Archive of SID

استفاده از شاخص چشمی برای بررسی روند رشد و نمو جنینی در سه گونه از سخت پوستان ده پا *Palaemon elegans, Homarus gammarus, Astacus leptodactylus*

زهرا تقی زاده و صابر خدابنده

مازندران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه بیولوژی دریا

تاریخ دریافت: ۸٦/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۱۲

چکیده

ده پایان جزء بزرگ ترین راسته سخت پوستان بوده و چندین مرحله لاروی دارند که جوان ترین آنها از نظر شکل با والدین کاملاً متفاوت بوده و ناپلئوس نامیده می شود. در تعدادی از ده پایان، دوره ناپلئوسی جزء مراحل جنینی بوده و در طی تفریخ، آزاد می شود. درونی بودن مراحل رشد جنینی، مطالعه و شناسایی این مراحل را از دیرباز با مشکلات زیادی روبرو نموده و ایجاد روشهای تازه در تقسیم بندی مراحل رشد جنینی را می طلبد. در این تحقیق طبق روش پارکینز، استفاده از شاخص چشمی، جهت تعیین مراحل مختلف رشد جنینی سه گونه از سخت پوستان ده پا *Palaemon elegans, Homarus gammarus, Astacus leptodactylus* ، با روشهای زندگی متفاوت، و از سه محیط مختلف آب شور، شیرین و لب شور مورد بررسی قرار گرفت. شاخص چشمی تفریخ، معادل ۱۵٦ میکرون در *P. elegans* ، ٤۳۰ میکرون در *A. leptodactylus* و ٦٤۰ میکرون در *H. gammarus* تعیین گردید. نتایج به دست آمده فرض استفاده از شاخص چشمی در تعیین مراحل رشد ناپلئوس جنینی را مورد تأیید قرار داد، به طوری که در این سه سخت پوست، نیمی از مراحل رشد جنینی در زمان یک دوم شاخص چشمی تفریخ، طی شده بود و در یک سوم میزان شاخص چشمی تفریخ، یک سوم مراحل تکوین جنینی صورت گرفته بود. تفریخ نیز در حداکثر میزان شاخص چشمی ناپلئوس جنینی رخ می دهد. بنابراین به کمک این روش می توان مراحل تکوین جنین را به سادگی محاسبه نموده و با ذکر شاخص چشمی میزان رشد جنین در مطالعات اونتوژنیک را در هر مرحله مشخص کرد.

واژه های کلیدی: شاخص چشمی، ناپلئوس، *Palaemon elegans, Homarus gammarus, Astacus leptodactylus*

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱٤٤٧۲۰۳۳، پست الکترونیک: surp78@gmail.com

مقدمه

ده پایان، بزرگترین راسته سخت پوستان ، اکثراً دریازی بوده و زندگی کف زی دارند هر چند که دارای تعدادی گونه پلاژیک هم هستند. در برخی از ده پایان (میگوها و لابسترها) قسمت شکمی وجود دارد، در حالی که در دیگران (خرچنگها) قسمت شکمی کاهش یافته است. در سخت پوستان تولیدمثل در بخشی از زمان چرخه پوست اندازی انجام می شود (۱٦). اغلب ده پایان تخمهایشان را تا تفریخ بر روی ۵ جفت پاهای شنا (پلئوپودهای ناحیه شکمی) ماده نگه می دارند (۵). مقدار و پراکنش زرده تخم با الگوهای تسهیم و تکوین جنینی گونه های مختلف سخت پوستان ارتباط دارد (۲). معمولاً تخمهای کوچک به صورت لاروهای کوچکی تفریخ می یابند که باید مراحل رشد و نموی طولانی تری را بگذرانند؛ در حالی که تخمهای درشت در مراحل پیشرفته تری که یا با طی مراحل لاروی کمتری همراه است یا مستقیم به صورت Post-larvae می باشد تفریخ می یابند (۸).

www.SID.ir

Archive of SID

بسیاری از ده پایان دارای چندین مرحله لاروی هستند و جوان ترین آنها که از نظر شکل کاملاً با والدین متفاوت است، بدنش فقط از یک قطعه درست شده و در این مرحله ناپلئوس نامیده می شود. غالب سخت پوستان دارای ناپلئوس آزاد هستند اما تعدادی از ده پایان دوره ناپلئوسی آنها جزء مراحل رشد جنینی داخل تخم بوده و حیوان بالغ به صورت پیش لارو آزاد می گردد. از جمله این ده پایان؛ میگوی *P. elegans*، خرچنگ دراز آب شیرین یا لابستر آب شیرین *A. leptodactylus* و لابستر دریایی *H. gammarus* می باشد که مراحل ناپلئوسی داخل تخم دارند. در این سه گونه، پس از جفت گیری، اسپرمها که به صورت اسپرماتوفور در روی سومین جفت پلئوپودهای نر (Pleopoda) در تماس با آب قرار دارند؛ بین سومین و پنجمین جفت پلئوپود های ماده قرار می گیرند. اسپرماتوزوئید ها تا زمان تخم ریزی ماده به همین صورت باقی می مانند. با آغاز تخم ریزی در زمستان، تخمک لقاح یافته؛ تخمها به کمک یک بند روی پلئوپود ها به صورت دانه دانه و یا چند تایی می چسبند (۲). در طول دوره اتصال تخم و انکوباسیون، جنس ماده تمیز کردن تخمها، اکسیژن رسانی و حذف رسوبات از سطح تخمها را با بهم زدن پلئوپودها انجام می دهد (١٦). متفاوت بودن محیط زیست این سه ده پا تفاوتی در نحوه تولید مثل آنها ایجاد نموده و خصوصاً مراحل رشد لاروی را در آنها تحت تأثیر قرار داده است. خرچنگ دراز آب شیرین گونه ای با تخم ریزی زمستانه، دوره انکوباسیون تخم طولانی، رشد کند، بلوغ دیررس و عمر تولید مثلی طولانی است (١٦). خرچنگ دریایی که ساکن آبهای ساحلی دریاست، قادر است در نواحی مصبی نیز به سر برد. ماده های حامل تخم (Berried) خرچنگ (لابستر) در فصل بهار از آبهای عمیق به آبهای کم عمق مهاجرت می کنند (۹). گونه های جنس میگو *(Palaemon)* به آبهای کم عمق دریایی، آبهای لب شور و تعداد کمی هم به آبهای شیرین تعلق دارند. از این جنس دو گونه همراه با ماهیان کفال از دریای سیاه به دریای خزر معرفی و بومی شده اند (۱).

امروزه مطالعات اونتوژنیک زیادی روی سخت پوستان انجام می گیرد (۹، ۱۰و۱۹). با توجه به کاملاً درونی بودن مراحل تکوین جنینی در ده پایان مورد بررسی، مطالعه و شناسایی اونتوژنی برخی اعمال فیزیولوژیک در مراحل مختلف جنینی با مشکلاتی روبروست. اگرچه از شاخص چشمی به طور پراکنده در برخی از این تحقیقات استفاده شده ولی در خصوص رابطه آن با میزان تکوین جنینی و خصوصاً روی شاخص چشمی میگوی *P. elegans* و مقایسه آن با دو گونه مورد مطالعه این تحقیق، کاری انجام نگرفته است. لذا، استفاده از شاخص چشمی برای تقسیم بندی مراحل مختلف جنینی و مقایسه آنها در *P. elegans*، *A. leptodactylus* و *H. gammarus* از سه خانواده مختلف و از سه محیط زیست مختلف آب شور ، لب شور و شیرین، مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت.

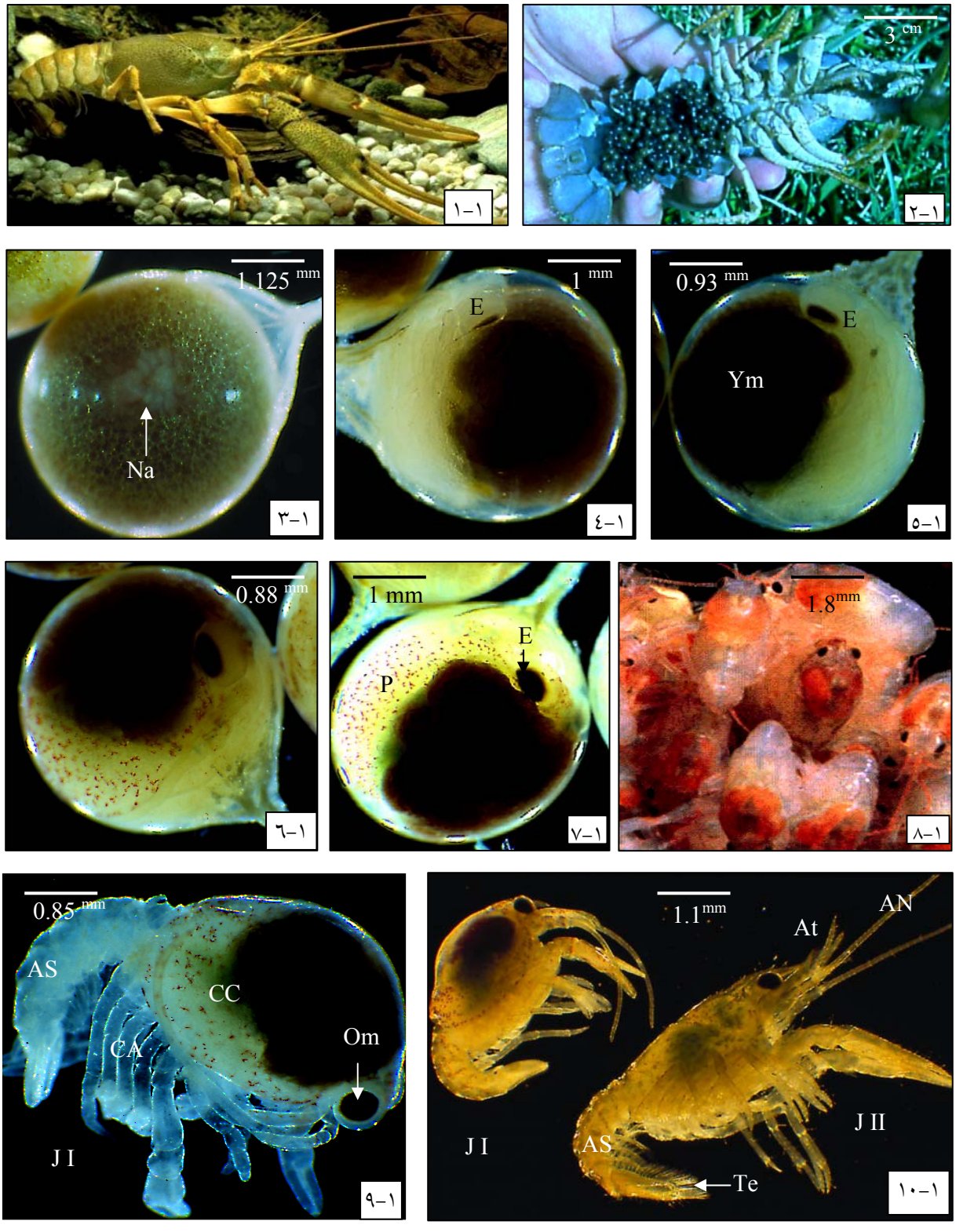
مواد و روشها

ماده های بالغ تخم دارخرچنگ دراز آب شیرین *Astacus leptodactylus* (شکل ۱-۱) و لابستر *Homarus gammarus* (شکل ۲-۱) به صورت زنده از مرکز فروش آبزیان زنده خریداری و پس از انتقال به آزمایشگاه در تانکهای پلاستیکی پوشیده با ورقه های پلاستیکی سیاه محتوی آب شیرین جاری فاقد کلر نگه داری شدند. دمای تانکها در حدود ۱۹ درجه سانتی گراد و فتوپریود در :12L 12D حفظ گردید. تغذیه ۳ بار در هفته با اویستر انجام شد.

ماده های بالغ *Palaemon elegans* Rakhte (شکل ۳-۱) هم در فصل بهار از بستر های جلبکی چسبیده به قسمتهای صخره ای ساحل دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهرستان نور، استان مازندران بوسیله تور دستی صید گردیدند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مراحل مختلف رشد و نموی خرچنگ دراز آب شیرین *A. leptodactylus*.

۱-۱) آستاکوس بالغ به طول ۲۵- ۱۵ سانتی متر و به وزن ۱۵۰- ۱۰۰ گرم.

۱-۲) ماده حامل تخم. تعداد تخمهای آن به طور متوسط بین ۳۰۰ -۱۰۰ عدد می باشد. قطر تخمهای آن بین ۲/٦۸ mm-۲/۲۱ است.

۱-۳) مرحله Nauplius. مشخصه این مرحله ظهور یک جنین سفید رنگ در روی زرده قهوه ای تیره است.

۱-٤) مرحله میانی متاناپلئوس با شاخص چشمی ۲۰۰ میکرون.

www.SID.ir

Archive of SID

۱-۵) مرحله متاناپلئوس با شاخص چشمی ۳۰۰ میکرون. کوریون به سادگی قابل رویت است.
۱-٦) مرحله متاناپلئوس با شاخص چشمی ۳۸۵ میکرون. رنگدانه ها بر روی سطح تخم به فراوانی دیده می شوند.
۱-۷) مرحله پایانی متاناپلئوس با شاخص چشمی ٤۲۰ میکرون. در شاخص چشمی ٤۳۰ میکرون تفریخ اتفاق می افتد.
۱-۸) جنینهای تفریخ شده آستاکوس که تا چند روز متصل به مادر باقی می مانند.
۱-۹) مرحله جوان یک (Juvenile I) که هنوز متصل به مادر می ماند.
۱-۱۰) مراحل جوان یک (Juvenile I) و دو (Juvenile II). جوان دو که کاملاً شبیه والدین است و نیازی به دگردیسی ندارد از بدن والد جدا می شود.
اختصارات:
AN: Antenulae آنتن; AS: Abdominal Segments قطعات شکمی; At: Antennae آنتنول; CA: Cephalothoracic appendages زواید سر سینه ای; CC: Cephalothoracic carapace کاراپاس ناحیه سرسینه ای; E: Eye چشم; J I: Juvenile I جوان مرحله یک; J II: Juvenile II جوان مرحله دو; Na: Nauplius ناپلئوس; Om: Ommatidia اوماتیدی; P: Pigments رنگدانه ها; Te: Telson تلسون; Ym: Yolk mass توده زرده .

نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه، داخل آکواریومهای کوچک در آب دریای خزر قرار داده شده و هوادهی شدند. فتوپریود 14L:8D اعمال گردید. در طول مطالعه، نمونه ها با گاماروس (صید شده از ساحل خزر) و سپس با غذای دستی ماهی تغذیه شدند. هر هفته ۳ بار و هر بار ده تخم از هر ماده حامل تخم این سه گونه نمونه گیری شد. مطالعات میکروسکوپیک و عکس برداری در آزمایشگاه هیستولوژی و مطالعات میکروسکوپیک دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس با استفاده از میکروسکوپ نوری اینورت المپوس، مجهز به دوربین ۸ مگاپیکسل المپوس E330 و لوپ کاسل، مجهز به دوربین DLC 300L صورت گرفت. پس از پدیدار شدن چشمها، شاخص چشمی Eye index به کمک روش ابداع شده توسط Perkins (1972) (۱۵) محاسبه گردید. مراحل مختلف رشد جنینی را می توان به کمک اندازه رنگدانه چشم (Pigment) یا شاخص چشمی Eye Index شناسایی کرد. در این روش حداکثر طول و عرض بخش پیگمانته هر چشم اندازه گرفته می شود؛ یک دوم حاصل جمع ایندو مقدار، میزان شاخص چشمی را مشخص می سازد. (شکل های A, B, C).

نتایج

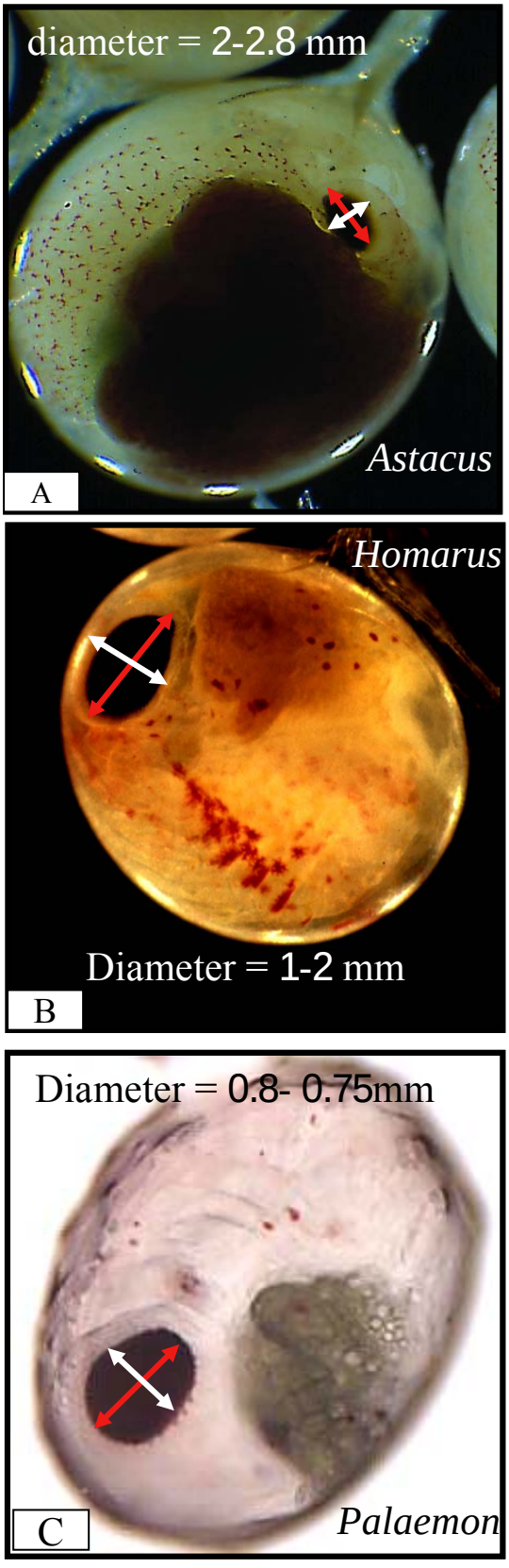
قطر تخمهای *Astacus leptodactylus* بین ۲/٦۸ mm– ۲/۲۱ است که در زمان تفریخ ۱۵ درصد به آن افزوده می شود. تخمهای لقاح نیافته دارای یک ساک زرده ای روشن با رنگ نارنجی – سفید هستند در حالی که تخمهای لقاح یافته تیره اند و ویتلوس (زرده) زیادی دارند. تخم به شکل کروی است (شکل۱-۲).

مراحل رشد جنینی در *A. leptodactylus* را می توان به ترتیب زیر بیان نمود:

مرحله اول: تخمها رشد و نمو نیافته اند. این مرحله سلول سلول شدن یا بلاستولا است تخمها به رنگ قهوه ای تیره اند و هیچ اثری از جنین دیده نمی شود. یک لکه سفید نیز روی تخم دیده می شود. مرحله دوم: لکه سفید به فرم یک دیسک روی تخم دیده می شود و رنگ تخم هنوز قهوه ای تیره است. مرحله سوم: مرحله ای است که ناپلئوس ظاهر می شود. این مرحله را مرحله ناپلی هم می نامند که مشخصه اش ظهور یک جنین سفید و روشن است که کاملاً رشد نیافته، روی ویتلوس که هنوز قهوه ای تیره است کشیده شده است (شکل ۱-۳). مرحله چهارم: تخم به دو قسمت تقسیم می شود. بخش قهوه ای روشن که زرده است و قسمت سفید که جنین است . معمولاً جنین، بخش زیادی از کیسه را پر می کند. در واقع این مرحله، مرحله آغازین شکل گیری متاناپلئوس است. در این مرحله شاخص چشمی (EYE INDEX) EI= ٦۰-۸۰ میکرومتر است و چشم به صورت کشیده و کمرنگ دیده می شود. ضربان قلب برای اولین بار در این مرحله آغاز می شود. مرحله پنجم و بعد: تخم سفید تا قهوه ای روشن است جنین پیگمانته شده و به رنگ نارنجی متمایل است. کروماتوفورها ظاهر شده اند (شکل ۱-٦).

www.SID.ir

Archive of SID



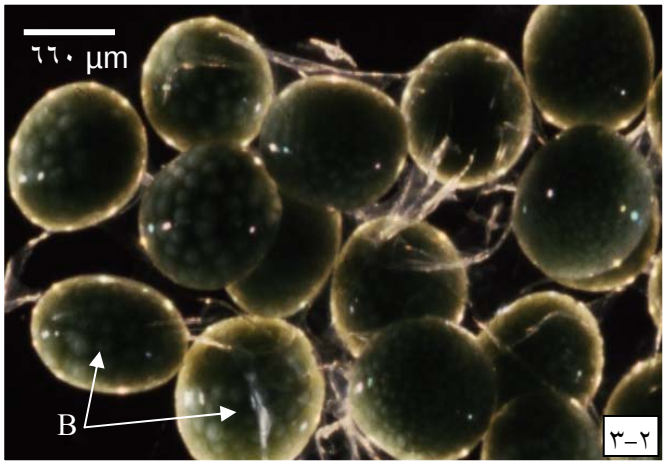
مقدار کمی زرده در سفالوتوراکس مانده و در این مرحله چشمها با دو لکه کاملاً سیاه و تقریباً گرد دیده می شوند (شکل ۱-٦) در مرحله پنجم، جنین کامل شده و از این به بعد بیشترین تغییرات ظاهری است. وقتی اندازه شاخص چشمی به ٤۳۰ میکرون رسید، تفریخ اتفاق می افتد (شکل ۱-۷). باز شدن تخم معمولاً از قسمت پشتی تنه جنین صورت می گیرد. با پاره شدن پوشش تخم، جنین بیرون می آید (شکل ۱-۸). آستاکوس مرحله لارو آزاد ندارد و بدون دگردیسی، نوزادها پس از تفریخ همچنان دو تا سه روز متصل به مادر باقی مانده و بعد از اولین پوست اندازی آزاد می شوند (شکل ۱-۹). رها شدن آنها با باز کردن ناحیه شکمی و تکان دادن آن امکان پذیر است. در واقع در آستاکوس، نوزادهای متولد شده آزاد، جوانهای II می باشند که مانند مینیاتور کوچکی از والدین و کاملاً شبیه آنها بوده و نیازی به دگردیسی ندارند (شکل ۱-۱۰). این رفتار را رشد و نمو مستقیم می نامند.

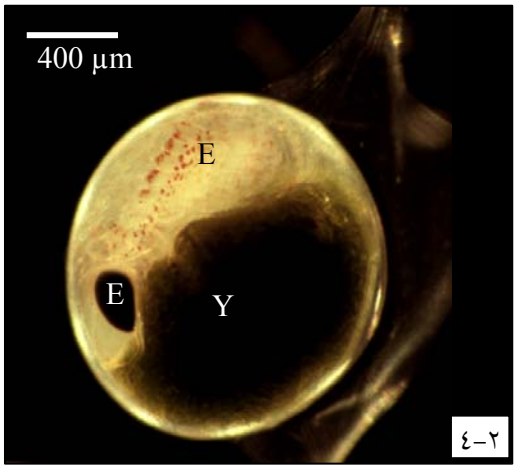
اندازه تخم *H. gammarus* از آستاکوس کوچکتر، قطر آن حدود ۱/۵-۱ سانتیمتر و به شکل گرد است (شکل ۲-۲). تخمهای رسیده لقاح نیافته *H. gammarus* دو توده ویتلوس دارند که یکی از دیگری بزرگ تر و گرانوله تر است. این دو توسط یک شکاف از هم جدا می شوند. اولین شاخص چشمی ۱۵۰ میکرون است و تفریخ در شاخص چشمی ٦٤۰ میکرون انجام شده (شکل ۲-٦) و پیش لارو آزاد، رها می شود (شکل ۲-٦). پیش لارو آزاد شده به سرعت پوست اندازی نموده تبدیل به لارو I می گردد (شکل ۲-۷). لارو I با یک بار پوست اندازی به لارو II و لارو II نیز با یک بار پوست اندازی به لارو III تبدیل می گردد (شکل ۲-۷). تا این مرحله لارو با والدین تفاوتهای مورفولوژیک دارد که با یک دگردیسی در این مرحله به پست لارو تبدیل می گردد (شکل ۲-۷).

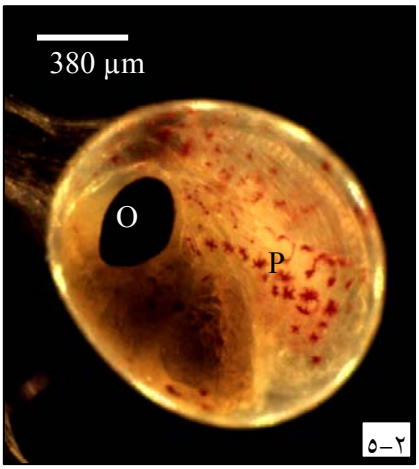
الگوی جنین زایی تخم *P. elegans* را می توان به سه مرحله کلی مورفولوژیک تقسیم نمود:

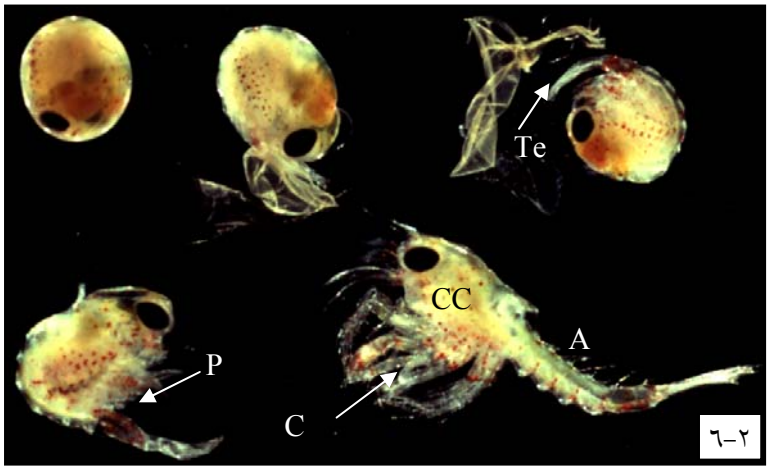
www.SID.ir

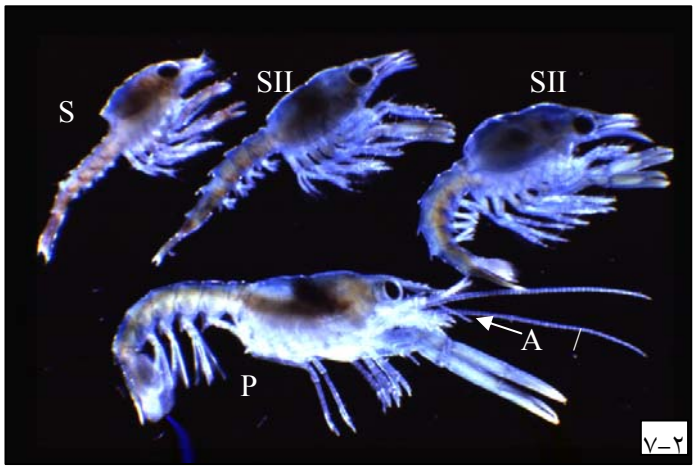
Archive of SID











www.SID.ir

Archive of SID

شکل۲- مراحل مختلف رشد و نموی در لابستر *Homarus gammarus*. ۲-۱) ماده بالغ به طول ۳۰- ۲۵ سانتی متر و متوسط وزن ۲- ۱ کیلوگرم. ۲-۲) ناحیه شکمی ماده حامل تخم. متوسط تعداد تخم بین ۵۰۰۰ تا ۱۷۰۰۰ عدد می باشد. تخم ها کروی بوده و حدود ۱/۵-۱ سانتی متر قطر دارند. ۲-۳) مرحله ابتدایی رشد و نمو، تسهیم. بلاستومرها در روی تخم قابل رویت است. ۲-٤) مرحله پست ناپلئوسی با شاخص چشمی۳۲۰ میکرون. رنگدانه ها در روی جنین دیده می شوند. ۲-۵) مرحله پست ناپلئوس میانی- انتهایی با شاخص چشمی۵۲۰ میکرون. رنگدانه ها با وضوح بیشتری در روی جنین دیده می شوند. ۲-٦) گوشه سمت چپ بالای تصویر مرحله پست ناپلئوس انتهایی که جنین آن با شاخص چشمی ٦٤۰ میکرون آماده تفریخ می‌باشد را نشان می‌دهد. در قسمت راست بالا جنین در حال تفریخ می‌باشد. در سمت چپ پایینpre-larvae پس از تفریخ نشان داده شده است. ۲-۷) در بالا از چپ به راست به ترتیب مراحل لارو I (SI) که با پوست اندازی به لارو II (S II) تبدیل می شود و لارو II نیز که با یک بار پوست اندازی به لارو III (S III) تبدیل می گردد، دیده می شود. در قسمت پایین تصویر Post larvae پس از متامورفوز دیده می شود. اختصارات:
AN: Antenulesآنتن ; AS: Abdominal Segments ;قطعات شکمی At: Antennae ;آنتنول B: Blastomers ;بلاستومرها CA: Cephalothoracic ; appendagesزواید سر سینه ای CC: Cephalothoracic carapace ;کاراپاس ناحیه سرسینه ایE: Eye ;چشم EM: Embryo ;جنین Om: Ommatidia ; اوماتیدی; P: Pigmentsرنگدانه ها PL: Post larvae ;پست لارو Pr: Prelarvae ;پیش لارو SI: Juvenile stage I ;جوان مرحله یک SII: Juvenile stage II جوان مرحله دو SIII: Juvenile stage III ;جوان مرحله سه Te: Telson ;تلسونYm: Yolk mass ;توده زرده .

پیش ناپلئوسی: ابتدای این مرحله، مرحله تخم ریزی است. توده تخمها متصل به سطح شکمی بدن ماده در بین پاهای شکمی نگهداری می شوند (شکل ۳-۲). تخمها به شکل کروی تا بیضوی دیده می شوند. هیچ ساختار جنینی در روی سطح تخم مشاهده نمی شود. توده زرده کاملاً مشخص بوده و رنگ متمایل به سبز دارد. زرده به صورت گرانوله در کل سطح تخم پراکنده است. کوریون شفاف به غشای ویتلینی تخم متصل است. قطر بزرگ و کوچک تخم تقریباً ۰/٤۵۰ و۰/٤۰۰ میلی متر است (شکل ۳-۳). با وقوع تسهیم (Cleavage) بلاستومر ها در روی سطح تخم قابل رؤیت می شوند. بعضی از آنها در ناحیه ای از پیش تعیین شده همگرا شده و Germinal disc را که در ناحیه میانی یا در انتهای تخم قرار گرفته است می سازند.

ناپلئوسی: ناپلئوس جنینی Embryonized nauplius- در این مرحله فرآیند اندام زایی شدیدی مشاهده می شود که به طور مشخص مرزهای ساختار جنینی را مشخص نموده سبب تشکیل Embryonized nauplius می گردد. در ناحیه میانی جانبی، جوانه های سه جفت زواید ناپلئوسی(آنتن، آنتنول و ماندیبولها) تشکیل شده و در انتهای خلفی، پاپیلای دمی Caudal papilla کاملاً مشخص می شود (شکل ۳-٤).

پست ناپلئوسی: Post-nauplius ابتدایی - جنین در ناحیه سطحی در امتداد محور طولی رشد بیشتری می کند لبهای بینایی در قسمت سری جنین تشخیص داده می شوند و زواید ناپلئوسی دوشاخه شده، از سمت شکمی به سمت پاپیلای دمی کشیده شده اند. از منظر جانبی جنین تا حدی C شکل شده است. درست در زیر زواید ناپلئوسی احتمال مشاهده زواید پست ناپلئوسی (Post-naupliar) که به طور جانبی قرار گرفته اند وجود دارد (شکل ۳-۵).

Post-nauplius میانی- تغییر اساسی این مرحله تشکیل جوانه های چشم در ناحیه انتهایی لبهای بینایی است. در ابتدا چشمها باریک و کشیده و سیاه رنگند و ناحیه سری را از سایر ساختارهای جنینی مشخص می کنند. اولین شاخص چشمی ثبت شده حدود ٤٤/۲ میکرون می باشد. قطر کوچک و بزرگ تخم به تقریباً ۰/۵۳۰ و ۰/٦۵٤ میلی متر می رسد. در این مرحله بدن کاملاً خم شده و پاپیلای دمی به لبهای بینایی می رسد. زواید ناپلئوسی که دارای ستا شده اند به سمت ناحیه خلفی رشد می کنند (شکل ۳-٦).

Post-nauplius انتهایی- در این مرحله، چشمها بزرگتر، بیضوی تر و پر رنگتر شده اند. قرار گرفتن چشم ها روی تخم به صورت متقارن است. به دلیل شفافیت تخم در ناحیه حضور جنین، قطعات شکمی (Abdominal

www.SID.ir

Archive of SID

segments) به راحتی دیده می شوند. تلسون به خاطر خمیده شدن جنین با لبهای چشمی هم پوشانی پیدا می کند و روی سر جنین قرار می گیرد. توده زرده هم به دلیل مصرف آن و هم به دلیل رشد و نمو ساختارهای جنینی کمتر شده است. رنگدانه های ریز و پراکنده به رنگ قرمز تیره روی سطح تخم دیده می شود. شاخص چشمی از حدود ۸۱/۲ تا ۱۳۰ میکرون افزایش می یابد (شکل ۳–۷ و ۳–۸).

جنین پیش از تفریخ Pre-hatching embryo– تغییر چشمگیری در مورفولوژی خارجی جنین دیده نمی شود. چشمها بزرگتر و گردتر شده اند و بینایی اوماتیدی (ommatidia) را میسر می سازند. در بخش سفالوتوراکس، آنتن، آنتنول و ماندیبول رشد بیشتری نموده اند. ناحیه شکمی پنج بخشی شده که آخرینشان از بقیه طویل تر است. شفافیت کاراپاس سفالوتوراکس cephalothoracic) (carapaceبه تشخیص گرانولهای زرده درون بخش میانی دستگاه گوارش کمک می کند. شاخص چشمی از ۱٤۰/۵ میکرون به ۱۵٦ در تفریخ افزایش می یابد (شکل ۳–۹). قطر بزرگ و کوچک تخم تقریبا به ۰/۹۷۸ و ۰/٦۲۲ میلی متر در زمان تفریخ افزایش می یابد. نزدیک به تفریخ کوریون از سطح جنین جدا شده و اجازه تحرک بیشتری به جنین می دهد (شکل ۳–۱۰ تا ۳–۱۲).

بحث

اگر چه سخت پوستان مورد مطالعه همه از ده پایان بودند اما به دلیل اختلافات موجود در اندازه و خصوصاً در محیط زیست ، تفاوتهای مشخصی در بیولوژی تولید مثل خود نشان می دهند.

نر و ماده های *A. leptodactylus* معمولاً در ۲ تا ۳ سالگی و با اندازه ۷۵ میلی متری به بلوغ می رسد. اندازه تخم *A. leptodactylus* بین۳/۳ mm تا ۲/۲ متغیر است (۱۸). در مورد *A. astacus* قطر تخم بین ۳/۵ mm تا ۲/۵ گزارش شده است (۱٦). در *Orconectes rusticus* اندازه تخم به ۲/٤ میلی متر می رسد. تعداد تخمهای *A. leptodactylus* با توجه به اندازه والد به طور متوسط بین٤۰۰–۲۰۰ و حداکثر۸۰۰–۷۰۰ عدد و در ایران با توجه به اندازه والد حدوداً بین ۱۰۰ تا ٤۵۰ و به طور متوسط ۱۵۰گزارش شده است. *Procomborus* هم آوری بین ٦۰۰– ۳۰۰ تخم دارد که تا ۷۰۰ هم گزارش شده است. *A. pachypus* بین ۳۰ تا ۵۰ تخم و *A. astacus* بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ تخم تولید می کند (۱۸). ۵ تا ۱۰ روز پس از پایان مرحله جنینی، آستاکوس جوان I به صورت آویزان به ناحیه شکمی بدن مادر متصل است، تغذیه خارجی ندارد و هنوز از زرده موجود در سفالوتوراکس تغذیه می کند (شکل ۱–۸). به عبارتی تغذیه lecithotrophy دارد؛ بی تحرک است و کاراپاسی نرم و قابل انعطاف دارد. در این مرحله همه زواید به جز یوروپود و اولین جفت پلئوپودها ظاهر شده اند (شکل ۱–۹). هر چند معمولاً با گذشت دو تا سه روز از تفریخ، جوان می تواند از والد جدا شود؛ این مرحله در گونه های مختلف می تواند بین ۷ تا ۱٤ روز به طول انجامد (۱٦). ورود از مرحله جوان I به مرحله بعدی با یک پوست اندازی آغاز می شود. مرحله جوان I و II اختلافات مورفولوژیک کمی نسبت به افراد بالغ دارند (شکل ۱–۱۰). مرحله جوان II به مادر متصل است اما می تواند جدا هم شود. در اواخر این مرحله اغلب جوانها شروع به آزاد شدن می کنند. با جذب تدریجی زرده در اواخر این مرحله تغذیه خارجی شروع می شود. یوروپود هنوز وجود ندارد (شکل ۱–۱۰). یوروپود در مرحله III پدیدار می شود، قلابهای cheliped جوان III کوچکند، از این مرحله به بعد جوان زندگی آزاد داشته و کاملاً به والد شبیه می شود. قطر چشمها در طی مرحله جنینی از شاخص چشمی ۱۰۰ تا ٤۳۰ میکرون رشد می یابد. با توجه به سرعت و زمان بندی مراحل رشد و نمو جنینی مشاهده می شود که در مورد آستاکوس همانند دیگر گونه های مورد مطالعه بیشترین رخدادهای تکمیل اندامهای

www.SID.ir

Archive of SID

جنینی در داخل تخم به مرحله متاناپلئوسی اختصاص دارد که طولانی ترین مرحله نیز در مقایسه با مراحل ابتدایی محسوب می شود. با توجه به این مساله که تفریخ در ٤۳۰ میکرون اتفاق می افتد می توان گفت که در شاخص چشمی تقریبی ۲۲۰ میکرون نیمی از مراحل جنینی طی شده است و در شاخص چشمی ۲۹۰ دو سوم مراحل جنینی و در شاخص چشمی ۳۵۰ چهار پنجم مراحل جنینی طی شده است که این مساله با مشاهدات ما تطبیق دارد.

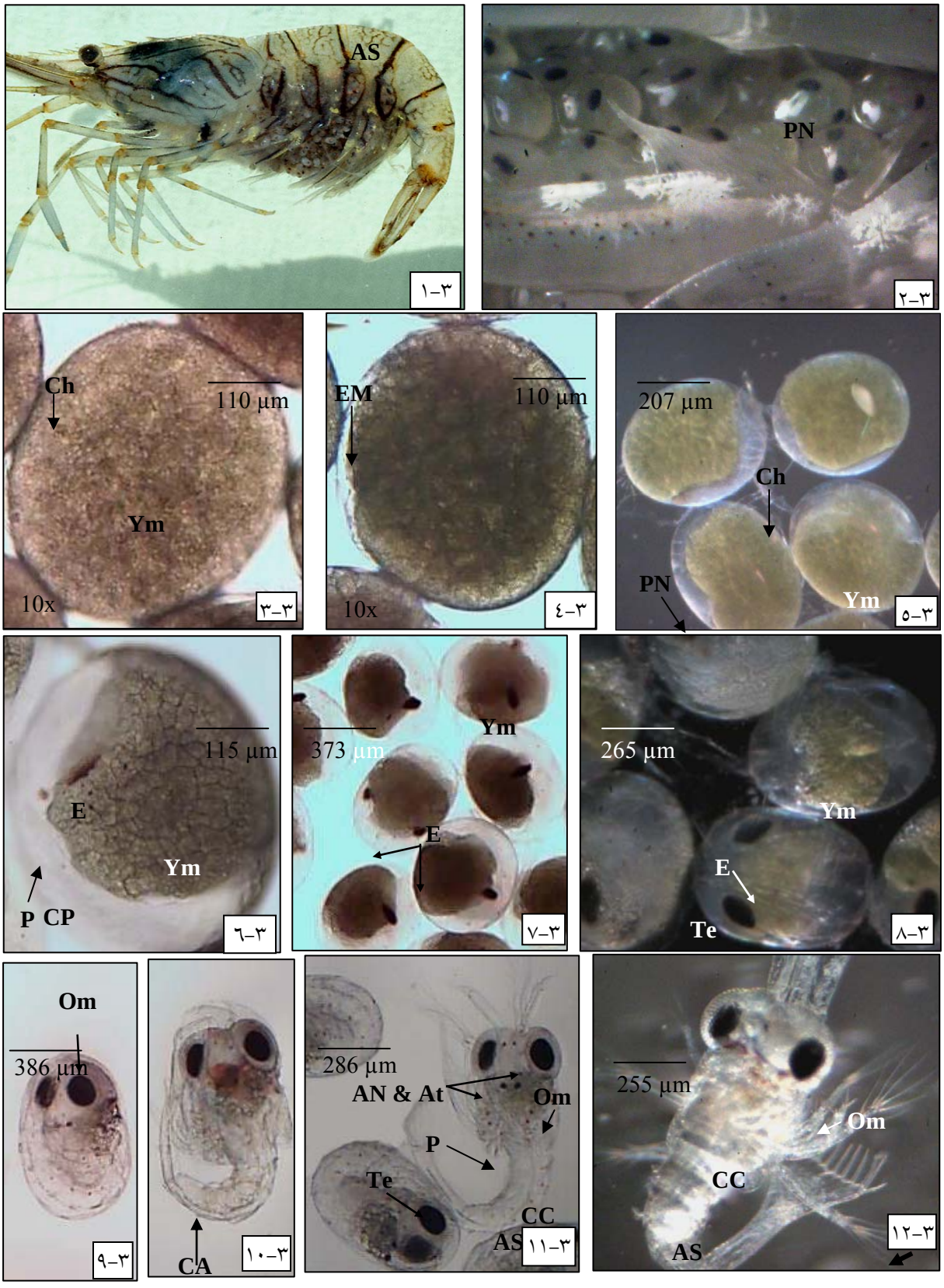
اندازه تخم *H. gammarus* از آستاکوس کوچکتر، قطر آن حدود ۱/۵-۱ سانتیمتر و کروی است. متوسط تعداد تخم *H. gammarus* بین ۵۰۰۰ تا ۱۷۰۰۰ عدد می باشد. اولین شاخص چشمی ثبت شده برای *H. gammarus* EI =۱۵۰ میکرون بود و تفریخ آن در شاخص چشمی٦٤۰ میکرون انجام گرفت. در مورد این گونه نیز همانند آستاکوس در شاخص چشمی ۳۲۰ میکرون نیمی از مراحل رشد جنینی طی شده است (شکل ۲-٤). در شاخص چشمی ٤۳۰ دو سوم و در۵۲۰ میکرون چهار پنجم رشد جنینی طی شده است. تقسیم بندی حاضر بر اساس شاخص چشمی با مشاهدات قبلی از مراحل رشد و نموی جنین *H. gammarus* مطابقت دارد (۵ و ۲۰). در سخت پوستان دارای تخمهای پرزرده مدت زمانهای متفاوتی برای رشد و نمو از تخم ریزی تا لقاح دیده می شود. مثل ٤۰ روز در مورد *Cherax destructor* (۱۷) و ۱۸۰ روز برای *Homarus americanus* (۷). دوره انکوباسیون از فاکتورهای داخلی رشد و نموی، فاکتورهای خارجی همچون دما، اندازه تخم و میزان زرده متأثر است (۱٤). اولین شاخص چشمی ثبت شده برای *H. americanus* ۸٦ می باشد. تفریخ در شاخص چشمی ۵۷۰ انجام می شود (۲۰). موجودی که سرانجام در زمان تفریخ از کیسه تخم آزاد می شود پیش لارو Prelarva نامیده می شود که بلافاصله پس از تفریخ، پوست اندازی نموده و مرحله لاروی I را آغاز می کند. این مرحله با حضور exopodites روی pereiopods که برای شنا استفاده می شوند و نبود پلئوپودهای شکمی و یوروپود مشخص می شود. تلسون ساده و چنگالی شکل است. مرحله II لاروی شبیه مرحله اول است با این تفاوت که پنج قطعه شکمی دارای جوانه های پلئوپود شده اند. در مرحله III، پلئوپودها دارای ستا می شوند. یوروپود که تازه تشکیل شده و تلسون یک Fan دمی پهن را می سازند. پوست اندازی لارو مرحله III و تبدیل آن به پست لارو مرحله IV معرف رخداد متامورفوز در این گونه است. لابستر اروپایی *H. gammarus* در بسیاری از جهات زیستی خصوصاً در مراحل رشد جنینی با لابستر امریکایی *H. americanus* شباهت دارد (۵).

ماده های تخم گذار *P. elegans* از فوریه تا سپتامبر (بهمن تا شهریور) یافت می شوند (۱۲). طول متوسط *P. elegans* از سواحل ترکیه ٤/۳ گزارش شده است که متوسط هم آوری ۸۸ ± ۱۰۵۷ دارد. اندازه تخم آن در طی رشد و نمو جنینی تا ۳۰ درصد افزایش نشان داده است. در مورد *P. adespersus* هم آوری متوسط ۱۹٦۳ عدد با طول کل متوسط ماده ۵/۹ سانتیمتر گزارش شده است. در مقایسه با دیگر اعضاء پالمونیده ها *P. elengans* تخمهایی با حجم کوچکتر بین mm^3 ۰/۰۵۳ تا ۰/۰۳۹ (۳و٤) یا حدود (۱۲) mm3 ۰/۰۰۷± ۰/۰۹ دارد. حجم تخم *P. intermedius* معادل mm^3 ۰/۲۹٤ و *C. crangon* mm^3 ۰/۱۷۵ تا ۰/۱۱۸ می باشد. مطالعه Müller و همکاران (۲۰۰٤) هم نشان داده اندازه تخم گونه های Palaemonids اصولاً در محور طولی در طی رشد و نمو جنینی افزایش بیشتری می یابد که این تغییر در اندازه تخم در مورد بیشتر گونه های Malacostraca همچون *Eriocheir japonicus* ازBrachyuran (۱۱) و *M. olfersi* Prawn (۱۳) گزارش شده است. برای *P. elegans* بسته به شرایط شوری و دما بین ۷ تا ۹ مرحله zoeal گزارش شده است (٦). خصوصیات مراحل رشد و نمو جنینی اعضاء Palaemonids از الگوی جنین زایی کلی که برای گونه های دارای تخمهای Centrolecithal، همچون گونه های

www.SID.ir

Archive of SID

Palaemonetes varians و *Macrobrachium carcinus* تعیین شده پیروی می کند (١٤).



www.SID.ir

Archive of SID

شکل۳- مراحل مختلف رشد و نموی در میگوی دریای خزر *Palaemon elegans* ۳-۱) ماده تخم دار. تخمها در بین پاهای شکمی ماده نگه داری می شود. ۳-۲) نمای نزدیک از تخمهای قرار گرفته بین پاهای شکمی ماده. ۳-۳) مرحله پیش ناپلئوسی؛ قطر بزرگ ۰/٤٥ mm و قطر کوچک ۰/٤ میکرون. ۳-٤) مرحله ناپلئوس جنینی؛ قطر بزرگ ۰/٦ mm و قطر کوچک ۰/۵ میکرون. ۳-۵) مرحله پست ناپلئوس ابتدایی. ۳-٦) مرحله پست ناپلئوس ابتدایی با قطر بزرگ ۰/٦۵ mm و قطر کوچک ۰/۵۳ میکرون. با ظهور چشمان رنگدانه دار، اولین شاخص چشمی ثبت شده معادل ٤٤/۲ میکرون می باشد . ۳-۷) مرحله پست ناپلئوس میانی با قطر بزرگ ۰/۷۸ mm و قطر کوچک ۰/۵۹ میکرون. شاخص چشمی نمونه نشان داده شده ۸۱/۹ میکرون می باشد. ۳-۸) مرحله پست ناپلئوس انتهایی با قطر بزرگ ۰/۹۷ mm و قطر کوچک ۰/٦۰ میکرون. شاخص چشمی نمونه نشان داده شده ۱٤۰/۵ میکرون است. ۳-۹ و۳-۱۰) مرحله پیش از تفریخ جنین به قطر بزرگ ۰/۹۷۸ mm و قطر کوچک ۰/٦۲۲ میکرون. شاخص چشمی در زمان تفریخ ۱۵٦ میکرون می باشد. ۳-۱۱) لارو تازه تفریخ شده در کنار پست ناپلئوس های در حال تفریخ ۳-۱۲) لارو I که بیشتر ذخیره زرده ای آن جذب شده است. خارهای انتهایی تلسون که با پیکان نشان داده شده، در شناسایی مرحله لاروی اهمیت دارند. اختصارات:

AN: Antenulae آنتن ; AS: Abdominal Segments قطعات شکمی ; At: Antennae آنتنول ; CA: Cephalothoracic appendages زواید سر سینه ای ; CC: Cephalothoracic carapace کاراپاس ناحیه سرسینه ای ; Ch: Chorion کوریون ; CP:Caudal papilla پاپیلای دمی ; E: Eye چشم ; EM: Embrion جنین ; OL: Optical lobe لب بینایی ; Om: Ommatidia اوماتیدی ; P: Pigments رنگدانه ها ; PN: Post napleus پست ناپلئوس ; Te: Telson تلسون ; Ym: Yolk mass توده زرده.

وجود زرده در دستگاه گوارش لارو تازه تفریخ شده *P. elegans* با مشاهدات Müller و همکاران (۲۰۰٤) بر روی لارو های تازه تفریخ یافته چهار گونه از اعضاء خانواده Palaemonidae مطابقت دارد. از آنجا که لاروها به میزان زیادی به ذخیره چربی درونی وابسته اند، بی نیازی لارو از منابع انرژی خارجی، نوعی سازگاری در اوایل زندگی گونه تفسیر می شود (۲۱). در *P. elegans* اولین شاخص چشمی به دست آمده ٤٤/۲ میکرون است و تفریخ در ۱۵٦ میکرون رخ می دهد. در شاخص چشمی ۸۰ تقریباً نیمی از مراحل رشد جنینی طی شده است. در حدود ۱۰۵ میکرون دو سوم رشد جنینی و در ۱۲۵ چهار پنجم رشد جنینی طی شده است. در حدود ۱۳٦ میکرون یک هشتم رشد جنینی طی شده است.

مشکل بودن بررسی مراحل رشد و نمو جنینی ده پایان دارای ناپلئوس-جنین و ضرورت شناخت این مراحل در زمینه های تحقیقی دیگر همچون بررسی ترکیبات بدنی یا بررسی توانایی تنظیم اسمزی هر مرحله، ایجاد روشهای ساده و قابل تکرار برای تقسیم بندی مراحل رشد و نمو جنینی را می طلبد. مطالعه ما بر روی سه گونه از دکاپودا از محیطهای زیست مختلف آب شیرین، لب شور، شور و با چرخه زندگی مختص خود نشان داد استفاده از شاخص چشمی راه ساده ای برای تقسیم بندی مراحل رشد و نمو جنینی این دسته از موجودات محسوب می شود. به کمک این روش می توان مراحل رشد و نموی را به سادگی دسته بندی نموده و با اندازه گیری شاخص چشمی میزان رشد جنین در مرحله مورد بررسی را تعیین نمود.

منابع

۱- بیرشتین یا. آ. و دیگران؛ ۱۳۷۹اطلس بی مهرگان دریای خزر؛ ترجمه: دلیناد ل. و نظری ف. ، ویراستار: حبیبیان س. – [بی جا]: موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین المللی. ٦۱۰ص.

2- Anderson, D.T. 1982. Embryology. p. 1-41. *In*: L.G. Abele (Ed.). Embryology, morphology and genetics**.** New York, Academic Press, XIX+495p.

3- Berglund, A. and J. Bengtsson. 1981. Biotic and abiotic factors determining the distribution of two prawn species: *Palaemon adspersus* and *P. squilla***.** Oecologia. 3 (49): 300-304

4- Bilgin, S. and O. Samsun. 2006. Fecundity and Egg Size of Three Shrimp Species, *Crangon crangon, Palaemon adspersus*, and *Palaemon elegans* (Crustacea: Decapoda: Caridea), off Sinop Peninsula (Turkey) in the Black Sea. Turk. J. Zool. 30.

5- Factor J.R. 1995. Biology of the lobster *Homarus gammarus*. Academic Press. Inc.

www.SID.ir

Archive of SID

6- Fincham, A. and D. Williamson. 1978. Crustacea decapoda: larvae. VI. Caridea, families Palaemonidae and Processidae. Fiches Identif. Zooplanct. 159/160:1–8.

7- Helluy, S.M. and B.S. Beltz. 1991. Embryonic development of the american lobster, *Homarus americanus*: quantitative staging and characterization of an embryonic molt cycle. Biological Bulletin, Woods Hole. 180: 355-371.

8- Herring, P.J. 1974. Size, density and lipid content of some decapod eggs. Deep-Sea Res. 21: 91-94.

9- Khodabandeh, S., G. Charmantier and M. Charmantier-Daures. 2005. Immunolocalization of Na^+,K^+-ATPase in various tissues during the embryonic and post-embryonic development of the lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). J. Crust. Biol. (in press).

10- Khodabandeh, S., G. Charmantier, C. Blasco, E. Grousset and M. Charmantier-Daures. 2005. Ontogeny of the antenal gland in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): anatomical and cell differentiation. Cell Tissue Res. 319: 153-165.

11- Kobayashi, S. and S. Matsuura. 1995. Egg development and variation of egg size in the japanese mitten crab *Eriocheir japonicus* (De Haan). Benthos Research, Kumamoto, 48: 29-39.

12- Morais S., L. Narciso, R. Calado, M. L. Nunes and R. Rosa. 2002. Lipid dynamics during the embryonic development of *Plesionika martia martia* (Decapoda; Pandalidae), *Palaemon serratus* and *P. elegans* (Decapoda; Palaemonidae): relation to metabolic consumption. Mar. Ecol. Prog. Ser. 242: 195–204,

13- Mossolin, E.C. and S.L.S. Bueno. 2002. Reproductive biology of *Macrobrachium olfersi* (Decapoda, Palaemonidae) in Sao Sebastiao, Brazil. Journal of Crustacean Biology, Woods Hole, 22 (2): 367-376.

14- Muller, Y. D. Ammar and E. Nazari. 2004. Embryonic development of four species of palaemonid prawns (Crustacea, Decapoda): pre-naupliar, naupliar and post-naupliar periods. Rev. Bras. Zool. 1(21).

15- Perkins, HC. 1972. Developmental rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*Homarus americanus* Milne-Edwards). Fish Bull. 70:95–99

16- Reynolds J.D. 2002. Growth and reproduction (In Biology of freshwater Crayfish Ed: Holdich D.M .2002. blackwell Science Ltd.UK).

17- Sandeman, R. and D. Sandeman. 1991. Stages in the development of the embryo of the fresh-water crayfish *Cherax destructor*. Roux's Archives of Development Biology, Berlin. 200: 27-37.

18- Skurdal J. and T. Taugbol. 2002. *Astacus* (In Biology of freshwater Crayfish Ed: Holdich D.M .2002. blackwell Science Ltd.UK)

19- Susanto, G. N. and G. Charmantier. 2001. Crayfish freshwater adaptation starts in eggs: Ontogeny of osmoregulation in embryos of *Astacus leptodactylus*. J. Exp. Zool. 289:433–440.

20- Talbot, P. and S. Helluy. 1995. Reproduction and Embryonic Development, In: "Biology of the Lobster", *Homarus americanus* (ed J. Factor). Academic Press, pp. 177-216.

21- Wehrtmann, I.S. and M. Graeve. 1998. Lipid composition and utilization in developing eggs of two tropical marine caridean shrimps (Decapoda: Caridea: Alpheidea, Palaemonidae). Comp. Biochem. Physiol. B. 112:457-463

www.SID.ir

Archive of SID

Identify of embryonic developmental stages by Eye Index (EI) usage in decapods: *Palaemon elegans, Homarus gammarus, Astacus leptodactylus*

Taghizadeh Z. and Khodabandeh S.

Marine Biology Dept., Faculty of Natural Resource and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. of IRAN

Abstract

The most important order of crustacean is decapoda. They have several larval stages which the youngest of them named nauplius. The naupliar development in some of the species of decapods occurs in the embryon and free larvae hatches. Because of the embryonized nauplius, identification of the embryonic developmental stages has been difficult yet and new methods are required to compartment. In this study, we examined using of the Eye Index to identify the embryonic developmental stages of the three species of decapoda i.e. *Palaemon elegans, Homarus gammarus* and *Astacus leptodactylus* which have different life histories and inhabit in brackish water, marine and fresh water, respectively. Eye index determines by the method which was innovated by Perkins (1972). Hatching eye index is 156 µm for *P. elegans*, 430 µm for *A. leptodactylus* and 640 µm for *H. gammarus*. The results show that eye index can be used for the determination of the embryonic developmental stages as a simple method. When the eye index receives to the half part of the hatching EI, half part of the developmental process passed. When the EI reaches to the one third of the hatching eye index, one third of the embryonic development passed. Eclosion occurs in the maximum embryonic eye index. So we propose to use the eye index as a useful and easy method to distinguish the successive developmental stages of the embryonized nauplius.

Keywords: *Astacus leptodactylus*, Eye index, *Homarus gammarus,* nauplius, *Palaemon elegans*.

www.SID.ir