

مطالعه فرا ساختار سلولهای یونوسیت آبشش گربه ماهی (*Silurus glanis*) منطقه مهاباد

صابر خدابنده^(۱)* و محسن شهریاری مقدم^(۲)

surp78@yahoo.com

۱- گروه بیولوژی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس،

نور صنوق پستی: ۴۶۴۱۴-۳۵۶

۲- گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۵

چکیده

آبشش گربه ماهیان ۳۰۰ گرمی صید شده از سد مهاباد در خرداد ماه ۱۳۸۳ مورد مطالعه قرار گرفتند. بلافاصله بعد از صید، آبشش‌ها بریده و در محلول بوئن و گلو تار آلدئید برتریب برای بافت‌شناسی کلاسیک و میکروسکوپ الکترونی تثبیت شدند. جهت انجام بافت‌شناسی کلاسیک نمونه‌ها پس از انجام مراحل مختلف با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و سپس با میکروسکوپ نوری مطالعه و از آنها عکس تهیه شد. جهت انجام مطالعات میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) پس از انجام مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها، برشهایی به ضخامت ۹۰ نانومتر از آنها تهیه شد و سپس توسط اسلات اورانیل و سترات سرب رنگ آمیزی و توسط نقره پوشش داده شدند و در پایان مطالعه و عکسبرداری شدند. بررسی‌ها نشان داد که سلولهای اصلی آبشش گربه ماهی *Silurus glanis* عبارتند از: یونوسیت α و β ، سلولهای کمکی، موکوسی، پیلار و سنگ فرشی. سلولهای یونوسیت در ناحیه پایه‌ای تیغه‌های آبششی و فضاها بین پایه‌ای قرار داشتند. ویژگی‌های فراساختاری سلولهای یونوسیت مبین نقش فعال این سلولها در تنظیم اسمزی گربه ماهی می‌باشد.

لغات کلیدی: آبشش، سلول کلراید، *Silurus glanis*، مهاباد، ایران

مقدمه

ایپیتلیوم آبشش ماهیهای استخوانی، سطحی برای انتشار گازهای تنفسی، دفع مواد زائد و تنظیم اسمزی می‌باشد و تاکنون مطالعات زیادی در مورد آن صورت گرفته است (Isiag & Karakisi, 1998). ایپیتلیوم آبششی در ماهیهای استخوانی آب شیرین دارای اشکال مختلفی از سلولها می‌باشد که مهمترین آنها سلولهای موکوسی، سلولهای سنگ فرشی و سلولهای کلراید می‌باشند. به این سلولها یونوسیت یا سلولهای غنی از میتوکندری نیز گفته می‌شود. از وظایف سلولهای موکوسی ایجاد محیطی مملو از یونها می‌باشد که باعث آسان شدن انتقال یونها در دیگر سلولها می‌شود (Goss et al., 1995). سلولهای سنگ فرشی بیشترین تعداد را در ایپیتلیوم آبشش دارا هستند. غشای رأسی سلولهای سنگ فرشی دارای چین خوردگی‌های کوچکی هستند که اغلب نظم و ترتیب خاصی دارند. این برآمدگیهای رأسی احتمالاً سبب افزایش ناحیه سطحی کارکردی ایپیتلیوم شده و ممکن است در چسبیدن موکوس به سطح نقش داشته باشند. این سلولها فاقد تعداد زیادی میتوکندری می‌باشند. اما دارای وزیکولهای سیتوپلاسمی زیادی بوده و دستگاه گلژی واضحی دارند. سلولهای سنگ فرشی در بی‌آرواره‌ها (Agnata) و الاسمو برانش‌ها (Elasmobranchii) دارای وزیکولهای انتهایی حاوی موکوس می‌باشند. سلولهای سنگ فرشی دارای سطحی شبیه به اثر انگشت بوده و نقش اصلی این سلولها تبادل گازهای تنفسی می‌باشد. در مطالعات جدید بر روی ایپیتلیوم آبشش ماهیهای استخوانی آب شیرین مشخص شده است که برخی از سلولهای سنگ فرشی ممکن است نقش فعال در جذب یونها و انتقال اسید- باز داشته باشند (Evans et al., 2005). سلولهای کلراید اولین بار در دهه ۱۹۳۰ مطالعه شدند (Isiag & Karakisi, 1998). سلولهای کلراید در مقایسه با سلولهای سنگ فرشی فضای بسیار کمتری را اشغال می‌کنند (Evans et al., 2005). این سلولها دارای ظاهر بزرگ و استوانه‌ای شکل، میتوکندری‌های زیاد، میکروویلی و حفره رأسی به همراه چین‌خوردگی‌های قاعده‌ای- جانبی می‌باشند (Chen ; Shikano & Fujio, 1998; McCormick, 1990; et al., 2004; Khodabandeh et al., 2005b). تاکنون مطالعات زیادی در مورد ساختار و عملکرد سلولهای کلراید در گونه‌های مختلفی مانند: *Lebistes reticulatus* (Pisam et al., 1987) *Branchydanio rerio* (Isiag & Karakisi, 1998) *Anguilla japonica* (Wong & Chan, 1999)

(Chang et al., 1999) *Oreochromis mossambicus*; (Lee et al., 1996; 2001) *Chanos chanos* (Chen et al., 2004) صورت گرفته است.

نوع دیگری از سلولها به نام سلولهای کمکی در کنار سلولهای کلراید وجود دارند که در ماهیهای آب شیرین معمول نیستند و بیشتر در گونه‌های دریایی یافت می‌شوند. این سلولها مانند سلولهای کلراید دارای تعداد زیادی میتوکندری می‌باشند. سیستم توبولی آنها نسبت به سلولهای کلراید کمتر توسعه یافته است. این سلولها نسبت به سلولهای کلراید خیلی کوچکتر هستند و نقش حقیقی آنها هنوز به درستی مشخص نیست (Evans et al., 2005).

تاکنون مطالعات زیادی در مورد سلولهای کلراید در گونه‌های یوری هالین سازش داده شده به آب شیرین و آب دریا انجام شده است. این مطالعات وجود دو نوع از سلولهای کلراید α و β را در ایپیتلیوم آبششی این ماهیها نشان می‌دهند (Pisam et al., 1987; Shikano & Fujio, 1998). (Wong & Chan, 1999). مطالعات محدود انجام شده بر روی گونه‌های استنوهالین آب شیرین نیز دو نوع از سلولهای کلراید را در ایپیتلیوم آبششی این گونه‌ها تشخیص دادند (Pisam et al., 1990).

مسئله مطالعات مورفولوژیک راه اصلی برای فراهم کردن اطلاعات پایه‌ای است که می‌توانند راهنمایی برای مطالعات فیزیولوژیک باشند. با توجه به اهمیت مطالعه فراساختار سلولهای کلراید در فرآیند تنظیم اسمزی ماهی، هدف اصلی از انجام این پژوهش بررسی فراساختار سلولهای یونوسیت در ایپیتلیوم آبششی این ماهی می‌باشد، که البته در کنار آن نگاهی اجمالی به فراساختار دیگر سلولهای ایپیتلیوم آبشش این گونه نیز صورت می‌پذیرد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۰ عدد گربه ماهی یکساله بطول متوسط ۲۰ سانتیمتر و به وزن ۳۰۰ گرم در خرداد ماه سال ۱۳۸۳ از سد مهاباد توسط تور پرتابی صید شدند. قسمتی از آبشش‌ها (۱ سانتیمترمکعب) بلافاصله پس از صید بریده شد و در محلول بوئن تثبیت گردیدند. نمونه‌ها بعد از تثبیت شدن جهت آگیری و نگهداری در الکل اتانل ۷۰ درصد قرار داده شدند. مراحل

رشته آبششی دارای یک ردیف از تیغه‌های آبششی با ارتفاع کم (۸۰ تا ۱۰ میکرومتر) و بصورت کشیده در دو سمت خود می‌باشند (اشکال ۲ و ۳). ارتفاع تیغه‌های یاد شده از ناحیه پایه‌ای رشته‌ها به سمت رأسی بتدریج کم شده و قسمت رأسی فاقد تیغه می‌باشد (اشکال ۱ و ۲). تعداد تیغه‌ها در طول رشته‌ها از هر طرف ۲۷ تا ۳۰ عدد در میلیمتر بود. میزان ضخامت هر تیغه و فضاها بین آنها بترتیب ۱۵ و ۲۰ میکرومتر اندازه‌گیری شد (اشکال ۱، ۳، ۴ و ۵). سلولهای سنگ فرشی بصورت منظم با آرایش متحدالمرکز در اپی‌تلیوم آبششی پراکنده شده‌اند و حتی با درشت نمایی کم هم تشخیص این سلولها با ظاهری اثر انگشتی براحتی قابل تشخیص می‌باشند (اشکال ۶ و ۸). سلولهای یونوسیت بصورت پراکنده در بین سلولهای سنگ فرشی قرار دارند. دو نوع از سلولهای یونوسیت براساس مورفولوژی سطح رأسی آنها در اپی‌تلیوم آبشش تشخیص داده شدند (اشکال ۷ و ۹). سلولهای نوع اول تقریباً هم سطح با سلولهای سنگ فرشی بوده و دارای حفره رأسی نیستند (اشکال ۸ و ۹). سلولهای نوع دوم نسبت به سلولهای سنگ فرشی مجاورشان پایین‌تر قرار گرفته‌اند و حفره رأسی در این سلولها بیضوی شکل تا گرد و دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای کربوهیدرات می‌باشند (اشکال ۶ و ۷). نتایج فراساختار سلولی حاصل از میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان داد که سیتوپلاسم سلولهای سنگ فرشی روشن بوده، میتوکندری زیادی ندارند ولی تعداد زیادی وزیکول در آن قابل مشاهده است و اتصال سلولهای سنگ فرشی با یکدیگر و سایر سلولها از نوع tight می‌باشد (شکل ۱۸). مشاهده برشهای رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و اتوزین توسط میکروسکوپ نوری نشان داد که سلولهای یونوسیت در ناحیه پایه‌ای تیغه‌های آبششی و فضاها بین تیغه‌ای قرار دارند (شکل ۱۰). در برش طولی قسمتی از یک تیغه آبششی، دو لایه پوششی از سلولهای سنگ فرشی دیده می‌شود که در رو به روی هم قرار گرفته‌اند و در بین آنها یک سری سلولهای منفرد ستونی قرار دارند (شکل ۱۱). در فضای بین این دو اپی‌تلیال و سلولهای پیلار مویرگهای خونی حاوی سلولهای خونی دیده می‌شوند (شکل ۱۱). در سلولهای یونوسیت از نظر فراساختاری شبکه آندوپلاسمی به خوبی توسعه یافته است و دارای مقدار قابل توجهی میتوکندری می‌باشند. وزیکول‌های سیتوپلاسمی رأسی نیز در این سلولها به خوبی قابل مشاهده هستند. هم چنین تعداد زیادی ریبوزوم در ناحیه رأسی این سلولها مشاهده می‌شود. هسته در این سلولها فاقد شکل مشخصی می‌باشد. در

آبگیری با استفاده از الکل‌های ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد و نهایتاً با الکل بوتیلیک انجام گرفت. نمونه‌ها بعد از ۹ ساعت نگهداری در داخل پارافین مایع (داخل اون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد) در داخل پارافین قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم برشهای ۵ میکرومتری از آنها تهیه گردید. برش‌ها روی لامهای پلی-ال-لیزینه چسبانده شده و در اون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. لامها بوسیله هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی گردیدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری مطالعه و عکسبرداری شدند (Khodabandeh et al., 2005a & b).

جهت آماده‌سازی برای بررسی با میکروسکوپ الکترونی، آبشش گربه ماهی در گلو تار آلدنید ۵ درصد، حاوی ۰/۲ مول بافر کاکودیلات سدیم با pH ۷/۴ تثبیت گردید. سپس نمونه‌ها در بافر کاکودیلات آب کشیده شده و در داخل مخلوط (V/V) ۲ درصد تتراکسید اسمیوم و ۰/۴۵ مول بافر کاکودیلات سدیم به مدت یک ساعت مجدداً تثبیت شدند. نمونه سپس در سری الکل اتانول آبگیری شده در داخل Epon 812 قالب‌گیری شدند. از قالبها با استفاده از الترا میکروتوم Reichert OMU2 برشهای خیلی ظریف به ضخامت ۹۰ نانومتر تهیه شده و بعد از قرار دادن روی صفحات توری مسی (Grids) بوسیله استات اورانیل و سترات سرب رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی JEOL 1200 EX2 مطالعه شده و از آنها عکسبرداری انجام گرفت (Khodabandeh et al., 2005a & b; Glauret, 1974).

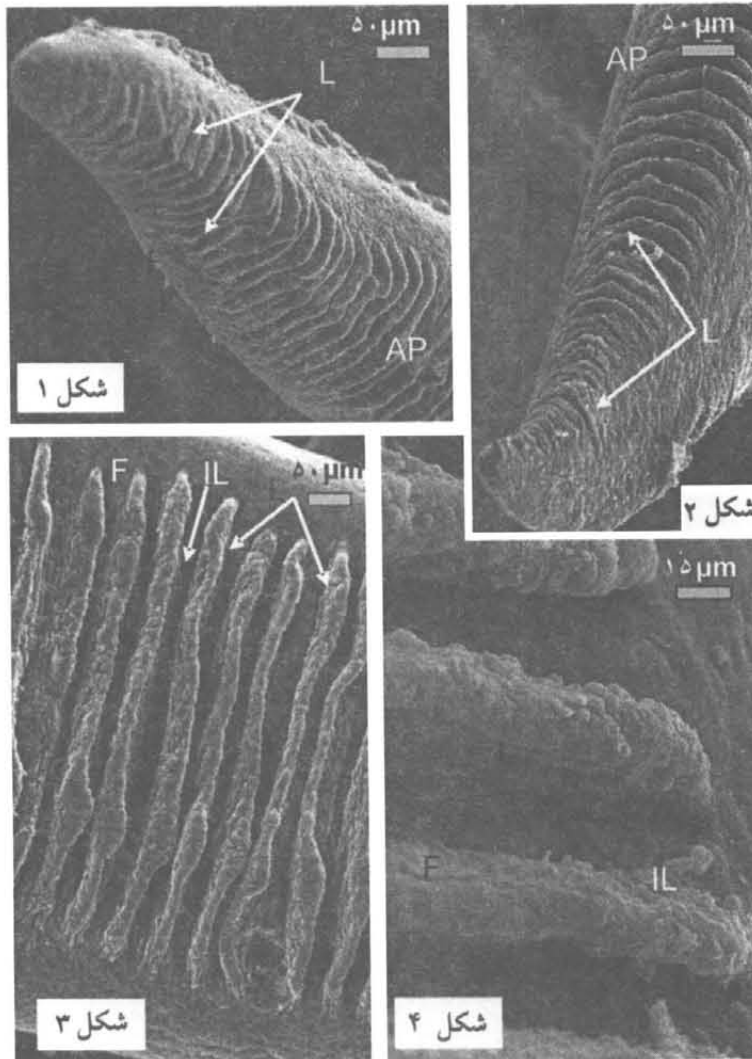
نمونه‌ها در گلو تار آلدنید ۴ درصد حاوی بافر فسفات ۰/۰۱ مولار دارای ۵ درصد سوکروز با pH ۷/۴ تثبیت شدند و در جای سرد نگه‌داری شدند و سپس به مدت ۱ ساعت در تترا اکسید اسمیوم ۲ درصد، حاوی ۰/۱ مولار بافر فسفات با pH ۷/۴، حاوی ۵ درصد سوکروز مجدداً تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها در بافر قرار گرفتند و بعد از آن چندین بار با آب مقطر شسته و در سری‌های اتانول آبگیری شدند. سپس در دستگاه CO₂ Baltec Critical- Point Dryer 030 خشک شدند و روی آنها بوسیله نقره با Baltic Sutter Cpater 050 پوشیده شد. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نگاره JEOL ISM- 6300F ۱۵ کیلو وات مطالعه و عکسبرداری شدند (Khodabandeh et al., 2005b; Glauret, 1974).

نتایج

نتایج میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که هر رشته آبششی دارای شکلی شبیه کله قند می‌باشد (اشکال ۱ و ۲). هر

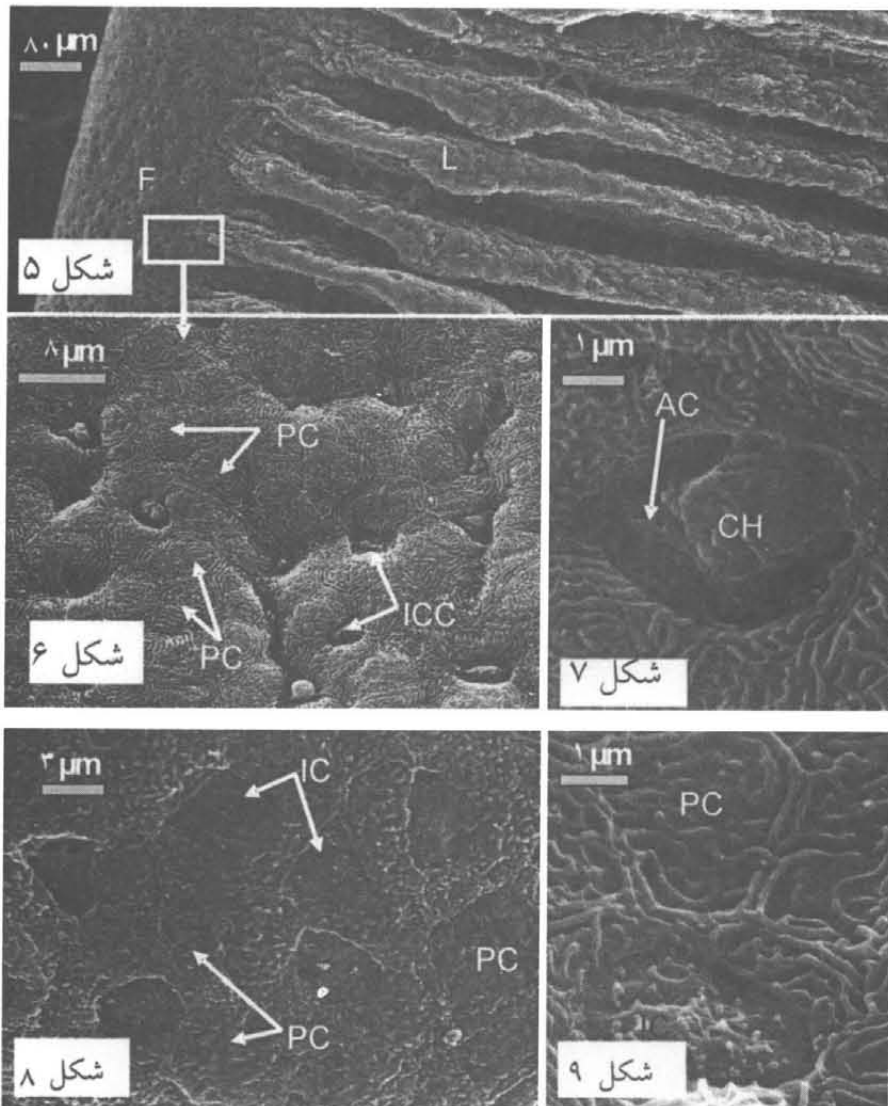
سلولهای کمکی نیز در کنار سلولهای یونوسیت مشاهده شدند. این سلولها پهن و کشیده بوده دارای مقدار زیاد میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی هستند (شکل ۱۶ و ۱۷). سلولهای موکوسی در اپی تلیوم آبششی توسط میکروسکوپ نوری تشخیص داده شدند (شکل ۱۰). این سلولها نسبت به سلولهای یونوسیت دارای اندازه بزرگتر بوده و سیتوپلاسم آنها نسبت به سلولهای یونوسیت بسیار روشن تر است.

سلولهای یونوسیت نوع اول بیشتر تجمع میتوکندریها در ناحیه رأسی بوده و حفره رأسی وجود ندارد (اشکال ۱۲ و ۱۳). سلولهای یونوسیت نوع دوم دارای تعداد زیادی میتوکندری پراکنده در سیتوپلاسم بوده و غنی از شبکه آندوپلاسمی و ریبوزومها میباشند (اشکال ۱۴، ۱۵ و ۱۶). این سلولها هم چنین دارای حفره رأسی میباشند (شکلهای ۱۵ و ۱۶).



شکلهای ۱ و ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، یک رشته آبششی کله قندی شکل که تیغه‌های آبششی کوتاه در دو سمت آن قرار گرفته‌اند. قسمت رأسی فاقد تیغه می‌باشد و ارتفاع تیغه‌ها از قسمت پایه‌ای به سمت رأسی بتدریج کم می‌شود.

شکلهای ۳ و ۴: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، نشاندهنده تیغه‌های آبششی و فضاها بین آنها می‌باشد. بخش رأسی (AP)، رشته آبششی (F)، منطقه بین تیغه‌ای (IL)، تیغه آبششی (L).



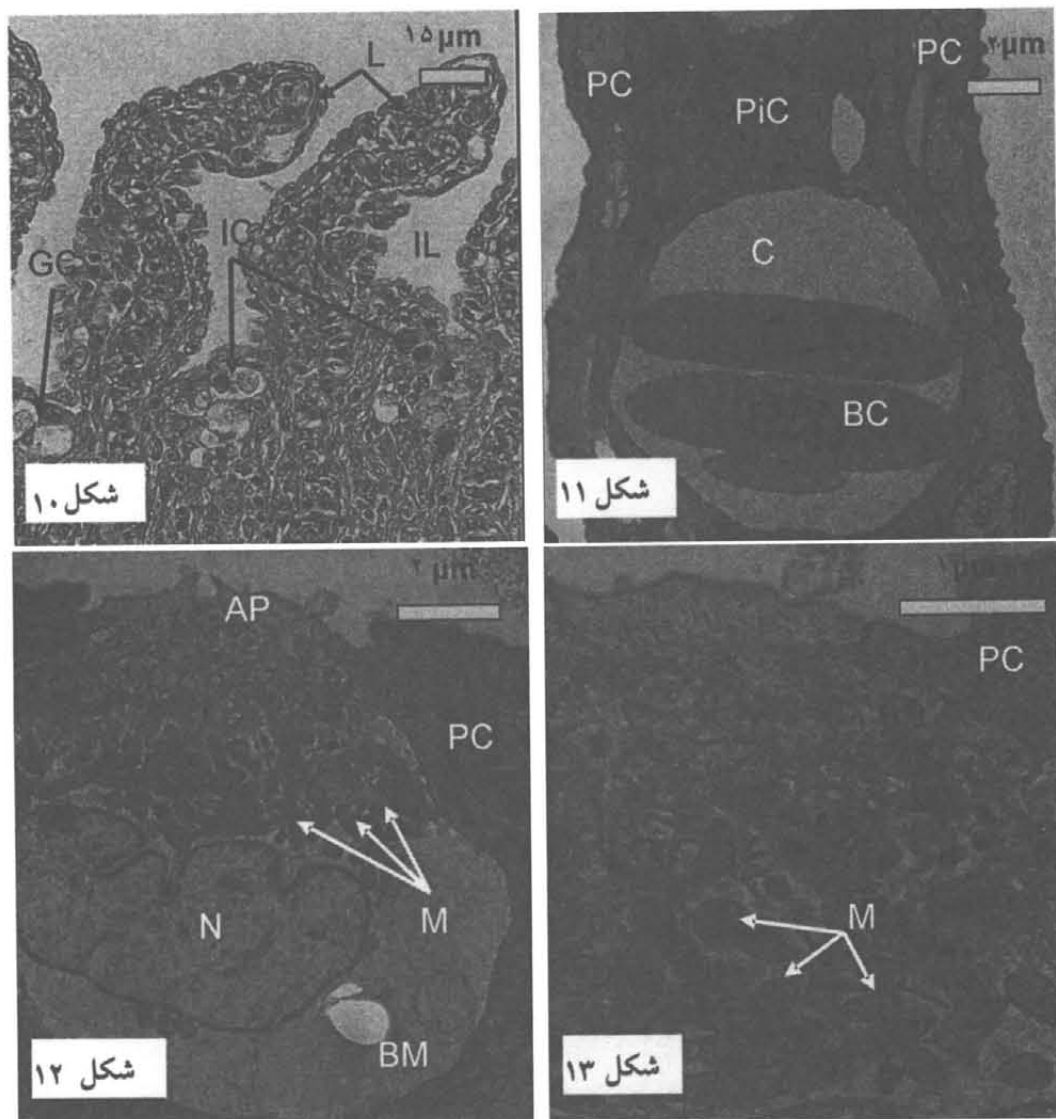
شکل ۵: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، نشاندهنده تیغه‌های آبششی و فضاهای بین آنها می‌باشد.

شکل ۶: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، نمای نزدیک اپی‌تلیوم آبششی، سلولهای سنگ فرشی با ظاهر اثر انگشتی شکل براحتی قابل تشخیص هستند. سلولهای یونوسیت β نیز با حفره و مقدار زیاد کربوهیدرات رأسی به آسانی قابل شناسایی هستند.

شکل ۷: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، یک سلول یونوسیت β با بزرگ نمایی بیشتر از شکل ۶، حفره و کربوهیدرات‌های رأسی قابل مشاهده است.

شکل ۸: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، اپی‌تلیوم آبششی، سلولهای سنگ فرشی به آسانی قابل تشخیص هستند. سلولهای یونوسیت α که هم سطح با سلولهای سنگ فرشی مجاورشان قرار گرفته‌اند و فاقد حفره و کربوهیدرات‌های رأسی می‌باشند، مشاهده می‌شوند.

بخش رأسی (AC)، کربوهیدرات (CH)، رشته آبششی (F)، سلول یونوسیت (IC)، حفره رأسی سلول یونوسیت (ICC)، تیغه آبششی (L)، سلول سنگ فرشی (PC).



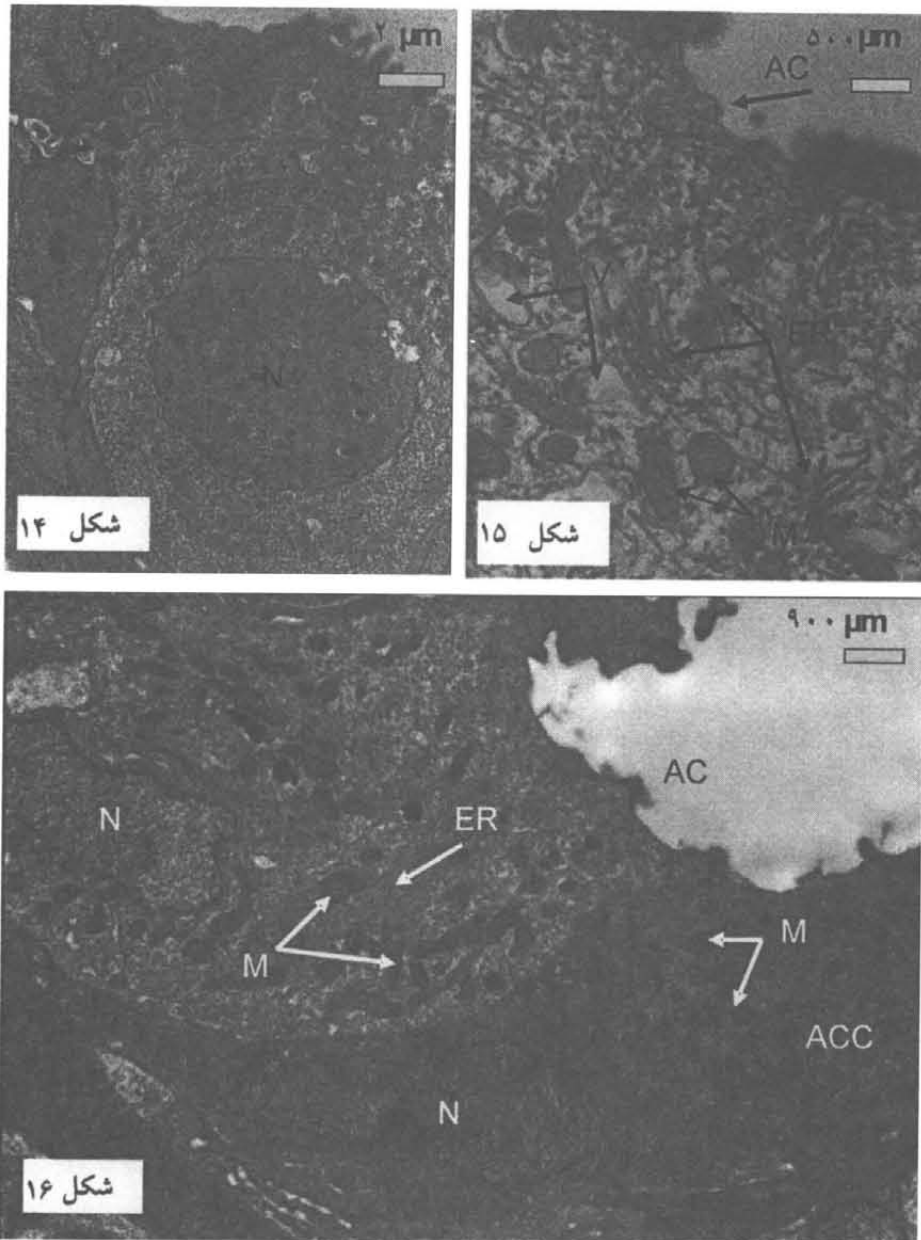
شکل ۱۰: تصویر بافت‌شناسی کلاسیک (H & E)، برش طولی از رشته آبششی، سلولهای یونوسیت در فضاهای بین تیغه‌ای مشاهده می‌شوند. سلولهای جامی شکل نیز با ظاهر روشن و بزرگ قابل تشخیص می‌باشند.

شکل ۱۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، برش طولی از یک تیغه آبششی. دو لایه پوششی از سلولهای سنگ فرشی دیده می‌شود که در رو به روی هم قرار گرفته‌اند و در بین آنها یک سری سلولهای منفرد ستونی قرار دارند. در فضای بین این دو اپی‌تلیال و سلولهای پیلار مویرگهای خونی حاوی سلولهای خونی دیده می‌شوند.

شکل ۱۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، سلول یونوسیت نوع اول (α) تجمع میتوکندری‌ها در ناحیه رأسی بوده و حفره رأسی وجود ندارد.

شکل ۱۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، قسمت رأسی سلول یونوسیت شکل ۱۲ با بزرگ‌نمایی بیشتر، تجمع میتوکندری‌ها در این قسمت و سلولهای کمکی در کنار این سلولها مشاهده می‌شوند.

بخش رأسی (AP)، سلول خونی (BC)، غشای پایه (BM)، سلول جامی شکل (GC)، سلول یونوسیت (IC)، منطقه بین تیغه‌ای (IL)، تیغه آبششی (L)، میتوکندری (M)، هسته (N)، سلول سنگ فرشی (PC)، سلول ستونی (PIC).

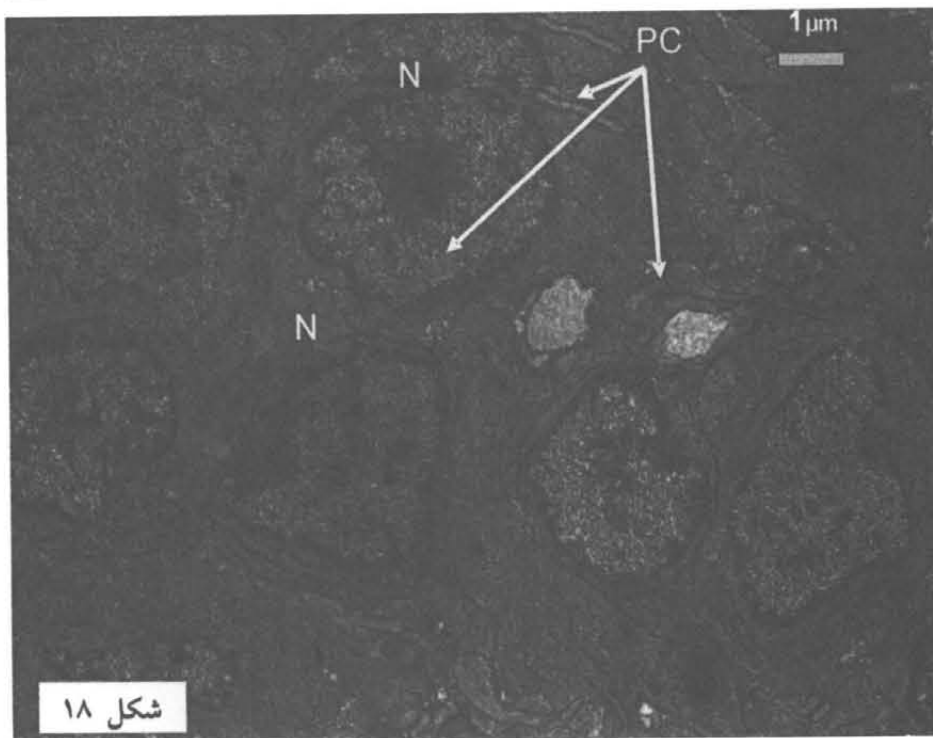
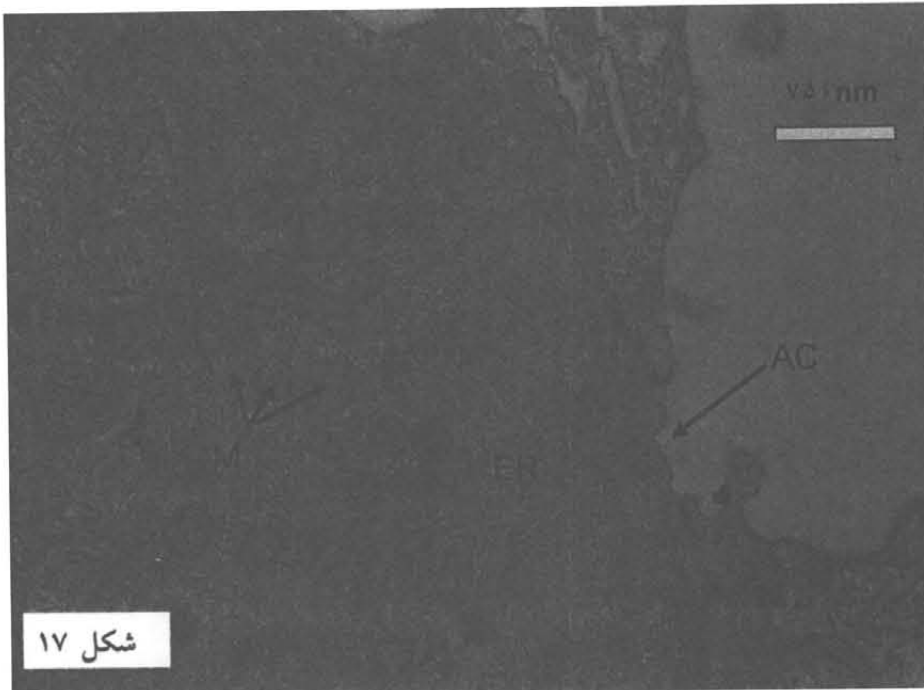


شکل ۱۴: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، سلول یونوسیت نوع دوم (β) که در این سلول تعداد زیادی میتوکندری پراکنده در سیتوپلاسم وجود دارد

شکل ۱۵: قسمت رأسی از یک سلول یونوسیت نوع دوم (β)، شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری، وزیکولهای سیتوپلاسمی و حفره رأسی مشاهده می‌شوند.

شکل ۱۶: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، سلول یونوسیت نوع دوم (β) با حفره رأسی کاملاً مشخص به همراه یک سلول کمکی در کنار آن. سلول کمکی دارای شکل پهن و کشیده بوده حاوی مقدار زیاد میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی می‌باشد.

حفره رأسی (AC)، سلول کمکی (ACC)، شبکه آندوپلاسمی (AR)، میتوکندری (M)، هسته (N)، واکوئل (V).



شکل ۱۷: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، سلول یونوسیت نوع دوم (β)، تراکم بالای میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی مشاهده می‌شود.

شکل ۱۸: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)، برش عرضی از سلولهای سنگ فرشی، به سیتوپلاسم روشن، میتوکندری کم و اتصال سلولهای سنگ فرشی با یکدیگر که از نوع محکم می‌باشد، هسته‌ها نیز در این برش مشاهده می‌شوند. بخش رأسی (AC)، شبکه آندوپلاسمی (ER)، میتوکندری (M)، هسته (N)، سلول سنگ فرشی (PC).

بحث

میکروویلی‌های کوچک هستند (Chang et al., 2001) و بیان کردند که این سلولها شبیه به سلولهای کلراید β در مطالعه Pisam و همکاران در سال (۱۹۹۵) می‌باشند. در مطالعه حاضر براساس مورفولوژی سطح رأسی سلول های یونوسیت نوع دوم، این سلول ها به علت داشتن کربوهیدرات های رأسی زیاد، میکروویلی های رأسی پراکنده و حفره رأسی گرد تا بیضوی معادل سلولهای نوع دوم مطالعه Lee و همکاران در سال ۱۹۹۶ روی *Oreochromis mossambicus* می‌باشند که می‌توان آنها را براساس مطالعه Chang و همکاران (2001) سلولهای کلراید نوع β نامید. براساس این مطالعات سلولهای نوع اول مطالعه حاضر را می‌توان معادل سلولهای کلراید نوع α در نظر گرفت. Pisam و همکاران در سال ۱۹۸۷ بیان کردند که دو نوع سلول کلراید در آبشش *Lebistes reticulatus* وجود دارد. سلولهای کلراید α در این ماهی هنگامی که از آب شیرین به آب شور منتقل می‌شوند، افزایش اندازه پیدا می‌کنند در حالیکه سلولهای کلراید β دچار کاهش تدریجی می‌شوند و کم‌کم از بین می‌روند که نشاندهنده نقش محوری سلولهای کلراید β در محیط هیپرتونیک می‌باشد (Pisam et al., 1987). محیط زندگی گربه ماهیهایی مورد مطالعه در این تحقیق محدود به آب شیرین بوده لذا در طول زندگی با چالش تغییرات شوری مواجه نیستند، بنابراین از نظر فیزیولوژیک استنوهالین می‌باشند. در مطالعه حاضر دو نوع سلولهای کلراید α و β تشخیص داده شدند که با مطالعات پیشین بر روی گونه‌های یوری‌هالین و استنوهالین آب شیرین مطابقت دارد.

اگرچه سلولهای کمکی اغلب در اپی‌تلیوم آبششی گونه‌های دریایی یافت می‌شوند، این سلولها هم چنین در اپی‌تلیوم آبششی آزاد ماهیان یوری‌هالین آب شیرین (Pisam et al., 1987) و هم چنین در دو گونه تیلاپیا (Cioni et al., 1991) و *Salmo trutta* (Pisam et al., 2000) نیز تشخیص داده شده‌اند. براساس مطالعات انجام شده بر روی گونه‌های استنوهالین آب شیرین (Loach, Gulgeon) سلولهای کمکی در اپی‌تلیوم آبششی این گونه‌ها گزارش نشده‌اند (Pisam et al., 1990). اما در مطالعه حاضر سلولهای کمکی در کنار سلولهای کلراید تشخیص داده شدند که از این نظر با یافته‌های قبلی تفاوت وجود دارد و برای اولین بار است که سلولهای کمکی در اپی‌تلیوم آبششی یک گونه استنوهالین آب شیرین مشاهده می‌شوند. همانند یونوسیت‌ها، سلولهای کمکی دارای مقدار زیادی

نتایج نشان می‌دهد که در آبشش گربه ماهی *Silurus glanis* تعداد و ارتفاع تیغه‌ها بطور محسوسی پایین می‌باشد که می‌تواند به دلیل عدم نیاز این آبزی به تبدلات زیاد گازی با توجه به فعالیت کم آن باشد. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که این دو عامل در گونه‌های مختلف با توجه به فعالیت آنها متفاوت است (Hawkings et al., 2003). در ماهی‌های تون و وابستگان نزدیک آنها دیواره تیغه‌ها بسیار نازک است و در حدود ۰/۵۳ تا ۱ میکرون ضخامت دارد. اما در بسیاری از ماهیها ضخامت دیواره‌ها ۲ تا ۴ میکرون می‌باشد. در بعضی از گونه‌های کفزی ضخامت غشای تنفسی ۵ تا ۶ میکرون و در بسیاری از الاسموبرانش‌ها ضخامت تیغه‌ها ۵ تا ۱۱ میکرون است (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). تعداد تیغه‌ها در یک ماهی تون یک کیلوگرمی ۱۲ برابر بیشتر از toad fish است (Evans et al., 1999). مطالعه سطح رأسی سلولهای سنگ فرشی توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره مطالعات قبلی در مورد فراساختار این سلولها را تأیید می‌کند (Goss et al., 1995). در تصویرهای میکروسکوپ الکترونی گذاره این سلولها سیتوپلاسم روشن‌تر نسبت به سلولهای یونوسیت دارند که به دلیل تراکم کمتر (بوژه میتوکندری) این سلولها نسبت به سلولهای یونوسیت می‌باشد. براساس مورفولوژی و فراساختار دو نوع از سلولهای یونوسیت در اپی‌تلیوم آبشش گربه ماهی مشاهده شد. Lee و همکاران در سال (۱۹۹۶) سلولهای کلراید آبشش تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) سازگار شده به آب شیرین را توسط میکروسکوپ الکترونی مطالعه کردند. براساس مورفولوژی سطح رأسی سلولهای کلراید سه نوع از این سلولها را تشخیص دادند. نوع اول (wavy convex)، نوع دوم (shallow basin) و نوع سوم (deep hole) در حالیکه در ماهی سازگار شده به آب دریا تنها سلولهای کلراید نوع سوم وجود داشت (Lee et al., 1996). Chang و همکاران نیز در سال (۲۰۰۱) مطالعه‌ای بر روی اپی‌تلیوم آبششی همین گونه سازگار شده به آب شیرین با ترکیب یونی مختلف انجام دادند. آنها نیز براساس مورفولوژی سطح رأسی همان سه نوع یاد شده از سلولهای کلراید را با تراکمهای مختلف در محیطهایی با غلظت‌های مختلف یونی تشخیص دادند و بیان کردند که سلولهای کلراید نوع دوم در محیط با غلظت کم Ca^{++} فراوان می‌باشند. این نوع از سلولهای کلراید در قسمت رأسی دارای غشایی برجسته و منفذ بیضوی شکل به همراه مقدار زیادی کربوهیدرات‌های رأسی به همراه

milk fish, *Chanos chanos* (Forsskal, 1775). Zoological Studies. Vol. 43, No. 4, pp.772-777.

Cioni, C.; De Merich, D.; Cataldi, E. and Sataudella, S. , 1991. Fine structure of chloride cells in freshwater-and seawater-adapted *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) and *Oreochromis mossambicus* (Peters). Journal of Fish Biol. Vol. 39, pp.197-209.

Evans, D.H.; Piermarini, P.M. and Potts, W.T.W., 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. Journal of Experimental Zoology. Vol. 283, pp.641-652.

Evans, D.H.; Piermarini, P.M. and Choe, K.P. , 2005. The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. Physiological Review. Vol. 85, pp.97-177.

Glauret, M.A. , 1974. Practical methods in electron microscopy. North Holland Publishing, Amsterdam. Oxford. Vol. 3, 353P.

Goss, G.; Perry, S. and Laurent, P. , 1995. Ultrastructural and morphometric studies on ion and acid-base transport processes in freshwater fish. In: Wood and Shuttleworth, eds. Cellular and molecular approaches to fish ions regulation. Academic Press. pp.257-284.

Hawkings, G.S.; Galvez, F. and Goss, G.G. , 2003. Seawater acclimation causes independent alterations in $Na^+ / K^+ - ATPase$ and $H^+ ATPase$ activity in isolated mitochondria-rich cells subtypes of the rainbow trout gill. The Journal of Experimental Biology. Vol. 207, pp.905- 912.

Isiag, S.; Karakisi, H. , 1998. Fine structure of the chloride cell in the gill epithelium of *Branchydanio rerio* (Cyprinidae, Teleostei). Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. Vol. 22, pp.431-436.

میتوکندری هستند، اما این سلولها نسبت به یونوسیتها کوچکتر بوده و سیستم توبولی آنها کمتر توسعه یافته است و دارای مقدار کمتری $Na^+/K^+-ATPase$ در مقایسه با سلولهای کلراید می‌باشند. طبیعت واقعی سلولهای کمکی قابل بحث است. مثلاً در برخی گونه‌ها مثل قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) سلولهای کمکی به نظر می‌رسد سلولهای مستقل و کاملی باشند در حالیکه در گونه‌های مانند تیلاپیا شواهد بیانگر آن است که سلولهای کمکی تنها یک مرحله تکوینی از سلولهای کلراید باشند (Evans et al., 2005). پیشنهاد شده است که سلولهای کمکی مراحل اولیه سلولهای کلراید هستند (Evans et al., 1999). در مطالعه حاضر نیز از آن جایی که این سلولها دارای سیتوپلاسم متراکم بوده و دارای مقادیر زیادی میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی می‌باشند ولی دارای اندازه کوچکتر نسبت به سلولهای یونوسیت هستند، با فرضیه فوق هم‌خوانی دارد. اما در مورد نقش آنها در اپی‌تلیوم آبششی گربه ماهی نمی‌توانیم اظهار نظر کنیم و برای انجام این کار نیاز به مطالعات بیشتر در مورد این سلولها در این ماهی می‌باشد.

عدم توسعه کامل تیغه‌های آبششی (در مقایسه با ماهیان فعالی مثل تون ماهیان و آزاد ماهیان) در این ماهی با میزان تحرک و نحوه زیست آن مطابقت دارد. سلولهای اصلی آبشش گربه ماهی *S. glanis*، یونوسیت α و β ، سلولهای کمکی، موکوسی، سلولهای سنگ فرشی می‌باشند سلولهای یونوسیت در ناحیه پایه‌ای تیغه‌های آبششی و فضای بین پایه‌ای قرار دارند. ویژگی‌های فراساختاری سلولهای یونوسیت مبین نقش فعال این سلولها در تنظیم اسمزی این ماهی هیپرتونیک است.

منابع

ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیعی، ش.، ۱۳۸۲. ماهی شناسی، تشریح و فیزیولوژی. جلد ۱، انتشارات نقش مهر. صفحات ۱۶۵ تا ۱۷۵.

Chang, I.C.; Lee, T.H.; Yang, C.H.; Wei, Y.Y.; Chou, F.I. and Hwang, P.P. , 2001. Morphology and function of gill mitochondria-rich cells in fish acclimated to different environments. Physiological and Biochemical Zoology. Vol. 74, No. 1, pp.111-119.

Chen, C.N.; Lin, L.Y. and Lee, T.H. , 2004. Ionocyte distribution in gills the euryhaline

- Khodabandeh, S.; Charmantier, G.; Blasco, C.; Grousset, E. and Charmantier-Danures M. , 2005a.** Ontogeny of the antennal glands in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, decapoda), anatomical and cell differentiation. Cell and Tissue Research. Vol. 319, pp.153-165.
- Khodabandeh, S.; Ktnik, M.; Aujoulat, F.; Charmantier, G. and Charmantier-Danures, M. , 2005b.** Ontogeny of the antennal glands in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): Immunolocalization of Na^+/K^+ -ATPase, Cell and Tissue Research. Vol. 319, pp.153-16.
- Lee, T.H.; Hwang, P.P. and Lin, H.C. Huang, F.L. , 1996.** Mitochondria- rich cells in the branchial epithelium of the teleost, *Oreochromis mossambicus*, acclimated to various hypotonic environments. Fish Physiol Biochem. Vol. 15, pp.513-523.
- McCormick, S.D. , 1990.** Fluorescent labelling of $Na^+ / K^+ - ATPase$ in intact cells by Use of fluorescent drivative of ouabain: Salinity and teleost chloride cells. Cell Tissue Research . Vol. 260, pp.529-553.
- Pisam, M.; Caroff, A. and Rambourg, A. , 1987.** Tow types of chloride cells in the gill epithelium of a freshwater-adapted euryhaline fish: *Lebistes reticulatus* their modifications during adaptation to saltwater. Am. J. Anat . Vol. 179, pp.40- 50.
- Pisam, M.; Prunet, P.; Boeuf, G. and Rambourg, A. , 1990.** Ultrastructural features of mitochondria-rich cells in stenohalin fresh water and seawater fishes. Am. J. Anat. Vol. 187, pp.265-285.
- Pisam, M.; Le Molal, C.; Auperin, B.; Prunet, P. and Rambourg, A. , 1995.** Apical structure of mitochondria-rich alpha and beta cells in euryhalin fish gill: Their behaviour in various living conditions. Anat. Rec. Vol. 241, pp.13-24.
- Pisam, M.; Massa, F.; Jammet , C. and Prunet, P. , 2000.** Chronology of the appearance of β , A, and α Mitochondria-rich cells in the gill epithelium during ontogenesis of the brown trout (*Salmo trutta*). The Anatomical Record . Vol. 259, No. 3. pp. 301-303.
- Shikano, T. and Fujio, Y. , 1998.** Immunolocalization of $Na^+ / K^+ - ATPase$ in the branchial epithelium of chum salmon fry during seawater and freshwater acclimation. The Journal of Experimental Biology. Vol. 201, pp. 3031-3040.
- Wong, C.K. and Chan, D.K. , 1999.** Chloride cell subtypes in the gill epithelium of Japanese eel *Anguilla japonica*. Am. J. Physiol . Vol. 277, pp.517-522.

**Ultra-structure of Ionocyte cells in gills
of *Silurus glanis* of Mahabad Dam,
Kordestan province**

Khodabandeh S.^{(1)*} and Shahreyari Moghadam M.⁽²⁾

surp78@yahoo.com

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resource and Marine Sciences, University of Tarbiat
Modares, P.O.Box: 14155-356 Noor, Iran

2- Department of Fisheries, Hammon International Wetland Center, Zabol University

Recieved: Aprial 2006

Accepted: May 2007

Keywords: Gill, Ionocyte, *Silurus glanis*, Mahabad, Iran

Abstract

Gills of catfish *Silurus glanis* (300g weight) of Mahabad Dam were examined for structural attributes in 2004. Immediately after catch, gills were removed and placed in Bouin and Glutaraldehyde for structural and microscopic examinations. For classical histological assessment, samples were stained with Hematoxylin and Eosin and examined under light microscope. For electron microscopy, cuts 90 nanometers each were prepared and stainted with Uranyl Acetate and Lead Citrate, covered with silver, examined and photographed.

We found the gill cells being composed of ionocyte α , β , accessory, mucous, pillar and mosaic cells. The ionocytes were located at the base of the gill rakers and intra-raker spaces. These structural attributes of ionocyte cells demonstrate their active role in osmotic regulation of catfish.

* Corresponding author