مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ، (JSIAU)
شماره ۶۲/۱ زمستان ۱۳۸۵

# بررسی ساختار بافت تخمدان تون هوور و زرده ( *Thunnus tonggol* ) ( *Euthunnus affinis* ) در استان هرمزگان ( خلیج فارس )

**سورنا ابدالی**
دانشکده علوم و فنون دریایی ، واحد تهران شمال ، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران ، ایران

چکیده

**در این بررسی خصوصیات بافتی تخمدان ماهیان تون زرده[1] *و تون هوور*[2] در خلیج فارس طی اسفند ماه ۱۳۷۶ تا پایان آبان ماه ۱۳۷۷ مورد بررسی قرار گرفت . تخمدان چهل عدد ماهی از هر کدام از گونه های فوق الذکر نمونه برداری و در محلول بوئن تثبیت گردید . نمونه ها مطابق با روش استاندارد بافت شناسی ، آبگیری ، شفاف سازی و پارافینه شده و سپس برش مقاطع عرضی ۵ میکرونی از آنها تهیه و بوسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند . تخمدان گونه های فوق الذکر فاقد لایه زاینده[3] می باشد. تفاوت بافتی بین سه بخش میانی ، ابتدایی و انتهایی تخمدان در هیچکدام از مراحل جنسی وجود ندارد . ( $P<0.01$ ) چهار مرحله جنسی شامل نابالغ ، در حال بلوغ ، در حال رسیدن و رسیده در ماهیان مورد آزمایش مشاهده گردید . اندازه قطر ائوسیت در تخمدان تون هوور طی روند اووژنز دارای مراحل : نابالغ ( حدود ۲۴ میکرون ) ، در حال بلوغ ( بیش از ۵۰ میکرون ) ، در حال رسیدن ( ۱۰۰ میکرون ) و رسیده ( بیش از ۲۰۰ میکرون ) و برای تون زرده مراحل جنسی نیز شامل : نا بالغ ( بیش از ۱۲ میکرون ) ، در حال بلوغ ( کمتر از ۴۰ میکرون ) ، در حال رسیدن ( کمی کمتر از ۷۰ میکرون ) و رسیده ( کمی بیش از ۸۰ میکرون ) بوده و در مجموع تخمدان تون ماهیان از نوع نا هماهنگ[4] می باشد .**

***واژه های کلیدی*** **: بافت شناسی ، تخمدان ، تون زرده ، *Euthunnus affinis* ، تون هوور، *Thunnus tonggol*، خلیج فارس ، ایران .**

[1] -*Euthunnus affinis*
[2] -*Thunnus tonggol*
[3] -Germinal disk
[4] -Asynchronous

Archive of SID
www.SID.ir

**مقدمه**

همانطور که می دانیم ، آبزیان یکی از منابع مهم مواد غذایی برای انسان می باشند و روند رو به ازدیاد آلـودگی های اکوسیستم های آبی بویژه در دو دهه اخیر ، محیط زیست آبزیان را به مخاطره انداخته و از طرفی بـا صـید بـی رویه آبزیان نسل این موجودات در معرض خطر قرار گرفته است . لذا اگر بخواهیم از این منابع غـذایی ماننـد تـون ماهیان بنحو احسن استفاده کنیم ، بطوری که هیچ ضرری به نسل این موجودات به بار نیـاوریم بایـستی از مـدیریت ذخائر چنین موجوداتی اطلاع حاصل شود . از این رو لازم است این اطلاعـات در زمینـه اهـداف مـدیریتی باشـد . بنابراین ضروری است که تحقیقاتی از قبیل بیولوژی و فیزیولوژی تولید مثل این موجودات انجام گیـرد کـه بررسـی های بافت شناسی در اغلب موارد بطور مستقیم و یا غیر مستقیم سهم قابل تـوجهی در جهـت کـسب اطلاعـات در زمینه فوق را به همراه داشته است .(۱)

مطالعاتی که درباره اعمال فیزیولوژیک انجام شده ، نشان داده است کـه رفتـار و صـفات ریختـی آبزیـان بـا شرایط محیطی منطبق است .(۲) بنابراین با تغییر شرایط محیطی ، بسیاری از ماهیان برای سازگاری با شرایط جدیـد ، بمنظور پایداری نسل خود واکنش لازم را از خود نشان می دهند که این واکنش ها با گذشت زمان تغییری در اندام ها و بافت های مختلف بدن از جمله تخمدان ها را سبب می گردد .(۲)

تخمدان تون ماهیان از نوع تخم ریزی غیر هماهنگ می باشد و باید متذکر شد که ساختار بافت تخمـدان آنهـا همانند سـاختار کلـی تخمـدان ماهیـان از خـارج توسـط یـک لایـه کـه از جـنس بافـت هـم بنـدی اسـت کـه بـه ( *Tunica albuginea* ) معروف است پوشیده شده و داربست آن از نوع بافت هم بندی متراکم که حاوی رشـته های کلاژن می باشد و در مرکز تخمدان[1] ، تخمک ها در مراحل مختلف رسیدگی قرار دارند .(۳)

با توجه به جوان بودن علم بافت شناسی تا کنون در زمینه بافت شناسی تخمدان تون ماهیان در کـشور ، بجـز چند مورد مطالعاتی مواردی صورت نگرفته ، در این تحقیق سعی گردیده با ارائه تصاویری از مقاطع بافتی تخمـدان بنحوه عمل اووژنز الگوی تولید مثل آنها پی برد .

**مواد و روش کار**

برای تهیه بافت تخمدان تون ماهیان هوور و زرده از اسفند ماه ۱۳۷۶ تا آبان ماه ۱۳۷۷ از مناطق بنـدر عبـاس ، جاسک ، بندر لنگه نمونه هایی بصورت ماهانه جمع آوری شـده و تخمـدان آنهـا مـورد بررسـی قـرار گرفـت . در مجموع چهل ماهی در گروه های طولی مختلف از هر گونه جمع آوری شد ، پس از صـید ، زیـست سـنجی انجـام گرفت که شامل اندازه گیری طول و وزن بدن و همچنین اندازه گیری وزن تخمدان ماهی بکمک ترازوی دیجیتال بـا دقت ۰,۱ گرم بود نمونه برداری از ابتدا ، میانه و انتهای تخمدان بطور جداگانه انجام گرفت و عملیات بافت شناسی روی آنها صورت پذیرفت .

برای تهیه مقاطع بافتی تخمدان ، ابتدای تخمدان را در محلول بوئن تثبیت نموده و مطـابق روش توضـیح داده شده توسط پوستی ( ۱۳۷۴ ) آبگیری و شفاف سازی انجام شد و با پارافین قالب گیری شدند . سپس از بافت هـای قالب گیری شده مقاطع ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند . مقاطع تهیه شـده بـا

[1] - Medula

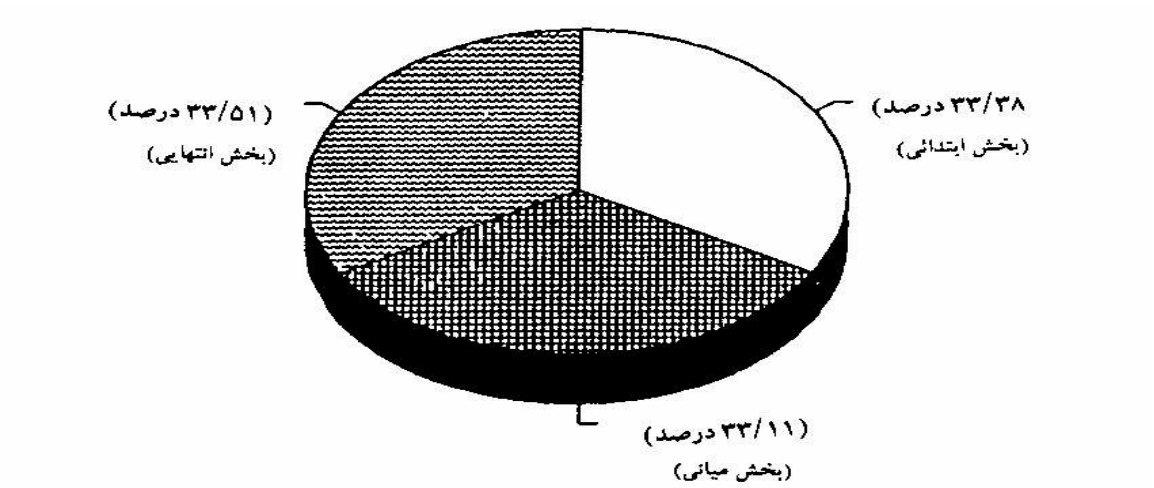
Archive of SID

www.SID.ir

استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند . ضمنا برنامه Quattro pro برای بررسی وجود و یا عدم وجود تفاوت معنی دار بین قسمت های مختلف تخمدان استفاده شد و برای تعیین فراوانی قطر تخمک در هر مرحله جنسی تخمدان از برنامه SPSS استفاده گردید .

**نتایج**

تخمدان ماهی مورد مطالعه از نظر خصوصیات بافتی دارای انواع ائوسیت های بالغ و در حال بلوغ می باشد . در عین حال بررسی های انجام شده روی مقطع بافتی در سه ناحیه ابتدائی ، میانی و انتهایی تخمدان اختلاف معنی داری در فراوانی تعداد تخمک ها از خود نشان نمی دهند.($P<0.01$)




نمودار ( ۱) : فراوانی تعداد تخمک ها در بخش های مختلف تخمدان ( $P<0.01$ )

مطالعه نتایج حاصل از بررسی های بافتی تخمدان تون ماهیان زرده و هوور از وجود ۵ مرحله جنسی حکایت می کند که این مراحل عبارتند از :

مرحله ۱) نا بالغ : این مرحله به دو زیر مرحله تقسیم می شود .

الف ) مرحله نابالغ که از لحاظ جنسی تمایز نیافته است .

در این مرحله نمی توان گناد را از لحاظ جنسیت تشخیص داد . سلول های زاینده اولیه[1] در حال تکوین و تکامل و تمایز به ائوگونی می باشد . استروما از نوع بافت هم بند رشته ای و متراکم می باشد و مملو از رشته های کلاژن است . کلاژن ها در اثر رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین برنگ قرمز در می آیند . در این مرحله مورفولوژی تخمدان مشابه مرحله ( ب ) می باشد . تنها تفاوت این دو مرحله را فقط از نظر بافتی می توان جستجو کرد . باید ذکر نمود که ائوسیت ها در این مرحله با اتصالات سلولی بسیار محکم بهم چسبیده اند .

ب ) مرحله نابالغ که از لحاظ جنسی تمایز یافته است .

در این مرحله ائوگونی ها و ائوسیت های تازه تشکیل شده رویت می شوند و هنوز چربی در خود ذخیره نکرده اند . ماتریکس شامل استروما و فضای بین سلولی است که در پوشش مزوواریوم قرار گرفته است . در این مرحله ویتلین هنوز در سیتوپلاسم ذخیره نشده است . ( شکل ۱ ) میانگین قطر ائوسیت ها در ماهی تون هوور

[1] - Primordial germinal cells

Archive

www.SID.ir

حدود ۲۴ میکرون ( نمودار ۲ و ۳ ) و ( شکل ۵ ) قطر ائوسیت ها را در ماهی تون زرده بیش از ۱۲ میکرون نشان می دهد . ( نمودار ۷ و ۸ ) و همچنین تخمدان ها در هر دو گونه بشکل دو نوار بسیار باریک می باشند که رنگ آنها از ارغوانی کدر تا قهوه ای کدر متغیر بوده و یکی از مشخصات ائوسیت ها در این مرحله مانند مرحله قبل برداشتن اتصالات سلولی محکم است و تنها از نظر تمایز سلولی با مرحله قبل تفاوت دارد . البته باید ذکر نمود در پاره ای از برش های بافتی ائوسیت های مرحله الف در آن یافت می شوند .

**مرحله ۲ ) در حال بلوغ :**

در این مرحله ائوسیت ها هنوز چند وجهی هستند و ذرات گرانول زرده ابتدایی در سیتوپلاسم آنها مشاهده می شود . همچنین ائوسیت ها در مراحل پیشرفته تر نیز دیده می شود . ( نمودار ۹ ) که این نمودار تغییر اندازه ائوسیت ها را در ماهی هوور از مرحله ۲ تا ۵ را نشان می دهد و ( نمودار ۴ ) در ماهی تون زرده این پدیده را نیز نشان میدهد . تخمدان بشکل دو نوار قهوه ای کدر می باشد . اتصالات سلولی در این مرحله کم شده و بشدت ( مرحله ۱ ) نمی باشد . به مرحله ۲ مرحله برگشتی نیز گفته می شود . زیرا تخمدان پس از ( مرحله ۵ ) یا مرحله تخم ریزی به ( مرحله ۲ ) باز می گردد و فرایند اووژنز از سر گرفته می شود . ( شکل ۲ )

میانگین قطر ائوسیت ها در ماهی هوور بیش از ۵۰ میکرون بوده . ( نمودار ۳ ) و میانگین قطر ائوسیت های ماهی تون زرده کمتر از ۴۰ میکرون می باشد . ( نمودار۲ )

**مرحله ۳ ) در حال رسیدن :**

به این مرحله ، مرحله زرده سازی نیز گفته می شود . چرا که گناد روند تمایز بالغ شدن بکمک فرایند زرده سازی را دنبال می کند . در این مرحله سلول ها گرد و سیتوپلاسم مملو از گرانول های زرده می باشد . ذرات چربی بصورت حفرات تو خالی درون سلولی مشاهده می شود . ( شکل ۳ و ۷ ) در این مرحله تخمدان ها بشکل دو کیسه کشیده می باشند . رگ های خونی از زیر جدار دیواره تخمدان نمایان می گردد . میانگین قطر ائوسیت ها در ماهی هوور ۱۰۰ میکرون و برای ماهی زرده کمی کمتر از ۷۰ میکرون می باشد . ( نمودار شماره ۲ و ۳ ) در این مرحله بعلت زرده سازی و داشتن قطرات وذرات چربی اندازه قطر سلول ها ( ائوسیت ها ) افزایش می یابد . قطرات چربی بمنظور شناورسازی تخمک ها و ذخیره مواد غذایی لار آینده بکار می رود . ائوسیت های مراحل بالاتر را می توان در برش بافتی مشاهده نمود که (نمودار ۶ و ۱۰ ) این موضوع را نشان می دهند . اتصالات سلولی در این مرحله برای ائوسیت های ( مرحله ۳ ) به حداقل می رسد .

**مرحله ۴ ) رسیده :**

سیتوپلاسم ائوسیت ها مملو از گرانول های زرده می باشد . در واقع ( مرحله ۴ ) ادامه و تکمیل کننده مرحله ۳ می باشد . با این تفاوت که اندازه سلول ها و همچنین مقدار زرده و چربی با مرحله ۳ تفاوت دارد . به این مرحله ، مرحله کامل شدن زرده نیز گفته می شود که ائوسیت ها بیضوی تا دایره ای شکل می باشند . در این مرحله ، سلول های ( مرحله ۲ و ۳ و حتی ۵ ) نیز دیده می شود که در نمودار شماره ۷ و نمودار ۱۱ فراوانی قطر ائوسیت ها را در این مرحله می توان مشاهده نمود . این موضوع رامی توان چنین استنباط نمود که بطور کلی هر چه از مراحل پایینتر به مراحل بالا تر بنگریم در می یابیم که فضای بین سلولی بیشتر شده و سلول ها از هم فاصله

Archive of SID

www.SID.ir

می گیرند . اتصالات سلولی ائوسیت ها در این مرحله مانند مرحله ۳ می باشد . ( شکل ۴ و ۸ ) میانگین قطر ائوسیت ها را در این مرحله برای ماهی تون هوور بیش از ۲۰۰ میکرون ( نمودار ۳) و برای ماهی تون زرده بیش از ۸۰ میکرون ( نمودار ۲ ) نشان می دهند .

مرحله ۵ ) تخلیه :

در این مرحله موجود بمنظور تخم ریزی به آبهای دور از ساحل مهاجرت کرده و چون نمونه گیری در آب های نزدیک ساحل انجام گرفته ، این مرحله در بین نمونه ها دیده نشده است .

**بحث**

مطالعات گسترده ای درباره تغییر ساختار بافتی و مورفولوژی تخمدان در ماهیان استخوانی طی روند اووژنز توسط محققین مختلفی انجام شده است .[۲] که این تحقیقات نشان میدهد که ماهیان استخوانی از دو نوع تخم ریزی برخوردار می باشند . نوع اول در بیشتر ماهیان دیده می شود مانند قزل آلا و ماهیان آزاد که نوع تخم ریزی آنها همزمان ( Synchronous ) می باشند ، بدین معنی که تخمک های رسیده در یک زمان از تخمدان خارج می شوند ، در حالیکه در ماهیانی نظیر تون ماهیان تخم ریزی آنها همانطور که گفته شده از نوع ( Asynchronous ) می باشد . این نوع تخم ریزی به این موجودات امکان می دهد که به دفعات و زمان های مختلف تخم ریزی کنند که البته باید این نکته رامتذکرشدکه اوج تخم ریزی درماه های گرم سال می باشد.[۵و۶و۷] که از نتایج مطالعات بافت شناسی ماهیانی نظیر هوور و زرده نشان می دهند که این ماهیان در آب های خلیج فارس دارای ۵ مرحله جنسی مختلف می باشند و در هر مرحله می توان مراحل مختلف رسیدگی جنسی تخمک ها را مشاهده نمود [۷] که این موضوع تخم ریزی غیر همزمان این ماهیان را توضیح می دهد که البته این شواهد با نتایج مطالعات هیستولوژیک تخمدان گیدر که در آب های عمان توسط نگارنده انجام شده هماهنگی کامل دارد .[۸] از طرفی تحقیقات دیگر نشان میدهد که ماهی بعد از عمل تخم ریزی از مرحله جنسی ( مرحله ۵ ) به ( مرحله ۲ ) باز می گردد که این مرحله همانطور که گفته شده به مرحله برگشتی اطلاق می شود . با توجه به نکته فوق می توان چنین استنباط نمود که ماهیان هوور و زرده مانند خویشاوند خود گیدر از هم آوری دسته ای ( Batch fecundity ) پیروی می کنند .

البته شایان ذکر است که رشد ائوسیت های گیدر از سایر گونه های خویشاوند خود یعنی هوور و زرده از رشد مناسب تری برخوردار است .[۹] البته این پژوهش ها را محققینی نظیر ( Wallace ) در سال ۱۹۹۳ ارائه نمودند و نتایج مشابه را بهمراه داشته است . در عین حال در تمامی گونه های تون ماهیان مورد مطالعه ، رشد سریع قطر تخمک از مرحله ۳ به ۴ جنسی میتواند ناشی از فرایند آبگیری تخمک ها و نیاز متابولیکی تخمک بمنظور پروتئین سازی و بلوغ نهایی آنها باشد . یکی از عوامل رشد بلوغ ماهیان استخوانی همانطور که گفته شده عوامل زیست محیطی از جمله نور ، درجه حرارت ، شوری آب و ... می باشد که این عوامل در شرایط مناسب بر روی محور (H-P-G ) ( هیپوتالاموس ، هیپوفیز ، گناد ) را فعال می کند و باعث روند رشد ائوسیت ها میشود .[۱۱] از آنجایی که ماهیان عمدتا دارای رفتارهای تولید مثل زمان بندی شده ای می باشند مطالعه روند بلوغ با بررسی بافت شناسی و ریخت شناسی غدد جنسی قابل پیگیری است . از اینرو تغییرات ساختمانی و ریخت شناسی در سطح

Archive of SID

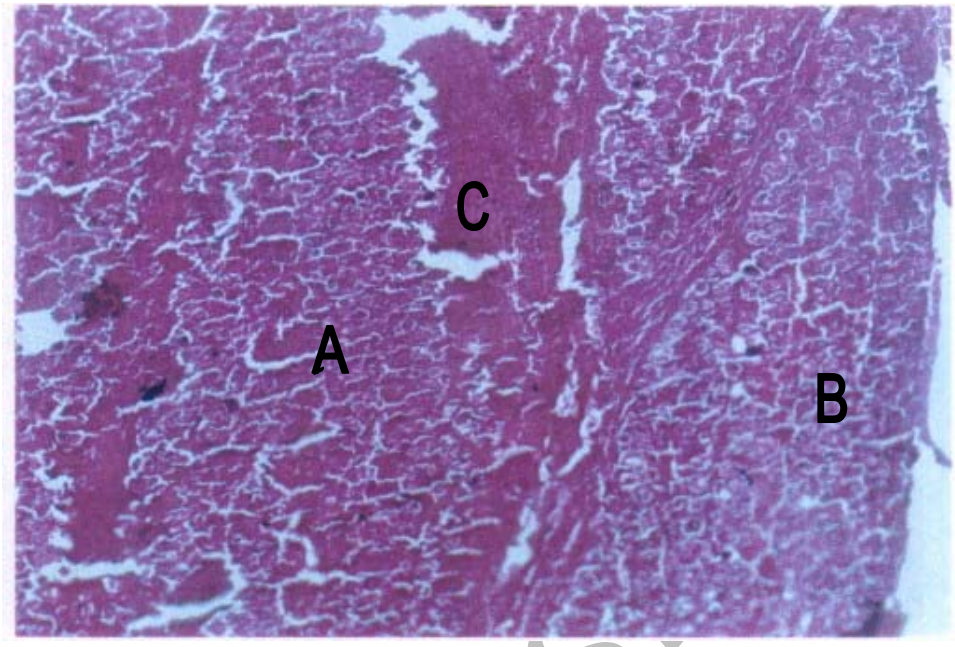
www.SID.ir

ائوسیت و تخمدان می تواند معرف مراحل مختلف بلوغ باشد . [۱۲] نتایج مشابهی که توسط محققین دیگر بدست آمده حاکی از این است که این ماهیان دارای مراحل مختلف جنسی بوده و در دفعات مختلف در یک فصل تخم ریزی می کنند . [۶ و ۱۳ و ۱۴] از برش بافتی تخمدان تون زرده و هوور چنین استنباط می شود که همانند گیدر فاقد (Germinal disk ) می باشد و پوشش زاینده مسئولیت تولید سلول های جنسی را برعهده دارد . یعنی از این ناحیه اووگونی ها تمایز یافته و داخل بخش مرکزی تخمدان گسیل می شوند . [۸] البته همانطور که در اوایل بحث گفته شد تخمدان تون ماهیان ناهمزمانی تخم ریزی را از خود نشان میدهد که وجود این نوع تخم ریزی در سایر ماهیان این خانواده به اثبات رسیده است . [۱۵]

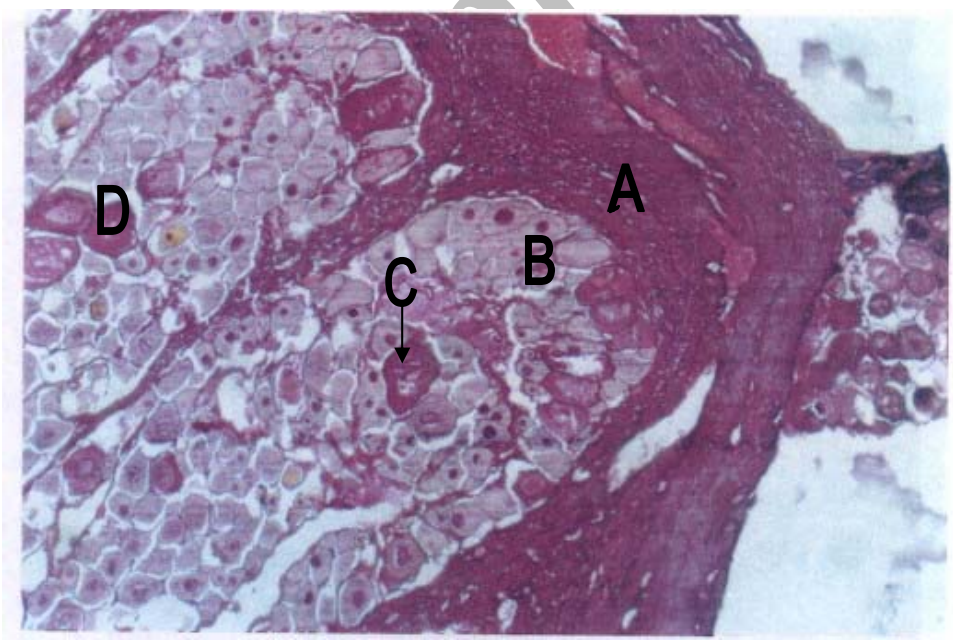
با این وجود تعداد مراحل جنسی گونه های فوق الذکر بستگی به درجه حرارت ، شوری آب و کلیه عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط دارد . از تعداد مراحل جنسی که بوسیله برش های بافتی مورد مطالعه بدست می آید ، می توان به روند رشد قطر اووسیت ها و نهایتا به الگوی تخم ریزی و زمان تخمینی تخم ریزی پی برد .

Archive of SID

www.SID.ir

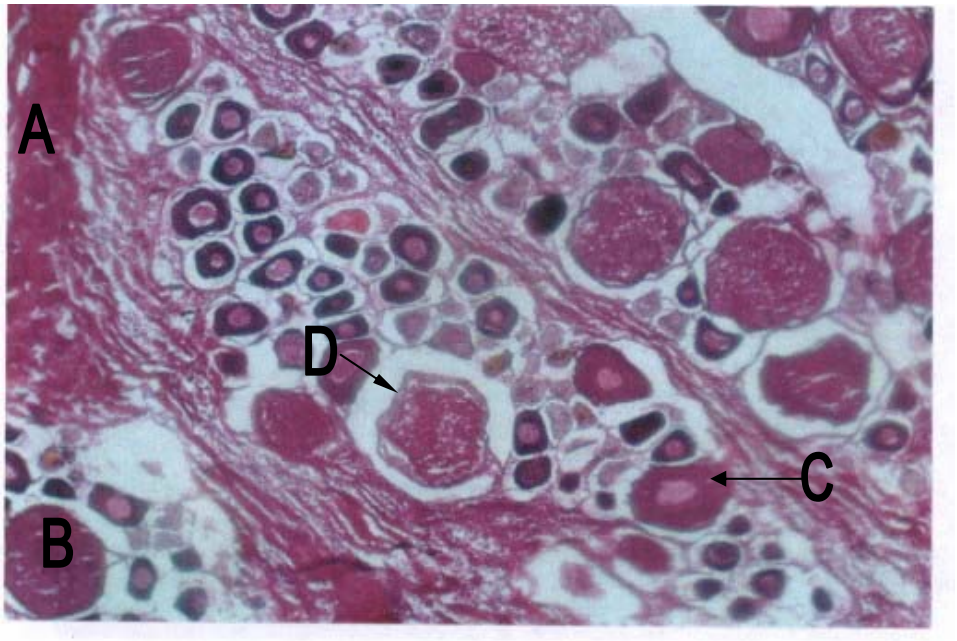



**شکل ۱ ـ مرحله اول تخمدان زرده A و B اووگونی ، C بافت هم بند متراکم**
**رنگ آمیزی ائوزین ـ هماتوکسیلین X ۱۸۰**



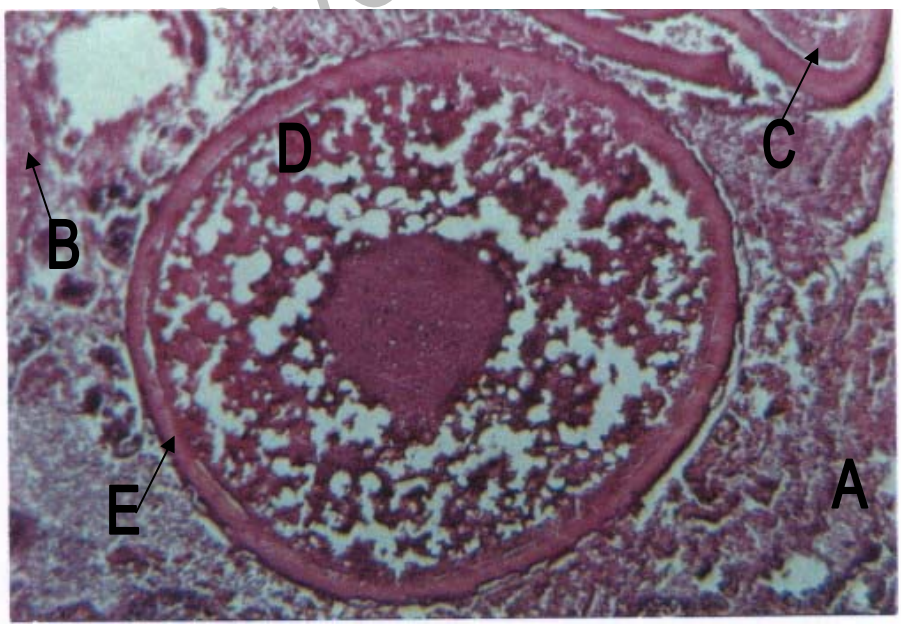

شکل ۲ ـ مرحله دوم تخمدان تون زرده A بافت هم بند متراکم ، B اووگونی ، C ائوسیت و D زرده اولیه
رنگ آمیزی ائوزین ـ هماتوکسیلین X ۹۰

www.SID.ir




شکل ۳ ـ مرحله سوم تخمدان تون زرده A بافت هم بند متراکم ، B اووسیت ، C زرده ، D قطرات چربی که بصورت حفرات توخالی در یک تخمک دیده می شوند .

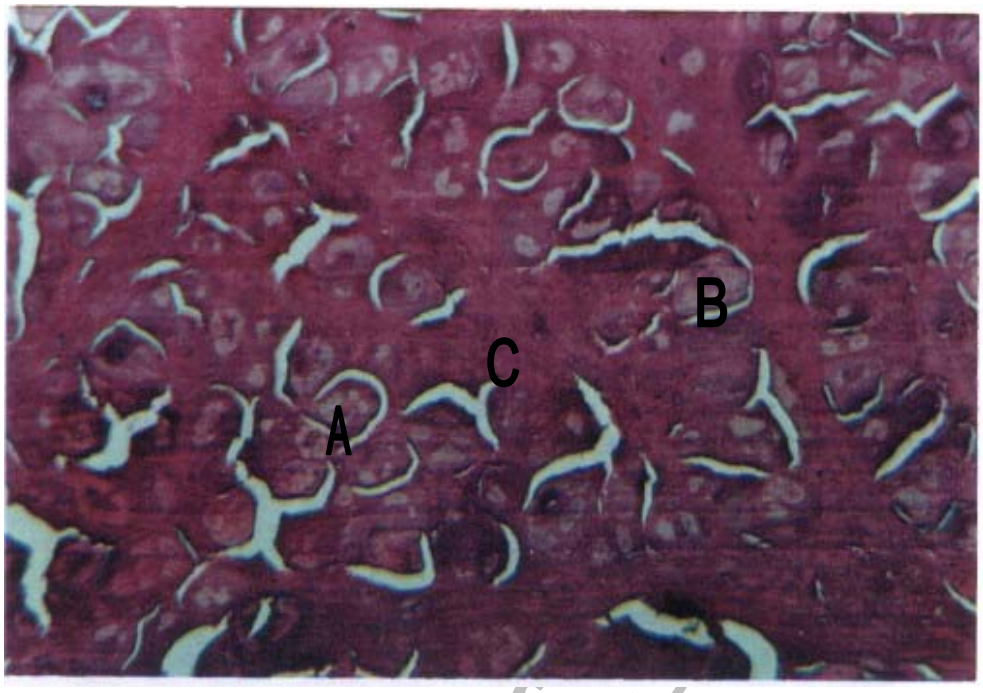
رنگ آمیزی ائوزین ـ هماتوکسیلین X ۱۸۰




شکل ۴ ـ مرحله چهارم تخمدان تون زرده A بافت هم بند متراکم ، B اووسیت مرحله ۲ ، C اووسیت مرحله ۳ ، D زرده و E اووسیت مرحله ۴ .

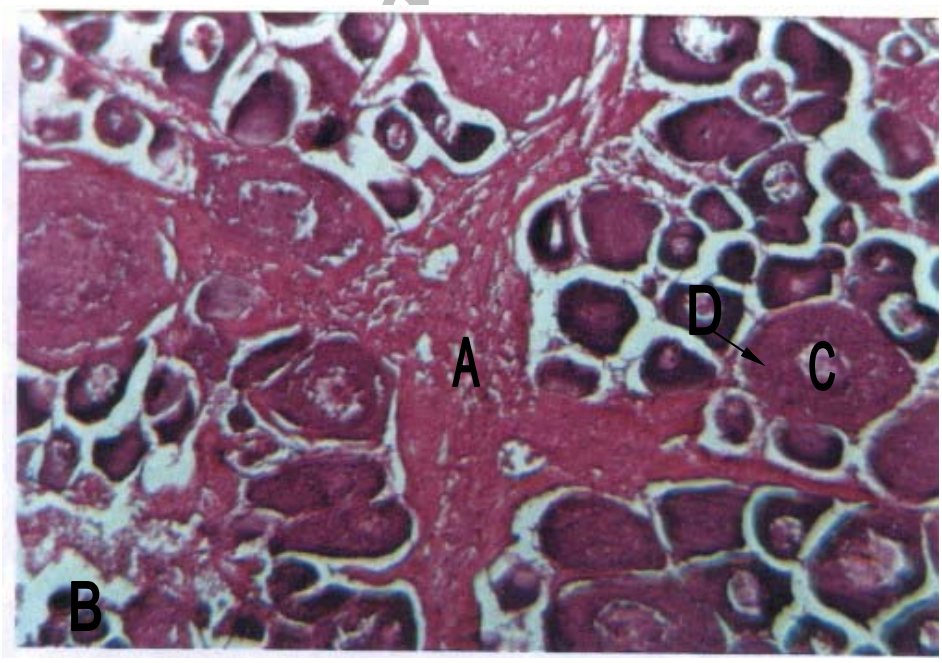
رنگ آمیزی ائوزین ـ هماتوکسیلین X ۳۵۷

www.SID.ir




**شکل ۵ ـ مرحله اول تخمدان تون هوور A و B اووگونی C بافت هم بند متراکم**

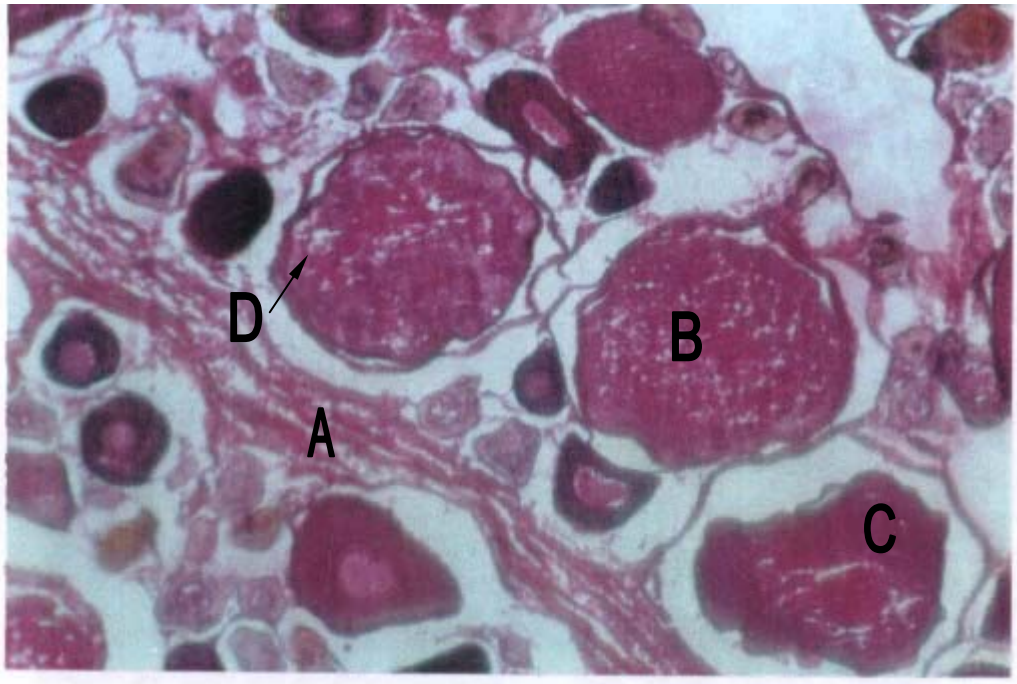
رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین X ۱۸۰



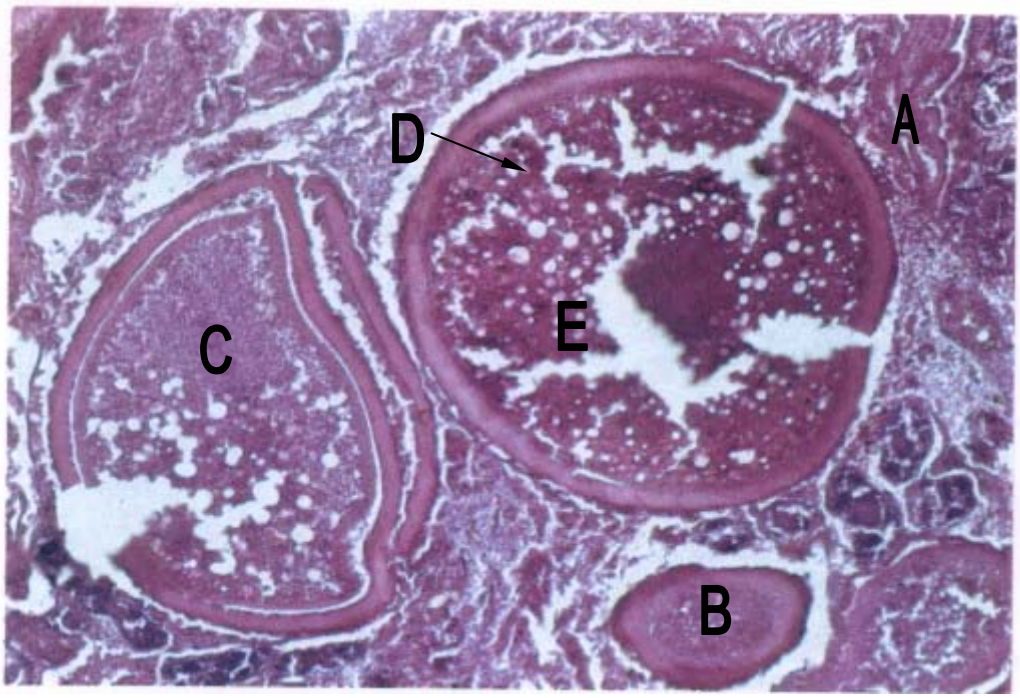

شکل ۶ ـ مرحله تخمدان تون هوور A بافت هم بند متراکم ، B اووگونی ، C ائوسیت ، D زرده اولیه

رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین X ۹۰

www.SID.ir

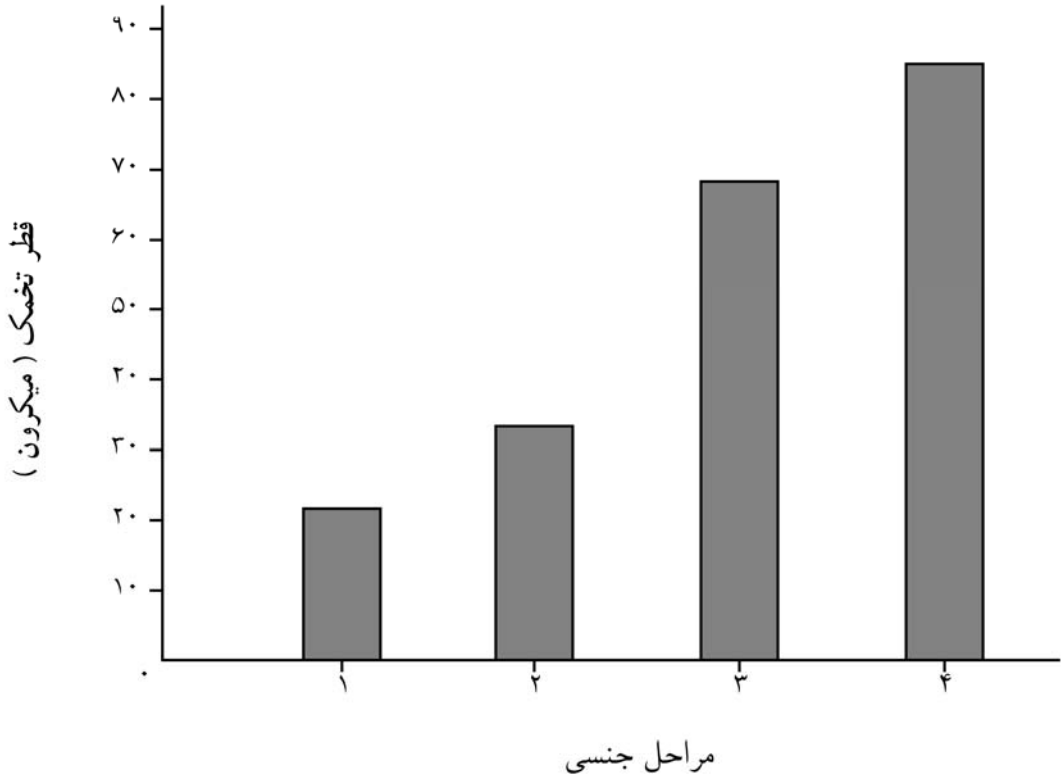



شکل ۷ ـ مرحله سوم تخمدان تون هوور A بافت هم بند متراکم ، B اووسیت ، C زرده ، D قطرات چربی
رنگ آمیزی هماتوکسیبین ـ ائوزین X ۱۸۰

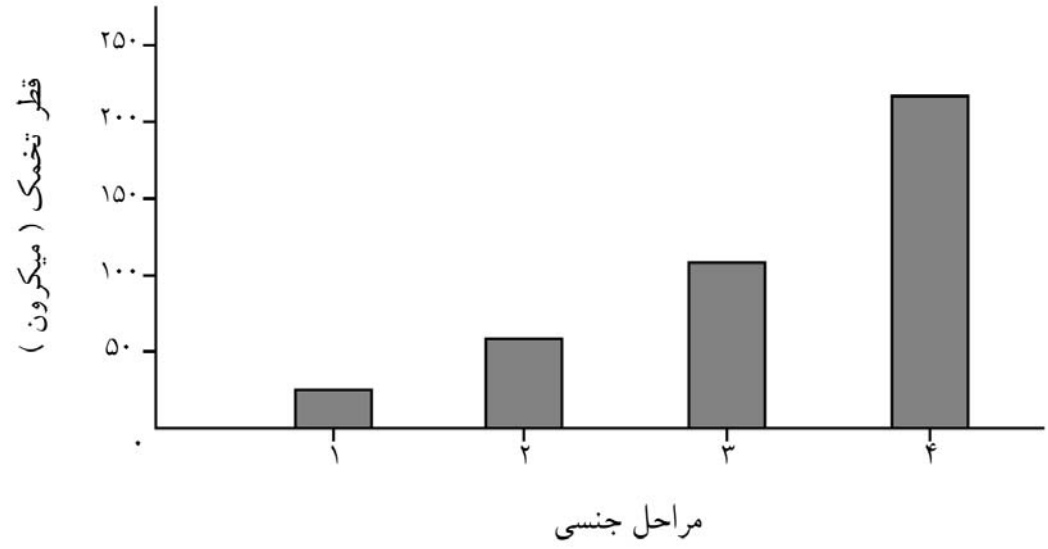



شکل ۸ ـ مرحله چهارم تخمدان تون هوور A بافت هم بند متراکم ، B مرحله ۲ اووسیت ، C مرحله ۳ اووسیت
، D زرده ، E مرحله ۴ اووسیت
رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین X ۱۸۰

www.SID.ir

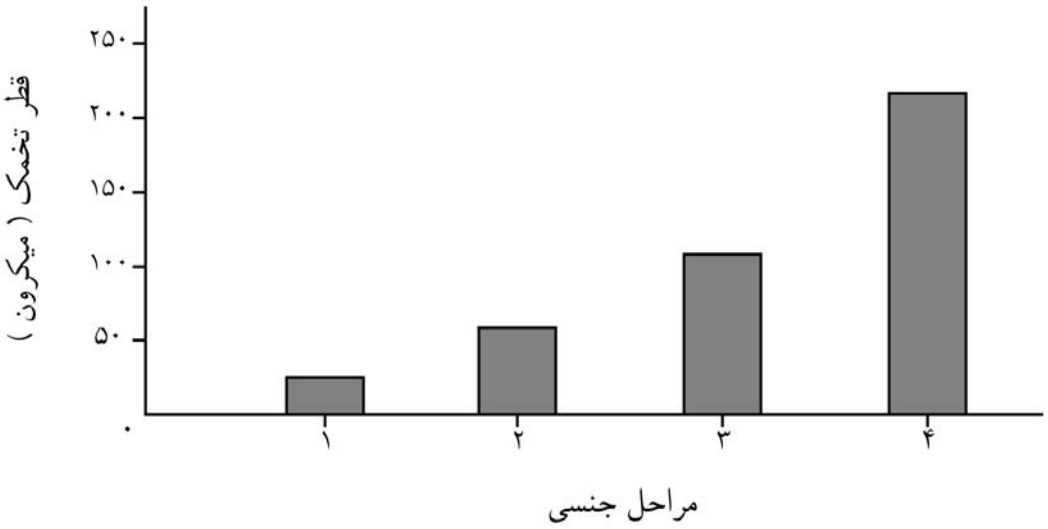



نمودار ۲ : میانگین قطر تخمک ها در مراحل جنسی در ماهی تون زرده

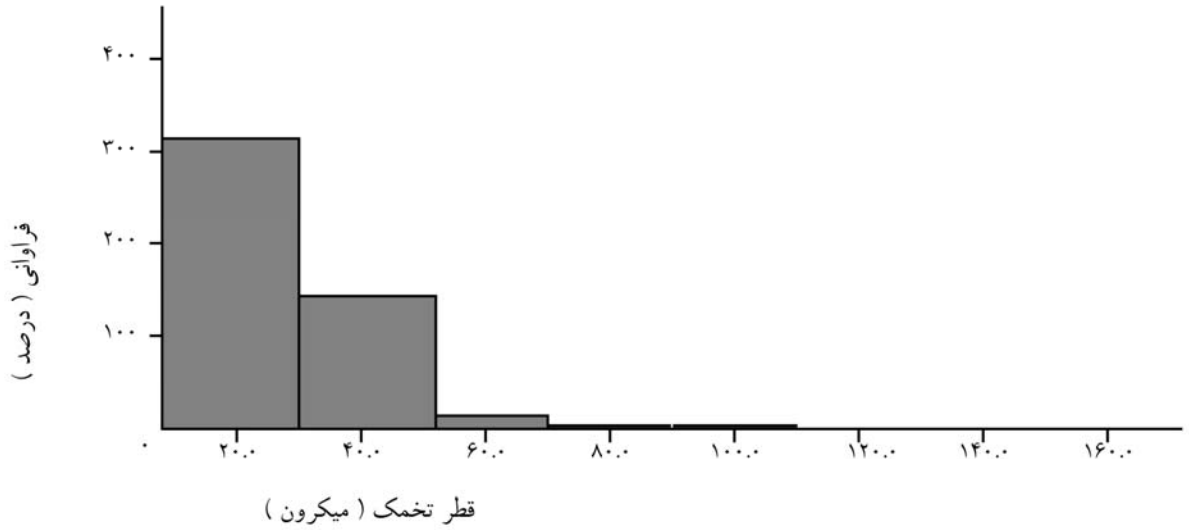



نمودار ۳ : میانگین قطر تخمک ها در مراحل جنسی در ماهی تون هوور

www.SID.ir

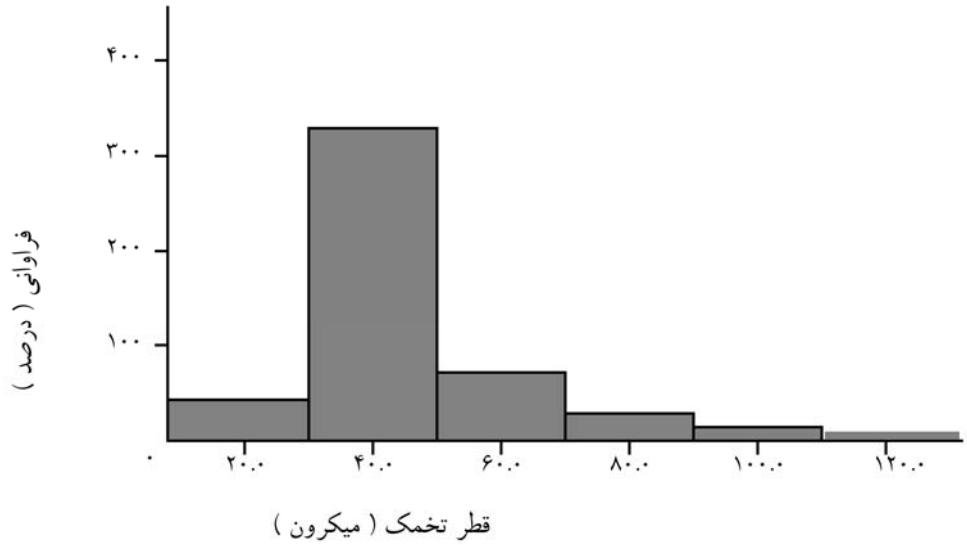



نمودار ۳ : میانگین قطر تخمک ها در مراحل جنسی در ماهی تون هوور

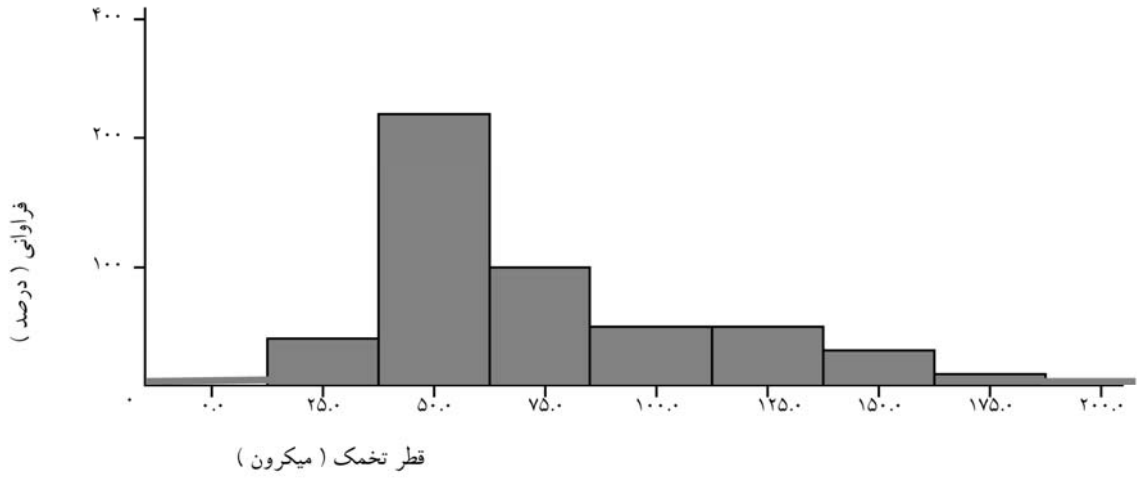



نمودار ۴ : فراوانی تخمک در مرحله اول جنسی در ماهی تون زرده

www.SID.ir

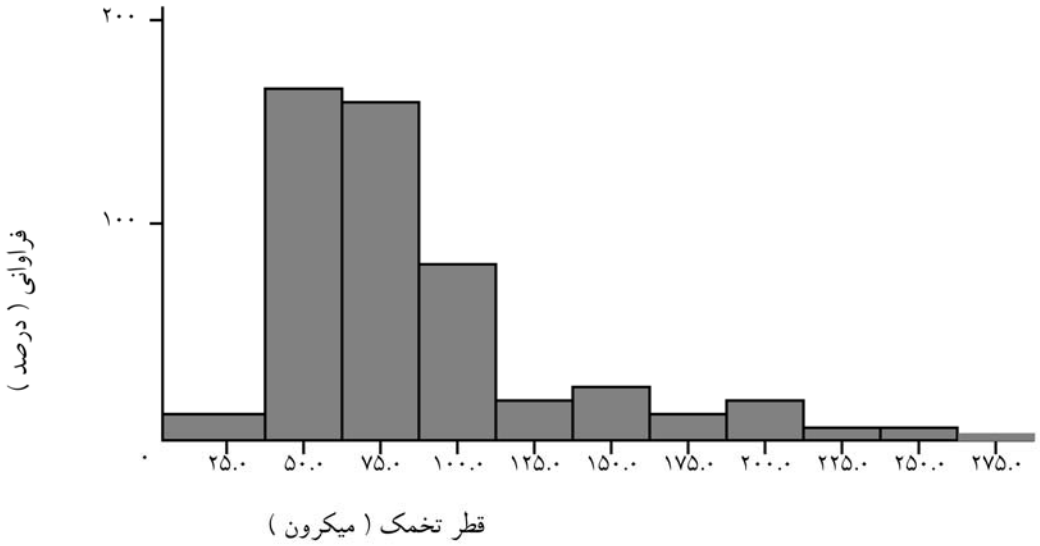



نمودار ۵ : فراوانی تخمک در مرحله دوم جنسی در ماهی تون زرده

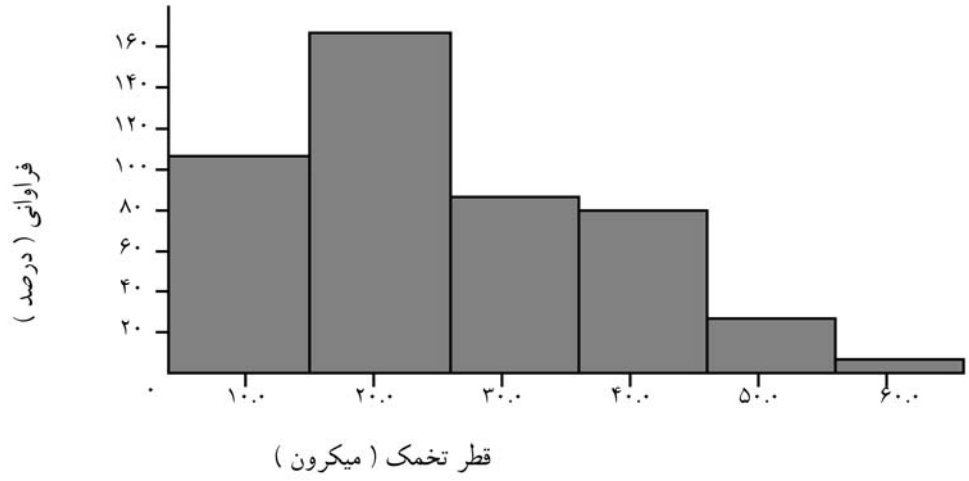



نمودار ۶ : فراوانی تخمک در مرحله سوم جنسی در ماهی تون زرده

www.SID.ir




نمودار ۷ : فراوانی تخمک در مرحله چهارم جنسی در ماهی تون زرده




نمودار ۸ : فراوانی تخمک در مرحله اول جنسی در ماهی تون هوور

www.SID.ir

## References


1- Poosti, A and sadegh Marvasti, A.,Comparational histology and histotechnique . Tehran University press, first edition, 480 (1996).

2- Trosov, V. Z., *Institute of international research of khaviar*, **205**, 310 (1964).

3- Altofo, U.V., Romanov, AA and dockviol, A.P., *International research institute of khaviar*, **217**, 408 (1986).

4- Akimova, N.V., and Ruban, G.I., *J . of Icthyology*, **133**, 15 (1993).

5- Nee Iakamtan, B., Kusuma, N and Bhatt, U.B., *Alled puloshers, Ltd*, **220**, 100 (1989).

6- Salem, S,B., Zak, M. I., EI–Gharabawy, M . M., EI-Shorbagy, I. K., and EI Boray, K.F., *Oceanogr. Fish. Egypt*, **20**, 235 (1999).

7- Sutuehanamma, G.P., Reddy, S. and Natarajan, R., *J. Mar. Bio 1. ASSS. Indio*, **30**, 57 (1981).

8- Oryan, Sh., Hosseinzadeh sahafi, H and Abdali, S., Histology of red tall Tuna ovary (*Thunnus Albacares*) in Chabahar area (Oman sea) Scientific magazine of Iranian fishjeries , **4**, 85 (2004).

9- Abdali, S., Histologic comparision of tuna ovaries in persian gulf, MS Tesis of Islamic Azad University North Tehran Branch, 87 (1999).

10- Wallace, R. A., and Selman, K., *Am. Zool*, **21**, 125 (1981).

11- Matty, A. J., *Fish endocrinology , Croom. Helm.*, **13**, 473 (1985).

12- Tyler, C. R., and Smpter, J. P., *Rev. Fish. Bio.*, **6**, 287 (1996).

13- Nagahama, T., *In "Fish Physiology "*(eds. W.S Hoar; D.J Randal and E.M. Donaldson ), Academic press. New york, USA, **9**, 223 (1983).

14- Yasaki, M., *FAO fisheries Technology*, **51**, 63 (1989).

15- Bhatti, M. N., and Al-Daham , N. K ., *J. Fish. Bio.*, **13**, 321 (1978).


Archive of SID

www.SID.ir