دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۹۶
http://jair.gonbad.ac.ir

مطالعه ساختار بافتی گناد جنس نر ماهی صبور *Tenualosa ilisha* (Hamilton, 1822) طی مهاجرت تولید مثلی

عبدالعلی موحدی‌نیا*[1]، زهره معلم[2]، رحیم عبدی[3]، سولماز شیرعلی[3] و امیرپرویز سلاطی[4]

[1]دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[1]دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[2]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[3]استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[4]استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۰۱/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۰۹

چکیده

ماهی صبور (*T. ilisha*) تنها گونه آنادروموس در بین ماهیان جنوب ایران است که برای تخم‌ریزی از خلیج فارس به رودخانه‌های مجاور آن مهاجرت می‌کند. در این پژوهش ویژگی‌های مورفولوژیکی و تغییرات بافتی و سلولی ظاهر شده در گناد نر و اسپرماتوسیت‌های ماهی صبور در دو محیط مختلف زندگی جانور (آب شور و آب شیرین رودخانه‌های استان خوزستان) طی چرخه تولید مثلی آن بررسی شده است. نمونه‌برداری از رودخانه بهمنشیر (آب شیرین) و خورموسی (آب شور) انجام و پس از اندازه‌گیری و ثبت طول و وزن ماهی، قطعاتی از بیضه در محلول بوئن تثبیت گردید. از بافت‌های تثبیت شده، مقاطع پارافینه به ضخامت ۵ میکرون تهیه و پس از رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین و ائوزین به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی بیضه ماهیان نر، ۵ مرحله جنسی شامل: اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ مشاهده شد. سلول‌های اسپرماتوگونی بزرگترین سلول‌های جنسی بودند که در تمام مراحل چرخه تولید مثلی حضور داشتند. سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، کروی، کوچک‌تر و تیره‌تر از سلول‌های اسپرماتوگونی هستند. اسپرماتوسیت‌های ثانویه اندکی از اسپرماتوسیت‌های اولیه کوچک‌تر هستند. اسپرماتوزوآ ساختار گرد دارد که به خوبی توسط هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی می شود درحالی که دم آن به‌خوبی رنگ نمی شود.

واژه‌های کلیدی: *T. ilisha*، **بافت‌شناسی، تولید مثل، آنادرومی، خلیج فارس.**

*نویسنده مسئول: amovahedinia@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

مقدمه

مهاجرت‌های تولید مثلی عمدتاً به‌منظور حفظ بقای نسل در ماهی‌ها صورت گرفته و عامل گسترش و سازش گونه‌ها در پهنه آب‌های جهانی شده است. علت اصلی مهاجرت ماهی‌ها پاسخ به نیازهای زیستی می‌باشد (Jobling, 1994). مهاجرت‌های مرتبط با تولید مثل ماهیان عمدتاً شامل مهاجرت از دریا به رودخانه جهت تخم‌ریزی (آنادرومی[1]) و مهاجرت از رودخانه به دریا جهت تخم‌ریزی (کاتادرومی[2]) و زمستان‌گذرانی و مهاجرت دوطرفه دریا به رودخانه و بالعکس (آمفی‌درومی[3]) می‌باشد. ماهی صبور (*Tenualosa ilisha*) تنها ماهی آنادروم در جنوب ایران است. علی‌رغم حضور این ماهی در آب‌های خلیج فارس و مهاجرت آن به رودخانه‌های استان خوزستان، تاکنون در زمینه چرخه زندگی و رسیدگی جنسی آن مطالعه و تحقیقی صورت نگرفته است. مطالعات زیست‌شناسی تولید مثل ماهی‌ها می‌تواند به شناخت دقیق‌تر چرخه زندگی (Sparre and Vanema, 1988) و برنامه‌ریزی بهتر جهت بازسازی ذخائر (Crook and Robertson, 1999) و تعیین دوره ممنوعیت صید که همزمان با دوره تخم‌ریزی است (McDowall, 1996) کمک کند. از آنجا که ماهیان به‌طور عمده دارای الگوها و رفتارهای تولید مثلی زمان‌بندی شده‌ای می‌باشند، مطالعه مراحل بلوغ و تکامل تخمدان و رسیدگی جنسی با بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی تخمدان‌ها قابل پیگیری است. از این رو تغییرات ساختمانی و ریخت‌شناسی در سطح اووسیت‌ها و ساختار تخمدان می‌تواند معرف و شاخص خوبی برای مراحل مختلف بلوغ در گونه‌های مختلف ماهی باشد (Tyler and Sumpter, 1996). بیضه در شکل و اندازه، تغییرات برجسته‌ای نشان نمی‌دهد. از سوی دیگر، اسپرماتوژنز مانند اووژنز در طول فرآیند توسعه، تغییرات واضح و مشخصی نشان نمی‌دهد. افزایش حجم بیضه در مرحله بلوغ به لوله‌های منی‌ساز مربوط می‌شود که سلول‌های مختلف خصوصاً اسپرماتوزوآ در مایع منی شناور هستند. فرآیند اسپرماتوژنز در ماهیان استخوانی به پنج مرحله شامل: اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ تقسیم می‌شود (Gomes *et al.*, 2004). در پژوهش حاضر سعی شده است تا حوادث مورفولوژیکی و تغییرات بافتی و سلولی ایجاد شده در اسپرماتوسیت ماهی صبور در دو محیط مختلف زندگی جانور (آب شور و آب شیرین) طی چرخه تولید مثلی آن بررسی شود.

1. Anadromy
2. Catadromy
3. Amphidromy

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

مواد و روش‌ها

صید ماهی صبور در ایستگاه آب شیرین توسط قایق صیادی محلی صورت گرفت. در ایستگاه آب شور نیز نمونه‌برداری از ماهی توسط قایق‌های صیادی از بندر سجافی در ۳۰ کیلومتری شهرستان هندیجان صورت گرفت (شکل۱ و جدول۱). ماهیان مورد نظر در هر دو ایستگاه با تور گوشگیر با اندازه چشمه ۸۰ میلی‌متر صید شدند. پس از صید و بیهوش نمودن، وزن (گرم) و طول (میلی‌متر) ماهیان به‌ترتیب توسط ترازو و تخته بیومتری اندازه‌گیری و ثبت شد. پس از باز نمودن شکم ماهی و تشخیص ماهیان نر، قطعاتی از بافت گناد ماهی (بیضه) با اندازه تقریبی ۱سانتی‌متر مکعب برداشته شد. این قطعات بافتی مربوط به هر قطعه ماهی به‌صورت جداگانه جهت تثبیت برای انجام سنجش‌های بافتی در محلول بوئن (با نسبت‌های معادل ۷۵ میلی‌لیتر اسید پیکریک اشباع، ۲۵ میلی‌لیتر فرمالدهید خالص و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) قرار داده شد. نمونه‌های موجود در محلول بوئن پس از ۴۸ ساعت (تکمیل فرایند تثبیت) جهت نگهداری تا زمان شروع مطالعات بافتی در الکل ۷۰ درصد قرار داده شد (Movahedinia *et al*., 2012).

شکل ۱- موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه برداری ماهی صبور (*T. ilisha*) در منطقه مورد مطالعه

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

جدول ۱- مختصات جغرافیایی ایستگاه های نمونه‌برداری ماهی صبور (*T. ilisha*)

ایستگاه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
بندر سجافی	″۴۸°۵۰′۳۸	″۳۰°۱۸′۴۳۸۵
بهمنشیر	″۴۹°۲۶′۶۱۳	″۳۰°۰۵′۷۵۵

جهت تهیه اسلایدهای میکروسکوپی، عملیات آماده‌سازی قطعات بافتی[1] (پاساژ بافتی) توسط دستگاه اتوماتیک هیستوکینت (مدل RX-11B, Tissue tek rotary, Japan) صورت گرفت. به این منظور نمونه بیضه مربوط به هر ماهی همراه با کد مشخص‌کننده آن به‌صورت جداگانه در سبدهای کوچک قرار داده شد و این سبدهای کوچک داخل سبد دستگاه چیده شد. دستگاه جهت انجام فرایندهای آبگیری[2] (در سری‌های افزایشی اتانل به‌ترتیب در الکل ۸۰، الکل ۹۰ و سه بار الکل خالص)، نفوذ زایلن و شفاف‌سازی[3] (به‌ترتیب در مخلوطی از زایلن-الکل و دو بار در زایلن خالص) و پارافینه کردن[4] (دو بار در پارافین خالص Merck با دمای ذوب در محدوده ۵۸-۵۶ درجه سانتی‌گراد) تنظیم شد. سپس قطعات بافتی پارافینه‌شده از دستگاه خارج و جهت استقرار در بلوک‌های پارافینه[5] با استفاده از قالب‌های آلومینیومی در پارافین (Merck) قالب‌گیری شد. پس از انجماد بلوک‌های پارافینه و پیرایش[6] آن جهت مشخص‌تر شدن قطعه بافتی در بلوک، برش‌های متوالی[7] به ضخامت 5µm با استفاده از دستگاه میکروتوم (LEICA RM2245, Germany) از نمونه های بافتی تهیه شد. برش‌های بافتی پس از قرار داده شدن در حمام آب گرم (جهت باز شدن چروک ها) و انتقال به روی لام‌های میکروسکوپی، جهت اتصال بهتر بین برش های بافتی و سطح لام، به‌مدت چند دقیقه در آون (۶۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. رنگ‌آمیزی آن‌ها به‌روش هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد. به این منظور اسلایدها به‌ترتیب پارافین‌زدایی (در دو ظرف متوالی زایلن خالص)، آبدهی (در سری‌های کاهشی اتانل شامل الکل ۱۰۰، ۹۰، ۸۰، ۷۰ و آب جاری)، رنگ‌آمیزی (به‌ترتیب با محلول هماتوکسیلین و سپس محلول ائوزین)، آبگیری (در سری‌های افزایشی اتانل) و شفاف‌سازی (در دو ظرف متوالی زایلن خالص) شدند. در نهایت با استفاده از چسب، لامل روی برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده چسبانده شد (Movahedinia *et al.*, 2012). لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری

1. Tissue Processing
2. Dehydration
3. Clearing
4. Paraffin infiltration
5. Paraffin embedding
6. Trimming
7. Serial sections

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

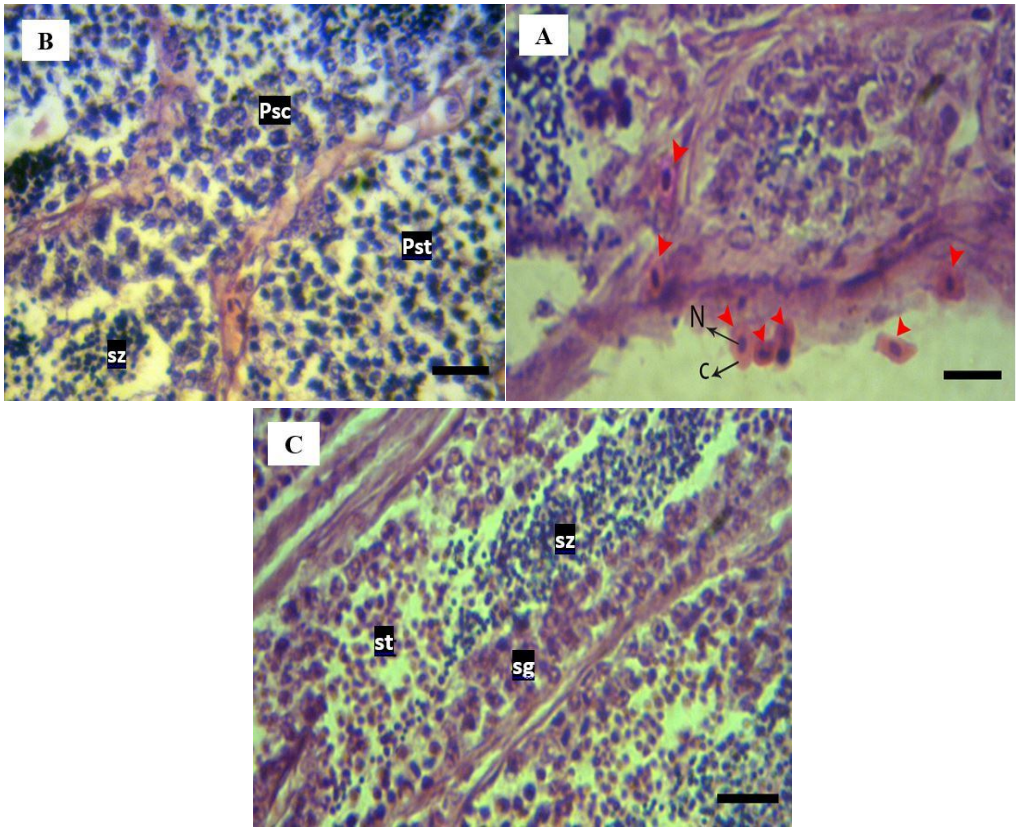
(Olympus ساخت ژاپن) بررسی شد و تصاویر مناسب توسط دوربین نصب شده روی میکروسکوپ Dinolite Digital Microscope و سیستم رایانه‌ای متصل به دوربین مجهز به نرم‌افزار Dino Capture تهیه شد.

نتایج

دستگاه تولید مثلی در ماهیان جنس نر شامل یک زوج اندام طویل و کشیده است که در دو طرف کیسه شنا و در سطح شکمی کلیه‌ها و سطح پشتی لوله گوارش قرار داشتند. در این مطالعه با بررسی میکروسکوپی برش‌های بیضه ماهی صبور (*T. ilisha*) مراحل مختلف جنسی معرفی و اسپرماتوژنز در ۵ مرحله تعیین شد. سلول‌های اسپرماتوگونی[1] بزرگ‌ترین سلول‌های جنسی هستند به‌صورت ردیف‌های گروهی درون سیست‌ها قرار داشتند. در این سلول‌ها، هسته در مرکز سلول واقع شده است و میزان رنگ‌پذیری سیتوپلاسم اندک می‌باشد (شکل ۲A و ۲B). سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه[2] کروی، کوچک‌تر و تیره‌تر از سلول‌های اسپرماتوگونی بودند (شکل ۲A و ۲B). اسپرماتوسیت ثانویه[3] اختلاف ریخت‌شناسی اندکی با اسپرماتوسیت‌های اولیه داشته و اندکی از اسپرماتوسیت‌های اولیه کوچک‌تر بودند (شکل ۲B و ۲C). اسپرماتوسیت‌های ثانویه در ادامه به اسپرماتید[4] تبدیل می‌شوند. این سلول‌ها نسبت به سلول‌های اسپرماتوسیت کوچک‌تر هستند (شکل ۲B و ۲C). سلول‌های اسپرماتوزوآ کوچک‌ترین سلول‌ها در بیضه هستند. اسپرماتوزوآ ساختار گرد دارد که به‌خوبی توسط هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی می‌شود درحالی‌که دم به خوبی رنگ نمی‌شود (شکل ۲B و ۲C).

1. Spermatogonium
2. Primary spermatocyte
3. Secondary spermatocyte
4. Spermatid

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی از بیضه ماهی صبور (*T. ilisha*). A: گناد ماهی صبور نر در آب شور، B و C. گناد ماهی صبور نر در آب شیرین. سر پیکان: سلول‌های اسپرماتوگونی، N: هسته، C: سیتوپلاسم، Ssc: اسپرماتوسیت اولیه، Psc: اسپرماتوسیت ثانویه، sz: اسپرماتوزوآ، sg: اسپرماتوگونی، st: اسپرماتید، sz: اسپرماتوزوآ. خط مقیاس=20µm.

بحث و نتیجه‌گیری

بیضه در ماهیان استخوانی از نظر الگوهای رشد دارای تنوع بسیار می‌باشد. در بعضی گونه‌ها نظیر کپورماهیان دندان‌دار زنده‌زا، فعالیت اسپرماتوژنز در تمام طول سال ادامه دارد. در حالی که در بعضی دیگر مانند آزادماهیان، اسپرماتوژنز در دوره خاص قابل مشاهده است و در بعضی از گونه‌های دیگر نیز فعالیت اسپرماتوژنز به‌صورت نیمه دائم دیده می‌شود. به‌طور کلی اسپرماتوژنز را می‌توان به سه مرحله عمومی تقسیم کرد: تقسیم با کاهش کروموزومی، اسپرمیوژنز و تشکیل اسپرم. بر خلاف اووسیت‌ها،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

اسپرماتوسیت‌ها در طول تقسیم کاهش کروموزومی رشد نمی‌کنند (Chellemal Dezfoulnejad *et al*., 2009).

در بررسی ماکروسکوپیک گناد نر در ماهیان صبور صید شده از دریا، بیضه کوچک، نخ مانند و به‌صورت شفاف مشاهده شد. با مهاجرت ماهیان به آب شیرین، بیضه‌ها به‌صورت ساختارهای استوانه‌ای و پهن به رنگ کرم تغییر می‌یابند که تقریباً تمام سطح شکمی را اشغال می‌کنند. در مشاهدات میکروسکوپی بیضه ماهی صبور سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ مشاهده شدند. سلول‌های اسپرماتوگونی بزرگترین سلول‌های جنسی بودند که در تمام مراحل چرخه تولیدمثلی حضور داشتند و به‌صورت ردیف‌های گروهی درون سیست‌ها واقع بودند. این سلول‌ها دارای هسته مرکزی بزرگ بوده که به‌خوبی توسط هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی می‌شود. در حالی‌که سیتوپلاسم تمایل کمتری برای رنگ شدن دارد.

سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، کروی، کوچک‌تر و تیره‌تر از سلول‌های اسپرماتوگونی بودند و دارای هسته بزرگ هستند که بخش اعظم سلول را اشغال می‌کند. اسپرماتوسیت‌های ثانویه اختلاف مورفولوژی اندکی با اسپرماتوسیت‌های اولیه دارند و کمی از اسپرماتوسیت‌های اولیه کوچک‌تر هستند. اسپرماتوسیت به اسپرماتید و در نهایت اسپرماتوزوآ که کوچک‌ترین سلول در بیضه است تبدیل می‌شود. اسپرماتوزوآ ساختار گرد دارد که به‌خوبی توسط هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی می‌شود درحالی‌که دم به‌خوبی رنگ نمی‌شود. در این مرحله دیواره لوبولی اطراف کیسه‌های اسپرماتوگونی‌ها درحال از بین رفتن بوده و مجاری بزرگ پر از اسپرم را می‌سازند. نتایج این مطالعه با گزارشات ارائه شده توسط زاکی و همکاران (Zaki *et al.,* 1994)، پانتر و همکاران (Panter *et al.,* 2002) و الحلفاوی و همکاران (EL-Halfawy *et al.,* 2003) به‌ترتیب در گونه‌های *Mugil seheli*، *Pimephales promelas* و *Liza ramada* مطابقت دارد. گومز و همکاران (Gomes *et al.,* 2004) و الحلفاوی و همکاران (EL-Halfawy *et al.,* 2011) به‌ترتیب در گونه‌های *Sciadeichthys luniscutis* و *Genidens genidens* و *Oreochromis niloticus* نتایج مشابهی را ارائه دادند.

منابع

Chellemal Dezfoulnejad M., Jamili S.H., Sharifpour A. 2009. Sexual maturation process of *Liza abu* in the Khozestan Province Waters. Marine Biology, 1(4):73-84. (In Persian).

Crook D.A., Robertson A.I. 1999. Relationships between riverine fish and woody debris: implications for lowland rivers. Marine and Freshwater Research, 50(8): 941-953.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

EL-Halfawy M.M., Ramdan A.M., Mahmoud W.F. 2003. Reproductive biology and histological studies of the grey mullet, *Liza ramada*, (Risso,1826) in the lake Timsah, Suez canal. Egyptian Journal of Aquatic Research, 33: 434-454.

El-Sakhawy M.A., El-Saba A.A., Abd Rabou M.I., El-Shammaa M.A., Hussein S.H. 2011. Seasonal histology of the testes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Veterinary Anatomy, 4(2): 61-75.

Gomes I.D., Araújo F.G. 2004. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. Revista De Biologia Tropical, 52(1): 143-156.

Jobling M. 1994. Environmental Biology of Fishes. Springer, Fish and Fisheries Series (Book 16). 456P.

McDowall R. 1996. Freshwater fishes of South-Eastern Australia. Reed Natural History Australia Sydney. 247P.

Movahedinia A., Abtahi A., Bahmani M. 2012. Gill histopathological lesions of the sturgeons. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 7(8): 710-717.

Nowsad A.K.M.A. 2010. Post-harvest Loss Reduction in Fisheries in Bangladesh: A way Forward to Food Security. Final Report. NFPCSP-FAO, PR#5/08 project. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Dhaka. 162P.

Panter G., Hutchinson T., Lange R., Whale G., Sumpter J., Tyler C. 2002. Quantifying histological development in the gonads of sexually maturing fathead minnows (*Pimephales promelas*). Phase two CEFIC-EMSG Aquatic Research Program. 26P.

Sparre P., Vanema S.C. 1998. Introduction to Tropical Fish Stock Assessment. Part 1 Manual, FAO Fisheries Technical Paper, No. 306.1, Rome. 407P.

Tyler C.R., Sumpter J.P. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 6: 287-318.

Zaki M.I., Selman S.B., El-Gharabawy M.M., El-Shorbagy I.K., El-Boray K.F. 1994. Seasonal histological changes in the testes of *Mugil seheli* in the Suez Bay. Bulletin of National Institute of Oceanography and Fisheries of Arabian Republic of Egypt, 20(1): 211-223.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]