مطالعه رشد و نمو جنینی ماهی سفید
Rutilus frisii Kutum (Kamensky)

دکتر کاظم پریور، صفیه بهزادی*، مهندس بهرام رضوی
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران
مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، بندر انزلی

چکیده:
مراحل رشد و نمو جنینی ماهی سفید با نام علمی Rutilus frisii Kutum (Kamensky) که گونه بومی سواحل جنوبی دریای خزر می‌باشد، بصورت جدول زمانی مورد مطالعه قرار گرفت. علت انتخاب این ماهی اهمیت اقتصادی و اختصاصی بودن آن برای آب‌های داخلی ایران می‌باشد.
دو درجه حرارت ۱۴ تا ۱۶ درجه سانتی گراد، ۲۴ مرحله، رشد و نموی با تاکید بر مراحل اولیه شکافتگی ها (cleavages) و مورفولوژی ساختمان ها و اندام‌های خارجی و داخلی با استریو میکروسکوپ و میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت.
لقاح بطور مصنوعی انجام گردید. تخم‌های لقاح یافته پس از شستشو (برای

* نگارندهٔ مقاله

جلوگیری از بهم چسبیدن) در انکوباتورهای شیشه ای نگه داری شده و پس از خروج لاروها از پوسته تخم، به استخرهای کوچک مخصوص نگه داری لارو انتقال داده شدند.

بعلت نیمه شفاف بودن پوسته تخم در این ماهی، برای مطالعه کلیواژ و مراحل اولیه رشد و نمو تا قبل از خروج لارو، کوریون یا پوسته تخم به کمک دو سوزن ظریف در زیر استریومیکروسکوپ برداشته شد، مراحل رشد و نمو، از مرحلهٔ ۱ یا تخم قبل از لقاح تا ۳۰ روز بعد از لقاح در نظر گرفته شد. در تمام مراحل از نمونه ها مقاطع سریال بافتی تهیه گردید و از آنها عکس و اسلاید گرفته شد و همچنین وزن و طول آن ها برای آنالیزهای آماری محاسبه گردید.

در دمای ۱۴ تا ۱۶ درجه سانتی گراد، تخم ها اولین تقسیم کلیواژی را پس از ۲ ساعت انجام میدهند وگاسترولاسیون ۲۰ تا ۳۰ ساعت بعد از لقاح شروع میشود، جوانه جنینی پس از ۳۰ تا ۴۸ ساعت قابل تشخیص میگردد و اکثر جنین ها پس از ۲۱۶ ساعت شروع به خروج از پوسته تخم می کنند، زرده در روز شانزدهم کاملاً جذب میشود و مرحله لارو شناگر از این زمان آغاز میگردد.

مقدمه:

مطالعات رشد و نمو، در گونه های مختلف ماهیان بصورت تعیین رشد و نمو طبیعی (normal development) و یا تعیین جدول زمانی رشد و نمو (time table) قبلاً نیز توسط محققینی از جمله Oppenheimer در ۱۹۳۷ Swarup در ۱۹۵۸ Child و Armstrong در ۱۹۶۵ انجام گردیده است. اما با وجودی که مطالعه رشد و نمو جنینی ماهی سفید در ارتباط با تاثیر درجه حرارت توسط Gulidov, popova انجام پذیرفته بود، بعلت برمی بودن و تعلق این ماهی به سواحل جنوبی دریای خزر (سواحل اختصاصی ایران) و اهمیت اقتصادی آن برای ایران، ضروری بنظر میرسید که جنین شناسی این ماهی در اینجا نیز مورد بررسی قرار گیرد، لذا در این کار تحقیقاتی جدول زمانی رشد و نمو نرمال این ماهی ارائه گردیده است.

بعلت نیمه شفاف بودن کوریون در این گونه، ما مجبور بودیم در هر مرحله ابتدا کوریون را برداشته و سپس مراحل رشد و نمو پیدایش اندام ها و ساختمان های خارجی را دنبال کنیم و برای مطالعه رشد و نمو اعضاء داخلی نیز پس از آماده سازی از نمونه ها مقاطع بافتی تهیه گردیده و به کمک استریو میکروسکوپ و میکروسکوپ نوری بررسی های لازم صورت گرفت.

مواد و روش ها:

این کار تحقیقاتی از اواسط فروردین ماه که زمان مهاجرت و تخم ریزی این ماهی در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه های واقع در ایران می باشد، در آزمایشگاه تحقیقاتی ساحل غازیان بندر انزلی انجام گردید، بمنظور لقاح مصنوعی و پرورش ، تعدادی ماهیان مولد نر و ماده پس از صید از رودخانه لمیر به کارگاه آورده شدند و در استخرهای مخصوص نگه داری مولدین با سیستم آب بسته نگه داری شدند. لقاح در محیط خشک انجام گردید، باین ترتیب که ابتدا ماهیان ماده را از استخر خارج نموده و پس از پاك کردن منفذ تناسلی آنها، با فشار دادن ناحیه شکمی، تخم ها در ظرف پتری تخلیه گردیده و بلافاصله اسپرم ماهی نر که با همین روش گرفته میشد بآن اضافه گردید برای جلوگیری از بهم چسبیدن تخم ها و لقاح کامل، آنها را به ملایمت مخلوط کردیم، سپس تخم ها به انکوباتورهای شیشه ای ۷ لیتری که جریان آب، آن ها را پالایش می داد منتقل گردیده و تا مرحله شکفتن آنها و خروج لاروها از پوسته تخم، در این ظروف نگه داری شدند. جهت مطالعه رشد و نمو مراحل مختلف جنینی و تهیه یک جدول زمانی که از تخم قبل از لقاح تا ۳۰ روز بعد از لقاح را شامل میشد، نمونه برداری بعمل آمده و برای این منظور نمونه ها در محلول بوئن فیکسه گردیده و آنگاه بکمک درجات صعودی الکل اتیلیک آبگیری شده و با شفاف کردن به وسیله' تولوئن برای قالب گیری در پارافین با درجه ذوب ۵۰ تا ۵۷ آماده شدند سپس از آن ها مقاطع ۷ میکرونی سریال طولی و عرضی تهیه گردیده و با رنگ آمیزی هماتوکسیلی - ائوزین برای چسباندن و مطالعات میکروسکوپی آماده گردیدند از مقاطع بافتی عکس های استرئو میکروسکوپی و میکروسکوپی تهیه شد.

نتایج:

مراحل رشد و نمو ماهی سفید از زمان قبل از لقاح تخم تا ۱۶ روز بعد از لقاح که زرده بطور کامل جذب شده و لارو شروع به شنا کردن و تغذیه اگزوژنوس می کند در نظر گرفته شده است. در درجه حرارت ۱۴ تا ۱۶ درجه سانتی گراد، تخم ها اولین شکافتگی را پس از ۲ ساعت و گاستروولاسیون را پس از ۳۰ تا ۴۸ ساعت بعد از لقاح انجام میدهند، جوانه جنینی در ۴۸ تا ۵۰ ساعت بعد از لقاح قابل رویت میگردد و عمل از تخم درآمدن در ۲۱۶ تا ۲۲۵ ساعت بعد از لقاح و جذب کامل زرده در روز ۱۶ به پایان میرسد، خلاصه ای از مهمترین وقایع در زمان های مربوط به آن در جدول شماره ۱ نشان داده شده و تصاویر هر مرحله در

تصویر شماره ۱ تا تصویر شماره ۲۰ دیده میشود.

مرحله صفر (تخم قبل از لقاح): تخم قبل از لقاح حدود ۲ میلیمتر قطر و ۲/۵ - ۲ میلی گرم وزن دارد، کوریون نیمه شفافی اطراف تخم را پوشانده است، زرده بصورت گرانولهای زرده‌ای می‌باشد و کوریون در این گونه ماهی دارای زوائد و انشعابات زیادی میباشد.

مرحله ۱، (۰ تا ۱ ساعت بعد از لقاح): در روی کوریون میکروپیل که راه ورود اسپرم به داخل تخمک است ظاهر میگردد و بلافاصله بعد از لقاح بسته میشود، در اثر فشرده شدن زرده، فاصله‌ای بین زرده و کوریون ایجاد میشود که فضای پری ویتیلن نام دارد. تخم لقاح یافته بعلت جذب آب از منافذ کوریونی حجیم و محکم میشود، (تصویر شماره ۱)

مرحله ۲، ۱ تا ۲ ساعت بعد از لقاح (کوریون برداشته شده است): در اثر فشردگی زرده بخشی از سیتوپلاسم تشکیل برجستگی اولیه یا دیسک ژرمینال را بر روی قطب حیوانی که کمی تیره بنظر میرسد میدهد که بلافاصله مقدمات تشکیل سطح شکافتگی بر روی آن ایجاد میگردد. (تصویر شماره ۲ مقایسه برجستگی اولیه و اولین سطح شکافتگی بر روی آن).

مرحله ۳، (۲ تا ۳ ساعت بعد از لقاح): مرحله ۲ سلولی (تصویر شماره ۳)

مرحله ۴، (۴ تا ۱۵ : ۵ ساعت بعد از لقاح): دومین تقسیم کلیواژی و ایجاد ۴ بلاستور (تصویر شماره ۴)

مرحله ۵، (۶ تا ۱۵ : ۶ ساعت بعد از لقاح): مرحله ۸ تا ۱۶ سلولی، در این مرحله ۴ ردیف ۴ تائی از چهارمین تقسیم میتوزی بوجود میآید که بصورت یک لایه قرار میگیرد، کم‌کم در اندازه سلولها نیز تغییر ایجاد میگردد (تصویر شماره ۵)

مرحله ۶، (۸ تا ۵ : ۸ ساعت بعد از لقاح): این مرحله مطابق با شروع مورولا است که بعلت درشت بودن سلولها، مورولای درشت سلولی نیز نامیده میشود (تصویر شماره ۶)

مرحله ۷، (۱۰ تا ۱۴ ساعت بعد از لقاح): کم‌کم اندازه سلولها در مورولای درشت سلولی کوچک‌تر میشود و مرزهای بین سلولی ناپدید میشوند و تقسیمات در قطب جانوری سریعتر میشود و مورولای پیشرفته قابل رویت میگردد.

مرحله ۸، (۱۴ تا ۱۸ ساعت بعد از لقاح): شروع بلاستولا، تقسیمات پی در پی مورولا را به بلاستولا تبدیل می‌کند که مشخصه آن شروع دو لایه‌ای شدن میباشد. سلولهای مرکزی بلاستودیسک شروع به استوانه‌ای شدن می‌کنند و مقدمات دو لایه‌ای شده را فراهم میکنند و همزمان با این تغییرات در بلاستودرم مرکزی،

پریبلاست نیز که اکنون بصورت سینسیتیوم درآمده شروع به پوشاندن زرده می کند. (تصویر ۷)

مرحله ۹، (۲۰ تا ۳۰ ساعت بعد از لقاح): بلاستولای برجسته را در سطح زرده می توان مشاهده کرد (تصویر ۸)

مرحله ۱۰، (۳۰ تا ۴۸ ساعت بعد از لقاح): بلاستولا خودش را گسترش می دهد بطوریکه مسطح شدن (expand) آن نشانه عبور از بلاستولا به گاسترولا میتواند در نظر گرفته شود، در ماهیان گاسترولا با ضخیم شدن حاشیه زیرین بلاستودیسک و تشکیل برجستگی حاشیه‌ای آغاز میگردد که بخشی از آن حلقه ژرمینال میباشد که از آن اکتودرم خارج جنینی و صفحه جنینی (shield embryonic) بوجود میآید، حرکات گاسترولائی در ماهیان از نوع درون خزیدگی (امبولیک) است، اما زرده توسط پریبلاست و اکتودرم خارجی جنینی بصورت رو خزیدگی (اپی بولیک) پوشانده میشود (تصویر شماره ۹)

مرحله ۱۱، (۶۸ تا ۷۲ ساعت بعد از لقاح)، شروع نورولاسیون و نورولاسیون پیشرفته: در ماهیان صفحه عصبی تشکیل میشود ولی چین عصبی خیلی بکندی ظاهر میگردد و پیش فرم لوله عصبی در ماهیان فاقد حفره است، بطن های مغزی بعداً تشکیل میشوند. در مرحله انتهای نورولاسیون توپی زرده کوچکتر شده (دهانه بلاستوپور) و شروع تشکیل جوانه جنینی در این مرحله می باشد (تصویر شماره ۱۰)

مرحله ۱۲، (۸۴ تا ۹۶ ساعت بعد از لقاح): شروع ارگانوژنز و تشکیل جوانه جنینی، در جوانه جنینی اکنون مغزها شروع به مشخص شدن می کنند و سه بخش اصلی مغز قابل رویت میشود، فشردگی بافتی که در ناحیه سینه شکل گرفته تشکیل سومیت ها را نشان میدهد. مغز قدامی در اثر رشد لُب های بینائی گسترش بیشتری یافته، حبابهای شنوائی شکل گرفته، عدسی تشکیل شده ولی هنوز از جام بینائی بیرون نزده است، با کمی دقت حفره پریکاردیال را در جلو سر مشاهده می کنیم، در اواخر این مرحله سومیت ها تشکیل شده‌اند و میوتوم ها (تصویرهای ۱۱ و ۱۲) در دم قابل تشخیص اند.

مرحله ۱۳، (۱۲۰ تا ۱۲۸ ساعت بعد از لقاح): در این مرحله مغزها بیشتر گسترش یافته و بطن های مغزی از ناحیه لُب بینائی شروع به تشکیل می کنند، شبکه خونی عروق در سطح زرده کاملاً نمایان است، در اثر پیشرفت حفره پریکاردیال سر تا حدودی از زرده بلند میشود، قلب در حال شکل گیری است. (تصویر شماره ۱۳)

مرحله ۱۴، (۱۴۴ تا ۱۵۰ ساعت بعد از لقاح): در این مرحله پیگمان های چشم

مشخص شده، عدسی حفره چشم را کاملاً پر کرده و با کمی دقت چشم ها حتی از روی کوریون نیز قابل مشاهده می باشند، دم طویل شده و بصورت حلقه روی سر قرار می گیرد، در دم بخشی از نخاع را در بالای نوتوکورد می بینیم، حفره های قلبی شکل گرفته ولی از خون خالی هستند (تصویر ۱۴).

مرحله ۱۵، (۱۶۸ تا ۱۸۷ ساعت بعد از لقاح): بعلت سیاه شدن چشم این مرحله را تخم چشم زده گویند، سر هنوز به زرده متصل است، دم طویل تر شده و به زرده متصل است، قلب دارای خون می باشد ولی پر خون نیست هنوز قوس های برانشی قابل تشخیص نیستند (تصویر ۱۵).

مرحله ۱۶، (۱۹۳ تا ۲۰۵ ساعت بعد از لقاح): تخم ها در این مرحله آماده شکفتن هستند، قلب در این مرحله پر خون می شود، بخش هائی گوش داخلی شکل گرفته اند و قوس های برانشی نمایان می باشند. (تصویر ۱۶).

مرحله ۱۷، (۲۱۶ تا ۲۲۵ ساعت بعد از لقاح): در این مرحله برانشی ها در دو طرف حلق قرار گرفته اند، کانالهای نیم دایره قابل رویت هستند، باله سینه ای مشخص شده مزونفروس ها نیز نمایان هستند. (تصویر ۱۷).

در لارو ۱۰ روزه شکفته شده، سر تا حدودی خود را از کیسه زرده جدا کرده ولی زرده هنوز در شنا کردن مزاحمت ایجاد می کند، اپرکول موقعیت اصلی خود را بازیافته است.

مرحله ۱۸، (۲۴۰ ساعت بعد از لقاح): مرحله لارو شناگر، در این مرحله وجود زرده اجازه مانور را در شنای ماهی نمی دهد ولی کیسه زرده کوچکتر شده و جانور می رود که شکل طبیعی خود را کسب کند (تصویر ۱۸).

مرحله ۱۹، (۲۸۸ ساعت بعد از لقاح): کاهش کیسه زرده، مشخص شدن اورگان های حسی پوستی، افزایش پیگمان ها بخصوص در ناحیه سر و پشت حیوان، حرکات سریعتر شده اند (تصویر ۱۹)

مرحله ۲۰، (۲۳۶ ساعت بعد از لقاح): کاهش کیسه زرده، در این مرحله حرکات باله ها و اُپرکول هماهنگ شده و دهان نیز باز می باشد.

مرحله ۲۱، (۳۸۴ ساعت بعد از لقاح): مرحله جذب کامل زرده و آغاز تغذیه اگزوژنوس و مرحله لارو شناگر. (تصویر ۲۰)

بحث و نتیجه:

در انواع ماهیان اشکال مختلف تولیدمثلی وجود دارد که عمده ترین آنها روش تولیدمثلی دو جنسی می باشد. در بعضی از آنها بکرزائی و هرمافرودیسم نیز دیده

می شود، بیضه ها و تخمدان ها در ماهی های استخوانی در زیر کیسه شنا قرار دارد و برخلاف ماهی های غضروفی و استخوانی پست دارای مجاری مستقل می باشند و هیچ ارتباطی با کلیه در آن ها دیده نمی شود. (Miller, Lagler) بیضه ها حدود ۱۲٪ وزن بدن را تشکیل می دهند و تخمدان بستگی به زمان و دوره جنسی اندازه های متفاوتی را نشان می دهند و در ماهی سفید تخمدان ها گاهی در مراحل رشد کامل خود تا ۳۵ درصد وزن بدن نیز می رسند.

خانواده کپور ماهیان بین ۲ ـ ۵ سالگی بالغ می شوند و در بیشتر آنها نرها زودتر بالغ می شوند، فاکتورهای محیطی از جمله طول روز و شب و درجه حرارت آب موثر است، طبق فرضیه ارائه شده توسط Balon درسال ۱۹۸۵ مرزبندی بین مراحل مختلف رشدونمو در ماهیان، ظهور یک تغییر مهم مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و یا پدیده های حسی می باشد.

چگونگی رشدونمو ماهی سفید در مقایسه با سایر ماهیان، مورد بررسی قرار گرفت طبق مطالعات Shikhshabekov درسال ۱۹۷۹، ماهی سفید که از ماهیان مهاجر محسوب می شود در فصل تخم ریزی بصورت دستجات چندتائی حرکت می کنند و با توجه به میزان درجه حرارت مسافت های مختلفی را طی می کنند، ماهیان مولد در هنگام تخم ریزی از خود حرکات و رفتارهائی را نشان می دهند که در اثر این حرکات گاهی از سطح آب نیز قابل رویت هستند. تخم ها در ماهی سفید نیز همانند سایر ماهی های استخوانی دارای کوریون می باشد که از یک ماده موکوسی پوشیده شده است (Haystrom and Lonning,۱۹۸۳)، این کوریون فاقد سلول و متشکل از سه لایه می باشد که ضمن گذشتن از لوله عبور تخم کامل می شود، کوریون دارای مجاری و کانال های بسیار ظریف و همچنین زوائد میکروسکوپی است که تبادلات گازی و اتصال به تخم های دیگر را امکان پذیر می کنند، همچنانکه در تصویر شماره ۱ دیده می شود تخم ها در ماهی سفید توسط همین زوائد کوریونی است که بیکدیگر و یا به تخته سنگ های بستر خود می چسبند طبق مطالعات(Berhesen،۱۹۸۶) کوریون دارای ۹۵٪ پروتئین می باشد، از مهمترین تفاوت ها میان تخم های ماهیان چگونگی تجمع زرده و قطرات چربی می باشد. تحقیقات(Shirokove Woodhed ، ۱۹۷۷) نشان می دهد که زرده یا بصورت پلاک های بهم فشرده و یا به صورت کریستالی و مایع وجود دارد در ماهیان استخوانی زرده از نوع پلاک های زرده‌ای است که در هنگام لقاح بعلت عبور سیتوپلاسم و تشکیل دیسک ژرمینال بهم فشرده می شوند، و همچنین طبق مطالعات (Lange, R.H, ۱۹۸۲) نوع سومی از شکل زرده نیز دیده می شود که مختص ماهی های،

استخوانی آب شیرین می باشد، در این ماهیان دانه های زرده ای وجود دارد بطوریکه در شکل شماره ۱۹ دیده می شود در ماهی سفید گرانول های زرده کاملاً مشخص می باشند. چون بین زرده و کوریون مایع دور زرده ای وجود دارد، برداشتن کوریون آسیبی به قسمتهای زیرین آن وارد نمی آورد، برداشتن کوریون بصورت یک دریچه در بالای بلاستو دیسک و دنبال کردن تحولات جنینی برای اولین بار در سال ۱۹۲۷ توسط Nicholas انجام گرفت و سپس توسط Oppenhiemer در سال۱۹۴۲ جهت تعیین میزان پتانسیل اولیه در بلاستومرهای مشابه انجام گردید.

در ماهیان نیز همانند دوزیستان پدیده درقطبی شدن در همان اوائل لقاح انجام می گیرد (Balon,1989). همچنانکه در تصویر شماره ۱ مشاهده می کنیم، در تخم لقاح یافته قطب جانوری کمی تیره تر نسبت به قطب گیاهی می باشد. در این مرحله سیتوپلاسم همراه با هسته از میان زرده عبور کرده و در ناحیه زیر و نزدیک میکروپیل قرار گرفته است. مکانیسم چگونگی سخت شدن پوسته تخم پس از جذب آب در ماهیان طبق مطالعاتی که توسط Ahlstrom, E. H. و Crawford, C. M. در سال۱۹۵۴ انجام گردیده باین صورت است که هنگامیکه پس از لقاح تخم در آب قرار می گیرد، انقباض کوچکی در توده زرده بعلت بیرون آمدن مواد کلوئیدی موجود در زرده بداخل فضای پری وتیلین ایجاد می شود و این کلوئید باعث می شود که مقدار قابل ملاحظه ای آبی به درون تخم نفوذ کرده و حجم تخم را افزایش دهد، (افزایش حجم تخم را در تصویر شماره ۱ در مقایسه با تخم قبل از لقاح بوضوح می توان دید). چون مواد کلوئیدی برخلاف آب و الکترولیت ها قادر به خروج از منافذ تخم نیست، لذا در فضای پری وتیلین باقی می ماند و آنقدر این عبور یک طرفه آب ادامه می یابد تا تعادل برقرار گردد و از آن پس دیگر تغییر زیادی در حجم تخم دیده نمی شود همچنانکه در تصویرهای شماره ۲، ۳، ۴، و ۵ می بینیم در ماهیان تقسیمات کلیواژی تنها قطب جانوری را شامل می شود و حتی در مراحل بعدی کلیواژ تمامی ناحیه قطب جانوری را نیز در برنمی گیرد بلکه طبق مطالعات(Bouvet, ۱۹۷۶) بخش خارجی بلاستودیسک، سنسیتیومی، از سلول ها را برجود می آورد که در ساختمان پریدرم شرکت می کنند که تنها بعنوان یک لایه خارج جنینی عمل می کند(Blainsk,۱۹۴۸).

مطالعات قبلی نشان داده که افزایش درجه حرارت می تواند رشدونمو را تسریع کند بطور مثال طبق تجربیات Avtalion, Galman درسال ۱۹۸۹، ماهی Oreochro-niloticus mis در ۲۹ ـ ۲۷ درجه سانتی گراد پس از ۱۰ روز رشدونمو جنینی خاتمه

می یابد در صورتیکه در ۳۷ درجه سانتی گرادا دوره رشدونمو به ۸ روز کاهش می یابد، طبق تجربیاتی که توسط Gulidov, M. V. Popova, K. S. درسال ۱۹۸۲ انجام گرفت تخم ماهی سفید در درجه حرارت های ۲ تا ۲۲ درجه سانتی گراد قرار داده شد، درجه حرارت مناسب برای انکوباسیون، ۱۶ درجه سانتی گراد تعیین گردید، در این درجه حرارت ۱۰۰٪ تخم ها مراحل رشدونموی خود را بپایان رسانیدند زمان از تخم درآمدن لاروها نیز بستگی مستقیم به درجه حرارت دارد و در حرارت های بالاتر، این زمان کوتاهتر می شود. درجه حرارت علاوه بر تأثیر روی مراحل رشدونموی و تسریع کردن آن، بر روی پیگمانتاسیون لاروها نیز اثر مشخص دارد، طبق مطالعات Crawford, C. M. که بر روی یکی از کپور ماهیان با نام علمی Rutilus rutilus (ماهی کلمه) انجام گردید، نشان داده شد که نور بر روی اندازه و شکل ملانوفورها موثر است، چنانکه تاریکی موجب پخش شدن و نور موجب جمع شدن و انقباض آنها می شود، بنابراین می توان نتیجه گرفت که واکنش و عکس العمل ملانوفورها در واقع یک عمل آداپتاسیون در مقابل نور می باشد.

در هنگام انکوباسیون تخم ها در اطاق انکوباسیون تاثیر درجه حرارت در رشدونمو ماهی سفید بوضوح مشخص گردید بطوریکه زوک هائی که در مجاورت نور بیشتری قرار داشتند، مراحل چشم دار شدن لاروها و شکفتن آنها بمراتب زودتر نسبت به زوک های دیگر انجام گردید، از طرفی تغییرات رنگ در اثر پراکندگی و ایجاد ملانوفورها نیز در زوک های مذکور قابل مشاهده بود. بنابراین طبق مطالعات (Avtalion Galman ، ۱۹۸۹) و سایر محققین قبلی، چنین دستکاری هائی در حرارت و دمای انکوباسیون می تواند کاربرد معنی داری برای تولید سریعتر لاروهای شناگر ماهیان و رها کردن آنها به آب های طبیعی داشته باشد. این مسئله از نظر اقتصادی حائز اهمیت بسیاری است.

مهمترین وقایع در رشدونمو ماهی سفید در مقایسه با سایر کپورماهیان به شرح زیر می باشد:

مرحله ۴ سلولی بعد از ۴ تا ۴/۵ ساعت بدنبال لقاح اتفاق می افتد. در حرارت ۱۴ تا ۱۶ درجه سانتی گراد، در فوندولوس (Armstrong ، ۱۹۶۵) ، ۳/۵۲ ساعت بعد از لقاح و با کمی اختلاف همین زمان نیز توسط Oppenheimer تعیین گردیده است.

شروع گاسترولاسیون ۲۰ تا ۳۰ ساعت بعد از لقاح در ماهی سفید و در فوندولوس در مرحله ۲۷ ساعته و در درجه حرارت ۱ ± ۲۰ درجهٔ سانتی گراد، در حالیکه در(ochromis niloticus (Galman ، ۱۹۸۹ ، ۲۴ ساعت بعداز لقاح

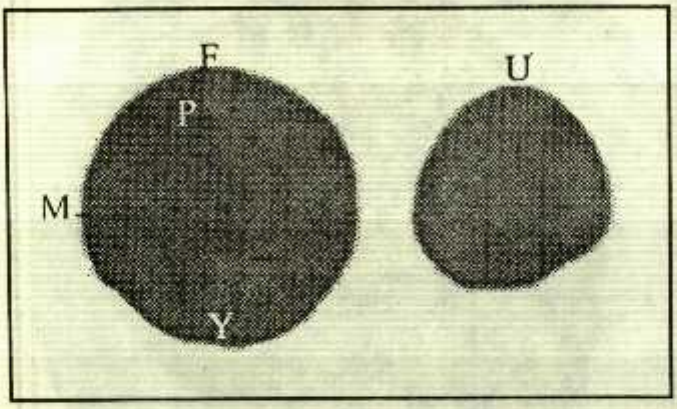
ردرجه حرارت ۲۴ تا ۲۶ درجه سانتی گراد رخ می دهد. در مرحله ۱۴ در فاصله ۶ تا ۷ روز بعد از لقاح تخم های ماهی سفید دارای چشم مشخص می شوند که از روی سطح کوریون قابل مشاهده است، در حالیکه در نیلوتیکوس در ۶۵ ساعت بعد از لقاح و در فوندولوس ۱۶۴ ساعت بعد از لقاح دیده می شود.

تشکیل ملانوفورها در جنین ۵ - ۶ روزه ماهی سفید شروع می شود و این ملانوفورهای ابتدا از سطح پشتی جنین شروع به گسترش می کنند (البته ملانوفورها روی سطح زرده قبل از خود جنین ظاهر می شوند) شروع شکل گیری سومیت ها در ۴۰ تا ۵۷ ساعت بعد از لقاح و در جنین ۳ - ۴ روزه تشکیل قلب از مهمترین وقایع می باشد. بسته شدن بلاستوپور در تخم ۴۰ تا ۵۰ ساعته انجام می گیرد. بطورکلی رشدونمو این گونه ماهی پس از ۱۶ روز تکمیل می گردد و در روز شانزدهم جذب کامل کیسه زرده پایان مرحله رشدونمو جنینی را اعلام می دارد، از روز شانزدهم به بعد تغییراتی در چگونگی پراکندگی ملانوفورها که اکنون علاوه بر سطح پشتی بر سطح شکمی و اندام های داخلی (بخصوص آئورت پشتی) نیز تشکیل گردیده است، ایجاد می گردد و همچنین وضعیت و شکل سر نیز در خانواده کپور ماهیان از تغییراتی است که بعد از رشدونمو جنینی نیز در لاروها دستخوش تغییرات می شود.

با تشکر از سازمان تحقیقات و آموزش شیلات ایران و مرکز تحقیقات شیلات بندرانزلی که در تامین اعتبار این کار تحقیقاتی نقش بسزائی داشته اند.

تصویر شماره ۱ : استریوفتومیکروگراف از تخم لقاح نیافته و تخم لقاح یافته بزرگنمائی ۶۴×

U ـ تخم لقاح نیافته F ـ تخم لقاح یافته Y ـ زرده P - فضای پری وتیلین M ـ میکروپیل



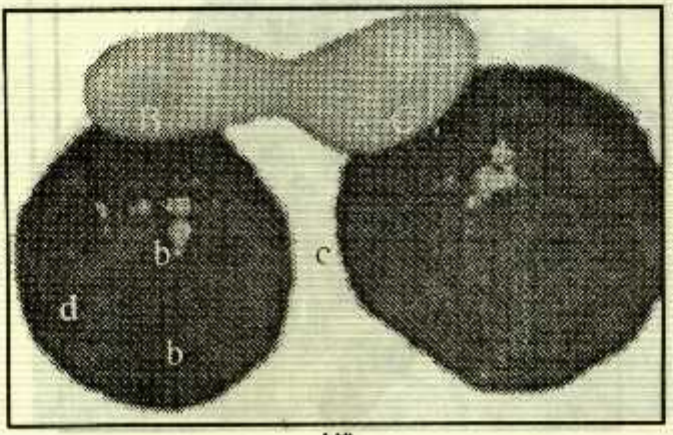
تصویر شماره ۲ : استریوفتومیکروگراف از مقایسه Cap پروتوپلاسمی اولیه و اولین شکافتگی کلیواژی

بزرگنمائی ۱۰۰×

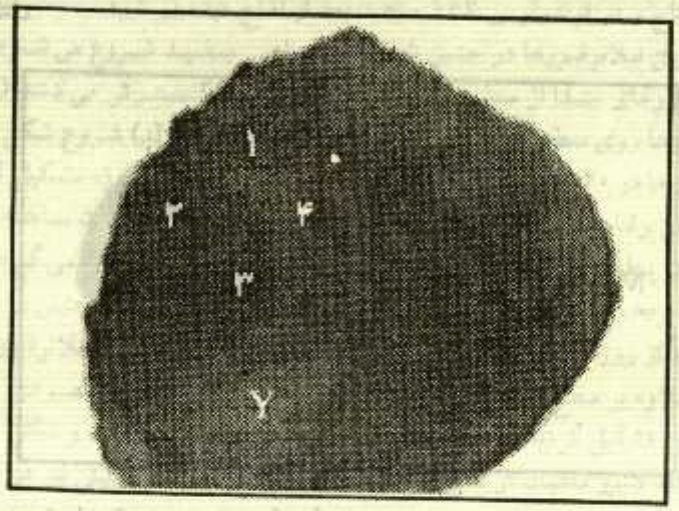
c = برجستگی پروتوپلاسمی اولیه در تخم ۱ ساعته

b = دوبلاستومر در تخم ۲/۵ ـ ۲ ساعته

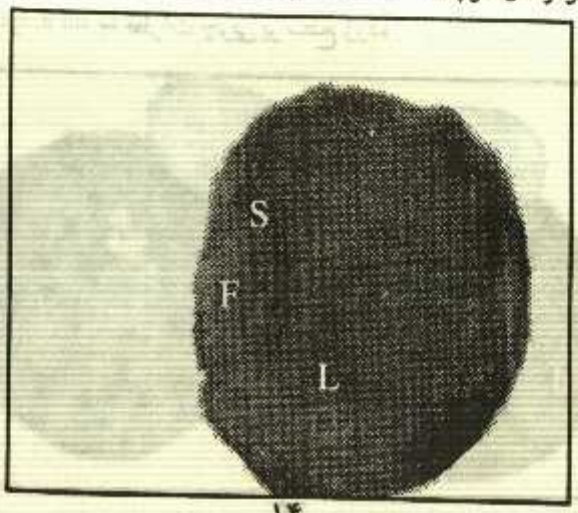
d = oil droplet یا قطرات چربی بر سطح زرده



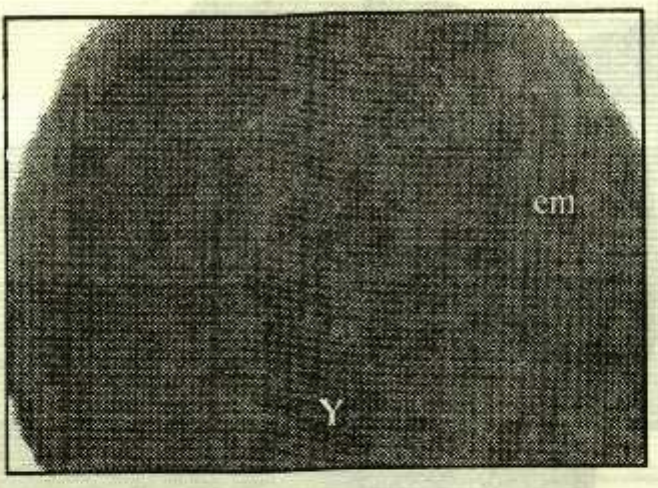
تصویر شماره ۳: مرحله ۴ سلولی با بزرگنمائی بیشتر. بزرگنمائی ۲۵۲× ۱ و ۲ و ۳ و ۴ = بلاستومر
Y- زرده



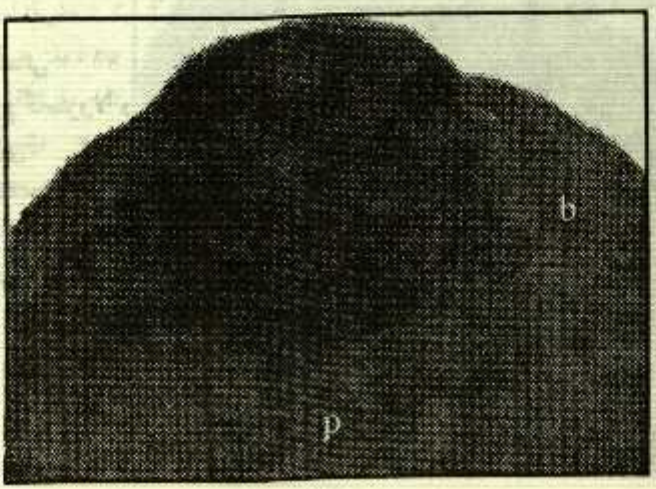
تصویر شماره ۴ ـ استریوفوتومیکروگراف از مرحله ۱۶ تا ۳۲ سلولی در تخم بدون کوریون ۷ ـ ۶ ساعته.
بزرگنمائی ۱۰۰×
S بلاستومرهای کوچک L = بلاستومرهای بزرگ F = فضای دور زرده‌ای



تصویر شماره ۵ ـ استریوفتومیکروگراف از مرحله آغاز مورولا earlymorola در تخم بدون کوریون ۸ ساعت بعد از لقاح. بزرگنمائی ۶۴×
cm = مورولای ابتدائی Y = زرده

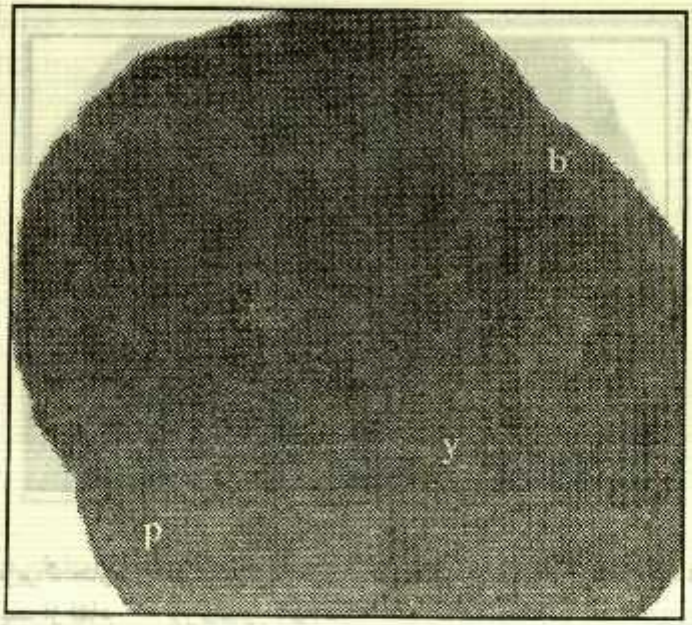


تصویر شماره ۶ ـ استریوفوتومیکروگراف از بلاستولای ابتدائی ۱۴ ـ ۱۲ ساعت بعد از لقاح بزرگنمائی ۲۵۲×
b = بلاستودیسک cap مانند برسطح زرده p = پری بلاست periblast محیطی

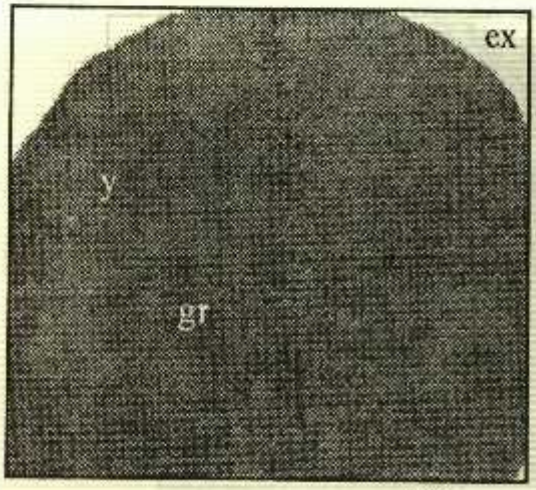


تصویر شماره ۷ ـ استریوفوتومیکروگراف از بلاستولای ۱۸ ـ ۱۴ ساعت بعد از لقاح، انتهای بلاستولا. بزرگنمائی ۲۵۲×

b = بلاستودیسک p = پری بلاست y = زرده



تصویر شماره ۸ : ۳۰ ـ ۲۰ ساعت بعد از لقاح، مرحله گاسترولاسیون در تخم بدون کوریون ماهی سفید، استریوفوتومیکروگراف.



بزرگنمائی ۱۰۰×

شروع گاسترولا و تشکیل حلقه جنینی.

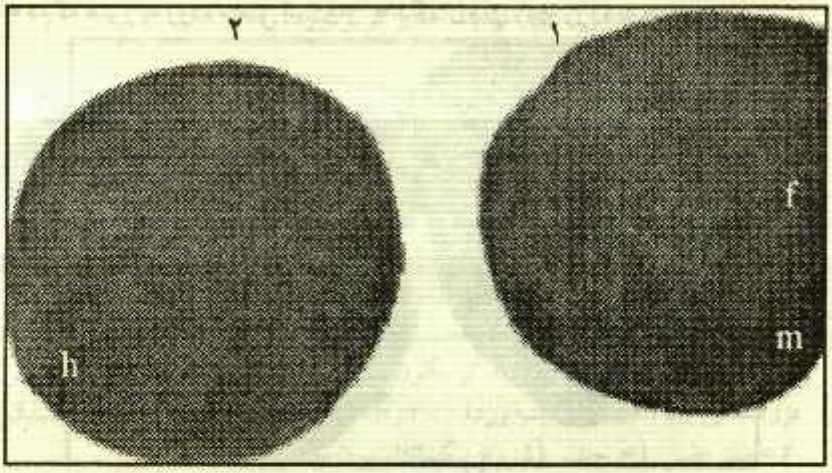
gr = حلقه جنینی

ring germ

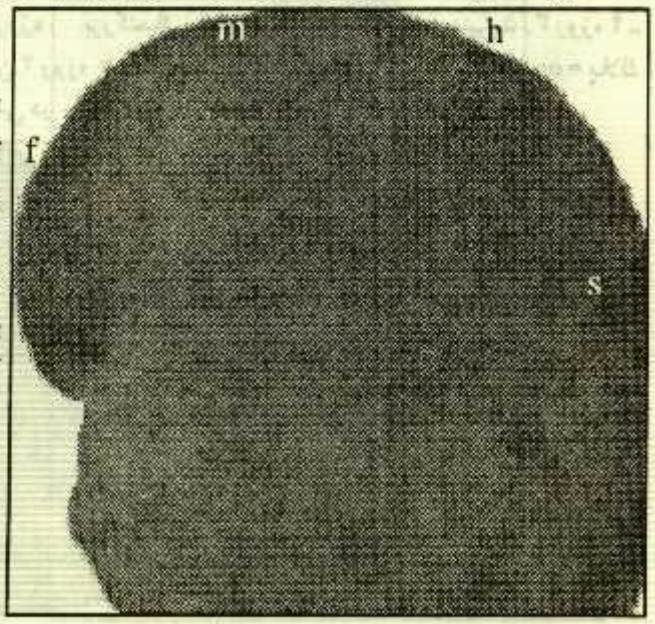
ex = اکتودرم خارج جنینی

تصویر شماره ۹ ـ استریومیکروگراف از نورولاسیون پیشرفته در جنین ۴۰ ـ ۴۸ ساعته ماهی سفید، بزرگنمائی ۱۶۰×

۱ ـ جنین را از ناحیه دم مشاهده می کنیم ۲ ـ جنین را از ناحیه سر مشاهده می کنیم ۲ ـ h, m, f = سه بخش اصلی مغز (مغز قدامی، میانی و عقبی)



تصویر شمالی ۱۰ ـ استریوفوتومیکروگر اف از جنین ۲/۵ روزه ماهی سفید



بزرگنمائی ۲۵۲×

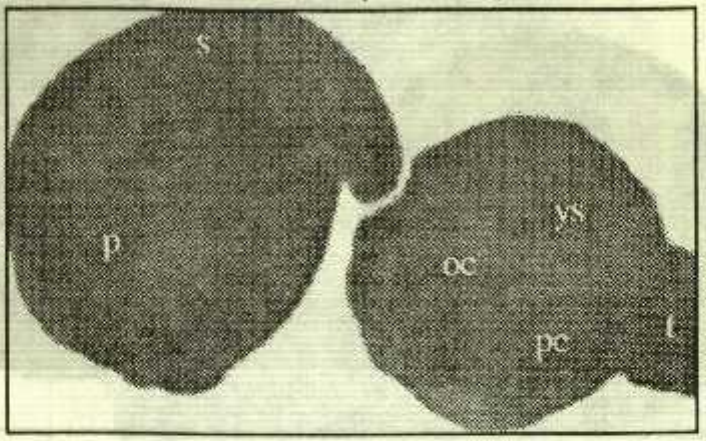
f = مغز قدامی

m = مغز میانی

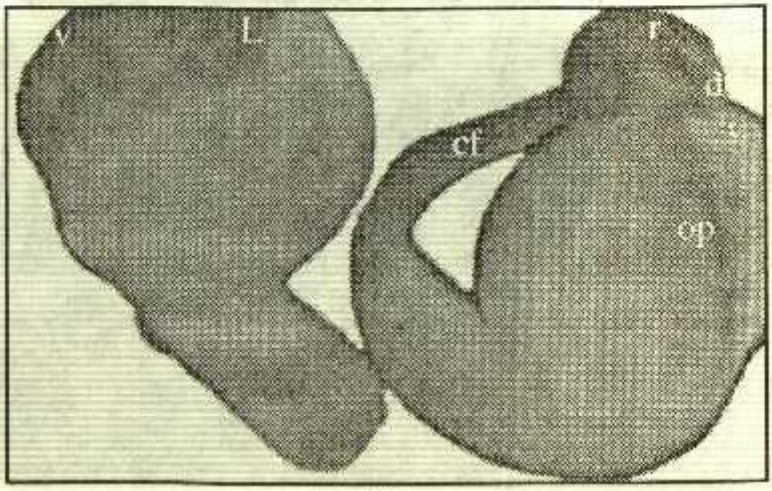
h = مغز خلفی

s = فشردگی بافتی در جایگاه تشکیل سومیت

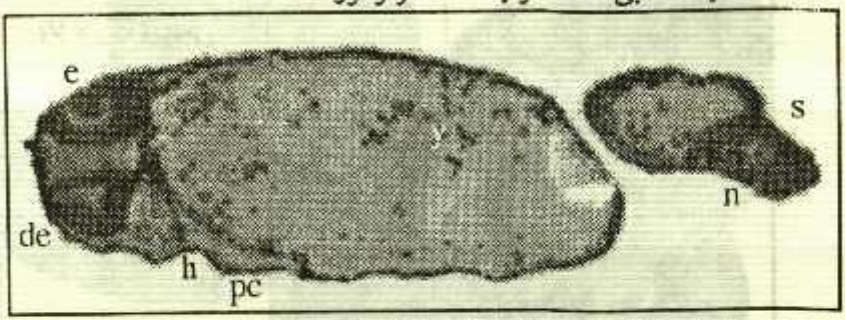
تصویر شماره ۱۱ : استریوفوتومیکروگراف از جنین ۷۲ ساعته یا ۳ روزه ماهی سفید بزرگنمائی ۱۰۰× ys =کیسه زرده که اگر با دقت بآن توجه شود پیگمان‌های در حال تشکیل در روی آن قابل مشاهده است oc = جام بینائی (عدسی تشکیل شده ولی هنوز قابل تشخیص نمی‌باشد pc = حفره پریکاردیال که در حال گسترش بطرف عقب می‌باشد. t = دم که هنوز به زرده متصل است p = پیگمان‌های روی زرده s = سومیت.



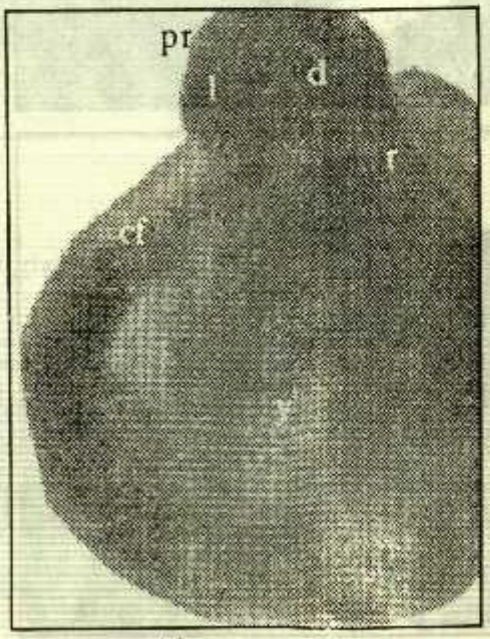
تصویر شماره ۱۲ : استریوفوتومیکروگراف از جنین بدون کوریون ۹۶ ـ ۸۴ ساعته، ۴ ـ ۳/۵ روزه بزرگنمائی ۱۶۰× ۱ ـ ۸۴ ساعته یا جنین ۳/۵ روزه ۲ ـ ۹۶ ساعته یا جنین ۴ روزه v = بطن r = مغز جلوئی d = مغز میانی op = پلاك شنوائی cf = باله دمی در حال تشکیل L = عدسی چشم.



تصویر شماره۱۳ فوتومیکروگراف از برش سهمی (Sagital) جنین ۴ روزه
بزرگنمائی ۱۶۰×
e = چشم با عدسی کاملاً مشخص y = زرده درون کیسه زرده
pc = حفره پریکاردیال de = مغز میانی (دینسفالن)
h = تشکیلات قلبی s = سومیت n = نوتوکورد.



تصویر شماره ۱۴ : استریوفوتومیکروگراف از جنین ۵/۵ روزه (بدون کوریون)
بزرگنمائی ۲۵۲× y = کیسه زرده pr = مغز جلوئی d = مغز میانی (دینسفالن)
r = مغز عقبی l = چشم (شروع پیگمانتاسیون چشم).



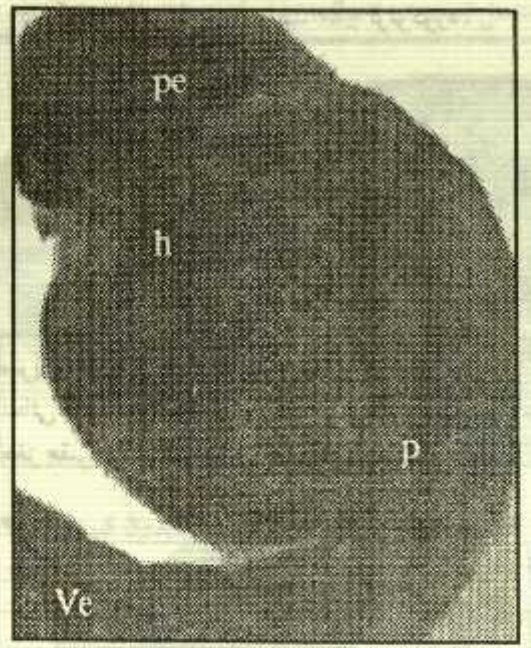
تصویر شماره ۱۵ : استریوفوتومیکروگراف از جنین ۶/۵ ـ ۶روزه (بدون کوریون) بزرگنمائی ۲۵۲×

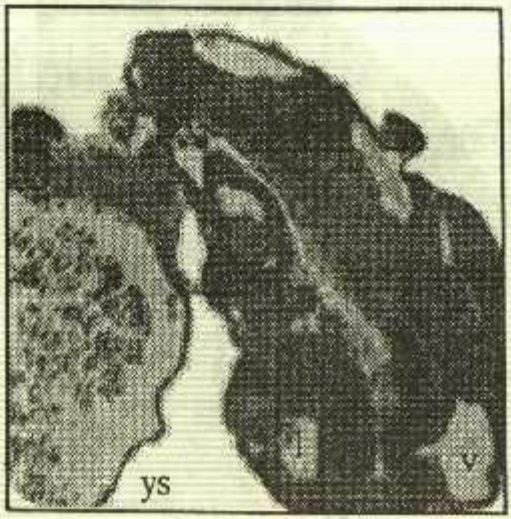
pc = اپی تلیال کیسه زرده، که تجمع سلولی باله سینه ای در زیر آن نمایان است

p = پیگمان های روی زرده که نسبت به مراحل قبلی مشخص تر شده است

h = قلب

Ve = رگ زیردمی





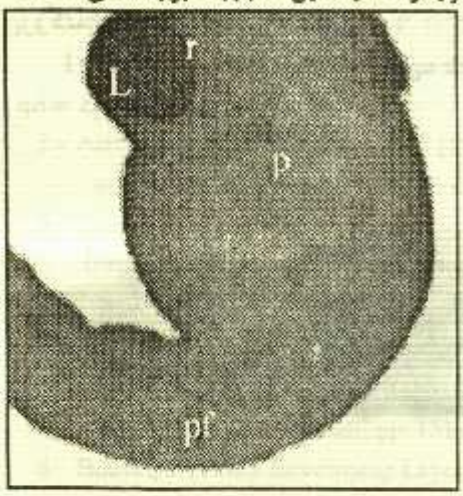
تصویر شماره ۱۶ : فوتومیکروگراف از برش سهمی ج نین ۷/۵ روزه بزرگنمائی ۶۳×

V = بطن مغز

ys = کیسه زرده

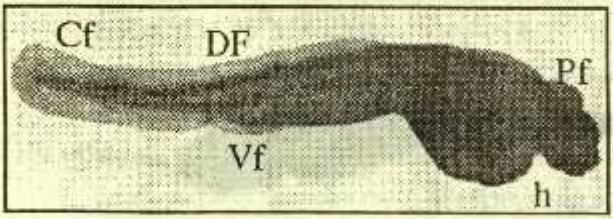
l = عدسی چشم

تصویر شماره ۱۷ : استریوفوتومیکروگراف از جنین ۸ روزه، بزرگنمائی ۲۵۲×



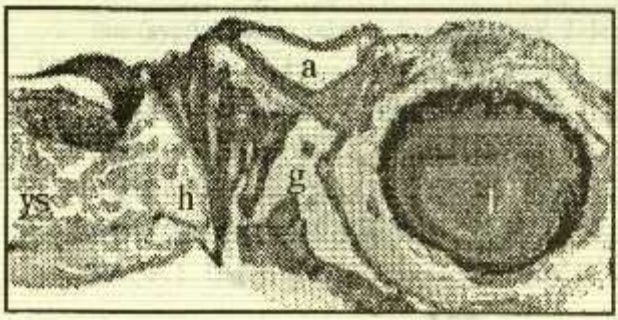
L =عدسی چشم
pf = باله سینه‌ای که کاملاً رشد کرده
p = پیگمانهای ستاره شکل ملانوفور

تصویر شماره ۱۸ : استریوفوتومیکروگراف از لارو ۱۰ روزه: درشتنمائی ۱۰۰×



pf = کوش
DF = باله پشتی
Cf = باله دمی
Vf = باله شکمی
h = تشکیلات قلبی

تصویر شماره ۱۹ ـ فوتومیکروگراف از برش جبهه ای لارو ۱۰ روزه: بزرگنمائی ۱۴۰ ×



l = عدسی چشم
a= حفره گوش
h = قلب
ys = کیسه زرده
g = برانشی

تصویر شماره ۲۰ : استریوفوتومیکروگراف از لارو ۱۶ روزه ماهی سفید بزرگنمایی ۲۵۲×

I = فک ، ar = بخشی از حفره گوش ، h = قلب ، به دهلیز و بطن توجه شود.

hp = کبد ، R = مغز عقبی .

تصویر شماره ۲۱ : استریوفوتومیکروگراف از لارو ۱۶ روزه، بزرگنمائی ۲۵۲×

منابع

1 - Ahlstrom, E. H., and Ball, O. P. (1954). Description of eggs and larvae of Jack Mackerel (Trachurtus symmetricus). Fish Bull., 56 (97), 200 - 245.

2 - Armstrong, P. B. and Child, J. S. (1965) Stages in the normal development of Fudulus heteroclitus. Biol. Bull. 128, 143 - 168.

3 - Balinsky, B. I. (1948). On the development of specific characters in cyprinid fishes. Proc. 2001. soc. Land. 118, 335 - 344.

4 - Balon, E. K. (1984), Reflections on some decisive events in the early life of fishes. Trans. Am. Fish - soc. 113, 178 - 185.

5 - Billard, R., Gatty, J. L., (1986). Biology of gametes, eggsand embryos. In Aquaculture of Cyprinids, pp. 151 - 161 Research Agronomic.

6 - Bouvet, J. (1976). Enveloping Layer and Periderm of the trout embryo (Salmo trutta fario L.). Cell Tiss. Res. 170, 367 - 382.

7 - Crawford, C. M. (1986). Development of egg and larvae of the Flounder Rhombosolea tapivina and ammoretis rustratus (Pisces Pleurovectidae), J. Fish Biol. 29, 325 - 339.

8 - Dettlaff, T. A. and Ginsburh, A. S. (1945). The embryonic development of the sturgeons. Biol. Bull., 143, 12 - 25.

9 - Galman, O. R. and Avtalion, R. R(1989). Further Study of the embryonic development of Oreocho romis nitoticus, rsing scunning electron microscopy. J. Fish Biol. (1989) 34, 653 - 664.

10 - Gray, T. (1928). the growth of the fish. III. The effect of temperature on the development of the eggs of Salmo fario. J. Exp. Biol., 6, 125 - 130.

11 - Gulidov, M. V. and Popova, K. S. (1982). Egg survival hatching dynamics and morphologycal peculiarities of prolarvae of Rutilus frisii kutum (syprinidae). in relation to temperature. J. Ichthyol. 22, 81 - 89.

12 - Gulidov, M. V. and Popova, K. S. (1979). The hatching aynamic and morphological features of larvae of roach, Rutilus rutilus, in relation to incubation temperature. J. Ichthyol. 19, 87 - 92.

13 - Hagstrom, B. E. and Lonning, S. (1968). Electron microscopic studies of unfertilized and fertilized eggs from marine teleosts. Sarsia, 33, 73 - 80.

14 - Karl, F. L. Lagler, John, E. Bardach. Robert, R. Miller. Ichthyolygy,

The study of fishes. CH 10: 251 - 310.

15 - Lange, R. H., Gvodzinski, W. (1982). Yolk - Platelet crystalslu three ancient bony fishes. Cell tissue Res. 222, 159 - 165.

16 - Lonning, S. (1972). Comparative electron microscopic studies of teleostean eggs with special reference to the chorion. Sarsia 49, 91 - 98.

17 - Oppenheimer, J. M. (1973). The normal stages of Fundulus heteroclitus. Ana. Rec., 68, 1 - 15.

18 - Oppenheimer. J. M. (1936). Potencies for differentiation in the Teleostea an germ ring. J. exp. 20001. 79, 185 - 212.

19 - Oppenheimer. J. M. (1936). Processes of localization in developing Jundalus. J. exp. 2001. 73, 405 - 444.

20 - Oppenheimer, J. M. (1947). Organization of teleost blastoderm, Quari Rev. Biol. 22, 105 - 180.

21 - Razavi, B. Pou, N. H. (1979). Artificial spawning and culturing of Rutilus frisii kutum (Kamensky) in the year (1976 - 1977) 2535. Report of the siminar on fishery technology education, July 11 - August.

22 - Shikhshabekov, M. M. (1979). The reproductive of the "kutum" Rutilus frisii Kutum in the water of Dagestau. J. Ichthyo, Vol, 19, No. 3, pp. 98 - 105.

23 - Shirokova, M. Y. (1977). Peculiarities of the sexual maturation of females of the Baltic cod. J. Ichthol. 17, 574 - 581.

24 - Swarup, H. (1958). Stages in the development of the stichleback. Gasterosteus aclucatus (L.). J. Embryol. exp. Morph, 6, 373 - 83.

25 - Wilson, H. V. (1891). The embryology of the sea bass (Serranus atrartus). Bull, U. S. Fish Comm. , 209 - 278.

26 - Zarbalieva, T. S. (1987). Information on the feeding of the "kutum", Rutilus frisii kutum, along the western coast of the suothern Caspian Sea, J. Ichthyol, Vol, 27, No. 4, pp, 170 - 173.

The choronological development of embryo in Rutilus frisii kutum (Kamensky).

[1]Dr. Kazem Parivar, [*]Saffiea Behzadi,
[2]Bahram Razavi.
Islamic Azad University Tehran, North branch
Guilan Fisheries research centre.

ABSTRACT

The chronological development of Rutilus frisii kutum (Kamensky), from Caspian Sea was investigated. Artificial propagation was carried out by stripping sperm on the eggs. The gamets were gently mixed for 5 minutes, then incubated at 14 - 16 °C in 8 liter glass incubatores. Development of embryos including, organogenesis and different choronological developmental stages were followed up morphologically and histologically.

As the chorion is semitransparent in this species, we forced to dechorionate the eggs. So the chorionic envelopes of the embryos were removed under stereomicroscope using two fine needles. Weight and length of the samples at each stage were measured for statistical analysis. The embryos were prepared for serial sectioning and microscopic studies. The developmental stages were investigated from 5 minutes after fertilization up to day 30. Fertilized eggs cleaved, and gastrulation began within 24 - 30 hours. Most of the embryos

* - Submittor
1,2 - Supervisors

began to hatch out of chorion (Vitelline membranee) at 216 hours (10 days after fertilization) and resorption of the yolk material were completed in day 16. After this stage, the larvae matured and began to swim up and feed on, fish food (swim up, fry stage). Twenty - four stages of embryonic development of this fish at 14 - 16 °C have been described with emphasis on the cleavage stages, and morphogenesis of external organs and body tissues.