بررسی مقایسه‌ای تکامل تخمک در ماهی کپور معمولی دریایی (*Cyprinus carpio*) و ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

افشین قلیچی*[۱]، رضا اکرمی[۲]، غلامعلی بندانی[۳]، سارا جرجانی[۴]

۱*، ۲و ٤- دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، گروه شیلات، آزادشهر، ایران، صندوق پستی: ۳۰

۳- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی گلستان، گرگان، ایران، صندوق پستی: **۱۳۹**

afshin_ghelichi@yahoo.com

چکیده

تعیین دوره تخم‌ریزی و اوج تخم‌ریزی در مدیریت و بازسازی ذخایر یک گونه صید نقش بسیار مهمی دارد. در این تحقیق روند تکامل تخمدان و تخم‌ریزی ماهی کپور معمولی در جنوب‌شرق دریای خزر و ماهی کفال خاکستری در استخرهای پرورشی جنوب شرق دریای خزر واقع در گمیشان از نظر بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت و تغییرات بافتی در طی روند تکامل تخمدان بررسی گردید. نمونه‌برداری از ماهی کپور معمولی به‌صورت ماهانه از تورهای پره صیادی صورت پذیرفت. در این تحقیق از روش هماتوکسیلین- ائوزین جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها استفاده شد. شناسایی مراحل بلوغ جنسی بر اساس کلید شش مرحله‌ای صورت گرفت. اطلاعات به‌دست آمده از بررسی‌های ماکروسکوپی و بافت‌شناسی حاکی از آن است که گناد ماهی کپور معمولی دارای یک دوره تخم‌ریزی ممتد در دریای خزر است. با توجه به نتایج حاصله می‌توان بیان داشت که با توجه به مطالعات بافت‌شناسی دوره تخم‌ریزی ماهی کپور معمولی در دریای خزر طولانی بوده و هرگاه میانگین دمای آب بالا باشد، این ماهی تخم‌ریزی می‌کند. همچنین نتایج حاصله از مطالعات بر روی ماهی کفال خاکستری نشان داد که مرحله اول ودوم رشد تخمدان در مرداد و اوایل شهریور، مرحله سوم در شهریور و مرحله چهارم در مهر و آبان صورت می گیرد. بنابراین از آبان ماه می‌توان مولدین را جهت رسیدگی نهایی، تحت القاء هورمونی قرار داد. در نتیجه‌گیری کلی اوج تخم‌ریزی ماهی کپور معمولی در بهار رخ می‌دهد در حالی‌که مولدین کفال خاکستری در پائیز و اوایل زمستان بعد از القاء هورمونی قادر به تخمریزی است.

کلمات کلیدی: بافت‌شناسی، تکامل تخمک، کپور معمولی دریایی (*Cyprinus carpio*)، کفال خاکستری (*Mugil cephalus*).

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

زمان‌بندی تکامل تخمک در ماهیان در مناطق معتدله در بین گونه‌های مختلف متفاوت است. محرک‌های محیطی نظیر دما و دوره‌های نوری باعث تغییرات هورمونی و در نتیجه تنظیم گامتوژنز می‌شود. اغلب اطلاعات در مسیر گیرنده‌های علائم محیطی در ماهیان، در ارتباط با دوره‌های نوری می‌باشد. جسم پینه‌آل و چشم، گیرنده علائم نوری و هدایت کننده آن‌ها می‌باشند (۱۵).

جسم پینه‌آل در ماهیان هم به عنوان گیرنده نوری و هم به عنوان غده درون ریز مطرح می‌باشد (۱۵و۳۲). سلول‌های گیرنده نور در غده پینه‌آل بسیاری از ماهیان کشف شده است (۲۶و۳۲). نور باعث ایجاد تغییراتی در فعالیت الکتریکی سلول‌های گیرنده نور می‌شود (۱۶). به علاوه جسم پینه آل دارای ساختار ترشحی می‌باشد. جسم پینه‌آل ماهیان همانند مهره‌داران پیشرفته‌تر در متابولیسم ایندول آمین‌ها و ترشح هورمون پینه‌آل یعنی ملاتونین نقش دارد (۱۲). بنابراین جسم پینه‌آل در ماهیان در اندازه‌گیری طول روز (از طریق دریافت علائم نوری) و در هدایت آن‌ها از طریق تغییر در میزان ترشح ملاتونین نقش دارد.

برداشتن این غده باعث متوقف شدن فعالیت‌های گناد در اغلب ماهیان می‌گردد. در برخی از ماهیان، در معرض قرار گرفتن طول دوره کوتاه نوری نیز باعث توقف فعالیت‌های گناد می‌شود (۱۱). بنابراین در ماهیانی نظیر کپور معمولی که در فصل بهار تخم‌ریزی می‌نمایند، جسم پینه آل هم دارای اثر تحریکی در فعالیت گناد (در صورت قرار گرفتن در دوره‌های نوری طولانی) و هم اثر بازدارندگی (در صورت قرار گرفتن در معرض دوره‌های نوری کوتاه) می‌باشد. در حالی‌که در برخی از ماهیانی که در زمستان تخم‌ریزی می‌کنند، نظیر کفال خاکستری *Mugil cephalus*، اگر در معرض دوره‌های کوتاه نوری قرار گیرند، پینه‌آل اثر بازدارندگی در تکامل تخمدان خواهد داشت (۳۳). بنابراین پینه‌آل، تنظیم تأثیر طول روز را در فعالیت گناد احتمالاً از طریق هورمون پینه‌آل (ملاتونین) و تنظیم دوره روزانه میزان ترشح گنادوتروپین را برعهده دارد.

مطالعه بیولوژی تولیدمثل ماهی‌ها می‌تواند برای شناخت دقیق‌تر چرخه زندگی و ارزیابی ذخایر آن‌ها موثر باشد (۳۷). بافت‌شناسی تکامل گناد می‌تواند باعث برنامه‌ریزی بهتر جهت بازسازی ذخائر (۱۰)، تعیین حداقل اندازه صید مجاز (۴) و تعیین دوره ممنوعیت صید که همزمان با دوره تخم‌ریزی است (۲۵)، شود.

تعیین دوره تخم‌ریزی و اوج تخم‌ریزی در مدیریت و بازسازی ذخایر یک گونه صید نقش بسیار مهمی دارد. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) جزء گونه‌های بومی دریای خزر بوده و بیشترین پراکنش را در بین سواحل جنوبی دریای خزر، در سواحل استان گلستان دارد (۲). اکثر تحقیقات انجام شده در مورد تولیدمثل ماهی کپور معمولی در ارتباط با پرورش متراکم آن در اروپا و آسیا است (۴۱). بر اساس اندک مطالعاتی که در محیط طبیعی انجام شده، مشخص شده است که در محیط‌های مختلف، الگوی زیستی نیز متفاوت است (۱۳، ۳۵ و ۳۹). به‌خصوص زمان‌بندی، فراوانی، طول دوره تخم‌ریزی رشد، هم‌آوری و اندازه یا سن بلوغ نیز در مکان‌های مختلف که دارای دماهای مختلف هستند، متفاوت می‌باشد (۳). Smith و Walker (۳۶) در تحقیقی که در رودخانه مورای در جنوب استرالیا به‌عمل آوردند، روند تکامل

Archive of SID

www.SID.ir

تخمدان ماهی کپور معمولی را با استفاده از روش‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی بررسی نمودند.

همچنین با توجه به کیفیت بهتر پروتئین آبزیان در مقایسه با سایر منابع پروتئین، صید آبزیان از منابع طبیعی افزایش چشمگیری یافته که متأسفانه باعث کاهش ذخایر طبیعی آبزیان گشته است. در نتیجه تکثیر و پرورش آبزیان جهت بازسازی ذخایر طبیعی و همچنین تأمین قسمتی از پروتئین مورد نیاز جامعه بشری امری انکار ناپذیر است. با این شرایط، جهت افزایش میزان تولید پروتئین و تنوع دادن به آن، تکثیر و پرورش گونه های جدید همانند کفال خاکستری در اکثر کشورها، امری ضروری تلقی می‌شود.

با توجه به اینکه برخی از گونه های مهم پرورشی نظیر کفال خاکستری نمی‌توانند دوره تولیدمثلی خود را در اسارت طی نمایند، اطلاعات پایه‌ای جهت توسعه روش‌های کنترل تولید مثل در شرایط پرورشی امری ضروری است (۴۳). یکی از راه‌های دستیابی به این اطلاعات بررسی کیفیت فیزیولوژیک اندام‌ها از طریق بررسی بافت‌شناسی می‌باشد.

هدف ازانجام این تحقیق بررسی روند رشد و تکامل تخمدان ماهی کپور معمولی و کفال خاکستری از طریق مطالعات بافت‌شناسی می‌باشد. همچنین به علت اینکه تعیین عملکرد بافت تولید مثلی موجب بهبود فعالیت‌های تکثیر و پرورش می‌شود، تحقیق حاضر جهت دستیابی به این مقصود انجام شده است. در این تحقیق سعی بر آن شده است که با مقایسه روند رسیدگی جنسی تخمدان این ماهیان که در دو زمان مختلف (نیمه اول و نیمه دوم سال) تخم‌ریزی می‌نمایند بتوان با استفاده از مطالعات بیولوژیکی، اطلاعاتی را در خصوص فرایند متفاوت فیزیولوژی تولیدمثل به‌دست آورد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهی کپور معمولی به‌صورت ماهانه از تورهای پره صیادی مستقر در ساحل جنوب شرقی دریای خزر صورت پذیرفت و با توجه به اینکه زمان ۱۵ فروردین زمان اتمام صید پره می‌باشد و این امکان وجود داشت که برخی از افراد یک جمعیت دوره طولانی‌تری را از نظر تخم‌ریزی داشته باشد، بنابراین نمونه‌هایی در ماه‌های اردیبهشت، خرداد و تیر در گرفته شد که در مجموع ۱۳۱ قطعه ماهی در کلاسه‌های طولی مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین از مرداد ماه (همزمان با شروع رشد تخمدان) تا دی ماه نمونه‌برداری از تخمدان ماهیان کفال خاکستری *(Mugil cephalus)* انجام شد. به این صورت که یکی از استخرهای نگهداری مولدین که شرایط تغذیه‌ای مناسب داشت، انتخاب شده ودر نیمه اول ودوم هر ماه، ده عدد مولد ماده کفال خاکستری (در مجموع ۱۲۰ نمونه) به‌طور تصادفی و بوسیله کانولا قطعه‌ای از تخمدان آن بدون آسیب دیدن ماهی جدا و در مایع فیکساتیو، ثابت گردید. شوری آب استخر پرورشی در مرداد ۲۳۲ قسمت بود که بتدریج تا آبان به ۳۰ قسمت در هزار رسانده شد. در ماه‌های بعد شوری تقریباً ثابت بود. میانگین دما در مرداد ۳۰، در شهریور ۲۸ ، در مهر ۲۰، در آبان ۱۶، در آذر ۱۲ و در دی ماه ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار pH در طول مدت نمونه‌برداری بین ۷/۸ تا ۸/۶ در نوسان بود.

Archive of SID

www.SID.ir

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه آبگیری از آن‌ها صورت گرفت. سپس آن‌ها را در متیل بنزوئیت و یا گزیلول شفاف نموده و سپس در پارافین جامد بلوک‌گیری شد. مقاطعی با ضخامت ۸-۵ میکرون بوسیله میکروتوم برداشته و نمونه‌ها به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (۱۷).

مراحل مختلف رسیدگی تخمدان با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از تقسیم‌بندی شش مرحله‌ای که توسط Sulochanamma و همکارانش (۴۰) برای ماهی کفال خاکستری در نظر گرفته شد، استفاده گردید. قطر تخمک بوسیله میکرومتر چشمی اندازه گیری شد. برای این منظور ۶۰ عدد تخمک به صورت تصادفی در هر مرحله رشد تخمک جدا و قطر آن‌ها اندازه‌گیری گردید. به دلیل اینکه رشد تخمدان ماهی کفال خاکستری در شرایط پرورشی در مرحله‌ای متوقف می‌شود از روش القاء هورمونی جهت تکمیل روند رشد تخمدان استفاده می‌گردد. برای این منظور از هورمون‌های هیپوفیز کپور، HCG و $LRH\text{-}A_2$ در ترکیب‌های مختلف استفاده شد (۱۹و۲۳).

نتایج

باتوجه به بررسی‌های بافت‌شناسی مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شش مرحله به‌شرح زیر تقسیم‌بندی شد:

۱- مرحله هستک‌های کناری (Peri-nucleolar)

حاشیه تخمک‌ها دارای شکل نامنظم (۱۷۰ µm) و دارای هسته بزرگ و تعدادی هستک می‌باشد. هستک‌های کروی در حاشیه داخلی هسته قرار گرفته‌اند. تعداد و شکل آن‌ها متغییر است. حساسیت آن‌ها به هماتوکسیلین بسیار زیاد است. سیتوپلاسم بازوفیل است. هسته حساسیت زیاد به ائوزین دارد. تخمک‌ها توسط لایه نازک فولیکول احاطه شده‌اند (شکل ۱).

۲- مرحله وزیکول‌های زرده (Yolk vesicle)

وزیکول‌های زرده کوچک ابتدا در حاشیه داخلی غشای سلول و سپس در تمام سیتوپلاسم پراکنده می‌شوند. وزیکول‌های زرده کوچک در هم ادغام شده و چند وزیکول بزرگ را تشکیل می‌دهند. حساسیت هسته به ائوزین بتدریج افزایش می‌یابد. شکل هسته و هستک‌ها به‌تدریج نامنظم می‌شود. لایه شعاعی (که ائوزینوفیل است) بین تخمک (۳۵۱ µm) و لایه فولیکول شکل می‌گیرد (شکل ۱).

۳- مرحله اول زرده‌سازی (Primary yolk)

دانه‌های زرده پروتئینی شدیداً ائوزینوفیل در بین وزیکول‌های زرده تشکیل می‌شود. این مرحله آغاز مرحله اصلی زرده‌سازی است. دانه‌های زرده در این مرحله کمتر یا مساوی یک‌سوم فضای سیتوپلاسم را اشغال می‌کنند. هسته دارای شکل نامنظم بوده و اندازه آن با افزایش اندازه تخمک (۴۸۶ µm) افزایش می‌یابد. غشای هسته بصورت پیچ‌خورده است (شکل ۱).

٤- مرحله دوم زرده‌سازی (Secondary yolk)

دانه‌های زرده کمتر یا برابر دوسوم فضای سیتوپلاسم را اشغال می‌کنند. اندازه تخمک (۷۶۹ µm) و هسته افزایش می‌یابد. دانه‌های زرده

Archive of SID

www.SID.ir

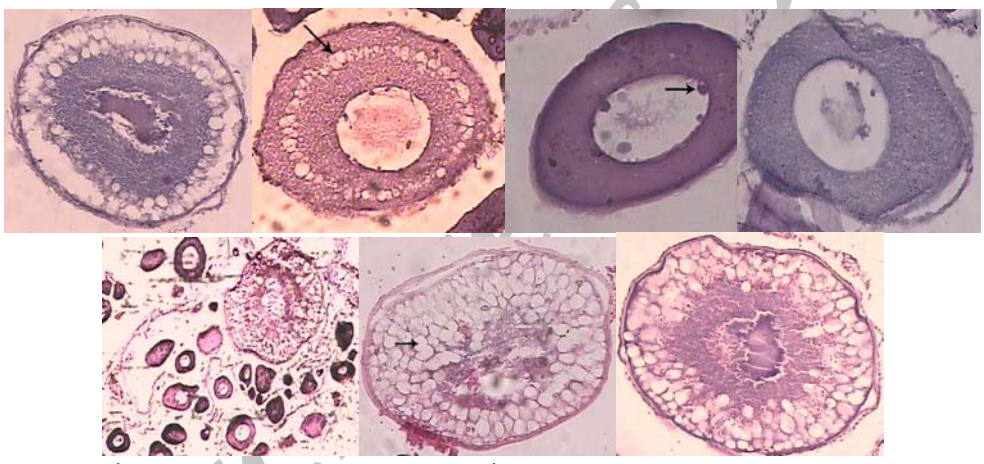
کوچک با هم ادغام شده و دانه‌های بزرگ هسته را تشکیل می‌دهند. خطوط باریکی روی لایه شعاعی شکل می‌گیرد. سلول‌های گرانولوزا مکعب‌شکل می‌شوند. مویرگ‌های خونی به‌سختی داخل سلول‌های تکا مشاهده می‌شوند (شکل ۱).

۵- مرحله سوم زرده‌سازی (Tertiary yolk)

دانه‌های زرده حداقل دوسوم فضای سیتوپلاسم را اشغال می‌کنند. اندازه تخمک‌ها (۹۷۹ µm) و هسته به حداکثر مقدار خود می‌رسند. خطوط روی لایه شعاعی کاملاً مشخص است. لایه سلول‌های گرانولوزا باریک و چین‌خورده می‌شوند. هستک‌ها به‌محض بلوغ تخمک به‌سمت مرکز هسته مهاجرت می‌کنند (شکل ۱).

۶- مرحله مهاجرت هسته (Migratory nucleus)

شروع اوولاسیون با حرکت هسته به‌سمت حاشیه تخمک مشخص می‌شود. این مرحله از تکامل تخمک در نمونه‌ها مشاهده نشد.



شکل ۱: به‌ترتیب از بالا سمت راست: مرحله اول (مرحله هستک‌های کروماتینی)، مرحله دوم (مرحله هستک‌های کناری)، مرحله سوم (مرحله وزیکول های زرده)، مرحله چهارم (مرحله اول زرده‌سازی)، (مرحله دوم زرده‌سازی)، (مرحله سوم زرده‌سازی)، مرحله ششم (مرحله تخم ریخته)

همچنین با توجه به بررسی‌های بعمل آمده مراحل رشد و رسیدگی تخمدان ماهی کفال خاکستری *(M.cephalus)* نیز به شش مرحله تقسیم شد. ویژگی‌های هر مرحله به شرح زیر بود:

۱- مرحله هستک‌های کروماتینی

میانگین قطر تخمک‌ها در این مرحله ۶/۳۷±۲۰/۱۷ میکرون بود. از مشخصات این مرحله، وجود هسته بزرگ در مرکز تخمک و مقدار اندک اووپلاسم بود. در این مرحله هسته دارای چند هستک کوچک و رشته‌های کروماتینی مرتبط با هستک بود. سیتوپلاسم بشدت قلیادوست بوده و با هماتوکسیلین به رنگ آبی درآمد (شکل ۱- الف).

www.SID.ir

۲- مرحله هستک‌های کناری

در این مرحله پروتوپلاسم تخمک در حال رشد بود. میانگین قطر تخمک ۹/۱۴ ± ۸۸/۷۹ میکرون بود. مواد کروماتینی در قسمت میانی هستک‌ها قابل مشاهده شد. هستک‌ها به تعداد زیاد و به اندازه کوچک در مجاورت دیواره داخلی غشاء هسته قرار گرفته بودند. همچنین در این مرحله واکوئل‌هایی به‌دور هسته تشکیل گردید. از اختصاصات دیگر تشکیل لایه نازک فولیکولی به دور تخمک بود. در این مرحله از شدت قلیادوستی تخمک‌ها کاسته شده و در نتیجه حساسیت آن‌ها نسبت به هماتوکسیلین کمتر شد (شکل ۲- ب).

۳- وزیکول‌های زرده

در این مرحله اندازه تخمک افزایش یافت. میانگین قطر تخمک‌ها در این مرحله به ۲۱/۳۳ ± ۱۸۰/۶۲ میکرون رسید. در اطراف هسته چند ردیف واکوئل قابل مشاهده گردید. واکوئول‌ها در اطراف هسته وزیکول‌های زرده را تشکیل دادند. هستک‌ها به تعداد زیاد در مجاورت غشای داخلی هسته قرار داشتند. از ویژگی‌های دیگر مرحله سوم افزایش ضخامت سلول‌های فولیکولی و تشکیل لایه شعاعی (Zona radiata) بود. میزان اسیددوستی اووپلاسم افزایش یافت (شکل۲- ج).

٤- مرحله دانه‌های زرده

اندازه قطر تخمک در این مرحله ۶۵۰-۱۸۰ میکرون بود. هستک‌ها در این مرحله در نواحی مختلف هسته پراکنده و تعداد آن‌ها کاهش یافت. در مرحله چهارم واکوئل سازی به اتمام رسید. این واکوئول‌ها و اجسام زرده باعث فشار بر روی هسته و تغییر شکل غشای آن گردید. ضخامت لایه فولیکولی افزایش یافته و دو لایه سلولی آن (لایه های سلولی گرانولوزا (Granulosa cells) و تکا (Theca cells) و همچنین لایه شعاعی مشخص‌تر می‌گردد. تخمک‌ها کاملاً اسیددوست بوده و در نتیجه گرایش آن‌ها به اثوزین افزایش می‌یابد. در پایان این مرحله تخمک‌ها بالغ می‌گردند (شکل ۲- ه، و).

۵- مرحله بلوغ

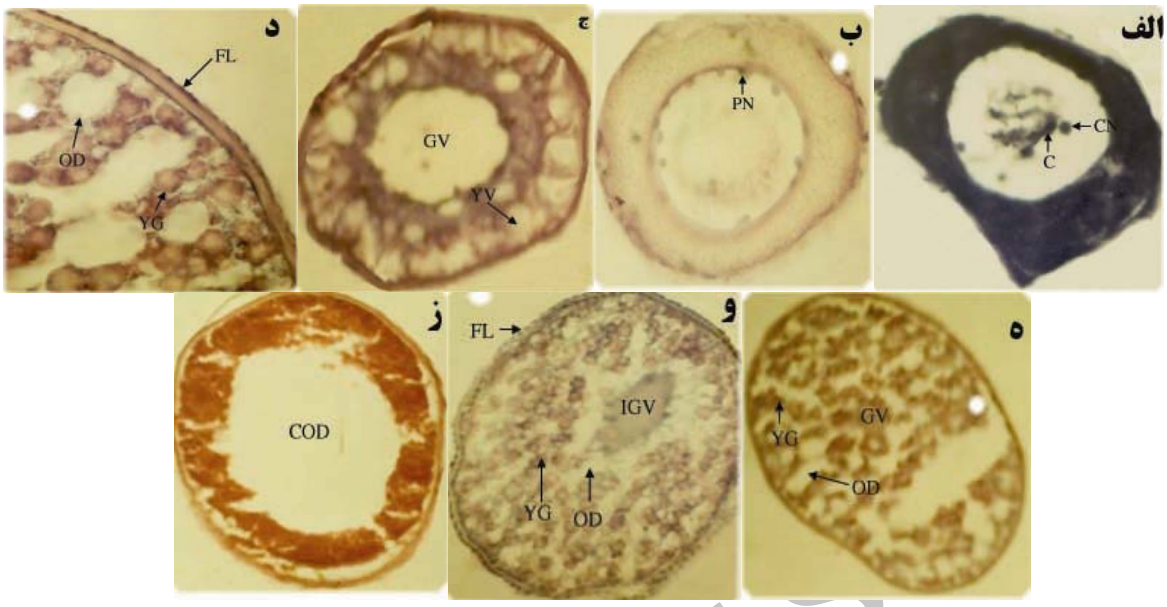
در این مرحله تخمک‌ها باز هم رشد نموده و حداکثر قطر آن‌ها به ۹۳۰ میکرون رسید. اجسام زرده تجمع یافته، واکوئول‌ها نیز با هم ادغام شده و یک واکوئل بزرگ را تشکیل دادند. در این مرحله تخمک‌ها آبگیری نمودند. از اختصاصات بارز این مرحله، مهاجرت هسته به قطب حیوانی، کوچک شدن و در نهایت ناپدید شدن آن بود. لایه فولیکولی در اطراف تخمک توسعه یافته و به همین دلیل به صورت چین‌خورده مشاهده گردید. مدت زمان این مرحله کوتاه بود. در پایان این مرحله تخمک‌ها از فولیکول آزاد شده و اوووله شدند (شکل۲- ز).

٦- مرحله تخم ریخته

در این مرحله ماهی تخمک‌های خود را ریخته و در نتیجه در درون تخمدان مقدار زیادی فولیکول خالی و همچنین تخمک‌های غیر عادی مشاهده گردید. همچنین تخم‌های نابالغ در این مرحله قابل مشاهده شدند.

Archive of SID

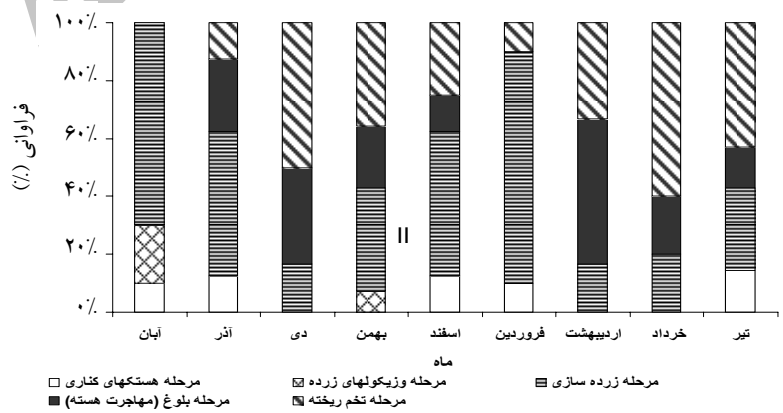
www.SID.ir



شکل ۲: مراحل مختلف تکامل تخمکهای کفال خاکستری در استخرهای پرورشی در گمیشان الف- مرحله هستک های کروماتینی (H&E ; X۲۵۰۰)، ب - مرحله هستک های کناری، (H&E ; X۶۰۰)، ج- مرحله وزیکولهای زرده (H&E ; X۵۰۰) د- قسمتی از یک تخمک، ه- اواسط مرحله دانه های زرده (H&E ; X۲۰۰). و- انتهای مرحله دانه های زرده (H&E ; X۱۰۰)، ز- مرحله بلوغ (H&E ; X۶۰) (شبکه کروماتینی (C)، هستک‌های کروماتینی(CN)، هستک‌های کناری (PN)، وزیکول زاینده (GV)، وزیکول‌های زرده(YV)، لایه فولیکول (FL)، دانه‌های زرده (YG)، قطرات چربی (OD)، وزیکول زاینده در حال مهاجرت (IGV)، یک قطره چربی در وسط تخمک (COD))

نسبت مراحل مختلف رسیدگی جنسی در تخمک‌های ماهی کپور معمولی

نسبت مراحل رسیدگی جنسی ماهی کپور ماده در ماه‌های مختلف در شکل ۳ بیانگر آن است که در ماه‌های آذر تا خرداد ماهیانی با تخمدان تخلیه شده (تخم‌ریزی کرده)، مشاهده می‌شوند.



شکل ۳: نسبت مراحل رسیدگی جنسی ماهی کپور ماده در ماه‌های مختلف

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصله از مطالعات بافت‌شناسی ماهی کفال خاکستری نیز نشان داد که مرحله اول و دوم رشد تخمدان در مرداد و اوایل شهریور، مرحله سوم در شهریور و مرحله چهارم در مهر و آبان صورت می‌گیرد. از این مرحله به بعد تکامل تخمک‌ها متوقف می‌شود. بنابراین از آبان ماه می‌توان مولدین را جهت رسیدگی نهایی، تحت القاء هورمونی قرار داد.

بحث

از آنجا که زمان رسیدگی جنسی گونه‌های مختلف ماهیان در طول سال متفاوت می‌باشد، در این تحقیق سعی شده است تا علاوه بر بررسی روند تکامل تخمک در ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)، مقایسه‌ای بین این دو گونه از ماهیان در ارتباط با زمان‌بندی تکامل تخمک صورت گیرد. الگوی کلی تکامل تخمک‌ها در ماهی کپور معمولی و کفال خاکستری مشابه سایر ماهیان دیگر است. روند تخمک‌زایی برطبق اندازه و محتویات تخمک‌ها به مراحل مختلف تقسیم می‌شود. تقسیم‌بندی مراحل تکامل تخمک‌ها فقط جهت تسهیل مطالعه است. برای مثال تکامل تخمک‌ها در قزل الای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به هشت مرحله، در سوزن ماهی (*Syngnathus scovelli*) و ماهی لجنی (*Labeo capesis*) به شش مرحله، در گارا (*Garra rufa*) به پنج مرحله (۶)، در هیبرید تاس‌ماهی (بستر) به پنج مرحله (۲۷) و در کفال قرمز (*Mullus surmuletus*) به شش مرحله (۲۹) تقسیم شده است.

عوامل محیطی، تعیین کننده فصل تولید مثل می‌باشد. به‌طوری که در این فصل بهترین شرایط بقای لاروها و بچه‌ماهیان مهیا می‌باشد. تکوین گناد در فصل تخم‌ریزی از طریق محرک‌های دوره‌ای صورت می‌گیرد. تخم‌ریزی بسیاری از ماهیان در مناطق ویژه از لحاظ اکولوژیکی انجام می‌شود. بعضی از ماهیان تلاش طاقت فرسایی جهت رسیدن به این مکان‌ها می‌کنند. خصوصیات محیطی مکان‌های تخم‌ریزی باعث القاء بلوغ نهایی تخمک‌ها، اوولاسیون و تخم‌ریزی می‌شود. ترکیب فصل مطلوب و محیط مطلوب تخم‌ریزی، احتمالاً باعث ایجاد بهترین شرایط جهت بقای لاروها و بچه‌ماهیان می‌شود. کنترل محیطی گامتوژنز هم بر اثرات بلند مدت جهت تکمیل گامتوژنز و هم اثرات سریع بر مراحل اسپرمیشن، اوولاسیون و تخم‌ریزی می‌شود. پرورش ماهی در شرایط مصنوعی آن‌ها را از دستیابی به شرایط مطلوب جهت تولیدمثل محروم می‌کند. این دلیل اصلی عدم انجام اوولاسیون و تخم‌ریزی در مولدین ماده‌ای که در شرایط پرورش نگهداری می‌شود، می‌باشد. به وسیله دستکاری محیط مولدین، می‌توان هم زمان تخم‌ریزی را تنظیم نمود و هم می‌توان در تمام طول سال تولید تخم و اوولاسیون و تخم‌ریزی را القا نمود (۴۵).

در مناطق معتدله، مهمترین عوامل محیطی تاثیرگذار در تولید مثل طول روز و دما می‌باشد. بهرحال، این عوامل در مناطق گرمسیری بشدت متفاوت است. اکثر ماهیان گرمسیری، بجای داشتن دوره‌های تخم‌ریزی ممتد، دارای پیک زمان تخم‌ریزی یا حتی دوره تخم‌ریزی محدود می‌باشند (۲۲).

در مناطق گرمسیری، گامتوژنز توسط عوامل محیطی مرتبط با باران‌ها و سیل مانسون کنترل می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

زمانبندی محیط دوره تولیدمثل ماهی در سال‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است (۷). بیشتر ماهیان مورد مطالعه، آزادماهیان و کپورماهیان بوده‌اند. دوره نوری، مهمترین محرک محیطی است که زمانبندی تولیدمثل در آزاد ماهیان را تعیین می‌کند (۷و۹). رشد توده‌ای اووسیت در قزل‌آلای رنگین کمان و قزل‌آلای قهوه‌ای به موازات شروع کاهش طول روز، آغاز می‌گردد. دما تاثیر محدودتری بر گامتوژنز آزاد ماهیان دارد (۹). این یافته‌ها، استفاده از رژیم نوری ثابت یا تنظیم شده را امکان‌پذیر ساخت و همچنین امکان تخم‌ریزی چندباره را در گونه‌های مختلف آزاد ماهیان فراهم آورد.

دوره‌های نوری نسبت به دما در زمانبندی دوره‌های تولیدمثل در ماهیان دریایی آب‌های سرد نقش بیشتری دارد (۹). در ماهیان آب‌های گرم نظیر کپورماهیان، دما عامل تاثیر گذارتر می‌باشد، اگرچه دوره‌های نوری نیز در تنظیم گامتوژنز نقش دارد (۳۸). کپور معمولی همزمان با افزایش دمای آب، تخم‌ریزی می‌نماید. چند هفته پس از تخم‌ریزی، در حالی‌که دما همچنان رو به افزایش است، دوره جدید گامتوژنز آغاز می‌گردد. تخمک‌ها مراحل زرده‌زایی را بسرعت طی می‌نمایند. در این زمان، دمای آب کاهش می‌یابد و تکامل تخمک تا بهار سال بعد متوقف می‌گردد. با افزایش مصنوعی دمای آب می‌توان دوره تخم‌ریزی کپور ماهیان را طولانی‌تر نمود (۴۴).

ماهی کفال خاکستری از ماهیان دریایی آب‌های گرم است که از لحاظ پرورش اهمیت زیاد دارد. این گونه در زمستان تخم‌ریزی می‌نماید و گامتوژنز در آن توسط کاهش طول روز و دمای آب القا می‌گردد. بنابراین اگر این ماهی در معرض روزهای کوتاه و دمای پایین قرار گیرند، می‌توان تخم‌ریزی را القا نمود. بنابراین اگر طول روز از زمان طولانی‌ترین روز سال، به همان صورت ثابت نگه داشته شود (به مدت چند ماه) و سپس بتدریج کاهش داده شود، می‌توان در تمام طول سال تخم‌ریزی این ماهیان را القا نمود (۲۱).

تخم‌ریزی تحت تاثیر شرایط محیطی می‌باشد. این عوامل تخم‌ریزی ماهیانی که در شرایط پرورشی رشد می یابند را القا می‌نماید. در برخی از ماهیان که در تابستان تخم‌ریزی می‌نمایند، مانند ماهی کپور معمولی، آب گرم جهت تخم‌ریزی مورد نیاز است (۷). افزایش دمای آب برای برخی از گونه‌های ماهیان بخصوص در کپورماهیان جهت القا تخم‌ریزی در شرایط پرورشی مورد استفاده قرار گرفته است.

در کفال خاکستری، که در زمستان تخم‌ریزی می‌نماید، اوولاسیون و تخم‌ریزی احتمالاً توسط شروع افزایش دمای آب که در اواخر زمستان اتفاق می‌افتد، القا می‌گردد. بنابراین اگر دما در حد پایین ثابت نگه داشته شود، تخم‌ریزی این ماهی چند هفته به تأخیر می‌افتد. از این روش می‌توان جهت به تعویق انداختن تخم‌ریزی استفاده نمود.

عوامل محیطی در ابتدا، اوولاسیون و تخم‌ریزی را تحت کنترل دارد. اگر چه در بسیاری از گونه‌های ماهیان ترکیب عوامل خارجی (محیطی) برای القاء اوولاسیون شناخته شده نمی‌باشد. بنابراین دستکاری هورمونی، برای این گونه‌ها عملی‌تر می‌باشد (۱۸).

تخم‌ریزی کفال خاکستری در طبیعت در دوره‌های مختلف سال بسته به محل جغرافیایی متفاوت است. به عنوان مثال در منطقه هاوایی زرده زایی در اوایل آبان شروع و تخم‌ریزی از آذر تا اسفند ماه صورت می‌گیرد (۲۰) ولی در ناحیه مدیترانه فصل

Archive of SID

www.SID.ir

تخم‌ریزی از مرداد تا مهر می‌باشد (۲۸). در طبیعت بلوغ کفال خاکستری در پاسخ به کوتاه شدن دوره نوری و پایین آمده درجه حرارت می‌باشد.

تخم‌های ماهی کفال خاکستری همزمان می‌رسند و ماهی در شرایط طبیعی فقط یکبار در سال تخم‌ریزی می‌کند و در طبیعت تخم‌ریزی دوم گزارش نشده است (۱۴). Brusle (۸) امکان چند بار تخمریزی را در یک فصل برای کفال خاکستری مدیترانه بیان کرده است. همچنین با کنترل شرایط محیطی و تزریق هورمون به این ماهی دوبار در سال تخم‌ریزی صورت گرفته است (۲۸و۴۲).

کفال خاکستری به طور طبیعی در شرایط پرورش آب شیرین و شور ممکن است مراحل زرده‌زایی را کامل کنند، اما مرحله پایان بلوغ تخمک‌ها صورت نمی‌گیرد (۲۱، ۲۴، ۳۰، ۳۱و ۳۴). عدم تخم‌ریزی ماهیان در شرایط پرورشی اختلال در یک یا چند مسیر در محور هیپوتالاموس – هیپوفیز - گناد نسبت داده شده است (۴۶). برای برطرف کردن این اختلال در مسیر ترشح داخلی کنترل کننده‌های رشد تخمدان ، از روش القاء هورمونی جهت رسیدگی کامل تخمدان استفاده می‌شود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مرحله دوم رشد تخمدان در مرداد و اوایل شهریور، مرحله سوم در شهریور، مرحله چهارم در مهر و آبان ماه صورت می‌گیرد. بنابراین از آبان ماه مولدین جهت رسیدگی کامل تحت عمل القاء هورمونی قرار گرفتند.

با توجه به نتایج حاصل، در ماهی کفال خاکستری مورد مطالعه نیز شروع زرده‌زایی همزمان با کوتاه شدن دوره نوری و کاهش دمای آب صورت می‌گیرد و تفاوت چندانی از این نظر با کفال‌های خاکستری موجود در نواحی دیگر ندارد (۲۱، ۲۴، ۳۰ و ۳۴). همچنین نتایج حاصل از تحقیق در مورد کفال طلایی *(Liza auratus)* نشان می‌دهد که در جنوب دریای خزر مراحل یک، دو و سه تا مرداد ماه، مرحله چهار در شهریور و مرحله پنجم در مهر و اوایل آبان مشاهده شده و نمونه‌های تخم‌ریخته در ماه‌های مهر تا اواخر آبان به ثبت رسیده است (۱). در مقایسه با تحقیق حاضر در زمان رسیدگی جنسی کفال طلایی دریای خزر و کفال خاکستری مورد مطالعه، همزمانی نزدیکی وجود دارد.

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمود که عوامل محیطی نقش مهمی را در زمانبندی تکامل تخمک در ماهیان بر عهده دارد و وظیفه دریافت محرک‌های محیطی در ماهیان بر عهده غده پینه‌آل است. چگونگی کارکرد این غده در گونه‌های مختلف ماهیان که در فصول مختلف سال تخم‌ریزی می‌نمایند، متفاوت می‌باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق با مساعدت مرکز تحقیقات اکولوژی دریای خزر و مرکز تحقیقات شیلاتی گلستان صورت گرفته است. بدینوسیله از تمامی همکاران این مراکز که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند،کمال تشکر را داریم.

منابع

۱. شعبانی پور، ن.، ۱۳۷۴. بررسی شکل و بافت‌شناسی تخمدان در ماهی کفال دریای خزر *Liza (auratus)*. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲. سال چهارم. صفحه ۶۲-۴۷.

Archive of SID

www.SID.ir

۲. وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۱. ماهیان آب شیرین، انشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه.

3. Alikunhi, K.H., 1966. Synopsis of biological Data on Common Carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Asia and the Far East). Rome: FAO. 1529pp.
4. Appleford, P.; Anderson, T.A. and Gooley, G.J., 1998. Reproductive cycle and gonadal development of Macquarie perch, *Macquaria australasica* Cuvier (Percichthyidae), in Lake Dartmouth and tributaries of the Murray-Darling Basin, Victoria, Australia. Marine and Freshwater Research, 49:163-169.
5. Berg, L.S., 1949. Freshwater fishes of Iran and adjacent countries. Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Neuk SSSR, 8: 783-858 (in Russian).
6. Bardacki, F., Ozansoy U. and Koptagel, E. 2002. A comparision of oogenesis under constsnt and fiuctuating temmprature in Doctor fish, *Garra rufa* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae). Aquaculture.1:1-8.
7. Billard, R.; Breton, B.; Fostier, A.; Jalabert, B. and Weil, C., 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: salmonid and cyprinid models, in *Comparative Endocrinology*, Gaillard, P. J. and Boer, H. H., Eds., Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 283pp.
8. Brusle, J., 1981. Sexuality and biology of reproduction in grey mullet. In: O.H. Oren. Aquaculture of Grey Mullets. Cambridge Univ, press, New York, pp 39-54.
9. Bye, V.J., 1978. The role of environmental factors in the timing of reproductive cycle, in *Fish Reproduction: Strategies and Tactics,* Potts, G. W and Wootton, R. J., Eds., Academic press, London, chap. 11.
10. Crook, D.A. and Robertson, A.I., 1999. Relationships between riverine fish and woody debris: implications for lowland rivers. Marine and Freshwater Research, 50:941-953.
11. De Vlming, V.L., 1975. Effect of pinealectomy on gonadal activity in the cyprinid teleost *Notemigonus crysoleucas*. *Gen. Com. Endocrinol.*, 26, 33.
12. Fenwick, J.C., 1970. Demonstration and effect of melatonin in fish. *Gen. Com. Endocrinol.*, 14, 86.
13. Fida, S.; Qadri, M.Y. and Siddiqi, M., 1988. Influence of environmental conditions on the ovarian cycle and serum chemistry of *Cyprinus carpio* in the Dal Lake, Kashmir (India). Freshwater Biology, 20:61-67.
14. Greeley, M.S.; Clader, D.M. and Wallace, A., 1987. Oocyte growth and development in the striped mullet, *(Mugil cephalus)*, during seasonal ovarian recrudescence. Fish Bull, 85:187-200.
15. Hafeez, M.A., 1971. Light microscopic studies on the pineal organ in teleost fishes with special regard to its function. J. *Morphol*., 134, 281.
16. Hanyu, I.; Niwa, H. and Tamura, T., 1978. Salient features of photosensory function of the teleostean pineal organ. *Com. Biochem. Physiol*., 61A, 49.
17. Humason, G.L., 1979. Animal Tissue Techniques, 4th edition. Freeman and Company, San Francisco, CA.577pp.
18. Hunter, GA. and Donaldson, E.M., 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture, in *Fish Physiology*, vol. 9B, Hoar, W. s., Randall, D. J., and Donaldson, E. M., Eds., Academic Press, New York, 518pp.
19. Kuo, C.M., 1995. Manipulation of ovarian development and spawning in grey mullet *(mugil cephalus). The Israeli J. Aquaculture. Bamidgeh.* 47(2): 43-58.
20. Kuo, C.M. and Nash, C.E., 1975. Recent Progress on the control of ovarian development and induced spawning of grey mallet *(Mugil cephalus)*. *Aquaculture*. 5:19-29.
21. Kuo, C.M.; Nash, C.E. and Shehadeh, Z.H., 1974. A procedural guide to induce spawning in grey mullet *(Mugil cephalus)*. *Aquaculture*, 3:1-14.
22. Lam, T.J., 1983. Environmental influences on gonadal activity in fish, in *Fish Physiology*, vol. 9B, Hoar, W. S., Randall, D. J., and Donaldson, E. M., Eds., Academic Press, New York, chap. 2, 518pp.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Lee, C.S.; Tamaru, C.S.; Myamoto, G.T. and Kelley, C.D., 1987. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) by LHRH-a. *Aquaculture*.62:327-336.
24. Liao, I.C., 1981. Cultivation methods. In: O.H.Oven (Editor), Aqnaculture of Grey Mullets.Cambridge University Press, London, pp 361-389.
25. McDowall, R. (Ed.), 1996. Freshwater fishes of South-Eastern Australia. Sydney: reed Books, 208pp.
26. McNulty, J.A., 1978. The pineal of the troglophilic fish, *Chologastre agassizi*: an ultrastructural study. *J. Neural Transm.*, 43, 47.
27. Mojazi Amiri, B.; Maebayashi, M.; Hara, A.; Adachi, S. and Yamauchi, K., 1996. Ovarion development and serum sex steroid and vitellgenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. *J. Fish Biol.* 48: 1164-1178.
28. Monbrison, D.D., 1997. Aceeleration of gonadal development and spawning induction in the Mediterranean grey mullet (Mugil cephalus): Prelimnary studies. *Israeli J. Aquaculture –Bamidgeh.* 46:214-221.
29. N'da, K. and Deniel, C., 1993. Sexual cycle and seasonal changes in the ovary of the red mullet, *Mullus surmuletus*, from the sothern coast of Brittany. *J. Fish Biol.* 43:229-244.
30. Nash, C.E. and Koningsberger, R.M., 1981. Artificial propagation O.H. Oren (Editor), O.H. Oren (Editor), Aquaculture of Grey Mullets. Cambridge University Press, London, pp. 265-312.
31. Nash, C.E. and Shehadeh, Z.H., 1980. Review of breeding and propagation techniques for grey mullet (*Mugil cephalus*) L. ICLARM Studies and Reviwes3.International Center for Living Aquatic Resources Management Manila, Philippines, 88pp.
32. Omura, Y. and Oguri, M., 1969. Histological studies on the pineal organ of 15 species of teleost. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 35, 991.
33. Sagi, G. and Abraham, M., 1983. Pineaectomy and ovarian development in the grey mullet. *J. Fish Boil*., 23. 339.
34. Shehadeh, Z.H. and Ellis, J.N., 1970. Induced Spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus* L. *J. Fish Biol.,* 2:355-360.
35. Shikhshabekov, M.M., 1972. The annual cycle of the gonads in wild carp (Cyprinus carpio L.) from the Terek Delta, J. Ichthyology, 5:855-859.
36. Smith, B.B. and Walker, K.F., 2004. Spawning dynamics of common carp in the River Murray, South Australia, shown by macroscopic and histological staging of gonads. J. Fish Biology, 64:336-354.
37. Sparre, P.; Ursin, E. and Vanema, S.C., 1988. Introduction to tropical fish stock assessment part manual FAO, Italy. 337p.
38. Stacey, N.E., 1984. Control of timing of ovulation by exogenous factors, in *Fish Reproduction: Strategies and Tactics,* Potts, G. W and Wootton, R. J., Eds., Academic press, London, chap. 12, 424pp.
39. Swee, U.B. and McCrimmon, H.R., 1966. Reproductive biology of the carp, *Cyprinus carpio* L., in Lake St Lawrence, Ontario. Transactions of the American Fisheries Society, 95: 372-380.
40. Sulochanamma, G.P.; Reddy, S. and Natarajan, R., 1981. Maturity and spawning of *Mugil cephalus* L.in Porto Novo waters. *J. Mar Biol. Ass.India,* 23 (1-2):55-61.
41. Szabo, T.; Szabo, R.; Urbanyi, B. and Horwath, L., 2000. Review of the results of common carp (*Cyprinus carpio*) breeding at a large-scale hatchery. Reproduction in domesticated Animals, 35:89-94.
42. Tamaru, C.S.; Kelley, C.D.; Lee, C.S.; Aida, K. And Hangu, I., 1989. Effects of chronic LHRH-a + 17* methyltestosterone or LHRH-a+testosterone therapy on oocyte growth in the striped mullet (*Mugil cephalus*). *Gen. Comp. Endocrinol.,* 76:114 –127.
43. Tamaru, C.; Kelley, C.; Lee, C.S.; Aida, K. and Hanyu Iand Goetz, F., 1991. Steroid profiles during maturation and induced spawning of the striped mullet (*Mugil cephalus*). *Aquaculture*. 95:149-168.
44. Yaron, Z. and Levavi- Zermonsky, B., 1986. Fluctuations in gonadotropin and ovarian steroids during the annual cycle

Archive of SID

www.SID.ir

and spawning of the common carp. *Fish Physiol. Biochem.*, 2, 75.

45. Zohar, Y., 1988. Gonadotropin- releasing hormone in spawning induction in teleost: basic and applied consideration, in *Reproduction in fish- Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*, Zohar, Y. and Breton, B., Eds., INRA Press, Paris, 236pp.
46. Zohar, Y., 1989. Fish reproduction: its Physiology and artificial manipulation. pp. Gs-119.in M.Shilo and sarig (eds). Fish culture in warm water systems: problems and trends. CRG. Press. Florida, 624pp.

Archive of SID

www.SID.ir