

اثر تروفونت‌های انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس پرتوتابی شده با پرتو گاما و ریزپوشانی شده با نانوذرات آلزینات بر ساختار هیستولوژیک آبشش در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

سعید موید^{۱*}، سکینه یگانه^۲، مرضیه حیدریه^۳، امید صفری^۲

۱. پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان ابریز اتمی، صندوق پستی: ۳۱۴۸۵-۱۴۹۸، کرج - ایران

۲. دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، صندوق پستی: ۴۸۱۸۱۶۸۹۸۴، ساری - ایران

۳. دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۳۶۳، مشهد - ایران

*Email: mheidarieh@aeoi.org.ir

مقاله‌ی فنی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۸/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۴/۱۵

چکیده

انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس عامل ایجاد بیماری لکه سفید، یکی از خطرناک‌ترین انگل‌های بیماری‌زا در ماهیان آب شیرین وحشی و پرورشی است. در این تحقیق بررسی اثرات منفی ریزپوشش آلزیناتی تروفونت غیرفعال شده با پرتو گاما در آبشش ماهی به عنوان بافت اصلی در گیر در بیماری ایک مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، ماهی‌های با میانگین وزنی ۳۰ گرم پس از دوره سازگاری، به ۴ گروه تقسیم شدند: ۱ گروه از ماهیان با انگل پرتوتابی شده، گروه دیگر با انگل پرتوتابی شده و ریزپوشانی شده با نانوذرات آلزینات و گروه سوم به عنوان گروه کنترل مثبت با انگل فعال تیمار شدند. در گروه کنترل منفی (شاهد) نیز هیچ‌گونه ترکیبی استفاده نشد. نمونه‌برداری از بافت آبشش سی روز پس از تیمار انجام شد. مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نانوذرات آلزینات جذب شده در تروفونت‌های انگل ایک غیرفعال شده با پرتو گاما قادر است به طور معنی‌داری اثرات هیستوپاتولوژیکی ناشی از هجوم انگل زنده به بافت آبشش مانند هایپرپلازی شدید، ادم زیرجلدی، چسبیدگی لاملاها و نکروز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را کاهش داده و همچنین ضمن کاهش آثار هیستوپاتولوژیکی، منجر به افزایش معنی‌داری در تعداد سلول‌های ماکروفاژی گردد. بنابراین می‌توان بیان نمود که استفاده از ریزپوشش آلزیناتی به منظور انتقال تروفونت غیرفعال شده با پرتو گاما علیه انگل زنده به روش حمامی در ماهی، امن بوده و هیچ‌گونه اثرات سوء بافتی ندارد.

کلیدواژه‌های: نانوذرات آلزینات، تروفونت انگل ایک پرتوتابی شده با پرتو گاما، بافت آبشش، قزل‌آلای رنگین‌کمان

Histopathological alteration induced in gill tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated via gamma-irradiated *Ichthyophthirius multifiliis* trophonts and coated with alginate nanoparticles

S. Moodi^{1,2}, S. Yeganeh², M. Heidarieh^{*1}, O. Safari³

1. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 31485-1498, Karaj - Iran

2. Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, P.O.Box: 4818168984, Sari - Iran

3. Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, P.O.Box: 91775-1363, Mashhad, Iran

Research Article

Received 17.11.2018, Accepted 6.7.2019

Abstract

The *Ichthyophthirius multifiliis* is one of the most important protozoan pathogens of farmed and wild fish populations. In this study, histopathological effects of gamma-irradiated trophonts of *I. multifiliis* coated with alginate nanoparticles in rainbow trout gill were evaluated. Therefore, after adaption period the fish with mean weight 30 g were distributed to 4 groups: Two groups were treated with gamma-irradiated trophonts of *I. multifiliis* and coated with alginate nanoparticles, gamma-irradiated trophonts of *I. multifiliis*. One group was infected with active trophonts of parasite as positive control. In negative control group, no treatment was used. On day 30, gill tissue from treated, infected and control fish was analyzed for evaluating the histopathological alterations. The results showed that the use of alginate nanoparticles formulated in gamma-irradiated *I. multifiliis* trophonts can significantly decrease severe hyperplasia, sub-epithelial edema, and fusion of the secondary lamellae, focal and multifocal necrosi in gill. Also, gamma-irradiated trophonts of *I. multifiliis* coated with alginate nanoparticles induced an increase in amount of the gill macrophages in treated fish. Therefore, the alginate nanoparticles can be in leading development of safe and efficient gamma-irradiated trophonts deliver tool in rainbow trout with more useful behavior and fewer side effects on gill tissue.

Keywords: Alginate nanoparticles, Gamma-irradiated trophonts, Gill tissue, Rainbow trout



نبودن، فناوری آسان و مطابقت و سازگاری با محیط زیست است و به عنوان افزودنی مجاز غذایی شناخته شده است. از طرفی خود این ماده دارای اثرات تحریک ایمنی است [۱۲]. از طرفی دیگر بافت آبشش یکی از بافت‌هایی است که معمولاً در مطالعات مربوط به بررسی‌های انگل‌های خارجی (مانند /یکتیوفتریوس مولتی فیلیس) خصوصاً در سیستم‌های پرورشی به صورت مدار بسته به عنوان بافت هدف در نظر گرفته می‌شوند [۱۳، ۱۴]. بنابراین در این مطالعه اثرات تروفونت‌های انگل /یکتیوفتریوس مولتی فیلیس پرتوتابی شده با پرتو گاما و ریزپوشانی شده با نانوذرات آلزینات بر ساختار هیستولوژیک آبشش در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی خواهد شد.

۲. مواد و روش کار

۱.۲ تکثیر انگل /یکتیوفتریوس مولتی فیلیس و پرتوتابی بدین منظور ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان آلوده به انگل مورد مطالعه، در مزارع پرورش ماهی شناسایی شده و به آکواریوم‌های شیشه‌ای در دمای ۱۷-۱۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از تکثیر انگل‌ها در سطح بدن ماهی‌ها و ازدیاد آن‌ها، تروفونتها از سطح بدن ماهی‌ها جمع‌آوری و شمارش شدند و در هر ویال ۱۰۰ عدد تروفونت انگل نگهداری شد. انگل‌های جمع‌آوری شده در ویال‌ها با سیستم گاماسل مدل ۲۲۰ و با دز ۱۷۰ گری پرتوتابی شدند [۱۵].

۲.۰ ریزپوشانی تروفونت‌های انگل پرتوتابی شده با نانوذرات آلزینات براساس روش ارایه شده توسط حیدریه و همکاران (۲۰۱۵) با کمی تغییرات ریزپوشانی انجام گردید [۱۵]. تروفونت‌های انگل پرتوتابی شده در یک میلی‌لیتر از PBS با pH ۴/۹ حل شده و با چهار میلی‌لیتر از محلول نانوذرات آلزینات (۰/۱۵٪)، تهیه شده با استفاده از روش پرتو تابی (پرتو گاما) در آزمایشگاه آبزیان پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای [۱۶]، در PBS با pH ۴/۹ در حالت چرخش بر روی شیکر محلول کلرید کلسیم قطره قطره (۰/۱ مولار) اضافه گردید. محلول به مدت شش ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر ترکیب شد. نمونه‌ها سپس در ۸۰۰۰ g سانتریفوژ شده و با آب مقطر شسته شدند. سپس در ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک شده و تا زمان مصرف فریز شدند [۱۵].

۱. مقدمه

بیماری دانه‌های سفید یا ایک یکی از بیماری‌های رایج ماهیان پرورشی، آکواریومی و وحشی بوده که عامل آن تک یا خمدهاری بهنام /یکتیوفتریوس مولتی فیلیس است. این بیماری گسترش جهانی دارد و عامل تلفات و خسارات اقتصادی فراوانی در مزارع پرورشی انواع ماهیان بهخصوص در سیستم‌های پرورشی مدار بسته است. تأثیر انواع مختلف مواد شیمیایی و الکتروترابی برای درمان و کنترل این بیماری و انگل مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این نکته قابل توجه است که به کار بردن مواد شیمیایی مختلف به علت چرخه زندگی انگل بر مرحله عfonی و فعل انگل پس از ورود به اپیتلیوم پوست و آبشش تأثیرگذار نبوده‌اند [۱، ۲]. بر این اساس می‌توان بیان نمود که مهم‌ترین راه کنترل این بیماری ایمن‌سازی ماهی بر علیه انگل است [۲]. ایمن‌سازی ماهی ضد این عامل بیماری‌زا با استفاده از تومایت کشته به دو روش داخل صفاقی و حمامی، تومایت زنده به روش داخل صفاقی، تروفونت کشته با مواد شیمیایی، تروفونت زنده به صورت داخل صفاقی در دو دما بالا و پایین، i-antigen خالص به صورت داخل صفاقی و به همراه ادجوانت کامل فروند، تروفونت غیرفعال شده با فرمالین و به صورت واکسیناسیون داخل صفاقی، تروفونت‌های غیرفعال شده با دز ۱۷۰ گری پرتو گاما به روش حمامی، تروفونت سونیکه شده عfonت تحت حاد با تروفونت، با موفقیت در چندین مورد گزارش شده است [۹-۱۴]. ادجوانت ماده‌ای شیمیایی است که از مهم‌ترین نقش‌های آن می‌توان به افزایش عملکرد آنتی‌بادی، کاهش تعداد و مقدار دز واکسن در ایجاد ایمنی مناسب، تثبیت فرمولاسیون واکسن، افزایش زمان پاسخ با افزایش حضور آنتی‌زن در خون، فعال‌سازی ماکروفاژها و لنفوسيت‌ها و افزایش تولید سایتوکین‌ها اشاره نمود [۱۰]. تأثیر ادجوانت در ماهی از طریق تحریک التهاب در موضع و رهاسازی آهسته آنتی‌زن صورت می‌گیرد [۱۱]. به تازگی با کمک فناوری نانو و با استفاده از روش ریزپوشانی، ادجوانت‌های قوی‌تر و پیچیده‌تری سنتز شده‌اند. نانوذرات تحويل آنتی‌زن، انتقال این عوامل شیمیایی ساده تحریک‌کننده سیستم ایمنی، را سریع‌تر نموده‌اند [۱۲]. نانوذرات آلزینات پرکاربردترین ماده به منظور ریزپوشانی مواد ایمن‌زا است و از جلبک دریایی استخراج می‌شود. علت استفاده از آن ارزانی، سهولت کاربرد، سمی



انجام شد. از بافت‌ها برش‌هایی به ضخامت ۳ میکرومتر تهیه شد. لام‌ها پس از نگهداری ۴۸ ساعته در داخل آون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) پارافین‌زدایی شدند و با استفاده از هماتوکسیلین-اوزین رنگ‌آمیزی شدند. لام‌های رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. شمارش ماکروفاژ‌های موجود در بافت آبشش نیز با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام شد [۱۷].

۳. نتایج

تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت آبشش در گروه‌های مختلف آزمایشی به صورت درجه‌بندی در جدول ۱ بیان شده است. بافت آبشش سالم با رشته‌های آبشعی منظم مربوط به گروه شاهد است. در بررسی میکروسکوپی مربوط به گروه کنترل هیچ‌گونه تغییر هیستولوژیکی غیرطبیعی مانند نفوذ سلول‌های آماسی و یا خونریزی در بافت آبشش مشاهده نشد (شکل ۱). در گروه آلوده شده با انگل زنده به عنوان گروه کنترل مثبت، هایپرپلازی و هم‌جوشی شدید در سلول‌های اپیتلیوم رشته‌ها به همراه التهاب و ادم و هم‌چنین کوتاه شدن تیغه‌های آبشعی به وضوح مشاهده شد (شکل ۲ الف). این هایپرپلازی در تیغه‌های ثانویه آبشعی باعث تورم و گرزی شدن نوک تیغه‌های شده است (شکل ۲ ب). هایپرپلازی در هر دو گروه تیمار به همراه التهاب و پرخونی به طور خفیف دیده شد (شکل ۲ د). با این تفاوت که در بافت آبشعی ماهیان تیمار شده با تروفونت انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس غیرفعال شده با پرتو گاما و پوشش‌دهی شده با نانوذرات آلزینات افزایش قابل توجهی در جمعیت سلول‌های ماکروفاژی مشاهده گردید (شکل ۳).

جدول ۱. خلاصه آسیب‌های مشاهده و ثبت شده در زیر میکروسکوپ نوری بافت آبشعی ماهی قزل آلای رنگین کمان تیمار شده با:

تیمار ۱: بافت آبشع ماهی تیمار شده با عنوان کنترل مثبت

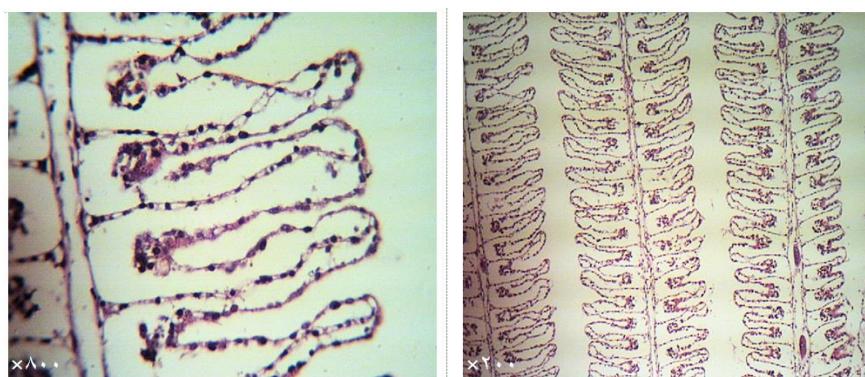
تیمار ۲: بافت آبشع ماهی تیمار شده با تروفونت انگل غیرفعال‌سازی با پرتو گاما

تیمار ۳: بافت آبشع ماهی تیمار شده با تروفونت انگل غیرفعال‌سازی با پرتو گاما و پوشش‌دهی شده با نانوذرات آلزینات

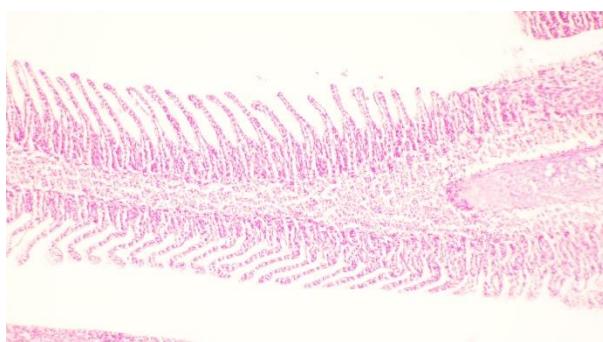
گروه‌ها	آسیب هایپرپلازی	آسیب هایپرپلازی	چماقی شدن	چسبیدگی لاملاهای ثانویه	کوتاه شدن لاملا	نکروز لاملا	پرخونی	تعداد ماکروفاژها	شاهد	
									⁻	⁺
⁺	-	-	-	-	-	-	-	-		
++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		۱
++	+	-	-	-	+	-	-	+		۲
+++	+	-	-	-	+	-	-	+		۳

نبود اثر آسیب بافتی (⁻)، کم (+)، متوسط (++)، زیاد (+++)

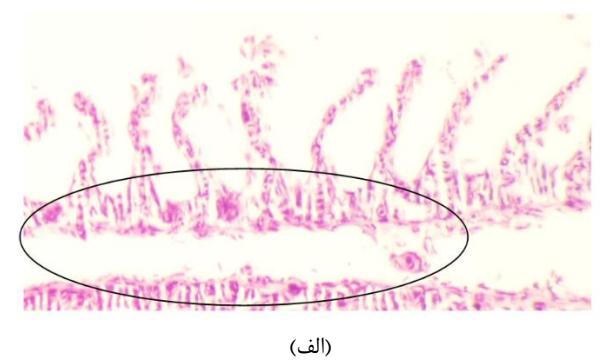




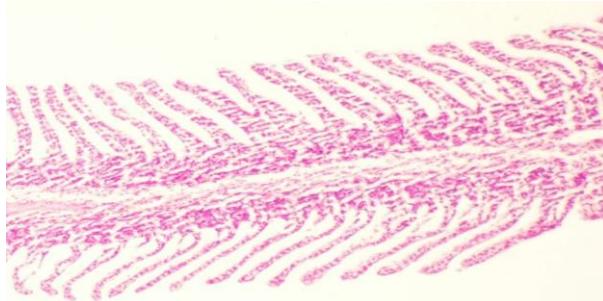
شکل ۱. بافت آبشنش سالم با رشته‌های آبششی منظم مربوط به گروه شاهد مقطع رنگ‌آمیزی H&E و درشت نمایی ۲۰۰ و ۸۰۰ برابر.



شکل ۲. د) وجود سلول‌های التهابی و پرخونی در مقطع میکروسکوپی بافت آبشنش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گروه کنترل مثبت با رنگ‌آمیزی H&E و درشت نمایی ۱۰۰ برابر.

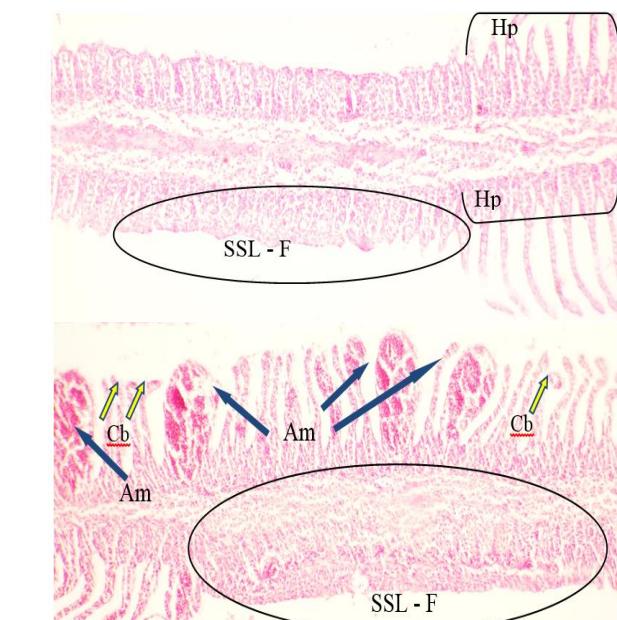


(الف)



(ب)

شکل ۳. سلول‌های ماکروفازی (مشخص شده در بیضی) و هایپرپلازی در تیغه‌های ثانویه آبشنشی، ب) در مقطع میکروسکوپی بافت آبشنش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گروه تیمار شده با تروفونت انگل/ایکتیوفتیریوس مولتی فیلیس غیرفعال شده با پرتو گاما و پوشش‌دهی شده با نانوذرات آلزینات با رنگ‌آمیزی H&E و درشت نمایی ۲۰۰ برابر.



شکل ۲. الف) هایپرپلازی (Hp) در سلول‌های اپیتلیوم، هم‌جوشی شدید (F) و کوتاه شدن تیغه‌های آبشنشی (SSL) (منطقه نشان داده شده در بیضی) اتساع عروق (Am) و گرزی شدن (Cb) لاملاهای ثانویه (با فلش زرد رنگ مشخص شده) بافت آبشنش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گروه کنترل مثبت با رنگ‌آمیزی H&E و درشت نمایی ۲۰۰ برابر.



شکل ۲. ب) وجود ادم (E) مقطع میکروسکوپی بافت آبشنش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گروه کنترل مثبت با رنگ‌آمیزی H&E و درشت نمایی ۸۰۰ برابر.



کننده تومور آلفا در پوست، کلیه، کبد و آبشش ماهیان آلووده و تیمار شده با تروفونت انگل ایک پرتودهی شده است [۲۵]. فاکتور نکروز کننده تومور به طور عمده توسط سلول‌های ماکروفازی فعال شده تولید می‌شوند [۲۶]. در راستای تأیید این نتیجه در مطالعه حاضر آسیب‌شناسی بافتی نشان داد که استفاده از تیمار تروفونت پرتودهی شده به طور معنی‌داری باعث کاهش بروز عالیم حاد بیماری در بافت آبشش ماهی می‌گردد. همچنین وجود پوشش نانوذره‌ای آژینات در اطراف تروفونت علاوه بر کاهش قابل توجه آثار بافتی بیماری در آبشش منجر به افزایش قابل توجه جمعیت سلولی ماکروفازی شده است. سلول‌های فاگوسیتوزیک به خصوص سلول‌های دندنریتیک و ماکروفازها، دارای APC بوده و پل ارتباطی میان سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند [۲۷]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پوشش نانوذرات آژیناتی نه تنها اثر سویی بر بافت آبشش ندارد، بلکه بر تعداد سلول‌های ماکروفاز تأثیرگذار بوده و این افزایش می‌تواند به عنوان یک مکانیسم آداتپاسیون و ایمن‌زایی در مواجهه با انگل زنده به حساب آید. همچنین به روشنی مشخص شده است که ماکروفازها قادرند آنتیژن را بر سطح یا نزدیک آن، چندین هفته پس از واکسیناسیون به صورت محلول نگه دارند [۲۸]. البته باید این موضوع را هم در نظر داشت زمان مواجهه و غلظت نانوذرات آژینات به عنوان دو فاکتور مهم در میزان ایمن‌زایی در برابر انگل زنده و صدمات هیستوپاتولوژیک احتمالی مؤثر خواهد بود. بنابراین می‌توان براساس تحقیق حاضر نتیجه‌گیری نمود که استفاده از ریزپوشش آژیناتی به منظور انتقال تروفونت غیرفعال شده با پرتو گاما بر علیه انگل زنده به روش حمامی در ماهی امن و بدون هیچ‌گونه اثرات سوء بافتی است ولی این امر نیازمند تحقیقات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای و گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گرفته است. نویسنده‌گان بر خود لازم می‌دانند از راهنمایی‌های ارزشمند و علمی خانم دکتر فاطمه نمازی عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز جهت انجام این پژوهش تشکر نمایند.

۴. نتیجه‌گیری

خصوصیات مورفولوژیک و عملکرد سلول‌های پوششی بافت آبشش ماهیان استخوانی شامل تبادل گاز، تعادل اسید و باز و تنظیم یونی است [۱۹، ۲۰]. تغییر هیستوپاتولوژیک جزیی در این اندام منجر به بروز اختلالات تنفسی و عدم تعادل الکترولیتی می‌گردد [۲۱، ۲۲]. بنابراین در بسیاری از پژوهش‌ها تغییرات بافت آبشش به عنوان عالیم هشداردهنده آسیب به سلامت ماهی مورد بررسی قرار گرفته است [۱۳، ۲۲]. وجود انگل ایک در بافت آبشش ماهی مبتلا به بیماری لکه سفید انگلی باعث هیپرپلازی سلول‌های پوششی و ترازید سلول‌ها در بافت می‌شود. ترازید سلولی مانند سلول‌های تولیدکننده موکوس و سلول‌های کلراید در برخی شرایط به حدی انجام می‌شود که ۳ تا ۴ لاملای ثانویه را در برمی‌گیرد و نقص در سیستم تنفسی و اسمزی ماهیان آغاز می‌شود. افزایش معنی‌دار نوتروفیل‌ها در این مرحله و نفوذ لنفوسیت‌ها نیز اغلب مشاهده می‌شود. با ادامه عفونت، ترازید سلول‌های پوششی لاملاً افزایش یافته تا به حدی که بخش‌هایی از آن، از بافت غضروفی نیتروژنی شود. با ادامه عفونت، ترازید سلول‌های پوششی لاملاً جدا شده و می‌افتد و به لاملاً منظره چماقی شکل می‌دهد [۲۳]. در ماهی مبتلا کم شدن سطوح تنفسی منجر به کاهش اخذ اکسیژن شده، در نتیجه از تبادل گازی و دفع مواد نیتروژنی از آبشش می‌کاهد، کاهش دفع مواد نیتروژنی از آبشش باعث احتباس آن‌ها در خون ماهیان آلووده شده و تعادل اسمزی ماهیان به هم می‌خورد و در نهایت با شدت یافتن عفونت ماهی تلف خواهد شد [۲۴]. در این تحقیق تغییرات و ضایعات بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با تروفونت‌های پرتودهی شده انگل ایک که نانوذرات آژینات را به صورت پوشش جذب کرده‌اند، ضدیماری لکه سفید انگلی بررسی گردید. در گروه‌های مواجهه شده با انگل زنده آسیب شدید بافتی در بافت آبشش مشاهده گردید. اما در گروه‌های تیمار شده آسیب بافتی به شکل التهاب خفیف دیده شد. در گروه تیمار شده با تروفونت‌های پرتودیده و ریزپوشانی شده با نانوذرات آژینات همراه التهاب بسیار خفیف افزایش قابل توجه جمعیت سلول‌های ماکروفازی دیده شد. تنظیم پاسخ التهابی در بافت و کاهش تأثیر نامطلوب التهاب بر میزان پس از هر گونه تیماری بسیار مهم و با اهمیت است. پاسخ التهابی توسط سیتوکین‌ها تنظیم می‌شوند. سیتوکین‌ها به چند دسته از جمله اینترفرون‌ها، اینترلکین‌ها، کیمیکین‌ها و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا تقسیم می‌شوند. نتایج مطالعه حاضر همسو با نتایج تحقیقات گذشته مبنی بر افزایش بیان زن فاکتور نکروز



مراجع

1. M. Witeska, E. Kondra, K. Ługowska, *The effects of Ichthyophthiriasis on some haematological parameters in common carp*, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **34**(3), 267-271(2010).
2. J. Xueqin, P.W. Kania, K. Buchmann, *Comparative effects of four feed types on white spot disease susceptibility and skin immune parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)*, *J. Fish Dis.* **35**(2), 127-135 (2011).
3. C. Agius, R.J. Roberts, *Melanomacrophage centers and their role in fish pathology*, *J. Fish Dis.* **26**(9), 499-509 (2003).
4. J. He, et al, *Protection of gold fish against *Ichthyophthirius multifiliis* by immunization with a recombinant vaccine*, *Aquaculture* **158**(1-2), 1-10 (1997).
5. X. Wang, H.W. Dickerson, *Surface immobilization antigen of the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* elicits protective immunity in channel catfish (*Ictalurus punctatus*)*, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **9**(1), 176-181 (2002).
6. M. Alishahi, K. Buchmann, *Temperature-dependent protection against *Ichthyophthirius multifiliis* following immunisation of rainbow trout using live theronts*, *Dis Aquat Organ.* **72**(3), 269-273 (2006).
7. M. Heidarieh, et al, *Effect of gamma-irradiation on inactivation of *Ichthyophthirius multifiliis* trophonts and its efficacy on host response in experimentally immunized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **38**(4), 388-393 (2014).
8. D.H. Xu, P.H. Klesius, C.A. Shoemaker, *Effect of immunization of channel catfish with inactivated trophonts on serum and cutaneous antibody titers and survival against *Ichthyophthirius multifiliis**, *Fish Shellfish Immunol.* **26**(4), 614-618 (2009).
9. D. Xu, P. Klesius, C. Shoemaker, *Efficacy of *Ichthyophthirius* vaccines in channel catfish against white spot disease*, in: *American Chemical Society National Meeting and Exposition*; (*Agricultural Research Service, Boston, Massachusetts*, 2010) 237 (2010).
10. H.F. Savelkoul, et al, *Choice and Design of Adjuvants for Parenteral and Mucosal Vaccines*. *Vaccines* **3**(1), 148-71 (2015).
11. Ø. Lie, *Improving Farmed Fish Quality and Safety*, 183-198 (*Woodhead, Norway*, 2008).
12. J.A. Rosenthal, et al, *Pathogen-like particles: biomimetic vaccine carriers engineered at the nanoscale*, *Curr. Opin. Biotechnol.* **28**(c), 51-58 (2014).
13. S. Varsamos, C. Nebel, G. Charmantier, *Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review*, *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* **141**(4), 401-429 (2005).
14. E. Strzyzewska, J. Szarek, I. Babinska, *Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review*, *Vet. Med.* **61**(03), 123-132 (2016).
15. M. Heidarieh, et al, *Gene expression analysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin: Immunological responses to radiovaccine against *Ichthyophthirius multifiliis**, *Rev. Méd. Vét.* **166**(7-8), 233-242 (2015).
16. M. Heidarieh, et al, *Preparation and anatomical distribution study of 67 Ga-alginic acid nanoparticles for SPECT purposes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*, *Nukleonika* **59** (4), 153-159 (2014).
17. D. Bernet, et al, *Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution*, *J. Fish Dis.* **22**(1), 25-34 (1999).
18. P.J. Bentley, In: *Endocrines and osmoregulation- a comparative account in vertebrates*, (*Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 2002).
19. D.H. Evans, P.M. Piermarini, K.P. Choe, *The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste*, *Physiol. Rev.* **85**(1), 97-177 (2005).
20. S. Mumford, et al, *Fish Histology and Histopathology manual*, (U.S. Fish and Wildlife Services, *National Conservation Training Center*, 2007) 2-8 (2007).
21. Noor El-Deen, O.K. Abd El Hady, A.M. Kenawy, *Comparative studies on some prevailing parasitic diseases cultured freshwater fingerlings and adult *Oreochromis niloticus* on some fish farms*, *Life Sci. J.* **11**(10), 814-821 (2014).
22. M.M. Camargo, C.B. Martinez, *Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream*, *Neotrop. Ichthyol.* **5**(3), 327-336 (2007).
23. F. Mohammadi, S.M. Mousavi, A. Rezaie, *Histopathological study of parasitic infestation of skin and gill on Oscar (*Astronotus ocellatus*) and discus (*Symphysodon discus*)*, *Aquac. Aquar. Conserv. Legis.* **5**(1), 88-93 (2012).
24. Jalali, *Parasites and Parasitic Diseases of Iranian Freshwater Fishes*, (*Iranian Fisheries Research Organization, Tehran*, 1998), 131-167 (1998).
25. M. Akbari, et al, *The key role of Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) in vaccinated rainbow trout via irradiated *Ichthyophthirius multifiliis* trophont*, *Veterinarski Arhiv* **87** (2), 229-237 (2017).
26. H.J. Gruss, *Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily*, *Int. J. Clin. Lab. Res.* **26**, 143-159 (1996).
27. E. Kuroda, et al, *Silica crystals and aluminum salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-independent mechanisms*, *Immunity* **34**(4), 514-526.
28. S. Balamurugan, et al, *Melanomacrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bio-indicator of environmental change*, *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2**(2), 635-638 (2012).

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.



استناد به این مقاله

سعید مودی، سکینه یگانه، مرضیه حیدریه، امید صفری (۱۳۹۹)، اثر تروفونت‌های انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس بر توابی شده با پرتو گاما و ریزپوشانی شده با نانوذرات آلزینات بر ساختار هیستولوژیک آبشش در ماهی قزل آلای رنگین کمان، *چاپ ۹۱-۱۸۶*.

DOI: 10.24200/nst.2020.1108

Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1108.html

