

## بررسی هیستو-آنا تومی نموغدد جنسی در حلزون

*Melanopsis Praemorsa* J. (Melaniidae, Gastropoda)

در منطقه سبزواران خراسان

کاظم پریور

استاد دیا رگروه بیولوژی دانشکده علوم دانشگاه مشهد

تاریخ وصول دوم اردیبهشت ماه ۱۳۵۹

### چکیده

در این بررسی بیولوژی تولیدمثل حلزون "ملانوپسیس پره مورا" که در مزدوران، در ۱۰۰ کیلومتری شمال شرقی مشهد یافت می شود مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه برداری هر ماه در طی مدت یکسال از ناحیه مذکور بعمل آمد. مطالعات نشان داد که این حلزون در سرتاسر سال در محل زندگی خود تخمگذاری می نماید. در بین جمعیت بزرگی از این حیوان که از ناحیه ذکر شده جمع آوری گردید، مطالعات بافت شناسی به عمل آمده نشان داد که این حلزون از نظر جنسی به سه صورت نر، ماده و خنثی یا استریل وجود دارد. اندازه گیری های طول صدفهای نمونه ها، اندازه طول غدد تناسلی و قطر آسینوسهای آنها نشان داد که اندازه حلزونهای نر، کوچک (معدل طول صدف ۴/۵ میلی متر) خنثی، متوسط (معدل طول صدف ۶ میلی متر) و ماده ها، بزرگ (معدل طول صدف ۸/۵ میلی متر) می باشد. در بررسیهای آزمایشگاهی مراحل مختلف اسپرما توژنز و ائوژنز<sup>۱</sup> هیچ نشانه ای از بکرزائی<sup>۲</sup> در این گونه حلزون مشاهده نشد. از مطالعه بافت شناسی ۵۷۶ نمونه مشخص گردید که نیمی از جمعیت را افراد خنثی تشکیل داده و از نیمی دیگر در حدود یک سوم جنسیت نر و دو سوم جنسیت ماده دارند.

### مقدمه

متغیر بوده و خصوصیات صدف آن می تواند تحت تاثیر عوامل اکولوژیکی معینی واقع شود. زندگی موفقیت آمیز این حلزون در چشمه محتوی گاز هیدروژن سولفور ه مزدوران جلب توجه نمود و مسئله نحوه تولیدمثل حیوان را در شرایط خاص محیط خود مطرح نمود. بیولوژی تولید

ی  
حلزون مورد مطالعه یکی از انواع حلزونها  
برانشی دار است که در بیشتر نقاط استان  
خراسان در چشمه سا رها و جویبارها بصورت جمعیتها  
ی  
بزرگی یافت می شود. بر طبق نظرات پره (۸) و  
بیلگین (۲۰۱)، این گونه از جنس ملانوپسیس

مثل این حیوان و تغییرات بعد از مراحل جنینی غدد جنسی آن تا کنون بطور کاملی مورد بررسی قرار نگرفته و تنها منابعی را که درباره گونه‌های دیگر این جنس می‌توان نام برد کارهای جی‌کوب (۵۰۴) و فرتار و گراهام (۳) می‌باشد که در آنها درباره بکرزائی پلی‌پلوئیدی نرها و خنثی‌ها در بعضی از انواع ملانئیده‌ها ذکر شده است. بیلگین (۲) در گزارشی درباره آناتومی - فیزیولوژی دستگاه‌های گوارشی و تولید مثلی ملانوپسیس پره موزاوی ملانوپسیس تری فاسیا تا جزئیات جالبی را روشن نموده اما از مراحل نمو دستگاه‌های جنسی و ساختمان بافتی آنها بحثی به میان نیامده است. در این بررسی سعی شده است که جزئیات نمو غدد جنسی، امکان بکرزائی و وجود انواع خنثی از نظر جنسی، در طی مراحل مختلف نمو حیوان در طول سال، مورد بررسی و تجسس قرار گیرد. عکسهای میکروسکپی بوسیله میکروسکپ نوری و دوربین میکروسکپی زایس مدل CS گرفته شد و فیلمها و عکسها در بخش بیولوژی دانشگاه مشهد ظاهر و چاپ گردید.

#### مواد و روشها

حلزون‌ها هر ماه بمدت یکسال از یک چشمه طبیعی در ناحیه مزدوران، دهکده‌ای در ۱۰۰ کیلومتری شمال شرقی مشهد به طرف سرخس، جمع آوری شدند. برای نمونه برداری از یک چهارچوب فلزی به ابعاد ۲۵×۲۵ سانتی متر استفاده شد. نمونه برداریها بطور تصادفی از چهار نقطه مختلف کف چشمه برای جمع آوری نمونه

از سطح یک متر مربع از ناحیه زیستی حیوانات به عمل آمد. نمونه‌ها همراه آب چشمه به آزمایشگاه آورده شدند و بعد از شمارش، بر اساس طول صدفها برای مطالعات بافت‌شناسی تقسیم بندی گردیدند. حلزونها را در اتانول ده درصد بیهوش نموده، انواع کوچک را مستقیماً "در فیکساتیو چوفیکسه کرده و انواع بزرگ را بعلت ضخامت صدفهاشان ابتدا از صدف خارج نموده و سپس در فیکساتیو مذکور قرار داده شد. نمونه‌های ثابت شده پس از آبگیری و شفاف نمودن در پارافین ۶۰ درجه قالب‌گیری شدند. نظر به اینکه هم بیضه و هم تخمدان این حیوان در میان قطعات غدد گوارشی قرار دارد، برای بدست آوردن نتایج یکنواخت از نظر تکنیکی تمام طول بدن کلیه نمونه‌ها از نوک انتهائی بدن بطور عرضی به ضخامت ۸ میکرون برش برداری گردید و سپس برشها در هما توکسیلین - آهن‌هایدن هاینز رنگ آمیزی شدند. جهت اندازه‌گیری طول غدد جنسی، کلیه مقاطع ناحیه غدد جنسی شمارش میکروسکپی شده و نتیجه در عدد ۸ (ضخامت هر برش) ضرب گردید. قطر آسینوسهای غدد جنسی و ائوسیتها در ۱۰ برش تصادفی از هر حیوان اندازه‌گیری شد (۶، ۷).

از کلیه نتایج حاصله معدل گیری بعمل آمد و ۹۵ درصد حداطمینان معدلهای محاسبه گردید. برای مطالعه احتمال بکرزائی در این حلزون آکواریوم‌های کوچکی از بشرهای ۲۰۰ میلی‌لیتری شبیه محیط طبیعی زیستی حیوان فراهم گردید.



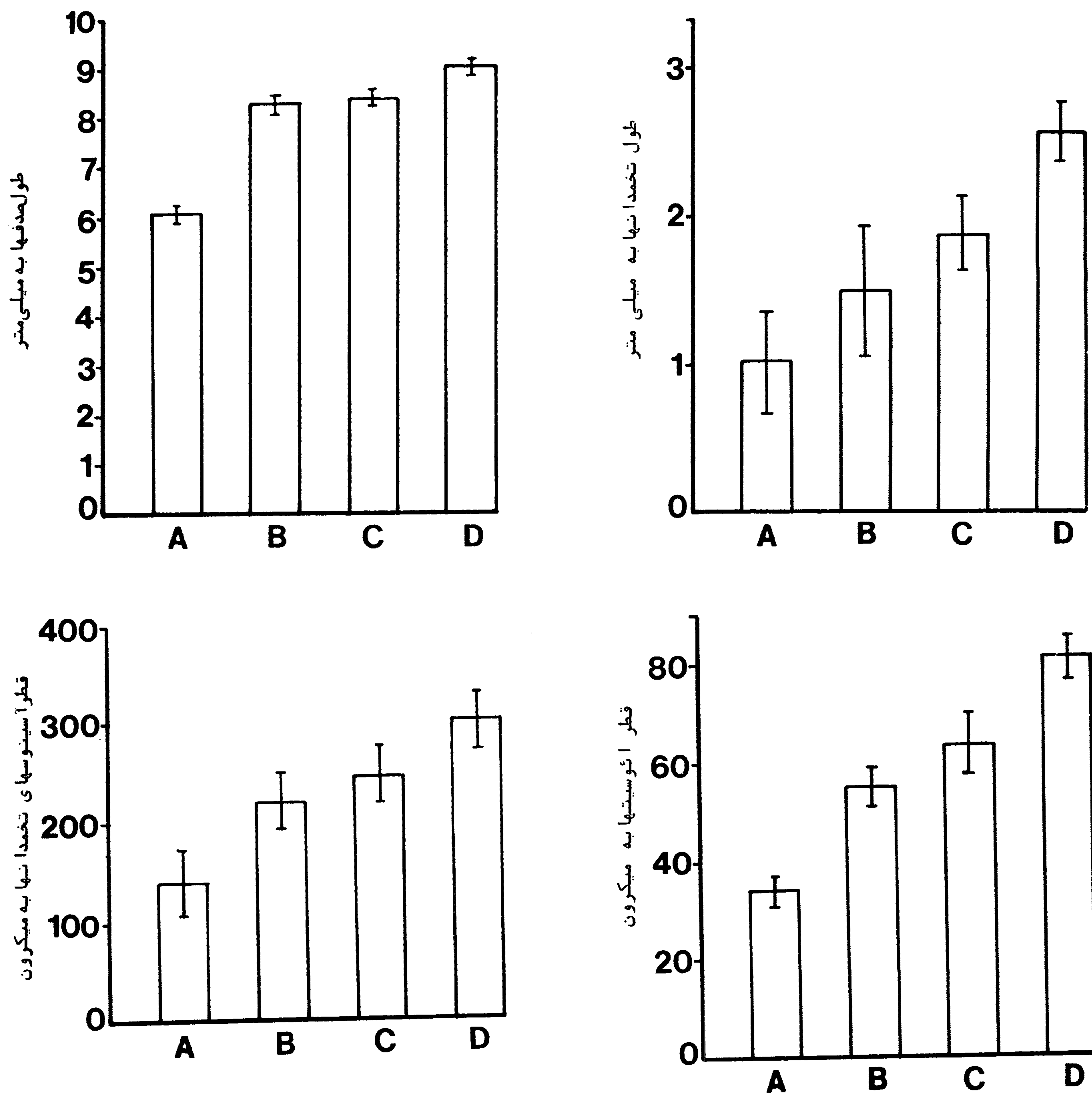
آب و غذای موردنیاز حیوانات از محیط طبیعی آنها تهیه و در آکواریوم ها قرار داده شد. ساقه و ریشه تازه و یاب در حال پوسیدگی نوعی گیاه تک لپه‌ای غذای این حلزون را در ناحیه مذکور تشکیل میدهد. با پمپهای آکواریومی، هوای کافی به آکواریوم‌ها رسانده شد و بکمک تایمر الکتریکی در طول روز ۱۲ ساعت نور به آکواریوم، تابانیده شد. در هر آکواریوم یک حیوان قرار داده شد و از هر اندازه طول صدف از ۱ تا ۱۵ میلی متر ۵ عدد حیوان انتخاب شد که جمعاً "بالغ بر ۷۵ آکواریوم برای این آزمایش گردیده آب آکواریوم ها در هر ۱۵ روز یکبار عوض شد و آکواریوم ها نیز تمیز گردید. هر ماه از طول صدف هر یک از حیوانات اندازه گیری به عمل آمد. این آزمایش نیز بمدت یکسال ادامه یافت.

### نتایج

مراحل نمو جنسی حلزونهای ماده - محاسبات آماری انجام گرفته بر روی طول صدف و تخمدانها و قطر آسینوسهای تخمدانی و ائوسیتها نشان داد که ارتباط مستقیمی مابین افزایش پارامترهای یاد شده وجود دارد. هیستوگرامهای شکل ۱ موید این نظرمی باشد و تنها اختلاف مختصری در مرحله B طول تخمدانها مشاهده گردید. مراحل نمو تخمدانها - بررسیهای میکروسکوپی مراحل نمو تخمدانهای حلزون های با طول صدف از ۱ تا ۱۷ میلی متر بر اساس میزان سنitz مواد زردهای (ویتلینی) و اندازه

تخمکها مراحل زیر را نشان داد.

- ۱- مرحله پیش ویتلوژنزا ابتدائی (A) :  
این مرحله در حلزونهای با طول صدف ۱ تا ۱۰ میلی متر قابل تجسس می باشد. معدل طول تخمدانها در این مرحله ۱ میلی متر و معدل قطر آسینوسهای آن ۱۳۷ میکرون می باشد. ائوسیتها کوچک بوده، معدل قطر آنها ۳۴/۴۱ میکرون هسته و هستکها درشت می باشند. ماده زردهای در این مرحله از نمو ائوسیتها قابل مشاهده نبوده و سلولها تخم مرغی شکل می باشند. ائوسیتها به دیواره آسینوسهای تخمدان اتصال دارند و مابین آنها را بافت پیوندی اشغال می نماید (شکل ۲).
- ۲- مرحله پیش ویتلوژنزا انتهائی (B) :  
در این مرحله ائوسیتها بزرگتر از مرحله قبلی بوده و معدل طول آنها ۵۵/۱۵ میکرون می باشد. معدل طول صدف حلزون ها در این مرحله ۸/۳ میلی متر و تخمدانها ۱/۵ میلی متر و قطر آسینوسهای آنها ۲۲۰ میکرون بود. در این مرحله از نمو ائوسیتها نیز اثری از مواد زردهای مشاهده نگردید (شکل ۳).
- ۳- مرحله ویتلوژنزا زرده سازی (C) :  
این مرحله در حلزون های که طول صدف آنها ۱ تا ۱۱ میلی متر بود، دیده شد. معدل طول تخمدانها و قطر آسینوسها و طول ائوسیتها بترتیب ۱/۸۴ میلی متر، ۲۴۳/۲۵ میکرون و ۶۳/۸ میکرون بود. سیتوپلاسم ائوسیتها در این مرحله شروع به ترشح مواد زردهای نموده و دانه های زردهای بطور متوسط در حدود ۱ میکرون قطر داشتند. ائوسیتها



شکل ۱- طول صدفها، طول تخمدا نها، قطر آسینوسهای تخمدا نها و قطر آسوسیتها در حلقه های ماده .

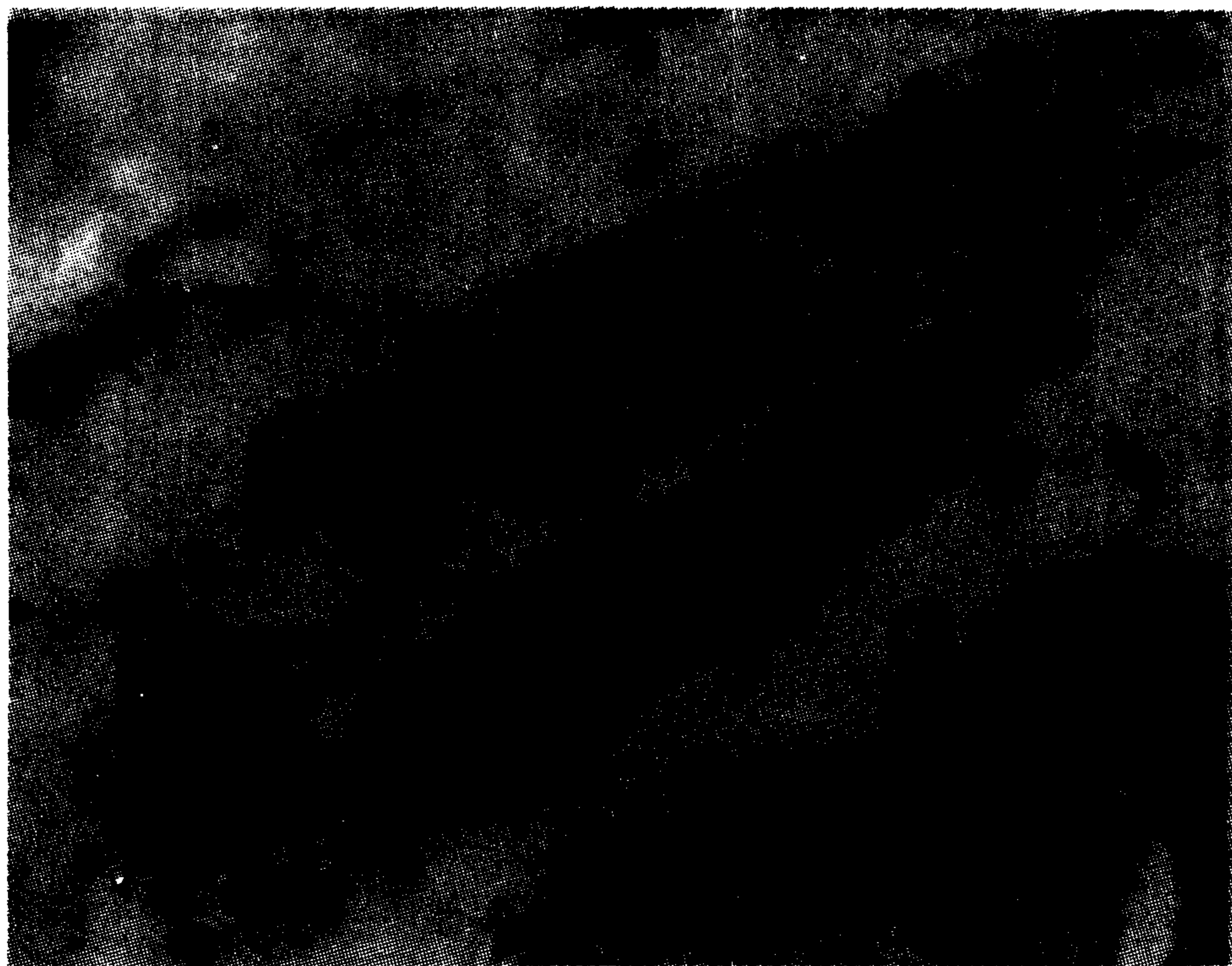
A مرحله پیش ویتلوژنزا ابتدائی

B مرحله پیش ویتلوژنزا انتهای

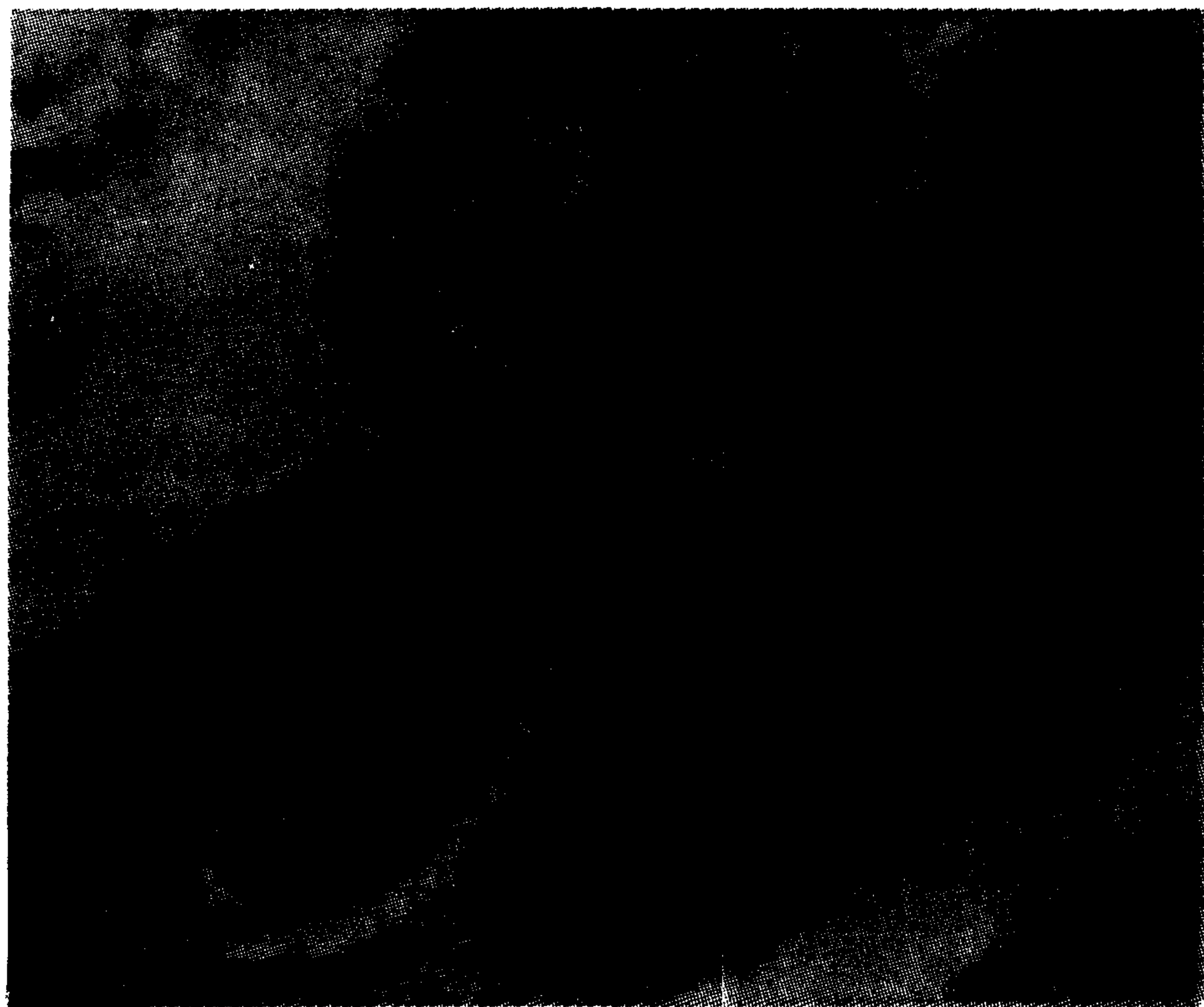
C مرحله پس ویتلوژنزا

D مرحله ویتلوژنزا زرده سازی





شکل ۲- عکس میکروسکوپی تخمدان و تخمکها  
 در مرحله پیش ویتلوزینز ابتدا ئی حلزون.  
 $Dg =$  غده گوا رشی،  $Oc =$  تخمک یا ائوسیت  
 $Ov =$  تخمدان . بزرگنما ئی  $\times 440$



شکل ۳- عکس میکروسکوپی تخمدان و تخمکها  
 در مرحله پیش ویتلوزینز انتها ئی حلزون.  
 $Oc =$  ائوسیت،  $Ov =$  تخمدان . بزرگنما ئی  
 $\times 440$



بتدریج رشد نموده و آسینوسها را پرمی نما بندودر اثر این عمل ائوسیتها به یکدیگر می چسبند (شکل ۴).  
 ۴- مرحله پس ویتلوژن (D): این مرحله در میان حلزونهای با طول صدف ۵ تا ۱۷ میلی متر (معدل طول صدف ۱۰/۱۱ میلی متر) دیده شد. معدل طول تخمدان، قطر آسینوسها و طول ائوسیتها به ترتیب ۲/۵ میلی متر، ۲۰۲/۵۷ میکرون و ۸۱/۵ میکرون بود. بزرگترین ائوسیتی که در این مرحله مشاهده شد ۱۳۲ میکرون طول داشت. مواد زرده ای در این مرحله از نمو تخمکها، بیشترین قسمت سیئوپلاسم را اشغال می نماید. ائوسیتها بطور فشرده ای نسبت بیکدیگر قرار گرفته و آسینوسها را پرمی نما مید (شکل ۵).

مراحل نموجنسی حلزونهای نر- محاسبات آماری انجام گرفته بر روی طول صدف و طول بیضه ها و آسینوسهای آنها نشان داد که بین نمو طولی صدف و بیضه و قطر آسینوسهای بیضه ارتباط مستقیمی وجود دارد. با افزایش طول صدف و عمر حلزون دوبا را متر طول بیضه و قطر آسینوسهای آن نیز افزایش می یابد. هما نظور که در هیستوگرامهای شکل ۶ دیده می شود، اختلاف بین حداکثر و حداقل پارامترهای یاد شده نسبت به معدل هر یک جز در مورد طول حلزونهای مرحله (D) (اسپرما توزئون) کم است.

مراحل نمو بیضه ها در این حیوان بقرا رزیر می باشد.

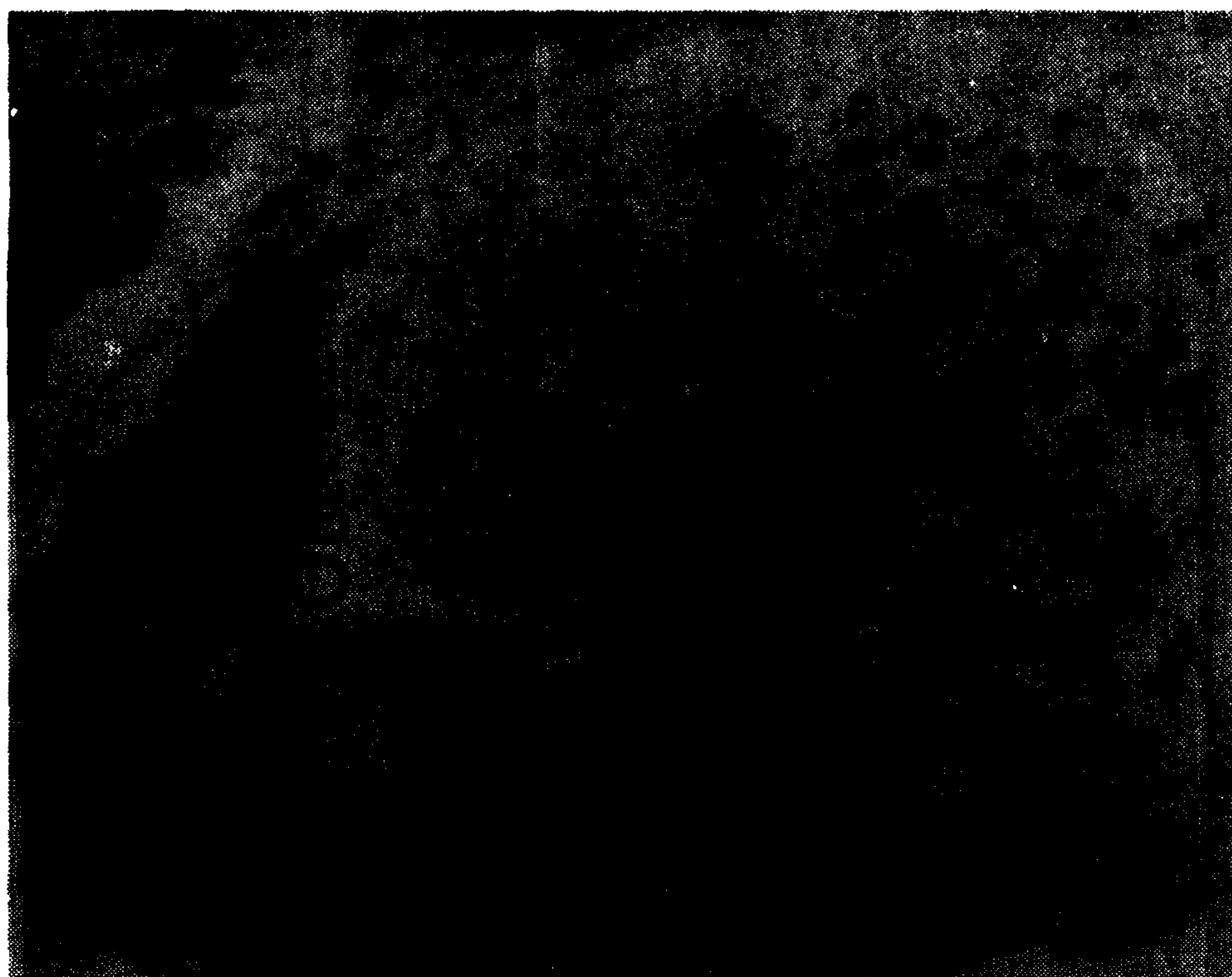
۱- مرحله اسپرما توگونئیوم (E): اساسا این مرحله در مراحل آخر نمو رویانی حلزونهای نر دیده می شود که طول صدف آنها در حدود ۱ میلی متر

می باشد. در این مرحله، در بیضه ها صرفا "سلولهای اسپرما توگونئی که سلولها ئی گرد با هسته و هستکهای درشتی می باشند، مشاهده گردید. قطر این سلولها ۷-۸ میکرون، طول غده تناسلی در این مرحله ۳۲۰-۳۰۰ میکرون و قطر آسینوسهای بیضه در حدود ۱۰۰ میکرون بودند. فقط معدودی از حلزونهای نر در مرحله اسپرما توگونئیوم مشاهده شدند.

۲- مرحله اسپرما توسیت (F): مرحله اسپرما توسیت در مراحل آخر نمو رویانی در بیضه حلزون های با طول صدف ۱ تا ۷ میلی متر مشاهده گردید. معدل طول و قطر آسینوسهای بیضه به ترتیب ۱/۱۸ میلی متر و ۱۳۸ میکرون بود. در این مرحله، غده تناسلی توسط اسپرما توگونئیها و اسپرما توسیتها پر شده است. این سلولها به قطر ۱۰-۱۲ میکرون می باشند. اسپرما توسیتها نیز گرد بوده و بیشترین آنها در مراحل مختلف تقسیم میوزی می باشند (شکل ۷).

۳- مرحله اسپرما تید (G): این مرحله در حلزون های با طول صدف ۱ تا ۸ میلی متر دیده شدند. معدل طول بیضه ها در این مرحله ۱/۳ میلی متر و معدل قطر آسینوسهای بیضه ها ۱۸۲ میکرون بود. در بعضی از این حلزونها علاوه بر اسپرما تیدها تعدادی نیز اسپرما توگونئی و اسپرما توسیت دیده شد. الگوی معمول دگردیسی اسپرم (اسپر میوزن) در این حلزونها نیز اتفاق می افتد و اسپرما توزئونها از اسپرما تیدها تمایز می یابند (شکل ۸).

۴- مرحله اسپرما توزئون (H): این مرحله تفاوت قابل ملاحظه ای در حلزونهای با طول صدف

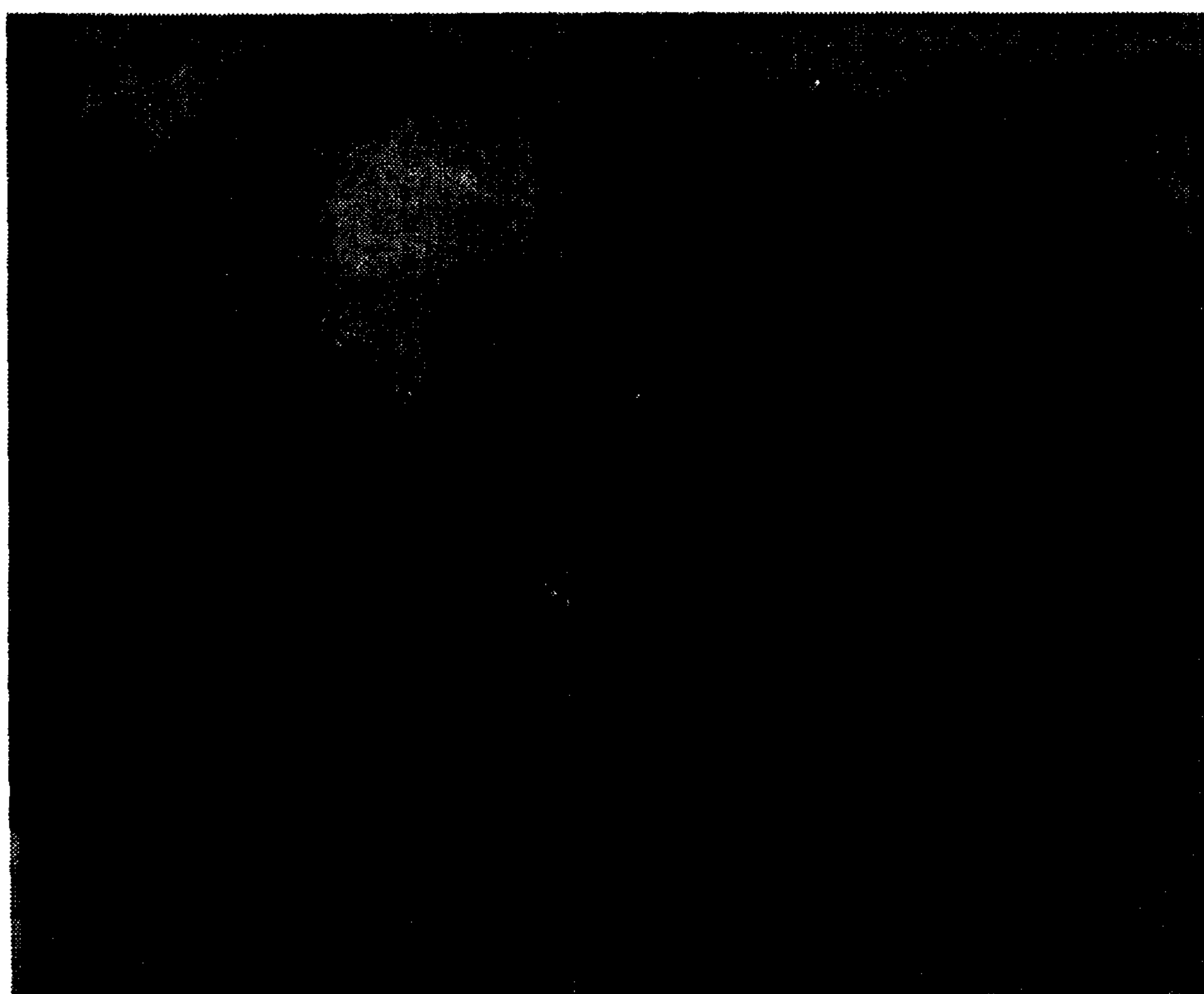


شکل ۴- عکس میکروسکوپی تخمدان و تخمکهای

حلزون در مرحله ویتلوژنز .

• ائوسیت ،  $YB =$  اجسام زرده ای .

بزرگنمایی  $\times 640$



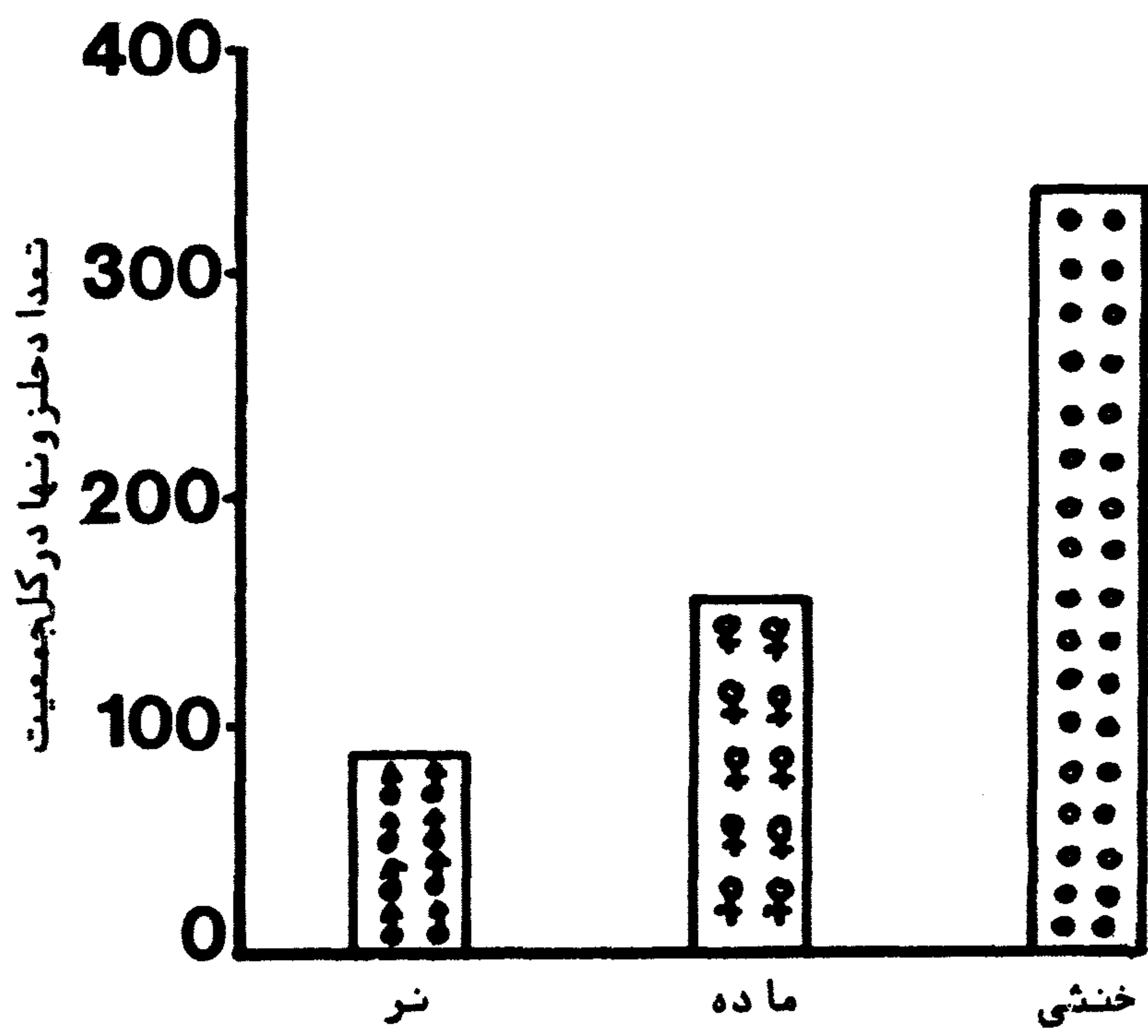
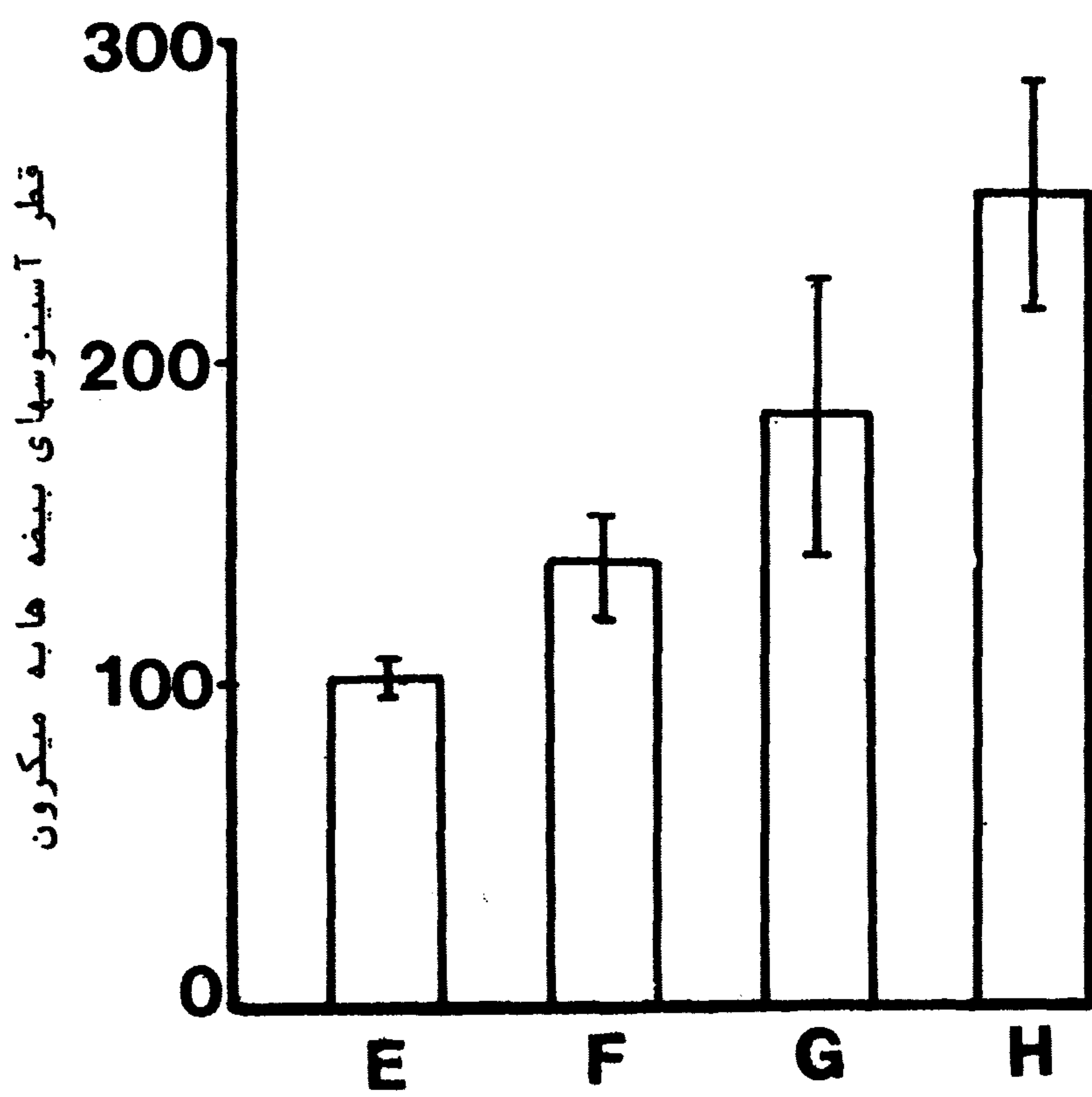
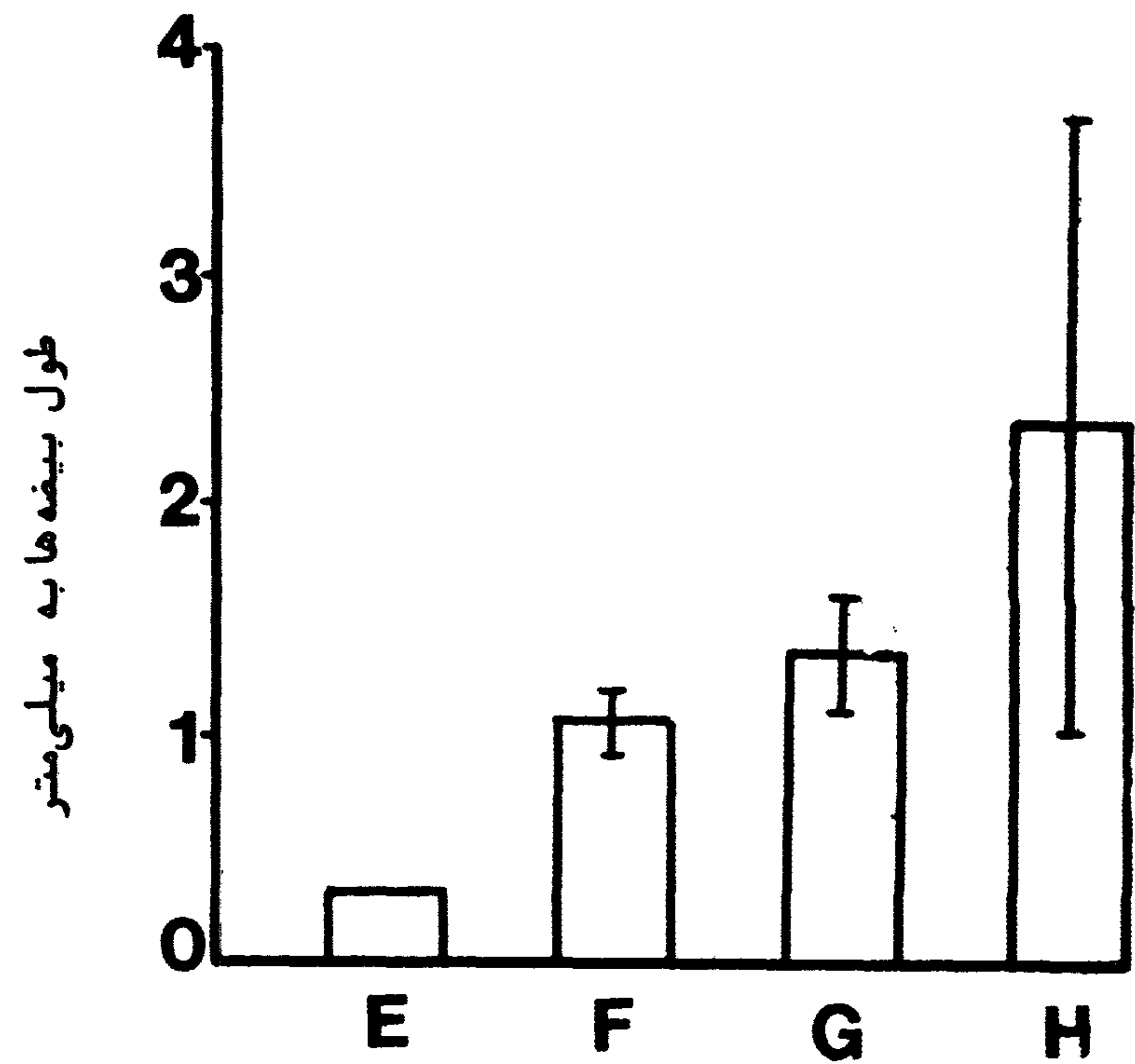
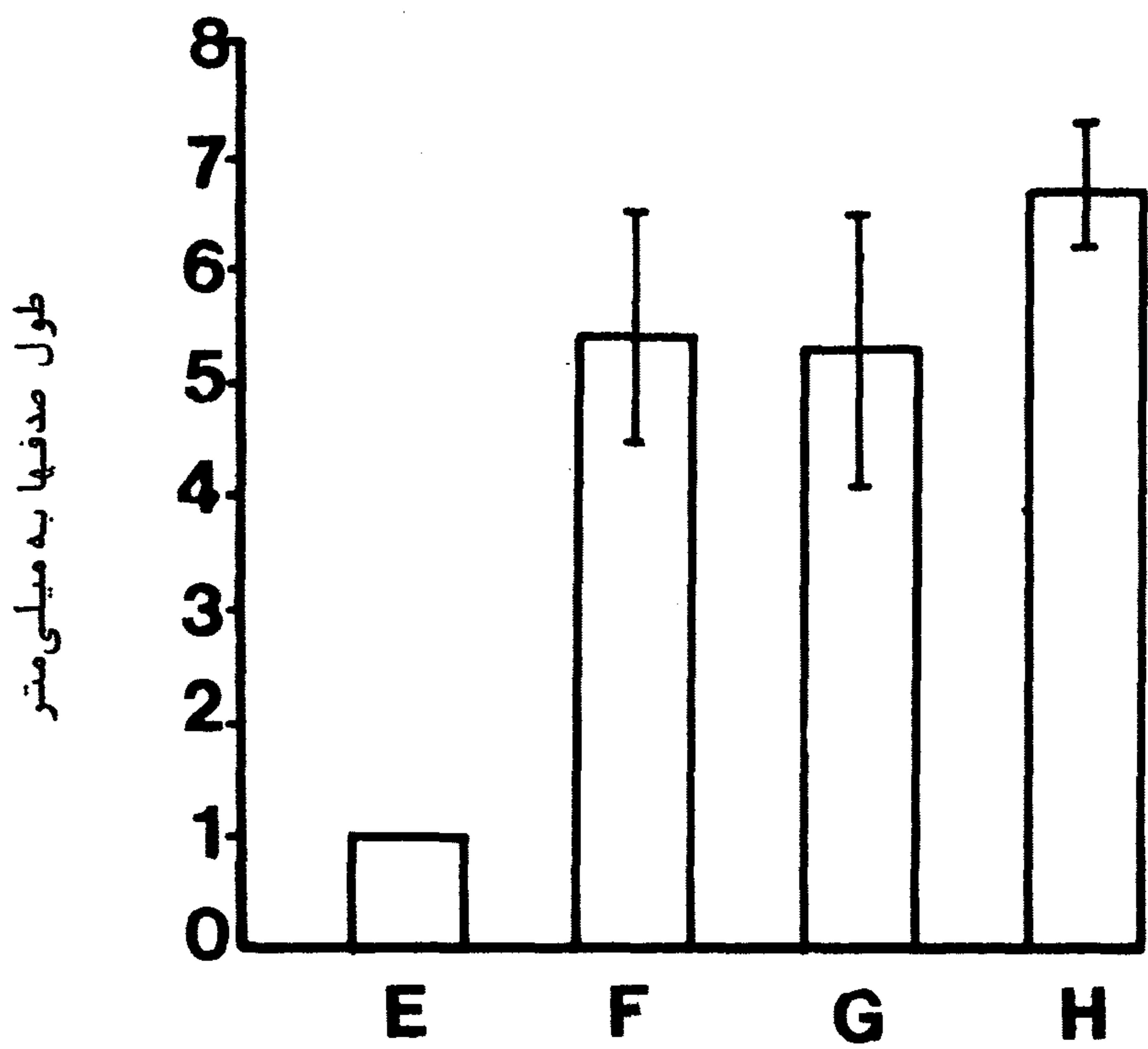
شکل ۵- عکس میکروسکوپی تخمدان و تخمکهای

حلزون در مرحله ویتلوژنز .

• ائوسیت ،  $YB =$  اجسام زرده ای .

بزرگنمایی  $\times 640$



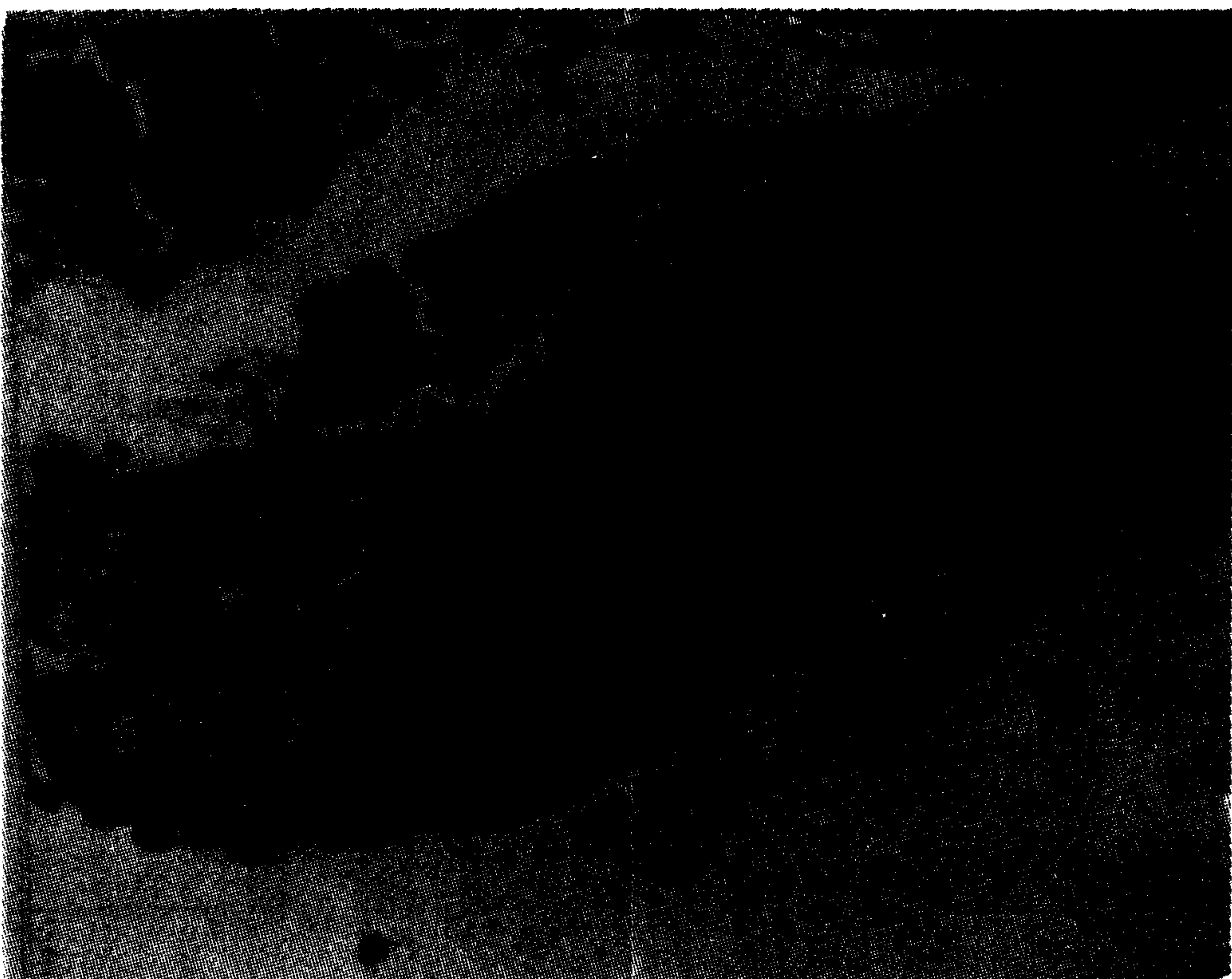


شکل ۶- طول مدفها، طول بیضه‌ها، قطر آسینوسهای بیضه‌های حلزونها، نر و تعداد دحلزونهای نر، ماده و خنثی.

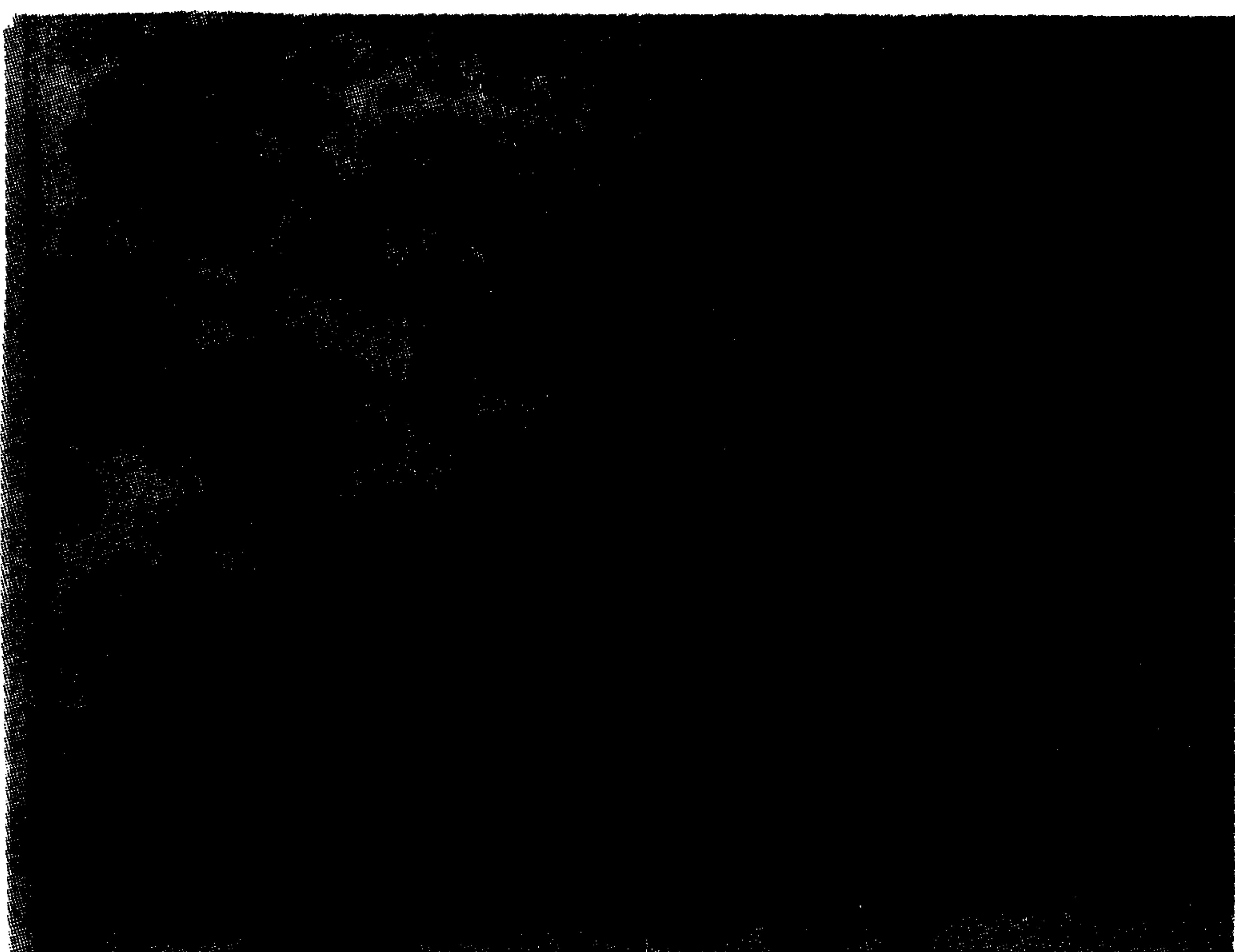
F مرحله اسپرما توسیت  
H مرحله اسپرما توزئون

E مرحله اسپرما توگونیموم  
G مرحله اسپرما تید





شکل ۷- عکس میکروسکپی قسمتی از بیضه حلزون  
(یک آسینوس کا مل) در مرحله اسپرما توسیت،  
Sc = اسپرما توسیت، Sg = اسپرما توکونی،  
بزرگنما ۴۰x



شکل ۸- عکس میکروسکپی قسمتی از دوآسینوس  
حلزون در مرحله اسپرما تید،  
AW = دیوار آسینوسی، SC = اسپرما توسیت،  
Sg = اسپرما توکونی، St = اسپرما تید،  
بزرگنما ۴۰x

اتا ۰۱ میلیمتر نشان داد. مثلاً "در بیضه های بعضی حلزون ها هنوز معدودی اسپرما توگونی و اسپرما توستیت مشاهده می گردد، اما قسمت بیشتر غده تناسلی به وسیله اسپرما تیدها و اسپرما توژئونها پر شده است. شاید صحیح تر باشد که این مرحله به سه بخش اسپرما توژئون ابتدائی، میانی و انتهائی بر اساس تراکم جمعیت اسپرما توژئونها تقسیم شود. در این مرحله معدل طول بیضه ها ۲/۳۸ میلیمتر و معدل قطر آسینوسهای آنها ۱۸۲ میکرون می باشد (شکل ۹).

حلزون های خنثی - تقریباً ۵۰ درصد از جمعیت حلزون های با طول صدف ا تا ۸ میلیمتر مورد مطالعه از نوع خنثی بودند. مطالعات بافت شناسی دقیقی که بر روی این دسته از حلزونها بعمل آمد هیچگونه اثری از اعضاء تولید مثلی یافت نشد. در معدودی از حیوانات، گروههای سلولی که وجه تشابهی با سلولهای گامتوژنیک ندارند در محل غدد تناسلی تشخیص داده شد ولی در مراحل مختلف نمو این دسته از حلزون ها هیچگونه پیشرفتی از نظر تمایز دستگاههای جنسی مشاهده نگردید (شکل ۱۰).

### بحث

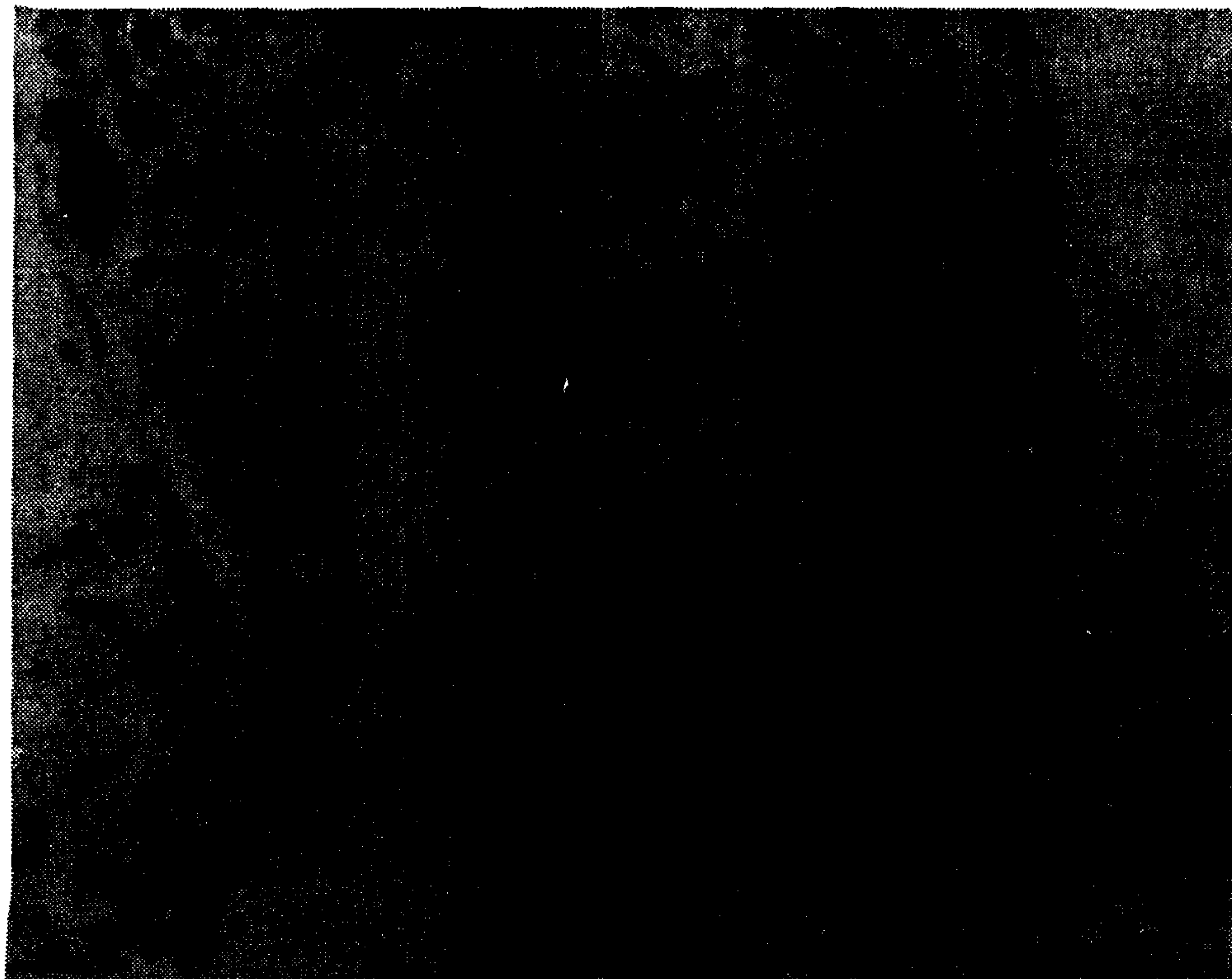
از آنجا که هیچ تفاوت مورفولوژیکی بین حلزونهای نر، ماده و خنثی در گونه ملانوپسیس پره - مورا وجود ندارد، مطالعات بافت شناسی دستگاه تولید مثلی برای بررسی جنسها ضروری بود. در اولین مراحل مطالعات چنین به نظر می رسد که این حیوان نیز نظیر بسیاری از حلزونهای پروزوبراننش، هرما فرودیت یا نرماده می باشد که سه مرحله نر بودن، دوره انتقالی و ماده بودن را طی می کند. این

نظراً از آنجا پیدا می شود که در بعضی از حلزونهای مورد مطالعه توده های سلولی نظیر پروزوبرا نشهد در ناحیه غده تناسلی آنها مشاهده می شود، اما مشاهدات بافت شناسی دقیق دستگاههای تناسلی این حیوان خلاف نظر ذکر شده را نشان می دهد. از ۵۷۶ حلزون مورد مطالعه در این بررسی، تعداد ۲۳۸ حلزون تمایز جنسی مستقل نشان دادند، ولی بقیه خنثی بودند. از میان ۲۳۸ حلزون با جنسیت معلوم، ۳۲ درصد نر و ۶۸ درصد ماده بودند، یعنی تعداد ماده ها تقریباً "دو برابر نرها می باشد.

مراحل اسپرما توژنز و ائوژنز از نظر تمایز سلولی در این حیوان با انواع دیگر رده های نرم تنان کم و بیش تطابق دارد (۷، ۶).

نمونه برداریهای انجام گرفته در کلیه فصول سال نشان می دهد که حیوان بدون وابستگی به فصل معینی از سال تخمگذاری می کند ولی دفعات تخمگذاری در فصل زمستان کم می شود. علت این امر را در شرایط محیط زیستی حیوان می توان جستجو نمود بدین معنی که چشمه آب مزدوران گرمای تقریباً ثابتی را در فصول مختلف سال دارا است و تنها میزان پوشش گیاهی ناحیه است که در زمستان نقصان می یابد. پائین آمدن میزان جمعیت حیوان در زمستان احتمالاً از همین عامل یعنی پوشش گیاهی تبعیبت می نماید. علیرغم مطالعات و دقت زیاد در مورد تجربیات مربوط به بکرزائی، بعلمت متفاوت بودن شرایط زیستی در آزمایشگاه نسبت به محیط طبیعی هنوز نمیتوان در مورد عدم وجود بکرزائی در این حیوان نظر قاطعی داد و شاید لازم باشد آزمایشهای بیشتری در این باره صورت گیرد.

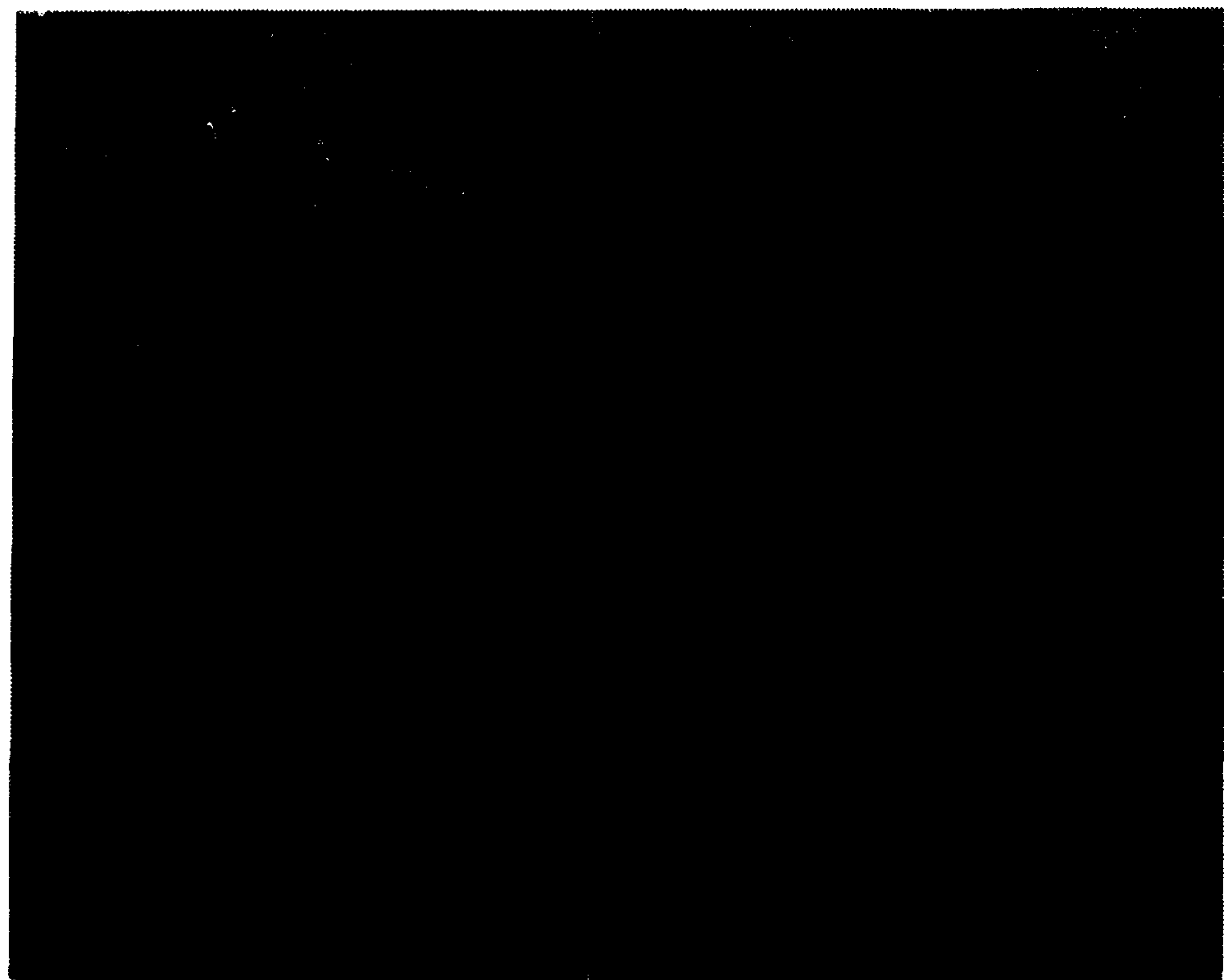




شکل ۹- عکس میکروسکوپی قسمتی از بیضه حلزون . یک

آسینوس در مرحله اسپرما توزئون .

SP = اسپرما توزئون . بزرگنمایی ۴۴۰x



شکل ۱۰- عکس میکروسکوپی غده جنسی تما یزینیا فته

در حلزون های خنثی ( استریل ) .

CT = بافت پیوندی ، DG = غده گوارشی ،

UC = سلولهای تما یزینیا فته . بزرگنمایی ۴۴۰x

|  |  |
|--|--|
| <p>محمد علیزاده بترتیب بخاطر تامین بودجه، طرح، ارائه نظریات سازنده، نامگذاری نمونه ها، کمک در جمع آوری و تهیه مقاطع بافتی و چاپ عکسها قدر دانی می شود.</p> | <p>سپا سگزاری<br/>از اعضاء هیئت علمی گروه بیولوژی دانشگاه<br/>مشهد آقایان دکتر علی زرگری، سیف اله عبدالهسی و</p> |
|--|--|

REFERENCES

مراجع مورد استفاده

- 1- Bilgin, F.H. 1967. Ecological and systematical research on the gastropods in freshwater in the vicinity of Izmir. Scientific Reports of the Faculty of Science, Ege University , (36) : 1-54.
- 2- Bilgin, F.H. 1973. Studies on the functional anatomy of *Melanopsis praemorsa* (L.) and *Zemelanopsis trifasciata* (Gray). Proc. Malac. Soc. Lond., (40): 379-393.
- 3- Fretter, V. & A. Graham 1964. Reproduction. In: Physiology of Mollusca, K. Wilbur and C.M. Younge, eds. 1, 127-164. Academic Press, New York.
- 4- Jacob, J. 1957. Cytological studies of Melaniidae (Mollusca) with special reference to parthenogenesis and polyploidy. I. Oogenesis of parthenogenetic species of *Melanoides* (Prosobranchia-Gastropoda) Trans. Roy. Soc. Edinburgh, (63): 341-352.
- 5- Jacob, J. 1958. Cytological studies of Melaniidae (Mollusca) with special reference to parthenogenesis and polyploidy. II. A study of meiosis in the rare males of the polyploid race of *Melanoides tuberculatus* and *Melanoides lineatus*. Trans. Roy. Soc. Edinburgh, (63): 433-444.



- 6- Parivar, K. 1974. The cytology and cell differentiation of the hermaphrodite gland of *Arion ater* L. (Mollusca, Pulmonata). Ph.D. thesis, University of Reading.
- 7- Parivar, K. 1978. A histological survey of gonadal development in *Arion ater* L. (Mollusca, Pulmonata). J. Moll. Stud., (44): 250-264.
- 8- Peres, J. M., 1964. Contribution a l'etude de *Melanopsis*. Journal de Conchyliologie, (86): 109-174.

A Histo - Anatomical Survey of Gonadal Development  
of the Snail *Melanopsis praemorsa* L. (Melaniidae  
Gastropoda ) in Mozdouran Area , Khorasan , Iran.

K. PARIVAR

Assistant Professor , Department of Biology, College of  
Sciences, Mashhad University , Mashhad, Iran

Received for publication April 25, 1980.

ABSTRACT

The biology of reproduction of *Melanopsis praemorsa* L. was studied on molluscs found in Mozdouran, 100 Km north east Mashhad , Iran. Monthly samplings were made for a year time. It was found that in that habitat. This snail lays eggs throughout the year .

Among the large population from which the samples were collected and examined histologically, male, female and sterile animals were recognized. Measurements made on shell heights, lengths of gonads and diameter of their acini showed that male snails were small in size (ave. shell height = 4.5 mm), steriles were medium in size (ave. shell height=6mm), and females were the largest individuals (ave. shell height= 8.5 mm). Examination of different stages of spermatogenesis and oogenesis and experimental work carried out in the laboratory showed no sign of parthenogenesis in this species. Amongst 576 animals examined histologically , it was noted that half of the population were steriles but , approximately one third and two third of the remainings were male and female, respectively.