

## بررسی ریزساختار زونا ردیاتا در تخمک قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از هنگام پیدایش تا پس از لقاح

علی مقدم<sup>۱\*</sup>، شهربانو عریان<sup>۲</sup>، نادر شعبانی‌پور<sup>۳</sup>

۱- دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، پست الکترونیکی: moghaddam7@yahoo.com  
۲- استاد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، پست الکترونیکی: sh\_oryan@yahoo.com  
۳- دانشیار جانور شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، پست الکترونیکی: shabani@guilan.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۶

\* نویسنده مسؤل

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۴

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۵، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

### چکیده

در مقاله حاضر، زمان پیدایش و چگونگی تغییرات ناحیه شعاعی (زونا ردیاتا) پیرامون تخمک‌ها و سلول‌های تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان در مراحل گوناگون رشد و نمو و ارتباط آن با مکان زندگی و تخم‌ریزی این ماهی بررسی شد. اوایل هفته دوم و سوم آذر ماه، برای بررسی تخمک‌های نارس، ماهی‌های مولد از مرکز تکثیر و پرورش قزل-آلای تهیه و تخمدان آن‌ها جدا شد. در پایان آذر، با مالش و فشار ناحیه شکمی ماهی‌های مولد، تخمک‌های رسیده و اسپرم از آن‌ها گرفته شده و تعدادی از تخمک‌ها لقاح داده شدند. مطالعه مقاطع بافتی نشان داد که زونا ردیاتا در تخمک‌های مرحله آلوتول‌های قشری به صورت یک نوار متجانس، بی‌شکل و بدون سلول پدیدار می‌شود. در مرحله زرده‌سازی، این ناحیه از نظر تعداد کانال‌ها و پیچیدگی ساختاری به اوج خود رسید. در تخمک رسیده دولایه‌ای شده (ZRe و ZRi) و از پیچیدگی ساختاری آن کاسته شد. این کاهش تا پس از لقاح ادامه داشت که می‌تواند نشانگر تغییر کارکرد آن از نوع تغذیه‌ای به حفاظتی باشد. لایه‌ی ژله‌ای (ZRe) در تخمک قزل‌آلای رنگین‌کمان بسیار باریک به نظر می‌رسید. با توجه به این که این ماهی تخمک‌ها را در چاله‌های بستر (که خود حفر می‌کند) می‌ریزد، این یافته منطقی به نظر می‌رسد، زیرا در این صورت نیاز به چسبیدن تخمک‌ها به بستر و محافظت از آن‌ها کم‌تر خواهد بود.

کلمات کلیدی: زونا ردیاتا، تخمک، قزل‌آلای رنگین‌کمان، محافظت.

### ۱. مقدمه

زندگی بسیاری از این گونه‌ها را به چالش کشیده است. بررسی دقیق بیولوژی تولیدمثل این گونه‌ها می‌تواند در ماندگاری دودمان آن‌ها نقش به‌سزایی داشته باشد. شناخت دقیق پوشش‌های پیرامون تخمک ماهی‌ها پژوهشی پایه‌ای است که می‌تواند زمینه‌ساز دانش

ماهی‌ها پرشمارترین و موفق‌ترین مهره‌داران زنده هستند (Kaviani et al., 2013)، ولی شرایط کنونی کره زمین ادامه

نخستین و آلوئول‌های قشری)، مرحله زرده‌سازی و مرحله پس-زرده‌ای (رسیدگی) (Unal et al., 2005; Cakici and (Ucuncu, 2007). در این پژوهش بنیادی، مراحل گوناگون رشد و نمو تخمک قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از ارزشمندترین ماهی‌های پرورشی و خوراکی از خانواده آزادماهیان (Salmonidae) و ریزساختار زونا ردیاتا پیرامون تخمک‌های آن، پیش و پس از عمل لقاح شناسایی و به صورت کاربردی رابطه معماری این ناحیه با محیط ارزیابی می‌شود. از دستاوردهای این‌گونه پژوهش‌های پایه‌ای می‌توان در بررسی‌های بیوسیستماتیکی و فیلوژنتیکی (Li et al., 2000)، مدیریت درست و حفظ ذخایر ماهی‌های زینتی و خوراکی با ارزش اقتصادی، همچنین افزایش و پرورش آن‌ها با فراهم کردن محیط مناسب برای زندگی و تخم‌ریزی ماهی‌ها بهره برد.

## ۲. مواد و روش‌ها

برای بررسی مراحل رشد تخمک و ناحیه زونا ردیاتا پیرامون تخمک‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان، در اوایل هفته دوم و سوم آذرماه، برای بررسی تخمک‌های پیش از رسیدگی، ماهی‌های مولد بالغ از مزرعه تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان واقع در جاده اسالم-خلخال تهیه و تخمدان‌های آن‌ها جدا شد. اواخر آذرماه، با فشار و ماساژ ناحیه شکمی، تخمک‌های رسیده و اسپرم از مولدین گرفته و تعدادی از تخمک‌های رسیده بارور شدند. همه نمونه‌ها (تخمدان‌ها، تخمک‌های رسیده و سلول‌های تخم) به وسیله محلول بوئن تثبیت گردیدند. از آنجا که تخمک‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسیار درشت و پرزده هستند، پس از تثبیت بسیار سفت شده و برش‌گیری از آن‌ها دشوار می‌شود. برای برطرف کردن این تنگنا، نمونه‌ها ۲۴ ساعت در محلول ۰/۵ مولار EDTA با pH ۷/۸ قرار گرفتند. سپس برای آب‌گیری به متانل ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد و برای شفاف‌سازی به گزلیل انتقال داده شدند. در ادامه، دو مرحله ۲۰ دقیقه‌ای در حمام پارافین درون انکوباتور با دمای ۵۷ °C گذاشته شده و به صورت بلوک‌های پارافینی در آورده شدند. پس از سرد شدن بلوک‌های پارافینی، با دستگاه میکروتوم روتاری<sup>۱</sup>، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر گرفته و به روی لام دارای چسب آلبومین انتقال داده شدند. لام‌های رنگ-

لازم برای حفظ، افزایش و پرورش آن‌ها باشد. این پوشش‌ها چندلایه هستند که گاهی همه با هم و گاهی نزدیک‌ترین بخش به اوولما- غشای زرده‌ای<sup>۱</sup> - زونا ردیاتا نامیده می‌شود (Zelazowska, 2010). زونا ردیاتا ناحیه‌ای بدون سلول است که در بیرون غشای پلاسمایی تخمک<sup>۲</sup> پدید می‌آید. این ناحیه با رشد ریزپرزا (میکروویلی‌ها) از تخمک و سلول‌های فولیکولی به سوی هم و ترشح مواد به وسیله این سلول‌ها در میان آن‌ها، رفته-رفته رشد کرده و ضخیم‌تر و پیچیده‌تر می‌شود. معماری برونی و درونی آن در بیش‌تر ماهی‌ها متفاوت است که گمان نمی‌رود حتی در میان گونه‌های یک سرده<sup>۳</sup> یکسان باشد (McMillan, 2007). کارکردهای عمده پوشش‌های پیرامون تخمک عبارتند از: ثابت کردن تخمک‌ها روی بستر تخم‌ریزی، جذب اسپرم، جلوگیری از پلی‌اسپرمی، محافظت ضدباکتریایی و مکانیکی و فراهم کردن کشسانی تخمک‌ها. برای رویان در حال نمو، این پوشش‌ها تبادل گاز، دفع و ترابری مواد از محیط بیرون را امکان‌پذیر می‌سازند (Rudiger and Rudiger, 2002; Zelazowska, 2010; Esmali (and Gholamifard, 2012). همچنین به عنوان یک چشم‌انداز، پوشش تخم ماهی‌ها را می‌توان یک دیده‌بان زیست-محیطی<sup>۴</sup> برای آلاینده‌های بوم‌شناختی در نظر گرفت (Berois et al., 2011). ویتلوژنین و پروتئین‌های زونا ردیاتا می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی دارای اطلاعات سودمند<sup>۵</sup> در برابر اثرات زیانبار اندوکروینی مواد شیمیایی و پساب‌ها کاربرد داشته باشند (Arukwe and Goksoyr, 2003). ویتلوژنین (یک فسفولیپوگلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالا)، در جگر ماهی‌های ماده رسیده ساخته شده و به گردش خون رها می‌شود و سپس به وسیله تخمک‌های در حال تکوین برداشت شده و به پروتئین‌های زرده تجزیه می‌شود (Keyvanshokoo and Vaziri, 2008; Show et al., 2012). پروتئین‌های زونا ردیاتا نیز که در شماری از ماهی‌ها، از ۲ تا ۴ مونومر پروتئینی عمدتاً رشته‌ای ساخته شده اند، سرنوشت مشابهی دارند (Celius et al., 2000). این پروتئین-ها خنثی بوده و کلسیم نیز به همراه دارند (Ortiz-Delgado et al., 2008). فرآیند تکوین تخمدان یا رشد و نمو تخمک ماهی‌ها به مراحل زیر قابل تقسیم است: مرحله پیش‌زرده‌ای (رشد

<sup>1</sup> Vitelline envelope

<sup>2</sup> Oolemma

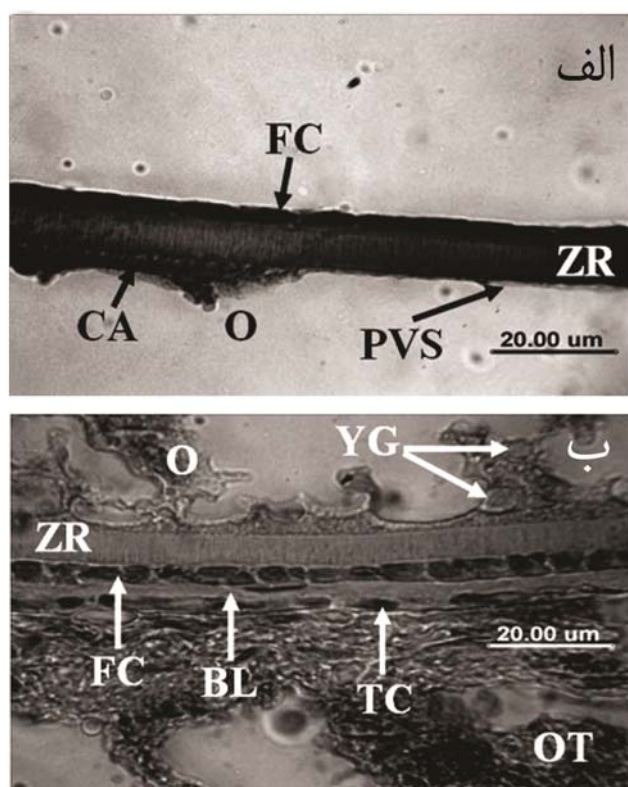
<sup>3</sup> Genus

<sup>4</sup> Biomonitor

<sup>5</sup> Informative biomarkers

<sup>6</sup> Leitz. WETZLAR

Striations یا stria زونا ردیاتا که همان ریزپرزها و کانال‌ها هستند، سیمای نرده‌مانندی به خود گرفته و آلوتول‌های قشری در زیر اوولما مشاهده شدند. با پیشرفت این مرحله، بر شمار سلول‌های گرانولوزا افزوده شده و از حالت سنگفرشی به صورت مکعبی در آمدند. در بخش بیرونی سلول‌های گرانولوزا، یک تیغه پایه و پس از آن سلول‌های تکا نیز دیده شد که با هم اپیتلیوم فولیکولی نامیده می‌شوند (شکل ۲ الف، ب).



شکل ۲ الف، ب: تخمک در مرحله زرده‌سازی: O: اووپلاسم، ZR: زونا ردیاتا، FC: سلول فولیکولی (گرانولوزا)، BL: تیغه پایه، TC: سلول تکا، CA: آلوتول‌های قشری، PVS: فضای دور زرده‌ای، YG: دانه‌های زرده، OT: بافت‌های تخمدان (مویرگ و بافت‌های میان فولیکولی دیگر).

### ۳-۳ مرحله‌ی رسیدگی یا پس‌زرده‌ای<sup>۷</sup>

قطر تخمک و ضخامت زونا ردیاتا در این مرحله به بیشینه اندازه خود رسیدند (میانگین، به ترتیب ۲۶۱۰ و ۲۷ میکرون). در سطح بیرونی زونا ردیاتا که در این مرحله زونا ردیاتای درونی (ZRi) نامیده می‌شود، یک لایه‌ی باریک‌تر و غیرمخطط مشاهده گردید که زونا ردیاتای بیرونی (ZRe) نامیده می‌شود. این لایه،

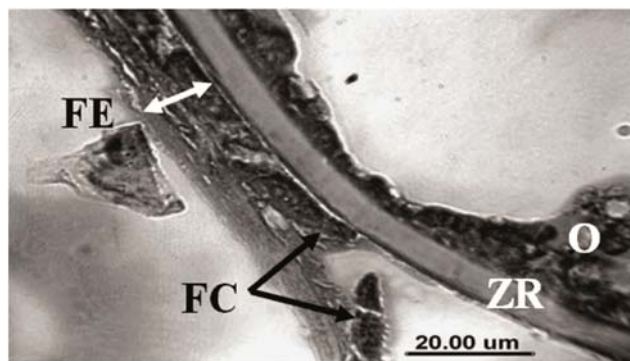
<sup>7</sup> Maturation or post-vitellogenic stage

آمیزی شده با روش هماتوکسیلین-ائوزین، با میکروسکوپ نوری<sup>۱</sup> بررسی و ریزنگارهای لازم با دوربین و نرم افزار TSVIEW ارزیابی شدند (مقدم و همکاران، ۱۳۹۳، Moghaddam et al., 2014, 2015).

### ۳. نتایج و بحث

#### ۳-۱ مرحله پیش‌زرده‌ای<sup>۲</sup> یا آلوتول‌های قشری<sup>۳</sup>

در این مرحله شماری حبابچه یا وزیکول در بخش پیرامونی اووپلاسم و چسبیده به رویه درونی اوولما دیده شدند. زونا ردیاتا به صورت یک لایه بی‌شکل، بدون سلول و متجانس با میانگین قطر ۵/۹۳ میکرون میان اوولما و سلول‌های فولیکولی یا گرانولوزا<sup>۴</sup> پدیدار شد. سلول‌های گرانولوزا در این مرحله، کم-شمار و سنگفرشی<sup>۵</sup> بودند (شکل ۱).



شکل ۱: بخش‌های پیرامونی و پوشش تخمک در مرحله پیش‌زرده‌ای؛ O: اووپلاسم، ZR: زونا ردیاتا، FE: اپیتلیوم فولیکولی، FC: سلول فولیکولی (گرانولوزا).

#### ۳-۲ مرحله زرده‌سازی<sup>۶</sup>

در این مرحله میانگین قطر تخمک‌ها و ضخامت زونا ردیاتا به ترتیب ۱۵۰۵ و ۷ میکرون مشاهده شد. گویچه‌های زرده در اووپلاسم پراکنده بوده و با پیدایش و گسترش کانال‌ها، زونا ردیاتا یا پوشش زرده‌ای، راه‌راه (مخطط) گردید. خطوط

<sup>1</sup> Nikon, ALPHAPHOT/YS, Japan.

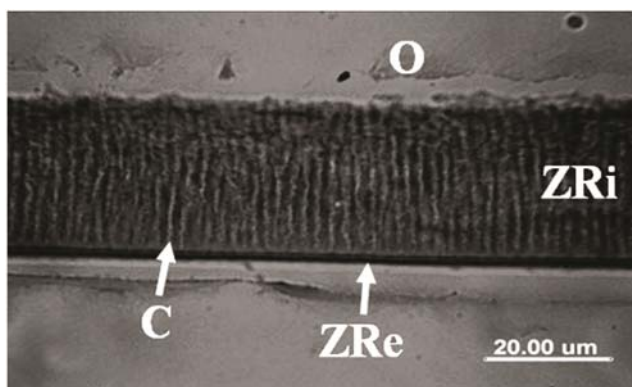
<sup>2</sup> Previtellogenic stage

<sup>3</sup> Cortical alveolar stage

<sup>4</sup> Granulosa

<sup>5</sup> Squamous

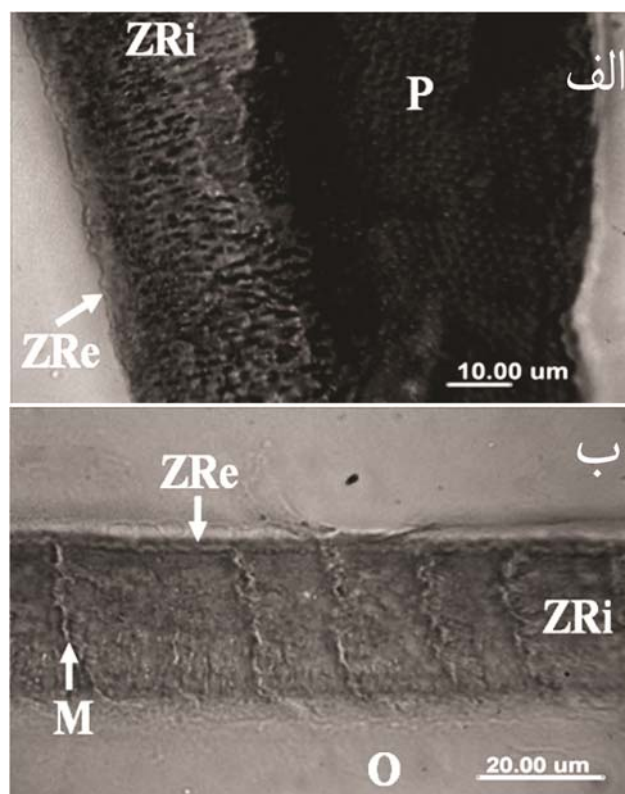
<sup>6</sup> Vitellogenic stage



شکل ۴: تخمک پس از لقاح (زیگوت)؛ O: اوویلاسم، ZRi: زونا ردیاتای درونی، ZRe: زونا ردیاتای بیرونی، C: کانال‌ها.

در این پژوهش، ساختار پوشش‌های پیرامون تخمک و سلول-های تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. در این ماهی، زونا ردیاتای در مرحله آئوتول‌های قشری پدیدار شد، در صورتی که در ماهی *Pseudosciaena crocea* پیدایش آن در مرحله رشد نخستین (پیش از آئوتول‌های قشری) آغاز گردید (Kaviani et al., 2013). در مرحله آئوتول‌های قشری، زونا ردیاتای به صورت یک لایه بی‌شکل و غیرمخطط بود که رفته‌رفته بر ضخامت و پیچیدگی ساختار آن در طول دوره گذر از مرحله پیش‌زرده‌ای به مرحله زرده‌سازی افزوده شد. همچنین در ماهی‌های *Liza aurata* (Shabanipour and Heidari, 2004) و *Cyprinus carpio* (Shabanipour and Hossayni, 2010) تشکیل زونا ردیاتای در آغاز مرحله آئوتول‌های قشری گزارش شده است. در تخمک ماهی *Bryconops affinis* نیز در مرحله پیش‌زرده‌ای و در ماهی *Akarotaxis nudiceps* و *Bathyraco marri* در میانه مرحله آئوتول‌های قشری گزارش شده است (Kaviani et al., 2013). در مرحله زرده‌سازی، برای نخستین بار، خطوط در زونا ردیاتای پدیدار شدند و پیچیدگی آن به بیشینه خود رسید. زونا ردیاتای پوشش زرده‌ای هم نامیده می‌شود که با فضای کوچکی به نام فضای دور زرده‌ای<sup>۲</sup> از اوولما جدا می‌شود. زونا ردیاتای درونی که در ساخت آن بیش‌تر تخمک نقش داشته، پوشش نخستین<sup>۳</sup> نیز نامیده می‌شود (De-kui et al., 2001) و همان‌گونه که گفته شد در قزل‌آلای رنگین‌کمان یک لایه‌ای است در حالی که به عنوان مثال در اسبک دریایی (*Hippocampus erectus*) و نی ماهی

چسبنده یا ژله‌مانند می‌نمود. خطوط پهنای زونا ردیاتای درونی نسبت به مرحله زرده‌سازی بسیار کاهش یافتند. درون کانال‌ها، ریزپرزها (میکروویلی‌های) به هم پیچیده‌ای دیده شدند که از سوی تخمک و سلول‌های فولیکولی به سوی هم رشد کردند. اپیتلیوم فولیکولی پیرامون تخمک رسیده و آزاد شده مشاهده نشد (شکل ۳ الف و ب).



شکل ۳: تخمک رسیده؛ الف) زونا ردیاتای از نمای رو به رو (چپ) و از بالا (راست)، ب) زونا ردیاتای از رو به رو که در آن ریزپرزها به‌خوبی دیده می‌شوند. O: اوویلاسم، ZRi: زونا ردیاتای درونی، ZRe: زونا ردیاتای بیرونی، M: ریزپرز (میکروویلی)، P: روزنها یا منافذ.

### ۳-۴ مرحله پس از لقاح<sup>۱</sup>

پس از لقاح، سطح درونی ZRi (رو به اوولما) دچار دگرگونی شد. نسبت ضخامت زونا ردیاتای به قطر تخمک، در مقایسه با مرحله پیش، تغییر چندانی نشان نداد (میانگین قطر تخمک و ضخامت زونا ردیاتای، به ترتیب، ۲۶۰۷ و ۲۵ میکرون بود) (شکل ۴).

<sup>۲</sup> Perivitelline space

<sup>۳</sup> Primary envelope

<sup>۱</sup> Post-fertilization stage

نظر می‌رسد. زیرا در این صورت، نیاز به چسبیدن تخمک‌ها و محافظت از آن‌ها کم‌تر خواهد بود. تغییرات دیده شده در تخمک ماهی‌ها مانند سایر جانوران، حتی پستانداران در کنترل استرادیول (Oppen-Bernsten et al., 1992; Arukwe et al., 1997; Celius and Walther, 1998)، پروژسترون (Abu Shabana et al., 2012) و هورمون‌های دیگر مانند هورمون رشد و سوماتولاکتین (Benedet, 2008) است. گمان می‌رود هم ساخت استرادیول به وسیله سلول‌های فولیکولی و هم جذب ویتلوژنین توسط فولیکول‌ها را به طور عمده، FSH<sup>۲</sup> کنترل نماید. همچنین رسیدگی تخمک به طور مستقیم به وسیله یک پروژستین (استروئید القاکنده رسیدگی) به نام MIS<sup>۳</sup> ساخته شده در سلول‌های فولیکولی عمدتاً زیر کنترل LH<sup>۴</sup> آغاز می‌شود (Jalabert, 2005). همین‌طور، زونا ردیاتی در ماهی‌ها معادل ناحیه شفاف<sup>۵</sup> تخمک پستانداران است (Green, 1997; Litscher and Wassarman, 2007).

یافته‌های ارائه‌شده نشان می‌دهند که ساختار زونا ردیاتی در قزل‌آلای رنگین‌کمان، قابل مقایسه با گونه‌های دیگر سالمونید به-ویژه آزادماهیان سرده‌ی *Oncorhynchus* بوده و تفاوت‌ها اندک است (Schmehl and Graham, 1987) که با توجه به هم‌سرده بودن این گونه‌ها، دور از انتظار نیست. همان‌گونه که بررسی مقایسه‌ای فراساختار زونا ردیاتی تخم ماهیان دریایی در سه سرده از سوف‌ماهیان (Perciformes) نشان داد که ویژگی‌های بررسی شده برای گونه‌های یک سرده به‌طور معنی‌داری متفاوت نیست. ولی برای سرده‌های گوناگون فرق دارد، حتی هنگامی که سرده‌ها از یک خانواده باشند (Li et al., 2000). از سوی دیگر، یافته‌های این پژوهش درباره شکل سلول‌های فولیکولی پیرامون تخمک با یافته‌های Gulsoy و همکارانش (۲۰۰۶) متفاوت است، زیرا آن‌ها شکل سلول‌های فولیکولی را در مرحله آلوتول‌های قشری، سنگفرشی و در مرحله زرده‌سازی، مکعبی گزارش کرده‌اند. در حالی که شکل سنگفرشی در مرحله زرده‌سازی نیز دیده شده و سپس به تدریج مکعبی می‌شوند.

پس از لقاح، از پیچیدگی زونا ردیاتی کاسته شد و سطح درونی ZRI تغییر یافت که گمان می‌رود این دگرگونی نتیجه واکنش

(*Syngnathus fuscus*)، پوشش نخستین از سه لایه Z1، Z2 و Z3 ساخته شده است (Anderson, 1967).

نوارها یا خط‌های زونا ردیاتی، کانال‌ها یا گذرگاه‌هایی بوده که از سطح بیرونی زونا ردیاتی تا سطح درونی آن ادامه دارند و این کانال‌ها مسیر میکروویلی‌ها یا برآمدگی‌های انگشت‌مانند به هم تابیده‌ای هستند که از اوولما و سلول‌های فولیکولی به سوی هم رشد می‌کنند. ورودی این کانال‌ها در سطوح بیرونی و درونی زونا ردیاتی، روزن‌ها یا منافذ هستند. کانال‌ها و روزن‌ها با هم Pore-canal system نامیده می‌شوند. به نظر می‌رسد کانال‌ها قطر متفاوت دارند و مسیر مستقیمی را در سرتاسر زونا ردیاتی نمی‌پیمایند، ولی این که ناهمسان بودن روزن‌ها و کانال‌ها، همچنین غیرمستقیم بودن کانال‌ها چگونه در انتقال مواد نقش بازی می‌کنند، هنوز روشن نشده است. شاید این ویژگی‌ها نشانگر نوعی انتقال گزینشی باشند. افزایش تدریجی در ضخامت و پیچیدگی زونا ردیاتی، کارکرد مهم آن در انتقال مواد ضروری را به نمایش می‌گذارد. زرده سازی، رسیدگی تخمک و تخم‌گشایی فرآیندهای بسیار پیچیده‌ای هستند که به انتقال مواد خام به اووسیت و سنتز فعال نیاز دارند (Kaviani et al., 2013). در مرحله رسیدگی، از شمار کانال‌های زونا ردیاتی کاسته گردید که گمان می‌رود کاهش کارکرد تغذیه‌ای و افزایش کارکرد حفاظتی آن را نشان می‌دهد. چنان که دیده شد، زونا ردیاتی در قزل‌آلای رنگین‌کمان تا پایان مرحله زرده‌سازی تک‌لایه است و در تخمک رسیده یک لایه نازک ژله‌مانند (زونا ردیاتی بیرونی) روی آن نمایان می‌شود که گمان می‌رود در چسبیدن تخمک‌ها به هم و به بستر تخم‌ریزی کاربرد دارد؛ مانند لایه ژله‌ای در تخمک چند گونه کپور (Dong et al., 2005; Esmali and Johal, 1998; Heui et al., 2005; Rizzo and Zelazowska, 2010) *Pseudoplatystoma coruscans* (Zelazowska, 2010) (et al., 1998). در حالی که معمولاً در ماهی‌های استخوانی عالی، ساختارهای چسبنده پرزمانند<sup>۱</sup> در اتصال تخمک‌ها به بستر تخم‌ریزی کاربرد دارند (Jang et al., 1995; Huysentruyt and Adriaens, 2005; Heidari et al., 2009). زونا ردیاتی در قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌ویژه لایه ژله‌مانند آن از نظر ساختار و قطر، ساده‌تر و نازک‌تر از برخی ماهی‌ها به نظر می‌رسد (Moghaddam et al., 2013). یافته ما با در نظر گرفتن این که این ماهی هنگام تخم‌ریزی با کندن چاله‌ای، تخمک‌ها را در آن می‌ریزد، منطقی به

<sup>2</sup> Follicular stimulating hormone

<sup>3</sup> Maturation inducing steroid

<sup>4</sup> Luteinizing Hormone

<sup>5</sup> Zona pellucida

<sup>۱</sup> villi-like

این کاهش تا پس از لقاح ادامه داشته که تغییر کاربری آن از کاربرد تغذیه‌ای به کاربرد حفاظتی را نشان می‌دهد. در تمام مراحل، زونا ردیاتا فاقد سلول بود.

#### ۵. سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند، از مساعدت جناب آقای محمد ابراهیم ستایشی مدیر محترم مزرعه پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در کله سرا (اسالم، استان گیلان) در فراهم کردن نمونه‌ها تشکر و قدردانی به‌عمل آورند.

#### منابع

مقدم، ع.؛ عریان، ش.؛ شعبانی‌پور، ن.، ۱۳۹۳. مقایسه ریزساختار زونا ردیاتا در تخمک رسیده و لقاح یافته کپور نقره‌ای (*Poecilia sphenops*) و مولی (*Hypophthalmichthys molitrix*) . مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال دوم، ۲: ۴۷-۶۰.

Abu Shabana, N.M.; Abd El Rahman, S.H.; Al Absawy, M.A.; Assem, S.S., 2012. Reproductive biology of *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) inhabiting the south eastern Mediterranean Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38: 147-156.

Anderson, E., 1967. The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. *The Journal of Cell Biology*, 35: 193-212.

Arukwe, A.; Goksoyr, A., 2003. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comparative Hepatology*, 2(4): 1-21.

Arukwe, A.; Knudsen, F.R.; Goksoyr, A., 1997. Fish zona radiata (eggshell) protein: a sensitive biomarker for environmental estrogens. *Environmental Health Perspectives*, 105: 418-422.

Benedet, S., 2008. Growth hormone and somatolactin function during sexual maturation of female Atlantic

قشری<sup>۱</sup> باشد. به این صورت که هنگام لقاح، آلوئول‌های قشری به اوولما چسبیده و مواد درون آن‌ها با فرآیند آگروسیتوز به فضای دور زرده‌ای تراوش می‌یابند و ساختار زونا ردیاتا را تغییر می‌دهند (Guraya, 1986; Booth and Weyl, 2000). بدین جهت، این لایه سخت شده و به لایه‌ای به نام پوشش لقاح<sup>۲</sup> تبدیل می‌شود. دگرگون شدن زونا ردیاتا به وسیله آلوئولین و ترانس-گلوتامیناز، با کاهش دادن قطر میکروویل، آن را می‌بندد و جلوی پلی‌اسپرمی را می‌گیرد (Murata, 1991).

Iwamatsu (1983) نشان داد هنگامی که پوشش تخمک‌ها جدا و اسپرم به آن‌ها افزوده می‌شود، دچار پلی‌اسپرمی می‌شوند. همچنین Iwamatsu و Ohta (۱۹۷۶) نشان دادند که آلوئول‌های قشری تخمک‌های ماهی *Medaka* ماده‌ای کلوییدی، یک جسم گرد و اغلب یک ساختار غشایی دارند. هنگام لقاح جسم گرد به همراه ماده کلوییدی از آلوئول قشری بیرون می‌زند، به فضای دور زرده‌ای راه می‌یابد و متورم می‌شود. آلوئول تهی پس از تبدیل شدن پوشش آن به چند میکروویلی، ناپدید می‌گردد. اجسام گرد جدا شده یا مانده در فضای دور زرده‌ای به‌تندی با آنزیم‌های پروتئولیتیک گوارش می‌یابند. دیده شد وقتی اجسام گرد فضای دور زرده‌ای تخم به صورت آنزیمی گوارش می‌یابند، زرده در تماس مستقیم با زونا ردیاتا قرار می‌گیرد. این بررسی نشان داد که اجسام کروی متورم، در نگهداری فاصله‌ای مشخص میان زونا ردیاتا و زرده پس از لقاح نقش دارند (Iwamatsu and Ohta, 1976).

#### ۴. نتیجه‌گیری

در مقاله حاضر، با بررسی مراحل رشد تخمک‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان و پوشش‌های پیرامون تخمک‌ها، نتیجه گرفته شد که زونا ردیاتا در مرحله پیش از زرده‌سازی به صورت یک لایه یکنواخت بین اوولما (غشای پلاسمایی تخمک) و اپیتلیوم فولیکولی پدید می‌آید، در مرحله زرده‌سازی در عرض زونا ردیاتا خطوط زیادی به وجود آمده و از نظر پیچیدگی ساختاری (شمار کانال‌ها) به اوج می‌رسد. پس از زرده‌سازی، زونا ردیاتا در تخمک رسیده دولایه‌ای شده (لایه درونی ضخیم و لایه بیرونی باریک و زله‌ای) ولی از پیچیدگی ساختاری آن کاسته می‌شود و

<sup>1</sup> Cortical reaction

<sup>2</sup> Fertilization envelope

- Fisheries Sciences, 11(3): 657-665
- Esmaeli, H.R.; Johal, M.S., 2005. Ultrastructural features of the egg envelope of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Osteichthyes, Cyprinidae). Environmental Biology of Fishes, 72: 373-377.
- Green, D.P.L., 1997. Tree-dimensional structure of zona pellucida. Review of Reproduction, 2: 147-156.
- Gulsoy, N.; Aytekin, Y.; Yuce, R., 2006. Change of follicular epithelium during oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.), studied by light and electron microscopy. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(5): 935-939.
- Guraya, S.S., 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis. Science, 84-86PP.
- Heidari, B.; Shabanipour, N.; Savari, A.; Yavari, V.; Hossayni, N., 2009. The oocyte development of Kutum, *Rutilus frisii kutum*, K. with special emphasis on the zona radiata structure. Animal Reproduction, 6(3): 465-472.
- Huysentruyt, F.; Adriaens, D., 2005. Adhesive structures in the eggs of *Corydoras aeneus* (Gill, 1858; Callichthyidae). Journal of Fish Biology, 66: 871-876.
- Iwamatsu, T., 1983. A new technique for dechoriation and observations on the development of the naked egg in *Oryzias latipes*. Journal of Experimental Zoology, 228: 83-89.
- Iwamatsu, T.; Ohta, T., 1976. Breakdown of the cortical alveoli of Medaka (*Oryzias latipes*) eggs at the time of fertilization with a particular reference to the possible role of spherical bodies in the alveoli. Wilhelm, Roux, Archives, 180: 297-309.
- Jalabert, B., 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Reproduction, Nutrition, Development, 45: 261-279.
- Jang, S.; Dong Heui, K., 1995. A study on the oogenesis of pale chub *Zacco platypus*. Korean Journal of Microscopy, 25(3): 63-74.
- salmon. Thesis. Department of Zoology/ Zoophysiology. University of Gothenburg, Sweden. 19-28PP.
- Berois, N.; Arezo, M.J.; Papa, N.G., 2011. Gamete interactions in teleost fish: the egg envelope. Basic studies and perspectives as environmental biomonitor. Biological Research, 44: 119-124.
- Booth, A.J.; Weyl, O., 2000. Histological validation of gonadal macroscopic staging criteria for *Labeo cylindricus* (Pisces: Cyprinidae). African Zoology, 35(2): 223-231.
- Cakici, O.; Ucuncu, S., 2007. Oocyte development in the Zebrafish, *Danio rerio* (Teleostei: Cyprinidae). E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 24(1-2): 137-141.
- Celius, T.; Mathews, J.B.; Giesy, J.P.; Zacharewski, T.R., 2000. Quantification of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) zona radiata and vitellogenin mRNA levels using real-time PCR after in vivo treatment with estradiol-17 $\beta$  or  $\alpha$ -Zearalenol. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 75: 109-119.
- Celius, T.; Walther, B.T., 1998. Oogenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) occurs by zonagenesis preceding vitellogenesis in vivo and in vitro. Journal of Endocrinology, 158: 259-266.
- De-Kui, H.; Yi-feng, C.; Bin, C., 2001. Histological studies on the gonadal development of an endemic Tibet fish *Gimnocypris namensis*. Acta Hydrobiologica Sinica, 25(1): 1-13.
- Dong Heui, K.; Reu, D.S.; Deung, Y.K., 1998. Comparative ultrastructure of the fertilized egg envelope in three species, Cyprinidae, Teleost. Korean Journal of Electron Microscopy, 28(2): 237-253.
- Esmaeli, H.R.; Gholamifard, A., 2012. Ultrastructure of the chorion and the micropyle of an endemic cyprinid fish, *Cyprinion tenuiradius* Heckel, 1849 (Teleostei: Cyprinidae) from southern Iran. Iranian Journal of

- oestradiol-17 beta, 135(2): 293-302.
- Ortiz-Delgado, J.B.; Porcelloni, S.; Fossi, C.; Sarasquete, C., 2008. Histochemical characterization of oocyte of the sword fish *Xiphias gladius*. *Scientia Marina*, 72(3): 549-564.
- Rizzo, E.; Mura, T.; Satto, Y.; Bazzoli, N., 1998. Oocyte surface in four teleost fish species post spawning and fertilization. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 41(1): 37-48.
- Rudiger, B.; Rudiger, R., 2002. Biology and egg morphology of the Dalmatian barbelgudgeon *Aulopyge huegeli*, an endangered endemic species in Croatia. *Environmental Biology of Fishes*, 63: 451-456.
- Schmehl, M.K.; Graham, E.F., 1987. Comparative ultrastructure of the zona radiata from eggs of six species of Salmonids. *Cell and Tissue Research*, 250: 513-519.
- Shabanipour, N.; Heidari, B., 2004. A histological study of the zona radiata during late oocyte developmental stages in the Caspian Sea Mugilid (*Liza aurata*). *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, 21(4): 191-195.
- Shabanipour, N.; Hossayni, S.N., 2010. Histological and ultrastructural study of zona radiata in oocytes of common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *Micron*, 41(7): 877-881.
- Show, B.S.L.; Chipps, S.R.; Windels, S.K.; Webb, M.A.H.; McLeod D.T., 2012. Lake sturgeon population attributes and reproductive structure in the Namakan Reservoir, Minnesota and Ontario. *Journal of Applied Ichthyology*, 28: 168-175.
- Unal, G.; Karakisi, H.; ELP, M., 2005. Ovarian follicle ultrastructure and changes in levels of ovarian steroids during oogenesis in *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 645-653.
- Zelazowska, M., 2010. Formation and structure of egg
- Keyvanshokoo, S.; Vaziri, B., 2008. Proteome analysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) ova. *Animal Reproduction Science*, 109: 287-297.
- Li, Y.H.; Wu, C.C.; Yang, J.S., 2000. Comparative ultrastructural studies of the zona radiata of marine fish in three genera in perciformes. *Journal of Fish Biology*, 56: 615-621.
- Litscher, E.S.; Wassarman, P.M., 2007. Egg extracellular coat proteins: from fish to mammals. *Histology and Pathology*, 22: 337-347.
- McMillan, D.B., 2007. *Fish histology; female reproductive systems*. Springer, The Netherlands, 67-87 PP.
- Moghaddam, A.; Oryan, S.; Shabanipour, N., 2013. Study of the zona radiata structure in oocytes of the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) before and after fertilization. *Journal of the Persian Gulf (Marine Science)*, 4(13): 1-8.
- Moghaddam, A.; Oryan, S.; Shabanipour, N., 2014. Comparative study on the structure of zona radiata in pre- and post-fertilized mature eggs of the viviparous molly (*Poecilia sphenops*) and the oviparous bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Journal of the Persian Gulf (Marine Science)*, 5(18): 57-62.
- Moghaddam, A.; Oryan, S.; Shabanipour, N., 2015. Comparative study on the structure of zona radiata in eggs of the common carp (*Cyprinus carpio*) and the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) from pre-vitellogenic to post-fertilized oocytes. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 4(9): 315-326.
- Murata, K., 1991. Spawning female-specific egg envelope glycoprotein-like substances in *Oryzias latipes*. *Development, Growth and Differentiation*, 34: 545-551.
- Oppen-Bernsten, D.O.; Gram-Jensen, E.; Walther, B.T., 1992. Zona radiata proteins are synthesized by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes in response to



Journal of Fish Biology, 76: 694-706.

envelopes in Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes: Acipenseridae).