



دانشگاه هرمزگان

دانشکده علوم پایه

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته (زیست شناسی جانوران دریا)

عنوان:

بررسی برخی ویژگی های تولید مثلی جنس ماده ماهی زمین کن دم نواری

(*Platycephalus indicus*)

در آب های ساحلی بندرعباس

استاد راهنما:

دکتر احسان کامرانی

اساتید مشاور:

دکتر محمد رضا طاهری زاده

مهندس عیسی کمالی

نگارش:

نعمت اله سقر

اسفند ۱۳۹۱

## چکیده

ماهی زمین کن با نام علمی *Platycephalus indicus* از جمله ماهیان استخوانی با ارزش جهان و متعلق به خانواده زمین کن ماهیان *Platycephalidae* است که دارای پراکندگی وسیعی در کل دنیا می باشد. از آنجا که در ایران تاکنون هیچ مطالعه ای بر روی تولید مثل این ماهی صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی خصوصیات تولید مثل جنس ماده ماهی زمین کن دم نواری در آب های ساحلی بندرعباس انجام شد. در مجموع، ۳۶۵ ماهی زمین کن در طول یک سال (از خرداد ماه تا اردیبهشت ماه) صید شده و جهت مطالعات زیست سنجی به آزمایشگاه انتقال داده شدند. کل ماهی های گرفته شده شامل ۱۱۷ نر، ۲۴۳ ماده و ۵ عدد نامشخص بودند. میانگین، حداکثر و حداقل طول کل به ترتیب  $3/73 \pm 34/08$ ، ۵۷ و ۱۸ بودند. بیشترین فراوانی طولی در طبقات طولی ۳۳-۳۵ سانتی متر قرار داشت. میانگین، حداکثر و حداقل کل وزن برای این گونه به ترتیب  $121/17 \pm 320/67$ ، ۱۴۸۰ و ۶۰ گرم بود. همچنین در جنس ماده، الگوی رشد آلومتریک بود. اوج رسیدگی جنسی برای جنس ماده ماهی در اسفند ماه است. میانگین شاخص GSI برای ماده ها  $2/14 \pm 2/53$  بود. بیشترین مقدار GSI در اسفند ماه مشاهده شد. میانگین شاخص گنادوسوماتیک و مراحل بلوغ نشان داد که زمان تخم ریزی در طول اسفند تا فروردین ماه رخ داده بود. بیشترین کمترین مقدار شاخص کبدی به ترتیب  $2/56$  و  $0/48$  بود. بیشترین میانگین شاخص کبدی در بهمن ماه و کمترین در ماه اردیبهشت بود. میانگین اندازه در ابتدای بلوغ جنسی (LM50) برای ماده ها  $33/7$  cm بود. بین میزان هم آوری با طول کل و وزن کل رابطه معنی داری مشاهده شد. میانگین هم آوری مطلق و قطر تخمک به ترتیب  $164462 \pm 295951$  و  $0/170 \pm 0/461$  میلیمتر بوده است. نسبت جنسی نر به ماده  $0/54$  به ۱ بوده و رابطه معنی داری بین آنها وجود ندارد.

کلمات کلیدی: ماهی زمین کن، تولید مثل، هم آوری، آب های ساحلی بندر عباس

## فهرست مطالب

### فصل اول : مقدمه و کلیات

۱-۱-مقدمه.....	۱
دستگاه تولید مثلی.....	۱
روش های تولید مثلی.....	۱
تمایز جنسی.....	۲
تعیین جنسیت.....	۳
لقاح.....	۳
دستگاه تولید مثلی ماده در ماهیان استخوانی.....	۳
تقسیم بندی تخمدان ها.....	۴
فرایند اووژنز.....	۵
مراحل رشد و نمو اووسیت.....	۶
فرایند ویتلوژنز.....	۷
نقش کبد در فرایند تولید مثل.....	۷
بلوغ و عوامل موثر بر آن.....	۸
بلوغ تخمک ها.....	۹
زمان بندی تخم ریزی.....	۹
چرخه سالیانه تغییرات بلوغ در تخمدان.....	۱۰
هم آوری.....	۱۱
اهمیت تحقیق.....	۱۳
اهداف تحقیق.....	۱۴

۱-۲- معرفی گونه مورد مطالعه..... ۱۵

۱-۳- مروری بر تحقیقات گذشته..... ۱۷

#### فصل دوم : مواد و روش ها

۲-۲- مواد و روش ها..... ۲۰

۲-۱- منطقه مورد مطالعه..... ۲۰

۲-۲- روش نمونه برداری ماهی..... ۲۱

۲-۳- رابطه طول با وزن ماهی..... ۲۱

۲-۴- تعیین فصل تخم ریزی یا شاخص گنادی..... ۲۲

۲-۵- تعیین شاخص کبدی..... ۲۲

۲-۶- تعیین نسبت جنسی..... ۲۲

۲-۷- روش مطالعه بافت شناسی تخمدان..... ۲۳

۲-۸- توصیف مراحل باروری..... ۲۴

۲-۹- اندازه گیری قطر تخمک..... ۲۵

۲-۱۰- تعیین طول ماهی در زمان بلوغ..... ۲۶

۲-۱۱- تعیین هم آوری..... ۲۶

۲-۱۱-۱- هم آوری مطلق..... ۲۷

۲-۱۱-۲- هم آوری نسبی..... ۲۷

۲-۱۲- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات..... ۲۷

#### فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج کمی حاصل از بررسی های ماکروسکوپی..... ۲۹

۳-۱-۱- بررسی سالیانه طول بدن و تعیین فراوانی آن..... ۲۹

- ۳-۲- رابطه طول و وزن بدن ماهی ماده..... ۳۰
- ۳-۳- بررسی HSI و GSI بطور سالانه ..... ۳۰
- ۳-۴- نتایج مشاهدات غدد جنسی و شناخت مراحل باروری تخمدان..... ۳۱
- ۳-۵- تعیین قطر تخمک..... ۳۵
- ۳-۶- هم آوری..... ۳۵
- ۳-۷- طول بلوغ جنسی..... ۳۶
- ۳-۸- تعیین نسبت جنسی در ماه های سال ..... ۳۷

#### فصل چهارم : بحث

- ۴- بحث ..... ۴۰
- ۴-۱- رابطه طول-وزن و فراوانی طولی..... ۴۰
- ۴-۲- تولید مثل..... ۴۱
- ۴-۳- طول بلوغ جنسی..... ۴۳
- ۴-۴- هم آوری..... ۴۳
- ۴-۵- قطر تخمک ..... ۴۴
- ۴-۶-نسبت جنسی..... ۴۴
- ۴-۷- نتیجه گیری نهایی..... ۴۵
- ۴-۸- پیشنهادات..... ۴۵

#### فصل پنجم : منابع و مآخذ

- فهرست منابع..... ۴۶

## فهرست جداول

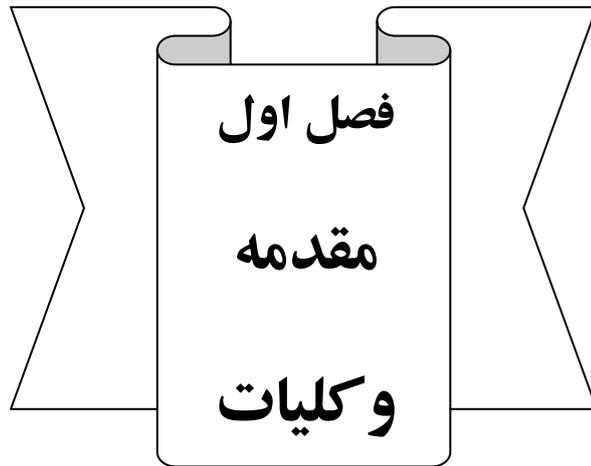
- جدول ۲-۷-۱- مراحل پاساژ یافت..... ۲۳
- جدول ۲-۷-۲- روش رنگ امیزی هماتوکسیلین-اٹوزین..... ۲۴
- جدول ۳-۳-۱- میانگین GSI و HSI در ماه های سال..... ۳۰
- جدول ۳-۷-۱- میانگین انحراف معیار، حداقل و حداکثر برخی فاکتورهای زیستی..... ۳۷
- جدول ۳-۸-۱- آزمون برابری نسبت ها در ماه های سال بر حسب جنسیت..... ۳۷

## فهرست تصاویر

- شکل ۱-۲-۱ - رده بندی ماهی زمین کن دم نواری..... ۱۶
- شکل ۱-۱-۲ - نقشه منطقه مورد مطالعه..... ۲۰
- شکل ۱-۴-۳ - تصویربخشی از تخمدان در مرحله ۱ یا مرحله نابالغ..... ۳۱
- شکل ۲-۴-۳ - تصویربخشی از تخمدان در مرحله ۲ یا مرحله در حال بلوغ..... ۳۲
- شکل ۳-۴-۳ - تصویربخشی از تخمدان در مرحله ۳ یا مرحله بالغ..... ۳۲
- شکل ۴-۴-۳ - مقطع تخمدان در مرحله ۴ یا مرحله رسیدگی و تخم ریزی..... ۳۳
- شکل ۵-۴-۳ - مقطع تخمدان در مرحله ۵ یا مرحله تخلیه یا کاهش حجم..... ۳۴

## فهرست نمودارها

- نمودار ۳-۱-۱-۱- بررسی سالیانه متوسط طول کل بدن جنس ماده ماهی زمین کن..... ۲۹
- نمودار ۳-۱-۱-۲- مقایسه فراوانی در کلاس های طولی (طول کل) مختلف..... ۲۹
- نمودار ۳-۳-۱- مقایسه میانگین GSI و HSI در ماه های سال..... ۳۰
- نمودار ۳-۴-۶- بررسی تغییرات سالیانه مراحل جنسی تخمدان ..... ۳۴
- نمودار ۳-۶-۱- رابطه رگرسیونی بین هم آوری مطلق با طول کل و وزن کل بدن..... ۳۵
- نمودار ۳-۷-۱- طول ماهی زمین کن در زمان بلوغ جنسی ..... ۳۶
- نمودار ۳-۸-۲- مقایسه درصد فراوانی جنسی نر و ماده در هر ماه ..... ۳۸



## دستگاه تولید مثلی

دستگاه تولید مثلی در جنس ماده شامل یک جفت تخمدان است. معمولاً تخمدان های چپ و راست از هم جدا هستند. در هنگام تخم ریزی، تخمدان ها، ساختارهای بزرگ، زرد رنگ و دانه دانه ای هستند و میزان چربی آن ها بسیار کم است. اما در تخمدان های نارس و یا در اوایل مرحله تکامل میزان چربی تخمدان بسیار زیاد است. اووژنز یا فرایند تکامل تخم ها در داخل تخمدان صورت می گیرد. در واقع رشد تخمک تحت فرایند زرده گیری رخ می دهد که مولکول های زرده در کبد ساخته می شوند و در داخل تخمک تجمع می یابند این امر به تدریج سبب افزایش قطر تخمک ها خواهد شد. (یاسمی ۱۳۸۶).

## روش های تولید مثلی

گوناگونی سیستماتیک قابل توجه در ماهیان، بیش از ۳۰۰۰۰ گونه و تنوع مکان های زیستی آنها در ایجاد تنوع استراتژی های تولید مثلی، که در مورفولوژی دستگاه های تولید مثلی آنها نیز انعکاس یافته، موثر است (Jalabert, 2005). الگوهای مختلف تولیدمثلی در میان ماهیان مشاهده شده است (Thomas et al., 2003). اغلب ماهیان دارای جنس نر و ماده جداگانه هستند. در این حالت در برخی از گونه ها، ماهیان نر و ماده بالغ، در فصول تخم ریزی، اسپرماتوزوآ و تخمک خود را در مجاورت هم در آب می ریزند و عمل لقاح در خارج از بدن انجام می گیرد. ماهیان جدا جنس بر اساس نحوه رشد و نمو در دوره جنینی به دو گروه ماهیان جدا جنس تمایز نیافته و ماهیان جدا جنس تمایز یافته تقسیم می شوند. در اکثر ماهیان استخوانی عالی، تخمک و اسپرم در جنس ماده و نر جدا از هم تولید می شوند، اگر چه آرایش وسیعی در الگوهای تولید مثلی در بین آنها وجود دارد. برخی ماهیان استخوانی عالی استراتژی تولید مثلی جفتی دارند. دیگر گونه ها دارای تولید مثلی گروهی هستند. بیشتر ماهیان استخوانی عالی تخم گذار هستند و تخمک های زرده دار را در محیط بیرونی می ریزند. تخمک در بیرون از حفره مادر، لقاح یافته و به دنبال آن رشد و نمو آغاز می شود (Coward et al., 2002). لقاح خارجی رایج ترین روش لقاح در بین ماهیان استخوانی است. با وجود این، در حدود ۲-۳٪ از ماهیان استخوانی، در کنار بیش از ۵۰٪ از ماهیان غضروفی، دارای لقاح داخلی هستند (Helfman et al., 1997). به طور کلی در ماهیان سه روش عمده تولید مثلی دیده می شود:

۱- روش دو جنسی : که در این حالت جنس های نر و ماده از یکدیگر جدا هستند و برای تولید مثل به هر دو جنس نیاز است. نرها و ماده ها اسپرم و تخمک را به داخل آب رها می کنند و لقاح به طور خارجی اتفاق می افتد. به این ماهیان تخم گذار گویند.

۲- روش هرمافرودیت : روشی است همراه با تغییر جنسیت که حداقل در ۲۳ خانواده از ماهیان استخوانی و ۱۴ خانواده سوف ماهیان دیده می شود که خود به دو صورت هرمافرودیت هم زمان و هرمافرودیت متوالی دیده می شود. در هرمافرودیت هم زمان، ماهیان توانایی ریختن اسپرم و تخمک را در خلال یک دوره تخم ریزی دارند. اما از لحاظ رفتاری به عنوان یک جنسی عمل می کنند.

هرمافرودیت متوالی خود به دو صورت دیده می شود: ماهی ابتدا نر است و سپس به جنس ماده تغییر می یابد (پروتاندروس) و یا اینکه ماهیان ابتدا ماده هستند و سپس به نر تبدیل می شوند (پروتوگنوس).

۳- روش بکرزایی : در برخی گونه ها، همه افراد ماده هستند. و اسپرم های ماهیان نر فقط برای فعال شدن رشد تخم مورد نیاز است. اما الحاق کروموزومی نر و ماده اتفاق نمی افتد مانند ماهی حوض (یاسمی ۱۳۸۶).

### تمایز جنسی

منشاء سلول های جنسی در ماهیان، سلول های زایگر اولیه بوده که معمولاً در انتهای مرحله گاسترولا ایجاد می شوند (Gamo, 1961). این سلول ها از بلاستومرهای ویژه که اصطلاحاً پلاسمای زایگر نامیده می شود، ایجاد می شوند. سلول های زایگر اولیه در ماهیان استخوانی عالی، مانند سایر مهره داران، منشاء خارج گنادی داشته و به ناحیه گنادی مهاجرت می کنند. کورتکس از تقسیم بافت پوششی سلومیک مشتق شده و به تخمدان تبدیل می شود. مدولا از تقسیم سلول های میانی به وجود آمده و بیضه را ایجاد می کند. معمولاً یکی از این بخش ها به سرعت رشد کرده و دیگری از تکامل باز می ماند و به این طریق جنسیت فرد تمایز می یابد. (Pavolv et al., 2009). با استفاده از میکروسکوپ نوری، سلول های زایگر اولیه را می توان به راحتی با توجه به خصوصیات آنها تشخیص داد. اندازه نسبتاً بزرگ، کم بودن نسبت هسته به سیتوپلاسم، حدود سلولی و هسته ای کاملاً مشخص، ذرات کروماتینی ظریف هسته و در برخی مواقع وجود یک یا دو هستک (پوستی، صدیق مروستی ۱۳۷۸، حسین زاده صحافی ۱۳۸۰).

غدد جنسی در ماهیان استخوانی از یک قسمت ابتدایی منفرد یا کورتکس تشکیل می شوند. این غدد در ماهیان استخوانی فاقد مدولا (لایه میانی) هستند. و طرحی نسبتاً ساده از تجمع سلولی نشان می دهند و هیچ گونه اثری از سلول های بدنی یا جنسی تمایز یافته در آنها نیست (پوستی، صدیق مروستی ۱۳۷۸).

## تعیین جنسیت

تعیین جنسیت در برخی گونه ها می تواند از روی شکل ظاهری خارجی همچون زبری باله سینه ای در نر بالغ و برآمدگی شکم در هردو جنس به همراه برآمدگی مخرج در ماده های باردار تشخیص داده شود. اما در ماهیان وحشی بالغ، تعیین جنسیت از روی شکل ظاهری زیست شناسی یک کار مشکل محسوب می شود. این امر در مورد نمونه های جوان مو شکافانه تر صورت می گیرد. در این بعد شکم ماهی باید شکافته تا گنادها مشاهده شوند. وقتی به تعداد زیاد از یک جنس در نمونه ها نیاز باشد معمولاً برای تشخیص، گنادها را با چشم معاینه کرده یا اگر ضرورت ایجاد کند با استفاده از ذره بین تشخیص داده می شود. معمولاً وقتی تخمدان ها مایل به صورتی و لوله ای و دانه دانه تخمها صاف و دارای حاشیه ای موج اند. رنگ گنادها نیز معیار مهمی در تعیین جنسیت ماهیان نارس است. به هر حال، تشخیص میکروسکوپی گنادها بهترین و مطمئن ترین راه برای تعیین جنسیت است، بخصوص هنگامی که با ماهیان جوان سروکار داریم (عادلی ۱۳۷۸).

## لقاح

در تخم اکثر ماهی ها، کوریون دارای سوراخ میکروسکوپی نسبتاً بزرگی به نام میکروپیل می باشد که از طریق آن اسپرم و محتویاتش وارد تخمک می شوند. تخم ماهیان به دو صورت شناور و یا مستقر در کف است. در نوع دوم یا دیمرسال مانند تخم ماهی قزل آلا، اسپرم ماهی نر بر روی آن ریخته شده و لقاح صورت می گیرد (عابدی ۱۳۸۱، حسین زاده صفافی ۱۳۸۰).

## دستگاه تولید مثلی ماده در ماهیان استخوانی

تخمدان ماهی اندامی داخلی است که معمولاً به صورت جفت در امتداد محور طولی بدن قرار دارد. با این وجود، گاهی به صورت متفاوت ترکیب و امتزاج پیدا کرده و کوچک تر می شود (Helfman et al., 1997). دستگاه تولید مثلی در ماهیان تقریباً از دستگاه دفعی، ترشحاتی مجزا شده است. دستگاه تولید مثلی در جنس ماده شامل تخمدان ها و مجاری تناسلی و عروق مربوطه می باشد. اعمال عمده این سیستم عبارتند از تولید گامت ماده از طریق اووژنز، دریافت گامت نر و تدارک محیطی مناسب جهت باروری زیگوت در گونه های دارای لقاح داخلی.

مجاری تولید مثلی جهت انتقال تخمک ها به محیط خارج نقش داشته و در برخی از گونه ها، ترشح لایه های پوششی و حفاظتی را جهت تخمک ها به عهده دارند (آذرنیا و همکاران ۱۳۸۶).

تخمدان در ماهیان استخوانی حقیقی از نوع کیسه ای است یعنی دارای فضایی است که تخمک ها در زمان تخم گذاری به داخل آن آزاد می شوند. تخمدانها در اغلب ماهیان استخوانی از یکدیگر مجزا می باشند. و هم چنین به علت ترشحات اگزوکراین (تخمک) و اندوکراین (هورمون های جنسی) جزء

غدد مختلط به شمار می آیند (کمالی ، ولی نسب ۱۳۸۲). تخمدان در این ماهیان فاقد بافت متراکم میانی می باشد با این وجود بخش اصلی تخمدان شامل استرومای آن و محتویات فولیکول های تخمدان است. عمدتاً هر تخمدان به یک اوویداکت منتهی می شود که در مجرا در ناحیه روزنه جنسی به یکدیگر متصل شده و از طریق روزنه جنسی به بیرون راه می یابند. عمل اوویداکت هدایت و انتقال تخمکها یا نوزادها به سوراخ دستگاه تناسلی است.

دیواره تخمدان را به سه لایه خارجی ،میانی و داخلی تقسیم کرده اند. خارجی ترین لایه ، یک لایه ظریف و نازک غیر سلولی به نام پریتونئوم است. لایه میانی را تونیکا آلبوژینه و لایه داخلی را اپیتلیوم زاینده می نامند. تونیکا حاوی بافت پیوندی و فیبرهای ماهیچه ای صاف می باشد. کانال های خونی نیز در کناره های دیواره وجود دارد. اپیتلیوم زاینده نیز شامل دو لایه است که در مراحل مختلف تکاملی تخمک نقش دارند. (پوستی ، صدیق مروستی ۱۳۷۸). از نظر شکل ،ساختمان و عملکرد ، واحد اساسی تخمدان فولیکول های آن می باشد.

اووسیت در مرکز قرار دارد و توسط پوشش غیر سلولی ویتلین دربر گرفته می شود. این پوشش ویتلینی توسط لایه منطقه شفاف یا زونا رادیاتا پوشیده می شود که نقش حفاظتی دارد. در اطراف این لایه سلول های فولیکولی اند که خود دو لایه می باشند: تک سلولی داخلی به نام گرانولوزا و لایه خارجی به نام سلول های تکا. پرده پایه ای این دو لایه سلول را جدا کرده. لایه گرانولوزا از سلولهای یکنواخت تشکیل شده اما لایه سلولی تک غیر متجانس بوده و شامل مویرگ ها و فیبروبلاست می باشد (عابدی ۱۳۸۱).

### تقسیم بندی تخمدان ها

بر اساس مکانیسم های رشد اووسیت ، تخمدان ها به ۳ دسته قابل تقسیم هستند:

تخمدان های هماهنگ: در آن تمام تخمک ها در یک مرحله از تکامل دیده می شوند و به صورت یکجا و همزمان تخلیه می گردند.

تخمدان های ناهماهنگ : تمام مراحل رشد اووسیت در تخمدان برقرار است و تخم ریزی در یک مدت طولانی صورت می گیرد.

تخمدان های دسته ای : که حداقل ۲ گروه متمایز و مشخص تخمک در حال رشد در تخمدان مشاهده می شود (Rankin et al., 1993).

همین تعاریف برای نوع دیگر تقسیم بندی تخمدان ها نیز دلالت می کند با نام های تخم ریزی دسته ای و تخم ریزی کلی. در نوع اول تخمک ها دسته دسته بوده و همه مراحل جنسی در تخمدان

قابل مشاهده اند که ۹۰٪ ماهیان ایران از این نوع اند. اما در نوع دوم تخمک ها همگی در یک مرحله بوده و باهم تخلیه می شوند (کمالی و همکاران ۱۳۸۲).

دانشمندی به نام Prabhu در سال ۱۹۸۶، چهار نوع تخم ریزی را دسته بندی کرد:

- ۱- تخم ریزی یک بار در سال در یک دوره زمانی کوتاه مدت
- ۲- تخم ریزی یک بار در سال در یک دوره زمانی بلند مدت
- ۳- تخم ریزی بیش از یکبار در سال
- ۴- تخم ریزی متناوب در سرتاسر سال (کمالی ، ولی نسب ۱۳۸۲).

### فرایند اووژنز

اووژنز فرایندی از برهم کنش سلولی بین اووسیت و سلول های سوماتیکی اطرافش است که شامل رشد سلول ، سنتز و ذخیره ارگانل های جدید ، تمایز سلولی و میوزمی باشد (Song et al., 2006).

مکانیسم های اووژنز در بین موجودات مختلف بسیار متنوع تر از اسپرماتوژنز است (بهاروند ۱۳۸۸). بنابراین در نمونه های مثل ماهی ها که در هر دوره تخم ریزی قادر به ذخیره و ریزش تعداد زیادی تخمک است ، تعداد فراوانی اووسیت های تخصص یافته در تخمدان موجود می باشد که در هنگام لقاح میوز را تکمیل می کنند (Song et al., 2006).

در طی رشد و نمو اووسیت ، ساختار آن به طور تدریجی از یک سلول بنیادی تکرار کننده میتوز به اندازه ای بزرگتر تبدیل می شود. بسیاری از وقایعی که منجر به رشد اووسیت می شود در طی مراحل رشد و نمو جدا، نظیر فعال شدن ژنهای خاص و سنتز اندامک های خاص برای تخمک اتفاق می افتد.

عمده ترین تغییرات رشد و نمو شامل مراحل زیر می باشد:

- ۱- انتقال از سلول بنیادی در مرحله میتوزی به مرحله تقسیمات میوزی
- ۲- انتقال در طی مرحله ویتلین زایی : دوره تجمع مواد غذایی ، ذخیره گلیکوژن و چربی و تجمع زرده
- ۳- لقاح
- ۴- کامل شدن تقسیمات میوزی در هنگام لقاح ، ایجاد ژنوم هاپلوئید تخمک، قرار گرفتن سیتوپلاسم به صورت متمرکز در یک قطب و ایجاد برجستگی سیتوپلاسمی (Song et al., 2006, عابدی ۱۳۸۱).

## مراحل رشد ونمو اووسیت

در طی مراحل رشد ونمو تخمک زایی در ماهیان ، اووسیت در مراحل مختلفی قابل مشاهده هستند.

### مرحله I: مرحله هستک کروماتین

اووگونی به طور مستقیم به اووسیت اولیه تبدیل می شود. درحقیقت تا آغاز مرحله پاکی تن میوز I این مرحله ادامه دارد. لایه نازکی از سیتوپلاسم در اطراف آن قرار دارد. برخی اووسیت ها دارای چند هستک و برخی فقط یک هستک در شبکه کروماتین خود دارند.

### مرحله II: فاز پیش هسته ای

در اووسیت ها معمولاً چندین هستک پیدا شده و به اطراف شیره هسته حرکت می کنند. اووپلاسم به تدریج افزایش پیدا می کند و سلول های فولیکولی محیطی از نظر اندازه و تعداد افزایش می یابند.

### مرحله III: مرحله آلوتولی اطرافی

این مرحله ۳ مشخصه اصلی دارد: اجسام بالبیانی ، ذرات زرده ای و واکوئول های روغنی. اجسام بالبیانی در اثر نزدیک شدن اندامک ها به یکدیگر ایجاد می شوند و توده های بازوفیلیک می باشند. حباب های ریزی در سیتوپلاسم دیده می شود که بعداً به هم پیوسته و ساختار واکوئول را تشکیل می دهند.

### مرحله IV: مرحله تولید زرده

این مرحله بسیار مهم است و حجم سلول تخم تا ۹۰٪ افزایش می یابد و طولانی ترین مرحله رشد اووسیت می باشد. جذب زرده کبد و ذخیره آن در زرده ستوپلاسم شروع این مرحله است ، قطرات زرده ای به شکل توده ای افزایش یافته و تقریباً تمام سیتوپلاسم را پر می کنند.

### مرحله V: مرحله بلوغ

در طول این مرحله هسته تخمک از مرکز به سمت کناره های تخمک مهاجرت کرده و تقسیم میوزی اول را کامل می کند و در متافاز میوز ۲ باقی می ماند. میوز ۲ در هنگام لقاح کامل می شود. در این هنگام غشا محاط کننده هسته ناپدید می شود که به این فرایند شکست وزیکول ژرمینال (GVBD) گویند.

در بسیاری از ماهی ها، اووسیت در این مرحله شروع به جذب آب می کند که افزایش سریع وزن اووسیت و وزن گناد را به دنبال دارد.

مرحله VI: مرحله تخمک گذاری

به خروج تخمک یا اووسیت بالغ از فولیکول گویند. پس از تخمک گذاری تخمدان دارای فولیکول های بعد از تخمک گذاری ، تخمک های رها شده، اووسیت های کاملاً بالغ نشده ، اووگونی و... می باشد ( کمالی ، ولی نسب ۱۳۸۲ ، حسین زاده صحافی ۱۳۸۰ ، کمالی و همکاران ۱۳۸۲).

### فرایند ویتلوژنز

ویتلوژنز حاصل واکنش متقابل هیپوفیز قدامی در مغز، سلول فولیکولی ، کبد و تخمک می باشد. هیپوفیز قدامی هورمون های که گنادتروپین می گویند را تولید کرده و به جریان خون رها می کند. گنادوتروپین ها مستقیماً باعث تحریک سلو لهای تک و گرآنولوزا برای تولید استروژن ها (استرادیول  $\beta$ -17) می شوند. این استروژن ها به خون رها شده و باعث تحریک کبد برای تولید ویتلوژنین می شود. ویتلوژنین سازنده پروتئین زرده تخمک می باشد. این ماده به داخل خون ترشح و توسط گیرنده های خاص موجود در اووسیت جذب می شود. ویتلوژنین توسط فرایندی تبدیل به پروتئین های زرده از نوع لیپوویتلین و فسفویتلین شده و برای جنین ذخیره می گردد (Rankin et al., 1993).

### نقش کبد در فرایند های تولید مثل

عمده ترین فعالیت کبد خون سازی است ، لیکن در ماهی ها فعالیت زرده سازی به خصوص در فصول تولید مثل از فعالیت های مهم کبد محسوب می شود. طی ویتلوژنز شبکه آندوپلاسمیک صاف در هیپاتوسیت ها کاملاً رشد و تکامل یافته و دستگاه گلژی به طور کامل فعال می شود. هستک ها و هسته رشد یافته و میتوکندی ها به شدت افزایش می یابند. در طی ویتلوژنز مقادیر بافت چربی کبدی کاهش یافته و میزان پروتئین تام کبد نیز کاهش می یابد که همزمان با تشکیل پیشاز زرده ای است (Hoar et al., 1993, Kumar 1991).

نوسانات و تغییرات وزنی هیپاتوسیت ها در طول ویتلوژنز در حدی است که در مجموع از نوسانات وزنی کبد در طول سال ، جهت تعیین زمان تخم ریزی و ویتلین سازی استفاده می کنند. بخش اعظم گلیکوپروتئین های موجود در کبد به مصرف تهیه ویتلوژنین می رسد و لذا نسبت وزن کبد به کل وزن بدن را معیار مناسبی برای بلوغ تخمدانی و زرده سازی دانسته اند (Hatun han, 1998).

## بلوغ و عوامل موثر بر آن

بلوغ فرایندی است مشتمل بر کلیه تغییرات فیزیولوژیک، مورفولوژیک و رفتاری که به طور همزمان با تغییر ماهیت گنادها اتفاق می افتد گر چه این فرایند در مهره داران عالی به ویژه پستانداران با تغییرات مورفولوژیک همراه بوده لیکن در ماهی ها به ندرت بلوغ با تغییرات مورف همراه است و عمدتاً تغییرات در سطح فیزیولوژیک معطوف به تغییرات هورمون ها و رشد تخمدان هاست.

برخی ماهی ها در سن کم بالغ می شوند و برخی تا چند سالگی به بلوغ می رسند. مراحل رسیدگی تخمدان در ماهی ها معمولاً مراحل بلوغ نامیده می شود. تکمیل مراحل مختلف اووژنز و مشاهده سلول های بالغ جنسی از جمله شواهد هیستولوژیک بلوغ محسوب می شود (حسین زاده صحافی ۱۳۸۰، کمالی، ولی نسب ۱۳۸۲).

وزن، طول، عرض و رنگ تخمدان در مراحل بلوغ کاملاً تغییر می کند. در مرحله اولیه رشد، تخمدان ها نخی شکل و خالی هستند. ساختمان شفاف به رنگ قهوه ای روشن دارند. در طی دوره زاد و ولد رشد می کنند و حجیم می شود و ظاهری توت فرنگی مانند پیدا می کند و به رنگ صورتی مایل به زرد دیده می شود.

امروزه مشخص شده است که بلوغ اووسیت ها توسط ۳ میانجی تنظیم می گردد که شامل هورمون گنادوتروپین، هورمون القاکننده بلوغ MIH و فاکتور تسریع کننده بلوغ MPF می باشد. این میانجی ها در سطوح سلول های فولیکولی، سطح اووسیت و سیتوپلاسم آن عمل می کنند (Nagahama et al., 1993).

### عوامل زیر بر روند بلوغ ماهی ها اثر می گذارند:

فتوپریود: در گونه هایی که در مناطق گرم زیست می کنند در شروع تمایز و بلوغ جنسی نقش دارد.

شدت نور: نورهایی با شدت بالا و یا بسیار کم قادر به تاثیر بر روند بلوغ هستند.

دما: در برخی گونه ها فاز اولیه رشد اووسیت را تسریع می نماید.

فاکتورهای اجتماعی: نقش آنها در بلوغ از طریق تاثیر فرمونها، بینایی، شنوایی و محرک های لمسی می باشد. مثلاً تولید صوت توسط جنس نر باعث بلوغ اووسیت ها در جنس ماده می شود.

وزن بدن و تغذیه مناسب: که باعث ایجاد زمینه مناسب جهت بلوغ ماهی ها بر اساس طرح ژنتیکی آنها می شود (Hoar et al., 1993).

## بلوغ تخمک ها

بلوغ نهایی تخمک ها یکی از پدیده های مهم است که نقش بسیار موثری در عملکرد و انجام وظیفه تخمک ها در انتقال خصوصیات وراثتی و صفات گونه ای به نسل جدید دارد. این مرحله که با اتمام تقسیم میوز همراه است باعث ایجاد نوعی قطبیت در سلول گردیده به طوری که هسته تخمک ها به یک سمت سلول رفته و در همین زمان اندازه تخمک ها نیز با سرعت زیادی افزایش می یابد. در این مرحله اووسیت ها شروع به جذب آب نموده که بعضاً حجم آن ۳۰۰ تا ۴۰۰ برابر افزایش یافته و این امر افزایش سریع وزن گناد را نیز به دنبال دارد.

تغییرات و نفوذ آب به داخل اووسیتها در اثر وجود منافذی است که در دیواره کوریون وجود دارد که این امر منجر به بقای تخمک ها از طریق رقیق کردن متابولیت های ناشی از سوخت و ساز درونی اووسیت ها می گردد (Jensen et al., 1993).

مکانیسم احتمالی این عمل شامل شکسته شدن فسفو پروتئین ها در درون اووسیت و بازجذب پتاسیم و دفع سدیم است که در طی این عمل مقادیر قابل توجهی از آب به درون اووسیت ها نفوذ می کند (کمالی و همکاران ۱۳۸۲).

افزایش قطر اووسیت که همراه با شفاف شدن آن می باشد نشانه ای مناسب برای رسیدگی نهایی تخمک ها می باشد لکن حرکت هسته به سمت قطب جانوری در سلول اووسیت نشانه رسیدگی نهایی و بلوغ اووسیت می باشد و هرچه هسته به سمت قطب جانوری نزدیک تر باشد زمان رسیدگی نهایی تخمک نزدیک تر است (حسین زاده صحافی ۱۳۸۰، کمالی و همکاران ۱۳۸۲).

## زمان بندی تخم ریزی

بسیاری از گونه های جانوری و همچنین انواع گونه های ماهی ها تابع سیکل های سالیانه تولید مثلی می باشند. در برخی گونه ها تولید مثل هر ۲ تا ۳ سال یک بار اتفاق می افتد (Potts & Wootton, 1993).

این در حالی است که در برخی دیگر فقط یک بار در تخم ریزی در تمام طول زندگی صورت می گیرد. در بسیاری از ماهی های آب شیرین و یا آب شور دریایی در مناطق حاره ، زمان تخم ریزی در فصول مختلف متفاوت و حتی تفاوت در زمان تخم ریزی در بین افراد یک گونه نیز دیده می شود. به نظر

می رسد که این زمان بندی در تولید مثل و تخم ریزی مربوط به عوامل محیطی و نوسانات چرخه ای آنها نظیر فتوپریود و دما باشد (حسین زاده صحافی ۱۳۸۰).

لکن زمان تخم ریزی در ماهی های مناطق عمیق دریا که در آن مناطق هیچ گونه نور و نوسانات درجه حرارت در طول سال وجود ندارد ، دارای تغییرات بوده ،نوسانات سیکل تولید مثلی و زمان بندی تخم ریزی قابل مشاهده است. ماهی هایی که در مناطق بسیار گرم و یا نواحی قطبی زیست می نمایند عموماً دارای یک اوج مشخص تخم ریزی می باشند (Cushing, 1980).

زمان تخم ریزی در ماهی ها علاوه بر عوامل خارجی به عوامل درونی نیز وابسته است. این عوامل عموماً شامل تغییرات فیزیولوژیک است که در پاسخ به محرک های خاص یا روشن و خاموش شدن ژن های خاص در زمان های معین به وقوع می پیوندد. بسیاری از هورمون ها بعنوان پیامبر های شیمیایی عوامل درونی ،جهت تخم ریزی ماهی ها محسوب می شوند مانند تستوسترون و پروژسترون (حسین زاده صحافی ۱۳۸۰).

افزایش قابل ملاحظه در میزان گنادوتروپین ها و همچنین GnRH در رسیدگی تخمک ها جهت رهاسازی به اثبات رسیده است. همچنین پروستاگلندین ها نیز به عنوان هورمون های موضعی نقش اساسی جهت تخم ریزی ماهی ها داشته و به عنوان یکی از فاکتورهای داخلی موثر در زمان بندی تخم ریزی محسوب می شوند(Gotz ,1993).

در خصوص عوامل خارجی علاوه بر فتوپریود و دما موضوع فاکتورهای اجتماعی نظیر حضور نر در جمع ماده ها و یا حضور یک ماده بزرگ در جمع افراد جامعه و یا شروع به لانه سازی از عوامل موثر در زمان بندی تخم ریزی در ماهی ها می باشد(حسین زاده صحافی ۱۳۸۰).

### چرخه سالیانه تغییرات بلوغ در تخمدان

طی چرخه تولیدمثل ماهی ، تخمدان از مراحل مختلفی عبور می کند. این مراحل مختلف بر اساس تغییرات عمده ریخت شناسی و بافت شناسی تخمدان ، مراحل تخمک ، ماهیت دیواره تخمدان، قطر تخمک و تغییرات شاخص GSI (ایندکس گنادی ) می باشد.

طبقه بندی های رایج در زمینه مراحل بلوغ ماهی ها در منابع مختلف بسیار متنوع است اما ما به کلی ترین و مهمترین مراحل در ماهیان استخوانی اشاره می کنیم.

مرحله ۱: نابالغ

در طی این مرحله ، تخمدان ها غیر فعال،بلند ،لوله ای ،نخی شکل و از نظر بافتی به شدت گوشتی هستند. تخمک ها با چشم غیر مسلح دیده نمی شوند. اووگونی و اووسیت های نابالغ بیشماری در اندازه های مختلف در تخمدان دیده می شود. تخمک ها در این مرحله به طور عمده با هستک کروماتینی و یا پیش هسته ای وجود دارند.