فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۶، جلد ۷، شماره ۳، تابستان۹۳، صفحه ۲۱ تا ۲۹

بررسی تنوع مورفولوژیک در جمعیت های مختلف ساردین سندی (Clupeidae: *Sardinella sindensis*) موجود در خلیج فارس و دریای عمان

پرستو رحیمی[۱]، سهراب رضوانی[۲]، پرگل قوام مصطفوی[۳]، شهلا جمیلی[۳]

۱–گروه بیولوژی دریا ، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ایران.

۲–دانشیار، موسسه تحقیقات شیلات ایران شهرک پژوهش، تهران. ایران.

۳–استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران دانشکده علوم و فنون دریایی، گروه بیولوژی دریا، تهران. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: ساردین ماهیان از خانواده شگ ماهیان از نظر اکولوژیک جزو ماهیان سطح زی ریز، و اولین مصرف کنندگان در زنجیره ی تولیدات دریایی بوده و در صورت صید بی رویه آن ها کاهش صید تون ماهیان مشاهده می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی تنوع احتمالی ژنتیکی و ایجاد زیر جمعیت در حوزه پراکنش این گونه در خلیج فارس و دریای عمان است.

روش کار: در طی زمستان۹۰ و بهار۹۱ تعداد۶۳ عدد ساردین سندی با روش پرساین دو قایقی از سه منطقه جاسک، قشم و لنگه جمع-آوری و بررسی های مورفولوژیک و بیومتریک معمول انجام گردید. داده ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه one way ANOVA و آنالیز واریانس چند متغیره MANOVA مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

یافته ها: بررسی آماری صفات مورد مطالعه وجود یک شیب معنی دار را در سطح P≤۰/۰۵ درکلیه صفات از بندر چارک در منطقه لنگه تا بندر جاسک در دریای عمان نشان داد. آزمون post-hoc نشان از این داشت که درتمامی صفات جاسک تفاوت معنی داری را با دو منطقه دیگر دارد. بر پایه آزمون مولفه های اصلی مهم‌ترین صفات در ایجاد این تنوع طول کل، طول چنگالی، طول استاندارد، طول پوزه و پهنای بدن می باشند. از سوی دیگر Claster analysis بر پایه صفات مورفولوزیک سه منطقه در ابتدا به دو منطقه اصلی (جاسک، قشم و لنگه) تقسیم و در مرحله بعد دو منطقه قشم و لنگه را نیز از یک‌دیگر جدا سازی می‌کند.

نتیجه گیری: نتایج حاصل می تواند نشان از این حقیقت باشد که این گونه در حوضه گسترده پراکنش خود دارای زیر جمعیت هایی است که می توانند زیر بنای ایجاد زیر گونه در حوزه پراکنش این گونه باشد.

واژه های کلیدی: *Sardinella sindensis*، *Clupeidae*، ساردین ماهیان، شگ ماهیان، خلیج فارس و دریای عمان.

مقدمه

ساردین ماهیان از خانواده شگ ماهیان و از نظر اکولوژیک جزو ماهیان سطح زی ریز به شمار می آیند که اساساً در آب‌های ساحلی خورها و مصب‌ها دیده می‌شوند. این ماهیان بیشتر دوران زندگی خود را در لایه های سطحی آب می گذرانند و حرکت و مهاجرت آن‌ها از یک منطقه به منطقه دیگر نیز در سطح آب انجام می-گردد. در هنگام مهاجرت می توان آن‌ها را به شکل گله-های نسبتاً بزرگ مشاهده نمود(۳،۳۰). بررسی های انجام شده نشان می دهد که گله های ساردین پیش از طلوع آفتاب شکل پیدا می کنند و پس از غروب به منظور تغذیه در عمق آب پراکنده می شوند. این ماهیان از موجودات بسیار ریز گیاهی و جانوری تغذیه می کنند و خود نیز غذای بسیار مناسبی برای ماهیان سطح زی درشت نظیر تون ماهیان هستند(۴). از میان گونه های مختلف ماهیان سطح زی ریز، تنها تعداد اندکی از آن‌ها دارای اهمیت اقتصادی هستند و توسط صیادان مورد بهره برداری قرار می گیرند. یکی از مسایل همیشه مطرح و مبهم در زمینه توسعه صید این ماهیان، نقش آن‌ها در

میزان صید سطح زیان درشت می باشد. به دلیل این‌که در بسیاری از گزارشات منتشر شده توسط محققین در سراسر دنیا از ساردین ماهیان و موتوماهیان به عنوان یکی از اقلام اساسی و مهم در رژیم غذایی سطح زیان درشت (به‌ویژه تون ماهیان) یاد شده است، بنابر این در صورت صید بی رویه آن‌ها ،احتمالاً شاهد کاهش صید تون ماهیان نیز خواهیم بود(۴،۵). از شگ ماهیان ده جنس در آب های خلیج فارس و دریای عمان وجود دارد که در بین آن‌ها جنس Sardinella جنس غالب می‌باشد(۲۱).

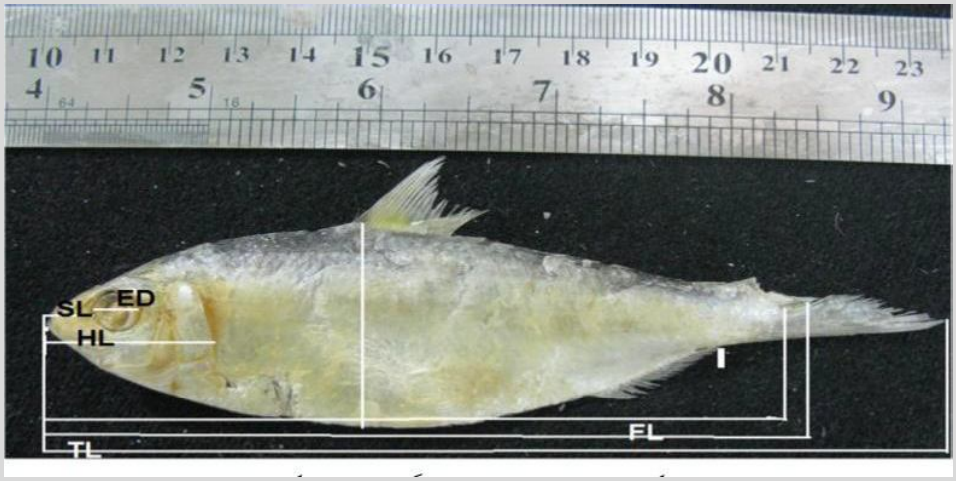
مناطق صید این ماهیان در طول ساحل جنوبی ایران از بندر جاسک در شرق استان هرمزگان تا بندر کنگان در بخش شرقی استان بوشهر متمرکز است(۱،۲). هدف از ازاین مطالعه بررسی تنوع در صفات مورفولوژیک ساردین سندی (*Sardinella sindensis*) و ایجاد زیر جمعیت های احتمالی در سه نقطه از حوزه پراکنش این گونه در خلیج فارس و دریای عمان انجام شده است.

مواد و روش ها

طی زمستان ۹۰ و بهار ۹۱ تعداد ۶۳ عدد ساردین سندی با روش پرساین دو قایقی از سه منطقه جاسک، قشم و لنگه جمع آوری گردید. سپس بررسی های مورفولوژیک و بیومتریک معمول بر روی نمونه ها انجام شد. در ادامه داده ها به روش Multivariate ANOVA و One way ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند(جدول ۲ و نمودار۱).

جدول ۱- شرح مهم‌ترین صفات اندازه گیری شده

صفت	علامت اختصاری	نام لاتین صفت	شرح صفت
طول کل	T.L	Total length	فاصله بین نوک پوزه تا انتهای باله دمی
طول استاندارد	St.L	Standard length	فاصله بین نوک پوزه تا انتهای ساقه دمی یا ابتدای باله دمی
طول چنگالی	F.L	Fork length	حداکثر فاصله بین نوک پوزه تا فرو رفتگی باله دمی
طول سر	H.L	Head length	فاصله بین نوک پوزه تا انتهای سرپوش آبششی
طول پوزه	SL	Snout length	فاصله بین نوک پوزه تا جلوی چشم
ارتفاع بدن	BD	Body depth	فاصله عمودی جلوی باله پشتی تا زیر شکم
قطر چشم	ED	Eye diameter	قطر چشم در صورت گرد بودن چشم
وزن	W	Weight	وزن



شکل ۱- صفات شاخص در اندازه گیری مورفومتریک ماهی سندی

نتایج

نتایج اندازه گیری صفات مورفولوژیک ساردین سندی مشخص نموده که بیشترین مقادیر مربوط به ساردین ماهیان جمع آوری شده از بندرجاسک و کمترین مقادیر مربوط به ساردین ماهیان جمع آوری شده از منطقه بندر لنگه می باشد. مقایسه میانگین این صفات در سه منطقه نمونه برداری صورت گرفته، وجود یک شیب معنی دار را در میانگین کلیه صفات از بندر چارک در منطقه بندر لنگه تا بندر جاسک در دریای عمان به نمایش می-گذارد(جدول۲).

جدول ۲- میانگین صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده ساردین سندی در مناطق بندر جاسک، قشم و بندر لنگه

منطقه / صفت	جاسک	قشم	لنگه
طول کل (سانتی‌متر)	۱۷/۳۲۷±۱/۳۶۱	۱۳/۵۴۱±۰/۵۹۹	۱۲/۵۸±۱/۲۶۵
طول چنگالی (سانتی‌متر)	۱۵/۷۴۰±۱/۲۳۵	۱۲/۰۵۸±۰/۵۷۴	۱۱/۵۹±۱/۲۳۹
طول استاندارد (سانتی‌متر)	۱۴/۶۹۳±۱/۱۱۹	۱۱/۴۷۹±۰/۵۴۱	۱۱/۰۸±۱/۱۷۵
ارتفاع بدن (سانتی‌متر)	۴/۰۹۱±۰/۵۱۶	۲/۸۸۷±۰/۲۰۹	۲/۶۵۰±۰/۲۵۰
طول پوزه (میلی‌متر)	۱۱/۴۴۱±۱/۱۰۶	۹/۳۵±۰/۵۹۴	۸/۶۲۸±۱/۱۷۳
قطر چشم (میلی‌متر)	۹/۱۹۲±۱/۶۶۱	۷/۱۷۰±۰/۴۵۲	۷/۰۰۸±۰/۶۳۹
طول سر (میلی‌متر)	۳۵/۷۰۴±۲/۵۷۲	-	۲۵/۵۷۷±۲/۷۳۲
وزن (گرم)	۳۸/۸±۸/۱۸۴	۲۰/۸۱۲±۲/۸۹۶	۱۲/۴۴۵±۳/۷۲۰

جهت تائید نتایج، تجزیه واریانس یک طرفه برای هرکدام از صفات صورت پذیرفت. به دنبال معنی دار بودن تجزیه واریانس همه صفات، جهت تعیین تفاوت مشاهده شده مربوط به کدام منطقه می باشد آزمون Post-hoc برای تمامی صفات انجام شد. نتایج تفاوت عمده بندر جاسک با دو منطقه دیگر را نشان داد. با این حال اگرچه بعضی صفات مثل طول کل در هر سه منطقه دارای تفاوت معنی دار بودند اما مشاهده شد که در برخی صفات دیگر مثل طول استاندارد دو منطقه قشم و لنگه تفاوت معنی داری با یک‌دیگر ندارند(جدول۳).

جدول ۳- نتیجه آزمون post-hoc صفات مورفومتریک ساردین سندی

صفت	منطقه(I)	منطقه(J)	میانگین و انحراف از معیار(I-J)
طول کل	جاسک	قشم	۳/۵۶* ±۰/۳۸
		لنگه	٤/۵۲*±۰/۳۹
	قشم	جاسک	-۳/۵٦*±۰/۳۸
		لنگه	۰/۹٦*±۰/۳۲
طول چنگال	جاسک	قشم	۳/۵۲*±۰/۳٦
		لنگه	۳/۹۸*±۰/۳۷
	قشم	جاسک	۳٤۷/۵۲*±۰/۳٦
		لنگه	۰/٤۷±۰/۳۱
طول استاندارد	جاسک	قشم	۳/۰۵*±۰/۳٤
		لنگه	۳/٤۵*±۰/۳۵
	قشم	جاسک	۳/۰۵*±۰/۳٤
	قشم	لنگه	۰/٤۰±۰/۲۹
ارتفاع	جاسک	قشم	۱/۲۰*±۰/۱۱
	جاسک	لنگه	۱/٤٤*±۰/۱۱
	قشم	جاسک	-۱/۲۰*±۰/۱۱
	قشم	لنگه	۰/۲٤*±۰/۰۹
طول پوزه	جاسک	قشم	۱/٦۸*±۰/۳٤
	جاسک	لنگه	۲/٤۰*±۰/۳۵
	قشم	جاسک	۰/۳٤*±۱/٦۸
	قشم	لنگه	۰/۷۲*±۰/۲۹
قطر چشم	جاسک	قشم	۱/۸۴*±۰/۲۱
	جاسک	لنگه	۲/۰۰*±۰/۲۱
	قشم	جاسک	-۱/۸٤*±۰/۲۱
	قشم	لنگه	۰/۱۸±۰/۱٦
وزن	جاسک	قشم	۱۸/۷۹*±۱/٦۸
	جاسک	لنگه	۲۷/۱٦*±۱/۷٤
	قشم	جاسک	-۱۸/۷۹*±۱/٦۸
	قشم	لنگه	۸/۳٦*±۱/٤٤

*ستاره ها نشان دهنده معنی دار بودن مقایسه میانگین صفات در سطح P<۰/۰۵در هر سه منطقه می باشد.

در مرحله بعد برای مشخص کردن این‌که کدام صفات در جداسازی گروه ها نقش بیشتری بازی می کنند از آزمون تجزیه مولفه های اصلی یا Perinciple component استفاده شد. نتیجه آزمون نشان داد که اگرچه همه صفات دارای ارزش بالایی در جداسازی مناطق از یک‌دیگر می باشند اما صفات طول کل، طول

چنگالی، طول پوزه و طول استاندارد نقش بیشتری بر عهده دارند(جدول ۴).

جدول ٤- تحلیل میانگین صفات مورفومتریک ساردین سندی با آزمون (PCA)

نتایج نشان دهنده تاثیر قابل توجه تمامی صفات در جدا سازی سه منطقه از یک‌دیگر می باشد، امادر این میان صفات طول کل، طول چنگالی، طول استاندارد و طول پوزه از اهمیت بیشتری برخوردارند.

صفت	طول کل	طول چنگالی	طول استاندارد	ارتفاع بدن	طول پوزه	قطر چشم	طول سر	وزن
Extraction	۰/۹۹۴	۰/۹۸۹	۰/۹۸۰	۰/۹۶۰	۰/۹۸۳	۰/۹۱۷	۰/۹۶۶	۰/۹۶۵

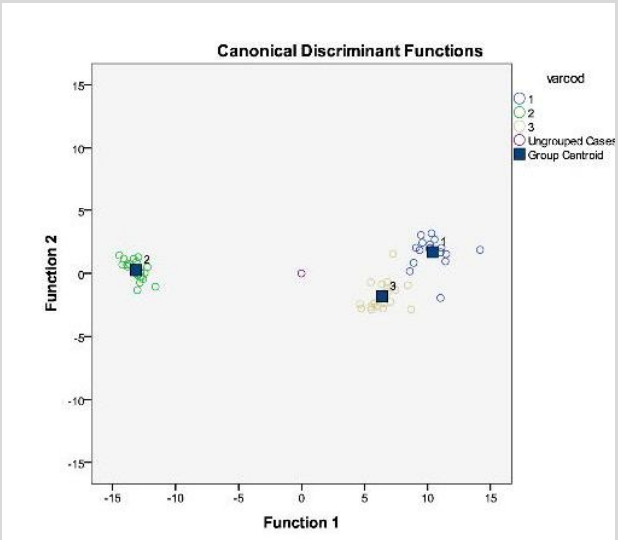
جهت تعیین معنی داری تفاوت میانگین کلیه صفات در سه منطقه از آزمون MANOVA استفاده شد که همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می شود سه منطقه با تکیه بر مقایسه کلیه صفات دارای تفاوت های معنی داری در سطح۰/۰۵ >pمی باشند.

جدول ۵-تحلیل میانگین صفات مورفومتریک ساردین سندی با آزمونMultivariate ANOVA

اثر		مقدار	معنی داری
درون منطقه	Wilks' Lambda	*۰/۰۰۲	۰/۰۰
بین مناطق	Wilks' Lambda	*۰/۰۶۱	۰/۰۰

*نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت میانگین صفات در سه منطقه مورد بحث می باشد.

جهت مشخص شدن درجه تفکیک سه منطقه از لحاظ صفات مورفولوژیک از آزمون تفکیک استاندارد Clonical discriminant function استفاده شد. نمودار۱ نشان‌دهنده واگرایی نسبی جمعیت ها از لحاظ صفات مورفولوژیک می باشد.



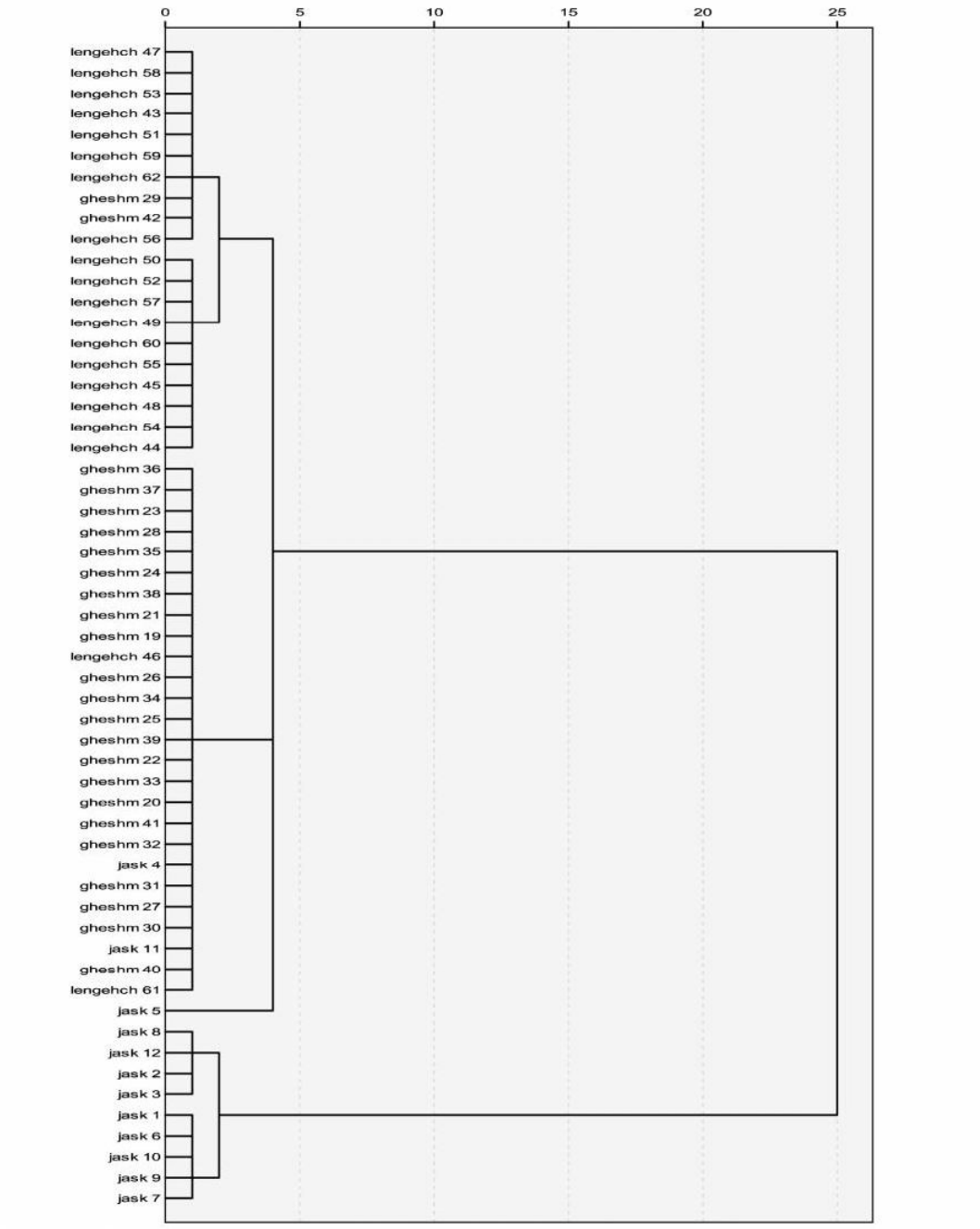
نمودار۱ – مقایسه پراکنش سه جمعیت ساردین سندی از نظر صفات مورفولوژیک.

جمعیت ۱: بندر لنگه، جمعیت ۲:بندر جاسک و جمعیت ۳: قشم

نتایج حاصل از دندروگرام نمودار ۲ مشخص نمود که کل نمونه ها در دو گروه عمده دسته بندی می شوند: در یک گروه نمونه های جمع آوری شده از منطقه جاسک و در گروه دیگرنمونه های جمع آوری شده از دو منطقه قشم و لنگه قرار می گیرند. در قدم بعدی نمونه های دو منطقه قشم و لنگه از یک‌دیگر جدا شده و دو گروه مجزا را تشکیل می دهند. تداخل اندکی که مابین نمونه های قشم و لنگه از یک سو و قشم و جاسک از سوی دیگر مشاهده می شود می تواند ناشی از نزدیکی مکانی قشم با هردو منطقه و هم پوشانی اندک جمعیت ها در لبه های دامنه پراکندگی‌شان باشد(نمودار۲).

بحث و نتیجه گیری

متمایز کردن ذخایر یک گونه از طریق بررسی خصوصیات مورفولوژیک آن می تواند مدیریت شناسایی زیر گونه ها را امکان پذیر نماید. معمولاً ازمورفومتری چند متغیره به منظور مطالعه تفاوت ها و ارتباطات ذخایر یک گونه استفاده می شود (۸،۱۲،۲۲،۲۸). با این وجود مهم‌ترین محدودیت خصوصیات مورفولوژیک این است که تنوع فنوتیپی کاملاً تحت کنترل ژنوتیپ نبوده و بیشتر تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می گیرد(۱۰). انعطاف پذیری فنوتیپی ماهیان به آن‌ها اجازه می دهد که با تغییرات محیطی سازگار شوند. این سازگاری با تغییر در فیزیولوژی، رفتار و نهایتاً مورفولوژی و تولید مثل همراه است(۲۴، ۱۹). چنین سازگاری های فنوتیپی الزاماً به تغییرات ژنتیکی منجر نمی شوند و بنابراین مشخص کردن چنین تغییرات فنوتیپی در میان جمعیت نمی تواند الزاماً به معنی تعیین تغییرات ژنتیکی باشد (۲۹، ۲۶). با این وجود اگر زمان برای ایجاد و تجمع تفاوت های ژنتیکی در بین افراد جمعیت کافی باشد وجود تنوع فنوتیپی اعمال شده از سوی محیط در شناسایی ذخایر حائز اهمیت است. در نتیجه دریفت ژنتیکی تصادفی، تفاوت های ژنتیکی به آهستگی در یک جمعیت بزرگ از ماهیان رخ خواهد داد(۲۹، ۹،۱۸). بنابراین تجزیه و تحلیل صفات مورفومتریک می تواند اولین قدم در شناسایی ساختار ذخایر در جمعیت های بزرگ باشد(۲۳ ،۱۷). بررسی های انجام شده در خلیج فارس و دریای عمان مشخص نمود که همانند دیگر ماهیان با پراکندگی گسترده، در جمعیت ماهیان سطح زی ریز فاکتورهای فیزیکی می توانند باعث ایجاد تفاوت های مورفولوژیک گردند. در پاکستان مطالعات انجام شده نشان می دهد که بخش هایی از جمعیت بعضی از گونه های سطح زی موجود در دریای عمان قدرت پراکندگی زیاد ندارند و به همین دلیل برای صید این منابع باید تمهیداتی در نظر گرفته شود که ذخیره ژنی این ذخایر آسیب نبیند(۲۰). از سوی دیگر مطالعات نشان می دهند که دریای عمان از پدیده مانسون اقیانوس هند تاثیر زیادی می پذیرد به‌طوری‌که در تابستان اثر مانسون تابستانه فراجوشی (upwelling) گسترده ای در این ناحیه رخ می دهد که افزایش تولید اولیه را به همراه خواهد داشت(۱۵، ۶). افزایش تولید اولیه سبب رخ دادن پدیده بلوم یا شکوفایی جلبکی در این منطقه شده و به‌دنبال آن فراوانی مواد غذایی برای جانوران گیاهخوار و به تبع آن گوشتخواران ملاحظه می گردد(۱۳،۱۴). فراوانی مواد غذایی به همراه متعادل‌تر بودن دما و شیرین‌تر بودن آب دریای عمان نسبت به خلیج فارس سبب کمتر شدن استرس های محیطی وارده به جانوران دریای عمان و در نتیجه افزایش اندازه در جمعیت های ساکن در دریای عمان نسبت به خلیج فارس می گردد. ساردین ماهیان که جزء جانوران گیاهخوار محیط های دریایی می باشند، به شدت از شرایط محیطی تاثیر می پذیرند. این مساله سبب می شود که الگوی کلی اندازه جانوران دریای عمان و خلیج فارس در مورد این جانوران نیز صادق باشد (۱۶،۲۵،۲۷ ،۷، ۱۱).



نمودار ۲- دندرو گرام حاصل از آنالیز خوشه ای فرکانس صفات مورفولوژیک ساردین سندی

بررسی حاضر نشان داد که صفات مورفولوژیک گونه ساردین سندی که دامنه پراکندگی آن در خلیج فارس و دریای عمان گسترده است، در سه منطقه نمونه برداری یعنی جاسک(دریای عمان)، قشم(تنگه هرمز) و لنگه(خلیج فارس) تفاوت های معنی داری را به نمایش می گذارد. در بین این صفات طول کل بدن، طول استاندارد، طول چنگالی، طول پوزه و پهنای بدن دارای بیشترین ارزش در جداسازی بخش های مختلف جمعیت می باشد. نتایج حاصل از آنالیز خوشه‌ای صفات مورفولوژیک تقسیم شدن جمعیت ساردین سندی در سه ایستگاه عمده صید این ماهی را به دو گروه عمده به وضوح نشان می دهد. این وضعیت می تواند ناشی از شرایط مناسب‌تر آب و هوایی در جاسک و فشارهای محیطی وارده بر دو گروه عمده ساکن در قشم و لنگه

باشد. از سوی دیگر به دلیل مخلوط شدن آب دریای عمان و خلیج فارس در تنگه هرمز، استرس شوری و گرما در این ناحیه از خلیج فارس کمتر می باشد که نتیجه آن سبب واگرایی نمونه‌های این دو منطقه از یک‌دیگر در قدم بعدی است. هم‌چنین مشاهده می گردد که در خوشه مربوط به قشم دو نمونه از جاسک و دو نمونه از لنگه و در خوشه مربوط به لنگه دو نمونه از قشم دسته بندی شده اند. این مساله می تواند نشان از تداخل اندک در حدود مرزی مناطق نمونه برداری ناشی از جریان رو به داخل خلیج فارس در امتداد سواحل ایران باشد که جابه‌جایی غیر فعال لاروها و یا حتی افراد بالغ را باعث می گردد. در واقع می توان چنین نتیجه گیری کرد که ساردین سندی بیش از آن‌که به مهاجرت های افقی بپردازد مهاجرت های عمودی در ستون آب انجام می-دهد و این مساله سبب تداخل اندک بخش های مختلف این جمعیت که تحت اثر استرس های محیطی مختلف قرار دارند می شود که خود بیان‌گر وجود پتانسیل لازم جهت ایجاد زیر جمعیت و به تبع آن زیر گونه در دامنه پراکندگی این گونه درخلیج فارس و دریای عمان می-باشد.

منابع

۱- ایران، ع. ۱۳۶۷. گردآوری و بررسی آمار صید ماهیان سطح زی (ساردین ماهیان) در جنوب کشور(در فصل صید ۱۳۶۷-۱۳۶۶). مرکز تحقیقات شیلات دریای عمان.

۲- سالار پوری، ع.۱۳۹۲. بررسی وضعیت صید سطح زیان ریز (ساردین ماهیان) در منطقه جاسک و ارتباط آن با فاکتور های هیدرولوژیک، مرکز تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان.

۳-سواری، ا.، محمد پور، م. ۱۳۶۱. ذخایر سطح زی خلیج فارس و دریای عمان(ترجمه)، مرکز تحقیقات و توسعه ماهیگیری خلیج فارس (بوشهر).

٤- شوقی، ح. ۱۳۷۱. بررسی زیستی تون ماهیان، انتشارات ایستگاه تحقیقاتی آب های دور.

۵-عوفی، ف. ۱۳۷۰. ساردین ماهیان خلیج فارس و دریای عمان، مرکز تحقیقات آموزش شیلاتی خلیج فارس-بوشهر.

6.Alabdessalam,T.Z.S. (1995). Marine species of the sultanate of Oman ministry of agriculcure and fisheries. Sultanate of Oman Publication, 412p.

7.AripinI, E.P., Showers, A.T. (2000). Population parameters of small pelagic fishes caught off Tawi-Tawi. Philippins, Nega, 23(4); 21-27.

8.Avsar, D. (1994). Stock differentiation study of the sprat off the southern coast of the Black Sea. Fisheries Research, 19; 363-378.

9.Cemal, T. (1999). A note on the examination of morphometric differentiation among fish populations: The truss system. Tr. J. of Zoology, 23; 259-263.

10. Clayton, J. W. (1981). The stock concept and the uncoupling of organismal and molecular evolution. Can. J. Fish. Aquat. Sci, 38; 1515-1522.

11. Cole, J., Mc Glade, J. (1998). Clupeoid population variability, The environment and satellite imagery in coastal upwelling. Reviews in fish biology and Fishery,

12. Corti, M., Thorpe, R. S., Sola, L., Sbordoni, V., Cataudella, S. (1988). Multivariate morphometrics in aquaculture: a case study of six stocks of the common carp (*Cyprinus carpio*) from Italy. Can. J. Fish. Aquat. Sci, 45; 1548-1554.

13. Emara, H.I. (1990). Study on oxygen and phosphate in the waters of the southern Arabian(Persion) Gulf and Golf of Oman. Acta Adriat, 31; 45-57.

14.FAO. (2000). Fishery statistics capture production. Rome Italy, Vol. 86/1.

15.FAO. (2010). Workshop on the status of shared fisheries resources in the northern arabian sea –iran (islamic republic of), oman and pakistan muscat, oman.

16. Feron, P., Misund, O.A. (1999). Dynamic of pelagic fish distribution and behavior effect if fisheries and stock assessment. U.K. University press, comridge, pp348.

17. Froese, R., Pauly, D. (Eds.) (2011). Fishbase. World Wide Web electronic publication. URL:www.fishbase.org http//:www.fishbase.org [version 08/2011.

18. Hermida, M., Fernández, J., Amaro, R., Miguel, E. (2005). Morphometric and meristic variation in Galician threespine Stickle back populations. Northwest Spain Environmental Biology of Fishes, 73 (2); 189-200.

19. Meyer, A. (1987). Phenotypic plasticity and heterochrony in Cichlasoma managuense (*Piscles, ciclidae*) and their implication for speciation in cichlid fishes. Evolution, 41; 1357-1369.

20. Parrish, R. H., Serra, R., Grant, W. S. (1989). The monotypic sardines, Sardina and Sardinops: their taxonomy, distribution, stock structure and zoogeography. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 46; 2019-2036.

21. Randall, J.E., Allen, G., Smith-Vaniz, W. (1978). Illustrated identification guide to commercial fishes. FAO Reg, Fish. Surv.Devel.Proj, (FI:DP/RAB/71/273/3), 221 pp.

22. Shepherd, G. (1991). Meristic and morphometric variation in Black Sea Bass North of Cape Hatteras, North Carolina. Am. J. Fish. Manag, 11; 139-149.

23. Silva, A. (2003). Morphometric variation among sardine (*Sardina pilchardus*) populations from the northeastern Atlantic and the Western Mediterranean. e ICES Journal of Marine Science, 60; 1352-1360.

24. Stearns, S. C. (1983). A natural experiment in life-history evolution: field data on the introduction of mosquitofish (*Gambusia affinis*) to Hawaii. Evolution, 37; 601-617.

25. Stirling, H. P., Philips, M.J. (1990). Water quality management for aquaculture and fisheries, Bagladesh aquaculture and fisheries resource unite. Ins. Of Aqua. Niv of Stitling, Pp21.

26. Swaine, D. P., Ridell, B. E., Murray, C. B. (1991). Morphological differences between hatchery and wild populations of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): environmental versus genetic origin. Can.J. Fish. Aquat. Sci, 48; 1783-1791.

27. Van Zaling, N.P., Owfi, F., Ghasemi, S., Khorshidian K., Niamaimandi, N. (1993). Resources of small pelagic in iranian waters. A review, Fao/ Undp fisheries development progect ir/ 83/013: 370p.

28. Villaluz, A. C., Maccrimmon, H. R. (1988). Meristic variations in milkfish Chanos chanos from Philippine waters. Mar. Bio, 97; 145-150.

29. Ward, R. D., Woodwark, M., Skibinski, D. O. F. (1994b). A comparison of genetic diversity levels in marine, fresh-water, and anadromous fishes. J. Fish Biol, 44; 213-232.

30. Whitehead Peter, J.P. (1985). FAO Fisheries Synopsis, No. 125, Volume 7, Part 1.

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۶، جلد ۷، شماره۳، تابستان ۹۳، صفحه ۳۱ تا ۳۹

بررسی اثرات توأم عصاره تام الکلی پوسته کیتون *lamyi* خلیج فارس و بافت سلول زدایی شده‌ی مغز رت بر آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه

جواد بهار آرا[۱]، تکتم جوان جعفری بجنوردی[۲]، ناصر مهدوی شهری[۳]، سعیده ظفربالانژاد[۴]

۱- دانشیار، دکتری تخصصی زیست شناسی تکوین جانوری، گروه زیست شناسی و مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد. ایران. baharara@yahoo.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد. ایران.

۳- استاد، دکتری تخصصی هیستولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد. ایران.

٤- مربی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد. ایران.

تاریخ دریافت:۹۳/٤/۲٦ تاریخ پذیرش:۹۳/٦/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: کیتون ها به دلیل وجود کیتین و کیتوسان در پوسته آن ها از لحاظ پزشکی از اهمیت خاصی برخوردارند. به دلیل اهمیت آنژیوژنز و از آن‌جائی‌که فرآیند پیچیده ای شامل برهم کنش فاکتورهای محلول سلول و اجزاء ماتریکس خارج سلولی می-باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات توأم عصاره الکلی پوسته کیتون و بافت سلول زدایی شده مغز رت بر آنژیوژنز پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه است.

روش کار: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، بافت مغز رت سلول زدایی شد. ۵۰ عدد تخم مرغ نطفه‌دار به طور تصادفی در ۵ گروه مساوی شاهد (بدون تیمار)، شاهد آزمایشگاهی ۱(تیمار با DMSO)، شاهد آزمایشگاهی ۲(تیمار با مغز سلول زدایی شده)، تجربی ۱(تیمار با عصاره) و تجربی ۲(تیمار توأم عصاره و بافت سلول زدایی شده مغز) توزیع شدند. در روز دوازدهم انکوباسیون از تمام نمونه ها عکس برداری و تعداد و طول انشعابات عروقی در محل تیمار روی پرده کوریوآلانتوئیک به کمک نرم افزار Image J بررسی و به کمک نرم افزار۱٦ SPSS و آزمون آماری ANOVA و Tukey در سطح(p□۰/۰۵) تحلیل گردید.

یافته‌ها: در مقایسه میانگین تعداد (۱/۸۵± ۱۰/۳٤) و طول(۲/۰٤ mm ±۱۳/۱۲) عروق خونی در گروه شاهد و تعداد (۱/۳٦ ± ٦/۰٦) و طول (۱/۲۱mm ± ۹/۷٦) انشعابات عروقی در گروه تجربی ۱، کاهش معنی دار مشاهده شد (p□۰/۰۰۱). هم‌چنین میانگین تعداد(۱/۰٤ ± ۸/۷۵) و طول(۱/٤۲mm ± ۱۱/٤۳) عروق خونی در گروه تجربی۲ با تعداد و طول عروق خونی در گروه شاهد کاهش معنی دار نشان داد(p□۰/۰۵).

نتیجه گیری: کاربرد توأم عصاره پوسته کیتون خلیج فارس و بافت سلول زدایی شده مغز رت باعث کاهش آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک می شود.

واژه‌های کلیدی: آنژیوژنز، کیتون، پرده کوریوآلانتوئیک، مغز، سلول زدایی.

مقدمه

آنژیوژنز فرآیندی لازم در عملکرد طبیعی بدن است و در صورتی که تعادل بین عوامل القاء کننده و مهارکننده آنژیوژنز از بین برود شرایط برای بروز برخی بیماری ها به وجود می آید؛ در این فرآیند، ۱۰ مرحله متوالی در نظر گرفته می شود که یک یا چند مرحله از آن می‌تواند هدف عوامل محرک و یا بازدارنده آنژیوژنز باشد(۱۰). هم چنین این فرآیند به فعل و انفعالات وسیع بین سلول‌ها و مولکول های مختلفی وابسته است و توسط پپتیدها و فاکتورهای تعدیل کننده ی متنوعی کنترل می شود(۲۶). از بین رفتن تعادل بین فاکتورهای پروآنژیوژنیک و آنتی آنژیوژنیک، به طور مداوم منجر به ایجاد شرایط پاتولوژیک و ایجاد بیماری‌های زیادی از جمله تومور، آرتریت روماتوئید، پسوریازیس، دژنره شدن عضله و افزایش رتینوپاتی می‌شود(۲۷). در سال‌های اخیر مهار رگزایی به عنوان ایده ای نوین در کنترل و درمان انواعی از اختلالات وابسته به رگزایی به ویژه رشد و متاستاز

تومور مطرح شده است(۱۵). این ایده که فرآیند آنژیوژنز می تواند هدفی برای درمان باشد، پس از مشخص شدن این‌که گسترش تومور توپر(solid tumor) نیازمند ایجاد رگ های جدید است مطرح گردید(۲۵). شواهد نشان دهنده ارتباط میان آنژیوژنز و متاستاز در انواع مختلف سرطان از جمله سرطان های پستان، ریه، معده، تخمدان و ملانوما می باشد(۸). علاوه بر این، مطالعات اخیر به اثبات رسانده اند که بیماری هایی از قبیل لوسمی و لنفوما هم وابسته به آنژیوژنز هستند؛ در واقع افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی VEGF(Vascular endothelial growth factor) و فاکتور رشد فیبروبلاستی FGF(Fibroblast growth factor) در لوسمی حاد میلوئیدی، لوسمی لنفوئیدی حاد و لنفوما مشاهده شده است و به همین دلیل، آنژیوژنز می تواند یک هدف درمانی برای تومورهای خونی نیز باشد(۱۵). داربست های بیولوژیکی تشکیل شده از ماتریکس خارج سلولی دارای ترکیبات پیچیده با تنوعی از پروتئین های عملکردی و ساختاری مختلف است که کاملاً منطبق با فرآیندهای سلولی لازم برای فعالیت های طبیعی بافت یا ارگان می باشد(۴). هر بافتی هم از مواد سلولی و هم از ماتریکس خارج سلولی(ECM) با درجه فشردگی مشخصی تشکیل شده است بنابر این اجزای ECM باید در طی فرآیند سلول زدایی به اندازه کافی از هم باز شده تا همه سلول‌ها و محتویات آن ها بتوانند از درون ECM خارج شوند(۶). ECM مغز شامل مقادیر کمی پروتئین های فیبری مانند فیبرونکتین، ویترونکتین و کلاژن و یا پروتئین های غشای پایه مثل لامینین است؛ اما دارای مقادیر زیادی از گلیکوز آمینو گلیکان (GAGs) و پروتئوگلیکان ها می باشد(۱۴) . در طی رگزایی، رشد سلول‌های اندوتلیال، مهاجرت و تشکیل لوله، توسط فاکتورهای پروآنژیوژنیک، آنتی آنژیوژنیک، پروتئازهای کاهنده‌ی ماتریکس و برهمکنش‌های ماتریکس خارج سلولی، تنظیم شده است(۲۸). به خاطر اهمیت آنژیوژنز در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، بسیاری از محققین آنژیوژنز را در انواعی از مدل‌های آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار داده اند؛ برای انجام این‌گونه مطالعات، پرده‌ی کوریوآلانتوئیک جوجه (CAM) به عنوان یک محیط مناسب درون تنی در بررسی آنژیوژنز مطلوب می‌باشد و واجد مزایای متعددی از جمله سهولت در انجام کار، ساده بودن تجهیزات مورد نیاز برای بررسی دقیق، کم بودن ملاحظات اخلاق زیستی در مقایسه با سایر مدل‌های in vivo و نیز تکرار پذیری بالا می‌باشد (۱۹). مطالعات مختلف نشان داده که ترکیبات طبیعی بدون این‌که سمیت قابل توجه و عوارض جدی بر بافت-های طبیعی داشته باشند، به طور اختصاصی با تشکیل عروق جدید در تومورها مقابله می نمایند؛ بنابراین، مصرف رژیم غذایی غنی ازترکیبات طبیعی می تواند از گسترش و پیشرفت بیماری‌های مزمن مثل تومورهای بدخیم که گسترش وپیشرفت آن ها با رگزایی ارتباط دارد، جلوگیری کند(۲۰). کیتون ها گروهی قدیمی و متنوع از نرم تنان هستند که بیش از ۹۴۰ گونه ی زنده و درحدود ۴۳۰ نمونه ی فسیل آن ها در سراسر جهان شناسایی شده است و نمونه های فسیلی آن ها قدمتی نزدیک به نیم میلیارد سال دارند(۲۹،۳۲). به دلیل وجود ترکیبات کیتین و کیتوسان در پوسته پلی پلاکوفورا و دارابودن ترکیبات شیمیایی بسیار در بدنه و پوسته آن ها، کیتون‌ها می توانند حائز اهمیت باشند(۲۳). هدف از اجرای این پروژه بررسی اثرات کاربردتوأم عصاره پوسته کیتون و بافت سلول زدایی شده مغز رت بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک بود.

مواد و روش ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال ۹۲ به صورت تجربی

آزمایشگاهی انجام گردید. کیتون‌ها از سواحل خلیج فارس جمع آوری و شناسایی گونه شدند، عصاره گیری از پوسته کیتون به روش غوطه وری ۱۰ درصد جرمی – حجمی با استفاده از حلال متانول ۹۶درصد انجام شد؛ در این تحقیق برای سلول زدایی بافت مغز رت از سه روش فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی استفاده شد. روش‌های معمول برای سلول زدایی از بافت‌ها شامل ترکیبی از تیمارهای فیزیکی و شیمیایی می باشند؛ اساساً بهترین روش سلول زدایی روشی است که در آن به‌هم ریختگی ماتریکس بافت به حداقل رسیده و از طرفی ویژگی‌های مکانیکی و بیولوژیکی بافت حفظ گردند؛ قوی ترین روش های سلول زدایی شامل ترکیبی از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی می باشد(۶).

روش فیزیکی: ابتدا مغز رت را خارج وپس از جدا نمودن مخچه و شستشو آن، مراحل سلول زدایی انجام گردید. در ابتدا از روش فیزیکی برای سلول زدایی استفاده و نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت درون فریزر و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(۲۲)، در طی این مدت هر ۶ ساعت یک بار نمونه ها از فریزر خارج و با آب مقطر شستشو داده شدند، سپس به مدت ۱ ساعت نمونه ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

روش شیمیایی: مرحله دوم سلول زدایی به صورت شیمیایی انجام شد(۵). نمونه ها به محلول SDS ۰/۵٪ (Merck, Germany) به مدت ۱۰ ساعت منتقل و با دور کم (۱۰۰دور در دقیقه) شیکر شدند.

روش آنزیمی: برای تکمیل سلول زدایی از روش آنزیمی نیز استفاده شد و نمونه ها در محلول آنزیمی (Thermo(1mlMgCL2،1mlEDTA،Dnase11000U) Scientific)به مدت ۱۰ساعت قرار داده شد. پس از آن در ۳ مرحله در اتانول ۷۵ ٪که به عنوان حلال SDS(Sodium Dodesyl Sulphat) محسوب می شود قرار گرفتند و در پایان هر مرحله نمونه ها توسط آب مقطر استریل شستشو شدند تا اثر الکل۷۵٪ از بین برود. در پایان نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول فسفات بافر سالین (PBS) استریل و ۲۰۰ میکرولیتر آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسین(GIBCO,USA) قرار گرفتند (۲۴). در این مرحله داربست تهیه شده آماده برای قرار دادن بر روی پرده کوریوآلانتوئیک می باشد. به منظور بررسی سلول زدایی بافت مغز از رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین استفاده شد. برای انجام آزمایشات in vivo از تخم مرغ‌های نطفه دار نژادRoss به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده گردید. ۵۰ عدد تخم مرغ نطفه دار از شرکت مرغداران طوس مشهد خریداری و درون دستگاه جوجه کشی با دمای ۳۸ درجه سانتی-گراد و رطوبت ۶۳-۶۵٪ قرارگرفتند و در روز دوم انکوباسیون در شرایط استریل و زیر هود لامینار (Telestar,Spain) به کمک پنس استریل، در سمت پهن تخم مرغ سوراخی کوچک ایجاد و متعاقب آن پنجره ای در یک سمت آن ایجاد و محل آن به وسیله لامل و پارافین استریل پوشانده و تخم مرغ‌ها به دستگاه جوجه کشی برگردانده شدند. تخم مرغ ها در ۵ گروه مساوی و به طور تصادفی تقسیم شدند: گروه شاهد، تخم مرغ های این گروه در روز نخست در دستگاه جوجه کشی قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت از انکوباسیون نسبت به ایجاد پنجره اقدام شد و تا روز دوازدهم در همین وضعیت و بدون تیمار انکوبه شدند. گروه شاهد آزمایشگاهی۱که در روز نخست در دستگاه جوجه کشی قرار داده شدند و پس از ۴۸ ساعت از انکوباسیون، نسبت به ایجاد پنجره اقدام شد و در روز هشتم به یک اسفنج ژلاتینی که شامل آلبومین سفیده تخم مرغ و محلول آگار در نرمال سالین به نسبت مساوی به همراه۲۰۰ میکرولیتر پنی سیلین استرپتومایسین(GIBCO, USA)، که به صورت تازه در شرایط استریل تهیه شده بود و در ابعاد۴×۴×۱ میلی‌متر، محلول DMSO اضافه گردید