



University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology



ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: <https://jae.hormozgan.ac.ir>

A comparative histological study of the reproductive structure of dominant Bivalvia species in Karkheh River in a year

Maryam Shohani¹, Solmaz Shirali^{1 *}, Babak DoustShenas¹

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

Article Info

ABSTRACT

Article type: Research

Article history:

Received: 12 October 2023

Accepted: 10 February 2024

ePublished: 26 May 2024

* Corresponding Author:

Solmazshirali_awz@yahoo.com

Keywords:

Gametogenesis,

Bivalvia,

Unio tigridis,

Pseudodopsis euphratica.

Despite the economic and environmental importance of freshwater mussels, there is limited information available regarding their biology. Considering the significance of bivalve gonads as vital reproductive organs, this study aimed to identify and investigate the histological structure of reproductive organs of dominant bivalve species throughout one year, from April 2021 to February 2022, in the Karkeh River. For this purpose, bivalves were seasonally collected, identified, and then dissected. Subsequently, the gonads underwent histomorphometric examination following tissue processing stages. The results indicated that *Unio tigridis* and *Pseudodopsis euphratica* were the predominant species in the Karkeh River, both belonging to the Unionidae family. The ovaries in both species exhibited asynchronous development. The reproductive cycle throughout the year comprised three stages: undeveloped, developing, and mature. Considering gonadal maturity in spring and spawning in summer, it appears that the primary gonadal activity of both species in the Karkeh River in the study area occurs in spring, while peak reproductive activity takes place in summer.



Publisher: University of Hormozgan.



مطالعه بافت شناسی مقایسه‌ای ساختار تولید مثلی گونه‌های غالب دو کفه‌ای در رودخانه کرخه در طی یک سال

مریم شوهانی^۱، سلماز شیرعلی^{۱*}، بابک دوست شناس^۱

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

چکیده

با وجود تنوع، اهمیت اقتصادی و زیست محیطی صدف‌های آب شیرین، اطلاعات کمی در مورد زیست شناسی آنها وجود دارد. با توجه به اهمیت نرم تنان دوکفه‌ای و با در نظر گرفتن اهمیت گنادها به عنوان اعضای مهم در تولیدمثل و بقاء موجود این مطالعه با هدف شناسایی و بررسی بافت شناسی ساختار تولیدمثلی گونه‌های غالب دوکفه‌ای طی یک سال از اردیبهشت ۱۴۰۰ تا بهمن ۱۴۰۰ در رودخانه کرخه انجام گرفت. به این منظور دو کفه‌ای‌ها به صورت فصلی صید شده و ابتدا مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس تشريح شده و گنادها پس از طی مراحل پاساژ بافتی مورد بررسی هیستومورفومتریک قرار گرفتند. نتایج نشان داد صدفهای دو کفه‌ای *Unio tigridis* و *Pseudodopsis euphratica* گونه‌های غالب رودخانه کرخه بودند که هر دو از خانواده یونیونیده می‌باشند. تخدمان در هر دو گونه از نوع ناهمzman بود. چرخه تولیدمثلی در طی یک سال شامل سه مرحله توسعه نیافته، در حال توسعه و بالغ بود. با توجه به مشاهده بلوغ گنادی در بهار و تخم ریزی در تابستان، به نظر می‌رسد زمان اصلی رسیدگی گنادی هر دو گونه در رودخانه کرخه در منطقه مورد مطالعه در بهار و زمان اصلی تولیدمثل در تابستان باشد.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۱

تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۳/۰۳/۰۶

* نویسنده مسئول:

Solmazshirali_awz@yahoo.com

کلیدواژه‌ها:

گامتورنر،

صدف دو کفه‌ای،

Unio tigridis

Pseudodopsis euphratica

ناشر: دانشگاه هرمزگان.



مقدمه

نرم تنان دومین شاخه بزرگ جانوری از نظر تنوع گونه در جهان می باشد (Gray., 2014). یکی از رده های نرم تنان دوکفهای ها می باشد که به آن ها تیغه آبپوشیان و یا تبر پایان نیز گفته می شود که از نظر تعداد گونه مقام دوم را بعد از شکم پایان دارند. بیشتر آن ها در آب های شور ساکن هستند و یک پنجم از تمام انواع آن ها در آب شیرین زندگی می کنند (Gosling, 2003; Waller, 2006). این آبیان به دلیل پراکنش گسترده، فراوانی مناسب، تحرک بسیار کم، مقاومت نسبت به تغییرات و آلودگی های محیطی، تجمع زیستی بالا در مورد بسیاری از آلاینده ها، فعالیت پایین آزیم های سوت و ساز، طول عمر طولانی و اندازه مناسب، پایشگران زیستی بسیار مناسبی برای اکوسیستم های آبی محسوب می شوند (Zhou *et al.*, 2008).

خانواده یونیونیده (Unionidae) تنها صدف های آب شیرین هستند که در معرض خطر انقراض در جهان قرار دارند. کاهش آنها نتیجه تغییرات فزاینده انسانی مانند انتقال و برداشت آب، کanal سازی رودخانه ها، لاپریوی، آلودگی و غیره در زیستگاه های آب شیرین می باشد (Lopez-Lima *et al.*, 2018). *Pseudodopsis euphratica* و *Unio tigris* (Lopez-Lima *et al.*, 2021). مطالعات متعددی نشان داده است که وضعیت تولید مثل در نرم تنان یک فرآیند چرخه ای است و ممکن است فرایندهای سالانه، شش ماهه یا مداوم باشد (Drummona (*et al.*, 2006; Serefliyan *et al.*, 2013

ویژگی ها و روش های تولید مثلی گونه های یونیونیده نیز متنوع و پیچیده هستند (Haag and Staton., 2003) Serefliyan و همکاران (2013) با مطالعه خود بر صدف دو کفه ای گونه *P. littoralis* (صدف دو کفه ای از خانواده یونیونیده) گزارش کردند که اووژن در ۳ ماه زمستان شدید می باشد و در بهار (در ماه می) تخمدان ها به بیشترین رشد خود می رسدن. Hliwa و همکاران (2015) در مطالعه خود بر تخمدان *S. woodiana* (صدف دو کفه ای از خانواده یونیونیده) گزارش کردند که تخمدان از نوع ناهمzman می باشد و اووژن طی پنج مرحله در فولیکول های تخمدانی انجام می شود. همچنین در مطالعه خود بر بیضه *S. woodiana* در ماه های دوم و سوم بهار، وجود تعداد فراوان اسپرم های بالغ (اسپرماتوزواها) را گزارش کردند. از سویی دیگر در مورد زمان اصلی تولید مثل در دوکفه ای های مختلف و در مناطق مختلف نتایج متفاوتی گزارش شده است. Lima و همکاران (2012) زمان تخم ریزی در صدف دوکفه ای *Anodonta squalida* را در تالاب میرا در پرتغال در ماه های تابستان و Dagnino و همکاران (2017) در بررسی تولید مثل صدف دوکفه ای *Megapitaria squalida* در خلیج جنوب شرق کالیفرنیا مهمنترين دوره تخم ریزی را از ماه های اکتبر تا نوامبر گزارش کرده اند. در بیشتر مطالعات بر دوکفه ای های آب شیرین و دوکفه ای های دریابی، چرخه تولید مثلی به سه تا هفت مرحله تقسیم شده است (Labecka and Domagala., 2018)

زیست شناسی تولید مثل و اکولوژی صدف های جوان و بالغ عوامل کلیدی هستند که توانایی بقای صدف های آب شیرین را تعیین می کنند. با وجود تنوع و ارزش اقتصادی و زیست محیطی صدف های آب شیرین، اطلاعات کمی در مورد زیست شناسی آنها به ویژه برای گونه های خارج از اروپا و آمریکای شمالی وجود دارد (Cao *et al.*, 2018) Masaeli *et al.*, 2021) به این جهت با توجه به اهمیت بسیاری از بخش های جهان بر اهمیت مدیریت منابع آبی تاکید می کند (Masaeli *et al.*, 2021) به این جهت با توجه به اهمیت خوارکی، اقتصادی و زیست محیطی نرم تنان دوکفه ای و با در نظر گرفتن اهمیت گنادها به عنوان اعضای مهم در تولید مثل و بقاء موجود این مطالعه با هدف شناسایی و بررسی بافت شناسی ساختار تولید مثلی گونه های غالب دوکفه ای در طی یک سال در رودخانه کرخه انجام گرفت.

مواد و روش ها

حوضه آبریز رودخانه کرخه زیر مجموعه حوضه آبریز خلیج فارس و دریای عمان است. نمونه برداری در پژوهش حاضر از حوضه آبریز رودخانه کرخه در محدوده شهرستان حمیدیه انجام گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. نقشه منطقه مورد مطالعه

در مجموع ۶۹ نمونه صدف به صورت تصادفی توسط صیاد از بستر رودخانه جمع آوری شدند. نمونه برداری به صورت فصلی (بهار، تابستان، پاییز و زمستان) از اردیبهشت ۱۴۰۰ تا بهمن ۱۴۰۰ انجام شد و از هر نمونه حداقل ۸ صدف جمع آوری گردید. نمونه‌ها در ظروف حاوی آب رودخانه به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس بیومتری شده و بر اساس خصوصیات ظاهری و همچنین صفات زیست‌شناسی با استفاده از کتب و کلیدهای شناسایی معتبر مانند (Brusca and Brusca, 2003) و (Graf and Cummings, 2021) و (Lopes-lima et al., 2021) مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس صدف‌ها از وسط باز شده و به وسیله تیغه اسکالپل، قسمت گنادی از قسمت احتاشایی جدا گردیده و در ظروف حاوی فرمالین ۱۰٪ به مدت ۱۰ روز قرار داده شدند. سپس برش‌های کوچکی از بافت گنادها تهیه شده و پس از شستشو به مدت یک شب، جهت انجام پاساژ بافتی به دستگاه اتوماتیک هیستوکینت مدل RX-11B (ساخت ژاپن) منتقل شدند.

پس از اتمام مراحل پاساژ بافتی، از قالب‌های لوکهارت و پارافین جهت قالب گیری نمونه‌ها استفاده شد. پس از سرد شدن قالب‌ها و زدودن پارافین اضافه اطراف نمونه‌ها، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم LEICA RM2245 (ساخت آلمان) از آنها تهیه و مورد رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوژین قرار گرفتند (Bancroft and Gamble, 2002). جهت بررسی ساختار هیستولوژیک و هیستومتریک نمونه‌ها از میکروسکوپ نوری مدل OLYMPUS مجهز به لنز Dino Capture 2 استفاده شد. جهت بررسی درصد فولیکول‌های پیش زرده سازی و زرده سازی، تعداد این فولیکول‌ها در هر نمونه در ۵ اسالاید و در هر اسالاید در ۵ میدان دید میکروسکوپی شمارش شدند. نوع و قطر فولیکول‌ها در هر مرحله مشخص و اندازه گیری شد و مراحل مختلف تخدمان تعیین شد. مراحل مختلف بیضه نیز بر اساس نوع سلول‌های جنسی نر تعیین شد.

جهت بررسی آماری، ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت تا از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل شود. به منظور مقایسه پارامترهای اندازه گیری شده از آنالیز واریانس یک طرفه در سطح خطای ۰/۰۵ استفاده گردید. همچنین از آزمون تعقیبی LSD جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت متغیرها استفاده گردید. نتایج به صورت خطای معیار ± میانگین گزارش گردید. آنالیزها با نرم افزار SPSS 22 انجام شد.

مطالعات ریخت شناسی، وجود دو گونه صدف با نام‌های علمی *Pseudodopsis euphratica* و *Unio tigris* را در منطقه مورد مطالعه نشان داد که هر دو از خانواده یونیونیده می‌باشند. همچنین نشان داده شد که گونه *Unio tigris* در طول چهار فصل گونه غالب منطقه بود (شکل ۲).



شکل ۲. A: صدف دو کفه ای گونه *Pseudodopsis euphratica*, B: صدف دو کفه ای گونه *Unio tigris*

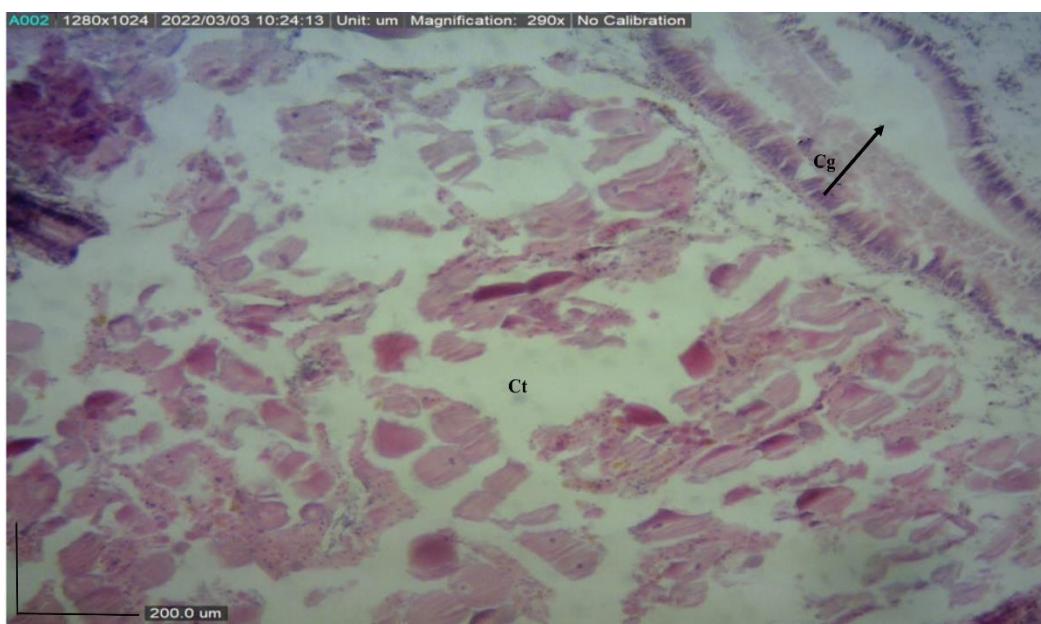
نتایج بررسی آماری میانگین وزن، طول و عرض صدف‌های دوکفه‌ای گونه *U. tigris* نشان داد که وزن صدف‌ها در تابستان به طور معنی داری بالاتر بود، اما بین وزن صدف‌ها در تابستان نسبت به پاییز و زمستان اختلاف معنی داری وجود نداشت. بین طول و عرض صدف‌ها در چهار فصل اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین \pm انحراف معیار وزن، طول و عرض صدف‌های دوکفه‌ای گونه *U. tigris* در چهار فصل

فصل	وزن نمونه (گرم)	طول نمونه (میلی متر)	عرض نمونه (میلی متر)
بهار	۱۶/۸۷ \pm ۱/۹۲ ^a	۴۹/۲۰ \pm ۱/۷۰ ^a	۲۹/۴۵ \pm ۰/۸۱ ^a
تابستان	۳۱/۱۵ \pm ۵/۶۵ ^b	۶۱/۰۰ \pm ۴/۱۶ ^a	۲۹/۷۵ \pm ۲/۲۱ ^a
پاییز	۲۵/۱۶ \pm ۱۳/۹۶ ^b	۵۵/۵۸ \pm ۱۶/۴۹ ^a	۲۷/۵۷ \pm ۴/۸۷ ^a
زمستان	۲۲/۱۹ \pm ۱۰/۶۴ ^b	۵۴/۰۰ \pm ۱۰/۱۶ ^a	۲۶/۱۶ \pm ۴/۱۳ ^a

حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می‌باشد.

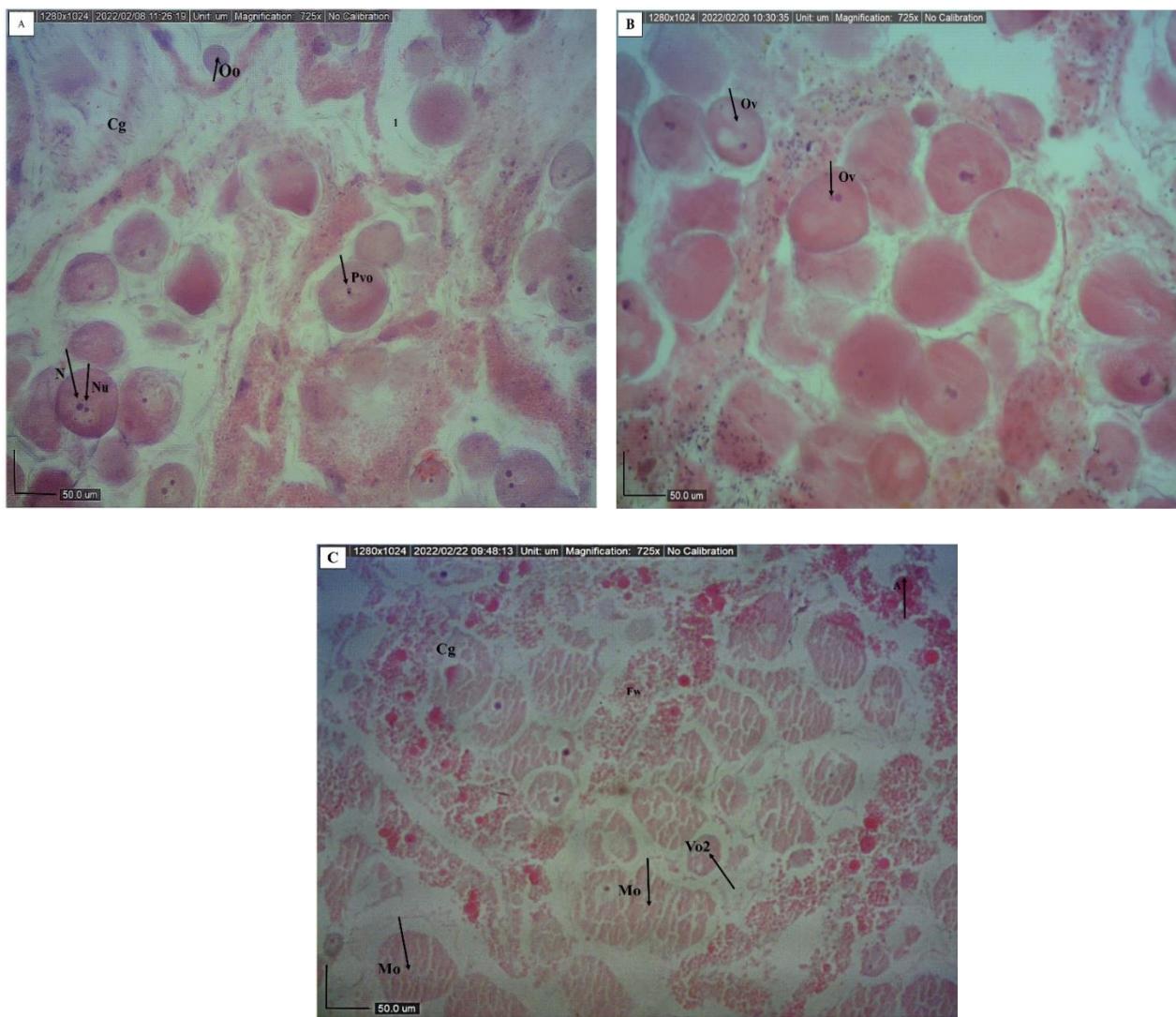
در مطالعه حاضر در مجموع ۶۹ صدف مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد ۳۵ عدد صدف گونه *U. tigris* مورد بررسی قرار گرفت که همگی جدا جنس بودند (۱۵ عدد ماده و ۲۰ عدد نر). گامت‌های نر و ماده به طور جداگانه در فولیکول‌هایی (لوب‌ها) به طور جداگانه در تخمدان و بیضه سازمان دهی شده بودند. همچنین مجرای غدد جنسی مژه دار با بافت استوانه‌ای مژه دار نیز دیده شد که گامت‌ها از طریق این مجرای آزاد می‌شوند (شکل ۳).



شکل ۳. بافت تخدمان در گونه *(H&E $\times 290$)* *U. tigridis*. Ct: بافت همبند بین تخمکها، Cg: مجرای غدد جنسی مژه دار

اووزن در هر ۴ فصل روند پیوسته‌ای داشت و در ۴ مرحله اovoگونی، تخمک‌های پیش زرده سازی، تخمک‌های زرده سازی و تخمک‌های بالغ قابل مشاهده بود. اووگونی‌ها با ظاهری کروی و کوچک در حاشیه داخلی دیواره فولیکول در طول چرخه تولیدمثلی مشاهده شدند اما در فصل تابستان سلول جنسی غالب بودند. سیتوپلاسم آن‌ها به شدت بازو菲لی بود و یک هسته بازو菲لی نیز در مرکز وجود داشت. میانگین قطر آن‌ها $5/37 \pm 40/5$ میکرون اندازه‌گیری شد. تخمک‌های پیش زرده سازی از نظر اندازه بزرگ‌تر از اووگونی‌ها بودند، از میزان بازو菲لی بودن سیتوپلاسم کاسته شده بود و در حاشیه داخلی دیواره فولیکولی قرار داشتند. دارای یک هسته مشخص در مرکز تخمک و تعدادی هستک در اطراف هسته بودند. میانگین قطر آن‌ها $5/55 \pm 44/34$ میکرون اندازه‌گیری شد. این نوع تخمک بیشتر در فصل تابستان مشاهده شد و تخدمان در این فصل در مرحله توسعه نیافته قرار داشت.

تخمک زرده سازی (واجد دانه‌های زرده) شامل دو گروه تخمک زرده ساز و تخمک بالغ بود. تخمک زرده ساز در مرکز لومینال فولیکول قرار داشت. هسته آن واجد هستک‌های زیادی بود و به دلیل داشتن مقدار زیاد زرده اندازه آن افزایش یافته بود. از میزان بازو菲لی سیتوپلاسم کاسته شده بود. این مرحله بیشتر در پاییز و زمستان قابل مشاهده بود و تخدمان در این فصول در مرحله در حال توسعه قرار داشت. در تخمک بالغ هسته‌ها نسبت به مرحله قبل کوچک‌تر بودند یا غشای هسته متلاشی شده بود. هستک‌ها قابل تشخیص نبودند. این تخمک‌ها در مرکز فولیکول‌های تخدمانی مشاهده می‌شدند و بافت همبند نازکی بین آنها وجود داشت. این مرحله بیشتر در فصل بهار قابل مشاهده بود و تخدمان در این فصل در مرحله توسعه یافته قرار داشت. در مجموع میانگین قطر فولیکول‌های زرده سازی $6/55 \pm 35/67$ میکرون اندازه‌گیری شد (شکل ۴).



شکل ۴. A: تخمدان صدف دوکفه‌ای گونه *U. tigridis* در تابستان (توسعه نیافته)، B: تخمدان در پاییز و زمستان (در حال توسعه)، C: تخمدان در بهار (توسعه یافته). Oo: اووگونی، Pvo: فولیکول پیش زرده سازی، Vo: فولیکول زرده سازی، Mo: فولیکول بالغ، Fw: دیواره فولیکولی، Cg: مجرای غدد جنسی مژه دار (H&E \times 725)

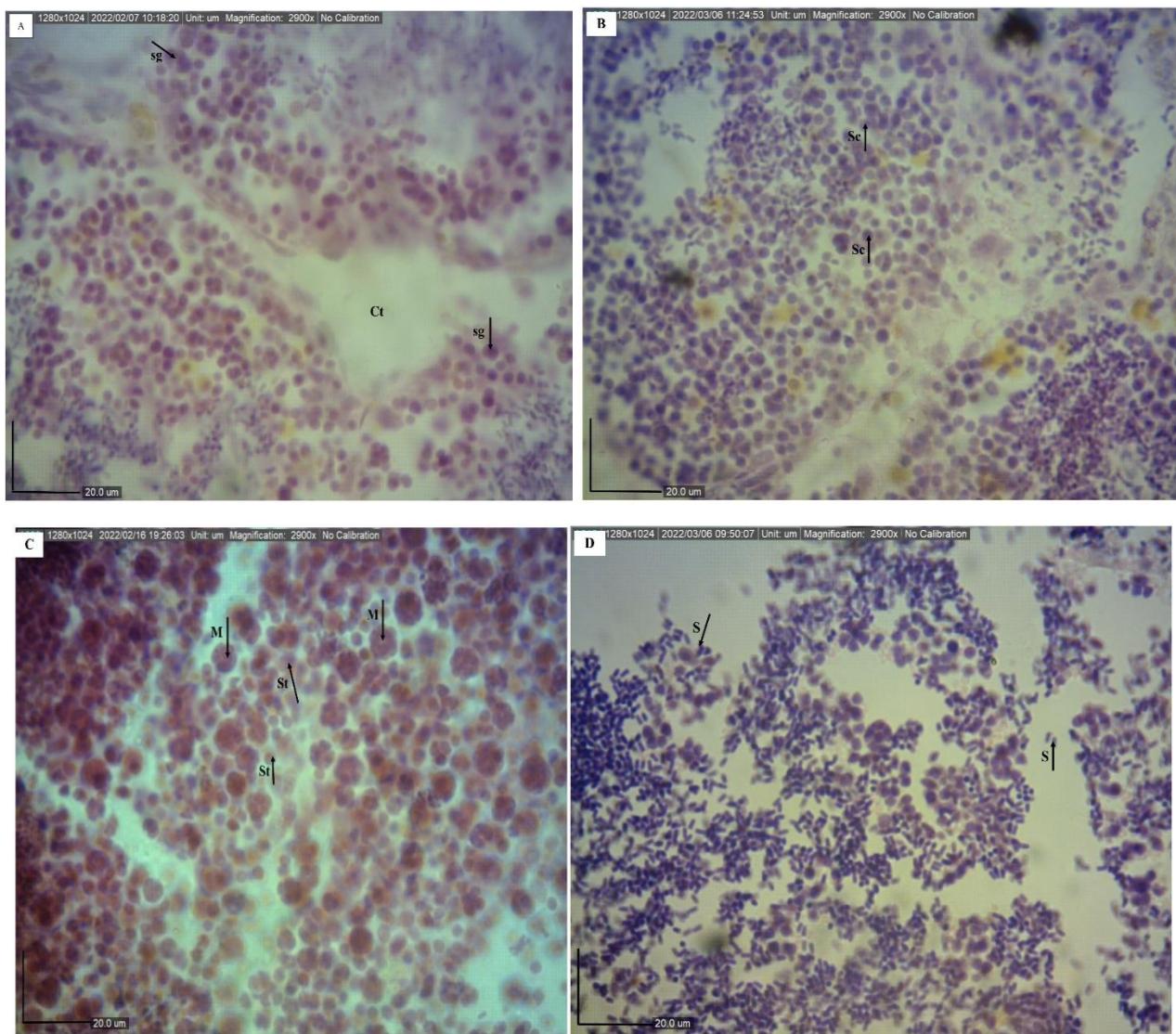
نتایج مطالعات بافت شناسی بیضه در صدف دوکفه‌ای *U. tigridis* نشان داد که اسپرماتوژنر نیز مانند اووژنر روند پیوسته ای داشت:

اسپرماتوگونی ها: در طول چرخه تولید مثل در فولیکول های نر وجود داشتند و از دیواره فولیکولی رشد می کردند. بیضی شکل بودند و بزرگ ترین سلول ها در دیواره فولیکولی بودند. سیتوپلاسم نسبتا کم و بازویلی داشتند. این سلول ها به تعداد فراوان در فصل تابستان مشاهده شدند.

اسپرماتوسیت ها: سلول های کروی با سیتوپلاسم بازویلی بودند. غشای هسته ای قابل مشاهده ای نداشتند و هسته به وضوح تشخیص داده نمی شد و بر اساس محل قرارگیری در فولیکول ها به دو نوع اسپرماتوسیت اولیه (خارجی تر) و اسپرماتوسیت ثانویه (داخلی تر و به سمت مرکز) تقسیم شدند. این مرحله نیز در فصل تابستان مشاهده می شد.

اسپرماتیدها: با رنگ بازویلی در مرکز لومینال فولیکول بیضه توزیع شده بودند، در این ناحیه مورولاها که نتیجه قرار گرفتن چند اسپرماتید در کنار یکدیگر بوند مشاهده می شدند. این مرحله در فصل پاییز دیده می شد.

اسپرماتوزوآها: کوچکترین سلول‌های جنسی نر و با رنگ بازویی بودند که در فضای مرکزی لومن فولیکول‌های بیضه مشاهده می‌شدند. این مرحله بیشتر در زمستان و بهار مشاهده شد و اسپرماتوزنر در این فصل شدیدتر بود (شکل ۵).



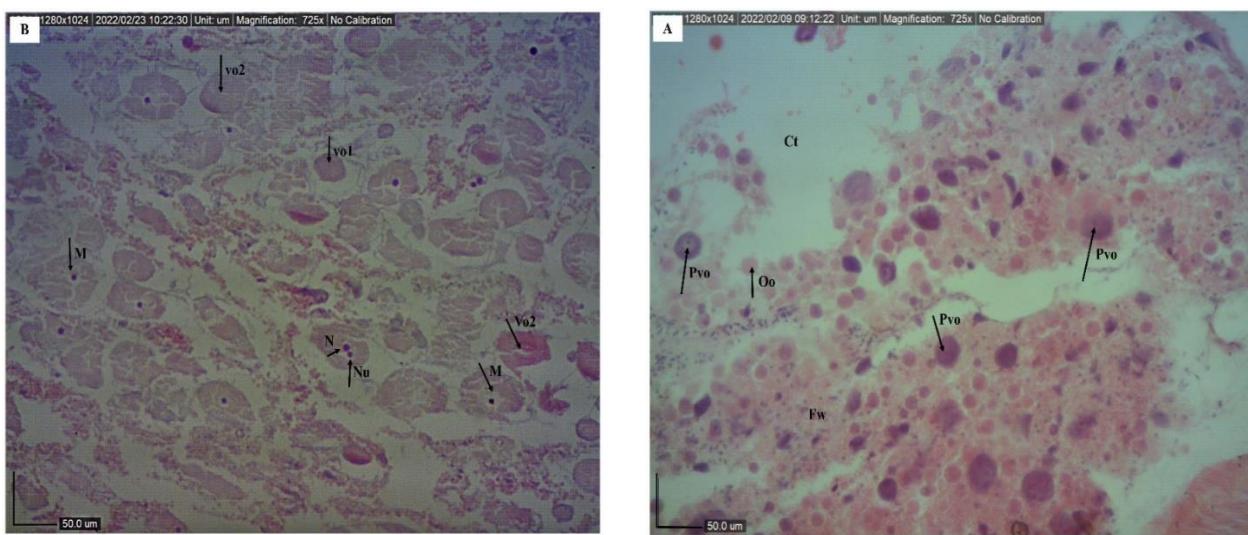
شکل ۵. A و B: گناد نر صدف دوکفه‌ای گونه *U. tigridis* در تابستان، C: گناد نر در فصل پاییز واجد تعداد زیادی مورو لای اسپرم، D: گناد نر در بهار واجد تعداد فراوان اسپرماتوزوآ. sg: اسپرماتوغونی، Sc: اسپرماتولای اسپرم، M: اسپرماتید، St: بافت همبند (H&E \times 2900)

نتایج بررسی میانگین شاخص بیومتری صدف‌های دوکفه‌ای گونه *P. euphratica* بر حسب گرم و میانگین طول و عرض آن‌ها بر حسب میلی متر نشان داد که که بیشترین وزن صدف در تابستان مشاهده شد که به طور معنی داری نسبت به بهار و زمستان بالاتر بود، اما بین وزن صدف‌ها در تابستان نسبت به پاییز اختلاف معنی داری وجود ندارد. طول و عرض صدف‌ها در بهار به طور معنی داری نسبت به تابستان، پاییز و زمستان کمتر بود (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین \pm انحراف معیار وزن، طول و عرض صدفهای دوکفهای گونه *P.euphratica* در چهار فصل
(حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشند)

فصل	وزن نمونه (گرم)	طول نمونه (میلی متر)	عرض نمونه (میلی متر)
بهار	۴۰/۳۳ \pm ۲۵/۸۶ ^a	۸۶۰/۵۰ \pm ۱۷/۵۴	۴۴/۳۸ \pm ۱۲/۳۳ ^a
تابستان	۸۷/۶۳ \pm ۱۸/۴۶ ^b	۸۷/۰۰ \pm ۷/۹۲ ^b	۵۸/۶۶ \pm ۳/۲۱ ^b
پاییز	۸۵/۱۶ \pm ۱۵/۶۱ ^b	۸۷/۲۲ \pm ۷/۰۱ ^b	۵۸/۶۶ \pm ۳/۵۷ ^b
زمستان	۶۹/۰۵ \pm ۳۱/۱۷ ^c	۸۰/۰۰ \pm ۱۷/۲۲ ^b	۵۲/۰۰ \pm ۱۵/۳۶ ^b

در این مطالعه در مجموع تعداد ۳۴ صدف گونه *P. euphratica* در چهار فصل جمع آوری شد که همگی جدا جنس بودند (۱۲ ماده و ۲۲ نر) و گامت‌های نر و ماده در هر جنس به طور جداگانه در فولیکول‌ها سازمان دهی شده بودند. اووژن روند پیوسته‌ای داشت و در ۴ مرحله اووگونی، تخمک‌های پیش زرده سازی، تخمک‌های زرده سازی و تخمک‌های بالغ قابل مشاهده بود. اووگونی‌ها در تخدمان در طول چرخه تولیدمثلی وجود داشتند. کروی، کوچک و بازووفیلی بودند و در حاشیه داخلی و بر روی دیواره فولیکولی تخدمانی قرار داشتند، میانگین قطر آن‌ها $۱۱/۴۲ \pm ۴/۳۲$ اندازه گیری شد. این سلول‌ها بیشتر در فصل تابستان و پاییز مشاهده شدند و تخدمان در این فصل در مرحله توسعه نیافته قرار داشت. تخمک‌های پیش زرده سازی از نظر اندازه بزرگ‌تر از اووگونی‌ها بودند، از میزان بازووفیلی بودن آن کاسته شده بود. هسته آن‌ها بازووفیلی بود و واحد تعدادی هستک بود. این سلول‌ها نیز بر روی دیواره فولیکولی قرار داشتند. میانگین قطر آن‌ها $۳۷/۲۵ \pm ۹/۷۱$ اندازه گیری شد. این مرحله نیز بیشتر در فصل تابستان و پاییز مشاهده شد و تخدمان در این فصل در مرحله در حال توسعه قرار داشت. تخمک زرده سازی (واحد دانه های زرده) شامل دو گروه تخمک زرده ساز و تخمک بالغ بود. تخمک زرده ساز از نظر اندازه از تخمک پیش زرده سازی بزرگ‌تر و در مرکز لومن فولیکول قرار داشت. هسته از هستک‌های زیادی تشکیل شده و اندازه سیتوپلاسم به خاطر داشتن مقدار زیاد زرده افزایش یافته بود. هسته بازووفیلی و سیتوپلاسم اسیدوفیلی بود. این مرحله در فصل زمستان و بهار مشاهده شد و تخدمان در این فصول در مرحله در حال توسعه قرار داشت. در تخمک بالغ سیتوپلاسم اسیدوفیلی و غشای هسته‌ای متلاشی شده بود. هستک‌ها قابل تشخیص نبودند. اندازه هسته کوچک‌تر از مرحله قبل ولی اندازه و قطر تخمک‌های بالغ از دو مرحله قبل بیشتر بود. این تخمک‌ها در مرکز لومن قرار داشتند. میانگین قطر آن‌ها $۷۲/۸۴ \pm ۴/۰۴$ اندازه گیری شد و بیشتر در فصل زمستان و بهار مشاهده شدند. تخدمان در این فصل در مرحله توسعه یافته قرار داشت (شکل ۶).



شکل ۶. A: تخدمان صدف دوکفه‌ای گونه *P.euphratica* در تابستان و پاییز (توسعه نیافته)، B: تخدمان در بهار و زمستان (توسعه یافته). Oo: اووگونی، Pvo: فولیکول پیش زرده سازی، Vo: فولیکول زرده سازی، Mo: فولیکول بالغ، Fw: دیواره فولیکولی، Ct: بافت همبند، Nu: هسته، N: هستک (H&E \times 725)

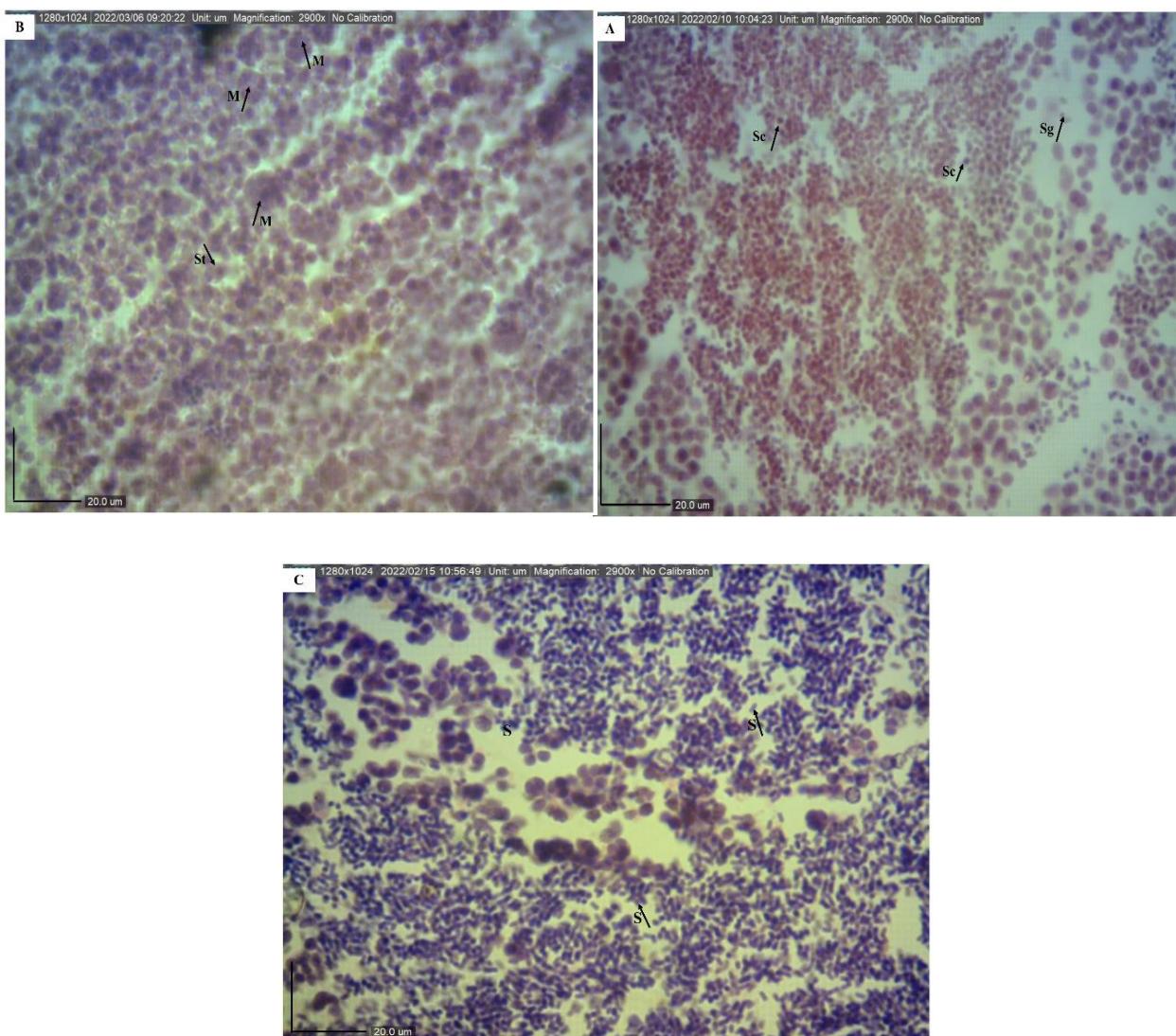
نتایج مطالعات بافت شناسی بیضه در صدف دوکفه‌ای *P. euphratica* نشان داد که اسپرماتوزنر نیز مانند اووژنر روند پیوسته‌ای داشت:

اسپرماتوغونی: در طول چرخه تولیدمثل در فولیکول‌های نر وجود داشتند. از دیواره فولیکولی بیضه رشد می‌کردند. بیضی شکل بودند. بزرگ‌ترین سلول‌ها در فولیکول‌های بیضه بودند. سیتوپلاسم نسبتاً کم و بازووفیلی داشتند و بیشتر در فصل تابستان و پاییز مشاهده شدند.

اسپرماتوسیت‌ها: کروی و کوچکتر از اسپرماتوغونی‌ها بودند، سیتوپلاسم بازووفیلی و هسته به وضوح قابل تشخیص نبود. این مرحله نیز بیشتر در تابستان و پاییز مشاهده شد.

اسپرماتیدها: واجد سیتوپلاسم بازووفیلی بوده و در مرکز لومن فولیکولی قرار داشتند و بیشتر در فصل زمستان مشاهده می‌شدند. همچنین در این فصل مورولای اسپرم که در نتیجه قرار گرفتن چندین اسپرماتید در کنار هم شکل می‌گیرند به تعداد زیاد مشاهده می‌شد.

اسپرماتوزوآها: کوچکترین سلول‌های جنسی نر بودند. سیتوپلاسم به شدت بازووفیلی داشتند و در فصل بهار به تعداد بسیار در مرکز فولیکول‌های بیضه قرار می‌گرفتند (شکل ۷).



شکل ۷. A: گناد نر صدف دوکفه‌ای گونه *P. euphratica* در تابستان، B: گناد نر در فصل پاییز واجد تعداد زیادی مورو لای اسپرم، C: گناد نر در بهار واجد تعداد فراوان اسپرماتوزوآ. Sc: اسپرماتوگونی، Sg: اسپرماتوزوآ، M: مورو لای اسپرم، S: اسپرم (H&E $\times 2900$)

بحث

مطالعه حاضر با هدف شناسایی و بررسی مراحل سیکل تولید مثلی دوکفه‌ای های غالب رودخانه کرخه انجام گرفت و در نهایت دو گونه *P. euphratica* و *U. tigridis* در تمام فصول در میان رسوبات گلی رودخانه کرخه (در محدوده شهرستان حمیدیه) به عنوان گونه‌های غالب شناسایی شدند. *P. euphratica* و *U. tigridis* دو گونه از صدفهای دوکفه‌ای آب شیرین از خانواده یونیونیده می باشند (Lopez-Lima *et al.*, 2021; Graf and Cummings., 2021). مطالعه‌ی ساختار بافت شناسی غدد جنسی هر دو صدف دوکفه‌ای مشخص کرد که این دو گونه جدا جنس هستند که با مطالعات محققین مختلف در خصوص جدا جنس بودن بیشتر صدفهای آب شیرین مطابقت دارد (Alridge, 1999; Cek and Serefelisan *et al.*, 2011; Serefelisan *et al.*, 2013). با این وجود Hinzman و همکاران (2013) افزایش هرمافرودیسم را در آب‌های راکد گزارش کرده اند. Ahmadvand و همکاران (2023) نیز در بررسی صدفهای دوکفه‌ای رودخانه کارون، گونه *U. tigridis* را به عنوان گونه غالب منطقه شناسایی و گزارش کردند که اغلب افراد این گونه جدا جنس می باشند.

در مطالعه حاضر بر اساس فراوانی انواع سلول‌های جنسی ماده، سه مرحله تخدمداتی در سیکل تولیدمثلي شامل مرحله توسعه نیافته، مرحله در حال توسعه و مرحله توسعه یافته یا بالغ در نظر گرفته شد. در بیشتر مطالعات بر دوکفه‌ای‌های آب‌شیرین و دوکفه‌ای‌های دریایی، چرخه تولیدمثلي به سه تا هفت مرحله تقسیم شده است (Labecka and Domagala, 2018). از سوی دیگر قطر تخمک یک توصیف بسیار خوب برای چرخه تولیدمثلي است که با مرحله گامتوژنیک همخوانی دارد (Honkoop and van, 1998; Toro et al., 2002; Maloy et al., 2003) در این مطالعه نتایج اندازه گیری و مقایسه قطر تخمک این دو گونه نشان داد که قطر تخمک‌های گونه *U. tigridis* بیشتر از گونه *P. euphratica* بود، با این حال بیشترین قطر تخمک در هر دو گونه در فصل زمستان و بهار اندازه گیری شد و عدد جنسی نیز در این دو فصل افزایش اندازه قابل توجهی داشتند. مطالعات بافت‌شناسی همچنین نشان داد که تخدمدان در هر دو گونه *P. euphratica* و *U. tigridis* از نوع ناهمزمان بود. زیرا در هر زمان انواع سلول‌های جنسی ماده (اووگونی)، تخمک‌های زرده سازی، تخمک‌های زرده‌سازی اولیه، و تخمک بالغ) در تخدمدان قابل مشاهده بود که با یافته‌های Sereflisan و همکاران (2009) بر روی گونه *Anodonta Gabillotia Pseudodopsis* مطابقت دارد و بیان می‌کند که رشد گامت‌ها در این گونه که نمونه ای از صدف‌های دو کفه ای از خانواده یونیونیده می‌باشد ناهمزمان است، یعنی همه گامت‌ها همزمان به بلوغ نمی‌رسند و این نشان می‌دهد که آزاد شدن گامت ممکن است چندین بار در طول فصل تخم‌ریزی رخ دهد که به طور کلی ماه‌های تابستان را در بر می‌گیرد. همچنین گزارش مراحل مختلف رشد تخمک‌ها با یافته‌های Sereflisan و همکاران (2013) و Soliman (2016) مطابقت داشت که روند مشابهی را در تحقیقات خود برای سایر گونه‌های *Unionidae* گزارش کردند.

در مطالعه حاضر همچنین بیشترین میزان رسیدگی گنادها در فصل بهار مشاهده شد و در فصل تابستان هر دو گونه تخدمدان تخم‌ریزی کرده یا نابالغ را نشان می‌دادند. فاصله زمانی مشاهده تخدمدان بالغ و مشاهده تخدمدان‌های تخم‌ریزی کرده در تابستان می‌تواند نشان دهنده تولید گامت و دوره تخم‌ریزی به نسبت طولانی مدت در هر دو گونه باشد. از آنجا که محدوده تغییرات دمایی در منطقه مورد مطالعه چشمگیر نیست و تولید مثل آبزیان تا حد زیادی به فوتوفپرید وابسته است این مورد می‌تواند قابل توجیه باشد. Lima و همکاران (2012) نیز در بررسی اووژنر در صدف دوکفه‌ای *Anodonta cygnea* در تالاب میرا در کشور پرتغال زمان تخم‌ریزی را در ماه‌های تابستان گزارش کردند. این در حالی است که نتایج متفاوتی نیز در این مورد گزارش شده است. Dagnino و همکاران (2017) در مطالعه ای بر تولیدمثلي صدف دو کفه ای *Megapitaria squalida* در خلیج جنوب شرق کالیفرنیا، مهمترین دوره تخم‌ریزی (بیشترین میزان گامت آزاد شده) را از ماه‌های اکتبر تا نوامبر گزارش کرده اند و پیشنهاد داده اند که صید این گونه در این بازه زمانی متوقف شود. از سوی دیگر در مطالعه حاضر در بررسی گناد نر هر دو گونه *U. tigridis* و *P. euphratica* اسپرماتوژنر مانند اووژنر روند پیوسته‌ای داشت و در ۵ مرحله (اسپرماتوگونی، اسپرماتوژنیتی اولیه، اسپرماتوژنیتی ثانویه، اسپرماتیدها و اسپرماتوزواها) قابل مشاهده بود. همچنین مراحل مختلف رشد سلول‌های جنسی نر در تمام فصول مشاهده می‌شند ولی اسپرماتوزواها در فصل زمستان و بهار فراوانی بیشتری داشتند. نتایج همچنین وجود مورو لای اسپرم را در هر دو گونه نشان داد که بیشترین تعداد آن در گونه *U. tigridis* در فصل پاییز و در گونه *P. euphratica* در فصل زمستان مشاهده شد. Sereflisan و همکاران (2013) با مطالعات خود بر روی گونه *Potomida littoralis* گزارش کردند که اسپرماتیدهای اولیه در صورت قرار گیری در کنار هم خوش‌های را به نام مورو لای اسپرم تشکیل می‌دهند که در فصول مختلف به خصوص در پاییز و زمستان مشاهده می‌شوند. به نظر می‌رسد که مورو لاهای اسپرم خوش‌هایی از اسپرماتیدها هستند و زمانی که شرایط محیطی مناسب باشد به اسپرم بالغ تبدیل می‌شوند. Hliwa و همکاران (2015) در مطالعه خود بر روی *Sinanodonta woodiana* گزارش کردند که به دلیل نبود سلول‌های سرتولی، مورو لاهای اسپرم در حین اسپرم‌زایی در اطراف مواد غذایی تجمع پیدا می‌کنند. از سویی دیگر به گفته برخی از محققین، وجود مورو لای اسپرم شواهدی برای مسیر اسپرم‌زایی غیر طبیعی تحت شرایط خاص است (Ahmadnand et al., 2015). Hliwa و همکاران (2023) نیز در بررسی سیکل تولیدمثلي صدف دوکفه‌ای *U. tigridis* در رودخانه کارون، بیشترین میزان توسعه و بلوغ هر دو گناد نر و ماده را در فصل بهار گزارش کردند. با بررسی روند گامتوژن در دو گونه *P. euphratica* و *U. tigridis* این نتیجه به دست آمد که دوکفه‌ای‌ها از هر دو جنس در فصل بهار بالغ

بودند. مشاهده گنادهای بالغ در فصل بهار و از سویی دیگر مشاهده مرحله تخم ریزی در فصل تابستان می‌تواند نشان دهنده زمان اصلی رسیدگی گنادی هر دو گونه در رودخانه کرخه در منطقه مورد مطالعه در فصل بهار و زمان اصلی تولیدمثل در فصل تابستان باشد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعات ما نشان داد که هر دو گونه *P. euphratica* و *U. tigridis* گونه‌های غالب دوکفه‌ای‌ها در رودخانه کرخه در تمام فصول سال بودند. هر دو جدا جنس بودند و از نظر چرخه تولیدمثلی دارای سه مرحله توسعه نیافته، درحال توسعه و توسعه یافته بودند. تخدمان در هر دو گونه از نوع ناهمزن می‌باشد. مراحل اوورن و اسپرماتوزن در هر دو گونه روند مشابهی داشت و به نظر می‌رسد زمان اصلی رسیدگی گنادی هر دو گونه در رودخانه کرخه در فصل بهار و زمان اصلی تولیدمثل در فصل تابستان باشد.

سپاسگزاری

نویسنده‌گان این مقاله از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به پاس حمایت مالی و از اداره محیط زیست حمیدیه به جهت همکاری در جمع آوری نمونه‌ها در این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

References:

- Ahmadvand, S., Shirali, S., Sakhaei, N. and Doustshenas, B., 2023. Investigation the process of gametogenesis and a case report of hermaphroditism of *Unio tigridis* (bivalve: Unionidae) in Karun River', *Journal of Marine Science and Technology*, in press. DOI: 10.22113/jmst.2023.410193.2544. (In Persian)
- Aldridge, D.C., 1999. The morphology, growth and reproduction of *Unionidae* (Bivalvia) in a fenland waterway. *Journal of Molluscan Studies*. 65(1), pp.47-60. DOI: 10.1093/mollus/65.1.47.
- Bancroft, J.D. and Gamble, M. eds., 2008. *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier health sciences.
- Brusca, R.C., Brusca, G.J., 2003. *Invertebrates* (2nd edition). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-097-5.
- Cao, Y.L., Liu, X.J., Wu, R.W., Xue, T.T., Li, L., Zhou, C.H., Ouyang, S. and Wu, X.P., 2018. Conservation of the endangered freshwater mussel *Solenaria carinata* (Bivalvia, Unionidae) in China. *Nature Conservation*, 26, pp.33-53. Doi: 10.3897/natureconversations.26.25334.
- Cek, Ş. and Şereflişan, H., 2011. The gametogenic cycle of *Leguminaia whetleyi* (Lea, 1862) in lake Gölbaşı, Turkey (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 315(1), pp.30-40. DOI: 10.1002/jez.648.
- Álvarez-Dagnino, E., Santamaría-Miranda, A., García-Ulloa, M. and Góngora-Gómez, A.M., 2017. Reproduction of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) in the Southeast Gulf of California, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 65(3), pp.881-889. DOI: 10.15517/rbt.v65i3.26371.
- Drummond, L., Mulcahy, M. and Culloty, S., 2006. The reproductive biology of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from the North-West of Ireland. *Aquaculture*, 254(1-4), pp.326-340. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.10.052.
- Gosling, E., 2003. *Bivalve molluscs: biology, ecology and culture*. Fishing News Books, Blackwell Publishing.
- Graf, D.L. and Cummings, K.S., 2021. A 'big data' approach to global freshwater mussel diversity (Bivalvia: Unionoida), with an updated checklist of genera and species. *Journal of Molluscan Studies*, 87(1), p.eya034.. DOI: 10.1093/mollus/eyaa034.
- Gray, R., 2014. A new critical estimate of named species – level diversity of the recent Mollusca. *American Malacological Bulletin*, 32 (2), pp. 308-322. DOI: 10.4003/006.032.0204.
- Haag, W.R. and Leann Staton, J., 2003. Variation in fecundity and other reproductive traits in freshwater mussels. *Freshwater Biology*, 48(12), pp.2118-2130.
- Hinzmann, M., LOPES-LIMA, M.A.N.U.E.L., Teixeira, A., Varandas, S., Sousa, R., Lopes, A., Froufe, E. and Machado, J., 2013. Reproductive cycle and strategy of *Anodonta anatina* (L., 1758): Notes on

- hermaphroditism. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 319(7), pp.378-390.DOI: 10.1002/jez. 1801.
- Hliwa, P., Zdanowski, B., Dietrich, G.J., Andronowska, A., Król, J. and Ciereszko, A., 2015. Temporal changes in gametogenesis of the invasive Chinese pond mussel Sinanodonta woodiana (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) from the Konin lakes system (Central Poland). *Folia Biologica (Kraków)*, 63(3), pp.175-185.DOI: 10.3409/fb63_3.175.
- Honkoop, P.J.C. and Van der Meer, J., 1998. Experimentally induced effects of water temperature and immersion time on reproductive output of bivalves in the Wadden Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 220(2), pp.227-246.DOI:10.1016/S0022-0981(97)00107-X.
- Labecka, A.M. and Domagala, J., 2018. Continuous reproduction of Sinanodonta woodiana (Lea, 1824) females: an invasive mussel species in a female-biased population. *Hydrobiologia*, 810, pp.57-76.DOI:10.1007/s10750-016-2835-2
- Lima, P., Monteiro, S.M., Sousa, M. and MacHado, J., 2012. A histological study of oogenesis in the freshwater mussel Anodonta cygnea (Linnaeus, 1758) in Mira Lagoon, Portugal. *Malacologia*, 55(2), pp.251-261.DOI:10.4002/040.055.0206.
- Lopes-Lima, M., Burlakova, L.E., Karatayev, A.Y., Mehler, K., Seddon, M. and Sousa, R., 2018. Conservation of freshwater bivalves at the global scale: diversity, threats and research needs. *Hydrobiologia*, 810, pp.1-14.DOI:10.1007/s10750-017-3486-7
- Lopes-Lima, M., Gürlek, M.E., Kebapçı, Ü., Şereflişan, H., Yanık, T., Mirzajani, A., Neubert, E., Prié, V., Teixeira, A., Gomes-dos-Santos, A. and Barros-García, D., 2021. Diversity, biogeography, evolutionary relationships, and conservation of Eastern Mediterranean freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 163, p.107261. DOI:10.1016/j.ympev.2021.107261.
- Maloy, A.P., Barber, B.J. and Rawson, P.D., 2003. Gametogenesis in a sympatric population of blue mussels, *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*, from Cobscook Bay (USA).
- Masaeli, S., Mostafavi, P.G., Sahafi, H.H., Jahromi, S.T., Nabinejad, A. and Noaman, V., 2021. Molecular phylogeny of bivalve families (Arcidae, Chamidae, Margaritidae, Ostreidae, Veneridae) in the Persian Gulf. DOI: 10.22092/ijfs.2021.123480.
- Şereflişan, H., Çek, Ş. and Şereflişan, M., 2009. Histological studies on gametogenesis, hermaphroditism and the gametogenic cycle of Anodonta gabillotia pseudodopsis (Locard, 1883) in the Lake Gölbaşı, Turkey (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Shellfish Research*, 28(2), pp.337-344.DOI: 10.2983 /035.028.0216.
- Şereflişan, H., Çek, Ş. and Şereflişan, M., 2013. The reproductive cycle of Potomida littoralis (Cuvier, 1798)(Bivalvia: Unionidae) in Lake Gölbaşı, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(5), pp.1311-1319.
- Soliman, F.E., Moustafa, A.Y., Ismail, T.G. and Mohamed, O.T., 2016. Reproductive Cycle, Gametogenesis and Embryonic Development of *Nitia Teretiuscula* (Bivalvia: Unionidae), from the River Nile at Sohag Governorate, Egypt. *Egyptian Journal of Zoology*, 66, pp. 115-138. DOI: 10.12816/0034713.
- Toro, J.E., Thompson, R.J. and Innes, D.J., 2002. Reproductive isolation and reproductive output in two sympatric mussel species (*Mytilus edulis*, *M. trossulus*) and their hybrids from Newfoundland. *Marine Biology*, 141, pp.897-909. DOI:10.1007/s00227-002-0897-3.
- Waller, T.R., 2006. New phylogenies of the Pectinidae (Mollusca: Bivalvia): reconciling morphological and molecular approaches. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 35, pp. 1-44). Elsevier. DOI:10.1016/S0167-9309(06)80028-1.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. and Jiang, G., 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2), pp.135-150. DOI: 10.1016/j.aca.2007.11.018.