بررسی ریخت‌شناسی هموسیت‌های دو گونه خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (*Grapsus albolineatus*) و شناگر آبی (*Portunus segnis*) در استان هرمزگان

آناهیتا فشندی[۱]؛ شهلا جمیلی[۲] ؛ فریبرز احتشامی[۳] و تورج ولی نسب[۴]

fashandianahita@yahoo.com

۱و۲-دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱٤٥۱٥

۳و٤-مؤسسه تحقیقات علوم شیلات کشور، تهران صندوق پستی: ٦۱۱٦-۱٤۱٥٥

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۱

چکیده

این تحقیق برای بررسی نوع هموسیت در دو گونه خرچنگ (*Grapsus albolineatus*) و (*Portunus segnis*) و شناسایی برخی پارامترهای زیستی و بیومتریک مانند شمارش افتراقی و قطر هموسیت بوسیله میکروسکوپ نوری در آبهای استان هرمزگان (حوضه بندرعباس) در بهمن ۱۳۹۰ انجام گردید. براساس اندازه سلول و وجود گرانول‌های سیتوپلاسمی و نسبت هسته به سیتوپلاسم سه گروه اصلی هموسیت شامل: سلول‌های هیالینوسیت، سلول‌های گرانولوسیت کوچک (SGC) و سلول‌های گرانولوسیت بزرگ (LGC) در هر دو گونه شناسایی شدند.نتایج نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و هر یک از انواع سلول خونی و همچنین بین مجموع سلول‌ها در دو گونه وجود ندارد. در بررسی‌های انجام شده مشخص شد که اندازه انواع سلول‌های خونی در خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای بصورت معنی‌داری از خرچنگ شناگر آبی کوچکتر بود ($P<0.05$). در خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای سمی‌گرانولوسیت و در خرچنگ شناگر آبی هیالینوسیت نوع غالب سلول‌ها بودند، بترتیب ۵۱/۷۷ و ۴۷/۱۵. بین دو گونه از لحاظ قطر سلول‌های سمی‌گرانولوسیت و گرانولوسیت اختلاف معنی‌داری وجود داشت و قطر سلول‌ها در خرچنگ آبی بیشتر بودند ($P<0.05$) اما، درمورد سلول‌های هیالینوسیت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

لغات کلیدی: خرچنگ شناگر آبی، خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای، هموسیت، هیالینوسیت، گرانولوسیت، خلیج‌فارس

*نویسنده مسئول:fashanianahita@yahoo.com

مقدمه

آب‌های شور، نیمه شور و شیرین جهان زیستگاه انواع بی‌شماری از ماهیان و سایر آبزیان هستند که صدها گونه از آنها فقط بی‌مهرگان سخت‌پوستی به نام خرچنگ را تشکیل می‌دهند که امروزه در صید جهانی جایگاه ویژه دارند. مانند سایر بندپایان، سخت پوستان یک سیستم عروقی بازدارنده که در آن هموسیت‌های زیادی به راحتی در همولنف گردش می‌کنند. خرچنگ پس از میگوهای آب گرم مهمترین گروه تجاری در بین سخت‌پوستان می‌باشند (۱۰).

اهمیت و ارزش بالای خرچنگ موجب گردیده که حتی بعضی از کشورها، که بازار مصرف داخلی چندانی برای این آبزی ندارند به صید یا پرورش آن بپردازند، روسیه، اسپانیا، و ترکیه از تولیدکنندگان اصلی خرچنگ برای بازارهای اروپایی هستند (۱).

عوامل مهم در مرگ و میر سخت‌پوستان شامل تغییر عوامل زیست محیطی، تخریب محیط زیست، ماهیگیری بیش از حد،آفت‌کش‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها و آلودگی و غیره .... می‌باشند. با توجه به این که این فاکتورها می‌توانند باعث ایجاد بیماری و از بین رفتن خرچنگ‌ها شوند و از طرفی به دلیل نقش بسیار مهم هموسیت در عملکرد همو استاتیک و مکانیسم‌های دفاعی خرچنگ، لذا ضروری است، که خصوصیات ریخت‌شناسی هموسیت و اثر آن در مرگ و میر خرچنگ‌ها بررسی شود (۸).

یکی از شاخه‌های مهم پزشکی، دامپزشکی و آبزیان که اهمیت بسزایی در زمینه تشخیص بیماری‌ها دارد، خونشناسی است. بررسی فاکتورهای خونشناسی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌های آبزیان ایفا کند، به شرط آن که میزان طبیعی پارامترهای سلولی در شرایط طبیعی و فیزیولوژیک در دسترس باشد (۴).

در همولنف خرچنگ‌ها، سلول‌های خونی وجود دارد، که تا کنون به گروهای مختلف از جمله هموسیت، آمیبوسیت (Amebocyte) نام‌گذاری شده‌اند (۵). آمیبوسیت، یکی از سلول‌های متحرک و آمیب مانند در بافت‌ها و مایعات بسیاری از بی‌مهرگان که در رابطه با همگون سازی و دفع نقش دارند (۲).

هموسیت‌ها عامل اصلی ایمنی سخت‌پوستان هستند که عملکردهای متنوع ایمنولوژیک علاوه بر عملکردهای فیزیولوژیک شامل فاگوسیتوز و حفظ هموستاز، لخته شدن خون، ترمیم زخم و احاطه کردن ذرات خارجی علاوه بر سنتز لیپیدها، پروتیین‌ها و کربوهیدرات‌ها انجام می‌دهند. هموسیت‌ها همچنین در سنتز هموسیانین بکار رفته است (۱۲).

Grapsus albolineatus و*Portunus segnis* جز مهم‌ترین و غالب‌ترین گونه‌های خلیج فارس و دریای عمان و جز خرچنگ‌های پهن می‌باشند (۳). مطالعات انجام شده در حد خصوصیات ریختی و ظاهری بوده و هیچ مطالعه‌ای تاکنون در زمینه هموسیت این دو گونه در خلیج فارس و دریای عمان انجام نشده است و برای اولین بار است که هموسیت این دوگونه بررسی می‌شود.

با توجه به اهمیت خلیج فارس به دلیل موقعیت خاص خود و وجود منابع ارزشمندی چون *G. albolineatus* و *P. segnis* در این منطقه، لذا ضرورت انجام چنین تحقیقاتی روی گونه‌های موجود در خلیج فارس بدیهی به نظر می‌رسد.

اهداف مورد نظر در این پروژه عبارت بودند از: بررسی انواع هموسیت‌ها در این دو گونه، شمارش هموسیت‌های دو گونه مذکور و بررسی اندازه قطر سلول‌های خونی هیالینوسیت، گرانولوسیت و سمی‌گرانولوسیت در همولنف این دوگونه.

مواد و روشها

جهت بررسی فاکتورهای خونی از خرچنگ شناگر آبی *Portunus segnis* و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای *Grapsus albolineatus* در خلیج فارس، که در زمستان سال ۱۳۹۰ از ۳۰ عدد خرچنگ شناگرآبی و ۳۰ عدد خرچنگ سواحل صخره‌ای صید شدند، خون‌گیری به عمل آمد.

انجام آزمایشات در۳ مرحله صورت گرفت، مرحله صید در بندرعباس و تهیه نمونه‌ها از ترال‌های کف یا مشتاها صورت گرفت. مرحله خون‌گیری در آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان و بررسی فاکتورهای خونی در آزمایشگاه تشخیص طبی مؤسسه سرم سازی رازی حصارک صورت گرفته است.

طول کاراپاس CL از قسمت میانی پیشانی (از نوک خار) تا انتهای بدن و عرض کاراپاس CW (فاصله بین ۲ خار جانبی) به وسیله کولیس و با دقت یک میلی‌متر برای هر گونه اندازه‌گیری شد و پس از ثبت آنها اقدام به بررسی و محاسبه آنها با استفاده از نرم‌افزارهای Ecxel و SPSS برای آزمون‌های ضریب همبستگی بین متغیرهای جنسیت، طول و عرض کاراپاس، قطر

سلول‌های خونی و تعداد سلول‌های خونی مورد استفاده قرار گرفت.

خون‌گیری بوسیله‌ی سرنگ انسولین از قلب خرچنگ صورت پذیرفت. زمانیکه قلب به حداکثر حجم خود رسید، با سرنگ انسولین همولنف موجود در آن کشیده شده است. بعد از گسترش همولنف در روی لام، و خشک شدن گسترش، با الکل متیلیک (متانول) تثبیت شد. گسترش در دمای اتاق خشک گردید.

برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از محلول گیمسا (Gimsa) استفاده گردید. پس از تهیه لام گسترش و با استفاده از میکروسکوپ نوری هموسیت بررسی شدند و با توجه به شکل گلبول‌های سفید به شناسایی نوع گلبول سفید انجام گرفت. بعد از تشخیص سلول‌ها، تعداد هر یک از سلول‌ها تا انتهای لام شمارش شد. سپس تعداد هر یک از سلول‌ها بر حسب درصد بیان شد.

نتایج

براساس اندازه سلول و وجود گرانول‌های سیتوپلاسمی و نسبت هسته به سیتوپلاسم سه گروه اصلی هموسیت شامل سلول‌های هیالینوسیت، سلول‌های گرانولسیت کوچک (SGC) و سلول‌های گرانولوسیت بزرگ (LGC) در دو گونه شناسایی شدند.

سلولهای هیالینوسیت کوچکترین نوع سلول‌ها هستند که دارای یک هسته بزرگ مرکزی دندانه‌دار که توسط یک هاله سیتوپلاسمی معمولاً، بازوفیل احاطه شده است، می‌باشند. در گسترهای تثبیت نشده، این سلول‌ها، گستره‌ها یا زوائد کاذب نشان می‌دهند. سلول‌های هیالینوسیت، مدور یا بیضی می‌باشند. سیتوپلاسم سلول‌های هیالینوسیت تنها حاوی تعداد کمی گرانولوسیت یا بدون گرانولوسیت می‌باشند. ریخت‌شناسی هیالینوسیت‌ها براساس نوکلئوزهای مرکزی و نسبتاً بزرگشان که بوسیله مقدار کوچکی سیتوپلاسم احاطه شده‌اند، توصیف می‌شود.

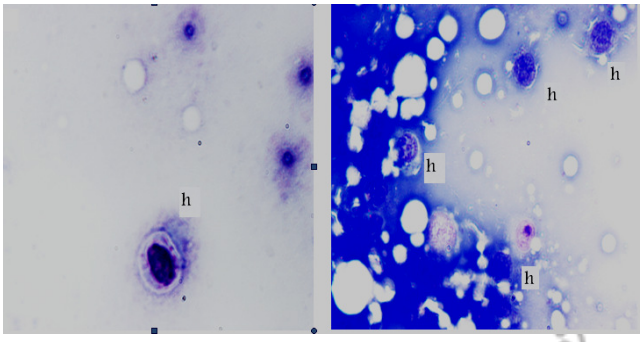
سلولهای گرانولوسیت سلول‌های بزرگی هستند. دارای یک هسته کوچک لوبیایی می‌باشند. تعداد زیادی گرانول‌های درشت در سیتوبلاسم قرار دارند. گرانولسیت‌ها اسیدوفیل می‌باشند. سیتوپلاسم همچنین شامل تعداد کمی میتوکندری و یک دستگاه گلژی پیچیده، تعداد کمی شبکه آندوپلاسمی می‌باشند.

حد واسط بین دوگروه سلولی قبلی است. از لحاظ اندازه بین هیالینوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها قرار دارند. یک هسته مرکزی یا خارج مرکزی کروی یا لوبوله دارند که از هسته سلولهای هیالینوسیت کوچکتر ولی ازگرانولوسیت‌ها بزرگتر هستند. هموسیت‌های سمی‌گرانولسیت تعداد کمتری گرانول دارند، عموماً تخم مرغی شکل و نرخ پایین هسته سیتوپلاسمی دارند.

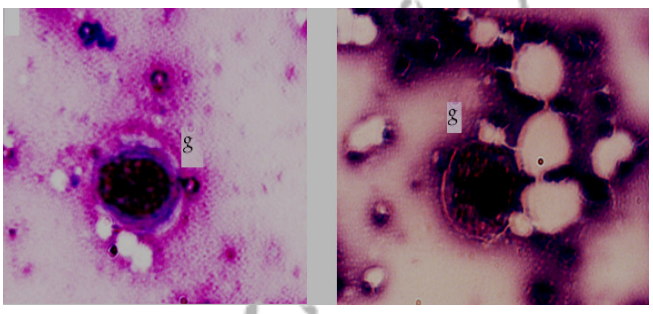
هیالینوسیت‌ها به عنوان فاگوسیت‌ها یا پروهموسیت‌ها نامیده می‌شوند.گرانولوسیت‌ها به عنوان ائوزینوفیل‌های گرانولار یا آموبوسیت‌های گرانولار تعریف می‌شوند، سمی‌گرانولوسیت‌ها نیز منوسیت‌ها یا سلول‌های متوسط نامید می‌شوند.

بعد از رنگ‌آمیزی گیمسا گرانولوسیت‌ها یک هسته بیضوی دور از مرکز و گرانول‌های سیتوپلاسمی فراوان داشتند. برعکس گرانولوسیت‌ها، هیالینوسیت‌ها دارای هسته بزرگ مرکزی بودند. گرانولوسیت بزرگ و گرانولوسیت کوچک به رنگ قرمز یا صورتی دیده شدند و هر دو نوع سلول در خرچنگ شناگر آبی و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای مشاهده شد (اشکال ۱، ۲ و ۳).

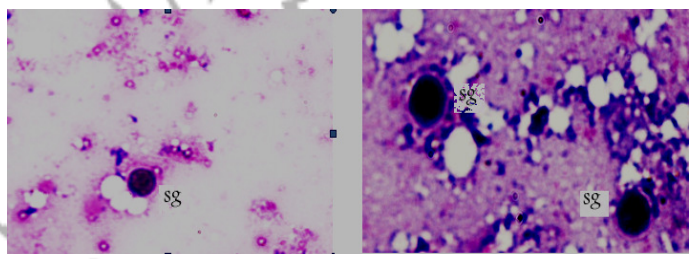
هدف از این آزمایشات تعیین درصد میانگین هریک از انواع هموسیت‌های خرچنگ شناگر آبی و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای می‌باشد.



شکل۱- هیالینوسیت (h))خرچنگ شناگر آبی(سمت راست)، خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (سمت چپ) با بزرگ‌نمایی ×۱۰۰۰



شکل۲- گرانولسیت بزرگ (g) خرچنگ شناگر آبی(سمت راست)، خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای(سمت چپ) با بزرگ نمایی ×۱۰۰۰

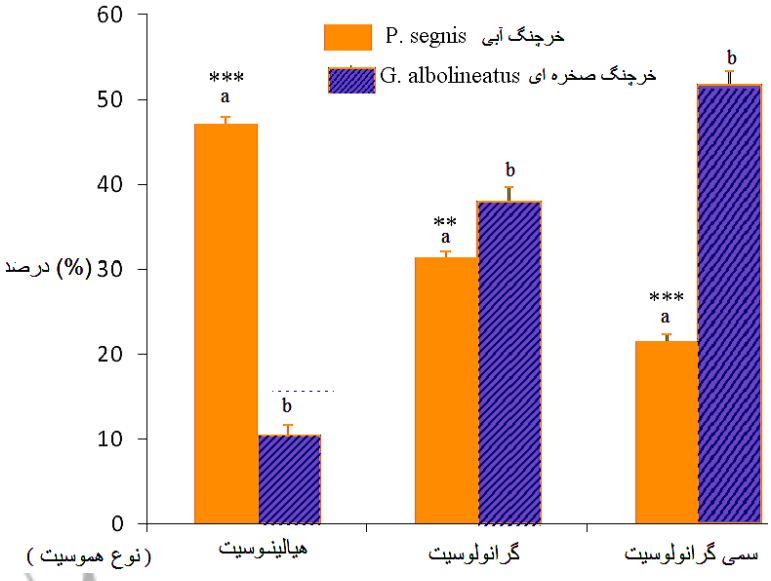


شکل۳- گرانولسیت (sg) کوچک خرچنگ شناگر آبی(سمت راست)، خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای(سمت چپ) با بزرگ نمایی ×۱۰۰۰

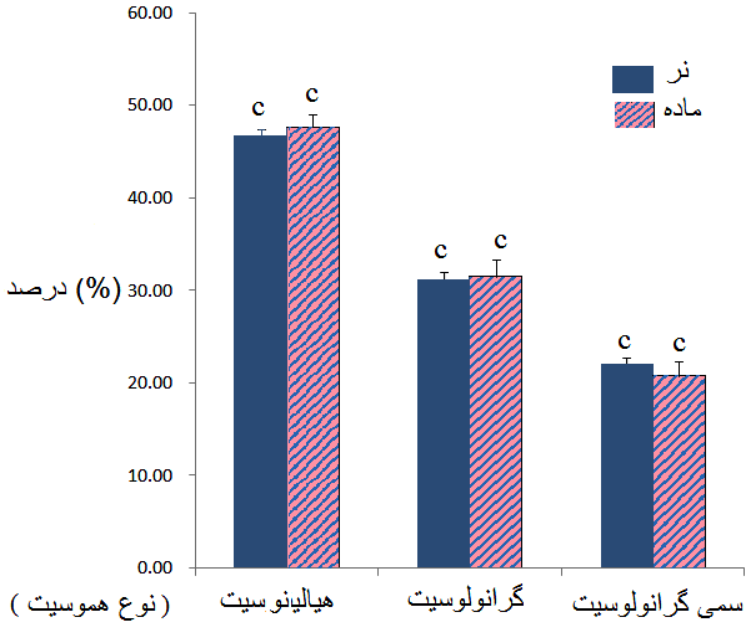
درصد میانگین (±انحراف معیار) سلول‌های هیالینوسیت خرچنگ شناگر آبی و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای بترتیب (۰/۸۴±۴۷/۱۵ درصد) و (۱/۳۱± ۱۰/۳۲درصد) بودند. درصد میانگین سلول‌های گرانولوسیت خرچنگ شناگر آبی (۰/۷۲±۳۱/۳۸ درصد) و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (۱/۸۱±۳۸/۹۱ درصد) می‌باشد. درصد میانگین سلول‌های سمی‌گرانولسیت خرچنگ شناگر آبی (۰/۷۹±۲۱/۴۶ درصد) و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (۱/۵۶±۵۱/۷۶ درصد) درصد می‌باشد (نمودار ۱ ت ۴). همانطور که در نمودار دیده می‌شود، سلول‌های هیالین خرچنگ آبی بطور معنی‌داری از خرچنگ صخره‌ای بیشتر ($P<0.001$) و سلول های گرانولوسیت به طور معنی‌داری از خرچنگ صخره‌ای کمتر است ($P<0.01$). همچنین سمی‌گرانولوسیت‌ها بطور معنی‌داری از خرچنگ صخره‌ای کمتر هستند ($P<0.001$).

دو متغیر جنسیت و تعداد سلول‌های هیالینوسیت، گرانولسیت و سمی گرانولسیت خرچنگ شناگر آبی از یکدیگر مستقل می‌باشند یعنی هیچ تغییر معنی‌داری بین جنس نر و ماده در تعداد هموسیت‌ها دیده نشد و دو جنس تقریباً نسبت‌های مشابهی از سه نوع سلول داشتند. دو متغیر جنسیت و تعداد سلول‌های هیالینوسیت، گرانولسیت و سمی گرانولسیت خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای نیز از یکدیگر مستقل می‌باشند یعنی هیچ تغییر معنی‌داری بین جنس نر و ماده در تعداد هموسیت‌ها دیده نشد و دو جنس تقریباً نسبت‌های مشابهی از سه نوع سلول داشتند.

در جنس نر خرچنگ شناگر آبی، درصد میانگین سلول‌های هیالینوسیت ۴۶/۶۱ و درصد میانگین سلول‌های گرانولسیت ۳۱/۱۵ و سمی‌گرانولسیت ۲۲/۲۴ می‌باشد. در خرچنگ ماده شناگرآبی، میانگین سلول‌های هیالینوسیت ۴۷/۷۷ و درصد میانگین سلول‌های گرانولسیت ۳۱/۳۳ و سمی‌گرانولوسیت ۲۰/۹ می‌باشد (نمودار ۲). همانطور که در نمودار دیده می‌شود، هموسیت‌های نر و ماده هیچ گونه تفاوت معنی‌داری با هم نشان نمی‌دهند.

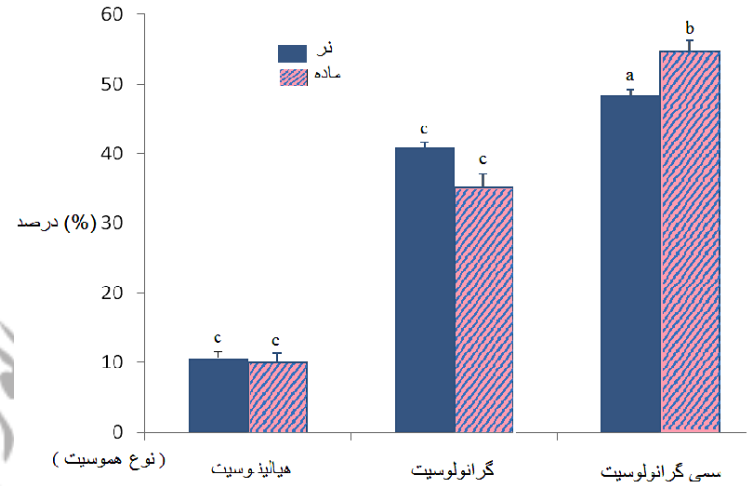


نمودار ۱: مقایسه درصد میانگین سلول‌های خونی خرچنگ شناگرآبی و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (: $P<0.01$، ***: $P<0.001$) (b,a اختلاف معنی‌دار).**



نمودار۲: درصد میانگین سلول‌های خونی خرچنگ نر و ماده شناگر آبی

(c اختلاف غیر معنی‌دار).



نمودار ۳: درصد میانگین سلول‌های خونی خرچنگ نر و ماده گیاهخوار صخره‌ای

(c اختلاف غیر معنی‌دار, b a اختلاف معنی‌دار).

در جنس نر گیاهخوار صخره‌ای بالاترین درصد برای سمی‌گرانولوسیت‌ها (۴۸/۴۵ درصد) و پایین‌ترین درصد به هیالینوسیت‌ها (۱۰/۲) اختصاص داشتند و گرانولوسیت‌ها (۴۱/۳۵) درصد بودند. در جنس ماده هم این نسبت‌ها دیده شد و بالاترین درصد برای سمی‌گرانولوسیت‌ها (۵۴/۴۵ درصد) و پایین‌ترین مقدار برای هیالینوسیت‌ها (۹/۵۷ درصد) بود و مقدار گرانولوسیت‌ها درصد (۳۵/۹۸) را شامل می‌شد (نمودار۳).

بر طبق نتایج بدست آمده از بررسی میکروسکوپی تعداد سلول‌های هیالینوسیت خرچنگ آبی بطور معنی‌داری از خرچنگ صخره‌ای بیشتر بود ($P<0.05$). در حالیکه تعداد سلولهای گرانولوسیت و سمی‌گرانولوسیت در خرچنگ صخره‌ای بطور معنی‌داری از خرچنگ آبی بیشتر بود، بترتیب $P<0.01$ و $P<0.001$.

جدول ۱: اندازه قطر هموسیت‌های خرچنگ شناگرآبی و گیاهخوار صخره‌ای (میانگین ± SD)

نوع خرچنگ	تعداد (n)	هموسیت‌ها	میانگین (میکرومتر)	خطای استاندارد (±انحراف معیار)	واریانس	درجه آزادی
شناگر آبی	۳۰	هیالینوسیت	۷/۵۱	±۱/۳۵	۱/۸۳	۲۸
		گرانولوسیت	۱۳/۳۷	±۰/۷۵۰	۰/۵۶۲	
		سمی‌گرانولوسیت	۱۰/۰۹	±۱/۱۱	۱/۲۳۵	
گیاهخوار صخره‌ای	۳۰	هیالینوسیت	٦/٨٤	±۱/۰۷	۱/۱۵۲	۲۸
		گرانولوسیت	۱۱/۲۳	±۰/٦٨٥	۰,٤٧۰	
		سمی گرانولوسیت	۸/٤٦	±۰/۷۸۳	.۰/٦۱۳	

بحث

هدف این مطالعه توصیف مورفولوژی (اندازه سلول، شکل سلول) و شمارش کلی، افتراقی و تعیین درصد و قطر هر یک از هموسیت‌های خرچنگ شناگر آبی (*P. segnis*) و خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای (*G. albolineatus*) به کمک میکروسکوپ نوری و مقایسه طول و عرض کاراپاس بوسیله اندازه‌گیری با کولیس در دو جنس نر و ماده است.

سه نوع هموسیت براساس مورفولوژی و رنگ‌آمیزی گیمسا در ۲ گونه خرچنگ شناسایی شد، هیالینوسیت، گرانولوسیت و سمی‌گرانولوسیت. در حالیکه Vogan و Rowly (۲۰۰۲) در خرچنگ *Cancer pagarus* چهار نوع هموسیت سلول‌های هیالینوسیت، گرانولوسیت‌های ائوزینوفیل، گرانولوسیت‌های بازوفیل، گرانولوسیت‌های ائوزینوفیل/ بازوفیل براساس خصوصیات ریخت‌شناسی هسته و خصوصیات رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم شناسایی کردند.

برغم کوشش‌های بعضی از محققین برای توسعه یک شناسایی قانع کننده‌ای برای هموسیت‌های خرچنگ، طبقه‌بندی آنها هنوز بحث‌انگیز است. این موضوع به علت معیارهای متفاوتی است که برای طبقه‌بندی هموسیت‌های سخت‌پوستان استفاده شده است.

طرح‌های طبقه‌بندی برای هرگونه متفاوت هستند و براساس ویژگی‌های سیتوشیمیایی هموسیت، جنبه مورفولوژیکی، عملکردهای زیستی یا تکنیک‌های مشاهده می‌باشند. در نتیجه، مقایسه سلول‌های خونی گونه‌های مختلف سخت پوستان اغلب مشکل است. Hose و همکاران (۱۹۹۹) از موقعیت هسته (مرکزی، یا دور از مرکز) به عنوان فاکتوری برای تشخیص هموسیت‌های گرانول کوچک از هموسیت‌های گرانولوسیت بزرگ

استفاده کردند. اما موقعیت هسته معیار مفیدی برای تشخیص سلول‌های حاوی گرانولوسیت نیست. چرا که به تنهایی ناکافی و گمراه کننده است.

طبقه‌بندی انواع هموسیت سخت‌پوستان ده پا بیشتر براساس وجود گرانول‌های سیتوپلاسمی است (۱۱). براساس وجود گرانول‌های سیتوپلاسمی انواع هموسیت در دو گونه خرچنگ در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. در گونه خرچنگ شناگر آبی مورد بررسی در این بحث گرانول‌ها در هموسیت‌های گرانولوسیت بزرگ و گرانولوسیت کوچک مشابه بودند. در واقع دو نوع سلول ممکن است گروه یکسانی از سلول‌ها در مرحله متفاوتی از بلوغ باشند.

گرانولوسیت‌ها در خرچنگ شناگر آبی (*P. segnis*) در عمل فاگوسیتوز فعال می‌باشند. در حالیکه در خرچنگ آبی (*C. sapidus*) سلول هیالین در عمل فاگوسیتوز فعال می باشد. خرچنگ شناگر آبی (*P. segnis*) همچنین مقاومت زیادی در برابر تغییرات اکسیژن از خود نشان می‌دهند و می‌توانند مدتی را بدون اکسیژن با تنفس غیرهوازی تحمل نمایند. سلول‌های هیالینوسیت در خرچنگ شناگر در تولید اکسیژن فعال می‌باشد و به عنوان هموسیت غالب در خرچنگ شناگر آبی شناخته شد و به خاطر نقش مهمی که در خرچنگ شناگر آبی داشت دارای در صد بالاتری نسبت به دیگر سلول‌های خونی بود.

همچنین بررسی از هموسیت خرچنگ صخره‌ای مشابه با بررسی هموسیت خرچنگ آبی (*C. sapidus*) است. که به طور کلی (در دو جنس نر و ماده خرچنگ آبی) سمی‌گرانولوسیت با ۵۵ درصد هموسیت غالب بوده و بترتیب گرانولوسیت ۳۱ درصد و هیالینوسیت ۱۴ درصد را بخود اختصاص داده بود (۶). در خرچنگ صخره‌ای مورد بررسی ما نیز سمی‌گرانولوسیت غالب بود ۵۱/۷۶ درصد و به ترتیب گرانولوسیت ۳۷/۹۱ درصد و هیالینوسیت ۱۰/۳۲ درصد بودند.

Jindamongkon و همکاران (۲۰۰۶) میانگین درصد سلول‌های خونی خرچنگ شناگر آبی را در آب‌های جنوبی تایلند به صورت هیالینوسیت ۵۵ درصد، گرانولوسیت بزرگ ۲۵ درصد، گرانولوسیت کوچک ۲۰ درصد اعلام نموداند.

میانگین درصد سلول‌های خونی خرچنگ شناگر آبی در بندرعباس به صورت هیالینوسیت ۴۷/۱۵ درصد، گرانولوسیت بزرگ ۳۱/۳۸ درصد و گرانولوسیت کوچک ۲۱/۴۶ درصد گزارش شده است، که تقریباً، مشابه با در صد سلول‌های خونی خرچنگ شناگر آبی در تایلند است. جنوب تایلند دارای آب و هوایی گرم و مرطوب است و بندرعباس نیز دارای آب و هوایی گرم و خشک است. بنابراین شرایط آب و هوایی مشابه شاید در شباهت نتایج تأثیرگذار باشد.

Hose و همکاران (۱۹۹۹) میانگین درصد گرانولوسیت بزرگ، گرانولوسیت کوچک، و هیالینوسیت در *Homarus americanus* و *Panulirus interuptus*، بترتیب ۱۶/۴ درصد، ۶۰/۲ درصد، ۲۲/۴ درصد اعلام کردند. در این سه گونه گرانولوسیت کوچک را به عنوان نوع سلول غالب گزارش دادند که موافق با خرچنگ صخره‌ای می‌باشد.

اگر چه اهمیت این تنوع قابل توجه در نسبت‌های مربوط به هر نوع هموسیت در میان گونه‌های سخت‌پوستان نامشخص باقی مانده است، اما تأثیرات چرخه پوست‌اندازی، خرمن چینی، بیماری‌ها و آلوده‌کننده‌های محیط زیست را نمی‌توان نادیده گرفت. در واقع متغیرهای پوست‌اندازی، تولید مثل، حالت تغذیه‌ای، عفونت، کمبود اکسیژن و شوری عوامل اصلی هستند که نسبت‌های هر نوع هموسیت را تحت تأثیر قرار می دهد. بعنوان مثال عفونت منجر به از دست رفتن قابل ملاحظه هموسیت‌های آزاد در گردش می‌گردد.

فاکتورهای محیطی مختلفی مانند نوسان در دما و اکسیژن محلول ممکن است همچنین سیستم ایمنی سخت‌پوستان را به صورت روزانه تحت تاثیر قرار دهند (۱۳).

به طور کلی می‌توانیم نتیجه‌گیری کنیم شمارش کلی هموسیت‌ها در گونه‌های مختلف می‌تواند به فاکتورهایی مانند جنسیت، دمای آب، چرخه پوست‌اندازی، بیماری و آلوده کننده‌های محیط زیست بستگی داشته باشد. به عنوان مثال Matozzo و Marin (۲۰۱۰) با مطالعه روی خرچنگ *Carcinus aestuarii* ملاحظه کردند که شمارش هموسیت‌ها در دوره پوست‌اندازی تغییر می‌کنند. همچنین شمارش طبیعی هموسیت‌های خرچنگ خالدار *Emerita asiatic* با درنظر گرفتن اثرات اندازه، زمان روز و استرس گرمایی بررسی گردید.

نتایج نشان دادند که شمارش‌های هموسیت کل در گروه‌هایی که دارای اندازه ۲۶ تا ۲۸ میلیمتر از گروه‌هایی که دارای اندازه ۲۲ تا ۲۴ و ۳۰تا ۳۴ میلیمتر بودند بیشتر می‌باشد. همچنین شمارش هموسیت کل در رابطه با زمان روز تنوع نشان دادند. شمارش‌ها در بعد از ظهر بیشتر از قبل از ظهر

بودند. اثر استرس گرمایی بر شمارش کل هموسیت تایید شد و نشان داده شد که شمارش هموسیت‌ها با بالا رفتن دما کاهش می‌یابند. همچنین دماهای بالا منجر به کاهش اکسیژن، رشد بالاتر میکروبی و سرکوب ایمنی می‌شوند و باعث شیوع بالاتر بیماری می گردند.

کاهش قابل ملاحظه در هموسیت‌های در گردش ممکن است نشان‌دهنده بیماری، استرس یا گرسنگی شدید باشد. بنابراین شمارش هموسیت ممکن است به عنوان یک ابزار با ارزش در نشان دادن وضعیت سلامتی گونه‌های سخت‌پوستان باشد (۱۱).

پس از بررسی لام‌های گسترش بوسیله‌ی دستگاه آنالیز از سلول‌های خونی اندازه‌گیری بعمل آمد. در این اندازه‌گیری مشخص شد که اندازه انواع سلول‌های خونی در خرچنگ گیاهخوار صخره‌ای کوچکتر از خرچنگ شناگر آبی است.

منابع

۱. **چوبکار، ن. ، ۱۳۸۷.** جانوران آبزی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه.

۲. **حیدرنژاد، م .، ۱۳۸۸.** سخت پوستان. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه شهر کرد، چاپ ۱.

۳-**ندرلو، ر.، ۱۳۸۴.** مطالعه تاکسونومیکی خرچنگ‌های ناحیه جزر و مدی خلیج فارس. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. ۱۳۱ صفحه.

۴-**نوروستا، ر. ، ۱۳۸۶.** بررسی و مقایسه فاکتورهای خونی ماهی سیاه کولی بالغ و نابالغ *Vimba vimba persa* در جنوب دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. ۱۲۰ صفحه.

5-Auchau, A.G., 1981. Crust Ocean, Invertebrate blood cells. Vol. 2 ,ed. NA Ratollffe and A.F. Rowley, London, UK: Academic Press, pp.385-420.

6-Clare, A.S. and Lumb, G., 1994. "Identification of haemocytes and their role in clothing in the blue crab *Callinectes sapidus*". Mar. Biol. Vol. 118, No. 4. pp.601-610.

7-Hose, J.E., Martin, V.A., Nguyen, J.L. and Rosenstein T., 1999. "Cytochemical features of shrimp hemocytes. Biol. Bull. 53:335-346.

8-Jindamongkil, T., Kovitvadhi, U. Kovitvadhi, S., Thongpan, A. and Chatchaval Vanich, K., 2006. Duration and frequency of glochidia development of freshwater pearl mussel, *Hyriopsis bialatus* simpson 1990. Proc. Annual conference, Kasetsart University, fisheries section, Bangkok, 2003, pp.171-178 (in Thai).

9-Johanson, M., Keyser, P., Sritunyaluckasana K. and Söderhall, K., 2000. Crustacean hemocytes and haematopoiesis, Aquaculture, 191:45-52.

10-Jones, B., 1999. Cellular response to injury in spiny lobsters, Proceedings, International symposium on lobster health management", pp. 9-17, Adelaide.

11-Matozzo V. and Marin M.G., 2010. First cytochemical study of haemocytes from the crab Carcinus aestuarii (Crustacea, Decapoda)", Euro. J. of Histochem., pp.54-69.

12-Saha, S., Ray, M. and Ray, S., 2007. Immunotoxicological response of hemocyte of edible mud crab exposed to arsenic. Proceeding in XXVII Annual Conference of Society of Toxicology, India (STOX) and International Workshop on Toxicology, Bangalore, Karnataka, India, 6-12, 86P.

13-Sewell, M.T., 1995. lipo-protein cells in the bloods of Carcinus maenas and their cycle of activity correlated with moult. Quart. J. of Microsc. Sci., 96:73-83.

14-Vogan and Rowly, 2002. Effects of shell disease syndrome on the Hemocytes and humoral defences of the edible crab, Cancer pagarus. Aquaculture, 205:237– 252.

فصلنامه علمی-پژوهشی محیط زیست جانوری

Study of morphometric hemocytes of two crab species *Grapsasal bolinearus* and *Portnnus segnis* in Hormozgan Province

- **AnahitaFashandi*:** Science and Research Branch of Islamic Azad University, P.O.Box: 775 Tehran, Iran
- **ShahlaJamili:** Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran
- **Fariborz Ahtshami:** Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran
- **Tooraj Valinasab:** Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: March 2012 Accepted: October 2012

Keywords: Hemocyte, Hyalinocyte, Small Granulocyte (SGC), Large Granulocyte (LGC), Persian Gulf.

Abstract

This study aims to identify hemocyte type and assess some biological and biometric parameters such as differential count and hymocyte diameter in two crab species *Grapsus albolineatus* and *Portunus segnis* under light microscopy in the Persian Gulf covering Hormozgan province waters. Research samplings were carried out in Februrary 2011. According to cell size, presence or absence of cytoplasmic granules and nucleo-cytoplasmic ratio, three main groups of hemocyte have been recognized in both species: hyalinocyte, Small granulocyte (SGC) and large granulocyte (LGC).

Our results showed that there is no significant relationship between gender and any kinds of the blood cell and also among total cells in the two species. The study showed that the size of blood cells in *G. albolineatus* was significantly smaller than the blue swimmer crab ($P<0.05$).

In *G. albolineatus* semigranolocyte and in *P. segnis* hyalinocyte was the most predominant hemocyte, respectively 51.77% and 47.15%. Between the two species in terms of blood cell diameter significant difference existed and semigranolocyte and granulocyte dimeters were higher in *P. segnis* ($P<0.05$). However, hyalinocyte dimeter proved no significant discrepancy in this regard.

* Corresponding author's email: Fashandiananahita@yahoo.com