

مطالعه تغییرات ساختار بافتی پوست ماهی طلایی حوض (*Carassius auratus*) در شهرستان اهواز

سرور پیغان^{۱*}، نگین سلامات^۲

(تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۲۲)

چکیده

در پژوهش حاضر بافت شناسی پوست طبیعی و ضایعه دیده ی ماهی طلایی حوض (*Carassius auratus*) بدون در نظر گرفتن عامل بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۲۰ عدد از ماهیانی که علائم کلینیکی را نشان می‌دادند از آکواریوم‌های سطح شهر جمع‌آوری شد. مقاطع بافتی با روش معمول بافت شناسی تهیه و با میکروسکوپ نوری مطالعه گردید. نتایج نشان داد پوست طبیعی ماهی طلایی حوض شامل لایه‌های اپیدرم، درم و هیپودرم است. در اپیدرم نیز سلول‌های موکوسی، سلول‌های هشدار دهنده و سلول‌های پوششی سطحی مشاهده شدند. نتایج حاصل از بررسی نواحی آسیب دیده پوست، هیپرپلازی سلول‌های اپیدرم، کاهش لایه‌های اپیدرمی (نازک شدن اپیدرم)، تهاجم (نفوذ) لوکوسیتها در اپیدرم، تخریب و پارگی اپیدرم، هیپر تروفی سلول‌های سنگفرشی اپیدرم، پوسته پوسته شدن اپیدرم، ادم بین سلولی، خون ریزی و تغییر شکل گلبول‌های قرمز خون را نشان داد.

کلمات کلیدی: *Carassius auratus*، پوست، ساختار بافتی.

۱- کارشناس ارشد جانوران دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲- استادیار، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

* - مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Peyghan88@yahoo.com

مقدمه

گردد. این مواد شیمیایی مواد هشدار دهنده نامیده می‌شوند. در مطالعات اخیر مشخص شده که این سلول‌ها بخشی از سیستم ایمنی اولیه بشمار می‌روند و برای مبارزه با عوامل بیماری‌زا، انگل‌ها و جراحات عمومی اپیدرم مفید می‌باشند (۸).

ضایعات پوستی در ماهیان به دلایل مختلفی، شایع می‌باشد که از آن جمله می‌توان به مواردی نظیر ظرافت نسبی پوست ماهی در مقایسه با پوست پستانداران و عملکرد پوست به عنوان یک سد اسموتیک اشاره نمود. ضایعات کوچک ممکن است بطور سریع پیشرفت کرده و بویژه در ماهیان آب شیرین به یک عارضه بزرگتر تبدیل شوند. تغییرات پوستی ماهیان از عمده ترین ویژگی‌های قابل مشاهده بالینی بشمار می‌روند (۴).

به طور کلی در ضایعات پوستی، عملکرد حفاظتی پوست کاهش یافته و می‌تواند زمینه را برای ورود عوامل بیماری‌زا مستعد کرده و منجر به ایجاد عفونت ثانویه در ماهی گردد.

ماهی طلائی حوض (*Carassius auratus*) از خانواده کپور شکلان می‌باشد. این ماهی همه چیز خوار بوده و از مواد گیاهی و جانوری تغذیه می‌نماید. ماهی طلائی در آبهای ساکن و نیمه ساکن با سرعت ناچیز که پوشیده از گیاهان آبی و دارای بستر نرمی باشد، زندگی می‌کند. این ماهی دارای قدرت تحمل قابل ملاحظه‌ای در محیط زندگی بوده و می‌تواند در آبگیرهای که گیاهان آبی زیاد، کاهش شدید اکسیژن و آلودگی نسبتاً بالایی را داراست زندگی نماید (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۸۰). تکثیر و پرورش این ماهی به منظور تأمین ماهی کوچک مورد نیاز سفره هفت سین نوروزی و نیز علاقه مندان به نگهداری ماهی قرمز در آکواریوم چندین سال است که رونق یافته و نیاز به آن هر ساله بیشتر

پوست ماهیان عضوی با چندین عملکرد بوده که در شرایط محیطی طبیعی، به عنوان یک سد محدود کننده با نیازهای فیزیولوژیکی بدن ماهی تطابق یافته است (۲). اختلافات بین گونه‌ای زیادی در پوست ماهیان وجود دارد. به طور کلی پوست در ماهیان استخوانی دارای لایه‌های مختلفی شامل کوتیکول، اپیدرم، غشای پایه، درم و هیپودرم می‌باشد. اپیدرم در ماهیان شامل بافت پوششی سنگفرشی مطبق غیر شاخی (در بسیاری از گونه‌ها) می‌باشد که از لحاظ ضخامت از ۳ یا ۴ تا ۲۰ لایه سلولی متغیر است (۴).

ضخامت اپیدرم بسته به گونه‌های مختلف ماهیان، سنین مختلف، محل و حتی در مراحل مختلف چرخه جنسی متغیر می‌باشد (۲).

انواع مختلفی از سلولها در اپیدرم ماهیان وجود دارند که از آن جمله می‌توان به سلول‌های موکوسی، سلول‌های پوششی اپیدرم و سلول‌های هشدار دهنده اشاره نمود. مهمترین عملکرد پوست، ترشح موکوس است که توسط سلول‌های موکوسی انجام می‌گیرد. این ترشحات که باعث پاک شدن عوامل بیماری‌زا و عفونی از سطح پوست ماهی می‌شوند (۹)، متشکل از ترکیبات کربوهیدراته بوده و ممکن است ترکیب آنها در نتیجه آلودگی‌ها و استرس‌های محیطی تغییر یابد (۱۳). پوست همچنین نقش مهمی را در ترشح مواد زائد نیتروژن دار، عمدتاً آمونیاک و اوره، نیز ایفا می‌کند. سلول‌های پوششی سطحی ممکن است علاوه بر وظایف حفاظتی، حداقل در ماهیان استخوانی آب شیرین، در تبادل یونی بین بدن ماهی و محیط اطراف نیز دخالت داشته باشد (۳). سلول‌های هشدار دهنده که در اپیدرم بسیاری از ماهیان وجود دارند در زمان آسیب‌های پوستی که ممکن است در زمان حمله شکارچیان اتفاق بیافتد مواد شیمیایی را از خود ترشح می‌کنند که باعث فرار شکارچیان می‌

پارافینه شدند. پس از آن، قالب‌گیری نمونه‌ها و تهیه بلوک‌های پارافینی صورت گرفت. در مرحله بعد، با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌های با ضخامت ۵-۶ میکرون تهیه شده و نهایتاً با استفاده از رنگ همتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. برای مشاهده سلول‌های موکوسی نیز از رنگ‌آمیزی اختصاصی PAS استفاده شد. پس از رنگ‌آمیزی، مقاطع بافتی توسط میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین Dino lit و نرم افزار Dino capture، مورد مطالعه، عکس برداری و آنالیز قرار گرفتند.

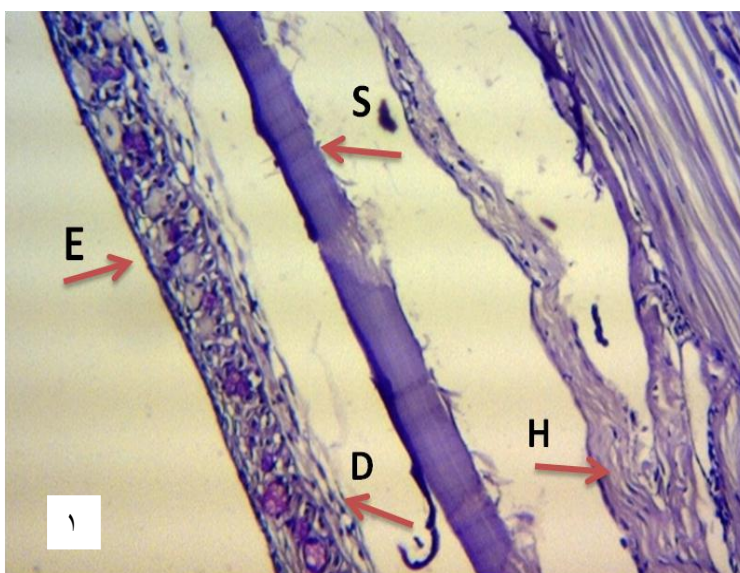
نتایج

نتایج حاصل از بررسی ماهی‌های طلایی حوض نشان داد که پوست طبیعی این ماهی شامل لایه‌های پوستی اپیدرم، درم و هیپودرم می‌باشد. در لایه اپیدرم، سلول‌های موکوسی، سلول‌های هشدار دهنده و سلول‌های پوششی سطحی مشاهده شدند (شکل ۱ و ۲).

می‌شود. هدف مطالعه حاضر بر این است که بدون در نظر گرفتن عامل ایجاد کننده ضایعات پوستی، به بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک پوست ماهی آکواریومی *C. auratus* (ماهی طلایی حوض) بپردازد.

مواد و روش کار

۲۰ قطعه ماهی *C. auratus* با علائم کلینیکی و ضایعات پوستی قابل مشاهده از آکواریوم‌های سطح شهر جمع آوری و به آزمایشگاه بافت‌شناسی انتقال داده شدند. در آزمایشگاه، ماهیان با استفاده از پودر گل میخک بیهوش شده و پس از زیست‌سنجی آنها، برش‌های از نواحی سالم و ضایعه دیده پوست به ضخامت ۱ سانتی‌متر تهیه شده و نمونه‌ها پس از تثبیت در فرمالین بافری ۱۰ درصد، با استفاده از دستگاه اتوماتیک عمل‌آوری بافت (Tissue processor)، آب‌گیری، شفاف‌سازی و



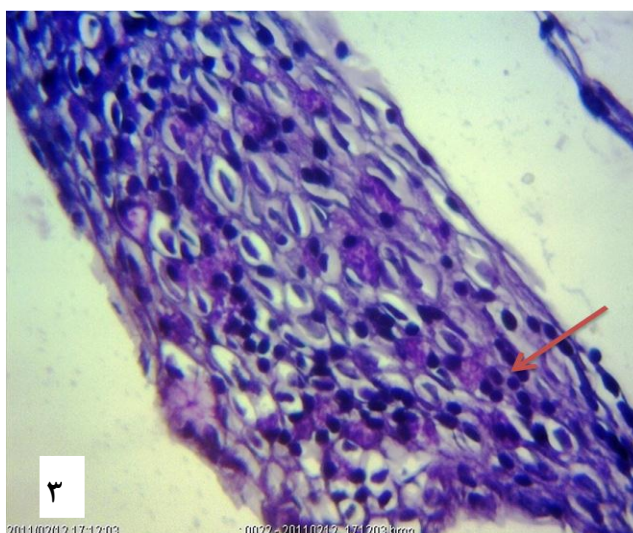
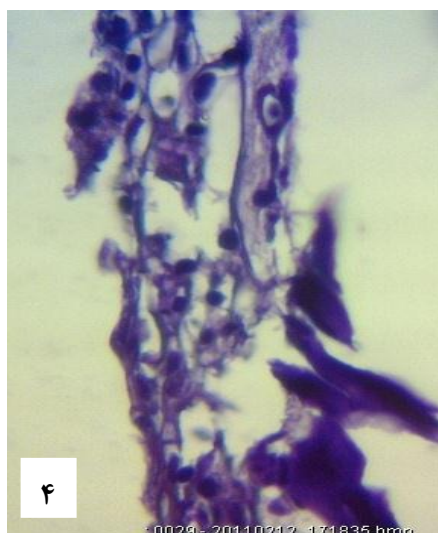
شکل ۱- تصویر پوست طبیعی ماهی *C. auratus* دارای لایه‌های مختلف پوست شامل اپیدرم (E)، درم (D)، فلس (S) و هیپودرم (H). رنگ آمیزی PAS (۱۰×).

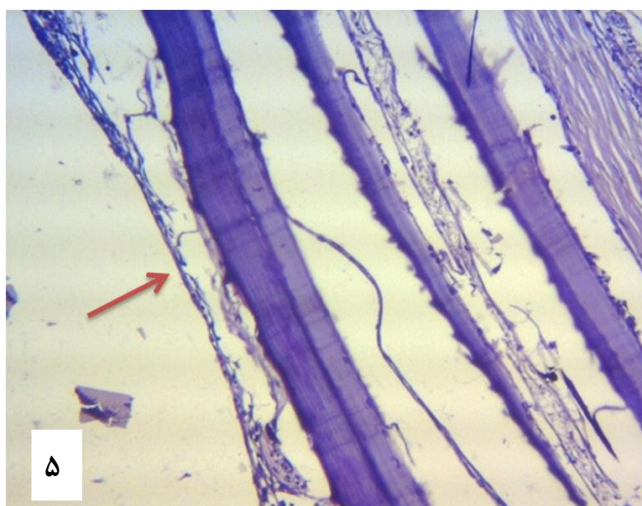


شکل ۲- تصویر اپیدرم طبیعی ماهی *C. auratus* دارای سلول‌های متفاوت شامل سلول‌های موکوسی (M)، سلول‌های هشدار دهنده (A) و سلول‌های پوششی سطحی (S)، رنگ آمیزی PAS (×۴۰).

پارگی اپیدرم، هیپرتروفی سلول‌های سنگفرشی اپیدرم، پوسته پوسته شدن اپیدرم (Desquamation) (شکل ۵)، ادم بین‌سلولی (شکل ۶)، خون‌ریزی و تغییر شکل گلبول‌های قرمز خون مشاهده گردید.

نتایج حاصل از بررسی نواحی آسیب دیده پوست نیز، تغییرات پاتولوژیک متعددی را نشان داد. در نواحی ضایعه دیده، هیپرپلازی سلول‌های اپیدرم (شکل ۳)، کاهش ضخامت لایه‌ی اپیدرم (شکل ۴)، تهاجم (نفوذ) لوکوسیتها در اپیدرم، تخریب و





شکل ۳-۲) هیپرپلازی سلول‌های پوششی و نفوذ لوکوسیتی (پیکان قرمز)؛ (۴) پارگی اپیدرم. رنگ آمیزی PAS (۴۰×).
 (۵) کاهش ضخامت اپیدرم. رنگ آمیزی PAS (۱۰×)؛ (۶) ادم بین سلولی. رنگ آمیزی H&E (۴۰×).

بحث

به طور کلی عوامل مختلفی در بروز بیماری در ماهیان دخالت دارند که از میان آنها می‌توان به عوامل محیطی نامناسب، آلاینده‌ها، بیماری‌های تغذیه‌ای و بیماری‌های عفونی در نتیجه آلودگی به باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها اشاره نمود که هر کدام می‌توانند باعث اختلال در اندام‌های مختلف ماهی گردند. پوست ماهی از جمله بافت‌های مهم محسوب می‌شود که به عنوان یک سد حفاظتی عمل می‌کند. هر گونه آسیب پوستی می‌تواند منجر به کاهش مقاومت ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا گردد (۱). بافت شناسی پوست طبیعی و همچنین ضایعات پوستی در ماهیان بوسیله محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال Halbgewachs و همکاران (۲۰۰۹) ساختار بافتی پوست ماهی قنات را، با تأکید بر سلول‌های هشدار دهنده، مورد بررسی قرار دادند. نتایج ما با گزارشات ایشان شباهت زیادی را داشت. در تحقیق حاضر عوارضی نظیر هیپرپلازی سلول‌های اپیدرم، کاهش لایه‌های اپیدرمی (نازک شدن

اپیدرم)، تهاجم (نفوذ) لوکوسیتها در اپیدرم، تخریب و پارگی اپیدرم، هیپرتروفی سلول‌های سنگفرشی اپیدرم، پوسته پوسته شدن اپیدرم، خون ریزی و تغییر شکل گلبول‌های قرمز خون، و ادم بین سلولی مشاهده گردید. El- و El-Atta (۲۰۰۸) اثر چند باکتری را بر زخم‌های پوستی ماهی تیلاپیا بررسی نمودند و ضایعاتی همچون پوسته پوسته شدن اپیدرم، هیپرپلازی سلول‌های موکوسی و هشدار دهنده، خون ریزی و افزایش غیر طبیعی لنفوسیت‌ها را گزارش نمودند. این محققین بیان نمودند که همه این عوارض پاسخ ایمنی پوست ماهی در مقابل اثر سمی آنزیم‌های ترش‌حی باکتریها می‌باشند. Kiryu و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی اثر هاگ‌های قارچ *Aphanomyces invadans* بر زخم‌های پوستی ماهی Menhaden اقیانوس اطلس، افزایش غیر طبیعی لکوسیت‌ها و خون ریزی را مشاهده نمودند. Santos و Pacheco (۲۰۰۲) اثر آلاینده‌های محیطی (آلاینده‌های آلی) را بر اپیدرم مارماهی اروپایی *Anguilla anguilla*

معمولاً عوامل بیماری زا در ماهیان می توانند باعث ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک متعددی شوند. هدف از انجام این مطالعه بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک ماهی طلایی حوض بدون در نظر گرفتن عامل بیماری زا بود. در مطالعات بعدی سعی بر این است که به بررسی ضایعات با توجه به عوامل بیماری زا بپردازیم.

تشکر و قدردانی

از احسان رومیانی به دلیل همکاری های بی-دریغشان و همچنین کارشناسان محترم آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر سعیده حیدری نژاد، پوریا واعظ نیا و زهرا سلیمانی کمال تشکر را داریم.

L. مطالعه نموده و مانند تحقیق حاضر عوارضی همچون کاهش ضخامت اپیدرم، پوسته پوسته شدن و پارگی اپیدرم را مشاهده کردند. علاوه بر این در این پژوهش اثر آلودگی با انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس نیز، هیپرپلازی سلول های اپیدرمی گزارش شد. Howard و همکاران (۱۹۷۱) اثر آلاینده های آلی را بر آزاد ماهی کوهو (coho salmon) مورد مطالعه قرار دادند و نازک شدن اپیدرم را مشاهده نمودند. Akhlaghi و Mahjor (۲۰۰۴) نیز در بررسی اثر استریتوکوک بر روی بافت های مختلف قزل آلی رنگین کمان، افزایش غیرطبیعی در سلول های موکوسی اپیدرم را گزارش نمودند.

به طور کلی عوامل متعددی از جمله عوامل عفونی و غیر عفونی می توانند باعث ایجاد اختلال در سیستم ایمنی ماهی و بدنبال آن بیماری شوند.

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق. ۱۳۸۵. مدیریت بهداشتی و روش های پیشگیری و درمان بیماری های ماهی. انتشارات پریور. چاپ دوم. صفحات ۱۶-۱۳.
- ۲- پیغان، ر. مهجور، ا. ۱۳۸۶. آسیب شناسی ماهی تالیف روبرتس رونالد ژ. انتشارات دانشگاه شهید چمران. صفحات ۴۰ و ۱۷۱.
- ۳- ستاری، م. ۱۳۸۵. ماهی شناسی. جلد اول. تشریح و فیزیولوژی. انتشارات حق شناس. صفحات ۶۲-۵۸.
- ۴- شاهسونی، د. موقی، ا. ۱۳۸۱. آسیب شناسی سیستمیک ماهی تالیف فرگوسن هیو دلبیو. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات ۷۴-۷۳.
- ۵- صیاد بورانی، م. نظامی، ش. حسن زاده کیایی، ب. ۱۳۸۰. زیست سنجی و پویایی جمعیت ماهی کاراس تالاب انزلی. مجله علمی شیلات. سال دهم، شماره ۳. صفحات ۷۰-۵۷.
- 6- Akhlaghi, M., Mahjor, A.A., 2004. Some histopathological aspects of streptococcosis in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bulletin of European Association of Fish Pathologists. 24:132-136.
- 7- El-Atta, M.E.A., El-tantawy, M.E., 2008. Bacterial causes of skin ulcers affection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) with special referances to its control. International Symposium on Tilapia in Aquaculture: 1419-1435.
- 8- Halbgewachs, C., Marchant, T.A., Kusch, R. C., Chivers, D.P., 2009. Epidermal club cells and the innate immunesystem of minnows. Biological Journal of the Linnean Society. 98: 891-897.
- 9- Hellio. C., Pons, A.M., Beaupoil, C., Bourgougnon, N. and Le Gal Y., 2002. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. International Journal of Antimicrobial Agents. 20: 214-219.

- 10- Howard, T.E., McLeay, D.J. and Walden C.C., 1971. Sub-lethal effects of bleached kraft mill effluents to fish. CPAR Project Report 9-2, Pulp and Paper Pollution Abatement, Ottawa, Canada. pp: 63.
- 11- Kiryu, Y., Shields, J.D., Vogelbein, W., Zwerner D.E. and Kator H., 2002. Induction of Skin Ulcers in Atlantic Menhaden by Injection and Aqueous Exposure to the Zoospores of *Aphanomyces invadans*. *Journal of Aquatic Animal Health*. 14:11-24.
- 12- Pacheco, M. and Santos, M.A., 2002. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 53: 331-34.
- 13- Zaccone, G., Kapoor, B.G., Fasulo, S. and Ainis S., 2001. Structural, Histochemical and Functional Aspects of the Epidermis of Fish. *Advances in Marine Biology*. 40:254-348.

