Archive of SID

فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۷

اثر مانسون بر شاخص‌های فیزیولوژیکی استرس در دوکفه‌ای خلیج چابهار (دریای عمان) *Azumapecten ruschenbergerii* (Tryon, 1869) در شرایط آزمایشگاهی

محمدمنصور توتونی[1]*، احمد سواری[2]، بابک دوست‌شناس[3]، نسرین سخایی[3]، دانیال اژدری[4]

تاریخ دریافت: مهر ۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۷

چکیده

به منظور ارزیابی اثر تغییرات محیطی بر جانوران، غالبا استفاده از جانوران بی‌مهره کفزی توصیه می‌شوند. زیرا قادر به گریز از عوامل مخرب محیطی نیستند. به علاوه، توانایی در ایجاد پاسخ فیزیولوژیکی به منظور سازش با تغییرات محیطی، حفظ توان تولیدمثلی و بقای جاندار را تامین می‌کند. از این رو، توانایی سازش جاندار می‌تواند به عنوان شاخص استرس تلقی و بر اساس ظرفیت تطبیق فیزیولوژیکی آن تعیین شود. شاخص‌هایی که در این مقوله برای *Azumapecten ruschenbergerii*، در خلیج چابهار و در دو زمان قبل و بعد از مانسون مورد بررسی قرار گرفتند شامل نسبت اکسیژن مصرفی به نیتروژن دفعی و شاخص وضعیت بدن بودند. از شاخص اول به طور گسترده برای مطالعه متابولیسم جانور استفاده می‌شود. شاخص دوم عبارت است از سهم اشغال شده حجم داخلی پوسته توسط بدن. بر این اساس، شاخص‌های استرس تعیین و از نظر آماری بررسی شدند. میانگین هر دو شاخص در دوره قبل از مانسون نسبت به بعد از مانسون با تغییر معنی‌دار همراه بود (افزایش شاخص اول و کاهش شاخص دوم؛ $P<0/05$). وضعیت هر دو شاخص حاکی از کاهش استرس محیط در دوره بعد از مانسون برای دوکفه‌ای مذکور در ایستگاه‌های نمونه‌برداری بود.

واژگان کلیدی: *استرس، فیزیولوژی،* Azumapecten ruschenbergerii*، خلیج چابهار.*

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار. ایران.
۲- استاد گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۴- استادیار موسسه تحقیقات شیلاتی کشور، چابهار، ایران.
* نویسنده مسئول: m.tootooni@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

خلیج چابهار در جنوب شرقی ایران و مجاورت دریای عمان، تحت تاثیر پدیده فصلی مانسون قرار دارد که این پدیده بر تنوع و غنای پلانکتونی (زیربنای زنجیره غذایی) در این خلیج اثرگذار است (Fazeli and Zare, 2011). از سوی دیگر، افزایش فعالیت‌های عمرانی در خلیج چابهار توجه و نگرانی فزاینده‌ای را نسبت به وضعیت سلامت زیست‌محیطی این خلیج ایجاد کرده است (ممقانی نسب، ۱۳۹۱). بنابراین، ارزیابی و پایش زیستی این خلیج یکی از ضروریاتی است که باید مورد توجه قرار گیرد و با استفاده از شاخص‌های موجود به انجام رسد.

در بررسی کیفی و ارزیابی اثر تغییرات محیطی بر جانوران غالبا استفاده از موجودات بی‌مهره و چسبیده به بستر[1] توصیه می‌شود. زیرا قادر به گریز از عوامل متغیر و مخرب محیطی نیستند. بنابراین، برای حفظ بقا باید سازش یابند و در غیر این صورت از بین می‌روند. به علاوه، محدوده مقاومت در این موجودات به طور نسبی وسیع‌تر است. سیستم سم‌زدایی آن‌ها بسیار ابتدایی است و سنجش آن به سهولت امکان‌پذیر است (Bayne et al.,1985).

دوکفه‌ای‌ها تقریبا در تمام اکوسیستم‌های ساحلی و مصبی یافت می‌شوند (Savari, 1988). اکثر دوکفه‌ای‌ها از مواد معلق در آب تغذیه می‌کنند و می‌توانند حجم آب قابل توجهی را از میان آبشش‌های بزرگ خود عبور داده، ذرات ریز غذایی موجود در آب دریا را فیلتر کنند (Widdows and Staff, 2006). ذرات غذایی موجود در مواد معلق چند نوع هستند که به طور بالقوه می‌توانند توسط صافی‌خواران مورد استفاده قرار گیرند (Widdows et al., 1979). بخش قابل استفاده، به طور عمده فیتوپلانکتون‌ها هستند، اما باکتری‌ها و مواد خرد[2] آلی نیز بخش مهمی از رژیم غذایی فیتوپلانکتونی را تشکیل می‌دهد.

سازش فیزیولوژیکی موجودات دریازی با محیط طبیعی، یکی از مباحث جدی مورد بررسی زیست‌شناسان دریایی است. توانایی موجود زنده در ایجاد پاسخ سازشی (فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رفتاری) به تغییرات محیطی، تامین کننده بقای جاندار و توان تولیدمثلی آن است (Savari, 1988). بنابراین، توانایی سازش جاندار می‌تواند به وسیله ظرفیت تطبیق فیزیولوژیک محاسبه شود.

1- Sessile

2- Detritus

www.SID.ir

Archive of SID

پاسخ موجودات به دامنه وسیعی از عوامل استرس‌زا مورد بررسی قرار می‌گیرد. از جمله این عوامل می‌توان موارد زیر را برشمرد (Bayne et al., 1985):

عوامل داخلی که شامل اندازه اجزا و اندام‌ها، سن، شرایط تولیدمثلی و تغذیه‌ای هستند و عوامل خارجی شامل دما، شوری، میزان غذای فیلتر شده، اکسیژن محلول، ذرات معلق و آلاینده‌ها، تماس با هوا[3]، شدت نور، سرعت جریان آب و عوامل استرس‌زای انسانی در مراحل مختلف پژوهش (شامل طراحی، اندازه‌گیری و تفسیر نتایج).

اغلب جانوران دریایی، از جمله دوکفه‌ای‌ها، خونسرد هستند و در نتیجه بیشتر اعمال فیزیولوژیکی بدن آن‌ها وابسته به دما است (Dame, 1996). چنین انتظار می‌رود که احتمالا نوسانات ناچیز یک عامل محیطی مانند دما، تاثیر زیادی بر نقش اکولوژیکی موجودات زنده بگذارد. زیرا دما عامل اصلی اثرگذار بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی جانوران است (Gillooly et al., 2001) و بنابراین، یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده کنج[4] اکولوژیکی برای گونه است (Chase and Leibold, 2003).

به این ترتیب، تغییر دمای محیط که در طی مانسون رخ می‌دهد می‌تواند یک عامل اثرگذار بر روند فیزیولوژیک بدن آن‌ها (و به عنوان یک عامل استرس‌زا) تلقی شود (Dame, 1996; Mubiana and Blust, 2007).

از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی نشانگر میزان استرس، نسبت اکسیژن مصرف شده به نیتروژن دفع شده و شاخص وضعیت بدن[5] است. شاخص اول از واکنش‌های زیستی مشتق شده است (Bayne et al., 1985). به علاوه، نسبت O/N به طور گسترده برای مطالعه متابولیسم گونه‌های جانوری استفاده می‌شود (Mayzaud and Conover, 1988) و به طور کلی، مقادیر کم نسبت O/N (بین ۳ تا ۱۶) حاکی از افزایش تقریبی اتکای متابولیسم بر مواد پروتئینی است. مقادیر بین ۱۶ و ۶۰، نمونه بارز استفاده از جیره شامل مخلوطی از پروتئین، چربی و کربوهیدرات است. در حالی که مقادیر بالای ۶۰ نشان دهنده وابستگی اولیه جانور به جیره چربی و کربوهیدرات است (Quigley et al., 2002).

3- Aeration
4- Niche
5- Body Condition Indices

www.SID.ir

Archive of SID

در این مطالعه با بررسی این دو شاخص در دوکفه‌ای غالب دریای عمان *Azumapecten ruschenbergerii* (Tryon, 1869) که به طور عمومی «اسکالوپ» نامیده می‌شود، میزان استرس حاکم بر جانداران خلیج چابهار در دو دوره قبل و بعد از مانسون با یکدیگر مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

اسکالوپ‌های مورد نظر (*Azumapecten ruschenbergerii* Tryon,1869) در خرداد و بهمن ۱۳۹۱ به روش غواصی (SCUBA) از سه ایستگاه در ساحل چابهار و از دیواره‌های صخره‌ای و توده‌های مرجانی در اعماق بین ۲ تا ۴ متر جمع آوری شدند. ایستگاه‌های نمونه‌برداری که مختصات مکانی آن‌ها در جدول ۱ آمده است، شامل اسکله بهشتی، اسکله کلانتری (صخره‌ای) و ساحل مقابل هتل لیپار (مرجانی) بود (شکل ۱).

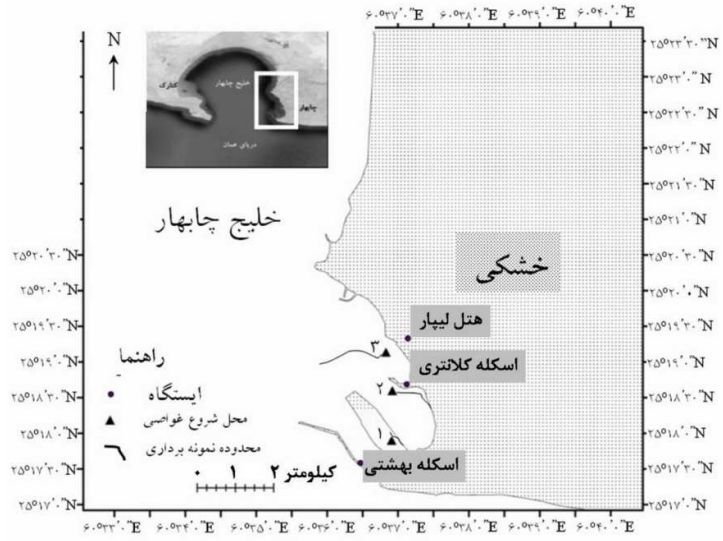
نمونه‌ها ابتدا در داخل گونی خیس قرار داده شدند و سپس، گونی توسط سبد بزرگ به مرکز تحقیقات شیلات چابهار منتقل شد. صدف‌ها پس از خروج از گونی، در استخر حاوی ۱۳،۲۰۰ لیتر آب دریای هوادهی شده با شوری و دمای یکسان با محیط (۳۵ PSU و ۲۸-۲۶ °C قبل از مانسون و ۲۲-۲۰ °C بعد از مانسون) در داخل سبدهای آویخته از دیواره نگهداری شدند.

جدول ۱: مختصات ایستگاه‌های نمونه‌برداری

ردیف	نام ایستگاه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱	بهشتی	۲۵° ۱۷' ۵۰" N	۶۰° ۳۶' ۵۹" E
۲	کلانتری	۲۵° ۱۸' ۳۵" N	۶۰° ۳۷' ۰۰" E
۳	لیپار	۲۵° ۱۹' ۱۷" N	۶۰° ۳۶' ۵۹" E

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: موقعیت ایستگاه‌های نمونه برداری. ۱: اسکله شهید بهشتی؛ ۲: اسکله شهید کلانتری؛ ۳: ساحل هتل لیپار.

زیست‌سنجی اسکالوپ

ارتفاع پوسته (فاصله لولا تا لبه پوسته) و خط عمود بر آن در یک کفه (طول پوسته) و فاصله بین برجستگی‌های محدب دو کفه (عرض پوسته) در ابتدا، توسط تخته زیست‌سنجی و سپس به وسیله کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Clark, 1969).

پس از زیست‌سنجی پوسته اسکلوپ‌ها با برس و چاقو تمیز شد و نمونه‌های هر ایستگاه به هفت گروه با تعداد ۲۴ صدف ۷۰ تا ۸۰ میلی‌متری تقسیم و در سبدهای آویخته از دیواره استخر نگهداری شدند.

ریخت‌شناسی گونه مورد مطالعه

تصاویر تهیه شده از جزئیات ریخت‌شناسی اسکالوپ به موزه نرمتن‌شناسی کاردیف در ولز (بریتانیا) ارسال شد تا توسط پروفسور گراهام الیور مورد بازبینی قرار گیرد. یکی از جزئیات ریخت‌شناسی، دندانه‌های موجود در شیار بایزال پوسته صدف بود که از جمله مشخصات فنی و کلید تشخیص گونه است.

محاسبه وزن تر

این جانور در هنگام خروج از آب، کفه‌های خود را به شدت به هم چسبانده و آب اضافی

www.SID.ir

Archive of SID

داخل جبه را به بیرون پرتاب می‌کند (بهتر است لولای صدف به سمت بدن پژوهشگر قرار گیرد). برای خشک کردن آب باقی‌مانده روی سطح خارجی پوسته نیز از دستمال کاغذی استفاده شد. سپس چند لحظه اجازه داده شد تا نم باقی‌مانده بر سطح پوسته صدف نیز خشک شود. پس از خشک شدن، وزن تر کل دوکفه‌ای توسط ترازو اندازه‌گیری شد.

تعیین حجم پوسته صدف

برای تعیین حجم پوسته صدف اسکالوپ، ابتدا پوسته از بدن جانور جدا شد و پس از شستشو و خشک شدن، درز بین دو کفه با استفاده از چسب سیلیکون کاملا آب‌بندی شد. سپس، از بالاترین منفذ ورودی، به وسیله سرنگ با دقت نیم میلی‌لیتر، آب به داخل پوسته تزریق شد (شکل ۲).

شکل ۲: تزریق آب به داخل پوسته آب‌بندی شده اسکالوپ برای تعیین حجم داخلی پوسته

پس از همتراز شدن سطح آب با منفذ ورودی، عمل تزریق متوقف شد. به این ترتیب، حجم آب تزریق شده به داخل پوسته، بیانگر حجم داخلی آن با دقت نیم میلی‌لیتر خواهد بود (شکل ۲).

بررسی بافت‌شناسی غده جنسی

برای اطمینان از این که همه صدف‌ها جنسیت یکسانی داشته باشند، پس از صید از دریا غده جنسی آن‌ها از نظر رنگ و شکل ظاهری بررسی شد و سپس، مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفت. به این منظور، ۱۰ غده جنسی قبل از مانسون و ۱۰ غده جنسی بعد از مانسون پس از جداسازی از توده بدن، به محلول ثبوت بوئن انتقال داده شدند. نمونه‌ها پس از گذشت ۲۴ تا ۴۸ ساعت از بوئن خارج و به مدت ۱۰ ساعت (سراسر شب) در الکل ٪۷۰ قرار داده شدند تا رنگ زرد حاصل از اسید پیکریک موجود در ترکیب محلول بوئن خارج شود. برای انجام کارهای بافت‌شناسی از دستگاه هیستوکینت (Tissue Tek ،RX-11B Rotary، ژاپن) استفاده شد. آب‌گیری نمونه‌ها با استفاده از روند افزایشی اتانول ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد صورت گرفت و در ادامه، نمونه‌ها به محلول زایلول برای شفاف شدن انتقال پیدا

www.SID.ir

Archive of SID

کردند. سپس، برای مقاوم کردن بافت‌ها در زمان برش و قالب‌گیری، نمونه‌ها به ظروف حاوی پارافین مذاب منتقل شدند. پس از قالب‌گیری، از نمونه‌ها، با میکروتوم آنالوگ- دیجیتال (RM2245، Leica، آلمان) برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. پس از تهیه لام، رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین- ائوزین[6] انجام شد که ترکیبی از رنگ‌های اسیدی و قلیایی هستند. به این ترتیب، هسته سلول به رنگ آبی یا بنفش تیره و ماده بین سلولی به رنگ صورتی مشاهده می‌شود. در این روش، نمونه‌های بافتی پس از پارافین‌زدایی با محلول زایلول، در سری کاهشی اتانول ۱۰۰، ۹۰، ۸۰ و ۷۰ درصد قرار گرفتند. نمونه‌ها در مرحله بعدی با محلول‌های رنگی هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و پس از این که مجددا در سری افزایشی اتانول و شفاف‌سازی با زایلول خالص قرار گرفتند، در دمای اتاق خشک شدند. سپس، لامل‌ها توسط چسب کانادا- بالزام چسبانده شده، با میکروسوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال با بزرگنمایی‌های متفاوت مورد بررسی ریخت‌شناسی بافتی[7] قرار گرفتند (Meyers, 2000).

محاسبه وزن خشک توده بدن

قبل از شروع و پس از انجام آزمایش‌ها، وزن تر و وزن خشک کل صدف، وزن تر و وزن خشک پوسته خالی، وزن تر و وزن خشک توده بدن[8] اسکالوپ اندازه‌گیری شد.

برای محاسبه وزن خشک بافت نرم صدف، بدن صدف (بدون پوسته) به مدت حدود ۱۰ ساعت در گرمخانه[9] با دمای ۶۰°C قرار گرفت (Forster and Zettler, 2004).

پوسته‌های جدا شده نیز یک‌بار پس از تمیز و خشک شدن وزن شدند و بار دیگر بعد از گذراندن دمای ۶۰°C به مدت ۴ ساعت، مجددا وزن شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. تمام مراحل توزین به وسیله ترازو با دقت ۰/۰۰۱ (GF300، AND، ژاپن) انجام شد.

طراحی آزمایش

به منظور ایجاد سازش و کاهش اثر استرس جابه‌جایی، آزمایش‌های اندازه‌گیری پاسخ فیزیولوژی اسکالوپ *A. ruschenbergerii* (Widdows and Bayne, 1971; Sara and Pusceddu, 2008; Ezgeta-Balic et al., 2011) پس از گذشت هفت روز شروع شد.

6- H&E (Hematoxylin and Eosin)
7- Histomorphology
8- Soft Body
9- Oven

www.SID.ir

Archive of SID

برای انجام آزمایش‌ها، مطابق شکل ۳، هر جفت صدف در داخل ظروف دو لیتری کاملا بسته و حاوی آب دریای تصفیه و هوادهی شده در دو سطح دمایی مختلف شامل محدوده دمایی ۲۸°C-۲۶ معادل دمای قبل از مانسون و محدوده دمایی ۲۲°C-۲۰ معادل دمای بعد از مانسون، قرار گرفتند.

برای هر دو گروه آزمایشی دمای قبل و بعد از مانسون، ۶ جفت اسکالوپ برای اندازه‌گیری تراکم ریزجلبک‌ها و اکسیژن باقی‌مانده و ۶ جفت برای اندازه‌گیری غلظت آمونیا[10] و وزن مدفوع در نظر گرفته شد.

به منظور تثبیت دمای آب، ظروف حاوی صدف و آب دریا در اتاق ایزوله دارای دمای ثابت قرار گرفتند. ریزجلبک مورد تغذیه صدف از محیط طبیعی و آب دریای ایستگاه‌های نمونه‌برداری (حدود ۶۰۰ لیتر از هر ایستگاه) در آزمایشگاه جلبک‌شناسی مرکز تحقیقات شیلات چابهار صاف (با صافی ۲۰ میکرون)، جداسازی و با هدف تکثیر و نگهداری، هوادهی شد. ذرات معلق[11] ریزجلبک پس از گذشت حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه از استقرار اسکالوپ‌ها اضافه شد و پس از اندازه‌گیری غلظت اکسیژن درِ ظروف بسته و آب‌بندی شد.

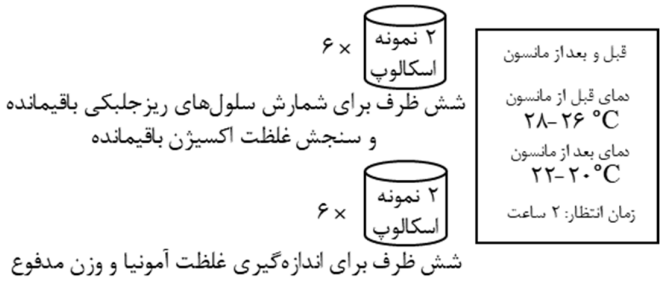
به این ترتیب، اسکالوپ‌ها با ریزجلبک‌های حاصل از محل صید و با غلظت حداقل ۲۵،۰۰۰ Cell/mL تغذیه شدند (Laing, 2002; Widdows and Staff, 2006; Ezgeta-Balic et al., 2011). ظرف شاهد نیز فاقد صدف بود.

پس از گذشت دو ساعت نگهداری اسکالوپ در تیمارهای یاد شده، اکسیژن محلول باقی‌مانده در آب توسط پروب اکسیژن‌متر (HQ40d Multimeter، HACH، آمریکا) اندازه‌گیری و اسکالوپ‌ها از ظرف خارج شدند. به منظور تثبیت ریزجلبک‌های باقی‌مانده، به آب ظرف‌های مخصوص شمارش سلول‌های ریزجلبکی، ۵mL فرمالین ٪۵ اضافه شد (Michael, 1984) و بعد با استفاده از لام شمارش[12] و میکروسکوپ نوری سلول‌های ریزجلبکی باقی‌مانده شمرده شد (Mitra, 2006). پس از جمع‌آوری مدفوع، آب ظروف اندازه‌گیری آمونیا برای سنجش به روش Solorzano مورد استفاده قرار گرفت (Mubiana and Blust, 2007).

10- Ammonia, NH3-N
11- Suspension
12- Sedgewick – Rafter

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: نحوه دسته‌بندی ۲۴ اسکالوپ هم‌اندازه در ۱۲ ظرف ۲ لیتری

نسبت اکسیژن مصرف شده به نیتروژن دفع شده (شاخص O/N)

از نسبت بین اکسیژن مصرف شده و نیتروژن دفع شده (معادل اتمی نسبت O/N)، به عنوان شاخصی برای مصرف نسبی پروتئین در متابولیسم استفاده شد (Bayne et al., 1985). بنابراین، پس از برآورد مقادیر اکسیژن مصرف شده و آمونیای دفع شده، برای مقایسه این دو نرخ با یکدیگر، نسبت O/N محاسبه شد.

شاخص وضعیت بدن

شاخص وضعیت بدن[۱۳] (BCI) به عنوان معیاری برای میزان پایداری و استقامت صدف، عبارت است از سهم اشغال شده حجم داخلی پوسته توسط بافت‌های بدن. بنا به تعریف، شاخص وضعیت بدن باید مطابق رابطه ۱ تعیین شود (Bayne et al., 1985). اما، برای رفع مشکلات اندازه‌گیری وزن‌تر و میزان متغیر آب در بافت بدن، برای محاسبه شاخص BCI از رابطه ۲ بر اساس وزن خشک استفاده شد (رابطه ۲).

رابطه ۱:

$$BCI\ (g/mL) = (W_W / V_S) \times 100$$

W_W: وزن تر توده بدن (گرم). V: حجم پوسته (میلی‌لیتر).

رابطه ۲:

$$BCI\ (g/mL) = (W_D / V_S) \times 100$$

W_W: وزن خشک توده بدن (گرم). V: حجم پوسته (میلی‌لیتر).

13- Body Condition Index

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در نرم‌افزار SPSS 17 در سطح اطمینان ٪۹۵ استفاده شد.

نتایج

تشخیص گونه

نمونه زنده یک اسکالوپ *Azumapecten ruschenbergerii* ۷۰ میلی‌متری در حال صافی‌خواری در شکل ۴- الف نشان داده شده است. لبه جبه این اسکالوپ با رنگ‌آمیزی و آرایش خاص و در حال انجام حرکت موجی مشاهده شد. سطح خارجی پوسته در شکل ۴- ب مشاهده می‌شود که با چاقو و برس تمیز شده است و اثر زواید جدا شده از پوسته قابل رویت است. در شکل ۴- ج سطح داخلی پوسته و لولای آن دیده می‌شود و شکل ۴- د شش دندانه را نشان می‌دهد که در شیار پوسته چپ واقع شده و با فلش به آن‌ها اشاره شده است. همچنین، پروفسور گراهام الیور، تصویر پوسته نمونه مورد بررسی را به عنوان *Azumapecten ruschenbergerii* یا «صدف غالب دریای عمان» تایید کرد.

جنسیت *Azumapecten ruschenbergerii*

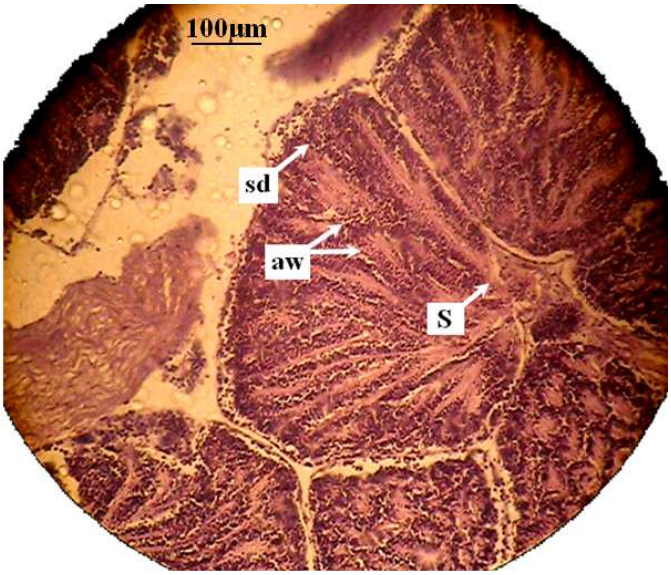
مطابق شکل ۵ که تصویر میکروسکوپی غده جنسی را در اسکالوپ مورد مطالعه نشان می‌دهد و نتایج به دست آمده از بررسی ترشحات غده جنسی (جدول ۲)، مشخص شد که اسکالوپ‌های شرکت کننده در آزمایش‌ها نر بودند.

(الف) (ب) (ج) (د)

شکل ۴: سطوح خارجی و داخلی صدف ۸۰ میلی متری *Azumapecten ruschenbergerii* الف) رنگ جبه با توجه به رنگ بستر، بین صورتی کم‌رنگ تا قهوه‌ای تیره تغییر می‌کند. ب) سطح پوسته دارای نقوش مضرس است. ج) سطح داخلی پوسته و لولای آن. د) فلش دندانه‌های شیار پوسته را نشان می‌دهد که در شناسایی دوکفه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵: تصویر میکروسکوپی غده جنسی نر در *Azumapecten ruschenbergerii* ۷۰ میلی‌متری. S: اسپرم. aw: دیواره حباب (Alveolar Wall). sd: اسپرماتید. (H & E).

جدول ۲: ترشحات غدد جنسی *Azumapecten ruschenbergerii* ۷۰ میلی‌متری (n=۲۰)

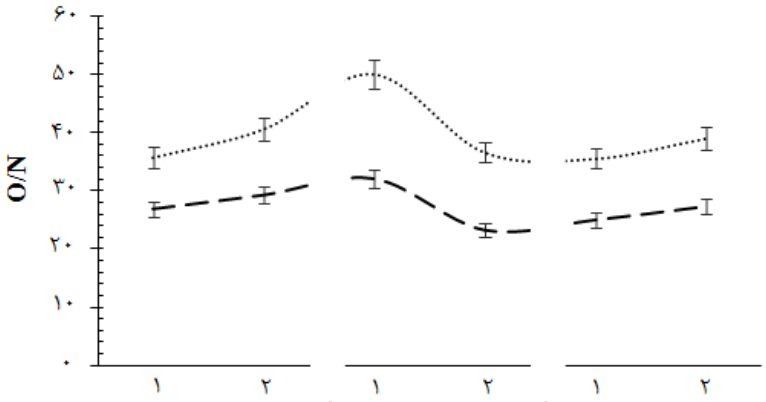
موعد زمانی آزمایش	نوع ترشح غده جنسی	جنسیت اسکالوپ
قبل از مانسون	اسپرم	نر
بعد از مانسون	اسپرم	نر

نسبت اکسیژن مصرف شده به نیتروژن دفع شده (شاخص O/N)

میانگین شاخص O/N قبل از مانسون ۳/۱۰±۲۷/۲۹ و بعد از مانسون ۵/۴۴±۳۹/۵۷ بود (شکل ۶). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه، تفاوت معنی‌دار این شاخص را برای دو دوره قبل و بعد از مانسون نشان داد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID



ایستگاه	بهشتی		هتل لیپار		کلانتری	
بعد از مانسون	۳۵/۷۶	۴۰/۵۶	۴۹/۹۳	۳۶/۶۵	۳۵/۵۶	۳۸/۹۸
قبل از مانسون ----	۲۶/۸۹	۲۹/۲۴	۳۲/۰۴	۲۳/۲۸	۲۴/۹۸	۲۷/۲۹

شکل ۶: مقایسه شاخص O/N در دو دوره قبل و بعد از مانسون. فزونی معنی دار نسبت O/N در موعد بعد از مانسون و برتری وضعیت تغذیه در ساحل باز هتل لیپار نسبت به سواحل بهشتی و کلانتری. ۱: محاسبه نسبت O/N در آغاز دوره. ۲: محاسبه نسبت O/N در پایان دوره.

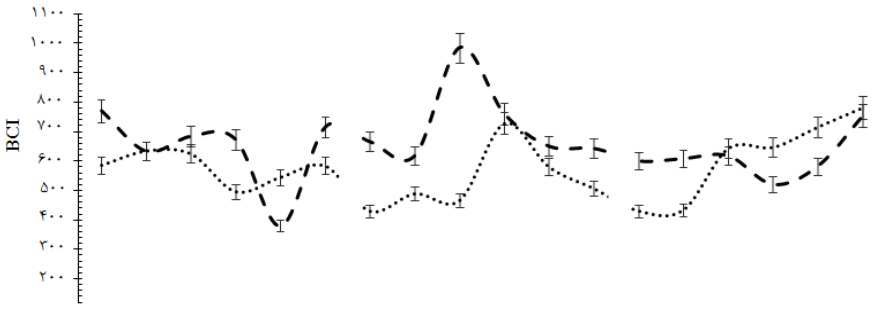
شاخص وضعیت بدن

میانگین شاخص وضعیت بدن قبل از مانسون ۱۰۲/۶۸ ± ۶۷۴/۸۸ و بعد از مانسون ۹۸/۳۷ ± ۵۸۱/۵۸ بود و آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت این دو مقدار را معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$).

شکل ۷ نشان دهنده تغییرات وزن خشک کل در *A. ruschenbergerii* است.

www.SID.ir

Archive of SID



	شهید کلانتری						هتل لیپار						شهید بهشتی					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶
قبل از مانسون ----	۶۰۰/۵۹	۶۰۸/۷۴	۶۱۸/۱۰	۵۲۱/۲۳	۵۸۳/۱۱	۷۵۲/۳۲	۶۴۲/۷۳	۶۵۰/۱۱	۷۵۹/۸۰	۹۸۴/۲۱	۶۱۹/۰۰	۶۶۵/۴۴	۷۱۵/۹۶	۳۷۹/۸۴	۶۷۲/۶۴	۶۸۴/۱۱	۶۳۳/۳۴	۷۷۰/۰۵
بعد از مانسون	۴۳۱/۵۰	۴۳۵/۱۹	۶۴۳/۶۷	۶۴۷/۲۸	۷۱۶/۲۵	۷۸۰/۹۳	۵۸۰/۳۷	۷۲۸/۰۸	۴۶۷/۱۶	۴۹۰/۱۶	-	۴۳۰/۵۸	۵۸۳/۹۷	۵۴۶/۱۱	۴۹۶/۷۳	۶۲۵/۰۸	۶۳۵/۱۳	۵۸۶/۶۹

شکل ۷: مقایسه شاخص وضعیت بدن (BCI) در دو دوره قبل و بعد از مانسون. کاهش معنی‌دار BCI در دوره بعد از مانسون و وضعیت بهتر آن در ساحل هتل لیپار. اعداد ۱ تا ۶ ترتیب اندازه‌گیری‌ها را از آغاز تا پایان دوره با فاصله یک هفته‌ای نشان می‌دهند.

بحث

در مطالعه حاضر تمام دوکفه‌ای‌های *Azumapecten ruschenbergerii* بررسی شده نر بودند و برش‌های بافتی به دست آمده از غده جنسی آن‌ها (شکل ۵) مشابه تصاویر به دست آمده از دوکفه‌ای‌های *Mesodesma mactroides* توسط Herrmann و همکاران (۲۰۰۹) بود.

دندانه‌های داخل شیار صدف از صفاتی است که در شناسایی صدف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rosenberg and Dijkstra, 2015). بنابراین، در تصاویر ارسال شده به موزه کاردیف دندانه‌ها نیز در نظر گرفته شدند.

اندازه‌گیری نسبت O/N از طریق محاسبه نسبت اکسیژن مصرف شده به آمونیای تولید شده انجام می‌شود که هر دو از اجزای معادله انرژی هستند (Bayne et al., 1985). نسبت

www.SID.ir

Archive of SID

O/N شاخصی است برای میزان مصرف پروتئین در متابولیسم انرژی (Widdows, 1978). عوامل موثر بر این نسبت، دو دسته عوامل خارجی و داخلی هستند. از جمله عوامل داخلی مهم، تغییرات دوره جنسی و تخم‌ریزی است (Bayne et al., 1985) که با توجه به یکسان بودن و نر بودن تمام نمونه‌های شرکت کننده در آزمایش، تاثیر عامل تخم‌ریزی منتفی به نظر می رسد. نوسان متغیرهای زیست‌محیطی و فصلی، از مهمترین عوامل خارجی تاثیرگذار بر آبزیان به شمار می‌رود (Macleod and Helidoniotis, 2006). در زمره عوامل فصلی، تراکم غذای پلانکتونی قرار می‌گیرد که برای این پژوهش در دو دوره قبل و بعد از مانسون برای اسکالوپ‌ها یکسان در نظر گرفته شده بود و آن‌ها با غلظت حداقل ۲۵،۰۰۰ Cell/mL تغذیه شدند (Laing, 2002; Widdows and Staff, 2006; Ezgeta-Balic et al., 2011). در فرآیندهای متابولیک موجودات آبزی پرسلولی، اکسیژن محلول یک عامل اصلی محسوب می‌شود و منشا آن، اتمسفر و تولیدکنندگان اولیه هستند (Breitburg et al., 2003). غلظت اکسیژن نیز برای تمام آزمایش‌ها یکسان و معادل ۸/۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. از سوی دیگر، تغییرات فصلی اکسیژن محلول در خلیج چابهار نشان می‌دهد که میانگین غلظت اکسیژن فقط در هنگام مانسون دچار کاهش شدید شد و با دو دوره قبل و بعد از مانسون تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0/05$) (لقمانی دوین، ۱۳۹۴). عامل خارجی دیگری که بر نسبت اکسیژن مصرف شده بر آمونیای تولید شده اثر می‌گذارد دما است. بسیاری از دوکفه‌ای‌های دریازی در بازه دمایی ۳- تا ۴۴ درجه سانتی‌گراد زندگی می‌کنند (Gosling, 2004). مطالعه Widdows (۱۹۷۸) نشان می‌دهد که با افزایش دما (به ویژه بیش از ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نسبت O/N کاهش می‌یابد. بنابراین، مطابق شکل ۶ و نتایج Bayne و همکاران (۱۹۸۵) و Mayzaud (۱۹۷۳) مبنی بر این که «مقدار عددی بالا در نسبت O/N نشان می‌دهد که کاتابولیسم چربی و کربوهیدرات بر تجزیه پروتئین برتری دارد» و با توجه به یکسان بودن غلظت اکسیژن محلول در دو موعد قبل و بعد از مانسون، و نیز تراکم یکسان پلانکتون‌های مغذی به نظر می‌رسد افزایش معنی‌دار مقدار عددی نسبت O/N موید استرس کمتر در موعد بعد از مانسون به دلیل دمای مناسب‌تر (حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد) است.

www.SID.ir

Archive of SID

شاخص وضعیت بدن رابطه مستقیم با مقدار عددی وزن خشک و رابطه عکس با حجم پوسته صدف دارد. بنابراین کاهش کمی شاخص وضعیت بدن در دوره بعد از مانسون، با توجه به یکسان بودن ابعاد (حجم) پوسته صدف‌ها در دوره‌های قبل و بعد از مانسون (طول ۸۰-۷۰ میلی‌متر). به دلیل کاهش وزن خشک است. کاهش وزن خشک به دو دلیل خاص صورت می گیرد. یکی به دلیل کاهش وزن غدد گوارشی که محل ذخیره اصلی مواد غذایی هستند و نقش مهمی در توزیع مواد مغذی در سایر نقاط بدن ایفا می‌کنند. دیگری به دلیل کاهش وزن غدد جنسی. با توجه به یکسان بودن شرایط تغذیه آزمایشگاهی در هر دو موعد قبل و بعد از مانسون، به نظر می‌رسد که کاهش عددی شاخص وضعیت بدن ناشی از کاهش وزن خشک غدد جنسی باشد. شاخص وضعیت بدن در دوره بعد از مانسون به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش کمی شاخص وضعیت بدن، نشان دهنده افزایش محتویات آلی شرکت کننده در رشد است و وابسته به توازن بین میزان دسترسی به غذا، نرخ‌های مربوط به تغذیه و کاتابولیسم است. به عکس، کاهش شاخص وضعیت بدن نشانگر وجود استرس و مصرف مواد ذخیره‌ای یا گذراندن دوره تخم‌ریزی است (Bayne et al., 1985).

در مطالعه حاضر، کاهش شاخص وضعیت بدن در نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر سه ایستگاه که هر کدام تحت شرایط خاص خود قرار داشتند، رخ داد. به این ترتیب که ایستگاه شهید بهشتی در هنگام انجام این مطالعه محیطی تقریبا بسته بود و به منظور خشک کردن آن و توسعه اسکله، مرتبا با دستگاه گل‌پاش به داخل آن گل‌پاشی می‌شد. ایستگاه شهید کلانتری تا هم اکنون محیطی تقریبا باز است که در معرض ورود آب‌های آزاد قرار دارد و ایستگاه هتل لیپار ساحل کاملا باز و مشرف به آب‌های آزاد است. Gosling (۲۰۰۴) دما را عامل محدود کننده مهم می‌داند و از آن تعبیر به سد دمایی[14] کرده است. مطالعات وی همچنین نشان می‌دهد که دمای مطلوب برای تخم‌ریزی اسکالوپ‌های دارای تحمل دمای بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد، حدود ۲۵ درجه است (Gosling, 2004). در این پژوهش نیز کاهش BCI در نمونه‌های هر سه ایستگاه نشان دهنده اهمیت یک عامل کلیدی مشترک است و به نظر می‌رسد که کاهش دما به حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد عامل کاهش فعالیت تولیدمثلی *A.*

14- Temperature Barrier

www.SID.ir

Archive of SID

ruschenbergerii، کاهش وزن خشک غده جنسی و کاهش وزن خشک کل در دوره بعد از مانسون بوده است. در مجموع، کاهش فعالیت تولیدمثلی و کاهش دما به حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دوره بعد از مانسون، معادل است با استرس کمتر و افزایش نسبت O/N.

با توجه به نتایج این پژوهش و سایر مطالعات مشابه، به نظر می‌رسد که استفاده از شاخص‌های مذکور به منظور بررسی استرس‌های موجود در محیط زیست و از جمله ورود آلاینده‌ها به آب‌های دریایی ابزار بسیار مناسب‌تری نسبت به روش‌های سنجش شیمیایی است. زیرا بررسی غلظت آلاینده‌ها در محیط زیست نیازمند تهیه تیمار و کالیبراسیون لوازم سنجش است که خود باعث ورود آلاینده بیشتر به محیط زیست می‌شود. از این رو، بهتر است تا حد امکان در بدو امر برای پایش محیط زیست، از روش بررسی کم خطرتر و کم تهاجمی‌تر مانند بررسی شاخص‌های زیستی استرس استفاده شود و سپس، در صورت حصول مقادیر کمی حاد حاکی از وجود استرس، روش‌های تشخیصی به منظور بررسی جزء به جزء آلاینده‌ها به کار رود.

به علاوه، ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که با توجه به افزایش فعالیت‌های عمرانی در خلیج چابهار، بهتر است شاخص‌های استرس اسکالوپ به طور سالانه مورد بررسی قرار گیرد.

همچنین، نتایج به دست آمده در مورد هر یک از دو شاخص مذکور می‌تواند در مطالعات مربوط به تکثیر و پرورش همراه با بازدهی بالای این دوکفه‌ای و نیز در دستکاری‌های زیستی[15] برای ممانعت از شکوفایی پلانکتونی مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که بررسی شاخص‌های استرس فیزیولوژیک بر روی سایر گونه‌های نرمتنان نیز انجام شود.

تشکر و قدردانی

بسیار خرسندیم که مراتب سپاس خود را از عزیزانی که در انجام این پژوهش به هر صورت یاری‌رسان بوده‌اند به عمل آوریم. به خصوص جناب آقای دکتر علیرضا ساری که علاوه بر راهنمایی‌های موثر، به منظور شناسایی صدف، زمینه مشورت با پروفسور الیور را فراهم نمودند. جناب آقای دکتر حسین جعفری که در زمینه تحلیل‌های آماری کمک نمودند. کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات شیلات چابهار که

15- Biomanipulation

www.SID.ir

Archive of SID

امکانات انجام این پژوهش را در اختیار قرار دادند. خانم دکتر آزاده عتباتی که در رابطه با عملیات بافت‌شناسی ما را در این پژوهش همراهی نمودند. جناب آقای دکتر ایزدیار، مدیر آزمایشگاه‌های دانشکده شیمی دانشگاه فردوسی مشهد و سرکار خانم مهندس ضیایی کارشناس آزمایشگاه شیمی- فیزیک که در رابطه با کالریمتری، مواد، دستگاه‌ها و همه امکانات مورد نیاز در این پژوهش را در اختیار گذاشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

لقمانی دوین م. ۱۳۹۴. بررسی بیوسنتز متالوتیونین و تنوع پرتاران پهنه زیرکشندی خلیج چابهار متاثر از مانسون و فلزات سنگین با استفاده از GIS. رساله دکتری، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر. ۱۸۵ص.

ممقانی نسب ا. ۱۳۹۱. ارزیابی اثرات توسعه گردشگری بر محیط زیست دریایی (مطالعه موردی: خلیج چابهار). مجموعه مقالات اولین همایش ملی توسعه سواحل مکُران و اقتدار دریایی جمهوری اسلامی ایران، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، منطقه سوم نیروی دریایی راهبردی ارتش جمهوری اسلامی ایران، کنارک. شماره مقاله ۳۰۵۹، ۷ص.

Bayne B.L., Brown D.A., Burns K., Dixon D.R., Ivanovici A., Livingstone D.R., Lowe D.M., Moore M.N., Stebbing A.R.D. and Widdows J. 1985. The effects of stress and pollution on marine animals. Praeger Publishers, New York. 384P.

Breitburg D.L., Adamack A., Rose K.A., Kolesar S.E., Decker M.B., Purcell J.E., Keister H.E. and Cowan J.H. 2003. The pattern and influence of low dissolved oxygen in the Patuxent River, a seasonally hypoxic estuary. Estuaries, 26: 280–297.

Chase J.M. and Leibold M.A. 2003. Ecological Niches: Linking Classical and Contemporary Approaches. The University Press, Chicago. 221P.

Clark G.R. 1969. Shell characteristics of the family Pectinidae as environmental indicators. PhD Thesis, California Institute of Technology Pasadena, California. 101P.

Dame R.F. 1996. Ecology of Marine Bivalves an Ecosystem Approach. CRC Press, Boca Raton. 240P.

Ezgeta-Balic D., Rinaldi A., Peharda M., Prusina I., Montalto V., Niceta N. and Sara G. 2011. An energy budget for the subtidal bivalve *Modiolus barbatus* (Mollusca) at different temperatures. Marine Environmental Research, 71: 79–85.

Fazeli N. and Zare R. 2011. Effect of seasonal monsoons on calanoid copepod in Chabahar Bay- Gulf of Oman. Jordan Journal of Marine Sciences, 4(1): 55–62.

Forster S. and Zettler M.L. 2004. The capacity of the filter-feeding bivalve *Myaarenaria* L. to affect water transport in sandy beds. Marine Biology, 144: 1183–1189.

Gillooly J.F., James H.B., Geoffrey B.W., Van Savage M. and Eric L.C. 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. Science, 293(5538): 2248–2251.

www.SID.ir

Archive of SID

Gosling E. 2004. Bivalve Molluscs, Biology, Ecology and Culture. Fishing News Books, Blackwell, UK. 443P.

Herrmann M., Alfaya J.E.F, Lepore M.L., Penchaszadeh P.E. and Laudien J. 2009. Reproductive cycle and gonad development of the Northern Argentinean *Mesodesma mactroides* (Bivalvia: Mesodesmatidae). Helgol Marine Research, 63: 207–218.

Laing I. 2002. Scallop Cultivation in the UK: A Guide to Site Selection. CEFAS and University of Southampton, UK. 26P.

Macleod C. and Helidoniotis F. 2006. Biological status of the Derwent and Huon estuaries. Marine Research Laboratories, Tasmanian Aquaculture and Fisheries Institute, Tasmania. 109P.

Mayzaud P. 1973. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. II. Studies of the metabolic characteristics of starved animals. Marine Biology, 21: 19–28.

Mayzaud P. and Conover R.J. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. Marine Ecology Progress Series, 45: 289–302.

Meyers T.R. 2000. Fish Pathology Section Manual, Alaska Department of Fish and Game Commercial Fisheries Division, Alaska. 195P.

Michael P. 1984. Ecological Methods for Field and Laboratory Investigation. McGraw-Hill, USA. 145P.

Mitra A. 2006. Introduction to Marine Phytoplankton. Narendra Publishing House, India. 88P.

Mubiana V.K. and Blust R. 2007. Effects of temperature on scope for growth and accumulation of Cd, Co, Cu and Pb by the marine bivalve *Mytilus edulis*. Marine Environmental Research, 63: 219–235.

Quigley M.A., Landrum P.F., Gardner W.S., Stubblefield C.R. and Gordon W.M. 2002. Respiration, nitrogen excretion, and O:N ratios of the Great Lakes amphipod *Diporeia* sp, Vol. 120. NOAA Technical Memorandum, GLERL, USA. 16P.

Rosenberg G. and Dijkstra H. 2015. *Azumapecten ruschenbergerii* (Tryon, 1869). Mollusca Base. Retrieved September 13, 2015, from http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=393322on.

Sara G. and Pusceddu A. 2008. Scope for growth of *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck.,1819) in oligotrophic coastal waters (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). Marine Biology, 156: 117–126.

Savari A. 1988. Ecophysiology of the common cockle (*Cerastoderma edule* L.) in Southampton water, with particular reference to

www.SID.ir

Archive of SID

pollution. Ph.D. Thesis, University of Southampton, United Kingdom. 323P.

Widdows J. 1978. Physiological indices of stress in *Mytilus edulis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 58: 125–142.

Widdows J. and Bayne B.L. 1971. Temperature acclimation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 51: 827–843.

Widdows J., Moore M.N., Lowe D.M. and Salkeld P.N. 1979. Some effects of a dinoflagellate bloom *Gyrodinium aureolum* on the mussel *Mytilus edulis*. Journal of the Marine Biological Association UK, 59: 522–524.

Widdows J. and Staff F. 2006. Biological effects of contaminants: Measurement of scope for growth in mussels. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, 40: 1–30.

www.SID.ir

Archive of SID

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 6, No. 2, Summer 2018

The effect of monsoon on physiological stress indicators of Chabahar bay (Oman Sea) Bivalvia *Azumapecten ruschenbergerii* (Tryon, 1869) under laboratory condition

Mohammad Mansour Toutouni[1]*, Ahmad Savari[2], Babak Doustshenas[3], Nasrin Sakhaei[3], Danial Azhdari[4]

Received: October 2017 Accepted: June 2018

Abstract

Environmental quality assessments recommend use of sessile invertebrates. Because, they are unable to escape from environmental deterioration. In addition, the ability of adaptive responses to such environmental change, would determine its survival and reproduction potential. The organism adaptability may therefore be defined by its capacity to adjust the physiology to operate with optimal efficiency in a variable environment. Indicators that are discussed in this field for *Azumapecten ruschenbergerii*, at the Chabahar Bay and in the time before and after the monsoon, include: the ratio of consumed oxygen to excreted nitrogen and body condition index. The first is widely used to study the metabolism of animals. The second is the occupied space of internal volume of the shell by the body. Accordingly, stress indices were determined and statistically evaluated. The average of both indices was associated with significant changes (increase for the first and decrease for the second one) in relation to pre- and post-monsoon period ($P<0.05$). Evaluating both indicators suggests less environmental stress in the post-monsoon period to this bivalve living in sampling sites.

Key words: *Stress, Physiology,* Azumapecten ruschenbergerii*, Chabahar Bay*.

1- Assistant Professor in Marine Biology Department, Faculty of Marine Science, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.
2- Professor in Marine Biology Department, Faculty of Marine and Ocean Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
3- Associate Professor in Marine Biology Department, Faculty of Marine and Ocean Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.
4- Assistant Professor of Iranian Fisheries Science Research Institute, Chabahar, Iran.
*Corresponding Author: m.tootooni@yahoo.com

www.SID.ir