

مقایسه اندازه یاخته‌های گنادهای ماهی ماده پرورشی (*Huso huso*) در

مراحل مختلف رسیدگی جنسی

*مریم حسینی نژاد^۱، رضوان‌اله کاظمی^۲، محمود بهمنی^۲، سهراب دژندیان^۲ و علی حلاجیان^۲^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز،^۲انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

چکیده

در این تحقیق گنادهای ۷۵ فیله‌ماهی (*Huso huso*) ۳ و ۴ ساله پرورش یافته در استخرهای بتونی مراکز تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری (۵۰ عدد) و شهید مرجانی آق قلا (۲۵ عدد) از طریق بیوپسی مورد بررسی قرار گرفت پس از زیست‌سنجی و ثبت اطلاعات، تکه‌برداری از گنادهای انجام شد. کلیه برش‌های بافتی تهیه شده با استفاده از روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و لام‌های حاوی بافت آماده با میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفت. در فیله‌ماهی ماده کارگاه شهید مرجانی میانگین اندازه قطر سلول جنسی در مراحل III رسیدگی جنسی $385/3 \pm 73/6$ ، II رسیدگی جنسی $234/1 \pm 59/4$ و مرحله I رسیدگی جنسی $36/7 \pm 24/7$ میکرون و میانگین اندازه قطر هسته سلول در مراحل III رسیدگی جنسی $80/7 \pm 27/8$ ، II رسیدگی جنسی $63/8 \pm 10/8$ و مرحله I رسیدگی جنسی $14/5 \pm 10/5$ میکرون بود که نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنادار آماری ($P < 0/05$) بودند. در فیله‌ماهی ماده ۳ ساله کارگاه شهید رجایی ساری میانگین اندازه قطر سلول جنسی در مراحل I، II و III رسیدگی جنسی به ترتیب $27/3 \pm 38/4$ ، $219/4 \pm 54/7$ و $381/1 \pm 82/1$ 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 به ترتیب رسیدگی جنسی $75 \pm 50/4$ ، $45/7 \pm 17/7$ و $3/9 \pm 0/7$ میکرون ثبت گردید. در فیله‌ماهی ماده ۴ ساله کارگاه شهید رجایی ساری اندازه میانگین قطر سلول جنسی در مرحله III رسیدگی جنسی با میانگین $423/4 \pm 105/8$ نسبت به مرحله II با میانگین $243/2 \pm 62/8$ میکرون و میانگین اندازه قطر هسته در مرحله III رسیدگی جنسی $55/1 \pm 10/9$ نسبت به مرحله II رسیدگی جنسی $44/7 \pm 13/9$ میکرون) از میزان بیشتری برخوردار و دارای اختلاف معنی‌دار 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، فیله‌ماهی پرورشی (*Huso huso*)، گنادهای، مراحل رسیدگی جنسی

مقدمه

فیل ماهی 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 فیل ماهی نر در شرایط طبیعی بین ۱۲-۱۴ سال و ماده ۱۶-۱۸ سال می‌باشد (وئوقی و مستجیر، ۱۳۸۴).

طولانی بودن مراحل رشد و نمو غدد جنسی تاس ماهیان به‌ویژه گونه فیل ماهی در شرایط طبیعی و کاهش طی این 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 فیل ماهیان پرورشی (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷؛ کاظمی و همکاران ۱۳۸۲ا؛ کاظمی و همکاران، ۱۳۸۳) 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 فیل ماهی پرورشی می‌تواند ما را در شناسایی مهمترین معیارهای علمی و کاربردی توسعه آبی‌پروری 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 فیل ماهی پرورشی در سنین مختلف و نواحی اقلیمی متفاوت و مشاهده ساختار میکروسکوپی آنها این 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 تاس ماهی سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*) توسط Doroshov و همکاران (۱۹۹۷)، روی مراحل اولیه گنادورژنیز تاسماهی روسی (*A. Gueldenstaedti*)، توسط Akhunodov و Fedorov (۱۹۹۰) و در ارتباط با اثرات مراحل رسیدگی جنسی تخمدان تاسماهی سفید بر زرده زایی توسط Linares-Casenave و همکاران (۲۰۰۳) انجام شده است.

اولین مطالعات علمی و 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 کاسپین‌ریخ روسیه در سال ۱۳۷۶ باز می‌گردد که طی آن روند رشد و تکامل سیستم تولیدمثلی ۵۸ عدد از ماهیان خاویاری پرورش یافته در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنگر رشت (گونه‌های فیل ماهی و تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی) در سنین ۱، ۲ و ۶ سالگی از طریق مطالعات بافت شناسی بررسی شد (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷). همچنین در سال‌های اخیر مطالعات بافتی زیادی روی گناد ده‌ها قطعه از گونه‌های مختلف پرورشی و طبیعی ماهیان خاویاری به انجام رسید

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 ۲۵۰ ppm به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه بیهوش شدند (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷). پس از بیهوشی با استفاده از تیغ جراحی در ناحیه چهارمین صفحه استخوانی شکمی از سمت دم به طرف سر، شکافی بطول ۴ تا ۵ سانتی‌متر ایجاد و قطعه‌ای کوچکی از بافت گناد (به ضخامت ۷ میلی‌متر و به وسعت کمتر از یک سانتی‌متر) از حفره شکمی خارج و پس از تکه‌برداری از گناد، محل شکاف با استفاده از نخ جراحی بخیه و محل جراحی با محلول بتادین و اسپری آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل ۵ درصد ضدعفونی شدند. برای تثبیت نمونه بافت‌های گناد از ماده فیکساتیو بوئن متشکل از محلول اسید پیکریک به نسبت ۷۵ درصد، اسیداستیک به نسبت ۵ درصد و فرمالین به نسبت ۱۵ درصد استفاده شد. برای تثبیت کامل بافت، نمونه بافت‌ها به مدت ۷۲ 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، ۱۹۹۰؛ پوستی و ادیب مرادی، ۱۳۸۲).

پس از عمل آوری بافت‌ها با استفاده از میکروتوم (Leitz مدل ۱۵۱۲) ساخت کشور آلمان به ضخامت ۷ میکرون برش داده شدند. به منظور تشخیص راحت‌تر بخش‌های مختلف تخمدان و مراحل رسیدگی جنسی، اسلایدهای بافتی تهیه شده با استفاده از روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند.

(امینی، ۱۳۷۴؛ حاجی‌زاده کپته، ۱۳۷۵؛ شفیع‌زاده و وهابی، ۱۳۷۵؛ کاظمی و همکاران، ۱۳۸۱، ۱۳۸۲؛ ۱۳۸۳؛ حلاجیان و همکاران، ۱۳۸۶؛ هدایتی و همکاران، ۱۳۸۶؛ حلاجیان، ۱۳۸۶؛ حلاجیان و همکاران، ۱۳۸۷، ۱۳۸۸) 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 گامتوزن در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل‌ماهیان در شرایط آب شیرین بود. نتایج این بررسی می‌تواند 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 ۷۵ قطعه شامل ۵۰ قطعه از کارگاه شهید رجایی ساری (۲۵ قطعه ۳ ساله و ۲۵ قطعه ۴ ساله) و ۲۵ قطعه مولدین کارگاه شهید مرجانی گرگان بود (جدول ۱). اندازه طول بوسیله متر نواری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر و وزن کل با ترازوی پاندولی (قپان) با دقت ۱۰۰ گرم محاسبه گردید. کلیه مطالعات آزمایشگاهی این پژوهش در آزمایشگاه بافت‌شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو

شهید رجایی ساری و شهید مرجانی گرگان در مراحل I (شکل ۴)، II (شکل ۵) و III (شکل ۶) به ترتیب (۱۱/۱-۶۵/۷) $27/3 \pm 38/4$ ، (۱۶۴/۷-۲۷۴/۱) $381/1 \pm 82/1$ و (۳۰۹/۳۳-۴۳۰/۲۶) $219/4 \pm 54/7$ میکرون و (۱۲/۰-۶۱/۴) $367/7 \pm 24/7$ ، (۱۷۴/۷-۲۹۳/۵) $234/1 \pm 59/4$ و (۷۳-۲۹۹) $385/7 \pm 73/6$ میکرون و قطر تخمک فیل ماهی ماده پرورشی ۴ ساله کارگاه شهید رجایی ساری در مراحل II (شکل ۷) و III (شکل ۸) رسیدگی جنسی به ترتیب (۱۸۰/۴-۳۰۶/۰) $243/2 \pm 62/8$ و (۳۱۱/۷-۵۲۹/۲) $423/4 \pm 105/8$ میکرون بود.

بر اساس نتایج آماری حاصل از اندازه‌گیری مساحت، قطر و هسته سلول‌های جنسی فیل ماهی ماده پرورشی ۳ ساله کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و فیل ماهی پرورشی ۳ و ۴ ساله کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر شهید رجایی ساری، بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی در سطح ۵ 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 ۲ و ۳). 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.

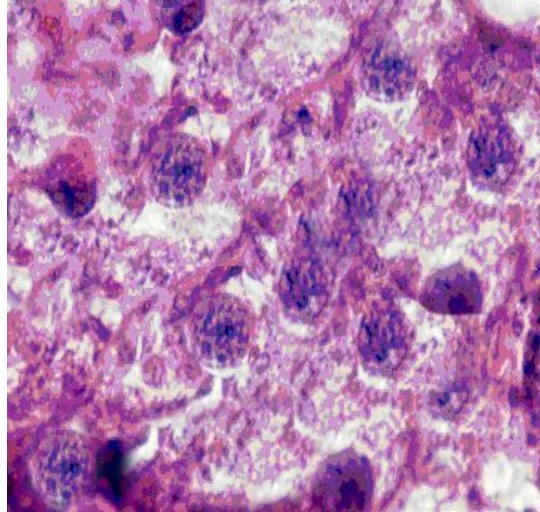
پس از رنگ‌آمیزی لام‌های حاوی نمونه بافت، اسلایدهای بافتی به کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل ۶۰۰ E مجهز به مانیتور و دوربین مورد مطالعه قرار گرفت. پس از عکسبرداری از اسلایدهای بافتی و تعیین مراحل مختلف رسیدگی جنسی با استفاده از کلید ۶ مرحله‌ای تعیین جنسیت (الیاسوف، ۱۹۹۶) از طریق نرم‌افزار تخصصی Biocom-Visolab، اندازه تخمک (اندازه سلول و هسته بر حسب میکرون و نسبت حجم هسته به سلول در فیل ماهیان پرورشی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی محاسبه گردید.

به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات و آنالیزهای آماری از آزمون T-test و آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) در سطح ۵ درصد خطا ($P < 0/05$) و برنامه نرم‌ابزاری رایانه‌ای SPSS (v.14) استفاده شد.

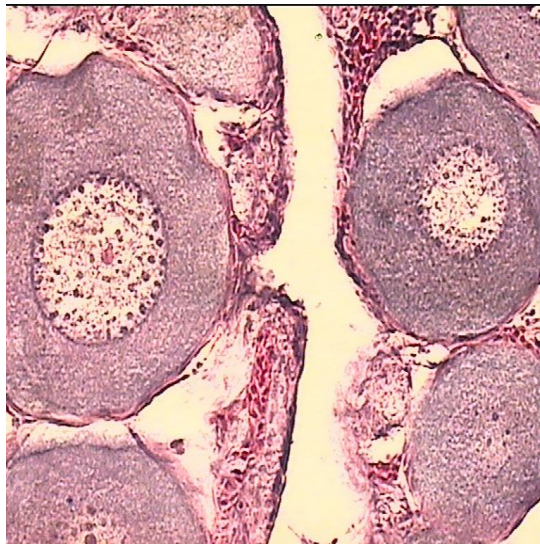
نتایج

در این بررسی از فیل ماهیان ماده پرورشی (سه ساله) بیوپسی شده کارگاه شهید مرجانی گرگان ۱۲ درصد در مرحله I رسیدگی جنسی (شکل ۱)، ۲۰ درصد در مرحله II رسیدگی جنسی (شکل ۲) و ۱۶ درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند (شکل ۳). از فیل ماهیان ماده (سه ساله) شهید رجایی ساری ۳۲ درصد در مرحله I رسیدگی جنسی، ۱۶ درصد در مرحله II رسیدگی جنسی و ۱۶ درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند. فیل ماهیان ماده (چهار ساله) شهید رجایی ساری ۲۴ درصد در مرحله I رسیدگی جنسی و ۲۰ درصد در مرحله II رسیدگی جنسی و ۲۰ درصد در مرحله III رسیدگی جنسی بودند.

بر اساس محاسبات آماری قطر سلول‌های اووسیت فیل ماهی پرورشی ماده ۳ ساله کارگاه‌های



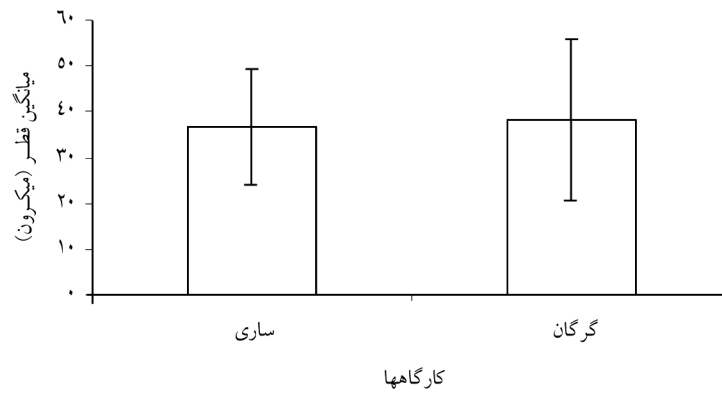
شکل ۱- برش عرضی بافت تخمدان فیلماهی در مرحله I رسیدگی جنسی (وزن کل، ۱۰ کیلوگرم، طول کل، ۱۱۶ سانتی‌متر، بزرگنمایی X ۱۰۰، رنگ آمیزی H&E).



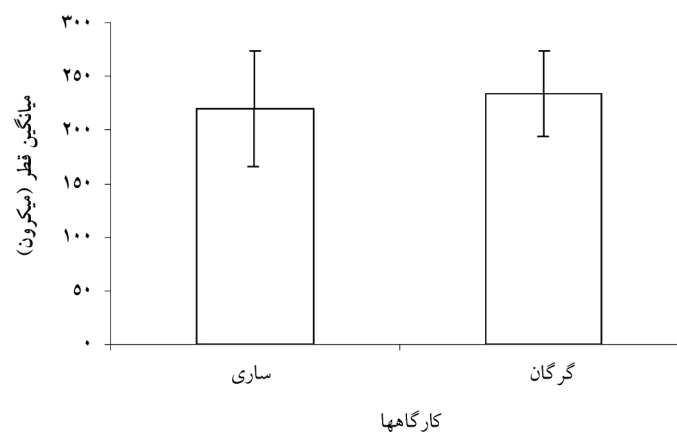
شکل ۲- برش عرضی بافت تخمدان فیلماهی در مرحله II رسیدگی جنسی (وزن کل ۱۱/۵ کیلوگرم، طول کل ۱۲۰ سانتی‌متر، بزرگنمایی X ۲۰، رنگ آمیزی H&E)



شکل ۳- برش عرضی بافت تخمدان فیل ماهی در مرحله III رسیدگی جنسی (وزن کل ۷/۵ کیلوگرم، طول کل ۱۱۴ سانتی متر، بزرگنمایی ۴۰X، رنگ آمیزی H&E)



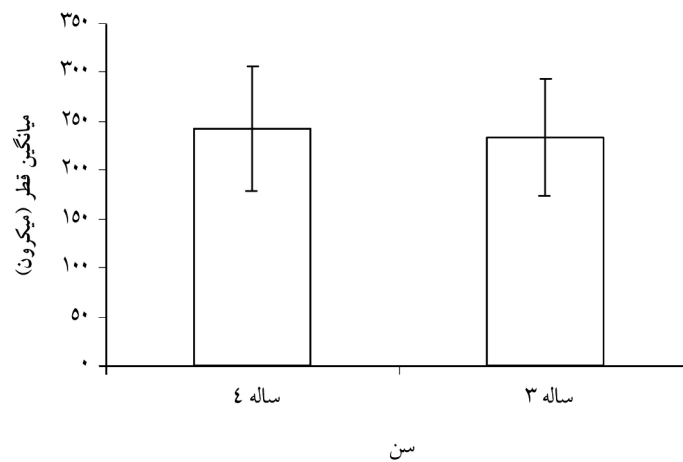
شکل ۴- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل ماهی پرورشی ماده ۳ ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله I رسیدگی جنسی.



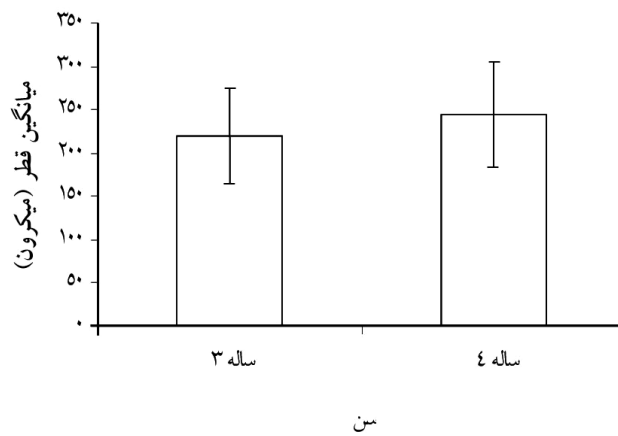
شکل ۵- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل ماهی پرورشی ماده ۳ ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله II رسیدگی جنسی



شکل ۶- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل ماهی پرورشی ماده ۳ ساله کارگاه‌های ساری و گرگان در مرحله III رسیدگی جنسی



شکل ۷- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل ماهی پرورشی ماده ۳ و ۴ ساله کارگاه ساری در مرحله II رسیدگی جنسی



شکل ۸- مقایسه میانگین قطر تخمک فیل ماهی پرورشی ۳ و ۴ ساله کارگاه ساری در مرحله III رسیدگی جنسی

جدول ۱ - مشخصات بیومتری فیل ماهی پرورشی مورد آزمون مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید رجایی گرگان و شهید رجایی ساری

کارگاه	سن	وزن کل (کیلوگرم)			طول فورک (سانتی‌متر)			طول کل (سانتی‌متر)			دور شکم (سانتی‌متر)		
		III	II	I	III	II	I	III	II	I	III	II	I
شهید رجایی ساری (n=25)	۳ ساله	۶/۹	۶/۳	۶/۷۲	۱۰۰/۶۲	۹۶/۲	۹۷	۱۱۲/۶۸	۱۰۸	۱۱۰	۴۱/۶۲	۳۹/۸	۴۱/۲۵
شهید رجایی ساری (n=25)	۴ ساله	-	۱۷/۳۵	۱۸/۶۷	-	۱۲۶/۵	۱۲۸/۵	-	۱۴۲/۰۸	۱۴۵/۷۵	-	۵۹/۶	۶۱/۲۵
شهید رجایی گرگان (n=25)	۳ ساله	۹/۹	۹/۴	۹/۶	۱۰۰/۹۵	۱۰۳/۴	۱۰۳/۱۲	۱۲۰/۸۷	۱۱۳/۴	۱۱۷/۶۲	۴۸/۶۲	۴۹/۴	۴۹/۳۷

جدول ۲ - میانگین \pm 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			مرحله III رسیدگی جنسی		
	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه
شهید رجایی ساری (۳ساله) (n=200)	۲۷/۳ \pm ۳۸/۴	۶۵/۷	۱۱/۱	۲۱۹/۴ \pm ۵۴/۷	۲۷۴/۱	۱۶۴/۷	۳۸۱/۱ \pm ۸۲/۱	۴۳۰/۲۶	۳۰۹/۳۳
شهید رجایی ساری (۴ساله) (n=200)	-	-	-	۲۴۳/۲ \pm ۶۲/۸	۳۰۶/۰	۱۸۰/۴	۴۳۴/۴ \pm ۱۰۵/۸	۵۲۹/۲	۳۱۱/۷
شهید رجایی گرگان (۳ساله) (n=200)	۳۶/۷ \pm ۲۴/۷	۶۱/۴	۱۲/۰	۲۳۴/۱ \pm ۵۹/۴	۲۹۳/۵	۱۷۴/۷	۳۸۵/۳ \pm ۷۳/۶	۴۵۸/۹	۳۱۱/۷

جدول ۳ - میانگین \pm SD، بیشینه و کمینه اندازه هسته اووسیت فیلماهی پرورشی (برحسب میکرون) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

کارگاه	مرحله I رسیدگی جنسی			مرحله II رسیدگی جنسی			مرحله III رسیدگی جنسی		
	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه	میانگین \pm SD	بیشینه	کمینه
شهید رجایی ساری (۳ساله) (n=200)	۳/۹ \pm ۰/۷	۶/۵۳	۲/۶۹	۴۵/۷ \pm ۱۷/۷	۱۲۵/۴۳	۳۳/۲۸	۷۵ \pm ۵۰/۴۰	۱۶۴/۶۲	۱۸/۵۷
شهید رجایی ساری (۴ساله) (n=200)	-	-	-	۴۴/۷ \pm ۱۳/۹	۷۹/۵۳	۳۵/۴۲	۵۵/۱ \pm ۱۰/۹	۲۱/۷۷	۹۱/۱
شهید رجایی گرگان (۳ساله) (n=200)	۱۴/۵ \pm ۱۰/۵	۴۸/۴۳	۳	۶۳/۸۲ \pm ۱۰/۸	۷۲/۱۸	۷۷/۳۶	۸۰/۷ \pm ۲۷/۸	۲۳۱/۴۱	۵۹/۳۱

بحث و نتیجه گیری

در شرایط فعلی جهت تشخیص مراحل مختلف رسیدگی جنسی در گونه‌های مختلف ماهیان علاوه بر ریخت‌شناسی گناد (Romanov و Sheveleva، ۱۹۹۳)، تعداد یاخته‌های جنسی در هر برش عرضی از بخش‌های مختلف گناد (Akhundov و Fedorov، ۱۹۹۰) و ساختار میکروسکوپی گنادها (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۲ الف و ۱۳۸۳؛ تروسوف، ۱۹۶۴؛ Flynn و Benfey، ۲۰۰۷)، می‌توان از طریق اندازه قطر سلول و هسته سلول جنسی (الیاسوف، ۱۹۹۵؛ Talikina، ۱۹۹۵؛ Hallajian و همکاران، ۲۰۰۹) 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 ۳ ساله مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شهید مرجانی گرگان و ۳ و ۴ 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 کمی خود 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، ۱۹۸۶). چنین نشانه‌های ریختی درون یاخته‌ای در مرحله III رسیدگی جنسی در تاس‌ماهی سیبری پرورشی (Lemenn و Pelissro، ۱۹۹۱) و تاس‌ماهی سفید پرورشی (Doroshove و همکاران، ۱۹۹۱) 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 (۱۹۹۵) قطر اووسیت‌های مراحل I و II رسیدگی جنسی ماهی ماده استخوانی سیم را به ترتیب (در سنین مختلف) ۱۶/۷-۱۳ و ۵۷/۹-۱۰۷/۴ میکرون و قطر تخمک‌های ماهی ماده *Paralichthys dentatus* را در مراحل I، II و III رسیدگی جنسی به ترتیب (۳۰-۸۵) ۷۳، (۱۲۷-۵۰) ۸۸ (۲۳۳-۶۸) ۱۹۹ و (۳۰۱-۹۴) ۲۲۵ میکرون، (۱۹۹۶) حلاجیان و همکاران (۲۰۰۹) میانگین قطر یاخته‌های جنسی ماده مراحل I، II و III

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 فیل ماهی ماده پرورشی (در سنین مختلف ۳ و ۴ 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 فیل ماهی ماده پرورشی ۳ 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 به دلیل خطای محاسباتی و نیز وجود

رسیدگی جنسی در فیل ماهی را به ترتیب ۸/۶۵، ۱۴۷/۶۸ و ۲۱۲/۶۲ میکرون و آذری تاکامی (۱۳۸۸) میانگین قطر تخمک مراحل II و III رسیدگی جنسی در تاس ماهیان را به ترتیب ۲۰۰-۵۰۰ و ۲۵۰۰-۱۵۰۰ میکرون ذکر نمودند. یافته‌های دیگران و نیز نتایج تحقیق 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 ۲۰ میکرون در آغاز مرحله ۲ به ۲۶۰ میکرون در پایان این مرحله می‌رسد (الیاسوف، ۱۹۹۶). مرحله دوم رسیدگی جنسی طولانی‌ترین مرحله رسیدگی جنسی است که در تاس ماهیان بین ۶-۳ سال به طول می‌انجامد (آلتوفو، ۱۹۸۶). 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

سلول‌های مختلف در آغاز و یا انتهای مرحله یک
باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران بخش فیزیولوژی و بیوشیمی
انجام این پروژه همراهی نمودند، سپاسگزاری
می‌شود.

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). موسسه انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۳۰۴۵/۱۳۸۸. ۴۰۱ صفحه.
- ۲- آلتوفو، یو. و ی. رومانوف، آ.آ. و داکویول، ا. پ.، ۱۹۸۶. روش‌های مطالعه غدد جنسی گونه‌های مختلف تاسماهیان *Acipenseridae* انستیتو تکنولوژی اقتصاد ماهی آستاراخان، روسیه. ترجمه سیدهادی صدرایی، رضوان. کاظمی و محمود بهمنی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (۱۳۷۸). ۳۵ صفحه.
- ۳- الیاسوف، و.، ۱۹۹۶. 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 (۱۳۷۸). ۶ صفحه.
- ۴- امینی، ک.، ۱۳۷۴. 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. ۶۰ صفحه.
- ۵- بهمنی، م. و کاظمی، ر.، ۱۳۷۷. مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاسماهیان جوان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱، سال هفتم، صفحات ۱ تا ۱۶.
- ۶- پوستی، ا.، و ادیب مرادی، م.، ۱۳۸۲. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ پنجم شماره ۱۹۴۴. ۶۱۰ صفحه.
- ۷- تروسوف، و.ز.، ۱۹۷۵. برخی از ویژگی‌های رسیدگی جنسی در تاس ماهی روسی. انستیتو تحقیقات شیلاتی و اقیانوس‌شناسی و نیرو روسیه. ترجمه صدرایی، س.ه.د و کاظمی، ر. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۱۶ صفحه.
- ۸- حاجی‌زاده کپته، ع.، ۱۳۷۴. 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. ۱۱۸ صفحه.
- ۹- حلاجیان ع.، کاظمی، ر.، محسنی، م.، بهمنی، م. و یوسفی، ا.، ۱۳۸۶. تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی شیب پرورشی (*Acipenser nudiventris*) با استفاده از روش تکه‌برداری از گناد. مجله علمی شیلات، ایران، شماره ۳، صفحات ۶۵ تا ۷۲.
- ۱۰- حلاجیان ع.، ۱۳۸۶. تفکیک ماهیان ماده از ماهیان نر خاویاری پرورشی از طریق جراحی ۱۳۸۶. دنیای آبزیان. سال پنجم، شماره ۱۱.
- ۱۱- حلاجیان ع.، کاظمی، ر.، بهمنی، م.، دژندیان س.، یوسفی جوردی، ا.، پوردهقانی، م. و توکلی، م.، ۱۳۸۷. بررسی بافت‌شناسی از رسیدگی جنسی در ماهیان خاویاری نابالغ طبیعی صید شده در پاییز ۸۲ با تأکید بر تاس‌ماهی ایرانی و ازون برون. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۸، صفحات ۱۰۳ تا ۱۰۹.
- ۱۲- حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.، دژندیان، ع. و یوسفی جوردی، ا.، ۱۳۸۸. بافت‌شناسی گناد در تاسماهیان (تشخیص و تعیین مراحل رسیدگی جنسی). انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۳۵ صفحه.

- ۱۳-شفیع‌زاده، ش. و وهابی، ی.، ۱۳۷۵. کاربرد هورمون L.R.H در تکثیر ماهیان خاویاری. انتشارات مجتمع تکثیر و پرورش شهید بهشتی رشت. ۴۶ صفحه.
- ۱۴-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، پرنده‌آور، ح.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، ملک‌زاده و یایه، ۱۳۸۱. گزارش تعیین جنسیت فیلماهیان پرورشی ۱۲ ساله مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۲۳ صفحه.
- ۱۵-کاظمی، ر.، بهمنی، م.، و رومانوف، آ.آ.، ۱۳۸۲ الف. بافت‌شناسی لایه‌های مختلف تخمک ماهی ازون برون *Acipernser persicus* مجله علمی شیلات ایران، سال دوازدهم، شماره ۱. صفحات ۹۳ تا ۱۰۲.
- ۱۶-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، پرنده‌آور، ح.، بهمنی، م.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، ۱۳۸۲ ب. تعیین جنسیت فیلماهیان پرورشی ۲ و ۳ ساله مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۱۸ صفحه.
- ۱۷-کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، پرنده‌آور، ح.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، دژندیان، س.، یوسفی، ا.، ۱۳۸۳. تعیین جنسیت فیل‌ماهیان پرورشی کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از طریق بیوپسی. انتشارات انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۷۸ صفحه.
- ۱۸-هدایتی س.ع.، یآوری و.، بهمنی م.، علیزاد م.ه.، کاظمی ر.، حلاجیان ع.، ۱۳۸۶. مطالعه سالانه روند تکامل غدد جنسی فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال ۱۱، شماره ۴۲ ب، صفحات ۶۴۱ تا ۶۵۰.
- ۱۹-وثوقی، ق. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۳، ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران. ۱۱۹ صفحه.
20. Akhundov, M.M., and Fedorov, K.Ye., 1990. Early Gamete 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 ultrastructural 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 white 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.

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

***M. Hosseininezhad¹, R. Kazemi², M. Bahmani², S. Dazhandian² and A. Halajian²**

¹M.Sc. Graduated in Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Khuzestan, Ahvaz, ²Dr. 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.

* Corresponding Author; Email: Hosseininezhadm@yahoo.com