Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۴ بهار ۱۳۹۶
DOI: 10.22034/vj.2017.107834

ضایعات ناشی از انگل‌های منوژن بر روی بافت آبشش و سلول‌های کلراید ماهی سفید دریای خزر

• زینت واحدی
گروه زیست دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران ایران
• جمیله پازوکی (نویسنده مسئول)
گروه زیست دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران ایران
تاریخ دریافت: ۱۰ ۱۰ ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۲۳ ۳ ۱۳۹۵
Email: j-pazooki@sbu.ac.ir

چکیده

منوژنیاسیس، یکی از شایع ترین بیماری‌هایی است که توسط گونه‌های انگل منوژن در آبشش و پوست ماهیان پرورشی و وحشی در تمام سنین ایجاد می‌شود. در این تحقیق که دی ماه ۱۳۹۱ انجام شد، تعداد ۳۳ عدد ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) صید شده به وزن ۱۲۰۰-۱۹۰ گرم و طول ۴۰/۵-۲۰ سانتی متر از سواحل جنوبی دریای خزر در استان مازندران (شهر ساری) مورد بررسی قرار گرفتند. کمان‌های آبششی در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و با استفاده از روش استاندارد بافت شناسی، مقاطع بافتی پنج میکرونی از نمونه‌ها تهیه شده و به روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند. پس از بررسی ضایعات بافتی به‌وجود آمده ناشی از حضور انگل‌ها، تعداد و اندازه سلول‌های کلراید توسط میکروسکوپ نوری شمارش و اندازه گیری گردید. منوژن‌ها از خانواده داکتیلوژیریده (*Dactylogyridae*) و دیپلوزوئیده (*Diplozoidae*) شناسایی شدند. میانگین شدت آلودگی و فراوانی به انگل‌های خانواده داکتیلوژیریده به ترتیب (۱۱۸ و ۱۰۰ درصد) و به انگل‌های خانواده دیپلوزوئیده (۴/۵۳ و ۷۸/۷۸ درصد) بوده است. ضایعات مشاهده شده عبارت بود از: تخریب رشته‌ها و چسبندگی تیغه‌های آبششی، هایپرتروفی سلول‌های اپیتلیال و هایپرپلازی تیغه‌های آبششی، جداشدن اپیتلیوم از غشاء پایه تیغه‌ها، آنیوریسم و بروز حالت چماقی. نتایج نشان داد تعداد کل سلول های کلراید در حضور انگل‌ها کاهش ولی اندازه آنها تغییری نداشته است. نتایج آزمون همبستگی ارتباط معکوس قوی و معنی داری میان تراکم انگل‌ها و تعداد کل این سلول‌ها نشان داد.

کلمات کلیدی: ماهی سفید، آبشش، بافت شناسی، انگل‌های منوژن، سلول کلراید، تنظیم اسمزی

www.SID.ir

Archive of SID

● Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 114 pp: 163-172

Lesions caused by Monogenean parasites on gill tissue and chloride cells of Caspian Sea white fish

By: Vahedi, Z., Msc, Department of Marine Biology, Faculty of Biological Sciences,Shahid Beheshti University, G. C. Tehran, Iran. Pazooki, J., (Corresponding Author) Department of Marine Biology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, G. C. Tehran, Iran.

Email: j-pazooki@sbu.ac.ir

Received: 2016-01-07 Accepted: 2016-05-20

Monogeniasis is one of the most common diseases that happen by a species of Monogenean parasite in the gills and skins of many farmed and wild fish and it is seen in all age of them. In this research that it was done on December 2012, caught 33 white fish *(Rutilus frisii kutum)* weight 190- 1200 g and length 20-40.5 cm from the southern coast of the Caspian Sea in province of Mazandaran (Sari) were examined. Gill arch in 10% fixed formalin and by using standard histological methods, 5 µ tissue sections of samples were taken and by hematoxylin - eosin method they were staining. After studying tissue losses which were caused by parasites, chloride cells number and their size were counted and measured through optical microscope. Monogenea were identified from Dactylogyridae and Diplozoidae families. Mean infection intensity and frequency to parasites of Dactylogyridae and Diplozoidae families were respectively (118 , 100%) (4.53 , 78.78%). The observed loss included: filaments demolition and adhesion of gill lamellae, epithelial cells hypertrophy and hyperplasia of gill blades, separating the epithelium from the basement membrane of blades, the incidence of aneurysm and clubbing mode.The results showed that total chloride cells number in the presence of parasites decreased but there weren,t any changes in their size. There was a strong and significant inverse correlation relationship between parasites density and total number of these cells.

Key words: ***Rutilus frissi kutum***, Gill, Histology, Monogenean parasite, Chloride cell, Osmoregulatory

مقدمه

Rutilus frissi kutum از گونه‌های تجاری و با ارزش دریای خزر بوده که تنها در این دریا و بیشتر در سواحل ایرانی و مرزهای دریایی جمهوری آذربایجان به‌خصوص ناحیه بین آستارا و رودخانه گرگان یافت می‌شود (۲۳). اطلاعات راجع به حضور و تغییر در تنوع انگل‌ها برای زیست‌شناسی این موجودات و جلوگیری از مشکلات احتمالی که به دنبال آلودگی به آن‌ها رخ می‌دهد مفید خواهد بود (۳۲). فراوانترین منوژن‌ها متعلق به خانواده داکتیلوژیریده (Dactylogyridae) و ژیرودکتیلیده (Gyro-dactylidae) می‌باشند. این کرم‌ها بر روی پوست و آبشش مهره‌داران آبزی یافت می‌شوند. قلاب و اندام مکنده مسئول آسیب به میزبان بوده و سبب ایجاد دریچه جهت ورود پاتوژن‌های فرصت طلب می‌گردند. آسیب‌های گسترده به آبشش‌ها در آلودگی به داکتیلوژیروس انجام می‌شود (۹). منوژن‌های ماهیان سفید توسط محققان متعدد شناسایی شده‌اند (۴۰،۳۵،۲۹،۲۶،۲۵،۲۴،۱۸،۱۶،۱۰). تحقیقات وسیعی روی تاثیر هیستوپاتولوژیک وارده توسط منوژن‌های مختلف انجام گرفته است (۲۷،۱۰،۱). خصوصیات مورفولوژیک و عملکرد سلول‌های پوششی آبشش ماهیان استخوانی شامل تبادل گاز، تعادل اسید و باز و تنظیم یونی می‌باشد (۱۲، ۵). با توجه به نقش اولیه آبشش در تنظیم اسمزی، مدل پایه تنظیم اسمزی ماهیان استخوانی در سال ۱۹۳۰ بر پایه تحقیقات Krogh ،Smith ،Keys منتشر شد. تغییر هیستوپاتولوژیک جزئی در این اندام منجر به بروز اختلالات تنفسی و عدم تعادل الکترولیتی می‌گردد (۳۳،۳۰). تحقیقات متفاوتی با استفاده از آبشش ماهی به‌عنوان ابزار ارزیابی حضور آلاینده‌ها در محیط‌های آبی طبیعی و تست‌های آزمایشگاهی انجام شده است (۴۱،۲۸،۹). سلول‌های ویژه ترشح کننده یون، اولین بار از آبشش *Anguilla anguilla* شناسایی و سلول‌های کلراید نامیده شدند که به‌عنوان یکی از اندام‌های تنظیم اسمزی در اپیتلیال آبشش که مکان اصلی جذب و ترشح یون‌ها می‌باشد و وظایفی از جمله تطابق ماهیان با آب شیرین و آب شور و تنظیم اسید و باز و جذب Ca^{2+} را برعهده دارند، حضور دارند (۲۲). مطالعات مختلفی روی یاخته‌های کلراید آبششی انجام گرفته است (۳۹،۳۸،۳۷،۳۶،۱۵،۱۲). هدف از این مطالعه شناسایی انگل‌های کرمی منوژن و تعیین موقعیت سلول‌های کلراید آبشش از لحاظ تعداد و قطر آن‌ها با توجه به تراکم انگل‌های موجود و بررسی آثار هیستوپاتولوژیک این انگل‌ها بر بافت آبشش ماهی سفید دریای خزر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۳ عدد ماهی سفید(*Rutilus frissi kutum*)، اوایل دی ماه سال ۱۳۹۱ از سواحل جنوبی دریای خزر در استان مازندران (سواحل شهر ساری) با استفاده از تور پره صید گردید. جهت شناسایی ماهی سفید از

www.SID.ir

Archive of SID

کلید شناسایی جلودار و عیدلی ۱۳۸۳ (۳۱) استفاده شد. ماهی‌ها کدگذاری شده و بیومتری آن‌ها شامل اندازه گیری وزن و طول کل که به ترتیب ۱۲۰۰-۱۹۰ گرم و ۴۰/۵ - ۲۰ سانتی متر بود، انجام گرفت. سرپوش‌های آبششی آن‌ها برداشته شدند. کمان‌های آبششی بطور کامل و دست نخورده جهت تثبیت در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند و سپس به آزمایشگاه آبزیان دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی انتقال یافتند. هنگام بررسی کمان‌های آبششی زیر استریومیکروسکوپ یا مشاهده انگل‌های منوژن، جداسازی و شمارش آن‌ها صورت گرفت و باروش گلیسیرین ژلاتین تثبیت گردیدند. یا به‌کارگیری خصوصیات ریخت شناسی و اندازه گیری‌ها و با کمک کلید تشخیصی جلالی ۱۳۷۷ و Bikhovskaya – Pavlovskaya ۱۹۶۴ (۱۸،۶) نمونه‌ها تا حد گونه شناسایی شدند. سپس عکس‌هایی با بزرگنمایی‌های ۴x, ۱۰x, ۴۰x , ۱۰۰x تهیه شده و با استفاده از نرم‌افزار Axiovision تنظیم شده بر اساس شاخص میکرون، اندازه‌گیری‌های لازم صورت گرفت. بخش‌هایی از تیغه‌های آبششی ۱۷ عدد ماهی بر اساس دارا بودن بیشترین و کمترین تعداد انگل جهت مطالعات بافت شناسی انتخاب گردید. نمونه‌های بافتی طبق روش Humason ۱۹۷۴ (۱۷) به‌همراه اندکی تغییرات آماده سازی شد و پس از مراحل آبگیری، شفاف سازی و پارافینه شدن، قالب گیری شد. جهت انجام کارهای بافت‌شناسی، آبگیری نمونه‌ها با استفاده از سری افزایشی اتانول و در نهایت زایلن انجام شد. پس از تهیه مقاطع پنج میکرونی، توسط میکروتوم بر اساس روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) رنگ آمیزی لازم صورت گرفت. بعد از اتمام مراحل رنگ آمیزی مجموع تعداد سلول‌های کراید موجود در فضای بین تیغه‌ای و تیغه‌ای – رشته‌ای در چندین مقطع از نمونه بافت آبشش توسط میکروسکوپ نوری (Nikon Ys۱۰۰) در بزرگنمایی ۱۰۰ عدسی شیئی و در چند میدان میکروسکوپی شمارش گردید. همچنین اندازه‌گیری قطر این سلول‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار اندازه گیری نامبرده بر اساس شاخص میکرومتر صورت گرفت. حضور و موقعیت سلول‌های بافت آبششی شناسایی و بررسی شده و پس از بررسی آسیب‌های پاتولوژیک بوجود آمده مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرارگرفت. در نهایت تصاویر مقاطع تهیه شده توسط دوربین متصل به میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار مربوطه به کامپیوتر انتقال یافته و مورد مطالعه قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آنالیزهای آماری اطلاعات مربوط به تعداد و قطر کل سلول‌های کراید (سلول کراید نواحی رشته‌ای و تیغه‌ای) و طول کل ماهی و تراکم انگل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version ۲۰ انجام گرفت. به منظور تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده گردید. جهت معنی‌دار بودن تفاوت میان گروه‌های طولی و تراکم انگل‌ها از آزمون One-Way ANOVA و معنی دار بودن تعداد و قطر سلول کراید نواحی مختلف از آزمون Tow-WayANOVA و تست Tukey استفاده شد. درستی آزمون طول کل ماهی با سه سطح (گروه یک: ۲۶-۲۰ cm، گروه دو: ۳۳/۵-۲۷ cm،گروه سه: ۴۰/۵-۳۴ cm) درنظر گرفته شد. ارتباط میان تراکم انگل و تعداد سلول کراید نواحی مختلف با به‌کارگیری آزمون همبستگی ضریب پارامتریک پیرسون بررسی گردید.

نتایج

تمام ۳۳ ماهی بررسی شده آلوده به انگل بودند. انگل‌های جداسازی شده از شاخه موتوژن متعلق به خانواده داکتیلوژیریده شامل *Dactylogyrus frissi* و *Dactylogyrus nybelini* و از خانواده دیپلوزوئیده شامل *Diplozoon paradoxum* بودند (شکل ۱). دامنه تعداد انگل شمارش شده ۵۷۴-۱۲ برای داکتیلوژیریده و ۱۲-۰ برای دیپلوزوئیده بوده است. میانگین شدت آلودگی و فراوانی به خانواده داکتیلوژیریده به ترتیب (۱۱۸ و ۱۰۰درصد) و به خانواده دیپلوزوئیده (۴/۵۳ و ۷۸/۷۸ درصد) بوده است.

نتایج تجزیه و تحلیل آماری

نتایج آزمون One-Way ANOVA تفاوت معنی داری در تعداد انگل‌های منوژن بین ماهیان با بازه‌های طولی مختلف نشان نداد (P =۰/۲۳ و df =۲ و F=۱/۵۳). نتایج آزمون Two-Way Anova نشان داد که طول کل ماهی بر تعداد کل سلول کراید و رشته‌ای و همچنین تراکم انگل بر تعداد کل سلول کراید و رشته‌ای و تیغه‌ای تاثیر معنی دار داشته است (جدول ۱). نتایج مقایسه دو به دو میان گروه‌های طولی ماهی اختلاف معنی داری در رابطه با میانگین تعداد کل سلول‌های کراید بین ماهیان گروه طولی سه با دو و یک و در مقایسه با میانگین تعداد سلوهای کراید

جدول ۱- خلاصه نتایج Two-Way Anova در بررسی تاثیر طول ماهی و تراکم انگل بر روی متغیر۱:تعداد کل سلول‌های کراید، ۲: تعداد سلول‌های کراید رشته‌ای ۳ : تعداد سلول‌های کراید تیغه ای

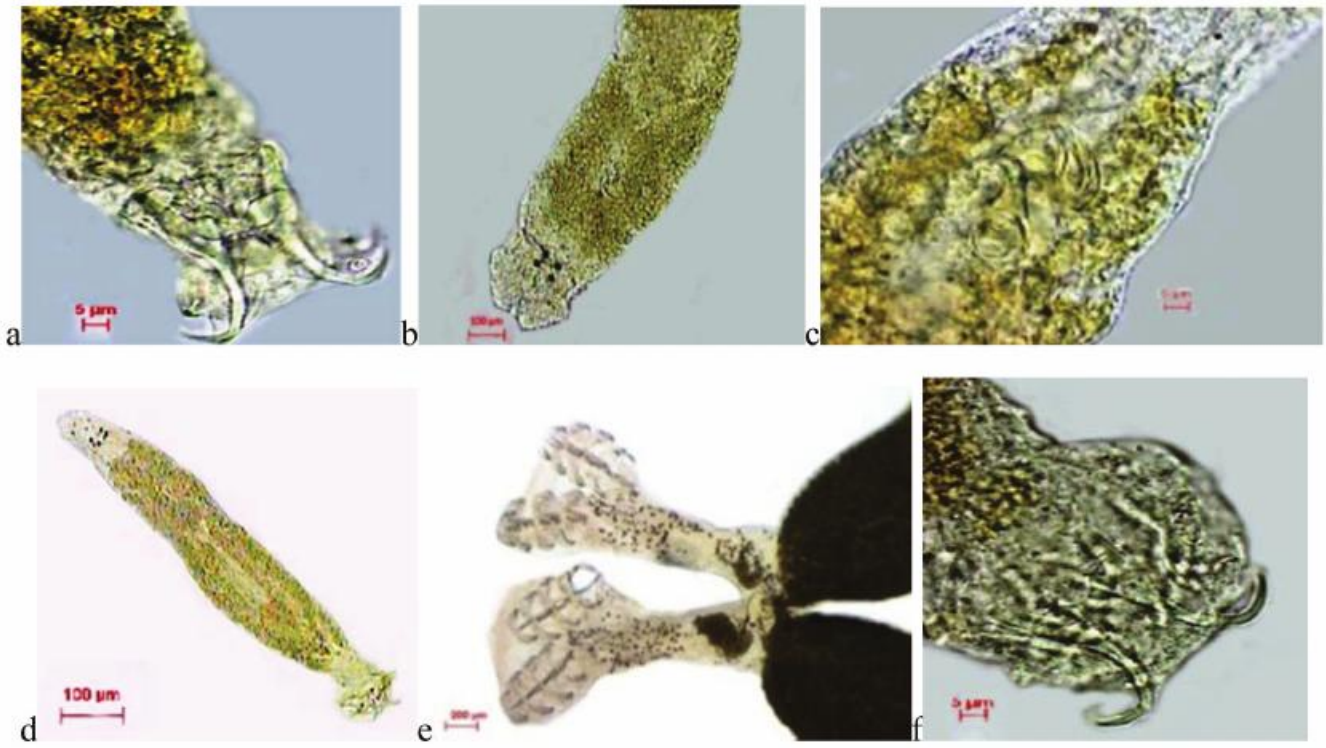
متغیر	Df			Ms (mean square)			F			S (sig.)		
	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳
تراکم انگل	۱	۱	۱	۱/۶۴	۰/۵۲	۰/۰۷	۳۵/۳۶	۱۳/۰۱	۷/۵۶	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۱
طول ماهی	۲	۲	۲	۰/۴۱	۰/۱۸	۰/۰۱	۹/۰۴	۴/۶۵	۱/۷۱	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۲۱
Error	۱۳	۱۳	۱۳	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۱	-	-	-	-	-	-
Total	۱۷	۱۷	۱۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- خلاصه نتایج Two-Way Anova در بررسی تاثیر طول ماهی و تراکم انگل بر روی متغیر ۴:اندازه کل سلول های کلراید، ۵: اندازه سلول های کلراید رشته ای ۶ : اندازه سلول های کلراید تیغه ای

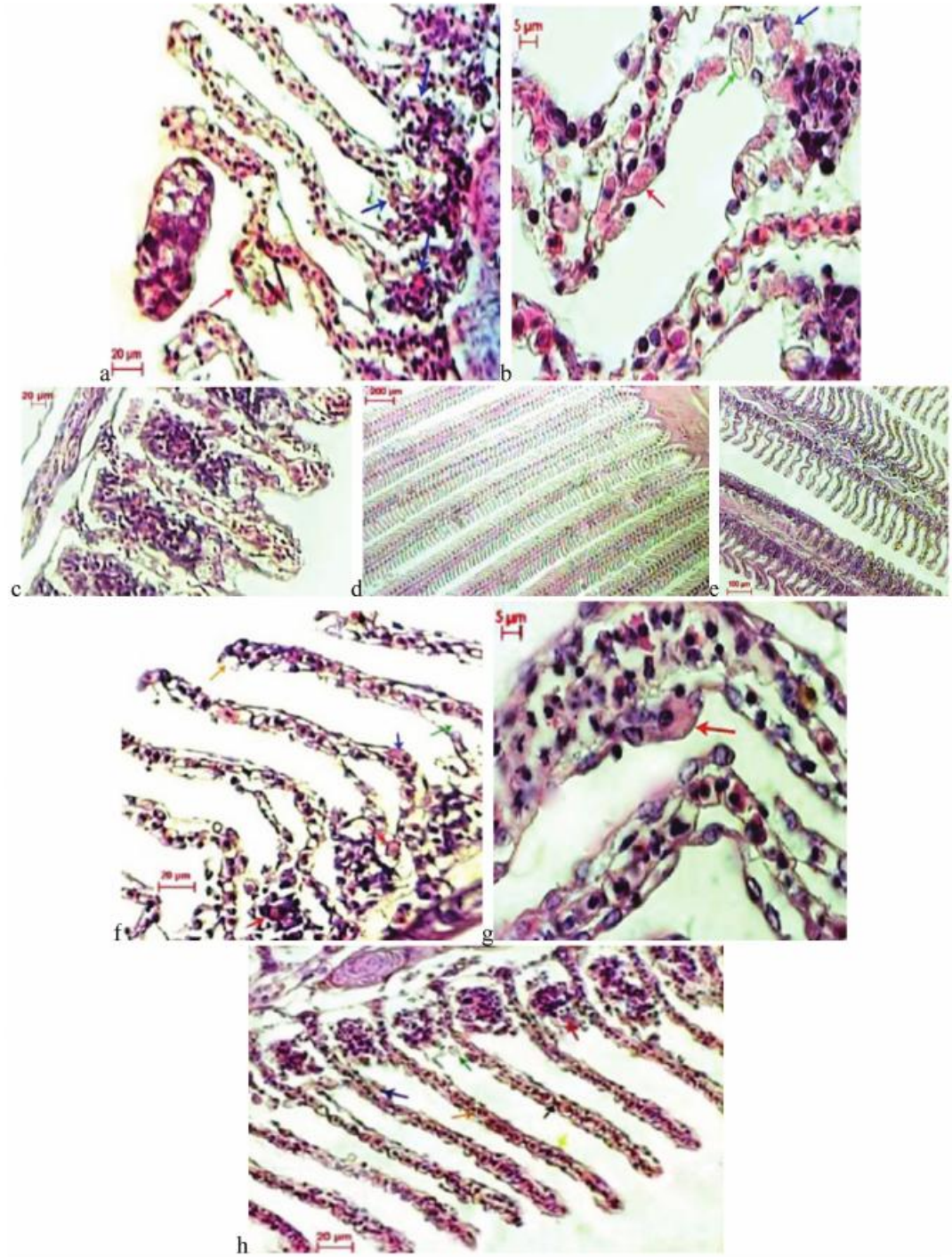
متغیر	Df			Ms (mean square)			F			S (sig.)		
	۴	۵	۶	۴	۵	۶	۴	۵	۶	۴	۵	۶
تراکم انگل	۱	۱	۱	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۲۴	۰/۰۲	۱/۴۱	۰/۶۲	۰/۸۸	۰/۲۵
طول ماهی	۲	۲	۲	۷/۶۲	۳/۵۹	۰/۷۵	۱۴/۹۲	۷/۵۴	۵/۲۱	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۲
Error	۱۳	۱۳	۱۳	۰/۵۱	۰/۴۷	۰/۱۴	-	-	-	-	-	-
Total	۱۷	۱۷	۱۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-



شکل ۱- منوژن های مشاهده شده در آبشش. a. قلابهای انگل *Dactylogyrus frissi* (بار 5µ، بزرگنمایی x 100). b. انگل *D. nybelini* (بار µ 100 ، بزرگنمایی x 10). c. دستگاه تناسلی انگل *D.frissi* (بار 5µ، بزرگنمایی x 100). d. انگل *Dactylugyrus sp* (بار µ 100، بزرگنمایی x 10). e. انگل *Diplozoon paradoxum* (بار µ 200، بزرگنمایی x 4). f. قلابهای انگل *Dactylugyrus nybelini* (بار 5µ، بزرگنمایی x 100).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- مقاطع بافتی تهیه شده. a. قلاب‌های انگل(پیکان قرمز)،سلول کلراید(پیکان آبی)(بار 20µ، بزرگنمایی H&E، 40 x). b. سلول کلراید رشته‌ای (پیکان آبی)، سلول کلراید تیغه‌ای (پیکان قرمز)، رادلت سل (پیکان سبز) (بار 5µ ،بزرگنمایی H&E، 100 x). c. پیشرفت هایپرپلازی و هایپرتروفی درپایه تیغه‌ها (بار 20µ، بزرگنمایی H&E، 40 x). d. نمونه با آلودگی جزئی به انگل (بار 200µ، بزرگنمایی H&E، 4 x). e. هایپرپلازی و هایپرتروفی شدید پایه تیغه‌ها در نمونه بسیار آلوده (بار 100µ، بزرگنمایی H&E، 10 x). f. آلودگی زیاد به انگل. سلول کلراید رشته‌ای (پیکان قرمز) سلول کلراید تیغه‌ای (پیکان آبی سلول موکوس (پیکان نارنجی)، جداشدن اپیتلیال ازغشاء پایه (پیکان سبز) (بار 20µ، بزرگنمایی H&E، 40 x). g. سلول کلراید (پیکان قرمز) (بار 5µ، بزرگنمایی E&H 100x). h. سلول کلراید رشته‌ای (پیکان قرمز) سلول کلراید تیغه‌ای (پیکان آبی) سلول سنگفرشی (پیکان زرد)، سلول جامی (پیکان مشکی)، سلول خونی (پیکان نارنجی)، رادلت سل (پیکان سبز) (بار 20µ بزرگنمایی H&E، 40 x).

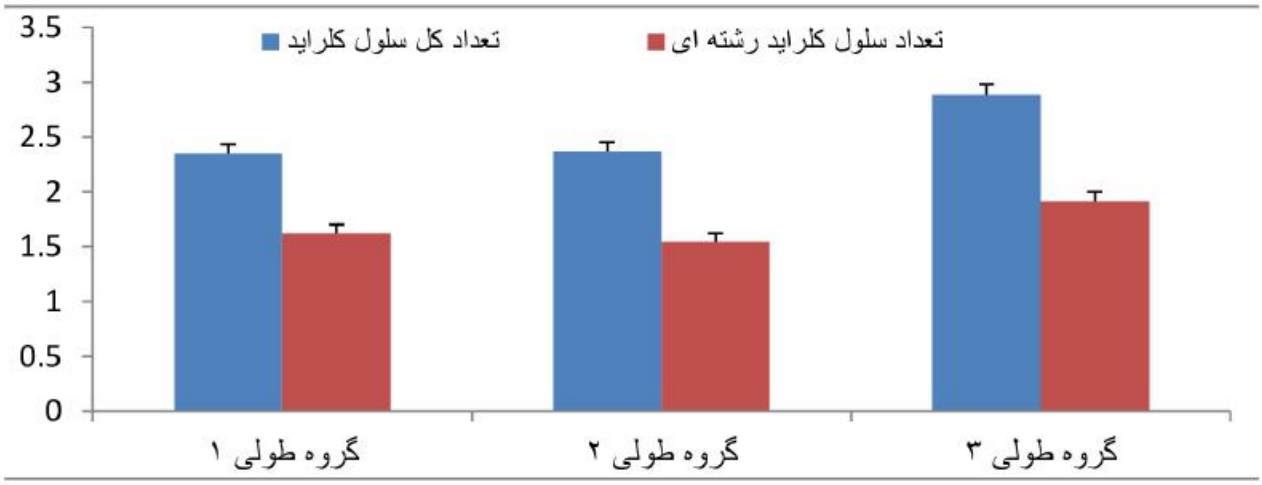
www.SID.ir

Archive of SID

رشـــته‌ای میان ماهیان گروه طولی ســـه با گروه دو نشـــان داد. ولی هیچ اختـــلاف معنی داری در مـــورد میانگین تعداد کل ســـلوهای کلراید میان گروه‌های طولی دو و یک و همچنین در رابطه با میانگین تعداد ســـلول‌های کلراید رشـــته‌ای میان گروه‌های طولی دو و یک و همچنین سه و یک دیده نشد (شکل ۳). نتایج آزمون همبستگی مشخص کرد که ارتباط بین تراکم انگل و تعداد کل ســـلول‌های کلراید، معکـــوس، قوی و معنی دار (N=۱۷ ، r =-۰/۶۵۲ ، P =۰/۰۰۵) بود و این ارتباط در رابطه با تعداد ســـلول‌های کلرایـــد رشـــته‌ای، معکـــوس، قـــوی و معنـــی دار (N=۱۷، r=-۰/۵۱۲ P =۰/۰۳۶) و در مورد تعداد ســـلول‌های کلراید تیغه‌ای، معکوس، متوسط و معنـــی دار بـــوده اســـت (N=۱۷، r=-۰/۴۸۸ P =۰/۰۴۷) (نتایج آزمون Two-Way Anova نشـــان داد که طول کل ماهـــی تاثیر معنی داری روی قطر ســـلول‌های کلراید کل و رشـــته‌ای و تیغه‌ای داشـــته ولی تراکم انگل تاثیر معنی داری بر هیچ کدام از این متغیرها نداشـــته اســـت (جدول ۲) . نتایج مقایســـه دو به دو میان گروه‌های طولی ماهی مشخص کرد: میانگین قطر ســـلول‌های کلراید کل در گروه ســـه با دو و یـــک دارای تفاوت معنی داری اســـت ولی میان دو گروه دو و یک تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بین متغیر اندازه ســـلول‌های کلراید رشـــته‌ای در گروه‌های طولی سه با دو و یک تفاوت معنی داری مشـــاهده شـــد، اما هیچ تفـــاوت معنی داری بین گروه‌های دو و یک دیده نشـــد. در این مقایسه با متغیر اندازه سلول کلراید تیغه‌ای بین گروه سه با یک تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ولی در گروه‌های ســـه با دو و دو با یک هیچ تفاوت معنی‌داری مشـــاهده نشـــد (شـــکل ۴).

نتایج مطالعات بافت‌شناسی

با بررســـی مقاطع میکروسکوپی، تخریب رشـــته‌های آبششی و چسبندگی



شکل ۳- تغییرات متغیرهای: تعداد کل سلول‌های کلراید و تعداد سلول‌های کلراید رشته‌ای درگروه های طولی ماهی. بارها نمایانگر Standard error می‌باشند.

شکل ۴- تغییرات متغیرهای: اندازه کل سلول‌های کلراید و سلول‌های کلراید رشته‌ای و تیغه‌ای در گروه‌های طولی ماهی. بارها نمایانگر Standard error می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

تیغه‌ها، هایپرپلازی بین تیغه‌ها، هایپرتروفی سلول‌های اپیتلیال تیغه‌های آبششی، جداشدن اپیتلیوم از غشاء پایه تیغه‌های آبششی و آنیوریسم مشاهده گردید (شکل ۲). با شدت این ضایعات حتی حالت چماقی که ناشی از افزایش سلول‌های پوششی در نوک رشته‌ها است در برخی بخش‌ها مشاهده شد. به طور کلی با مشاهده این مقاطع میتوان دریافت که چه فضای وسیعی از فضای تنفسی آبشش حذف گردیده و فاقد کارایی لازم است.

بحث و نتیجه‌گیری

حیوانات باید الگوهای پاسخ فیزیولوژیکی را براساس عملکرد اندام های تنظیم اسمزی مانند آبشش، کلیه، روده و پوست هماهنگ سازند. بنابراین تغییرات این اندام‌ها به‌عنوان علائم هشدار دهنده آسیب به سلامت حیوان می‌باشند (۴۲،۷). اپیتلیوم پوششی رشته‌ای در بسیاری از ماهی‌ها شامل هردو لبه آوران، وابران و فاصله ای بین پایه تیغه‌ها است که فضای بین تیغه ای Space Inter Lamellar (ILS) نام دارد (۴۳). در این تحقیق حضور و موقعیت سلول‌های آبششی و تغییرات و ضایعات بافتی ناشی از حضور منوژن‌ها در بافت آبشش ماهی سفید دریای خزر بررسی گردید و در مطابقت با تحقیقات مشابه Karnaky در سال ۱۹۸۶ (۲۰) نتایج مشابهی یافت شد (شکل ۲). گونه‌های مختلف داکتیلوژیروس در ایران توسط جلالی در ماهی سفید سد سنگر شناسایی شده بود (۱۸). از میان گونه‌های گزارش شده سه گونه داکتیلوژیروس نیبلینی، داکتیلوژیروس فریزی و دیپلوزئون پارادوکسوم شناسایی شد (شکل‌های 1a، 1.b، 1.c، 1. d، 1. e و 1.f). این اولین گزارش از بررسی ضایعات بافتی ناشی ازاین انگل‌ها به‌همراه تغییر در قطر و تعداد سلول کلراید در ماهی سفید دریای خزر است. گزارشاتی در راستای آسیب شناسی اثرات آلودگی فاز محلول نفت خام بر بافت آبشش بچه ماهی سفید، انجام شده که تغییرات بافتی مشاهده شده عبارت بودند از: جدا شدن اپیتلیوم از غشاء پایه تیغه‌های آبششی، چماقی شدن انتهای تیغه‌ها، هایپرتروفی سلول‌های اپیتلیال تیغه‌ها و رشته‌های آبششی، هایپرپلازی شدید بین تیغه‌ها و چسبندگی تیغه‌های آبششی (۳۹). آسیب‌های نامبرده در مطالعه پیش رو مشاهده و مورد بررسی قرارگرفت. در مقاطع بافت شناسی *Dicentrarchus labrax*، نفوذ اپیستوهاپتور منوژن *Dipectanum aequans* مجاور غشای پایه تیغه‌های اولیه مشاهده شد که پاسخ هیپرپالستیک ناشی از اختلال و تلفیق تیغه‌های ثانویه در تمام نمونه‌های آلوده و التهاب اپیتلیوم از تیغه‌های اولیه و ثانویه مشترک بودند. عفونت سنگین توسط اتصال و تغذیه منوژن‌ها می‌تواند طیف وسیعی از تغییرات هیستوپاتولوژیک را به اپیتلیوم القا کند. در ماهی آلوده، افزایش تعداد سلول مخاطی و رادلت و کاهش تعداد سلول کلراید مورد توجه قرار گرفته اند (۱۰)، که در مقایسه با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر با توجه به تراکم زیاد منوژن‌ها، تکثیر سلول‌های اپیتلیال، هایپرپلازی و هایپرتروفی شدید و چسبندگی تیغه‌های آبششی (شکل‌های 2.c و 2.f) مشاهده گردید. علاوه براین، پیشرفت این آسیب‌ها سبب تخریب نواحی تنفسی گردیده، تعداد سلول‌های کلراید در حضور منوژن‌ها کاهش داشته و با توجه به آنالیز انجام شده تعداد سلول‌های شمارش شده رابطه معکوس با تراکم انگل داشته است. اندازه ماهی نقش موثری در تغییر فشار اسمزی ایفا می کند. با افزایش سن، مکانیسم‌های دخیل در تنظیم اسمزی مانند افزایش تعداد سلول‌های کلراید می‌توانند تقویت شوند (۳۴). طی این تحقیق در ماهیان گروه طولی سه، تعداد سلول‌های کلراید رشته‌ای، با گروه دو و در رابطه با تعداد کل سلول‌های کلراید گروه طولی سه با دو گروه یک و دو تفاوت چشمگیر داشته است (شکل ۳). بنابراین میتوان ارتباط میان طول ماهی با تعداد سلول‌های کلراید را به وضوح مشاهده نمود. هایپرپلازی سلول های پوششی و به‌هم چسبیدن تیغه‌های آبششی به عنوان پاسخ‌های مزمن علیه عفونت‌های میکروبی، انگلی و یا تغییرات شیمیایی می‌باشند (۱). در ماهیان آب شیرین سلول‌های کلراید بیشتر در ناحیه بین تیغه‌ای فیلامنت‌ها و پایه تیغه‌ها و در ماهیان دریایی در اندازه بزرگتر بیشتر در سطح تیغه‌ها توزیع می‌گردد (۱۹،۱۴). در بررسی آبشش ماهیان سفید ۴۰۰-۳۰۰ گرمی حضور این سلول‌ها در دو منطقه مشاهده شد (۳۸). تحقیق حاضر نیز حضور سلول کلراید را در این مواضع تایید می‌نماید (شکل‌های 2.a، 2.h، 2.g، 2.b و 2.e). سلول‌های کلراید تیغه‌ای برای برآوردن تقاضای فیزیولوژیکی جذب یون در برخی ماهیان استخوانی یوری هالین توصیف شده‌اند. این سلول‌ها مکان ترشح فعال یون کلر در ماهی سازگار با آب دریا می‌باشند (۱۴). باتوجه به نتایج آماری، افزایش قطر سلول‌های مذکور تحت تاثیر طول ماهی نشان داده شده و ماهیان گروه سه یا دو گروه دیگر تفاوت در قطر سلول کلراید کل و رشته‌ای نشان دادند (شکل ۴). ماهیان گروه سه تفاوت معنی‌داری در قطر سلول‌های کلراید تیغه‌ای یا گروه یک داشتند. در ماهیان آب شور (لب شور دریای خزر) تعداد سلول‌های کلراید رشته‌ای و قطر آن‌ها بیانگر این موضوع می‌باشد. در بررسی ماهی *Mugil cephalus* در معرض نفت خام، تورم، تکثیر سلول‌های کلراید، هایپرتروفی، ادغام لاملای ثانویه مشاهده شده است (۲۱). در عفونت با داکتیلوژیروس صدمه جدی به آبشش ماهیان وارد می شود که باتوجه به گونه انگل مهاجم، اندازه ماهی، درجه حرارت آب و شرایط سلامتی ماهی، ضایعات حاصله متفاوت است. عفونت‌های سیک کم خطر بوده اما زمینه اصلی برای ایجاد عفونت سنگین را فراهم می‌آورند. هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیال آبشش عمده‌ترین ضایعات می‌باشد. زخم‌های موضعی بافتی در محل چسبیدن انگل همراه با پرولیفتراسیون محیطی دیده می‌شود. ترشح بیش ازحد موکوس مانع تنفس شده و در عفونت شدید، آبشش‌ها کمرنگ و متورم می‌شوند (۱۸). این نتایج با یافته‌های این تحقیق همخوانی داشته و در مکان اتصال انگل به آبشش، ترشح بیش ازحد موکوس دیده شد. درآبشش ماهی اسکار آلوده به *Dactylogyrus sp*، نکروز لاملا، بهم چسبیدن رشته‌های آبششی، هایپرپلازی رشته‌های ثانویه و آنوریسم گزارش شده است (۲۹). در بررسی بافتی *Cyprinus carpio*، هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیال، چروکیدگی سلول‌های تیغه‌ای اولیه، تغییر شکل سلول کلراید، افزایش ترشح موکوس بر اثر سولفات مس، افزایش ضخامت اپیتلیوم و جداشدن اپیتلیوم نیز مشاهده گردیده است (۴). دراین مطالعه با حضور منوژن نتایج هیستوپاتولوژیک مشابه‌ای نشان داده شد (شکل 2.f). درآلودگی‌های باکتریایی بر خلاف آلودگی‌های ناشی از منوژن تعداد سلول‌های کلراید افزایش می‌یابد (۱۱). عفونت منوژن در آبشش ماهی بر توانایی میزبان جهت تنظیم تعادل یونی تاثیر گذاشته و این انگل‌ها می‌توانند تعداد سلول‌های کلراید را کاهش دهند (۱۲). با بررسی این یافته‌ها کاهش تعداد سلول‌های کلراید روی توانایی تنظیم یونی تاثیر گذار می‌باشد. ماهی سفید به‌دلیل مهاجرت به رودخانه جهت تولیدمثل و بازگشت به دریای خزر باید بتواند تنظیمات اسمزی لازم را توسط اندام‌های تنظیم کننده انجام دهد، اما وجود آلودگی انگلی می‌تواند

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از دلایل برهم‌زننده این تعادل باشد. در بررسی تیغه‌های ثانویه ماهی تیلاپیا درمعرض آلودگی‌های محیطی، تکثیر سلول‌های کلراید و موکوسی، هایپرپلازی تیغه‌های ثانویه، چروکیدگی لاملاهای تنفسی، ادغام نوک لاملای ثانویه، کاهش فضای بین لاملایی، جداشدن اپیتلیوم از تیغه های تنفسی همراه با ادم و آنوریسم تیغه‌ای، به‌هم‌ریختگی ساختار تیغه‌های ثانویه، هایپرپلازی سلولی و ناهنجاری‌های غیر طبیعی نیز مشاهده شده است. (۱۹). میتوان این گونه توصیف کرد که در انواع آلودگی‌های تحت تاثیر فلزات سنگین و سموم، تعداد سلول های کلراید افزایش می‌یابد، که نتایج حاصل ازشمارش تعداد سلول‌های کلراید در مطالعه‌ی ذکر شده مخالف بررسی حاضر بوده است. ولی اکثر ضایعات وارد شده به بافت آبشش در هر دو مشابه است. ماهی سفید دارای رفتار مهاجرتی در زمان تولیدمثل می‌باشد. هر گونه عوامل عفونی (باکتریایی، ویروسی، انگلی و ...) و یا غیر عفونی (انواع آلودگی‌های فلزات سنگین، تغییرات شوری و pH و ...) که باعث اختلالات فیزیولوژیک و بیولوژیک در بدن ماهی سفید شود، می‌تواند روی مهاجرت و درنتیجه تولیدمثل آن تاثیرگذار باشد. وجود انگل‌ها از جمله منوژن‌ها نه تنها تغییرات بیماری‌زایی را در بدن این ماهی به‌دنبال دارد، بلکه می‌توانند سبب استرس و کاهش توانایی سیستم ایمنی آن شود و درطول مهاجرت، این ماهی یا ارزش را دچار مشکل نماید. لازم به ذکر است که شرایط بد محیطی حاکم بردریای خزر می‌تواند برروی افزایش بار آلودگی انگلی تاثیرگذار باشد. آسیب های بافتی ناشی ازحضور انگل‌ها در بافت آبشش باعث اختلال در امر تنفس ماهی می‌گردد. باتوجه به اینکه ماهی سفید یک ماهی مهاجر می‌باشد، حضور منوژن‌ها و تخریب بافتی آن‌ها می‌تواند روی مهاجرت این ماهیان در فصل تولید مثل تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. همچنین باتوجه به تعداد انگل‌های بررسی شده در کمان‌های آبششی دامنه تغییرات بافتی نیز می‌تواند به تعداد انگل‌ها و اندازه آن‌ها بستگی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از برادر عزیزم جناب آقای مهدی واحدی جهت یاری در امر تموته برداری و همچنین از سرکار خانم سمانه رضایی برای همکاری صمیمانه در مرحله بافت شناسی نهایت تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

1- Abtin B., M. Bahmani, A. Sharifpour, A. Esmaeli Sari, R. Kazemi, Hallajban. 2008. Histopathological effects of environmental factors on the Sturgeon of the Caspian Sea. P: 55, Iranain Fisheries Research Institute. (In persian).

2-Abowei, J., O. Briyai. and S. Bassey. 2011. A review of some basic parasite diseases in culture fisheries flagellids, dinoflagellides and ichthyophthriasis, ichtyobodiasis, coccidiosis trichodiniasis, heminthiasis, hirudinea infestation, crustacean parsite and ciliates. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2(5): 213-226.

3-Arafa, S. Z., M. M. El-Naggar. and S. A. El-Abbassy. 2009. Mode of attachment and histopathological effects of *Macrogyrodactylus clarii*, a monogenean gill parasite of the catfish Clarias gariepinus, with a report on host response. *Acta Parasitologica* 54:103-112.

4- Atebati A., A. Keikhostavi, J. Vatandost, 2009. Toxic effects of various concentrations of zinc and copper in the liver and gill tissue of common carp (*Cyprinus carpio*). Twelfth National Conference of Environmental Health. (In persian).

5-Bentley, P. J. 2002. Endocrines and osmoregulation: a comparative account in vertebrates.

6-Bikhovskaya-Pavlovskaya, I. 1964. Key to parasites of freshwater fish of the USSR.

7-Camargo, M. M. and C. B. Martinez. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology* 5:327-336.

8-Carmona, R., M. García-Gallego, A. Sanz, A. Domezain. and M. Ostos-Garrido. 2004. Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of Acipenser naccarii: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. *Journal of fish biology* 64:553-566.

9-de Oliveira Ribeiro, C., L. Belger, E. Pelletier. and C. Rouleau. 2002. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research* 90:217-225.

10-Dezfuli, B. S., L. Giari, E. Simoni, R. Menegatti, A. P. Shinn. and M. Manera. 2007. Gill histopathology of cultured European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), infected with *Diplectanum aequans* (Wagener 1857) Diesing 1958 (Diplectanidae: Monogenea). *Parasitology research* 100:707-713.

11-Dutta, H., J. Munshi, P. Roy, N. Singh, S. Adhikari. and J. Killius. 1996. Ultrastructural changes in the respiratory lamellae of the catfish, *Heteropneustes fossilis* after sublethal exposure to malathion. *Environmental Pollution* 92:329-341.

12-Evans, D. H., P. M. Piermarini. and K. P. Choe. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste.

www.SID.ir

Archive of SID

Physiological Reviews 85:97-177.

13-Fernandes, M. and S. Perna-Martins. 2001. Epithelial gill cells in the armored catfish, *Hypostomus cf.* plecostomus (Loricariidae). *Revista Brasileira de Biologia* 61:69-78.

14-Galbrand, C., I. Lemieux, A. E. Ghaly, R. Cote. and M. Verma. 2008. Water quality assessment of a constructed wetland treating landfill leachate and industrial park runoff. *American Journal of Environmental Sciences* 4:111.

15-Ghazilou, A., F. Chenary, H. Morovvati. and H. Zolgarneine. 2011. Time course of saltwater adaptation in Spotted Scat (*Scatophagus argus*)(Pisces): A histomorphometric approach. Italian *Journal of Zoology* 78:82-89.

16-Gussev, A. 1985. Parasitic metazoans. Key to the Parasites of freshwater fishes of the USSR 3.

17-Humason, G. L. 1974. Animal Tissue Techniques. Taylor & Francis.

18- Jalali B., 1999. Parasites and parasitic diseases of Iran fresh water fish. (In persian).

19-Jehan , M., S. and D. A. Harbey. 2012. Histological and ultrastructural changes in gills of Tilapia fish from Wadi Hanifah Stream, Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of American Science*; 82.

20-Karnaky, K. J. 1986. Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and other teleosts. *American zoologist* 26:209-224.

21-Katoh, F., S. Hasegawa, J. Kita, Y. Takagi. and T. Kaneko. 2001. Distinct seawater and freshwater types of chloride cells in killifish, *Fundulus heteroclitus*. *Canadian journal of zoology* 79:822-829.

22-Keys, A. and E. Willmer. 1932. "Chloride secreting cells" in the gills of fishes, with special reference to the common eel. The *Journal of physiology* 76:368-378.

23-Khanipour, A. and A. Valipour. 2009. Kutum jewel of the Caspian Sea. Iranian Fisheries Research Organization. Tehran. Iran:(97).

24- Khara H., Sh. Nezami, A. Saedi, Z. Mohammadi, N. Abdollahi, M. Aliniya, M. Ahmadnezhad, 2009. White fish (*Rutilus frissi kutum*, Kamenski, 1901), Parasites migrated to Shirood (Mazandaran Province). (In persian).

25-Khara, H., M. Sattari, Sh. Nezami, S. F. Mirhasheminasab, S.A. Mousavi and M. Ahmadnezhad. Parasites of some bonyfish species from the Boojagh wetland in the southwest shores of the Caspian Sea. *Caspian J. Env. Sci.* 2011, Vol. 9 No.1 pp. 47~53

26-Koyun, M. 2011. Seasonal distribution and ecology of some Dactylogyrus species infecting *Alburnus alburnus* and Carassius carassius (Osteichthyes: Cyprinidae) from Porsuk River, Turkey. *African Journal of Biotechnology* 10:1154-1159.

27-Mansell, B., M. Powell, I. Ernst. and B. Nowak. 2005. Effects of the gill monogenean *Zeuxapta seriolae* (Meserve, 1938) and treatment with hydrogen peroxide on pathophysiology of kingfish, Seriola lalandi Valenciennes, 1833. *Journal of fish diseases* 28:253-262.

28-Mazon, A., E. Monteiro, G. Pinheiro. and M. Fernadez. 2002. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Brazilian Journal of Biology* 62:621-631.

29-Mohammadi, F., S. M. Mousavi. and A. Rezaie. 2012. Histopathological study of parasitic infestation of skin and gill on Oscar (*Astronotus ocellatus*) and discus (*Symphysodon discus*). Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation 5.

30-Mumford, S. J. Heidel , Ch. Smith, J. Morrison, B. MacConnell. and V. Blazer. Fish Histology and Histopathology. July 2007. USFWS-NCTC.

31-Naderi M. and A. Abdoli, 2005. Fish species Atlas of south Caspian Sea Basin. Iranian Water. (In persian).

32-Neary, E. T., N. Develi. and G. Ozgul. 2012. Occurrence of Dactylogyrus species (Platyhelminths, Monogenean) on Cyprinids in Almus Dam Lake, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12:15-20.

33-Noor El-Deen, A. 2007. Comparative studies on the prevailing parasitic diseases in monosex tilapia and natural male tilapia in Kafr El-Sheikh Governorate Fish Farms. Ph.D. Thesis, Fac. Vet. Med., Kafr El-Sheikh University.

34-Parry, G. 1960. The development of salinity tolerance in the salmon, *Salmo salar* (L.) and some related species. *Journal of Experimental Biology* 37:425-434.

35- Pazooki J., M. Masoumian and N. Jafai, 2007. Checklist of Iranian fish parasites, Ministry of Jahad-e-Agriculture. Iranian Fisheries Research Organisation (IFRO). (In persian).

36- Poorkhaje M., R. Abdi, H. Zolgharnin, H.H.Z. Sahafi, H. Morovvati, 2012. Histology and immunolocalization of ionocyte cell in gill juvenile's grouper (*Epinephelus coioides*). Journal of Oceanography: 6. (In persian).

37-Saadatfar, Z. and D. Shahsavani. 2008. Structure of Chloride Cell in Telaji (Cyprinidae, Teleost) of Caspian Sea.

38-Saadatfar, Z., D. Shahsavani. and M. Jaafari. 2006. Chloride Cell in the Gill of White Fish, *Rutilus frissi kutum*. *Journal of Applied Animal Research* 29:153-155.

39- Sharipour I., B. Abtahi, F. Heidari, J. Seyfabadi, Z. Taghizadeh, 2012. Experimental assessment of the histological effects of water soluble fraction of crude oil on gill tissue of juvenile Caspian Sea White Fish (*Rutilus frissi kutum*). (In persian).

40-Soylu, E. 2009. Monogenean parasites on the gills of some fish

www.SID.ir

Archive of SID

species from Lakes Sapanca and Durusu, Turkey. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 4: 247–251.

41-Thophon, S., M. Kruatrachue, E. Upatham, P. Pokethitiyook, S. Sahaphong and S. Jaritkhuan. 2003. Histopathological alterations of white seabass, Lates calcarifer, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution* 121:307-320.

40-Varsamos, S., C. Nebel. and G. Charmantier. 2005.Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 141:401-429.

43-Wilson, J. M. and P. Laurent. 2002. Fish gill morphology: inside out. *Journal of Experimental Zoology* 293:192-213.

www.SID.ir