

هیستومورفولوژی و هیستومتری پوست ناحیه سر در ماهی شیر بت (*Barbus grypus*)

زهرا بصیر. دانشجوی Ph.D^۱، حسن مروتی Ph.D^{*}، محمود خاکساری مهابادی Ph.D^۱، مهرزاد مصباح Ph.D^۱، رحیم عبدالی^۲

- ۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
۲- گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: hmorovvati@scu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۲

چکیده

هدف: از آنجایی که در خصوص موفولوژی پوست گونه (*Barbus grypus*) مطالعه ای انجام نشده است، تحقیق حاضر انجام گرفته تا امکان استفاده از آن در سایر مطالعات تخصصی مانند هیستوپاتولوژی و سایر علوم مربوطه فراهم گردد.

مواد و روش‌ها: از پوست نواحی مختلف سر ۲۰ قطعه ماهی نمونه‌هایی به ضخامت ۵ میلی متر تهیه و در محلول ثبیت کننده بوئن قرار گرفته و سپس به روش استاندارد تهیه لامهای بافت شناسی انجام پذیرفت. برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی پس از ثبوت اولیه و ثانویه و آبگیری در داخل رزین آغشته گردیده و پس از تهیه برش‌های فوق نازک ۵۰ نانومتر در داخل یورانیل استات رنگ آمیزی گردیدند.

نتایج: بر اساس نتایج پوست نواحی سر، لب و سبیلک علی رغم وجود اختلاف ساختاری از دو طبقه شامل اپی‌درم و درم که بر روی بافت همبند سست به نام هیپودرم قرار گرفته تشکیل شده است. همچنین پوست این نواحی را لحاظ پراکنش سلول‌های مورد مطالعه به نواحی مختلف می‌توان تقسیم بندی کرد. در مطالعات میکروسکوپ الکترونی سلول‌های جامی شکل حاوی گرانول‌های متعدد موکوسی و سلول‌های خاردار و هشدار دهنده توسط یک هسته هیپر کروماتین در بر گرفته که در مورد سلول‌های هشدار دهنده نمود بیشتری داشت.

نتیجه گیری: براساس مطالعه انجام شده، بافت پوست در نقاط مورد مطالعه در ماهی شیر بت از نظر ساختار میکروسکوپ نوری و الکترونی تفاوت‌هایی به بافت پوست در سایر گونه‌ها داشته اما دارای شباهت‌هایی بوده که قابل گزارش می‌باشد.

واژگان کلیدی: هیستومورفولوژی، هیستومتری، پوست، ماهی شیر بت

مواد و روش‌ها

در این مرحله تعداد ۲۰ قطعه ماهی شیر بت به ظاهر سالم و بالغ از هر دو جنس از مرکز توسعه ماهیان آب‌های داخلی خوزستان صید گردیده و به صورت زنده به آزمایشگاه بافت شناسی داشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران منتقل گردید. بدین منظور ماهیان بلافاصله به روش ضربه بیهوش شده و پس از توزین طول کل بدن و طول استاندارد با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شده و فرم بدن، باله‌ها، رنگ و وضعیت پوست در نواحی مختلف بدن مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعات میکروسکوپی، بلافاصله نمونه‌هایی به ضخامت حداقل ۰/۵ سانتی‌متر از قسمت‌های مختلف پوست ناحیه سر، لب بالا، لب پایین، سبیلک بالا، سبیلک پایین از ماهیان برداشت گردید و پس از ثبوت در فرمالین ۱۰ درصد به روش معمول تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ائوزین hematoxylin and eosin (Periodic Acid Schiff) (PAS) و اسید پریویدیک شیف (eosin) قرار گرفتند (۹). جهت مطالعه مقاطع میکروسکوپی در این مرحله ساختار بافت شناسی پوست از نظر ساختار بافتی لایه‌های تشکیل دهنده یعنی اپی‌درم، درم و هیپودرم و سلول‌های تشکیل دهنده آن‌ها شامل سلول‌های پوششی، جامی شکل، گرزی شکل و جوانه‌های چشایی پوست و ساختارهای ضمیمه آن‌ها شامل رشته‌ها، سلول‌ها، رنگدانه‌ها به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. در مطالعه هیستومتریک پوست نیز نواحی مختلف بدن تعداد سلول‌های جامی، تعداد جوانه‌های چشایی، تعداد سلول‌های گرزی شکل و ضخامت اپی‌درم مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به دست آمده با استفاده از تصاویر میکروسکوپی تهیه شده ارائه گردیدند. برای آماده سازی نمونه‌ها جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی برای ثبوت از گلوتارآلدئید ۴ درصد استفاده گردید. جهت شستشو در این مرحله با استفاده از sodium cacodylate buffer ۱درصد تا ۰/۱۵ مولار، در ۳ مرحله و هر مرحله به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. در ادامه جهت ثبوت ثانویه نمونه‌ها به مدت ۱/۵ تا ۲ ساعت در تتراکسید اسمیوم (Osmium Tetroxide) یک درصد قرار گرفتند و سپس برای شستشو با استفاده از Sodium cacodylate buffer ۰/۱ تا ۰/۱۵ مولار، در ۳ مرحله و هر مرحله به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و برای آب گیری در این مرحله از غلظت‌های افزاینده استون، اتانول و یا متانول استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه‌ها به ترتیب در استون ۳۰

مقدمه

پوست یک ارگان بزرگ و وسیع می‌باشد که موجود را در مقابل عوامل استرس‌زا و محرك‌های محیطی که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک اعضا داخلی بدن می‌شود، حفظ می‌کند (۱۰). علاوه بر آن پوست در برخی از گونه‌های ماهیان یک اندام فرعی مهم جهت تنفس بوده و همچنین در نگهداری و حفظ تعادل آب و مواد معدنی بدن ماهی نیز نقش دارد (۱۱). در پوست ماهی انواع مختلفی از ساختارهای حسی نیز وجود دارند که اطلاعات محیط را به ماهی منتقل می‌کنند (۱۲). تنوع مورفولوژیکی و عملکردی بسیار وسیع در جزئیات پوست و ترکیب ساختاری آن در بین گونه‌های مختلف ایجاد شده است تا به نحوی نیاز هر گونه را برآورده سازد. با وجود اینکه اختلافات زیادی در جزئیات پوست ماهیان وجود دارد ساختار عمومی تقریباً در تمامی ماهیان مشابه بوده و از دو لایه اصلی تشکیل شده است. اپی‌درم که سطح خارجی بدن ماهی را پوشانده و درم که به همراه لایه زیر خود به نام هیپودرم لایه داخلی را تشکیل می‌دهد (۱۳). ضخامت پوست و هریک از لایه‌های تشکیل دهنده آن در بین گونه‌های مختلف ماهیان و حتی در داخل یک گونه متفاوت می‌باشد و با سن، فصل، مرحله سیکل جنسی، محل قرارگیری آن بر روی بدن و شرایط محیطی ارتباط دارد (۱۴، ۱۵ و ۱۶). در یک ماهی، ضخامت پوست در نواحی مختلف بدن نیز متفاوت می‌باشد. به طور کلی پوست ماهیان استخوانی از ۵ لایه تشکیل شده که به ترتیب از خارج به داخل شامل کوتیکول، اپی‌درم، غشاء پایه، درم و هیپودرم می‌باشد (۱۷). به دلیل کثرت گونه‌های ماهی و تفاوت‌های زیادی که در بافت‌ها و اندام‌های مختلف آن‌ها وجود دارد بررسی آناتومی و بافت‌شناسی یک گونه را نمی‌توان به سایر گونه‌ها تعمیم داد. از طرفی از نمونه‌های پوست، برای تشخیص بسیاری از بیماری‌ها در آزمایشات سیتولوژی استفاده می‌شود و تنوع مورفولوژیکی زیادی در ساختمان بافت‌شناسی پوست در گونه‌های مختلف وجود دارد. بنابراین مطالعه‌ی اخیر می‌تواند پاسخگوی بسیاری از سوالات در زمینه پاتولوژی، فیزیولوژی در واحدهای اجرایی این گونه باشد. نظر به اینکه تاکنون در خصوص ساختمان طبیعی پوست ماهی شیربت که یکی از ماهیان با ارزش و تجاری از نظر تغذیه‌ای در ناحیه جنوبی کشور می‌باشد گزارشی در دسترس نمی‌باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین و شناسایی هیستومورفولوژی و هیستومتری پوست قسمت‌های مختلف ناحیه پوزه و سر ماهی شیر بت انجام گرفت است.

لایه‌های عمقی و میانی اپی‌درم مشاهده شدند و نسبت به رنگ اسید پرپریدیک شیف پاسخ منفی دادند. این سلول‌ها دارای سیتوپلاسمی روشن که برخی از آنها دارای اکوئول و هسته‌ای بزرگ که تقریباً در مرکز سلول قرار داشتند. علاوه بر این، سلول‌ها ساختارهایی کشیده و بیضی شکل بنام جوانه‌های چشایی که بوسیله منفذ به سطح پوست باز می‌شدند. این ساختارها، دارای سلول‌های قائمه‌ای، سلول‌های روشن با هسته ساختارهای دارای سلول‌های تیره با هسته هتروکروماتین روشن و یوکروماتین و سلول‌های کشیده بودند. در زیر اپیدرم، درم واقع شده است که خود از دو لایه اسفنجی و رتیکولر تشکیل شده بود. لایه اسفنجی بود که سلول‌های رنگدانه‌ای نیز در آن مشاهده عناصر سلولی بود که سلول‌های رنگدانه‌ای کلازن به همراه گردید و به صورت دو تا سه ردیف و پراکنده در سراسر طول درم گردید. در زیر درم هیپودرم مشاهده گردید که بصورت یک بافت همبند سخت در گرگفته بود. لایه رتیکولر بصورت یک بافت همبند سخت نامنظم که دستجات کلازن بصورت لایه‌های موازی و متراکم در کنار هم‌دیگر قرار گرفته و عناصر سلولی کمتری در آن مشاهده گردید. در زیر درم هیپودرم گردید که بصورت یک بافت همبند سست فاقد بافت عضلانی و در ناحیه سر بر روی استخوان جمجمه قرار گرفته بود. هر سه نوع سلول یاد شده در نواحی مورد مطالعه قابل مشاهده بودند، اما سلول‌های گرزی شکل در ناحیه لب مشاهده نشدند (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). یافته‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی نشان داد که سلول‌های جامی شکل حاوی گرانول‌های متعدد موکوسی در داخل سیتوپلاسم و شبکه آندوپلاسمی توسعه نیافتنه می‌باشند. همچنین قسمت عمده حجم سیتوپلاسم در سلول‌های خاردار و هشدار دهنده توسط یک هسته هیپر کروماتین پوشیده شده که در مورد سلول‌های هشدار دهنده نمود بیشتری داشت (شکل‌های ۴ و ۵).

هیستومتری

نتایج هیستومتری حاصل از اندازه گیری ضخامت اپیدرم حاکی از آن بود که پوست ناحیه سر و ناحیه لب و سبیلک از نظر ضخامت اپی‌درم به سه ناحیه تقسیم می‌شود و از این لحظه با هم متفاوت بوده مقایسه آماری بین آن‌ها معنی دار بود ($p < 0.05$). شمارش تعداد سلول‌های جامی، گرزی شکل و جوانه‌های چشایی و محاسبه تعداد متوسط آنها در ۱۰۰ میکرومتر و در ده میدان میکروسکوپی در قسمت‌های مختلف لام و در نمونه‌های نر و ماده در طول اپی‌درم در نواحی مختلف مورد مطالعه حاکی از آن بود که پوست ماهی شیر بت از نظر

درصد، ۵۰ درصد، ۷۵ درصد، ۹۵ درصد، ۱۰۰ درصد درصد و ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس جهت آغشتنگی با رزین عمل مخلوط کردن رزین با استون، اتانول، متانول و یا پروپیلن اکساید با نسبت‌های ۳ حجم از یکی از مواد گفته شده به همراه ۱ حجم استون به مدت ۳ ساعت، نسبت ۱ به ۱ هر دو ماده به مدت ۲۴ ساعت، ۳ حجم استون به همراه یک حجم از یکی از مواد فوق الذکر به مدت ۳ ساعت و در نهایت استفاده از رزین خالص به مدت ۵ ساعت صورت گرفت. در این تحقیق از استون و برای قالب گیری از رزین خالص استفاده گردید. در مرحله پلیمریزاسیون، نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و در نهایت جهت تهیه برش از دستگاه اولترامیکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵۰ نانومتر از نمونه‌ها تهیه شد و برای رنگ آمیزی برش‌های فوق نازک از استات یورانیل استفاده گردید (۱۱۰). در نهایت از برش‌های تهیه شده، توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی Philips مدل CM10 ساخت کشور هلند عکسبرداری شد. میانگین داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه شانزده و با کمک آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و سپس آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

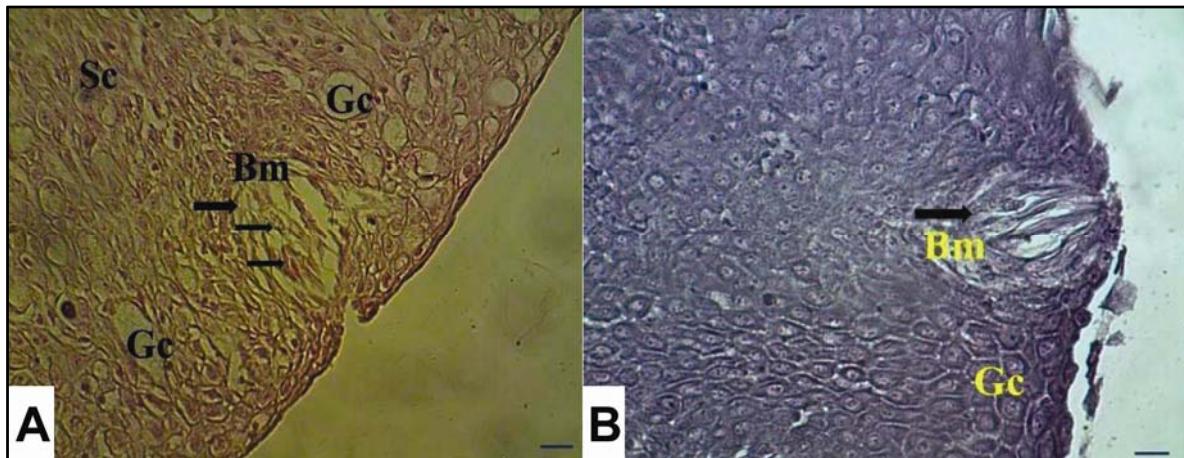
نتایج

هیستومورفولوژی

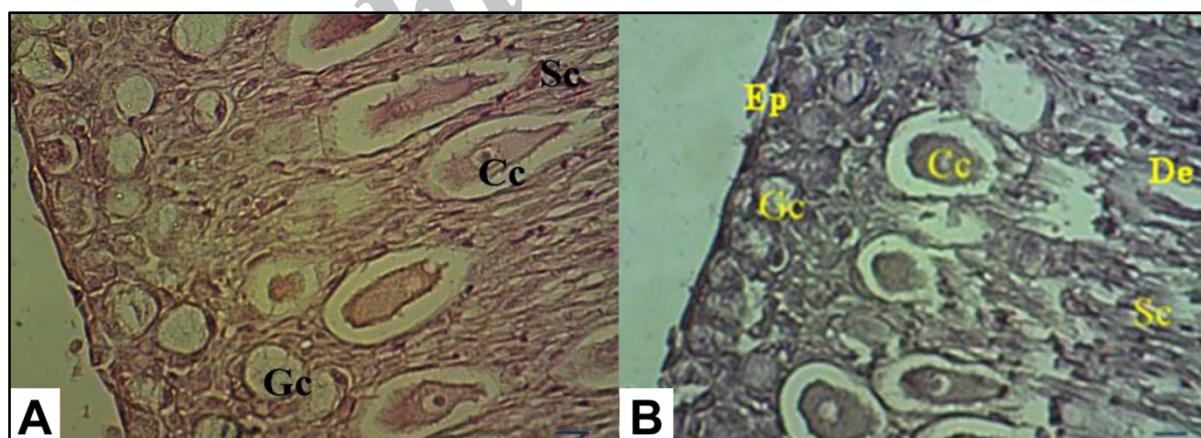
نتایج هیستومورفولوژی حاصل از این مطالعه نشان داد که پوست نواحی سر، لب و سبیلک علی‌رغم وجود اختلاف ساختاری از دو طبقه شامل اپی‌درم و درم تشکیل شده و بر روی بافت همبند سست بنام هیپودرم قرار گرفته است. در ناحیه اپی‌درم سلول‌های پوششی از نوع سنگفرشی مطبق شاخی نشده با ضخامت متفاوت در بخش‌های مختلف، سلول‌های جامی شکل، سلول‌های گرزی شکل، جوانه‌های چشایی و مویرگ‌های خونی مشاهده گردید. سلول‌های جامی شکل در لایه‌های میانی تا خارجی تر اپی‌درم در رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوزین سیتوپلاسمی روشن و در رنگ آمیزی اسید پرپریدیک شیف سیتوپلاسمی به رنگ روشن تا ارغوانی داشتند. این سلول‌ها دارای هسته‌ای هتروکروماتین، کشیده و چسبیده به قاعده بودند. این سلول‌ها در لایه‌های میانی اپی‌درم کروی و در لایه‌های سطحی تر معمولاً دارای اشکالی بزرگتر و کشیده بودند. سلول‌های گرزی شکل دارای اشکال بزرگ و حجمی که در

یک منطقه قرار گرفتند. لازم به یادآوری می‌باشد که بیشترین تعداد جوانه چشایی در پوست سطح خارجی لب مشاهده گردیده و هیچ گونه سلول گرزی شکل در این ناحیه قابل مشاهده نبود. همچنین از لحاظ مقایسه ساختاری پوست در ماهی شیر بت در جنس‌های مورد مطالعه تفاوتی مشاهده نگردید (جداوی، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵).

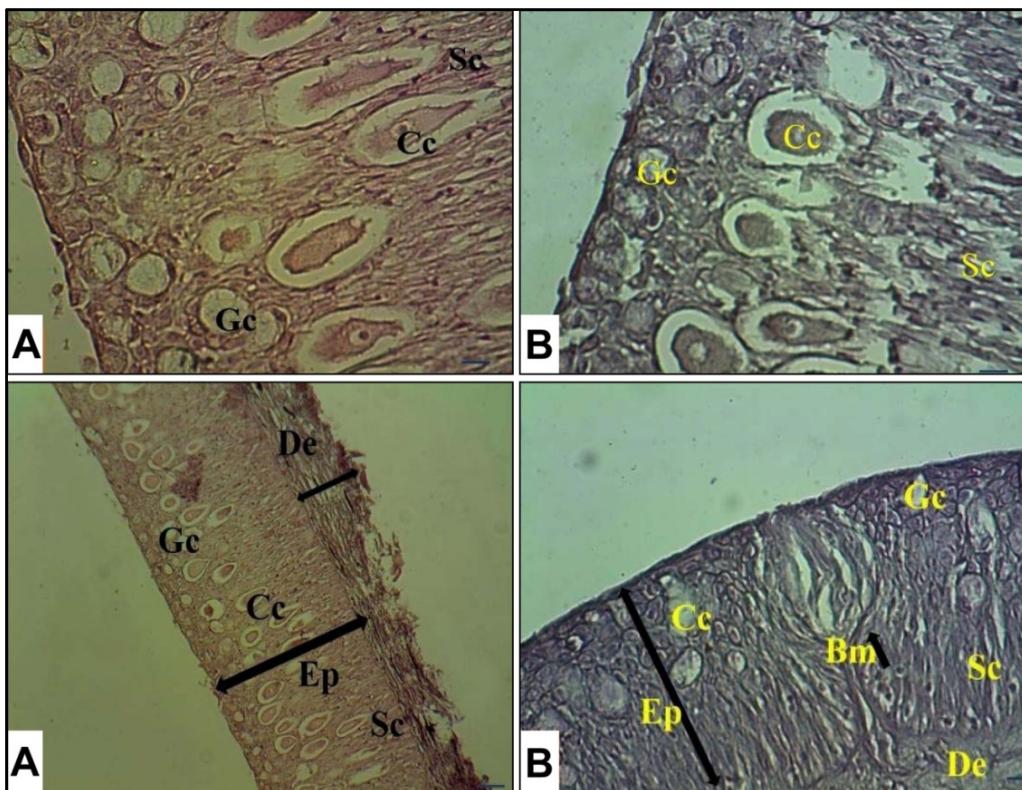
تعداد سلول‌های جامی با هم متفاوت بوده و به سه ناحیه تقسیم می‌شوند زیرا مقایسه بین آن‌ها نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p<0.05$). همچنین بر اساس نواحی و تعداد سلول‌ها، پوست نواحی مورد مطالعه دارای تقسیم بندی‌های متفاوت می‌باشد به طوری که پوست نواحی سبیلک و سر از لحاظ تعداد سلول‌های گرزی شکل در دو ناحیه و بر اساس تعداد جوانه‌های چشایی در



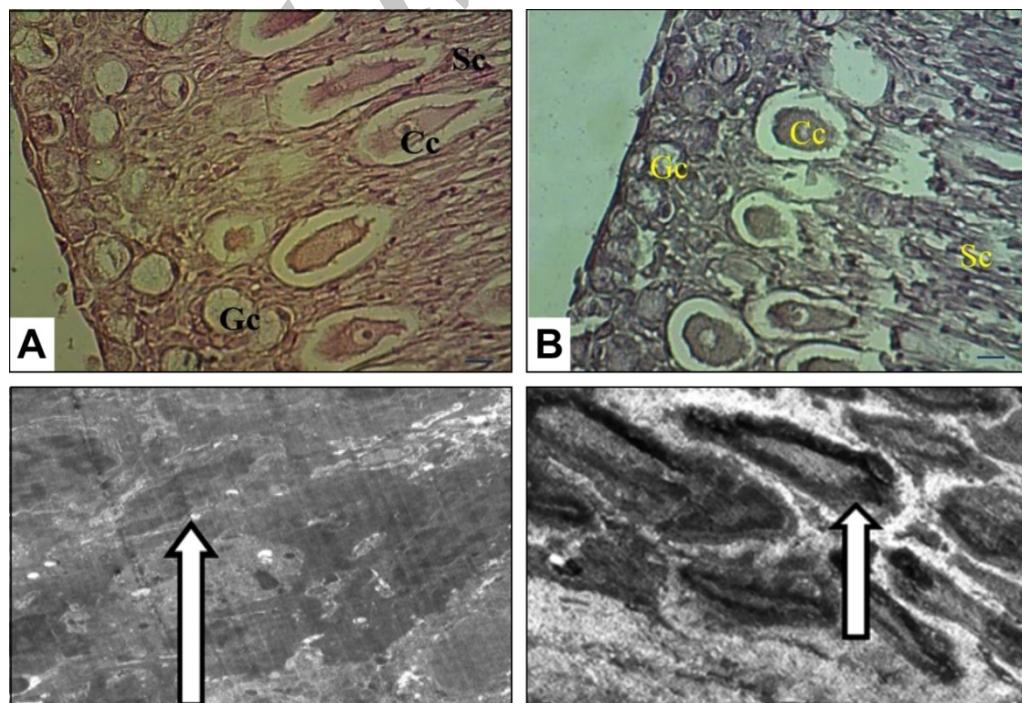
شکل ۱: ساختار بافتی لب خارجی در ناحیه اپی درم (A) و (B)، سلول‌های جامی شکل (Gc)، سلول‌های خاردار (Sc)، جوانه چشایی (پیکان قطور)، غشا پایه (Bm). در شکل B سلول‌های جامی شکل به رنگ آمیزی PAS به شدت واکنش مثبت نشان داده اند. A رنگ آمیزی همانتوکسیلین-ائزین، بزرگنمایی $\times 40$. B رنگ آمیزی PAS، بزرگنمایی $\times 40$.



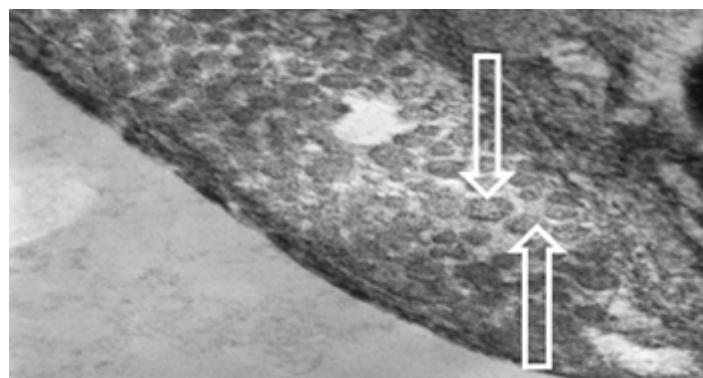
شکل ۲: ساختار بافتی سبیلک، ناحیه اپی درم (Ep)، درم (De)، سلول‌های جامی شکل (Gc)، سلول‌های گرزی شکل (Cc)، جوانه چشایی (پیکان)، غشا پایه (Bm). در شکل B سلول‌های جامی شکل به شدت واکنش مثبت نشان داده اما سلول‌های گرزی شکل به این رنگ آمیزی پاسخ نداده اند. A رنگ آمیزی همانتوکسیلین-ائزین، بزرگنمایی $\times 40$. B رنگ آمیزی PAS، بزرگنمایی $\times 40$.



شکل ۳: ساختار بافتی پوست سر، ناحیه اپی درم قطور (Ep)، درم (De)، سلول‌های جامی شکل (Gc)، سلول‌های خاردار (Sc)، شکل (Cc)، غشا پایه (Bm)، در شکل B سلول‌های جامی شکل به رنگ آمیزی PAS به شدت واکنش مثبت نشان داده اما سلول‌های گرزی شکل به این رنگ آمیزی پاسخ نداده اند. A: رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی $\times 40$. B: رنگ آمیزی PAS بزرگنمایی $\times 40$.



شکل ۴: میکروگراف میکروسکپ الکترونی از سلول‌های هشدار دهنده در سمت راست (بزرگنمایی $\times 9500$) و سلول‌های خاردار در سمت چپ (بزرگنمایی $\times 9500$) می‌باشد (نوک پیکان‌ها).



شکل ۱: میکروگراف میکروسکپ الکترونی از سلول‌های جامی شکل (بزرگنمایی $\times 37500$) که حاوی گرانول‌های متعدد مملو از موکوس می‌باشد (نوك پیکان‌ها).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای مورد مطالعه به روش هیستومتریک در ده میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی یکسان و در ۱۰۰ میکرومتر از طول اپی‌درم.

موقعیت	فاکتورها	تعداد سلول‌های شکل	تعداد سلول‌های جامی شکل	تعداد جوانه‌های چشایی	ضخامت اپی‌درم (میکرومتر)
پوست سر		$12/8 \pm 0/860$	$351/8 \pm 4/92$	$1/4 \pm 0/245$	$23 \pm 4/05$
سطح خارجی لب		-----	$147/6 \pm 1/956$	$2/2 \pm 0/374$	$13/8 \pm 0/663$
سبیلک		$2 \pm 0/477$	$117/8 \pm 1/744$	$1/2 \pm 0/200$	$3/2 \pm 0/866$

جدول ۲: تقسیم بندی پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیر بت بر اساس تعداد سلول‌های جامی شکل در ۱۰۰ میکرومتر از اپی‌درم حاصل از ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی مشابه (براساس پس آزمون توکی) که نشان می‌دهد این نواحی بر اساس تعداد سلول‌های جامی در سه ناحیه مجزا قرار گرفته‌اند.

گروه			موقعیت
۳	۲	۱	
-	-	$117/80$	سبیلک
$351/80$	-	-	پوست سر
-	$147/60$	-	سطح خارجی لب

جدول ۳: تقسیم بندی پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیر بت بر اساس تعداد سلول‌های گرزی شکل در ۱۰۰ میکرومتر از اپی‌درم حاصل از ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی مشابه (براساس پس آزمون توکی) که نشان می‌دهد این نواحی بر اساس تعداد سلول‌های گرزی در سه ناحیه مجزا قرار گرفته‌اند.

گروه		موقعیت
۲	۱	
-	$2/00$	سبیلک
$12/80$	-	پوست سر
-	$0/00$	سطح خارجی لب

جدول ۴: تقسیم بندی پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیر بت بر اساس تعداد جوانه های چشایی در ۱۰۰ میکرومتر از اپی درم حاصل از ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی یکسان (بر اساس پس آزمون توکی) که نشان می دهد نواحی سبیلک و سر در یک ناحیه و سطح خارجی لب بر اساس تعداد جوانه های چشایی در ناحیه مجرزا قرار گرفته اند.

گروه		موقعیت
۲	۱	
-	۱/۲۰	سبیلک
-	۱/۴۰	پوست سر
۳/۲۰	-	سطح خارجی لب

جدول ۵: تقسیم بندی پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیر بت بر اساس ضخامت اپی درم در ۱۰۰ میکرومتر از اپی درم حاصل از ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی یکسان (بر اساس پس آزمون توکی) که نشان می دهد این نواحی بر اساس ضخامت اپی درم در سه ناحیه مجرزا قرار گرفته اند.

گروه			موقعیت
۳	۲	۱	
-	-	۳/۱۰	سبیلک
۲۳/۰۰	-	-	پوست سر
-	۱۳/۸۰	-	سطح خارجی لب

متفاوت است. توزیع و محل قرار گیری جوانه های چشایی در ماهی Cinara rufa توسط garra rufa و همکاران (۱۴) مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که این جوانه ها در قسمت های مختلف بدن از جمله بر روی لبها قرار گرفته اند که با مطالعه اخیر بر روی گونه شیر بت هم خوانی دارد. یک تفاوت مهم از پوست ماهیان با پوست پستانداران این است که در ماهیان استخوانی، در لایه خارجی اپی درم سلول های مخروطی باقی میمانند و قابلیت تقسیم پذیری را حفظ می کنند و برای مراحل ترمیم به کار می روند. سلول هایی که در اپی درم یافت می شوند شامل: سلول های دارای رشتہ یا سلول های مالپیگی است که جز ترکیبات اصلی هستند؛ سلول های موکوسی که مسئول ترشح گلیکوپروتئین های اولیه (موکوس) بوده و تشکیل یک آستر محافظ لزجی را روی بدن ماهی می دهند. وظایفی را که می توان به این آستر نسبت داد شامل کاهش کشش یا اصطکاک، گریز از شکار، و جدا کردن سلول های اپی تلیال سطحی از باکتری ها است. Yonkos و همکارانش (۱۵) نشان دادند که ضخامت اپی درم در قسمت های مختلف بدن ماهی کپور قات متفاوت بوده و اپی درم سطح پشتی ناحیه سر بیشترین ضخامت و دارای ۱۰ تا ۱۵ لایه سلول می باشد که با مطالعه اخیر بر روی اپی درم

بحث

بررسی میکروسکوپی پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیر بت نشان می دهد که با وجود اختلاف در ساختار بافت شناسی آن ها از دو لایه اپی درم و درم تشکیل شده که بر روی بافت همبند سست به نام هیپودرم قرار گرفته است. این یافته توسط سایر محققین که بر روی گونه هایی همانند آزاد ماهیان، گربه ماهی روگاهی و سایر انواع گونه مطالعه شده است ذکر گردید. اپی درم یک اپی تلیوم سنگفرشی مطبق غیر شاخی است که ضخامت آن از ۳ تا ۵ سلول (منطقه خلفی شکمی) و بیشتر ۲۰ تا ۲۵ سلول (در منطقه سری پشتی) فرق می کند. اپی درم پوست مشتق از لایه اکتو درم جنبینی می باشد که سطح بدن مهره داران، از جمله ماهیان را پوشش می دهد. تفاوت پوست ماهی از پوست سایر مهره داران به طور برجسته در سطح آن می باشد، جایی که سلول های اپی درمی زنده در تماس با محیط آب و فاقد ترشح کوتیکول اما حاوی موکوس هستند (۱۲ و ۱۳). طبق نتایج این تحقیق در سطحی ترین لایه پوست ماهی شیر بت، سلول های سطحی اپی درم همراه با سلول های ترشح کننده موکوس وجود داشت، اما لایه حفاظتی کوتیکول در این ماهیان مشاهده نشد. پراکندگی و محل قرار گیری جوانه های حسی در ماهیان مختلف

گیری آنها در سطح بدن ماهی در گونه مورد نظر باشد. همچنین با توجه به یافته‌های سایر محققین در خصوص سلول‌های مورد نظر به کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره و روبشی در پوست گونه‌های دیگر و در نواحی مختلف حاکی از آن است که سلول‌های جامی به دلیل تولید موکوس فراوان بر روی سطح بدن ماهی در میکروگراف‌های تهیه شده عمدتاً مملو از گرانول‌های ترشحی فراوان که بیشتر در قسمت اپی‌درم از اپی‌تلیوم بافت پوست مشاهده گردید. در سلول‌های هشدار دهنده و خاردار که این سلول‌ها نمای هسته با هستک هایپر کروماتین که بیشتر حجم سلول را فرا گرفته و سلول‌های هشدار دهنده به دلیل نوع وظیفه‌ای که بر عهده دارند در قسمت نزدیک به سطح و در طبقه بالاتر اپی‌درم و سلول‌های خاردار در طبقه زیرین و با فاصله بیشتری نسبت به سطح اپی‌درم مشاهده شدند (۱۹ و ۲۰).

نتیجه گیری

براساس این مطالعه قابل ذکر است که از نظر بافت‌شناسی پوست ماهی شیر بت را از نظر تعداد سلول‌های جامی، تعداد جوانه‌های چشایی، تعداد سلول‌های گرزی شکل و ضخامت اپی‌درم در نقاط مورد مطالعه می‌توان به نواحی مختلف دسته بندهی کرد. همچنین پوست دراین گونه از نظر ساختار میکروسکوپ نوری و الکترونی نسبت به سایر گونه‌ها تفاوت‌ها و شباهت‌هایی داشته که قابل گزارش می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر خود را از به مرکز تکثیر و توسعه ماهیان گرمایی آب‌های داخلی استان خوزستان که نهایت همکاری خود را مبذول داشتند ابراز می‌دارند.

منابع

1. Dezfolian A, Shariatzadeh M. [Histology]. Aeeg Press.2008; 225-235. (Persian)
2. Harvay R, Bathy R.S. Cutaneous taste buds in cod. Journal of Fish Biology. 1998; 53(1): 138-149.
3. Kim J.M, Lien G.J. Toxic Response of the skin. In: Schlenk D, Benson W.H. (eds). Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts; 2001; 1: 151-224.
4. Park JY, Kim IK, Kim SY. Histological study on skin of the amphibious fish, *Periophthalmus modestus*. Korean Journal of Biological Sciences. 2000; 4:315-318.

پوست ناحیه سر در ماهی شیر بت همخوانی دارد. اینموگلوبولین‌ها نیز در موکوس حضور دارند و یک سطح محافظ اضافی علیه عفونت‌ها را ایجاد می‌کنند. به علاوه، پوست شامل لوکوسیت‌ها و ماکروفازهای سرگردان نیز هست. راسته‌ی کپور ماهی شکلان، راسته‌ی اسبله ماهی شکلان سلول‌های اپی‌درمی شکلان، راسته‌ی خامه ماهی شکلان سلول‌های اپی‌درمی اوزینوفیلیکی (اسیدوفیلیک) بزرگی دارند که مواد ترساننده را در هنگام محاصره آزاد می‌کنند. انواع دیگر سلول‌ها نیز ممکن است وجود داشته باشند مانند: سلول‌های حسی، سلول‌های غده‌ای و همچنین سلول‌های پیچیده دانه دار، به همراه نقش متنوع دیگری، که درک آنها همیشه میسر نیست. در خانواده‌ی مور میریده اپی‌درم گیرنده الکتریکی شامل سه لایه است: سلول‌های چند وجهی سطحی، سلول‌های پهن لایه میانی و لایه چند وجهی قاعده‌ای (۱۶). لاروهای تعدادی از خانواده تفریخ ماهیان روی سرشاران یک جفت غده دارند که از سلول‌های منشوری موکوسی ساخته شده است. موکوس، PAS مثبت در حفره غده ترشح می‌شود و بدن ماهی را در تماس با آب سفت می‌کند، بنابراین به لارو جوان اجازه می‌دهد برای چند روز به بستر بچسبد. درم شامل دو لایه است: لایه اسفنجی و لایه فشرده. قسمت ضخیم لایه اسفنجی در قاعده اپیدرم قرار گرفته و در قسمت‌های مختلف بدن تقواوت دارد و شامل رشته‌های رتیکولین و کلازن، اعصاب، مویرگ‌ها، سلول‌های رنگی و فیربولاستها است. لایه متراکم نسبت به لایه لاکسوم یا اسفنجی بیشتر رشد کرده و به وسیله دسته‌های فشرده شده‌ی متراکمی از رشته‌های کلازن به صورت موازی تا سطح پوست کشیده می‌شوند (۱۷). گاهی اوقات فقط لایه متراکم وجود دارد. در زیر لایه درم یک بافت چربی شل تری وجود دارد که معمولاً نسبت به لایه بالایی درم عروقی تر است و هیپو درم نامیده می‌شود. هیپو درم یک مکان همیشگی برای ترمیم در هنگام التهاب است. اما، در بسیاری از مناطق پوست، هیپو درم قابل تشخیص نیست و بعضی از مولفین اشاره دارند که این لایه در ماهیان وجود ندارد و این لایه یک قسمت از همان عمق درم است (۱۸). در مطالعات هیستومتریک پوست نواحی مورد مطالعه در ماهی شیربت نیز تعداد سلول‌های جامی شکل، گرزی شکل، هشدار دهنده و جوانه‌های چشایی با هم متفاوت بوده و با توجه به مطالعات انجام گرفته در سایر گونه‌ها که وظایف متعدد و گوناگونی برای آنها ذکر شده است می‌تواند دلیل توجیهی برای عملکرد هر دسته سلول با توجه به جایگاه قرار

5. Sivakumar P. The composition and characteristics of skin and muscle collagens from a freshwater catfish grown in biologically treated tannery effluent water, *Journal of Fish Biology*. 2000; 56(4): 999-1012.
6. Stoskopf MK. *Fish Medicine* W. B. Saunders Co, Philadelphia PA. 1993; 220-229.
7. Takashi, F, Hibiya, T. An Atlas of Fish Histology normal and pathological features. 2th Ed. collage of agriculture and veterinary medicine, Nihon University, Tokyo; 1994; PP: 8-1.
8. Lane EB, Whitear M. Sensory structures at the surface of fish skin. *Lateralis System, Zoological Journal of the Linnean Society*. 2008; 76(1): 19 – 28.
9. Le Guellec D, Morvan G, Sire JY. Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*), *International Journal of Developmental Biology*. 2004; 48: 217 – 231.
10. Pfeiffer CJ, Osman AH, Pfeiffer DC. Ultrastructural Analysis of the Integument of a Desert-Adapted Mammal, the One-Humped Camel (*Camelus dromedarius*) *Anat. Histol. Embryol.* 2006; 35(2): 97–103.
11. Yata M, Fujitsawa S, Yoshinica R. Identification and characterization of molecular species of collagen in fish skin. *J. Food Sci.* 2001; 66: 247-251.
12. Zaccone G, Mauceri A, Ainis L. Structure, histochemical and functional aspects of the epidermis of fishes, *Advances in Marine Biology*. 2001; 40: 253-348.
13. Zuchelkowski EM, Pinkstaff CA, Hinton DE. General histology and cytology mucusubstance histochemistry in control and acid-stressed epidermis of brown bullhead catfish, (*Ictalurus nebulosus*), *The Anatomical Record*. 2005; 212(4): 327-335.
14. Cinar K, Senol N, Kuru N. The distribution of taste buds in garra rufa, *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*. 2007; 37(1): 63-66.
15. Yonkos LT, Fisher DJ, Reimschuessel R, Kane AS. *Atlas of fathead minnow normal histology*. An publication of the University of Maryland Aquatic Pathobiology Center. 2000; 33(6): 78-86.
16. Bancroft, J.K, Gamble, M. Theory and Practice of histological Techniques. 5th Ed. Churchill Living Stone, London; 2002; 152-155.
17. Ghattas SM, Yani T. Light microscope study of the skin of European eel (*Anguilla anguilla*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2010; 2(3): 152-161.
18. Kim CH, Park MK, Kang EJ. Minute tubercles on the skin surface of larvae in the korean endemic bitterling, *Rhodeus Pseudosericeus*. *J. Appl. Ichthyol.* 2008; 24: 269-275.
19. Sire JY, Huysseun A. Formation of skeletal and dental tissues in fish: A comparative and evolutionary approach. *Biol. Rev.* 2003; 78: 219-249.
20. Sire JY, Akimenko MA. Scale development in fish: a review with description of sonic hedgehog (shh) expression in the zebrafish (*Danio rerio*). *Int. J. Dev. Biol.* 2004; 48: 233-247.

Histomorphology and Histometric Study of the Head's Skin in (*Barbus grypus*)

Basir Z, Student Ph.D.¹, Morovvati H, Ph.D.^{1*}, Khaksari M, Ph.D.¹, Mesbah M, Ph.D.¹,
Abdi R, Ph.D.²

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

* Email corresponding author: hmorovvati@scu.ac.ir

Received: 2 Jan. 2012

Accepted: 10 Apr. 2012

Abstract

Aim: As there was no studies available regarding the morphological structure of skin of (*Barbus grypus*) therefore this research work was performed to help the other studies such as histopathology of the fish.

Material and Methods: Skin of the different part of the head of 20 *Barbus grypus* with 5mm thickness were removed and fixed in bouin solution. The routine procedures for preparation of tissues were followed. For transmission electron microscopic study, the samples after primary and post-fixation were dehydrated and embedded in resin. Then, thin sections 50 µm were prepared and stained with uranyl acetate.

Results: according to histomorphological examination, skin of head, lip and barbel was made of epidermis and dermis which were located on a loose connective tissue called hypoderm. In histometric study, skin of studied area, was divided into different regions in (*Barbus grypus*) based on cells distribution. In the micrograph of TEM, goblet cells containing many mucus granule, spinous and club cells with hyper chromatin nucleus were observed, which presence of hyper chromatin nucleus was more obvious in the club cells.

Conclusion: The light and TEM studies on the skin in studied region of (*Barbus grypus*), showed there was differences and some similarity with the other reported species.

Keywords: *Barbus grypus*, Histomorphology, Histometric, Skin