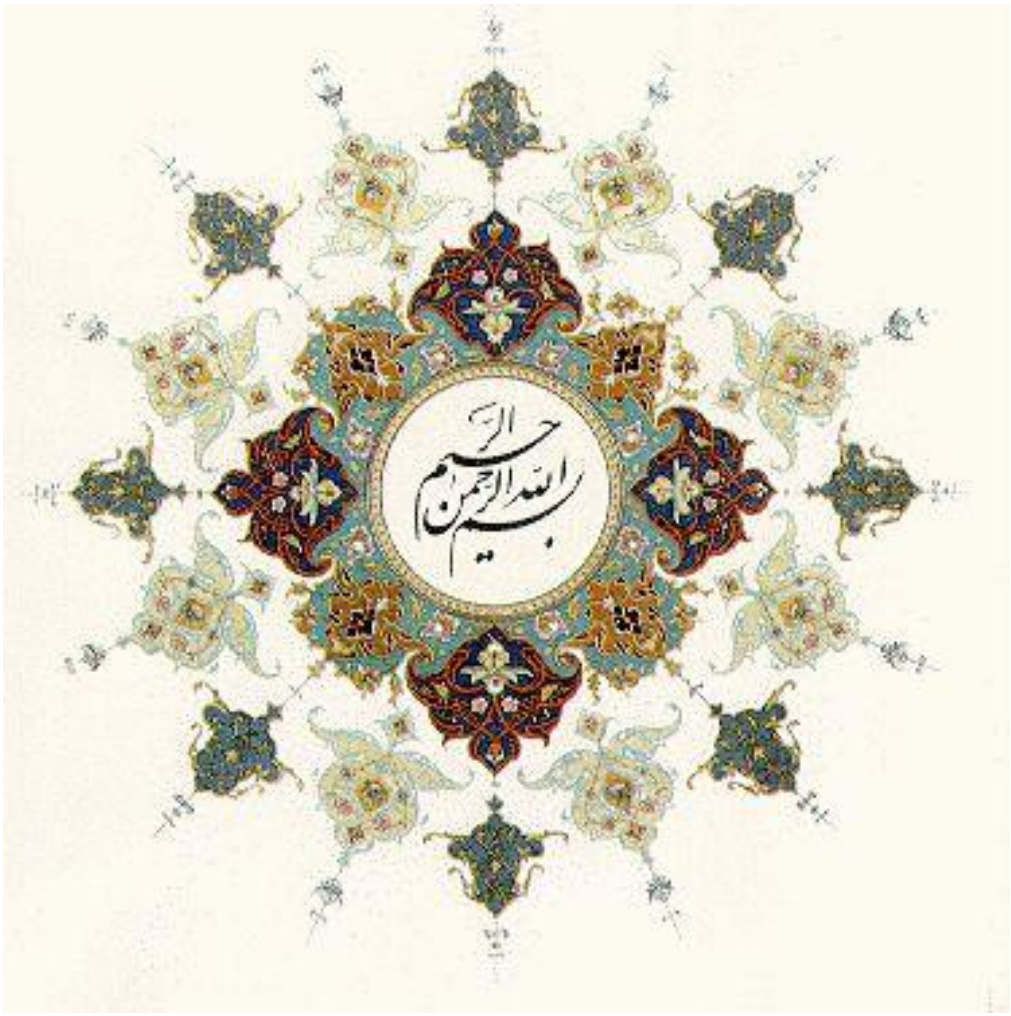

بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم
گروه زیست شناسی
(زیست شناسی دریا- جانوران دریا)

مطالعه بافتی ساختار Zona radiata در اووسیت ماهی گورخری *(Danio rerio)*

از:

فاطمه اسمعیل کاویانی

استاد راهنما:

دکتر نادر شعبانی پور

بهمن 89

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی ، به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را **به پدر و مادر عزیزم** تقدیم می کنم.

تشکر

خداوند بزرگ را شاکرم که همواره همراهم بوده و وجودش را در تمام لحظات زندگی ام حس کرده ام.

به نام **مادر**
بوسه ای باید زد
دست هایی را
که می شویند غبار خستگی روزگار را
و سیراب می کنند روح تشنه را
به نام **پدر**
بوسه ای باید زد
دست هایی را
که می تابانند
نیرو را
و محکم می کنند
استواری پایه های زیستن را

از **پدر و مادر عزیز و بی نظیرم** بسیار سپاسگزارم که همیشه پشتیبان من بوده و هستند و وجودشان دلیلی برای زیستن است.

از زحمات بی‌دریغ، تلاش‌های بی‌وقفه و راهنمایی‌های ارزشمند استاد راهنمای گرامی **جناب آقای دکتر نادر شعبانی پور** در راستای انجام این پروژه تشکر می کنم.

از دوست و خواهر بسیار عزیزم **خانم مهندس سیده باهره میرناطق** که همیشه همراه من بوده و هستند و وجودشان باعث دلگرمی من است بسیار سپاسگزارم.
از دوستان خوبم خانمها **مهندس هنگامه خلیلی** ، **مهندس فرخنده پورنجفی زاده** و **مهندس الهه فروزنده** که لحظات زیبایی را در کنارشان داشتم و دوستان خوبم در آزمایشگاههای زیست گیاهی و بیولوژی تکوینی تشکر می کنم.

از خانم **دکتر اکرم نعیمی** ، **جناب آقای مهندس گلچین** ، **جناب آقای مهندس علوی** و **جناب آقای مهندس روضاتی** متشکرم.
از کارشناسان محترم آزمایشگاه های زیست شناسی **خانم مهندس هادوی** و **خانم مهندس شایگان** متشکرم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ..... چ
چکیده انگلیسی ..... ح

فصل اول/ مقدمه و کلیات

مقدمه 1
1-1- اپیتلیوم فولیکولی 3
2-1- تکا 3
3-1- زونا ردیاتا 4
1-3-1 زمان تشکیل زونا ردیاتا 6
2-3-1 عملکرد زونا ردیاتا 6
3-3-1 کوریون 7
4-1 بیولوژی ماهی گورخری یا Zebrafish *(Danio rerio)* 8
1-4-1 رده بندی 8
1- 2-4 تولیدمثل 9

فصل دوم/ مواد و روش ها

1-2- نمونه برداری 10
2-2- بافت شناسی تخمدان 10
3-2- تهیه مقاطع بافتی 11
1-3-2- مراحل آبگیری و شفاف سازی بافت ها 11
2-3-2- قالب گیری بافت ها 11
3-3-2- مقطع برداری 11
4-3-2- رنگ آمیزی 12
4-2- آماده سازی بافت ها برای میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) 12

فصل سوم/ نتایج

مشاهدات مراحل مختلف رسیدگی تخمک و تغییرات زونا ردیاتا 14
تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) 16

فصل چهارم/ بحث 21
پیشنهادات 25
منابع 26
پیوست 32

فهرست تصاویر

عنوان صفحه

شکل 1-1 تخمک و لایه های پوششی آن 2
شکل 2-1ماهی گورخری (*Danio rerio*) 10
شکل3-1 تخمک Zebrafish در مرحله رشد ابتدایی 14
شکل 3-2 تخمک Zebrafish در اوایل مرحله واکوئل های قشری(مرحله III) 15
شکل3-3- تخمک Zebrafish در اواخر مرحله واکوئل های قشری (مرحله III) 16
شکل 3-4 تصاویر میکروسکوپ الکترونی تخمک Zebrafish در اوایل مرحله واکوئل های قشری (مرحله III) 16
شکل 3-5 تصاویر میکروسکوپ الکترونی تخمک Zebrafish در اواخر مرحله واکوئل های قشری (مرحله III) 17
شکل 3-6 تخمک Zebrafish در مرحله زرده سازی (مرحله IV) 18
شکل 3-7 تصویر میکروسکوپ الکترونی تخمک Zebrafish در اوایل مرحله زرده سازی(مرحله IV) 19
شکل3-8 تصویر میکروسکوپ الکترونی تخمک Zebrafish در اواخر مرحله زرده سازی (مرحله IV) 19
شکل 3-9- تخمک Zebrafish در مرحله بلوغ 20
شکل3-10 تصویر میکروسکوپ الکترونی از تخمک Zebrafish در مرحله بلوغ (مرحله V) 20

چکیده

مطالعه بافتی ساختار Zona radiata دراووسیت ماهی گورخری (*Danio rerio*)

فاطمه اسمعیل کاویانی

بیش از نیمی از مهره‌داران را انواع ماهیان استخوانی تشکیل می‌دهند. یک ویژگی اصلی ماهیان استخوانی از نظر تکاملی ، موفقیت در مکانیسم تولیدمثلی آنها است که با شرایط متفاوت محیط آبی سازگار شده است. تخمک ماهیان استخوانی به وسیله لایه فاقد سلول به نام زونارادیاتا(ZR) احاطه می‌شود. مورفولوژی زونارادیاتا بین گونه‌ها متنوع است و سازش به شرایط اکولوژیکی را منعکس می‌کند. جنبه‌های مورفولوژیک زونارادیاتا برای اهداف تاکسونومیکی در ماهیان استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر ساختار زونارادیاتا (ZR) (Zona Radiata) در تخمک Zebrafish درمراحل مختلف رسیدگی تخمدان و رشد تخمک مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور جنس ماده Zebrfish جمع‌آوری و هربار تخمدان در محلول بوئن تثبیت شد. نمونه‌ها پس از طی مراحل آماده‌سازی بافت توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی مورد مطالعه قرار گرفتند.

مطالعه مقاطع بافتی نشان داد که در Zebrafish زونارادیاتا در مرحله رشد ابتدائی (مرحله I و II) دیده نشد. در مرحله واکوئل‌های قشری(مرحلهIII) ، ZR به صورت لایه نازک مشاهده شد. در مرحله زرده‌سازی (مرحلهIV) ضخامت آن افزایش یافته و در مرحله بلوغ (مرحلهV) ضخامت آن کاهش می‌یابد. در اوایل مرحلهIII شیارهای زونارادیاتا شروع به تشکیل می-کنند ، در مرحله زرده‌سازی شیارهای نرده‌ای به طور کامل تشکیل می‌شوند ، در اواخر این مرحله شیارها به تدریج شکل نرده‌ای حود را ازدست می‌دهند و در مرحله بلوغ این شیارها به طور کامل از بین می‌روند. درZebrafish هیچ فیلامنت چسبنده‌ای مشاهده نمی‌شود و سطح زونارادیاتا صاف می‌باشد.

کلمات کلیدی: Zona radiata ، تخمک ، ماهی گورخری (Zebrafish)

Abstract

Histological study of Zona radiata structure in oocyte of Zebrafish(*Danio rerio*)
Fatemeh Esmaeil Kaviani

Teleosts comprise more than half of the vertebrate species. A key feature of teleost evolutionary success is their reproductive systems which are efficient and functional in all aquatic environmental conditions. Oocytes of teleost fishes are covered by a non-cellular envelope named zona radiata(ZR). ZR morphology is variable and among various fish species reflect adaptation to ecological conditions. Morphological aspects of zona radiata have been used for taxonomic purposes. In this research the structure of zona radiata in oocytes of zebrafish in different stages of ovarian development and oocyte growth were studied.

For this purpose zebrafish females were collected and ovary was fixed in Bouin's solution. Samples were studied by light and electron microscope after undergoing tissue preparation stages. In primary growth (stage I and II) zona radiata was not observed. In stage III ZR observed as thin layer around the oocyte. It increased in thickness at stage IV(vitellogenesis). In stage V the thickness of ZR was decreased.

In early stage III ZR striations start to forming , in stage IV(vitellogenesis) fence-like striations completely were formed , in lately stage IV gradually fence- like striations start to disappeared and in maturation stage completely disappeared. In zebrafish were no adhesive filaments and ZR surface is smooth.

Keywords: Zona radiata, oocyte, Zebrafish

فصل اول

مقدمه وکلیات

مقدمه:

بیش از نیمی از مهره‌داران را انواع ماهیان استخوانی تشکیل می‌دهند[Baldacci *et al.*, 2001]. یک ویژگی اصلی ماهیان استخوانی از نظر تکاملی ، موفقیت در مکانیسم تولیدمثلی آنها است که با شرایط متفاوت محیط آبی سازگار شده است[Mekkawy and Osman, 2006]. تفاوت‌های بین گونه‌ای در ساختار پوشش تخمک و تخم ماهیان استخوانی سالها موضوع تحقیق و پژوهش بوده است[Merrett and Barnes, 1996].

ویژگی‌های فراساختاری پوشش تخمک و تخم در تشخیص گونه‌ها کمک می‌کند [Chen *et al.*, 1999]. آرایش پوشش تخمک و تخم یک ویژگی خانوادگی است و ساختار و ترکیبات شیمیایی آن ، محصول نهایی مسیرهای تکاملی مختلف ، فرآیندهای سازشی و فاکتورهای محیطی است[Mekkawy and Osman, 2006]. تخمک ماهیان استخوانی به وسیله سلولهای فولیکولی تغذبه کننده احاطه شده است. همچنانکه تخمک‌ها رشد می کنند ، سلول‌های فولیکولی تکثیر می‌شوند و یک لایه فولیکولی ممتد به نام لایه گرانولوزا را تشکیل می‌دهند [Koç *et al.*, 2008].

زونارديا‌تا لایه‌ای فاقد سلول بوده و پس از لایه گرانولوزا قرار دارد و اووپلاسم تخمک توسط غشاء اصلی یعنی اوولما محدود می‌شود. سلول‌های فولیکولی به وسیله‌ی لایه‌ای حمایتی بنام تکا پوشیده می‌شوند (شکل1-1). مورفولوژی زونارديا‌تا بین گونه‌ها متنوع است و سازش به شرایط اکولوژیکی را منعکس می‌کند. جنبه‌های مورفولوژیک زونارديا‌تا برای اهداف تاکسونومیکی در ماهیان استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [Riehl, 1980; Johnson and Werner, 1986; Britz *et al.*, 1995].

لایه‌های پوشش تخمک (از خارج به داخل) به شرح زیر می‌باشد:

_ لایه تکا

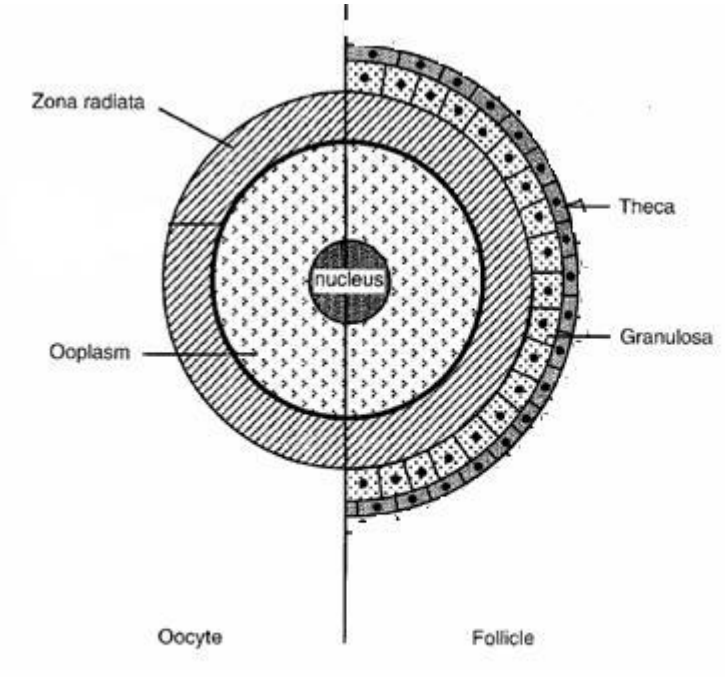
- لایه اپیتلیوم فولیکولی (لایه گرانولوزا)

- زونارديا‌تا

- اوولما (غشای سیتوپلاسمی تخمک)

زونارديا‌تا (ZR) نقش مهمی در واکنش‌های بین محیط داخل و خارج تخمک و تخم بازی می‌کند بنابراین دانش از ساختار آن می‌تواند در کسب اطلاعات بیشتر و بهتر از تاثیرات محیط روی تخمک و تخم کمک کند [Riehl and Kock, 1989].

در پژوهش حاضر ساختار زونارديا‌تا (Zona Radiata)(ZR) در تخمک Zebrafish درمراحل مختلف رسیدگی تخمـدان و رشد تخمک مورد مطالعه قرار می‌گیرد.



شکل 1-1- تخمک و لایه‌های پوششی آن[McMillan, 2oo7].

۱-۱ اپیتلیوم فولیکولی

وقتی اووگونی تقسیم میتوزی را شروع می‌کند و به یک تخمک تبدیل می‌شود ، به وسیله یک اپیتلیوم نازک از سلول‌های سنگفرشی احاطه شده و فولیکول جدید تولید می‌گردد. سلول‌های فولیکولی در غشاء پایه خود احاطه می‌شوند و یک اپیتلیوم پیوسته را ایجاد می‌کنند که تخمک‌ها را از یکدیگر جدا می‌کند[McMillan, 2007].

چندین عملکرد به سلول‌های فولیکولی نسبت داده می‌شود که تنوع گونه‌ای را در استراتژی تولید مثلی ماهیان نشان می‌دهد. سلول‌های فولیکولی تغذیه کننده بوده ، در دریافت مواد توسط تخمک کمک می‌کنند ، Steroidogenic (استروئیدزا) هستند و در خارج کردن تخمک در طول تخمک‌گذاری موثرند. این عملکردها در زمان‌های متفاوت در طول تکامل فولیکولی اتفاق می‌افتد و همه ممکن است در بعضی گونه‌ها نشان داده نشود. سلول‌های فولیکولی ماهی اغلب به عنوان سلول‌های گرانولوزا نامیده می‌شوند. در مراحل اولیه تکامل تخمک در ماهیان استخوانی ، اپیتلیوم فولیکولی از نوع سنگفرشی ساده است [Flügel , 1964; Hirose , 1972; Nicholls and Mape , 1972; Busson-Mabillot , 1977; Tsuneki and Gorbman , 1977; Brusle , 1980; Nakashima and Iwamatsu , 1989].

سلول‌ها شامل یک هسته پهن و سیتوپلاسم کم هستند ، اتصال بین آنها توسط دسموزوم تقویت می‌شود. اپیتلیوم توسط غشای پایه از بافت پیوندی عروقی تکا جدا می‌شود.

با رشد تخمک ، سلول‌های فولیکولی سنگفرشی ، مکعبی یا ستونی می‌شوند و با تکثیر میتوزی ، تعداد آنها افزایش می‌یابد و لایه ، مطبق می‌شود. با رشد بیشتر تخمک به تدریج اندازه و تعداد آنها کاهش می‌یابد.

سلول‌های فولیکولی تعدادی از گونه‌ها عملکرد مکانیکی در طول تخمک گذاری دارند که یک انقباض ملایم و پیوسته ایجاد می‌کنند و تخمک‌ها را از فولیکول بیرون می‌رانند.

۱-۲ تکا

شکل‌گیری اپیتلیوم فولیکولی با تمایز یک لایه مشخص تکا متشکل از سلول‌های دوکی شکل کوچک شده در اطراف آن ادامه می‌یابد. تکا ابتدا در طول مدت قبل از زرده‌سازی ، وقتی که تعداد کمی از سلول‌های نازک مشابه فیبروبلاست ، غشای پایه

اپیتلیوم فولیکولی را احاطه می‌کنند ظاهر می‌شوند. [Busson-Mabillot , 1967b; Ulrich , 1969; Brusle , 1985; Begovac and Wallace , 1987; Grier , 2000].

سلول‌های تکایی تکثیر می‌شوند و ضخامت آنها در طول زرده‌سازی افزایش می‌یابد [Caporiccio and Connes, 1977].

در تعدادی از گونه‌ها ، لایه منفرد از سلول‌های سنگفرشی ممکن است در سراسر اووژنز وجود داشته باشند ، گاهی اوقات دو لایه مجزا تشکیل می‌شود ، تکای داخلی و تکای خارجی. چندین عملکرد برای تکا شرح داده شد. تکا اولین مانع بین فضاهای خارج عروقی و اپیتلیوم فولیکولی است و موادی را که مجاز به ورود و ترک فولیکول هستند به گزینی می‌کند[McMillan, 2007]. در بعضی از گونه‌ها ، سلول‌های تکا steroidogenic هستند که نقش اندوکرینی به عهده می‌گیرند. همچنین تکا ماهیچه صاف دارد که در خروج تخمک در طول تخمک‌گذاری کمک می‌کند.

شبکه آندوپلاسمی دانه‌دار ، دستگاه گلژی و قطرات لیپید بزرگ در سلول‌های تکای داخلی در مدت قبل از زرده‌سازی ظاهر می‌شوند اما وقتی که زرده‌سازی شدید می‌گردد ، سلول‌های تکا بزرگ می‌شوند و این اندامک‌ها تقلیل می‌روند. پیشنهاد می‌شود که سلول‌های تکای داخلی ، استروئیدها را ترشح می‌کنند. تکای فولیکول‌های نابالغ عروق ناچیزی دارند و با تکامل فولیکول ، عروقی شدن تکا افزایش می‌یابد [Nicholls and Maple, 1972].

سلول‌های تکایی ظاهراً از فیبروبلاست مشتق می‌شوند. در طول رشد تخمک ابتدایی ، آنها یک لایه سنگفرشی ساده از سلول‌ها را اطراف غشای پایه اپیتلیوم فولیکولی تشکیل می‌دهند. این سلول‌ها به شدت نازک و شامل تعداد کمی اندامک هستند. با پیشرفت رشد تخمک ، ارتفاع سلول‌های تکا افزایش می‌یابد.

۱-۳ زونارديا‌تا

تخمک همه گونه ماهیان یک پوشش اولیه غیرسلولی پیچیده اطراف خودشان تولید می‌کنند[Wourms, 1976].

چندین اسم به این لایه نسبت داده می‌شود. ازجمله ، Zona pellucida ، Zona radiata ، کوریون ، غشای زرده و

پوشش زرده [Götting, 1967; Kulikova and Loshakova, 1982; Evans, 1993; Celius and Walther, 1998; Andrade *et al.*, 2001; Park and Kim, 2001; Ravaglia and Maggese, 2002,2003; Brandão *et al.*, 2003].

زونارديا‌تا (ZR) ماهیان استخوانی از طریق اگزوسیتوز در پیرامون پایه میکروویلی‌هایی ترشح می‌شود که از سطح تخمک امتداد می‌یابند. این میکروویلی‌ها همراه با میکروویلی‌هایی که از سلول‌های فولیکولی منشأ می‌گیرند در ZR در حال رشد به دام می‌افتند به طوریکه زونارديا‌تا به وسیله کانال‌های منفذدار (pore-canals) روزنه‌دار می‌شود و حاوی میکروویلی‌هایی است که به طور عمودی تا به سطح آن امتداد یافته‌اند. این روزنه ها که میکروویلی‌ها را احاطه می‌کنند ، الگوی مخطط زونا ردیاتا را توضیح می‌دهند و به همین دلیل به آن Zona radiata گویند [McMillan, 2007].

به طور کلی زونارديا‌تا (ZR) از سه بخش تشکیل شده است: Z1 ، Z2 و Z3 که Z1 و Z2 را External Zona Radiata(ZRE) (زونارديا‌تای خارجی) و Z3 را Internal Zona Radiata (ZRI) (زونارديا‌تای داخلی) می‌نامند [McMillan, 2007]. روی ZRE و ZRI کانال‌های منفذدار وجود دارد که باعث انتقال مواد پیش ساز زرده به تخمک می‌شوند. درونی‌ترین و ضخیم‌ترین لایه زونارديا‌تا ، Z3 است که آرایش رشته‌ای و مخطط دارد[Wourms, 1976].

Z3 خود شامل چندین لایه است و تعداد لایه‌ها با توجه به گونه متفاوت است [Park and Kim, 2001]. در بعضی گونه‌ها مانند *Trachinotus ovatus* به صورت تک لایه و در *Carassius auratus* به صورت سه لایه است [Cotelli *et al*., 1988] و در بعضی مانند *Xiphophorus helleri* ، ZR هیچ لایه‌بندی را نشان نمی‌دهد[Azvedo, 1974].

تفاوت‌ها درتراکم الکترونی لایه‌های زونارديا‌تا احتمالاً به علت تفاوت در ترکیب آنها است [Tesoriero, 1977a]. لایه متراکم‌تر و بیرونی غنی از پلی ساکاریدهای کربوکسیله ، سولفاته وگلیکوپروتئین‌ها است و در چسبیدن تخم به تکیه گاه نقش دارد ، درحالیکه لایه درونی که رشته‌ای و مخطط است از پروتئین با کمی کربوهیدرات تشکیل شده است و نقش حفاظتی دارد [Rizzo and Bazzoli, 1991; Riehl and Patzner, 1998].

۱-۳-۱ زمان تشکیل زونارديا‌تا

تشکیل ابتدایی زونارديا‌تا در اوایل مرحله واکوئل‌های قشری (مرحله III) اتفاق می‌افتد که با رسوب لایه همگن Z1 بین میکروویلی‌ها همراه است [Anderson, 1967]. در اواخر مرحله واکوئل‌های قشری لایه‌های Z2 و Z3 شکل می‌گیرند که به زونارديا‌تا ظاهر سه لایه می‌دهند. در طول زرده‌سازی ، زونارديا‌تا متحمل فشردگی به خصوص در لایه Z3 می‌شود. تبادل فعال متابولیکی بین تخمک و فضای اطراف فولیکولی ، توسط کانال‌های منفذدار اتفاق می‌افتد. وقتی زرده‌سازی پایان می‌یابد و تخمک آماده تخمک‌گذاری می‌شود ، ZR نازک‌تر می‌شود. زمانی که تخمک به بلوغ می‌رسد ، اغلب میکروویلی و کانال‌های منفذدار از بین می‌روند. لایه Z1 در طول تکامل تخمک تا بلوغ حفظ می‌شود ، اگرچه با رشد بیشتر تخمک تا بلوغ ، از نظر ضخامت کاهش می‌یابد[McMillan, 2007].

۱-۳-۲ عملکرد زونارديا‌تا

زونارديا‌تا چندین عملکرد دارد: در تبادل گازها نقش دارد [Grierson and Neville , 1981]. در فرآیند لقاح و در نگهداری تخم تا زمانی که جنین به طور کامل تکامل یابد ، دخالت می‌کند[Yamagami *et al*., 1992].

برآمدگی‌های زونارديا‌تا در اطراف میکروپیل به عنوان یک وسیله برای گرفتن و هدایت اسپرماتوزوآ برای تسهیل لقاح عمل می‌کنند[Amanze and Iyengar, 1990].

زونارديا‌تا لقاح پلی اسپرمی در ماهیان استخوانی را محدود می‌کند چون فقط یک کانال باریک یا میکروپیل دارد [Kanoh, 1957] . ZR در انتقال مواد پیش ساز زرده به تخمک فعال است [Hurley and Fisher, 1966; Stehr and Hawkes, 1979; Nagahama, 1983; Shabanipour and Heidari, 2004].

در مدت رشد تخمک و ویتلوژنز(تولید زرده) ، ZR یک نقش فزاینده در انتقال مواد مورد نیاز برای سنتز زرده ایفا می‌کند [Shabanipour and Heidari, 2004].

تفاوت ساختاری در ZR ماهیان از رده‌ها و گروه‌های اکولوژیکی مختلف وجود دارد [Ivankov and Kurdyayeva, 1973]. بنابراین تشخیص گونه‌های ماهی به خاطر تفاوت در رنگ و تکامل که به علت تفاوت در محرک‌های شیمیایی و محیطی است ، پیچیده می‌شود [Bond, 1979]. ضخامت ZR با توجه به استراتژی‌های تولیدمثلی متفاوت است [Ivankov and Kurdyayeva, 1973].

ضخامت ZR داخلی (ZRI) که نقش حفاظتی دارد با مقاومت تخمک در برابر فشارهای مکانیکی ارتباط مستقیم دارد[Riehl, 1996]. ZR در تخم‌هایی که در معرض فشارهای مکانیکی شدید قرار دارند از ZR تخم‌های شناور یا تخم‌هایی که در پناهگاه‌ها قرار دارند ، ضخیم‌تر است[Ivankov and Kurdyayeva, 1973] . ZR خارجی (ZRE) واسطه چسبندگی تخم‌ها در تعدادی از ماهیان استخوانی شناخته شده است [Laale, 1980; Riehl and Patzner, 1998; Rizzo *et al*., 2002].

ZR ممکن است محصول اپیتلیوم فولیکولی باشد[Chaudhry, 1956] یا منشأ تخمکی داشته باشد[Anderson, 1967]. برخی معتقدند که ZR داخلی منشأ تخمکی و ZR خارجی منشأ فولیکولی دارد[Champy, 1923] .

۱-۳-۳ کوریون

پس از تخم‌ریزی به ZR ، کوریون می‌گویند و ساختاری است که جنین را احاطه می‌کند. کوریون در تخمدان ، نرم است و با تخمک‌گذاری شروع به سخت شدن می‌کند و بعد از لقاح از سطح غشاء تخمک جدا شده و سخت شدن آن ادامه می‌یابد. ساختار کوریون سازش با شرایط زیست محیطی متغیر را نشان می‌دهد. تخم‌های پلاژیک سوف چینی (*Siniperca chuatsi*) کوریون نازک دارند[Ye-Qin Jiang *et al*., 2009]. تخم‌های دمرسال(کف رو) و تخم‌هایی که در معرض جزر و مد هستند کوریون پیچیده‌تر و ضخیم‌تر شامل دو یا چند لایه دارند ، برای مثال در *Agonus cataphractus* [Goetting, 1965].

کوریون گونه‌های مشابه در مناطق مختلف جغرافیایی ، در ساختار تفاوت دارند که ممکن است اساس ژنتیکی داشته باشد [Morin and Able, 1983] یا مرتبط با شوری ، دما و ویسکوزیته آب دریا باشد [Lonning, 1972].

1-4 بیولوژی ماهی گورخری یا zebrafish (*Danio rerio*)

ماهی زبرا ، از ماهیان آب شیرین گرمسیری و همه‌چیز خوار است. ابتدایی‌ترین غذای آنها زوپلانکتون ، حشرات ، لارو حشرات و فیتوپلانکتون‌ها هستند. آنها می‌توانند غذاهای متنوع دیگری را مورد تغذیه قرار دهند مانند کرمها و سخت پوستان کوچک.

ماهی زبرا ، بومی هند و پاکستان است و در بنگلادش ، نپال ، حوزه رودخانه Mahanadi وجود دارد. *Danio rerio* به طور وسیع به عنوان مدل آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۱-٤-۱ رده‌بندی

سلسله: Animalia

شاخه: Chordata

رده: Actinopterygii

راسته : Cypriniformes (کپورشکلان)

خانواده : Cyprinidae (کپورماهیان)

جنس : Danio

گونه : *Danio rerio*

۱-٤-۲ تولیدمثل

زمان تقریبی بلوغ برای *Danio rerio* ، 4-3 ماه است. جنس نر باید حضور داشته باشد تا تخم‌ریزی اتفاق بیفتد. ماده‌ها می‌توانند در فاصله 3-2 روز ، صدها تخمک بریزند. به محض رها شدن تخمک و لقاح ، تکامل جنینی شروع می‌شود. تخم های لقاح یافته تقریباً بلافاصله شفاف می‌شوند که یک ویژگی است که *Danio rerio* را یک مدل تحقیقاتی مناسب می‌سازد. تکامل به سرعت پیشرفت می‌کند و همه اندام‌های اصلی در 36 ساعت بعد از لقاح ظاهر می‌شوند. بیرون آمدن لارو از تخم(تفریخ) ، 48 تا 72 ساعت بعد از لقاح اتفاق می‌افتد که به وضعیت درونی جنین و دمای آب بستگی دارد. شنا و تغذیه تقریبا 72 ساعت بعد از لقاح شروع می‌شود. جنسیت ماهی نوجوان را نمی‌توان تشخیص داد مگر توسط کالبدگشایی.

فصل دوم

مواد و روشها