Archive of SID

مطالعه رشد تخمک در ماهی کفال پوزه باریک

Liza saliens Risso

مهدی یوسفیان[۱]، شهربانو عریان[۲]، فرزانه فرخی[۳] و حسین عصانیان[۴]

۳،۱ و ۴ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری صندوق پستی: ۹۶۱
۲ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران صندوق پستی: ۱۸۱-۱۹۵۸۵

تاریخ دریافت : مرداد ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش : دی ۱۳۸۱

خلاصه

در این پژوهش، مراحل مختلف تکامل تخمدان ماهی کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) از نظر ریخت‌شناسی و بافت شناسی، مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت. برای این منظور طی سالهای ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ بیش از یکصد و پنجاه عدد ماهی کفال از پره‌های صیادی در سواحل جنوبی دریای خزر تهیه و تکامل و رشد گناد آنها براساس پارامترهای ظاهری و بافتی مرحله‌بندی شدند. در مرحله نخست، تخمکها کوچک و بی‌رنگ می‌باشند. در مرحله دوم رشد محسوسی در ائوسیت‌ها دیده می‌شد. در مرحله سوم، توده تخمک با فشردن تخمدان قابل لمس است و انشعابات رگهای خونی بوضوح دیده می‌شود و زرده‌سازی موجب افزایش رشد سیتوپلاسم شده و در این دوره زونارادیاتا بوضوح مشاهده می‌گردد. در مرحله چهارم تخمک‌ها با چشم غیرمسلح قابل رؤیت هستند، تخمک‌ها رشد بیشتری نموده و زرده‌سازی نیز افزایش می‌یابد. در این دوره هسته به سمت قطب جانوری مهاجرت میکند .

در مرحله پنجم تخمک‌ها حالت سیال داشته و براحتی دفع می‌شوند. حداکثر GSI در مرحله پنج و دقیقاً قبل از تخم‌ریزی در ماهی به ثبت رسید. در مرحله ششم تخمدان به مرحله دو برمی‌گردد و تخمدان حاوی فولیکولهای خالی، تخمکهای نابالغ و تخمک های تخلیه نشده می باشد. براساس مطالعات انجام شده مرحله یک تا سه در ماههای شهریور تا اردیبهشت، مرحله چهار در ماههای خرداد و تیر، مرحله پنج در ماههای تیر و مرداد و مرحله شش در شهریور ماه بوده است.

لغات کلیدی: رشد، تخمک، کفال پوزه باریک، *Liza saliens*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

موفقیت تولید مثلی یکی از مهمترین وقایعی است که می‌تواند سازگاری فرد، گونه و یا جمعیت را در مسیر تکامل، میسر سازد. اطلاعات فراوانی در اختیارست که حاکی از کاهش صید ماهی کفال در سالهای اخیر در دریای خزر می‌باشد. تغییر شرایط اکولوژیک و صید غیرمجاز از دلایل این امر محسوب می‌شود.

گامتوژنز جنس ماده روشن می‌نماید که تخمکها یا ائوسیت‌های یک موجود زنده چگونه تکامل یافته و به بلوغ جنسی می‌رسند. اخیراً تلاشهایی در جهت اینکه بتوان تمام یا قسمتی از گامتوژنز را در گونه‌هایی مثل ماهی آزاد، خامه ماهی و کفال بوسیله هورمون تراپی دستکاری کرد انجام شده است (فرخ زاد، ۱۳۷۶). برای شناسایی مراحل مختلف گامتوژنز، باید وضعیت و بافت شناسی تخمدان مورد بررسی قرار گیرد. ساختمان عمومی تخمدان در ماهیان استخوانی به نظر ساده و مشابه می‌آید، اما با کمی دقت در شکل و بافت‌شناسی آنها اختلافاتی را می‌توان یافت (Ramanathan ,1982). تخمدان ماهیان تنوع شکلی بسیار زیادی داشته و عبارت است از کیسه توخالی یا جسم توپر با یک یا دو لُب که بوسیله بند تخمدانی عروق‌دار در حفره بدن آویزان است (Hoar & Randel, 1983).

بافت تخمدان از چند قسمت اصلی شامل سلولهای تخم، لایه زاینده، بافت پیوندی و سلولهای داربست (Stem cell) و عروق تشکیل شده است. سلولهای تخم یا اووسیت‌ها شامل سیتوپلاسم، هسته و غشاء سلولی و در مراحل پیشرفته‌تر دارای توده زرده‌ای می‌باشند (شکری بوسجین، ۱۳۷۴).

Brusle و Brusle در سال ۱۹۷۷ بیولوژی تولید مثل سه گونه کفال شامل *M. chelo*, *M. cephalus* و *M. capito* را بررسی نمودند. همچنین Apkin و Vilenskaya در سال ۱۹۷۸ اختصاصات چرخهٔ جنسی و وضعیت گنادهای کفال سفالوس در دریای سیاه طی مهاجرت تخمریزی را مطالعه نموده و متعاقب آن تحقیقاتی در زمینه بافت شناسی گونهٔ *M. auratus* به انجام رسید (Valter, 1980 ; Kulikova & Loshakova, 1982). Aiass و Hussein نیز در سال

www.SID.ir

Archive of SID

۱۹۸۲ تخمدانهای رسیده *M. saliens* و *M. capito* را در دوره مهاجرت تخمریزی بررسی نمودند.

در سال ۱۹۹۱، مطالعاتی بصورت آزمایشی روی موقعیت بافتها، اندامها و غدد جنسی کفال سفالوس، کفال پوزه باریک و *M. soiuy* صورت گرفت (Moiseyeva *et al.*, 1991).

در سال ۱۹۹۳ مطالعات دیگری روی تغییرات بافت شناسی و بیوشیمیایی طی اسپرماتوژنز کفال سفالوس توسط Joseph و Rao صورت گرفت. شعبانی پور در سال ۱۳۷۴ نیز مطالعات بافت شناسی روی تخمدانهای کفال اوراتوس در سواحل دریای خزر را به انجام رساند. ولی روی گونه کفال پوزه باریک دریای خزر چنین مطالعاتی انجام نگرفته است، بنابراین بررسی حاضر در باره جنس ماده کفال پوزه باریک که از سواحل جنوبی دریای خزر صید می شود می تواند اطلاعات بیشتری در رابطه با روند اووژنز و زمان تخمریزی این ماهی در اختیار قرار دهد .

مواد و روشها

در مدت یکسال (مرداد ماه ۱۳۷۷ تا شهریور ماه ۱۳۷۸) بیش از ۱۵۰ عدد ماهی کفال پوزه باریک (*M. saliens*) بطور انتخاب اتفاقی هر ماه ازپره های صیادی صیادان محلی منطقه محمود آباد تا نکاء در سواحل جنوبی دریای خزر (مازندران) نمونه‌برداری شدند. مشخصات بیومتریک شامل وزن، طول کل و طول چنگالی آنها ثبت گردید. نمونه‌هایی از فلس‌های بالای باله سینه‌ای جهت تعیین سن برداشته شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه بلافاصله تخمدان تشریح شده و با دقت وزن گردید. تخمدانهای کوچک بصورت کامل و نمونه‌هایی از قسمت ابتدایی، میانی، و انتهایی تخمدانهای بزرگ در محلول بوئن تثبیت شد و روز بعد آبگیری بافت توسط دستگاه اتوتکنیکوم صورت گرفت. سپس در پارافین جامد بلوکه گردید. از مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرون برش گرفته شد و طی ۱۷ مرحله با محلول هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی گردید.

به دلیل مشابهت رسیده بودن تخمکها در نواحی مختلف تخمدان و نیز ارائه الگوی یکنواخت، تهیه مقطع تنها از قسمت میانی انجام گرفت. همچنین ضریب شاخص رسیدگی G.S.I (gonado somatic index) طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

www.SID.ir

Archive of SID

G.S.I = (وزن تخمدان/ وزن کل) × ۱۰۰

در بررسی مشاهدات ماکروسکوپی، شکل تخمدان از لحاظ رنگ، ضخامت دیواره تخمدان، اندازه تخمدان و مراحل نمو تخمک در آن و وضعیت رگهای خونی در سطح بیرونی و داخلی تخمدان لحاظ گردید.

در بررسی مشاهدات میکروسکوپی به تفاوتهای آشکار در وضعیت هسته، هستک، سیتوپلاسم و غشاء تخمک در مراحل مختلف نمو اووسیتها پرداخته شد. در پژوهش حاضر با توجه به کارهای انجام شده در مورد بافت‌شناسی تخمدان گونهٔ مذکور و نتایج حاصله از بررسی‌های میکروسکوپی، برای فرآیند نمو تخمدان ۶ مرحله‌ای در نظر گرفته شد. این رده‌بندی در گونه کفال دریای خزر یعنی *M. auratus* (شعبانی‌پور، ۱۳۷۴) قبلاً صورت گرفته است. این مراحل عبارتند از:

۱- نابالغ یا اووسیت‌های اولیه ۲- رشد اولیه (وزیکول‌های زرده) ۳- نیمه رشد یافته (گلبول زرده) ۴- بالغ ۵- بالغ کامل ۶- تخم‌ریزی کرده

نتایج

کفال پوزه باریک دارای یک جفت تخمدان از نوع کیسه‌دار (Cystovanian) است که هر یک توسط یک مجرای تخمدان به بیرون راه می‌یابند. معمولاً یکی از تخمدانها بزرگتر از دیگری بوده ولی از لحاظ مراحل رسیدگی تفاوتی بین تخمدانها مشاهده نشد. مراحل رشد تخمدان به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی به شرح ذیل است:

مشاهدات ماکروسکوپی (شکل شناسی)

مرحله یک (نابالغ):

در مرحله یک تخمدان بصورت باریک و شفاف با دیواره نازک می‌باشد. بر روی تخمدان رگهای خونی کمی دیده می‌شود. در مرحله یک گناد نر و ماده تقریباً یک شکل است و لذا تعیین جنسیت در این مرحله مشکل می‌باشد. حداکثر طول آن به ۴/۵ سانتیمتر می‌رسد (شکل ۱ ـ الف).

www.SID.ir

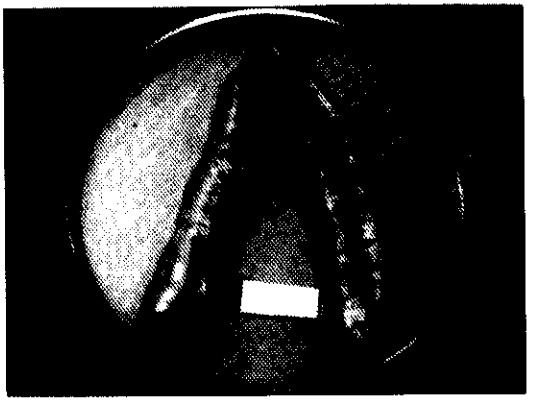
Archive of SID

شکل ۱ الف و ب : مرحله یک و مرحله دو گناد کفال پوزه باریک

- مرحله دو (رشد اولیه):

تخمدان تقریباً صورتی یا قرمز رنگ است، کمی بزرگتر شده، قطر آن افزایش یافته، رگهای خونی مشخص‌تر شده و نیمه فعال است. طول آن به ۶/۵ سانتیمتر می‌رسد (شکل ۱: الف و ب).

- مرحله سه (نیمه رشد یافته):



شکل ۱ ج : مرحله سه گناد کفال پوزه باریک

رنگ تخمدان روشنتر شده و تقریباً زرد رنگ می‌شود. دیواره تخمدان مشخص، نازک و انشعابات رگهای خونی بخوبی دیده می‌شود. با شکاف دیواره تخمدان، تخمکهای بهم چسبیده و دانه‌های تخمک با دست قابل حس و تشخیص است. حداکثر طول تخمدان به ۷/۵ سانتیمتر می‌رسد (شکل ۱- ج).

- مرحله چهار (بالغ):

شکل ۱ د : مرحله چهار گناد کفال پوزه باریک

در مرحله چهار تخمدان بزرگ بوده و دارای رنگ زرد کهربائی است. در این مرحله رگهای خونی در سطح بیرونی و داخلی تخمدان پخش شده و تخمک‌ها نیز کاملاً رشد یافته و با چشم غیرمسلح دیده می‌شوند. حداکثر طول تخمدان به ۹/۵ سانتیمتر می‌رسد (شکل ۱ - د).

www.SID.ir

Archive of SID

- مرحله پنجم (تخمریزی):

این مرحله تخم‌ریزی است. تخم‌ها سیال شده و براحتی از مجرای تناسلی خارج شده، تخمدان دارای رنگ قهوه‌ای و فضای شکم را پر کرده است. دیواره تخمدان خیلی نازک و شفاف است، تخمکها کاملاً قابل هستند. طول تخمدان تا ۱۴ سانتیمتر نیز مشاهده شده است.

- مرحله ششم (تخم ریخته):

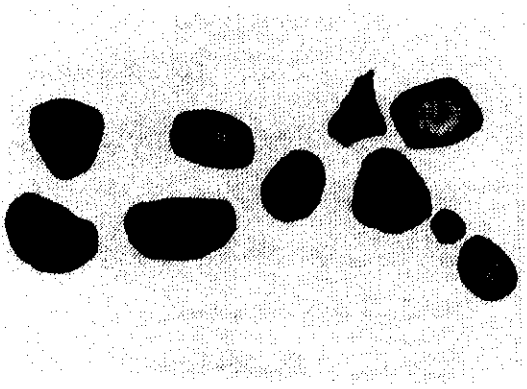
مرحله پس از تخمریزی است. تخمدان چروکیده و کوچک شده و به رنگ قرمز در می‌آید و دیواره آن ضخیم می‌گردد.

مراحل رشد از نظر میکروسکوپی (بافت شناسی):

نتایج میکروسکوپی نشان داد که مراحل مختلف نمو اووسیتها دارای تفاوت آشکاری هستند. براساس پارامترهایی نظیراندازه تخم و هسته، وسعت سیتوپلاسم، میزان تراکم زرده، تعداد هستکها و ناپدید شدن هسته و همچنین مهاجرت آن به سمت قطب جانوری، به مراحل رشد ۵ گانه تقسیم شد. مرحله پس از تخمریزی (و یا عدم آن) و در نتیجه تحلیل رفتن و یا جذب تخمک، مرحله ۶ نامیده شد. بر پایه مشاهدات مذکور، برای هر مرحله ویژگیهای زیر شناسایی گردید:

- مرحله یک (نابالغ):

در این مرحله اووسیتها نابالغ بوده و در چین خوردگیهای تخمدانی (Ovigerous lamellae) به شکل کروی، بیضی و یا چند وجهی مشاهده می‌شوند. هسته بسیار بزرگ و قسمت اعظم تخمک را اشغال می‌کند و سیتوپلاسم بصورت لایه نازکی دور آنرا احاطه نموده است. سیتوپلاسم تخمک بعلت گرایش زیاد به حالت قلیائیت با هماتوکسیلین به رنگ آبی تیره درمی آید (شکل ۲ الف).



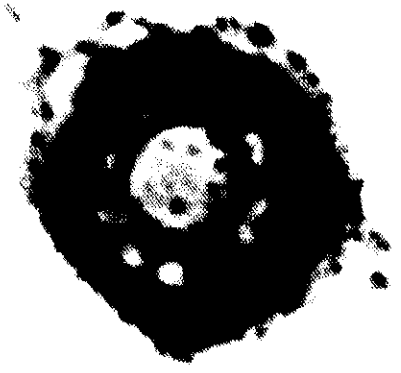
شکل ۲ الف : مرحله یک گناد کفال پوزه باریک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۳۵۰×)

www.SID.ir

Archive of SID

مرحله دو (رشد اولیه):

در این مرحله رشد پروتوپلاسمی و افزایش قطر تخمک محسوس است. فضای تخمدان را لایه‌ها یا چین خوردگیهای تخمدانی پر کرده و اطراف اووسیتها را لایه فولیکولی فرا گرفته است. لایه فولیکولی در این مرحله به دور تخمک‌ها ظاهر می‌شود. در این مرحله هسته بزرگ و واضح است که در مرکز آن شبکه کروماتینی وجود دارد افزایش تعداد هستکها در مجاورت غشاء هسته و ظهور واکوئلها به دور هسته در سیتوپلاسم دیده می‌شود. وجود هسته زرده[1] کروی شکل ابتدا در قسمت داخلی غشاء و سپس در سیتوپلاسم از مشخصات نهایی این مرحله است. سیتوپلاسم به هماتوکسیلین گرایش کمتری نشان می‌دهد (شکل ۲ ب).



شکل ۲ ب : مرحله دوم گناد کفال پوزه باریک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۱۷۵×)

- مرحله سه (نیمه رشد یافته):

فرآیند تولید واکوئل و زرده‌سازی اولیه و وجود واکوئل‌های بیشتری بدور هسته از مشخصات این مرحله است. واکوئلهای کوچک دور هسته یکی شده و واکوئلهای بزرگتری را ایجاد می‌کنند و واکوئل‌های کوچکتر نزدیک حاشیه غشاء سلولی قرار می‌گیرند. این حالت قرار گرفتن واکوئل‌ها به دور هسته و در حاشیه، سیستم حفره‌های کورتیکال را تشکیل می‌دهد. در این مرحله زرده‌سازی (Vitelogenesis) با پدیدار شدن و پایدار شدن گرانولهای زرده به اجسام زرده تبدیل می‌گردند. در این حالت، هسته زرده ابتدا در فاصله غشاء تخمک و غشاء هسته قرار داشته ولی اندکی بعد هسته زرده که اندازه آن بسیار کوچک شده است، روی غشاء تخم قرار می‌گیرند.

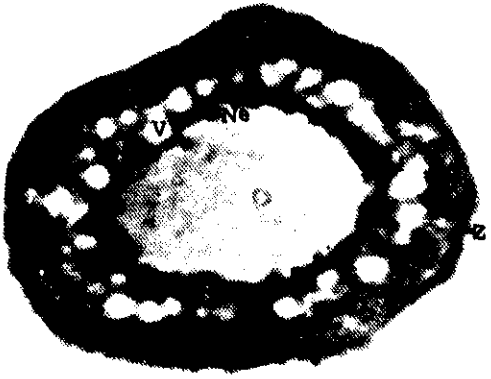
۱- اکثر اووسیت‌های ماهیان استخوانی مانند سایر جانوران در مرحله پری‌نوکلئولوس پایانی دارای یک ساختمان پرا کنده مدور هستند که میل ترکیبی زیادی با باز دارد و در مجاورت هسته واقعی قرار می‌گیرد. به این توده اصطلاحاً (هسته زرده) گفته می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

با رشد اووسیت‌ها تعداد زیادی از گلبولهای زرده‌ای متراکم که توسط یک غشاء پوشیده شده‌اند اشغال می‌گردد. گرایش سیتوپلاسم به حالت اسیدی، گوناگونی تراکم رنگدانه‌ای، استقرار هسته کروی با غشاء مشخص در مرکز تخمک و تجمع مواد کروماتین در مرکز هسته، در این مرحله دیده می‌شود. هستک‌ها معمولاً در این مرحله بیضی شکل، کوچک و به تعداد زیاد در نزدیکی غشاء هسته قرار دارند.

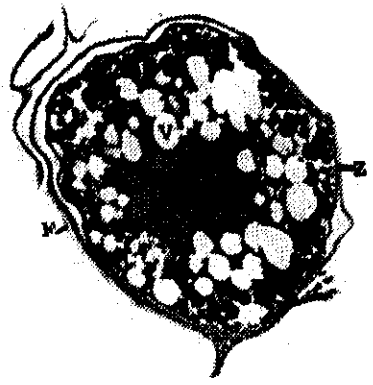
در هنگام تجمع مواد زرده‌ای هیپوپلازی سلولهای فولیکولی مشخص شده و سلولهای سنگفرشی تکا در دو لایه مرتب می‌شوند. لایه شعاعی (Zona radiata) پدیدار گشته و خون‌رسانی به تخمک‌ها بهتر صورت می‌گیرد. در این مرحله تعدادی از تخمک‌های مرحله یک و دو قابل مشاهده هستند و همچنین تخم‌های در حال جذب که احتمالاً از دوره‌های قبلی تخمریزی در تخمدان باقی مانده‌اند نیز دیده می‌شوند (شکل ۲ ج).



شکل ۲ ج: تخمک در مرحله سه: واکوئلها(V)، هستکها (Ne)، لایه شعاعی (Z) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۱۷۵×)

- مرحله چهار (بالغ):

مرحله چهارم با کامل شدن واکوئل‌ها شروع و تخمکها وارد مرحله بلوغ می‌شوند. رشد تخمکها کاملاً با مرحله سوم تفاوت داشته و تمایل اسیدی سیتوپلاسم (واکنش با ائوزین) کاملاً مشهود است (شکل ۲ د).



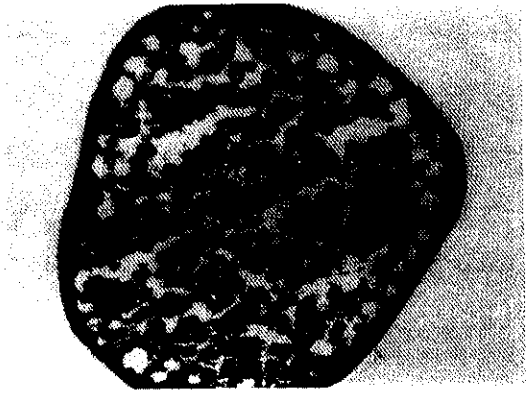
شکل ۲د: مرحله شش: هسته کنگره‌دار (N)، هستکهای پراکنده کم (Ne)، واکوئلهای بزرگ دور هسته (V)، منطقه شعاعی (Z)، لایه فولیکولی (F) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۸۷/۵×)

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲ ه: غشاء هسته بصورت کنگره‌دار
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۳۵۰×)

شکل ۲ و : لایه‌های دور تخمک: لایه شعاعی دو لایه (Z)
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۸۷۵×)



شکل ۲ ز : شکل تخمک در مرحله ۵ (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۸۷/۵×)

هسته بوسیله واکوئلها و اجسام زرده محصور شده و تحت فشار کنگره‌دار می‌گردد (شکل ۲ ه). در این مرحله با کامل شدن زرده‌سازی، متحد شدن گلبولهای زرده و تجمع قطرات چربی بوقوع می‌پیوندد. هستکها به تعداد کمتر در مناطق مختلف هسته مشاهده می‌شوند. لایه فولیکولی کاملتر شده و لایه شعاعی بهتر دیده شده و بصورت دو لایه بنظر می‌رسد. تخمکهای مراحل قبلی کمتر دیده می‌شوند (شکل ۲ و).

- **مرحله پنج (تخمریزی یا بلوغ کامل):**

اندازه تخمک به بالاترین حد خود رسیده، بصورت یکنواخت درآمده و اجسام کروی زرد از بین رفته و دیده نمی‌شوند. در انتهای این مرحله یک یا دو حفره بزرگ از پیوستن واکوئلها تشکیل و آبگیری تخمک انجام می‌شود. مهاجرت هسته تخمک به سمت قطب جانوری همراه با کوچک شدن و از دست دادن و ناپدید شدن غشای آن در این مرحله می‌باشد. در اطراف اووسیتها لایه فولیکولی وسعت یافته و فقط لایه شعاعی به دور تخمک دیده می‌شود. این مرحله دارای مدت زمان بسیار کوتاه است (شکل ۲ ز) .

www.SID.ir

Archive of SID

- مرحله شش (تخم‌ریخته):

تخمدان خالی شده و فقط حاوی مقدار زیادی فولیکول خالی، تعدادی تخمک خراب و تحلیل رفته، تعدادی تخمک‌های مرحله ۳ و ۴ که بعداً جذب خواهند شد، می‌باشد (شکل ۲ ح).

شکل ۲ ح: فولیکول خالی (F)، تخمکهای در حال جذب (A)، تخمکهای نابالغ مرحله I
(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۳۵۰×)

چون حفره تخمدانی خالی شده است لایه‌های تخمک از هم فاصله گرفته، تخمک‌های نابالغ مشخص می‌شوند و دیواره تخمدان حالت چروکیده دارد. سلولهای فولیکولی پس از تخم‌گذاری، متورم و تقسیم شده و فاگوسیتوز را نشان می‌دهند.

سلولهای فولیکولی و سلولهای سرگردان در جذب تخمکهای تحلیل رفته نقش دارند (شکل ۲ ط).

شکل ۲ط: یک تخمدان در حال جذب (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین ۳۵۰×)

بافت شناسی تخمدان و بررسی شکل ظاهری آن در ماهی کفال پوزه باریک و همچنین برآورد GSI در مراحل مختلف رسیدگی تخمک، نشان داد که به موازات رشد و بلوغ ماهی و نزدیکی به فصل تخم‌ریزی، گناد ماهی تکامل یافته و GSI نیز سیر صعودی داشته است (نمودار ۲). در ابتدا در مرحله یک میزان GSI پایین بوده و به تدریج تا مرحله سه اندکی افزایش داشته که همزمان با افزایش وزن گناد و وزن ماهی می‌باشد (نمودار ۱).

www.SID.ir

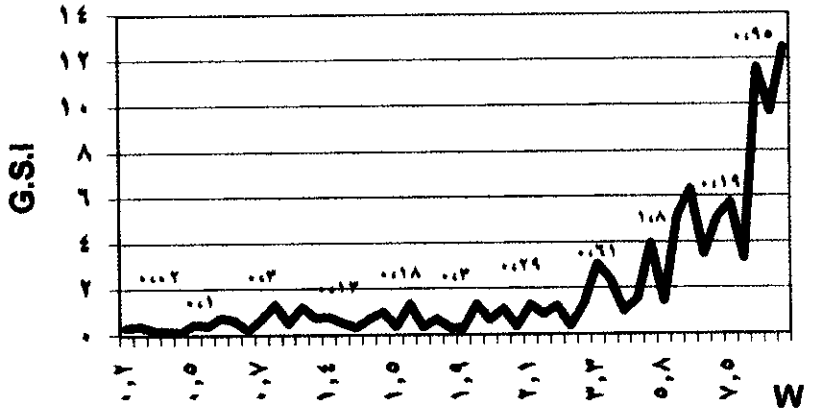
Archive of SID

GSI در مرحله ۴ زیاد بوده و در مرحله ۵ دقیقاً قبل از تخم‌ریزی در میزان حداکثر خود قرار دارد و در مرحله شش پس از تخم‌ریزی یا تخم ریخته بار دیگر GSI کاهش می‌یابد (جدول ۱).

ترکیب درصد تخمکها براساس ماههای سال در نمودار ۳ و براساس مراحل تکاملی تخمک در نمودار ۴ ارائه شده است. همانطوریکه از نمودارهای فوق مشخص شده است تخمکها در هر مرحله از بلوغ رسیدگی زیاد دارند و برای رسیدن به مرحله نهایی، دارای رسیدگی همزمان هستند.

این گونه، ماهی ۹ تا ۱۰ ماه از سال را در مراحل بین یک و سه می‌باشد و تنها ۲ تا ۳ ماه از سال را در مرحله پنج و شش قرار دارد و لذا با در اختیار داشتن GSI، درجه رسیدگی ماهی و زمان تخم‌ریزی را می‌توان تخمین زد (نمودارهای ۱ و ۲).

با بررسی نمونه‌های مربوط به ماههای شهریور تا اسفند، مقادیر GSI کم و وجود تخمدان مرحله یک در جمعیت این ماهی مشاهده شده است. پس از آن مراحل دوم و سوم تکامل گناد در تخمدان تا آخر ماه خرداد دیده می‌شود. تخمدانهای بالغ طی یک دوره کوتاه در ماههای تیر و مرداد مشاهده شده که زمان تخم‌ریزی ماهی می‌باشد. در شهریورماه دوره پس از تخم ریزی (مرحله شش) می‌باشد (جدول ۲).

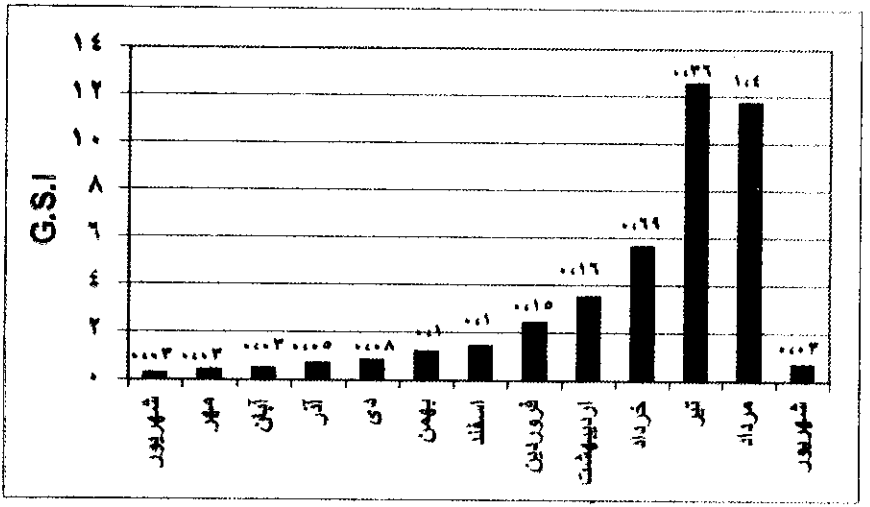


نمودار ۱: رابطه بین وزن گناد (W) و شاخص رسیدگی (GSI)

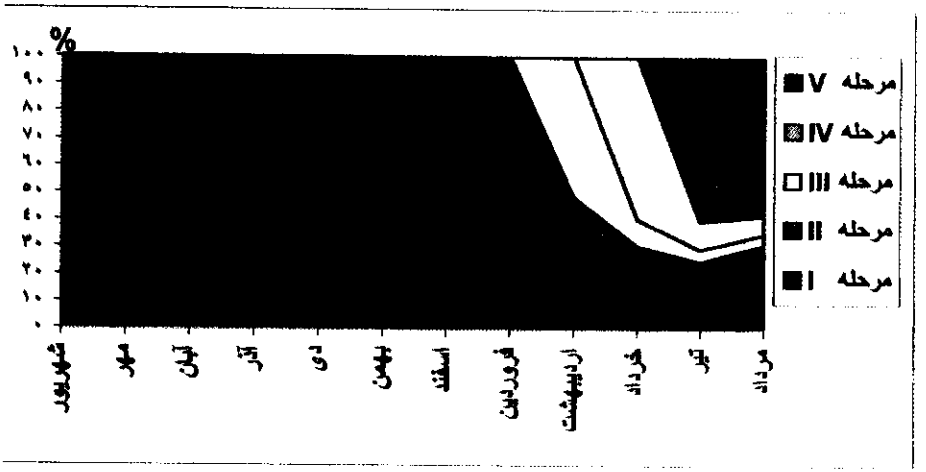
(اعداد روی نمودار معرف S.E.mean وزن گنادهای ارائه شده در نمودار است)

www.SID.ir

Archive of SID



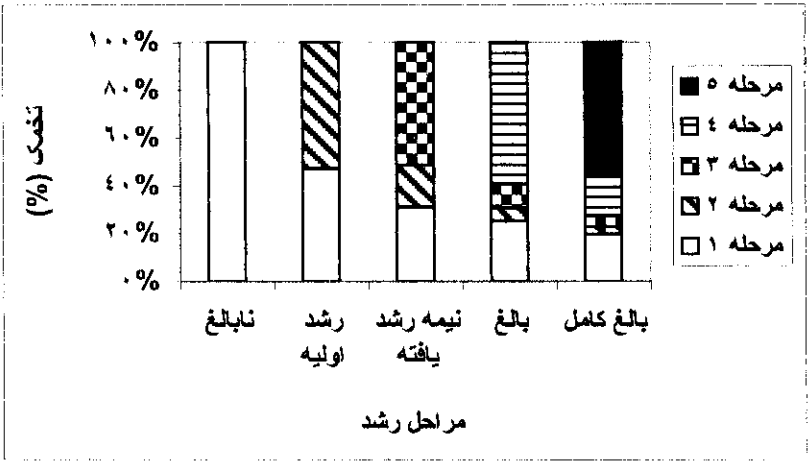
نمودار ۲: رابطه بین ماه و شاخص رسیدگی (GSI)
(اعداد روی نمودار S.E.mean همان ستون می‌باشند)



نمودار ۳: ترکیب درصد تخمکهای ماهی کفال پوزه باریک در ماههای سال (۷۸-۱۳۷۷)

www.SID.ir

Archive of SID



مرحله ۱- شهریور- دی ، مرحله ۲- بهمن-فروردین، مرحله ۳- اردیبهشت
مرحله ٤- خرداد و مرحله ٥- تیر و مرداد

نمودار ۴: ترکیب درصد تخمک‌های ماهی کفال سالینس

جدول ۱ : قطر تخمک و GSI ماهی کفال پوزه باریک در مراحل مختلف رشد

مراحل رشد	قطر تخمک		GSI	
	SD	میانگین	SD	میانگین
مرحله ۱	۳/۳۰	۳۰/۷۲	۰/۳	۰/۸۳
مرحله ۲	۵/۲۶	۸۲/۴۱	۰/۷	۱/۲۱
مرحله ۳	۹/۷۲	۱۷۲/۸۱	۰/۳	۲/۱۲
مرحله ۴	۸/۱۶	۳۱۲	۰/۹	۱۱/۵
مرحله ۵	۶/۱۰	۴۲۲	۱/۶	۱۸/۷
مرحله ۶	۵/۱۰	۴۰/۱۲	۰/۴	۰/۹۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ : قطر تخمک و GSI ماهی کفال پوزه باریک در طی ماههای سال (۱۳۷۷-۱۳۷۸)

ماههای سال	قطر تخمک		GSI	
	SD	میانگین	SD	میانگین
آذر	۲/۷	۳۴/۲۵	۰/۱۱	۰/۶۶۵
دی	۲/۸	۳۴/۲۷	۰/۱۸	۰/۷۹۶
بهمن	۳/۵	۵۶/۷۲	۰/۲۶	۱/۱۷۲
اسفند	۳/۶	۶۰/۱۷	۰/۲۲	۱/۴۱۵
فروردین	۴/۹	۷۹/۸۳	۰/۳۸	۲/۴۰۰
اردیبهشت	۴/۶	۸۷/۱۹	۰/۳۱	۳/۴۷۷
خرداد	۱۸/۳	۱۱۴/۶۴	۱/۷	۵/۶۱۷
تیر	۲۱/۵	۳۰/۱۶	۲/۳	۱۲/۵۱۰
مرداد	۳۲/۷	۳۰/۹۲	۲/۸	۱۱/۶۹۰
شهریور	۵/۶	۳۸/۳۳	۰/۰۶۲	۰/۲۴۱
مهر	۳/۱	۳۶/۱۹	۰/۰۶۵	۰/۳۶۲
آبان	۲/۹	۳۶/۲۱	۰/۰۶۳	۰/۴۵۰

بحث

تغییرات تخمدان و سلولهای جنسی در طول اووژنز توسط بسیاری از محققین مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Biswas,1993 ; Bhatti & Al-Daham, 1978). و با توجه به شاخصهای تشخیصی نظیر رنگ، اندازه تخمک‌ها و میزان اشغال محوطه بدن در ماهیان استخوانی محققین کلیدهایی را در نظر گرفته‌اند.

خصوصیت تخمدان در ماهیان توسط محققین برحسب تفاوتها و تشابهات بین گونه‌ای به مراحل مختلفی تقسیم‌بندی گردیده است ولی عمدتاً بین ۶ تا ۷ مرحله متغیر بوده است. (Suluchanamma *et al.*, 1981 ; Neelakantan *et al.*, 1989 ; Salem *et al.*, 1999). که در کفال پوزه باریک با توجه به شاخصهای تعریف شده، به ۶ مرحله تقسیم‌بندی و شرح داده شد. تخمدان در مراحل اول بسیار کوچک و بصورت یک نوار نخ مانند بی‌رنگ دیده شد. با تکامل تخمدان به

www.SID.ir

Archive of SID

مراحل ۲، ۳ و ۴ همراه با افزایش و ظهور رگهای خونی، دیواره تخمدان ضخیم شده و رنگ آن به ترتیب به صورتی، زرد و زرد پر رنگ تغییر رنگ می‌یابد. توده تخمک در مرحله ۳ قابل تشخیص و در مرحله ۴ تخمکها با چشم غیرمسلح قابل رؤیت است. در مرحله ۵ تخمکها از فولیکول آزاد شده و ماهی تخمریزی می‌نماید. اندازه تخمک در مراحل نهایی جهت تشخیص مرحله رسیدگی نیز بسیار حائز اهمیت است. اندازه تخمک ماهی کفال *Liza richardsonii* در مرحله رسیده در حدود ۹۵۰ میکرون و اندازه تخمک در مرحله رسیده ماهی کفال *Liza dumerilii* در حدود ۸۵۰ میکرون گزارش گردید (Horswt & lasiak, 1989).

عامل مشخصه‌ای که اطلاعات زیادی در باره فعالیت تولید مثلی ماهیان بدست می‌دهد، ترکیب تخمک‌هاست. از روی ترکیب ائوسیت می‌توان به نوع رشد تخمدان پی‌برد و وضعیت تولید مثل آنها را مورد مطالعه قرار داد. وجود چند گروه مختلف تخمک در مراحل مختلف نمایانگر فعالیت تولید مثلی بیش از یکبار در سال است و همچنین وجود گروهی یک دست از تخمکهای رسیده و تفاوت فاحش آن با تخمکهای نابالغ گویای یک دوره تخمریزی کوتاه می‌باشد. در تخمدانهای با رسیدگی همزمان (group synchronous) حداقل دو گروه ائوسیت در حال رشد قابل مشاهده است و ماهی فقط در یک فرصت کوتاه و یکبار در سال تخمریزی می‌کند (Rankin *et al.*,1983).

با توجه به ترکیب تخمکها در تخمدان کفال پوزه باریک، هماهنگی خاصی در انتقال تخمدان از مرحله‌ای به مرحله بعدی وجود دارد. ترکیب تخمکها در کفال به شکلی است که در هر مرحله از بلوغ، تقریباً تمامی تخمکها در یک مرحله از رشد قرار دارند و فقط تعداد کمی از مراحل قبلی در آن مشاهده می‌گردند. چنین وضعیتی نمایانگر آن است که در فصل تخمریزی همه تخمکها یکباره بیرون ریخته می شوند و ماهی در طول سال یکبار تخمریزی می‌کند و پس از آن به مرحله دوم بلوغ برمی‌گردد.

مراحلی که توسط محققین در ماهیان استخوانی در چرخه رشد تخمدان از ۴ تا ۱۴ مرحله تعیین شده است در هر ماهی متفاوت می‌باشد (Malhotra *et al.*, 1989 ; Clark, 1939).

در ماهی کفال نیز تقسیم‌بندیهای متفاوتی تعریف شده که برای مثال در کفال *Liza parsia*

www.SID.ir

Archive of SID

پنج مرحله (Kurup & Samuel 1983) در کفال *Chana punctata* هشت مرحله (Reddy & Balasundar, 1979) در کفال سفالوس به ۵ مرحله (Kuo *et al.*, 1974) و ۶ مرحله (Suluchanamma *et al.*, 1981) تقسیم شده است. مراحل تکامل تخمک توسط Salem و همکارانش در سال ۱۹۹۹ به ۹ مرحله تقسیم شده است که مرحله نوکلئوتید به آغازی و پایانی و مرحله زرده‌سازی به اولیه، ثانویه و نهایی بسط داده شده است. در حالیکه تعدادی دیگر از محققین با ادغام مراحل نزدیک بخاطر شبیه بودن برخی مراحل و ساده‌تر نمودن بررسی، مراحل رسیدگی را به ۶ مرحله کاهش داده‌اند.

در این تحقیق نیز به دلیل تشابهات مرفولوژیک و فیزیولوژیک زیاد گونهٔ کفال پوزه باریک با اوراتوس تقسیم‌بندی و مطالعات مراحل تکامل تخمک و تخمدان بر مبنای ۶ مرحله‌ای صورت گرفت که قبلاً در این مورد اعمال شده بود (شعبانی پور، ۱۳۷۴).

همانطور که در بخش نتایج ملاحظه شد، تخمکهای مرحله اول بسیار کوچک بوده و مربوط به شهریور ماه می‌باشد که شروع فصل فعالیت تخمدان است. در این مرحله هسته هر اووسیت بیشتر بخش سلول را اشغال کرده و درون یک لایه نازک سیتوپلاسمی قرار دارد. این تخمک در مرحله دوم رشد، دارای رشد سیتوپلاسمی و سپس مقدار زیادی بافت چربی در گناد می‌شود. در مرحله ۲ تکاملی، لایه فولیکولی به دور تخمکها ظاهر شده و اووسیت‌ها در وضعیت وزیکول زرده قرار داشتند. هستکها در مجاورت غشاء هسته از نظر تعداد افزایش یافتند. مرحله ۱ و ۲ را مرحله Previtelloyenic می‌نامند (Krishnan of Diwan, 1990) در مرحله سوم بلوغ، تخمک شروع به زرده‌سازی می‌نماید. وجود زرده برای رشد سلول الزامی است.

با افزایش زرده‌سازی، بافت چربی کاهش می‌یابد. ظهور گلبول‌های زرده ریز کروی ابتدا در حاشیه تخمک و در بیرونی‌ترین بخش اووپلاسم ظاهر می‌شود و بتدریج با رشد اووسیت به سطح هسته نزدیک می‌شود و در اواخر مرحله ۳ با قرار گرفتن روی غشاء هسته ناپدید می‌شوند. موضع استقرار هسته اووسیت در مراحل پایانی رشد تخمک به سمت قطب حیوانی تغییر مکان می‌دهد و هسته بطور کامل در محاصره دانه‌های زرده‌ای ناحیه جانوری قرار می‌گیرد. هستک‌ها در این مرحله بهم خورده و بطور تصادفی در هسته پراکنده می‌شوند بدون آنکه تعداد و اندازه آن تغییر

www.SID.ir

Archive of SID

یابد. از خصوصیت دیگر این مرحله مشاهده لایه شعاعی Zona radiata بوده است. تغییرات حاصله در هسته و هستک‌های اووسیت‌ها در مراحل رشد تخمدان و تکامل اووسیت‌ها، نشان دهندهٔ فرایند سنتز فعال در تخمکهاست. ازدیاد تعداد هستک‌ها از نظر Yamamoto در سال ۱۹۵۶ علامت سنتز فعال در هسته است. در حالی که Mac Gregor در سال ۱۹۷۲ هستک‌ها را محل ساخت RNA ریبوزومی می‌داند. طی فرآیند زرده‌سازی در تخمک‌ها، هسته متحمل تغییراتی می‌شود و در نهایت موقعی که زرده‌سازی بپایان می‌رسد به از بین رفتن آن منجر می‌گردد. در این تحقیق نیز مشاهده شد که در طی رشد اووسیت‌های ماهی کفال پوزه باریک و نیز ضمن عمل زرده‌سازی، تعداد هستک‌های هسته افزایش یافت. همچنین در اواخر مرحله ۴، هسته به سمت قطب جانوری مهاجرت نموده و کاملاً توسط دانه‌های زرده‌ای قطب مذکور در برگرفته شد. مطالعات انجام گرفته در این خصوص با نتایج بدست آمده از کفال سفالوس (خالصی، ۱۳۸۰) مطابقت داشته است.

در مرحله چهارم تکامل بافت چربی کاهش یافته، تخمک‌ها اندکی آزاد بوده و هسته آمادهٔ آغاز مهاجرت به سمت قطب جانوری می‌شود. از خصوصیات دیگر این مرحله اختلاط گلبولهای زرده و قطرات چربی است که به صورت یک توده یکنواخت بنظر می‌رسد.

در پایان دوره زرده سازی در مرحله چهارم بلوغ و پیش از فرآیند تکمیل بلوغ، لایه شعاعی کاملتر می‌شود و می‌توان آن را بصورت دو لایه مشاهده نمود. غشاء تخمکها در کفال بترتیب عبارتند از : غشاء سیتوپلاسمی، زونارادیاتا، پوشش فولیکولی - تکا و گرانولوزا غشاء فولیکولی از مرحله ۲ تا ۴ بطور کامل تخمکها را احاطه می‌کند و نقش اساسی در تغذیه تخمک و در امر رشد و زرده‌سازی ایفاء می‌کند. غشاء فولیکولی را جزیی از سیستم ترشحی هورمونهای استروئیدی می‌دانند (Saidapur, 1978 ; Guraya & Kaur, 1982).

در مرحله پنجم لایه‌های فولیکولی گسسته شده و تخمکها از حفره فولیکولی جدا می‌شوند. GSI مرحله پنجم مرحله‌ای است که تجزیه و تحلیل (دژنراسیون) اووسیت‌ها غالباً تا مرحله سه روی می‌دهد. گلبول زرده بطور نامنظمی فشرده می‌شود که از حاشیه لایه شعاعی شروع شده، به سمت مرکز تخم حرکت می‌کند. تجزیه لایه شعاعی شروع و سطح خارجی آن نامنظم می‌گردد، در

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه این لایه گسیخته می‌شود. اشغال درون اووسیت آغاز و زرده، دچار فاگوسیتوز می‌گردد. عمل فاگوسیتوز توسط سلولهای گرانولوزا صورت می‌گیرد که متحمل هیپرتروفی می‌شوند. در مرحله پنجم بافت چربی تخمدان بسیار اندک بود که سبب روان شدن تخمک‌ها و شروع تخم‌ریزی ماهی می‌گردد. وزن گناد قبل از تخم‌ریزی به بیشترین میزان می‌رسد.

مدتی پس از تخم‌ریزی ترکیب تخمدان شامل تعدادی از فولیکولهای باقیمانده و تخمک‌های مرحله دوم و سوم رسیدگی می‌باشد. تخمک‌های مرحله سوم و چهارم که باقیمانده‌اند پس از تخم‌ریزی جذب می‌شوند.

با توجه به مطالبی که بیان شد و با در نظر گرفتن اطلاعات زیست‌سنجی همانند وزن ماهی، طول ماهی، سن و ایجاد روابط بین آنها و تعیین مراحل ائوژنز آنها مشخص گردید که در کفال پوزه باریک ماده، گامتوژنز به رشد ائوسیت و افزایش تعداد آنها بستگی دارد و در ارتباط با ماهی رابطه محسوسی بین وزن ماهی و رشد گناد دیده می‌شود. بنابراین در طول رشد گامتها و افزایش وزن تخمدان، وزن ماهی نیز بطور مرتبطی افزایش می‌یابد.

فعالیت تخمدان و فصول تخمریزی ماهیان استخوانی از طریق اطلاعاتی نظیر مراحل مختلف تخمدان از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی، تغییر GSI، ترکیب تخمکهای مراحل مختلف سنجیده می‌شود. مرحله ۱ تا ۳ مرحله طولانی است و از شهریور ماه تا اردیبهشت ماه طول می‌کشد.

طبق برآوردهای انجام شده و تحقیقاتی که در این پژوهش صورت پذیرفته، می‌توان فصل تخمریزی کفال پوزه باریک را تخمین زد. هر چند این زمانها تحت شرایط محیطی نظیر درجه حرارت، شوری و غیره ممکن است دیرتر یا زودتر صورت پذیرد ولی در کل می‌توان محدوده زمانی تخمریزی و زمان بلوغ این گونه را تخمین زد. در بررسی رشد تخمدان کفال پوزه باریک در جنوب دریای خزر و تحقیق حاضر مراحل یک تا سه در ماههای شهریور تا اردیبهشت، مرحله چهار در ماههای خرداد و اوایل تیر و مرحله پنج طی ماههای تیر و مرداد مشاهده می‌شود و ماهی در شهریور در مرحله شش (تخم ریخته Spent) به سر می‌برد. در مقایسه با کفال اوراتوس، مراحل تکامل گناد ماهی کفال پوزه باریک چند ماه زودتر از کفال اوراتوس است و حداکثر GSI

www.SID.ir

Archive of SID

در کفال پوزه باریک در تیر ماه مشاهده شده، در حالیکه در کفال اوراتوس در مهر ماه مشاهده شده است (شعبانی‌پور، ۱۳۷۴).

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر حسینعلی خوشباور رستمی ریاست محترم پژوهشکده اکولوژی دریای خزر که امکان اجرای پروژه را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌شود. از خانمها شراره فیروزکندیان، عذرا رزقی، نرگس ضرابیان و آقایان مولود صفری، حسین طالشیان و نوش‌آبادی جهت همکاری در انجام پروژه کمال سپاسگزاری را داریم و همچنین از سرکار خانم سیده زهرا نبوی جهت تایپ مقاله صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

فرخ‌زاد، ف.، ۱۳۷۶. نقش غدد درون‌ریز در پرورش ماهی. ش. پ ۲۵۷۶، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحات ۲ تا ۱۰.

شعبانی‌پور، ن.، ۱۳۷۴. مختصری در باره کفال ماهیان دریای خزر. ماهنامه علمی-تحقیقی آبزیان، شماره ۷، صفحات ۴۷ تا ۶۲.

شکری بوسجین، م.، ۱۳۷۴. روشهای بررسی بیولوژیک غدد جنسی ماهیان. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، اداره انتشارات معاونت اطلاعات علمی. ۵۸ صفحه.

خالصی، م.ک.، ۱۳۸۰. مطالعه بافت‌شناسی چرخه رسیدگی تخمک در ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* در شرایط پرورش. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی تربیت مدرس نور. ۸۶ صفحه.

Aiass, A.A. and Husseine, K.A. , 1982. The state of gonads of gery mullet, *M. saliens* Risso, *Mugil capito* cuv. leaving ne Egyptian lakes for spawning in the Mediterranean sea. Bull-INST-OCEANOGR-FISH CARO-(ABSTRACT). Vol.8. No. 1, pp.87-93.

www.SID.ir

Archive of SID

Apekin, V.S. and Vilenskaya, N.I. , 1978. Characterization of the sexual cycle and the state of gonads in the Black Sea mullet *Mugil cephalus* L. during the spawning migration. Voper. Ikhtiol. VNIRO, Moscow, U.S.S.R. (Abstract). Vol. 18, No. 3, pp.494-506.

Bhatti, M.N. and Al-Daham, N.K. , 1978. Annual cyclical changes in the testicular activity of freshwater teleost *Barbus leuteus* (Heckel) from Shatt-Al-Arab, Iraq, J. Fish. h. Biol. Vol. 13, pp.321-326.

Biswas, S.P. , 1993. Manual of method in fish biology, South Asian Publishery, New Dehli, 79091.

Bruslc, S.X. and Brusle, J. , 1977. The mullet of Tunisia: Lagoon fishery and biology of the three species *(M. capito, M. cephalus, M. chelo)* of lakes Isch Keulan Tunis. Rapp. P.V. Renv. comm. Int, Explor. Sci. Mer. mediterr. Monaco, (Abstract). Vol. 24, No. 5, pp.101-103.

Clark, F. N. , 1939. Maturity of the California sardine (*Sardin caerulea*) determined by ovadiameter measurments. Fish. Bull., Vol. 42, 49 P.

Guraya, S.S. and Kaur, S. , 1982. Cellular sites of the steroid synthesis in the oviparous teleost fish (*Cyprinus carpio* L.). A histochemical study. Proc. Indian Acad. Sci. (Anim.Sci), Vol. 91, pp.587-597.

Hoar, W.S. and Randel, D.R. , 1983. Fish physiology. Vol. IX, part A. Part B.

Horst, G.V.D. and Lasiak, T. , 1989. Characteristics of mature oocytes from four species of marine teleosts. S. Afr. Tydskr. Dierk. pp.1-24.

Joseph, E. and Rao, P.V. , 1993. Studies on the histological and biochemical changes during spermatogenesis and *Mugil cephalus* Linnaeus and related species. Mariculture research under the postgraduat programe in mariculture part

www.SID.ir

Archive of SID

Rengaragan (Eds. K. Noble ; A. Parathibha ; V. Kripa ; N. Sridnar ; M. Zakhariah) COCHIN-INDIA-CmFRI. Vol. 5637, 41 P.

Kulikova, N.I. and loshakova, W.Ye. , 1982. Oogenesis and sexual cycle of the long finned mullet, *Liza auratus* (Mugilidae). J. Icthyor, Vol. 5, pp.65-75.

Krishnan, l. and Diwan, A.D. , 1990. Seasonal changes in gonads and relationship with gonadotrophs of the pituitry in *Etroplus suratensis* (Bloch). J. Mar. Biol. Ass. India. Vol. 32, pp.5-9.

Kuo, C.M. ; Nash, C.E. and Sheadeh, Z.H. , 1974. Aprocedural guide to induce spawning injery mullet (*Mugil cephalus* L.) Females by injection of human chorionic gonadotropin. Aquaculature, Vol. 3, pp.7-14.

Kurup, B.M. and Samuel, C.T. , 1983. Observations on the spawning biology of *Liza parsia* (Hamilton-Buchanan) in the Cochin esturay. "Mahasagar" Bull. Natn. Inst, Oceanogr. Vol. 16, No. 3, pp.371-380.

Mac Gregor, H.C. , 1972. Nucleoli and its genes in oogenesis. Bioll. Rev., Vol. 47, pp.177-219.

Malhotra, Y.R. ; Jyoti, M.K. and Gupta, K. , 1989. Reproductive cycles of freshwater fishes. *In*: Reproductive of Indian Vertebrates. Allied Publishers Ltd. pp.58-105.

Moiseyeva, E.B. ; Mogilnaya, N.A. and Starushenko, I.T. , 1991. Features of gonadal development in mullet brook stocks (leaping gray mullet, gray mullet- Pacific mullet) raised at the experimental mullet Hathcery. J. ICHTHYOL. (Abstract). Vol. 31, No. 3, pp.1-15.

Neelakantan, B. ; Kusuma, N. and Bhat, U.G. , 1989. Reproductive cycles of marine fishes. *In*: Reproductive cycles of Indian vertebrata (Ed. S.K. Saidapur). Alied Publishers, ltd. pp.106-165.

www.SID.ir

Archive of SID

Ramanathan, V.A. , 1982. Correlative study on the ovarian cycle and interrenal activity in the freshwater. M. Phil. Thesis, University of Madrras.

Rankin. Y.C. ; Pitcher, T.S. and Duggan, R.T. , 1983. Control processes in fish physiol. Croom helm, London. UK. 220 P.

Reddy, P. and Balasundar. , 1979. Maturity of spawning in the mullet *Channa punctata* (Bloch, 1073) (Pisces, teleostei, channidae) from Guntur, Andhra predesh, proc. Indian Nath. Sci. Aca. B. Vol. 45, No. 6, pp.543-553.

Saidapur, S.K. , 1978. Follicular atresia in the ovarian of non mammalian vertebrates Int. Rev cytoll. pp.225-244.

Salem, S.B. ; Zaki, M.I. ; El-Gharabawy, M.M. ; El-Shorbagy, I.K. and El-Boray, K.F. , 1999. Seasonal histological changes in the ovaries of *Mugil seheli* from Suez Bay. Bull. Nati. Inst. Oceanogr. Fish. Egypt, Vol. 20, No. 1, pp.235-249.

Suluchanamma, G.P. ; Reddy, S. and Natarajan, R. , 1981. Maturity and spawning of *Mugil cephalus* Linnaeus in Porto Novo waters. J. Mar. Biol. ASSS. India. Vol. 1-3, pp.57-61.

Valter, G.A. , 1980. Pecularities of maturation of females of the long finned mullet (*Mugil auratus*) depending on the size of their oocytes and also of the dose of carp pitutary injection. *In*: Fiziologiga kh rygb. (the physiology of sea fishes). Moscow, Pishchenaya promyshlennost. pp.70-77.

Yamamoto, K. , 1956. Studies on the formation of fish eggs. J. Fac. Sci. Hokkaido. Uni. Ser. V. Zool. pp.362-371.

www.SID.ir