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

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریا
گرایش اکولوژی دریا

مطالعه اکوفیزیولوژیک و تغییرات بافت شناختی آبشش ماهی صبیتی(*Sparidentex hasta*) در سازش با شوری های مختلف

اساتید راهنما:
دکتر عبدالعلی موحدی نیا
پروفسور احمد سواری

اساتید مشاور:
دکتر رحیم عبدی
دکتر غلامرضا اسکندری

پژوهشگر:
سعید کشتکار

شهریور ۱۳۹۰

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه علوم و فنون دریائی خرمشهر است.

نام: سعید	**نام خانوادگی:** کشتکار
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	**رشته و گرایش:** زیست دریا- اکولوژی
اساتید راهنما: دکتر عبدالعلی موحدی نیا و پروفسور احمد سواری	**اساتید مشاور:** دکتر رحیم عبدی و دکتر غلامرضا اسکندری

تاریخ دفاع: شهریور ۱۳۹۰

کلید واژه ها: تنظیم اسمزی، سلول های غنی از میتوکندری، آبشش، الکترولیت ها، کورتیزول، گلوکز، *Sparidentex hasta*

مطالعه ی اکوفیزیولوژیک و تغییرات بافت شناختی آبشش ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) در سازش با شوری های مختلف

چکیده:

در مطالعه ی حاضر تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی صبیتی، *Sparidentex hasta* به مدت دو هفته در مواجهه مستقیم با شوری های ۵‰، ۲۰‰ ، ۴۰‰ و ۶۰‰ قرار گرفتند. این ماهیان هیچ گونه مرگ و میری را در مواجهه با این شوری ها نشان ندادند. در این تحقیق میزان الکترولیت های سدیم، کلر و پتاسیم، گلوکز و کورتیزول پلاسما و همچنین تغییرات مورفومتریک سلول های غنی از میتوکندری مورد سنجش و بررسی قرار گرفت. محتوای Cl^- پلاسما در شوری ۵‰ و در ساعت های ۱۲ و ۲۴ پایین تر و بدون اختلاف معنی دار با میزان آن در تیمار کنترل (۴۰‰) بود($P<۰/۰۵$). میزان Na^+ نیز در ساعت ۱۲ در تیمار ۵‰ از میزان آن در تیمار کنترل پایین تر بود ($P<۰/۰۵$). میزان K^+ در تیمار ۶۰‰ و در روز دوم بیشتر از میزان آن در تیمار شاهد بود($P<۰/۰۵$). در سایر مراحل نمونه برداری، بین میزان الکترولیت ها در تیمار های مختلف و تیمار کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

میزان کورتیزول در تیمار ۶۰‰ و در ساعت ۱۲ به طور معنی داری بالاتر از میزان آن در سایر زمان های این تیمار بود. در تیمار ۵‰ میزان کورتیزول در ساعت های ۱۲ و ۲۴ بالاتر از میزان متناظر در تیمار کنترل بدست آمد($P<۰/۰۵$). در ساعت های دیگر این دو تیمار و همچنین در سایر تیمار ها اختلاف معنی داری در روند کورتیزول در مقایسه با تیمار کنترل مشاهده نشد. میزان گلوکز در زمان های مختلف تیمار های ۲۰ و ۶۰‰ اختلاف معنی داری را نشان نداد اما، در تیمار ۵‰ میزان آن در ساعت ۱۲ بیشتر از ساعت های ۶ و ۲۴ بود که این اختلاف نیز معنی دار نبود.

تعداد و مساحت MRC در طول دوره و در تیمار های ۵ و ۶۰‰ روندی افزایشی را نشان داد و در روز دوم و هفتم اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان داد. روند تغییرات تعداد و مساحت MRC در تیمار ۲۰‰ نزولی بود. همچنین، در این تیمار میانگین های مربوط به فاکتور های فوق در روز های ۷ و ۱۴ اختلاف معنی داری را با تیمار کنترل نشان داد. بطور کلی، نتایج مربوط به این تحقیق نشان می دهد که ماهی صبیتی در مواجهه با شوری قدرت ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بافتی لازم را برای حفظ کیفیت زندگی خود دارد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه و کلیات ۱

۱-۱- مقدمه ۱
۱-۲- کلیات ۲
۱-۲-۱- روش‌های تنظیم اسمزی در ماهیان ۲
۱-۲-۱-۱- تطبیق دهنده های اسمزی ۳
۱-۲-۱-۲- ماهیان دریائی ۴
۱-۲-۱-۳- ماهیان ساکن آب شیرین ۵
۱-۲-۲- ماهی صبیتی ۶
۱-۲-۳- آبشش ۸
۱-۲-۳-۱- بافت پوششی آبشش ۱۰
۱-۲-۳-۲- سلول‌های غنی از میتوکندری ۱۱
۱-۲-۳-۳- مکانیسم عمل سلول های غنی از میتوکندری در آب شور ۱۲
۱-۲-۴- پاسخ فیزیولوژیک به محرکهای محیطی ۱۴
۱-۲-۴-۱- کورتیزول ۱۵
۱-۲-۵- پیشینه ی تحقیق ۱۵
۱-۲-۶- اهداف تحقیق ۱۷
۱-۲-۷- اهمیت و ارزش تحقیق ۱۸
۱-۲-۸- کاربرد نتایج تحقیق ۱۸
۱-۲-۹ - فرضیه ها ۱۹

فصل دوم، مواد و روش کار ۲۰

۲-۱- تهیه ماهی و تمهیدات اولیه ی اجرای طرح ۲۰
۲-۲- مواجهه ماهی ها با شوری های مختلف ۲۴
۲-۳- انجام مراحل نمونه گیری از بافت وخون ماهیان ۲۵
۲-۴- بافت شناسی کلاسیک ۲۷
۲-۴-۱- آبگیری ۲۷
۲-۴-۲- قرار گیری در محلول میکس ۲۸
۲-۴-۳- شفاف سازی ۲۸

۲-۴-۴- آغشتگی با پارافین ۲۸
۲-۴-۵- قالب گیری ۲۸
۲-۴-۶- پیرایش قالبهای بافتی ۲۸
۲-۴-۷- برش گیری ۲۸
۲-۴-۸- رنگ آمیزی ۲۹
۲-۴-۸-۱- پارافین زدایی ۳۰
۲-۴-۸-۲- آبدهی ۳۰
۲-۴-۸-۳- رنگ‌آمیزی با رنگ هماتوکسیلین ۳۰
۲-۴-۸-۴- قراردادن در محلول اسید الکل و اکسیداسیون و تثبیت رنگ هماتوکسیلین ۳۰
۲-۴-۸-۵- رنگ آمیزی با محلول ائوزین ۳۱
۲-۴-۸-۶- آبگیری مقاطع رنگ آمیزی شده ۳۱
۲-۴-۸-۷- شفاف سازی ۳۱
۲-۴-۸-۸- چسباندن لامل روی لام ۳۱
۲-۵- تعیین اندازه و تعداد سلول‌های غنی از میتوکندری آبشش ۳۱
۲-۶- سنجش های الکترولیت ها و گلوکز ۳۲
۲-۶-۱- برق سنجی ۳۳
۲-۶-۲- شعله سنجی ۳۴
۲-۶-۲-۱- کار با دستگاه نورسنج ۳۶
۲-۶-۳- رنگ سنجی ۳۷
۲-۷- سنجش سطوح پلاسمایی کورتیزول ۳۹
۲-۷-۱- رادیوایمونواسی ۴۰
۲-۸- آنالیز آماری و رسم نمودارها ۴۳

فصل سوم، نتایج ۴۴

۳-۱- داده های شرایط پایه آزمایشی و تغییرات الکترولیتها در تیمارهای مختلف ۴۴
۳-۲- هورمون کورتیزول ۴۶
۳-۳- سطح گلوکز ۴۷
۳-۴- الکترولیت ها ۴۸
۳-۴-۱- کلر ۴۸
۳-۴-۲- سدیم ۴۹
۳-۴-۳- پتاسیم ۵۰
۳-۵- مرفولوژی ۵۱

۳-۵-۱- بررسی مورفولوژیک و هیستومتریک MRCها پس از معارضه با شوری های مختلف.....۵۵

۳-۵-۱-۱- تغییرات تعداد و تراکم MRCها در فیلامنت ها.....۵۵
۳-۵-۱-۲- تغییرات مساحت MRCهای فیلامنتی در مواجهه با شوری ها.....۵۸

فصل چهارم، بحث و نتیجه گیری ۶۰

۴-۱- سطح هورمون کورتیزول در پلاسما..... ۶۰
۴-۲- سطوح گلوکز پلاسما.....۶۳
۴-۳- تغییرات تراکم و اندازه ی سلول غنی از میتوکندری.....۶۴
۴-۴- تغییرات سطوح الکترولیت ها.....۶۹
۴-۵- نتیجه گیری کلی.....۷۳
۴-۶- پیشنهادت.....۷۴
منابع.....۷۵

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱
شکل ۱-۱- فرایند های کلی تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی دریائی ۴
شکل ۱-۲- فرایند های کلی تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی آب شیرین ۵
شکل ۱-۳- نمائی از ماهی صبیتی ۶
شکل ۱-۴- نقشه ی پراکنش ماهی صبیتی ۸
شکل ۱-۵- نمائی از آبشش،فیلامنت ها و لاملا ها ۹
شکل ۱-۶- مکانیسم ترشح کلر، سدیم و پتاسیم در MRCها در ماهیان دریائی استخوانی ۱۳

فصل دوم، مواد و روش کار ۲۰

شکل ۲-۱- دستگاه های سنجش pH و O_2 محلول ۲۲
شکل ۲-۲- سوله ی اجرا پروژه ۲۳
شکل ۲-۳- میز نمونه برداری قطعات بافتی ۲۶
شکل ۲-۴- تصویر دستگاه هیستوکینت ۲۷
شکل ۲-۵- میکروتوم مورد استفاده برای برش گیری ۲۹
شکل ۲-۶- محیط نرم افزار Dinocapture2.0 (version 1.3.2) ۳۲
شکل ۲-۷- دستگاه الکترود آنالیزر ۳۴
شکل ۲-۸- دستگاه شعله‌سنج (JENWAY, PFP7) ۳۵
شکل ۲-۹- نمای شماتیک از طرز کار دستگاه رنگ سنجی ۴۰
شکل ۲-۱۰- دستگاه آنالیزر Technicon RA-1000 ..... ۴۰
شکل ۲-۱۱- نحوه ی اجرای مقدمات سنجش کورتیزول ۳۹
شکل ۲-۱۲- دستگاه سنجنده‌ی گاما جهت سنجش غلظت هورمون‌ها در روش رادیوایمونواسی ۴۰
شکل ۲-۱۳- ترسیم شماتیک نحوه ی رقابت و اتصال آنتی ژن نمونه و آنتی ژن غیر نشاندار به آنتی بادی ها ۴۱
شکل ۲-۱۴- منحنی استاندارد در رادیوایمونواسی ۴۲
شکل ۲-۱۵- کیت مورد استفاده بهمراه اجزای داخلی آن جهت اندازه‌گیری هورمون‌ها ۴۲

فصل سوم: نتایج ۴۵

شکل ۳-۱- غلظت یون های کلر و سدیم(mM) آب در تیمارهای مختلف شوری.....۴۵
شکل ۳-۲- تغییرات غلظت پتاسیم (mM) در آب در شوری های مختلف برای دوران معارضه با شوری ها ۴۵
شکل ۳-۳- تغییرات هورمون کورتیزول در ماهی های تحت تیمار شوری..... ۴۶
شکل ۳-۴- نمودار تغییرات گلوکز خون در تیمارهای شوری طی دوره ی آزمایش..... ۴۷
شکل ۳-۵- نمودار تغییرات کلر در ماهی های مورد آزمایش.....۴۸
شکل ۳-۶- نمودار تغییرات سدیم در تیمارهای مختلف شوری.....۴۹
شکل ۳-۷- تغییرات غلظت پتاسیم در تیمارهای مختلف شوری در زمان های مختلف..... ۵۰
شکل ۳-۸- شمای کلی آبشش ۵۱
شکل ۳-۹- نحوه قرار گیری لاملاها در کنار یکدیگر و عمود بر فیلامنت.....۵۲
شکل ۳-۱۰- نمائی از سلولهای پوششی که سطح لاملا ها را پوشش می دهند.....۵۳
شکل ۳-۱۱- مسیر عبور جریان خون در فیلامنت و لاملا..... ۵۴
شکل ۳-۱۲- تغییرات میانگین تعداد MRCها در فضای فیلامنتی.....۵۵
شکل ۳-۱۳- روند تغییرات در مورفولوژی MRC ها در شوری ۵‰.....۵۷
شکل ۳-۱۴- کاهش نسبی تعداد MRCها در شوری ۲۰‰ در پایان دوره در مقایسه با تعداد این سلولها در تیمار کنترل.....۵۸
شکل ۳-۱۵- تغییرات مساحت MRC های فیلامنتی متاثر از شوری های متفاوت.....۵۹

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱. مقدمه

وظیفه ی تنظیم یونها و تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی به عهده ی مجموعه ای از اندام هاست، که عموما شامل آبشش، کلیه، روده و پوست می شود در این میان برجسته ترین نقش را آبشش ایفا می کند (Lee *et al*., 2006). ماهیان در مواجهه ی با تغییرات اسمولالیته محیطی باید تعادل یونی محیط داخلی بدن خود را به وسیله ی تغییر در سطوح هورمونهای مختلف و عملکرد سلولهای دخیل در تنظیم اسمزی و حتی اتخاذ رفتارهای جدید (مانند نرخ نوشیدن آب) حفظ کند در غیر این صورت برای حفظ کیفیت زندگی و بقا خود با مشکل جدی روبه رو خواهند شد (Evans *et al*. , 2005). در این میان تاثیر تعدادی از هورمونها از جمله کورتیزول برای افزایش قدرت مواجهه با شرایط اسمولالیته جدید، چشمگیرتر از سایر هورمونها است (Lee *et al*., 2006). اثر پاسخ هورمونی؛ به طور اهم سلولهای غنی از میتوکندری آبششی را تحریک به تغییرات سازشی می کند. این سلولها نقش بسیار مهمی در تنظیم آب و مواد معدنی و سازش با شوری های جدید دارند (Wilson and Laurent, 2002; Varasmos, 2002). بنابراین تغییر در وضعیت معمول اسمولالیته با تحریک سیستم

عصبی و هورمونی سبب تغییرات سازشی در بافتها و سلول های اختصاصی تنظیم یونیMRC[1] می شود (Moron *et al.*, 2003).

۱-۲. کلیات

جابجایی و زندگی در دو محیط مختلف از نظر ترکیبات شیمیایی و فشار اسمزی مستلزم ایجاد سازش‌های خاص و تغییرات فیزیولوژیکی و بافتی در آبزیان است تا قادر به حفظ هومئوستازی و زندگی عادی باشند. در این رابطه برخی مکانیسم‌های هورمونی وآنزیمی و نیز تغییرات بافتی خصوصاً در عملکرد آبشش جهت تنظیم اسمزی و غلبه بر استرس‌های مختلف در ماهیان متصور است (Baldisserotto *et al.*, 2007). یکی از سازگاری های ماهیان درآب تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی کنترل غلظت الکترولیت ها و مواد آلی حل شده در مایعات بدن و حفظ و نگه داری تعادل آب و نمک هاست (خورجستان و همکاران، ۱۳۸۷). موجودات در برابر تغیرات شوری دو نوع هستند: تنظیم کننده و تطبیق کننده. یکی از مهم ترین تنظیماتی که همه انواع ماهیان باید در محیط اختصاصی خود اعمال کنند حفظ تعادل آب و نمک بافت در حد مناسب است (Evans *et al*,. 2005).

۱-۲-۱. روش‌های تنظیم اسمزی در ماهیان

آبزیان برای زنده ماندن به یک محیط با غلظت های خاص از مواد معین در فضای داخلی بدن خود (از جمله یون‌های محلول در آب) نیاز دارند. بنابراین، محیط داخلی بدن ماهیان باید دارای مجموعه‌ای از نمک‌های یونیزه مورد نیاز و محلول در آب باشد. این درحالی است که محیط خارجی، دارای مجموعه متفاوتی از این عوامل می باشد که البته مسائلی خاص، مانند جابجایی بین محیط‌های آب شیرین و شور یا بقاء در زیستگاه‌هایی که در معرض یخبندان قرار دارند نیز، به مجموعه‌ی پیچیدگی های مربوط به حفظ محیط داخلی مناسب در بعضی از ماهیان افزوده می شود(Evans, 2008). ماهیان از حیث استراتژی های اصلی برای تنظیم تعادل یونی مایعات بدن (پلاسما، لنف، مایع بین سلولی) به سه دسته تقسیم می شوند.

---

[1] Mitochondria Rich Cells

۱-۲-۱-۱. تطبیق دهنده های اسمزی

در گونه های تطبیق دهنده ی اسمزی که همگی از ساکنان دائمی دریا و از انواع ماهیان استنوهالین[۲] می‌باشند، در واقع هیچ نوع تنظیمی صورت نگرفته، لذا غلظت تام نمکها در مایعات بدن این ماهیها بسیار شبیه آب دریاست. از عمده مزیت های استفاده از این روش عدم صرف انرژی در فرایند تنظیم اسمزی می باشد.

هگ فیش ها(میکزینی فورمس)[۳] از ابتدایی ترین ماهیان تطبیق دهنده‌ی اسمزی بشمار می‌آیند. این ماهیان تاریخچه‌ی تکاملی طولانی و مجزایی دارند و این مساله در روش های مشخص و مجزای تنظیم یونی این ماهیان انعکاس یافته است. این ماهیان نه تنها با آب دریا حالت ایزواسمتیک[۴] دارند بلکه دارای ترکیبات یونی مشابهی نیز می‌باشند. البته با وجود شباهت بالای غلظت تام نمکها در این ماهیها با آب دریا، این ماهیها از توانایی منحصر به فردی در تنظیم غلظت تعدای از یون‌های خاص پلاسمای خون برخوردار می باشند، به نحوی که غلظت یون سدیم در یک گونه خاص هگ فیش (*Eptatretus stouti*) به ۱/۲ برابر غلظت آن در آب دریا خواهد رسید. احتمالاً ماده لزج ترشحی، که بدن آنها را می‌پوشاند، به نگهداری این یون در درون بدن کمک می کند(ستاری، ۱۳۸۱).

طیف دیگری از تطبیق دهنده های اسمزی ماهیان غضروفی دریایی می‌باشند. با وجود اینکه استفاده از این روش تنظیم اسمزی در این ماهیان به اثبات رسیده است، این ماهیها قادر هستند تا میزان اسمولالیته خون را در مقادیر بالاتری از اسمولاریته آب دریا حفظ نمایند. به نحوی که اسمولاریته خون در ماهیان غضروفی از ۹۴۴ تا ۱۰۹۵ mOsm/kg برآورد شده است، که این مقدار حتی تا مقادیر بالاتر از اسمولاریته آب دریا نیز افزایش می یابد (Evans, 2008). نشان داد شده است که اوره به عنوان اسمولیت[۱] اصلی و تری متیل آمین اکسید(TMAO) به عنوان عامل ثانویه مهمترین نقش را در برقراری تعادل اسمزی خون و آب دریا در این ماهیان ایفا می نماید. که غلظت اوره بر متیل آمین ها به نسبت دو به یک است و این پدیده، آنزیم‌های بدن ماهیان غضروفی را در مقابل اثر تخریبی اوره محافظت می‌کند (and Somero, 1980 Yancy). به رغم اینکه در ماهیان غضروفی غلظت تام نمک تقریباً نزدیک به غلظت آب دریاست، این ماهیان دارای توانایی های قابل ملاحظه ای در تنظیم غلظت یون‌های منفرد در بدن خود هستند. با وجود اینکه نگهداری وحفظ اوره، محلول مناسب و کارآمدی را برای حل مشکل آب در ماهیان غضروفی فراهم آورده است، آنها ناچار به دفع یونهای سدیم و کلر اضافی هستند. دفع این یونها به خارج در حقیقت وظیفه اصلی غده رکتال می‌باشد (Evans *et al*., 2005).

---

[۲] Stenohaline

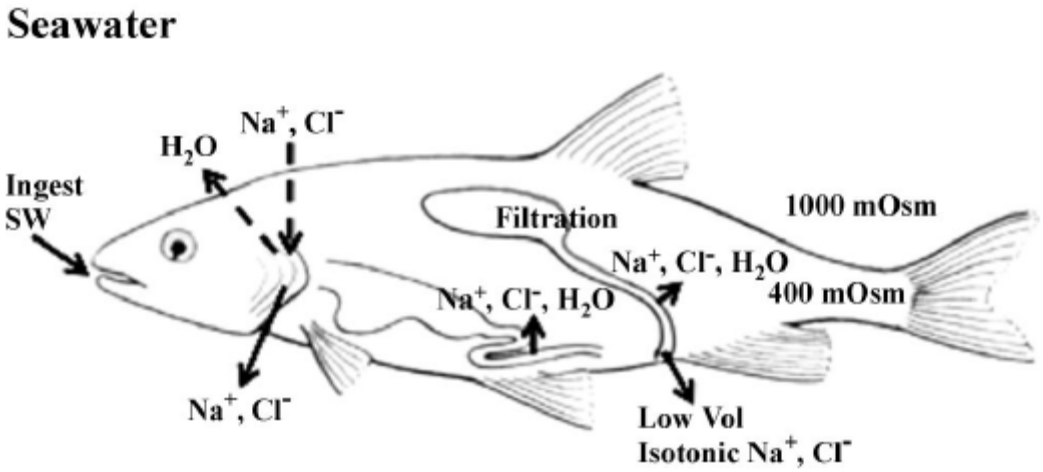
[۳] Hagfish(mixiniformes)

[۴] Isosmotic

بطور کلی ماهیان تطبیق دهنده اسمزی، مشکل عمده تعادل آب بدن خود را حل کرده اند و آب مورد نیاز به راحتی از میان غشاهای نازک، مانند پوست و خصوصاً آبشش ها به درون و بیرون از بدن ماهی انتشار می یابد. در مقابل به دلیل اینکه غلظت تام نمک داخل بدن این ماهیان تقلیدی از محیط آنهاست، لذا انتقال غیر فعال آب به داخل یا خارج از بدن به حداقل می‌رسد.

۱-۲-۱-۲. ماهیان دریائی

دومین شیوه تنظیم اسمزی، در ماهیان استخوانی ساکن آب شور دیده می‌شود. غلظت نمک محیط داخلی آنها، تقریباً یک سوم محیط زندگی آنهاست. بنابراین، بدن آنها نسبت به محیط خارج هیپواسمتیک[۵] به شمار می‌آید و تمایل دارندکه به طور دائم، آب را از طریق انتشار به محیط بیرون انتقال دهند(شکل۱-۱) لذا این ماهیان دائماً با مشکل کمبود آب مواجه هستند و ناچارند این مشکل را با نوشیدن آب جبران کنند. نتیجه این امربه طور طبیعی، جذب زیاد نمک از دستگاه گوارشی است که این مقدار نمک باید از طریق غشاهایی باتراوایی اسمزی پایین همچون بافت پوششی پوست و آبشش دفع گردند (Evans, 2008).

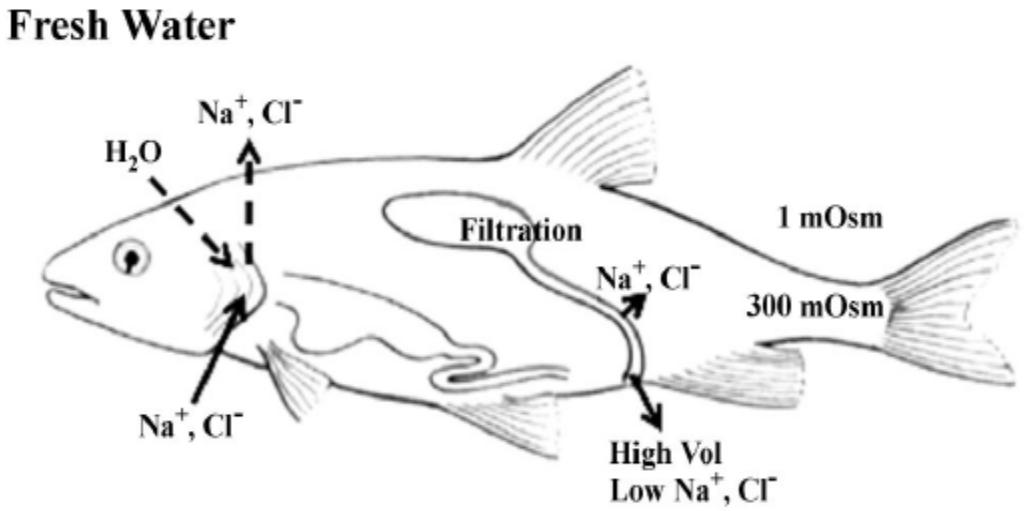


شکل۱-۱. فرایند های کلی تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی دریائی(Evans, 2008)

[۵] Hypoosmotic

۱-۲-۱-۳. ماهیان ساکن آب شیرین

سومین شیوه، مربوط به ماهیان استخوانی آب شیرین و همچنین ماهیان غضروفی است که نسبت به محیط خود هایپراسمتیک[۶] هستند. از آنجا که محیط داخلی آنها غلیظ تر از آب شیرین می‌باشد، لذا آب به طور دائم از طریق انتشار به درون بدن آنها نفوذ می‌کند(شکل۱-۲). آب اضافی دائماً توسط کلیه های تکامل یافته به صورت مقادیر زیادی ادرار رقیق (بیش از یک-سوم وزن بدن در روز) دفع می‌شود. از طرف دیگر بعضی از یون‌های کوچک به طور اجتناب ناپذیری از راه ادرار و همچنین از طریق انتشار از آبشش‌ها تلف می شوند. اگر چه تعدادی از این مواد محلول مجدداً توسط مواد موجود در غذا جایگزین می شوند، اما بیشتر آنها از طریق آبشش ها و توسط مکانیسم های انتقال فعال باز جذب می‌شوند (ستاری، ۱۳۸۱).



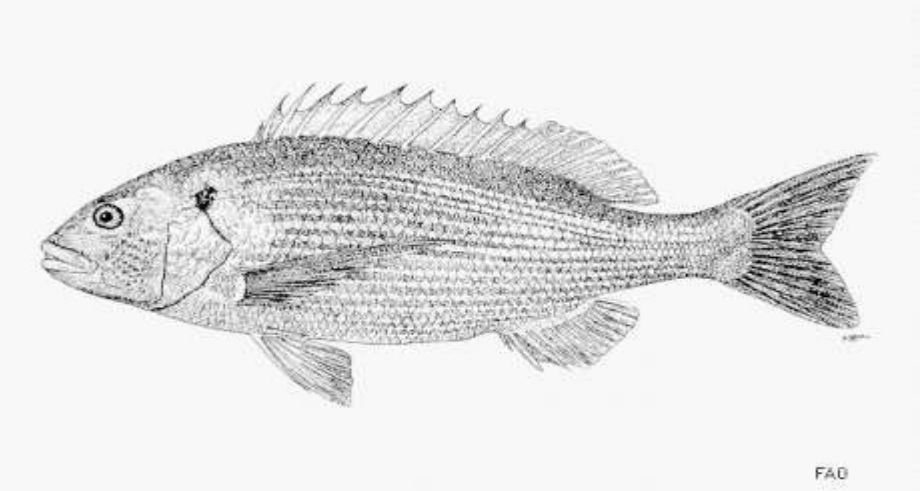
شکل۱-۲. فرایند های کلی تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی آب شیرین(Evans, 2008)

[۶] Hyperosmotic

۱-۲-۲. ماهی صبیتی

خلیج فارس و دریای عمان دارای تنوع زیستی بالایی هستند، به طوری که تا کنون بیش از ۴۵۰گونه ماهی در آنها شناسایی شده است. یکی از این ماهی ها، ماهی صبیتی (Valenciennes 1830)***(Sparidentex hasta)*** از خانواده ی شانک ماهیان است که از گونه های مهم و تجاری خلیج فارس بحساب می آیند (Teng *et al*., 1999) (شکل۱-۳).

Phylum: Chordata
Sub phylum: Vertebrata
Superclass: Osteichthyes
Class: Actinoptergii
Order: Perciformes (perch-likes)
Family: Sparidae (saebreams)



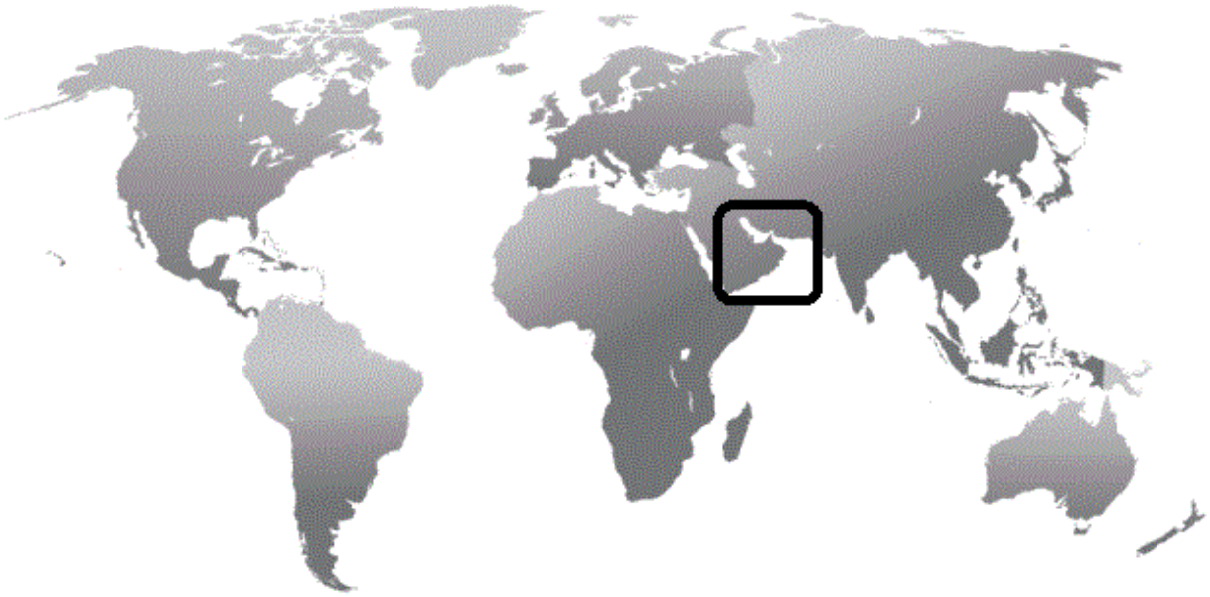
شکل ۱- ۳. نمائی از ماهی صبیتی

خانواده ی شانک ماهیان (Sparidae) دارای نزدیک به ۱۰۰ گونه ماهی در آبهای جهان است. همه ی گونه های این خانواده دریائی هستند، اعضای آن غالبا ساکن آبهای گرم هستند. این خانواده دارای گونه های مهم از نظر تجاری است که تعدادی از آنها نیز در آبزی پروری مورد استفاده هستند (Platell *et al*., 2007). شانک ماهیان به طور کلی ماهی های کرانه ای محسوب می شوند و معمولا تجربه زندگی در نزدیکی دهانه ی مصبها(به عنوان نقاط مطلوب تر برای نوزادان) و یا نقاط ساحلی را دارا هستند (Bauchot and Smith, 1984; Al-Abdessalaam, 1995). این ماهیان قادر به

تحمل محدوده ی وسیع تری از شوری محیطی در مقایسه با سایر ماهیان دریائی هستند. با وجود اینکه این ماهی ها قادر به تحمل بالا در پاسخ به شوری[۷] محیطی طی مهاجرت های کرانه ای هستند اما از آنجا که در هیچ مرحله از زندگی خود وابسته به محیط آب شیرین نیستند به عنوان ماهیان دریائی حقیقی دانسته می شوند(Kelly *et al*., 1999a). اگر چه گونه های دارای جنس نر و ماده ی مجزا نیز در این خانوده دیده می شوند اما اغلب شانک ماهیان هرمافرودیت هستند و هر ماهی دوران نر بودن و مادگی را در دو مقطع جداگانه از زندگی خود تجربه می کنند(Robert H.Devlin a., *et al*, 2002; Abou-seedo *et al*., 2003). طول استاندارد ماهی صبیتی ۳ تا ۳/۳ برابر ارتفاع بدن است. باله پشتی دارای ۱۱ خار و ۱۱ شعاع نرم و باله مخرجی دارای ۳ خار و ۹ شعاع نرم است، رنگ بدن نقره ای با یک لکه تیره در گوشهٔ بالایی سوراخ آبششی است (اسدی و دهقانی، ۱۳۷۵).

صبیتی از طرف نویسندگان و محققان مختلف با اسامی و تعابیر علمی دیگر به کار رفته است. نام های دیگر ذکر شده برای این ماهی شامل "*Acanthopagrus cuvieri*"(Hussain *et al*., 1981)، "*Chrysophrys cuvieri*"، (Teng *et al*., 1999) و "*Sparus hasta*" (Teng *et al*., 1987). این ماهی در آبهای کشور های ایران، کویت، بحرین و سایر کشورهای خلیج فارس به صورت بومی یافت می شود(Kuronuma and Abe, 1986). جدیدا نیز این ماهی به صورت غیر بومی به آبهای استرالیا شده است (Fishbase, 2011) (شکل۱- ۴). صبیتی میزان صید بالایی در مناطق مختلف خلیج فارس خصوصا سواحل استان خوزستان در ایران و همچنین سواحل کویت دارد، صبیتی از لذیذ ترین ماهی ها برای مردم کویت به شمار میرود(Teng *et al*., 1999).

[۷] euryhalinity



شکل ۱-٤.نقشه ی پراکنش ماهی صبیتی(محدود به مساحت مربع)بر اساس Fishbase, 2011

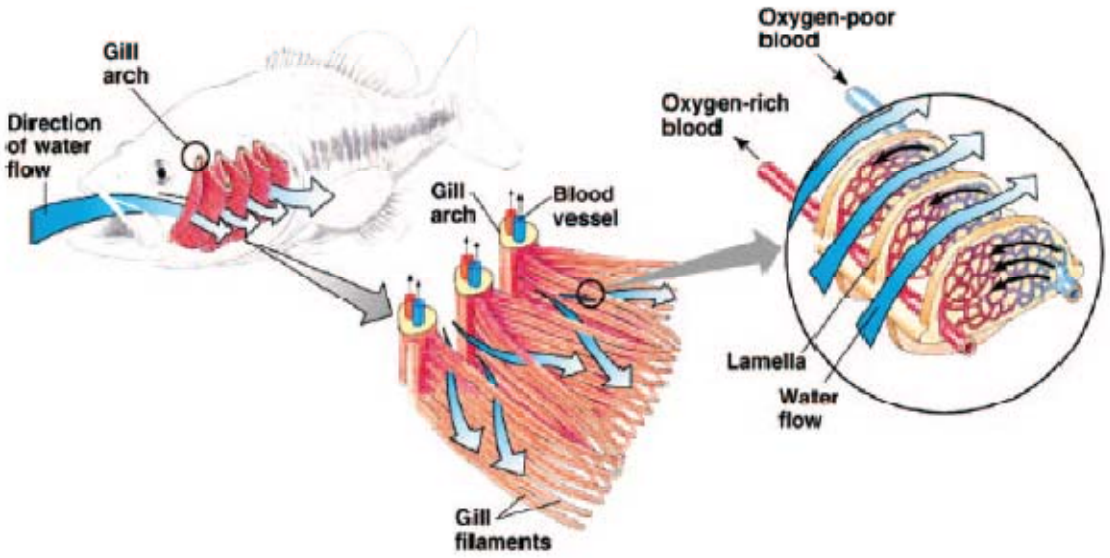
صبیتی هم به صورت تک گونه و هم به صورت چند گونه ای (پلی کالچر) با ماهی تیلاپیا مورد بهره برداری تجاری قرار گرفته است(Cruz et al., 1986). مجموعا تعدادبسیار معدودی مقاله و مطلب علمی قابل استناد در مورد این ماهی وجود دارد که این امر به علت بومی و محدود بودن این ماهی در ناحیه ی کوچک خلیج فارس و دریای عمان است. اخیرا توسط مرکز تحقیقات ماهیان دریائی بندر امام (وابسته به مرکز تحقیقات شیلات) پروژه های فراوانی در مورد این ماهی گرانبها در دست اجرا قرار گرفته است.

۱-۲-۳.آبشش

ماهیان استخوانی[۸] دارای ۴جفت کمان آبششی (چهار کمان در هر طرف سر) هستند و در هر کمان، تعداد فراوانی رشته آبششی وجود دارد که توسط هزاران تیغه آبششی ثانویه حمایت می شوند (شکل۱-۵) ، این تیغه های آبششی برای مبادله گازها بکار می روند و غالبا بافت پوششی رشته های آبششی برای انتقال یونها اختصاص یافته است. آبشش ها نه تنها مکان مهمی برای تعویض گازها هستند، بلکه برای انتقال یونها، تنظیم اسید و باز و دفع نیتروژن زائد بکار می روند(Evans and Claiborne, 2006) تبادل موثر گاز و یونها در ماهیانی که با آبشش تنفس می کنند، بستگی به این امر دارد که خون و

[۸] Teleost

آب لازم برای تنفس، در مجاورت یکدیگر و در دو سوی غشایی قرار گیرند که ضخامت آن به اندازه یک یا دو لایه سلولی می باشد.



شکل ۱-۵. نمائی از آبشش،فیلامنت ها و لاملا ها (Evans *et al*,. 2005)

تیغه ها از سلولهای پوششی نازک در خارج و غشاهای پایه نازک به همراه سلولهای پیلار[۹] (ستونی) پشتیبان، در داخل تشکیل شده اند. این وضعیت به سلولهای خونی امکان می دهد تا بدون ایجاد تغییرات عمده در شکل خود، در داخل تیغه ها جریان یابند (ستاری، ۱۳۸۱). اکسیژن از طریق انتشار از میان غشای نازک تیغه ها جذب می شود. به دلیل اینکه خون و آب در جهت مخالف هم حرکت می کنند(شکل۱-۵)، گاز در اثر جریان متقابل [۱۰] به طور موثر و با حداکثر توان مبادله می شود (ستاری، ۱۳۸۱). بافت پوششی آبشش در ماهیان استخوانی شامل انواع مختلفی از سلول‌هاست که مهم‌ترین آن‌ها سلول‌های مخاطی[۱۱] سلول‌های سنگفرشی[۱۲] و سلول‌های غنی از میتوکندری می‌باشند.

MRC به سلول‌های کلراید[۱۳] و یونوسیت[۱۴] نیز معروف می‌باشند (Goss *et al*., 1998). مطالعات الکتروشیمیایی روی سلول های غنی از میتوکندری در ماهیان دریایی نشان داده که آنها به طور فعال یون کلر را دفع می کنند(خدابنده و

---

[۹] Pillar cells

[۱۰] Counter current

[۱۱] Mucous cells

[۱۲] Pavement cells

[۱۳] Chloride cells

همکاران، ۱۳۸۵). این سلول ها از نظر مورفولوژیکی شامل چند نوعند و تقریبا در آبشش تمام ماهیان وجود دارند. این سلول ها در ماهیان آب شیرین در مقایسه با ماهیان آب شور از نظر مورفولوژیکی تفاوت هایی را نشان می دهند. سلول های غنی از میتوکندری در ماهیان آب دریا دارای میزان زیادی میتوکندری اند و بطور فوق العاده ای سطح قاعده ای – جانبی سلول را توسعه یافته است. از ویژگی های عمده سلول های غنی از میتوکندری در ماهیان آب دریا وجود یک فرورفتگی راسی می باشد، همین طور این سلول ها در ماهیان دریایی به شکل تنها وجود ندارند بلکه همیشه درکمپلکس های پرسلولی با دیگر سلول های غنی از میتوکندری یا سلول های کمکی[۱۵] وجود دارند(Piermarini and Evans, 2000).

۱-۲-۳-۱. بافت پوششی آبشش

مطالعات حاکی از حضورحداقل دو نوع بافت پوششی عمومی در ساختار آبششها بوده است. درواقع نوع اول، رشته‌ها[۱۶] و بافت های حمایت کننده را می پوشاند و نوع دوم بر روی تیغه ها[۱۷] قرار می‌گیرد (ستاری، ۱۳۸۱).

بافت پوششی رشته ها و تیغه ها با توجه به موقعیت، ضخامت، گردش خون و هم چنین ترکیب سلول ها متفاوت می باشد. در اکثر ماهی ها بافت پوششی رشته های آبششی شامل دو لبه آوران، وابران و فضای بین قاعده ای تیغه ها می شود که فضای بین تیغه ها، رشته های آبششی نامیده می شود(شکل ۱- ۵). بافت پوششی این رشته ها ضخیم تر از بافت پوششی تیغه ای می باشد و به طور معمول از ۳ لایه سلول یا بیشتر تشکیل شده است. بیشتر سطح بافت پوششی به وسیله سلول های مکعبی یا سنگفرشی پوششی کناری[۱۸] پوشیده شده است در حالی که سلول های تمایز نیافته با تیغه پایه در ارتباط می باشند. البته در بافت پوششی این رشته ها تعداد قابل توجهی سلول های بزرگ غنی از میتوکندری و سلول های مخاطی یافت می گردد(Evans *et al*., 2005).

بافت پوششی تیغه ها گردش سرخرگی- سرخرگی دارد و به طور معمول از یک تا سه ردیف سلول تشکیل شده است که شامل سلول‌های پوششی کناری ، سلول های قاعده ای ، سلول های حد واسط و سلول های تمایز نیافته می باشد. سلول های ستونی و یک نوع از سلول های اندوتلیال تغییر یافته، فضاهای عروقی بین تیغه ها را محافظت می کنند. البته سلولهای کلراید

---

[۱۴] Ionocyte

[۱۵] Accessory cell

[۱۶] Filaments

[۱۷] Lamella

[۱۸] Pavement cell(pvc)

و موکوسی نیز در بافت پوششی تیغه ها یافت می شود (Evans *et al*., 2005). که تفاوت در توزیع این سه نوع سلول(سنگفرشی مکعبی، کلراید[۱۹] و موکوسی[۲۰]) باعث ایجاد تفاوت‌های ساختاری در دو نوع بافت پوششی شده است. ضخامت بافت پوششی و غشای پایه در ماهی هایی که می کوشند فاصله انتشار گاز به خون را کاهش دهند(برای مثال ماهی های کف زی) کمتر می باشد. سلول های مخاطی به طرز معمول در فضای تیغه ها یافت نمی شوند اگر چه استثناهایی هم وجود دارد (Piermarini and Evans, 2000).

۱-۲-۳-۲. سلول‌های غنی از میتوکندری

بررسی های فرا ساختار سلول های غنی از میتوکندری حاکی ازحضور یک غشاء پیچیده متشکل از توبولهای منشعب و پیوسته در ساختار این سلول‌ها است (Evans *et al*., 2005). مطالعات دیگر نشان داد که امکان عبور عنصر لانتانوم[۲۱] (La) ازخلال اتصالات سست بین سلول‌های کلراید و سلول‌های پوششی و امکان ورود این عنصر به درون سلول وجود دارد که این امر در واقع امکان دخالت این سلول‌ها را در انتقال عده ای از ملکول‌ها تقویت می نمود. در ماهیان سازگار شده با محیط های آب شور غشاء راسی این سلولها فنجانی شکل[۲۲] بوده و کل توده سلولی توسط سلولهای فرعی[۲۳] پوشیده شده است (Sardet *et al*., 1983). اتحاد این دو سلول در نهایت به ایجاد یک واحد ترشح کننده‌ی کلراید سدیم تحت عنوان غده ترشح کننده نمک می‌انجامد. از طرفی سلول‌های پوششی کناری با سلول های غنی از میتوکندری و سلولهای جانبی اتصالات محکمی با نفوذ پذیری بسیار پایین برقرار می نمایند. همچنین مطالعات دیگر نشان داد که جریان ترشح فعال کلر در مناطق مشخصی از کمپلکس MRC- سلولهای جانبی برقرار می شود و جایگاه های انتقال فعال ثانویه آنیون‌ها و منافذ عبور کاتیون‌ها در یک لوکوس قرار گرفته اند(Evans *et al*., 1999).

سطح رأسی سلول‌های غنی از میتوکندری بسیار انعطاف پذیر و دارای یک فرورفتگی می باشد. تغییر شکل این فرورفتگی در محیط های مختلف از ابزارهای مهم در تشخیص سلول‌های غنی از میتوکندری آب شور از انواع آب شیرین می‌باشد. این

---

[۱۹] Chloride cell

[۲۰] Mocus cell

[۲۱] Lanthanum

[۲۲] Cup shaped

[۲۳] Accessory cell

فرورفتگی‌ها در محیط آب شور به یک چین عمیق و در آب شیرین با غلظت متوسط یونها به یک چین کم عمق و در آب‌های شیرین با غلظت یونی پایین به یکسری ریزپرز[۲۴] تغییر شکل می دهند(Chang *et al*., 2003).

۱-۲-۳-۳. مکانیسم عمل سلول های غنی از میتوکندری در آب شور

تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی با دخالت مستقیم سلول‌های غنی از میتوکندری و از طریق یکسری عملکرد های کاملاً متمایز در ماهیان ساکن آبهای شور و شیرین به انجام می رسد. در ماهیان دریازی وظیفه عمده این سلول‌ها تنظیم اسمزی از طریق ترشح یون کلر توام با ترشح غیر فعال یون سدیم خواهد بود. ترشح فراغشایی یون کلر از این سلول‌ها به صورت یک پروسه‌ی پیچیده و با دخالت ۴ نوع عمده از ناقل‌ها وکانال‌های حاضر در غشاء راسی و قاعده‌ای- جانبی (کانالهای کلر حاضر در غشای راسی سلول[۲۵]، ناقل یونی Na/K/2Cl [۲۶] حاضر در غشای- قاعده ای جانبی، پمپ Na-K-ATPase[۲۷] غشای قاعده ای جانبی وکانالهای پتاسیمی غشای قاعده ای جانبی[۲۸] به انجام می رسد(شکل ۱- a,۶) ترشح کلرید سدیم از آبشش‌ها به صورت ترکیبی از انتقال فعال ثانویه یون کلر(Cl^-) و انتقال غیر فعال سدیم (Na^+) صورت می‌گیرد. نیروی محرکه‌ی انتقال فعال کلر با فعالیت پمپ Na-K-ATPase تامین می‌گردد (این پمپ در MRCهای آب شیرین نیز وجود دارد(شکل ۱- b,۶))در واقع فعالیت این پمپ به حفظ غلظت درون سلولی سدیم در مقادیر پایین تر از محیط بیرون و غلظت پتاسیم در مقادیر بالاتر از محیط بیرون سلول کمک می کند (Hirose *et al*., 2003). با توجه به مطالعات انجام شده به طور کلی سازش های ایجاد شده در سلولهای کلراید برای سازش با آب شیرین یا شور را میتوان به سه دسته تقسیم بندی کرد:

الف) افزایش یا کاهش تعداد یا اندازه MRCها ب) افزایش یا کاهش فعالیت Na-K-ATPase ج) ایجاد یا تخریب اتصالات بین MRC وسلولهای جانبی (Evans *et al*., 2005).

---

[۲۴] Microvillus

[۲۵] Apical Cl^- channel of cystic fibrosis trans membrane conductance regulator(CFTR) type

[۲۶] The basolateral $Na^+/K^+/2Cl^-$ co transporter (NKCC)

[۲۷] Basolateral Na^+/K^+ATPase

[۲۸] Basolateral K^+ channel