

مقایسه ریزساختار زونا رادیاتا در تخمک رسیده و لقاح یافته کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و مولی (*Poecilia sphenops*)

علی مقدم^{۱*}، شهربانو عریان^۲، نادر شعبانی پور^۳

۱- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

۲- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان

چکیده

زونا رادیاتا ناحیه‌ای بدون سلول است که در گام‌های نخستین رشد و نمو تخمک در بیرون غشای پلاسمایی پدیدار و رفته‌رفته از سوی غشا تخمک و اپیتلیوم فولیکولی بر ضخامت و پیچیدگی آن افزوده می‌شود. ساختار این ناحیه می‌تواند در شناسایی نوع تخمک، جایگاه زندگی و تخم‌ریزی ماهی، مسیر مبادله مواد مغذی و گازهای مورد نیاز برای تخمک و رویان کمک کند. بررسی میکروسکوپی برش‌های بافتی تخمک‌های ماهی تخم‌گذار کپور نقره‌ای (فیتوفاگ) (*Hypophthalmichthys molitrix*) و ماهی زنده‌زای مولی (*Poecilia sphenops*) نشان داد که زونا رادیاتا در تخمک رسیده به صورت یک لایه ساده است و تنها آثاری از سیستم روزن-کانال در آن دیده می‌شود. پس از لقاح، زونا رادیاتا افزون بر کم‌ترین ضخامت و پیچیدگی، سیمایی متفاوتی نیز داشت. در مراحل پیش و پس از لقاح، ناهمسانی چشم‌گیری از دیدگاه ضخامت و معماری بین زونا رادیاتای تخمک دو گونه دیده شد. با توجه به شیوه متفاوت تولیدمثل دو گونه یافته‌های به دست آمده دور از انتظار نبودند.

واژگان کلیدی: زونا رادیاتا، کپور نقره‌ای، مولی

تاریخ پذیرش: مرداد ۹۳

تاریخ دریافت: خرداد ۹۳

* نویسنده مسئول: Moghaddam7@yahoo.com

مقدمه

زونا رادیاتا (ناحیه شعاعی)، به عبارت دیگر کوریون (Fujita et al., 2009)، پوسته تخم (Oppen-Bernsten et al., 1994)، غشای تخم (Singh and Devi, 2012)، پوشش تخم (Berois et al., 2011) یا پوشش زرده‌ای (Costel et al., 2004; Zelazowska, 2010) ناحیه‌ای بدون سلول است که در بیرون غشای پلاسمایی تخمک (Oolemma) پدید می‌آید (Anderson, 1967). معماری بیرونی و درونی آن در بیش‌تر ماهی‌ها متفاوت است که گمان نمی‌رود حتی در میان گونه‌های یک جنس از ماهیان یکسان باشد (McMillan, 2007). کارکردهای عمده پوشش‌های پیرامون تخمک را می‌توان این‌گونه برشمرد: ثابت کردن تخمک‌ها روی بستر تخم‌ریزی، جذب اسپرم، جلوگیری از پلی‌اسپرمی، محافظت ضدباکتریایی و مکانیکی و فراهم کردن کشسانی تخمک‌ها (Zelazowska, 2010). برای رویان در حال نمو، زونا رادیاتا، تبادل گاز، دفع و انتقال مواد از محیط بیرون را امکان‌پذیر می‌سازد (Rudiger and Rudiger, 2002). همچنین به عنوان یک چشم‌انداز، پوشش تخم ماهی‌ها را می‌توان یک دیده‌بان زیست‌محیطی (Biomonitor) برای آلاینده‌های اکولوژیک در نظر گرفت (Berois et al., 2011). پروتئین‌های زونا رادیاتا می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی دارای اطلاعات سودمند (Informative biomarkers) در برابر اثرات زیانبار اندوکرینی مواد شیمیایی و پساب‌ها کاربرد داشته باشند (Arukwe et al., 1997; Arukwe and Goksoyr, 2003).

تفاوت دیدگاه فراوانی درباره ساختار و لایه‌بندی زونا رادیاتا وجود دارد. برخی پژوهشگران بر این باورند که زونا رادیاتا در همه گونه‌های ماهیان استخوانی از دو لایه تشکیل شده است؛ لایه بیرونی نازک و لایه درونی ضخیم (Riehl and Patzner, 1998). در اسب دریایی (*Hippocampus erectus*) و سوزن‌ماهی (*Syngnathus fuscus*) (Anderson, 1967) زونا رادیاتا از ۳ لایه با نام‌های Z_1 ، Z_2 و Z_3 به ترتیب از سطح بیرونی به سطح درونی ساخته شده است. Clark و Cherr (۱۹۸۲) نشان دادند که پوشش تخم ماهی خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) از ۴ لایه L_1 تا L_4 ساخته شده است که بیرونی‌ترین لایه (L_4) ژله‌ای است. برخی دیگر از پژوهشگران لایه ژله‌ای را یک لایه به شمار نمی‌آورند زیرا پیش از برخورد با آب و فعال شدن تخم پدید نمی‌آید (Conte et al., 1988). در برخی ماهیان استخوانی مانند زنده‌زاه‌ها،

برای نمونه، *Xiphophorous helleri* زونا رادیاتا ساده و بدون لایه‌بندی است (McMillan, 2007). Shabanipour و Heidari (۲۰۰۴) همچنین Heidari و همکاران (۲۰۰۹) به ترتیب زونا رادیاتای کفال (*Liza aurata*) و ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) را ساختاری یک لایه گزارش کردند. پژوهش‌های فراساختاری تخم ماهیان دریایی در ۳ جنس (۴ گونه) از سوف‌ماهیان به وسیله Li و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تفاوت‌های ساختاری از نظر روزن‌ها (Pores) روی سطح بیرونی زونا رادیاتا میان گونه‌ها وجود دارد. سطح زونا رادیاتا و چگالی پراکنش روزن‌ها ویژگی‌های سودمندی برای تشخیص گونه‌ها بودند. بر پایه فراساختار زونا رادیاتا در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، Shabanipour و Hossayni (۲۰۱۰) داده‌هایی درباره چگالی، اندازه و ارتباط روزن‌های دو سطح بیرونی و درونی زونا رادیاتا گزارش کردند.

برای پژوهش حاضر، دو ماهی بسیار متفاوت - ماهی زنده‌زای مولی (*Poecilia sphenops*)، *Hypophthalmichthys* (Valenciennes 1846, Poeciliidae) و ماهی تخم‌گذار کپور نقره‌ای (*moltrix*, Valenciennes 1844, Cyprinidae) - انتخاب شدند و زونا رادیاتای تخمک‌های رسیده و تغییرات پس از لقاح آن بررسی شد. گونه‌های نامبرده از خانواده‌ها و جنس‌های جداگانه‌ای بوده، در بسیاری از رویکردها از جمله روش غذایی، محیط زندگی و راهبرد تولید مثلی متفاوت هستند. به خاطر تفاوت در جایگاه سیستماتیک و راهبرد تولیدمثلی، تفاوت در ساختار زونا رادیاتا انتظار می‌رود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

سلول‌های تخمک رسیده و تخم (زیگوت) کپور نقره‌ای از مراکز تکثیر و پرورش کپورماهیان فراهم شدند. ماهی‌های زنده‌زای مولی ۳/۵ تا ۴ ماهه نیز از مراکز تهیه ماهیان اکواریومی خریداری شدند. مولی‌های نر و ماده کنار هم قرار داده شدند و پس از آمیزش، بی‌درنگ تخمدان ماده‌ها در زیر لوپ جدا شد.

بافت‌شناسی

همه نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول تثبیت کننده بوئن قرار گرفتند و سپس در متانول ۷۰ درصد تثبیت شدند. نمونه‌ها برای آب‌گیری به ترتیب در متانول ۹۰ و ۱۰۰ درصد، برای شفاف‌سازی در گزیلول و برای فراهم‌سازی قالب‌های پارافینی، دو مرحله ۲۰ دقیقه‌ای در حمام پارافین درون انکوباتور با دمای ۵۷ درجه قرار گرفتند. پس از سرد شدن قالب‌ها، با دستگاه میکروتوم روتاری (Feitz. WETZLAR) برش‌های ۵ میکرونی گرفته شد و به روی لام آغشته به چسب آلومین انتقال داده شد.

میکروسکوپی

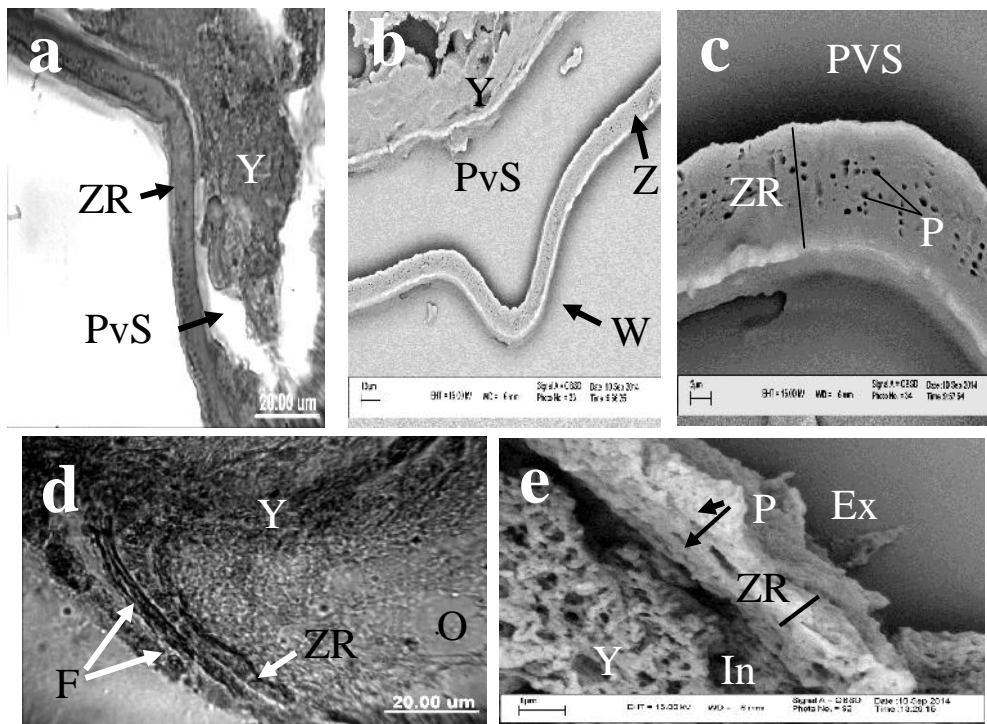
لام‌های رنگ‌آمیزی شده با روش هماتوکسیلین-ائوزین، با میکروسکوپ نوری (Olympus) بررسی شدند. تهیه ریزنگارها و ارزیابی آن‌ها با دوربین و نرم افزار TSView انجام شد. پس از مشاهده نمونه‌های بافتی، برای بررسی جزئیات، بخش‌های مورد نظر از نوارهای پارافینی انتخاب و روی لام‌هایی به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر (Cover slip) قرار گرفتند. سپس با گزیلول پارافین‌زدایی و با متانول ۹۰ درصد شستشو داده شدند (Kaviani et al., 2013). در مرکز میکروسکوپی الکترونی نگاره (SEM) در دانشگاه محقق اردبیلی، نمونه‌ها با طلا پوشش داده شد و به وسیله میکروسکوپ الکترونی نگاره (LEO 1430 VP) مورد بررسی قرار گرفت. میکروگراف‌ها فراهم شد و اندازه‌گیری‌ها به وسیله نرم‌افزار LEO Serv-32 انجام شد.

نتایج

یافته‌های پیش از لقاح

در تخمک‌های پس‌زرده‌ای (رسیده)، ضخامت، پیچیدگی و معماری زونا رادیاتا آشکارا میان دو گونه متفاوت بود (اشکال ۱a تا ۱e). میانگین ضخامت زونا رادیاتا در کپور نقره‌ای و مولی به ترتیب ۱۱ و ۱ میکرون بود. گرانول‌های کوچک زرده به هم پیوسته و صفحات زرده (۱b) یا گرنول‌های بزرگ‌تر (۱d) کم و بیش یکنواخت را ساخته بودند. کانال‌های زونا رادیاتا (خطوط نرده مانند) که حضورشان از ویژگی‌های تخمک‌ها در مرحله زرده‌سازی است و ریزپرز (میکروویلی)ها

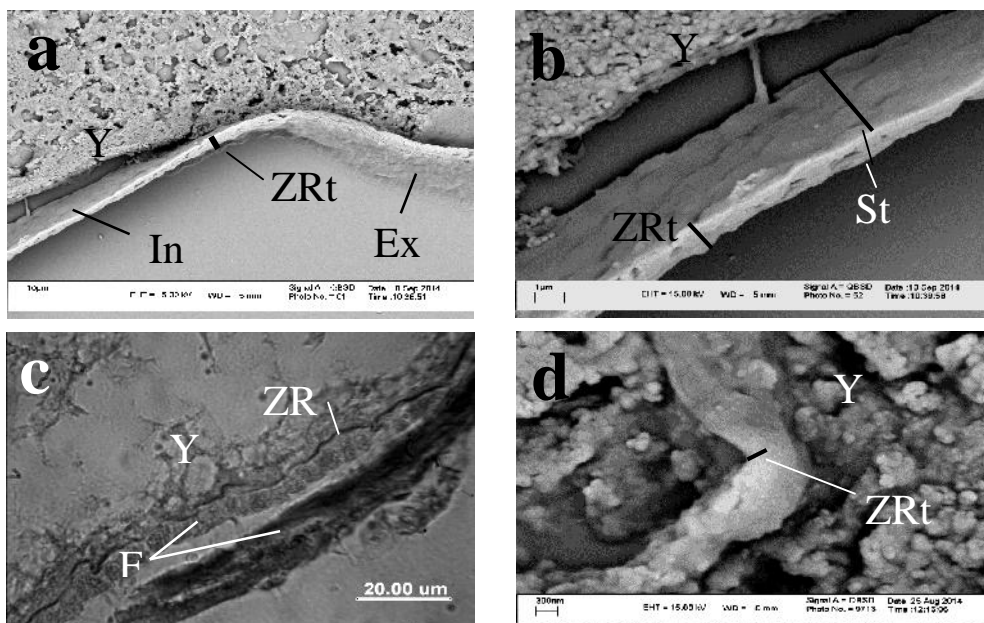
درون آن‌ها دیده نشد. زونا رادیاتا در هر دو گونه ظاهری روزن‌دار (Pore) داشت (شکل‌های ۱c و ۱e). در مولی، روزن‌ها آرایش ویژه‌ای نداشتند و در سطح درونی زونا رادیاتا کم‌شمارتر ولی از نظر اندازه بزرگ‌تر بودند (شکل ۱e). در کپور نقره‌ای، روزن‌ها در دسته‌های چندتاییی (به صورت خوشه‌ای یا رشته‌ای؛ شکل‌های ۱b و ۱c) و فضای دور زرده‌ای (Perivitellin) میان زونا رادیاتا و سطح تخمک دیده شد (شکل‌های ۱a و ۱b).



شکل ۱: (a) برش بافتی تخمک کپور نقره‌ای نشان دهنده زونا رادیاتا و فضای دورزرده‌ای. (b و c) میکروگراف‌های الکترونی کپور نقره‌ای نشان دهنده زونا رادیاتا و روزن‌های موجود در آن و همچنین (d) برش بافتی از تخمک ماهی مولی که ضخامت لایه‌های فولیکولی مشخص است. (e) میکروگراف الکترونی مولی که باریک بودن لایه زونا رادیاتا و منافذ متفاوت آن را نشان می‌دهد. ZR: زونا رادیاتا؛ Y: زرده؛ PvS: فضای دور زرده‌ای؛ W: چین‌خوردگی زونا رادیاتا و منافذ متفاوت آن را نشان می‌دهد. P: روزن (منفذ)‌های زونا رادیاتا؛ O: اوپلاسم؛ F: لایه‌های فولیکولی؛ Ex: سطح بیرونی زونا رادیاتا؛ In: سطح درونی زونا رادیاتا.

یافته‌های پس از لقاح

پس از فرآیند لقاح، ضخامت زونا رادیاتا در هر دو گونه کاهش یافت و میانگین ضخامت در کپور نقره‌ای و مولی به ترتیب به ۱ و ۰/۲۵ میکرون رسید (شکل ۲a تا ۲d). در زونا رادیاتا کپور نقره‌ای به جز چند روزن بزرگ بقیه ناپدید شدند ولی تغییر ساختار در زونا رادیاتا هر دو گونه مشاهده شد و به صورت یک لایه همگن و متراکم دیده شد (شکل ۲b و ۲d). سطح داخلی تقریباً صاف بود ولی سطح بیرونی زوائد پرز مانند داشت. زونا رادیاتا در کپور نقره‌ای از سطح زیگوت بیش‌تر فاصله گرفته بود و حجم فضای گرداگرد زرده‌ای افزایش یافت. برآمدگی‌های بزرگی در زونا رادیاتا شکل گرفت که به آن سیمایی چین‌خورده می‌داد (شکل ۲a). زونا رادیاتا در تخمک مولی باریک‌تر از قبل دیده شد به طوری که به سختی قابل تشخیص بود. لایه‌های فولیکولی حتی پس از لقاح نیز دیده می‌شدند.



شکل ۲: (a و b) تصاویر SEM از زونا رادیاتا کپور نقره‌ای که نشان دهنده ضخامت کم ZR و سطح بیرونی پرز مانند در کپور نقره‌ای و مولی است، (c و d) به ترتیب میکروگراف بافتی و تصویر SEM از زونا رادیاتا مولی است که ZR به صورت محسوس دیده نمی‌شود. ZR: زونا رادیاتا؛ ZRt: ضخامت زونا رادیاتا؛ Y:

زرده: P: روزن‌های زونا رادیاتا؛ O: اوویلاسم؛ F: لایه‌های فولیکولی؛ Ex: سطح بیرونی زونا رادیاتا؛ In: سطح درونی زونا رادیاتا؛ St: ضخامت پنج میکرونی مقطع بافتی.

بحث

در تخمک‌های پس‌زرده‌ای (رسیده)، زونا رادیاتا معماری ساده‌ای داشت. خطوط یا نوارهای نرده مانند، گذرگاه‌ها یا کانال‌ها دیده نشدند. در این مرحله زونا رادیاتا روزن‌دار به نظر می‌رسید که بازمانده‌های سیستم روزن-کانال هستند. کارکرد اصلی این سیستم انتقال مواد از خون به درون تخمک برای تولید زرده در مرحله زرده‌سازی است (McMillan, 2007). علت حضور بخشی از این سیستم در تخمک رسیده و زیگوت نیز آن است که به باور Celius و Walther (۱۹۹۸)، رسیدگی و تخم‌گشایی فرآیندهای پیچیده‌ای هستند که نیاز به انتقال فعال مواد خام دارند.

چنان که در شکل ۱ دیده شد، روزن‌های زونا رادیاتا در کپور نقره‌ای به صورت دسته‌های چندتایی و در اندازه‌های متفاوت هستند ولی در مولی، در سطح بیرونی و درونی زونا رادیاتا بدون نظم مشخصی پراکنده بوده، از نظر تعداد و اندازه ناهمسان هستند. دلیل این که شیوه‌های گوناگون پراکنش روزن‌ها در ماهی‌های مختلف و رویه‌های زونا رادیاتا، همچنین ناهمسانی در تعداد و اندازه روزن‌ها، چگونه در انتقال مواد نقش بازی می‌کنند، هنوز شناخته نشده است. شاید این ویژگی‌ها نشانگر نوعی از انتقال گزینشی است (McMillan, 2007). ساده شدن سیستم روزن-کانال در تخمک رسیده و ساده‌تر شدن آن در زیگوت (به ویژه در کپور نقره‌ای) شاید کاهش کارکرد تغذیه ای و افزایش کارکرد حفاظتی آن را به نمایش بگذارد. Hurley و Fisher (۱۹۶۶) بیان داشتند در تخمک‌های رسیده‌ی قزل‌آلای رنگین‌کمان شمار کانال‌ها به خاطر بسته شدن کاهش می‌یابد.

دیده شد که در کپور نقره‌ای در مقایسه با مولی، زونا رادیاتا بسیار ضخیم‌تر بود که احتمالاً مربوط به تفاوت در راهبرد تولیدمثلی این ماهی‌ها است. مولی یک ماهی زنده‌زا (Roopavathy et al., 2011) ولی کپور نقره‌ای تخم‌گذار است. این نوع کپور در آب‌های تند، سیلابی و گل‌آلود زندگی و تخم‌ریزی می‌کند (Schoonbee and Prinsloo, 1984). تخم‌های آن شناور و از نوع Bathypelagic هستند (Esmaeili and Johal, 2005). در پژوهش حاضر دیده شد که فضای گرداگرد زرده‌ای پهناور و برآمدگی‌ها یا چین‌خوردگی‌های بزرگ تشکیل می‌دهند. به نظر می‌رسد

که زونا رادیاتای ضخیم‌تر و چین‌خوردگی‌ها، تخمک‌ها را پس از خروج از بدن از تاثیر ضربات مکانیکی شدید محیط بیرونی در زیستگاه‌های سیلابی و آب‌های تند محافظت خواهند کرد (Patzner, 2008). جذب آب و گسترده‌تر شدن فضای گرداگرد زرده‌ای نیز شناوری تخم‌ها را فراهم خواهد کرد (Riehl, 1996). Stehr و Hawkes (۱۹۷۹) نیز ساختار و ضخامت غشاهای محافظت کننده تخم‌ها را برخاسته از اکولوژی تولیدمثلی ویژه می‌دانند. همچنین دستاوردهای حاصل از بررسی ماهی زنده‌زای مولی (*Poecilia sphenops*) در این مطالعه، یافته‌های موجود درباره ماهی زنده‌زای *Xiphophorus helleri* و زنده‌زاهای دیگر را تایید می‌کند. در *Xiphophorus helleri* زونا رادیاتا به همان روش گونه‌های تخم‌گذار ولی یک‌لایه‌ای و هموزن شکل می‌گیرد و تا پایان زرده‌سازی به بیشینه ضخامت خود (۱ میکرومتر) می‌رسد، سپس باریک‌تر شده، کم و بیش در پایان رسیدگی به طور کامل ناپدید می‌شود (Azevedo and Coimbra, 1980). پوشش ساده‌تر و باریک‌تری در Poecilid های زنده‌زا نسبت به گونه‌های تخم‌گذار توصیف شده است که شاید ارتباط میان جریان خون مادری و جنینی را بیش‌تر کند.

در زیگوت، ضخامت و پیچیدگی ساختاری زونا رادیاتا به طور چشمگیری کاهش یافت. سیمای روزن‌دار آن کم و بیش از میان رفت و به یک ناحیه همگن و برآمده تبدیل شد. وجود لایه فولیکولی حتی پس از لقاح (Martyn et.al., 2006) شاید از وظیفه مهم زونا رادیاتا در این ماهیان بکاهد چرا که در بدن ماهی مادر، تغییرات محیطی کم‌تر بر سلول‌های تخم و جنین تاثیر می‌گذارد. در کپور نقره‌ای فضای گرداگرد زرده‌ای گسترده‌تر شد. گمان می‌رود که این تغییرات باید پیامد واکنش قشری هنگام لقاح باشد. در این مرحله زونا رادیاتا را غشا یا پوشش لقاح می‌نامند (Iwamatsu and Ohta, 1976; Guraya, 1986) و تغییرات آن باعث بسته شدن میکروپیل و جلوگیری از پلی‌اسپرمی می‌شود (Murata, 1991). Iwamatsu (۱۹۸۳) نشان داد هنگامی که تخمک‌ها دکوریونه (جدا شدن از زونا رادیاتا) و با اسپرم آغشته می‌شوند، پلی‌اسپرمی روی می‌دهد. در پژوهش حاضر دیده شد که تفاوت ریزساختار و فراساختار زونا رادیاتا به ویژه معماری سیستم روزن-کانال میان دو گونه چشم‌گیر بود. این تفاوت قابل انتظار است زیرا این گونه‌ها از تیره‌ها و جنس‌های متفاوتی هستند. چنان که بررسی‌های مقایسه‌ای فراساختار زونا رادیاتا در تخم‌های ماهیان دریایی ۳ جنس (۴ گونه) از سوف‌ماهیان نشان داد ویژگی‌های بررسی شده

(داشتن یا نداشتن روزن و چگالی پراکنش روزن‌ها) تفاوت معنی‌داری در ماهی‌های یک جنس نداشت، ولی به طور معنی‌داری در جنس‌های متفاوت حتی در یک تیره فرق داشت (Li et al., 2000).

منابع

- Anderson E. 1967.** The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. *The Journal of Cell Biology*, 35: 193-212.
- Arukwe A. and 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. and Goksoyr A. 1997.** Fish zona radiata (eggshell) protein: a sensitive biomarker for environmental estrogens. *Environmental Health Perspectives*, 105: 418-422.
- Azevedo C. and Coimbra A. 1980.** Evolution of nucleoli in the course of oogenesis in a viviparous teleost (*Xiphophorus helleri*). *Biology of Cell* 38: 43-48.
- Berois N., Arezo M.J. and Papa N.G. 2011.** Gamete interactions in teleost fish: the egg envelope. Basic studies and perspectives as environmental biomonitor. *Biological Research*, 44: 119-124.
- Celius T. and 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.
- Cherr G.N. and Clark Jr. W.H. 1982.** Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. *Development, Growth and Differentiation*, 24: 341-352.
- Conte F.C., Doroshov S.I., Lutes P.B. and Strang E.M. 1988.** Hatchery manual for the white sturgeon *Acipenser transmontanus* Richardson, with application to other north American acipenseridae. Cooperative extension, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3322.
- Costel C.D., Martin L.B., Luca J., Evelin S.L. and Paul M.W. 2004.** Structural characterization of fish egg vitelline envelope proteins by mass spectrometry. *Biochemistry*. 43(23): 7459-7478.
- Esmacili H.R. and Johal M.S. 2005.** Ultrastructural features of the egg envelope of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes*, 72: 373-377.

- Fujita T., Scott A.P., Katsiadaki L., Amano H., Hong L., Hiramatsu N., Todo T. and Hara A. 2009.** Purification of multiple precursors for egg chorion proteins in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Zoological Sciences*, 26(12): 870-877.
- Guraya S.S. 1986.** The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger Publishers. Pp: 75-82.
- Heidari B., Shabanipour N., Savari A., Yavari V. and 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.
- Hurley D.A. and Fisher K.C. 1966.** The structure and development of the external membrane in young eggs of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *Canadian Journal of Zoology*, 44: 173-190.
- 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 and 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's Roux's Archives*, 180: 297-309.
- Kaviani E.F., Shabanipour N. and Mirnategh S.B. 2013.** Light and electron microscope structural study of the zona radiata in the oocytes of zebrafish (*Danio rerio*). *Microscopy (Tokyo)*, 62(3): 377-381.
- Li Y.H., Wu C.C. and Yang J.S. 2000.** Comparative ultrastructural studies of the zona radiata of marine fish in three genera in Perciformes. *Journal of Fish Biology*, 56(3): 615-621.
- Martyn U, Weigel D and Dreyer C. 2006.** In vitro culture of embryos of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Developmental Dynamics*, 235: 617-622.
- McMillan D.B. 2007.** Fish histology; female reproductive systems. Springer, The Netherlands. Pp: 67-87.
- Murata K. 1991.** Spawning female-specific egg envelope glycoprotein-like substances in *Oryzias latipes*. *Development, Growth and Differentiation*, 34: 545-551.
- Oppen-Berntsen D.O., Olsen S.O., Rong C.J., Taranger G.L., Swanson P. and Walther B.T. 1994.** Plasma levels of eggshell ZR-proteins, estradiol-

- 17 , and gonadotropins during an annual reproductive cycle of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Experimental Zoology*, 268(1): 59-70.
- Patzner R.A. 2008.** Reproductive strategies of fish In: Rocha M.J., Arukwe A. and Kapoor B.G. (Eds). *Fish Reproduction*. Science Publisher, Enfield. Pp: 332-335.
- Riehl R. 1996.** The ecological significance of the egg envelope in teleosts with special reference to limnic species. *Limnologica*, 26: 183-189.
- Riehl R. and Patzner R.A. 1998.** Minireview: The modes of egg attachment in teleost fishes. *Italian Journal of Zoology*, 65(1): 415-420.
- Roopavathy J., Krishnamoorthy P., Sukumaran M. and Rajeswari K. 2011.** Effect of *Andrographis paniculata* Leaves extract on ovary of adult Ornamental fish – Black molly (*Mollienisia latipinna*). *Advances in Applied Science Research*, 2(4): 314-319.
- Rudiger B. and 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.
- Shabanipour N. and 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. and 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.
- Singh K.D. and Devi W.M. 2012.** Ultrastructure study of egg membrane in *Osteobrama belangeri* Val. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 1(4): 49-51.
- Schoonbee H.J. and Prinsloo J.F. 1984.** Techniques and hatchery procedures in induced spawning of the European common carp, *Cyprinus carpio* and the Chinese carps *Ctenopharyngodon idella*, *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* in Transkei. *Water SA*, 10(1): 36-39.
- Stehr C.M. and Hawkes J.W. 1979.** The comparative ultrastructure of the egg membrane and associated pore structures in the starry flounder, *Platichthys stellatus* (Pallas), and pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). *Cell and Tissue Research*, 202: 347-356.

Zelazowska M. 2010. Formation and structure of egg envelopes in Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes: Acipenseridae). *Journal of Fish Biology*, 76: 694-706.

**Aquatic Physiology and
Biotechnology**
Vol. 2, No. 2, Summer 2014

Comparative study on fine structure of mature and fertilized eggs of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and molly (*Poecilia sphenops*)

Ali Moghdam^{1*}, Shahrbanoo Oryan², Nader Shabanipour³

1- Ph.D. Student in Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran.

2- Professor in Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran.

3- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: June 2014

Accepted: August 2014

Abstract

Zona radiate (ZR) is an acellular region which during early stages of oocyte development appear outer to oolemma and attains more thickness and complexity by the action of follicular epithelium and oolemma itself. The structure of ZR might help in recognition of egg type, fish habitat, spawning ground and exchanging routs for needful gases and nutrients. Microscopic studies of histological sections of oviparous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and viviparous molly (*Poecilia sphenops*) revealed that ZR in mature oocytes was a simple layer with vestigial pore canals. ZR in post-fertilized eggs showed reduction in thickness and possessed different appearance. Based on mode of reproduction, pre and post- fertilized egg of both species presented notable and expected differences in ZR thickness and architecture.

Key words: *Zona Radiata, Silver Carp, Molly.*

*Corresponding Author: Moghaddam7@yahoo.com