

مطالعه‌ی هیستولوژی و هیستومتری آبشش ماهی شیربت

حسن مروتی^{۱*}، محمود خاکساری‌مه‌بادی^۲ و آمینه عارفی^۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۵

چکیده

در این مطالعه تعداد ۱۰ قطعه ماهی شیربت تازه و سالم تهیه و از بخش‌های بالایی، میانی و پایینی کمان آبششی آن‌ها نمونه‌برداری شد؛ سپس به روش متداول تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) و اسید پریودیک شیف (PAS) قرار گرفتند. نتایج نشان داد آبشش ماهی شیربت از ۴ جفت کمان آبششی تشکیل شده است. هر کمان آبششی از دو ردیف لاملاهای اولیه (هولوبرانش) که لاملاهای ثانویه از آن‌ها منشعب شده‌اند، تشکیل شده است و در طرف مقابل خارهای آبششی وجود دارد. لاملاهای اولیه توسط بافت پوششی سنگفرشی مطبق پوشیده شده‌اند. در بافت پوششی لاملاهای اولیه سلول‌های تمایز نیافته، سلول‌های پوششی کناری مکعبی و سنگفرشی، لایه‌ی سلول‌های کلراید و موکوسی وجود دارد. لاملاهای ثانویه دارای یک مرکز عروقی حاوی سلول‌های ستونی هستند و بافت پوششی آن‌ها از یک تا دو لایه سلولی شامل سلول‌های تمایز نیافته و سلول‌های پوششی کناری تشکیل شده است. خار آبششی دارای بافت پوششی مطبق است که حاوی سلول‌های موکوسی زیادی می‌باشد و توسط استخوان حمایت می‌شود. نتایج هیستومتریک نشان داد که ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه آبشش راست و چپ با ضخامت بافت پوششی لاملاهای ثانویه آبشش چپ و راست دارای تفاوت معنی‌دار است ($p \leq 0.05$). ضخامت بافت پوششی بخش بالایی لاملاهای اولیه آبشش سمت راست با ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه آبشش سمت راست تفاوت معنی‌دار دارد. ضخامت بافت پوششی بخش میانی لاملاهای اولیه آبشش سمت راست با تمام بخش‌های بافت پوششی سمت راست و چپ لاملاهای اولیه تفاوت معنی‌دار دارد. ضخامت بافت پوششی لاملاهای ثانویه با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند. ساختمان بافتی آبشش ماهی شیربت مشابه سایر ماهیان استخوانی است و تفاوتی با سایر ماهیان هم خانواده‌ی خود ندارد.

کلمات کلیدی: ماهی شیربت، آبشش، هیستولوژی، هیستومتری

مقدمه

آبشش ارگان چند عملکردی در ماهی‌ها است و یکی از مهم‌ترین ارگان‌ها به شمار می‌رود که دارای عملکرد اختصاصی تبادل گاز تنفسی و فرایندهای مهم فیزیولوژی مثل تنظیم اسمزی و یونی، تعادل اسید-باز و ترشح نیتروژن دفعی خون می‌باشد (Saadatfar et al. 2008, Shabsavani et al. 2001, Sturla et al. 2001). به دلیل تماس مداوم آبشش‌ها با آب و سطح وسیع آبشش‌ها، این اندام‌ها اغلب در معرض آسیب‌های ناشی از آلاینده‌ها و مواد شیمیایی محلول در آب هستند (Fernandes and Perna-Martins 2001, Cinar et al. 2009, Wilson et al. 2002). ماهی شیربت (*Barbus grypus*) متعلق به خانواده‌ی کپور ماهیان و جنس باربوس می‌باشد. تغییرات در بافت پوششی آبشش جهت آگاهی از روند بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عفونی، انگلی و محیطی برای متخصصین آبزیان مهم بوده (Saadatfar et al. 2008) و برای مطالعات فیزیولوژی، آسیب‌شناسی و تشخیص بیماری‌ها نیاز به آگاهی از ساختار طبیعی اندام‌ها می‌باشد. ساختار آناتومیکی و بافت‌شناسی آبشش ماهی استخوانی نظیر ماهی قزل‌آلا (Stoskopf 1993)، ماهی پسودوفوکسینوس آنتالیا (Cinar et al. 2009)، ماهی

آبشش ارگان چند عملکردی در ماهی‌ها است و یکی از مهم‌ترین ارگان‌ها به شمار می‌رود که دارای عملکرد اختصاصی تبادل گاز تنفسی و فرایندهای مهم فیزیولوژی مثل تنظیم اسمزی و یونی، تعادل اسید-باز و ترشح نیتروژن دفعی خون می‌باشد (Saadatfar et al. 2008, Shabsavani et al. 2001, Sturla et al. 2001). به دلیل تماس مداوم آبشش‌ها با آب و سطح وسیع آبشش‌ها، این اندام‌ها اغلب در معرض آسیب‌های ناشی از آلاینده‌ها و مواد شیمیایی محلول در آب هستند (Fernandes and Perna-Martins 2001, Cinar et al. 2009, Wilson et al. 2002). ماهی شیربت (*Barbus grypus*) متعلق به خانواده‌ی کپور ماهیان و جنس باربوس می‌باشد. تغییرات در بافت پوششی آبشش جهت آگاهی از روند بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عفونی، انگلی و محیطی برای متخصصین آبزیان مهم بوده (Saadatfar et al. 2008) و برای مطالعات فیزیولوژی، آسیب‌شناسی و تشخیص بیماری‌ها نیاز به آگاهی از ساختار طبیعی اندام‌ها می‌باشد. ساختار آناتومیکی و بافت‌شناسی آبشش ماهی استخوانی نظیر ماهی قزل‌آلا (Stoskopf 1993)، ماهی پسودوفوکسینوس آنتالیا (Cinar et al. 2009)، ماهی

* (نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir

^۱ استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران^۲ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز^۳ دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد بافت‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

بزرگنمایی $\times 40$ صورت گرفت و داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه‌ی بخش‌های بالایی، میانی و پایینی، لاملاهای ثانویه بخش‌های بالایی، میانی و پایینی و آبشش سمت راست و چپ با ($p \leq 0.05$) معنی دار تلقی گردید.

نتایج

یافته‌های آناتومی

آبشش‌های ماهی شیربت از ۴ جفت کمان آبششی تشکیل شده که در جوانب سر در داخل محفظه‌ی آبششی قرار می‌گیرند. محفظه‌ی آبششی در هر سمت توسط سرپوش آبششی پوشیده شده است. آبشش‌ها در ظاهر سالم و دارای رنگ قرمز روشن بودند. در هر محفظه ۴ کمان آبششی قرار گرفته بود و از کف به سقف محفظه‌ی آبششی متصل بودند. در سمت جانبی پشتی هر کمان آبششی دارای دو ردیف از رشته‌های آبششی (لاملاهای اولیه) و در سمت جلویی داخلی خارهای آبششی قرار گرفته بودند.

یافته‌های بافت‌شناسی

کمان آبششی: محور کمان آبششی توسط بافت استخوانی، عضله‌ی مخطط، بافت همبند و چربی‌ها به صورت پراکنده حمایت می‌شود. در سمت جانبی پشتی، لاملاهای اولیه از آن جدا شده و بافت پوششی مطبق را قطع می‌کنند. در بافت پوششی سمت جانبی پشتی کمان آبششی در بخش قاعده‌ای سلول‌های تمایز نیافته و در سطح سلول‌های پوششی کناری قابل مشاهده بودند و در رنگ‌آمیزی با پرئودیک اسید شیفت، سلول‌های موکوسی هم در این بخش تشخیص داده شد (تصویر ۱).

خارهای آبششی: همان‌گونه که در بالا اشاره شد، از سمت جلویی داخلی کمان آبششی خارهای آبششی جدا می‌شوند. خارهای آبششی در دید میکروسکوپی دارای

کولر هینکوسکولر هینکوس (Calabro et al. 2005)، ماهی لپیدوسفالیکتوس گانتا (Singh 1966)، ماهی پروتوپتروس آنکتس (Sturla et al. 2001)، ماهی تلاژی و موژیل آوراتا (Saadatfar and Shahsavani 2008 and 2009) گزارش شده است، لذا از آن جایی که ماهی شیربت یکی از ماهیان بومی استان خوزستان بوده و ارزش اقتصادی و غذایی قابل توجهی دارد و با توجه به این که تکثیر و پرورش آن در منطقه در حال توسعه است با این حال تاکنون مطالعه‌ی جامعی در رابطه با ساختمان طبیعی آبشش ماهی شیربت گزارش نشده است، مطالعه‌ی حاضر با هدف تولید اطلاعات پایه‌ی بافت‌شناسی انجام شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تعداد ۱۰ قطعه ماهی شیربت سالم از مرکز تکثیر و پرورش ماهی سوسنگرد صید شد و بلافاصله جهت نمونه‌برداری به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. سپس، ماهیان به روش ضربه بیهوش و پس از اندازه‌گیری طول و وزن بدن سرپوش‌های آبششی جدا شد و بعد از مطالعه‌ی آبشش‌ها و مشخص کردن تعداد کمان‌های آبششی در هر سمت، از بخش‌های بالایی، میانی و پایینی کمان آبششی قطعاتی به ضخامت ۵ میلی‌متر تهیه و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در محلول ثبوتی بوئن قرار داده شدند. بعد از آن، نمونه‌های آبشش به مدت ۳ ساعت در الکل اتیلیک ۵۰ درجه قرار داده شد و طی مراحل معمول بافت‌شناسی از آن‌ها برش‌های به ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین (H&E) و رنگ‌آمیزی اختصاصی پرئودیک اسید شیفت (PAS) قرار گرفتند. مقاطع، به کمک میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. در مطالعه‌ی هیستومتری ضخامت بافت پوششی بخش‌های بالایی، میانی و پایینی لاملاهای اولیه و ثانویه اندازه‌گیری و مقایسه شدند. در این مرحله از عدسی چشمی مدرج و اسلاید تنظیم شده (کالیبره) و میکروسکوپ نوری المپوس استفاده شد. اندازه‌گیری در

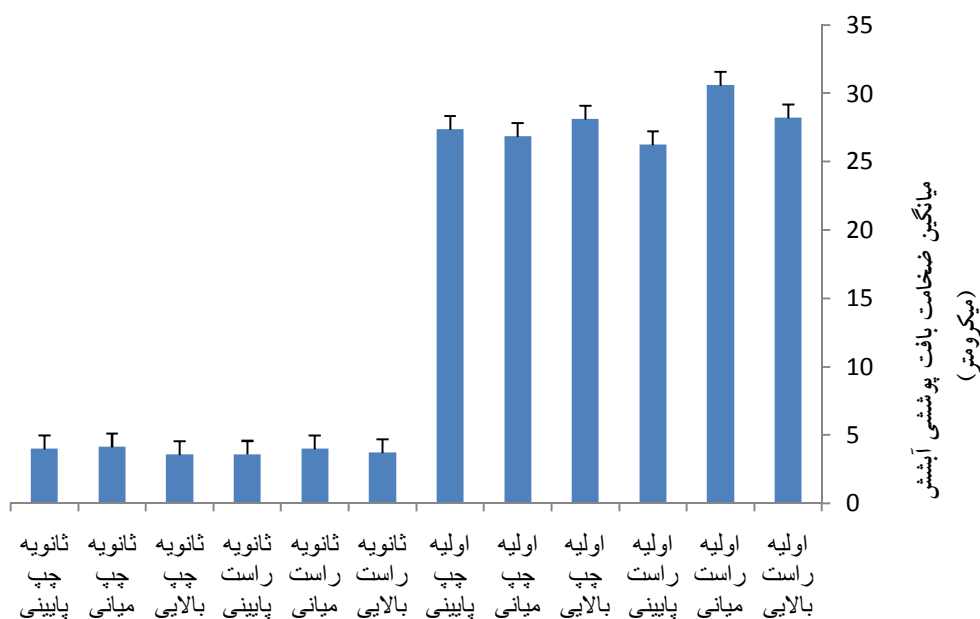
و ۵). سلول‌های موکوسی در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین به خوبی قابل مشاهده نبودند و جهت تشخیص آن‌ها از رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیفت استفاده شد و به رنگ قرمز ارغوانی در آمدند (تصاویر ۷، ۸، ۹ و ۱۰).

لاملاهای ثانویه: یافته‌ها نشان داد لاملاهای ثانویه از لاملاهای اولیه منشاء می‌گیرند. دارای یک مرکز عروقی هستند و توسط بافت پوششی ظریفی پوشیده شده‌اند. در بخش مرکزی با فواصل منظمی می‌توان سلول‌های قرقره‌ای شکل را دید که به آن‌ها سلول‌های پیلاز می‌گویند. این سلول‌ها در طرفین پهن و در مرکز باریک دیده می‌شوند. در بین سلول‌های پیلاز، گلبول‌های قرمز هسته‌دار مشاهده شد. بافت پوششی تقریباً در تمام قسمت‌ها توسط سلول‌های پوششی کناری سنگفرشی پوشیده شده است. سلول‌های موکوسی را به ندرت می‌توان روی تیغه‌ها مشاهده کرد (تصویر ۱۰). سلول‌های کلراید فقط در بخش قاعده‌ای لاملاهای ثانویه مشاهده می‌شوند (تصاویر ۲، ۳ و ۵). آبشش‌ها در سمت راست و چپ و بخش‌های بالایی، میانی و پایینی باهم مقایسه شدند و از لحاظ ساختار بافت‌شناسی تفاوتی باهم نداشتند.

نتایج هیستومتری: ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه آبشش راست و چپ با ضخامت بافت پوششی لاملاهای ثانویه آبشش چپ و راست دارای تفاوت معنی‌دار بودند ($p \leq 0.05$). ضخامت بافت پوششی بخش بالایی لاملاهای اولیه آبشش سمت راست با ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه آبشش پایینی و میانی آبشش سمت راست دارای تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) هستند. ضخامت بافت پوششی بخش میانی لاملاهای اولیه آبشش سمت راست با تمام بخش‌های بافت پوششی سمت راست و چپ لاملاهای اولیه تفاوت معنی‌دار ($p \leq 0.05$) دارند. ضخامت بافت پوششی لاملاهای ثانویه باهم تفاوت معنی‌دار نداشتند (جدول ۱ و نمودار ۱).

اندازه‌ی کوتاه و شکل آن‌ها مشابه خار گل رز بودند. خارها در قسمت مرکزی توسط استخوان حمایت می‌شوند و سطح خارجی آن‌ها توسط مخاط تنفسی پوشیده شده است. بافت پوششی خارها ضخیم و دارای سلول‌های تمایز نیافته در بخش قاعده‌ای و در سطح دارای سلول‌های پوششی کناری می‌باشد. در بین سلول‌های پوششی، سلول‌های ترش‌حی مشاهده شد، هسته‌ی این سلول‌ها در قسمت قاعده سلول و مابقی سیتوپلاسم روشن بود. در رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیفت، سلول‌های مذکور به رنگ قرمز ارغوانی درآمدند. تراکم سلول‌های موکوسی در مخاط خار آبششی بسیار فراوان بود (تصویر ۱۱).

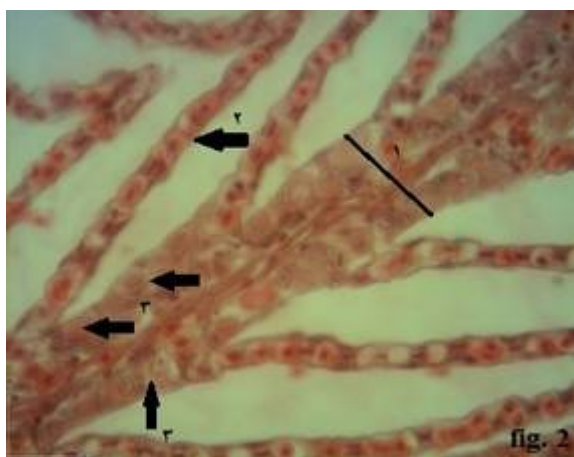
لاملاهای اولیه: مشاهدات نشان داد لاملاهای اولیه از کمان آبششی جدا می‌شوند. در قسمتی از کمان آبششی که لاملاهای اولیه منشاء می‌گیرد، ورود غضروف و شریانچه را به بخش مرکزی لاملاهای اولیه می‌توان مشاهده کرد (تصویر ۱). بافت پوشاننده‌ی لاملاهای اولیه مطبق می‌باشد. از لاملاهای اولیه تیغه‌های آبششی (لاملاهای ثانویه) با فواصل منظمی جدا می‌شوند. جدا شدن لاملاهای ثانویه باعث منقطع شدن بافت پوششی لاملاهای اولیه می‌شود. سلول‌های تشکیل دهنده‌ی بافت پوششی لاملاهای اولیه شامل سلول‌های تمایز نیافته، سلول‌های پوششی کناری، سلول‌های کلراید و سلول‌های موکوسی می‌باشد. سلول‌های تمایز نیافته در بخش قاعده‌ای بافت پوششی قرار دارد و دارای هسته‌ی هتروکروماتین، کوچک و سیتوپلاسم کم می‌باشد (تصویر ۲، ۳، ۴ و ۵). در سطح بافت پوششی سلول‌های پوششی کناری قرار دارند که به دو شکل سنگفرشی و مکعبی دیده می‌شوند. سلول‌های کلراید و موکوسی در بین سلول‌های پوششی کناری پراکنده هستند. سلول‌های کلراید دارای سیتوپلاسم فراوان و اسیدوفیل می‌باشند، هسته‌ی یوکروماتین، درشت و به سطح سلول متمایل است. این سلول‌ها توسط سلول‌های پوششی کناری از جوانب محدود شده و تنها توسط یک منفذ کوچک با بیرون در ارتباطند (تصویر ۲، ۴).



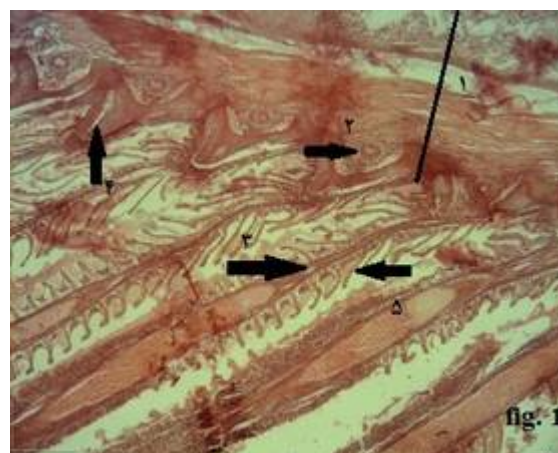
نمودار ۱: میانگین ضخامت بافت پوششی (میکرومتر) لاملاهای اولیه و ثانویه سمت چپ و راست آبشش ماهی شیربت

جدول ۱: میانگین ضخامت بافت پوششی (میکرومتر) لاملاهای اولیه و ثانویه سمت چپ و راست آبشش ماهی شیربت

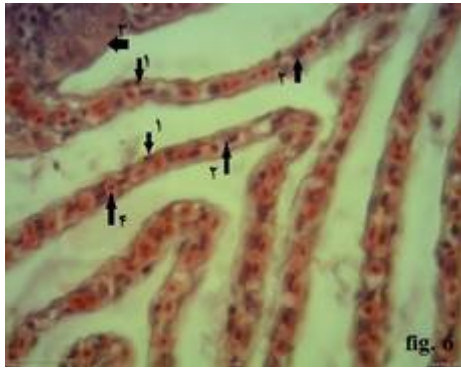
پایینی	میانی	بالایی	
$26/26 \pm 0/70$	$30/61 \pm 1/29$	$28/20 \pm 0/90$	لاملاهای اولیه سمت راست
$27/35 \pm 0/75$	$26/84 \pm 1/53$	$28/12 \pm 0/88$	لاملاهای اولیه سمت چپ
$3/60 \pm 0/12$	$4 \pm 0/11$	$3/72 \pm 0/26$	لاملاهای ثانویه سمت راست
$4/02 \pm 0/15$	$4/14 \pm 0/25$	$3/56 \pm 0/12$	لاملاهای ثانویه سمت چپ



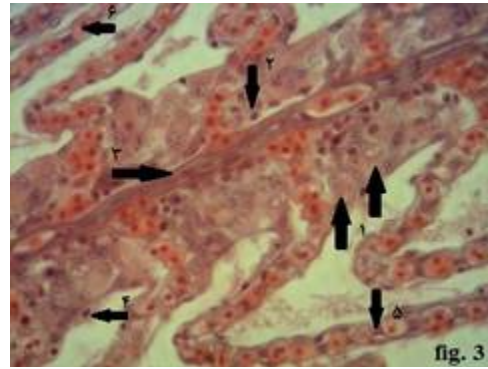
تصویر ۲: ساختار بافتی بخش بالایی آبشش ماهی شیربت، (H&E، $\times 40$)، در این تصویر لاملاهای اولیه (۱)، لاملاهای ثانویه (۲) و سلولهای کلراید (۳) قابل مشاهده است.



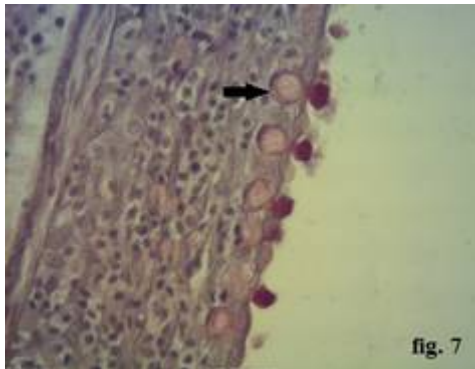
تصویر ۱: ساختار بافتی بخش بالایی آبشش ماهی شیربت، (H&E، $\times 40$)، در این تصویر لاملاهای اولیه (۱)، لاملاهای ثانویه (۲)، شریانچه لاملاهای اولیه (۳)، غضروف حمایت کننده لاملاهای اولیه (۴) و عضلات موجود در قوس آبششی (۵) قابل مشاهده است.



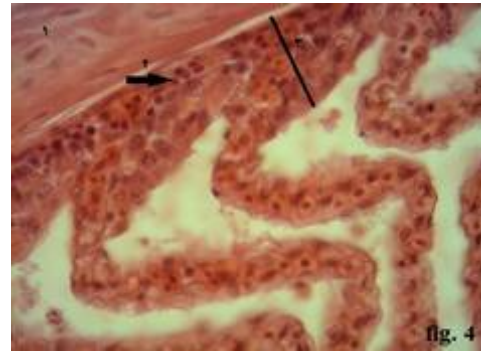
تصویر ۶: ساختار بافتی بخش میانی آبشش ماهی شیربت، در این تصویر سلول‌های پوششی کناری سنگفرشی (۱)، سلول‌های ستونی (۲)، سلول کلراید (۳) و حجره‌های عروقی حدفاصل سلول‌های ستونی (۴) قابل مشاهده است.



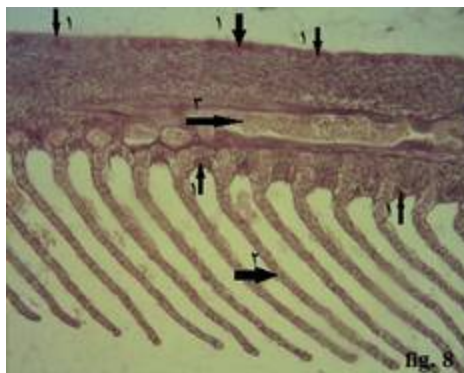
تصویر ۳: ساختار بافتی بخش میانی آبشش ماهی شیربت، در این تصویر بافت پوششی لاملای ثانویه (۱)، انشعاب رگ خونی لاملای اولیه به لاملای ثانویه (۲)، سلول کلراید (۳) و بافت پوششی لاملای اولیه (۴) قابل مشاهده است.



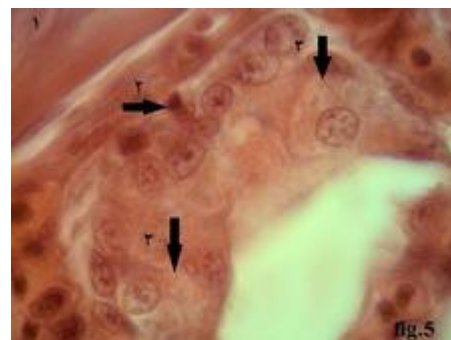
تصویر ۷: ساختار بافتی بخش بالای آبشش ماهی شیربت، در این تصویر سلول‌های موکوسی (پیکان) قابل مشاهده هستند.



تصویر ۴: ساختار بافتی بخش پایینی آبشش ماهی شیربت، در این تصویر غضروف حمایت کننده لاملای اولیه (۱)، سلول‌های تمایز نیافته (۲) و بافت پوششی لاملای اولیه (۳) قابل مشاهده است.



تصویر ۸: ساختار بافتی بخش میانی آبشش ماهی شیربت، در این تصویر سلول‌های موکوسی (۱)، لاملای ثانویه (۲) و مرکز عروقی لاملای اولیه (۳) قابل مشاهده است.

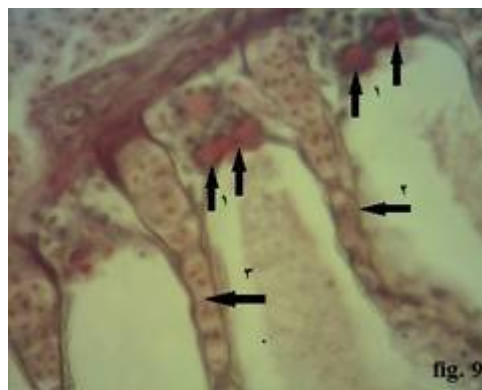


تصویر ۵: ساختار بافتی بخش پایینی آبشش ماهی شیربت، در این تصویر غضروف حمایت کننده لاملای اولیه (۱)، سلول‌های تمایز نیافته (۲) و سلول‌های کلراید (۳) قابل مشاهده است.

بحث

بررسی میکروسکوپی در ماهی شیربت نشان داد که آبشش از ۴ زوج کمان استخوانی در جوانب سر در داخل محفظه‌ی آبششی تشکیل شده است. آبشش‌ها توسط یک سرپوش آبششی پوشیده می‌شوند. هر کمان آبششی در بخش خلفی از دو ردیف رشته‌های آبششی (لاملاهای اولیه) تشکیل شده است و در بخش قدامی حاوی خارهای آبششی است. از رشته‌های آبششی تعداد زیادی تیغه‌های آبششی (لاملاهای ثانویه) به صورت دو طرفه جدا می‌شود که مشابه سایر ماهی‌های استخوانی نظیر ماهی قزل آلا (Stoskopf 1993)، ماهی لپیدوسفالیکتوس گانتا (Singh 1966)، پیاراکتوس مسوپوتامیکوس (Severi et al. 2000)، ماهی کولرهینکوس کولرهینکوس (Calabro et al. 2005) و ماهی پسودوفوکسینوس آنتالیا (Cinar et al. 2009) می‌باشد. ماهی پروتوپتروس آنکتس از خانواده‌ی ماهی‌های شش‌دار دارای ۳ کمان برانشیال میله‌ای شکل کوتاه هستند که آبشش را نگه می‌دارند. هر کمان برانشیال تعداد کمی لاملاهای اولیه (یا رشته‌های آبششی) را نگه می‌دارد، که لاملاهای ثانویه به صورت لب مانند از آن منشاء می‌گیرند (Sturla et al. 2001) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارد.

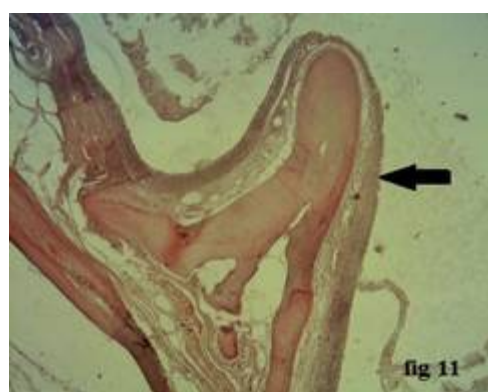
در برش عرضی از آبشش ماهی لپیدوسفالیکتوس گانتا می‌توان دو ناحیه را تشخیص داد، ناحیه‌ی داخلی، که سر آبشش (بخش پشتی حاوی خارهای آبششی) و ناحیه‌ی خارجی تیغه‌ی بین برانشی است که دو ردیف رشته‌های آبششی (همی برانش) را به هم اتصال می‌دهد. سر آبشش توسط اپی‌تلیوم ضخیم پوشش داده شده است، که این پوشش عملکرد ترش‌حی بالایی دارد که مربوط به حضور سلول‌های موکوسی است. خارهای آبششی به صورت ۲ ردیف روی کمان آبششی قرار می‌گیرند هر خار آبششی یک ساختار کوتاه دارد و توسط ساختمان استخوانی حمایت می‌شود و اپی‌تلیوم پوشاننده‌ی آن شامل تعداد زیادی غدد موکوسی است (Singh 1966). تشابه بسیار زیادی بین ماهی شیربت و ماهی لپیدوسفالیکتوس گانتا



تصویر ۹: ساختار بافتی پوششی بخش پایینی آبشش ماهی شیربت، (PAS، ×۴۰)، در این تصویر سلول‌های موکوسی (۱) لاملاهای ثانویه، (۲) و مرکز عروقی لاملاهای اولیه (۳) قابل مشاهده است.



تصویر ۱۰: ساختار بافتی بخش میانی آبشش ماهی شیربت، (PAS، ×۴۰)، در این تصویر سلول‌های موکوسی در لاملاهای ثانویه (۱) قابل مشاهده است.



تصویر ۱۱: ساختار بافتی بخش میانی آبشش ماهی شیربت، (H&E، ×۴)، در این تصویر خار آبششی (پیکان) قابل مشاهده است.

آبششی می‌باشند. این سلول‌ها در ماهی شیربت در رشته-ها بیش‌تر شکل مکعبی تا سنگفرشی را به خود گرفته‌اند. این سلول‌ها دارای سیتوپلاسم ائوزینوفیلی روشن و هسته‌ی یوکروماتین و گرد تا سنگفرشی بسته به شکل سلول می‌باشند. این سلول‌ها، سلول‌های کلراید را از دو طرف احاطه می‌کنند (Cinar et al. 2009, Fernandes and Perna-Martins 2001, Wilson and Laurent 2002). سلول‌های کلراید در ماهیان کولرهینکوسکولرهینکوس، هیپوستوموس پلکوستوموس، پسودوفوکسینوس آنتالیا، موژیل آوراتا و تلاژی تنها در لایه‌ی سطحی بافت پوششی بین لاملاها به فراوانی قابل مشاهده بودند (Calebro et al. 2005, Cinar et al. 2009, Fernandes and Perna-Martin 2001, Saadatfar and Shahsavani 2008, 2009). این سلول‌ها در ماهی تلاژی گرد و دارای سیتوپلاسم ائوزینوفیلی، فراوان و هسته گرد، درشت، یوکروماتین و متمایل به رأس سلول می‌باشند، سطح رأسی سلول توسط سلول‌های پوششی کناری محدود و تنها توسط یک حفره‌ی کوچک با محیط آبی در ارتباطند (Saadatfar and Shahsavani 2008, Wilson and Laurent 2002). هسته در مطالعه انجام شده بر سه گونه ماهی فوندلوس در قسمت قاعده‌ای سلول قرار داشتند (Philpott and Copeland 1963) که مغایر با نتیجه‌ی حاصل از پژوهش حاضر می‌باشد.

ماهی‌های دریا نسبت به ماهیان آب شیرین تمایل دارند که سلول‌های موکوسی را کاهش دهند. سلول‌های موکوسی در همه‌ی ماهیان غیر از هاگ فیش‌ها وجود دارد (Wilson and Laurent 2002). که در این مطالعه در ماهی شیربت که ماهی آب شیرین است این سلول‌ها به تعداد زیاد مشاهده شدند و با نتایج فوق هم‌خوانی دارد. سلول‌های موکوسی دارای سیتوپلاسم کف آلود و هسته‌ی قاعده‌ای و در رنگ‌آمیزی پرئودیک اسید شیف به رنگ قرمز ارغوانی در می‌آید (Calabro et al. 2005).

در ماهی شیربت اپی‌تلیوم تیغه‌ای یک فضای عروقی را احاطه می‌کنند. اپی‌تلیوم تیغه‌ای آبشش از ۱ تا ۲، لایه سلولی تشکیل شده است. اپی‌تلیوم تیغه‌ای از نظر

وجود دارد، با این تفاوت که در قسمت سر آبشش ماهی لپیدوسفالیکتوس گاتتا سلول‌های ائوزینوفیلی فراوان و جوانه‌های چشایی قابل مشاهده است، ماهی شیربت فاقد سلول‌های ائوزینوفیلی و جوانه‌های چشایی می‌باشد (Singh 1966).

در مطالعه‌ی میکروسکوپی آبشش ماهی‌های هیپوستوموس پلکوستوموس، پیاراکتوس مسوپوتامیکوس و اورپوکریموس نایلویتیکوس دو نوع بافت پوششی قابل مشاهده بود. یکی بافت پوششی مطبق که کمان آبششی، خار آبششی و لاملاهای اولیه را پوشانده بود و دیگری بافت پوششی نازک متشکل از یک لایه که لاملاهای ثانویه را می‌پوشاند و در تنفس نقش دارد (Fernandes and Perna-Martins 2001, Cinar et al. 2009, Monteiro et al. 2010, Sturla et al. 2001). بافت پوششی لاملاهای اولیه به طور متوسط از ۱۰-۵ لایه سلولی شده است، Fernandes and Perna-Martins در سال ۲۰۰۱، ۴ تا ۱۰ لایه سلولی را در لاملاهای اولیه آبشش ماهی هیپوستوموس پلکوستوموس را گزارش کردند. Cinar و همکاران در سال ۲۰۰۹، تعداد ۶ تا ۱۲ لایه سلولی را در لاملاهای اولیه آبشش ماهی پسودوفوکسینوس آنتالیا مشاهده کردند.

در ماهی‌های هیپوستوموس پلکوستوموس، پروتوپتروس آنکتس، کولرهینکوسکولرهینکوس، پسودوفوکسینوس آنتالیا و اپی‌تلیوم رشته‌ای دارای سلول‌های تمایز نیافته، سلول‌های پوششی کناری، سلول‌های کلراید و سلول موکوسی می‌باشد (Calabro et al. 2005, Cinar et al. 2009, Fernandes and Perna-Martins 2001, Mills 2001, Westermann et al. 1984, Sturla et al. 2001). در ماهی شیربت سلول‌های تمایز نیافته و نسبتاً تمایز یافته‌ی لایه‌ی قاعده‌ای و میانی بافت پوششی رشته‌ی آبششی را تشکیل می‌دهد. نسبت هسته به سیتوپلاسم در این سلول‌ها بالاتر است و هسته‌ی آن‌ها هتروکروماتین و کوچک‌تر نسبت به هسته‌ی سلول‌های راسی می‌باشد (Wilson and Laurent 2002). سلول‌های پوششی کناری فراوان‌ترین سلول‌های پوشاننده‌ی رشته‌ها و تیغه‌های

ضخامت بافت پوششی لاملاهای اولیه و ثانویه کاهش می‌یابد. این افزایش ضخامت پوست (ضخامت پوست در زمان هیچ ۲۰ میکرومتر و در زمان ۱۱ گرمی لارو ۷۰ میکرومتر) به علت کاهش شرکت در تنفس و کاهش ضخامت لاملاهای اولیه و ثانویه (لاملاهای اولیه ۱۴/۵ به ۱۰/۸ میکرومتر، لاملاهای ثانویه ۳/۷ به ۲/۴ میکرومتر) افزایش شرکت آن‌ها در تنفس می‌باشد.

در ماهیان تون و وابستگان نزدیک آن‌ها، دیواره‌ی تیغه‌ها بسیار نازک است و حدود ۰/۵۳ تا یک میکرون ضخامت دارد، اما در بسیاری از ماهیان استخوانی، ضخامت دیواره‌ها ۲ تا ۴ میکرون است و بعضی از گونه‌های کفزی نیز دارای غشای تنفسی به ضخامت ۵ تا ۶ میکرون هستند. در بسیاری از ماهیان الاسمورانش که اطلاعاتی در مورد آن‌ها وجود دارد، ضخامت دیواره‌ی تیغه‌ها ۵ تا ۱۱ میکرون است (ستاری ۱۳۸۹). نتایج حاصل از ماهی شیربت با ماهیان استخوانی هم‌خوانی دارد. ضخامت اپی‌تلیوم تیغه‌ای و لایه‌ی قاعده‌ای در ماهیانی که برای به حداقل رساندن مسافت انتشار آب و خون به منظور تبادل گاز تلاش می‌کنند به حداقل می‌رسد برای مثال ماهیان استخوانی پلاژیک فعال *T. albacares* به ۰/۵۵ میکرومتر و در مقابل ماهیان استخوانی ساکن اعماق دریا *Solea variegata* به طور میانگین ضخامت بافت پوششی ۲/۸۰ میکرومتر است (Hughes 1984).

در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که آبشش ماهی شیربت از ۴ جفت کمان آبششی شامل خار آبششی در بخش قدامی و دو ردیف همی برانش (هولوبرانش) در بخش خلفی تشکیل شده است. هر ردیف همی برانش مجموعه‌ای از لاملاهای اولیه است که لاملاهای ثانویه از آن به صورت عمود منشعب می‌شوند. بافت پوششی آبشش به طور کلی از سلول‌های تمایز نیافته، پوششی کناری مکعبی و سنگفرشی، کلراید، موکوسی تشکیل شده است. ساختمان بافتی آبشش ماهی شیربت مشابه سایر ماهیان استخوانی است و تفاوتی با سایر ماهیان هم‌خانواده‌ی خود ندارد.

ساختاری برای تبادل گاز اختصاصی شده است. این اپی-تلیوم شامل سلول‌های تمایز نیافته و سلول‌های پوششی کناری سنگفرشی است. سلول‌های اندوتلیال تغییر یافته که سلول‌های ستونی نامیده می‌شوند، فضای عروقی را به حجره‌های منظمی تقسیم می‌کنند و آن را حمایت می‌کنند. اپی‌تلیوم روی یک غشای پایه‌ی مشخص که از یک قسمت الکترون دنس و یک قسمت الکترون لوسنت تشکیل شده است، قرار می‌گیرد (Fernandes and Perna- (Martins 2001). Perna-Martins و Fernandes در سال ۲۰۰۱، ۳ نوع سلول را برای اپی‌تلیوم تیغه‌ای در ماهی هیپوستوموس پلکوستوموس شامل سلول‌های کلراید و پوششی کناری را لایه‌ی سطحی و سلول‌های تمایز نیافته را در لایه‌ی عمقی تعریف کردند. برطبق یافته‌های این تحقیق در هر دو اپی‌تلیوم تیغه‌ای، سلول‌های تمایز نیافته روی غشای پایه قرار دارند و اولین لایه‌ی سلولی را تشکیل می‌دهند. این سلول‌ها دارای هسته‌ی کوچک، هتروکروماتین و سیتوپلاسم محدودی هستند. سلول‌های پوششی کناری به دو صورت سنگفرشی در اپی‌تلیوم تیغه‌ای قابل مشاهده بودند. سلول‌های پوششی کناری دارای هسته‌ی پهن، هتروکروماتین و سیتوپلاسم انوزینوفیلی روشن می‌باشند. سلول‌های کلراید در ماهی شیربت فقط در قاعده‌ی تیغه‌ها قرار داشت و در بخش‌های بالاتر مشاهده نشدند. در این پژوهش رنگ‌آمیزی پرپرویدیک اسید شیف در طول تیغه، سلول‌های موکوسی را می‌توان به ندرت مشاهده کرد، از این نظر با ماهی هیپوستوموس پلکوستوموس متفاوت بود، زیرا بر اساس مشاهدات Fernandes and Perna-Martins در سال ۲۰۰۱ هیچ سلول موکوسی را نتوانسته‌اند روی تیغه‌های آبشش هیپوستوموس پلکوستوموس مشاهده کنند.

Pinder و Wells در سال ۱۹۹۶ در بررسی روی تکامل آبشش ماهی آزاد اقیانوس اطلس در طی تکامل، ضخامت بافت پوششی پوست، لاملاهای اولیه و ثانویه را اندازه‌گیری کردند و نتایج به این صورت بود که با افزایش وزن بدن، ضخامت بافت پوششی پوست افزایش و

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران به خاطر تأمین مالی این پژوهش اعلام می‌دارند.

منابع

- Booth, J.H. (1979). The effects of oxygen supply, epinephrine, and acetylcholine on the distribution of blood flow in trout gills, *Journal of Experimental Biology*, 83: 31- 39.
- Calabro, C.; Albanese, M.P.; Laurano, E.R.; Martella, S. and Licata, A. (2005). Morphological, histochemical and immunohistochemical study of the gill epithelium in the abyssal teleost fish *Coelorhynchus coelorhynchus*. *Folia histochemica, et cytobiologica*, 43(1): 51-56.
- Cinar, K.; Aksoy, A.; Emre, Y. and Asti, R.N. (2009). The histology and histochemical aspects of gills of the flower fish, *Pseudophoxinus antalyae*. *Veterinary Reserch Communication*, 33: 453-460.
- Fernandes, M.N. and Perna-Martins, S.A. (2001). Epithelial gill cells in the armored catfish, *hypostomus plecostomus* (Loricariidae), *Revista Brasilerade Biologia*, 61(1): 69-78.
- Hughes, G.M. (1984). General anatomy of the gills. In: Hoar WS, Randall DJ, editors. *Fish physiology*, Vol 10A. New York: Academic Press, Pp: 1-72.
- Keys, A.B. and Willmer, E.N. (1932). Chloride secreting cells in the gill of fishes, with special reference to the common eel. *Journal Physiology*, 76: 368-378.
- Mills Westermann, J.E.; Barber, D.L. and Malo, L.G. (1984). Observations on gills of pelagic and demersal juvenile *Notothenia rossii*. *British Antarctic Survey Bulletin*, 65, 81-9.
- Monteiro, S.M.; Fernandes, A.F. and Sousa, M. (2010). An immunohistochemical study of gill epithelium cells in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Folia histochemica et cytobiologica*, 48(1): 112 (112-121).
- Philpott, C.W. and Copeland, D.E. (1963). Fine structure of chloride cells from three species of fundulus. *The Journal of Cell Biology*, 18: 389-404.
- Saadatfar, Z. and Shahsavani, D. (2008). Structure of chloride cell in telaji (Cyprinidae, teleost) of Caspian Sea. *American-Eurasian Journal Agriculture and Environment*, 4(5)599-602.
- Saadatfar, Z. and Shahsavani, D. (2009). Structure of the chloride cell in the gill epithelium of *Mugi laurata* (Mugillidae, teleostei). *Journal Application Animal Research*, 36: 133-136.
- Satari, M. (1389). *Ichthyology Vol 1. Dissect and Physiology*. 3th edition, Haghshenas Publisher, pp: 1-4, 39-78, 163-179, 198-190, 626-615.
- Shahsavani, D. and Movassaghi, A.R. (1378). *Systematic Pathology of Fish*. Hugh W. Ferguson. Ferdowsi Univesity Press, No. 325, Pp: 27-72.
- Severi, W.; Rantin, F.T. and Fernandes, M.N. (2000). Structural and morphological features of *Piaractus Mesopotamicus* (Holmberg, 1887) Gills. *Revista Brasileira de Biologia*, 60(3): 493-501.
- Singh, B.R. (1966). On the gill-structure of a fresli water cobitid fish *Lepidocephalichthys guntea* (HAM.), *Japanese Journal of Ichthyology*, 14: 103-106.
- Stoskopf, M.K. (1993). *Fish Medicine*. W. B. Saunders. Co. Philadelphia, Pp: 8, 35.
- Sturla, M.; Masini, M.A.; Prato, P.; Grattarola, C. and Uva, B. (2001). Mitochondria-rich cells in gills and skin of an *African lungfish*, *Protopterus annectens*. *Cell Tissue Research*, 303(3): 351-358.
- Wells, P.R. and Pinder, A.W. (1996). The Respiratory development of atlantic salmon. I. Morphometry of gills, yolk sac and body surface. *The Journal of Experimental Biology* 199, 2725-2736.
- Wilson, J.M. and Laurent, P. (2002). Fish gill morphology: inside out. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3). 192-213.

Histological and histometrical study of *Barbus grypus* gill

Morovvati, H.¹; Khaksary Mahabady, M.² and Arefi, A.³

Received: 14.09.2015

Accepted: 26.12.2015

Abstract

In this study, a total number of 10 fish freshly prepared *Barbus grypus* and samples from proximal, middle and distal portions of gill arches were dissected. The 5-6 μ m sections were made using paraffin embedding techniques and stained by haematoxylin & eosin (H&E) and periodic acid shiff (PAS). The results showed *Barbus grypus* gill has consisted from 4 gill arches. Gills are located in gill compartment on fish head lateral regions and covered by gill operculum. There are gillrakers on the cranial part and there is a holobranch on the caudal part of the each gill arch. A gill arch has consisted from primary lamellae that secondary lamellae diverge from them at one side and gill rakers at other side. Primary lamellae were covered by stratified squamous epithelium. As secondary lamellae are diverged from their axis, the primary lamellae are interrupted. There are undifferentiated cells, squamous to cuboid-shaped epithelial cells, chloride and mucous cells layer in the primary lamellae epithelium. Secondary lamellae have a vascular center containing pillar cells. Secondary lamellae epithelium is very thin and consisted of 1 or 2 cell layer which including undifferentiated and pavement cells. Gill raker has a stratified epithelium which including a lot of mucous cells. Their central part is supported by bone. Histometrical results showed that primary lamellae epithelial thickness is different from secondary lamellae epithelial thickness significantly ($P \leq 0.05$). There is a significant difference between primary lamellae in proximal portion with distal and middle portions of the right gill. The middle portions of the right primary lamellae are different with whole parts of right and left sides of the primary lamellae. There was no significant difference between secondary lamellae epithelial thickness. In conclusion, histological structure of *Barbus grypus* gill is similar to other teleostei and has no difference with Cyprinidea family.

Key words: *Barbus grypus*, Gill, Histology, Histometry

1- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- MSc Graduated of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Morovvati, H., E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir