svojom

međusobnom interakcijom mogu biti uključene u povećanje imunološke zaštite.

Štoviše, početne sugestije Noaillac-Depeyre i Gas (1979) bile su ponovno istražene i proširene. Davina i sur. (1982) prikazali su pinocitozu makromolekula pomoću crijevnih stanica koje su istovjetne onima u sisavaca, antigen – uzorkovanja i M-stanica. Rombout i Berg (1985) opisali su makrofage udružene s pinocitoznim enterocitima probave šarana, koji su bili aktivni u uzimanju izlučenog feritina. Usto ti su autori izvijestili da primjena imunocitokemijskih tehnika nije onemogućila vidljivu imunoreakciju makrofaga koji su fagocitirali feritin unutar 24 sata od oralnog davanja. Ova zapažanja bila su interpretirana kao dobivanje potvrde za izražavanje antigenih utvrđivanja feritina iznad membrane makrofaga, potrebnog detalja za stimulaciju limfoidnih stanica unutar crijevne laminae propriae. Ta su opažanja potvrdili Georgopoulou i Vernier (1986). Oralno davanje ljudskog imunoglobulina tipa G (hlgG) kalifornijskim pastrvama rezultiralo nastajanjem antigenog determinanta na površini intraepitelnih limfocita unutar 24 sata. Nadalje oni su zapažali znatno povećanje broja antigenog vezanja i formiranje naslaga stanica unutar epitela. Pronađeno je da su limfoidne stanice vraćene iz crijevnoga epitela tri dana nakon početnog davanja hlgG te da je došlo do izlučivanja imunoglobulina *in vitro*. Kao rezultat tih pokusa Georgopoulou i Vernier (1986) mogli su zaključiti da postoji crijevni sekretorni imunološki sustav i da je bio u funkciji u odraslih pastrva. Te pronalaskе također su potvrdili Rombout i sur. (1989) za šarana.

Daljnja uloga fenomena apsorpcije intaktnog proteina, koja ostaje nerazjašnjena do danas, jest njegova mogućnost udjela u pasivnom prijenosu imunosti. Kod nekih vrsta koštunjača koje su pod kompletnom roditeljskom brigom (npr. *Symphysodon* spp.), »mukofaga« mlađ se hrani roditeljskim epidermalnim mukoznim sekrecijama. Budući da su prikazane različite studije prisutnosti lizocina i imunoglobulina u sluznici kože riba (Hart i sur., 1988), moguće je da mukofagne larve mogu proizvesti pasivni imunitet kongestijom roditeljskih protutjela. Pasivni prijenos protutjela od majke na potomstvo može se također zapaziti za vrijeme embrionalnoga razvoja živorodnih vrsta koštunjača i hrskavičnjača.

Prema navedenim hipotezama, crijevna je propusnost makromolekula u riba vrlo značajna. Širina je takve pojave prikazana u tabl. 1. Postavljaju se mnoga pitanja o tome prirodnom fenomenu, kao i o njegovoj iskoristivosti pri oralnom unošenju biološki aktivnog materijala u uzgajane ribe.

Problemi vezani uz primjenu toga prirodnog fenomena u akvakulturi bit će iscrpno obrađeni u idućem članku.

Summary

INTACT PROTEIN ABSORPTION BY THE FISH GUT I. MECHANISM OF UPTAKE AND POTENTIAL PHYSIOLOGICAL SIGNIFICANCE

Interest in the ability of the fish gut to absorb intact proteins has, in recent years, gained increased attention. However, uncertainty still exists regarding the precise mechanisms of protein absorption, and the physiological importance of this process to the well-being of the animal.

In this paper, we briefly review the potential mechanisms by which intact proteins may gain access to the fish bloodstream. Quantitative aspects of protein absorption, and the restrictive nature of the gastric and pancreatic «barriers» to uptake are considered, with reference to the use of the protein tracer, horseradish peroxidase (HRP). Studies with agastric (carp) and gastric (trout, salmon) teleosts, demonstrate that the lack of a peptic phase of digestion increases the amount of HRP which may be detected in the circulation, following oral delivery. Furthermore, rectal administration of HRP to gastric species appears to increase the amount of the protein tracer which is absorbed. Also, agastric fish appear to exhibit a higher potential for intact protein absorption than gastric animals.

Proposals concerning the potential physiological significance of this phenomenon are also considered. Nutrition-related hypotheses suggest that intact protein absorption may represent an extension to the normal digestive capacity of the fish gut. Thus, an ability to absorb protein macromolecules may be an important compensatory mechanism, following periods of prolonged starvation (when activity of luminal proteases may be compromised), or during periods of food abundance, where intestinal transit rates may be decreased.

Alternatively, the phenomenon may be of importance in the ability of fish to respond to antigen challenge. Or, it may play a role in the passive transfer of immunity to certain species of mucophagous fish larvae, wherein parental antibodies are coinjected during feeding. The potential application of this phenomenon to the aquaculture industry will be examined in a future presentation.

LITERATURA

- Davina, J. H. M., Parmentier, H. K., Timmermans, L. P. M. (1982): Effect of oral administration of *Vibrio* bacterin on the intestine of cyprinid fish. *Dev. Comp. Immunol.*, 2, 181–189.
- Ezeasor, D. N., Stokoe, W. M. (1981): Light and electron microscopic studies on the absorptive cells of the intestine, caeca and rectum of the adult rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish Biol.*, 18, 527–544.
- Gall, G. A. E., De Groot, S. J. (1990): Taxonomic names for northern pacific trout species. 86, 1.
- Georgopolou, U., Dabrowski, K., Sire, M.-F., Vernier, J.-M. (1988): Absorption of intact proteins by the intestinal epithelium of trout, *Salmo gairdneri*. A luminescence enzyme immunoassay and cytochemical study. *Cell Tiss. Res.*, 251, 145–152.
- Georgopolou, U., Vernier, J.-M. (1986): Local immunological response in the posterior intestinal segment of the rainbow trout after oral administration of macromolecules. *Dev. Comp. Immunol.*, 10, 5209–537.
- Hart, S., Wrathmell, A. B., Harris, J. E., Grayson, T. H. (1988): Gut immunology of fish: a brief review. *Dev. Comp. Immunol.*, 12, 453–480.
- Hofer, R. (1982): Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72, 55–63.
- Iida, H., Yamamoto, Y. (1985): Intracellular digestion of horseradish peroxidase in the absorptive cells of goldfish hindgut in vitro, with special reference to the cytoplasmic tubules. *Cell Tiss. Res.*, 238, 523–528.
- Iida, H., Shibata, Y., Yamamoto, Y. (1986): The endosomal lysosome system in the absorptive cells of goldfish hindgut. *Cell Tiss. Res.*, 243, 449–452.
- Iwai, T. (1969): Fine structure of gut epithelial cells of larval juvenile carp during absorption of fat and protein. *Arch. Histol. Jap.*, 30, 183–199.
- Lob, C. J. (1988): Secretory immunity induced in catfish *Ictalurus punctatus* following bath immunization. *Dev. Comp. Immunol.*, 11, 727–738.
- McLean, E., Ash, R. (1986): The time-course of appearance and net accumulation of horseradish peroxidase (HRP) presented orally to juvenile common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 84A, 687–690.
- McLean, E., Ash, R. (1987): The time-course of appearance and net accumulation of horseradish peroxidase (HRP) presented orally to rainbow trout *Salmo gairdneri* (Richardson). *Comp. Biochem. Physiol.*, 88A, 507–510.
- McLean, E., Ash, R. (1987): Intact protein (antigen) absorption in fishes: mechanism and physiological significance. *J. Fish Biol.*, 31, 2199–223.
- McLean, E., Donaldson, E. M. (1990): The absorption of bioactive proteins by the fish gastrointestinal tract: A review. *J. Aquat. Anim. Health.*, 2, 1–11.
- McLean, E., Ash, R. (1990): Modified uptake of the soluble protein antigen, horseradish peroxidase (HRP), following oral delivery to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 87, 373–379.
- Nagai, A., Fujino, Y. (1983): On the experiment of antigen uptake through the gut of rainbow trout and ayu-fish. pp. 191–205 in: Proceedings of the 2nd North Pacific Aquaculture Symposium, Sept. 1983, Tokyo & Shimizu, Japan.
- Nagai, A., Fujino, Y. (1984): A study on the ingestion of horseradish peroxidase into the mucosal epithelial cells in the gut of Ayu fish *Plecoglossus altivelis*. *J. Fac. Mar. Sci. Technol., Tokai Uni.*, 18, 256–263.

- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. (1973): Absorption of protein macromolecules by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Ultrastructural and cytochemical study. *Z. Zellforsch. Mikros. Anat.*, 146, 525–541.
- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. (1976): Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (*Tinca tinca* L.) with respect to its absorptive functions. *Tiss. Cell*, 8, 511–530.
- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. (1979): Structure and function of the intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatilis* L.). *Anat. Rec.*, 195, 621–639.
- Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. (1983): Etude cytophysiologique de l'épithélium intestinal du poisson-chat (*Amiurus nebulosus*, L.). *Can. J. Zool.*, 61, 2256–2273.
- Pedersen, B. H., Hjelmeland, K. (1988): Fate of trypsin and assimilation efficiency in larval herring (*Clupea harengus*) following digestion of copepods. *Mar. Biol.*, 97, 467–476.
- Rombout, J. H. M., van den Berg, A. A. (1985): Uptake and transport of ferritin in the epithelium of carp (*Cyprinus carpio* L.) and the possible immunological implications. *Cell Biol. Int. Rep.*, 9, 516.
- Rombout, J. H. M., Blok, L. J., Lamers, C. H. J., Egberts, E. (1986): Immunization of carp (*Cyprinus carpio*) with *Vibrio anguillarum* bacterin: indications for a common mucosal immune system. *Dev. Comp. Immunol.*, 10, 341–351.
- Rombout, J., van den Berg, A. A., van den Berg, C. T. G. A., Witte, P., Egberts, E. (1989): Immunological importance of the second gut segment of carp III. Systemic and/or mucosal immune responses after immunization with soluble and particulate antigen. *J. Fish Biol.*, 35: 179–186.
- Smith, G. R., Stearly, R. F. (1989): The classification and scientific names of rainbow and culthroat trout. *Fisheries*, 14, 4–10.
- Solar, I. I., McLean, E., Baker, I. J., Sherwood, N. M., Donaldson, E. M. (199): Induced ovulation in the sablefish (*Anoplopoma fimbria* Pallas, 1811) following oral delivery of Des-Gly10-(D-Ala6) LHRH ethylamide. *Fish Physiol. Biochem.*, in press.
- Stroband, H. W. J., Kroon, A. G. (1981): The development of the stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. *Cell Tiss. Res.*, 215, 397–415.
- Stroband, H. W. J., van der Veen, F. H. (1981): Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of grass carp *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *J. Exp. Zool.* 218, 149–156.
- Vikheimer, G. (1972): Persorption. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Watanabe, Y. (1981): Ingestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 47, 1299–1307.
- Yamamoto, T. (1966): An electron microscope study of the columnar epithelial cell in the intestine of freshwater teleosts: goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo iridius*). *Z. Zellforsch. Mikro. Anat.*, 72, 66–87.

Primljeno 8. 10. 1990.

