

بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی مراحل رسیدگی جنسی سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta intermedia*) در رودخانه شاپور، استان بوشهر

- عالی حسینی: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
- زهره موسوی: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
- ابراهیم ستوده*: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
- مهدی محمدی: مرکز مطالعات و پژوهش‌های دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
- اکبر عباس‌زاده: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۴

چکیده

هدف این تحقیق بررسی ساختار میکروسکوپی و ماکروسکوپی تخمدان و بیضه سیاه‌ماهی *Capoeta capoeta intermedia* در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بود. بدین منظور از آذر ۱۳۹۰ تا آذر ۱۳۹۱ تعداد ۳۳۰ قطعه سیاه‌ماهی به‌صورت ماهیانه از رودخانه شاپور (استان بوشهر) صید و مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام زیست‌سنجی، ماهیان تشریح و گنادهای آن‌ها خارج گردید. نمونه‌های گناد جدا شده در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و پس از تهیه مقاطع بافتی با استفاده از روش بافت‌شناسی کلاسیک رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد به‌طور میانگین طول کل ماده‌ها $19/83 \pm 2/3$ سانتی‌متر، گستره وزن آن‌ها $93/4 \pm 38$ گرم، طول کل نرها $19/85 \pm 2$ سانتی‌متر و وزن آن‌ها $87/24 \pm 25/5$ گرم می‌باشد. نسبت جنسی کل ماهی‌های ماده به نر در نمونه‌های صید شده ۱/۶ به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری بین جنس نر و ماده نشان داد ($p < 0/05$). قطر تخمک از حداقل ۴۰۶/۶ میکرون در مرحله ۲ رسیدگی جنسی تا حداکثر ۲۱۱۲/۹ میکرون در مرحله ۵ رسیدگی جنسی افزایش یافت. میانگین هم‌آوری مطلق و نسبی به‌ترتیب ۲۲۵۲/۶ و ۲۲/۰۸ عدد تخمک محاسبه گردید. مراحل رسیدگی این ماهی با استفاده از بافت‌شناسی به ۶ مرحله تقسیم بندی شد. بالاترین میزان فراوانی مرحله رسیدگی ۴ و ۵ جنسی از بهمن ماه تا خرداد ماه به‌دست آمد.

کلمات کلیدی: *Capoeta capoeta intermedia*، تخمدان، بافت‌شناسی، رسیدگی جنسی



مقدمه

شناخت دقیق تر چرخه زندگی و ارزیابی ذخایر آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sparre و همکاران، ۱۹۸۸). علی‌رغم پراکنش وسیع این گونه در رودخانه شاپور بوشهر اطلاعات زیادی در مورد بیولوژی این گونه در این رودخانه در دسترس نیست. بنابراین این پژوهش به منظور بررسی زیست‌شناسی تولیدمثلی این ماهی با مطالعه ساختار ماکروسکوپی و میکروسکوپی تخمدان و بیضه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۳۰ نمونه ماهی از رودخانه شاپور واقع در استان بوشهر (در قسمت بالا دست سد انحرافی شبانکاره در بخش سعدآباد) به صورت ماهیانه از آذر ماه ۱۳۹۰ تا آذر ۱۳۹۱ با استفاده از تورهای گوشگیر با چشمه‌های مختلف و سالیک صید و به آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس منتقل شدند. سپس طول کل، طول استاندارد، طول چنگالی و وزن ماهی‌ها اندازه‌گیری شد. پس از زیست‌سنجی محوطه شکمی ماهیان باز و گنادها از قسمت شکمی خارج شده و مطالعات ماکروسکوپی با بررسی علائم ظاهری مانند درجه رنگ گنادها، ثبات و همسانی و تشکیل مویرگ‌های خونی، امکان دید اووسیت مورد بررسی قرار گرفتند (White و همکاران، ۱۹۹۸). جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی، نمونه‌های بافت گنادی در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ تثبیت گردید. برای آب‌گیری نمونه‌ها به ترتیب با درصدهای افزایشی الکل آب‌گیری شدند. پس از آب‌گیری به مدت ۳ ساعت در گزینن نگه‌داری شدند و بعد از آن جهت پارافینه‌شدن بافت در پارافین مذاب (دمای ۵۹-۶۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پس از قالب‌گیری به وسیله پارافین، نمونه‌ها برای برش آماده شد. از قالب‌های تهیه شده برش‌های به قطر ۷-۵ میکرون تهیه شد. سپس لام‌ها به وسیله زایلن پارافین‌زدایی و به روش هماتوکسیلین اتوزین رنگ-آمیزی شده و پس از چسباندن لام روی لام با چسب مخصوص انتلان آماده‌سازی شدند. لام‌ها با میکروسکپ نوری بررسی و عکسبرداری شدند. جهت تشخیص مراحل تکامل میکروسکوپی تخمدان، تصاویر تهیه شده مورد بررسی قرار گرفتند و از روش تقسیم‌بندی ۶ مرحله‌ای Bromage و Cumarantunga (۱۹۸۸) و Drance (۱۹۷۶) استفاده شد.

آنالیز آماری: از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج استفاده شد. آزمون آماری مربع کای (chi-square) جهت بررسی آماری نسبت جنسی ماهی‌ها به کار گرفته شد. ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel

جنس سیاه‌ماهی به لحاظ فراوانی و پراکنش یکی از فراوان‌ترین ماهی‌ها در حوضه‌های آبی مختلف ایران می‌باشد. در شرق اروپا و جنوب غرب آسیا ۱۰ گونه متفاوت این جنس پراکنش دارند (Bănărescu و همکاران، ۱۹۹۱) که ۷ گونه از آن در ایران شناسایی شده است (Coad، ۲۰۰۵). سیاه‌ماهی با نام علمی *Capoeta capoeta intermedia* (Banarescu و Bianco، ۱۹۸۲) متعلق به رده ماهیان استخوانی حقیقی (Teleostei)، راسته کیپورماهی‌شکلان (Cypriniformes) و خانواده کیپورماهیان می‌باشد. این گونه مانند سایر گونه‌های آب‌شیرین موجود در ایران علاوه بر ارزش غذایی بالا و مقادیر زیاد مواد پروتئینی، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب امگا-۳ که در سلامت جسمی و روانی تأثیر مثبت زیادی دارد، دارای ارزش اقتصادی و صید ورزشی نیز می‌باشد (عبدلی، ۱۳۸۷).

بررسی‌های انجام شده در زمینه پراکنش *C.c. intermedia* نشان می‌دهد این ماهی در رودخانه‌های دائمی استان بوشهر (دالکی، شاپور، حله و مند) پراکنش زیادی دارد (پذیرا و همکاران، ۱۳۹۰؛ عبدلی و همکاران، ۱۳۸۸؛ عبدلی، ۱۳۷۸) با توجه به پراکنش نسبتاً محدود این ماهی نسبت به سایر گونه‌های سیاه‌ماهی، در ایران مطالعات محدودی در مورد این گونه صورت گرفته است (عبدلی، ۱۳۸۷). تنها در یک گزارش، پذیرا و همکاران (۱۳۹۰) ساختار جمعیت این گونه را در رودخانه‌های استان بوشهر مورد بررسی قرار دادند. با این حال در خصوص زیست‌شناسی سایر گونه‌های این جنس مطالعات فراوانی انجام شده است (خیراندیش و همکاران، ۱۳۹۰؛ Abdoli و همکاران، ۲۰۰۸؛ Samaee و همکاران، ۲۰۰۶؛ شجیعی و همکاران، ۱۳۸۷). دست‌یابی به اطلاعات زیست‌شناسی تولیدمثلی ماهی‌ها می‌تواند به عنوان یکی از ابزارهای موثر در تصمیم‌گیری و مدیریت منابع شیلاتی محسوب شود (حسین‌زاده‌صحافی، ۱۳۸۰). در اغلب بررسی‌های وضعیت تولیدمثلی ماهیان از شاخص گنادوسوماتیک (GSI=Gonadosomatic Index) و توصیف کیفی رسیدگی جنسی برای تخمین وضعیت تولیدمثلی و زمان تخم‌ریزی استفاده می‌شود. مطالعه روند توسعه گنادها اطلاعات دقیق و کامل‌تری در مورد فیزیولوژی تولیدمثلی ماهیان می‌دهد که می‌تواند به درک و پیشگویی تغییرات سالانه جمعیتی کمک شایانی کند. بررسی‌های بافت‌شناسی در اغلب موارد به طور مستقیم و یا غیرمستقیم سهم قابل توجهی در جهت کسب اطلاعات در زمینه زیست‌شناسی تولیدمثلی ماهیان دارد و برای

جدول ۱ آورده شده است. میانگین طول کل ماهیان ماده و نر صید شده به ترتیب ۱۵ تا ۲۹ (۱۹/۸۳±۲/۳) و ۱۵/۵ تا ۲۶ سانتی متر (۱۹/۸۵±۲) و میانگین وزن ماده‌ها و نرها به ترتیب ۳۶ تا ۲۵۰ (۹۳/۴±۳۸) و ۳۶ تا ۱۸۳/۲۷ (۸۷/۲۴±۲۵/۹) گرم متغیر بود (جدول ۱).

۲۰۱۰ انجام گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد (خطا) تعیین گردید. داده‌های آماری به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش گردیدند.

نتایج

زیست‌سنجی: نتایج حاصل از زیست‌سنجی ۳۳۰ قطعه سیاه ماهی از آذر ۱۳۹۱ تا آذر ماه ۱۳۹۲ در رودخانه شاپور

جدول ۱: طول کل (TL)، طول استاندارد (SL) و وزن در ماهیان جنس نر و ماده در ماه‌های مختلف نمونه‌برداری (میانگین±خطای استاندارد)

زمان نمونه‌برداری	تعداد		طول کل (سانتی‌متر)		طول استاندارد (سانتی‌متر)		وزن (گرم)	
	ماده	نر	ماده	نر	ماده	نر	ماده	نر
آذر ۹۱	۶	۱۳	۱۸/۸±۲/۴	۱۵/۶±۲/۱	۱۸/۳۳±۱/۴	۱۵/۱±۱/۴	۶۷/۵±۱۰/۸	۷۱/۸±۲۷/۷
دی ۹۱	۱۶	۹	۱۹/۸±۱/۱	۱۶/۳±۱/۵	۲۰/۰۹±۱/۲	۱۶/۵±۱/۱	۱۰۴/۵±۲۱/۲	۹۷/۵±۲۲/۲
بهمن ۹۱	۱۲	۳	۲۲/۶±۱/۸	۱۸/۶±۱/۷	۲۳/۱۴±۱/۳	۱۹/۲±۱/۱	۱۳۸±۲۰/۱	۱۲۳/۳±۳۳
اسفند ۹۱	۵	۱۹	۲۱/۳±۱/۳	۱۷/۷±۱/۳	۲۲/۵±۲۰/۹	۱۶/۸±۱	۹۳/۸±۱۵/۶	۹۵/۴±۱۱/۶
فروردین ۹۲	۱۲	۱۹	۲۱/۶±۱/۸	۱۷/۸±۱/۵	۲۲/۳۵±۱/۵	۱۸/۴±۱/۴	۱۴۰/۳±۲۰/۷	۱۰۹/۹±۲۱/۶
اردیبهشت ۹۲	۱۹	۱۱	۱۹/۴±۱/۹	۱۶/۱±۲/۱	۱۹±۲/۱	۱۵/۵±۲/۱	۱۰۰/۷±۱۸/۴	۹۸/۷±۱۹/۳
خرداد ۹۲	۱۸	۱۲	۱۸/۶±۱/۵	۱۵/۴±۱/۳	۱۹/۶۳±۱/۲	۱۶/۳±۱/۲	۷۸/۶±۱۶/۲	۶۹/۵±۱۷/۱
تیر ۹۲	۲۶	۴	۲۰/۳±۱/۷	۱۶/۸±۱/۶	۱۹/۷۱±۱/۵	۱۶/۵±۱/۳	۸۱/۲±۱۹/۸	۶۸/۲±۹/۱
مرداد ۹۲	۱۵	۷	۱۸/۸±۱	۱۵/۲±۱/۹	۲۰/۶±۱/۴	۱۷/۱±۱/۲	۱۰۵/۶±۱۸/۱	۸۰/۶±۱۰/۲
شهریور ۹۲	۸	۱۶	۱۹/۸±۱/۵	۱۶/۱±۱/۳	۱۹/۳۱±۱/۳	۱۵/۵±۱/۴	۸۰/۲±۱۳/۷	۷۷±۹/۱
مهر ۹۲	۱۸	۷	۱۹/۶±۱/۷	۱۶/۲±۱/۵	۲۲/۰۱±۳/۵	۱۸/۳±۲/۹	۱۴۷/۲±۵۲/۲	۱۲۱/۴±۲۲/۷
آبان ۹۲	۲۱	۵	۱۷/۷±۱/۹	۱۴/۵±۱/۶	۱۷/۱۱±۱/۲	۱۴/۱±۱	۵۳/۲±۱۱/۱	۵۵/۶±۶/۴
آذر ۹۲	۲۲	۸	۱۸/۱±۱	۱۴/۹±۱/۸	۱۸/۲±۱/۲	۱۵/۳±۱/۱	۵۳/۹±۱۰/۸	۵۳/۲±۶/۶

مدت یک سال نمونه‌برداری، براساس روش تقسیم‌بندی ۶ مرحله‌ای (Yamamoto و همکاران، ۱۹۶۵) به شرح زیر بود:

باکره نابالغ (Immature virgin): در ماهی‌های ماده،

تخمندان‌ها به صورت یک طناب شفاف و نازک نخی شکل، طویل و به رنگ خاکستری پریده بود. در ماهی‌های نر، بیضه‌ها نخی شکل، طویل، شفاف، بی‌رنگ یا سفید بودند و قسمت خیلی کمی از حفره بدن را پر کرده است (مرحله ۱).

باکره در حال بلوغ (Developing virgin): تخمدان‌ها نواری

شکل و کمی حجیم‌تر از تخمدان‌های مرحله ۱، رنگ تخمدان صورتی و تخمک‌ها هنوز با چشم غیرمسلح غیرقابل رویت بودند. بیضه‌ها نواری شکل، نازک، نیمه‌شفاف و کمی بزرگ‌تر از بیضه‌های مرحله ۱ بودند. رنگ بیضه‌ها سفید مایل به خاکستری بود. بیضه‌ها حدود یک چهارم حفره بدن را پر کرده بود (مرحله ۲).

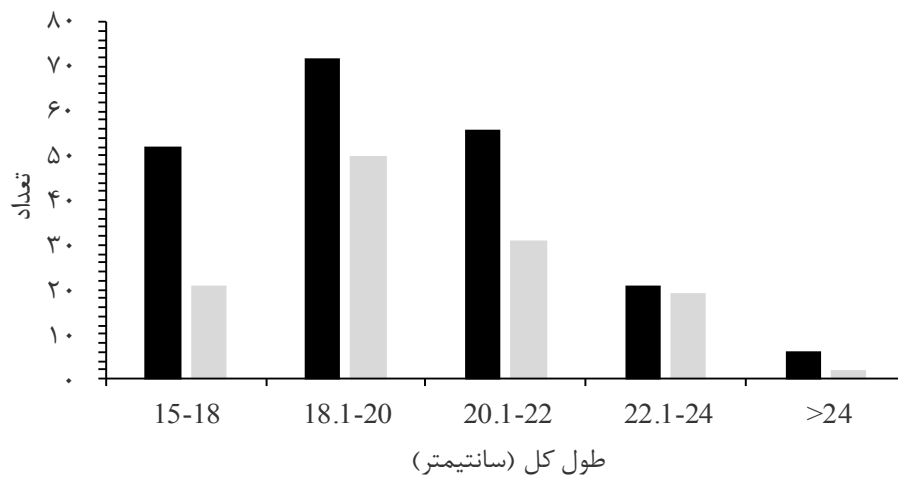
مقایسه طول کل سیاه ماهی صید شده از رودخانه شاپور نشان داد بیش‌ترین فراوانی طول کل ماهیان در هر دو جنس نر و ماده بین ۱۸ تا ۲۰ سانتی‌متر می‌باشد (شکل ۱).

شکل ۲ تغییرات شاخص گنادی سیاه ماهی در طول دوره نمونه‌برداری را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد این شاخص در ماهیان ماده از دی تا اسفند یک روند صعودی را پشت سر می‌گذارد و در اسفند (زمان تخم‌ریزی اصلی) به حداکثر اندازه خود می‌رسد. در فروردین، اردیبهشت و خرداد کمی کاهش داشته و روند یکسانی را طی می‌کند. در ماهیان نر این شاخص ماه‌های زمستان و اوایل بهار و در مرداد ماه نیز مشابه ماهیان ماده افزایش یافته است.

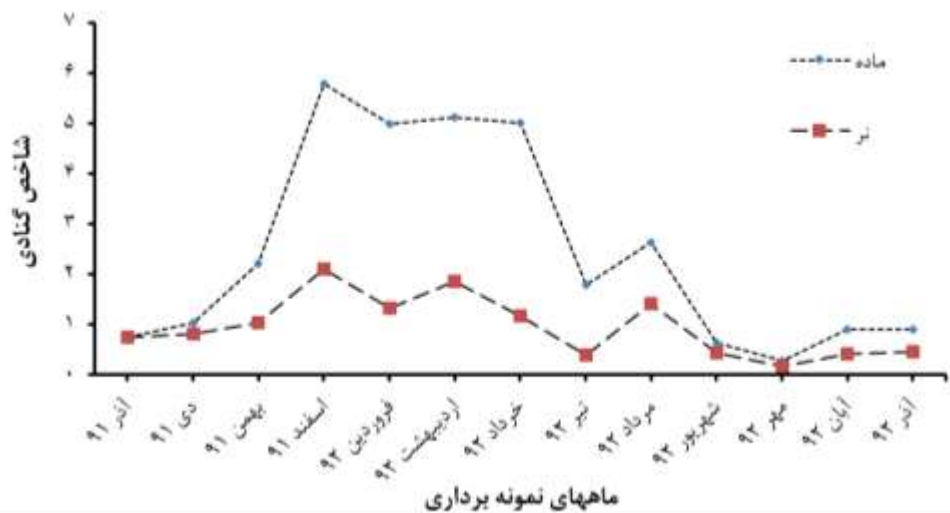
بررسی ماکروسکوپی گنادهای سیاه ماهی: نتایج حاصل

از تعیین مراحل رسیدگی جنسی ماهی‌های نر و ماده در طول





شکل ۱: نمودار پراکندگی طولی سیاه‌ماهی‌های نمونه برداری شده از رودخانه شاپور



شکل ۲: نمودار تغییرات شاخص گنادی (GSI) ماهیان نر و ماده سیاه‌ماهی رودخانه شاپور از آذر ۱۳۹۱ تا آذر ۱۳۹۲

رگ‌های خونی کاسته شده و تخمک‌ها به رنگ نارنجی و به وضوح و به راحتی قابل مشاهده بودند (شکل ۳). بیضه‌ها نیز حجیم و بزرگ شده و سه چهارم حفره بدن را پر کرده‌است. به رنگ سفید یا خامه‌ای قابل مشاهده بودند. مایع منی با وارد نمودن فشار به بیضه، آرام از آن تراوش می‌کرد (شکل ۳).

سیال و در حال تخم‌ریزی (Running or Spawning):

تخمندان‌ها حجیم و بزرگ به طوری که بیش‌تر حجم شکم را اشغال کرده‌بودند. تخمک‌ها به بزرگ‌ترین اندازه خود در بدن ماهی رسیده، شفاف و کاملاً رسیده بودند. تخمک‌ها حالت سیال داشته و با اندک فشاری به شکم به راحتی از مجرای تناسلی خارج می‌شوند. بیضه‌ها نیز حجیم و بزرگ بوده و به حداکثر اندازه رسیده است به طوری که بیش‌تر حجم شکم را اشغال

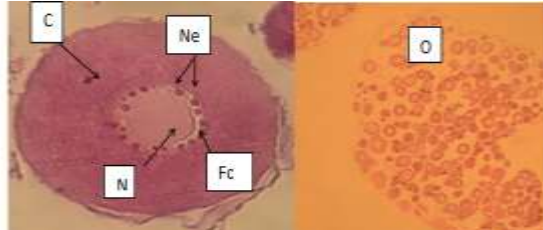
در حال بلوغ (Maturing):

تخمندان‌ها حجیم‌تر شده و به رنگ زرد- نارنجی بودند. رگ‌های خونی به شدت توسعه‌یافته در جدار تخمدان دیده می‌شدند. تخمک‌ها با چشم غیرمسلح قابل تشخیص بودند. تخمدان‌ها بیش از نیمی از حفره شکمی را اشغال کرده بودند. اگر تخمدان توسط کارد تشریح بریده شود، تخمک‌ها به صورت یک توده به کارد می‌چسبید و دانه‌دانه نمی‌شدند. بیضه‌ها حجیم‌تر شده و به رنگ سفید تیره، خامه‌ای یا خاکستری کم‌رنگ همراه با رگ‌های خونی بودند و یک سوم حفره بدن را پر کرده است (مرحله ۳).

رسیده (Ripe):

تخمندان نارنجی رنگ و دو سوم حفره شکمی را پر کرده بود. تخمدان‌ها کاملاً حجیم و بزرگ شده و در حدود ۵۰ درصد حفره شکمی را اشغال کرده بودند. از وضوح

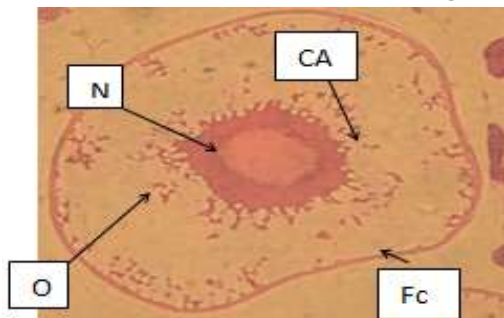
سیاه‌ماهی حدود ۵۰۵/۶۰-۴۰۶/۶۱ و قطر هسته حدود ۱۵۱/۴۸ تا ۱۳۷/۶۹ میکرون بود. ضخامت پوسته اووسیت ۸۷/۹۶ تا ۱۳/۷ میکرون بود. هسته‌ها بزرگ و مدور به همراه هستک‌ها که در اووسیت‌های بزرگ‌تر هستک‌ها به غشاء هسته چسبیده‌اند (شکل ۵).



شکل ۵: نمایی از اووسیت (چپ) و تخمدان (راست) در مرحله پیش‌هستکی Fc: فولیکول، N: هسته، Ne: هستک، C: سیتوپلاسم، O: اووسیت‌ها (فرمالین، H & E، $\times 100$) (فرمالین، H & E، $\times 400$)

مرحله وزیکول یا آلونل‌های قشری (Vesicle stage)

در این مرحله در برخی از اووسیت‌ها نیز زرده‌سازی شروع شده بود. سلول‌ها در این مرحله در سیاه‌ماهی ۱۵۶۴/۷۵-۱۶۵۷/۸۴ میکرون قطر دارند. هسته گرد و قطر آن ۳۴۱/۴۴-۳۹۵/۳۵ میکرون است. ضخامت پوسته بیرونی اووسیت حدود ۳۳/۸۶-۴۷/۴۳ میکرون بود. اووسیت‌ها در این ماهی در آغاز مرحله جمع‌آوری زرده ۱۶۵۶/۲۶-۱۷۷۳/۴۶ میکرون قطر دارند. گرانول‌های زرده که سپس کل سیتوپلاسم را پر می‌کنند در پلاسمای سلول و اطراف هسته ظاهر می‌شوند. گرانول‌ها کوچک بوده و ۹-۱۱ میکرون قطر دارند. پوشش اولیه اووسیت که در آن شیاربندی کامل مشخص است نازک‌تر شده و در حدود ۲۵/۶۱-۲۹/۰۷ میکرون است و سلول‌های فولیکول مکعبی و لایه تکا مسطح است (شکل ۶).



شکل ۶: ظهور آلونل‌های قشری در سیاه‌ماهی N: هسته، CA: آلونل‌های قشری، O: اوولما، Fc: فولیکول (فرمالین، H & E، $\times 100$)

مرحله گرانول‌های زرده‌ای (مرحله زرده‌سازی یا

Vitellogenesis stage): قطر اووسیت‌ها ۱۳-۱۷۴۵/۱۳-۱۹۸۷/۹۲

کرده بودند. با اندک فشاری به شکم از مجرای تناسلی منی تراوش می‌شود و رنگ آن سفید بود (مرحله ۵).

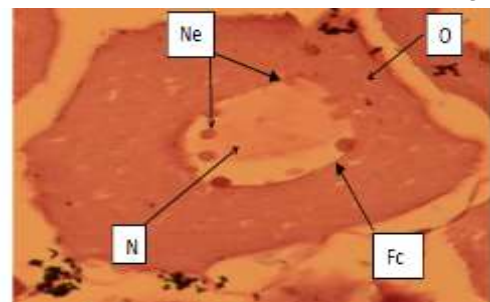


شکل ۳: نمای ماکروسکوپی تخمدان (سمت راست) و بیضه (سمت چپ) سیاه‌ماهی در مرحله ۵ جنسی

تخم‌ریزی کرده (Spent): تخمدان‌ها تخلیه شده و به صورت یک اندام چروکیده، گوشت‌آلود و به رنگ قرمز قابل مشاهده بودند. بعضی تخمک‌های دفع نشده در داخل آن قابل مشاهده بودند. دیواره تخمدان ضخیم بود. از اندازه بیضه‌ها به علت اسپرم‌ریزی کاسته شده و در این مرحله بیضه‌ها شل، چروکیده و رنگ آن‌ها سفید بود (مرحله ۶).

بررسی میکروسکوپی مراحل رسیدگی جنسی سیاه‌ماهی ماده مرحله هستک کروماتینی (Chromatin nucleolar stage)

در این مرحله اووسیت‌ها در کوچک‌ترین اندازه خود قرار داشته، دارای هسته‌ای بزرگ و باریکه‌ای از سیتوپلاسم باز دوست (با خاصیت باز دوستی ضعیف) بودند. این فرآیند انتقالی در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۴: اووسیت در حال انتقال از مرحله هستک کروماتینی به مرحله پیش‌هستکی (تقسیم هستک‌ها و حرکت آن‌ها به سمت حاشیه)، N: هسته، Ne: هستک، O: اوولما، Fc: فولیکول (فرمالین، H & E، $\times 400$)

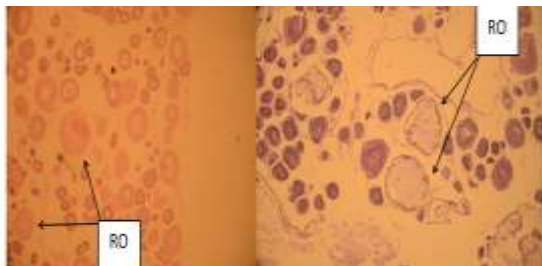
مرحله پیش‌هستکی (Perinucleolar stage): اووسیت‌های

در حال رشد پروتوپلاسمی، توده سلول‌های جنسی را تشکیل می‌دهند. شکل آن‌ها گرد بوده، هسته در مرکز و یا اندکی به سمت محیط حرکت کرده است. حدود ۱۰ هستک در هسته دیده می‌شود. سیتوپلاسم به شکل زیبایی دانه‌دانه است. قطر اووسیت



مرحله باز جذب (Degeneration stage): در سیاه ماهیان

این مرحله پس از ریختن تمام گروه‌های تخم رخ می‌دهد. تخمدان تقریباً خالی و بیش‌تر تخمک‌ها از تخمدان خارج بودند. فولیکول‌های خالی و تخم‌های بالغ در حال جذب در مقاطع بافتی قابل مشاهده و تخمک‌های بالغ خیلی کم و تخمک‌های نابالغ بودند. فولیکول‌های پس از تخمک‌گذاری و اووسیت‌های بالغ در حال بازجذب قابل مشاهده بودند. رگ‌ها و سلول‌های خونی در اطراف اووسیت‌های باقیمانده دیده می‌شوند. تخمدان قرمز شده و حفره درونی آن فاقد تخمک است. در مقاطع بافت‌شناسی، رشد پروتوپلاسمی و تروفوبلاسمی قابل مشاهده است (فاز شروع تجمع زرده). فولیکول‌های خالی و تخم‌های ریخته نشده در حال جذب دیده می‌شوند (شکل ۹).



شکل ۹: بازگشت تخمدان به مرحله ۲ پس از تخم‌ریزی. RO: اووسیت در حال جذب. (فرمالین، H & E، $\times 100$) (فرمالین، H & E، $\times 100$)

مراحل مختلف میکروسکوپی رسیدگی بیضه: تغییرات

بافت‌شناسی ماهانه در بیضه و اسپرماتوژنز سیاه‌ماهی در طول مدت یک‌سال نمونه‌برداری براساس روش Drance (۱۹۷۶) به شرح زیر بود:

مرحله اسپرماتوژونی (Spermatogonial proliferation stage):

هسته هنوز جدا بوده و در مقایسه با اندازه سلول بزرگ است که قطر آن ۳۷ تا ۶۱ میکرون است. ماده کروماتین در مرکز هسته یانزدیک جدار هسته دیده می‌شود و یک شکل هلالی پیدا می‌کند.

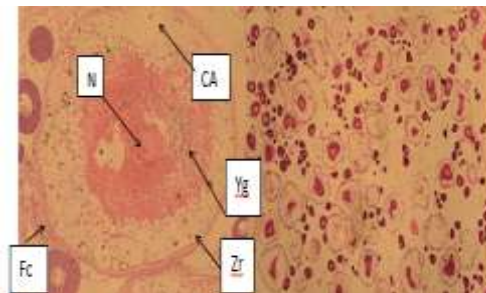
مرحله اسپرماتوژنز اولیه (Primary spermatogonia):

در این مرحله، در لوبول‌های بیضه تعداد اسپرماتوگونی کاهش یافته و تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه افزایش یافته بود و بخش بیش‌تری از لوبول‌های بیضه توسط اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه اشغال گشته بود و در بعضی لوبول‌ها نیز اسپرماتید قابل مشاهده بود.

مرحله اسپرماتوژنز میانی (Mid-spermatogenesis): در

این مرحله لوبول‌ها دارای اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه، اسپرماتید و تعداد کمی اسپرماتوزوآ بودند (شکل ۱۰).

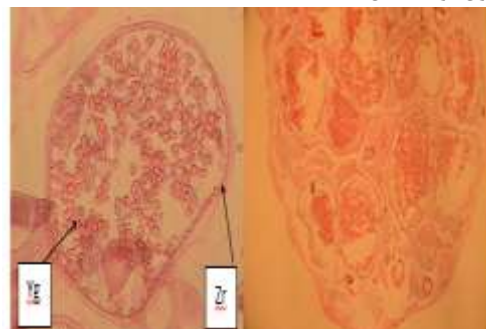
میکرون و اندازه گرانول‌های زرده در این مرحله ۱۴/۸۹-۲۶/۶۳ میکرون بود. در برخی از اووسیت‌ها هسته هنوز در مرکز است و در بعضی هسته به سمت قطب حیوانی حرکت کرده و ضخامت غشا اولیه ۲۰/۹۳ میکرون است. زرده‌سازی که به‌میزان بسیار کم از مرحله قبل شروع شده بود در این مرحله به اوج خود می‌رسد، به‌طوری‌که در این مرحله زرده بیش‌ترین حجم سیتوپلاسم اووسیت را فراگرفته و اووسیت‌های بزرگ بیش‌ترین حجم تخمدان را اشغال کرده بودند. در سیاه‌ماهی در این مرحله قطرات زرده پروتئینی به‌صورت جدا از هم بودند (شکل ۷).



شکل ۷: ظهور گرانول‌های زرده‌ای (ظهور دانه‌های قرمز رنگ). N: هسته، Yg: زرده پروتئینی، CA: آلونل‌های قشری، Fc: فولیکول، Zr: لایه شعاعی. (فرمالین، H & E، $\times 100$) (فرمالین، H & E، $\times 40$)

مرحله بلوغ، جذب آب و تخمک‌گذاری (Maturation, hydration and ovulation stage): در این مرحله اکثر تخمک‌ها

بالغ بودند. در انتهای این مرحله غشاء هسته ناپدید شده، تخمک‌ها آب جذب کرده کاملاً شفاف به‌نظر می‌رسیدند. در نهایت اووسیت از لایه‌های فولیکولی خارج شده و به حفره تخمدان آزاد شده بودند. قطر اووسیت در این حالت ۱۹۱۵/۹۶-۲۱۱۲/۹۴ میکرون بود (شکل ۸).



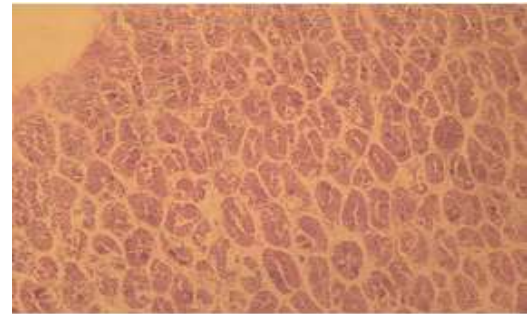
شکل ۸: مرحله بلوغ، جذب آب و تخمک‌گذاری (هسته نامنظم و در حال مهاجرت، اشغال تمام سیتوپلاسم توسط گرانول‌های زرده‌ای). CA: آلونل قشری، Yg: زرده پروتئینی، Zr: لایه شعاعی. (فرمالین، H & E، $\times 100$) (فرمالین، H & E، $\times 100$)

مرحله باز جذب (Degeneration stage): در این مرحله حجم بیضه‌ها به‌طور قابل توجهی کاهش و دیواره بیضه ضخیم و فضای بین لوبولی افزایش یافته بود. سلول‌های بینابینی نیز قابل تشخیص بودند. در این مرحله سلول‌های سرتولی طولی و در نزدیکی دیواره لوبول دیده می‌شوند.

بحث

در این مطالعه تلاش شد شرح کاملی از تغییرات سالانه تخمدان و بیضه سیاه‌ماهی *C.c.intermedia* رودخانه شاپور ارائه شود. مقیاس‌های رسیدگی مختلفی برای بلوغ گناد ماهی ارائه شده است. در اکثر ماهی‌های استخوانی، روند اووژنز را می‌توان به پنج، شش و یا حتی هشت مرحله تقسیم کرد (Poortenaar و همکاران، ۲۰۰۱؛ Unal و همکاران، ۱۹۹۹؛ Fishelson و همکاران، ۱۹۹۶) در مطالعه حاضر تغییرات بافت‌شناسی فصلی در تخمدان و فرآیند تخمک‌زایی سیاه‌ماهی در طول مدت یک‌سال نمونه‌برداری براساس روش Bromage و Cumarantunga (۱۹۸۸) بررسی و به ۵ مرحله تقسیم شد.

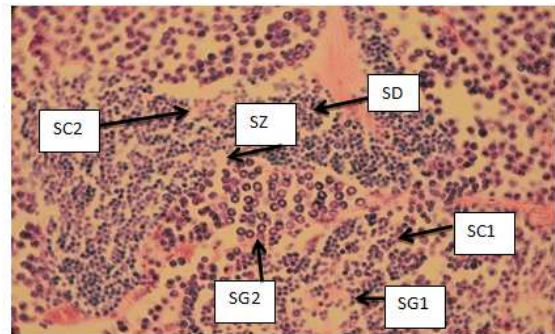
در بیش‌تر مطالعات انجام‌شده در زمینه بررسی زیست‌شناسی تولید ماهیان از شاخص رسیدگی جنسی (شاخص‌های گنادوسوماتیک، GSI) برای تعیین وضعیت تولیدمثلی و زمان تخم‌ریزی استفاده می‌شود. با این حال مطالعه روند توسعه گنادها با بررسی بافت‌شناسی گنادها، اطلاعات دقیق‌تر و کامل‌تری در مورد فیزیولوژی تولیدمثل ماهیان ارائه می‌نماید که به درک بهتر و پیش‌گویی در مورد تغییرات سالانه جمعیتی کمک شایانی می‌کند (Miranda و همکاران، ۱۹۹۹). بررسی‌ها نشان می‌دهد وضعیت تولیدمثلی و زمان تخم‌ریزی ماهیان را می‌توان با استفاده از شاخص‌هایی مانند گنادوسوماتیک تعیین نمود (Miranda و همکاران، ۱۹۹۹). در این مطالعه شاخص GSI از بهمن ماه افزایش یافت و در فاصله بین ماه‌های اسفند تا خرداد ماه حداکثر بود و سپس کاهش یافت (شکل ۲). افزایش شاخص GSI نشان دهنده شروع فصل رسیدگی جنسی است و رسیدن به حداکثر و سپس کاهش آن نشان‌دهنده فصل تخم‌ریزی ماهی است. افزایش GSI در بهمن و به حداکثر رسیدن آن در اسفند ماه نشان‌دهنده اوج رسیدگی سیاه‌ماهی است. از طرفی کاهش این شاخص در خرداد ماه می‌تواند به دلیل تخم‌ریزی این ماهی باشد. با توجه به نتایج شاخص رسیدگی جنسی می‌توان گفت فصل بهار زمان تولیدمثل سیاه‌ماهی موجود در رودخانه شاپور است. عبدلی و کوهستان اسکندری (۱۳۷۸) فصل تخم‌ریزی *C.c.gracilis* را



شکل ۱۰: نمایی از بیضه در مرحله اسپرماتوژنز میانی (فرمالین، H & E، ×۱۰۰)

مرحله اسپرماتوژنز نهایی (Late spermatogenesis):

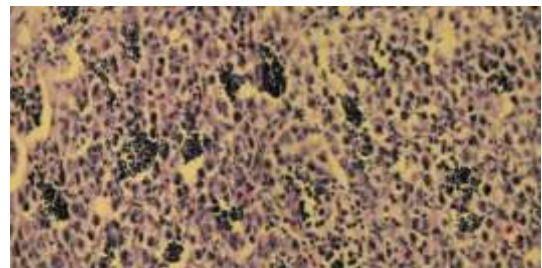
در این مرحله تعداد اسپرماتیدها و اسپرماتوزوآها در لوبول‌های بیضه افزایش یافته و میزان اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه کاهش یافته بودند (شکل ۱۱).



شکل ۱۱: نمای میکروسکوپی بیضه سیاه‌ماهی در مرحله اسپرماتوژنز نهایی. SG۱: اسپرماتوگونی اولیه، SG۲: اسپرماتوگونی ثانویه، SC۱: اسپرماتوسیت اولیه، SC۲: اسپرماتوسیت ثانویه، SD: اسپرماتید، SZ: اسپرماتوزوآ. (فرمالین، H & E، ×۱۰۰۰)

مرحله پیش از خروج اسپرم (Prespermiation stage):

در این مرحله لوبول‌های بیضه پر از اسپرماتوزوآ و دیواره آن‌ها نازک شده بود. این مرحله با رقیق شدن مایع منی و خروج اسپرم همراه است به‌طوری‌که با فشار به ناحیه شکمی اسپرم‌ها به راحتی خارج می‌شدند (شکل ۱۲).



شکل ۱۲: نمای میکروسکوپی بیضه سیاه‌ماهی در مرحله پیش از خروج اسپرم به همراه اسپرم‌های چتری شکل



تبدیل شده و با اضافه شدن دم به آن‌ها در نهایت به اسپرماتوزوئید تبدیل شده و همراه با ترشحات بیضه مایع منی را تشکیل می‌دهد. در ماه آخر اسپرم‌ریزی سرهای آن‌ها به هم نزدیک شده و با قرار گرفتن دم‌ها در مجاورت هم حالت چتری شکل پیدا می‌کنند. فرزادفر و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی بیضه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus rutilus kuttum*) مراحل مشابهی را توصیف کردند که با یافته‌ها و تصاویر میکروسکوپی به‌دست آمده در این مطالعه مشابه است.

نتایج بافت‌شناسی ساختمان تخمدان سیاه‌ماهی نشان داد که تخمدان این ماهی از نوع هم‌زمان گروهی (*Group synchronous*) می‌باشد، یعنی در طول این دوره، حداقل دو گروه تخمک در تخمدان دیده می‌شود: یک گروه تخمک‌های بزرگ هم‌زمان (*Clutch*) (که به‌زودی از تخمدان خارج می‌شوند) و یک گروه تخمک‌های کوچک (که برای تخم‌ریزی‌های بعدی مراحل رشد خود را طی می‌کنند). با مطالعه بافت‌شناسی تخمدان ماهیان تخم‌ریزی کرده مشخص شد در این تخمدان‌ها فقط تخمک‌های مراحل ابتدایی به همراه فولیکول‌های پس از تخمک‌گذاری و فولیکول‌های در حال بازجذب وجود دارد. هم‌چنین وجود هم‌پوشانی بین مراحل نزدیک به هم نمود گنادی نشان‌دهنده این است که سیاه‌ماهی از گروه ماهیانی است که تخم‌ها را یک‌باره رها نمی‌کنند، یعنی تخم‌ریزی در این ماهی بصورت نسبی (*Partial spawner*) می‌باشد. معمولاً در این گونه ماهیان، تکامل تخمک واضح است و شامل دو بخش متوالی اصلی یعنی زرده‌سازی و بلوغ می‌باشد و تخمک‌ها در دوره کوتاهی در فصل تخم‌ریزی رها می‌شوند (Przybylski, ۱۹۹۶).

ساختار تخم سیاه‌ماهی را به این شکل می‌توان توصیف کرد که اووگونی‌ها دارای هسته بزرگ و باند باریک سیتوپلاسم انوزینوفیلی می‌باشند. اووگونی‌ها بلافاصله بعد از مرحله تخم‌ریزی قابل مشاهده بودند و این نشان‌دهنده این است که یک گروه از سلول‌های اووگونی به‌طور دائمی برای تکامل مراحل بعدی تخمدان وجود دارد. تخمک‌سازی با شروع اولین تقسیم میوز (پروفاز میوز I) مشخص می‌شود. اووسیت‌های مرحله ۱ که اووسیت‌های مرحله هسته کروماتین‌دار نامیده می‌شوند، دارای هسته کمی بزرگ‌تر از هسته اووگونی و سیتوپلاسم با خاصیت بازوفیلیک ضعیف می‌باشند. اووسیت‌های مرحله ۲ یا اووسیت‌های مرحله هستک‌های کناری ممکن است براساس درجه بازوفیلیک سیتوپلاسم و موقعیت جسم بالبیانی (*Balbani bodies*) یا دانه‌های زرده به سه زیر مرحله ۲a، ۲b، و ۲c تقسیم شوند. هسته اووسیت‌ها بزرگ و مدور به‌همراه هستک‌ها،

ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد اعلام کردند. ظاهرین و همکاران (۱۳۹۱) اوج رسیدگی جنسی سیاه‌ماهی *C.c.gracilis* در رودخانه شیررود را اسفند و فروردین ذکر کردند. در این تحقیق روند رشد تخمدان و بیضه سیاه‌ماهی *C.c.intermedia* رودخانه شاپور با استفاده از روش مشاهده مستقیم و بافت‌شناسی کلاسیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تعیین مراحل رسیدگی جنسی نیز نشان داد سیاه‌ماهی از اواسط زمستان تا اواخر بهار در مراحل بالای رسیدگی جنسی است (شکل ۲). با توجه به این یافته‌ها می‌توان گفت فصل تولیدمثل این گونه در رودخانه شاپور بهمن تا اوایل تیر ماه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد احتمالاً تغییرات محیطی مثل کاهش درجه حرارت آب و کوتاه شده طول روز در فصل زمستان محرک رسیدگی جنسی در این ماهی است. Dorostghoal و همکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی میکروسکوپی و ماکروسکوپی چرخه تولیدمثل ماهی *Barbus grypus* در رودخانه کارون گزارش کردند این عوامل در رسیدگی جنسی این ماهی نقش اصلی دارد.

الگوی کلی رشد بافت تخمدانی مطالعه حاضر با بیش‌تر بررسی‌های انجام شده بر روی گونه‌های ماهیان استخوانی مطابقت داشت (Abou-seedo و همکاران، ۲۰۰۳؛ Assem, ۲۰۰۰؛ El-Gharabawy, ۱۹۹۹؛ Maddock و Burton, ۱۹۹۹) و الگوی رشد گنادهای این ماهی شش مرحله‌ای بوده که این مراحل شامل مراحل نابالغ، رسیدگی اولیه، بلوغ، رسیدگی نهایی، تخم‌ریزی شده و مرحله استراحت می‌باشد.

مشاهدات ماکروسکوپی گنادهای این ماهی نشان داد که تخمدان‌ها از نوع کیسه‌ای (*Cystovarian*) می‌باشد، یعنی هر تخمدان در انتها به یک لوله تخمک‌بر (*Oviduct*) متصل می‌باشد که در بخش انتهایی به هم پیوسته و از طریق یک مجرا به منفذ ادراری تناسلی می‌پیوندند. هم‌چنین در جنس نر یک جفت بیضه وجود دارد که در بخش انتهایی به هم متصل شده و از طریق یک مجرا به منفذ ادراری تناسلی می‌پیوندند. بنابراین سیاه‌ماهی یک گونه جنس جدا (*Gonochoristic*) است. هم‌چنین نتایج مشاهدات بافت‌شناسی نیز هیچ‌گونه علائم وجود مرحله بینابینی دو جنس در مقاطع بافتی گنادها نشان نداد. این یافته‌ها با گزارش پوستی و صدیق مروستی (۱۳۷۸) در بررسی بیولوژی تولیدمثل کپور ماهیان مطابقت دارد.

نتایج حاصل از مطالعه بافت‌شناسی ساختمان بیضه در طی سیزده ماه نمونه‌برداری نشان می‌دهد که در بیضه‌ها تعداد زیادی اسپرماتوگونی ثانویه وجود دارد. سپس اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه از این دسته سلول‌ها حاصل می‌شوند که به اسپرماتید

۲. پوستی، ا. و صدیق‌مروستی، ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهی: اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی. جهاد دانشگاهی واحد تهران. تالیف (تاکاشیما، اف و تی. هایپا). چاپ دوم. ۲۶۷ صفحه.
۳. حسین‌زاده صحافی، ه.، ۱۳۸۰. بیولوژی تولیدمثل ماهی با تأکید بر ماهی‌های ایران. جلد اول، موسسه انتشارات جهاد دانشگاهی واحد تهران. ۲۶۷ صفحه.
۴. خیراندیش، آ.؛ عبدلی، ا. و عبدلی، لیلا، ۱۳۹۲. بررسی سن و رشد سیاه ماهی *Capoeta damascina* (Valenciennes in Cuvier and Valenciennes ۱۸۴۲) در رودخانه دالکی استان بوشهر، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی). دوره ۲۶، شماره ۴، صفحات ۴۲۵ تا ۴۳۴.
۵. شامخی‌رنجبر، خ.، ۱۳۹۰. مقایسه درون حوضه‌ای ویژگی‌های تولیدمثل سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در ۵ سرشاخه از حوضه اصلی گرگانرود (نهرهای زرین گل، تیل آباد، چل جای، دوغ و پیشکمر)، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس. ۷۴ صفحه.
۶. شجیعی، ه.؛ فضلی، ح. و بانی، ن.، ۱۳۸۷. بررسی بیولوژی تولیدمثل در سیاه ماهی *Capoeta gracilis capoeta* در سواحل جنوبی دریای خزر استان مازندران (رودخانه تجن). فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. سال ۱، شماره ۲، صفحات ۳۱ تا ۳۵.
۷. عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آب‌های داخلی ایران. موزه طبیعت و حیات وحش ایران. تهران. ۳۷۸ صفحه.
۸. عبدلی، ا. و کوهستان‌اسکندری، س.، ۱۳۷۸. تولیدمثل طبیعی سیاه ماهی. علوم کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۶، صفحات ۳۸ تا ۵۱.
۹. فرزادفر، ف.؛ حیدری، ب. و غفوری‌رحیم‌آبادی، ز.، ۱۳۹۱. مورفوهیستولوژی گناد نر ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)، نشریه علمی-پژوهشی اقیانوس‌شناسی. سال ۴، شماره ۱۶، صفحات ۱۵ تا ۲۲.
۱۰. ظاهرین، م.؛ وطن‌دوست، ص.؛ قربانی، ر. و نوروز رجبی، ع.، ۱۳۹۱. بررسی سن، رشد و تولیدمثل سیاه ماهی *Capoeta capoeta gracilis* در رودخانه شیررود، استان مازندران. مجله پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۱، شماره ۱، صفحات ۸۷ تا ۱۰۰.
۱۱. Abdoli, A.; Rasooli, P. and Mostafavi, H., ۲۰۰۸. Length-Weight relationships of *Capoeta capoeta capoeta* (Gueldenstaedt, ۱۷۷۲) in the Gorganrud River, south Caspian Basin. J Appl Ichthyol. Vol. ۲۴, pp: ۹۶-۹۸.
۱۲. Abou-Seedo, F.S.; Dadzie, S. and Al-kanaan, K.A., ۲۰۰۳. Sexuality, sex change and maturation patterns in the yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Teleostei: اووسیت‌ها دارای اشکال نامنظم، در اووسیت‌های بزرگ‌تر (۲C) هستک‌ها به غشاء هسته چسبیده‌اند و اووسیت‌ها مدور شده‌اند. اووسیت‌های مرحله ۳ با ظهور وزیکول‌های سیتوپلاسمی قابل شناسایی‌اند. این وزیکول‌ها ابتدا در حاشیه سیتوپلاسم ظاهر می‌شوند، سپس تمام سیتوپلاسم را اشغال می‌کنند و با ظهور زرده پروتئیدی یا زرده واقعی به سیتوپلاسم حاشیه‌ای یا کورتکس رانده می‌شوند و تبدیل به آلوتل‌های قشری (Cortical alveoli) می‌شوند، که این آلوتل‌ها در زمان لقاح محتویات خود را به فضای پیرازرده‌ای (Perivitelline space) تخلیه می‌کنند (واکنش قشری). وزیکول‌های سیتوپلاسمی از جنس موکوپلی‌ساکارید یا موکوپتید هستند و توسط خود سلول اووسیت ساخته می‌شوند. یکی از وقایع مهم مرحله ۳ تشکیل لایه شفاف (Zona radiata) بین لایه گرانولوزا و اوولما است. در اووسیت‌های مرحله ۴، زرده پروتئیدی تمام سیتوپلاسم را پر کرده است و اووسیت‌های بزرگ بیش‌ترین حجم تخمدان را اشغال کرده‌اند. ضخامت لایه شفاف افزایش یافته است و لایه گرانولوزا و تکا بهتر قابل مشاهده‌اند. رشد سریع اووسیت‌ها به خاطر سنتز زرده و ذخیره وزیکول‌های سیتوپلاسمی است. زرده پروتئیدی در تخم این ماهی ابتدا به صورت گرانول‌های جدای از هم (غیرمتراکم) هستند، سپس در مرحله نهایی رسیدگی یعنی در زمان آب‌گیری تخمک در داخل تخمدان متراکم می‌شوند که شفافیت تخم‌های زنده و افزایش اندازه تخمک این گونه به خاطر این فرآیند می‌باشد. در ابتدای این مرحله هسته هنوز در مرکز حضور دارد و سپس شروع به مهاجرت به سمت قطب حیوانی کرده به طوری که در انتهای این مرحله هسته در قطب حیوانی قرار دارد و لایه شفاف به حداکثر ضخامت خود رسیده است (Dimitrova و Budnichenko, ۱۹۷۹).
- مطالعه حاضر ماهی تغییرات سالیانه ماکروسکپی و میکروسکپی سیاه ماهی *C.c.intermedia* در روخانه شاپور استان بوشهر را مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد مراحل رسیدگی این ماهی با تقسیم‌بندی شش مرحله‌ای قابل تفکیک و فصل تولیدمثل این گونه از اواسط زمستان تا اواخر بهار می‌باشد. مراحل رسیدگی ارائه شده در این پژوهش می‌تواند در شناسایی بافت‌شناسی مراحل اوئوژنز سیاه ماهی کمک فراوانی کند.

منابع

۱. پذیرا، ع.؛ جواهری‌بابلی، م. و نیری، م.، ۱۳۹۰. بررسی ساختار جمعیت سیاه‌ماهی *Capoeta capoeta intermedia* در رودخانه‌های استان بوشهر. اکوبیولوژی تالاب. دوره ۳، شماره ۲، صفحات ۷۶ تا ۷۹.



۲۶. Sparre, P.; Ursin, E. and Vanema, S.C., ۱۹۸۸. Introduction to tropical fish stock assessment part manual FAO, Italy. ۳۳۷ P.
۲۷. Unal, G.; Cetinkaya, O. and Elp, M., ۱۹۹۹. Histological investigation of gonad development of *Chalcalburnus tarichi* (p., ۱۸۱۱). Turkish Journal of Zoology. Vol. ۲۳, pp: ۳۲۹-۳۳۸.
۲۸. White, D.B.; Wyanski, D.M. and Sedberry, G.R., ۱۹۹۸. Age, growth and reproductive biology of the black belly rosefish from the Carolinas, USA. Journal of Fish Biolog. Vol. ۵۳, pp: ۱۲۷۴-۱۲۹۱.
۲۹. Yamamoto, K.; Oota, I.; Akano, K.T. and Ishikawa, T., ۱۹۶۵. Studies on the maturing process of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* irideus maturation of the ovary of a one-year old fish. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol. ۳۱, No. ۲, pp: ۱۲۳-۱۳۲.
- Sparidae) (Hostuyn, ۱۷۸۲). J Appl Ichthyol. Vol. ۱۹, pp: ۶۵-۷۳.
۱۳. Assem, S.S., ۲۰۰۰. The reproductive biology and histological characteristics of pelagic Carangid female *Caranx crysos*, from the Egyptian Mediterranean Sea. Journal of Basic and Applied Zoology. Vol. ۳۱, pp: ۱۹۵-۲۱۵.
۱۴. Bănărescu, P. and Coad, B.W., ۱۹۹۱. Cyprinids of Eurasia. In: Winfield I.J. and Nelson, J. S. (eds), Systematics, biology and exploitation. Chapman and Hall, London. ۲۴۱ p.
۱۵. Bromage, N. and Cumaranatunga, R., ۱۹۸۸. Egg production in rainbow trout. Recent Advances in Aquaculture. Vol. ۳, pp: ۶۳-۱۳۸.
۱۶. Budnichenko, V.A. and Dimitrova, O.S., ۱۹۷۹. The reproductive biology of *Saurida undosquamis* and *Saurida tumbil* (Family: Synodontidae) in the Arabian Sea. Journal of Ichthyology. Vol. ۱۹, pp: ۸۰-۸۶.
۱۷. Dorostghoal, M.; Peyghan, R.; Papan, F. and Khalili, L., ۲۰۰۹. Macroscopic and microscopic studies of annual ovarian maturation cycle of Shirbot *Barbus grypus* in Karoon river of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research. Vol. ۱۰, pp: ۱۷۲-۱۷۹.
۱۸. Drance, M.G.; Hallenberg, M.J.; Smith, M. and Wylie, V., ۱۹۷۶. Histological changes in trout testis produced by injections of salmon pituitary gonadotropin. Canadian Journal of Zoology. Vol. ۵۴, pp: ۱۲۸۵-۱۲۹۳.
۱۹. El-Gharabawy, M.M., ۱۹۹۶. Histomorphology of ovarian changes during the reproductive cycle of *Lithognathus mormyrus* (Teleostei; Sparidae). Journal of Basic and Applied Zoology. Vol. ۱۹, pp: ۹۷-۱۱۵.
۲۰. Fishelson, L.; Goren, M.; van Vuren, J. and Manelis, R., ۱۹۹۶. Some aspects of the reproductive biology of *Barbus* spp., *Capoeta damascina* and their hybrids (Cyprinidae, Teleostei) in Israel. Hydrobiologia. Vol. ۳۱۷, pp: ۷۹-۸۸.
۲۱. Maddock, D.M. and Burton, M.P.M., ۱۹۹۹. Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. Journal of Fish Biology. Vol. ۵۳, pp: ۹۲۸-۹۴۴.
۲۲. Miranda, A.C.L.; Bazzoli, N.; Rizzo, E. and Sato, Y., ۱۹۹۹. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. Tissue & Cell. Vol. ۳۱, pp: ۴۸۰-۴۸۸.
۲۳. Przybylski, M., ۱۹۹۶. Variation in fish growth characteristics along a river course. Hydrobiologia. Vol. ۳۲۵, pp: ۳۹-۴۶.
۲۴. Poortenaar, C.W.; Hickman, R.W.; Tait, M.J. and Giambartolomei, F.M., ۲۰۰۱. Seasonal changes in ovarian activity of New Zealand turbot (*Colistium nudipinnis*) and brill (*C.guntheri*). New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. Vol. ۳۵, pp: ۵۲۱-۵۲۹.
۲۵. Samaee, S.M.; Mojazi Amiri, B. and Hosseini Mazinani, M., ۲۰۰۶. Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. Folia zoology. Vol. ۵۵, pp: ۳۲۲-۳۳۵.

