

بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی غده رکتال در گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) خلیج فارس

رحمان علیمی*، احمد سواری، عبدالعلی موحدی نیا، محمد ذاکری، نگین سلامات

*ra.al2010@yahoo.com

دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳

چکیده

غده رکتال به عنوان یکی از اندام‌های مهم تنظیم‌کننده مایعات درونی بدن کوسه ماهیان، دارای ویژگی‌های مختص گونه‌ای می‌باشد که به اندازه کوسه وابسته است. برای انجام این تحقیق تعداد ۳۶ قطعه گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) در دو فصل پاییز و بهار از خور درویش در شمال غربی خلیج فارس با استفاده از تور گوشگیر صید شدند. پس از توزین، بیومتری و شماره‌گذاری کوسه‌های صید شده، غده‌های رکتال کوسه‌ها از قسمت انتهایی لوله گوارش خارج و وزن آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. همچنین، بلافاصله جهت تثبیت در محلول ثبوتی بوئن قرار داده شدند. سپس از نمونه‌ها به روش معمول پارافینه، برش‌های میکروسکوپی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شده و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین قرار گرفتند. نتایج ریخت‌شناسی کوسه نشان داد که اندازه غده در بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p > 0.05$). ولی، کوسه‌های کوچکتر در مقایسه با کوسه‌های بزرگتر، به نسبت اندازه بدن خود دارای غده‌های بزرگتری بودند ($p < 0.05$)، که به نظر می‌رسد به دلیل بالاتر بودن نسبت سطح انتشار یون‌ها به درون بدن در کوسه‌های کوچکتر می‌باشد. علاوه بر این، با توجه به مقایسه نتایج بدست آمده از هر دو فصل، می‌توان نتیجه گرفت که وزن غده رکتال در گربه کوسه لکه‌دار مستقل از جنس و فصل تولیدمثل می‌باشد. مشاهدات میکروسکوپی نیز چهار بخش غده رکتال شامل: ناحیه کپسولی و تحت کپسولی، لایه بیرونی توبول‌های شعاعی، لایه درونی توبول‌های منشعب و کانال مرکزی را نشان دادند.

لغات کلیدی: ریخت‌شناسی، بافت‌شناسی، غده رکتال، گربه کوسه لکه‌دار، خلیج فارس

*نویسنده مسئول

مقدمه

بیشتر گونه‌های ماهیان الاسموبرانش، ماهیانی دریازی می‌باشند. تعداد کمی از این گونه‌ها ساکن در آب خور و حتی تعداد کمتری مهاجر بین محیط‌های آب شیرین و دریا هستند (Anderson et al., 2007). برای نمونه، کوسه‌های جنس *Chiloscyllium*، مانند گربه کوسه لکه‌دار از جمله کوسه‌هایی می‌باشند که از سواحل و خوریات خلیج فارس صید می‌شوند. این کوسه‌ها از اعضای خانواده گربه کوسه‌های دم بلند و بومی سواحل اقیانوس آرام - هند هستند (Musick et al., 2004).

گونه‌های الاسموبرانش ساکن محیط دریایی اسمولاریته مایعات بدنی خود را تقریباً نسبت به آب دریا هیپراسموتیک نگاه می‌دارند (Good, 2005; Pillans et al., 2008). ولی، غلظت یون‌های Na^+ و Cl^- پلاسما به طور معنی‌داری پایین‌تر از محیط است که منجر به شیب زیاد برای نفوذ انتشاری این دو یون به درون بدن می‌شود. نقش غده رکتال در زندگی ماهیان الاسموبرانش دفع نمک (NaCl) اضافی از درون بدن جانور به محیط دریایی است (Pillans and Franklin, 2004; Pillans et al., 2008). به طوری که این غده، یک اندام تنظیم کننده اسمزی تخصص یافته برای ترشح نمک است که فقط در ماهیان غضروفی یافت می‌شود و مایعی ایزواسموتیک نسبت به خون اما مرکب از سدیم و کلر را ترشح می‌کند (Piermarini and Evans, 2000; Baldisserotto et al., 2007). بنابراین، غده رکتال باید نقش اساسی در تنظیم یونی، مخصوصاً در سازش به شوری محیطی ایفا کند.

از نظر ساختاری، غده رکتال یک لوله انتها بسته و معمولاً استوانه‌ای شکل در روده بند پشتی است که در بالای روده دریچه‌دار قرار داشته و به آن متصل شده است. این غده شامل یک سری لوله‌های به هم پیوسته است که با اپیتلیال ترشح کننده نمک پوشیده شده‌اند و به شکل یک مجرای منفرد در انتهای پشتی روده، نزدیک راست روده تخلیه می‌شوند. خون غده رکتال توسط یک انشعاب شریانی از آئورت پشتی تامین می‌شود. شریان به یک شبکه منظم از شریانچه‌ها و مویرگ‌هایی که شبکه لوله‌ای - ترشحاتی را احاطه می‌کنند وارد می‌شود (Hazon et al., 2003). سیستم عروقی ظریف پارانشیم ترشحاتی تقریباً به طور انحصاری از مویرگ‌ها یا سیاهرگ‌های ریزی تشکیل می‌شود که از شبکه سرخرگی کپسولی

سرچشمه می‌گیرند و به طور شعاعی از طریق بافت لوله‌ای خارجی ناشی می‌شوند. مویرگ‌های ترشحاتی دارای اندوتلیوم منفذدار هستند و در مجاورت غشاهای قاعده‌ای سلول‌های اپیتلیال ترشحاتی قرار دارند. (Masini & Uva, 1993; Hazon et al., 1997; Good, 2005).

از آنجایی که غده رکتال از اهمیت کلیدی در تنظیم مایعات درونی بدن کوسه ماهیان برخوردار است و عملکرد و ساختار آن ممکن است تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند فصل، جنس و نوع گونه قرار گیرد. در مطالعه حاضر به بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی این غده در گربه کوسه لکه‌دار، بسته به شرایط فصل تولیدمثل، جنس و اندازه بدن پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این تحقیق تعداد ۳۶ عدد گربه کوسه لکه‌دار (*Chiloscyllium punctatum*) در دو فصل پاییز و بهار از خور درویش در شمال غربی خلیج فارس با استفاده از تور گوشگیر صید شدند. پس از توزین، بیومتری و شماره‌گذاری کوسه‌های صید شده، غده رکتال کوسه‌ها از قسمت انتهایی لوله گوارش خارج و وزن آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. سپس در محلول ثبوتی بوئن قرار داده شدند. تعیین جنسیت کوسه‌ها با استفاده از مشاهده کلاسر در جنس نر و عدم مشاهده آن در جنس ماده صورت گرفت. به منظور تهیه مقاطع میکروسکوپی، نمونه‌های تثبیت شده به روش معمول تهیه مقاطع بافتی با استفاده از دستگاه هیستوکینت (Leica TP1020) آگیری، شفاف‌سازی و پارافینی شدند (Bagheri et al., 2008). پس از قالب‌گیری نمونه‌ها با پارافین، به وسیله میکروتوم دورانی (Leica RM2245) برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر از آن‌ها تهیه گردید. به منظور بررسی همه جانبه، مقاطع عرضی و طولی از غده تهیه شدند. سپس با استفاده از روش هماتوکسیلین-ائوزین (H & E) مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفتند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده سپس توسط میکروسکوپ نوری Olympus و با بزرگنمایی‌های متفاوت بررسی و تصاویر مناسب توسط دوربین نصب شده بر روی میکروسکوپ Dinolite Digital Microscope و سیستم

میلی گرم) نسبت به فصل بهار $(176/84 \pm 16/97)$ میلی گرم) اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0/05$). بر همین اساس، مقادیر میانگین نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) در فصل پاییز نسبت به RGBW در فصل بهار بیشتر و در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار بود. همچنین بین میانگین نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGL) در فصل پاییز و فصل بهار اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p < 0/05$). ولی میان میانگین RGBW و RGL در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($p > 0/05$).

به منظور بررسی میزان تاثیر اندازه بدن بر روی وزن غده رکتال، کوسه‌های صید شده در هر فصل به طور جداگانه گروه‌بندی شدند. در نتیجه، کوسه‌های صید شده در فصل پاییز به چهار گروه طولی (جدول ۱) و در فصل بهار به سه گروه طولی (جدول ۲) تقسیم شدند. به طوری که، در فصل پاییز میانگین طول بدن کوسه‌ها از گروه ۱ تا گروه ۴ افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$). همچنین، میانگین وزن غده رکتال از گروه ۱ تا گروه ۴ افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$). ولی نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) و نیز نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGL) از گروه ۱ تا گروه ۴ کاهش یافت ($P < 0/05$). در فصل بهار نتایج مشابه با نتایج فصل پاییز به دست آمد (جدول ۲). به طوری که، میانگین طول بدن در فصل بهار از گروه ۱ تا گروه ۳ افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$). همچنین، میانگین وزن غده رکتال از گروه ۱ تا ۳ افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$). ولی نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) و نیز نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGL) از گروه ۱ تا گروه ۳ کاهش یافت ($P < 0/05$).

رایانه‌ای متصل به دوربین مجهز به نرم افزار Dino capture تهیه و ذخیره شدند.

شاخص‌های محاسبه‌ای

۱. شاخص نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW)

$$RGBW = \frac{\text{غده وزن رکتال (میلی گرم)}}{\text{وزن بدن (کیلوگرم)}}$$

(Piermarini and Evans, 1998)

۲. شاخص نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGL)

$$RGL = \frac{\text{غده وزن رکتال (میلی گرم)}}{\text{طول بدن (میلی متر)}}$$

(Pillans and Franklin, 2004)

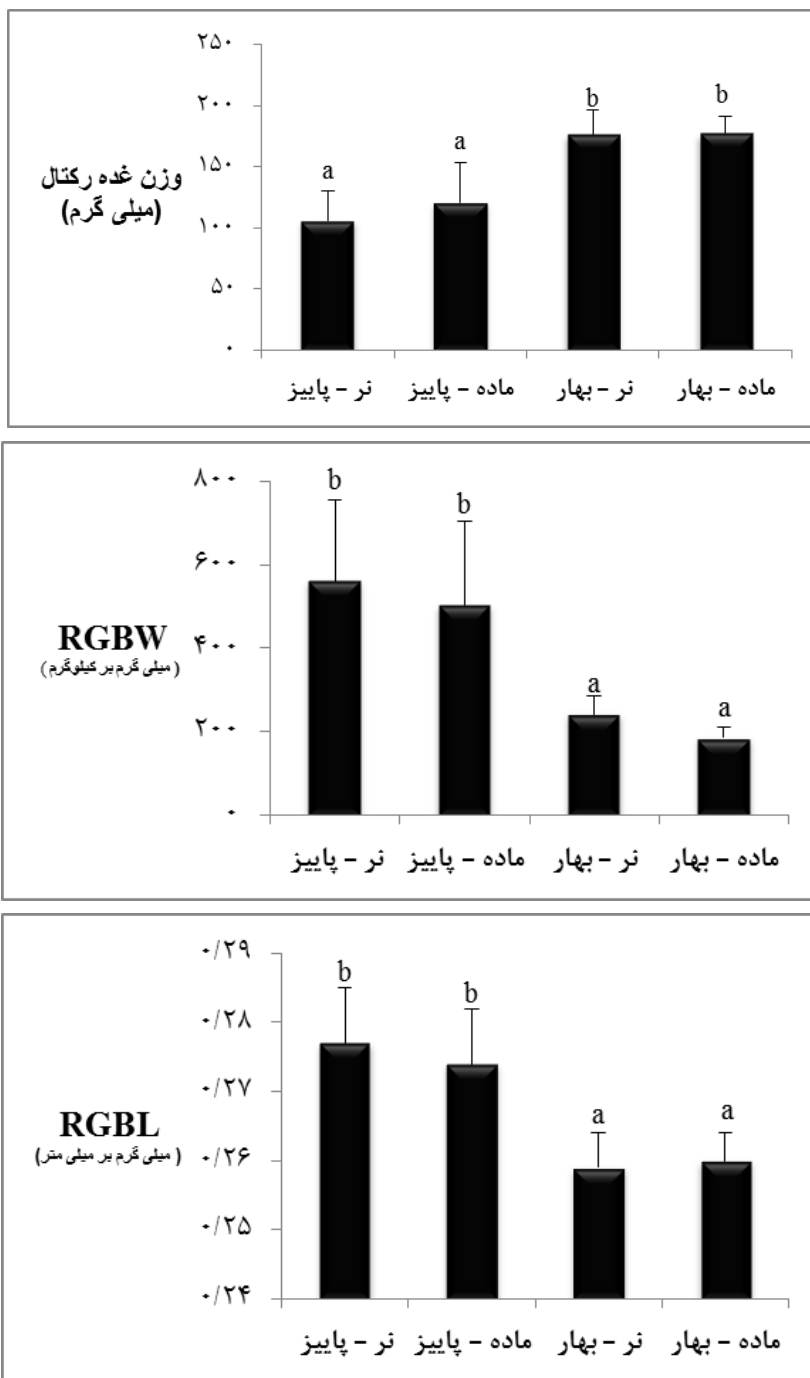
آنالیزهای آماری و رسم نمودارها

تمام داده‌های آماری، به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm Standard error of mean) بیان شده است. اختلاف بین این داده‌ها در فصل‌ها و در گروه‌های مختلف با آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در نرم افزار SPSS 19.0 انجام و در صورت وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌ها، پس آزمون Duncan برای مقایسه دو به دو داده‌ها استفاده شد و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($p < 0/05$) پذیرفته شد (Bagheri *et al.*, 2008). رسم نمودارها در محیط برنامه Microsoft Office Excel 2010 با استفاده از داده‌های مستخرج از برنامه‌ی SPSS صورت گرفت.

نتایج

ریخت‌شناسی

شاخص‌های زیست‌سنجی غده‌های رکتال گربه کوسه لکه‌دار (*C. punctatum*) در نمودار ۱ آورده شده است. به طوری که، بین میانگین وزن غده رکتال در فصل پاییز $(113/0 \pm 28/53)$



نمودار ۱: میانگین وزن غده‌های رکتال، نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن و نسبت وزن غده‌های رکتال به طول بدن در گربه کوسه‌های لکه‌دار (C. punctatum) بر اساس جنس و فصل. وزن غده‌های رکتال بر حسب میلی‌گرم، RGBW بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم و RGBL بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌متر می‌باشند. a و b اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

جدول ۱: گروه بندی کوسه‌های صید شده در فصل پاییز بر اساس طول بدن جهت بررسی وزن غده رکتال، نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) و نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGLB).

گروه	تعداد	طول بدن (TI) (میلی متر)	وزن غده رکتال (میلی گرم)	RGBW (میلی گرم بر کیلوگرم)	RGLB (میلی گرم بر میلی متر)
۱	۷	۳۰۸/۱ ± ۲۶/۰ a	۸۷/۵ ± ۶/۰ a	۷۶۵/۵ ± ۷۹/۴ c	۰/۲۸۴ ± ۰/۰۰۹ b
۲	۴	۳۹۵/۷ ± ۲۵/۳ b	۱۰۹/۰ ± ۴/۹ b	۴۸۰/۸ ± ۸۱/۲ b	۰/۲۷۵ ± ۰/۰۰۹ b
۳	۳	۴۸۶/۰ ± ۳۵/۱ c	۱۳۱/۳ ± ۱۱/۹ c	۳۸۸/۱۱ ± ۸۳/۷ ab	۰/۲۷۰ ± ۰/۰۰۸ ab
۴	۳	۶۰۴/۳ ± ۳۲/۱ d	۱۵۴/۶ ± ۱۲/۵ d	۳۰۶/۵ ± ۱۳/۱ a	۰/۲۵۵ ± ۰/۰۰۷ a
جمع و میانگین	۱۷	۴۱۲/۴ ± ۱۱۵/۷	۱۱۲/۱ ± ۲۷/۰	۵۵۰/۹ ± ۲۰۵/۰	۰/۲۷۴ ± ۰/۰۰۱

حروف انگلیسی متفاوت، اختلاف معنی دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

جدول ۲: گروه بندی کوسه‌های صید شده در فصل بهار بر اساس طول بدن جهت بررسی وزن غده رکتال، نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) و نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGLB).

گروه	تعداد	طول بدن (TI) (میلی متر)	وزن غده رکتال (میلی گرم)	RGBW (میلی گرم بر کیلوگرم)	RGLB (میلی گرم بر میلی متر)
۱	۵	۵۸۴/۰ ± ۴۱/۲ a	۱۵۴/۸ ± ۷/۳ a	۲۴۶/۵ ± ۴۹/۸ c	۰/۲۶۵ ± ۰/۰۰۸ c
۲	۸	۶۷۸/۰ ± ۳۲/۳ b	۱۷۵/۷ ± ۶/۱ b	۲۱۳/۱ ± ۳۷/۱ ab	۰/۲۵۹ ± ۰/۰۰۵ ab
۳	۶	۷۷۱/۶ ± ۳۴/۰ c	۱۹۶/۳ ± ۶/۹ c	۱۹۲/۳ ± ۲۰/۵ a	۰/۲۵۴ ± ۰/۰۰۴ a
جمع و میانگین	۱۹	۶۸۲/۸ ± ۸۰/۳	۱۷۶/۷ ± ۱۷/۳	۲۱۵/۳ ± ۴۰/۶	۰/۲۵۹ ± ۰/۰۰۷

حروف انگلیسی متفاوت، اختلاف معنی دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

بافت‌شناسی

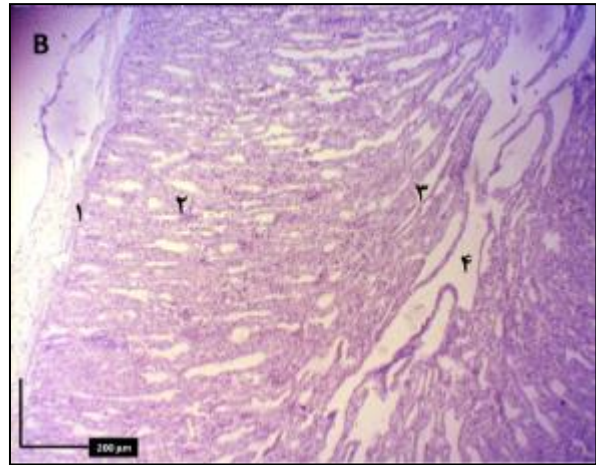
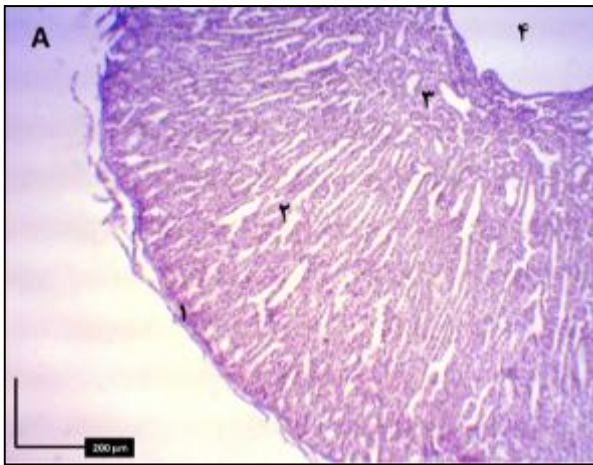
شکل ۱، A و B چهار ناحیه‌ی غده رکتال را نشان می‌دهند که از خارج به داخل عبارتند از: (۱) کپسول که از خارج غده رکتال را پوشانده بود، (۲) بخش خارجی پارانشیم ترش‌جی شامل لوله‌های شعاعی می‌باشد و به شکل شعاعی از ناحیه کپسولی به طرف کانال مرکزی امتداد داشت، (۳) بخش داخلی

پارانشیم ترش‌جی شامل لوله‌های منشعب که به صورت لوله-های حلقوی و موازی با کانال مرکزی امتداد داشت. در مقاطع طولی این بخش از قسمت خارجی لوله‌های شعاعی به طور دقیق قابل تفکیک نبود، (۴) کانال مرکزی به صورت یک مجرای کروی و لوله‌ای در مرکز غده و در امتداد طولی آن مشاهده شد. بر اساس مشاهدات میکروسکوپی به دست آمده

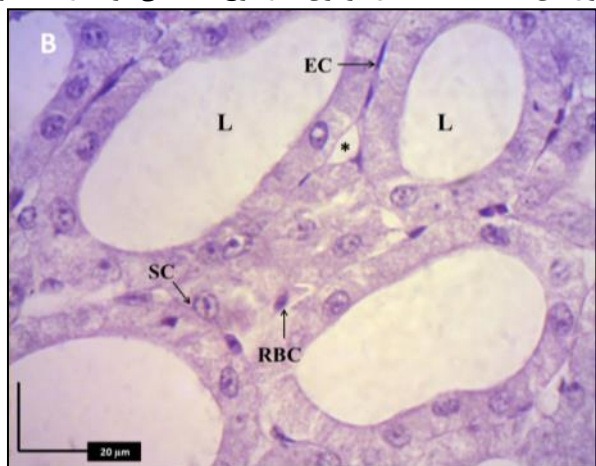
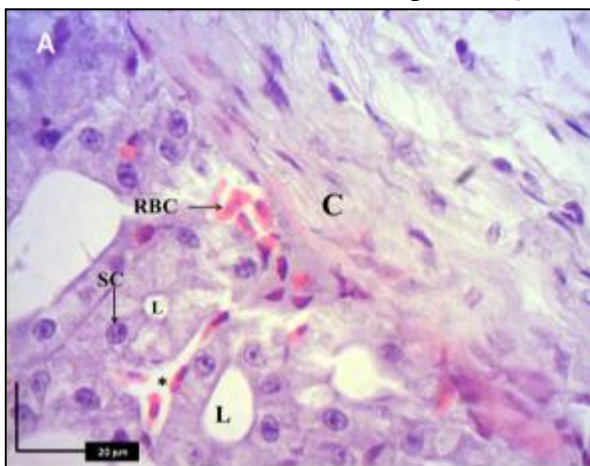
صورت مجاری مورب از قسمت تحت کپسولی به سمت کانال مرکزی کشیده شده‌اند و قطر این مجاری نیز به طرف کانال مرکزی بیشتر می‌شود (شکل ۱، B).

در شکل ۲، A و B توبول‌های ترشچی و سلول‌های غده رکتال مانند سلول‌های ترشچی (SC) و گلبول‌های قرمز خون (RBC) دیده می‌شوند. لومن یا حفره (L) و فضای بین توبولی در ساختار غده رکتال به خوبی قابل تشخیص هستند.

از مقطع عرضی غده رکتال مشخص گردید که پارانشیم ترشچی شامل توبول‌های انشعاب یافته از کانال مرکزی است که موازی با کانال مرکزی و به طور ملایم از آن فاصله می‌گیرند و هر چه به سمت کپسول پیش می‌روند، انشعابات دارای شیب تند می‌شوند که به نظر می‌رسد عمود بر کپسول واقع شده‌اند (شکل ۱، A). علاوه بر این، با توجه به نتایج به دست آمده از مقاطع طولی غده رکتال مشخص شد که پارانشیم ترشچی شامل توبول‌های ترشچی می‌باشد که به



شکل ۱: بافت غده رکتال گربه کوسه لکه‌دار (*C. punctatum*). A: مقطع عرضی و B: مقطع طولی غده رکتال را نشان می‌دهد. در هر دو تصویر چهار بخش غده شامل: (۱) ناحیه کپسولی، (۲) لایه بیرونی پارانشیم ترشچی شامل توبول‌های شعاعی، (۳) لایه درونی پارانشیم ترشچی شامل توبول‌های منشعب، (۴) کانال مرکزی به وضوح دیده می‌شوند (رنگ‌آمیزی H & E و خط مقیاس = ۲۰۰ μm).



شکل ۲: توبول‌های ترشچی و سلول‌های غده رکتال گربه کوسه لکه‌دار (*C. punctatum*). A: کپسول و لایه بیرونی پارانشیم ترشچی، B: لایه درونی پارانشیم ترشچی. سلول‌های ترشچی (SC)، سلول‌های پوششی (EC)، لومن یا حفره (L)، کپسول (C)، گلبول‌های قرمز خون (RBC) و فضای بین توبولی (ستاره) (رنگ‌آمیزی H & E و خط مقیاس = ۲۰ μm).

بحث

ریخت‌شناسی

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش مشخص شد که به طور کلی وزن غده رکتال در فصل بهار نسبت به فصل پاییز بیشتر می‌باشد (نمودار ۱). بخشی از این افزایش ناشی از این بود که نمونه‌های بزرگتری در فصل بهار صید شدند، ولی از آنجایی که فصل بهار فصل تولیدمثل گربه کوسه لکه‌دار (C. punctatum) می‌باشد و این کوسه یک گونه تخم‌گذار و دارای لقاح داخلی است (Compagno, 2002)، افزایش وزن کوسه-ها در این فصل طبیعی به نظر می‌رسد. در واقع، این افزایش وزن غده‌های رکتال در فصل بهار به طور مستقیم از افزایش طبیعی وزن کوسه‌های صید شده منشا می‌گیرد. زیرا با افزایش طول و وزن کوسه‌ها، غده رکتال نیز بزرگتر می‌شود. افزایش وزن در غده رکتال دارای نسبت ثابتی نیست و با توجه به افزایش وزن بدن تغییر می‌کند (نمودار ۱). به طوری که در این پژوهش نشان داده شد، کوسه‌های بزرگتر در مقایسه با کوسه‌های کوچکتر به نسبت اندازه بدن خود، دارای غده‌های رکتال کوچکتری داشتند (جدول ۱ و ۲). پیش از این نیز Anderson و همکارانش در سال ۲۰۰۷، نشان دادند که کوسه‌های *Scyliorhinus canicula* کوچکتر نسبت به افراد بزرگتر، به نسبت اندازه خود، دارای غده‌های رکتال بزرگتری هستند. آن‌ها بیان کردند که کوسه‌های کوچکتر دلیل انتشار نمک بیشتر از محیط به بدن، نیازمند غده‌های رکتال بزرگتری‌اند. غده‌های رکتال ماهیان الاسمورانش استنوهالین آب شیرین فاقد عملکرد هستند و غده‌های رکتال الاسمورانش‌های یوریه‌هالین در طی حرکت از آب دریا به آب شیرین کاهش در وزن و طول نشان می‌دهند (Pillans and Franklin, 2004). ترشح NaCl غده رکتال در کوسه‌های آب شیرین از چندین مسیر کاهش می‌یابد. به عنوان مثال، کاهش غلظت Na^+, K^+ -ATPase که در غده رکتال حیوانات سازگار شده به آب شیرین مانند سفره ماهی اقیانوس اطلس (*Dasyatis Sabina*) و کوسه بمبک معمولی (*Carcharhinus leucas*) نشان داده شد (Pillans et al., 2005). همچنین، شواهدی وجود دارد که غده رکتال الاسمورانش‌های آب شیرین کوچکتر از هم‌تایان آب دریا هستند (Piermarini and Evans, 1998). علاوه بر اندازه

غده، پارانشیم ترش‌جی غده‌های رکتال کوسه‌های بمبک معمولی آب شیرین به طور معنی‌داری کمتر از هم‌تایان آب شور گزارش شده بود (Oguri, 1964; Gerzeli et al., 1976).

از طرف دیگر Piermarini و Evans در سال ۱۹۹۸، نشان دادند که نسبت وزن غده‌های رکتال به وزن بدن (RGBW) در سفره ماهی *D. Sabina* آب شیرین، ۲۰٪ نسبت به RGBW محاسبه شده در *D. Sabina* آب شور کوچکتر بود. در نتیجه، با توجه به تاثیر اندازه بدن و شوری محیطی بر وزن غده رکتال ماهیان غضروفی شناخت این میزان تاثیر و همچنین در نظر گرفتن فصل تولیدمثل نیز که طی آن وزن بدن به طور چشم‌گیری در نتیجه بزرگ شدن اندام‌های تولیدمثلی تغییر می‌کند، ضروری به نظر می‌رسد. همان طور که در پژوهش‌های انجام گرفته ملاحظه گردید، این میزان تاثیر، با محاسبه نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) نشان داده می‌شود. نتایج پژوهش کنونی بیان می‌کند که میانگین نسبت وزن غده رکتال به وزن بدن (RGBW) در فصل پاییز نسبت به RGBW در فصل بهار به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد. با وجود یکسان بودن شوری محیطی در این پژوهش، احتمالاً این اختلاف ناشی از افزایش وزن بدن بر اثر بزرگ شدن اندام‌های جنسی بوده که در فصل تولیدمثل رخ می‌دهد.

غده‌های رکتال در اندازه و شکل بسیار به نوع گونه ماهی الاسمورانش و پیشینه‌ی زندگی آن بستگی دارد (Good, 2005). در ابتدا، Oguri در سال ۱۹۶۴، تفاوت معنی‌داری را در اندازه و ریخت‌شناسی غده رکتال میان ماهیان الاسمورانش آب شیرین و آب دریا نشان داد. گزارش شده است که اندازه غده‌ها در کوسه‌های یوریه‌هالین و به خصوص گونه‌های آب شیرین نسبت به گونه‌های دریایی کوچکتر می‌باشد. به طوری که، در کوسه بمبک معمولی (*Carcharhinus leucas*) و سفره ماهی برقی اقیانوس اطلس (*Dasyatis sabina*) در آب شیرین، اندازه غده رکتال (۵۰ - ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) کوچکتر از هم‌تایان آن‌ها در آب دریا (۲۴۰ - ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) می‌باشد. واضح‌ترین کاهش اهمیت غده رکتال، در الاسمورانش‌های آب شیرین وجود دارد که از طریق تحلیل رفتن تقریباً کامل غده-

اندازه بدن به اضافه جنبه‌های عملکردی مانند میزان ترشح و فعالیت $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ نسبت به جرم بدن در هر یک از الاسموبرانس آب شیرین و آب دریا انجام گیرد. در این صورت سهم واقعی غده رکتال در تعادل Na^+ و Cl^- در این محیط‌های متفاوت می‌تواند تعیین شود.

بر اساس مطالعات انجام شده با وجود متغیر بودن وزن بدن در فصول مختلف و شرایط تغذیه جانور از نسبت وزن غده‌های رکتال به طول بدن (RGL) استفاده می‌شود. زیرا این نسبت مستقل از وزن بدن عمل می‌کند. بر اساس یافته‌های پژوهش کنونی میانگین نسبت وزن غده رکتال به طول بدن (RGL) در فصل پاییز بیشتر از RGL در فصل بهار می‌باشد. با مقایسه نتایج بدست آمده از نسبت‌های RGBW و RGL این احتمال که افزایش RGBW در فصل پاییز نسبت به فصل بهار ناشی از بزرگ شدن اندام‌های جنسی در فصل تولیدمثل باشد تقویت می‌شود. Franklin و Pillans در سال ۲۰۰۴، هیچ تفاوت آماری در نسبت وزن غده‌های رکتال به طول بدن (RGL) میان کوسه‌های بمبیک معمولی (*Carcharhinus leucas*) گرفته شده در آب شیرین و آب شور از رودخانه Brisbane پیدا نکردند، اگر چه آنان یک تفاوت در نسبت RGL میان کوسه‌های بمبیک معمولی رودخانه بریسیبین و دریاچه نیکاراگوئه پیدا کردند. کوسه C. *leucas* از دریاچه نیکاراگوئه به طور معنی‌داری غده رکتال کوچکتری از کوسه‌های رودخانه بریسیبین با طول مشابه داشتند. همچنین، این محققین پیشنهاد کردند که علت این امر ممکن است به این دلیل باشد که کوسه‌های دریاچه نیکاراگوئه برای دوره‌های طولانی‌تری نسبت به کوسه‌های رودخانه بریسیبین در آنجا حضور داشتند.

علاوه بر این، با مطالعه هر فصل به طور جداگانه (نمودار ۱)، این نتیجه به دست می‌آید که در میان RGBW و نیز RGL جنس‌های نر و ماده کوسه‌های صید شده در فصل پاییز، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما از آنجایی که گربه کوسه لکه‌دار یک گونه دارای لقاح داخلی و تخم‌گذار است (Compagno, 2002). در فصل بهار وزن بدن کوسه‌های ماده به دلیل مقادیر فراوانی از تخم‌های درون شکم بیشتر بوده و در نتیجه میزان RGBW کمتری نسبت به جنس‌های نر هم وزن نشان دادند. ولی میزان RGL در میان جنس‌های نر و ماده کوسه‌های صید شده در فصل بهار اختلاف معنی‌داری

های رکتال ماهی‌های پهن استنوهالین آب شیرین (Potamotrygon) صورت گرفته است. به طوری که در این ماهی فقط اثری از غده رکتال باقی مانده است (Pillans *et al.*, 2008).

Piermarini و Evans در سال ۲۰۰۰، گزارش کردند که اندازه و ریخت‌شناسی غده رکتال وجود تفاوت معنی‌داری را میان الاسموبرانس‌های آب شیرین و آب دریا نشان می‌دهد. گونه‌های آب شیرین معمولاً دارای غده‌های رکتال کوچکتر و شبکه لوله‌ای ترش‌کی کاهش یافته‌ای هستند. علاوه بر این، فعالیت $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ در کوسه‌های صید طبیعی آب دریا و سازگار یافته به آب دریا (۸ روز در آکواریوم آب شور ۱۰۰٪) مشابه بود. این محققان نشان دادند که غده رکتال در سفره ماهی *D. sabina* سازگار شده به شوری ۵۰ تا ۷۰ درصد آب دریا، کوچکتر از هموعان صید شده از آب دریا بود. این نشان می‌دهد که کل ظرفیت ترش‌کی NaCl غده‌های رکتال (فعالیت $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ × جرم غده رکتال) کوسه‌های صید شده از آب دریا بزرگتر می‌باشد. با این وجود، برای اولین بار Burger در سال ۱۹۷۲، نشان داد که ترشح کلراید از غده رکتال سفره ماهی *D. sabina* صید شده از آب دریا با غده‌های رکتال *S. acanthias* آب دریا برابر بود. به هر حال، Piermarini و Evans در سال ۲۰۰۰، نشان دادند که فعالیت $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ در غده رکتال سفره ماهی *D. sabina* سازگار شده به آب شیرین حدود نصف غده‌های رکتال *D. sabina* سازگار شده به آب دریا بود، اما این فعالیت ۷ برابر بیشتر از فعالیت آنزیم NKA در آبشش‌های سفره ماهی *D. sabina* سازگار به آب شیرین بود. این نشان می‌دهد که غده رکتال *D. Sabina* سازگار شده به آب شیرین دارای حداقل پتانسیل ترشح Na^+ و Cl^- می‌باشد. Anderson و همکاران در سال ۲۰۰۷، سنجش آلومتریکی (اندازه‌گیری رشد موجودات) را در ارتباط میان جرم غده رکتال و کل جرم بدن در *S. canicula* سازگار شده به آب دریا گزارش کرد. اگر چه جنبه‌های عملکردی فعالیت غده رکتال مانند میزان ترشح یا فعالیت $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ در این مطالعه گزارش نشد، اما نشان داده بود که سگ ماهی (*S. acanthias*) کوچکتر به نسبت اندازه بدن، دارای غده‌های رکتال بزرگتری بودند، و این جالب توجه خواهد بود که سنجش‌های مشابهی را در ارتباط میان جرم غده رکتال و

مقادیر ترش‌چی غده بسیار وابسته به جریان خون در اپیتلیال ترش‌چی هستند. با کاهش جریان خون از میان غده مقادیر ترش‌چی کمتری تظاهر یافته است.

تحقیقات نشان دادند که جریان خون در اپیتلیال ترش‌چی غده رکتال ماهی سازگار به شوری‌های کاهش یافته، نسبت به ماهی سازگار به شوری‌های افزایش یافته یا سازگار شده در طولانی مدت به آب دریا بزرگتر است (Kent and Olson, 1982; Pillans et al., 2005; Anderson et al., 2007). علاوه بر این، افزایش حجم درون عروقی (Intravascular) یک محرک قوی و احتمالاً اولیه برای ترشح غده رکتال است. این اشاره می‌کند که تحویل خون در طول دوره‌های فعالیت ترش‌چی افزایش یافته است. به هر حال، نشانه‌های وجود یک رابطه‌ی مستقیم ثابت شده است (Hazon et al., 2003; Kent and Olson, 1982). گزارش کردند که جریان خون شبکه مویرگی در جهت متقابل نسبت به جریان لوله‌ای به گردش در می‌آید که نشان می‌دهد مایع غده رکتال به درون شبکه لوله‌ای انتقال می‌یابد.

در تصاویر به دست آمده از مقاطع طولی غده رکتال، پارانشیم ترش‌چی شامل توبول‌های ترش‌چی می‌باشد که به صورت مجراهای مورب از قسمت تحت کپسولی به سمت کانال مرکزی کشیده شده‌اند و قطر این مجاری نیز به طرف کانال مرکزی بیشتر می‌شود (شکل ۱، B). در بخش مرکزی پارانشیم، توبول‌ها به طور بسیار تصادفی جهت‌دار هستند و دارای حفره‌های لوله‌ای بزرگتری می‌باشند (شکل ۱، A و B). Good در سال ۲۰۰۵، گزارش کرد که در این ناحیه، مویرگ‌ها اغلب توسط سینوس‌های وریدی جایگزین شده‌اند و ماتریکس به هم فشرده کمتری دارد. در انتهای دم غده رکتال، جایی که غده در روده دریچه‌دار پشتی قرار دارد، پارانشیم ترش‌چی کاهش می‌یابد و اپیتلیوم مجرای غالب می‌شود. غده رکتال شامل یک ترکیب پیچیده از بافت پیوندی، عصبی و ماهیچه‌ای صاف، و حداقل سه نوع اپیتلیوم (سلول پوششی): توبول ترش‌چی، کانال مرکزی و اندوتلیوم است (Hazon et al., 1997). غده رکتال بالغ شامل سه لایه بافت هم‌مرکز مرتب شده اطراف حفره کانال مرکزی است. کپسول بیرونی توسط یک صفاق احشایی پوشیده شده است و نیز رگ‌های خونی، ماهیچه‌های صاف، بافت پیوندی و یک شبکه

وجود نداشت. در کل نتایج بررسی ریخت‌شناسی غده رکتال تمام گربه کوسه‌های لکه‌دار صید شده بین دو جنس نر و ماده نشان داد که در نسبت‌های RGBW و RGBL اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین، با وجود اختلاف معنی‌دار در RGBL بین فصل پاییز با فصل بهار، احتمال می‌رود که کاهش RGBL در فصل بهار ناشی از صید گونه‌های بزرگتر در این فصل می‌باشد. بنابراین، این‌طور به نظر می‌رسد که وزن غده رکتال در گربه کوسه لکه‌دار مستقل از جنس و فصل تولیدمثل می‌باشد. با دسته بندی کوسه‌ها به گروه‌های مختلف طولی نیز این نتیجه به دست آمد که با افزایش اندازه بدن، وزن نسبی غده رکتال کاهش می‌یابد که به نظر می‌رسد کوسه‌های بزرگتر به دلیل کاهش سطح انتشار یون‌ها به درون بدن دارای غده‌های کوچکتری می‌باشند.

بافت‌شناسی

غده رکتال یک غده سیلندری شکل است و از طریق مزانتری پشتی به روده اتصال دارد. یک سرخرگ منفرد به نام مزانتریک پشتی غده را تغذیه می‌کند. در مقطع عرضی غده رکتال سه لایه هم مرکز اطراف کانال مرکزی: یک کپسول خارجی، یک پارانشیم ترش‌چی میانی و یک پارانشیم درونی مشاهده شد (شکل ۱، A و B). بافت‌شناسی این غده برای اولین بار توسط Bulger در سال ۱۹۶۳ گزارش شده بود. به طوری که، پوشش خارجی شامل یک لایه بافت پیوندی خارجی با رگ‌های خونی از قبیل سرخرگ‌های جانبی و فیبرهای عصبی و یک لایه درونی از ماهیچه صاف است. پارانشیم ترش‌چی میانی شامل توبول‌های شعاعی و یک شبکه لوله‌ای خارجی از بافت پیوندی با مویرگ و فیبرهای عصبی پراکنده می‌باشد. Pillans و همکاران در سال ۲۰۰۸، با بررسی غده رکتال کوسه بمبک معمولی (*Carcharhinus leucas*) نشان دادند که پارانشیم ترش‌چی میانی از هزاران توبول ترش‌چی ساخته می‌شود که به طور شعاعی درون غده متمایل شده و توسط یک ماتریکس خارج توبولی از بافت پیوندی پراکنده با فیبرهای عصبی و مویرگ‌ها احاطه می‌شود. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. همچنین، غده رکتال دارای عروق فراوانی می‌باشد (شکل ۲، A و B). Baldisserotto و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز گزارش دادند که

کانال مرکزی است. سلول‌های ترش‌جی شامل یک نوع منفرد و لایه منفرد اپیتلیوم ستونی که دارای یک هسته بزرگ، میتوکندری عظیم و غشای قاعده‌ای جانبی وسیع و چین خوردگی‌های جانبی می‌باشند. چین خوردگی‌های جانبی وسیع با سلول‌های مجاور هم به وسیله اتصالات محکم منفذدار سطحی اتصال پیدا کردند که یک مسیر بین سلولی انتخابی وسیع برای ترشح Na^+ فراهم می‌کند (Masini and Uva, 1993). لوله‌های ترش‌جی درون کانال مرکزی تخلیه می‌شوند، یک مجرای ترش‌جی منفرد، کانال مرکزی غده را به راست روده متصل می‌کند (Valentich et al., 1996; Hazon et al., 2003).

تشکر و قدردانی

انجام این تحقیق با تلاش و کوشش گروهی از صیادان بندر ماهشهر صورت گرفت. لذا بدین وسیله از همکاری آنان سپاسگزاریم.

منابع

- Anderson, W.G., Taylor, J.R., Good, J.P., Hazon, N. and Grosell, M., 2007. Body fluid volume regulation in elasmobranch fish. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148: 3-13.
- Bagheri, T., Hedayati, A., Jaferian, A., Hesni, M. and Movahedinia, A., 2008. The Study of Seasonal Fluctuation of Steroid Hormones in Great Sturgeon (*Huso huso*) Cultured in Brackish Water Condition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14:432-435.
- Baldisserotto, B., Mancera, J.M. and Kapoor, B.G., 2007. *Fish osmoregulation*. Science Publisher, Enfield, USA. 527p.
- Burger, J.W., 1972. Rectal gland secretion in the stingray, (*Dasyatis Sabina*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 42: 31-32.

از اعصاب از میان آن به درون غده نفوذ می‌کنند (Bulger, 1963; Good, 2005; Anderson et al., 2007)

نتایج حاصل از بررسی‌های میکروسکوپی پارانیشیم ترش‌جی غده رکتال وجود دو نوع سلول را نشان می‌دهد: (۱) سلول‌های پوششی (بین توبولی) با یک هسته باریک کشیده در بین سلول‌های ترش‌جی و (۲) سلول‌های ترش‌جی با سیتوپلاسم روشن که چند هسته‌ای‌اند (شکل ۲، A و B). بررسی روی گونه‌های دیگر نیز این یافته‌ها را تایید می‌کند، به طوری که Good در سال ۲۰۰۵، گزارش کرد که توبول‌های ترش‌جی غده رکتال عموماً مشابه هم، و دارای یک نوع لایه اپیتلیوم ستونی می‌باشند. دو نوع از سلول‌ها بر پایه تراکم ماتریکس سیتوپلاسمی طبقه بندی شده‌اند: سلول‌های روشن و سلول‌های تاریک. این واضح نیست که آیا این‌ها انواع متفاوتی از سلول هستند، یا حالت‌های متفاوتی از فعالیت را نشان می‌دهند. سلول‌های ترش‌جی دارای دو خصوصیات مشخص هستند: میتوکندری بسیار زیاد و پوشش‌های غشایی قاعده‌ای جانبی وسیع. در شکل ۲، A و B سلول‌های غده رکتال را نشان می‌دهد که شامل سلول ترش‌جی چند هسته‌ای و دارای سیتوپلاسم تیره در اطراف یک توبول ترش‌جی هستند نیز و سلول‌های قرمز خون که دارای یک هسته مشخص همراه با سیتوپلاسم قرمز رنگ می‌باشند. سلول کپسولی نیز یک هسته مشخص و کشیده دارند و سیتوپلاسم آن‌ها روشن می‌باشد.

شبکه مویرگ‌های خونی در غده رکتال از قسمت کپسولی به درون پارانیشیم ترش‌جی نفوذ می‌کنند و دارای تراکم بالایی از گلبول‌های قرمز خون هستند، به طوری که رنگ قرمز مشخصی را نمایان می‌سازند و سپس سلول‌های قرمز منفردی را بین لوله‌های ترش‌جی نشان می‌دهد (شکل ۲، B). Good در سال ۲۰۰۵، گزارش کرد که کپسول بیرونی توسط یک صفاق احشایی پوشیده شده است. همچنین، مطالعات اولیه نشان دادند که رگ‌های خونی، ماهیچه‌های صاف، بافت پیوندی و یک شبکه از اعصاب از میان آن به درون غده نفوذ می‌کنند (Bulger, 1963; Olson, 1999; Good, 2005; Anderson et al., 2007). Olsen و Kent در سال ۱۹۸۲، با مطالعه روی غده رکتال سگ ماهی خاردار (*S. acanthias*) گزارش دادند که مویرگ‌های غده به طور دقیقی با سلول ترش‌جی پیوستگی دارند و موازی با آن‌ها قرار گرفته‌اند. هر توبول ترش‌جی شامل چندین سلول ترش‌جی احاطه کننده یک

- Bulger, R.E., 1963.** Fine structure of the rectal (salt-secreting) gland of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. The Anatomical Record, 147: 95-127.
- Compagno L., 2002.** FAO species catalogue. v. 4:(2) Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date, pt. 2: Carcharhiniformes, pp. 56- 58
- Gerzeli, G., de Stefano, G.F., Bolognani, L., Koenig, K.W., Gervaso, M.V. and Omodeo-Salé, M.F., 1976.** The rectal gland in relation to the osmoregulatory mechanisms of marine and freshwater elasmobranchs. Investigations of the Ichthyofauna of Nicaraguan Lakes, 51p.
- Good, J.P., 2005.** The rectal gland and euryhalinity in elasmobranch fish. PhD Thesis, University of St Andrews, St Andrews, Scotland. 130p.
- Hazon, N., Tierney, M., Anderson, G., MacKenzie, S., Cutler, C. and Cramb, G., 1997.** Ion and water balance in elasmobranch fish. Ionic Regulation in Animals: A Tribute to Professor WTW Potts. Springer, pp. 70-86.
- Kent, B. and Olson, K.R., 1982.** Blood flow in the rectal gland of *Squalus acanthias*. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 243: R296-R303.
- Masini, M.A. and Uva, B., 1993.** Renin-like activity, angiotensin I-converting enzyme-like activity, and osmoregulatory peptides in the dogfish rectal gland. General and comparative endocrinology. 93: 246-254.
- Musick, J.A., Harbin, M.M. and Compagno, L. J., 2004.** Historical zoogeography of Selachii. CRC Marine Biology Series. 86: 132-144
- Oguri, M., 1964.** Rectal glands of marine and fresh-water sharks: comparative histology. Science, 144: 1151-1152.
- Piermarini, P.M. and Evans, D.H., 1998.** Osmoregulation of the Atlantic stingray (*Dasyatis sabina*) from the freshwater Lake Jesup of the St. Johns River, Florida. Physiological and Biochemical Zoology, 71: 553-560.
- Piermarini, P.M. and Evans, D.H., 2000.** Effects of environmental salinity on Na^+/K^+ -ATPase in the gills and rectal gland of a euryhaline elasmobranch (*Dasyatis sabina*). Journal of Experimental Biology, 203: 2957-2966.
- Pillans, R.D., Good, J., Anderson, W., Hazon, N. and Franklin, C., 2008.** Rectal gland morphology of freshwater and seawater acclimated bull sharks *Carcharhinus leucas*. Journal of Fish Biology, 72: 1559-1571.
- Pillans, R.D. and Franklin, C.E., 2004.** Plasma osmolyte concentrations and rectal gland mass of bull sharks (*Carcharhinus leucas*), captured along a salinity gradient. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 138: 363-371.
- Pillans, R.D., Good, J.P., Anderson, W.G., Hazon, N. and Franklin, C.E., 2005.** Freshwater to seawater acclimation of juvenile bull sharks (*Carcharhinus leucas*): plasma osmolytes and Na^+/K^+ -ATPase activity in gill, rectal gland, kidney and intestine. Journal of Comparative Physiology B, 175: 37-44.

Valentich, J.D., Karnaky, K.J. and Ecay, T.,
1996. Ultrastructural and cytochemical
characterization of cultured dogfish shark

rectal gland cells. American Journal of
Physiology-Cell Physiology. 271: C1993-
C2003.

Morphological and Histological characterization of rectal gland in the Brown banded Bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*) from the Persian Gulf

Alimi R.*; Savari A.; Movahedinia A.; Zakeri M.; Salamat N.

* ra.al2010@yahoo.com

Khorramshahr Marine Science and Technology University.

Keywords: Morphology, Histology, Rectal gland, Brown banded Bamboo shark, Persian Gulf

Abstract

Rectal gland is an important organ for osmoregulation in the sharks, and has species-specific features which are dependent on fish size. In this investigation, 36 individual of Brown banded Bamboo sharks (*Chiloscyllium punctatum*) were caught from Dervish's Creek located at the northern of Persian Gulf in both autumn and spring seasons. After weighting, biometry, sex determination and the numbering of sharks, the rectal gland were removed and weight were measured and then immediately fixed in Bouin's solution. Histological sections of 5 micrometers were prepared and stained with Hematoxylin and eosin and then studied by using light microscope. The morphological results showed that about the size of the rectal gland, there was no significant difference between males and females ($p > 0.05$) but the smaller sharks have larger rectal glands in proportion to their body size compared to larger sharks ($p < 0.05$). Also, it seems that the weight of rectal gland is not dependent upon sex and reproductive season. In addition, considering to the results of both seasons, we can conclude that the rectal gland weight of this species was independent of sex and breeding season. Microscopic results indicated that rectal gland had four structural regions: The capsule, outer parenchyma, inner parenchyma and central canal.

*Corresponding author