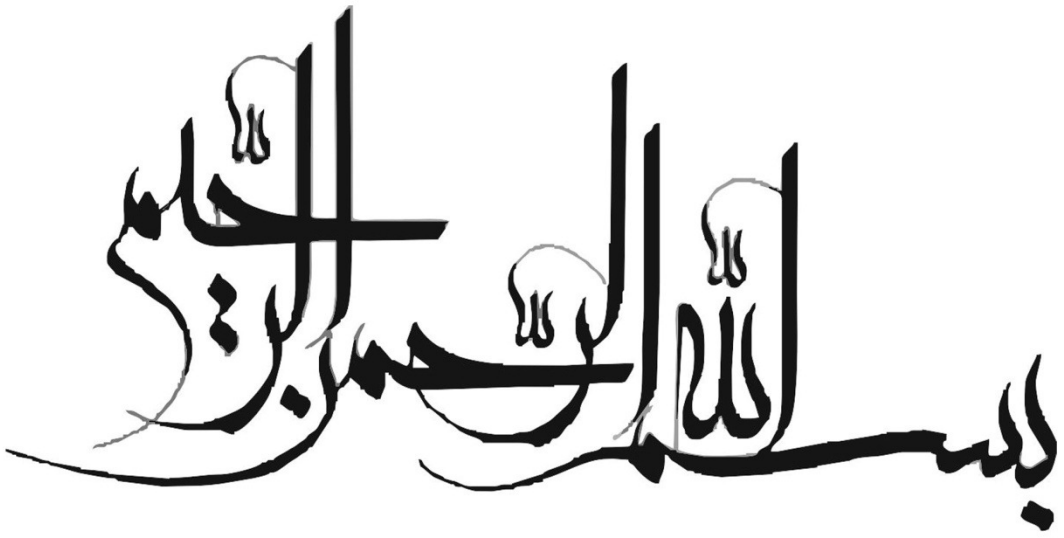

بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی
جمهوری اسلامی ایران

شماره .....
تاریخ .....
پیوست .....

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده منابع طبیعی علوم دریایی

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده منابع طبیعی

باسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه

بدین وسیله گواهی می‌شود خانم **فریال منصف** دانشجوی رشته **بیولوژی دریا** در تاریخ **۹۲/۳/٤**از پایان نامه ۸ واحدی خود با عنوان: **بررسی ساختار و مکان یابی کانال‌های یونی**(NKA , NKCC) اندام تولید سم در دو گونه نرم تن (C.terebra thomasi, Conus coronatus) از خلیج فارس، دفاع کرده است. اعضای هیأت داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا بررسی کرده و پذیرش آنرا برای دریافت درجه کارشناسی ارشد تأیید می‌نمایند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتو صابر خدابنده	دانشیار	
استاد مشاور	دکتر ایرج نبی پور	استاد	غایب
استاد ناظر (داخلی)	دکترسید جعفر سیف آبادی	دانشیار	
استاد ناظر (خارجی)	دکتر بهروز حیدری	استادیار	
نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکترسید جعفر سیف آبادی	دانشیار	

نور- خیابان امام خمینی (ره)
بلوار امام رضا
صندوق پستی: ۳۵۶-۶۴۴۱۴
تلفن : ۳-۶۲۵۳۱۰۱
دورنگار : ۶۲۵۳۴۹۹
dean_net@modares.ac.
www.modares.ac.

T.M.U.

دستور العمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل های‌مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه‌های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی:

فریال منصف

تاریخ و امضا

۹۲/۷/۳۰

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهید.

ماده۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کنید:

« کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی منابع طبیعی، مرتع‌داری است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر صابر خدابنده و مشاوره جناب دکتر آقای ایرج نبی پور از آن دفاع خواهم کرد. »

ماده۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های دانشگاه، یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود راءبه نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰ ٪ بهای شمارگاه چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتاب‌های عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده۶: اینجانب فریال منصف دانشجوی رشته زیست شناسی دریا مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملزم می‌شوم.

تاریخ و امضا

۹۲/۷/۳۰

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی

گروه زیست شناسی دریا

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

بررسی ساختار ومکان یابی کانال های یونی (NKCC و NKA) اندام تولید سم در دو گونه نرم تن (*Conus coronatus* و *C. terebra thomasi*) از خلیج فارس

نگارنده

فریال منصف

استاد راهنما

دکتر صابر خدابنده

استاد مشاور

دکتر ایرج نبی پور

چکیده:

حلزون‌های مخروطی از جنس *Conus* یکی از سمی‌ترین جانوران گوشت خوار دریایی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری محسوب شده که به دلیل ترکیبات دارویی استخراج شده از سموم آن‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. به منظور بررسی ساختار دستگاه تولید سم، دو گونه *C .coronatus* و *C. terebra thomasi* از جزیره لارک در سه مرحله نمونه‌برداری شده و پس از فیکس شدن در بوئن در داخل الکل ۷۰٪ به آزمایشگاه منتقل شدند. با شکستن صدف دستگاه تولید سم جدا شده و قسمت‌های مختلف آن پس از قالب‌گیری و برش، رنگ‌آمیزی و عکسبرداری شدند. بررسی با لوپ نشان داد که اندام تولید سم شامل بخش تولید سم، بخش انتقال و تزریق سم می باشد. بخش اول ناحیه‌ی تولید سم که خود شامل حباب سم و مجرای سم بوده و بخش دوم شامل کیسه‌ی رادولا و خرطوم می‌باشد. بررسی مقاطع تهیه شده از بخش‌های مختلف نشان داد که حباب سم، دارای فیبرهای ماهیچه‌ای طولی و عرضی می‌باشد و در وسط، مجرایی دارد که دارای سلول های پوششی مکعبی بوده و گاها موادی در حال خروج از بخش راسی آن‌ها دیده می‌شود. دیواره مجرای سم از ۳ بخش تشکیل شده که شامل لایه‌ی خارجی که از بافت همبند همراه با عضله تشکیل شده، لایه‌ی داخلی از یک لایه سلول‌های اپیتلیالی استوانه‌ای با هسته‌ی قاعده‌ای و بخش داخلی لومن که با گرانول‌های حاوی سم پر شده‌اند. پس از بررسی تصاویر مشاهده شد که تعداد گرانول‌ها در قسمت منتهی به حلق بیشتر است، اما طول متوسط گرانول‌ها در قسمت منتهی به حباب سم بیشتر است. در برش‌های بخش دوم، کیسه‌ی رادولا به همراه تعداد زیادی رادولای در حال رشد مشاهده شدند. همچنین ساختارهای اختصاصی بافتی بخش‌های مختلف دستگاه تولید سم مانند سلول‌های لایه داخلی حباب سم و یا بخش‌های مختلف مجرای سم در دو گونه با هم متفاوت می‌باشد. قسمتی از نمونه‌ها نیز تحت تاثیر آنتی بادی‌های IgGα5 و FITC قرار گرفتند و حضور کانال‌های NK (NA^+/K^+ ATPase) و NKCC ($NA^+/K^+/2CL^-$) در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت که هر دو کانال در گرانول‌ها و سلول‌های اپیتلیالی به صورت ایمنوفلوئورسنت قابل مشاهده بوده ولی در حباب سم و سایر بافت‌ها، فلوئورسنت قابل توجهی از خود نشان ندادند.

کلمات کلیدی: لارک، حلزون مخروطی، ایمونوفلورسنت، گرانول، رادولا

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه ۱

اهداف تحقیق ۳

سوالات تحقیق ۳

فرضیه‌ها ۴

۱-۲ کلیات ۴

فصل دوم: سابقه تحقیق

۲-۱ بافت شناسی حلزون مخروطی ۱۶

۲-۲ ایمونوهیستوشیمی ۱۸

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ نمونه برداری ۲۰

۳-۱-۱ معرفی منطقه نمونه برداری ۲۰

۳-۱-۲ عملیات نمونه برداری ۲۲

۳-۲ بافت شناسی ۲۳

۳-۳ ایمونوهیستوشیمی ۲۴

۳-۴ بررسی تصاویر با نرم افزار Image j ۲۵

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ نتایج ۲۶

۴-۱-۱ نتایج بافت شناسی دستگاه تولید سم ۲۶

۴-۱-۱-۱ گونه *C. coronatus* ۲۶

۴-۱-۱-۲ گونه *C. terebra thomasi* ۳۳

۴-۱-۱-۳ نتایج گونه *C. textile* ۴۰

۴-۱-۱-۴ شباهت‌ها و تفاوت‌های آناتومی و بافت شناسی بین دو گونه مورد بررسی ۴۳

۴-۱-۲ نتایج ایمونوهیستوشیمی دستگاه تولید سم ۴۴

۴-۱-۲-۱ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase و کانال NKCC در *C. coronatus* ۴۴

۴-۱-۲-۲ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase و کانال NKCC در *C. terebra thomasi* ۴۹

۴-۱-۲-۳ مکان‌یابی کانال NKCC در *C. textile* ۴۹

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۴-۱-۲-۴ شباهت‌ها و تفاوت‌های ایمونوهیستوشیمی بین دو گونه مورد بررسی ۵۴
۴-۲ بحث ۵۵
۴-۲-۱ بافت شناسی ۵۵
۴-۲-۱-۱ بافت شناسی *C. coronatus* ۵۵
۴-۲-۱-۲بافت شناسی *C. terebra thomasi* ۵۷
۴-۲-۲ ایمونوهیستوشیمی ۵۸
۴-۳ نتیجه‌گیری کلی ۶۱
۴-۴ پیشنهادات پژوهشی ۶۲
منابع ۶۳

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول ۴-۱ میانگین تعداد و طول گرانول‌ها در بخش‌های مختلف مجرای سم *C. coronatus*..... ۲۸
جدول ۴-۲ میانگین طول گرانول‌ها در بخش‌های مختلف مجرای سم *C. textile*..... ۴۰

فهرست شکل‌ها

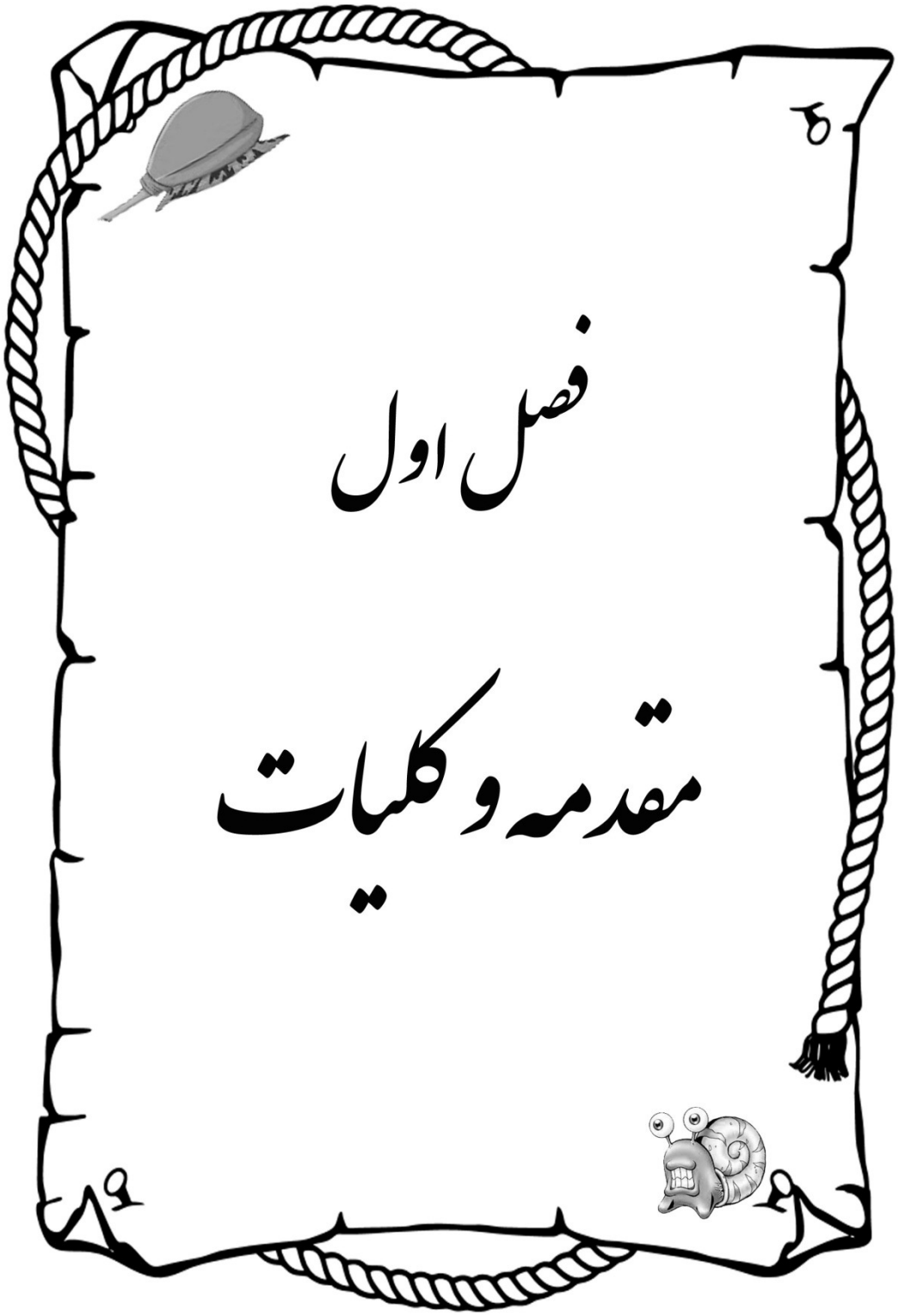
عنوان | صفحه

شکل ۱-۱ *C. terebra thomasi* ۶
شکل ۱-۲ *C. terebra thomasi* جمع آوری شده از جزیره‌ی لارک ۶
شکل ۱-۳ *C. coronatus* جمع آوری شده از جزیره‌ی لارک ۶
شکل ۱-۴ *C. coronatus* ۶
شکل ۱-۵ شماتیک دو استراتژی مختلف شکار در حلزون‌های مخروطی ماهی‌خوار ۹
شکل ۱-۶ نمای شماتیک از اندام‌های حلزون مخروطی ۱۰
شکل ۱-۷ نمای شماتیک از دستگاه تولید سم حلزون مخروطی ۱۱
شکل ۱-۸ تصویر شماتیک هم انتقالی آمینواسید و گلوکز در نتیجه فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم ۱۳
شکل ۱-۹ تصویر شماتیک مراحل ساخت و بسته بندی گرانول در سلول توسط شبکه آندوپلاسمی و دستگاه گلژی ۱۴
شکل ۳-۱ نقشه منطقه نمونه برداری ۲۱
شکل ۳-۲ مراحل تشریح دستگاه تولید سم و قسمت‌های مختلف و محل قرار گیری آن ۲۲
شکل ۳-۳ مراحل قالب‌گیری و برش و رنگ‌آمیزی بافت ۲۴
شکل ۴-۱ تصاویری از دستگاه تولید سم و برش‌های عرضی حباب سم در *C. coronatus* ۲۷
شکل ۴-۲ تصاویری از قسمت ابتدایی دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی مجرای سم در *C. coronatus* ۲۹
شکل ۴-۳ تصاویری از قسمت میانی دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی مجرای سم در *C. coronatus* ۳۰
شکل ۴-۴ تصاویری از قسمت انتهایی دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی مجرای سم در *C. coronatus* ۳۱
شکل ۴-۵ تصاویری از کیسه‌ی رادولا وبرش‌های عرضی آن در *C. coronatus* ۳۲
شکل ۴-۶ تصاویری از دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی حباب سم در *C. terebra thomasi* ۳۴
شکل ۴-۷ تصاویری از قسمت ابتدایی دستگاه تولید سم و برش‌های عرضی مجرای سم در *C. terebra thomasi* ۳۶
شکل ۴-۸ تصاویری از قسمت میانی دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی مجرای سم در *C. terebra Thomasi* ۳۷
شکل ۴-۹ تصاویری از قسمت انتهایی دستگاه تولید سم وبرش‌های عرضی مجرای سم در *C. terebra thomasi* ۳۸

فهرست شکل ها

عنوان | صفحه

شکل ۴-۱۰ تصاویری از کیسه‌ی رادولا وبرش‌های عرضی آن در *C. terebra thomasi* ۳۹
شکل ۴-۱۱ تصاویری از دستگاه تولید سم و برش های عرضی حباب سم و قسمت
ابتدایی مجرای سم در *C. textile* ۴۱
شکل ۴-۱۲ تصاویری از دستگاه تولید سم و برش های عرضی قسمت میانی و
انتهایی مجرای سم در *C. textile* ۴۲
شکل ۴- ۱۳مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در حباب سم *C. coronatus*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۴۵
شکل ۴-۱۴ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در قسمت انتهایی مجرای سم *C. coronatus*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۴۶
شکل ۴-۱۵ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در قسمت میانی مجرای سم *C. coronatus*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۴۷
شکل ۴-۱۶ رابطه مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در قسمت ابتدایی مجرای سم *C. coronatus*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۴۸
شکل ۴-۱۷ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در حباب سم *C. terebra thomasi*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۵۰
شکل ۴-۱۸ مکان‌یابی کانال NKCC در مجرای سم *C. terebra thomasi*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۵۱
شکل ۴-۱۹ مکان‌یابی آنزیم NA^+/K^+ ATPase در مجرای سم *C. terebra thomasi*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۵۲
شکل ۴-۲۰ مکان‌یابی کانال NKCC در مجرای سم *C. textile*
به روش ایمونوهیستوشیمی ۵۳



فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه:

دریاها و اقیانوس‌ها با وجود تمامی زیبایی‌ها و جذابیت‌هایشان برای بشر، از جهات بسیاری نیز برای انسان مرگ آورند. وجود تعدادی از آبزیان خطرناک در این محیط‌ها یکی از موارد قابل توجه برای محققین، صیادان، شناگران، گردشگران و سایر افرادی است که با این آب‌ها سروکار دارند. عامل خطرناک اغلب این آبزیان تولید سمی است که معمولا برای دفاع، رقابت و گاهی برای سایر اهداف بیولوژیک استفاده می‌کنند (Terlau و Olivera، ۲۰۰٤).

بطور کلی سلسله‌ی جانوران شامل بیش از ۱۰۰۰۰۰ گونه‌ی سمی است که در بین شاخه‌های بزرگی مانند: طنابداران (خزندگان، ماهی‌ها، دوزیستان و پستانداران)، خارپوستان (ستاره‌های دریایی، توتیاها)، نرم‌تنان (حلزون‌های مخروطی، هشت پاها)، کرم‌های حلقوی (زالوها)، کرم‌های روبانی، بندپایان (عنکبوتیان، حشرات، هزارپایان) و کیسه‌تنان (شقایق‌های دریایی، ژله ماهی‌ها و مرجان‌ها) قرار دارند. سم این موجودات غالبا مایعات زیستی بسیار غلیظی هستند که برای خود جانور دارای مزایایی از جمله توانایی ناتوان ساختن طعمه، هضم کارآمد طعمه و دفاع در برابر شکارچیان می‌باشد (Favreau و Stöcklin، ۲۰۰۹).

حلزون‌های دریایی شکارگر از جنس کونوس[1]، به خاطر استراتژی‌های بسیار تکامل یافته‌ی شکار، که از توکسین‌های پپتیدی با تعداد محدود اسید آمینه برای فلج کردن طعمه استفاده می‌کردند، به مدت طولانی مورد توجه بوده‌اند. سموم این جانوران به کونوتوکسین[2] یا کونوپپتید[3] معروف‌اند (Terlau و Olivera، ۲۰۰٤). این جانوران می‌توانند در صورت تماس آسیب برسانند، اگرچه تعداد زیادی از گونه‌ها بسیار کوچک‌تر از آن هستند که برای انسان خطرناک باشند. عدم چابکی فیزیکی حلزون با توسعه‌ی ترکیب‌های بسیار قوی که در سم آن‌ها وجود دارد، جبران شده است. زهر آن‌ها ترکیبی از سموم خطرناک می‌باشد که تعدادی از آن‌ها سریع الاثر و تعدادی کند اثرتر اما مرگبارترند. این امر سبب می‌شود که موجود نیاز به زمان و انرژی کمتری نسبت به سموم تولید شده در مارها و عنکبوت‌ها داشته باشد (Junior و همکاران، ۲۰۰۶).

---

[1] Conus
[2] Conotoxin
[3] Conopeptide

گزارش‌های بسیار زیادی از گزش‌های بسیار دردناک، ولی همراه با مرگ و میر اندک وجود دارد. فقط گونه‌های درشت‌تر که ماهی‌خوار هستند می‌توانند برای انسان بسیار خطرناک باشند. اثرات سموم حلزون‌های مخروطی بر سیستم عصبی قربانی قابل ملاحظه بوده و بعنوان ابزاری مفید در پژوهش‌ها روی مغز و اعصاب بکار می‌رود و همچنین اندازه کوچک این مولکول‌ها سنتز آن‌ها را نیز آسان‌تر می‌سازد (Junior و همکاران، ۲۰۰۶).

کونوتوکسین‌ها نوروتوکسین[1]اند که سم موثر بر دستگاه عصبی بوده و کانال‌های خاصی را در سیستم عصبی شکار بلوکه می‌کنند. وقتی این کانال‌ها بلوکه شدند، ارتباط در سیستم عصبی متوقف و این عمل باعث فلجی شکار می‌شود و بر اساس نوع حلزون، توکسین ممکن است انواعی از فلجی را باعث شود. اثرات سم شامل بی‌حسی، کرختی، ضعف، انقباض ماهیچه‌ای، اشکال در تنفس و آسیب‌های جدی و حتی مرگ در افراد حساس شود. بیشترین گزارش مرگ و میر انسانی مربوط به سم *C. geographus* است (Olivera، ۲۰۰۲).

کونوتوکسین‌ها توسط یک غده‌ی سم که از بخش‌های دستگاه گوارش حیوان محسوب می‌شود تولید و از طریق رادولا به شکار تزریق می‌گردد. این غده از بخش‌های مختلفی تشکیل شده و ساختار این غده در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Shaw، ۱۹۱۴).

بررسی ساختار این غده و نحوه‌ی ساخت، ذخیره و خروج سم در این غده قابل اهمیت می‌باشد. در برخی از گونه‌ها ساختار این غده بررسی شده است (Freeman و همکاران، ۱۹۷۴؛ Endean و Duchemin، ۱۹۶۷؛ Marshall و همکاران، ۲۰۰۲). تحقیقات نشان داده‌اند که ترشحات سمی و ساختار اندام تولید سم حلزون‌های مخروطی جمع آوری شده از اکوسیستم‌های مختلف می‌توانند متفاوت بوده و به تبع آن نوع ترکیبات سمی آن‌ها نیز می‌تواند متفاوت باشد (Abdel-Rahman و همکاران، ۲۰۱۱).

مطالعات انجام شده روی دستگاه گوارش ماهیان و برخی از سخت پوستان نشان داده که پمپ‌های NK (Na^+/K^+ ATPase) و NKCC ($Na^+/K^+/2CL^-$) در برخی از ضمائم گوارشی حضور داشته و در

[1] Neurotoxin

مکانیسم‌های آن‌ها نقش دارند و با توجه به این که اندام تولید سم در کونوس از ضمائم دستگاه گوارش بوده و در کار ترشح نقش دارد، لذا احتمال داده می‌شود این دو کانال در بخش‌های مختلف اندام تولید سم نیز حضور داشته باشند (Pelis و همکاران، ۲۰۰۱؛ Khodabandeh و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به کم بودن اطلاعات بنیادی در خصوص حلزون‌های مخروطی خلیج فارس و اهمیت نتایج تحقیقات زیست فناوری بنیادی در تحقیقاتی همچون داروسازی، نیاز به تحقیق و بررسی ساختار اندام تولید سم در این جانوران را نمایان‌تر می‌سازد. این تحقیقات در جهان در حال پیشرفت است و از آنجایی که روی حلزون‌های مخروطی خلیج فارس مطالعات مشابهی صورت نگرفته، در این تحقیق تلاش شد ساختار اندام تولید سم در دو گونه *C. coronatus* و *C. terebra thomasi* بررسی شده و تفاوت‌های احتمالی بین گونه‌ای و همچنین تفاوت همین گونه‌ها از نواحی مختلف مورد مقایسه قرار گیرد. همچنین، بررسی و امکان حضور پمپ‌های NKCC و NK در سلول‌های مختلف بخش‌های مختلف این اندام کاری نو در این زمینه است، لذا می تواند پژوهش جدیدی باشد و نتایج آن مورد استفاده‌ی سایر مطالعات باشد.

اهداف تحقیق:

۱. شناخت ساختار اندام تولید سم در دو گونه کونوس *(C. coronatus* و *C. Terebra thomasi)*.

۲. بررسی امکان حضور دو کانال مهم یونی NK و NKCC در بخش‌های مختلف مجرای سم این دو گونه.

سوالات تحقیق:

۱. آیا ویژگی‌های ساختاری سلول‌های تولید کننده‌ی سم در قسمت‌های مختلف مجرای سم متفاوت است؟

۲. آیا سلول‌های ترشحی در قسمتی از مجرا که به حباب عضلانی (بخش ابتدایی) نزدیک‌تر است بیشتر است؟

۳. آیا تفاوت ساختاری در سلول‌های ترشحی در دو گونه وجود دارد؟

۴. آیا پمپ‌های سدیم-پتاسیم و کانال هم انتقالی NKCC در بخش‌های مختلف مجرای سم قابل مکان‌یابی هستند؟

۵. آیا تفاوتی بین سلول‌های مختلف از نظر میزان فلوئورسنت پمپ NK وجود دارد؟

فرضیه‌ها:

۱. با بررسی‌های ساختاری می‌توان سلول‌های مختلف را در سرتاسر اندام تولید سم دو گونه (*C. coronatus* و *C. terebra Thomasi*) از هم تشخیص داد.

۲. ساختار بخش‌های مختلف مجرای سم در دو گونه کونوس متفاوت است.

۳. پمپ یونی NK و کانال NKCC قابل مکان‌یابی به روش ایمونوهیستوشیمی در مجرای سم این کونوس‌ها هستند.

۴. در هر دو گونه کونوس، میزان فلورسنت آنزیم Na^+/K^+ ATPase (پمپ یونی NK) در سلول‌های ترشحی بطور معنی داری بیش از سایر سلول‌های مجرای سم می‌باشد.

۱-۲ کلیات:

نرم‌تنان با بیش از ۱۰۰,۰۰۰ گونه‌ی شناخته شده، بزرگترین شاخه از جانوران دریایی هستند که از نظر تعداد در بین جانوران بعد از بندپایان قرار دارند (Feldkamp، ۲۰۰۲). شکمپایان با حدود ۷۵,۰۰۰ گونه متنوع‌ترین نرم‌تنان در زیستگاه‌های دریایی می‌باشند. شکمپایان و دوکفه‌ای‌ها از اهمیت بیشتری نسبت به دیگر رده‌های نرم‌تنان برخوردار هستند (Linse و همکاران، ۲۰۰۶). این بی‌مهرگان دارای یک طیف متنوع از ساختار بدنی هستند. منتل[1] با یک حفره وسیع، نقش ترشح پوسته که از پروتئین و کیتین تقویت شده با کربنات کلسیم تشکیل شده را بر عهده دارد. در سطح شکمی آن‌ها یک پای عضلانی قرار دارد. اگرچه نرم‌تنان حفره[2] دار هستند، اما حفره آن‌ها بسیار کوچک و قسمت اعظم بدن آن‌ها را هموسل[3] با گردش

[1] Mantle
[2] Coelom
[3] Hemocoels

خون باز تشکیل می‌دهد. تغذیه آن‌ها به کمک رادولا[1] و توسط دستگاه گوارش پیچیده انجام می‌شود. سیستم عصبی آن‌ها دارای دو جفت گره عصبی[2] یا درخت عصبی است. مغز در اطراف مری قرار دارد و بیشتر نرم‌تنان دارای چشم و سنسورهایی برای تشخیص مواد شیمیایی[3]، ارتعاش و لمس هستند. از تخم‌های تولید شده توسط آن‌ها ممکن است لارو تروکوفور[4] یا لارو پیچیده‌تر ولیجر[5] و یا به طور مستقیم بالغ مینیاتوری ایجاد گردد (Kohn و Perron، ۱۹۹۴).

مکان‌های تغذیه‌ای شکمپایان به شدت متغیر است، اگرچه بیشتر گونه‌ها از رادولا برای تغذیه استفاده می‌کنند. تعدادی چرنده، تعدادی نقب‌زن، تعدادی پلانکتون‌خوار، تعدادی مردارخوار یا ریزه‌خوار و تعدادی نیز گوشتخوارانی فعال هستند (Hickman و همکاران، ۱۹۹۵).

در بین شکمپایان، گونه‌های سمی وجود دارند که به سه خانواده تقسیم می‌شوند: Conidae (شامل ۸۰۰ گونه)، Turridae (شامل ۱۵۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰ گونه) و Terebridae (شامل ۳۰۰ گونه) همه‌ی این خانواده‌ها توسط دستگاه تولید سمشان شناخته می‌شوند (Favreau و Stöcklin، ۲۰۰۹).

در بین شکمپایان سمی، حلزون‌های مخروطی *Conus* (شکل‌های۱-۱ تا ۱-۴) بزرگترین و موفق‌ترین گروه از شکارگرهای گوشتخوار و شب‌فعال‌اند که در همه‌ی زیستگاه‌های دریایی گرمسیری دنیا یافت می‌شوند، اگرچه تمرکز اکثریت گونه‌های آن در هند-آرام و غرب اقیانوس آرام است (Keen، ۱۹۷۱). حلزون‌های مخروطی در زیستگاه‌های با بسترهای متفاوت همچون بستر صخره‌ای، شنی و ماسه‌ای، صخره‌های مرجانی، بستر علفی و حتی از منطقه‌ی جزر و مدی تا عمق بیش از ۱۰۰۰ متری یافت می‌شوند (Dance و Cosel، ۱۹۷۷; Kohn، ۱۹۸۵).

---

1 Radula
2 Nerve cord
3 Chemoreceptor
4 Trochophore
5 Veliger

شکل ۱-۱: *Conus terebra thomasi*
(Bosch و همکاران، ۱۹۹۵)

شکل ۱-۲: *Conus terebra thomasi*
جمع آوری شده از جزیره‌ی لارک

Kingdom: Animalia

Phylum: Mollusca

Class: Gastropoda

Superfamily: Conoidea

Family: Conidae

Subfamily: Coninae

Genus: *Conus*

Linnaeus, 1758

شکل ۱-۳ (بالا): *Conus coronatus*
جمع آوری شده از جزیره‌ی لارک
شکل ۱-۴ (پایین): *Conus coronatus*
(Bosch و همکاران، ۱۹۹۵)

کونوس‌ها جدا جنس هستند اما هیچ گونه دو شکلی در بین صدف‌های جنس‌های نر و ماده این‌ها دیده نمی‌شود. ماده‌ها تخم‌های خود را در کپسول‌های مسطح و برگ مانند، به صورت ردیفی بر روی سطح زیرین صخره‌ها، صدف‌های خالی و یا سایر بسترهای سخت قرار می‌دهند (Rolan و Massilia، ۱۹۹۵). لاروها در کپسول تفریخ شده و در همان‌جا توسعه می‌یابند و بعد از چند روز به عنوان لارو یا پست لارو (بسته به گونه) از طریق یک سوراخ در لبه‌ی خارجی کپسول، خارج می‌شوند. لارو برخی از گونه‌ها پلانکتونی هستند و می‌توانند مدتی را به صورت معلق همراه با جریان آب حرکت کنند، در حالی که تعدادی از گونه‌ها رشد به طور کامل در داخل کپسول انجام می‌شود و فاقد مرحله‌ی لاروی آزاد اند، که باعث محدود شدن ظرفیت پراکندگی آن‌ها می‌شود (Bandel، ۱۹۷۶). اکثر حلزون‌های مخروطی شب فعال هستند. اگرچه آن‌ها دو ساقه‌ی چشمی دارند، بینایی آن‌ها ضعیف است و از قدرت ادراک شیمیایی خود برای به دام انداختن شکار استفاده می‌کنند. اگرچه تعداد کمی از کونوس‌ها با آب‌های سردتر سازگار شده اند و یا تعدادی از آن‌ها در آب‌هایی با عمق بیش از ۱۰۰ متر یافت شده‌اند، اما بیشترین تنوع کونوس‌ها در زیستگاه‌های دریایی کم عمق در مناطق گرمسیری می‌باشد. فقط در یک صخره‌ی مرجانی در وسط اقیانوس هند-آرام بالغ بر ۳۰ گونه مختلف کونوس یافت شده است (Kohn و همکاران، ۲۰۰۱).

این نرم‌تنان شکارچی بوده و به طور کلی بر اساس نوع شکارشان در سه گروه قرار می‌گیرند:

۱. بزرگترین گروه گونه‌های vermivorous اند که اغلب از پرتاران تغذیه می‌کنند (مانند: *C. flavidus*، *C. miliaris* و *C. lividus*)، ولی تعدادی از آن‌ها به Hemichordate یا کرم‌های Echiuroid نیز حمله می‌کنند (Marsh، ۱۹۷۰).

۲. دومین گروه عمده mulluscivorous اند که دیگر شکمپایان را شکار می‌کنند، مانند: *C. victoriae*، *C. textile* و *C. pennaceus* (Le Gall و همکاران، ۱۹۹۹؛ Kohn، ۲۰۰۳؛ Wang و Chi، ۲۰۰۴).

۳. سومین و قابل توجه‌ترین آن‌ها piscivorous اند که دارای سمومی هستند که به سرعت باعث فلج شدن ماهی می‌شود، مانند: *C. catus* و *C. geographus* (Kohn، ۱۹۸۳؛ Olivera، ۲۰۰۲؛ Schulz و همکاران، ۲۰۰۴).

گروه ماهی‌خوار خود به دو دسته تقسیم می‌شود (Kohn، ۱۹۵۶؛ Wang و Chi، ۲۰۰۴)(شکل ۱-۵):

۱- Hook-and-line: حلزون‌هایی که قبل از قورت دادن طعمه، آن را با رادولای پیچیده‌ی یکبار مصرف خود شکار می‌کنند.

۲- Net-fishing: حلزون‌هایی که قبل از نیش زدن، طعمه را با خرطوم بزرگ و قابل انبساط خود می‌بلعند.

در اولین استراتژی، جانور با خرطوم توسعه یافته‌ی خود که مانند زبان رادولا را در بر گرفته، در یک حرکت، سم را تزریق می‌کند و سپس ماهی فلج شده را به داخل دهان توسعه یافته‌ی خود می‌کشد. هضم غذا بلافاصله، به همراه بافت‌های نرم که در غلافی موکوس مانند در دهان قرار می‌گیرند، انجام می‌شود. پس از هضم قسمت‌های سخت مانند فلس، استخوان و بقایای رادولا به خرطوم برگردانده می‌شوند، در بعضی حالت‌ها سایز طعمه به اندازه‌ی خود جانور است. این رفتار در *C. purpurascens*, *C. striatus*, *C. ermineus* و *C. catus* دیده می‌شود.

در دومین استراتژی که در *C. geographus* و *C. tulipa* دیده شده ابتدا یک شبکه‌ی تور مانند ماهی را در بر می‌گیرد و سپس در حالی که دهان بسته است سم را به جانور تزریق می‌کند (Olivera و همکاران، ۱۹۹۱; Terlau و همکاران، ۱۹۹۶; Bingham، ۲۰۱۰).