

## تأثیرات دما بر غلظت الکترولیت‌های (سدیم، پتاسیم، کلسیم و مس)

### موجود در همولنف عقرب *Odontobuthus odontorus*

• بهزاد مسیحی‌پور، • شاهرخ نویدپور و • احمد تقوی مقدم

موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی اهواز

• نادر آلبوشوکه

مرکز آموزش شهدای هویزه، اهواز

تاریخ دریافت: مردادماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۶

Email: bmasihpour@yahoo.com

#### چکیده

*Odontobuthus odontorus* از عقرب‌های خانواده بوتیده بوده که به طور وسیعی در استان‌های جنوبی ایران پراکنده شده که تاکنون صید گردیده است. در این تحقیق میزان الکترولیت‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و مس موجود در همولنف در دماهای متفاوت بررسی گردیده است. برای هر کدام از الکترولیت‌های ذکر شده به ترتیب مقادیر ۲۸۰/۴۱، ۶/۸۵، ۱۰/۸۲ و ۳۱/۸۲ میلی‌اکی‌والان گرم/لیتر بدست آمد. تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها با در نظر گرفتن دمای محیط و جنسیت جانور نشان داد که تغییرات دمای محیط بر روی میزان الکترولیت‌ها اثر معنی‌داری دارد ( $P < 0/001$ ) در حالیکه جنسیت از این نظر معنی‌دار نیست. در مقابله با افزایش دمای محیط فشار اسمزی همولنف افزایش می‌یابد و از مهم‌ترین الکترولیت‌ها در این زمینه سدیم می‌باشد. دمای کشنده و میزان از دست دادن آب بدن در عقرب‌ها کاملاً در پاسخ به گرما و شرایط خشک بیابان می‌باشد.

کلمات کلیدی: عقرب، همولنف، *Odontobuthus odontorus*، الکترولیت، درجه حرارت محیط

**The thermal effects on hemolymph electrolytes in *Odontobuthus poccock*, 1897 (scorpions: Buthidae)**

By: B. Mashipour, SH. Navidpour, A. Taghavi Moghadam, Razi Reference Lab of Scorpion (RRLS), Razi Vaccine and Serum Research Institute, Ahvaz, Iran, N. Alboshoka, Shohadaye Hoveize, Training Center, Ahvaz.

*Odontobuthus* scorpion belongs to Buthidae family and is extensively distributed in south provinces or Iran. In this research we studied the amount of sodium (Na), potassium (K), calcium (Ca) and copper (Cu) electrolytes in haemolymph in different thermal ranges. The estimated amount of each electrolyte was 280.41, 6.85, 10.82 and 31.82 mEq/L respectively. Statistical analysis considering environment temperature and sexes of scorpions showed that the changes in temperature has a significant effect ( $p < 0.001$ ) on electrolyte content of haemolymph. While sexuality has no effect on electrolyte content. The scorpion fights we increased environment temperature with increase of haemolymph osmotic pressure and in this case the most important electrolytes are sodium and potassium, which have a greater shares in this adjustment. Lethal temperature and water loss rates of scorpions indicate that these arthropods are quite tolerant to hot dry desert conditions.

**Key words:** Scorpion, Hemolymph, *Odontobuthus odontorus*, Electrolyte, Temperature

**مقدمه**

عقربها حدوداً ۴۰۰ میلیون سال پیش بوجود آمده‌اند. آنها یکی از اولین ارتروپودهای موجود در طبیعت می‌باشند (۱۱). پراکندگی جغرافیایی عقربها در کره زمین بسیار متنوع می‌باشند از صحراهای گرم و خشک تا کوه‌های با ارتفاع ۵۵۰۰ متر، جنگل‌ها و در شرایط محیطی متفاوت و مختلفی تطابق یافته و زندگی می‌کنند (۹).

همولنف عقرب مایعی است روشن با  $pH = 7/3$  نزدیک به خنثی (۱) که دارای عناصر متعددی از قبیل سدیم ( $Na^+$ )، پتاسیم ( $K^+$ )، کلسیم ( $Ca^{++}$ )، کلر ( $Cl^-$ )، مس ( $Cu^{++}$ ) (۱۳)،  $Ni^{++}$ ،  $Mg^{++}$ ،  $Sn^{++}$  (۶) و نیز ترکیباتی از قبیل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها (۱۳) می‌باشد. هموسیانین موجود در همولنف همانند هموگلوبین مهره داران اکسیژن را به صورت غیرقابل برگشت روی خود ثابت می‌کند (۸) در این پروتئین اکسیژن به اتم‌های مس متصل می‌شود (۴). ترکیبات آمین بیوژنیک مانند اکتاپامین دوپامین، نورآدرنالین از همولنف عقرب‌ها استخراج شده است (۳). بعلاوه می‌توان در آن به مقادیر قابل توجهی آمینواسیدهای آزاد مانند آلانین، گلیسین، والین، اسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، پرولین، لیزین، لوسین، تیروزین، آرژنین، هیستدین و فنیل آلانین اشاره داشت (۲).

مقدار همولنف در حدود ۳۴ میلی لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن جانور است و علاوه بر این مواد و عناصر فوق الذکر دارای سلول‌های خونی از جنس لکوسیت نیز می‌باشد (۱).

تحمل گرمای مرگبار و میزان کم از دست دادن آب بدن در جانور نشان می‌دهد که این بندپایان به شرایط بیابانی و گرم و خشک کاملاً مقاوم بوده که ناشی از تطابق این حیوان به شرایط اکولوژیک می‌باشد دمای مرگ آور برای عقرب‌ها بسیار بالاتر از دیگر ارتروپودهای موجود در بیابان می‌باشد (۱۱).

بر طبق گزارشات گونه‌هایی از عقرب‌ها برحالی قادر به تحمل غلظت

افزایش یافته یونی و اسمتیک در همولنف در نتیجه دهیدراسیون می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهند که این توانایی‌ها با اندازه عقرب و میزان جزیی آب از دست رفته متابولیکی تطابق یافته است. آب متابولیک در طی اکسیداسیون غذا تولید می‌شود و در بدن ذخیره می‌گردد. محاسبه آب متابولیک تولید شده بر اساس اکسیژن مصرف شده می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که تنظیم فشار اسفزی در پاسخ به آب از دست رفته می‌باشد (۹).

*O.odontorus* از عقرب‌های خانواده بوتیده بوده که در استان‌های جنوبی ایران مانند خوزستان صید گردیده است. در این تحقیق تاثیرات دمای محیط را بر روی میزان این عناصر در همولنف عقرب *O.odontorus* مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار**

در این تحقیق تعداد ۱۲۰ عدد عقرب *O.odontorus* صید گردید. پس از انتقال عقرب‌ها به آزمایشگاه جنس نر و ماده از هم جدا و در اکواریوم‌های شیشه‌ای قرار داده شدند. عقرب‌ها در دو گروه (نر و ماده) هر کدام ۱۵ عدد، در چهار تیمار ۲۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد، ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به منظور آداپته شدن عقرب‌ها به شرایط آزمایشگاهی یک ماه نگهداری شدند (۱۱). سپس توسط سرنگ ۱ میلی لیتر از ناحیه قلبی عقرب‌ها واقع شده در بین بند دوم و سوم در سطح پشتی جانور همولنف گیری به عمل آمد. نمونه‌های همولنف در لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول روئی جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه جمع‌آوری و عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم با استفاده از روش فلیم فتومتر در مقایسه با بلانک (آب مقطر) استاندارد (دستگاه) اندازه‌گیری شدند میزان مس موجود در

اثر جنسیت بر هر کدام از الکترولیت ها نیز بررسی گردید اما تأثیر معنی داری مشاهده نگردید.

جدول (۳): آزمون F برای الکترولیت های همولنف عقرب *O.odontorus*

الکترولیتها عوامل تغییر دهنده	سدیم	پتاسیم	کلسیم	مس
جنسیت	۳/۸ <sup>ns</sup>	۲/۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۵ <sup>ns</sup>	۱/۳ <sup>ns</sup>
دما	۳۶۵/۲۶ <sup>**</sup>	۸۶/۷۷ <sup>**</sup>	۱۱/۱۹ <sup>**</sup>	۳۶۹/۷۴ <sup>**</sup>

n.s: معنی دار نیست \* در سطح ۵٪ معنی دار است \*\* در سطح ۱٪ معنی دار است

معادلات رگرسیونی تخمینی از اثر دما بر میزان هر کدام از الکترولیت های همولنف به شرح زیر می باشد:

- تخمین غلظت سدیم موجود در همولنف با توجه به دمای محیط:  
 $[Na^+] = 240/26 \pm 1/214 \times$  (دما) °C

- تخمین غلظت پتاسیم موجود در همولنف با توجه به دمای محیط:  
 $[K^+] = 5/32 \pm 0/044 \times$  (دما) °C

- تخمین غلظت کلسیم موجود در همولنف با توجه به دمای محیط:  
 $[Ca^{2+}] = 6/15 \pm 0/131 \times$  (دما) °C

- تخمینی برای مس انجام نشد.

### بحث

عقرب ها از جمله جانوران خشکی زی هستند که در مناطق گرم و خشک زندگی می کنند. آنها در طی روز در لانه هایی که حفر می نمایند یا در شکاف های زمین زندگی می کنند و فعالیت های خود را در طی ساعات شب به انجام می رسانند آنها در زمانی که گرمای هوا شدت می گیرد به اعماق لانه های خود پناه می برند. عمق لانه های عقرب به ۴۰ تا ۵۰ سانتی متر نیز می رسد. (۱۱) عقرب *O.odontorus* از عقرب های حفاری بوده که عمق لانه اش به ۵۰ cm سانتی متر نیز می رسد. از جمله مسائل مهم در فیزیولوژی جانور حفظ فشاراسمزی و تعادل اسید و باز در همولنفش می باشد (۷) در این تحقیق مشاهده گردید که غلظت یون سدیم بسیار بالا می باشد. بطوریکه میزان آن  $280/41 \pm 11/41$  میلی اکی والان گرم در لیتر بود. افزایش غلظت اسموتیک احتمالاً باعث گرادیان فعالیت آب بین مایعات بدن و محیط می شود (۷) مطالعات نشان داده است که غلظت یون سدیم و کلر با اسمولاریتی کلی همولنف زمانی که دمای محیط افزایش می یابد کاهش یافته است و همچنین فشار موجود در همولنف با کاهش pH افزایش می یابد (۵) پارامترهای بیوشیمیایی در همولنف با یکدیگر مرتبط بوده. برای کربوهیدرات ها و فسفات ها تا ۹۸٪ و برای کربوهیدرات ها و پروتئین ها ۹۶-۹۰٪ ارتباط دارند (۱۰).

در تحقیقی که توسط Burton و همکاران گزارش شده ارتباط میان سدیم، پتاسیم و کلسیم در عقرب ها و عنکبوت ها به صورت زیر نشان داده شد.

$$[Ca^{2+}] = 0/465 [K^+] + 0/188 [Na] - 1/45 M$$

مس یک کوفاکتور مهم در هموسیانین بوده که اکسیژن را در همولنف حمل و نقل می نماید (۱۲) و معمولاً جذب اکسیژن به pH و

همولنف توسط دستگاه اتمیک ابزوربشن اندازه گیری گردید. میزان هر کدام از عناصر بر حسب میلی اکی والان گرم یا میلی گرم در لیتر بیان شده اند.

مدل آماری: در این آزمایش که هدف آن بررسی اختلاف میزان الکترولیت ها در دو جنس بود مشاهدات مربوطه در عقرب نر و ماده در قالب یک طرح کامل تصادفی به شکل زیر تجزیه و تحلیل شد:

$$X_{ij} = \delta_i + \mu + \epsilon_{ij}$$

$X_{ij}$ : مشاهدات مربوط به میزان الکترولیت ها

$\mu$ : میانگین کل جمعیت

$\delta_i$ : اثر جنسیت

### $\epsilon_{ij}$ : خطای آزمایش در مشاهده

همچنین دما به عنوان به عامل کوواریت وارد مدل شده و تجزیه و تحلیل کو واریانس انجام شد. تمامی مشاهدات جمع آوری شده در قالب مدل های آماری مربوطه توسط نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شد. همچنین جهت مقایسه میانگین سطوح تیماری از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد.

### نتایج

نتایج اندازه گیری شده الکترولیت های سدیم، پتاسیم، کلسیم و مس در چهار دامنه گرمایی به شرح ذیل می باشد.

جدول (۱): میانگین، استاندارد ارور در الکترولیت های اندازه گیری شده

میانگین	استاندارد ارور	مینیمم	ماکزیمم	
دما (سانتی گراد)	۳۲/۱۷	۶/۸۶	۱۵	۴۵
سدیم (Na)	۲۸۰/۴۱	۱۱/۴۱	۲۵۰	۳۰۶
پتاسیم (K)	۶/۸۵	۰/۶۵	۵	۸/۹
کلسیم (Ca)	۱۰/۸۲	۴/۸۸	۵	۲۰۵
مس (Cu)	۳۱/۸۲	۵/۵۵	۲۲/۶۴	۴۹/۵۳

مشاهدات نشان می دهند که با تغییر دما میزان هر کدام از الکترولیت ها تغییر می یابند.

جدول (۲): تحلیل واریانس هر کدام از الکترولیت های مورد بررسی

الکترولیت ها عوامل تغییر دهنده	سدیم	پتاسیم	کلسیم	مس
خطا	۱۱۶	۱۱۶	۱۱۲	۹۸
درجه آزادی	۲	۲	۲	۲
M.S	۱۱۲۲۸/۴۱	۱۵/۰۷	۱۳۵/۱۱	۵۸۰۵/۱
F	۱۸۴/۵۳*	۴۲۱/۵۹**	۵/۸۳*	۱۸۸/۲۷**
احتمال	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱

\* در سطح ۵٪ معنی دار است \*\* در سطح ۱٪ معنی دار است

hemolymph, *Biochem pharmacol*, vol 3. no 5, pp: 963-966.

7- Dejours.p.Ar.A.1992, Acid base balance of the haemolymph in four species of scorpion, *isr.j.zool*, vol38, no2, pp.139-146

8- Dolashka, A. p, Dalashki, A, savvides S. N, Hristovu, R, Beeumen, j, V, voel ter, W, pevrees, B, weser, V, muro, P, D salvato, B, stevanovios, 2005, structure of hemocyanin subunit caess2 of the crust a cean Mediterranean scab carcinus a aestuarii, *journal of Biochemistry*, 138 (3): 303-312.

9- Gefen, E, Amos. A, 2004, comparative water relations of four species of scorpions in Israel: evidence for phylogenetic differences, *the journal of Experimental Biology*, 207, 1017-1025.

10- Hadley, N. F, 1974, adaptational biology of desert scorpions, *j. Arachnol*: 2-11-23.

11- Hoshino, K, Moura, A, T. V, DE paula, H, M, G, 2006, selection of environmental temperature by the yellow scorpion *tityus serrulatus* Lu TZ&MELLO, 1922, (scorpions, Buthidae), *j. venom, animal, Toxins incl. trop. Dis* v12, n 1, p. 59-66.

12- Punzo, F, 1991, the effect of temperature and moisture on survival capacity cuticular permeability, haemolymph osmoregulation and metabolism in the scorpion *centuriodes hentzi* (Banks) *comp-B.ochem and physio*, 100: 4, 833-837.

13- Reddy, p.s, 1983, studies on physiology of molt cycle in the south Indian scorpion *Heterometrus fulvipes*, C.L.Kock, *comp physiol, Ecol*, vol 8, No 3, pp. 165-168.

14- Vasta. GR, 1982, the specificity of *centuriodes sculpturatus* Ewing (Arizona lethal scorpion) hemolymph agglutinine. *Developmental and comparative immunology*, 6: 2. 219-230.

کوفاکتورهای بی با وزن مولکولی کم از قبیل یون های کلرید، کلسیم و منیزیم حساس می باشند. کنترل درونی توسط تنظیم کننده ها به جانور این اجازه را می دهد که مولکول های درشت را در خود حفظ کرده و خودش را به شرایط محیطی سازگار سازد (۱۰). در این تحقیق مشاهده کردیم که افزایش در درجه حرارت محیط باعث افزایش غلظت یون مس در همولف عقب می گردد.

### سپاسگزاری

در خاتمه لازم می دانم از کلیه همکارانی که اینجانب را در انجام این تحقیق یاری نموده اند از جمله دکتر محمد راضی جلالی و آقای دارم هیادر قدردانی نمایم.

### منابع مورد استفاده

- ۱- فرزانی، رضا. (۱۳۶۶)؛ *عقب شناخت*، مرکز نشر دانشگاه تهران
- 2- ALakshimi, NR. V, Kurvp, P.A, 1976, Free amino acids & proteins of the hemolymph, heptopncreas & muscle of the scorpion *Heterometrus scaber*. *Indian journal of Experimental*, 14: 3, 236-238.
- 3- Bakary, El, fuzeav, z, B, S, 1988, Detection of biogenic amines and nycthemeral variations in the scorpion *leiurus quinquestriatus*, *Biochem physiol, C*, vol. 90 C. no 1, pp 173-177.
- 4- Bonaventura, j, Bonaventura, C, 1980, Hemocyanins relationships in their structure, function and assembly, *integer, comp, Biol*, 20(1): 7-17.
- 5- Burton, R, F, 1984, Hemolymph composition in spiders, *comp Biochem, physiol*, vol 78 A, No 4, pp. 613-616.
- 6- Datta, P. K, Banerjee, A, 1987, Acetylcholinesterase (Ec.3.1.101-7), a neurotransmitter enzyme in scorpion

\*\*\*\*\*