

## مطالعه ساختار ماکروسکوپی و میکروسکوپی غده جنسی خیار دریایی (*Holothuria leucospilota*)

حسن مروتی<sup>۱\*</sup>، فاطمه قبادیان<sup>۲</sup>، احمد سواری<sup>۲</sup>، سید محمد باقر نبوی<sup>۲</sup>، حسین ذوالقرنین<sup>۲</sup>

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

(۲) گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۹ مهر ماه ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۲۴ فروردین ماه ۱۳۹۰)

### چکیده

باتوجه به اهمیت خیارهای دریایی و ناشناخته ماندن آنها در کشور ما، هرگونه مطالعه در این باره می تواند ارزشمند باشد. لذا این تحقیق در زمینه بیولوژی تولید مثل و بررسی غدد جنسی از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی در گونه *Holothuria leucospilota* انجام شد. در این مطالعه، نمونه برداری از خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota*، در یک دوره یک ساله به صورت ماهیانه، در منطقه بستانه هرمزگان، در خلیج فارس، صورت گرفت. ۱۲۴ عدد نمونه ماده و ۱۰۸ عدد نمونه نر بررسی گردید. در مطالعه ماکروسکوپی بررسی رنگ غدد جنسی، شمارش تعداد توبول ها و اندازه گیری طول و قطر آنها مورد نظر بود. جهت مطالعات هیستولوژیکی و مورفومتریک غدد جنسی، پس از انجام مراحل آماده سازی نمونه های بافتی به روش معمول، مقاطع پارافینی ۵ میکرونی تهیه شده، با رنگ های هماتوکسیلین-ئو. زین مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند، قطر توبول ها غدد جنسی با میکرومتر عدسی چشمی و با بزرگنمایی  $\times 4$ ، در سه ناحیه ابتدا، میانه و انتهای توبول، اندازه گیری شد. غدد جنسی از توبول های رشته ای تشکیل شده که در گونه مذکور، در ماده ها صورتی رنگ و در نرها کرم رنگ می باشد. با بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی ۵ مرحله رسیدگی جنسی تعیین گردید: (۱) رشد اولیه، (۲) رشد یافته، (۳) رشد پیشرفته، (۴) رسیده یا بالغ، (۵) پس از تخم ریزی. نتایج زیست سنجی غدد جنسی نشان داد، نرها دارای تعداد توبول های بیشتر، باریک تر و بلندتر نسبت به ماده ها بودند. تعداد، طول و قطر توبول ها نیز با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی از مرحله ۱ تا ۴ افزایش و در مرحله ۵ کاهش می یابد. رابطه بین تعداد توبول ها و وزن غده جنسی نیز به دست آمده که ضریب تعیین ( $R^2$ ) نموداران در جنس نر  $0/73$  و در جنس ماده  $0/80$  بود.

واژه های کلیدی: خیار دریایی، *Holothuria leucospilota*، خلیج فارس، غدد جنسی، رسیدگی جنسی.

ارزی در رابطه با صادرات آنها، هیچ گونه استفاده ای از این جانوران با ارزش، در کشور ما صورت نمی گیرد.

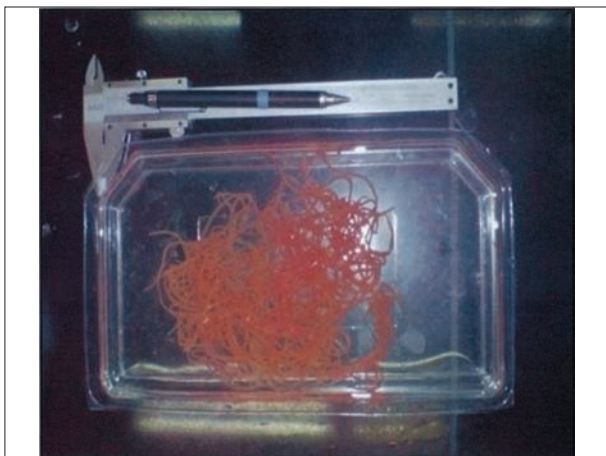
باتوجه به اهمیت خیارهای دریایی و ناشناخته ماندن و عدم انجام تحقیق در زمینه های مختلف در مورد آنها، در کشور ما، هرگونه مطالعه در این باره، می تواند به بالا بردن سطح آگاهی علمی در مورد این منابع با ارزش کمک نماید، تا با داشتن اطلاعاتی جامع در مورد آنها، بتوان در آینده، به روش اصولی از ذخایر آن استفاده نمود. در این تحقیق، به دلیل عدم وجود مطالعات در کشور ما، در زمینه بیولوژی تولید مثل و بررسی غدد جنسی از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی در خیارهای دریایی، از جمله گونه *Holothuria leucospilota* در بندر بستانه (استان هرمزگان) سعی بر آن بوده است تا با ارائه کلیدی از مراحل مختلف رسیدگی جنسی، و بررسی ارتباط بین ویژگی های مورفومتریک غدد جنسی، به تسهیل مطالعات آتی در زمینه بیولوژی تولید مثل این گونه کمک نمود تا در حفظ ذخایر طبیعی گونه مذکور از هر نوع خطر و تهدید آتی و احتمال انقراض و همچنین انجام پروژه های تکثیر و پرورش آن در آینده، تلاش نمود. در راستای این هدف، موارد ذیل مورد بررسی قرار گرفت:

تهیه مقاطع بافتی از مراحل مختلف رسیدگی جنسی، اندازه گیری وزن غدد جنسی نر و ماده، شمارش تعداد توبول های غده جنسی در جنس

### مقدمه

خیاران دریایی در شاخه خار پوستان (Echinodermata) رده هولوتورین ها (Holothuroidea) جای دارند و در طی دوران تکاملی ۵۴۰ میلیون سال پیش در اقیانوس ها ظاهر شده اند (۱). در حال حاضر ۱۵۰۰ گونه خیار دریایی در آب های سراسر جهان شناسایی و گزارش شده است. این جانوران از اجزای مهم زنجیره غذایی در اکوسیستم های معتدل و آبسنگ های مرجانی بوده و نقش مهمی به عنوان پوده خوار و یا معلق خوار ایفا می کنند. آنها مسئول بهم زدن و مخلوط کردن رسوبات بوده ضمن تسریع باز چرخه مواد پوده ای، باعث نفوذ اکسیژن در رسوبات می شوند (۳). خیاران دریایی به طور عمده بین آبسنگ های مرجانی زندگی می کنند و البته در بسترهای شنی و گلی هم یافت می شوند، عمق زندگی آنها نیز متفاوت است و اکثر گونه ها در منطقه بین جزر و مدی زندگی می کنند، اما تعداد کمی نیز در اعماق اقیانوس ها بسر می برند (۴). سم خیارهای دریایی دارای خواص ضد ویروس، ضد سرطان، ضد باروری و ضد تومور بوده و در صنعت دارو سازی مصارف زیادی دارد (۵). با وجود این که محیط دریایی منبع عظیمی از این موجودات در اختیار ما گذاشته است، متأسفانه به دلیل عدم آگاهی از فواید تغذیه ای، دارویی و حتی سودآوری





تصویر ۱- غدد جنسی خیار دریایی بالغ جنس نر (سمت چپ) و ماده (سمت راست).

ضخامت حداکثر ۰/۵ سانتیمتر از قسمت‌های مختلف توبول‌های غدد جنسی برداشت و به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین سالیین ۱۰ درصد قرار داده شد. جهت مطالعات هیستولوژیکی و مورفومتریک غدد جنسی، پس از انجام مراحل آماده‌سازی نمونه‌های بافتی به روش معمول، مقاطع پارافینی ۵ میکرونی تهیه شده، با رنگ‌های هماتوکسیلین-ائو.زین مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفتند. قطر توبول‌های غدد جنسی با میکرومتر عدسی چشمی و با بزرگنمایی  $\times 4$ ، در سه ناحیه ابتدا، میانه و انتهای توبول، اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که، به دلیل زیاد بودن تعداد توبول‌های تشکیل دهنده یک غده جنسی در بیشتر مراحل تکامل آن، ۲۰ درصد از تعداد کل توبول‌ها در هر غده جنسی مورد زیست‌سنجی قرار گرفت. به دلیل عدم دسترسی به کلید ماکروسکوپی کامل از این گونه، با توجه به ویژگی‌های ماکروسکوپی به خصوص رنگ غدد جنسی و با استفاده از کلید میکروسکوپی بافتی پنج مرحله‌ای مربوط به گونه *leucopilota* گونه *Holothuria* (۹) و کلید میکروسکوپی بافتی چهار مرحله‌ای مربوط به گونه *Holothuria whitmaei* (۱۰) مراحل ماکروسکوپی تکامل غدد جنسی برای دو جنس نر و ماده تعیین گردید.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های مختلف در پژوهش حاضر، بوسیله نرم افزارهای EXCEL ۲۰۰۷ و نرم افزار آماری SPSS ۱۱/۵ تحلیل و بررسی شده است.

### نتایج

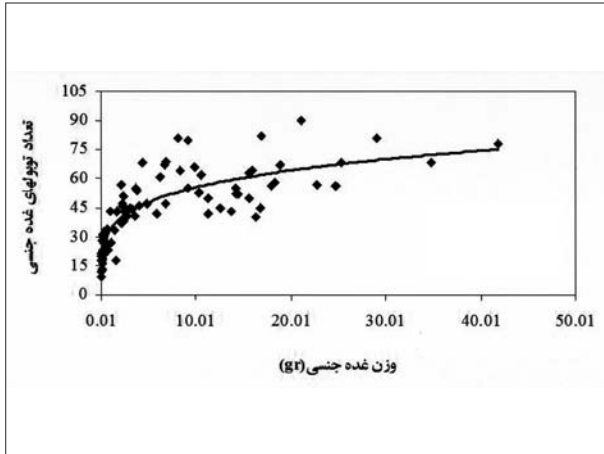
روند تغییرات میانگین تعداد توبول‌های تشکیل دهنده غده جنسی با توجه به مراحل مختلف رسیدگی جنسی، مربوط به هر دو جنس نر و ماده در تصویر (۲) نشان داده شده است. بیشترین میانگین تعداد توبول‌ها در جنس نر مربوط به مرحله ۴ رسیدگی جنسی با مقدار  $21/51 \pm 60/92$  عدد و در جنس ماده نیز مربوط به مرحله ۴ رسیدگی جنسی با مقدار  $16/38 \pm 56/17$  عدد می‌باشد. کمترین میانگین تعداد توبول‌ها در هر دو جنس نر و ماده، مربوط به مرحله ۱ رسیدگی جنسی، به ترتیب با اندازه  $31/26 \pm 11/11$

نر و ماده، اندازه‌گیری طول توبول‌ها و قطر آنها، بررسی تغییرات پارامترهای اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، بررسی ارتباط وزن غدد با تعداد توبول‌های تشکیل دهنده آن.

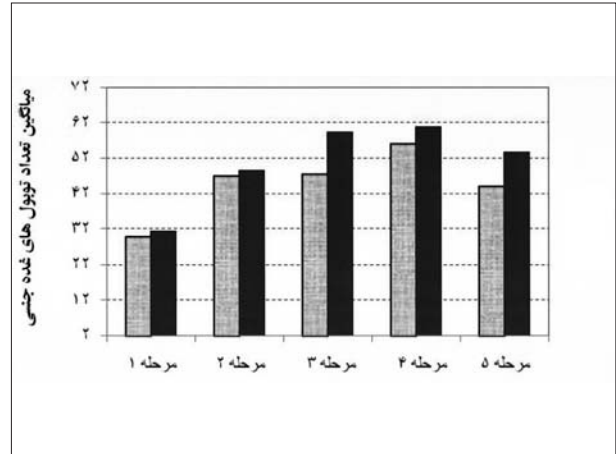
### مواد و روش کار

به دلیل عدم وجود دوشکلی جنسی در مورد خیارهای دریایی عمل تعیین جنسیت را تنها از طریق کالبد شکافی و مشاهده غدد جنسی نر و ماده و تفاوت رنگی این غدد در جنس نر و ماده، می‌توان انجام داد (۶). برای این کار، نمونه‌ها را از سطح پشتی درون سینی تشریح قرار داده سپس با استفاده از یک اسکالپل بخش جلویی بدن را از سطح پشتی شکافته تا غدد جنسی مشاهده گردد. با توجه به رنگ غده جنسی به جز در مراحل اولیه تکامل جنسی، تعیین جنسیت صورت می‌گیرد. در این گونه، غده جنسی ماده به رنگ صورتی و در جنس نر کرم رنگ می‌باشد (تصویر ۱). در یک جمعیت خیار دریایی که غدد جنسی به طور همزمان تکامل می‌یابند و توبول‌های تشکیل دهنده آن بعد از تخم‌ریزی جذب می‌شوند، غده جنسی را برای دوره‌ای معین نمی‌توان مشاهده نمود یعنی افراد، در این دوره، فاقد غدد جنسی اند (۷). در بررسی ماکروسکوپی، دو صفت رنگ و وزن غدد جنسی، پس از تعیین جنسیت نمونه‌ها، غدد جنسی در فرمالین بافر ۱۰ درصد، فیکس شدند. آنگاه سایر بررسی‌های ماکروسکوپی، روی نمونه‌های فیکس شده صورت گرفت. ویژگی‌های مورد بررسی شامل: شمارش تعداد توبول‌های تشکیل دهنده غده جنسی، طول توبول‌های غده جنسی و قطر توبول‌ها بودند، که مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند (۸). بررسی این موارد در تشخیص مراحل رسیدگی جنسی اهمیت دارد. برای اندازه‌گیری وزن غدد جنسی، از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. طول توبول‌های غدد جنسی نر و ماده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. برای بررسی‌های میکروسکوپی، ۵ تا ۱۰ نمونه غده جنسی از کل نمونه‌های هر ماه، برای بررسی‌های بافت‌شناسی، برداشته شد (۱۱). جهت تهیه مقاطع بافتی، نمونه‌هایی با

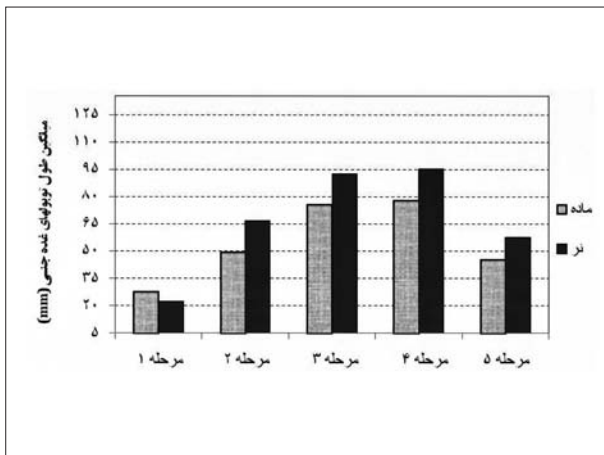




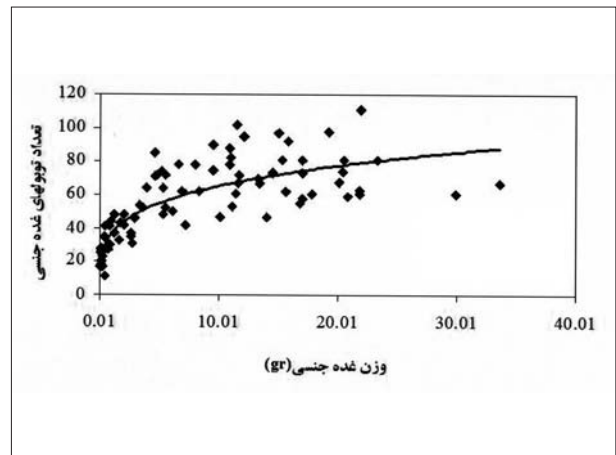
تصویر ۳- نمودار ارتباط بین تعداد توبولهای غده جنسی و وزن غده جنسی ماده (تخمندان).  $R^2=0.803, y=34.081x^{0.2121}$



تصویر ۲- میانگین تعداد توبولهای تشکیل دهنده غدد جنسی، در مراحل مختلف تکامل جنسی نر و ماده. ماده ■ نر ■



تصویر ۵- میانگین طول توبولهای غده جنسی، در مراحل مختلف تکامل جنسی، جنس نر و ماده.



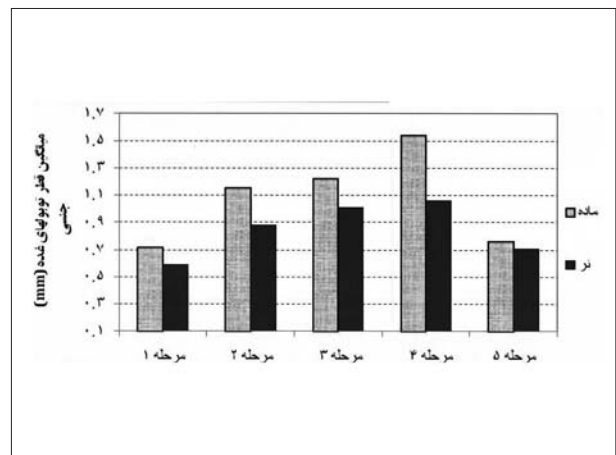
تصویر ۴- نمودار ارتباط بین تعداد توبولهای غده جنسی و وزن غده جنسی نر (بیضه).  $R^2=0.7379, y=37.045x^{0.2467}$

ماده، وجود اختلاف معنی داری ( $p > 0.05$ ) را بین دو جنس نشان داد. همچنین ارتباط بین تعداد توبولهای غده جنسی و وزن غده جنسی (GW)، در دو جنس نر و ماده به دست آمد که نمودار مربوط به آنها، برای جنس ماده در در تصویر (۳) و برای جنس نر در تصویر (۴) مشخص گردیده است ( $R^2=0.7379, y=37.045x^{0.2467}$ ). با استفاده از اطلاعات به دست آمده از زیست سنجی ۱۲۴ عدد خیار دریایی جنس ماده، رابطه بین تعداد توبولهای غده جنسی و وزن غده جنسی به صورت نمایی به دست آمد که معادله آن به صورت زیر می باشد. ضریب تعیین (R) نمودار مربوط به آن نیز، برابر با  $0.803$  گردید ( $R^2=0.803, y=34.081x^{0.2121}$ ) (تصویر ۳).

$$y = 0.2121 \cdot GW^{0.803} \quad (3)$$

رابطه مذکور برای ۱۰۸ عدد خیار دریایی جنس نر، به صورت معادله نمایی زیر می باشد. ضریب تعیین (R) نمودار مربوط به آن، برابر با  $0.7379$  مشخص گردید (تصویر ۴).

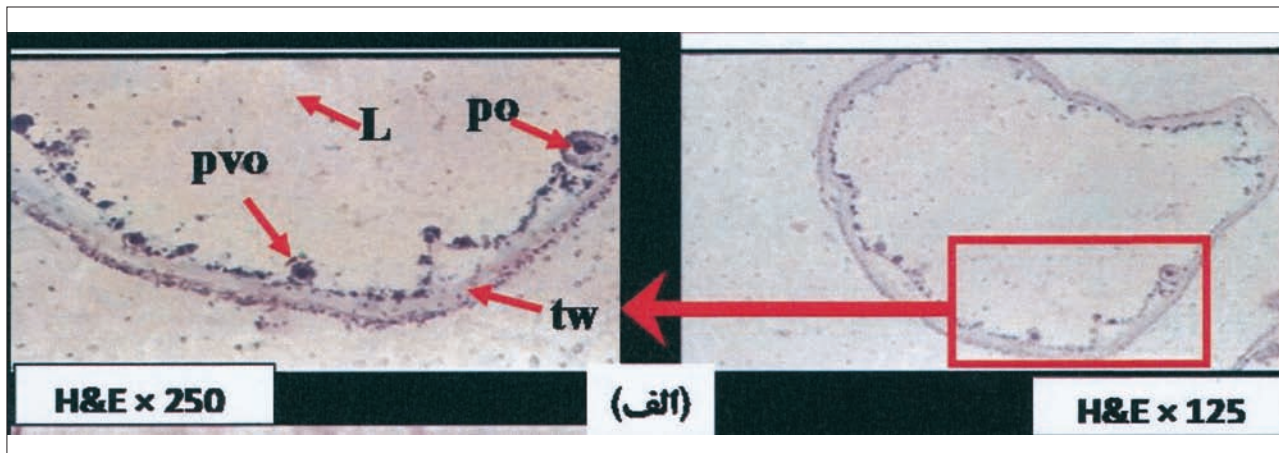
$$y = 0.2467 \cdot GW^{0.7379} \quad (4)$$



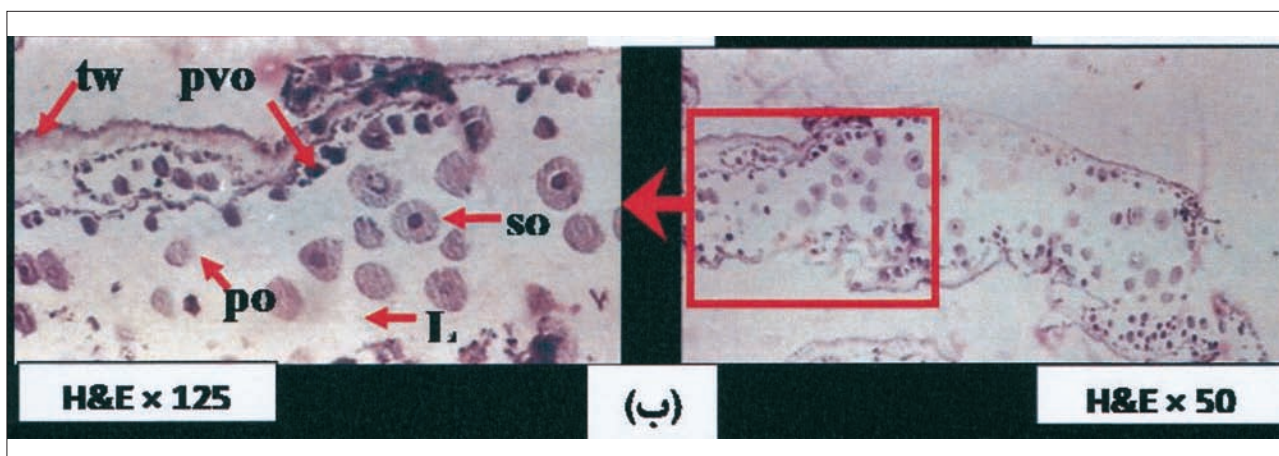
تصویر ۶- میانگین قطر توبولهای غده جنسی، در مراحل مختلف تکامل جنسی، جنس نر و ماده.

عدد برای جنس نر و  $0.14 \pm 0.06$  عدد برای جنس ماده، می باشد. نتایج آزمون t-test برای مقایسه میانگینهای تعداد توبولهای غده جنسی نر و





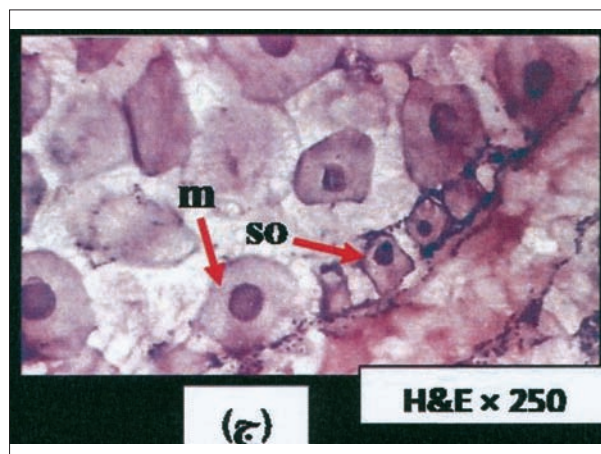
تصویر ۷- میانگین قطر توبول‌های غده جنسی، در مراحل مختلف تکامل جنسی، جنس نر و ماده.



تصویر ۸- نمای ماکروسکوپی از مراحل مختلف تکامل غده جنسی، در جنس ماده خیار دریایی *Holothuria leucospilota*: مرحله ۱ (Early growth) الف)، مرحله ۲ (Growth) ب)، مرحله ۳ (Advanced growth) ج)، مرحله ۴ (Mature) د)، مرحله ۵ (Post spawning) ه).

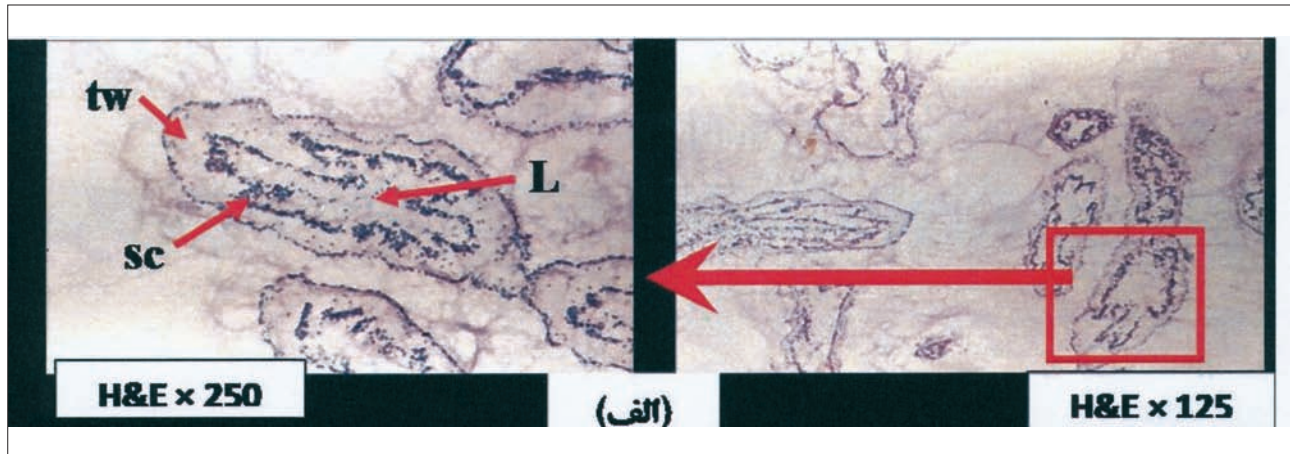
مختلف رسیدگی جنسی نر و ماده، در تصویر ۵ نشان داده شده است. بیشترین میانگین طول توبول‌ها در جنس نر مربوط به مرحله ۴ رسیدگی جنسی با مقدار  $95/48 \pm 34/47$  میلی‌متر و در جنس ماده نیز مربوط به مرحله ۴ رسیدگی جنسی با مقدار  $77/69 \pm 24/80$  میلی‌متر می‌باشد. کمترین میانگین طول توبول‌ها در هر دو جنس نر و ماده، مربوط به مرحله ۱ رسیدگی جنسی، به ترتیب با اندازه  $22/39 \pm 8/51$  میلی‌متر برای جنس نر و  $27/40 \pm 14/52$  میلی‌متر برای جنس ماده، می‌باشد. نتایج آزمون t-test برای مقایسه میانگین‌های طول توبول‌های غده جنسی نر و ماده، وجود اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) را بین دو جنس نشان داد.

روند تغییرات میانگین قطر توبول‌های غده جنسی با توجه به مراحل مختلف رسیدگی جنسی نر و ماده، در تصویر ۶ نشان داده شده است. بیشترین میانگین قطر توبول‌ها در هر دو جنس نر و ماده مربوط به مرحله ۴ رسیدگی جنسی به ترتیب با مقدار  $1/05 \pm 0/36$  میلی‌متر  $1/53 \pm 0/36$  میلی‌متر می‌باشد. کمترین میانگین قطر توبول‌ها در هر دو جنس نر و ماده، مربوط به مرحله ۱ رسیدگی جنسی، به ترتیب با اندازه  $0/58 \pm 0/21$  میلی‌متر

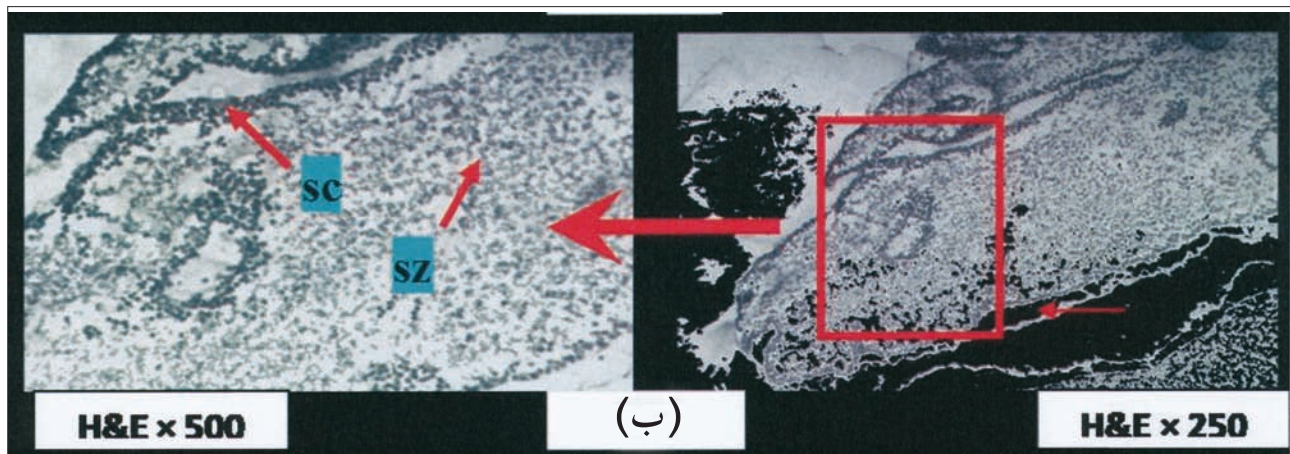


تصویر ۹- نمای ماکروسکوپی از مراحل مختلف تکامل غده جنسی، در جنس نر خیار دریایی *Holothuria leucospilota*: مرحله ۱ (Early growth) الف)، مرحله ۲ (Growth) ب)، مرحله ۳ (Advanced growth) ج)، مرحله ۴ (Mature) د)، مرحله ۵ (Post spawning) ه).

روند تغییرات میانگین طول توبول‌های غده جنسی با توجه به مراحل



تصویر ۹- نمای میکروسکوپی بافتی از مراحل مختلف تکامل غده جنسی، در جنس ماده خیار دریایی *Holothuria leucospilota*: مرحله ۱ (Early growth) (الف)، مرحله ۲ (Growth) (ب)، مرحله ۳ (Advanced growth) (ج)، مرحله ۴ (Mature) (د)، مرحله ۵ (Post spawning) (ه).



تصویر ۱۰- نمای میکروسکوپی بافتی از مراحل مختلف تکامل غده جنسی، در جنس نر خیار دریایی *Holothuria leucospilota*: مرحله ۱ (Early growth) (الف)، مرحله ۲ (Growth) (ب)، مرحله ۳ (Advanced growth) (ج)، مرحله ۴ (Mature) (د)، مرحله ۵ (Post spawning) (ه).

غده جنسی نسبت به مرحله قبلی بیشتر و به رنگ صورتی پررنگ تر در می آید.

مرحله ۴) رسیده یا بالغ (Ripe/Mature): در این مرحله غده جنسی به رنگ قرمز مایل به نارنجی دیده می شود.

مرحله ۵) پس از تخم ریزی (Spent/Postspawning): در این مرحله توبول های گنادی حالت چروکیده دارند و به رنگ قهوه ای کم رنگ دیده می شوند که به تدریج اندازه شان کوچک تر شده و در نهایت جذب می شوند و ناپدید می گردند.

مراحل ماکروسکوپی رسیدگی غده جنسی در نرها: مرحله ۱) مرحله رشد اولیه (early growth): در این مرحله توبول های تشکیل دهنده غده جنسی در هردو جنس، کوچک و توخالی به نظر می رسند و بی رنگ و شفاف اند.

مرحله ۲) رشد (Growth): در این مرحله توبول های تشکیل دهنده غده جنسی بلندتر می شوند، تعدادشان بیشتر و به رنگ سفید مایل به کرم

برای جنس نر و  $0.71 \pm 0.31$  میلی متر برای جنس ماده، می باشد. نتایج آزمون t-test برای مقایسه میانگین های طول توبول های غده جنسی نر و ماده، وجود اختلاف معنی داری ( $p > 0.05$ ) را بین دو جنس نشان داد.

در این تحقیق، با بررسی غدد جنسی نر و ماده خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota*، از لحاظ ماکروسکوپی و میکروسکوپی، ۵ مرحله رسیدگی جنسی برای دو جنس نر و ماده، مشخص گردید.

مراحل ماکروسکوپی رسیدگی غده جنسی در ماده ها: مرحله ۱) مرحله رشد اولیه (early growth): در این مرحله توبول های تشکیل دهنده غده جنسی در هردو جنس، کوچک اند، توخالی به نظر می رسند و بی رنگ و شفاف اند.

مرحله ۲) رشد (Growth): در این مرحله توبول های تشکیل دهنده غده جنسی بلندتر می شوند، تعدادشان بیشتر و به رنگ صورتی کم رنگ دیده می شوند.

مرحله ۳) رشد پیشرفته (Advanced growth): در این مرحله رشد



مانده و رهاسازی نشده، در بعضی قسمت‌های آن دیده می‌شود.

رنگ دیده می‌شوند.

## بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که غده جنسی نر در مقایسه با غده جنسی ماده از توبول‌های بلند و باریک با تعداد بیشتر تشکیل شده است در حالی که در جنس ماده توبول‌ها کوتاه و قطور و تعدادشان کمتر است. همچنین با رشد غده جنسی از مرحله ۱ تا ۴ تعداد، طول و قطر توبول‌ها در هر دو جنس افزایش می‌یابد ولی در مرحله ۵ کاهش می‌یابد که احتمالاً نشان‌دهنده این است که توبول‌های غده جنسی در مرحله بعد از تخم‌ریزی، جذب می‌شوند.

همچنین تعداد توبول‌ها با وزن غده جنسی در هر دو جنس نر و ماده همبستگی بالایی را نشان داد (تصویر ۴، ۳).

مطالعه گونه *Stichopus hermanni* در جزیره کیش نیز در بررسی تعداد توبول‌های غده جنسی را مشابه این تحقیق گزارش نمود، تعداد توبول‌ها در افراد نر بیشتر از افراد ماده‌ها گزارش شده است (۱۲).

در مطالعه بر روی گونه *Holothuria leucospilota* در بندر Darwin در استرالیا شمالی نیز نتایج مشابهی به دست آمد. در این مورد بیان شد که، اندازه توبول‌های تخمدان (طول و قطر) با پیشرفت مراحل جنسی از مرحله اولیه تا بارور، افزایش یافت و نیز کمترین و بیشترین تعداد توبول به ترتیب در مراحل اولیه و باور دیده شد (۷). در بررسی ۳ گونه *nobilis* و *Holothuria fuscogilva*، *Thelenota ananas* در New Caledonia نیز نتایج مشابهی به دست آمد. در این باره عنوان گردید که، با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی پارامترهای طول و قطر غده جنسی از مرحله اولیه رشد تا بلوغ افزایش یافته و در مرحله پس از تخم‌ریزی کاهش می‌یابد. همچنین در بررسی مذکور، توبول‌های غده جنسی نر بلندتر و باریک‌تر از غده جنسی ماده بودند (۱۴).

در مطالعه بر روی گونه *Holothuria scabra* در Tolaria، جنوب غربی اقیانوس هند، با بررسی رابطه تعداد توبول‌ها با وزن غده جنسی، عنوان شد که تعداد توبول‌ها با افزایش وزن غده جنسی افزایش می‌یابد. ضریب همبستگی رابطه تعداد توبول‌ها و وزن غده جنسی در تحقیق مذکور ۲۰/۷۲= به دست آمد (۱۵).

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر خود از دانشکده دامپزشکی و بخش بافت‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز همچنین از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و مرکز تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس اعلام نموده و از زحمات بی‌دریغ آقایان احسان توسل پور و رحمان ایرانشاهی و خانم لیلیا قزوینی تشکر می‌نمایند.

مرحله ۳) رشد پیشرفته (Advanced growth): در این مرحله رشد غده جنسی نسبت به مرحله قبلی بیشتر شده و به رنگ بژ درمی‌آید.

مرحله ۴) رسیده یا بالغ (Ripe/Mature): در این مرحله غده جنسی به رنگ کرم مایل به زرد دیده می‌شود.

مرحله ۵) پس از تخم‌ریزی (Spent/Post spawning): در این مرحله توبول‌های گنادی حالت چروکیده دارند و به رنگ قهوه‌ای کم رنگ دیده می‌شوند که به تدریج اندازه‌شان کوچک تر و در نهایت جذب شده و ناپدید می‌گردند.

مراحل میکروسکوپی رسیدگی غده جنسی در ماده‌ها: (مرحله ۱) مرحله رشد اولیه (early growth): در این مرحله، تخمک‌های پیش زرده‌ای به تعداد بیشتر و تخمک‌هایی که در مراحل اولیه زرده‌سازی اند به تعداد کمتر، در طول ژرمینال اپیتلیوم، دیده می‌شوند.

مرحله ۲) رشد (Growth): در این مرحله علاوه بر تخمک‌های پیش زرده‌ای و اولیه، تخمک‌های کوچک هم که تعدادشان در حال افزایش است، دیده می‌شوند.

مرحله ۳) رشد پیشرفته (Advanced growth): در این مرحله تخمک‌های کوچک در طول اپیتلیوم ژرمینال، و تخمک‌های بالغ و بزرگ در لومن دیده می‌شوند.

مرحله ۴) رسیده یا بالغ (Ripe/Mature): در این مرحله تخمک‌های بالغ و بزرگ همه فضای لومن را پر کرده‌اند و هیچ تخمک کوچکی در طول اپیتلیوم ژرمینال، دیده نمی‌شود.

مرحله ۵) پس از تخم‌ریزی (Post spawning): در این مرحله تخمک‌های باقی مانده و رهاسازی نشده و یا تخمک‌های باقی مانده در حال فاگوسیت شدن، در فضای خالی لومن دیده می‌شوند.

مراحل بافتی رسیدگی غده جنسی در نرها: (مرحله ۱) مرحله رشد اولیه (early growth): در این مرحله، تنها اسپرماتوسیت‌ها وجود دارند که در طول ژرمینال اپیتلیوم و با چین خوردگی‌های طولی موجود در فضای لومن، دیده می‌شوند.

مرحله ۲) رشد (Growth): در این مرحله علاوه بر اسپرماتوسیت‌های موجود در طول ژرمینال اپیتلیوم، اسپرماتوزوآها هم فضای لومن را به تدریج پر کرده‌اند.

مرحله ۳) رشد پیشرفته (Advanced growth): در این مرحله اسپرماتوسیت‌ها بسیار کم تراکم تر شده و اسپرماتوزوآها فضای لومن را کاملاً پر کرده‌اند.

مرحله ۴) رسیده یا بالغ (Ripe/Mature): در این مرحله اسپرماتوزوآها تمام فضای لومن را پر کرده و هیچ لایه زاینده‌ای با سلول‌های مراحل اولیه دیده نمی‌شود.

مرحله ۵) پس از تخم‌ریزی (Spent/Post spawning): در این مرحله فضای خالی طولانی در لومن دیده می‌شود که اسپرماتوسیت‌های باقی



## References

1. Alexander, M. K., Kim, J. (2000). Phylogeny of Holothuroidea (Echinoderta) inferred from morphology. Zool. J. Linn. Soc. 133: 63-81.
2. Bruckner, A., Johnson, K., Field, J. (2003). Conservation strategies for sea cucumbers: can a CITES Appendix II Listing promote sustainable international trade? SPC Beche- de- mer. Info. Bull. 18: 24-33.
3. Smirnov, A. V., Gebruk, A. V., Galkin, S. V., Shank, T. (2000). New species of holothurian (Echinodermata: Holothuroidea) from hydrothermal vent habitats. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 80: 321-328.
4. James, D.B. (2001). Twenty sea cucumbers from seas around India, NAGA. 24: 4-9.
5. Conand, C. (1998). Holothurians (Sea Cucumber, Class Holothuridea). FAO, Rome. Italy.
6. Purwati, P., Loung-van, T. (2003). Sexual reproduction in a fissiparous holothurian species, *Holothuria leucospilota* Clark 1920 (Echinodermata: Holothuroidea). SPC Beche-de-mer. Info. Bul. 18: 33-38.
7. Chen, Y. (2003). A preliminary study of the Maine Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*) Fishery. Apendix I: Development of standardized protocol for measuring biological characteristics of Maine sea cucumber. Northeast Consortium Program Development Grant. 686: 12-15.
8. Drumm, D., R. Loneragan. (2005). Reproductive biology of *Holothuria Leucospilota* in the Cook Islands and the implications of traditional fishing of gonads on the population. New Zeal. J. Mar. Fresh Res. 39: 141-156.
9. Shiell, G., Uthicke, S. (2005). Reproduction of commercial sea cucumber *Holothuria whitmaei*, (Holothuroidea: Aspidochirotida) in the Indian and Pacific ocean regions of Australia. Mar. Biol. 148:973-984.
10. Gabr, H. R., Ahmed, A. I., Hanafy, M. H., Lawrence, A. J., Ahmed, M. I., El-Etreby, S. G. (2004). Mariculture of sea cucumber in the Red Sea - the Egyptian xperience. Advances in sea cucumber aquaculture and management: FAO Fish.Tech.Pap. 463. Rome, FAO.
11. Tehranifard. A., Uryan, Sh., Vosoghi, Gh., Fatemy, S.M., Nikoyan, A. (2006). Reproduction cycle of *Stichopus herrmanni* from Kish Island of Iran, SPC Beche- de- mer. Info. Bull. 24: 22-27.
12. Conand, C. (1981). Sexual cycle of three commercially important holothurian species (Echinodermata) from the lagoon of New Caledonia. Bull. Mar. Sci. 31: 523-543
13. Rasolofonirina, R., Väitilingon, D., Eeckhaut, I., Jangoux, M. (2005). Reproductive Cycle of Edible Echinoderms from the South- Western Indian Ocean II: The sandfish *Holothuria scabra* (Jaëger, 1833). Western Indian ocean. J. Mar. Sci. 4: 61-75.



# STUDY OF THE MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF GONADAL TUBULES IN THE SEA CUCUMBER (*HOLOTHURIA LEUCOSPILOTA*)

Morovvati, H.<sup>1\*</sup>, Ghobadiyan, F.<sup>2</sup>, Savari, A.<sup>2</sup>, Nabavi, S.M.B.<sup>2</sup>, Zolgharnein, H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

<sup>2</sup>Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

(Received 11 October 2010 , Accepted 13 April 2011)

## Abstract:

Due to the importance of sea cucumbers and the paucity of information about the status of Iranian populations, this study was necessary. Therefore, the biology of the reproduction system and macroscopic and microscopic examinations of the sexual glands of *Holothuria leucospilota* were carried out in this study. Data were obtained from monthly sampling of *H. leucospilota* during a one-year period on the Bustaneh Coast of the Persian gulf, Hormozgan, Iran. A total of 124 females and 108 males were collected. The gonads were found to be composed of many tubules. The gonad color of males of this species is creamy, while female gonads are pink to reddish-orange. Macroscopic and microscopic features of the gonads were used to assess maturity stages. The studied macroscopic features were gonad color, gonad weight, their length and diameter, and the number of tubules. Microscopic examinations included histological studies of hemotoxylin and eosin (H&E) stained texture slides. Based on these criteria, five stages of maturity were determined for both sexes: early growth (1), growth (2), advanced growth (3), mature (4), and post spawning (5). The tubules were found to be longer and narrower in males than in females. The measured biometric factors of gonadal tubules developed from stage 1 to stage 4 of sexual maturity and declined in stage 5. The relationship between the number of tubules and the gonad weight was also calculated. The coefficient of a diagram was determined as 0.73 for male and 0.80 for female *H. leucospilota*.

**Key words:** *Holothuria leucospilota*, Persian gulf, sexual maturity stages.

\*Corresponding author's email: hmorovvati@scu.ac.ir, Tel: 0611-3330073, Fax: 0611-3360708