بررسی برخی فاکتورهای زیست‌شناسی و بافت‌شناسی گنادهای کپور معمولی در طی دو فصل پرورش

● **رحیم پیغان**، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران هواز
● **نعیم آلبوغبیش**، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
● **مهدی پورمهدی بروجنی**، مربی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
● **عبدالرحمن راسخ**، استادیار دانشکده علوم (گروه آمار) دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۰

چکیده
در این پژوهش خصوصیات مورفولوژی و بافتی گنادهای ۵۲ عدد ماهی کپور معمولی در چهار گروه وزنی، زیر ۱۰۰، ۵۰۰-۱۰۰، ۱۰۰۰-۵۰۰ و ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم در طی یک دوره پرورش (دو فصل) مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌های گناد جهت ثبوت در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند و پس از گذراندن مراحل مختلف تهیه مقاطع بافتی و تهیه برشهای میکروسکوپیک به ضخامت ۶-۵ میکرومتر به دو روش هماتوکسیلین - ائوزین و پریودیک اسیدشیف رنگ‌آمیزی گردیدند. نتایج بدست آمده نشان داد که میانگین نسبت وزن گناد به وزن بدن در گروههای وزنی مورد مطالعه به ترتیب ۴/۱۸، ۰/۹۷۷، ۲/۰۳۳ و ۳/۳۰۲ می‌باشد و اختلاف معنی‌داری بین این میانگین‌ها وجود دارد ($p<0/05$). مطالعات میکروسکوپیک نشان داد که تخمدان کپور معمولی از نوع ناهمزمان بوده و تمام مراحل رشد و تکامل اووسیت بطور همزمان قابل مشاهده بود (در همه گروههای سنی). نتایج مطالعات میکرومتری این سلولها نشان داد که محدودهٔ قطر این سلولها در مرحله کروماتین نوکلئولوس ۳۳/۳ - ۹/۹۹ میکرومتر، مرحله پری نوکلئولوس ۱۴۵/۷۵-۳۹/۷۵ میکرومتر، مرحله وزیکول زرده ۲۶۵-۶۶/۲۵ میکرومتر، مرحله اولیه زرده سازی ۴۳۷/۳-۳۰۴/۸میکرومتر، مرحله ثانویه زرده سازی ۵۸۳-۳۹۷/۵ میکرومتر و مرحله ثالثیه زرده‌سازی ۹۹۳/۸-۴۶۳/۷ میکرومتر می‌باشد.
این مطالعه نشان داد که از نظر ساختار بافتی بیضه این ماهی از نوع لوبولار (قطعه‌ای) می‌باشد پس از معرفی خصوصیات سلولهای بیضه، قطر آنها اندازه‌گیری گردید که محدودهٔ آنها عبارت است از: اسپرماتوگونی ۳/۱۷-۲/۴۵ میکرومتر، اسپرماتوسیت ۳/۸۱-۳/۱۷ میکرومتر، اسپرماتید ۱/۹-۱/۲۷ میکرومتر، قطر اسپرماتوزوا (بدون دم) ۶/۳۵ میکرومتر و سلول لیدیگ ۵/۰۸-۳/۱۷ میکرومتر.
کلیدواژه‌ها: کپور، گناد، بیولوژی، بافت شناسی

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 55 PP: 16-23**

Study of some biological and histological factors of common carp. *Cyprinus carpio*, gonad in two culture season

By: Rahim Peyghan, Naeem Albo ghobeish and Mahdi Pourmahdi Brojeni Shahid Chamran University, Faculty of Veterinary Medicine Abdolrahman Rasekh, Shahid Chamran University. Faculty of Science.

The morphological and histological struture of 52 male and female carps gonads have been studied. The fishes divided to four weight groups: (up to 100, 100-500, 500-1000, 1000-2000 grams) during two culture season. Tissue samples were stained with H & E and PAS Stain. The results showed that gonadosomatic index (GSI) was 4.18, 0.977, 2.033, 3.302 in different groups respectively . The difference between GSI in different groups was significant. Common carp ovary is an asynchronus type because all of stages of oocyte development were observed in same time, characteristics and diameter of oocytes in different groups determined as below: The occyte diameter range was 9.99 - 33.3 μm in chromatin nucleolus stage, 39.75-145.75μm, in perinucleolus stage, 66.25-265 μm in yolk vesicle stage, 304.8-437.3 μm. in primary yolk stage, 397.5-583 μm, in secondary yolk stage and 463.7-993.8 Ìm in tertiary yolk stage. Carp testes were lubular type. The structure of spermatogenic cell were studied diameter of the spermatogenic cells also were determined as below: spermatogonium (2.54-3.17 μm), spermatocyte (3.17-3.81 μm), spermatid (1.27-1.9 μm), spermatozoa (6.35 μm) and leydig cell (3.17-5.08 μm).
Keywords: Carp, Gonad, Biology, Histology.

مقدمه

پرورش ماهی بنا به دلایل متعددی نظیر بالا بودن ضریب تبدیل غذایی در ماهی و زیاد بودن ارزش غذایی گوشت ماهی از نظر اسیدهای آمینه و چرب ضروری، ویتامین‌ها و املاح و نیز امکان تراکم بالا در مزارع پرورشی و مصرف مواد زائد کشاورزی و دامپروری به‌عنوان غذای ماهی بر پرورش سایر دامهای اهلی ارجحیت دارد.

با توجه به اینکه کپور ماهیان در اقتصاد و تغذیه بسیاری از مردم آسیا، اهمیت قابل ملاحظه‌ای دارند و بیش از نیمی از مزارع پرورش ماهی دنیا به پرورش کپور ماهیان اختصاص دارد و اکثر کپور ماهیان چینی برخلاف آزاد ماهیان در شرایط استخر به طور طبیعی تولید مثل نمی‌کنند، روشهای القایی تخم‌ریزی برای آنها کارایی پیدا می‌کند اما از آنجایی که استفاده از عصاره هیپوفیز تنها برای القای ماهیانی مؤثر واقع می‌شود که گنادهای آنها کاملاً رسیده باشد و صفات ثانویه جنسی نظیر تغییر رنگ، نرم شدن شکم و قرمزی و اتساع منفذ تناسلی - ادراری که برای تعیین رسیدگی ماهی استفاده می‌شود، قابل اعتماد نبوده، استفاده از روشهای بافت‌شناسی در تعیین جنسیت و رسیدگی تخمدان ضروری می‌باشد. بنابراین با توجه به توسعه تکثیر و پرورش مصنوعی ماهی کپور و با توجه به اینکه گنادها نقش اصلی را در تولید مثل دارند و بافت‌شناسی گناد برای تشخیص جنسیت و ضایعات پاتولوژی و تعیین فصل تولید و مثل، زمان و مکان تخم‌ریزی و زمان تزریق هورمونهای القایی لازم می‌باشد.

تاکنون در ارتباط با بررسی گنادهای ماهیان مختلف تحقیقات متعددی انجام شده است (۴، ۶، ۷، ۸، ۱۱). با اینحال در ارتباط با بررسی بافت‌شناسی گنادهای ماهی کپور معمولی تحقیقات بسیار کمی انجام شده است (۳). با توجه به اینکه اطلاعات کافی در مورد ساختمان بافت‌شناسی گناد ماهی کپور معمولی در دسترس نمی‌باشد لذا این تحقیق با اهداف بررسی مرفولوژی گنادهای ماهی کپور معمولی و تعیین ساختار بافت‌شناسی گنادهای ماهی کپور معمولی انجام گردید.

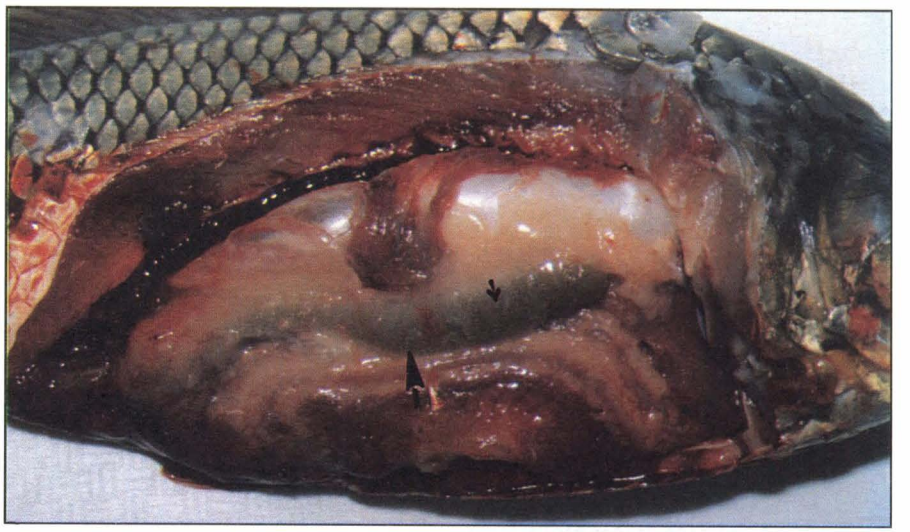
روش کار

نمونه برداری

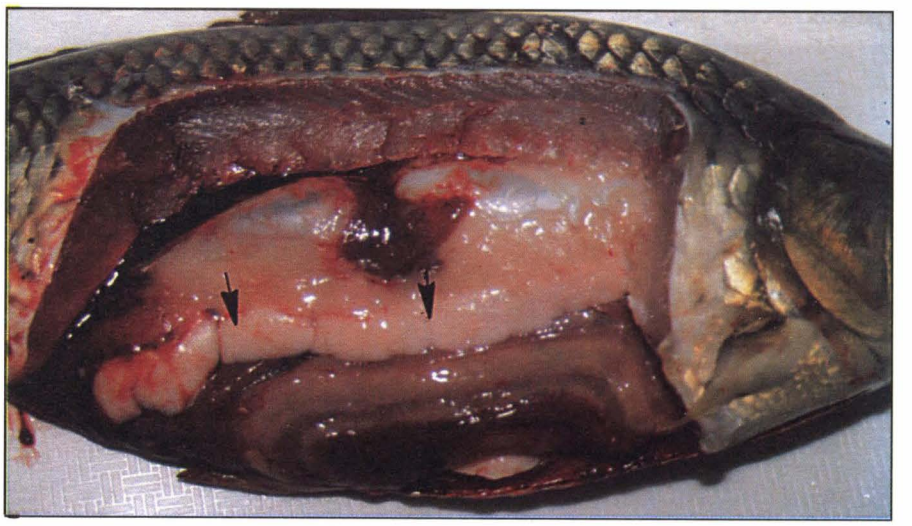
تعداد ۵۲ قطعه ماهی کپور معمولی در ۴ گروه وزنی (زیر ۱۰۰ گرم، ۵۰۰-۱۰۰ گرم، ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم و ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم) بررسی شد. ماهیان به‌طور زنده به آزمایشگاه انتقال داده شدند و بلافاصله وزن و طول آنها اندازه‌گیری گردید پس از کالبدگشایی، گنادها مورد بررسی مورفولوژی قرار گرفتند. بدنبال آن گنادها جدا گردیده و وزن شده و یک قسمت از آنها با ابعادی حدود ۰/۵ سانتیمتر جهت تهیه مقاطع بافتی در فرمالین ۱۰ درصد خنک قرار داده شد.

مطالعه ماکروسکوپی ماهی کپور معمولی

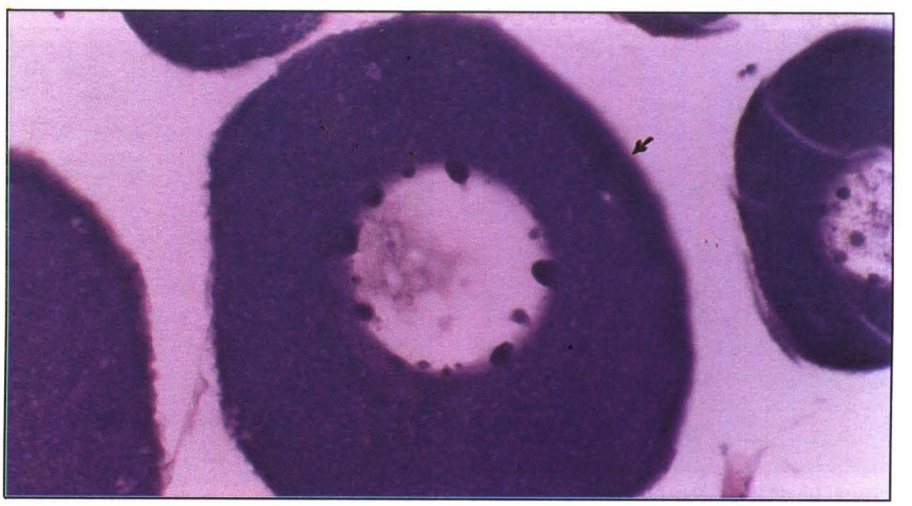
در این مرحله مشخصه‌های آناتومی و بیومتری ماهی کپور معمولی نظیر وزن بدن، طول کل و وزن گنادها اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ماهیان بلافاصله پس از صید، با ترازو توزین شده



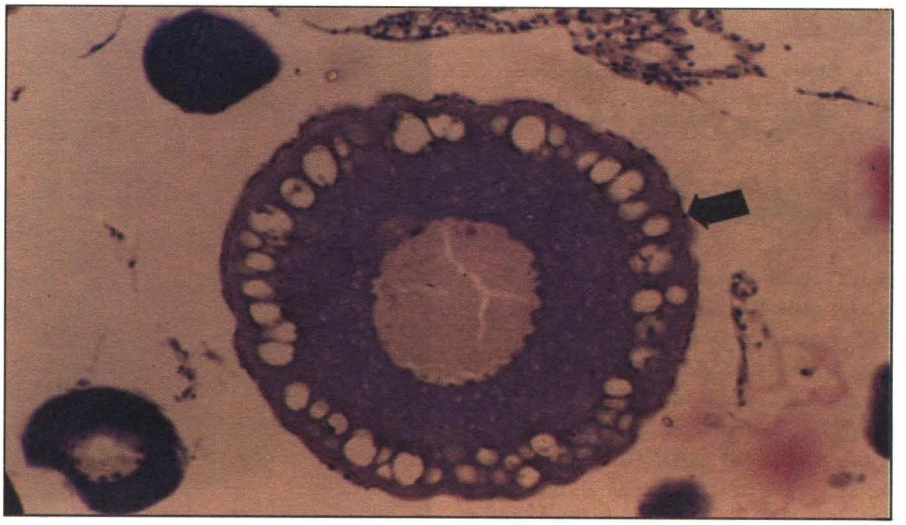
تصویر شماره ۱: نمای ظاهری تخمدان ماهی کپور معمولی رسیده (پیکان) پس از برداشتن دیوارهٔ حفره بطنی



تصویر شماره ۲: نمای ظاهری بیضه ماهی کپور معمولی (پیکان) پس از برداشتن دیوارهٔ حفره بطنی

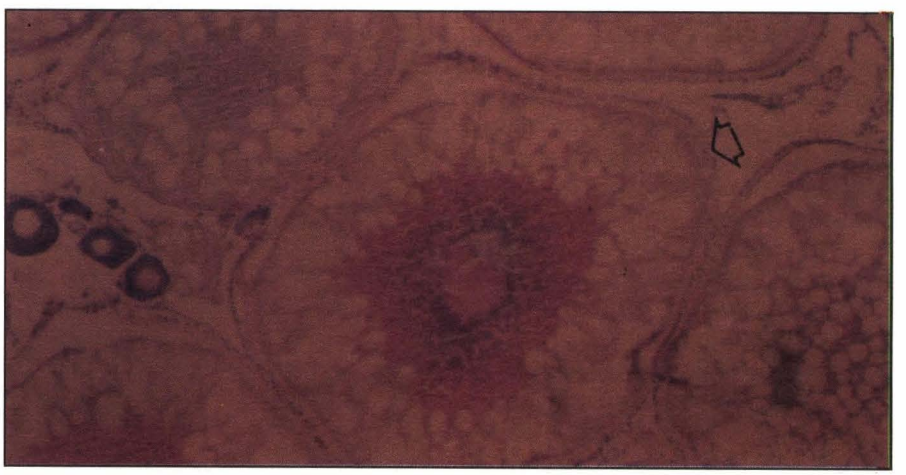


تصویر شماره ۳: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۱۹۰۰) اووسیت مرحله پری نوکلئولوس (پیکان)



تصویر شماره ۴: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۱۹۰) اووسیت مرحله وزیکول زرده (پیکان)

تصویر شماره ۵: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۱۹۰) اووسیت مرحله اول زرده سازی (پیکان) - اووسیت مرحله کروماتین نوکلئولوس (پیکان کوچک)



تصویر شماره ۶: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۱۹۰) اووسیت مرحله دوم زرده سازی (پیکان)

و طول کل با استفاده از خط‌کش بیومتری اندازه‌گیری شد. جهت مطالعه ماکروسکوپی گنادها، ابتدا محوطه شکمی باز شده، رنگ و وضعیت گنادها ثبت گردید در ادامه گنادها خارج شده و توزین شدند و نسبت وزن گناد به وزن بدن [1] محاسبه گردید.

تهیه مقاطع بافتی

جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی بروش متداول Gretchen (۵)، از نمونه‌های مورد مطالعه پس از ثبوت مراحل شستشوی بافت صورت گرفته و با استفاده از دستگاه هیستوکینت، مراحل مختلف پاساژ شامل آبگیری، شفاف کردن و آغشتگی با پارافین صورت گرفت سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی [2] مقاطعی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین [3] و پریودیک اسیدشیف [4] (PAS) رنگ‌آمیزی گردیدند.

مطالعه میکروسکوپی مقاطع بافتی

مطالعه بافت‌شناسی مقاطع تخمدان و بیضه کپور معمولی

در این بخش ساختار بافتی گناد ۵۲ قطعه ماهی کپور معمولی مورد بررسی دقیق میکروسکوپی قرار گرفته که نتایج آن با استفاده از جداول و تصاویر میکروسکوپی ارائه خواهد شد.

مطالعه هیستومتری تخمدان و بیضه کپور معمولی

پس از مطالعه بافت‌شناسی تخمدان و بیضه ماهی کپور، مطالعهٔ هیستومتری ساختارهای تخمدان و بیضه این ماهی به کمک میکروسکوپ نوری و عدسی چشمی و اسلاید مدرج انجام گردید. در تخمدان اندازه مراحل مختلف اووسیت و در بیضه اندازه مراحل مختلف اسپرماتوگونی و نیز سلول لیدیگ اندازه‌گیری شد. برای اینکار از هر مرحله ۱۰۰ سلول اندازه‌گیری شده و متوسط اندازه هر سلول محاسبه گردید.

بررسی آماری نتایج

متوسط اندازه‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. به منظور مقایسه GSI در بین چهار گروه وزنی ماهیان از یک طرف و مقایسه ماهیان نر و ماده از سوی دیگر آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور وزن ماهی و جنس انجام گرفت. به‌منظور مقایسه دو به دو شاخص وزن گنادها به وزن ماهی در چهار گروه وزنی آزمونی با استفاده از روش کمترین سطح معنی‌داری LSD [5] انجام گردید.

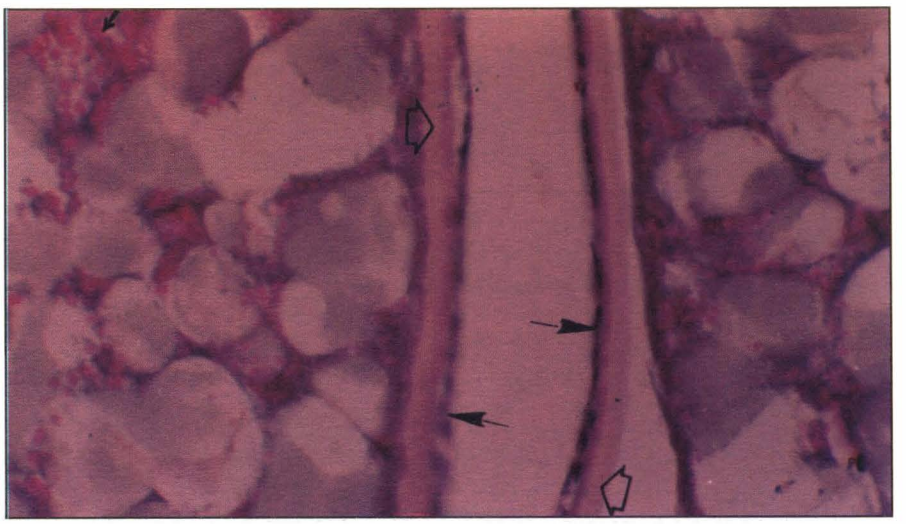
نتایج

نتایج مطالعات ماکروسکوپی

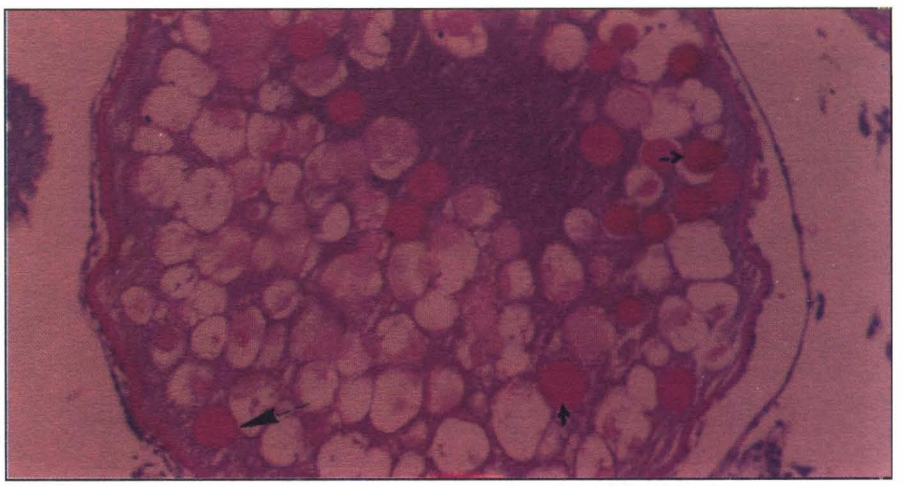
تخمدان

تخمدانهای ماهی کپور به‌صورت یک زوج ساختمانی طویل بوده که در طول قسمت جانبی و شکمی کیسه شنا، در زیر دیواره محوطه بطنی قرار گرفته‌اند و در قسمت خلفی به یکدیگر متصل شده و از طریق منفذ تناسلی به خارج باز می‌شوند (تصویر شماره ۱).

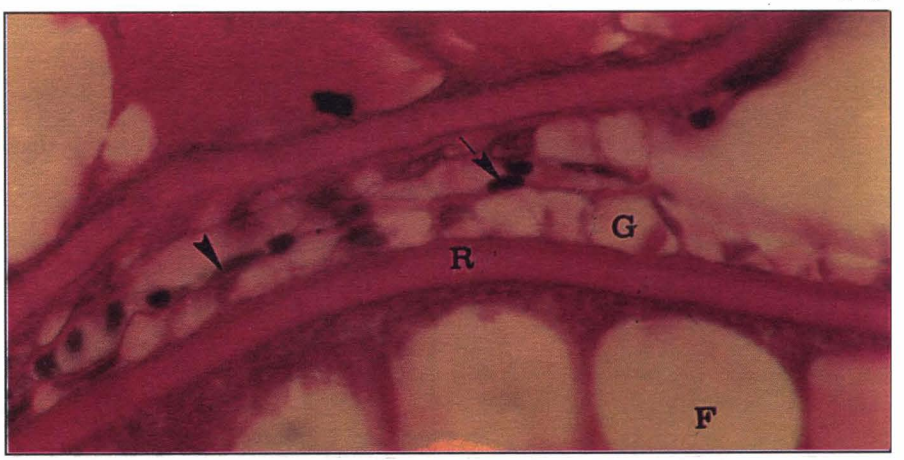
تخمدانهای این ماهی در وزنهای مختلف از نظر اندازه، شکل و رنگ متفاوت بودند خصوصیات مرفولوژیک



تصویر شماره ۷: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۱۹۰۰) گرانولهای زرده (پیکان کوچک) - لایه سلولی تاج پره‌ای (پیکان توخالی) - لایه گرانولوزا (پیکان بزرگ)



تصویر شماره ۸: نمای میکروسکوپی تخمدان (HPS×۹۵۰) گرانولهای بزرگ PAS مثبت در بین وزیکولهای چربی دیده می‌شود (پیکان)



تصویر شماره ۹: نمای میکروسکوپی تخمدان (PAS ×۴۸۰۰) وزیکول چربی (F) - لایه سلولی تاج پرهای (R) - لایه گرانولوزا (G) - لایه تک (پیکان)

تخمدان در چهار گروه وزنی در جدول شماره ۱ آورده شده است همانطوری که در این جدول مشاهده می‌شود، در وزن زیر ۱۰۰ گرم تخمدان نخی شکل و بی رنگ و یا زرد کاهی و شفاف و در مواردی نیز تخمدان رشد بیشتری کرده و سبز رنگ و پر از تخمک مشاهده گردید. در وزن ۵۰۰-۱۰۰ گرم تخمدان به‌رنگ زرد روشن که در تعدادی تخمکها به‌صورت پراکنده قابل مشاهده بود. در وزن ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم تخمدان به‌رنگ صورتی و شفاف و یا به‌رنگ سبز و مملو از تخمک مشاهده شد و در وزن ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم تخمدان به‌رنگ قرمز متمایل به خاکستری و بدون تشخیص تخمک و یا به‌رنگ سبز و مملو از تخمک دیده شد.

بیضه

بیضه‌های ماهی کپور زوج بوده و در قسمت جانبی و شکمی کیسه شنا قرار گرفته‌اند در قسمت خلفی به یکدیگر متصل شده و از طریق منفذ ادراری تناسلی به خارج باز می‌شدند (تصویر شماره ۲).
خصوصیات مرفولوژی بیضه چهار گروه وزنی مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده است.
همانطوری که در این جدول ملاحظه می‌گردد در وزن ۱۰۰ گرم بیضه از حالت نخی شکل و بی رنگ تا سفید رنگ و بزرگ متغیر بود. در وزن ۵۰۰-۱۰۰ گرم، بیضه سفید شیری و در وزن ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم، بیضه سفید متمایل به صورتی و توسط لایه چربی احاطه می‌شد و در وزن ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم بیضه سفید رنگ و بخش عمده حفره بطنی را اشغال می‌کرد.
میانگین وزن گناد و میانگین GSI در وزنهای مختلف در جداول ۲ آورده شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که در بین ماهیان با افزایش وزن بدن میانگین وزن گنادها هم افزایش پیدا می‌کند اما این موضوع در مورد میانگین شاخص GSI صادق نمی‌باشد.
همچنین میانگین نسبت وزن گناد به وزن بدن در گروههای وزنی مورد مطالعه به ترتیب ۴/۱۸، ۰/۹۷۷، ۲/۰۳۳، ۳/۳۰۲ می‌باشند و اختلاف معنی داری بین این میانگین‌ها وجود دارد ($p< ۰/۰۵$).

در مقایسه GSI در بین چهار گروه وزنی ماهیان از یک طرف و مقایسه ماهیان نر و ماده از سوی دیگر بین میانگین GSI در ماهیان وزن‌های مختلف تفاوت معنی دار وجود داشت ($p< ۰/۰۵$) اما اختلاف معنی داری بین میانگین GSI ماهیان نر و ماده وجود نداشت ($p< ۰/۱$).

در مقایسه دو به دو شاخص وزن گنادها به وزن ماهی در چهار گروه وزنی بین ماهیان زیر ۱۰۰ گرم با ماهیان ۵۰۰-۱۰۰ گرم اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p< ۰/۰۱$) و نیز بین ماهیان زیر ۱۰۰ گرم با ماهیان ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p< ۰/۱$)، همچنین بین ماهیان وزن ۵۰۰-۱۰۰ گرم و ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم نیز از نظر شاخص وزن گناد به وزن ماهی اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p< ۰/۱$). این اختلاف بین ماهیان زیر ۱۰۰ گرم با ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم، بین ماهیان ۵۰۰-۱۰۰ گرم با ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم و بین ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم با ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم معنی‌دار نبود ($p< ۰/۱$).

ساختار میکروسکوپی کنادها

ساختار بافتی تخمدان

مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که تخمدان ماهی کپور توسط لایه احشایی صفاق پوشیده شده و در زیر آن لایه ظریف سفید پرده از جنس بافت همبند سست قرار می‌گیرد. تیغه‌های تخمک‌زا که از بافت همبند، عروق خونی و بافت پوششی تشکیل شده به‌داخل تخمدان نفوذ می‌کنند.

در برش میکروسکوپی مراحل مختلف رشد اووسیت مشاهده گردید که بیانگر ناهمزمان بودن تخمدان ماهی کپور می‌باشد.

مراحل مختلف رشد میکروسکوپی اووسیت ماهی کپور به شرح زیر می‌باشد.

۱- مرحله کروماتین - نوکلئولوس [۶]

در این مرحله قطر اووسیت ۳۳/۳-۹/۹۹ میکرومتر بود، هسته هنوز وزیکوله نشده و کروماتین به‌صورت رشته‌هایی، مشخص بوده و تعداد یک تا چند هستک کوچک دیده شد. همچنین سیتوپلاسم واکوئلی بود (تصویر شماره ۵).

مرحله پری نوکلئولوس [۷]

در این مرحله قطر اووسیت ۱۴۵/۷۵-۳۹/۷۵ میکرومتر بود و سیتوپلاسم آن کاملاً بازوفیلیک، اما از شدت بازوفیلی هسته کاملاً وزیکولی کاسته شده و هستک‌های محیطی به‌خوبی قابل مشاهده بودند (تصویر شماره ۳).

مرحله وزیکول زرده [۸]

در این مرحله قطر اووسیت ۲۶۵-۶۶/۲۵ میکرومتر بود و از شدت بازوفیلی سیتوپلاسم کاسته شده و وزیکولهای چربی به‌صورت واکوئلهای خالی بدون رنگ در قسمت محیطی سیتوپلاسم دیده می‌شدند. در این مرحله علاوه بر تشکیل لایه سلولی تاج پره‌ای با ظاهری مخطط و PAS مثبت یک لایه از سلولهای فولیکولی نیز وجود داشت. همچنین شکل هسته نامنظم بود (تصویر شماره ۴).

مرحله اولیه زرده سازی [۹]

در این مرحله قطر اووسیت ۴۳۷/۳-۳۰۴/۸ میکرومتر بود و از شدت بازوفیلی سیتوپلاسم اووسیت به مقدار زیادی کاسته شده و گرانولهای ریز زرده‌ای اسیدوفیل در بین وزیکولهای چربی قرار داشتند (تصویر شماره ۵).

مرحله ثانویه زرده سازی [۱۰]

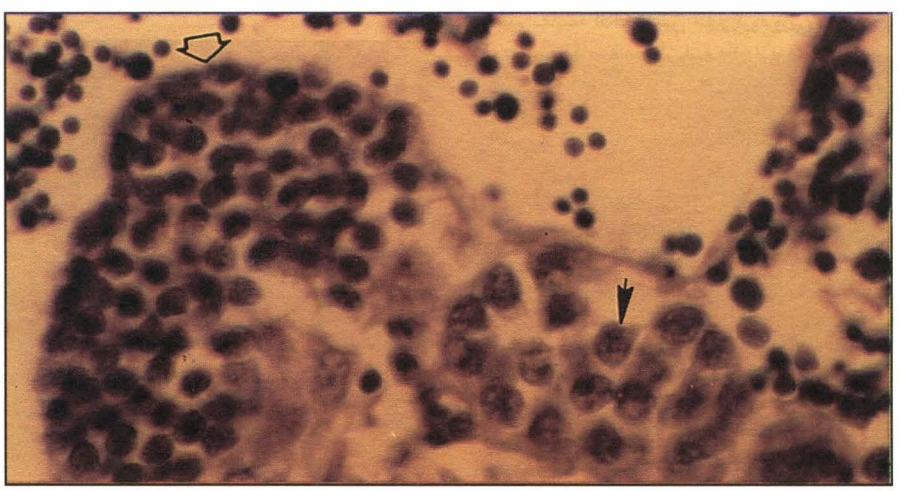
در این مرحله قطر اووسیت ۵۸۳-۳۹۷/۵ میکرومتر بود. تعداد وزیکولهای چربی و گرانولهای زرده‌ای افزایش یافته و تمام سیتوپلاسم را پر کرده بود. سیتوپلاسم اووسیت اسیدوفیل بوده و سطح هسته کاملاً نامنظم بود (تصویر شماره ۶).

مرحله ثالثیه زرده سازی [۱۱]

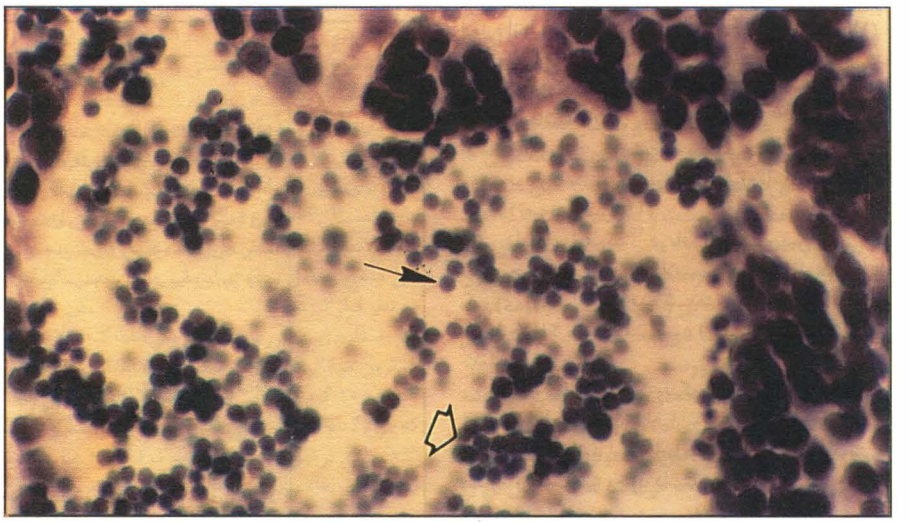
در این مرحله قطر اووسیت ۹۹۳/۷-۴۶۳/۷ میکرومتر بود. تعداد گرانولهای زرده‌ای افزایش یافته و تعدادی از آنها با هم ترکیب شده و به‌صورت گرانولهای

تصویر شماره ۱۰: نمای میکروسکوپی تخمدان (H&E×۹۵۰) اووسیت تحلیل رفته (پیکان)

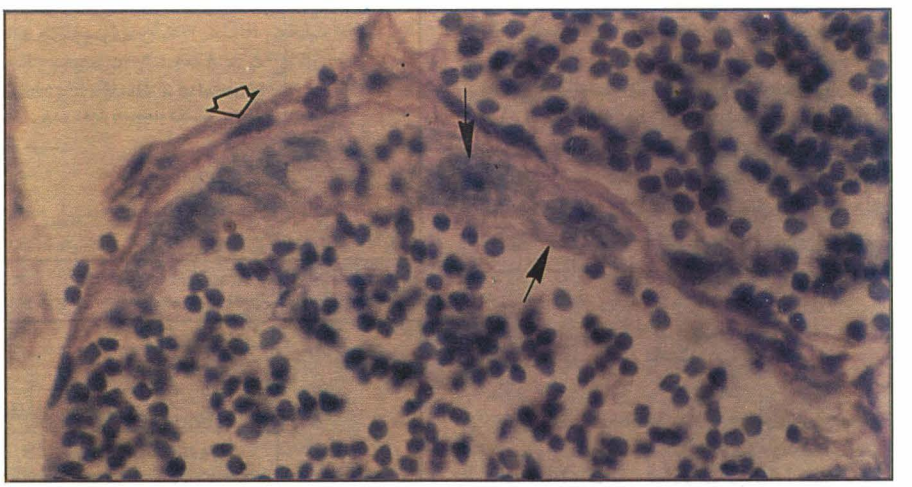
تصویر شماره ۱۱: نمای میکروسکوپی بیضه (H&E ×۱۹۰) لوبول بیضه (پیکان) - بافت همبند (پیکان تو خالی)



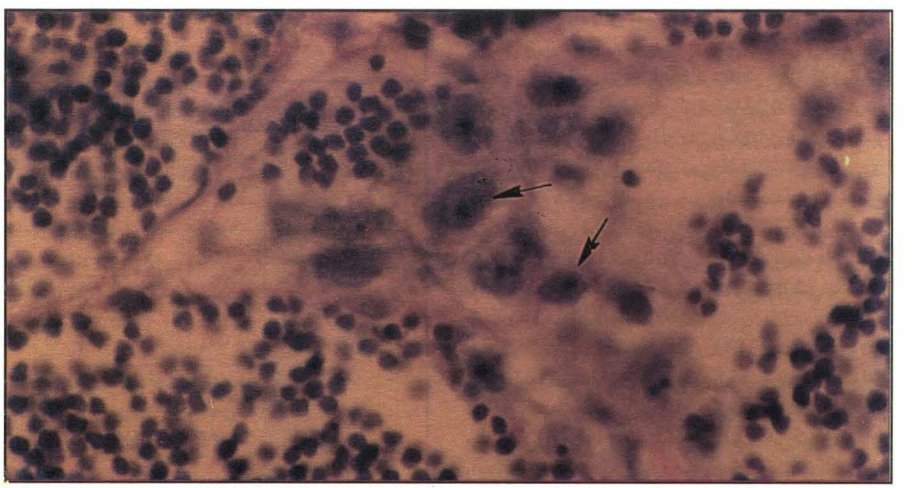
تصویر شماره ۱۲: نمای میکروسکوپی بیضه (H&E×۴۸۰۰) اسپرماتوگونی (پیکان تو خالی) - اسپرماتوسیت (پیکان)



تصویر شماره ۱۳: نمای میکروسکوپی بیضه (H&E×۴۸۰۰) اسپرماتید (پیکان توخالی) - اسپرماتوزا با دم تاژک مانند (پیکان)



تصویر شماره ۱۴: نمای میکروسکوپی بیضه (PAS×۴۸۰۰) سلول سرتولی (پیکان) - سلول میوئید (پیکان توخالی)



تصویر شماره ۱۵: نمای میکروسکوپی بیضه (PAS×۴۸۰۰) سلولهای لیدیگ با سیتوپلاسمی اسیدوفیل و هسته‌ای کاملاً یوکروماتین (پیکان)

بزرگ اسیدوفیل وجود داشتند. سیتوپلاسم اووسیت کاملاً اسیدوفیل و هسته مشخصی مشاهده نگردید. در این مرحله سلولهای فولیکولی از یک لایه سلولهای گرانولوزوی مکعبی و یک لایه سلولهای تک سنگفرشی تشکیل شده بود اووسیت‌های این مرحله کاملاً شکننده و اکثراً توسط میکروتوم پاره شدند.

اووسیت تحلیل رفته[۱۲]

در این اووسیت‌ها هیپرتروفی سلولهای گرانولوزا و سلولهای تک[۱۳] مشاهده گردید. در بعضی از اووسیت‌های تحلیل رفته پارگی در هسته و لایه سلولی تاج پره‌ای[۱۴] دیده شد و در اثر جذب مواد زرده‌ای توسط سلولهای گرانولوزا، سیتوپلاسم اووسیت کم رنگ مشاهده گردید و در تعدادی از آنها هسته و لایه سلولی تاج پره‌ای مشاهده نشد و تنها دیواره اووسیت قابل رویت بود (تصویر شماره ۱۰).

در تخمدان ماهی‌های کپور زیر ۱۰۰ گرم در فصل بهار از مرحله کروماتین نوکلئولوس تا مرحله سوم زرده سازی مشاهده گردید ولی اکثر سلولها از نوع پری نوکلئولوس بوده و تعداد سلولهای مرحله اول، دوم و سوم زرده سازی بسیار کم بود.

در تخمدانهای ماهی‌های کپور ۵۰۰-۱۰۰ گرم در فصل بهار از مرحله کروماتین نوکلئولوس تا مرحله اول زرده سازی مشاهده شد اما اکثر سلولها از نوع پری نوکلئولوس بوده و تعداد سلولهای مرحله اول زرده سازی بسیار کم بود. تخمدانهای ماهی کپور در وزن ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم در فصل پائیز شبیه وزن ۵۰۰-۱۰۰ گرم در فصل بهار بود.

در تخمدانهای ماهی‌های کپور ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم در فصل پاییز از مرحله کروماتین نوکلئولوس تا مرحله سوم زرده سازی مشاهده گردید اما اکثر سلولها از نوع پری نوکلئولوس و مرحله دوم و سوم زرده سازی بودند و سایر سلولها کمتر دیده شدند.

ساختار بافتی بیضه

بیضه ماهی کپور از نوع قطعه‌ای بوده و بوسیله لایه نازکی از لایه احشایی صفاق که به بافت همبند استروما متصل است پوشیده شده است. داربست بیضه از بافت همبند سست تشکیل شده است. هسته‌های سلولهای بافت همبند در میان رشته‌ها بصورت دوکی شکل و کشیده پراکنده بودند که در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین تیره رنگ دیده شدند.

تیغه‌های بافت پیوندی از بافت داربست بیضه بوجود آمده و بیضه را به تعدادی لوبول تقسیم کرده که هر کدام از آنها نیز به تعدادی کیسه تقسیم می‌شدند: داربست و دیوارهٔ بین لوبول در بیضه‌های نابالغ به‌وضوح قابل تشخیص بود اما در مراحل اسپرم‌سازی این بافت کشیده شده و ضخامت آن کاهش می‌یافت.

در حاشیه کیسه‌هایی که بوسیله سلولهای سرتولی احاطه شده بودند سلولهای اسپرماتوگونی کروی شکل، با یک هسته گرد و تیره و به قطر ۳/۱۷-۲/۵۴ میکرومتر قرار داشتند (تصویر شماره ۱۴).

سلولهای اسپرماتوسیت نسبت به سلولهای اسپرماتوگونی دارای هسته روشن‌تر و بزرگتر به قطر ۳/۱۸-۳/۱۷ میکرومتر بودند (تصویر شماره ۱۲).

جدول شماره ۱- خصوصیات ظاهری (ماکروسکوپی) گنادهای ماهی کپور معمولی در وزنهای مختلف

وزن ماهی	تخمدان	بیضه
زیر ۱۰۰ گرم	تخمدان نخی‌شکل و بی‌رنگ که به غشاء واقع در پایین کیسه شنا محکم متصل بود و تشخیص نر یا مادگی از طریق شکل ظاهری ممکن نبود و در تعدادی زرد کاهی رنگ که در برخی از آنها بصورت پراکنده تخمکهایی برنگ سفید قابل مشاهده بود.و نیز گاهی تخمدان برنگ سبز و پر از تخمک که تمام محوطه بطنی را پر کرده بود دیده می‌شد.	بیضه نخی‌شکل و بی رنگ که تمایز آن از بافتهای اطراف مشکل بود. در تعدادی سفید رنگ که در لبه‌های آن شکافهایی دیده می‌شد و گاهی اوقات تمام محوطه بطنی را پر می‌کرد به طوری که روده‌ها دیده نمی‌شوند و در روی بیضه عروق خونی دیده می‌شد.
۵۰۰-۱۰۰ گرم	تخمدان برنگ زرد روشن که در برخی از آنها بصورت پراکنده تخمکهایی برنگ سفید قابل مشاهده بود.	بیضه سفید شیری رنگ و شکافهایی در لبه‌های آن دیده می‌شد.
۱۰۰۰-۵۰۰ گرم	تخمدان صورتی رنگ و شفاف و بدون وجود تخمک و در تعدادی برنگ سبز و مملو از تخمک دیده می‌شد در روی تخمدان عروق خونی دیده می‌شد و تخمدان توسط لایه چربی احاطه می‌شد.	بیضه سفید مایل به صورتی و روی آن عروق خونی و در لبه‌های آن شیارهایی دیده می‌شد و توسط لایه چربی زرد رنگی احاطه می‌شد در بعضی از ماهی‌ها با فشار به محوطه شکمی اسپرم خارج می‌شد.
۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم	تخمدان قرمز متمایل به خاکستری و تخمک دیده نمی‌شد و در تعدادی تخمدان سبز رنگ و پر از تخمک بود همچنین تخمدان توسط لایه چربی زرد رنگ احاطه می‌شد.	بیضه سفید رنگ و روی آن عروق خونی دیده می‌شد و با فشار به محوطه شکمی اسپرم خارج می‌شد.

جدول شماره ۲- میانگین وزن گناد و نسبت گناد به وزن بدن (GSI) در وزنهای مختلف ماهی کپور معمولی بر حسب گرم

جنس	نر		ماده	
وزن ماهی	میانگین وزن بیضه	میانگین GSI	میانگین وزن تخمدان	میانگین GSI
زیر ۱۰۰ گرم	۱/۲۵۸۲	۴/۴۳۵	۱/۹۸۷	۳/۹۶
۱۰۰-۵۰۰	۲/۰۱۶	۰/۸۵۵	۲/۴۴۸	۱/۱۲۳۶
۵۰۰-۱۰۰۰	۲۷/۸۴	۳/۴۶	۱۰/۳۸۸	۱/۲۴
۱۰۰۰-۲۰۰۰	۵۸/۲۲	۵/۱۸۲	۲۵/۳	۲/۰۴۸

جدول شماره ۳ - قطر مراحل مختلف رشد و تکامل اووسیت ماهی کپور

مقدار / مرحله	میانگین قطر (میکرومتر)	انحراف معیار	خطای معیار	حداقل	حداکثر
کروماتین-نوکلئولوس	۲۳/۴۹	۵/۵۰۶	۰/۵۰۲	۹/۹۹	۳۳/۳
پری‌نوکلئولوس	۸۶/۶۳۹	۲۵/۸۴۱	۲/۱۷۶	۳۹/۷۵	۱۴۵/۷۵
وزیکول - زرده	۱۷۲/۳۹۸	۴۱/۵۶۴	۳/۸۴۲	۶۶/۲۵	۲۶۵
مرحله‌اول‌زرده‌سازی	۳۸۲/۴۸۳	۴۰/۳۳۴	۱۰/۴۱۴	۳۰۴/۸	۴۳۷/۳
مرحله‌دوم‌زرده‌سازی	۴۹۷/۲۲۳	۵۱/۹۵۳	۱۱/۹۱۸	۳۹۷/۵	۵۸۳
مرحله‌سوم‌زرده‌سازی	۶۷۸/۴	۱۵۰/۳۴۵	۳۰/۰۶۹	۴۶۳/۷	۹۹۳/۸

سلولهای اسپرماتید دارای هسته کروی تیره بودند و اندازه آنها ۱/۹-۱/۲۷ میکرومتر بود (تصویر شماره ۱۳). سلولهای اسپرماتوزا به اندازه‌ای حدود ۶/۳۵ میکرومتر مشاهده گردیدند (تصویر شماره ۱۳).

در حاشیه لوبولها سلولهای سرتولی[15] با هسته‌ای کاملاً یوکروماتین و روشن که هستک در آن بخوبی قابل رویت بود و با سیتوپلاسمی اسیدوفیل نامنظم مشاهده شدند (تصویر شماره ۱۴).

سلولهای لیدیگ[16] در بافت همبندی بین لوبولی به شکل چند ضلعی با سیتوپلاسمی اسیدوفیل و هسته‌ای کروی روشن مشاهده شدند. اندازهٔ این سلولها ۵/۰۸-۳/۱۷ میکرومتر بود (تصویر میکروسکوپی شماره ۱۵).

نتایج مطالعات میکروسکوپی حاکی از این است که اکثر سلولهای بیضه در ماهیان زیر ۱۰۰ گرم در فصل بهار از نوع اسپرماتید است. اما سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت نیز وجود داشتند. که بررسی کمی روی آنها صورت نگرفت.

در وزن ۵۰۰-۱۰۰ گرم: در فصل بهار سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید مشاهده شد و بافت همبند فراوانی وجود داشت. اما در برخی از نمونه‌ها تعداد زیادی سلولهای اسپرماتید مشاهده گردید و از بافت همبند کاسته شده بود. در وزن ۱۰۰۰-۵۰۰ گرم در فصل پاییز بافت همبند و سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت زیاد بود اما سلولهای اسپرماتید به تعداد کمتر وجود داشتند.

در وزن ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم در فصل پاییز تعداد زیادی سلولهای اسپرماتید مشاهده شد و بافت همبند و سلولهای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت کمتری دیده شد.

بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که مورفولوژی تخمدان ماهی کپور در وزنهای مختلف متفاوت است. این تغییرات شامل افزایش تعداد فولیکولهای رسیده که موجب رشد حجمی تخمدان می‌شود و همچنین رنگ آن نیز از حالت شفاف به تیره و نهایتاً متمایل به سبز تغییر می‌یابد. اما این تغییرات بطور کامل هماهنگ با افزایش وزن نبوده است به‌طوری که تخمدان رسیده در وزن زیر ۱۰۰ گرم نیز مشاهده گردید در حالی که در وزن بالای ۵۰۰ گرم نیز مواردی از تخمدان شفاف و نارس قابل مشاهده بود لذا به نظر می‌رسد وزن ماهی معیار خوبی برای تخمین رسیدگی نمی‌باشد.

این موضوع در مورد بیضه روند متفاوتی را نشان می‌دهد به این ترتیب که تقریباً در تمامی وزنهای مورد مطالعه از زیر ۱۰۰ گرم تا بالای ۵۰۰ گرم بیضه‌ها رسیده بودند لذا به نظر می‌رسد در کپورهای پرورشی یکساله بیضه در همهٔ وزنها رسیده باشند.

در بررسی فرحمند در سال ۱۳۷۲ تخمک سازی در ماهی کپور معمولی به ۶ مرحله تقسیم شده است اما مراحل رشد اووسیت نامگذاری نگردیده است. نظری در سال ۱۳۷۲ مراحل رشد تخمدان در ماهی کپور نقره‌ای را به ۶ مرحله تقسیم نموده است و خصوصیات بافتی هر مرحله را معرفی نموده است ولی مراحل رشد اووسیت را مشخص نکرده است (۱، ۲).

Nagahama و همکاران در قزل‌آلای رنگین کمان و Palmer و همکاران در ماهی درام مراحل رشد اووسیت را مورد بررسی قرار داده و مراحل مختلف رشد اووسیت را توضیح دادند (۹، ۱۰). طبق مطالعات آنها رشد اووسیت به ۸ مرحله تقسیم می‌شود اما گزارشاتی در مورد مراحل رشد اووسیت در ماهی کپور معمولی در دسترس نمی‌باشد. طبق نتایج این تحقیق می‌توان مراحل مختلف رشد اووسیت را به ۶ مرحله تقسیم نمود که با نتایج Palmer در مورد ماهی درام مطابقت دارد زیرا Palmer هر یک از دو مرحله پری نوکلئولوس و وزیکول زرده را به دو بخش ابتدایی و انتهایی تقسیم کرده است. در ابتدای رشد اووسیت کپور معمولی تعداد هستک کم بوده اما به دنبال رشد اووسیت تعداد هستک افزایش پیدا کرده و در قسمت محیطی هسته قرار می‌گیرند که بیانگر فعالیت هسته در عمل زرده سازی می‌باشد. همچنین در مرحله کروماتین نوکلئولوس، سیتوپلاسم واکوئلی و اندکی بازوفیلیک می‌باشد اما به دنبال آن با افزایش تعداد دستگاه گلژی و شبکه اندوپلاسمی لازم برای سنتز زرده، سیتوپلاسم کاملاً بازوفیلیک می‌شود در ادامه به‌دلیل تجمع مواد زرده‌ای، سیتوپلاسم به تدریج اسیدوفیل می‌شود تا اینکه در مرحله دوم و سوم زرده سازی کاملاً اسیدوفیل می‌شود. در کپور معمولی همانند ماهی درام ابتدا وزیکولهای چربی سپس گرانولهای زرده‌ای در سیتوپلاسم ظاهر می‌شوند. اووسیت کپور معمولی همانند سایر ماهیان استخوانی توسط لایه سلولی تاج‌پره‌ای که ظاهر مخطط داشته و در رنگ‌آمیزی پریودیک اسیدشیف PAS مثبت بوده، سلولهای گرانولوزا از نوع مکعبی و سلولهای تک از نوع سنگفرشی احاطه می‌شود. این لایه‌ها برای اولین بار در مرحله وزیکول زرده قابل مشاهده بودند و در مراحل بعدی رشد اووسیت اندازه آنها افزایش پیدا می‌کرد.

به نظر می‌رسد که طبق بررسی انجام شده تخمدان ماهی کپور از نوع ناهمزمان می‌باشد زیرا در تخمدان نارس نیز می‌توان مراحل مختلف رشد اووسیت را مشاهده کرد اما نسبت اووسیت‌های رسیده در تخمدانهای نارس به مراتب کمتر از تخمدانهای رسیده است در زمان رسیدگی اکثر اووسیت‌ها در مرحله دوم و سوم زرده سازی قرار داشتند ولی در صدی در مراحل پایین‌تر نیز قابل مشاهده بود. بنابراین در ارزیابی رسیدگی تخمدان بهتر است از نسبت اووسیت‌های رسیده به نارس و شکل ظاهری تخمدان استفاده شود.

وجود اووسیت‌های رسیده در ماهیان نابالغ می‌تواند نشانگر فعالیت این اووسیت‌ها در تولید هورمونها در حد پایه باشد ولی احتمالاً این اووسیت‌ها پس از مدتی تحلیل رفته و موج دیگری از اووسیت‌ها مراحل رسیده شدن را طی و جایگزین می‌گردند تا در نهایت در فصل تولید مثل اکثر اووسیت‌ها رسیده شده و آماده تخمک‌گذاری شوند.

طبق نتایج این تحقیق و نتایج فرحمند در سال ۱۳۷۲ بیضه کپور معمولی از نوع لوبولار است زیرا دستجات سلولی بدون وجود فضای خالی لومن در مقاطع بیضه قابل مشاهده است (۱).

سلولهای اسپرماتوژنی بیضه در ماهی کپور معمولی شامل سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، اسپرماتید، اسپرماتوزا، لیدیگ و سرتولی می‌باشد که خصوصیات این سلولها تا حدی مشابه مهره‌داران عالی است. هر چند طبق مشاهدات تحقیق دیده می‌شود که ماهیان زیر ۱۰۰ گرم و بالای ۱۰۰۰ گرم از نظر نوع سلولهای جنسی رسیده‌تر می‌باشند اما احتمالاً علت رسیدگی بیشتر این ماهیان نسبت به ماهیان دو گروه دیگر فصل صید آنها می‌باشد زیرا ماهیان زیر ۱۰۰ گرم در اواسط بهار که فصل تولیدمثل و تخم‌ریزی کپور می‌باشد و ماهیان ۲۰۰۰-۱۰۰۰ گرم در اوایل زمستان که شروع فعالیت جنسی این ماهیان است، صید شده‌اند. لذا به نظر می‌رسد تلفیقی از وزن ماهی، سن ماهی و فصل سال در ارزیابی میزان رسیدگی باید مد نظر قرار گیرد.

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که بالاترین و کم‌ترین میانگین GSI به ترتیب در ماهیان زیر ۱۰۰ و ۵۰۰-۱۰۰ گرم دیده می‌شود که بیانگر این موضوع است که وزن گناد همسان وزن بدن افزایش نمی‌یابد و از یک رشد بطئی برخوردار است اما در نزدیکی فصل تولید مثل به تدریج میانگین GSI افزایش یافته و در فصل تولید مثل به بالاترین مقدار خود رسیده است.

همچنین طبق نتایج این تحقیق ماهی کپور معمولی در سال اول پرورش در خوزستان به مرحله بلوغ می‌رسد اما میانگین GSI در ماهیان نر نسبت به ماده زودتر به حد بالایی می‌رسد که بیانگر این موضوع است که ماهیان نر زودتر از ماده‌ها به مرحله بلوغ می‌رسند که با منابع موجود مطابقت دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای مهندس موسوی مسئول محترم کارگاه شهید ملکی اهواز و معاونت محترم شیلات خوزستان که در تهیه ماهی‌ها ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

پاورقی‌ها

1- Gonadosomatic Index
2- Rotary microtome
3- Haematoxilin and Eosin
4- Periodic acid shiff
5- Least Significance Difference
6- Chromatin nucleolus stage
7- Perinucleolus stage
8- Yolk vesicule stage
9- Primary yolk stage
10- Secondary yolk stage
11- Tertiary yolk stage
12- Atretic oocyte
13- Tecal cells
14- Zona radiata
15- Sertoli cells
16- Leydig cells

منابع مورد استفاده

۱- فرحمند، حمید. ۱۳۷۲. ایجاد تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی بوسیله هورمون آلفا متیل تستوسترون. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی علوم دریایی. صفحات ۴۱ تا ۵۵.

۲- محمد نظری، رجب. ۱۳۷۲. بررسی سیکل تکامل تخمدان ماهی کپور نقره‌ای، پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه شیلات و محیط زیست دانشگاه تهران. صفحات ۵۶ تا ۷۵.

3- Bieniars, K.; Epler, P.; Thuy, L.N. and Kogut, E. 1997. Changes in the ovaries of adult carp. Aquaculture J. 17: 45-68.

4 - Colombo, G. and Grandi, G. 1996. Histological study of the development and sex differentiation of the gonad in the European eel. Fish. Biol. 48: 493-512.

5- Gretchen, L. 1979. Animal tissue techniques. 4th. ed. pp: 208-213, 309-310.

6 - Hussain, S.M. 1992. The reproductive biology of the lantern fish *Benthosema fibulatun* from the northern Arabian Sea. Fish. Res. 13: 381-393.

7- Lee, Y.D. Lee, T.Y. 1990. Sex differentiation and development of the gonads in the flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull Ma. Res. Inst. Cheju Nat. Univ. 14: 61-86.

8- McBride, J.R.; Fagerlund, H.M.; Dye, H. M. and Bageshaw, J. 1986. Changes in structure of tissue and in plasma cortical during the spawing migration of pink salmon, *Oncorhhynchus gorbuscha* (Walbaum). Fish. Biol. 29: 153-166.

9- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In fish physiology, Vol IXA. (Hoar, W.S; Randall, D. J. & Donaldson, E. M. eds). pp: 223-275. New York: Academic press.

10- Palmer, E.E, Sorensen,P.W. and Adelman, I.R. 1995. A histological study of fish. Biol. 47: 199-210.

11- Park, Hong-Yang.; Yoon, Jong-Man. (1992). Histological changes of ovary, testis and pituitary gland in reproductive period of rain bow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture . J. 92: 180-181.