



دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی
گروه زیست شناسی دریا

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی دریا گرایش جانور شناسی دریا

**تغییرات هیستوفیزیولوژیک سلولهای ترشح کننده موکوس پوست ماهی کفشک
راست گرد طی دوره های تولید مثلی و استراحت**

اساتید راهنما:

پروفسور احمد سواری
پروفسور نعیم عرفانی مجد

اساتید مشاور:

دکتر نگین سلامات
دکتر بیتا ارچنگی

پژوهشگر:

سارا ارتفاعات

بهمن ۹۰

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱- مقدمه

در خلیج فارس ۶۰۰ گونه ماهی وجود دارد که کفشک ماهیان به عنوان یکی از گونه های مهم اقتصادی محسوب می شود. این ماهیان از نظر مرفولوژی، عملکرد و ترکیبات ساختاری ارگان ها تفاوت هایی دارند تا بتوانند نیاز هر گونه را بر آورده سازند از جمله تغییرات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی ارگان ها در طی دوره های مختلف تولیدومثلی می باشد که گناد یکی از این ارگان ها است و تغییرات ساختاری در طی دوره های تولیدومثلی را به وضوح نشان داده و در نهایت منجر به تغییراتی در اندام هایی مانند ساختار پوست و ترکیب موکوس مترشحه از آن می شود.

پوست به عنوان یک ساختار کلیدی در مطالعات آناتومی ماهی مطرح بوده و نقش تعیین کننده ای در دینامیک شنای ماهی و حفظ ثبات محیط داخلی بدن دارد (حمیدیان، ۱۳۸۲). شرایط و ساختار طبیعی پوست در روند بسیاری از بیماری ها حائز اهمیت می باشد (Roberts, 2001) از طرفی کلیه مطالعات آسیب شناسی، فیزیولوژیک، فارماکولوژیک و تشخیص بیماری ها بر اساس ساختمان طبیعی اندام ها ملاحظه و سنجیده می شود (Takashi and Hibiya, 1994; Van Duijn, 2000). بنابراین اطلاع از ساختمان بافت شناسی پوست ماهی بخصوص برای تشخیص کلینیکی بیماریها به دلیل معمول و متداول بودن آزمایشات سیتولوژیک از نمونه های پوستی واجد اهمیت خاصی می باشد (Stoskopf, 1993). علاوه بر این، پوست ماهی بیش از ۱۰٪ وزن بدن را به خود اختصاص داده (Takashi and Hibiya, 1994; Mittal, 1997) و از نظر محتوی پروتئین، میزان

پروتئین موجود در پوست و عضله برابر می باشد بدون اینکه از این میزان زیاد پروتئین در صنایع فرعی شیلاتی استفاده شود.

لذا با توجه به عدم دسترسی به اطلاعات جامع علمی در خصوص ساختار بافت شناسی پوست طبیعی ماهی کفشک راست گرد^۱ (*Euryglossa orientalis*) که یکی از ماهیان با ارزش اقتصادی در خلیج فارس می باشد، و به خصوص سلولهای ترشح کننده ی موکوس^۲ به عنوان سد دفاعی که در بیماری ها مورد آسیب قرار می گیرد، به خصوص در این ماهی که از خود موکوس زیادی تولید می کند، ضرورت انجام مطالعه ای متمرکز با هدف شناخت و تعیین ساختار بافت شناسی پوست ماهی کفشک راست گرد ضروری به نظر می رسد، در این راستا، تحقیق حاضر به بررسی پراکندگی سلولهای ترشح کننده موکوس که قسمتی از سیستم ایمنی بدن در برابر عوامل بیماری زا می باشد در دو فصل تولیدومثلی و زمان غیر تولیدومثلی پرداخته می شود، چرا که در زمان تولیدومثلی سیستم ایمنی بدن دستخوش تغییراتی می گردد که این تغییرات بر روی پراکندگی سلولهای ترشح کننده موکوس، میزان موکوس ترشحی به عنوان قسمتی از سیستم ایمنی بدن تاثیر می گذارد، علاوه بر این مقالات و گزارش های زیادی در رابطه با تغییرات فصلی اپیدرم در هر دو جنس نر و ماده وجود دارد که در قسمتهای مختلف دنیا کار شده و در داخل نیز کاری بر روی ماهی آب شیرین انجام شده و تاکنون در این زمینه در رابطه با ماهیان خلیج فارس کاری انجام نشده، لذا در این تحقیق از ماهی با ارزش و اقتصادی کفشک راست گرد از خلیج فارس استفاده شد.

۲- اکو بیولوژی کفشک راست گرد

کفشک ماهیان برای زندگی در کف بسترها سازگاری دارند. چشم های کفشک ماهیان پس از مرحله لاروی در یک طرف بدن قرار می گیرد، اگر در سمت راست بدن باشد راست گرد و اگر در طرف چپ بدن واقع باشد چپ گرد نامیده می شود. فلس های آنها گرد یا شانه ای یا هر دو نوع فلس را بر روی بدن دارند (شکل ۱-۱) (Brewster, 1987). غالباً دریا زی بوده و در مصبها دیده می شوند و گونه های اندکی از آنها در آب های شیرین یافت می شوند بیشتر در اعماق ۲۰۰-۱۰ متر زندگی می کنند (Randall, 1995). رژیم غذایی گوشتخواری داشته (Yazdani, 1969)، و عمدتاً از بنتوزهای بی مهره تغذیه می کنند (Cabanban, 1991). همچنین با توجه به اینکه ناحیه شمال خلیج فارس از نظر تولید بنتوز داری وضعیت خوبی است بنابراین شرایط

¹ - sole

² - mucous secreting cells

زیستی (از نظر تغذیه ای) مناسبی برای این گونه وجود دارد (نیلساز و همکاران، ۱۳۸۰؛ سبز علیزاده و همکاران، ۱۳۸۴).

ویژگی های رشد جمعیت های ماهیان پهن مشکلاتی را در تکثیر و پرورش اقتصادی آنها به وجود آورده و لازمه آن تلاش گسترده در کاهش تفاوت رشد فردی آنها می باشد (Bengtson, 1999; Gavlik *et al*, 2002). کفشک ماهیان دو جنسی بوده (جنس نر و ماده مجزا می باشد) و در مناطق دور از ساحل تخم ریزی نموده و اکثراً تخم های پلاژیک تولید می کنند (Rijnsdorp, 1994).

کفشک ماهیان در مناطق مختلف جغرافیایی پخش و پراکنش دارند که بیشترین آنها در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری (۷۴ درصد) و مابقی در مناطق معتدله زیست می نمایند (Gibson, 2005)، بطوریکه بیشترین تنوع و بزرگترین جمعیت ها و عمده گونه های اقتصادی ماهیان پهن در نواحی گرمسیری، به نواحی بزرگ و مجاور رسوبات گلی، شنی و کربنات کلسیمی خطوط ساحلی تا اعماق ۵۰ متری در بخش داخلی فلات قاره مربوط می شود (Longhurst and Pauly, 1987). تقریباً ۳۰ درصد از کل نواحی فلات قاره، در سر تا سر اقیانوس های نواحی گرمسیری یافت می شوند که بسیاری از نواحی فوق با بستر نرم پوشیده شده است و ماهیان پهن غالباً زیستگاههایی با بستر نرم را ترجیح می دهند (Longhurst and Pauly, 1987). در خلیج فارس این ماهیان در قسمت شرقی خلیج فارس تا بوشهر می باشد (Fish base, 2010).

فقط بخش کوچکی از ماهیان پهن نواحی گرمسیری دارای ارزش اقتصادی جهت عرضه به بازار و مصرف انسانی هستند به عنوان مثال از ۷۷ گونه ماهیان پهن موجود در اقیانوس هند فقط کفشک مالاربا (*Cynoglossus macrastamus*) یک گونه مهم صیادی محسوب می شود (Rajaguru, 1992). مقدار صید جهانی ماهیان پهن بیش از ۱۰ میلیون تن در سال طی چند دهه بوده است (Garcia and Newton, 1997)، اما با نگاهی به تاریخچه صید و صیادی و آمار و ارقام نشان می دهد که هر سال صید این ماهیان نیز رو به فزونی است اما چون کفشک ماهیان عمدتاً به عنوان صید ضمنی در ترال میگو و ماهی صید می شوند و عموماً هدف فعالیت صیادی نیستند، لذا می توان نادر بودن مطالعات بر روی ماهی کفشک راست گرد به ویژه در خلیج فارس را به صید ضمنی این ماهی ارتباط داد (ولی نسب و همکاران، ۱۳۷۵).

۲-۱- طبقه بندی کفشک راست گرد (Nelson, 1994)

راسته کفشک ماهی شکلان^۱ با دارا بودن ۶ خانواده، ۱۱۷ جنس و ۵۳۸ گونه از نظر تنوع یکی از متنوع ترین راسته های ماهیان محسوب می شوند (Nelson, 2006) و تعدادی از ماهیان پهن که دارای ارزش غذایی هستند و به بازار ارائه می شوند عبارتند از په لیس^۲، کفشک ماهی راست گرد، کفشک، ماهی هالیبوت و توربوت می باشد.

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclass: Gnathostoma

Class: Osteichthyes

Subclass: Actinopterygi

Order: Pleuronectiformes

Suborder: Pleuronectoidei

Family: Soleidae

Genus: Euryglossa

Species: *Euryglossa orientalis* (Sole)



شکل ۱-۱ ماهی کفشک راست گرد (*Euryglossa orientalis*) (برگرفته از Fish base, 2010)

^۱ - Pleuronectiformes

^۲ - Plaice

۱-۳- بافت شناسی پوست ماهی

پوست تمام مهره داران، از دو لایه تشکیل شده است که شامل لایه خارجی به نام اپیدرم و لایه داخلی به نام درم یا کوریوم است. منشاء و ساختار این دو لایه و همچنین وظایف آنها با یکدیگر متفاوت است. در ماهیان نیز علی رغم وجود اختلافات بسیار زیاد در جزئیات، ساختار عمومی پوست تقریباً در تمام ماهیان مشابه بوده و اساساً از دو لایه اصلی اپیدرم و درم تشکیل شده است (ستاری، ۱۳۸۲).

۳-۱- اپیدرم

اپیدرم ماهی، یک بافت پوششی سنگفرشی مطبق که از لایه‌ی اکتودرم جنین منشاء گرفته است، اپیدرم در بسیاری از ماهیان شناخته شده، بسیار نازک و از ۱۰ تا ۳۰ لایه‌ی سلولی با ضخامت متوسط حدود ۲۵۰ میکرون تشکیل شده (در بیشتر گونه‌ها، اپیدرم از درم نازک تر است). در ماهی اسبک دریا و گونه‌های وابسته، تنها ۲ تا ۳ لایه سلولهای اپیدرمی بر روی زره آنها وجود دارد به طوری که ضخامت اپیدرم در این ماهیان حدود ۲۰ میکرون است، نقطه مقابل، اپیدرم لب‌های تاس ماهیان با ضخامت بیش از ۳ میلی متر می باشد (ستاری، ۱۳۸۲) و همچنین ضخامت پوست در کوسه ماهی به حدی است که از آن برای تولید چرم استفاده می کنند (Elliott, 2000). بنابراین ضخامت اپیدرم، ساختار و نوع سلولهای موجود تحت تاثیر اندازه، شرایط محیطی، جنسیت، میزان بلوغ جنسی، گونه‌ی ماهی، سن نواحی مختلف بدن متفاوت است. علاوه بر این، کمبودهای غذایی، وجود عوامل بیماری زا، شیوه‌های دستکاری ماهیان و سایر عوامل ایجاد کننده استرس می توانند ساختار و ترکیب سلولی اپیدرم را تحت تاثیر قرار دهند. این تغییرات خصوصاً در بین ماهیانی که در شرایط اسارت نگهداری می شوند، قابل توجه است. غالباً در ماهیان پلاژیک، اپیدرم در نواحی پشتی بدن ضخیم تر از سایر قسمت‌ها است اما عموماً در ماهیان کفزی، اپیدرمی که سطوح شکمی را می پوشاند ضخیم تر است (ستاری، ۱۳۸۲)، در بعضی گونه‌ها مانند آزاد ماهیان، اپیدرم در نواحی فاقد فلس مانند نوک سر و باله‌ها، نسبت به نواحی فلس دار ضخیم تر است (Ferguson, 1989) در مقایسه‌ی ضخامت پوست در یک قزل آلا‌ی رنگین کمان^۱ یک کیلوگرمی (۱/۲ میلی متر) با ضخامت آن در یک گربه ماهی روگاهی^۲ یک کیلوگرمی (۱/۰۲ میلی متر) دیده می شود که ضخامت پوست تقریباً برابر است اما ضخامت لایه اپیدرم در گربه ماهی روگاهی (۰/۵ میلی متر) که به مراتب بیشتر از ضخامت همین لایه در قزل آلا‌ی رنگین کمان (۰/۰۶ میلی متر) می باشد، زیرا در ماهیان فلس دار مانند قزل آلا به خاطر حفاظت ایجاد شده به وسیله فلس، نیاز کمتری به اپیدرم ضخیم است و از سویی به علت نیاز جیب

^۱ - rainbow trout

^۲ - channel catfish

های فلسی به فضای بیشتر، درم در این ماهیان ضخیم تر است و برعکس در ماهیان فاقد فلس نظیر گربه ماهی وجود یک اپیدرم ضخیم با تعداد زیادی سلول جامی شکل^۱ و گریزی شکل^۲ جهت حفاظت بهتر از سطح پوست مورد نیاز است و در مقابل یک درم نازک مورد قبول می باشد زیرا شکل گیری یا ایجاد فلس مورد نظر نیست (Grizzle, 1976; Amin *et al*, 1992).

اپیدرم ماهی در مقایسه با اپیدرم پستانداران، فعالیت متابولیکی و سوخت و سازی خود را در همهی لایه‌ها حفظ می کند (Shúilleabháin *et al.*, 2006) و تولید لایه‌های شاخی سطحی که ویژگی مهره داران خشکی است، در بین ماهیان به ندرت دیده می شود.

اگرچه لایه‌ی نازک اپیدرم که تنها چند لایه ی سلولی دارد نسبتاً ساده است، اما اپیدرم های ضخیم تر ممکن است حاوی پایانه های عصبی و سلولهای رنگدانه ای باشند. در اپیدرم معمولاً رگ‌های خونی وجود ندارد و مواد مغذی از طریق انتشار به داخل ماتریکس بین سلولی راه می یابند. ماتریکس مذکور سلولها را در کنار هم نگه می دارد. غالباً پل‌های پروتوپلاسمی، سلولهای اپیدرمی را به یکدیگر ارتباط می دهند (ستاری، ۱۳۸۲).

تنوع و گوناگونی زیادی از نظر نوع سلول در اپیدرم دستجات مختلف ماهیان مشاهده می شود، از جمله ی این سلولها، ۱- سلول های پوششی^۳ (اپی تلیال): که سلول عمومی اپیدرم ماهیان می باشد و برخلاف سلول پوششی اپیدرمی پستانداران، سلول معادل در ماهیان استخوانی عالی از نظر سوخت و ساز، فعال بوده و در سرتاسر لایه های اپیدرم قادر به انجام تقسیمات میتوزی است هر چند که فعالیت میتوزی، بیشتر در لایه های پایین تر دیده می شود. در بین ماهیان فاقد آرواره‌ی اولیه (هاگک فیش ها و لامپری ها) نیز سلولهای پوششی در سرتاسر اپیدرم فعال هستند، اما به نظر می رسد که فعالیت میتوزی به لایه‌های پایین تر محدود می شود (Zaccone *et al*, 2001)

۲- سلولهای شیپوری^۴: این سلولها مواد زیان آور تولید می کنند که ممکن است به دفع کردن، مسموم کردن موجودات زنده‌ی ریز بیماری‌زا و همچنین عوامل شکارچی بالقوه کمک کند. انواعی از ماهیان سمی مانند ماهیان بادکنکی^۵ و جعبه ماهیان، سلولهای شیپوری را در پوست خود دارند (Zaccone *et al*, 2001). ۳- سلولهای زهری^۶: ماهیان زهر دار دارای غدد هولوکراین چند سلولی مرتبط با خارهای خود هستند که اندام های دفاعی آنها را تشکیل می دهند. این غدد اجتماعی از سلولهای زهری متورم و پراکنده به همراه سلولهای حمایتی کوچک تر

1 - goblet cells

2 - club cells

3 - epithelial

4 - sacciform cells

5 - blow fishes

6 - venom

تشکیل شده اند که به چسبندگی غدد کمک می کنند و هنگامی که سلولهای زهری تخلیه شدند، امکان جابه جایی آنها را فراهم می آورند. غدد زهری ممکن است به طور کامل یا ناقص توسط کپسولی از بافت هم بند از اپیدرم جدا شده باشند، اما اعتقاد بر این است که سلولهای زهری و حمایت کننده از اپیدرم نشأت گرفته اند (Whitear, 1986). معمولاً زهر آلود کردن، از طریق پاره شدن پوشش اپیدرمی نوک خار و رها شدن به داخل زخم حاصل از خار روی می دهد. ۴- اپیدرم حاوی گلبول های سفید (که شامل لنفوسیت هاست)، بیگانه خوارها و انواع مختلفی از گرانولوسیت هاست. گلبول های سفید بیشترین وفور را در بین سلولهای اپیدرمی ورقه قاعده ای یا در بالای آنها دارند اما می توانند در هر سطحی از اپیدرم دیده شوند و ممکن است در سطح سلول آسیب دیده قرار گیرند. تعداد گلبولهای سفید در اپیدرم در خلال التیام زخم ها، بیماری های عفونی معین یا مواجهه با آلاینده ها یا سایر عوامل استرس زا، به میزان زیادی افزایش می یابد (Zacccone et al, 2001). ۵- سلول جامی، ۶- سلول گزری

۱-۳-۱-۱ سلولهای جامی شکل

بعضی از سلولهای اپیدرمی، غدد برون ریز و تک سلولی هستند که موکوس ترشح می کنند و پوشش لزج سطح بدن ماهیان را به وجود می آورند (Whitear, 1986). این سلول که جزء دستجات ثانویه ی سلول ترشحی در پوست ماهی محسوب می شود (Mittal, 1997)، در بافت های پوششی درونی ماهی دیده می شود و تقریباً به استثنای چند مورد، به طور عمومی در پوست ماهی یافت می شود. سلول های جامی شکل به طور متعارف در ماهیان سلاچی^۱ غضروفی، ماهیان استخوانی بازمانده^۲ مانند ماهیان شش دار (دو دمی) و ماهیان راسته پلی پتریفورمس و همچنین، در بسیاری از ماهیان استخوانی عالی وجود دارد، اما در بعضی ماهیان مانند ماهی استخوانی بازمانده به نام پولیودون^۳ و ماهی ماداسکیپر (جست و خیز کننده در گل) به نام پریوفتالموس^۴ دیده نمی شود (Park, 2002).

اپیدرم لامپری فاقد سلولهای جامی شکل است. تولید موکوس در لامپری، به طور کامل توسط سلولهای پوششی صورت می گیرد که گاهی اوقات به آنها سلولهای موکوسی می گویند. برعکس، خصوصیات ریخت شناسی سلولهای موکوسی بزرگ هاگ فیش ها به نحوی است که آنها را می توان به عنوان سلولهای جامی شکل محسوب کرد (Suzuki, 1992).

¹ - selachian

² - relict

³ - polydon

⁴ - periophthalmus

غالباً سلولهای جامی شکل در لایه های میانی تا خارجی تر اپیدرم شناسایی می شوند اما در یک اپیدرم بسیار نازک، قاعده‌ی یک سلول جامی شکل بالغ ممکن است بر روی غشای پایه قرار داشته باشد (Stoskopf, 1993). شواهد حاکی است که سلولهای جامی شکل در لایه های پایین تر اپیدرم، از سلول های پوششی تمایز حاصل می کنند و همچنین سلولهای جامی متمایز شده مجدداً تمایز نمی یابند (Roberts, 2001). سلولهای جامی نابالغ، گرد هستند اما هنگامی که به سمت سطح اپیدرم حرکت می کنند، از طرفین پهن می شوند و معمولاً اندازه آنها افزایش می یابد. معمولاً هنگامی که ترشحات موکوسی کامل و آماده می شوند، هسته و اندامچه ها به سمت قاعده‌ی سلول جا به جا می شوند. با این وجود، در هاگک فیش ها، هسته دچار استحاله شده و در مرکز سلول قرار می گیرد در حالی که در مراحل اولیه، این هسته در اطراف قرار داشته است. سلول جامی پس از رسیدن به سطح، پدیدار می شود (معمولاً بین سلولهای پوششی مجاور خود قرار می گیرد). غشای سلولی از نقطه‌ی راسی پاره شده و محتویات سلول آزاد می شود و سپس سلول می میرد. غالباً سلول های جامی فرسوده که ترشحات خود را آزاد کرده اند، در مقاطع بافت شناسی مشاهده می شوند (Mittal, 1997; Roberts, 2001; Stoskopf, 1993).

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی، هسته های سلول جامی، فاقد چین خوردگی گسترده ای هستند که در هسته سلول های پوششی دیده می شود. اگرچه اتصالات بین انگشتی¹ بسیاری بین غشاهای پلاسمایی سلولهای جامی و سلولهای پوششی مجاور آنها ایجاد می شود، اما وجود دسموزوم نسبت به سلولهای پوششی مجاور در آنها کمتر متداول است. معمولاً سلولهای جامی دارای شبکه آندوپلاسمی ریبوزومی فراوان و دستگاه های گلژی برجسته و واضح هستند هنگامی که سلولهای جامی شروع به حرکت به سمت سطح اپیدرم می کنند، تعداد واکوئل های ترشچی افزایش می یابد. زمانی که سلول به سطح می رسد، پر از وزیکول های ترشچی شده است که شکل، تراکم الکترونی و طرح و الگوی قرار گرفتن آنها بر اساس گونه‌ی ماهی، متفاوت است (Mittal, 1997). هر یک از وزیکول های ترشچی ممکن است به صورت دست نخورده بر روی سطح اپیدرم ریخته شوند یا اینکه غشاهای وزیکولی هم زمان با پاره شدن غشای سلول، پاره شده و ترشحات آنها خارج شود.

و فور و اندازه‌ی سلول های جامی در نواحی مختلف بدن یک ماهی یا حتی در نواحی اپیدرمی که یک عدد فلس را می پوشاند، متفاوت است. توزیع و انتشار اختصاصی سلولهای جامی، کمک می کند تا مطمئن شویم که حداقل یک لایه از موکوس بر روی سطح ماهی در حال حرکت وجود خواهد داشت یا برای کاهش اصطکاک بین فلس های هم پوشان در خلال خمیده شدن بدن ماهی، موثر واقع خواهد شد (Zaccone et al, 2001).

¹ - interdigitate

تعداد سلولهای جامی ممکن است در بین جنس های نر و ماده‌ی یک گونه ماهی متفاوت باشد چنان که این امر در مورد بعضی از آزاد ماهیان صادق است. وفور سلولهای جامی ممکن است بر اساس فصل و همچنین در خلال فرایندهای دگرذیسی نوزادان، بلوغ جنسی یا سازگاری با آب دریا نیز تغییر کند. بعضی از این تغییرات ممکن است تحت کنترل هورمونی باشند اما نتایج متناقضی نیز گزارش شده است (Mittal, 1997).

تغییرات شرایط محیطی مانند تغییرات ناگهانی دما یا مواجهه با اشعه‌ی فرابنفش، آب اسیدی یا آلاینده ها نیز می توانند بر روی تعداد سلول های جامی موجود تاثیر بگذارند (Kaweewat, 1997). برای مثال، مواجهه حاد با یک ماده‌ی محرک ممکن است سریعاً باعث ترشح سلول های جامی به صورت هولوکیرین (تخلیه‌ی کل محتویات سلول که با مرگ آن نیز همراه است) و متعاقباً کاهش تعداد آنها شود در حالی که مواجهه‌ی مزمن با یک ماده محرک ممکن است منجر به افزایش تعداد سلول های جامی شود زیرا سلول های جدید تفکیک و تمایز می یابند و به سمت سطح اپیدرم حرکت می کنند. در بعضی از موارد حتی یک عامل استرس زای ملایم مانند دست کاری یک ماهی (با تور) ممکن است باعث افزایش تعداد سلول های جامی اپیدرمی شود. مواجهه با مواد سمی، درمان بیماری ها یا سایر عوامل استرس زا نیز اندازه یا ریخت شناسی سلولهای جامی را تغییر می دهند و می توانند منجر به تغییر ترکیب شیمیایی ترشحات تولیدی شوند (Mc Kim, 2001).

۱-۳-۱-۲ سلولهای گریزی

این سلولها حاوی یک ماده‌ی شیمیایی (فرمون) هشدار دهنده هستند که هنگامی که اپیدرم آسیب می بیند یا این سلولها شکسته می شوند، به داخل آب اطراف آزاد می شود و غالباً حتی هنگامی که یک جراحت کوچک به سلولهای اپیدرم شکنده‌ی آنها وارد می شود، این امر صورت می گیرد و دیگر ماهیان از طریق بوییدن به وجود این مواد پی می برند و واکنش دفاعی در مقابل عوامل شکارچی از خود نشان می دهند (برای مثال، به صورت فشرده در اجتماعات خود جمع می شوند، یا به داخل مخفی گاه شیرجه می زنند یا اینکه بی حرکت باقی می مانند. دیگر وظایف سلول های گریزی عبارتند از کمک به بستن جراحات پوست، ترشح مواد شیمیایی که به عنوان بازدارنده عوامل شکارچی به حساب می آیند یا مواد حفاظتی در مقابل انگل ها تولید می کنند (Smith, 1977).

۳-۱-۲- موكوس

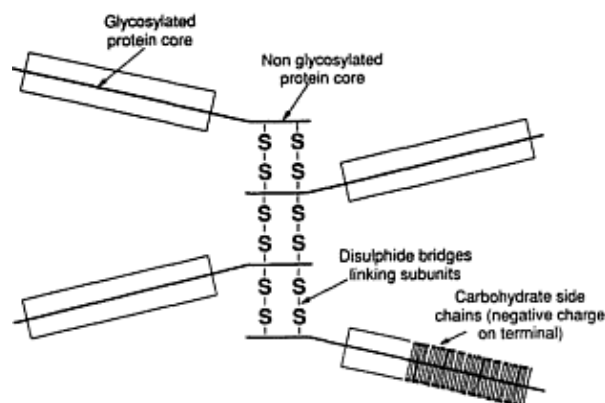
پوست ماهی یک اندام پیچیده می باشد و این پیچیدگی در ساختار، منشاء و عملکرد آن وجود دارد، اپیدرم با ترشح موكوس در سلامتی ماهی و فراهم نمودن یک پوشش به عنوان سد در مقابل تاخت و تاز و هجوم عوامل بیماری زا نقش دارد، درم با داشتن فلس ها، نقش زره پوستی را ایفا می کند و نگهدارنده پوشش است و هیپودرم محتوای چربی است و سبب اتصال درم به ماهیچه می گردد.

موكوس ترشحي از اپیدرم پوست، ترشحاتی روشن و چسبناک بوده که از غده ای تک سلولی ترشح می شود که در این غده که همان سلول های جامی شکل هستند، توسط دستگاه گلژی ساخته می شود و تحت کنترل اندوکرین است. دلیل اینکه غده ی ترشح کننده ی موكوس تک سلولی می باشد این است که قرار گرفتن یک غده ی پیشرفته بر روی سطح فلس دار مشکل می باشد. موكوس شامل گلیکوپروتئین (گلیکوپروتئین شامل گلیکوژن و آمین به طوریکه گروه پروتئینی به عنوان هسته ی مدل و کربوهیدراتها، زنجیره ی جانبی را تشکیل می دهند که به این مدل مدل مسواکی^۱ گفته می شود و کربوهیدراتها فرچه های مسواک را شکل داده اند) و اسید سیالیک (یک پلی ساکارید شبیه خانواده نشاسته، گلیکوژن و مانند N-استیل نورامیک اسید (NANA) که به گروه های انتهایی متصل می شوند) (شکل ۱-۲) می باشد. برای مثال کربوهیدراتهای لازم برای زنجیره ی جانبی گلیکوپروتئین های موجود در موكوس ماهی آزاد اطلس عبارتند از مانوز، فوکوز، گلوکز و گالاکتوز به همراه مونوساکارید اسید سیالیک که برای تشکیل NANA به عنوان زنجیره ی جانبی نهایی خیلی مهم است، و همین طور لازم به ذکر است که باید گفت غلظت n-استیل نورامیک اسید به عنوان یک روش متداول در تخمین تولید موكوس پوست مار ماهی اروپایی^۲ (*Anguila anguila*) کاربرد دارد (Oliverau and Lemoine., 1971). کربوهیدرات های زنجیره ی جانبی می تواند بین گونه ها و بین موسین قسمت های مختلف بدن ماهی متفاوت باشد اما اسید سیالیک همیشه در قسمت انتهایی زنجیره قرار دارد به طوریکه pK_a مربوط به اسید سیالیک^۳ می باشد و آن در pH محیط کاملاً یونیزه خواهد شد، بنابراین موكوس نزدیک به سطح بدن کاملاً چسبناک می شود ولی در فاصله ی بیشتری از پوست، چسبناکی مخاط کمتر خواهد بود و کمتر متمرکز شده است. تغییرات در ساختار موسین به وسیله ی عوامل بیماری زا یا تغییرات محیطی می تواند بر روی چسبندگی موكوس و عمل حفاظتی آن تاثیر بگذارد (Mc Kim and Lien., 2001).

^۱ - bottle brush

^۲ - European eel

^۳ - ثابت یونیزاسیون



شکل ۱-۲ ساختار گلیکوپروتئین موجود در موکوس اپیدرم (Olivereau and Lemoine., 1971)

ترشح شدن موکوس توسط اپیدرم پوست مشخصه‌ی همه‌ی ماهی‌های استخوانی و تعداد زیادی از دیگر مهره داران آبی می باشد و در دیگر مهره داران وجود ندارد (Pickering, 1973) و اولین سد در برابر عوامل آلوده کننده‌ی ماهی از قبیل باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها و پروتوزوآها می باشد. این سطوح هم به صورت سدهای فیزیکی و هم با داشتن عوامل ضد میکروبی به عنوان سد شیمیایی عمل می کنند (Bols *et al.*, 2001). سرعت تولید موکوس به دو متغیر وابسته است: ۱ - غلظت سلول های موکوسی در اپیدرم ۲- سرعت تغییر و تبدیل این سلول ها (Pickering, 1973) همچنین ترکیب و سرعت ترشح موکوس در پاسخ به میکروب موجود با توجه به آشفستگی محیطی از قبیل اسمولاریته‌ی بالا و اسیدیته تغییر می کند. خاصیت ضد میکروبی موجود در موکوس اپیدرم بر علیه پاتوژن های عفونی برای اولین بار در قزل آلای رنگین کمان به اثبات رسید (Subramanian *et al.*, 2008). به طور خلاصه می توان حداقل سه وظیفه‌ی مختلف را به موکوس یا ترشحات سلول های جامی شکل نسبت داد: ۱ - موکوس با پوسته پوسته شدن مداوم از استقرار میکروب ها بر روی بدن جلوگیری می کند ۲- اگر میکروب ها بر روی بدن مستقر هم شده باشند، موکوس با فعالیت خود از عبور آنها به بدن جلوگیری می کند ۳- موکوس روی پوست و احتمالاً دیگر سطوح محتوای فاکتورهای ایمنی متنوعی با خاصیت ضد میکروبی می باشند (Bols *et al.*, 2001).

با سه وظیفه ای که در بالا در رابطه با موکوس گفته شد، موکوس در سیستم ایمنی ماهی جزء فاکتورهای هومورال تقسیم بندی می شود. در تعریف فاکتور هومورال گفته شده، مکانیسم دفاعی غیر اختصاصی غیر سلولی است که از رشد پاتوژن های میکروبی به صورت غیر اختصاصی جلوگیری می کند و این فاکتورها غالباً پروتئین و گلیکوپروتئین می باشد. یکی از این فاکتورهای هومورال، لیزوزوم می باشد که در تحقیقات پژوهشگران

مختلف وقتی مواد فعال بیولوژیکی موکوس ماهی را ذکر کرده اند لیزوزوم یکی از این اجزا بوده (Bols *et al.*, 2001) به طوریکه آلکالین فسفاتاز یکی از آنزیم های لیزوزومال است که در اولین مرحله ی بهبود زخم نقش دارد (Fast *et al.*, 2002)، و دیگر اجزای آن لکتین ها، فلاوآنزیم ها، آنزیم پروتئولیتیک، ایمونوگلوبولینها و پپتیدهای ضد میکروبی را می توان نام برد (Bols *et al.*, 2001). به عنوان مثال لیزوزوم در موکوس ماهی هایی از قبیل گربه ماهی کانالی (۱۹۸۰)، کپور (۱۹۸۶) و قزل آلا ی رنگین کمان (۲۰۰۰-۱۹۸۹) تعیین شده (Nagashima *et al.*, 2003) همین طور با استفاده از روش های ایمونوهیستوشیمی تریپسین در سلولهای اپیدرم پوست پستی ماهی آزاد اطلس^۱ شناسایی شد (Hjelmeland *et al.*, 1983).

البته موکوس وظایف دیگری نیز دارد که عبارتند از: دخالت در تنفس، تنظیم یونی و اسمزی، حرکت، تولیدمثل، ارتباط، تغذیه و ساختن لانه (Subramanian *et al.*, 2008) مانند گربه ماهی و سیچلید به طوریکه Miads cichlid از ترشحات موکوس والدین در طول ۶-۴ هفته ی اول شنای آزاد برای تغذیه استفاده می کند (Chong *et al.*, 2005).

در قسمت بعد وضعیت موکوس ماهی و سلولهای ترشح کننده ی آن را وقتی در معرض آلوده کننده های مختلف قرار می گیرد در قالب چند مثال ذکر شده. در این قسمت می توانیم این نکته را نیز یاد آور شویم که پتانسیل بیوشیمیایی، هیستوپاتولوژی و تغییرات فیزیولوژیکی در اپیدرم ماهیان استخوانی باعث شده که از آن به عنوان بیومارکر استفاده شود (Shuilleabhain *et al.*, 2005).

وقتی ماهی در معرض جیوه و مس قرار می گیرد ۱- میزان موکوس ترشحاتی از آن زیاد شده (Rajan and Banerjee, 1991; Iger *et al.*, 1994) ۲- موکوس تجمع می کند که البته حالت اول بیشتر دیده شده (Shephard, 1994). دلیلی که برای یک چنین افزایشی می توان گفت این است که جیوه و مس باعث می شوند موکوس حالت لزجی خود را از دست داده و تبدیل به مایع گردد که خیلی راحت تر توسط آب شسته و ناپایدار می گردد و در نتیجه این سد دستخوش تغییرات نامطلوبی می گردد (Varanasi, 1975).

مواد سمی فاکتورهای ضد میکروبی موکوس را تغییر می دهد به طوریکه بعضی از تغییرات ایجاد شده در موکوس پوست می تواند، توانایی میکرواورگانیسم های آلوده کننده ی ماهی را تغییر دهد برای مثال افزایش میزان موکوس ممکن است عفونت به وسیله ی تعدادی از پاتوژن ها مانند ویبریو را افزایش دهد چون این باکتری از موکوس به عنوان منبع کربن استفاده می کند (Bordas *et al.*, 1996).

¹ - atlantic salmo (*salmo salar*)

سلول های موکوسی هم به نظر می آید که به بعضی از مواد سمی حساسیت داشته باشند چون زمانی که قزل آلاهی رنگین کمان به صورت مداوم در معرض نانویل فنول قرار گرفت، سلول های موکوس اپیدرم به صورت برآمدگی خاصی در آمدند که دارای اندازه ی بزرگ و شکل نامنظمی بودند این برآمدگی برای دیگر مواد سمی هیچگاه دیده نشده و می توان از این نشانه به عنوان یک شاخص زیستی برای شناسایی آلودگی با نانویل فنول استفاده کرد (Burkhardt-Holm *et al.*, 2000).

زمانی که ماهی در معرض چند شوینده از جمله سدیم آلکیل بنزن سولفات (zaccone *et al.*, 1985) و سدیم دودوسیل سولفات (Garg and Mittal, 1993) قرار می گیرد در ابتدا تعداد سلول های موکوسی افزایش و سپس کاهش می یابند. پوسته پوسته شدن لایه های خارجی اپیدرم در کفشک زمستانه^۱ که در نزدیکی کارخانه کاغذ سازی زندگی می کردند دیده شده است (Khan *et al.*, 1994). زمانی که قزل آلاهی رنگین کمان را در آب زائد حاصل از فاضلاب گیاهی نگهداری کردند، مشاهده نمودند که اپیدرم آن نازک تر از حالت نرمال بود (Burkhardt-Holm *et al.*, 1997).

۳-۲- غشای پایه^۲

غشای پایه یک جزء از اپیدرم به حساب می آید، اما مشارکت درم برای شکل گیری آن ضروری است (Mittal, 1997). در زیر میکروسکوپ نوری، وجود غشای پایه را غالباً با استفاده از روش رنگ آمیزی اسید شیف پریودیک^۳ (PAS) نشان داده اند اما جزئیات ساختاری کمی قابل مشاهده است. غشای پایه، لایه ای با تراکم الکترونی است که ضخامت آن، به گونه ی ماهی و موقعیت آن بر روی بدن بستگی دارد. در جایی که اعصاب وارد اپیدرم می شوند، غشای پایه دچار رخنه و شکاف می شود، در ماهیانی که مویرگ های آنها به داخل اپیدرم نفوذ می کنند (برای مثال پریوفتالمیدها)، غشای پایه دچار خمیدگی و انحنا می شود و در سرتاسر مسیر آن مویرگها به همراه آن مشاهده می شوند. تا آنجا که مشخص شده است، مجموعه ی غشای پایه در ماهی مشابه سایر مهره داران است (Elliott, 2000).

غشاهای پایه چندین وظیفه به عهده دارند، آنها به عنوان یک سد تصفیه کننده (پالاینده) عمل می کنند و عبور سلول ها و مولکولها بین بافتهای مختلف را کنترل می کنند. همچنین تصور می شود آنها در تنظیم مورفورژن (شکل گیری ظاهر ماهی) و التیام زخم نقش دارند، علاوه بر این آنها محل اتصالی برای سلولهای پوششی و سایر سلول ها هستند (Amin, 1992; Mittal, 1997).

¹ - winter flounder

² - basal membrane

³ - periodic acid shif

۳-۳-۳- درم

یک ساختار فیبری (رشته ای) با سلولهای نسبتاً کم و از مزانشیم جنینی با منشاء مزودرمی به وجود آمده است. لایه‌ی درم دارای رگ های خونی، اعصاب، فلس ها و بافت چربی است اما بخش اعظم درم شامل بافت هم بند فیبری است. هنگامی که پوست یک ماهی را از بدن جدا می کنند، رشته های کلاژن بافت هم بند که پوست را به عضلات و استخوان زیر متصل می کند، به خوبی مشخص می شود (Zacccone *et al*, 2001). درم در ماهیان به دو لایه تقسیم می شود، لایه سست و لایه متراکم.

۳-۳-۱- لایه سست^۱

بافت حمایت کننده‌ی لایه‌ی اسفنجی، شبکه‌ی سستی از کلاژن و رشته های رتیکولر است. این لایه مجاور غشای پایه قرار دارد و بسیاری از رشته های ظریف تر آن، به داخل غشای پایه وارد می شوند. لایه ی اسفنجی، واجد فلس ها و انواعی از اجزای عروقی و عصبی است. عناصر سلولی این لایه، شامل فیبروبلاست ها، سلول های رنگدانه ای، گلبول های سفید و سلولهای مربوط به بافت های سازنده ی فلس هاست (Roberts, 2001). کلاژن در درم ماهی نیز همانند سایر مهره داران، یک جزء عمده به حساب می آید. اگرچه بیشتر این کلاژن ها، شبیه کلاژن نوع یک پستانداران است اما تفاوت هایی نیز از نظر ساختار و ترکیب شیمیایی در آنها مشاهده شده است (Sivakumar and *et al*, 2000).

۳-۳-۲- لایه متراکم^۲

جزء اصلی این لایه، دستجات کلاژن است که یک ماتریکس (زمینه) متراکم و فشرده در بالای هیپودرم را تشکیل می دهد. معمولاً رشته های کلاژن به صورت ردیف هایی از لایه ها با زوایای مستقیم نسبت به یکدیگر مرتب شده اند. فیبروبلاست های درم که در ماهیان بالغ، سلولهایی کوچک و تیره رنگ به نظر می رسند، در بین رشته های کلاژن توزیع شده اند. سلول های محدود دیگری نیز در لایه‌ی فشرده وجود دارند اما گاهی اوقات سلولهای رنگدانه دار و ماست سل ها ممکن است دیده شوند. لایه‌ی فشرده در فواصل منظم توسط ستون های عمودی از کلاژن حاوی اعصاب و رگ های خونی شکافته می شود. این اعصاب و رگها به سمت لایه‌ی اسفنجی می روند (Sivakumar and *et al*, 2000; Roberts, 2001).

لایه‌ی فشرده در فعالیت حرکتی حائز اهمیت است، ساختار چند لایه‌ی این لایه از درم، یک نوع سختی ساختاری در مقابل استرس هایی که به پوست وارد می شود، ایجاد می کند و البته همچنان انعطاف پذیری خود را حفظ

¹ - stratum spongiosum

² - stratum compactum

می کند، زیرا ورقه های رشته ها در هنگام تغییر شکل، یکی پس از دیگری به سمت عقب می لغزند. هنگامی که ماهی شنا می کند، انعطاف پذیری در پوست کشیده شده ی سمت محدب، در یک حرکت موجی، کمک می کند که در مراحل اولیه ی انقباض بعدی، خمیدگی ایجاد نشود. لایه ی فشرده درم به عنوان یک تاندون به موازات عضلات عمل می کند (Elliott, 2000).

۳-۴- بافت پوششی داخلی پوستی^۱

این لایه ی سلولی در مرز قسمت عمقی لایه فشرده وجود دارد. این لایه ی سلولی در لامپری ها و شماری از گونه های ماهیان استخوانی عالی یافت شده است. این لایه، شامل فیبروبلاست های تغییر شکل یافته است که توسط دسموزوم ها به هم اتصال دارند و ممکن است توسط یک غشای پایه در یک یا هر دو طرف محصور شده باشند. بافت پوششی داخلی پوستی، یک ورقه ی کامل را بر روی بیشتر قسمت های سر و تنه تشکیل می دهد و فقط جاهایی استثناء هستند که توسط اعصاب یا رگ های خونی سوراخ شده باشند یا اینکه میوسپتا (تیغه های عضلانی) وارد آن شده باشند. بافت پوششی مذکور مشخصاً به باله ها یا دریچه های سرپوش آبششی گسترش نمی یابد. سلولها، ویژگی عمومی فیبروبلاست ها را دارند اما معمولاً شبکه آندوپلاسمی آنها کم است و دارای تعداد زیادی حفرات داخل سلولی هستند که گاهی اوقات این حفرات بهم می پیوندند و یک مجرا را در عرض یک سلول تشکیل می دهند. ممکن است در سطوح بالایی و پایینی یک سلول همی دسموزوم ها وجود داشته باشند. این لایه ممکن است در تنظیم عبور مایعات بین لایه فشرده و هیپودرم نقش داشته باشد (Whitear, 1986).

۳-۵- هیپودرم یا لایه زیر جلدی

هیپودرم یک بافت چربی و سست می باشد که میزان عروق خونی آن نسبت به لایه های خارجی تر خیلی بیشتر بوده و محل گسترش و توسعه مراحل روند های عفونت در ماهی می باشد (Roberts, 2001) این لایه بین درم و رشته های عضلانی زیر پوست قرار گرفته و معمولاً به طور برجسته ای در امتداد تهیگاه وجود دارد. اما در برخی از نواحی بدن مانند سر از لایه اسفنجی درم غیر قابل تمایز است (Stoskopf, 1993). معمولاً بخش فوقانی هیپودرم، درست زیر اندوتلیوم، توسط لایه ای از کروماتوفورهای عمقی اشغال می شود. رگ های خونی و دستجات عصبی که در پری نوریوم^۲ محصور شده اند، نیز در این لایه قرار می گیرند. در این بخش، سلول های متورم حاوی چربی قرار دارند که با بافت همبند سست، رگهای خونی و رگ هایی با دیواره نازک (احتمالاً

^۱ - dermal endothelium

^۲ - perinurium

مویرگ های لفاوی) به صورت پراکنده قرار گرفته اند. قابلیت انعطاف هیپودرم این امکان را می دهد که حرکت قابل ملاحظه پوست بین لایه متراکم و عضلات سطحی صورت گیرد (Elliott, 2000).

۳-۶- عناصر پوستی اختصاصی

۳-۶-۱- رنگ

با مراجعه به یک آکواریوم عمومی یا حتی نگاه اجمالی مربوط به ماهیان مناطق حاره به راحتی می توان به این نتیجه رسید که ماهیان از نظر رنگ جزء رنگارنگ ترین ساکنان جهان به حساب می آیند.

رنگ های پوستی اساساً به حضور سلول های رنگدانه ای موجود در آن مربوط می شود. در بین ماهیان تنها تعداد محدودی فاقد رنگدانه در پوست خود هستند. ماهیانی که در غار زندگی می کنند از دسته اخیر می باشند (وثنوقی و مستجیر؛ ۱۳۷۹). در ماهیان از لامپری تا ماهیان استخوانی عالی، سلول های رنگی در درم و عمدتاً در لایه اسفنجی و یا در هیپودرم و یا هر دو دیده می شوند. معمولاً این سلول ها در ماهیان فاقد فلس در ناحیه فوقانی تر لایه اسفنجی قرار می گیرند و توسط رشته های نازک کلاژن از غشاء پایه جدا می شوند، در حالی که در ماهیان فلس دار در زیر فلس قرار دارند. البته در برخی از ماهیان، سلولهای رنگی اپیدرمی نیز به صورت انفرادی دیده شده اند (Takashi and Hibiya, 1994).

سلول های رنگی در همه مهره داران از جمله ماهیان، دارای منشاء جنینی مشترک بوده و از تاج عصبی مشتق می شوند. معمولاً این سلولها را بر اساس رنگدانه ای که در درون خود دارند به پنج گروه تقسیم می کنند که شامل ملانوفورها (با رنگدانه قهوه ای تا سیاه)، اریترفورها (با رنگدانه قرمز متمایل به زرد)، گزانتوفورها (اساساً با رنگدانه زرد)، لوکوفورها (بدون رنگ و یا با رنگدانه انعکاسی) و ایریدوفورها (بدون رنگ و با رنگدانه انعکاسی) می باشند (Whitear, 1986; Stoskopf, 1993; Roberts, 2001).

بعضی از ماهیان استخوانی مانند برخی از خزندگان قادرند تحت کنترل سیستم عصبی، رنگ خود را به سرعت تغییر دهند. در بعضی از ماهیان غضروفی و دوزیستان تغییرات رنگ به کندی صورت می گیرد و این عمل به دلیل هورمونهای است که توسط غده هیپوفیز ترشح و با جریان خون به گردش در می آیند. در ماهیها تغییر رنگ به هر علتی که باشد از جابه جایی رنگدانه های درون کروماتوفورها و یا تغییر شکل آنها ناشی می شود. هرگاه رنگدانه ها در کروماتوفورها به طور یکنواخت پخش گردد، رنگ به خوبی آشکار می شود، اما اگر یاخته ها در یک نقطه متمرکز شوند، بی رنگ به نظر می رسند (توماس اور، ۱۳۸۵).

رنگ بعضی از ماهی ها، در فصل باروری به وضوح تغییر می کند. این تغییر رنگ تا حدی می تواند از جمله یکی از روش های تشخیص جنسیت ماهی به کار رود به نظر می رسد که در بیشتر ماهی ها رنگ، نوعی سازگاری با محیط است و جانور قادر است به وسیله ی آن خود را به رنگ محیط اطرافش در آورد. به همین دلیل ماهی هایی که در جزایر مرجانی به سر می برند اغلب دارای رنگ های روشن هستند. همچنین ماهی هایی که در بستر علف های دریایی یافت می شوند، غالباً دارای نوارهای تاریک و روشن متناوب بر روی بدن خود هستند. گاهی اوقات سطح بالایی بدن ماهی هایی که در کف آب به سر می برند کاملاً به رنگ محیط اطراف در می آید (توماس اور، ۱۳۸۵).

۳-۶-۲- فلس

پوست ماهیان یا فاقد فلس و یا دارای فلس می باشد، فلس ها در ماهیان واجد فلس یک ویژگی عمده به حساب می آیند و در ارزیابی و بررسی گونه های مختلف حائز اهمیت می باشند. اهمیت فلس ها تا بدانجاست که شاخه ای جداگانه از علم ماهی شناسی جهت مطالعه و شناسایی آنها به نام فلس شناسی ایجاد شده است (Ferguson, 1989). نوع، تعداد و اندازه فلس ها اطلاعات زیادی درباره نحوه زندگی ماهیان برای ما آشکار می سازد، مثلاً ماهیان شناگر سریع و آنهایی که به طور منظم در آب های سریع حرکت می کنند، مانند قزل آلا، فلسهای ظریف و متعدد دارند در صورتی که ماهیان ساکن آب های آرام مانند کپور، که به طور مداوم با سرعت زیاد شنا نمی کنند، فلس های بزرگتر و ضخیم تری دارند (دیتمار، ۱۳۶۵). فلس های ماهیان منشاء مزانشیمی دارند و ساختارهای پوستی واجد مواد معدنی هستند (دپشی و بیلارد، ۱۳۸۱) که به انواع مختلف تقسیم می شوند، که مختصرند به شرح زیرند: ۱- فلس صفحه ای (پلاکویید): قدیمی ترین نوع فلس به شمار می رود و به صورت قطعات سخت دندان مانند بر روی بدن ماهیان غضروفی مشاهده می شود (Elliot, 2000). ۲- فلس لوزی شکل (گانویید): در تاس ماهیان وجود دارد و شامل صفحات استخوانی است که کنار هم قرار دارند و توسط رشته های شاریبی یزرگ و متعدد به درم متصل شده اند و البته در برخی ماهیان این فلس ها تا حدودی همدیگر را می پوشانند و در حاشیه ها به یکدیگر متصل می شوند (Whitear, 1986). ۳- فلس الاسموئیدی: بخش اعظم ماهیان استخوانی واجد فلس الاسموئیدی هستند که فاقد عاج و گانوئین است. معمولاً این فلس ها را بر اساس شکل به دو دسته فلس های دایره ای و فلس های شانه ای تقسیم می کنند (دیتمار، ۱۳۶۵). به رغم تنوع زیادی که این فلس ها از نظر اندازه و شکل در بین ماهیان استخوانی عالی دارند، اما از نظر محل قرار گرفتن و ساختار میکروسکوپی نسبتاً مشابه هستند.

فلس ها نقش محافظت مکانیکی را از لایه های عمیق تر به عهده دارند، اما در برخی از ماهیان، فلس ها جهت کارهای ویژه ای تخصص یافته و تغییر شکل داده اند، مثلاً فلس های قاعده دم در جراح ماهی به دو خار چاقو مانند تبدیل شده اند (Elliot, 2000). لازم به ذکر است که باید گفت، هر چند اکثر ماهیان واجد یک نوع فلس هستند اما ممکن است برخی از ماهیان در طی مراحل مختلف زندگی و یا حتی به طور همزمان، در نقاط مختلف بدن خود واجد دو یا چند نوع فلس متفاوت باشند (دیتمار، ۱۳۶۵).

۴- فرضیه ها

تعداد، پراکندگی و ساختمان سلول های ترشح کننده موکوس در نواحی مختلف اپیدرم به طور معنی داری با هم تفاوت دارند.

پروتئین های موکوس سطح پوست ماهی از نظر وزن مولکولی متنوع هستند.

۵- اهداف تحقیق

مطالعه هیستوفیزیولوژی سلول های مترشح موکوس پوست ماهی کفشک راست گرد

مطالعه هیستومتری سلول های مترشح موکوس و پراکندگی آنها در نواحی مختلف اپیدرم پوست ماهی کفشک راست گرد

شناسایی پروتئین های موجود در موکوس ترشحاتی به روش SDS-PAGE (بر اساس وزن مولکولی)

۶- پیشینه و تاریخچه ی تحقیق

Pickering در سال ۱۹۷۳ مشاهده کرد غلظت n- استیل نورامیک اسید (NANA) در اپیدرم با تعداد سلول های ترشح کننده موکوس رابطه ی خیلی نزدیکی دارد. به طوری که در هر دو گونه ی قزل آلاهی قهوه ای^۱ (*Salmo trutta*) و آزاد ماهی مهاجر آلپ^۲ (*Salvelinus alpinus*) بررسی شده، بیشترین غلظت سلول های ترشح کننده موکوس در نواحی جلویی بدن است و به طور معنی داری این سلول ها در باله ها کمترین فراوانی را دارند.

Pickering در سال ۱۹۷۶ یک تغییر شکل فصلی در اپیدرم قزل آلاهی قهوه ای مشاهده نمود، ضخامت اپیدرم و تعداد سلول های ترشح کننده موکوس دستخوش تغییرات مشخصی در دوره های متوالی تخم ریزی می شود. در بیشتر ایام سال ضخامت اپیدرم جنس نر نسبت به ماده تفاوت معناداری را نشان می دهد. در طول زمان تخم ریزی

¹ - brown trout

² - char

(دسامبر و جولای) کاهش شدیدی در غلظت سلول‌های ترشح کننده موکوس اپیدرم مشاهده شد. دلیل این تغییرات احتمالاً بستگی به فاکتورهای هورمونی دارد که اپیدرم در ماهیان استخوانی را تحت تاثیر قرار می دهد. Fletcher و Burton در سال ۱۹۸۳ تغییرات شدیدی در ضخامت اپیدرم و تعداد سلول‌های ترشح کننده موکوس در یک جمعیت ساحلی کفشک زمستانی (*Pseudopleuronectes Americanus*) در منطقه‌ی Walbaum مشاهده کردند. در طول پاییز و کمی قبل از شروع زمستان در آوریل و می قبل از زمان تخم‌ریزی افزایش معناداری در فراوانی سلول‌های ترشح کننده موکوس اتفاق می افتد، که در جنس ماده بیشتر از جنس نر مشهود است. فراوانی سلول‌های ترشح کننده موکوس در اواسط زمستان (جوون- مارس) زمانی که فعالیت معمول در ماهی پایین است کاهش می یابد.

Stachell در سال ۱۹۸۴ از روش Allen در سال ۱۹۷۸ که بر روی گلیکوپروتئین‌های موکوس دستگاه گوارش پستانداران کار کرده بود به عنوان مدلی برای دستیابی به ساختمان موکوس ماهی استفاده کرد، به طوری که دو تا آمینواسید اصلی که در هسته‌ی پروتئین مربوط به گلیکوپروتئین‌های پستانداران شناخته شده بود سرین و ترئونین بودند که هر دو در موکوس پوست په لیس (*Pleuronectes platessa*) شناسایی شده به وسیله ی Grant و Fletcher در سال ۱۹۶۸ در ماهی آزاد اطلس شناسایی شده به وسیله‌ی Hunt و Harris در سال ۱۹۷۳ وجود دارند.

Austin و McIntosh در سال ۱۹۸۸ خاصیت ضد میکروبی، موجود در موکوس اپیدرم بر علیه پاتوژن‌های عفونی را برای اولین بار در قزل آلا‌ی رنگین کمان نشان دادند. Fast و همکارانش در سال ۲۰۰۲، مرفولوژی پوست و پارامترهای دفاع غیر اختصاصی هومورال موکوس و پلاسمای قزل آلا‌ی رنگین کمان، ماهی آزاد کوهو و ماهی آزاد اطلس مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق به این نتیجه رسیدند که قزل آلا‌ی رنگین کمان نسبت به دو گونه‌ی دیگر اپیدرم ضخیم تر و عمدتاً سلول‌های موکوسی بیشتر در هر ناحیه از مقطع عرضی دارد. نتایج اثبات کرد که اختلاف‌هایی معنی دار از نظر بیوشیمیایی و بافت شناسی بین پوست و موکوس این سه گونه سالمون وجود دارد که این تغییر می تواند در نتیجه محیط‌های متفاوت باشد. تفاوت در فاکتورهای ایمنی ذاتی، احتمالاً اثرات مختلفی روی واکنش هر گونه در پروسه بیماری دارد.

Al-Banaw و همکارانش در سال ۲۰۰۹ مطالعه هیستوشیمیایی را با استفاده از روش سنتی هیستوشیمیایی کربوهیدرات و همچنین با استفاده از روش FLTC جهت شناسایی ترکیبات قندی در ۱۰ ناحیه از پوست گربه ماهی انجام دادند. رنگ آمیزی سنتی ترکیبات قندی نشان داد که سلول‌های جامی شکل موکوس حاوی مقادیر