



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره اول، بهار ۹۴

<http://jair.gonbad.ac.ir>

روند رسیدگی جنسی ماهی بالغ نر شاه‌کولی دریای خزر (*Alburnus chalcoides* (Güldenstädt, 1772) مهاجر به تالاب انزلی)

مرجان پور اسماعیلیان^۱، حسین خارا^۲ و محدثه احمد نژاد^۳

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، پردیس علوم و تحقیقات گیلان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، ^۲ دانشیار گروه شیلات واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، ^۳ استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران
تاریخ ارسال: ۹۴/۳/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲

چکیده

شاه‌کولی *A. chalcoides* از جمله مهم‌ترین ماهیان استخوانی دریای خزر است که به‌منظور تولید مثل به تالاب انزلی مهاجرت می‌نماید. تحقیق حاضر، جهت مطالعه بیولوژی تولید مثل مولد نر شاه‌کولی مهاجر به تالاب انزلی از اسفند ۱۳۹۲ لغایت خرداد ۱۳۹۳ انجام شد. تصاویر میکروسکوپی بافت‌شناسی بیضه و میزان هورمون‌های استروئیدی جنسی ۱۶ عدد ماهی نر بالغ بررسی شد. نتایج تصاویر بافت‌شناسی نشان داد که بیضه ماهی از نوع لوبولار می‌باشد و ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی در ابتدای مرحله اسپرم‌ریزی فعال قرار داشتند. در نمونه‌های بافتی علاوه بر مشاهده اسپرماتوگونیای اسپرماتوسیتی (SG)، مراحل مختلف اسپرماتوژنز (Sc, St, Sz) نیز، به‌صورت اندک قابل مشاهده بود. در حالی که ابتدایی اسپرماتوژنز (Sc₁) و اسپرماتوگونی در ماهیان در حال اسپرم‌ریزی وجود نداشت و لومن پر از اسپرماتوزوآ بود که نشان‌دهنده مرحله انتهایی اسپرم‌ریزی فعال می‌باشد. میزان هورمون تستوسترون در ماهیان در حال اسپرم‌ریزی ng/ml $12/13 \pm 0/68$ بوده و مقدار آن در ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی ng/ml $8/77 \pm 0/55$ بود. غلظت هورمون ۱۷-بتا-استرادیول در مولدین در طی دوره اسپرم‌ریزی افزایش یافته و مقدار آن در مرحله قبل از اسپرم‌ریزی و ماهیان در حال اسپرم‌ریزی به ترتیب ng/ml $2/27 \pm 0/44$ و ng/ml $2/87 \pm 0/33$ اندازه‌گیری شد. هورمون پروژسترون در طی دوره اسپرم‌ریزی در هر دو مرحله دارای غلظت کمی بود، اما در مرحله در حال اسپرم‌ریزی مقداری افزایش یافت. باتوجه به بالا بودن مقدار هورمون تستوسترون در زمان اسپرم‌ریزی و با مقایسه سایر گزارشات مرتبط، احتمالاً در شاه‌کولی نر نقش فیزیولوژیک تستوسترون بیشتر در اسپرم‌ریزی است تا در اسپرماتوزوآ و می‌تواند شاخص خوبی برای مرحله اسپرم‌ریزی فعال باشد.

واژه‌های کلیدی: *A. chalcoides*، ماهی نر، رسیدگی جنسی، دریای خزر، تالاب انزلی

*نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

شاه کولی با نام علمی *A. chalcoides* از خانواده کپورماهیان Cyprinidae می‌باشد. در دریای خزر، دریای سیاه و دریاچه آرال پراکنش داشته که دارای تفاوت‌هایی با یکدیگر می‌باشند (Berg, 1949). این ماهیان در دریای خزر در بخش جنوبی و غربی پراکنش داشته ولی در قسمت شمالی دریا به‌ندرت یافت می‌شوند (Kazanchev, 1981). همچنین این ماهی یکی از گونه‌های اقتصادی آب‌های شیرین نیم‌کره شمالی محسوب می‌شود (Bogutskaya, 1997). مطالعات و بررسی‌ها نشان می‌دهد که این ماهیان جهت تخم‌ریزی به رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر از جمله سفیدرود، پل‌رود، شلمان‌رود و تالاب انزلی و رودخانه‌های مهم استان مازندران مهاجرت می‌نمایند (Vosoughi and Mostajir, 2002). شاه کولی سواحل ایران از نظر طول و وزن بسیار کوچکتر از سواحل شمالی است. این ماهی پس از ماهی سفید و سیاه کولی مهمترین گونه از ماهیان مهاجر به تالاب انزلی است و در بین ساکنین نواحی شمالی به‌ویژه استان گیلان طرفداران فراوانی دارد (Razavi saiiad, 1990). مورفولوژی گناد از نظر بافت‌شناسی برای مشخص کردن سیکل سالانه تولید مثل، طول فصل تکثیر، شروع بلوغ تولید مثل، ریتم تخم‌ریزی، هم‌آوری و جنبه‌های مختلف تولید مثل توسط زیست‌شناسان مورد مطالعه قرار گرفته است.

به‌طور عمومی فعالیت تولید مثلی تحت تأثیر محور مغز-هیپوفیز-گناد قرار می‌گیرد که شامل فعالیت هورمون GnRH، هورمون گنادوتروپین و استروئیدهای جنسی می‌باشد (Pankhurst et al., 1999; Patino et al., 2001; Maruska et al., 2007). سطوح چرخش یک یا تعداد بیشتر هورمون‌هایی که در تولید مثل ماهی نقش دارند از قبیل استروژن، تستوسترون، ۱۱-کتوتستوسترون، پروژسترون و دی‌هیدرواکسی پروژسترون توسط محققین با اشاره به ساختار و عملکرد آنها به‌منظور مطالعه مکانیسم‌های درگیر در رفتارهای تولید مثلی و گامتوژنیز در ماهیان مختلف بررسی شده است (Fostier et al., 1983; Pankhurst and Carragher, 1991; Stequert et al., 2001; Sen et al., 2002; Li et al., 2007). مولدین نر در بیشتر مدت دوره تولید مثل در فاز قابلیت اسپرم‌ریزی قرار دارند و دچار پدیده اسپرماتوژن فعال می‌شوند که در طی آن رخداد همه مراحل اسپرماتوژن (Sg, Sc, St, Sz) مشاهده می‌شود. به‌این ترتیب، با سپری شدن آغاز دوره تولید مثل و با گذشت آن، نشانه‌های تغییرات تدریجی اپیتلیوم زاینده (GE) این امکان را فراهم می‌نماید تا بتوان میان مولدین نری که در بخش وضعیت اولیه، میانی یا اواخر روند اسپرم‌ریزی سالیانه هستند تمایز قائل شد (Grier and Taylor, 1998; Grier and Parenti, 2004). روی هورمون‌های استروئیدی سرم (تستوسترون، ۱۷-بتا-استرادیول و پروژسترون) تحقیقات متعددی صورت گرفته است که از جمله آنها می‌توان به این مطالعات در زمان تخم‌ریزی، گونه‌های ماهی صبور *Tenuulosa ilisha* (Asadi eidivand et al., 2011).

کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) (Ghelichi et al., 2004)، شاه‌کولی دریای خزر (*A. Chalcoides*) (Nikoo et al., 2010)، سوف سفید (نر) (*Sander lucioperca*) (Golmoradizadeh et al., 2012)، ماهی آزاد کورگونوس (*Coregonus clupearformis*) (Rinchar et al., 2001)، شاه‌کولی (*Chalcalburnus tarichi*) (Unal et al., 2006) و همچنین در دوره چرخه تولید مثلی سالانه گونه‌های هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) (Abbassi et al., 2004)، سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta*) (Erdogan et al., 2002)، سوف زرد (*Stizostedion vitreum*) (Malison et al., 1994)، کپورهندی (*Labeo rohita*) (Sen et al., 2002; Suresh et al., 2008)، کلمه (*Rutilus rutilus*) سیم (*Abramis brama*) و شاه‌کولی (*A. alburnus*) (Rinchar et al., 1997) اشاره نمود.

به‌منظور صیانت و حفظ و ارائه برنامه‌های بازسازی ذخایر، دستیابی و تولید انبوه و آبی‌پروری در این ماهیان ضروریست ولی لازمه موفقیت در معرفی یک‌گونه وحشی به آبی‌پروری، شناخت چرخه تولید مثلی گونه و کنترل هورمونی آن می‌باشد (Rinchar et al., 2001). ساختار هورمون‌های استروئیدی و مشتقات مربوطه در ماهیان، بسیار مشابه با سایر مهره‌داران عالی است و از نظر مولکولی تفاوت زیادی مشاهده نشده است (Oryan, 1994). مطالعه روی هورمون‌های استروئیدی جهت آشنایی با مکانیسم‌های رفتار تولید مثلی، گامت‌زایی و استروئیدزایی گناد صورت می‌گیرد (Suresh et al., 2008).

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

مواد و روش‌ها

این مطالعه در بازه زمانی چهار ماهه، از اسفند ۱۳۹۲ شروع شد و در خردادماه ۱۳۹۳ خاتمه یافت. ماهیان مولد مهاجر به تالاب‌انزلی توسط تور گوشگیر صید و به آزمایشگاه پژوهشگاه بندرانزلی منتقل شدند. در مجموع ۱۶ قطعه ماهی مولد بررسی شد. ماهیان به دو گروه رسیده (Ripe) که اسپرم به‌صورت شل در محوطه بدنی قرار داشت، و مرحله قبل از اسپرم‌ریزی (Gravid) که اسپرم‌ها هنوز به‌صورت سفت به‌دیواره شکم اتصال دارند، تقسیم شدند (Patterson et al., 2004).

وزن بدن و وزن گناد ماهیان توسط ترازو با دقت 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 سه فلس از قسمت میانی بدن بین باله‌پشتی و خط جانبی برداشته

شد (Nikolsky, 1963). به این ترتیب که پس از شستشو و خشک کردن فلس‌ها، در زیر لوپ دو چشمی MOTIC با بزرگنمایی ۱۰ تا ۴۰ برابر، یک حلقه تیره به‌همراه یک حلقه روشن، برابر یک‌سال تمام در نظر گرفته شد.

ماهیان ابتدا جهت خون‌گیری در داخل ظرف ۲۰ لیتری حاوی ماده بی‌هوشی پودر گل می‌خک (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند. سپس خون‌گیری از طریق رگ ساقه دمی انجام گرفت. نمونه‌های خون در ویال‌های یک سی‌سی ریخته و تا قبل از جداسازی سرم در دمای یخچال نگهداری شد. جداسازی سرم با سانتریفوژ ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری هورمون‌ها در شرایط انجماد نگهداری شدند. نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری هورمون‌های جنسی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و هورمون‌های مورد بررسی با استفاده از روش ELISA توسط کیت اسپکترا (فنلاند) اندازه‌گیری شدند. بلافاصله بعد از خون‌گیری، هر نمونه برای تشخیص جنسیت آسان‌گشی شده و برای خارج ساختن گناد 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 گنادها و کبد خارج شدند. سپس گنادها از طریق کلید شناسایی براون پترسون و همکاران (Brown-Peterson *et al.*, 2011) به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی (زیر لوپ دوچشمی) تعیین مرحله شدند و در انتها گناد و کبد توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد.

جهت تعیین شاخص گنادی از معادله $GSI = \frac{OW}{BW-OW} \times 100$ (Tyler *et al.*, 1996) استفاده شد که در آن BW، وزن بدن و OW، وزن گناد نمونه می‌باشد. برای تعیین شاخص وزن کبدی از معادله $HSI = \frac{LW}{BW-LW} \times 100$ (Shreck and Moyel, 1990) استفاده شد که در این رابطه BW، وزن بدن و LW، وزن کبد نمونه ماهی است.

برای مطالعه بافت‌شناسی از ابتدا، وسط و انتهای گناد ۱۰ ماهی نر نمونه تهیه شد. به‌منظور تثبیت نمونه‌ها، تکه‌های بافت در محلول فیکساتیو بوئن به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت غوطه‌ور شد. سپس مراحل آگیری، 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 دوربین‌دار BEL مطالعه و عکس‌برداری شد. در انتها جهت تعیین مرحله رسیدگی جنسی از کلید شناسایی ۵ مرحله‌ای براون پترسون و همکاران (Brown-Peterson *et al.*, 2011) استفاده شد که در زیر به‌طور مختصر به آن اشاره می‌شود:

مرحله نابالغ - ماهی دارای گناد کوچک، شفاف، نخ مانند و وجود اسپرماتوگونی (Sg1) در گناد.

مرحله در حال رشد - وجود اسپرماتوسیت‌ها (Sg1, Sg2, Sc, St, Sz) در لوبول‌ها.

مرحله قابل اسپرم‌ریزی - گنادها بزرگ و محکم، مشاهده اسپرماتوزوآ و تمام مراحل اسپرماتوزن.

مرحله پس‌روی - گنادها کوچک و شل، عدم انتشار اسپرم با فشار به ناحیه شکم، حضور اسپرماتوزوآ در لوله‌های اسپرم‌بر.

مرحله باززایی - گنادها کوچک، اغلب نخ مانند، بدون اسپرماتوسیت، رشد اسپرماتوگونیا در سرتاسر گناد.

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS 17 و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون t-student استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ دامنه تغییرات طولی و وزنی ۱۶ قطعه از ماهیان شاه‌کولی نر مهاجر را در تالاب‌انزلی نشان می‌دهد. بعد از تعیین سن تمامی ماهیان مولد نر دو ساله شناخته شدند. آزمون t استیوونت تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) را از لحاظ میانگین طولی و وزنی بین ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی و مرحله رسیده کامل نشان نداد.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار طول کل و وزن کل مولدین نر شاه‌کولی *A. chalcoides* در مراحل مختلف

جنسیت	مرحله رسیدگی	طول (سانتی‌متر)	وزن (گرم)
نر	قبل از اسپرم‌ریزی	$14/2 \pm 0/31$	$21/47 \pm 1/46$
	رسیده کامل	$14/45 \pm 0/21$	$21/94 \pm 1/09$

تغییرات شاخص گنادی (GSI) و تغییرات شاخص کبدی (HSI) در مراحل قبل از اسپرم‌ریزی و رسیدگی کامل برای ماهی شاه‌کولی نر در جدول ۲ نشان داده شده است. روند میانگین صعودی و نزولی هر دو شاخص (گنادی و کبدی) در ماهیان شاه‌کولی نر نشان‌دهنده این است که بالاترین مقدار GSI و HSI مربوط به ماهیانی می‌باشد که در مرحله قبل از اسپرم‌ریزی قرار داشته و مقادیر آن به ترتیب برای شاخص گنادی و کبدی $6/36 \pm 0/92$ و $1/34 \pm 0/61$ به دست آمد و کمترین مقدار آن مربوط به ماهیان کاملاً رسیده بود که به ترتیب $6/35 \pm 0/41$ و $0/54 \pm 0/06$ محاسبه شد. بر اساس آزمون T از لحاظ شاخص گنادی و کبدی در بین ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی و مرحله کاملاً رسیده تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) مشاهده نشد.

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار شاخص گنادی و کبدی مولدین نر شاه‌کولی *A. chalcoides* در مراحل مختلف

رسیدگی جنسی		شاخص	مرحله رسیدگی	۲ ساله (گرم)
نر	شاخص گنادی	قبل از اسپرم‌ریزی	۶/۳۶±۰/۹۲	
		رسیده کامل	۶/۳۵±۰/۴۱	
شاخص کبدی	قبل از اسپرم‌ریزی	۱/۳۴±۰/۶۱		
	رسیده کامل	۰/۵۴±۰/۰۶		

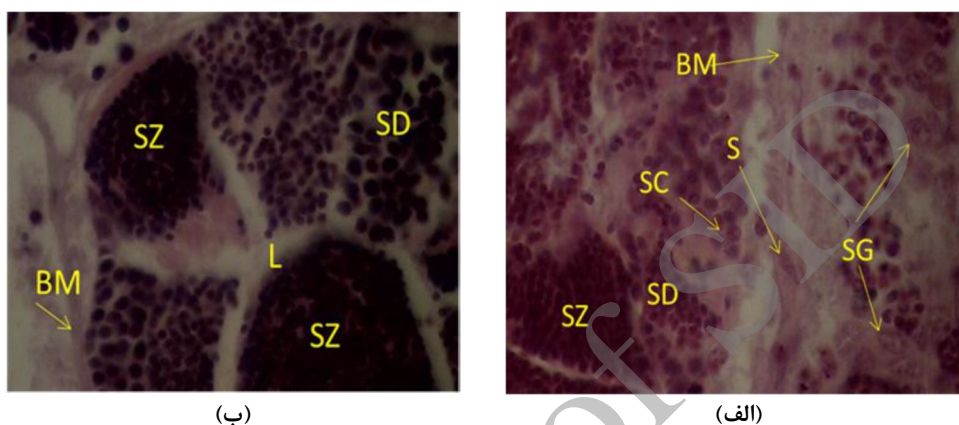
نتایج اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های جنسی (۱۷ بتا-استرادیول، تستوسترون و پروژسترون) پلاسمای خون مولدین نر شاه‌کولی در جدول ۳ نشان داده شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده، میانگین سطح هورمون استرادیول در مولدین نر شاه‌کولی کاملاً رسیده (۲/۸۷±۰/۳۳) نانوگرم در میلی‌لیتر) بیشتر از ماهیان نر موجود در مرحله قبل از اسپرم‌ریزی (۲/۲۷±۰/۴۴) نانوگرم در میلی‌لیتر) بود، اما از نظر آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). ماهیان کاملاً رسیده به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) از نظر میزان غلظت هورمون تستوسترون (۱۲/۱۳±۰/۶۸) نانوگرم در میلی‌لیتر) بالاتر از ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی (۸/۷۷±۰/۵۵) نانوگرم در میلی‌لیتر) بودند. مطالعه غلظت سرمی پروژسترون نشان‌دهنده افزایش این هورمون در ماهیان کاملاً رسیده (۰/۳۸±۰/۰۴) نانوگرم در میلی‌لیتر) نسبت به ماهیان قبل از رسیدگی کامل (۰/۳۶±۰/۰۴) نانوگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد که مقایسه نتایج حاصله تفاوت معنی‌دار آماری ($p > 0.05$) را بین این دو مرحله رسیدگی جنسی نشان داد.

جدول ۳: مقایسه میانگین و انحراف معیار هورمون‌های مولدین نر شاه‌کولی *A. chalcoides* در مراحل مختلف

رسیدگی جنسی		تعداد نمونه	استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر)	تستوسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)	پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)	وضعیت گناد
قبل از رسیدگی	۷	۲/۲۷±۰/۴۴	۸/۷۷±۰/۵۵ a	۰/۳۶±۰/۰۴	قبل از رسیدگی	
رسیده کامل	۷	۲/۸۷±۰/۳۳	۱۲/۱۳±۰/۶۸ b	۰/۳۸±۰/۰۴	رسیده کامل	

تصاویر میکروسکوپی بافت‌شناسی مولدین نر شاه‌کولی نشان داد که ماهیان مرحله قبل از اسپرم‌ریزی (شکم سفت) در ابتدای مرحله اسپرم‌ریزی فعال قرار داشتند و در نمونه‌های بافتی آنها علاوه بر مشاهده اسپرماتوگونیای اسپرماتوسیتی (Sg) فراوان، تمام مراحل مختلف دیگر اسپرماتوزن؛ اسپرماتوسیت اولیه (SC₁)، اسپرماتوسیت ثانویه (SC₂)، اسپرماتید (St)، اسپرماتوزوآ (S_z) به‌صورت اندک

و همین‌طور سلول‌های سرتولی (S)، غشای پایه (BM)، لومن (L) قابل مشاهده بود. درحالی‌که مراحل ابتدایی اسپرماتوزونز (SC_1 , SC_2) و اسپرماتوگونی در ماهیان مرحله در حال اسپرم‌ریزی وجود نداشت و لومن آنها پر از اسپرماتوزوآ بود که نشان‌دهنده مرحله انتهایی اسپرم‌ریزی فعال می‌باشد. در این گروه نیز اسپرماتید (St)، غشای پایه (BM) و لومن (L) مشاهده شد.



شکل ۱: نمای میکروسکوپی از گناد نر ماهی شاه‌کولی *A. chalcoides* (بزرگ‌نمایی $\times 100$)

بین الف- ماهیان قبل از اسپرم‌ریزی و ب- ماهیان کاملاً رسیده

لومن=L؛ سلول سرتولی=S؛ غشای پایه=BM؛ اسپرماتوگونی=SG

اسپرماتوسیت=SC؛ اسپرماتید=SD؛ اسپرماتوزوآ=SZ

بحث و نتیجه‌گیری

شناخت و بررسی بیولوژی و اکولوژی گونه‌های مختلف ماهیان در یک اکوسیستم آبی، سبب حفظ و بازسازی ذخایر آنها می‌شود. از این‌رو بهبود کیفیت مولدین و کنترل تولید مثل به‌عنوان مهمترین بازتاب‌های تکنولوژی زیستی مدرن، می‌تواند ما را در دستیابی به تقاضای روزافزون و در حال رشد آبی‌پروری در جهان کمک نماید (Vladi *et al.*, 2002).

رشد مواد تناسلی در جنس نر این ماهیان با تغییرات GSI مطابقت دارد. ایگدیری و همکاران (Eagderi *et al.*, 2006) با مطالعه روی جنس نر سس‌ماهی بزرگ‌سر (*Barbus capito*) نتیجه گرفتند که حداکثر GSI بیضه، دوره حداکثر رشد مواد تناسلی می‌باشد.

میانگین هورمون استرادیول در ماهیان نر کاملاً رسیده $2/87 \pm 0/33$ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان نر قبل از رسیدگی کامل $2/27 \pm 0/44$ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. میانگین هورمون تستوسترون در ماهیان نر کاملاً رسیده $12/13 \pm 0/68$ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان نر قبل از رسیدگی کامل $8/77 \pm 0/55$ نانوگرم در میلی‌لیتر بدست آمد. میانگین هورمون پروژسترون در ماهیان

نر کاملاً رسیده $0/38 \pm 0/04$ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان نر قبل از رسیدگی کامل $0/36 \pm 0/04$ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. با توجه به آزمون واریانس یک‌طرفه بین ماهیان کاملاً رسیده و قبل از رسیدگی کامل از لحاظ میانگین تستوسترون اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0/05$). امروزه نقش نوسانات هورمون‌های جنسی و مکانیسم‌های فیزیولوژیک مربوطه در ارتباط با نوسانات دما و فصول، در ماهیان به‌خوبی شناخته شده است (Hoar *et al.*, 1983). تغییرات سلول‌های جنسی در طول اسپرماتوزون در بسیاری از ماهیان استخوانی مورد بررسی قرار گرفته و تأثیر هورمون‌های آندروژنیک در فرآیند اسپرماتوزون ماهی را به تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون نسبت داده‌اند (Hoar *et al.*, 1983; Matty, 1985; Malison *et al.*, 1994). میلوناس و همکاران (Mylonas *et al.*, 2010) عنوان کردند که فعالیت استرادیول در مراحل ابتدایی چرخه تولید اسپرم (تولید اسپرماتوسیت ثانویه) می‌باشد و پس از آن سطح استرادیول کاهش می‌یابد. با افزایش سطوح تستوسترون و کتوتستوسترون، تولید اسپرماتید و اسپرماتوزون در ماهیان می‌گردد. هورمون‌های تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون در ماهیان نر با تأثیر بر سلول‌های لایدیک موجب افزایش تولید اسپرماتید می‌شوند. همچنین هورمون پروژسترون نیز با تغییر pH پلاسما در مجرای اسپرم‌بر موجب افزایش تحریک و تولید اسپرماتوزون در این مجرا می‌گردد (Campbell *et al.*, 1980; Mateos *et al.*, 2003). یارون (Yaron, 1995) و میلوناس و همکاران (Mylonas *et al.*, 2010) نشان دادند که هورمون‌های پروژسترون در جنس نر ماهیان در تحریک اسپرماتوزون نقش دارد. در پژوهش‌های انجام شده روی ماهیان دیگر از قبیل ماهی ساردین ژاپنی، میزان تستوسترون در ماهیان با اسپرم‌ریزی فعال به بیشینه مقدار خود رسیده و در دوره پس از اسپرم‌ریزی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بنابراین ممکن است در ساردین ژاپنی نر، نقش فیزیولوژیک تستوسترون بیشتر در عمل اسپرم‌ریزی باشد (Matsuyama *et al.*, 1991). همچنین کاشت تستوسترون در هیپوفیز در مرحله پار ماهی آزاد اقیانوس اطلس، منجر به افزایش سریع در سطح ترشح GTH هیپوفیز شد. بدین وسیله اثر فیدبک مثبت تستوسترون بر ترشح GTH نشان داده شد که با نزدیک شدن به مرحله اسپرم‌ریزی فعال میزان تستوسترون افزایش می‌یابد. مطالعه روی *Salmo trutta* نیز نشان داد که میزان آندروژن با ظاهر شدن اسپرماتوزون در لوله‌های اسپرمی افزایش می‌یابد و در طول مرحله اسپرم‌ریزی نیز این افزایش ادامه می‌یابد (Billard *et al.*, 1978).

در تصاویر میکروسکوپی گناد مولد نر شاه‌کولی با شکم شل، لومن، لوبول‌های بیضوی، پر از اسپرماتوزون مشاهده شد و دو مرحله از اسپرماتوزون، اسپرماتوزون و اسپرماتید قابل مشاهده بود. نرها در مرحله نابالغ با Sg_1 در اپی‌تلیوم زاینده (GE) و با تشکیل لوبول‌های بیضه‌ها که شامل فقط Sg (غالباً اسپرماتوگونمای اولیه [Sg_1] و اندکی اسپرماتوگونمای ثانویه [Sg_2]) هستند، شناخته می‌شوند. لوبول‌های نرهای نابالغ دارای لومن نیستند و تکثیر اسپرماتوگونمایی در تشکیل تقسیم میتوزی، تنها روش روی

دادن فعالیت اسپرماتوژنی است. با وارد شدن نرها به مرحله رشد تحریک شده با گنادوتروپین، اسپرماتوگونیای ثانویه در اسپرماتوسیت‌ها که لوبول‌ها را پوشش می‌دهد، تقسیم می‌شود تا اسپرماتوسیت اولیه (Sc_1) تشکیل شود و سپس وارد میوز می‌شود و اسپرماتوژنز فعال رخ می‌دهد. دو نشانه از نظر بافت‌شناختی فاز رشد را از دیگر فازها متمایز می‌گرداند. یکی وجود GE پیوسته با اسپرماتوسیت‌هایی که دستخوش اسپرماتوژنز فعال می‌شوند و دیگری تشکیل لومن در لوبول که عاری از Sz است. شروع فصل تولیدمثل در نرها می‌تواند با زیرفاز رشد ابتدایی شناخته شود که در آن، ابتدا اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه ظاهر می‌شوند. در مقابل، اسپرماتوسیت‌های دارای تمام مراحل اسپرماتوژنز شامل اسپرماتید (St) و اسپرماتوزوآ (Sz) مشخص می‌کند که نرها در فاز رشد قرار دارند. با این حال، انتشار Sz از اسپرماتوسیت‌ها به لومن لوبول در فاز رشد روی نمی‌دهد. مرحله قابلیت اسپرم‌ریزی با حضور Sz در لومن لوبول‌ها و در لوله‌های اسپرم شناخته می‌شود. زیرفاز اسپرم‌ریزی فعال برای نرها می‌تواند تنها از نظر ماکروسکوپی شناخته شود و به‌صورت انتشار اسپرم در زمانی که فشار اندکی بر شکم وارد می‌شود (اغلب به آن در حال رسیدگی گفته می‌شود) تعریف می‌گردد. نرها در اکثر طول فصل تولید مثل، در فاز قابل اسپرم‌ریزی می‌مانند و دستخوش اسپرماتوژنز فعال می‌شوند که در طول آن، تمام مراحل اسپرماتوژنز مشاهده می‌شود. با این حال، تغییرات اپیتلیوم زاینده با پیش‌رفتن فصل تولیدمثل (Parenti and Grier, 2004; Grier and Taylor, 1998) امکان تمایز قائل شدن بین نرهایی که در بخش اولیه، میانی یا اواخر فصل اسپرم‌ریزی هستند را فراهم می‌کند. نرها در زیرفاز ابتدایی GE از فاز قابلیت اسپرم‌ریزی، با GE پیوسته در سرتاسر تمام بیضه‌ها و وجود Sg در اسپرماتوسیت‌ها متمایز می‌شوند. در زیرفاز میانی GE از قابلیت اسپرم‌ریزی، اسپرماتوژنز در برخی از اسپرماتوسیت‌ها در لوبول‌ها نزدیک لوله‌های اسپرم متوقف می‌شوند که منجر به GE ناپیوسته در نزدیکی لوله‌ها می‌شود، اما GE پیوسته‌ای در اطراف لوبول‌ها مشاهده می‌شود. اسپرماتوگونیاهای به‌ندرت در زیرفاز میانی GE دیده می‌شود، اما اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه متداول است. در پایان دوره تولید مثل، نرها در زیرفاز آخر GE از قابلیت اسپرم‌ریزی هستند. این زیرفاز با GE ناپیوسته در سراسر بیضه‌ها، افزایش شیوع لوبول‌های در حال پیوند و کاهش اسپرماتوژنز شناخته می‌شود. تمام لوبول‌های دارای اندکی اسپرماتوسیت، دستخوش اسپرماتوژنز هستند، اما اسپرماتوگونیاهای معمولاً در طول این زیرفاز کمیاب است. نرها در پایان فصل تولید مثل، وارد فاز پس‌روی می‌شوند. این فاز از نظر بافت‌شناختی با کاهش رویت اسپرماتوزوآ در لوله‌های اسپرم و لومن لوبول‌ها و با لوبول‌های اندک، با وجود اسپرماتوسیت‌ها شناخته می‌شود. میزان اسپرماتوزوآ موجود، به‌طرز قابل توجهی نسبت به فاز قابلیت اسپرم‌ریزی کاهش می‌یابد. اپیتلیوم زاینده در سراسر بیضه‌ها ناپیوسته است، لوبول‌های در حال پیوند، متداول هستند و اندک اسپرماتوسیت‌هایی که وجود دارند، تنها دارای مراحل نهایی اسپرماتوژنز (Sc_2)

St, Sz) می‌باشند. در این فاز، در بسیاری از گونه‌ها معمولاً در اطراف بیضه‌ها تکثیر اسپرماتوگونیایی رخ می‌دهد. مرحله بازسازی (باززایی) برای نرها با تکثیر اسپرماتوگونیایی در لوبول‌ها در سراسر بیضه‌ها شناخته می‌شود. برخلاف نرهای نابالغ، در مرحله بازسازی اسپرماتوزوآی باقیمانده می‌تواند در لوله‌های اسپرم و لومن لوبول‌های نرها باقی بماند و لومن از اغلب لوبول‌ها قابل تشخیص است. هیچ اسپرماتوسیتی در لوبول‌ها وجود ندارد و تنها مراحل اسپرماتوزنی موجود، علاوه بر میزان اندک اسپرماتوزوآی باقیمانده، اسپرماتوگونیای اولیه و ثانویه است.

تولید مثل در ماهیان، به فعالیت‌های هماهنگ هورمون‌های مختلف محور مغز-هیپوتالاموس-هیپوفیز-غده جنسی بستگی دارد که شامل فعالیت هورمون GnRH، هورمون گنادوتروپین و استروئیدهای جنسی می‌باشد. هر کدام از هورمون‌های مذکور دارای نقش خاصی در فرآیند گامتوزن در ماهیان مختلف می‌باشند. طبق بررسی‌های انجام شده در این مطالعه، مقدار هورمون‌های ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون در مرحله اسپرم‌ریزی افزایش یافت ولی باتوجه به غلظت بالای اندازه‌گیری شده هورمون تستوسترون در ماهیان کاملاً رسیده ($12/3 \pm 0/68$) این هورمون می‌تواند شاخص مناسبی برای تشخیص مرحله اسپرم‌ریزی فعال باشد. از طرف دیگر در مطالعات بافت‌شناسی ماهیان کاملاً رسیده در حال اسپرم‌ریزی، لومن پر از اسپرماتوزوآ بود که نشان‌دهنده مرحله انتهایی اسپرم‌ریزی فعال ماهی شاه‌کولی مهاجر به تالاب‌انزلی می‌باشد. مطالعه تغییرات هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی در جنس نر و ماده شاه‌کولی در زمان بعد از تخم‌ریزی به منظور حفظ ذخایر و اعمال مدیریت کارآمد و مناسب شیلاتی برای مطالعه بعدی پیشنهاد می‌گردد.

منابع

- Abbassi F., Oryan S., Matinfar A. 2004. Interaction of ovarian development and gonadal hormones in *Epinephelus coioides* of Persian Gulf. Pajouhesh and Sazandegi, 79: 72–80. (In Persian).
- Asadi eidivand A., Mousavi M., Fatemi tabatabaï R., Zakeri M., Zangooi N. 2011. Variation of steroid hormone in (*Tenualosa ilisha*) during the spawning phase and after spawning. Third National congress on Animals and Food, Boushehr. (In Persian).
- Berg L.S. 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. 469 p.
- Billard R., Breton B., Fostier A., Jalabert B., Weil C. 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: Salmonid and cyprinid models. In "comparative Endocrinology" (P.J. Gaillard and H. H. Boer, eds.). Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp: 37–48.

- Bogutskaya N.G. 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. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institute*, 94: 161-186.
- Brown-Peterson N.J., Wyanski D.M., Saborido Rey F., Macewicz B.J., Lowerre-Barbieri S.K. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *American Fisheries Society*, 3: 52-70.
- Campbell C.M., Fostier A., Jalabert B., Truscott B. 1980. Identification and quantification of steroids in the serum of rainbow trout during spermiation and oocyte maturation. *Journal of Endocrinology*, 85: 171-195.
- Eagderi S., Amiri B.M., Mirvaghefi A. 2006. A Histological study of testis structure and reproductive cycle in male bulatmai barbel (*Barbus capito*), migratory to Sefid-Rood and Pol-Rood rivers, *Iranian Journal of Natural Resources*, 59(1): 139-149. (In Persian).
- Erdogan O., Haliloglu H.I., Ciltas A. 2002. Annual cycles of serum gonadal steroids and serum lipids in *Capoeta capoeta umbla*, Guldenstaedt, 1772 (Pisces: Cyprinidae). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 26: 1093-1096.
- Fostier A., Jalabert B., Billard R., Breton B., Zohar Y. 1983. The gonadal steroidogenesis. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.), *Fish Physiology*, IXA. Academic Press, New York, 277-372 p.
- Ghelichi A., Ahmadi M.R., Oryan S., Jorjani S. 2004. Effect of Pituitary hormone, HCG, LRH-A₂ on sex steroid plasma in (*Mugil cephalus* L.). *Journal of Iranian marine biology*, 3(2, 3): 61-68. (In Persian).
- Golmoradzadeh A., Sajjadi M.M., Falahatkar B., Efatpanah I., Hamzehnezhad Bangoudi M. 2012. Effect of human chorionic gonadotropin (HCG) and Carp Pituitary extract (CPE) on plasma sex steroid hormones, stress parameters levels and spermatozoa quality in *Sander lucioperca* (pikeperch), *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 1(3): 65-84. (In Persian).
- Grier H.J., Taylor R.G. 1998. Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53: 521-542.
- Hoar W.S., Randall D.J., Donaldson E.M. 1983. *Fish physiology*. Vo. IX. Academic Press, INC., 477 p.
- Kazancheev, E.N. 1981: *Ryby Kaspiiskogo Morya* (Fishes of the Caspian Sea). *Lëgkaya i Pishchevaya Promyshlennost*, Moskva, 167p. (In Russian)
- Li G.L., Liu X.C., Lin H.R. 2007. Seasonal changes of serum sex steroids concentration and aromatase activity of gonad and brain in red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*). *Animal Reported Science*, 99: 156-166.

- Malison J.A., Procarione L.S., Barry T.P., Kapuscinski A.R., Kayes T.B. 1994. Endocrine and gonadal changes during the annual reproductive cycle of the freshwater teleost, *Stizostedion vitreum*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 473–484.
- Maruska K.P., Mizobe M.H., Tricas T.C. 2007. Sex and seasonal covariation of arginine vasotocin (AVT) and gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons in the brain of the half spotted goby. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 47: 129–144.
- Mateos J., Mananos E., Martinez Rodriguez G., Carillo M., Querat B., Zanuy S. 2003. Molecular characterization of sea bass gonadotropin sub units (α , FSH β and LH β) and their expression during the reproductive cycle. *General Comparative Endocrinology*, 133: 216–232.
- Matsuyama M.S., Adachi Y., Nagahama S. 1991. Annual reproductive cycle of the captive female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*: relationship to ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones. *Marine Biology*, 108: 21–29.
- Matty A.L. 1985. *Fish Endocrinology*. Croom Helm London, 160 p.
- Mylonas C.C., Fostier A., Zanuy S. 2010. Brood stock management and hormonal manipulation of reproduction. *Aquaculture*, 165: 516–534.
- Nikolsky G.V. 1963. *The Ecology of fishes*. Academic Press, London, 350 p.
- Nikoo M., Rahmani H., Ghomi M.R., Asadollahpour A., Zarei M., Bavand E. 2010. Serum sex steroid hormones (testosterone, 17 β -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. (In Persian).
- Oryan S. 1994. Reproductive from the medicine and biological views. Publication of Jahad University institution, 39–50 p. (In Persian).
- Pankhurst N.W., Carragher J.F. 1991. Seasonal endocrine cycles in marine teleosts. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, 91. Proceeding of Fish Symposium, Sheffield, UK. pp:131–135.
- Pankhurst N.W., Hilder P.I., Pankhurst P.M. 1999. Reproductive conditions and behavior in relation to plasma levels of gonadal steroids in the spiny damselfish, *Acanthochromis polyacanthus*. *General and Comparative Endocrinology*, 11: 53–69.
- Parenti L.R., Grier H.J. 2004. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integrative and Comparative Biology*, 44: 333–348.
- Patino R., Yoshizaki G., Thomas P., Kagawa H. 2001. Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: the two stage concept and its mechanism. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 129(B): 427–439.

- Patterson D.A., Macdonald J.S., Hinch S.G., Healy M.C., 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.
- Razavi saiiad B. 1990. Assessment and management of osteocytes fish and economical of Caspian Sea. Center of fishery investigation, Guilan province, 90 p. (In Persian).
- Rinchar 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.
- Rinchar J., Kestemont R., Heine R. 1997. Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fishes. II. Sex steroid and plasma protein phosphorus concentrations. *Journal of Fish Biology*, 50: 169–180.
- Sen U., Mukherjee D., Bhattacharyya S.P., Mukherjee D. 2002. Seasonal changes in plasma steroid levels in Indian major carp *Labeo rohita*: influence of homologous pituitary extract on steroid production and development of oocyte maturational competence. *General and Comparative Endocrinology*, 128: 123–134.
- Shreck C.B., Moyel P.B. 1990. *Methods for fish biology*. American fisheries society. Bethesda, Maryland, USA, 684 p.
- Stequert B., Rodriguez J.N., Cuisset B., Le Menn F. 2001. Gonadosomatic index and seasonal variations of plasma sex steroids in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the western Indian Ocean Aquatic Living Resources, 14: 313–318.
- Suresh D.V.N.S., Baile V.V., Prasada Rao P.D. 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.
- Tyler C.R., Pottinger T.G., Santos E., Sumpter J.P., Price S.A., Brooks S., Nagler J.J. 1996. Mechanisms controlling egg size and number in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 54: 8–15.
- Unal G., Karakisi H., Elp M. 2006. Levels of some ovarian hormones in the pre and post spawning periods of *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811 and the post ovulatory structure of follicles, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 30: 427–434.
- Vosoughi G.H., Mostajir B. 2002. *Fresh water fishes*. University of Tehran Publication, 317 p. (In Persian).
- Vladi T.V., Afzelius B.A., Bronnikov G.E. 2002. Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. *Biology of Reproduction*, 66: 98–105.
- Yaron Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49–73.