بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک در آبشش ماهیان قزل آلای تعدادی از کارگاه‌های پرورش ماهیان سردآبی استان کهگیلویه و بویراحمد

رحیم پیغان[۱] ، مریم دادار[۲*] ،آناهیتا رضایی[۳]

۱. استاد گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

۲. * دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری های آبزیان ، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

۳. استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

نویسنده مسئول: Mdadar77@yahoo.com

چکیده :

بافت آبشش به دلیل تماس مستقیم با آب که حاوی متابولیت های دفعی ماهیان و سایر آلاینده ها و مواد شیمیایی است،از حساسترین اعضای بدن ماهیان می باشد. این تحقیق برای بررسی ضایعات آبشش صورت پذیرفته، که برای این منظور از تعداد ۲ کارگاه پرورش ماهیان سردآبی استان کهکیلویه و بویراحمد، نمونه برداری بعمل آمد و تنوع ضایعات وارده به آبشش ماهی قزل آلای رنگین کمان در سیستم پرورشی استخرهای سیمانی مورد ارزیابی قرار گرفت . به این منظور با مراجعه به ۲مزرعه پرورشی ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان کهگلویه و بویر احمد۳۰ عدد ماهی از مزارع جمع آوری گردید .پس از بررسی های ماکروسکوپیک، به منظور مطالعه میکروسکوپی از نواحی میانی کمان های آبششی هر دو سمت نمونه‌هایی به ضخامت حداکثر ۱ سانتی متر تهیه و پس از پایدار سازی در فرمالین بافر ۱۰ درصد، طبق روش های رایج تهیه مقطع، برش هایی به ضخامت ۵ میکرومتر انجام و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین اسلاید آماده گردید. بر اساس بررسی‌ها و مطالعات آسیب شناسی بافتی، دراین سیستم، آسیب-ها عمدتاً به شکل ادم و پرخونی با ۲۷ درصد فراوانی بودند. در مشاهدات میکروسکوپی آبشش، پرخونی عروقی، هیپرتروفی رشته های ثانویه آبششی، هیپرپلازی و چسبندگی رشته ها،چماقی شدن وکوتاهی رشته های آبششی ثانویه و خونریزی رشته ها با فراوانی به ترتیب ۲۷ درصد،۲۰ درصد،۱۳ درصد،۱۰ درصدو۳ درصد مشاهده شد.در ۱۷ درصد موارد از تعداد ۳۰ ماهی مورد بررسی هم هیچ ضایعه ای در رشته‌های آبششی دیده نشد.

واژگان کلیدی: هیستوپاتولوژیک، قزل آلا، آبشش، هایپرپلازی، چماقی شدن

مقدمه :

آسیب شناسی بافت ها نقش مهمی در تشخیص بیماری ها و ضایعات ایجاد شده در ماهی دارد و یکی از پایه های مهم و اساسی مربوط به علم آبزیان است . در میان بافت های ماهیان، آبشش ها یکی از اندام های مهم می‌باشد که وظایف متعددی را به عهده دارد. آبشش ها دارای سطح بسیار وسیعی هستند که این سطح بیش از ده برابر تمامی بدن است و سطح تنفسی روی لاملا بوسیله یک لایه‌ی پوششی نازک پوشیده شده است .بنابراین آبشش ها به طور ضروری با محیط اطراف برای تبادلات گازی ، تنظیم اسید و باز و تنظیم اسمزی و ترشح ضایعات نیتروژنی در ارتباط است، بافت آبششی اکسیژن را به طور مستقیم از آب توسط لایه اپیدرمیس دریافت میکند و این بافت ها ممکن است ۲۰ تا ۴۰ درصد اکسیژن مورد استفاده برای ماهی که در حال استراحت است را تامین کند (شاهسونی و موثقی، ۱۳۸۱).

بدلیل تماس مداوم آبشش ها با آب و سطح وسیع آبشش‌ها ، این اندامها اغلب در معرض آسیب های ناشی از آلاینده‌ها و مواد شیمیایی محلول در آب قرار می‌گیرد ، اثرات هیستوپاتولوژیکی مواد مختلف روی آبشش تحت تاثیر آلاینده‌ها و خواص فیزیکوشیمیایی (Ogundiran et al., 2009, Daoust et al., 1984) آب و گونه ماهی است.

همچنین به هنگام مشاهده یک ماهی تلف شده، اولین موردی که نظر پرورش دهندگان را به خود جلب می‌کند، احتمال وجود آسیب در سیستم

تنفسی ماهی بخصوص آبشش ها می باشد. حساسیت بالای این عضو بدلیل موقعیت خارج بدنی و ضرورت تماس کامل آن با آب و تمامی عناصر و عوامل موجود در آن می‌باشد (Roberts, 1989). این موضوع نشان دهنده این است که ذرات ویروسی و باکتریایی و مواد محلول خاصی مانند آنتی ژنهای محلول به آسانی از آبشش ها جذب می شوند که موجب عفونت ویروسی یا باکتریایی می شوند. اینها می توانند عفونت اولیه آبششی را ایجاد کنند (حقیقی، ۱۳۸۶؛ Roberts, 1989). بیماری باکتریایی آبششی (BGD) که یک مشکل جدی در پرورش متراکم آزاد ماهیان است و در بیشتر نقاط دنیا وجود دارد از جمله بیماری‌های مهم آبشش است که باعث می‌شود ماهی از مشکلات تنفسی رنج ببرد همچنین سموم زیادی قادرند ماهی را بیمار کنند مانند انواع حشره کش ها ، علف کش ها،نیکوتین و شوینده های خانگی که حتی به میزان بسیار جزئی و اندک می توانند برای ماهی کشنده باشند . در استخرها یا سیستم های که در آنها از آبهای سطحی استفاده می شود ،پس از بارندگی مسمومیت به دلیل شسته شدن اسید ها یا کودهای شیمیایی و ورود آنها به داخل آب اتفاق می-افتد (شاهسونی و موثقی، ۱۳۸۱؛ حقیقی، ۱۳۸۶).

در برخی موارد نیز تلفات ماهیان به دلیل سمپاشی هوایی محصولات کشاورزی و نفوذ به داخل آب صورت می گیرد. خاصیت سمی موارد ذکر شده در دماهای بالا بیشتر بوده و متأثر از عواملی نظیر اسیدی و قلیایی بودن آب، سختی آب و اکسیژن محلول در آن می‌باشند. به هر حال مواد محرک برون زا مهم ترین عامل ایجاد ضایعات و تغییرات پاتولوژیک در آبشش‌ها هستند (Edward, 2000).

آبشش ها تشکیلات نسبتاً کمی دارند که شامل : اپی تلیوم ، اندوتلیوم ، سلولهای پیلار ، بافت زمینه‌ای پشتیبان فیبروزی و غضروفی در لاملای اولیه و سلولهای تخصص یافته مثل سلولهای موکوسی ،سلول‌های نمک ،ائوزینوفیل‌ها و ماکروفاژهای مستقر در بافت است (Bullock, 1990). عملکرد آبشش ماهی بعنوان ارگان تنفسی و دفعی است که شامل شبکه مویرگی می باشد که خون وآب در دوطرف آن بوسیله یک یا دو لایه سلول جدا می شوند. پرولیفراسیون بافت و سپس از دست دادن سطح بافت بوسیله چماقی شدن و اتصال لاملا باعث نقص در تنفس و دفع نیتروژن از ماهی شده و تعادل اسمزی را بهم می زند. به‌دلیل این تغییرات مضر در سلامت ماهی جلوگیری و درمان بیماری آبششی در پرورش ماهی (Roberts and Rodger, 2001) مهم است.

ضایعات آبشش به دو صورت حاد و مزمن دیده می شودکه ضایعات حاد بیشتر توسط مواد شیمیایی ایجاد می شوند و بیشتر به صورت تورم و افزایش واکوئل ها در در لایه پوششی تیغه ها ظاهر می گردند. احتقان ،افزایش تولید موکوس و خیز یا اِدِم که به صورت جدا شدن لایه پوششی از غشاء پایه مشخص می گردد نیز ممکن است مشاهده شود (حقیقی، ۱۳۸۶).

ضایعات مزمن اگر چه نسبتاً ملایم هستند، شامل هیپرپلازی سلولهای جامی و کلراید می‌باشند که اغلب به طرف لاملا و به تعداد زیادی گسترش می یابند. تغییرات شدیدتر باعث هیپرپلازی مشخص بافت پوششی می شود مثل تکثیر و تزاید پیشرونده آبشش ها که معمولا همراه با اتصال لاملاهای مجاور به یکدیگر و پر شدن فضای بین لاملاها می باشد در حالیکه درمسمومیت تجربی با ویتامین A هیپوپلازی لاملاها واز هم گسیختگی و تغییر شکل آنها دیده می شود. در عفونت‌های مزمن، مخصوصاً بیماریهای انگلی، ممکن است تعداد زیادی از سلول های التهابی شامل لنفوسیت ها و ماکروفاژها در بین لاملاها قرار بگیرند که در آزاد ماهیان این سلول ها ائوزینوفیل می‌باشند (Hugh and Ferguson, 1989؛ شاهسونی و موثقی، ۱۳۸۱؛ حقیقی، ۱۳۸۶) لاملاها همچنین ممکن است به طور پراکنده در بیماری‌های مزمن گرانولوماتوز مانند بیماری باکتریایی کلیه درگیر شوند.

تحقیقات فراوانی روی ضایعات آبششی ماهیان انجام گرفته است که در این قسمت به برخی از آنها اشاره می شود:

در تحقیقی که شریف پور و ذریه زهرا در سال ۱۳۸۵ روی ضایعات بچه ماهیان تلف شده در مراکز سرد آبی کشور انجام دادند آسیب های آبشش را در این بچه ماهیان مطالعه کردند. در مشاهدات میکروسکوپی آبشش، پرخونی عروق، تورم لایه پایه رشته‌های ثانویه آبششی، هیپرپلازی و چسبندگی رشته‌ها و در مواردی چماقی شدن رشته های آبششی ثانویه مشاهده شد. مهاجری و همکاران (۱۳۸۷) نیز ضایعات آبشش را در سیستم های مدار باز و بسته با هم مقایسه کردند. لیچنفل و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر آلودگی را در آبشش ماهیان در آب آلوده و در آب سالم بررسی کردند. .محققان کانادایی نیز ضایعات آبششی را در بیماری باکتریایی آبشش درآزاد ماهیان بررسی کردند (Edward, 2000). آنتیچوویس در سال ۲۰۰۷ ضایعات آبشش ماهی قزل آلای رنگین کمان را در ماهیان پرورشی در لهستان بررسی کردند و نشان دادند که ضایعات آبشش بخاطر سلولهای شبیه آمیب است که باعث بیماری پرولیفراتیو آبششی شده و تلفات زیادی را ایجاد می‌کند. همراه این سلولها ضایعه‌ی هیپرپلازی اپی تلیوم آبشش‌ها نیز دیده می شد. اتیولوژی بزرگ شدن و توسعه بافت آبشش دلایل متنوعی دارد (Govett et al., 2006). هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول اپیتلیوم آبشش به تخریب آبشش در اثر کمبود ویتامین ث نسبت داده شده است. بدلیل نقش حیاتی آبشش در سلامت و رشد مناسب ماهی و حساس‌ترین عضو ماهی نسبت به شرایط محیطی و آلودگی‌های آب تحقیقات زیادی توسط محققان روی بررسی ضایعات تحت شرایط مختلف محیطی و آلودگی های موجود در آب صورت گرفته است (Lichtenfels et al., 2006؛ Boran et al., 2010؛ Athikesavan et al., 2006؛ Sahoo et al., 2003 ؛ Mazon, 2002؛ Yonkos et al., 2000؛ Bebak and Baumgartenb, 1997؛ Yokote, 1990؛ Speare et al., 1989؛ Daoust et al., 1984؛ حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹؛ ناجی و همکاران، ۱۳۸۶؛ حقیقی، ۱۳۸۶؛ آذری تاکامی ۱۳۷۶). با توجه به اهمیت و حساسیت آبشش ها و نقش آنها در رشد ماهی این تحقیق با هدف تعیین نوع ضایعات و شدت آنها در سیستم های پرورشی ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام گرفت.

مواد و روش کار :

الف – تهیه ماهی:

تعداد ۳۰ عدد قزل آلای رنگین کمان با وزن تقریبی ۲۵۰گرم به صورت تصادفی از دو کارگاه ماهیان سرد آبی در منطقه‌ی کهگلویه و بویر احمد در مهر ماه ۱۳۸۹ تهیه گردید.

ب – نمونه گیری از بافت

برای کشتن و بی حرکت کردن ماهیها از روش تخریب مغز و نخاع استفاده شد. پس از آن بدلیل حساس بودن آبشش ها به طور سریع از آنها نمونه برداری شد . برای این کار سرپوش آبششی را برداشته و از کمان اول آبششی نمونه برداری شد. برای جلوگیری از تخریب و له شدگی بافت هنگام برش، ابتدا توسط قیچی و پنس، کمان آبششی از دو انتها جداشد سپس از وسط کمان آبششی قطعه ای به اندازه ۱ سانتی متر بریده و در فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت گردید.

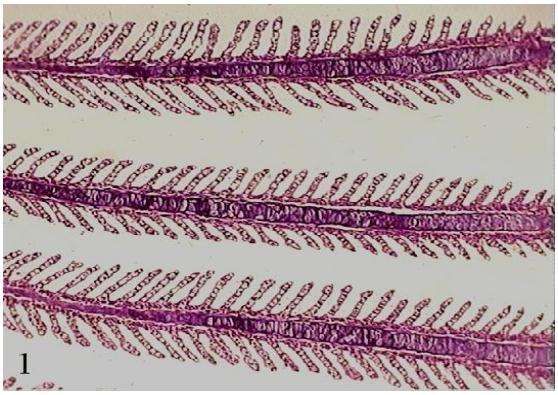
ج – روش تهیه مقاطع بافتی

در این مطالعه جهت تثبیت نمونه ها از ماده تثبیت کننده بافر فرمالین ۱۰٪ استفاده شد. پس از این مرحله نمونه‌ها جهت انجام پاساژ بافتی وارد دستگاه شدند. در این دستگاه ابتدا نمونه‌ها توسط درصدهای صعودی الکل آبگیری شدند و سپس به‌وسیله گزیلل شفاف شده و در نهایت توسط پارافین آغشته‌گری صورت پذیرفت. پس از خروج نمونه‌ها از دستگاه، توسط پارافین قالب‌گیری انجام شده و پس از سرد شدن و انجماد پارافین، قالب‌ها تا زمان برش در

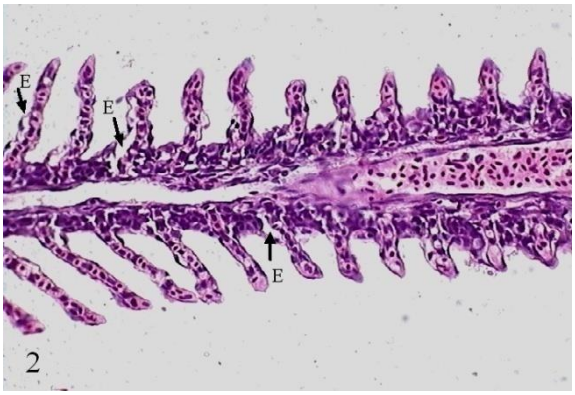
یخچال نگهداری شدند. با استفاده از دستگاه میکروتوم از نمونه‌ها، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین و ائوزین قرار گرفتند. سپس اسلایدهای تهیه شده مورد بررسی دقیق میکروسکوپیک قرار گرفته و ضایعات مشاهده شده درجه‌بندی گردیدند (شاهسونی و موثقی، ۱۳۸۱؛ شریف پور و ذریه زهرا، ۱۳۸۵؛ حقیقی، ۱۳۸۶).

نتایج :

در بررسی های بالینی ، آسیب های ظاهری آبشش ها به شکل رنگ پریدگی و وجود ترشحات لزج و چسبنده در روی آبشش، پرخونی و خونریزی های کانونی و در برخی مواقع تخریب و بر هم خوردن نظم رشته های آبششی توام با خونریزی مشاهده شد. در بررسی میکروسکوپیک در ۵ نمونه ساختار طبیعی بافت آبشش بدون تغییر پاتولوژیک مشاهده شد (تصویر ۱). در سایر نمونه‌ها ضایعات پاتولوژیک با شدت‌های متفاوت به‌صورت ترکیبی از اِدم ، پرخونی، هیپرتروفی، هیپرپلازی و چماقی شدن، تلانژیکتازی و خونریزی مشاهده گردید. اِدم با افزایش فضاهای خالی مابین ساختارهای موجود در لاملاهای اولیه و ثانویه مشخص و در ۸ نمونه‌ها مشاهده شد (تصویر ۲). هیپرتروفی که در ۶ نمونه‌ها تشخیص داده شد با بزرگ شدن سلول‌های پوشاننده جدار لاملاها همراه بود (تصویر۳). تلانژیکتازی یا آنوریسم که حوضچه-های مملو از گلبول‌های قرمز در لاملاهای ثانویه می-باشند در ۳ مورد از نمونه‌ها مشاهده گردید. هیپرپلازی سلول‌های پوشاننده در برخی از نمونه‌ها (۳نمونه) با چماقی شدن (تصویر ۵) و در برخی دیگر که شدت بیشتری داشته با به‌هم چسبیدن لاملاهای ثانویه همراه بود. در یک مورد نیز خون‌ریزی دیده شد که با تجمع گلبول‌های قرمز هسته دار در لابلای لاملاهای ثانویه مشخص گردید (تصویر ۶).

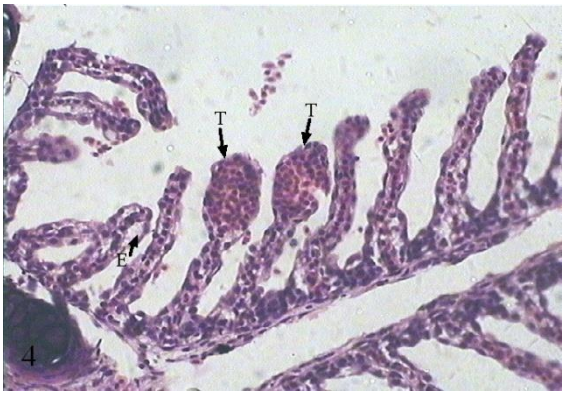


تصویر ۱: بافت آبشش ماهی قزل آلا. به ساختار طبیعی لاملاهای اولیه و ثانویه توجه شود (رنگ‌آمیزی H&E، لنز x10).

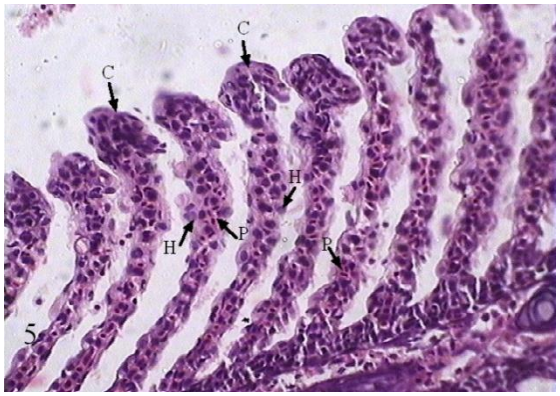


تصویر ۲: بافت آبشش ماهی قزل آلا. به فضاهای خالی موجود در بین ساختارهای لاملاهای ثانویه که مبین ادم (E) است توجه شود (رنگ‌آمیزی H&E،لنز x10).

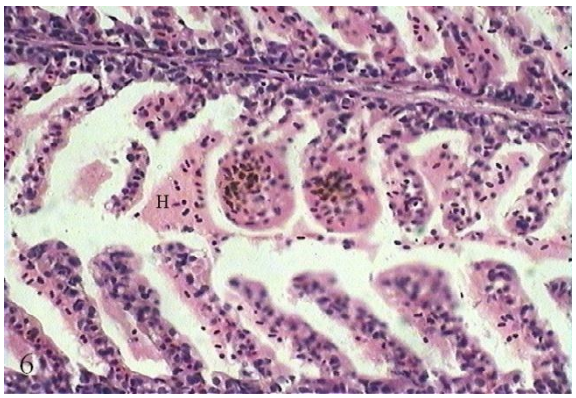
تصویر ۳: بافت آبشش ماهی قزل آلا. هیپرتروفی سلول-های پوشاننده لاملاهای ثانویه (H) با بزرگ شدن این سلول‌ها همراه است (رنگ‌آمیزی H&E، لنز x40).



تصویر ۴: بافت آبشش ماهی قزل آلا. به تلانژیکتازی که در لاملاهای ثانویه رخ داده است و با تجمع گلوبول‌های قرمز همراه می‌باشد توجه شود (رنگ‌آمیزی H&E، لنز x40).



تصویر ۵: بافت آبشش ماهی قزل آلا. چماقی شدن لاملاهای ثانویه (C)، پرخونی (P) و هیپرتروفی (H) سلول‌ها توجه شود(رنگ‌آمیزی H&E، لنز x40).



تصویر ۶: بافت آبشش ماهی قزل آلا. خونریزی با تجمع گلوبول‌های قرمز مابین لاملاهای ثانویه (H) مشخص می-شود (رنگ‌آمیزی H&E، لنز x40).

درجه بندی ضایعات در جدول۱ بر اساس شدت ضایعات و همراهی ضایعات با همدیگر طبقه بندی شده است که درجه صفر به آبشش سالم و بدون ضایعه و درجه هفت به شدیدترین ضایعات موجود در آبشش که همراه با خونریزی و نکروز های وسیع است نسبت داده می شود (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹؛ شریف پور و ذریه زهرا، ۱۳۸۵).

از ۳۰ نمونه مورد بررسی متعلق به سیستم پرورشی در استخرهای سیمانی، از لحاظ آسیب شناسی بافتی آبشش ها تعداد ۵ مورد سالم (۱۷٪)، ۸ مورد دچار آسیب از نوع درجه ۱ (۲۷٪)، ۶ مورد دچار آسیب از نوع درجه ۲ (۲۰٪)، ۴ مورد دچار آسیب درجه ۳ (۱۳٪)، ۳ مورد آسیب درجه ۴ (۱۰٪)، ۳مورد آسیب درجه ۵ (۱۰٪)،۱مورد آسیب درجه ۶ (۱۰٪) و از آسیب درجه ۷ نمونه ای وجود نداشت. درصد ضایعات آبشش از نظر رتبه در نمودار شماره ۱ با هم مقایسه شده است.

بحث و نتیجه گیری:

آبشش ماهی یک اندام حیاتی چند کاره است که فعالیت های مهمی از جمله تنفس، تنظیم اسمزی ،تعادل اسید و باز و دفع مواد زائد نیتروژنی را به عهده دارد (Evans et al., 2005). آبشش ها در برابر مواد شیمیایی و عفونی آب بسیار آسیب پذیرند وعلت آن اولاً بخاطر سطح بزرگ آبشش ها که باعث شده مواد توکسیک و عفونی بیشتر روی آن تاثیر بگذارد و ثانیاً به‌علت سیستم سم زدایی در آبشش است که به قدرت سیستم سم زدایی کبدی نیست (Evans et al., 2005،Mallatt, 1985) بعلاوه جذب مواد شیمیایی از طریق آبشش سریع است و بنابراین واکنش و عکس العمل آبشش نسبت به این مواد سریع می باشد (Evans et ،Mallatt, 1985 al., 2005). آبشش ها، در ارزیابی تأثیر آلودگی ها در زیستگاه‌های دریایی و آب شیرین برای ماهیان پرورشی و وحشی مورد ارزیابی قرار گرفته اند (Athikesavan et al., 2006).

جدول ۱: درجه بندی شدت آسیب بر اساس ضایعات مشاهده شده (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹؛ شریف پور و ذریه زهرا، ۱۳۸۵)

درجه بندی	ضایعات مشاهده شده در آبشش	تعداد نمونه های ضایعه دار
۰	سالم	۵
۱	اِدم + پرخونی	۸
۲	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم	۶
۳	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم +هیپرپلازی (موضعی و منتشر)	۴
۴	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم + هیپرپلازی + تلانژکتازی	۳
۵	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم + هیپرپلازی + چماقی شدن	۳
۶	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم + هیپرپلازی + خونریزی	۱
۷	اِدم + پرخونی + هیپرتروفی اپی تلیوم + هیپرپلازی + خونریزی وسیع و نکروز	۰

شناخت بافت طبیعی آبشش و ضایعات یک گونه خاص با توجه به وجود اختلافات گونه ای برای متخصصان بیماری ها و پاتولوژیست‌های آبزیان بسیار مهم است چرا که تغییرات در بافت پوششی و ساختار سلولی آن اخطار اولیه بسیار مناسبی جهت آگاهی از روند بسیاری از بیماری های عفونی، انگلی و محیطی می باشد. مطالعه حاضر بر روی ۳۰ قطعه ماهی قزل آلا که به طور تصادفی از دو حوضچه پرورش در استان کهگلویه و بویر احمد انتخاب شده بودند، صورت گرفت. آسیب شناسی بافتی در بررسی حاضر نشان داد که ضایعات پاتولوژیک آبشش در سیستم پرورشی مورد مطالعه اغلب به صورت ترکیبی از ادم، پرخونی، هیپرتروفی سلول های پوششی، تلانژیکتازی و خونریزی با شدت های مختلف بروز می کند. از جمله موارد پاتولوژیک که در بیشتر موارد مشاهده شد ادم آبشش ها بود عوامل زیادی در بروز تغییرات بافتی مذکور دخیل هستند. غلظت بالای آلاینده های شیمیایی نظیر فلزات سنگین یا برخی از آفت کش ها و حتی استفاده بیش از حد فرمالین، به‌دلیل افزایش نفوذپذیری عروق، باعث ایجاد تغییرات ادماتوز وسیع در قسمت های قاعده ای تیغه های ثانویه آبشش می‌شود (حقیقی، ۱۳۸۶، Roberts and Rodger, 2001) که در این تحقیق در ضایعات موجود در آبشش ها بیشترین ضایعه را به خود اختصاص داده بود که نشان دهنده نقش مهم عوامل محیطی در ضایعات آبشش ماهیان پرورشی می‌باشد، همچنین در ماهی کپور بزرگ هندی که در معرض علف کش آترازین قرار گرفته بود بیشترین ضایعات شامل ادم ، واکوئله شدن و هیپرپلازی اپیتلیوم، چماقی شدن لاملای ثانویه بودند که تشابه این ضایعات (Jayachandran and Pugazhendy, 2009) با موارد موجود در این بررسی نشان می‌دهد که شرایط محیطی این دو حوضچه پرورشی مساعد نیست. در بررسی دیگر روی ضایعات آبشش که در مجاورت حشره‌کش‌هایی مانند کاربامیل و مناب بر قزل آلای رنگین کمان انجام شد بیشترین ضایعات شامل هیپرپلازی، نکروز اپیتلیوم،اتصال لاملاها و هیپرتروفی بود (Jimenez-Tenorio et al., 2007). در تحقیق مهاجری و همکاران (۱۳۸۷) در سیستم های باز پرورش قزل آلا بیشترین ضایعات ادم و پرخونی مشاهده شد هرچند هیپرپلازی، نکروز اپیتلیوم و اتصال لاملاها و هیپرتروفی نیز مشاهده شد که نتیجه این تحقیق با بررسی موجود مطابقت دارد (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹). آسیب های موجود در آبشش می تواند از طرف باکتری ها، انگل ها و یا کیفیت بد آب ایجاد شود، همچنین هیپرپلازی بافت

پوششی و هم جوشی تیغه های آبشش در اثر کمبود برخی ویتامین ها نیز ایجاد می‌شوند (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹، Edward, 2000). مازون در سال ۲۰۰۲ عنوان کرد که تغییرات بافت آبششی مانند هیپرپلازی و هیپرتروفی بعنوان یک مکانیسم دفاعی برای ماهی است و ممکن است بدلیل کمبودهای تغذیه‌ای و برخی از انگل ها ایجاد شود. ساهو و همکاران در ۲۰۰۳ اثرات استفاده بیش از حد از مواد شیمیایی در کشاورزی را که باعث افزایش قارچ آسپرژیلوس و ماده سمی آفلاتوکسین می‌شود در کپور ماهیان هندی مورد بررسی قرار دادند و این محققان نکروز لاملای آبشش، خونریزی، کندن سلول های بافت آبشش، ادم و تورم لاملای اولیه را گزارش کردند (Shirakashi et al., 2011).

اتیولوژی بزرگ شدن و توسعه بافت آبشش دلایل متنوعی دارد هیپرپلازی و هیپرترفی سلول اپیتلیوم آبشش به تخریب آبشش در اثر کمبود ویتامین ث نسبت داده شده است(Govett et al., 2006) کمبود اسید پانتوتنیک نیز باعث ایجاد هیپرپلازی گرزی شکل می شود. با آنکه این اسید به وفور در غذا وجود دارد ولی کمبود آن به وفور در ماهی روی می دهد و باعث هیپر پلازی تیغه های آبششی اولیه وگرزی شدن راس تیغه های آبششی ثانویه می شود، که احتمالا بدلیل از بین رفتن اسید پانتنیک در مراحل تهیه غذا می باشد، این وضعیت تحت عنوان بیماری تغذیه ای آبشش نامیده می‌شود. (Roberts and Rodger, 2001) در تحقیقی دیگر، درمعرض قرارگیری ماهی آبنوس کله گنده با دی اکسید کربن باعث ایجاد هیپرتروفی و هیپرپلازی آبشش گردید که در نتیجه آن لاملای ثانویه با هم متصل شدند (Yonkos et al., 2000). از عوامل دیگری که باعث ایجاد ضایعات بافتی در آبشش می شوند می‌توان به حضور جلبک هایی مانند *کارینا میکیموتویی* *Karenia mikimotoi*، زئوپلانکتون‌های مضر مانند *پلاژیا نوکتیلوکا* *Pelagia noctiluca* و سایر تغییرات محیطی مانند آلودگی ها و عوامل ژنتیکی و تغذیه ای و عوامل مسری اشاره کرد که همگی باعث ایجاد تغییرات مهم در آبشش می‌شوند. هیستوپاتولوژی ناشی از جلبک‌های مضر در آب شامل نکروز حاد، جداشدن سلول‌های اپیتلیال، ادم شدید، تورو و پیکنوز شدید هسته ها می باشد، این ضایعات در کبد و دستگاه گوارش هم دیده می‌شود (Rodger et al., 2010). در بیماری حباب گازی (gas bubble disease) ادم لاملاها و تجزیه و تخریب در ساختار اپیتلیوم دیده می شود .(Speare et al., 1989، Roberts, 1989 ، حقیقی، ۱۳۸۶) از ضایعات همراه با زئوپلانکتون های مضر در آبشش-ها می توان به نکروز آبشش، ترشح سلول های دانه دار ائوزینوفیلی، ادم، هیپرپلازی، خونریزی، اتصال لاملاها و گاهی حضور زئوپلانکتون ها درفضای بین لاملایی (Roberts and Rodger, 2001) اشاره کرد. وجود حتی غلظت های بسیار پایین موادی نظیر آمونیاک و DDT در طولانی مدت باعث بروز هیپرپلازی و پرولیفراسیون سلول ها می شود که در حالت عادی از نظر تشخیصی نمی توان تفاوت این ضایعات و آسیب های مشابه ایجاد شده در اثر مواد نامحلول محرک از قبیل فاضلابها ، معادن، لجن و گل و لای را (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹) تشخیص داد. ترشحات موکوسی که در اثر پرولیفراسیون بافت پوششی ایجاد می شوند باعث ایجاد لایه ای غلیظ و چسبنده در خارج کوتیکول آبشش می شوند که غلیظ و چسبنده بوده و قوام متغیری دارد. این لایه علاوه بر اینکه باعث ایجاد انسداد تنفسی می شود باعث تسریع در رشد و تکثیر باکتری‌هایی نظیر فلکسی باکتر و سودوومونواس ها می‌شود که نتیجه آن بیماری باکتریایی آبشش است و در سیستم‌های متراکم پرورشی و اکثر گونه‌ها شایع است (Roberts, 1989). یکی دیگر از ضایعات مشاهده شده در بافت آبشش تلانژکتازی بود که در مسمومیت با مس و در سیستم های پرورشی مدار بسته و در مطالعه حاضر مشاهده شد (ناجی و همکاران، ۱۳۸۶). این ضایعه اصلی ترین عارضه متعاقب عفونت آبشش

است که با اتساع عروق خونی در تیغه های آبششی ثانویه و تجمع خون در آنها همراه است، این حالت هنگام وجود سموم در محیط، ضربات به ناحیه سر در هنگام دسته بندی یا انتقال از استخری به استخر دیگر دیده می شود (Edward, 2000). در بیماری سکوک هم ضخیم شدن پایه آبشش و تلانژکتازی مشخص است (Yokote, 1990).

نتایج حاصل از بررسی ها و مطالعات هیستولوژیک در این تحقیق و سایرمطالعات نشان می دهد که آبشش تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی نظیر ضدعفونی کننده ها ، فاضلاب کارخانه‌ها و آلودگی های آب دچار تغییرات پاتولوژیک از دژنراسیون بافتی تا نکروز بافت با درجات مختلف می شود (Yokote, 1990, Roberts and Rodger, 2001 ،Shirakashi et al., 2011, Lichtenfels et ،Mallatt, 1985 ،Rodger et al., 2010 Boran et al., 2010، Bullock, 1990 ،al., 2006 Antychowicz, 2007، ،Athikesavan et al., 2006 ناجی و همکاران، ۱۳۸۶، مهاجری و همکاران، ۱۳۸۷، آذری تاکامی ۱۳۷۶). در یک جمع بندی کلی می توان بررسی آبشش را به عنوان یک شاخص مناسب برای چگونگی محیط پرورش معرفی کرد. تراکم بالای ماهی و متعاقب آن تجمع و افزایش متابولیت های سمی در آب بویژه آمونیاک و مساعد شدن محیط زیست ماهی برای رشد و تکثیر انواع عوامل پاتوژن و از سوی دیگر عوامل استرس زا ناشی از آلودگی های آب از مهمترین عوامل بروز ضایعات پاتولوژیک آبشش می باشند. به هر حال یافته های این تحقیق با یافته های سایر محققان (حسین پور و همکاران، ۱۳۸۹، آذری تاکامی ۱۳۷۶) در سیستم های پرورشی مطابقت دارد. با اینحال بدلیل مشاهده انواع ضایعات پاتولوژیک در آبشش ماهیان پرورشی که در اغلب موارد بدون علائم بالینی است و از آنجائیکه هر گونه آسیب در آبشش موجب کاهش تولید و فراهم آوردن جهت بروز سایر بیماری ها خواهد شد، بنابراین رعایت مواردی همچون معاینات دوره‌ای آبشش بصورت ماهانه ، کاهش بار آلی آب، تشخیص سریع جلبک ها و زئوپلانکتون‌های مضر و حذف سریع آنها،کاهش تراکم ماهی ، تصفیه مناسب آب پرورش ، غذادهی مناسب و با فواصل تنظیم شده ، استفاده از جیره های مناسب به همراه مواد ضروری لازم جهت کمک به ترمیم آبشش و رفع عوارض تغذیه‌ای آبشش ، عدم استفاده از داروها و مواد شیمیایی محرک آبشش، خنثی کردن سموم توسط اضافه کردن آب یا کربن فعال، بررسی آبشش ماهیان هنگام خرید جهت پرورش جهت پیشگیری از ضایعات آبشش و خسارت ناشی از آن توصیه می شود . از آنجایی که برخورد با عوامل محیطی اجتناب ناپذیر است و آبشش اولین بافت آسیب پذیر در مجاورت تغییرات محیطی است شناسایی و تولید گونه‌ای مقاوم به بیماری آبشش از طریق مهندسی ژنتیک پیشنهاد می شود.

منابع:

آذری تاکامی، ق (۱۳۸۵). مدیریت بهداشتی و روش‌های پیشگیری و درمان بیماری های ماهی ، انتشارات پریور، صفحات ۵۰-۵۲

شاهسونی، د ، موثقی، د (۱۳۸۱)،آسیب شناسی سیستمیک ماهی ،صفحه ۲۷.

شریف پور، ع ، ذریه زهرا ج (۱۳۸۵).آسیب شناسی تلفات بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرورشی در برخی مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سرد آبی کشور. مجله علمی شیلات ، سال پانزدهم شماره ۱، صفحه ۱۷۰.

حقیقی خیابانیان اصل،ع. (۱۳۸۶). آسیب شناسی ماهی و میگو،انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات اهواز،ص ۵۴ - ۳۸.

حسین پور حموله، م.، پیغان، ر.، و محمدیان، ب.، (۱۳۸۹). بررسی ضایعات آبششی ناشی از آلودگی انگلی در ماهیان کپور علفخوار(*Ctenopharyngodon idella*) مجله بیولوژی دریا، سال دوم، شماره اول، صفحات ۴۷-۵۵.

مهاجری د ، سمواتیان ع، میرزایی ح (۱۳۸۷) مطالعه هیستوپاتولوژیکی ضایعات آبشش در ماهیان قزل آلای رنگین کمان در سیستمهای پرورشی مدار باز و مدار بسته،پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران.

ناجی ط، صفائیان ش، رستمی م، صبرجو م (۱۳۸۶). بررسی اثرات سولفات روی روی بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره نهم ، شماره ۲ تابستان ۸۶ ، صفحات ۳۶-۲۹.

Antychowicz. JERZY,(2007). Study on rainbow trout nodular gill disease detected in Poland, *Bull Vet InstPulawy*.51, 547-551.

Athikesavan, S., Vincent, S., Ambrose, T., Velmurugan, B., (2006). Nickel induced histopathological changes in the different tissues of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes), *J. Environ. Biol*. 27,391–395.

Bebak a. J., Baumgartenb.M.,Smith, G.(1997).Risk factors for bacterial gill disease in young rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in North America. *preventive veterinary medicine*, 32:23-34.

Boran ,H., Altinok ,I., Capkin, E. (2010). Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss., *Tissue and Cell* 42 (2010) 158–164.

Bullock, G. L. (1990).Bacterial Gill disease of freshwater fishes, National fish health research laboratory, West virginia 25430.

Daust,P.Y.,and Ferguson ,H.W.(1985).Nodular gill disease :a uniqe form of proliferative gill disease in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J.Fish Dis.8*:511-522.

Daoust,P.Y. Wobeser, G. Newstead, J.D.(1984).Acute Pathological effects of inorganic mercury and copper in gills of rainbow trout. Veterinary pathology .21:10 ,pp: 93- 101.

Edward,J.N,(2000). Fish disease, Diagnosis and treatment .Blackwell Publication professional 1st Ed.pp.322-325.

Evans, D.H., Piermarini, P.M., Choe, K.P.,(2005) The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid–base regulation, and excretion of nitrogenous waste, *Physiol. Rev*. 85 (2005) 97–177.

Fernandes, C., Fontainhas-Fernandes, A., Monteiro, S.M., Salgado, M.A.,(2007)Histopathological gill changes in wild leaping grey mullet (*Liza saliens*) from the Esmoriz-Paramos coastal lagoon, Portugal, *Environ. Toxicol*. 22 (2007) 443–448.

Govett P D, Rotstein D S and Lewbart G A,(2006). Gill metaplasia in a goldfish, *Carassius auratus auratus* (L.). *Journal of Fish Diseases* 2004, 27, 419–423

Hugh,W. and Ferguson (1989). Systemic Pathology of fish. Iowa state university press. pp:5-9,18-24.

Pugazhendy,K.,(*2009).* Histopathological Changes in the Gill of *Labeo rohita* (Hamilton) Fingerlings Exposed to Atrazine, *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 4 (3): 219-221.

Jimenez-Tenorio, N., Morales-Caselles, C., Kalman, J., Salamanca, M.J., de Canales, M.L., Sarasquete, C., DelValls, T.A., (2007). Determining sediment quality for regulatory proposes using fish chronic bioassays, *Environ. Int*. 33 (2007) 474–480.

Lichtenfels, A.J.F.C., Lorenzi-Filho, G., Guimarães ,E.T., Macchione ,M. and Saldiva, P.H.N(2006), Effects of water pollution on the gill apparatus of fish, J*ournal of Fish Disease*s,Volume 14 Issue 1, Pages 21 – 32

Mallatt, J., (1985). Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review, Can. *J. Fish. Aquat. Sci*. 42 (1985), 630–648.

Mazon, A.F., (2002). Hematological and physiological changes induced byshort-term exposure to copper in the fresh water fish. *Braz. J. Biol*. Vol.62, pp.524-625.

Meyer,F.P., and Robinson, J. (1973) Branchiomycosis: a new fungal disease of North American fishes. *Prog .Fish-Cult*.35:74-77.

Ogundiran, M. A., Fawole, O. O., AdewoyeS. O. and Ayandiran, T. A.(2009).Pathologic lesions in the gills of *Clarias gariepinus* exposed to sublethal concentrations of soap anddetergent effluents. *Journal of Cell and Animal Biology* Vol. 3 (5), pp. 078-082.

Roberts,R.J.(1989). Fish pathology. Secend ed., Bailliere Tindall, London. pp:22-24,67,70.

Rodger H. D., Henry L., Mitchell S. O. (2010). Non-infectious gill disorders of marine salmonid fish. Rev Fish Biol Fisheries. Published on line: 24 november 2010.

Roberts RJ, Rodger HD (2001) Chapter 3: the pathophysiology and systematic pathology of teleosts. In: Roberts RJ (ed) Fish pathology. Saunders Publishing, London, pp 55–133.

Sahoo, P.K., Mukherjee, S.C., Jain, A.K. and Mukherjee, A., 2003. Histopathologicaland electron microscopic studies of gills and opisthonephros of rohu (*Labeo rohita*) to acute and sub chronic Aflatoxin B1 toxicity. Asian *Fisheries Science*, 16:257– 268.

Shirakashi, Sh., Kishimoto Y., Kinami R., Katano H., Ishimaru K., Murata, O., Itoh,N.,Ogawa,K. (2011). Morphology and distribution of blood fluke eggs and associated pathology in the gills of cultured Pacific bluefin tuna, Thunnus orientalis, Parasitology International, pp:1-8.

Speare DJ, Brackett J, Ferguson HW (1989) Sequential pathology of the gills of coho salmon with a combin eddiatom and microsporidian gill infection. *Can Vet* J30:571–575.

Yonkos, L.T., Fisher ,D.J., Wright ,D.A., Kane, A.S., (2000). Pathology of fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to chlorine dioxide and chlorite. *Marine Environmental Research*,50 (2000) 267-271.

Yokote,M., (1990). Sekoke disease ,spontaneous diabetes in carp, *Cyprinus carpio*, found in fish farms, pathological study. *Bull.Fresh Water Fish, Res. Lab.*Vol.20,pp.39-72.

Histopathological study of gill lesion of rainbow trout in cold water fish farm of Kohgiluyeh Boyer Ahmad province

Peyghan, R.T; Dadar, M.*; Rezaei, R.

Department of fish disease, University of Shahid Chamran, Ahwaz

*Mdadar77@yahoo.com

Abstract

Because of the direct contact of the fish with water that contain of fish excrete metabolite and chemical pollution;it is one of the most susceptible organs of fish. In this study variety of gill lesions of rainbow trout were studied in cold water fish farm. This study has been carried out on 30 samples from 2 farms of rainbow trout culture (2 of extensive culture farm) in Kohgiluyeh Boyer Ahmad province.After gross examination, for microscopic study, a 1×1×1 piece of gill was separated and immediately fixed in 10%neutral buffered formalin.Then processed routinely and embedded in paraffin and cut with microtom in thickness 5 µm, and stained with Hematoxylin – Eosin.Histopathological study revealed 27% edema and hyperemia. However other microscopic lesion including of hypertrophy (20%), telangiectasia(10%), inflammation of the basal membrane of secondary lamella(10%), hyperplasia and fusion of secondary lamella(13%) and clubbing(10%) in some cases in the gill were also seen. In 17% of 30 specimens,there were no lesions in gills.

Key words: histopathological lesion, Rainbow trout, hypertrophy, clubbing