

تعیین زمان بلوغ جنسی گونه *Neogobius melanostomus* از خانواده گاوماهیان در تالاب گمیشان

شبمن چاوشی^{۱*}، اصغر عبدلی^۱، کاظم پریور^۲ و رحمان پاتیمار^۳

^۱ تهران، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده علوم محیطی

^۲ تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی

^۳کنبد، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده منابع طبیعی

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۸

چکیده

روند تولید مثلی گونه *Neogobius melanostomus* در طی دوره یکسال (آبان ۱۳۸۵ - مهر ۱۳۸۶) در تالاب گمیشان مورد بررسی قرار گرفت. از تخمدان ماهیان ماده بالغ نمونه برداری صورت گرفت. نمونه های تخمدان در محلول فرمالین بافر فسفات تثبیت شدند و سپس با استفاده از روش پارافینه کردن و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین از آنها مقاطع بافتی تهیه شد. در این مرحله تعداد ائوسیت های تمایز نیافته، ائوسیت مرحله پیش زرده ای، ائوسیت مرحله زرده سازی، ائوسیت مرحله پس زرده ای و تخمک گذاری نهایی بررسی و شمارش شد. قطر تخمدان، تعداد هستک، هسته و قطر هستک و هسته همگی اندازه گیری گردید. سپس با کمک برنامه آنالیز آماری Systat مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده گردید: در گونه *melanostomum* *Neogobius* با توجه به $P < 0.05$ تغییرات معنی دار: ائوسیت پیش زرده سازی، ائوسیت مرحله زرده سازی اولیه و ثانویه، قطر ائوسیت، قطر لایه کوریونی و با توجه به اندازه گیری GSI، اوج رسیدگی جنسی این گونه در تیر ماه می باشد.

واژه های کلیدی: ائوژنز، بلوغ جنسی، *Neogobius melanostomus*.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۲۲۳۳۴۰۰۹، پست الکترونیکی: shabnam_chavoshi@yahoo.com

مقدمه

کلی بررسیها نشان می دهد بسته به نوع ماهی در آنها لقاح داخلی و یا خارجی وجود دارد.

در این رابطه گونه *Neogobius melanostomus* از خانواده گاو ماهیان دریای خزر را مورد بررسی قرار داده شد.

این ماهی بیشتر در حوضه جنوبی دریای خزر پراکنده است (۳). این ماهی به عنوان ماده غذایی ماهیان اقتصادی محسوب می شوند و نزدیک به ۴۰ درصد از غذای فک دریای خزر و در نواحی جنوب شرقی دریای خزر بیش از ۵۰ درصد مواد غذایی فیل ماهی را گاوماهیان تشکیل می دهند (۳). نیکولسکی در سال ۱۹۷۰ با توجه به فراوانی

ماهیان آبهای شیرین حتی بدون در نظر گرفتن ماهیان آبهای لب شور دریای خزر بسیار متنوع و جالب توجه است. در آبهای داخلی ایران حدود ۱۴۰ گونه ماهی وجود دارد که هیچگاه به صورت جامع مورد بررسی قرار نگرفته اند، به طوری که خصوصیات زیست شناسی، بوم شناسی و پراکنش بسیاری از آنها نامشخص است. بیشترین مطالعات انجام گرفته مربوط به پژوهشگران کانادایی (Coad) و روسی (Berg) می باشد (۳).

از نظر چگونگی روند تولید مثلی ابهامات زیادی در خصوص نحوه عملکرد ماهیان وجود دارد ولی به طور

۲متر و چشمه ۵ میلی متر انجام پذیرفت. که با سرد شدن هوا در اواخر فصل پاییز به علت مهاجرت ماهی به مناطق عمیق دریا نمونه برداری میسر نگردید، اما با گرم شدن نسبی هوا در اسفند ماه و بازگشت مجدد ماهی به تالاب نمونه برداری از سر گرفته شد. خوشبختانه در اواخر فصل زمستان و در فصل بهار و تابستان که زمان زاد آوری است در هر دوره بین ۵۸ تا ۷۳ نمونه ماهی صید گردید که پس از صید، نمونه ها داخل محلول فرمالین بافر فسفات قرار داده می شد و به آزمایشگاه منتقل می گردید. در آزمایشگاه پس از اندازه گیری طول و وزن ماهی طی عمل تشریح، گناد از ماهی خارج گردیده و پس از وزن کردن گناد، مراحل تهیه برش بافت انجام می گرفت، پس از خارج نمودن گناد ماهی، مراحل مختلف آگیری، الکل زدایی و نفوذ پارافین انجام گرفته و نمونه ها جهت قالب گیری آماده می شدند. پس از قالب گیری با کمک دستگاه میکروتوم برشهایی با ضخامت ۰/۶ میکرون تهیه می شد و عملیات رنگ آمیزی با کمک روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین بر روی نمونه انجام می گرفت.

زیاد گاو ماهیان در شمال دریای خزر به رقابت غذایی افراد این خانواده با ماهیان ارزشمند تجاری همچون تاس ماهیان، اردک ماهیان و ماهی کلمه اشاره کرده است.

مطالعات محدودی در زمینه زمان رسیدگی جنسی گاو ماهیان دریای خزر صورت گرفته است و با توجه به اینکه گونه مورد مطالعه منبع مهم غذایی ماهیان تجاری می باشد لذا لزوم تعیین زمان بلوغ جنسی این خانواده احساس گردید، از آنجایی که معمولاً از رسم منحنی و اندازه گیری شاخص GSI (گنادو سوماتیک ایندکس) بر اساس وزن و طول ماهی استفاده می گردد و کمتر از روش بررسی برش بافتی استفاده می شود به همین دلیل و به منظور بالا رفتن دقت کار از این روش استفاده گردیده است.

مواد و روشها

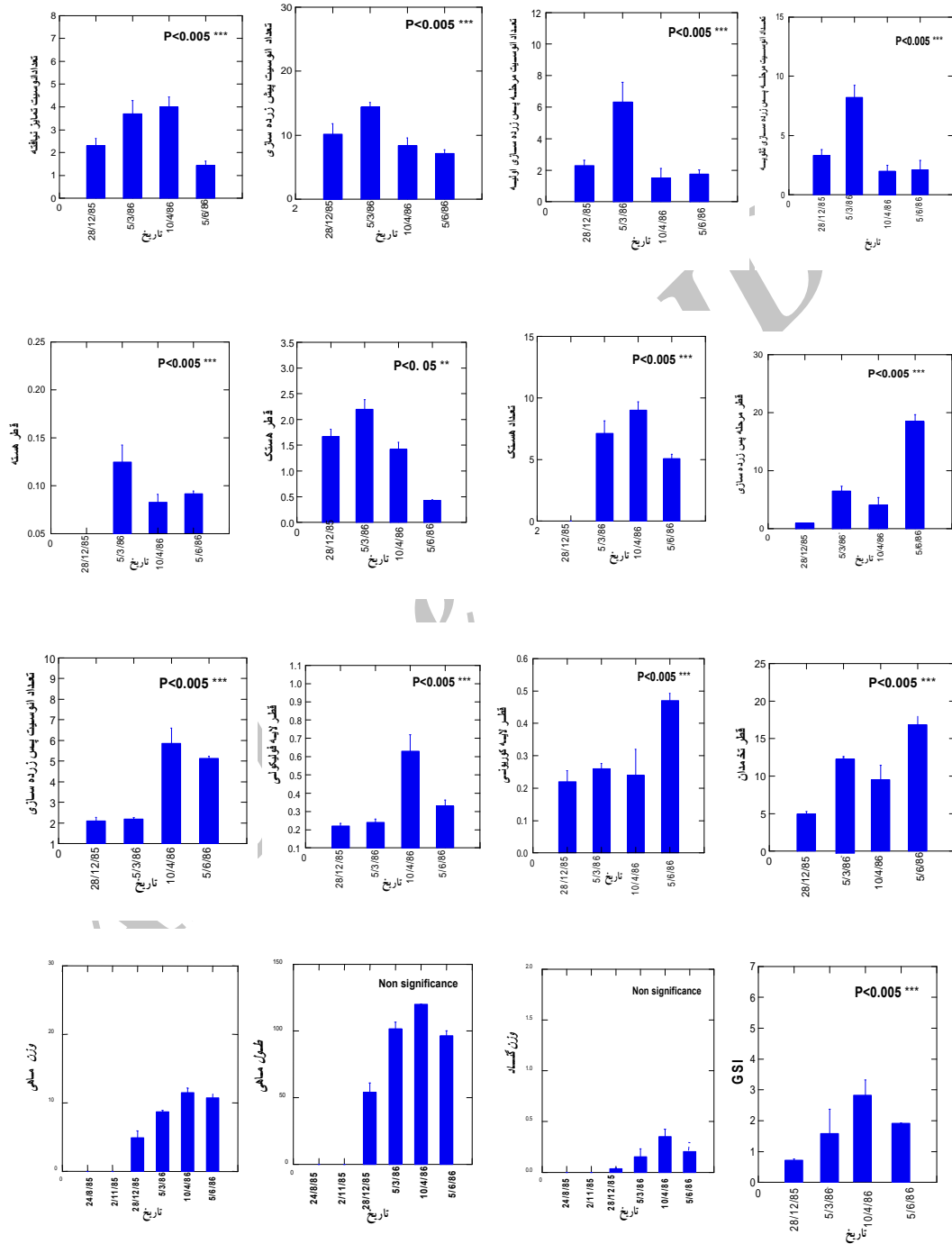
این تحقیق با هدف بررسی زمان رسیدگی جنسی گونه *Neogobius melanostomus* در مدت یکسال از آبان ماه سال ۱۳۸۵ تا مهر ماه ۱۳۸۶ در تالاب گمیشان واقع در ضلع جنوب شرقی دریای خزر صورت گرفت. در طی این مدت نمونه برداریها با کمک تور پره به طول ۲۰ متر ارتفاع

جدول الف - فاکتورهای بررسی شده با استفاده از آنالیز واریانس (Anova) جهت تعیین زمان رسیدگی جنسی گونه *N. melanostomus* در

تالاب گمیشان

صفات	۸۵/۱۲/۲۸ انحراف معیار ± میانگین	۸۶/۳/۵	۸۶/۴/۱۰	۸۶/۶/۵	P
اوسیت تمایز نیافته	۲.۳۳۳±۰.۹۴۹	۳.۷±۱.۷۶۷	۴ ± ۱.۳۳۳	۱.۴۴۴±۰.۵۲۷	۰.۰۰۰
اوسیت پیش زرده ای	۱۰.۲ ±۴.۸۹۴	۱۴.۴±۲.۲۷۱	۳.۴۷۱±۸.۴	۷.۲ ±۱.۶۸۷	۰.۰۰۰
اوسیت مرحله زرده سازی اولیه	۲.۳۰۰±۰.۹۴۹	۳.۵۳۶±۶.۳۳۳	۱.۵ ±۱	۰.۷۰۷±۱.۷۵	۰.۰۰۰
قطر هسته	۱.۶۷±۰.۴۴	۲.۲±۰.۵۶۲	۱.۴۲ ±۰.۴۲۱	۰.۰۴۸±۰.۴۳۰	۰.۰۰۰
قطر هستک	-	۰.۱۲۵ ±۰.۰۴۶	۰.۰۲۵ ±۰.۰۸۳	۰.۰۹۲±۰.۰۰۸	۰.۰۱۵
تعداد هستک	-	۷.۱۲۵ ±۲.۶۹۶	۹±۲.۱۹۸	۵.۱±۰.۹۹۴	۰.۰۰۱
اوسیت مرحله پس زرده سازی	۰ ±۱	۶.۵ ± ۲.۲۰۴	۴.۱ ±۳.۸۷۲	۱۸.۵±۳.۴۴	۰.۰۰۰
قطر اوسیت مرحله پس زرده	۲.۱±۰.۱۴۱	۲.۲ ±۰.۱۴۱	۲.۲۲۶ ±۵.۸۵	۵.۱۴±۰.۲۹۹	۰.۰۰۰
قطر لایه کوریونی	۰.۲۲۳ ±۰.۱	۰.۰۵۲±۰.۰۲۶	۰.۲۴ ± ۰.۲۳۹	۰.۴۷ ±۰.۰۶۷	۰.۰۰۱
قطر لایه فولیکولی	۰.۰۴۲±۰.۰۲۲	۰.۲۴ ±۰.۰۵۲	۰.۶۳ ± ۰.۲۷۱	۰.۰۹۵±۰.۳۳۰	۰.۰۰۰
قطر تخمدان	۱.۰۰۸±۴.۲۹	۱۲.۵۴۰ ±۰.۲۵۵	۹.۵۲±۵.۶۱۸	۳.۳۶۸±۱۶.۸۲۰	۰.۰۰۰

وزن ماهی	۴.۸۸۸±۳.۰۶۹	۸.۷۰۸±۰.۶۲۸	۱.۹۵۱ ± ۱۱.۴۹۶	۱۰.۷۳ ± ۱.۶۵۵	-
طول ماهی	۱۲.۶۷۹۰±۶۷.۹	۰.۴۲۲±۸۷.۲۰۰	۸۶ ± ۱۰.۳۷۱	۸۹±۴.۲۱۶	-
وزن گناد	۰.۰۳۶±۰.۲۲.	۰.۲۳۶ ±۰.۱۵۲	۰.۳۵± ۰.۲۲۴	۰.۲۰۵ ±۰.۰۲۶	۰.۰۰۱



- تغییرات فاقد معنی است: Non significance

نمودار ۱- تغییرات فاکتورهای مورد بررسی در تعیین زمان رسیدگی جنسی گونه *N.melanostomus* در تالاب گمیشان

تخم ریزی در تیرماه می باشد.

بحث و نتیجه گیری

با وجود اینکه گاو ماهیان در سطح جهان پراکندگی وسیعی دارند تا کنون در مورد بررسی زمان و وضعیت تولید مثلی گاو ماهیان مطالعات اندکی صورت گرفته است. از آنجایی که گاو ماهیان جزء متنوع ترین گروه ماهیان دریای خزر هستند و نقش زیادی در پویایی جمعیت ماهیان اقتصادی از قبیل ماهیان خاویاری دارند (۱۰ و ۷) و با توجه به اینکه امروزه بررسی وضعیت تولید مثلی ماهیان با استفاده از روش گناد و سوماتیک (GSI) به اثبات رسیده است (۸) دانستن اطلاعات دقیق از وضعیت بیولوژی آنها جهت مدیریت این اکوسیستم آبی ارزشمند، ضروری است.

در این رابطه در سال ۲۰۰۱ Poortenaar و همکاران بین سالهای ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۰ تغییرات ائوسیت را در تخمدان بالغ شاه ماهی دم زرد (*Srriola lalandi lalandi*) مورد بررسی قرار دادند. طی این آزمایش و با اندازه گیری تغییرات پارامترهای تخمدان از جمله تغییرات مراحل بلوغ ائوسیت مشاهده نمودند ماده هایی که اندازه آنها به ۷۷۵ میلی متر می رسید کمتر بالغ شده بودند و ۵۰ درصد شاه ماهیانی که اندازه آنها به ۹۴۴ میلی متر می رسید بالغ بودند و ۱۰۰ درصد آنهاهایی که طولشان ۱۲۷۵ میلی متر بود بالغ شده بودند بررسی GSI شاخص مناسبی جهت تعیین زمان بلوغ می باشد. تغییرات فصلی و بررسی شاخص GSI زمان تخم ریزی شاه ماهی دم زرد را بهار و تابستان تعیین کرد. (۵). در گونه *N. fluviatilis* ائوسیت تمایز نیافته و ائوسیت پیش زرده سازی و ائوسیت زرده سازی اولیه و ثانویه روند نزولی داشته درحالی که ائوسیت مرحله پس زرده سازی سیر صعودی دارد. ضخامت لایه کوریونی و فولیکولی نیز از یک صعود و یک نزول شدید حکایت دارد، با توجه به تغییرات ذکر شده زمان بلوغ جنسی فصل بهار تعیین گردیده است (۶).

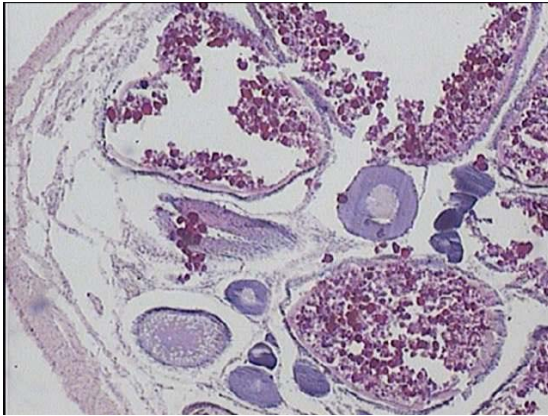
لامهای تهیه شده با کمک میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و چگونگی روند تغییرات سلولها در آنها بررسی گردیده است (۲۱).

پس از طی مراحل فوق مطالعه میکروسکوپی بر روی بافت انجام گرفت و تعداد ائوسیت تمایز نیافته، ائوسیت مرحله پیش زرده سازی، ائوسیت مرحله زرده سازی و قطر آن، ائوسیت مرحله پس زرده سازی، تعداد هسته هستک شمارش گردید و قطر آنها اندازه گیری شد.

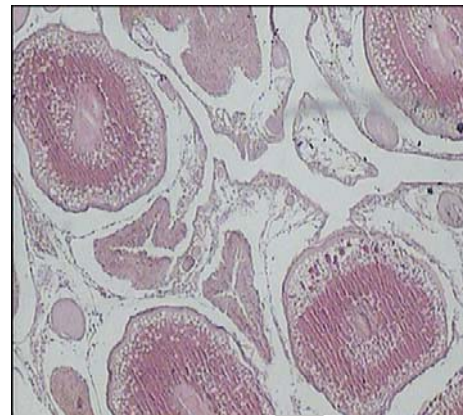
با توجه به نتایج به دست آمده، آنالیز های آماری با استفاده از نرم افزار systat انجام گرفت. میانگین موارد محاسبه شده انحراف معیار و حداکثر و حداقل موارد را مطابق جدول الف محاسبه گردیده است. با توجه به جدول الف و با در نظر گرفتن GSI (گنادو سوماتیک ایندکس) که با فرمول: تخمدان/ وزن ماهی $\times 100$ محاسبه می گردد، نتایج حاصله در جدول الف و نمودار (۱) قابل مشاهده است.

نتایج

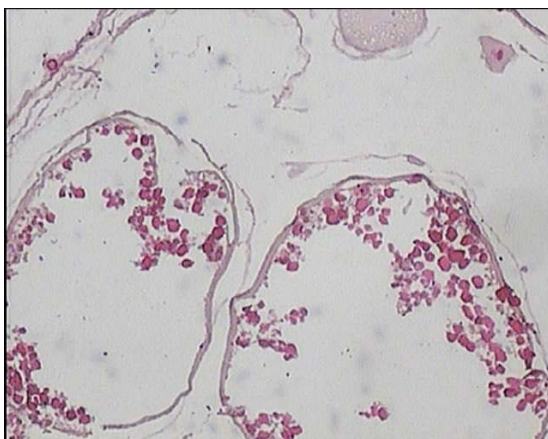
در نتایج به دست آمده ملاحظه شد که در تمامی موارد شمارش شده اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) وجود دارد. این بدان معنی است که تغییر هر کدام از موارد شمارش شده می تواند روند بلوغ جنسی را بیان کند. تصویر الف روند این تغییرات را به وضوح نشان می دهد. در این خصوص با توجه به بررسی آنالیز واریانس که در جدول الف قابل ملاحظه است و با توجه به بررسی نمودار (۱)، نمودار ائوسیت پیش زرده سازی در اینجا نیز یک روند نزولی را نشان می دهد در حالی که ائوسیت مرحله زرده سازی اولیه و ثانویه و قطر ائوسیت روند صعودی دارند، که این تغییر روند تأییدی بر تکامل ائوسیت می باشد. بررسی قطر لایه کوریونی که در تیر ماه در حال کاهش است و وزن گناد که در این ماه بیشترین افزایش را دارد موارد فوق را تأیید می کند، که با توجه به تمامی تغییرات فوق زمان اوج



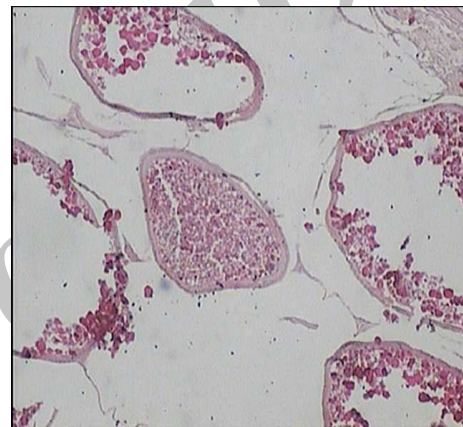
مورخ ۸۶/۳/۵



مورخ ۸۵/۱۲/۲۸



مورخ ۸۶/۶/۵



مورخ ۸۶/۴/۱۰

تصویر الف - تغییرات تخمدان در گونه *N. melanostomus* با بزرگنمایی ۴۰ در تاریخ های نمونه برداری شده

هلند، توانستند بلوغ جنسی آن را بین اواخر خرداد تا مرداد ماه تعیین نمایند. آنها در این مطالعه از شمارش تخمک های رسیده در ماهیان ماده استفاده نمودند و بیان نمودند که زمان رسیدگی جنسی با توجه به درجه دمای محیط می تواند تغییر نماید (۱۲).

در سال ۱۳۸۴ بررسی روند تولید مثلی زیر گونه گاو ماهی شنی (*Neogobius flaviatilis pallsi*) توسط محمد صادق علوی یگانه و محمد رضا کلباسی در ساحل دریای نور انجام پذیرفت که با توجه به بررسی شاخص گنادی و کبدی و با توجه به تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب دریا در آن تاریخ توانستند اوج رسیدگی جنسی این زیر گونه را اواخر فروردین تعیین نمایند (۴).

در سال ۲۰۰۵ مطالعات Sunobe و همکاران بر روی گاو ماهی *Trimmo okinawae* صورت گرفت. در اصل نقش آروماتاز در مرحله تغییر غیر مستقیم جنس در گاو ماهی *Trimmo okinawae* به کمک روش ایمنی شناسی بافتی صورت گرفت. در فاز جنسی فعالیت آروماتاز در لایه تکا و سلولهای گرانولوزا برای تکامل ائوسیتها و تغییر جنسی مهم است. آنها توانستند با اندازه گیری ائوسیتهای پیش زرده ای و ائوسیت مرحله زرده ساز به تغییرات گناد پی برده و همافروdit بودن گاو ماهی فوق الذکر را اثبات نمایند (۱۱).

ماسیج و همکارانش در سال ۲۰۰۶ با بررسی بر روی گونه *N. melanostomus pallas* در خلیج گدانسک در

دمای هوا روبه افزایش است فعالیت آنها نیز بیشتر شده، گاوماهیان رشد سریع تری داشته و به سمت بلوغ جنسی پیش می روند. با توجه به شاخص GSI و نتایج به دست آمده این ماهی در تیر ماه به اوج رسیدگی جنسی خود می رسد که این حالت از اواخر اردیبهشت ماه آغاز می شود و تا اواخر شهریور ماه ادامه خواهد داشت. نمودار ائوسیت پیش زرده سازی در اینجا نیز یک روند نزولی را نشان می دهد در حالی که ائوسیت مرحله زرده سازی اولیه و ثانویه و قطر ائوسیت روند صعودی دارند، که این تغییر روند تأییدی بر تکامل ائوسیت می باشد. بررسی قطر لایه کوریونی که در تیر ماه در حال کاهش است و وزن گناد که در این ماه بیشترین افزایش را دارد همگی مطالب فوق را تأیید می نمایند.

در مطالعاتی که در سایر مناطق دنیا بر روی گونه *N.melanostomus* صورت پذیرفته است نیز دوره رسیدگی جنسی این گونه را از اواخر بهار تا اواخر تابستان تعیین نموده اند (۹).

با توجه به مطالعات فوق و در نظر گرفتن این نکته که این گونه به صورت دوره ای در فاصله ۲۰ تا ۲۸ روز تخم ریزی انجام می دهد که بسته به دمای هوا این فواصل می تواند کوتاه تر (در دمای بالاتر) یا طولانی تر (در دمای پایین تر) باشد، نتایج به دست آمده تا حدی مشابه نتایج ذکر شده می باشد. در پژوهش انجام گرفته در گونه *N.melanostomus* با توجه به نمونه برداریهایی که انجام یافت ملاحظه گردید، که این گونه در فصل زمستان و با سرد شدن هوا از فعالیتشان کاسته شده و از قسمتهای زیرین آب بالاتر نمی آیند ولی به تدریج از اسفند ماه که

منابع

- ۱ - بهادری مسلم (۱۳۷۹): فن بافت شناسی انتشارات دانشگاه تهران.
- ۲ - پرپور کاظم، محسنی کوجصفهانی هما (۱۳۷۲): اطلس جنین شناسی و جنین شناسی تجربی، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تربیت معلم تهران.
- ۳ - عبدلی اصغر (۱۳۷۸): ماهیان آبهای داخلی ایران، انتشارات موزه طبیعت و حیات وحش ایران.
- ۴ - علوی یگانه، محمد صادق، محمد رضا کلباسی (۱۳۸۴). زیست شناسی تولید مثل زیرگونه گاوماهی شنی خزری. مجله علوم دریایی ایران. دوره ۴، شماره ۳ و ۴، صفحه ۳۱.
5. Poortenaar C.W., S.H. Hooker, N. Sharp (2001). Assessment of Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi lalandi*) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development. *AQUACULTURE*. P:271-286.
6. Biro p.; (1971). *Neogobius fluviatilis* in lake Blaton a Pontocaspian goby new to the fauna of central Europe; *J.Fish Biology*; 4:249-255.
7. Corkum L. D.; (2004). *The round goby, Neogobius melanostomus a fish invader on both sides of the Atlantic Ocean*. *Biological Invasion*. 6:173-181.
8. Helfman G., Collete B., Facey D.; (1997). *The Divesity of Fishes*. Malden, MA:Blackwell. 550pp.
9. J. MacInnis A., L. D. Corkum (2000). *Age and Growth of Round Goby Neogobius melanostomus in the Upper Detroit River* 29: 852-858
10. Kiabi B. H., Abdoli A., aderi M.; (1999). *Status of the fish fauna in south Caspian Basian of Iran, Zoology -in-the-middle-east*; 18:57-65.
11. unobe T., M. Nakamura, Y. Kobayashi, T. Kobayashi, Y. Nagahama (2005). *Aromatase immunoreactivity and the rol of enzymes in steroid pathways for index sex change in the hermaphrodite gobiid fish Trimma okinawae*. *CBP*. P:54-59
12. Tomczak T.M., M. R. Sapota (2006). *The fecundity and gonad development cycle of the round goby (Neogobius melanostomus Pallas 1811) from the Gulf of Gdan'sk*. Vol. XXXV, No.4

Determination of the sexual maturation time in different species of the genus *Neogobius melanostomus* in gomishan wetland

Chavoshi Sh.¹, Abdoli A.¹, Parivar K.² and Patimar R.³

¹ Environmental Sciences and Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of IRAN

² Developmental Dept., Faculty Of Sciences, Research and Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of IRAN

³ Natural Resources De, Gonbad Kavous University, Gonbad , I.R. of IRAN

Abstract

The reproductive biology of the genus *Neogobius melanostomus* was examined from Gomishan wetland a period of one year (2006-2007). In the present study, one fish species namely *N. melanostomus* was studied, This species are as important food for economic fish species in caspian sea, specially for Acipenserid species. Different samples were taken from Gomishan wetland during one-year period of study. At this stage, the number of undifferentiated, previtellogenic stage, vitellogenic stage and postvitellogenic oocytes, and oocytes were counted. The number and diameter of ovary, nucleus and nucleolus were also measured. Data were analyzed using Systat statistical software. Results indicated that *N. melanostomus* was significantly different ($p < 0.05$) with other two species with respect to the numbers of differentiated and previtellogenic oocytes, and the diameter of chorion layers. GSI measurement showed that peak of sexual maturity in this species occurred in July.

Keywords: Oogenesis, Sexual maturity, *Neogobius melanostomus*