Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

روند تغیرات بافتی اندام های جنسی لای‌ماهی (*Tinca tinca*) در تالاب انزلی و شرایط پرورشی

اکرم تهرانی فرد[1*]، محدثه معتقدی[1]

۱- گروه زیست‌شناسی‌دریا، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۲۷

چکیده

در این مطالعه، تغیرات بافتی اندام‌های جنسی لای‌ماهی (*Tinca tinca*) در تالاب انزلی و شرایط پرورشی مقایسه گردید. تعداد ۹۶ و ۳۶ ماهی از استخر پرورشی و تالاب انزلی جمع‌آوری شد. برای تعیین هم‌آوری، ماهیانی که در مرحله چهارم از رشد شش مرحله‌ای غدد جنسی، یعنی هم‌زمان با مرحله پیش از تخم‌ریزی بودند مورد بررسی قرار گرفتند. درمطالعه میکروسکوپی برش‌های تخمدان و بیضه و رشد و نمو تخمدان و بیضه آن طی مراحل مختلف جنسی، از نمونه‌های تالاب ، از ۳ ماهی ماده تخمدان دو مورد از آنها در مرحله III-IV رسیدگی بوده و یکی از آنها در مرحله III بود (آب سردتر). همچنین، در نمونه‌های پرورشی، ۸ ماده مورد بررسی قرارگرفت که از این تعداد تخمدان، ۷ مورد آنها در مرحله رسیدگی بوده و یکی از آنها از مرحله III-IV بود (در شرایط آب گرم‌تر). در اواخر اردیبهشت که دمای آب به ۱۹ درج سانتی‌گراد افزایش یافت، بافت‌های تهیه شده از تخمدان ماهیان دارای فولیکول‌های بعد از تمخک گذاری (اووسیت‌هایی با تجمع زرده و اووسیت‌های باز جذب شده) بودند. در بزرگترین اووسیت دیده شده واکوئل‌ها نزدیک هسته رسیده بودند. بررسی بر روی ۲۴ نمونه لای‌ماهی ماده مرحله ۴ و ۵ که دارای وزن ۵۰/۹ تا ۲۳۸/۲ گرم و میانگین ۴۱/۰۱±۹۹/۸۶ گرم و طول‌کل ۱۴۶ تا ۲۳۳ با میانگین ۲۲/۲۸ ± ۱۷۶/۹۳ میلیمتر بودند و سنی معادل ۳ تا ۶ با میانگین ۰/۹۳ ± ۴/۰۰ سال داشتند نشان داد که هم‌آوری‌مطلق بین ۱۴۰۸۶ تا ۱۵۳۶۰۰ با میانگین ۲۸۲۰۵/۷ ±۳۶۳۶۲/۴ عدد و هم‌آوری نسبی بین ۱۷۰/۱ تا ۶۴۴/۸ با میانگین ۱۲۵/۰۲ ± ۳۶۷/۹ عدد در ازای یک گرم ماهی ماده متغیر است. نتایج بدست آمده به این ترتیب است که :بیضه این ماهی از نوع لوبولار بوده و اسپرماتوژنز در ماهیان همزمان با ریخته شدن یا جذب اسپرم ها در فصل تخمریزی آغاز می شود و بتدریج تا اواسط پاییز پیشرفت می کند ، با افزایش دما، میزان تولید مثل و هم‌آوری ماهیان نر و ماده افزایش معنی-داری نشان داد. بیشترین میانگین قطر تخمک‌ها در اردیبهشت ماه و کمترین در مرداد ماه مشاهده شدند. اوج رسیدگی جنسی در ماهیان ماده در ماه‌های اسفند و فروردین بود. تخم‌ریزی ماهیان از اردیبهشت شروع و تا اواخر تیر ماه ادامه داشت. اووژنز و اسپرماتوژنز در محیط های پرورشی زودتر از تالاب انزلی شروع میشود.

کلمات کلیدی: لای‌ماهی، تغییرات فصلی، تولید مثل، اندامهای جنسی، تالاب انزلی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Akram.Tehranifard95@gmail.com

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

مقدمه

مطالعه زیست‌شناسی و بوم‌شناسی گونه‌های مختلف ماهیان در یک اکوسیستم آبی از ضرورت اولیه حفظ و بازسازی ذخایر آن‌ها بوده و منجر به شناخت‌وتحلیل اکولوژیکی زنجیره‌غذایی اکوسیستم می‌گردد، که این‌امر در اعمال مدیریت صحیح شیلاتی کاربرد فراوان دارد. با توجه به نیاز روز افزون استفاده از ماهیان در تغذیه انسان، مطالعه غدد تولیدمثلی، تعیین فصل تخم‌ریزی از طریق شاخص گنادی(GSI) و تاثیر شرایط اکولوژیکی بر زمان اسپرم ریزی، از نظر شیلاتی و اقتصادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تعیین دوره‌ی تخم‌ریزی و اوج تخم‌ریزی در مدیریت و بازسازی ذخایر یک گونه نقش بسیار مهمی را دارد (Siwicki *et al.*, 2010؛ Mylonas *et al.*, 2010). تخم‌ریزی یکی از مراحل مشخص دوره تولیدمثلی ماهیان استخوانی می‌باشد. موفقیت یا عدم موفقیت تخم‌ریزی اثر مستقیمی روی تراکم جمعیت و بقاء گونه دارد. ماهیان استخوانی دارای دوره تخم ریزی متفاوتی می باشند و زادو ولد فصلی دارند. فصل تولید مثل ممکن است به وسیله شرایط آب و هوایی یا اثر متقابل بین گونه‌ای باشد. لای‌ماهی با نام علمی *Tinca tinca* (linnaeus, 1758) ونام انگلیسی tench تنها گونه جنس *Tinca* است. لای‌ماهی در حد وسیعی در اروپا ، بغیر از قسمت‌های شمالی پراکنش دارد. همچنین این ماهی در خاور نزدیک و غرب سیبری یافت می شود(Kujawa *et al.*, 2011). لای‌ماهی یک ماهی eurytherm بوده و قادر به زیست در دامنه حرارتی وسیعی می‌باشد، اما مناسب‌ترین دما برای آن ۲۰ درجه سانتیگراد یا بالاتر می‌باشد و درجه حرارت مناسب آب برای تخم‌ریزی ۲۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. مناسب‌ترین pH برای لای‌ماهی ۸-۷/۵ می باشد، اما این ماهی حتی قادر است در pH های اسیدی ۴-۳/۵ نیز تا مدتی زنده بماند. از نظر اکسیژنی بسیارکم توقع بوده و نسبت به کاهش اکسیژن در زمان حمل و نقل و استخرهای نگاهداری مقاوم می‌باشد، اما این ماهی در استخرهایی که آب ان تخلیه شده و دمای آن زیاد است نمی تواند زنده بماند (Owen *et al.*, 2010).که انواع جوان و بالغ این ماهی عمدتا به تغذیه از موجودات کفزی می‌پردازند یا به عبارتی کفزی خواری (benthivorous) هستند. آزمایش میکروسکوپی و بافت‌شناسی دوره‌ای بیضه و تخمدان حداقل طی یکسال، به شناخت و آگاهی از تولید و تخلیه اندام‌های جنسی در سرتاسر چرخه ی بلوغ جنسی کمک می-نماید (Nowosad *et al.*, 2013). رشد تخمدان‌ها و بیضه‌ها نیز اغلب با یکدیگر یکسان نبوده و رشد بیضه-ای به مراتب کمتراز تخمدان می‌باشد. سن بلوغ در لای‌ماهی با توجه به خصوصیات اقلیمی زیستگاه متفاوت می‌باشد .برای مثال لای‌ماهی در مصب رود ولگا در ۳ سالگی بالغ می‌شود و حدودا ۴۰-۳۰ درصد از لای‌ماهیان این منطقه در این گروه سنی بالغ می‌شوند ودر رده سنی ۵-۴ سال حدودا ۶۰٪ بالغ می‌شوند (Siwicki *et al.*, 2010 ؛ Alas *et al.*, 2010). Horoszewicz در سال ۱۹۸۳، بر روی ریتم تولید مثلی لای‌ماهی در نوسانات دما بررسی‌هایی را انجام داد که نتایج زیر حاصل گردید: درصد ماهی‌های ماده شرکت‌کننده در تخمک‌گذاری بستگی به الگوی تغییرات دمایی در طول زمان دارد. تنوع ریتم تولیدمثلی در فصولی که نوسانات دما بیشتر است بالاتر می‌باشد. طبق بررسی‌های Benzer در سال ۲۰۱۱، میزان هماوری مطلق لای‌ماهی بین ۱۴۰۸۶ تا ۱۵۳۶۰۰ متغییر بوده و

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

میزان هماوری نسبی نیز بین ۱۷۰/۱ تا ۶۴۴/۸ بوده که با افزایش سن میزان هم‌آوری مطلق افزایش و هم‌آوری نسبی کاهش یافته است.

در ایران این ماهیان معمولا در سن ۳-۲ سالگی به بلوغ می رسند به‌نحوی که حتی در تالاب انزلی در اردیبهشت ماه ماهیان‌مولد رسیده به طول ۱۴-۱۳ سانتی‌متر و به سن بالای ۲ نیز مشاهده شده است. در ماهی‌ها عوامل زیست محیطی و اکولوژیکی نقش مهمی در تعیین جنسیت دارند و تعاملی که بین ژن‌ها و عوامل محیطی موثر مثل درجه حرارت، شوری، pH، O_2 و موقعیت‌های اجتماعی وجود دارد، می تواند به عنوان عامل تعیین کننده جنسیت شناخته شود (Elia *et al.*, 2010). اهمیت همکاری‌های بین ژنتیک و محیط، سال‌هاست که در علوم کشاورزی و باغبانی شناخته شده است. تمام متغیرهامحیطی مربوط به پرورش ماهی، می توانند از طریق همکاری با ژنوم ماهی، در تولید تاثیر داشته باشند.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان منطقه نمونه‌برداری

نمونه برداری لای‌ماهی از ایستگاه تحقیقات شیلات سفیدرود آستانه‌اشرفیه و نیز تالاب انزلی به صورت ماهیانه بمدت یکسال از بهمن ماه سال ۱۳۹۶ تا دی ماه سال ۱۳۹۷ صورت گرفت. ذخایر لای‌ماهی در تالاب انزلی بسیار ناچیز می‌باشد، بنابراین تهیه این ماهی خصوصا در فصل سرد سال به دلیل زمستان خوابی این ماهی بسیار دشوار است. به همین دلیل نمونه‌برداری از تالاب انزلی، قسمت مرکزی تالاب (سرخال کول) بوده،که فقط در ماه‌های تولیدمثلی (اواخر اسفند تا اوایل تیر) صورت گرفت.

زیست سنجی

تعداد ۹۹ عدد ماهی از استخرهای پرورشی (۶۸ عدد ماده و ۳۱ عدد نر) با میانگین سنی ۲ تا ۴ سال همچنین ۳۰ عدد دیگر از تالاب انزلی (۲۳ عدد ماده و ۷عدد نر) با میانگین۳ تا ۴ سال عدد دیگر از تالاب انزلی جمع‌آوری شدند. به منظور بررسی ریخت‌سنجی با توجه به منابع علمی ماهی شناسی، نمونه ها از نظر ویژگی‌های مورفومتریک مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام بیومتری برای تعیین جنسیت، ماهی را تشریح و وزن گناد (G.W) را با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه-گیری شده است.گنادها در محلول بوئن به منظور فیکس شدن به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا جهت مراحل بعدی عمل آوری بافت آماده شوند. گنادها از ۳ قسمت فوقانی، میانی و تحتانی بریده شده و در محلول بوئن فیکس شدند. برای تهیه اسلایدهای بافتی باید نمونه‌های بافتی را پس از فیکس‌کردن از مراحل آبگیری، شفاف‌سازی پارافینه، قالب‌گیری، برش، رنگ‌آمیزی و مونته عبور داد. مرحله آبگیری از بافت عبارت است از گرفتن آب از بافت و جایگزینی الکل به جای آب در این مرحله از الکل های ۵۰،۷۰،۸۰،۹۶ درجه و الکل ۱- بوتانل استفاده گردید. سپس مرحله شفاف‌سازی انجام شد. این مرحله عبارت از جایگزینی کلروفرم یا بنزن و یا گزیلل به جای الکل و جذب چربی بافت است. پس از آن پارافینه کردن بافت انجام شد که برای نرم‌شدن نمونه‌ها مخلوط کلروفرم و پارافین خالص نرم بکار رفت. در این مرحله نمونه بافت در مخلوط کلروفرم و پارافین خالص نرم به نسبت یک به یک در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس نمونه بافت در پارافین خالص نرم و تمیز در انکوباتور۵۶ درجه سانتی‌گراد در دو مرحله و

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

هر مرحله به مدت یک‌ساعت انجام شد. در مرحله قالب‌گیری، نمونه بافت‌ها در داخل قالب‌های ویژه قرارگرفته و با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شدند. پس از سرد شدن قالب‌های پارافینی حاوی نمونه، بافت جهت تهیه برش‌های بافتی آماده شد. در این مرحله پارافین‌های حاوی نمونه بافت از قالب‌های کاغذی جدا و با استفاده از اسکالپل تا حد امکان پارافین‌های اضافه از اطراف نمونه‌ها بریده و در نهایت قالب‌های پارافینی حاوی نمونه بافت روی پایک‌های چوبی سوار شدند. مشخصات مربوط به هر نمونه بافت روی پایک‌ها یادداشت گردید. پس از آن از نمونه‌ها برش تهیه شد. در این مرحله نیز اطلاعات مربوط به هر نمونه بافت توسط بر چسب روی لام‌ها یادداشت گردید. این لام-های حاوی اسلایدهای برش داده شده، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند تا خشک شوند. از هر نمونه بافتی ۵ لام جهت بررسی میکروسکوپی تهیه گردید. از روش هماتوکسیلن‌ائوزین برای رنگ آمیزی استفاده شد. مراحل تهیه بافت بر اساس پروتکل استاندارد از کتاب Fish pathology انجام شده‌است (Genten, 2009).

زیست شناسی تولیدمثل

در بررسی تولیدمثل موارد زیر مورد بررسی قرار گرفت:

تعیین نسبت جنسی نر به ماده (Richer, 1975).

از تقسیم تعداد ماهیان نر در هر گروه سنی به تعداد ماهیان ماده در هر گروه سنی بدست آمد.

شاخص گنادوسوماتیک یا شاخص بلوغ جنسی (G.S.I) روش غیر مستقیمی برای تخمین فصل‌تخم ریزی ماهی است. برای تعیین وضعیت تکامل غدد جنسی و میزان شاخص بلوغ‌جنسی معادله GSI=WG/WT×100 به کارگرفته شد (Biswas, 1993 ؛ Bagenal, 1978):

که در آن، GSI =شاخص گنادوسوماتیک، WG=وزن گناد به گرم ،WT=وزن بدن به گرم، تعیین هم آوری مطلق می باشد (Schiel ,1994).

برای تعیین هم‌آوری،ماهیانی که در مرحله چهارم از رشد شش مرحله ای غدد جنسی،یعنی هم زمان با مرحله پیش از تخم ریزی بودند مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین هماوری، مقداری زیر نمونه از تخمک‌های موجود در بخش‌های ابتدایی،میانی و انتهایی تخمدان جدا شده، برای استحکام بخشیدن و ثبات تخمک‌ها در فرمالین ۴٪ قرار داده‌شد (آذری تاکامی، ۱۳۵۸). تخمک‌های موجود در زیر نمونه به دقت شمارش و به وزن کل تخمدان تعمیم داده شد. هماوری مطلق از روش وزنی و معادله زیر بدست آمد:

وزن کامل تخم‌ها ×تعداد تخم‌ها در یک گرم= هم‌آوری مطلق

پس از محاسبه هم‌آوری مطلق، به منظور تعیین هم‌آوری نسبی از معادله زیر استفاده شد:

هم‌آوری نسبی= تعداد کل تخمک/وزن بدن

نتایج

نتایج بافت‌شناسی

مراحل رشد تخمدانی (اووژنز) بر مبنای مطالعات میکروسکوپی

مراحل اووژنز به طور کلی به دسته های زیر تقسیم می شود (شکل ۱ و جدول ۱):

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

مرحله پیش از زرده‌سازی- مرحله زرده‌سازی- مرحله رهاسازی تخمک- پسروی تخمدان و استراحت.

مرحله پیش از زرده‌سازی شامل مراحل V, IV, III, II, I می‌باشد. در این مطالعه این مراحل مشاهده شدند. تغییرات مشاهده شده در تخمدان‌های ماهی از فروردین شروع شد. از نظر بافت‌شناسی تخمدان‌ها در مرحله III رسیدگی بودند.

در ۲۳ اردیبهشت ۱۳۹۳، ۳ ماهی ماده گرفته شد. تخمدان دو مورد از آن‌ها در مرحله III-IV رسیدگی بوده و یکی از آن‌ها در مرحله III بود (آب سردتر). در ۲۳ اردیبهشت ۱۳۹۳ ، ۸ ماده گرفته شد که از این تعداد تخمدان ۷ مورد آن‌ها در مرحله رسیدگی بوده و یکی از آن‌ها از مرحله III-IV بود (در شرایط آب گرم تر).

STAGE III

اووسیت‌ها در این ۷ تخمدان دارای ۵-۴ ردیف واکوئل بودند و در بعضی اووسیت‌ها واکوئل‌ها به نزدیک هسته رسیده بودند.

STAGE III-V

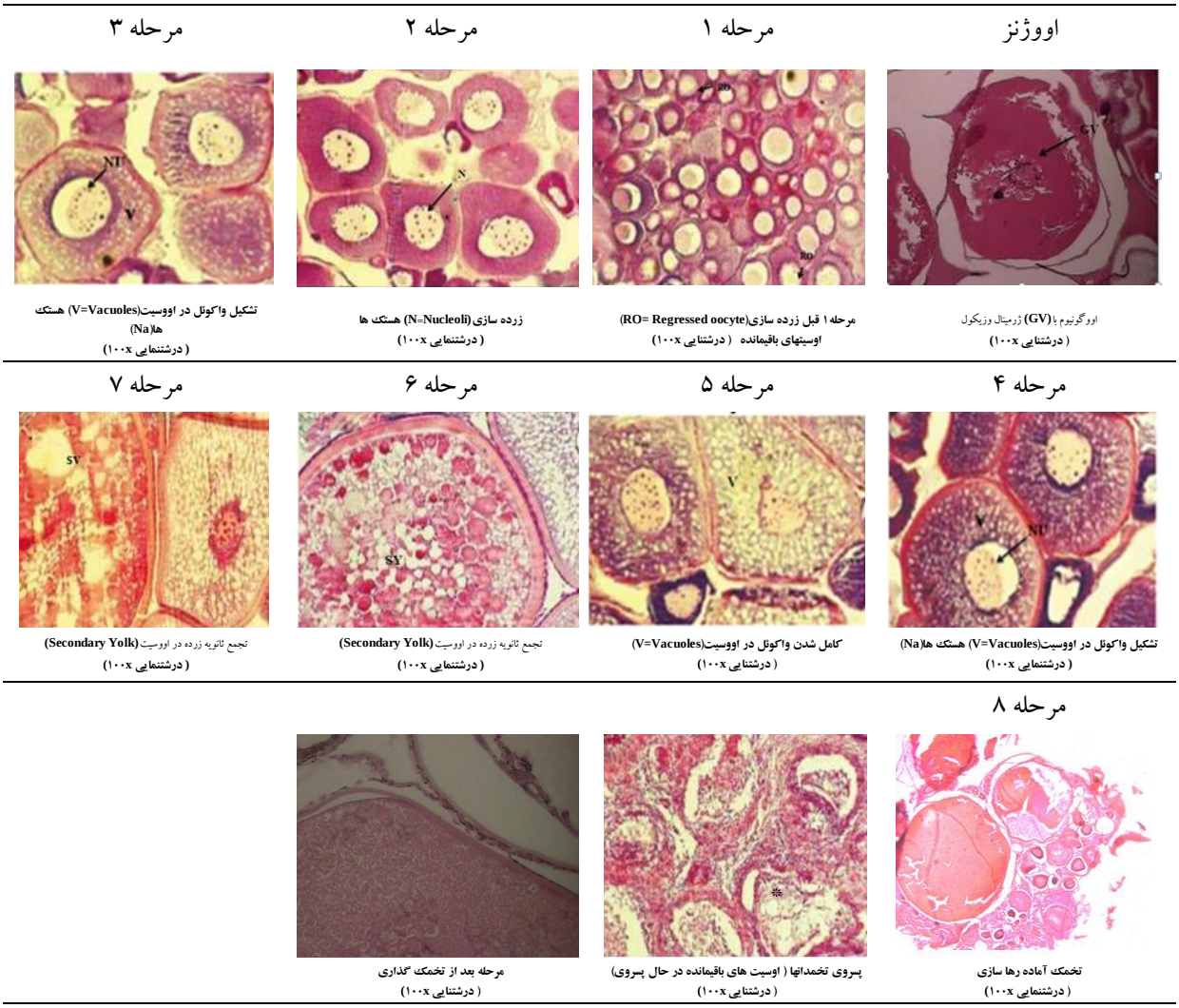
تخمدان در مرحله III-IV رسیدگی دارای اووسیت‌هایی در فاز اولیه از تجمع زرده به همراه ۴-۳ ردیف واکوئل در اطراف سلول بودند.

در اواخر اردیبهشت که دمای آب به ۱۹ درج سانتی‌گراد افزایش یافت، بافت‌های تهیه شده از تخمدان ماهیان دارای فولیکول‌های بعد از تمخک-گذاری (اووسیت هایی با تجمع زرده و اووسیت‌های باز جذب شده) بودند. در بزرگترین اووسیت دیده شده واکوئل‌ها نزدیک هسته رسیده بودند. تخمدان این در مرحله VI و IV بودند تصور می‌شود که برخی از تخمک‌ها خارج شده باشند. تخمدان یک ماهی ماده در مرحله V و IV بود بسیاری از سلول‌ها پر از زرده بودند و به سمت Circumference حرکت کرده بود. در خرداد ۹۳ نمونه ها دو بار گرفته شدند یک بار ۷ خرداد و بار دوم ۲۲ خرداد ماه نمونه‌های اول زمانی گرفته شدند که دمای آب سبب القای تخمریزی در ماهی شده بود. در نمونه‌های ماده تخمدان‌ها در مرحله V و IV بودند.

تخمدان‌ها محتوای اووسیت‌های فراوانی پر از زرده بودند. هسته این سلول‌ها به سمت میکروپیل حرکت کرده بود. ۲ تا از ماده‌های گرفته شده در حال تخم-ریزی بودند. تخمدان این نمونه‌ها محتوای تعداد زیادی اووسیت پر از زرده به همراه تشکیل میکروپیل و مهاجرت هسته بود. همچنین در این نمونه ها فولیکول-های خالی مشاهده شدند. تخمدان در این ماده در مرحله VI و V و IV بود. نمونه‌گیری بعدی در اواخر خرداد ماه بود که تخمدان بیشتر آن‌ها در مرحله VI و IV بودند، اما بعضی نمونه‌ها دارای تخمدانی در مرحله IV و III هم دیده شدند.

در نمونه‌های تیر ماه تخمدان‌ها محتوای اووسیت-های atretic در مراحل V و VI بود. تخمدان‌های همه در مرحله تخم‌ریزی بودند اووسیت‌های فراوان و کاملاً پر از زرده بوده و محتوای میکروپیل مشاهده شده. همچنین فولیکول‌های کوچک قابل توجه هستند. در مرداد ماه تخمدان از اووسیت خالی شده و آن‌هایی که باقیمانده‌اند در حال بازجذب می‌باشند (شکل۱) تخمریزی کامل شده است. در شهریور ماه ۷ ماده گرفته شد تخمدان آنها در مرحله پسروی بوده (بعد از تخم‌ریزی). در فصل پاییز و زمستان از محیط تالاب به دلیل زمستان خوابی لای‌ماهی صید این ماهی امکان پذیر نبود.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021



شکل ۱: مراحل مختلف رشد تخمدانی لای‌ماهی بر اساس رسیدگی اووژنز (گروه پرورشی)

مراحل رشد تخمدانی اووژنز بر مبنای مطالعات ماکروسکوپی

مراحل رشد تخمدانی اووژنز بر مبنای مطالعات ماکروسکوپی در جدول ۱ نشان داده شده است.

مرحله نابالغ

تخمدان کوچک و بدون اوویست‌های قابل مشاهده بوده ، دیواره تخمدان نازک است. تخمک‌ها با چشم غیر مسلح دیده نمی‌شوند.

مرحله رسیده ۲ (استراحت)

اندازه تخمدان متوسط بوده و $\frac{1}{4}$ و $\frac{3}{4}$ حفره بدن را اشغال می‌کند . اوویست‌ها قابل رؤیت بوده و با چشم غیر مسلح دیده نمی‌شود و یا به سختی دیده می‌شود. عروق فراوان در سطح تخمدان وجود دارد. مقداری ذرات زرده‌ای در آنها دیده می‌شود.

مرحله در حال بلوغ (رسیده ۳)

تخمدان‌های بزرگ $\frac{3}{4}$ حفره بدن را پر می‌کنند. همراه آن‌ها مویرگ‌های خونی زیادی دیده می‌شوند.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

رنگ تخمدان ها زرد/ نارنجی بوده و اوویست‌هایی به اندازه ۰/۵ میلی متر با چشم دیده می‌شود و دارای ذرات زرده ای فراوان هستند.

مرحله کاملاً رسیده

اوویست‌ها نیم شفاف (مات) که ممکن است جریان داشته یا نداشته باشد .اوویست‌های آب دار شده و شفاف هستند و با چشم به خوبی دیده می‌شوند.

مرحله تخلیه

تخمدان ارغوانی رنگ و خیلی شل و چروک شده و گاهی دارای تعداد کمی اوویست‌های مات می‌باشد (اوویست با چشم دیده می‌شود و بزرگ و زردرنگ می‌باشند).

مرحله بی‌رمق

تخمدان ارغوانی رنگ و چروک شده و دیواره تخمدان ضخیم شده و مویرگ‌های خونی بزرگ شده-اند. اوویست‌های مرحله پیشرفته در تخمدان دیده نمی-شوند.

جدول ۱: ویژگی‌های ماکروسکپی و میکروسپی تخمدان‌های لای‌ماهی در مراحل مختلف رسیدگی

مرحله رسیدگی	احتمال تشخیص درست براساس ویژگی های ماکروسکپی	صفات ماکروسکپی	صفات میکروسکپی
نارس ۱ (immature)	زیاد	تخمدان کوچک و بدون اووسیت های قابل مشاهده بوده، دیواره تخمدان نازک است.	همه اووسیت ها در مرحله پیش زرده (previtelogemic) یعنی در مراحل اولیه رشد هستند.
رسیده ۲	کم(با مراحل ۵ و ۶ اشتباه می‌شوند)	اندازه تخمدان متوسط بوده $\frac{1}{4}$ و $\frac{3}{4}$ حفره بدن را اشغال می کند. اووسیت ها قابل رویت بوده و با چشم انسان مشاهده نمی شوند (۰/۲-۰/۵ mm)	فرآیند رسیدگی شروع شده و اووسیت های پیشرفته در مراحل اولیه و تپلوژنزیس یا زرده سازی هستند.
رسیده ۳	زیاد	تخمدانهای بزرگ $\frac{3}{4}$ حفره بدن را پر می کنند. همراه آنها مویرگهای خونی زیادی دیده می شوند. رنگ تخمدانها زرد/نارنجی بوده و اووسیت هایی به اندازه ۰/۵ مترمتر با چشم دیده می‌شوند.	اووسیت ها در پیشرفته ترین مرحله در داخل تخمدان دیده می شوند و تخمدان در مراحل زرده سازی است.
تخمریزی	زیاد	اووسیت ها نیم شفاف (مات) که ممکن است جریان داشته یا نداشته باشد. اووسیت های آب دار شده بزرگتر از اووسیت های مات هستند.	تخمریزی قریب الوقوع بوده که اووسیت‌ها در مرحله مهاجرت هستند و آگیری هستند.
استراحت ۵	کم (با مرحله ۲ و ۶ اشتباه می‌شوند)	تخمدان ارغوانی رنگ و خیلی شل و چروک شده و گاهی دارای تعداد کمی اووسیت های مات می‌باشد (اووسیت ها با چشم دیده می‌شوند و بزرگ و زرد رنگ می‌باشند).	بعضی تخمک ها رها شده اند و فولیکول های بعد از تخمریزی مشاهده می‌شوند.
بی رمق (نیروی خود را از دست داده) ۶	کم (با مرحله ۵ و ۲ اشتباه می‌شود)	تخمدان ارغوانی رنگ و بسیار شل و چروک شده است. دیواره تخمدان ضخیم شده و مویرگهای خونی بزرگ شده اند. اوسیت های مرحله پیشرفته در تخمدان دیده نمی‌شوند.	آخرین رسته تخمک ها رها شده اند. اووگونیا و هسته دارای شبکه کروماتین در اووسیت دیده می شود. اووسیت های باقیمانده بازجذب می‌شوند.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

مراحل رشد بیضه (اسپرماتوژنز) بر مبنای مطالعات میکروسکوپی

تغییرات بافتی بیضه در طی چرخه تولید مثلی لای-ماهی در شکل ۲ و جدول ۲ نشان داده شده‌است.

سلول‌های زایا در گناد نابالغ و در حال استراحت، اسپرماتوگونیا (SG) می‌باشند. این سلول‌ها در طول اسپرماتوژنزیس در بافت بیضه وجود دارند و در لوله های سمنی فر(اسپرم ساز) بر روی غشاء پایه قرار گرفته‌اند. در بین آن‌ها سلول‌های سرتولی مشاهده می-شوند.

قبل از مرحله رسیدگی جنسی، سلول‌های اسپرماتوگونیا (SG_A) شروع به تقسیم شدن می‌کنند. ابتدا تقسیم ناکاملی انجام داده بدین ترتیب که مرحله سیتوکنیزیر انجام نشده و در نتیجه سلول‌ها تقسیم یک پل سیتوپلاسمی به‌هم متصلند (GG_B).

در حین رسیدگی گناد، تعداد بیشتری اسپرماتوگونیای نوع B بوجود آمده و زمانی که تقسیم میوز (با کاهش کروموزومی) شروع می‌گردد تبدیل به اسپرماتوسیت اولیه (SC_1) می‌شوند. با شروع مرحله دوم تقسیم میوزی که خیلی سریع اتفاق می افتد، اسپرماتوسیت ثانویه (SC_2) بوجود می‌آید چون این مرحله خیلی با سرعت انجام می‌شود می توان دلیل ایجاد اسپرماتوسیت ثانویه به تعداد زیاد را بیان نمود.

بعد از تقسیم میوز، داخل لومن لوله‌ها، اسپرماتیدها مشاهده می‌شوند سپس با کامل شدن اسپرژنزیس، سلول‌ها به اسپرماتوزوآ (SZ) تبدیل شده و داخل لومن لوله‌های اسپرم ساز پر از اسپرم می‌شوند. هنگامی که تعداد اسپرماتوزوآها زیاد شد به سمت لوله‌های خروجی حرکت می‌کند. در طی تخم‌ریزی (spawning) اسپرماتوزوآهای رسیده رها می‌شوند. تا شروع سیکل بعدی اسپرماتوژنزیس، لوبول‌ها چروکیده شده و دیواره لوله‌ها ضخیم‌تر می‌شوند. اسپراماتوزوآهایی که بعد از تخم‌ریزی در بیضه باقی بمانند توسط سول‌های سرتولی فاگوسیته می‌شوند. هنگامی که لوله‌های اسپرم ساز از وجود اسپرماتوزوآها پاک می‌شوند، واکوئل‌های سلول‌های سرتولی از نظر اندازه افزایش پیدا می‌کنند. در بافت همبند بین لوله‌ها، رگهای خونی و سلول‌های لیگ دیده می‌شوند.

Stage 1: اکثر لوله‌های سمنی فروس (اسپرم ساز) پر از اسپرماتوسیت بودند.

Stage 2: تعداد زیادی کیست در محیط لوله‌های اسپرم ساز دیده می‌شوند که پر از اسپرماتوسیت II و اسپرماتوتید هستند. اسپرماتوگونیاها و اسپرماتوسیت‌های اولیه کمتر از stage1 بودند.

Stage 3: اسپرماتوزوآها سلول‌های غالب در لوله-های اسپرم ساز هستند (شکل) تعداد زیادی سلول‌های بینابینی دیده می‌شوند.

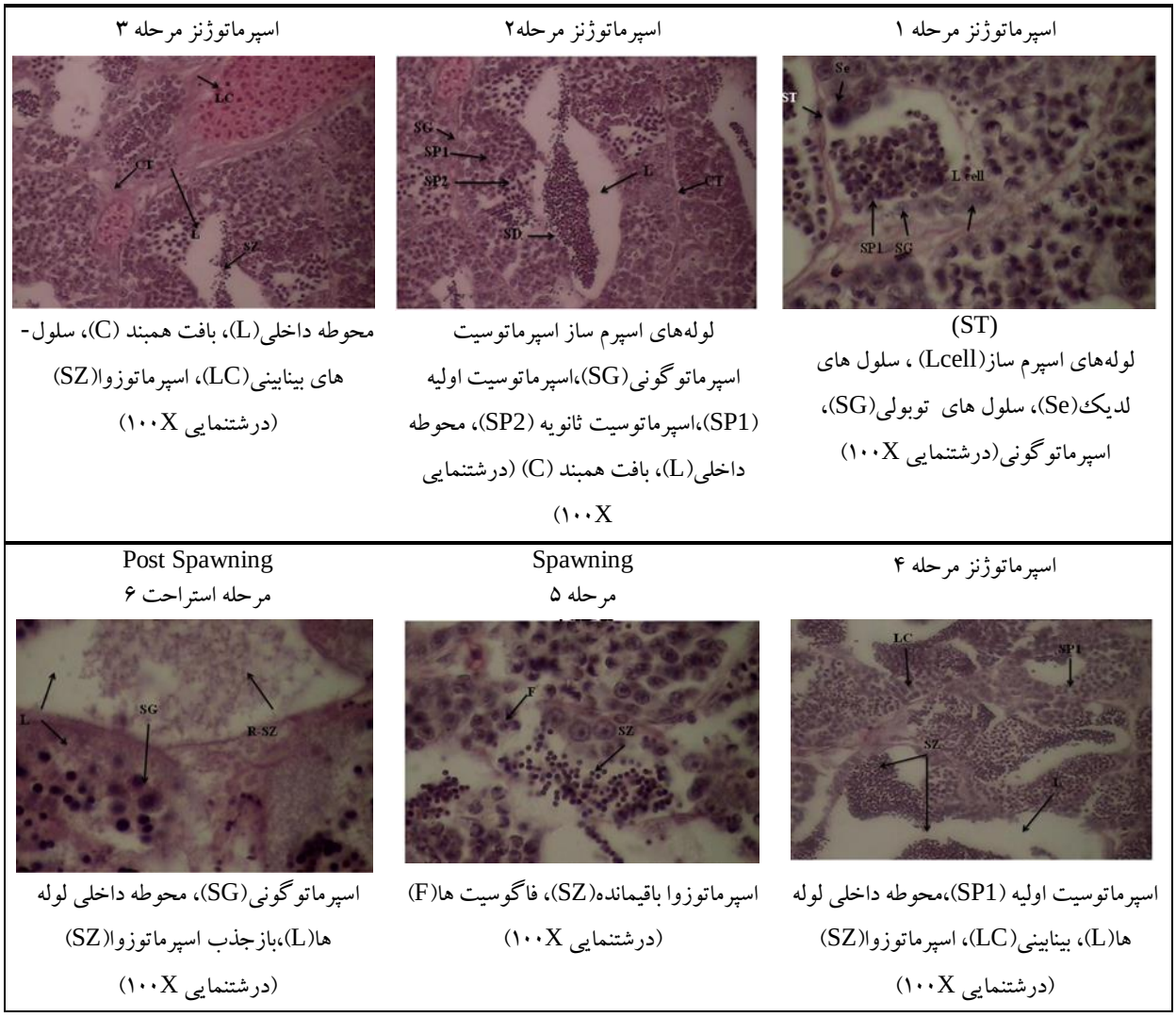
Stage4: اسپرماتوزوآها فراوان بوده، اسپرماتوسیت‌های اولیه در محیط لوله‌های اسپرم ساز مشاهده می‌شوند. سلول‌های بینابینی نمو خوبی یافته‌اند.

Spawining تخم‌ریزی یا رهاسازی اسپرم

Stage5: اسپرماتوزوآها رهاسازی شده اند و لوله-های اسپرم ساز کاملاً یا در بعضی موارد بخشی از آنها تخلیه شده‌است. اسپرماتوزوآها در مرکز (لومن) لوله‌ها هنوز دیده می‌شوند (تعداد کمی) بافت بین لوله‌ها وسیع تر شده نسبت به مرحله ۴ و فاگوسیت‌ها فراوانند.

Stage 6: بیضه‌ها در مرحله خاموشی یا استراحت هستند. لوله‌های اسپرم ساز دارای تعداد زیادی اسپرماتوگونیا (SG) می‌شوند.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021



شکل ۲: تغییرات بافتی بیضه لای ماهی در طی چرخه تولید مثلی

جدول ۲: مراحل رشد بیضه لای ماهی بر مبنای مطالعات ماکروسکوپی

مرحله	مشخصات
نابالغ (Immature Phase)	در این مرحله گناد غیر فعال و نا بالغ است.بیضه ها کوچک و باریک و ظاهری شفاف دارند.
در حال بالغ شدن (Maturing Virgin)	در این مرحله بر ضخامت بیضه تا حدودی افزوده شده و در حال سفید رنگ شدن می‌باشند.
در تکامل حال (Developing male)	در این مرحله بیضه سفید رنگ ودر مقایسه با قبل پهن تر، ضخیم تر و نرم تر است.
تکامل یافته یا بالغ (Developed male)	در این مرحله بیضه نرم و لطیف و پهن تر شده است و در مقایسه با مرحله قبل فضای بیشتری در محوطه شکمی به خود اختصاص میدهد.شیره اسپرم با فشار از محوطه شکمی خارج می‌شود.
کاملا رسیده (Ripe male)	در این مرحله بیضه تقریبا تمام محوطه شکمی را پر می کند و اسپرم با یک فشار آرام بر محوطه شکمی خارج می‌شود.
اسپرم ریزی کرده (Spent male)	بیضه ها در این مرحله قرمز رنگ و بافت آنها سست می‌باشد.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

بیشترین میانگین قطر تخمک‌ها در اردیبهشت ماه و کمترین در مرداد ماه مشاهده شدند. افزایش تدریجی قطر تخمک‌ها از مرداد شروع شده تا فصل تخم‌ریزی بعدی که به حداکثر می‌رسند. در بررسی روند رسیدگی جنسی در دو جنس نر و ماده لای‌ماهی، اوج رسیدگی جنسی در ماهیان ماده در ماه‌های اسفند و فروردین رخ می‌دهد، بنابراین تخم‌ریزی از اردیبهشت شروع و تا اواخر تیر ماه ادامه می‌یابد.

هم‌آوری مطلق و نسبی

بررسی بر روی ۲۴ نمونه لای‌ماهی ماده مرحله ۴ و ۵ که دارای وزن ۵۰/۹ تا ۲۳۸/۲ گرم و میانگین ۴۱/۰۱±۹۹/۸۶ گرم و طول‌کل ۱۴۶ تا ۲۳۳ با میانگین ۲۲/۲۸ ± ۱۷۶/۹۳ میلی تر بودند و سنی معادل ۳ تا ۶ با میانگین ۰/۹۳ ± ۴/۰۰ سال داشتند. هم‌آوری مطلق بین ۱۴۰۸۶ تا ۱۵۳۶۰۰با میانگین ۲۸۲۰۵/۷ ±۳۶۳۶۲/۴ عدد و هم‌آوری نسبی بین ۱۷۰/۱ تا ۶۴۴/۸ با میانگین ۱۲۵/۰۲±۳۶۷/۹ عدد در ازای یک گرم ماهی ماده متغیر بود. با افزایش سن بر میزان هم‌آوری مطلق افزوده می‌شود، به طوریکه در ماهیان ۳ ساله (تعداد=۷) میانگین هم‌آوری مطلق ۹۷۴۸/۵ ± ۲۳۷۴۵/۴ عدد، در ماهیان ۴ ساله ها (تعداد=۱۳) میانگین هماوری مطلق ۱۲۳۲۰/۳±۳۱۳۸۱/۸ عدد، در ماهیان ۵ ساله ها (تعداد=۱) میانگین هم‌آوری‌مطلق ۰/۰±۳۵۶۷۲/۷ عدد و در ماهیان ۶ ساله‌ها (تعداد=۳) میانگین هم‌آوری مطلق ۵۷۳۹۵/۸±۸۷۶۱۴/۹ عدد می‌باشد. بین وزن بدن و هم‌آوری مطلق همبستگی بالایی وجود داشته (r۸۲=۰/۷۴) و معادله خطی برقرار است. همچنین بین هم‌آوری‌مطلق و طول کل بدن نیز میزان همبستگی بالا بوده (r۸۲=۰/۵۱) و معادله خطی پردازش گردید. با افزایش سن میزان هم‌آوری‌نسبی به طور نامنظم تغییر می‌نماید به طوریکه در ماهیان ۶ ساله ۱۶۲/۵± ۴۵۷/ محاسبه گردیده است.

بحث

در این تحقیق روند تکامل تخمدان و بیضه لای-ماهی در تالاب انزلی، منطقه سرخانکل و استخر پرورش واقع در شیلات سفیدرودآستانه اشرفیه با استفاده از مطالعات بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت. در لای‌ماهی ماده هشت مرحله تکامل تخمک را می‌توان مشاهده نمود. این تشریح مراحل تکامل تخمک مطابق با آنچه بود که در برخی مطالعات پیشین نیز بیان شده بود.

مطالعات‌گسترده‌ای درباره تغییر ساختار بافتی و مورفولوژی تخمدان در ماهیان استخوانی طی روند اووژنز توسط محققین مختلفی انجام شده‌است که این تحقیقات نشان می‌دهد که ماهیان استخوانی از دو نوع تخم‌ریزی برخوردار می‌باشند (Oropesa *et al*., 2015 ؛ Pula *et al*., 2018). نوع اول در بیشتر ماهیان دیده می‌شود مانند قزل‌آلا و ماهیان آزاد که نوع تخم‌ریزی آنها همزمان (syncronous) می‌باشند، بدین معنی که تخمک‌های رسیده در یک زمان از تخمدان خارج می-شوند،درحالی که در ماهیانی مانند لای‌ماهی از نوع (Asynchronous) می‌باشد. روند تخمک‌زایی بر طبق اندازه و محتویات تخمک‌ها به مراحل مختلف تقسیم می شود. تقسیم بندی مراحل تکامل تخمک‌ها فقط جهت تسهیل مطالعه است. برای مثال تکامل تخمک‌ها در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchvs mykiss*) به هشت مرحله، در سوزن ماهی (*Syngnathus scovelli*) و ماهی لجنی (*Labeo capesis*) به پنج مرحله، در

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

هیبرید تاس‌ماهی (بستر) به پنج مرحله و در کفال‌قرمز (*Mullus surmuletus*) به شش مرحله تقسیم شده است. که این تحقیقات نشان می‌دهد که لای‌ماهی نیز در تکامل تخمک‌ها همانند قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بوده و از هشت مرحله تبعیت می‌کند(Schreck *et* ؛ Dolomatov, 2012 ؛Benson, 1998 .(Arcand and *al*., 2001

خصوصیات محیطی مکان‌های تخم‌ریزی باعث القاء بلوغ نهایی تخمک‌ها، اوولاسیون و تخم‌ریزی می شود. ترکیب فصل مطلوب و محیط مطلوب تخم‌ریزی، احتمالاً باعث ایجاد بهترین شرایط جهت بقای لاروها و بچه ماهیان می‌شود. کنترل محیطی گامتوژنز هم بر اثرات بلند مدت جهت تکمیل گامتوژنز و هم اثرات سریع بر مراحل اسپرمیشن، اوولاسیون و تخم‌ریزی می شود. پرورش ماهی در شرایط مصنوعی آن‌ها را از دستیابی به شرایط مطلوب جهت تولید مثل محروم می-کند. این دلیل اصلی عدم انجام اوولاسیون و تخم‌ریزی در مولدین ماده‌ای که در شرایط پرورش نگهداری می-شود، می‌باشد. به وسیله دستکاری محیط مولدین، می-توان هم‌زمان تخم‌ریزی را تنظیم نمود و هم می‌توان در تمام طول سال تولید تخم و اوولاسیون و تخم‌ریزی را القا نمود. در مناطق معتدله، مهمترین عامل محیطی تاثیرگذار در تولید مثل طول روز و دما می‌باشد (Brion .(Mylonas *et al*., 2010 ؛ *et al*., 2004

زمان‌بندی محیط دوره تولیدمثل ماهی در سال‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته‌است. بیشترین ماهیان مورد مطالعه، آزادماهیان و کپورماهیان بوده‌اند. دوره‌نوری، مهمترین محرک محیطی است که زمانبندی تولید مثل در آزاد ماهیان را تعیین می‌کند. رشد توده‌ای اووسیت در قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل-آلای قهوه‌ای به موازات شروع کاهش طول روز، آغاز می‌گردد. دما تأثیر محدودتری برکامتوژنز آزادماهیان دارد. دوره‌های نوری نسبت به دما در زمان‌بندی دوره های تولید مثل در ماهیان دریای آبهای سرد نقش بیشتری دارد (Overturf *et al*., 2015 ؛ Zeilinger *et al*., 2009).

در ماهیان آب‌های گرم نظیر کپورماهیان،دما عامل تأثیرگذارتر می‌باشد، اگرچه دوره‌های نوری نیز در تنظیم گامتوژنز نقش دارد. لای‌ماهی هم مانندکپور ماهیان دیگر همزمان با افزایش دمای آب، تخم‌ریزی می‌نماید. چند هفته پس‌از تخم‌ریزی، در حالی که دما همچنان رو به افزایش است، دوره جدید گامتوژنز آغاز می‌گردد. تخمک‌ها مراحل زرده زایی را به سرعت طی می‌نمایند. در این‌زمان، دمای آب کاهش می‌یابد و تکامل تخمک‌ها تا بهار سال بعد متوقف می‌گردد. با افزایش مصنوعی دمای آب می‌توان دوره تخم‌ریزی کپورماهیان را طولانی‌تر نمود (Avlijas *et al*., 2017 ؛ Rojo *et al*., 2016). ماهی کفال‌خاکستری از ماهیان دریایی است که در زمستان تخم‌ریزی می‌نماید و گامتوژنز درآن توسط کاهش طول روز و دمای آب القاء می‌گردد. بنابراین اگر این ماهی در معرض روزهای کوتاه و دمای پایین قرار گیرند، می‌توان تخم-ریزی را القا نمود. تخم‌ریزی تحت تأثیر شرایط محیطی می‌باشد، این عوامل تخم‌ریزی ماهیانی که در شرایط پرورشی رشد می‌یابند را القا می‌نماید. در برخی از ماهیان که در تابستان تخم‌ریزی می نمایند مانند ماهی کپور معمولی آب گرم جهت تخم‌ریزی مورد نیاز است که از این نظر شباهت زیادی با لای‌ماهی دارد زیرا این ماهی نیز با گرم شدن آب شروع به تخم‌ریزی می‌کند. افزایش دمای آب برای برخی از گونه‌های ماهیان

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

بخصوص در کپورماهیان جهت القا تخم‌ریزی در شرایط پرورشی مورد استفاده قرار گرفته‌است. فصل تخم‌ریزی لای‌ماهی از اردیبهشت شروع شده و تا اواخر تیر پایان می‌پذیرد. این ماهی در شرایط طبیعی فقط یک‌بار در سال تخم‌ریزی می‌کند. درحالی که در ماهی‌کفال خاکستری تخم‌ریزی از مرداد تا مهرماه می‌باشد. در پژوهش حاضر، نیز فصل تخم‌ریزی لای‌ماهی از اردیبهشت تا اوایل مرداد تخمین زده شده‌است. میزان هم‌آوری مطلق با افزایش سن قابل توجهی افزایش می‌یابد. به‌سبب وجود این افزایش است که شاخص گونادوسوماتیک در ماهیان ماده نیز با افزایش سن اضافه می‌شود هر چه سن ماهی بالاتر می‌رود، تخم‌ها بزرگتر، چسبانکتر و سنگین‌تر شده و در عوض تعداد آن‌ها در یک گرم کاهش می‌یابد. ماهیان هر چه به زمان تخم‌ریزی نزدیک‌تر می‌شوند مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی در آنها افزایش یافته و بالعکس از طرفی هرچه از زمان تخم‌ریزی فاصله می‌گیرند مراحل اول و دوم بیشتر مشاهده می‌گردد. سن رسیدگی جنسی در لای‌ماهی در ماده ۳ سالگی و در نرها ۴-۳ سالگی بوده است که با نتایج Benzer در سال ۲۰۱۱ تطبیق دارد. و همچنین نسبت جنسی نر به ماده تقریباً ۱ : ۱ نمی‌باشد (Pimpicka, 1990). که این نسبت با اطلاعات بدست آمده در این تحقیق همخوانی می‌کند. میانگین شاخص گنادوسوماتیک ماهانه از ۰/۰۶ ± ۳۸ را در ماه مهر تا ۱/۰۳ ± ۸/۰۱ در ماده اردیبهشت تغییر می‌کند. میانگین تعداد تخمک‌ها در لای‌ماهی تخمین زده شده و بین ۱۷۰۴۷ ± ۲۳۴۰۳ می‌باشد (Benzer *et al.*, 2007). به طور کلی، وزن ماهی‌هاو سایر جانوران تحت تاثیر طول بدن افزایش می‌یابد. پس می‌توان گفت که در یک گونه طول و رشد با هم نسبت دارند. سن بلوغ جنسی در لای‌ماهی در دریاچه Mogan برای ماده ها ۳ سالگی و برای نرها ۴-۳ سالگی تخمین زده شد و همچنین در دریاچه Porsuk سن بلوغ جنسی در لای‌ماهی در ماده‌ها ۳ سالگی تعیین شد (Yilmaz, 2002). دوره تخم‌ریزی در Kapurukaya بین اواخر فروردین تا اوایل خرداد ماه تعیین شد(Yilmaz, 2002). از سوی دیگر این دوره در دریاچه Mogan و Porsuk به ترتیب در ماه‌های فروردین تا تیر و تیر تا شهریور تعیین شد (Benzer *et al.*, 2011) و همین‌طور این دوره در Kayabogaziدر ماه‌های خرداد- تیر تخمین زده شدو نیز بیان شدکه دوره تخم‌ریزی لای‌ماهی در دریاچه pamvotida در یونان در ماه‌های اردیبهشت تا خرداد می‌باشد. در پژوهش کنونی نیز دوره تخم‌ریزی از ماه اردیبهشت شروع شده و تا اواخر تیر ماه ادامه دارد. زمان این دوره تخم‌ریزی در لای‌ماهی درمحیط پرورشی به دلیل دمای بالاتر آب زودتر اتفاق افتاده و از فروردین‌ماه شروع می‌شود. طبق بررسی‌ها بر روی ریتم تولیدمثلی لای‌ماهی در نوسانات دما،درصد ماهی‌های ماده شرکت‌کننده در تخم‌ریزی بستگی به الگوی تغییرات دمایی در طول روز داشته و تنوع ریتم تولید-مثلی در فصولی که نوسانات دما بیشتر است بالاتر می‌باشد، و نیز در تحقیق کنونی هم وابستگی شدید دما و زمان تخم‌ریزی دیده شد که با افزایش دما، زمان تخم-ریزی فرا رسید و بهترین دما برای آن ۲۰-۱۹ درج سانتی‌گراد تخمین‌زده شد.

با توجه به نتایج بدست آمده می توان گفت که بیضه این ماهی از نوع لوبولار بوده و اسپرماتوژنز در ماهیان همزمان با ریخته شدن یا جذب اسپرم ها در فصل تخمریزی آغاز می شود و بتدریج تا اواسط پاییز پیشرفت می کند، با افزایش دما، میزان تولید مثل و هم-

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

آوری ماهیان نر و ماده افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین میانگین قطر تخمک‌ها درارديبهشت و کمترین در مرداد مشاهده شدند. اوج رسیدگی جنسی در ماهیان ماده در ماه‌های اسفند و فروردین بود. تخم‌ریزی ماهیان از ارديبهشت شروع و تا اواخر تیر ماه ادامه داشت. اووژنز و اسپرماتوژنز درمحیط های پرورشی زودتر از تالاب انزلی شروع میشود.

سپاسگزاری

از پژوهشگر گرامی شهریار تقی پورکوه بنه جهت پیشبرد اهداف علمی این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، محمد، ا.، نقوی، م.،۱۳۸۵. بررسی امکان ایجاد جنس تمام نر در ماهی گوپی *Poecilia reticulate* توسط هورمون ۱۷- آلفا متیل تستوسترون. مجله علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، ۱۰(۲)، ۲۷۹ - ۲۸۷.

2. Alaş A., Altındağ A., Yılmaz M., Kırpık MA., Ak. A., 2010. Feeding Habits of Tench (*Tinca tinca* L., 1758) in Beyşehir Lake (Turkey). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,10(2), 187-194.
3. Arcand-Hoy, L.D., Benson, W.H., 1998. Fish reproduction: an ecologically relevant indicator of endocrine disruption. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal,17(1), 49-57.
4. Avlijaš, S., Ricciardi, A., Mandrak, N.E., 2017. Eurasian tench (*Tinca tinca*): the next Great Lakes invader. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,75(2), 169-179.
5. Bagenal, T., 1978. Methods for assessment of fish production in fresh waters. IBP Handbook No. 3: Blackwell Science Publication.
6. Benzer, S. Ş., Ali, G. Ü. L., & Yilmaz, M. (2007). Breeding properties of Tinca tinca (L., 1758) living in Hirfanlı dam lake (Kırşehir, Turkey). *Su Ürünleri Dergisi*, *24*(1), 127-129.
7. Benzer, S., Gül, A., Yılmaz, M.. 2010. Growth properties of tench (*Tinca tinca* L., 1758) living in Kapulukaya Dam Lake, Turkey. University of Kastamonu Education Journal, 18(3), 839-848.
8. Benzer, S., Gül, A., Yılmaz, M., 2011. Breeding properties of *Tinca tinca* (L., 1758) living in Kapulukaya Reservoir (Kirikkale, Turkey). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(3), 375-882.
9. Biswas, S., 1993. Manual of methods in fish biology: South Asian Publishers, p.157.
10. Brion, F., Tyler, C. R., Palazzi, X., Laillet, B., Porcher, J. M., Garric, J., & Flammarion, P. (2004). Impacts of 17β-estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile-and adult-life stages in zebrafish (Danio rerio). *Aquatic toxicology*, *68*(3), 193-217.
11. Dolomatov, S. I., Zukow, W., Novikov, N. Y., Muszkieta, R., Bulatowicz, I., Dzierzanowski, M., ... & Strojek, K. (2012). The regulation of osmotic and ionic balance in fish reproduction and in the early stages of ontogeny. *Russian Journal of Marine Biology*, *38*(5), 365-374.
12. Elia, A.C., Dörr, A.J.M., Abete, M.C., Prearo M., 2010. Seasonal variability of detoxificant response and heavy metal accumulation in tissues of both sexes in *Tinca tinca* (L.) from Lake Trasimeno. Reviews in fish biology and fisheries, 20(3), 425-534.
13. FEIST, S. W., 2009. Atlas of fish histology-Edited by F. Genten, E. Terwinghe and A. Danguy. Journal of Fish Biology, 75(3), 757-758.

Downloaded from aqudev.liau.ac.ir at 14:45 +0430 on Sunday April 18th 2021

14. Horoszewicz, L., 1983. Reproductive rhythm in tench, *Tinca tinca*, in fluctuating,

temperatures. Aquaculture, 32(-2), 79-92.

15. Kujawa, R., Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Żarski, D., Targońska, K., 2011. Artificial spawning of common tench *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758), obtained from wild and domestic stocks. Aquaculture International, 19(3), 513-521.
16. Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S. 2010., Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and comparative endocrinology, 165(3), 516-534.
17. Nowosad, J., Żarski, D., Biłas, M., Dryl, K., Krejszeff, S., Kucharczyk, D. 2013. Dynamics of ammonia excretion in juvenile common tench, *Tinca tinca* (L.), during intensive rearing under controlled conditions. Aquaculture International, 21(3), 629-637.
18. Oropesa, A., Martín-Hidalgo,D., Fallola, C., Gil, M., 2015. Effects of exposure to 17-alpha-ethynylestradiol on sperm quality of tench (*Tinca tinca*). Ecotoxicology and environmental safety, 120, 318-325.
19. Overturf, M.D., Anderson, J.C., Pandelides, Z., Beyger, L., Holdway, D.A. 2015. Pharmaceuticals and personal care products: A critical review of the impacts on fish reproduction. Critical reviews in toxicology, 45(6), 469-491.
20. Owen, M.A., Davies, S.J., Sloman, K.A. 2010. Light colour influences the behaviour and stress physiology of captive tench (*Tinca tinca*). Reviews in fish biology and fisheries, 20(3), 375-380.
21. Pimpicka, E. (1990). Formation of fecundity of tench, *Tinca tinca* (L.) females in Lake Drwęckie. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 20(2), 129-141.
22. Pula, H.J., Trenzado, C.E., García-Mesa, S., Fallola, C., Sanz, A., 2018. Effects of different culture systems on growth, immune status, and other physiological parameters of tench (*Tinca tinca*). Aquaculture, 485, 101-110.
23. Richer, G., Desrochers, M., Guevin, R., Turgeon, F., Viallet, A., 1975. Hepatitis B antigen in Montréal blood donors: childhood institutionalization as an epidemiologic factor. Canadian Medical Association Journal, 112(1), 49.
24. Rojo-Bartolomé, I., de Cerio, O.D., Diez, G., Cancio, I., 2016. Identification of sex and female's reproductive stage in commercial fish species through the quantification of Ribosomal Transcripts in gonads. PloS one, 11(2), e0149711.
25. Schiel, D., 1994. Kelp communities. Marine Biology'(Eds LS Hammond and RN Synnot), 345-361.
26. Schreck, C.B., Contreras-Sanchez W., Fitzpatrick M.S., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture: Elsevier, 3-24.
27. Siwicki, A.K., Zakęś, Z., Terech-Majewska, E., Kazuń K., Lepa A., Głąbski E., 2010. Dietary Macrogard reduces Aeromonas hydrophila mortality in tench (*Tinca tinca*) through the activation of cellular and humoral defence mechanisms. Reviews in fish biology and fisheries, 20(3), 435-9.
28. Yilmaz, F., 2002. Reproductive biology of the tench *Tinca tinca* (L., 1758) inhabiting Porsuk Dam lake (Kutahya, Turkey). Fisheries Research, 55(1-3), 313-317.
29. Zeilinger, J., Steger-Hartmann, T., Maser, E., Goller, S., Vonk, R., Länge, R., 2009. Effects of synthetic gestagens on fish reproduction. Environmental Toxicology and Chemistry, 28(12), 2663-2670.