Archive of SID

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال پنجم، شماره اول، پیاپی هفدهم، تابستان ۱۳۹۵ (۲۲-۹)

بررسی هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان مولد ماده شاه‌کولی (*Alburnus chalcoides*) مهاجر به تالاب انزلی

مرجان پوراسماعیلیان[۱]، حسین خارا[۲*]، محدثه احمدنژاد[۳]
۱. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاداسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶
۲. گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی۱۶۱۶
۳. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۱
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۵/۲۴)

چکیده
بیولوژی تولیدمثل مولد ماده ماهی شاه‌کولی *Alburnus chalcoides* با استفاده از مطالعات بافت‌شناسی، اندازه‌گیری قطر تخمک و میزان هورمون‌های استروئیدی جنسی در طی دوره تخم‌ریزی در تالاب‌انزلی از اسفند ۱۳۹۲ لغایت خرداد ۱۳۹۳ موردبررسی قرار گرفت. در مجموع ۴۲ عدد ماهی مولد ماده موردبررسی قرار گرفتند. نتایج هورمونی نشان داد که میزان هورمون تستوسترون در مرحله قبل از تخم‌ریزی ماهیان ماده ۱/۱۸±۷/۹۳ ولی در ماهیان رسیده مقدار آن ۱/۱۲±۳/۸۸ نانوگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد ($P<0/05$). غلظت هورمون ۱۷ بتا- استرادیول در مولدین در طی دوره تخم‌ریزی برررسی شده و مقدار آن در مرحله قبل از رسیدگی کامل و ماهیان رسیده به ترتیب ۰/۱۸±۲/۹۸ و ۰/۰۹±۲/۵۵ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. غلظت هورمون پروژسترون نیز در ماهیان ماده رسیده ۰/۰۴±۰/۳۶ و در ماهیان مرحله قبل از تخم‌ریزی ۰/۰۳±۰/۲۵ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد ($P<0/05$). اندازه قطر تخمک در ماهیان قبل رسیدگی کامل و رسیده کامل به ترتیب ۱۳/۲۹±۶۵۵/۱۲ تا ۱۳/۹۶±۷۹۲/۴ میکرون اندازه‌گیری شد. بررسی مطالعات بافت‌شناسی در مولدین ماده از لحاظ میکروسکوپی، نشان داد که در تخمدان‌ها، تخمک‌هایی در مراحل اولیه رشد، مرحله آلوئل‌های اطرافی، تخمک‌های مراحل اولیه زرده‌سازی، تخمک‌های مرحله نهایی زرده‌سازی، تخمک‌های هیدراته شده و همچنین تخمک‌هایی که مهاجرت وزیکول ژرمینال در آنها رخ داده، قابل مشاهده هستند. با توجه به بالا بودن مقدار هورمون ۱۷- بتا- استرادیول در زمان تخم‌ریزی و بر طبق نتایج سایر گزارشات، احتمالاً فرآیند رشد و رسیدگی تخمک‌ها در زمان تخم‌ریزی در این ماهیان در حال انجام است و الگوی رشد تخمک در تخمدان این ماهیان از نوع ناهم‌زمان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مولدین ماده شاه کولی، بافت‌شناسی تخمدان، هورمون‌های جنسی، تالاب‌انزلی.

Study of sex steroid hormones and ovarian histology in female Shemaya (*Alburnus chalcoides*) migratory to Anzali Wetland

Marjan Pouresmaeilian[1], Hosein Khara[2]*, Mohaddese Ahmadnezhad[3]
1. Young researchers and elite club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, P. O. Box: 1616
2. Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, P.O. Box: 1616
3. Iranian Fisheries Science Research Institute, Inland Water Aquaculture Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran, P. O. Box: 61
(Received: Jun. 17, 2015 - Accepted: Aug. 14, 2016)

Abstract
Reproductive biology of female Shemaya (*Alburnus chalcoides*) studied with examination of histology, egg diameter and value of sex steroid hormones during spawning phase in the Anzali wetland from March 2013 to Jun 2014. Finally 42 numbers of female fish were examined. The result of sex steroid hormones showed the rate of testosterone hormone in gravid fish was 7.93±1.18 ng/ml; but in ripe females, its value was 3.88±1.12 ng/ml ($P<0.05$). Level of 17β-estradiol during spawning phase were examined and its value in gravid fish and ripe fish respectively was 2.98±0.18 and 2.55±0.09 ng/ml. also level of progesterone hormone in ripe fish was 0.36±0.04 ng/ml, that its value in ripe fish and its value in gravid fish was 0.25±0.03 ng/ml ($P<0.05$). Egg diameter in gravid fish and ripe fish respectively was 655.12±13.29 and 792.4±13.96 micron. Microscopic study of ovarian histology in female fish showed ovarian contain eggs in primary growth stage, cortical alveoli, early vitellogenic oocyte, advanced vitellogenic oocyte, hydrated oocyte, germinal visicol break down oocyte. According to value of 17β-estradiol during spawning phase and result of other study, probably eggs are growing during spawning phase. The process of oocyte growth in these fishes is asynchronous.

Keywords: *A. chalcoides*, ovarian histology, sex hormones, Anzali Wetland.

* نویسنده مسئول: E-mail: h.khara1974@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شاه‌کولی *Alburnus chalcoides* یکی از گونه‌های اقتصادی آب‌های شیرین نیم‌کره شمالی محسوب می‌شود (Bogutskaya, 1997). این ماهی از خانواده کپور ماهیان Cyprinidae بوده و دارای گونه‌های متعددی می‌باشد که در دریای خزر، دریای سیاه و دریاچه آرال پراکنش دارند (Berg, 1949). در ایران در تمامی سواحل جنوب دریای خزر از تالاب‌انزلی تا گرگان‌رود گزارش شده است (Abdoli and Naderi, 2009). این ماهی پس‌از ماهی سفید و سیاه‌کولی مهمترین گونه از ماهیان مهاجر به تالاب‌انزلی است و در بین ساکنین نواحی شمالی ایران به‌ویژه استان گیلان طرفداران فراوانی دارد (Razavi-Seiiad, 1990). تمایل زیاد به مصرف شاه‌کولی، صید بیش از حد و موانع متعدد در مسیر مهاجرت برای رسیدن به محل‌های تولیدمثلی در بخش‌های میانی رودخانه‌ها با بستر قلوه‌سنگی از عوامل مهم کاهش چشم‌گیر جمعیت این‌گونه‌ها عنوان شده است (Abdoli and Naderi, 2009). جمعیت این ماهیان در معرض تهدید گزارش شده و بر اساس طبقه بندی IUCN جزء ماهیانی است که اطلاعات کمی در مورد آن وجود دارد (Kiabi *et al*., 1999). استروئیدهای جنسی بر فرآیندهای فیزیولوژیک مهم در مهره‌داران تاثیر می‌گذارند. در ماهیان استخوانی ویتلوژنز با هورمون ۱۷- بتا استرادیول تنظیم می‌شود. بنابراین افزایش جزئی در میزان هورمون ۱۷- بتا استرادیول در ماهیان ماده در طول بلوغ و تکامل گناد، بر شروع فرآیند ویتلوژنز دلالت می‌کند. تغییرات فصلی در میزان تستوسترون و ۱۷- بتا استرادیول در طول چرخه گنادی در ماهیان مختلف مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. مطالعه روی هورمون‌های استروئیدی جهت آشنایی با مکانیسم‌های رفتار تولیدمثلی، گامت‌زایی و استروئیدزایی گناد صورت می‌گیرد (Suresh *et al*., 2008). با توجه به کاهش ذخایر ماهیان کولی و تکثیر طبیعی آنها، ایجاد بیوتکنیک تولید انبوه و آبزی‌پروری در این ماهیان ضروری است ولی لازمه موفقیت در معرفی یک گونه وحشی به آبزی‌پروری، شناخت چرخه تولیدمثلی گونه و کنترل هورمونی آن می‌باشد (Rinchard *et al*., 2001).

تحقیق در زمینه بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان همواره مورد توجه بوده و کارهای بسیاری در این راستا انجام شده که از جمله آنها می توان به بافت‌شناسی ماهی کیلکا (Abtahi *et al*., 2004)، ماهی سفید دریای خزر (Shafiei-sabet *et al*., 2008) و ماهی هامور (Abbasi *et al*., 2005) اشاره کرد. تعیین مراحل نمو تخمدان با استفاده از مشاهدات ماکروسکوپی و میکروسکوپی توسط محققین مختلفی بررسی و گزارش شده است (Crossland, 1977; Qasim, 1957).

از این‌رو هدف از این مطالعه، بررسی مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنسی (تستوسترون، ۱۷بتا- استرادیول و پروژسترون) و بافت‌شناسی گنادهای جنسی ماهی مولد ماده شاه‌کولی مهاجر در تالاب انزلی می‌باشد که به شناخت پایه‌ای فیزیولوژی تولیدمثل این گونه‌ها در زمان تخم‌ریزی و همچنین به مطالعه مقدماتی در مدیریت مولدین در شرایط تکثیر کمک می‌نماید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بازده زمانی ۴ ماه از اسفند ماه ۱۳۹۲ آغاز و در خرداد ماه ۱۳۹۳ به پایان رسید. ماهیان مولد مهاجر به تالاب‌انزلی توسط تور گوشگیر صید شده و به وسیله وان‌های مجهز به دستگاه هواده به آزمایشگاه منتقل شدند. در مجموع ۴۲ قطعه ماهی مولد بررسی شد. ماهیان به دو گروه رسیده (Ripe) که تخمک‌هایشان به‌صورت اوله شده یا شل در محوطه بدنی قرار داشت، و مرحله قبل از تخم‌ریزی (Gravid) که تخمک‌هایشان هنوز به‌صورت سفت به دیواره شکم چسبیده بودند تقسیم شدند(Patterson *et al*., 2004).

www.SID.ir

Archive of SID

خونگیری و اندازه‌گیری هورمون

ماهیان ابتدا جهت خونگیری در داخل ظرف ۲۰ لیتری حاوی ماده بیهوشی پودر گل میخک (به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند (راس و راس، ؟). سپس خونگیری از طریق ساقه‌دمی انجام گرفت و نمونه‌های خون را در ویال‌های یک سی‌سی ریخته و تا قبل از جداسازی سرم در دمای یخچال نگهداری گردیدند. برای جداسازی سرم، سانتریفوژ ۳۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت پذیرفت. بعد از آن نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری هورمون‌ها در دمای یخچال نگهداری و نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری هورمون‌های جنسی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. هورمون‌های موردبررسی این مطالعه به‌روش ELISA با استفاده از دستگاه Biotek 830 و کیت Monobind اندازه‌گیری شدند.

در آزمایشگاه جهت زیست‌سنجی ماهیان ابتدا ماهی‌ها آسان‌کُشی (به روش قطع نخاعی) شدند. وزن بدن و وزن تخمدان ماهیان توسط ترازو به ترتیب با دقت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ گرم و طول بدن ماهیان (طول کل، طول چنگالی، طول استاندارد) توسط تخته بیومتری با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد. ماهیان با استفاده از فلس تعیین سن شدند. حداقل ۳ فلس از قسمت میانی بدن بین باله پشتی و خط جانبی برداشته شد (Nikolsky, 1963). پس از شستشو و خشک کردن فلس‌ها، برای تشخیص دوایر متحدالمرکز روی آن، از لوپ دوچشمی MOTIC با بزرگنمایی ۱۰ تا ۴۰ برابر استفاده گردید. برای تعیین سن یک حلقه تیره به‌همراه یک حلقه روشن، یک سال تمام در نظر گرفته شد.

برای خارج ساختن اندام‌های تولیدمثلی و کبد، در طول خط میانی، شکم از چند میلی‌متری مخرج تا ناحیه زیرین بین سرپوش آبششی برش داده شد، و از محل اتصال مری به حلق اقدام به جداسازی گناد و کبد شد. سپس گنادها و کبد توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد.

جهت تعیین شاخص گنادی یا Gonadosomatic Index از رابطهٔ ۱ استفاده شد (Tyler *et al*., 1996):

رابطهٔ ۱) $GSI = OW/ BW- OW \times 100$

BW: وزن بدن به گرم

OW: وزن گناد به گرم

برای تعیین شاخص وزن کبدی Hepatosomatic Index از معادله ۲ (Shreck and Moyel, 1990) استفاده شد:

معادله ۲) $HSI = LW/ BW- LW \times 100$

BW: وزن بدن به گرم

LW: وزن کبد به گرم

بعد از خارج ساختن تخمدان‌ها برای تعیین هم‌آوری، مقداری زیرنمونه از تخمک‌های موجود در بخش‌های ابتدایی، میانی و انتهایی تخمدان جدا شد و برای استحکام بخشیدن و تثبیت، تخمک‌ها در فرمالین ۴ در صد قرار داده شد (Azari-Takami *et al*., 1979). بعد از جداسازی بافت‌های اضافی، تخمک‌های موجود در زیرنمونه به‌دقت شمارش شد. علاوه بر شمارش تمامی تخمک‌ها، تخمک‌های هر یک از زیرنمونه‌ها براساس مشاهده چشمی در زیر لوپ در سه گروه، تخمک‌های بزرگ، متوسط و کوچک طبقه‌بندی و شمارش شد. سپس تعداد تخم‌های شمارش شده از هر گروه براساس وزن نمونه تخمدان به وزن کل تخمدان تعمیم داده شد تا تعداد کل تخمک‌های بزرگ، کوچک و متوسط در کل گناد به‌دست آید.

هم‌آوری مطلق از روش وزنی و از طریق معادله ۳ به‌دست آمد (Biswas, 1993):

رابطهٔ ۳) $Fecundity = (n \times G) / g$

n: تعداد تخمک‌های زیرنمونه

G: وزن تخمدان به گرم

g: وزن زیرنمونه به گرم

www.SID.ir

Archive of SID

پس از محاسبه هم‌آوری مطلق، به‌منظور تعیین هم‌آوری نسبی از معادله ۴ استفاده شد:

رابطهٔ ۴) $\text{Relative Fecundity} = \frac{\text{Fecundity}}{\text{(BW-OW)}}$

BW: کل وزن بدن به گرم

OW: وزن تخمدان به گرم

قطر حداقل ۱۰۰ تخمک در هر زیرنمونه با استفاده از لوپ دوربین‌دار با لنز مدرج (Olympus SZX 12) اندازه‌گیری شد (Davis and West, 1993).

برای مطالعه بافت‌شناسی از ابتدا، وسط و انتهای تخمدان ۱۰ ماهی ماده نمونه تهیه شد. به‌منظور تثبیت نمونه‌ها، تکه‌های بافت در محلول فیکساتیو بوئن به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت غوطه‌ور شد، سپس مراحل آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه شدن، قالب‌گیری، برش به ضخامت ۶ میکرون، رنگ‌آمیزی هماتوکسین و ائوزین و مونته نمودن انجام شد. هر یک از لام‌های آماده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (شرکت BEL ایتالیا) مجهز به دوربین موردمطالعه و عکس‌برداری قرار گرفت. در انتها جهت تعیین مرحله رسیدگی‌جنسی از کلید شناسایی ۵ مرحله‌ای (Brown-Peterson *et al*., 2011) استفاده شد.

برای انجام کارهای آماری از نرم‌افزار SPSS 17 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 و جهت مقایسه میانگین‌ها، از آزمون‌های Tukey و One-Vey Anova در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ دامنه تغییرات طولی و وزنی ۴۲ قطعه از ماهیان شاه‌کولی مهاجر را در تالاب‌انزلی نشان می‌دهد. بعد از انجام تعیین سن ۱۸ قطعه از ماهیان مولد ماده دو ساله و ۲۴ قطعه دیگر سه سال شناخته شد. آزمون واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری را از لحاظ میانگین طولی و وزنی بین ماهیان رسیده کامل و قبل از رسیدگی کامل در مقاطع سنی‌ای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول۱. تغییرات طول کل و وزن کل مولدین ماده شاه‌کولی در سنین مختلف

		طول			وزن		
جنسیت	مرحله رسیدگی	کل (سانتی‌متر)	۳ساله(سانتی‌متر)	۲ساله(سانتی‌متر)	کل (گرم)	۳ساله (گرم)	۲ساله (گرم)
ماده	رسیده کامل	۱۵/۲۸±۰/۱۸	۱۵/۵۸±۰/۱۶	۱۴/۵۵±۰/۱۲	۲۷/۵۵±۰/۸۸	۲۸/۸۴±۰/۸۸	۲۴/۳۳±۱/۰۵
	قبل از رسیدگی‌کامل	۱۴/۹±۰/۱۵	۱۵/۴۲±۰/۲۲	۱۴/۳۸±۰/۹۲	۲۶/۵۳±۱/۱۲	۳۰/۱۲±۱/۷۶	۲۲/۹۵±۰/۴۲

تغییرات شاخص گنادی (GSI) و تغییرات شاخص کبدی (HSI) در مراحل قبل رسیدگی کامل و بعد از رسیدگی کامل برای ماهی شاه‌کولی در جدول ۲ نشان داده شده است. ملاحظه می‌گردد که تفاوت میانگین GSI نشان از رشد گنادی ماهیان ماده به‌سمت تخم-ریزی است و در ماهیان کاملاً رسیده به حداکثر میزان خود (۱۶/۲۲) می‌رسد (جدول ۳). ولی براساس آزمون واریانس یک‌طرفه از لحاظ شاخص گنادی در بین ماهیان کاملاً رسیده و قبل رسیدگی کامل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). تغییرات شاخص کبدی (HSI) با تغییرات GSI در ماهیان ماده منطبق است و حداکثر مقدار آن در ماهیان کاملاً رسیده سه ساله (۱/۶۴) مشاهده شد (جدول ۳). آزمون واریانس یک‌طرفه و توکی تفاوت معنی‌داری را بین میانگین HSI ماهیان ماده سه ساله نشان داد (P<۰/۰۵).

هم‌آوری مطلق و نسبی در ۴۲ قطعه ماهی ماده بالغ، بررسی شد و نتایج در جدول ۳ ارائه گردید. میانگین تعداد هم‌آوری مطلق در مولدین رسیده و قبل از رسیدگی کامل به ترتیب ۵۴۳/۳±۹۹۷۴/۴۸ و ۷۶۱/۵۱±۱۰۸۲۵/۰۲ عدد محاسبه شد. میانگین تعداد هم‌آوری نسبی در مولدین رسیده و قبل رسیدگی کامل به‌ترتیب ۹۶/۵۰۷±۵۱۵/۸۲ و

www.SID.ir

Archive of SID

۴۲۰/۲۷±۱۷/۵۴۹ عدد محاسبه شد. نتایج شمارش تخمک بین ابتدا، وسط و انتهای گناد راست و چپ از لحاظ هم‌آوری مطلق و نسبی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). هم‌آوری مطلق و نسبی بین مراحل رسیدگی جنسی مورد آنالیز آماری قرار گرفت که تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول۲. میانگین شاخص کبدی و گنادی مولدین ماده شاه‌کولی بین ماهیان کاملاً رسیده و قبل از رسیدگی کامل

جنسیت	شاخص	مرحله رسیدگی‌جنسی	۲ ساله (گرم)	۳ ساله (گرم)	کل (گرم)
ماده	شاخص‌گنادی	رسیده کامل	۱۶/۲۲±۰/۹۸	۱۵/۴۱±۰/۷۶	۱۵/۶۴±۰/۶
		قبل از رسیدگی کامل	۱۴/۷۶±۰/۷۹	۱۴/۳۱±۰/۴۲	۱۴/۵۳±۰/۴۴
	شاخص‌کبدی	رسیده کامل	۰/۸۹±۰/۲۲	۰/۹۲±۰/۱۲[a]	۰/۹±۰/۱
		قبل از رسیدگی کامل	۰/۹±۰/۱۱	۰/۶±۰/۰۸[b]	۰/۷۵±۰/۰۷

جدول ۳. هم‌آوری مطلق و نسبی ماهیان شاه‌کولی کاملاً رسیده و قبل رسیدگی کامل

وضعیت گناد	هم‌آوری‌مطلق (تعداد)	هم‌آوری‌نسبی (تعداد)
رسیده کامل	۹۹۷۴/۴۸±۵۴۳/۳	۵۱۵/۸۲±۹۶/۵۱
قبل از رسیدگی کامل	۱۰۸۲۵/۰۲±۷۶۱/۵۱	۴۲۰/۲۷±۱۷/۵۵
کل	۱۰۴۸۴/۸±۵۰۵/۳۴	۴۵۸/۴۹±۳۹/۹۸۸

میانگین قطر تخمک در وسط تخمدان در ماهیان کاملاً رسیده و قبل رسیدگی کامل به‌ترتیب ۸۷۲/۳۳±۲۳/۴۵ و ۵۶۷/۰۹±۱۹/۲۶ میکرون و در ابتدا و انتهای تخمدان ماهیان کاملاً رسیده به ترتیب ۷۶۵/۶۹±۲۴/۸۲ و ۷۳۴/۴۹±۲۳/۸۹ میکرون و قبل از رسیدگی کامل به‌ترتیب ۷۲۹/۹۳±۲۱/۵۴ و ۷۱۳/۷۴±۳۱/۱۵ میکرون اندازه‌گیری شد. مقایسه اندازه قطر تخمک بین ابتدا، وسط و انتهای تخمدان باتوجه به آزمون واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) را نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، در ماهیان کاملاً رسیده میانگین قطر تخمک در وسط تخمدان به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از میانگین قطر تخمک در ابتدا و انتهای تخمدان بود ولی در ماهیان قبل از رسیدگی کامل عکس نتایج مشاهده شد (جدول ۴).

میانگین قطر تخمک ماهیان کاملاً رسیده (۷۹۲/۴±۱۳/۹۶) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از قطر تخمک ماهیان قبل از رسیدگی کامل (۶۵۵/۱۲±۱۳/۲۹) می‌باشد (جدول ۴).

نتایج اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های جنسی (۱۷ بتا–استرادیول، تستوسترون و پروژسترون) پلاسمای خون مولدین ماده شاه‌کولی در جدول ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، میانگین سطح هورمون استرادیول در مولدین ماده شاه‌کولی در مرحله قبل از رسیدگی کامل (۲/۹۸±۰/۱۸ نانوگرم در میلی-لیتر) بیشتر از ماهیان ماده کاملاً رسیده (۲/۵۵±۰/۰۹ نانوگرم در میلی‌لیتر) بود، اما از نظر آنالیز آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). ماهیان در مرحله قبل از رسیدگی کامل به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از نظر میزان غلظت هورمون تستوسترون (۷/۹۳±۱/۱۹ نانوگرم در میلی‌لیتر) بالاتر از ماهیان کاملاً رسیده (۳/۸۸±۱/۱۲ نانوگرم در میلی‌لیتر) بودند. مطالعه غلظت سرمی پروژسترون نشان‌دهنده افزایش این هورمون در ماهیان کاملاً رسیده (۰/۳۶±۰/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر) نسبت به ماهیان قبل از رسیدگی کامل (۰/۲۵±۰/۰۳ نانوگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد که مقایسه نتایج حاصله تفاوت معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) را بین این دو مرحله رسیدگی جنسی نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

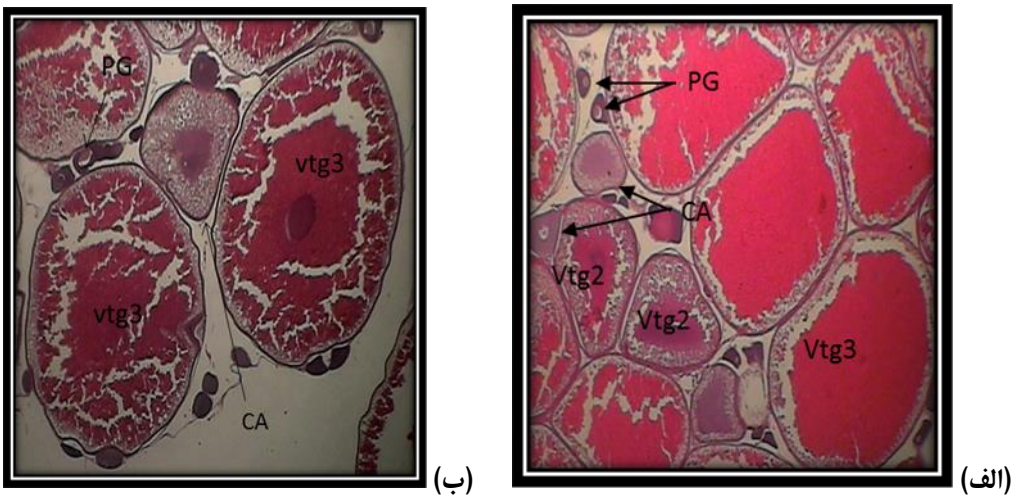
جدول ٤. مقایسه میانگین قطر تخمک بین ابتدا، وسط، انتهای گناد و میانگین کل قطر تمخک بین مولدین کاملاً رسیده و قبل از رسیدگی کامل (میکرون)

مرحله رسیدگی جنسی	میانگین قطر تمخک ابتدا	میانگین قطر تمخک وسط	میانگین قطر تمخک انتها	میانگین کل قطر تمخک‌ها
رسیده کامل	۷۶۵/۶۹±۲۴/۸۲[a]	۸۷۲/۳۳±۲۳/۴۵[a]	۷۳۴/۴۹±۲۳/۸۹[a]	۷۹۲/۴±۱۳/۹۶[a]
قبل از رسیدگی کامل	۷۲۹/۹۳±۲۱/۵۴[b]	۵۶۷/۰۹±۱۹/۲۶[a]	۷۱۳/۷۴±۳۱/۱۵[b]	۶۵۵/۱۲±۱۳/۲۹[b]

جدول ۵. مقایسه هورمونی بین مولدین ماده شاه‌کولی کاملاً رسیده و قبل رسیدگی کامل (نانوگرم در میلی‌لیتر)

وضعیت گناد	تعداد نمونه	استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر)	تستوسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)	پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)
رسیده کامل	۱۴	۲/۵۵±۰/۰۹	۳/۸۸±۱/۱۲[a]	۰/۳۶±۰/۰۴[a]
قبل از رسیدگی	۱۴	۲/۹۸±۰/۱۸	۷/۹۳±۱/۱۹[b]	۰/۲۵±۰/۰۳[b]

در تصاویر میکروسکوپی بافت‌شناسی ماهیان کاملاً رسیده و قبل از رسیده کامل، مرحله ابتدایی رسیدگی تخمک (PG)، تخمک های آلوئلی (CA)، ویتلوژنیک ثانویه (Vtg^2)، تخمک‌های مرحله نهایی زرده‌سازی (vtg^3)، واجد زرده و تخمک‌های هیدراته شده مشاهده شد (شکل، ۱). همچنین تخمک‌هایی که مهاجرت وزیکول ژرمینال در آنها رخ داده، قابل مشاهده بود.



شکل ۱. نمای میکروسکوپی از رنگ‌آمیزی ائوزین هماتوکسیلین تخمدان ماهی شاه‌کولی (بزرگ‌نمایی ۴×) بین الف) ماهیان کاملاً رسیده؛ ب) ماهیان قبل رسیدگی کامل

رشد اولیه=PG الوئولار=CA وتیلوژنیک ثانویه=vtg^2 وتیلوژنیک ثانویه=vtg^3

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به کاهش ذخایر ماهیان کولی و تکثیر طبیعی آنها، ایجاد بیوتکنیک تولید انبوه و آبزی‌پروری در این ماهیان ضروری می‌باشد. اما لازمه موفقیت در معرفی یک گونه وحشی به آبزی‌پروری، شناخت چرخه تولیدمثلی گونه و کنترل هورمونی آن می‌باشد (Rinchard *et al.*, 2001). همچنین شناخت و بررسی زیست‌شناسی و اکولوژی گونه‌های مختلف ماهیان در یک اکوسیستم آبی، سبب حفظ و بازسازی ذخایر آنها می‌شود. از این‌رو بهبود کیفیت مولدین و

www.SID.ir

Archive of SID

کنترل تولیدمثل به‌عنوان مهمترین بازتاب‌های تکنولوژی زیستی مدرن، می‌تواند ما را در دستیابی به تقاضای روزافزون و درحال رشد آبزی‌پروری در جهان کمک نماید (Vladi *et al*., 2002).

در تحقیق حاضر دامنه طولی در ماهیان ماده ۱۳/۹–۱۷/۴ با میانگین ۱۵/۳۰±۰/۱۲ سانتی‌متر به‌دست آمد. Rahbar *et al*. (2009) دامنه طولی ماهیان شاه‌کولی را در تالاب‌انزلی بین ۱۴/۸–۱۹/۱۰ با میانگین ۱۷/۲۸±۱/۳۵ سانتی‌متر، Azari-Takami & Rajabinezhad (۲۰۰۲) در رودخانه سفیدرود بین ۸/۷–۱۷/۹ سانتی‌متر و Karimpour *et al*. (1992) نیز در تالاب‌انزلی بین ۱۶/۳۲–۱۶/۵ سانتی‌متر گزارش کرده‌اند. دامنه وزن کل بدن ماهیان ماده در این مطالعه ۲۱/۰۴–۴۶/۹۸ با میانگین ۲۶/۸۷±۰/۸ گرم به‌دست آمد. Rahbar *et al*. (2009) در تالاب‌انزلی دامنه وزنی ۲۸–۶۰ با میانگین ۴۲/۷۱±۷/۹۸ گرم، Azari-Takami & Rajabinezhad (2002) در رودخانه سفیدرود بین ۶/۵–۶۶ گرم و Karimpour *et al*. (1992) در تالاب‌انزلی دامنه وزن کل بدن ماهیان ماده را بین ۱۶/۳۲–۱۶/۵ گرم گزارش کردند. میانگین طولی و وزنی ماهیان شاه‌کولی ممکن است به‌دلیل تفاوت در شرایط زیست‌محیطی (در دسترس بودن غذا، دمای آب، فصل صید)، ویژگی‌های ژنتیکی، روش صید و سن ماهیان متفاوت باشد.

تعیین وضعیت تولیدمثلی زمان تخم‌ریزی در ماهیان با استفاده از شاخص‌های گنادوسوماتیک و هپاتوسوماتیک میسر گردیده است (Bromage *et al*., 1992). مطالعه روند توسعه گنادها با بررسی بافت‌شناسی گنادها، اطلاعات دقیق‌تر و کامل‌تری را در مورد فیزیولوژِی تولیدمثل ماهیان ارائه می‌کند که به‌درک و پیشگویی در مورد تغییرات سالانه جمعیتی، کمک شایانی می‌نماید. وضعیت تولیدمثلی و زمان تخم‌ریزی در ماهیان با استفاده از شاخص نمو گنادی (GSI) و ارتباط آن با شاخص کبدی (HSI) نشان داده شده است (Bromage *et al*., 1992). براساس مطالعات فیزیولوژی و روند جذب زرده از کبد قبل از تخم‌ریزی، تشابه روند تغییرات GSI و HSI افراد ماده منطقی است (Biswas, 1993). میانگین شاخص گنادوسوماتیک در این مطالعه ۱۵/۶۴±۰/۶ درصد به‌دست آمد. شاخص گنادوسوماتیک برای ماهی شاه‌کولی در مکان‌های مختلف، رودخانه سفیدرود (۱۴/۷۲ درصد)، رودخانه چمخاله (۱۲/۱۵ درصد) و تالاب‌انزلی (۱۴/۴۹ درصد) نیز گزارش شده است (Rahbar *et al*., 2009). تغییرات هماهنگ HSI نسبت به GSI حاکی از اهمیت کبد و بافت چربی آن در ساخت و توسعه اندام تناسلی ماده و تخمک می‌باشد. در بسیاری از گونه‌ها، شاخص HSI، شاخص مناسبی برای پیش‌بینی وضعیت گنادوسوماتیک و مقدار انرژی اختصاص داده شده به‌منظور فعالیت تولیدمثل می‌باشد (Yagarina and Marshall, 2000). به‌طور عمده در بسیاری از گونه‌های ماهیان، در اوج تولیدمثل که شاخص گنادوسوماتیک در بالاترین مقدار خود می‌باشد، مقدار HSI نیز افزایش می‌یابد (Galloway and Munkittrick, 2006). در طول ویتلوژنز کبد ماهیان ماده برای تولید ویتلوژنیز تحریک می‌شود. ویتلوژنز موجب افزایش متابولیسم کبد می‌شود که منجر به بزرگ شدن کبد و در نهایت افزایش HSI می‌شود (Christensen *et al*.,1999).

میانگین هم‌آوری مطلق ماهیان رسیده کامل و قبل رسیدگی کامل به ترتیب ۹۹۷۴/۴۸ و ۱۰۸۲۵/۰۲ عدد به دست آمد. مقایسه هم‌آوری مطلق بین مولدین رسیده کامل و قبل رسیدگی کامل اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد. Rahbar و همکاران (۲۰۰۹) در تالاب‌انزلی میانگین هم‌آوری مطلق را ۴۴۴۷/۸۴، Azari-Takami & Rajabinezhad (2002) در رودخانه سفیدرود ۶۵۹۱ و Karimpour *et al*. (1992) در تالاب انزلی ۶۶۳۰ عدد و نیز Kazanchef (1981) در

www.SID.ir

Archive of SID

رودخانه کورا میانگین هم‌آوری مطلق را ۳۰ هزار عدد تخم گزارش کردند. میانگین هم‌آوری نسبی ماهیان رسیده کامل و قبل رسیدگی کامل به‌ترتیب ۵۱۵/۸۲ و ۴۲۰/۲۷ عدد به‌دست آمد که اختلاف معنی‌دار آماری بین دو گروه موردمطالعه وجود نداشت. طبق بررسی‌های Rahbar *et al.* (2009) در تالاب انزلی میانگین هم‌آوری نسبی ۱۰۹/۸۹ عدد، در مطالعات Azari-Takami & Rajabinezhad (2002) در رودخانه سفیدرود میانگین هم‌آوری نسبی ۱۱۶ عدد و بر اساس مطالعات Karimpour *et al.* (1992) در تالاب انزلی میانگین هم‌آوری نسبی ۱۴۰ عدد تخم گزارش شد. هم‌آوری نسبی با طول و وزن ماهی شاه‌کولی نسبت عکس دارد (Rajabinezhad, 2001). همچنین در بعضی منابع مطالعاتی (Abbasi *et al.*, 1999; Alijanpour and Fallah-shamsi, 2008) بین وزن ماهی و هم‌آوری نسبی همبستگی نسبتاً ضعیف و معکوس گزارش شده یعنی هرچه وزن ماهی بیشتر می‌شود از میزان هم‌آوری نسبی کاسته می‌شود. تفاوت در میزان هم‌آوری یک گونه در مناطق مختلف را به‌تفاوت‌های ژنتیکی زیر گونه‌های مختلف و عوامل محیطی مانند تهیه و در دسترس بودن غذا، تراکم جمعیت و تغییرات دما نسبت می‌دهند (Unlu and Belic, 1993).

میانگین هورمون استرادیول در ماهیان ماده شاه‌کولی کاملاً رسیده و قبل از رسیدگی کامل به‌ترتیب ۲/۵۵±۰/۰۹ و ۲/۹۸±۰/۱۸ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. میانگین هورمون تستوسترون در ماهیان ماده کاملاً رسیده ۳/۸۸±۱/۱۲ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان ماده قبل از رسیدگی کامل ۷/۹۳±۱/۱۹ نانوگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. و میانگین هورمون پروژسترون در ماهیان ماده کاملاً رسیده ۰/۳۶±۰/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان ماده قبل از رسیدگی کامل ۰/۲۵±۰/۰۳ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه بین ماهیان کاملاً رسیده و قبل از رسیدگی کامل از لحاظ میانگین تستوسترون و پروژسترون اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0/05$). استرادیول ماده‌های شاه‌کولی در مرحله قبل از رسیدگی کامل جنسی بیشتر از میزان استرادیول ماده‌های کاملاً رسیده بود، ولی از نظر آنالیز آماری اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P>0/05$).

در طول رشد و نمو اووسیت‌ها، گنادوتروپین‌ها باعث تحریک تخمدان و سپس تولید هورمون ۱۷- بتا استرادیول می‌شوند و تستوسترون نیز خود به‌عنوان پیش‌ساز استرادیول مطرح می‌باشد. تغییرات سطوح ۱۷- بتا استرادیول با رشد اووسیت‌ها و افزایش GSI مرتبط است. در ماهی‌ها، میزان استرادیول با شروع فعالیت ویتلوژنیک اووسیت‌ها افزایش می‌یابد و در مرحله سوم رشد اووسیت‌ها (زرده‌سازی) به بالاترین سطح خود می‌رسد و در مرحله بعد زرده‌سازی و آتراتیک تخمدان‌ها، شروع به‌کاهش می‌نماید (Lee and Yang, 2002) همزمان با افزایش میزان استرادیول در طول مرحله ویتلوژنز، مقدار تستوسترون نیز افزایش می‌یابد و در مرحله ویتلوژنز هر دو هورمون تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول به‌حداکثر میزان خود می‌رسند.

Nikoo *et al.* (2010) با بررسی هورمون‌های جنسی سرم در شاه‌کولی در طول دوره تخم‌ریزی در رودخانه ولی‌آباد (تنکابن) گزارش کردند که میزان هورمون تستوسترون در ماهیان قبل رسیدگی بیشتر از ماهیان کاملاً رسیده بود. اما غلظت هورمون ۱۷ بتا-استرادیول در ماهیان کاملاً رسیده بیشتر از ماهیان قبل رسیدگی کامل بود. بررسی هورمون پروژسترون نیز نشان داد که در طول دوره تخم‌ریزی در شاه‌کولی مقدار این هورمون در حد پایین (کمتر از یک نانوگرم در میلی‌لیتر) قرار داشت. در نهایت عنوان کردند که فرآیند رشد و رسیدگی تخمک‌ها، در زمان تخم‌ریزی نیز، در این ماهیان، در حال انجام است و تخم‌ریزی این گونه‌ها از نوع چند دفعه

www.SID.ir

Archive of SID

تخم‌ریز می‌باشند. آنها همچنین بیان کردند که غلظت هورمون‌های استروئیدی با رشد تخمدان در ارتباط می‌باشد. در ماهی کولی *Alburnus alburnus* رشد اووسیت‌ها یک فرآیند مستمر می‌باشد و زرده‌سازی در طول فصل تخم‌ریزی به‌شدت درحال انجام است و به‌این دلیل مقدار ۱۷بتا- استرادیول در زمان تخم‌ریزی در حد بالایی می‌باشد (Rinchard and Kestemont, 1996). نقش هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون، ۱۷- بتا استرادیول، کنترل رشد و توسعه گناد ماهیان، در مراحل مختلف تکاملی و همچنین رفتارهای جنسی ماهیان می‌باشد (Vazirzade, 2010). میزان بالای تستوسترون در مرحله قبل از اوولاسیون، می‌تواند به‌دلیل تغییر فعالیت آنزیم‌های کلیدی در استروئیدزایی باشد به‌طوری که فولیکول‌ها آماده سنتز پروژسترون‌ها می‌شوند (Nagahama *et al*., 1987).

در ماهیان استخوانی فرآیند زرده‌سازی و رسیدگی نهایی جنسی عمدتاً به هورمون‌های استروئیدی مترشحه از تخمدان بستگی دارد که به‌نوبه خود تحت کنترل هورمون‌های گنادوتروپین غده هیپوفیز می‌باشند (Fostier *et al*.,1983). در خلال رشد اووسیت‌ها، ۱۷- بتا استرادیول که توسط فویکول‌ها تولید می‌شود با تاثیر بر روی کبد منجر به تولید ویتلوژنین می‌شود که به‌تدریج در تخم‌ها تجمع می‌یابد. بعد از رشد کامل تخمک‌ها، رسیدگی نهایی با واسطه هورمون‌های القایی (خصوصا استروئیدها) که درست قبل از اوولاسیون توسط فولیکول‌ها تولید می‌شوند، صورت می‌گیرد (Kime, 1993; Naghama, 1994). تستوسترون در پلاسمای خون ماهیان ماده وجود دارد (Fostier *et al*., 1983) و به‌عنوان پیش‌ساز تولید ۱۷- بتا استرادیول عمل می‌نماید (Kagawa *et al*., 1982). مقدار هورمون پروژسترون در این ماهی در اغلب ماه‌های سال درحد کمی بوده ولی از آوریل تا جولای شروع به افزایش نموده و در ماه ژوئن قبل از تخم‌ریزی افزایش ۴ برابر می‌یابد و به‌حداکثر مقدارش می‌رسد. افزایش پروژسترون در یک دوره کوتاه می‌تواند بیانگر نقش محدود این هورمون بر عملکرد تخمدان و همچنین نقش غیر مستقیم آن در رسیدگی نهایی تخمک‌ها از طریق دی‌هیدرواکسی پروژسترون در مرحله تخم‌ریزی باشد (Suresh *et al*., 2008).

بررسی مطالعات بافت‌شناسی در مولدین ماده از لحاظ میکروسکوپی، نشان داد که در تخمدان‌ها، تخمک‌هایی در مراحل اولیه رشد، مرحله آلوئل‌های اطرافی، تخمک‌های مراحل اولیه زرده‌سازی، تخمک‌های مرحله نهایی زرده‌سازی، و تخمک‌های هیدراته‌شده و همچنین تخمک‌هایی که مهاجرت وزیکول ژرمینال در آنها رخ داده، قابل مشاهده هستند. مرحله نابالغ از نظر بافت‌شناسی در تمام ماهیان استخوانی یکسان است. این فاز می‌تواند از نظر بافت‌شناختی با وجود اووگونی و اووسیت‌های با رشد اولیه در سرتاسر مرحله پیش هستکی متمایز شود (Grier *et al*., 2009). هیچ نشانه‌ای از قطرات چربی در اووسیت‌های PG یا دسته ماهیچه‌ها در تخمدان‌های نابالغ وجود ندارد. آترزیای اووسیت‌های PG به‌ندرت ممکن است موجود باشد. زمانی که ماده‌ها وارد مرحله رشد وابسته به گنادوتروپین می‌شوند، می‌توانند از نظر بافت‌شناسی با پیدایش اولیه اووسیت‌های CA و پیدایش ثانویه اووسیت‌های ویتلوژنیک اولیه و ویتلوژنیک ثانویه شناخته شوند. شروع چرخه تولیدمثل در ماده‌ها با زیرفاز رشد اولیه مشخص می‌شود که در آن فقط اووسیت‌های غشایی حباب‌دار (CA) و اووسیت‌های با رشد اولیه وجود دارند. با این که داده‌های جدید برای برخی از گونه‌ها بیان می‌کنند که تشکیل اووسیت‌های CA با عامل رشد شبیه به انسولین به‌جای گنادوتروپین تنظیم می‌شود (Grier *et al*., 2009)، با این حال هنوز هم، پیدایش اووسیت‌های CA آغازگر فیزیولوژیکی برای تشکیل آن‌ها نشانه معینی برای ورود به مرحله

www.SID.ir

Archive of SID

رشد است. زیرفاز رشد اولیه در مرحله رشد، شامل عبارات به‌کار رفته قبلی مانند بلوغ اولیه یا بلوغ بسیار ابتدایی (Brown-Peterson, 2003)، مرحله II یا یک چهارم رسیدگی (Robb, 1982) و مرحله III یا رشد اولیه (Treasurer and Holliday, 1981) می‌باشد. اووسیت‌های ویتلوژنیک ثانویه، پیشرفته‌ترین مرحله موجود در فاز رشد هستند. اووسیت‌ها در این فاز دارای میزان انباشتگی لیپید یا اندازه اووسیت Vtg^3 نیستند. در گونه‌هایی با رشد اووسیت غیر همزمان، مانند اغلب تخم‌ریزهای متوالی، در فاز رشد، اووسیت‌ها در چندین مرحله رشد در تخمدان وجود دارند، در حالی که گونه‌هایی با رشد اووسیت همزمان، مانند تخم‌ریزهای یکباره‌ای، معمولاً دارای اووسیت‌هایی در یک مرحله رشد پس از PG هستند. کیسه‌های پس از تخمک‌گذاری هیچ‌گاه در فاز رشد مشاهده نمی‌شوند، اگرچه آترزیای ویتلوژنی (Hunter and Macewicz, 1985b) و اووسیت‌های CA ممکن است موجود باشند. ورود به مرحله قابلیت تخم‌ریزی، با پیدایش اووسیت‌های Vtg^3 مشخص می‌شود. ماهی‌ها در این مرحله در طول چرخه تولیدمثل کنونی به‌علت رشد گیرنده‌ها برای هورمون القا کننده بلوغ برروی اووسیت‌های Vtg^3، قادر به تخم‌ریزی هستند. ماهی‌هایی که هسته تخمک آنها شروع به مهاجرت به‌سمت قطب حیوانی می‌کند، نیز در مرحله قابلیت تخم‌ریزی لحاظ می‌شوند. تمام ماهی‌ها با اووسیت‌های Vtg^3 به‌مرحله قابلیت تخم‌ریزی تخصیص می‌یابند، با این‌حال تفاوت‌های بافت‌شناختی بین تخم‌ریزهای متوالی و تخم‌ریزهای یکباره‌ای و نیز بین گونه‌های همزمان و غیرهمزمان در این مرحله بیشتر معلوم می‌شود. در تخم‌ریزهای یکباره‌ای، Vtg^3 یا OM ابتدایی و اووسیت‌های PG تنها مراحل موجود اووسیت هستند. در تخم‌ریزهای یکباره، تجزیه نطفه به تمام اووسیت‌های در حال رشد را، در طول مرحله قابلیت تخم‌ریزی کامل می‌کنند و زمان لازم برای این فرآیند بستگی به‌گونه دارد (مثلا در ماهی آتلانتیک (Murua and Saborido-Rey, 2003)، اغلب اووسیت‌ها ویتلوژنز خود را در شروع مرحله قابلیت تخم‌ریزی تکمیل می‌کنند. با این‌حال، از آن‌جا که این مرحله در تخم‌ریزهای متوالی به درازا کشیده می‌شود، در تخم‌ریزهای متوالی با رشد اووسیت‌های هم‌زمان گروهی، بخش کوچکی از اووسیت‌ها می‌توانند کماکان در Vtg^2 ورودی ابتدایی زیرفاز تخم‌ریزی فعال باشد. گونه‌های با تخم‌ریزی متوالی با باروری معین مانند حلوای دوور، توان‌گیری اووسیت‌های CA یا Vtg^1 به اووسیت‌های Vtg^3 را در طول مرحله قابلیت تخم‌ریزی تکمیل خواهند کرد. اووسیت‌های CA می‌توانند اندکی پس از ورود به این مرحله، در تخمدان‌های این گونه‌ها یافت شوند. موجودی اووسیت‌های Vtg^3 با تخم‌ریزی‌های متوالی، کاهش می‌یابد. در مقابل، گونه‌هایی با رشد اووسیت غیر همزمان که اغلب از نوع تخم‌ریزهای متوالی هستند، مقادیر متوالی از اووسیت‌ها را در دفعات متعددی در طول فصل تخم‌ریزی تولید می‌کنند. تخم‌ریزهای متوالی با باروری نامعین، مانند قزل‌آلای دریایی خالدار، به توان‌گیری اووسیت‌ها به اووسیت‌های CA ادامه می‌دهند و سپس در سرتاسر مرحله قابلیت تخم‌ریزی، ویتلوژنز می‌نمایند. بنابراین، در مرحله قابلیت تخم‌ریزی، تخمدان‌های این گونه‌ها می‌توانند دارای اووسیت‌های CA و نیز اووسیت‌های ویتلوژنیک در مراحل مختلف باشند. اگرچه ورود به مرحله قابلیت تخم‌ریزی با پیدایش اووسیت‌های Vtg^3 معلوم می‌شود، تخم‌ریزهای متوالی در این مرحله می‌توانند بعد از روی دادن تخم‌ریزی اولیه (که با وجود POFها مشخص می‌شود) در مراحل مختلف ویتلوژنز (شامل Vtg^3 و نه محدود به آن) قرار داشته باشند. از این‌رو، گونه‌های با تخم‌ریزی متوالی و رشد ناهمگام اووسیت، مانند ساردین آتلانتیک، *Sardina pilchardus* (معروف به پیلکارد اروپایی)، ممکن است فورا پس از تخم‌ریزی دارای اووسیت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Vtg^1 یا Vtg^2 باشند (Ganias *et al*., 2004). در تخم‌ریزهای یکباره، تخمدان‌ها در زیرفاز تخم‌ریزی فعال معمولاً تنها دو نوع اووسیت دارند: اووسیت با رشد اولیه و OM ثانویه. با این‌حال، تخمک‌گذاری و انتشار تمام اووسیت‌های بالغ در تخمدان برخی از تخم‌ریزهای یکباره ممکن است روزهای متوالی طول بکشد (Pavlov *et al*., 2009)؛ از این‌رو POFها اغلب در این ماهی‌ها وجود دارند. گاهی اوقات، بخش کوچکی از اووسیت‌های Vtg^3 ممکن است برای مدت کوتاهی که اووسیت‌ها دستخوش OM می‌شوند، همزمان وجود داشته باشند. در مقابل، تخم‌ریزهای متوالی معمولاً دارای اووسیت‌های ویتلوژنیک و اووسیت‌های OM هستند که همزمان در طی زیرفاز تخم‌ریزی فعال وجود دارند و وجود POFها (مجموعه کیسه‌های پس از تخمک‌گذاری)، نشان‌دهنده تخم‌ریزی قبلی است. تخم‌ریزهای متوالی در آب‌های سرد با باروری معین مانند حلوای دوور، وجود POFهای تازه در طول زیرفاز تخم‌ریزی فعال، ممکن است شامل تخم‌ریزی روزانه نباشد (Hunter *et al*., 1992). با این‌حال، در تخم‌ریزهای متوالی آب‌های گرم با باروری نامعین، وجود POFهای تازه در همان تخمدان با اووسیت‌هایی که دستخوش OM می‌شوند، می‌تواند نشان‌دهنده تخم‌ریزی روزانه باشد (Hunter *et al*., 1986; Grammer, 2009)، چرا که در این گونه‌ها، تمام اووسیت‌های یک‌دسته معمولاً دستخوش OM سریع واقع می‌شوند و در همان یک رویداد انتشار می‌یابند (Brown-Peterson, 2003; Jackson *et al*., 2006).

با توجه به بالا بودن مقدار هورمون ۱۷- بتا استرادیول در زمان تخم‌ریزی و بر طبق نتایج سایر گزارشات و همچنین بررسی تصاویر بافت‌شناسی که مراحل مختلف تخمک در داخل تخمدان قابل مشاهده بود، احتمالا فرآیند رشد و رسیدگی تخمک‌ها در زمان تخم‌ریزی در این ماهیان در حال انجام است و الگوی رشد تخمک در تخمدان این ماهیان به‌صورت ناهم‌زمان می‌باشد.

REFRENCES

Abbasi, F.; Oryan, S.; Matinfar, A.; (2005). Histology and morphological study of gonad in Epinephelus coioides in the Persian Gulf, Pajouhesh and Sazandegi; 66: 68-74.

Abbasi, K.; Valipour, A.; Haghighi, D.; Sarpanah, A.; Nezami, Sh.; (1999). Atlas of Guilan fish, Fishery investigation of Guilan province, p. 113 (5, 6, 48).

Abdoli, A.; Naderi, M.; (2009). Biodiversity of the fishes of the southern basin of Caspian Sea. Abzian Publication, Tehran, pp. 237.

Alijanpour, N.; Fallah Shamsi, SZ.; (2008). The effect of age, egg diameter, egg color, fish length, fish weight, time and water temperature on fecundity and fertilization percentage of female *Rutilus frisii kutum* migratory to Shiroud River, fishery thesis, Azad Islamic University, Lahijan branch, p. 187.

Abtahi, B.; Taghavi, H.; Usefian, M.; Fazli, H.; (2004). Anatomical and histological study of ovary maturity stages of common kilka (*Cluponella delicatula*), Pajouhesh and Sazandegi; 63: 47-58.

Azari Takami, GH.; (1979). Assessment of fecundity in *Rutilus frisii kutum*, thesis of veterinarian faculty, Tehran University; 35(1, 2): 66-77.

Azari Takami, GH.; Rajabi Nezhad, R.; (2002). Fecundity study of shemaya fish (*Chalcalburnus chalcoides*, Guldenstaedt 1772) in Sefid roud River, Since and technical magazine in agriculture and natural resource; 6(4): 231-238.

Berg, LS.; (1949). Freshwater fishes of U.S.S.R and adjacent countries, Vol: 2. Trady Institute Acad. Nauk, U.S.S.R., Translated to English in 1962, p. 469.

www.SID.ir

Archive of SID

Biswas, SP.; (1993). Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Publishers, New Delhi.

Bogutskaya, NG.; (1997). Contribution to the knowledge of leuciscine fishes of Asia Minor. Part 2. An annotated check list of leuciscine fishes (Leuciscinae, Cyprinidae) of Turkey with descriptions of a new species and two new subspecies. Mitt. Hamb. Zool. Mus. Inst.; 94: 161-186.

Bromage, N.; Jones, J.; Randall, C.; Thrush, M.; Davies, B.; Springate, J.; Duston, J.; Barker, G.; (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture; 100: 141-166.

Brown Peterson, NJ.; (2003). The reproductive biology of spotted seatrout. Pages 99–133 in S. A. Bortone, editor. Biology of the spotted seatrout. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Brown Peterson, Nj.; Wyanski, DM.; Saborido Rey, F.; Macewicz, BJ.; Lowerre Barbieri, SK.; (2011). A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. American Fisheries Society; 3: 52-70.

Christensen, LJ.; Korsgaard, B.; Bjerregaard, P.; (1999). The effect of 4-nonylphenol on the synthesis of vitellogenin in the flounder *Platichthys flesus*. Aquatic Toxicology; 46:211-219.

Crossland, J.; (1977). Seasonal reproductive cycle of snapper *Chrysophrys auratus* in the Hauraki Gulf. N. Z. J. Mar. Freshwater Res.

Davis, TLO.; West, GJ.; (1993). Maturation, reproductive seasonality, fecundity, and spawning frequency in *Lujanus vittus*(Quoy and Gaimard) from the north west Shelf of Australia. Fish Bull; 91: 224-236.

Fostier, A.; Jalabert, B.; (1983). Steroidogenesis in rainbow trout (Salmo gairdneri) at various pre-ovulatory stages: Changes in plasma hormone levels and in vivo and in vitro responses of the ovary to salmon gonadotropine. Fish Physiology and Biochemistry; 2: 87-99.

Galloway, BJ.; Munkittrick, KR.; (2006). Influence of seasonal changes in relative liver size, condition, relative gonad size and variability in ovarian development in multiple spawning fish species used in environmental monitoring programmes. Journal of Fish Biology; 69: 1788-1806.

Ganias, K.; Somarakis, S.; Machias, A.; Theodorou, A.; (2004). Pattern of oocyte development and batch fecundity in the Mediterranean sardine. Fisheries Research; 67: 13-23.

Grammer, GL.; Brown Peterson, NJ.; Peterson, MS.; Comyns, BH.; (2009). Life history of silver perch *Bairdiella chrysoura* (Lacep`ede 1803) in north-central Gulf of Mexico estuaries. Gulf of Mexico Science; 27: 62-73.

Grier, HJ.; Uribe-Aranz´abal, MC.; (2009). The testis and spermatogenesis in teleosts. Pages 119–142 *in* B. G. M. Jameson, editor. Reproductive biology and phylogeny of fishes (agnathans and bony fishes), volume 8A. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.

Grier, HJ.; Uribe Aranz´abal, MC.; Pati˜no, R.; (2009). The ovary, folliculogenesis, and oogenesis in teleosts. Pages 25–84 *in* B. G. M. Jamieson, editor. Reproductive biology and phylogeny of fishes (agnathans and bony fishes), volume 8A. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.

Hunter, JR.; Macewicz, BJ.; Lo, CH.; Kimbrell, CA.; (1992). Fecundity, spawning, and maturity of female Dover sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. U.S. National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin; 90: 101-128.

Hunter, JR.; Macewicz, BJ.; Sibert, JR.; (1986). The spawning frequency of

www.SID.ir

Archive of SID

skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the south Pacific. U.S. National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin; 84: 895-903.

Hunter, JR.; Macewicz, BJ.; (1985b). Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. U.S. National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin; 83: 119-136.

Jackson, MW.; Nieland, DL.; Cowan, Jr JH.; (2006). Diel spawning periodicity of red snapper *Lutjanus campechanus* in the northern Gulf of Mexico. Journal of Fish Biology; 68: 695-706.

Kagawa, H.; Young, C.; Adachi, S.; Nagahama, Y.; (1982). Estradiol-17*β* production inamago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: Role of the thecal layer and granulose cells. General and Comparative Endocrinology; 47: 440-448.

Kiabi, B.; Ghaemi, RA.; Abdoli, A.; (1999). Lagoon and River ecosystems of Golestan province. Publication of environmental conservation, p. 182.

Kime, DE.; (1993). Classical and non classical reproductive steroids in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries; 3: 160-180.

Karimpour, M.; Hosseinpour, N.; Hosseini, D.; (1992). Migratory Seffid koliis in Anzali lagoon, Fishery investigation of Guilan provionce, pp. 74.

Kazanchef, AN.; (1981). Fish of Caspian Sea and its basin, translate by A. shariaty, fishery of Iran, pp. 171.

Lee, WK.; Yang, SW.; (2002). Relationships between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *lateolabrax maculates* (Jeomnong-eo), Aquaculture; 207: 169-183.

Murua, H.; Saborido Rey, F.; (2003). Female reproductive strategies of marine fish species of the north Atlantic. Journal of Northwest Atlantic Fisheries Science; 33: 23-31.

Naghama, Y.; (1994). Endocrin regulation of gametogenesis in fish Int. J. Dev. Biol.; 38: 217-229.

Nagahama, Y.; (1987a). Endocrine Control of Oocyte Maturation. In: "Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles" (Eds): Norris, D.O. & Jone, R.E., Plenum Press: New York, p 171-202.

Nikolsky, GV.; (1963). The Ecology of fishes. Academic Press, London, pp. 350.

Nikoo, M.; Rahmani, H.; Ghomi, M.R.; Asadollahpour, A.; Zarei, M.; Bavand, E.; (2010). Serum sex steroid hormones (testosterone, 17β-estradiol and progesterone) of Caspian vimba, Vimba vimba and Shemaya, Alburnus chalcoides during spawning period, Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources); 63(1): 49-56.

Patterson, DA.; Macdonald, JS.; Hinch, SG.; Healy, MC.; Farrell, P.; (2004). The effect of exercise and captivity on energy partitioning, reproductive maturation and fertilization success in adult Sockeye salmon. Journal of Fish Biology; 64: 1039-1059.

Pavlov, DA.; Emel'yanova, NG.; Novikov, GG.; (2009). Reproductive dynamics. Pages 48–69 in T. Jakobsen, M.J. Fogarty, B.A. Megrey, and E. Moksness, editors. Fish reproductive biology. Wiley-Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

Qasim, SZ.; (1957). The biology of *Blennius pholis* L. Proc. Zool. Soc. London.

Rahbar, M.; Khara, H.; Ahmadnezhad, M.; Khodadoust, A.; Samadi, M.; Hayatbakhsh, MR.; (2009). Movahed R. A Comprative of fecundity in Shemaya (Alburnus chalcoides, Guldenstaedt 1772) immigrant to the Anzali Wetland, Sefidrood, Chamkhaleh and Shirood Rivers, Fishery Magazine; 3(2): 11.

www.SID.ir

Archive of SID

Rajabinezhad, R.; (2001). Examination of shemaya fish growth, feeding and reproduction in sefid roud river, fishery msc thesis, Islamic azad university, Lahijan branch, pp. 131.

Razavi Saiiad, B.; (1990). Assessment and management of osteocytes fish and economical of Caspian Sea. Center of fishery investigation, Guilan province, pp. 90.

Rinchard, J.; Dabrowski, K.; Ottobre, J.; (2001). Sex steroids in plasma of lake white fish *Coregonus clupeaformis* during spawning in Lake Erie, Comparative Biochemistry and Physiology; 129: 65-74.

Rinchard, J.; Kestemont, P.; (1996). Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features, Journal of Fish Biology; 49: 883-894.

Robb, AP.; (1982). Histological observations on the reproductive biology of the haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.). Journal of Fish Biology; 20: 397-408.

Shafiei Sabet, S.; Imanpour, MR.; Aminian fetideh, B.; Gorgin, S.; (2008). Study of ovarian growth process and some gonad index of *Rutilus frisii kutum* Kamenskii, 1901 in Giulain province (Bandar-e Kiashahr), Biological since magazine of Lahijan Branch; 2(4): 37-48.

Shreck, CB.; Moyel, PB.; (1990). Methods for fish biology. American fisheries society. Bethesdu. Maryland. USA, p. 684.

Suresh, DVNS.; Baile, VV.; Prasada Rao, PD.; (2008). Annual reproductive phase related profile of sex steroids and their carrier, SHBG, in the Indian major carp, *Labeo rohita*, General and Comparative Endocrinology; 128: 143-149.

Treasurer, JW.; Holliday, FGT.; (1981). Some aspects of the reproductive biology of perch *Perca fluviatilis* L.: a histological description of the reproductive cycle. Journal of Fish Biology; 18: 359-376.

Tyler, CR.; Pottinger, TG.; Santos, E.; Sumpter, JP.; Price, SA.; Brooks, S.; Nagler, JJ.; (1996). Mechanisms controlling egg size and number in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Biol. Reprod.; 54: 8-15.

Unlu, E.; Balic, K.; (1993). Observation on the reproduction of *Leuciscus cephalusorientalis* (Cyprinidae) in savurstreəm(Tutkey). Cybium; 17(3): 250-271.

Vazirzade, A.; (2010). The use of GnRH hormone in control of fish reproductive, http://utccan. ut. ac. Ir.

Vladi, TV.; Afzelius, BA.; Bronnikov, GE.; (2002). Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. Biology of Reproduction; 66: 98-105.

Yagarina, NA.; Marshall, CT.; (2000). Trophic influences on interannual and seasonal variation in the liver condition index of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*), Journal of Marine Science; 57: 42-55.

www.SID.ir