مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر سال پنجم، شماره اول، بهار 90

مقایسه اندازه یاخته‌های گناد فیل ماهی ماده پرورشی (*Huso huso*) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

*مریم حسینی نژاد[1]، رضوان‌اله کاظمی[2]، محمود بهمنی[2]، سهراب دژندیان[2] و علی حلاجیان[2]

[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان،اهواز،

[2]انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

چکیده

در این تحقیق گناد 75 فیلماهی (*Huso huso*) 3 و 4 ساله پرورش یافته در استخرهای بتونی مراکز تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری (50 عدد) و شهید مرجانی آق قلا (25 عدد) از طریق بیوپسی مورد بررسی قرار گرفت پس از زیست سنجی و ثبت اطلاعات، تکه‌برداری از گناد انجام شد. کلیه برش‌های بافتی تهیه شده با استفاده از روش هماتوکسیلن– ائوزین رنگ آمیزی و لام‌های حاوی بافت آماده با میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفت. در فیل‌ماهی ماده کارگاه شهید مرجانی میانگین اندازه قطر سلول جنسی در مراحل III رسیدگی جنسی 73/6±385/3، II رسیدگی جنسی 59/4±234/1 و مرحله I رسیدگی جنسی 24/7±36/7 میکرون و میانگین اندازه قطر هسته سلول در مراحل III رسیدگی جنسی 27/8±80/7، II رسیدگی جنسی 10/8±63/8 و مرحله I رسیدگی جنسی 10/5±14/5 میکرون بود که نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنادار آماری ($P<0/05$) بودند. در فیل‌ماهی ماده 3 ساله کارگاه شهید رجایی ساری میانگین اندازه قطر سلول جنسی در مراحل I، II و III رسیدگی جنسی به‌ترتیب 38/4±27/3، 54/7±219/4 و 82/1±381/1 میکرون بود که نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار آماری ($P<0/05$) بودند. همچنین میانگین اندازه قطر هسته در مرحله III، II و I به‌ترتیب رسیدگی جنسی 50/4±75، 17/7±45/7 و 0/7±3/9 میکرون ثبت گردید. در فیل‌ماهی ماده 4 ساله کارگاه شهیدرجایی ساری اندازه میانگین قطر سلول جنسی در مرحله III رسیدگی جنسی با میانگین 105/8±423/4 نسبت به مرحله II با میانگین 62/8±243/2 میکرون و میانگین اندازه قطر هسته در مرحله III رسیدگی جنسی (10/9±55/1) نسبت به مرحله II رسیدگی جنسی (13/9±44/7 میکرون) از میزان بیشتری برخوردار و دارای اختلاف معنی دار آماری ($P<0/05$) بود. نتایج نشان داد که در یک گونه خاص اندازه سلول جنسی ماده در هر مرحله از رسیدگی جنسی می‌تواند در یک محدوده خاص قرار گیرد و سن نمی‌تواند عاملی برای تغییر اندازه سلول باشد. همچنین نتایج آماری نشان از عدم اختلاف معنی‌دار در مراحل رسیدگی جنسی مشابه (هر مرحله رسیدگی جنسی یک کارگاه نسبت به همان مرحله رسیدگی جنسی در کارگاه دیگر) بود.

واژه‌های کلیدی: اندازه تخمک، فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*)، گناد، مراحل رسیدگی جنسی

* مسئول مکاتبه: Hosseininezhadm@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

فیل‌ماهی با نام علمی *Huso huso* که در آب‌های خزر، سیاه، آزوف و آدریاتیک زیست می‌کند و برای تخمریزی در دریای خزر وارد رودخانه‌های ولگا، کورا، اورال، سفیدرود و گرگانرود می‌شود، از مهمترین گونه‌های خاویاری جهت پرورش گوشت و خاویار می‌باشد. سن بلوغ فیل‌ماهی نر در شرایط طبیعی بین 14-12 سال و ماده 18- 16 سال می‌باشد (وثوقی و مستجیر، 1384).

طولانی بودن مراحل رشد و نمو غدد جنسی تاس ماهیان به‌ویژه گونه فیل‌ماهی در شرایط طبیعی و کاهش طی‌این دوره در شرایط پرورشی به‌علت ثابت بودن شرایط محیطی، عدم تحرک و کنترل مدیریت می‌تواند ویژگی‌های وضعیت رشد و نمو غدد جنسی را متغیر کند. مطالعات انجام شده روی روند رسیدگی جنسی فیل‌ماهیان پرورشی (بهمنی و کاظمی، 1377؛ کاظمی و همکاران 1382a؛ کاظمی‌و همکاران، 1383) حاکی از امکان تکامل گناد در جنس‌های نر و ماده در شرایط متفاوت پرورشی می‌باشد و از آنجا که توسعه رشد گنادها متناسب با بروز تغییرات مورفوسیتولوژیک در اندازه حجم سلول‌های جنسی می‌باشد به نظر می‌رسد تحقیقات مرتبط کاربرد وسیعی را در شناسایی جمعیت‌هایی با توانایی ارتقای تولیدمثلی به منظور مولدسازی در شرایط پرورشی و تأمین بچه ماهیان مورد نیاز در آینده داشته باشد. لذا دستیابی به خصوصیات مورفوسیتولوژیک غدد جنسی در فیل‌ماهی پرورشی می‌تواند ما را در شناسایی مهمترین معیارهای علمی و کاربردی توسعه آبزی‌پروری از طریق مولدین مناسب پرورشی یاری نماید. همچنین مطالعات میکروسکوپی گناد فیل ماهی می‌تواند در شناخت آسیب‌شناسی، بررسی‌های کلینیکی، ناهنجاری‌های احتمالی و تعیین زمان دقیق هر یک از مراحل رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده در شرایط پرورشی مفید واقع شود. مقایسه تغییرات مراحل مختلف رسیدگی جنسی گنادهای ماده و نر فیل‌ماهی پرورشی در سنین مختلف و نواحی اقلیمی‌متفاوت و مشاهده ساختار میکروسکوپی آنهااین امکان را می‌دهد که روند تکاملی گنادها بهتر درک شود و محدوده عددی قطر غدد جنسی به‌منظور ورود به مرحله تخم‌ریزی، اسپرم‌ریزی و در نهایت زمان دقیق تکثیر مصنوعی مشخص گردد..

مطالعات بافت شناسی روی چرخه تولید مثلی و رسیدگی جنسی تاس‌ماهی سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*) توسط Doroshov و همکاران (1997)، روی مراحل اولیه گنادوژنزیز تاسماهی روسی (*A. Gueldenstaedti*)، توسط Akhunodov و Fedorov (1990) و در ارتباط با اثرات مراحل رسیدگی جنسی تخمدان تاسماهی سفید بر زرده زایی توسط Linares-Casenave و همکاران (2003) انجام شده است.

اولین مطالعات علمی‌و کاربردی در زمینه تعیین مراحل رسیدگی جنسی ماهیان خاویاری در شرایط پرورشی ایران به پروژه تحقیقاتی مشترک بین انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری و انستیتو کاسپنیرخ روسیه در سال 1376 باز می‌گردد که طی آن روند رشد و تکامل سیستم تولیدمثلی 58 عدد از ماهیان خاویاری پرورش یافته در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنگر رشت (گونه‌های فیل‌ماهی و تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی) در سنین 1، 2 و 6 سالگی از طریق مطالعات بافت شناسی بررسی شد (بهمنی و کاظمی، 1377). همچنین در سال‌های اخیر مطالعات بافتی زیادی روی گناد ده‌ها قطعه از گونه‌های مختلف پرورشی و طبیعی ماهیان خاویاری به انجام رسید

Archive of SID
www.SID.ir

(امینی، 1374؛ حاجی‌زاده کپته، 1375؛ شفیع‌زاده و وهابی، 1375؛ کاظمی و همکاران، 1381، 1382ب، 1383؛ حلاجیان و همکاران، 1386؛ هدایتی و همکاران، 1386؛ حلاجیان، 1386؛ حلاجیان و همکاران، 1387، 1388) روی ده‌ها قطعه صورت پذیرفت. این تحقیقات بدون برآورد اندازه یاخته‌های جنسی، ساختار بافتی گناد را در مراحل مختلف جنسی و در سنین مختلف اعلام داشتند.

هدف از پژوهش حاضر تعیین شاخص‌های مورفوسیتولوژیک گناد (تخمدان) فیل‌ماهی پرورشی در شرایط آب شیرین (اندازه سلول، اندازه هسته، نسبت حجم هسته به سلول، در فیل‌ماهیان پرورشی ماده) و همچنین ارائه الگوهای مورفوسیتولوژیک روند گامتوژنز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل‌ماهیان در شرایط آب شیرین بود. نتایج این بررسی می تواند با توجه به توسعه پرورش ماهیان خاویاری، بویژه گونه فیل‌ماهی در کشور و ضرورت برنامه‌ریزی به‌منظور امکان تولید مواد تناسلی (به‌ویژه خاویار)، می‌تواند مورد بهره‌برداری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد بررسی از مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و شهید رجایی ساری تأمین شد. تعداد نمونه‌ها 75 قطعه شامل 50 قطعه از کارگاه شهید رجایی ساری (25 قطعه 3 ساله و 25 قطعه 4 ساله) و 25 قطعه مولدین کارگاه شهید مرجانی گرگان بود (جدول 1). اندازه طول بوسیله متر نواری با دقت 0/1 سانتی‌متر و وزن کل با ترازوی پاندولی (قپان) با دقت 100 گرم محاسبه گردید. کلیه مطالعات آزمایشگاهی این پژوهش در آزمایشگاه بافت‌شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (رشت) به انجام رسید.

جهت انجام بیوپسی ابتدا ماهیان مورد بررسی با استفاده از پودر گل میخک با غلظت 250 ppm به‌مدت 15-10 دقیقه بیهوش شدند (بهمنی و کاظمی، 1377). پس از بیهوشی با استفاده از تیغ جراحی در ناحیه چهارمین صفحه استخوانی شکمی از سمت دم به‌طرف سر، شکافی بطول 4 تا 5 سانتی‌مترایجاد و قطعه‌ای کوچکی از بافت گناد (به ضخامت 7 میلی‌متر و به وسعت کمتر از یک سانتی‌متر) از حفره شکمی‌خارج و پس از تکه‌برداری از گناد، محل شکاف با استفاده از نخ جراحی بخیه و محل جراحی با محلول بتادین و اسپری آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل 5 درصد ضدعفونی شدند. برای تثبیت نمونه بافت‌های گناد از ماده فیکساتیو بوئن متشکل از محلول اسید پیکریک به نسبت 75 درصد، اسیداستیک به نسبت 5 درصد و فرمالین به نسبت 15 درصد استفاده شد. برای تثبیت کامل بافت، نمونه بافت‌ها به‌مدت 72 ساعت در درون محلول فیکساتیو بوئن غوطه‌ور شدند. برای تهیه اسلایدهای بافتی، نمونه بافت‌های گناد از مراحل آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه، قالب‌گیری، برش، رنگ‌آمیزی و مونته عبور داده شدند (Hung و همکاران، 1990؛ پوستی و ادیب مرادی، 1382).

پس از عمل آوری بافت‌ها با استفاده از میکروتوم (Leitz مدل 1512) ساخت کشور آلمان به ضخامت 7 میکرون برش داده شدند. به‌منظور تشخیص راحت‌تر بخش‌های مختلف تخمدان و مراحل رسیدگی جنسی، اسلایدهای بافتی تهیه شده با استفاده از روش هماتوکسیلن – ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند.

Archive of SID
www.SID.ir

پس از رنگ‌آمیزی لام‌های حاوی نمونه بافت، اسلایدهای بافتی به کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E 600 مجهز به مانیتور و دوربین مورد مطالعه قرار گرفت. پس از عکسبرداری از اسلایدهای بافتی و تعیین مراحل مختلف رسیدگی جنسی با استفاده از کلید 6 مرحله‌ای تعیین جنسیت (الیاسوف، 1996) از طریق نرم‌افزار تخصصی Biocom-Visolab، اندازه تخمک (اندازه سلول و هسته بر حسب میکرون و نسبت حجم هسته به سلول در فیل‌ماهیان پرورشی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی محاسبه گردید.

به‌منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات و آنالیزهای آماری از آزمون T-test و آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) در سطح 5 درصد خطا ($P<0/05$) و برنامه نرم‌ابزاری رایانه‌ای SPSS (v.14) استفاده شد.

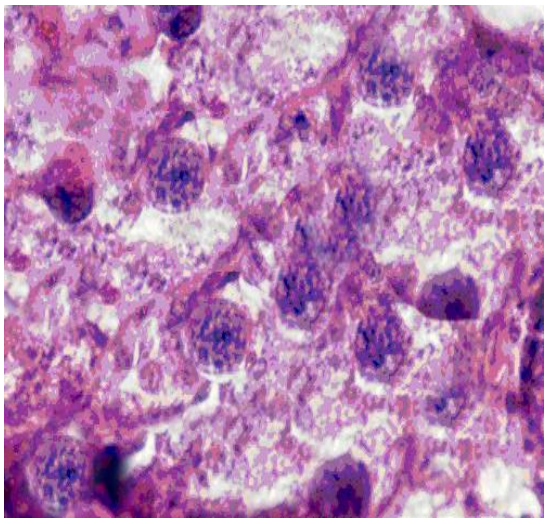
نتایج

در این بررسی از فیل ماهیان ماده پرورشی (سه ساله) بیوپسی شده کارگاه شهید مرجانی گرگان 12 درصد در مرحله I رسیدگی جنسی (شکل 1)، 20 درصد در مرحله II رسیدگی جنسی (شکل 2) و 16 درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند (شکل 3). از فیل‌ماهیان ماده (سه ساله) شهید رجایی ساری 32 درصد در مرحله I رسیدگی جنسی، 16 درصد در مرحله II رسیدگی جنسی و 16 درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند. فیل‌ماهیان ماده (چهار ساله) شهید رجایی ساری 24 درصد در مرحله I رسیدگی جنسی و 20 درصد در مرحله II رسیدگی جنسی و 20 درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند.

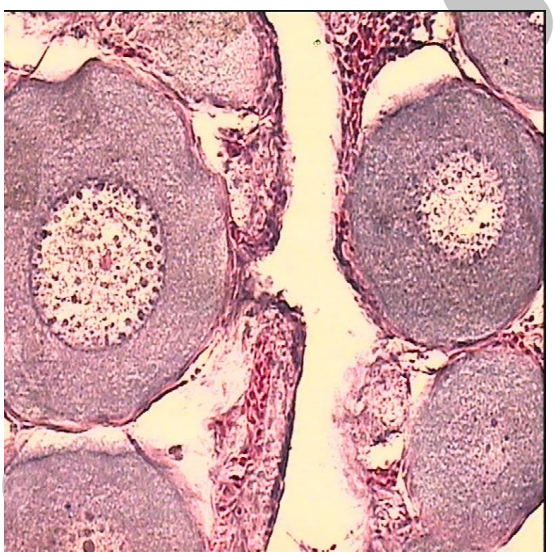
براساس محاسبات آماری قطر سلول‌های اووسیت فیل‌ماهی پرورشی ماده 3 ساله کارگاه‌های شهید رجایی ساری و شهید مرجانی گرگان در مراحل I (شکل 4)، II (شکل 5) و III (شکل 6) به‌ترتیب (11/1-65/7) 27/3±38/4، (164/7-274/1) 219/4±54/7 و (309/33-430/26) 381/1±82/1 میکرون و (12/0-61/4) 36/7±24/7، (174/7-293/5) 234/1±59/4 و (73-299) 385/±73/6 میکرون و قطر تخمک فیل‌ماهی ماده پرورشی 4 ساله کارگاه شهید رجایی ساری در مراحل II (شکل 7) و III (شکل 8) رسیدگی جنسی به‌ترتیب (180/4-306/0)243/2±62/8 و (311/7-529/2) 423/4±105/8 میکرون بود.

بر اساس نتایج آماری حاصل از اندازه‌گیری مساحت، قطر و هسته سلول‌های جنسی فیل‌ماهی ماده پرورشی 3 ساله کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و فیل‌ماهی پرورشی 3 و 4 ساله کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید رجایی ساری، بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی در سطح 5 درصد خطا ($P<0/05$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. با افزایش رشد و مراحل تکوینی رسیدگی جنسی، مساحت و قطر هسته و سلول جنسی نیز افزایش یافت. این افزایش در قطر سلول به مراتب بیشتر از قطر هسته سلول در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بود (جدول‌های 2 و 3). همچنین نتایج آماری نشان داد که مساحت و قطر هسته سلول جنسی فیلماهی ماده پرورشی مرحله II نسبت به مرحله III رسیدگی جنسی دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) و مقدار آن نسبت به اندازه قطر سلول جنسی مرحله I و II با یکدیگر کمتر بود.

Archive of SID
www.SID.ir



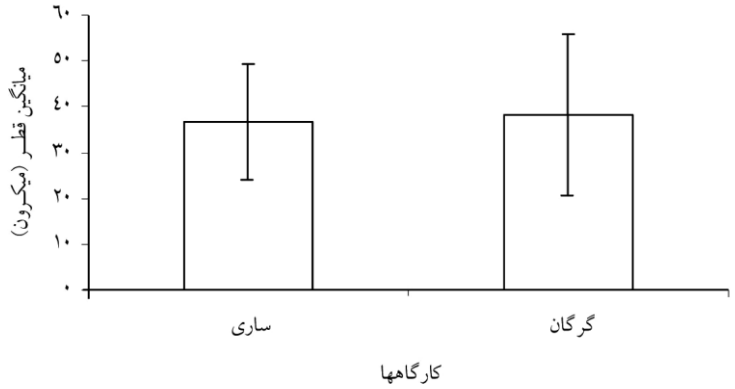
شکل 1- برش عرضی بافت تخمدان فیل‌ماهی در مرحله I رسیدگی جنسی
(وزن کل، 10 کیلوگرم، طول کل، 116 سانتی‌متر، بزرگنمایی X 100، رنگ آمیزی H&E).



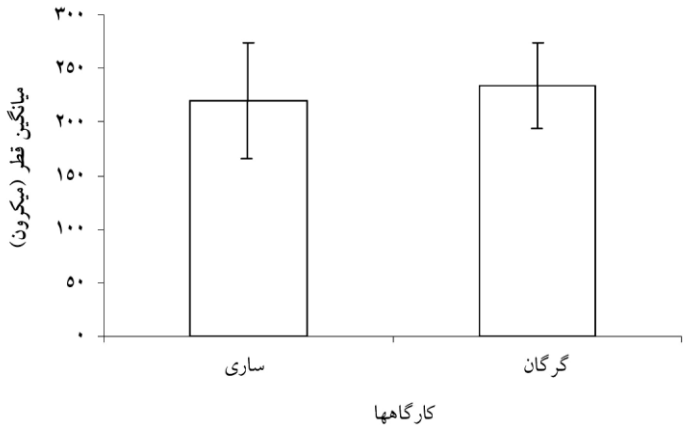
شکل 2- برش عرضی بافت تخمدان فیلماهی در مرحله II رسیدگی جنسی
(وزن کل 11/5 کیلوگرم، طول کل 120 سانتی‌متر، بزرگنمایی 20x، رنگ آمیزی H&E)

www.SID.ir

شکل 3- برش عرضی بافت تخمدان فیل‌ماهی در مرحله III رسیدگی جنسی (وزن کل 7/5 کیلوگرم، طول کل 114 سانتی متر، بزرگنمایی 40x، رنگ آمیزی H&E)

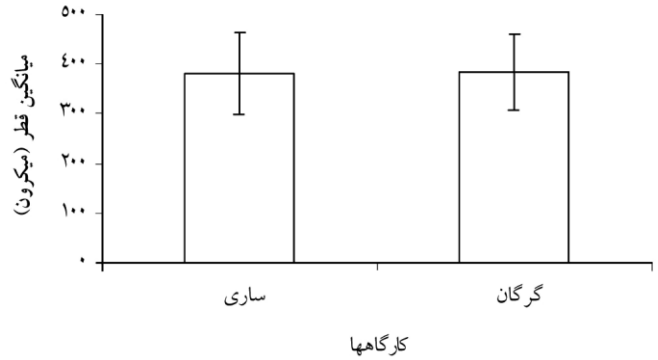


شکل 4- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل‌ماهی پرورشی ماده 3 ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله I رسیدگی جنسی.

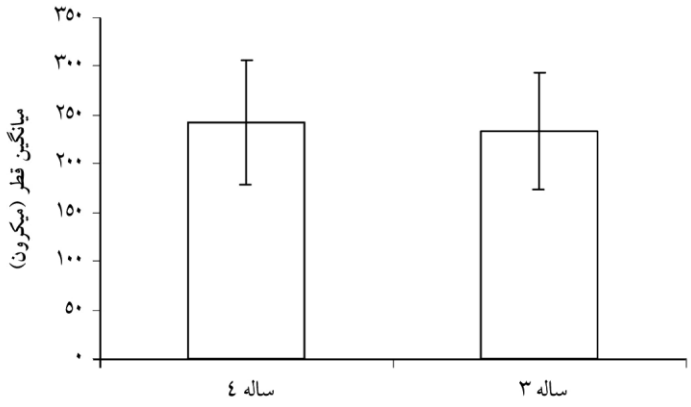


شکل 5- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل‌ماهی پرورشی ماده 3 ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله II رسیدگی جنسی

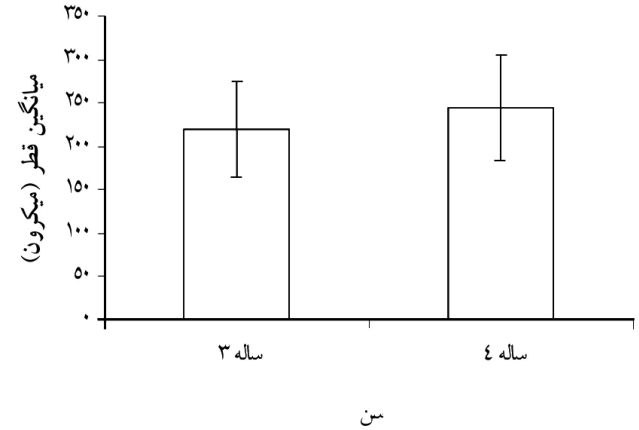
www.SID.ir



شکل 6- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل‌ماهی پرورشی ماده 3 ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله III رسیدگی جنسی



شکل 7- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل‌ماهی پرورشی ماده 3 و 4 ساله کارگاه ساری در مرحله II رسیدگی جنسی



شکل 8- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل‌ماهی پرورشی 3 و 4 ساله کارگاه ساری در مرحله III رسیدگی جنسی

www.SID.ir

جدول 1 – مشخصات بیومتری فیل ماهی پرورشی مورد آزمون مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و شهید رجایی ساری

کارگاه	سن	وزن کل (کیلوگرم)			طول فورک (سانتی‌متر)			طول کل (سانتی‌متر)			دور شکم (سانتی‌متر)		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
شهید رجائی ساری (n=25)	3 ساله	/9 6	6/3	6/72	/62 100	96/2	97	/68 112	108	110	/62 41	/8 39	/25 41
شهید رجائی ساری (n=25)	4 ساله	–	/35 17	/67 18	–	/5 126	128/5	–	/08 142	/75 145	–	/6 59	/25 61
شهید مرجانی گرگان (n=25)	3 ساله	/9 9	9/4	9/6	/95 100	/4 103	/12 103	/87 120	113/4	/62 117	/62 48	/4 49	/37 49

جدول 2- میانگین±SD ، بیشینه و کمینه اندازه قطر اووسیت فیلماهی پرورشی (حسب میکرون) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

کارگاه	مرحله I رسیدگی جنسی			مرحله II رسیدگی جنسی			مرحلهIII رسیدگی جنسی		
	میانگین ±SD	بیشینه	کمینه	میانگین±SD	بیشینه	کمینه	میانگین±SD	بیشینه	کمینه
شهید رجائی ساری (3ساله) (n=200)	27/3± 38/4	65/7	11/1	219/4 ±54/7	/1 274	164/7	/1±82/1 381	/26 430	309/33
شهید رجائی ساری (4ساله) (n=200)	–	–	–	243/2 ± 62/8	/0 306	180/4	±105/8- 423/4	529/2	311/7
شهید مرجانی گرگان (3ساله) (n=200)	36/7± 24/7	61/4	12/0	234/1 ± 59/4	/5 293	174/7	/3±73/6 385	458/9	311/7

جدول3- میانگین±SD، بیشینه و کمینه اندازه هسته اووسیت فیلماهی پرورشی (برحسب میکرون) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

کارگاه	مرحلهI رسیدگی جنسی			مرحله II رسیدگی جنسی			مرحله III رسیدگی جنسی		
	میانگین ±SD	بیشینه	کمینه	میانگین ±SD	بیشینه	کمینه	میانگین ±SD	بیشینه	کمینه
شهید رجائی ساری (3ساله) (n=200)	3/9±0/7	6/53	2/69	45/7±17/7	/43 125	33/28	75±50/40	/62 164	/57 18
شهید رجائی ساری	–	–	–	44/7±13/9	79/53	35/42	55/1±10/9	21/77	91/1

Archive of SID

www.SID.ir

(4ساله) (n=200)									
شهید مرجانی گرگان	14/5±10/5	/43	3	/82±10/8	72/18	77/36	80/7±27/8	/41	/31
(3ساله) (n=200)		48		63				231	59

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

در شرایط فعلی جهت تشخیص مراحل مختلف رسیدگی جنسی در گونه‌های مختلف ماهیان علاوه بر ریخت‌شناسی گناد (Romanov و Sheveleva، 1993)، تعداد یاخته‌های جنسی در هر برش عرضی از بخش‌های مختلف گناد (Akhundov و Fedorov، 1990) و ساختار میکروسکوپی گنادها (کاظمی و همکاران، 1382الف و1383؛ تروسوف، 1964؛ Flynn و Benfey، 2007)، می‌توان از طریق اندازه قطر سلول و هسته سلول جنسی (الیاسوف، 1995؛ Talikina، 1995؛ Hallajian و همکاران، 2009) نیز اقدام نمود.

مطالعات آماری قطر سلول و هسته سلول جنسی می‌تواند ارتباط بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی را از نظر رشد و رخداد پدیده‌هایی چون ذخیره چربی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، وضعیت هسته در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، تقسیمات میتوزی و میوزی یاخته‌های جنسی نر، ظهور تاژک سلول‌های اسپروماتوزوئید و... را توصیف نماید.

بر اساس نتایج آماری حاصل از اندازه‌گیری اجزای یاخته‌ای اووسیت‌های فیل ماهی 3 ساله مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و 3 و 4 ساله شهید رجایی ساری، بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$) و با افزایش رشد و مراحل تکوینی رسیدگی جنسی، مقدار مساحت و اندازه قطر و هسته سلول جنسی نیز افزایش یافت.این افزایش در قطر اووسیت به مراتب بیشتر از قطر هسته تخمک در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بود. علت این امر بروز تقسیمات میتوزی در مرحله I رسیدگی جنسی است، زیرا اندازه سلول در تقسیمات میتوزی نمی‌تواند از یک حدی بیشتر شود، ولی در مرحله II رسیدگی جنسی یا مرحله رشد سیتوپلاسمیک تخمک و افزایش مواد سیتوپلاسمی و ذخایر چربی به‌منظور تامین انرژی مورد نیاز برای رشد و نمو تخمک در یک پروسه زمانی طولانی، تخمک‌ها از نظر حجم و سطح رشد کرده، بزرگتر می‌شوند به‌همین دلیل اختلاف فاحشی از نظر اندازه با مرحله I رسیدگی جنسی دارند. اندازه قطر و هسته سلول جنسی فیل‌ماهی ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی با مرحله III جنسی دارای اختلاف معنی‌دار آماری ($P<0/05$) بود ولی این مقدار نسبت به مرحله قبلی (تفاوت اندازه قطر سلول جنسی مرحله I و II نسبت به یکدیگر) از اندازه کمتری برخوردار بود. زیرا اگر چه سیتوپلاسم تخمک در مرحله III رسیدگی جنسی نیز به رشد کمی‌خود ادامه می‌دهد، اما این رشد کندتر بوده، از نظر کیفی (ساخت زرده، واکوئل‌های چربی و دیواره سلول جنسی) به رشد خود ادامه می‌دهد. طول دوره رشدی مرحله III رسیدگی جنسی بسیار کوتاه‌تر از مرحله II رسیدگی جنسی می‌باشد (آلتوفو، 1986). چنین نشانه‌های ریختی درون یاخته‌ای در مرحله III رسیدگی جنسی در تاس‌ماهی سیبری پرورشی (Lemenn و Pelissro، 1991) و تاس‌ماهی سفید پرورشی (Doroshove و همکاران، 1991) نیز گزارش شده است. تقریباً نتایج مشابه‌ای از نظر اندازه قطر اووسیت‌ها در مراحل مختلف رسیدگی جنسی توسط سایر محققین در برخی از ماهیان استخوانی و خاویاری به ثبت رسید. بطوری که Talikina (1995) قطر اووسیت‌های مراحل Iو II رسیدگی جنسی ماهی ماده استخوانی سیم را به‌ترتیب (در سنین مختلف) 7/16-13 و 4/107-9/57 میکرون و قطر تخمک‌های ماهی ماده *Paralichthys dentatus* را در مراحل I، II و III رسیدگی جنسی به ترتیب (85-30) 73، (127-50) 88، (233-68)199و (301-94)225 میکرون، (1996) حلاجیان و همکاران (2009)

Archive of SID

www.SID.ir

میانگین قطر یاخته‌های جنسی ماده مراحل I، II و III رسیدگی جنسی در فیل‌ماهی را به‌ترتیب 8/65، 147/68 و 212/62 میکرون و آذری تاکامی (1388) میانگین قطر تخمک مراحل II و III رسیدگی جنسی در تاس‌ماهیان را به‌ترتیب 500-200 و 2500-1500 میکرون ذکر نمودند. یافته‌های دیگران و نیز نتایج تحقق حاضر بیانگر آن است که می‌توان از طریق اندازه‌گیری رشد پروتوپلاسمیک اووسیت‌های تخمدان ماهیان ماده استخوانی و خاویاری، مراحل رسیدگی جنسی را تعیین نمود. البته اندازه قطر سلول جنسی در شروع یک مرحله مشخص از رسیدگی جنسی با آغاز مرحله بعدی رسیدگی جنسی تقریباً یکسان است. بنابراین در اعلام عدد مشخص کننده قطر سلول جنسی در هر مرحله جنسی باید همواره از میانگین داده‌ها استفاده شود. براساس یافته‌های تحقیق حاضر و سایر محققین یاد شده چه در ماهیان استخوانی و چه در ماهیان خاویاری دامنه نوسان اندازه تخمک در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی نسبت به سایر مراحل بیشتر می‌باشد. زیرا در آغاز مرحله دوم رسیدگی جنسی، گناد بدون بافت چربی بوده، با رشد پروتوپلاسمیک و تجمع چربی سلول حجیم‌تر می‌شود و قطر آن از 20 میکرون در آغاز مرحله 2 به 260 میکرون در پایان این مرحله می‌رسد (الیاسوف، 1996). مرحله دوم رسیدگی جنسی طولانی‌ترین مرحله رسیدگی جنسی است که در تاسماهیان بین 6-3 سال به‌طول می‌انجامد (آلتوفو، 1986). در مرحله سوم رسیدگی جنسی نیز زرده‌سازی و بروز و افزایش ضخامت اووسیت سبب افزایش سطح و قطر سلول جنسی در پایان مرحله نسبت به آغاز این مرحله از رسیدگی جنسی می‌گردد. باید توجه داشت که با توجه به سن ماهیان مورد بررسی در این پژوهش و اندازه‌های بیان شده برای میانگین قطر اووسیت‌ها در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، مشخص مس می‌گردد که اووسیت‌ها در مراحل اولیه خود در مرحله مورد نظر بودند.

نتایج تحقیق حاضر در خصوص مقایسه اندازه تخمک در مراحل I و II رسیدگی جنسی فیل‌ماهی ماده پرورشی (در سنین مختلف 3 و 4 سال) در یک مکان جغرافیایی (ساری) نشان داد که فاقد اختلاف معنی‌دار است. بنابراین می‌توان چنین بیان داشت که در یک گونه خاص اندازه سلول جنسی ماده در هر مرحله از رسیدگی جنسی می‌تواند در یک محدوده خاص قرار گیرد و سن نمی‌تواند در مراحل بالا عاملی برای تغییر اندازه سلول باشد. همچنین بر اساس نتایج آماری حاصل از مقایسه مساحت و قطر سلول جنسی فیل‌ماهی ماده پرورشی 3 ساله در مراحل مختلف جنسی و در دو شرایط پرورشی، بوم‌شناسی و محیطی متفاوت (ساری و گرگان) نشان از عدم اختلاف معنی‌دار در تمامی مراحل بجز مرحله I رسیدگی جنسی بود؛ ولی در تمامی مراحل اندازه سلول جنسی ماده در کارگاه شهید مرجانی گرگان نسبت به کارگاه شهید رجایی ساری بیشتر بود. بر اساس تحقیقات مشابه توسط سایر محققین که قبلاً ذکر شد و نیز تحقیق حاضر می‌توان گفت که اندازه سلول جنسی ماده در هر مرحله از رسیدگی جنسی در یک گونه (و احتمالاً در گونه‌های یک جنس) و نیز در یک سن خاص، گذشته از شرایط پرورشی و محیطی متفاوت، یکسان است. البته برای اثبات این بیان به تحقیقات بیشتر در گونه‌های مختلف و در اقلیم‌های متفاوت می‌باشد. اگر چه دما می‌تواند نقش به‌سزایی در تکامل تخمک‌ها در چرخه تکوینی داشته باشد، ولی به نظر می‌رسد که در یک مرحله مشخص نمی‌تواند اندازه سلول جنسی ماده را به شدت تحت تأثیر خود قرار دهد. علت وجود اختلاف در مرحله I رسیدگی جنسی می‌تواند به‌دلیل خطای محاسباتی و نیز وجود

Archive of SID
www.SID.ir

سلول‌های مختلف در آغاز و یا انتهای مرحله یک باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان به‌ویژه آقایان مهندس محمد پوردهقانی و مهندس ایوب یوسفی و دیگر عزیزانی که ما را در انجام این پروژه همراهی نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1-آذری تاکامی، ق.، 1388. تکثیر و پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). موسسه انتشارات دانشگاه تهران، شماره 3045/ 1388. 401 صفحه.

2-آلتوفو، یو. و ی. رومانوف، آ.آ. و داکویول، ا. پ.، 1986. روش‌های مطالعه غدد جنسی گونه‌های مختلف تاسماهیان *Acipenseridae* انستیتو تکنولوژی اقتصاد ماهی آستاراخان، روسیه. ترجمه سیدهادی صدرایی، رضوانا.. کاظمی و محمود بهمنی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (1378). 35 صفحه.

3-الیاسوف، و.، 1996. کنترل مراحل رسیدگی غدد جنسی تاسماهیان. انستیتو وینپر روسیه، مسکو. ترجمه سیدهادی صدرایی، رضوان‌الله کاظمی و محمود بهمنی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (1378). 6 صفحه.

4-امینی، ک.، 1374. بررسی امکان استفاده از هورمون GnRH در حالت تلفیق با یک ماده آنتاگونیست دوپامین در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران – مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. 60 صفحه.

5-بهمنی، م. و کاظمی، ر.، 1377. مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاسماهیان جوان پرورشی. مجله علمی‌شیلات ایران، شماره 1، سال هفتم، صفحات 1 تا 16.

6-پوستی، ا.، و ادیب مرادی، م.، 1382. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ پنجم شماره 1944. 610 صفحه.

7-تروسوف، و.ز.، 1975. برخی از ویژگی‌های رسیدگی جنسی در تاس‌ماهی روسی. انستیتو تحقیقات شیلاتی و اقیانوس‌شناسی و نیرو روسیه. ترجمه صدرایی، س.هـ و کاظمی، ر. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. 16 صفحه.

8-حاجی‌زاده کپته، ع.، 1374. اندازه‌گیری هورمون‌های FSH و LH، استروژن و پروژسترون در ماهی ازون برون (*A.stellatus*) جهت به‌دست آوردن بهترین زمان تزریق هیپوفیز. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان. 118 صفحه.

9-حلاجیان ع.، کاظمی، ر.، محسنی، م.، بهمنی م. و یوسفی ا.، 1386. تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) با استفاده از روش تکه‌برداری از گناد. مجله علمی‌شیلات، ایران، شماره 3، صفحات 65 تا 72.

10-حلاجیان ع.، 1386. تفکیک ماهیان ماده از ماهیان نر خاویاری پرورشی از طریق جراحی 1386. دنیای آبزیان. سال پنجم، شماره 11.

11-حلاجیان ع.، کاظمی‌ر.، بهمنی م.، دژندیان س.، یوسفی جوردهی ا.، پوردهقانی م. و توکلی م. 1387. بررسی بافت‌شناسی از رسیدگی جنسی در ماهیان خاویاری نابالغ طبیعی صید شده در پاییز 82 با تأکید بر تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون. مجله پژوهش و سازندگی، شماره 78، صفحات 103 تا 109.

12-حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.، دژندیان، ع. و یوسفی جوردهی، ا. 1388. بافت‌شناسی گناد در تاسماهیان (تشخیص و تعیین مراحل رسیدگی جنسی). انتشارات انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. 35 صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

13-شفیع‌زاده، ش. و وهابی، ی.، 1375. کاربرد هورمون L.R.H در تکثیر ماهیان خاویاری. انتشارات مجتمع تکثیر و پرورش شهید بهشتی رشت. 46 صفحه.

14-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، پرندآور، ح.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، ملک‌زاده و یایه، 1381. گزارش تعیین جنسیت فیلماهیان پرورشی 12 ساله مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. 23 صفحه.

15-کاظمی، ر.، بهمنی، م.، و رومانوف، آ.آ.، 1382الف. بافت‌شناسی لایه‌های مختلف تخمک ماهی ازون برون *Acipernser persicus*. مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره 1. صفحات 93 تا 102.

16-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، پرندآور، ح.، بهمنی، م. دژندیان، س.، پوردهقانی، م. 1382ب. تعیین جنسیت فیلماهیان پرورشی 2 و 3 ساله مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. 18 صفحه.

17-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، پرندآور، ح.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، دژندیان، س.، یوسفی، ا.، 1383. تعیین جنسیت فیل‌ماهیان پرورشی کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از طریق بیوپسی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. 78 صفحه.

18-هدایتی س.ع.، یاوری و.، بهمنی م.، علیزاد م.ه، کاظمی ر.، حلاجیان ع.، 1386. مطالعه سالانه روند تکامل غدد جنسی فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال 11، شماره 42 ب، صفحات 641 تا 650.

19-وثوقی، ق. و مستجیر، ب.، 1373، ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران. 119 صفحه.

20. Akhundov, M.M., and Fedorov, K.Ye., 1990. Early Gameto and Gonadogenesis in sturgeon. J. of Russia Ichthyology, 30 (6), 963-973.

21. Doroshov, S.I., Moberg, G.P., and Van Eenennaam, J.P., 1997. Observations on the reproductive cycle of cultured white sturgeon *Acipenser transmontanus*. Environmental Biology of fishes 48, 265-278.

22. Flynn, S.R., and Benfey, T.J., 2007. Sex differentiation and aspects of gametogenesis in shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* Lesueur. Journal of fish biology, 70, 1027-1044.

23. Hallajian A., Kazemi, R., Bahmani, M., Yousefi Jourdehi, A., Dejandian, S., and Pourdehghani, M., 2009. Sexual cell size at low sexual maturation stages in Huso huso. 6th International Symposium on Sturgeon Wohan, China.

24. Hung, S.S.O., Groff, J.M., Lutes, P.B., and Kofifiynn-Aikins, F., 1990. Hepatic and intestinal histology of juvenile white sturgeon fed different carbohydrates. Aquaculture, 87, 349-360.

25. Lemenn, F. and Pelissero, C. 1991. Histological and ultrastructureal studies of oogenesis of Siberian Sturgeon. pp. 113-128. In: p. Williot. Acipenser, CEMAGREF PUBL., bORDEAUX.

26. Linares-Casenave, K.J., Kroll, J.P., and Van Eenennaam, S.I., Doroshov. 2003. Effect of ovarian stage on plasma vitellogenin and calcium in cultured with sturgeon. Aquaculture, 221, 645-656.

27. Romanov, A.A., and Shevelva, N.N., 1993. Disruption of gonadogenesis in Caspian sturgeon. J. of Ichthyology 33 (3), 127-133.

28. Talikina, M.G., 1995. Sex differentiation and gonadal development during ontogeny in Bream Ab ramis brama, of Rybinsk reservoir. J. of Ichthyology 35 (3), 101-108.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 5, No. 1, Mey 2011

Comparing the size of gonad cells during different stages of sexual maturation in farmed female *Huso huso*

***M. Hosseininezhad[1], R. Kazemi[2], M. Bahmani[2], S. Dazhandian[2] and A. Halajian[2]**
[1]M.Sc. Graduated in Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Khuzestan, Ahvaz, [2]Dr. Dadman Internatinal Sturgeon Research Institute, Rasht

Abstract

In this study, biopsy was carried out on the gonads of *Huso huso* having 3 & 4 years old, reared in concrete ponds of Shahid Rajaii hatchery of Sari (50 species) and Shahid Marjani hatchery in Ag-Ghala (25 species). After biometry & recording of data, biopsy of gonads performed. All of the tissue sections stained by hematoxylin & Eosin, then specimens prepared and studied under light microscope connected to a camera and monitor. In female *Huso huso* of Shahid Marjani hatchery the mean diameter of oocytes were 385.3±73.6, 234.1±59.4 and 36±24.3 µm in stages III, II and I and the mean diameter of nucleus was 80.7±27.8, 63.8±10.8 and 14.5±10.5 µm in stages III, II and I, respectively that showed significant differences (P<0.05).The mean diameter of nucleus in stage III is higher compared to other two stages (P<0.05). In Shahid Rajaii hatchery (Sari), the mean diameter of oocytes in female *Huso huso* of 3 years old were 381.1±82.1 in stage III, 219.4±54.7 in stage II and 27.3±38.4 µm in stage I, which shows significant differences (P<0.05). Moreover, the mean diameter of nucleus was 75±50.4, 45.7±17.7 and 3.9±0.7 µm in stages III, II and I, respectively. Also, in four years old *Huso huso*, the mean diameter of oocytes in stage III were 186.1±36.2 µm which was higher than stage II, 120.1±43.4 µm. In addition, the mean diameter of nucleus in stage III of sexual maturity was 55.1±10.9 µm compared to stage II, 44.7±13.9 µm which indicates significant differences (P<0.05). The results showed that the age of examined fishes have not role on the size changes in oocytes and for a species, the size of female oocytes could be in an specific range for each stage of sexual maturity. Statistical analysis shows no significant differences in similar stages of sexual maturity in the fishes of these two hatcheries, too.

Keywords: Size of oocytes; Farmed (*Huso huso)*; Gonad; Sexual maturity stages.

Archive of SID

* Corresponding Author; Email: Hosseininezhadm@yahoo.com

www.SID.ir