

## مطالعه برخی از شاخص های مورفوسیتولوژیک بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) تالاب شادگان

مژگان خدادادی<sup>۱\*</sup>، عبدالرحمن دزفولیان<sup>۲</sup>، غلامحسین محمدی<sup>۳</sup> و تقا دستگیر<sup>۴</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز

۲- دانشگاه علوم پزشکی اهواز

۳- مرکز تحقیقات آبیاری پروری جنوب کشور، اهواز

۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات اهواز

تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۱۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۲۶

### چکیده

در این بررسی خصوصیات بافتی بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در سنین مختلف در تالاب شادگان در طی اسفند ماه ۱۳۸۶ تا تیرماه ۱۳۸۷ مورد بررسی قرار گرفته است. بیضه ۴۰ عدد ماهی بنی نمونه برداری و در محلول فیکساتیو بوئن تثبیت گردید. نمونه ها مطابق روش استاندارد بافت شناسی، آنگیری، شفاف سازی و پارافینه شده و سپس مقاطع ۵ میکرونی از آنها تهیه و بوسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین عکسبرداری مورد مطالعه قرار گرفتند. هشت مرحله جنسی شامل نابالغ، در حال بلوغ، در حال تکوین، تکوین یافته، بالغ، در حال اسپرم ریزی، اسپرم ریزی کرده، در حال استراحت در ماهی های آزمایش شده مشاهده گردید. اندازه قطر سلول های جنسی بیضه ماهی طی روند اسپرماتوژنز در مراحل، نابالغ ۴۰ میکرون، در حال بلوغ ازدیاد اسپرماتوگونی های اولیه ۳۵ میکرون، در حال تکامل اسپرماتوژنز اولیه ۳۰ میکرون، تکامل یافته اسپرماتوژنز میانی ۲۵ میکرون، بالغ اسپرماتوژنز نهایی ۱۰ میکرون محاسبه شد. بر اساس آزمون T-TEST به منظور مقایسه اندازه سلول های جنسی در مراحل مختلف رسیدگی اختلاف معنی داری مشاهده شد. ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون توکی میزان میانگین اندازه سلول جنسی در مرحله I از میزان بیشتری برخوردار بوده است.

### واژگان کلیدی

مورفوسیتولوژی، بیضه، ماهی بنی، *Barbus sharpeyi*، تالاب شادگان، ایران

### Study of testis morophocytological indexes of Benni (*Barbus sharpeyi*) in Shadegan Wetland

Khodadadi, M.<sup>1\*</sup>; Dezfulian, A.<sup>2</sup>; Mohammadi, G.<sup>3</sup> & Dastgir, T.<sup>4</sup>

1- Islamic Azad University, Branch of Ahvaz 2- Ahvaz Medical Sciences 3-Iran South Aquaculture Research Center 4- Islamic Azad University, Science and Research Branch of Ahvaz

### Abstract

In this study, histological characteristics of testis in *Barbus Sharpeyi* at different stages were investigated. Fishes were collected from February 2008 to Shadegan Wetland. Testis of 40 fishes were sampled and fixed in Bouin solution. Samples were processed through standard histological method and studied under light microscope. Following eight maturity stage was observed: Immature, Immature developing, Developing, Developed, Mature, Prespermatation, Spermatation, Reabsorbition. Diameter of testis sexual cells were calculated in immature testis 40 micron, spermatogonium cells 35 micron, primary spermatogenes cells in during evolution 30 Micron, primary spermatogenesis cells in during evolution 30 Micron, Evaluated middle spermatogenoces cells 25 Micron and final rip spermatogenesis 10 Micron.

**Keywords:** Morphocytologic, testis, Benni, *Barbus sharpeyi*, Shadegan Wetland, Iran.

## مقدمه

ماهی بنی از خانواده کپور ماهیان و از جنس سس ماهی می باشد (نیک پی و همکاران، ۱۳۷۵). ماهی بنی از نسب هندی *Torini*، یک تیره در کپور ماهیان است و عمدتاً بومی حوزه دجله و فرات بوده و برخی نواحی ایران از جمله مارش های هورالعظیم، تالاب شادگان و رودخانه های واقع در بخش شمالی خلیج فارس مانند زهره و تالاب الحامر در کشور عراق زیستگاه این ماهی محسوب می شوند. (Coad, 1991) در ایران در رودخانه های کارون و کرخه (نیک پی و همکاران، ۱۳۷۵). بهمنشیر، هورالعظیم و هور شادگان (نجف پور و همکاران ۱۳۷۵) گزارش شده است.

ماهی بنی از گونه های مقاوم نسبت به شرایط نا مساعد محیطی است، به طوری که در آب های راکد و گرم که میزان اکسیژن آنها کم باشد، به راحتی زیست می نماید. (مرعی شوشتری، ۱۳۷۰ و یزدی پور، ۱۳۸۰).

در بین استان های کشور، استان خوزستان به عنوان یکی از قطب های پرورش ماهی بخصوص ماهیان گرمابی مطرح است که متأسفانه طی دهه های اخیر بر اثر افزایش جمعیت، کثرت صید، آلودگی محیط، محدود شدن محل های تخم ریزی، صید بی رویه، عدم رعایت زمان مناسب صید و استفاده از آلات و ادوات صید مخرب، به ذخایر بومی این استان لطمات فراوانی وارد شده است (نیک پی و همکاران، ۱۳۷۵). بازار پسندی این ماهی از یک سو و استفاده از روش ها و آلات صید مخرب توسط اهالی منطقه از سوی دیگر، بقاء این ماهی را به مخاطره انداخته است. اگر چه ماهی بنی از مهمترین ماهیان اقتصادی و بومی در منطقه خوزستان به شمار می روند، ولی اطلاعاتی از خصوصیات فیزیولوژیکی آنها به ویژه در مراحل اولیه رشد و نمو و مراحل تکامل غدد جنسی آنها در دست نمی باشد.

در شرایط فعلی جهت تشخیص مراحل مختلف رسیدگی جنسی در گونه های مختلف ماهیان علاوه بر ریخت شناسی گناد، تعداد سلول های جنسی در هر برش عرضی از بخش های مختلف گناد و ساختار میکروسکوپی گنادها می توان از طریق اندازه قطر هسته و سلول جنسی نیز اقدام نمود. مطالعات آماری قطر سلول و هسته سلول جنسی می تواند ارتباط بین مراحل مختلف رسیدگی جنسی را از نظر رشد و رخداد پدیده هایی چون ذخیره چربی در مرحله رسیدگی جنسی، وضعیت در مرحله رسیدگی جنسی، تقسیمات میتوزی و میوزی سلول های جنسی نر، ظهور تاژک سلول های اسپرماتوزوئید و ... توصیف نماید. با افزایش رشد و مراحل تکوینی رسیدگی جنسی، مساحت و قطر سلول و هسته سلول جنسی کاهش می یابد. این افزایش در قطر سلول به مراتب بیشتر از قطر هسته سلول در مراحل مختلف رسیدگی جنسی می باشد. اندازه قطر سلول جنسی در شروع یک مرحله مشخصی از رسیدگی جنسی با آغاز مرحله بعدی رسیدگی جنسی می شود. می توان گفت تقریباً یکسان است. بنابراین در اعلام عدد مشخص کننده قطر سلول جنسی در مرحله جنسی باید همواره از میانگین داده ها استفاده شود.

یکی از عوامل رشد و بلوغ ماهیان از جمله ماهیان استخوانی، عوامل زیست محیطی از جمله درجه حرارت، نور، شوری و ... می باشد. این عوامل در شرایط مطلوب روی هورمون های رشد و بلوغ زرده سازی سلول های جنسی اثر گذاشته و محور (H - P - G) هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادها را فعال می کند و باعث روند رشد سلول های جنسی بیضه و یا اووسیت ها می شود (Kraak et al., 1998). از آنجایی که ماهی عمدتاً دارای رفتارهای تولید مثل زمانبندی شده می باشند، مطالعه روند بلوغ با بررسی بافت شناسی و ریخت شناسی گنادها قابل پیگیری می باشد. محققین با توجه به شاخص های تشخیصی، رنگ آمیزی، اندازه سلول جنسی و میزان اشغال محوطه بدن در ماهیان استخوانی کلیدهایی را در نظر گرفته اند.

در ماهیان استخوانی دو نوع بیضه لوبولار و توبولار وجود دارد. از نظر ساختمانی، بیضه ماهیان استخوانی بالغ کیسه ای ته بسته و طویل است که از دو بخش اینترستیتیل و لوبولار تشکیل شده است. بخش اینترستیتیل شامل فیبروبلاست، سلول های بینابینی، رگ های خونی و لنف بوده و بخش لوبولار نیز شامل سلول های غیر جنسی و

سلول‌های زایا است. سلول‌های غیر جنسی بخش لوبولار نیز شامل سلول‌های سرتولی است که سلول‌های زایا را که واحدهای کرووی شکل به نام اسپرماتوسیت را تشکیل می‌دهند، احاطه و فضای بین آنها را پر کرده است. (آگارول، ۱۳۸۲، Guraya, 1981 & Kraak et al., 1998)

از آنجا که لازمه تکثیر این گونه شناخت بیولوژی تولیدمثل آن است و نیز به دلیل اینکه تاکنون مطالعه‌ای پیرامون بیولوژی تولیدمثل این گونه صورت نپذیرفته است، بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی ساختمان بیضه این گونه با استفاده از روش بافت‌شناسی جهت شناسایی مراحل مختلف تکامل جنسی گنادهای جنس نر تالاب شادگان و مطالعه برخی از شاخص‌های مورفوسیتولوژیک آن در طول دوره اوج فعالیت تولیدمثلی آنها به اجرا درآمد.

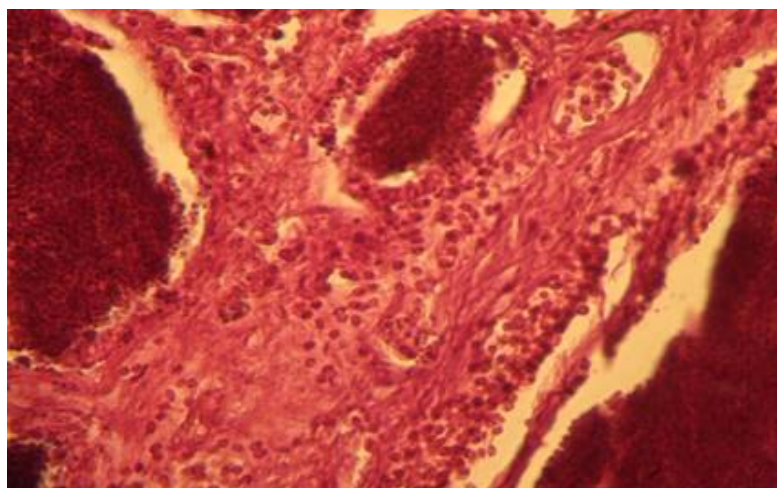
### مواد و روش کار

برای تهیه بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) از اسفند ماه ۱۳۸۶ تا تیر ماه ۱۳۸۷ از تالاب شادگان نمونه‌ها بصورت ماهانه جمع‌آوری شده و بیضه آنها بررسی گردید. در مجموع ۴۰ ماهی در گروه‌های طولی مختلف جمع‌آوری شدند. پس از صید، زیست‌سنجی انجام گرفت که شامل اندازه‌گیری طول و وزن و همچنین اندازه‌گیری وزن بیضه ماهی به کمک ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم بود. نمونه برداری از ابتدا، میانه و انتهای بیضه بطور جداگانه انجام گرفت و عملیات بافت‌شناسی روی آنها صورت گرفت. برای تهیه مقاطع بافتی بیضه، ابتدا بیضه را در محلول بوئن تثبیت کرده و مطابق روش پوستی (۱۳۷۴) آبگیری و شفاف‌سازی انجام شده و در پارافین قالب‌گیری شدند. سپس از بافت‌های قالب‌گیری شده مقاطع ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکاسی و مانیتور مورد مطالعه قرار گرفتند. ضمناً از نرم‌افزار Axiovision برای اندازه‌گیری اندازه سلول‌ها و هسته سلول‌های جنسی و از برنامه‌های SPSS ، ANOVA و T-test جهت تجزیه تحلیل داده‌ها و بررسی وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین قسمت‌های مختلف بیضه استفاده شد.

### نتایج

مراحل رسیدگی جنسی در بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) به شرح زیر بود:  
مرحله I) نابالغ (Immature):

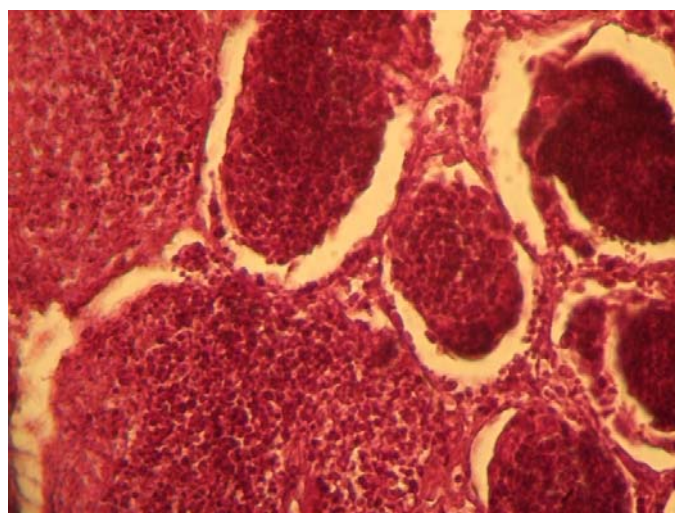
مشاهدات میکروسکوپی: بیضه در این حالت باریک، شفاف می‌باشد و با چشم غیر مسلح قابل تشخیص نیست. مشاهدات میکروسکوپی: لوبول‌ها بیضه‌ای و کوچک هستند و فضای بین لوبولی مملو از استرومای متراکم است که شامل بافت پیوندی شل و رگ‌های خونی می‌باشد. در این مرحله سلول‌های اسپرماتوگونی غیر فعال و سلول بینابینی وجود دارند. اسپرماتوگونی‌ها پراکنده و هسته آنها بزرگ و گرد است. سلول‌های سرتولی نیز به همراه سلول‌های اسپرماتوگونی در بخش زایشی به صورت پراکنده وجود دارند (شکل ۱).



شکل ۱- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله اول رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

### مرحله II) نابالغ در حال بلوغ (Immature developing stage):

مشاهدات میکروسکوپی: کمتر از  $\frac{1}{2}$  (یک سوم) طول شکم را می پوشاند بیضه باریک غیر شفاف، صاف، می باشد. مشاهدات میکروسکوپی: این مرحله شامل ازدیاد سلول های اسپرماتوگونی می باشد. اندازه لوبول ها کاهش می یابد و اسپرماتوگونی های ثانویه در اثر تقسیم میتوز اسپرماتوگونی اولیه بوجود می آیند. هسته و هستک ها به کمک ماده رنگی هماتوکسیلین به خوبی رنگ آمیزی می شوند. اما سیتوپلاسم سلول های اسپرماتوگونی تقریباً رنگ نمی پذیرند. عروق خونی به صورت سلول های خونی متراکم قابل مشاهده می باشند. (شکل ۲)

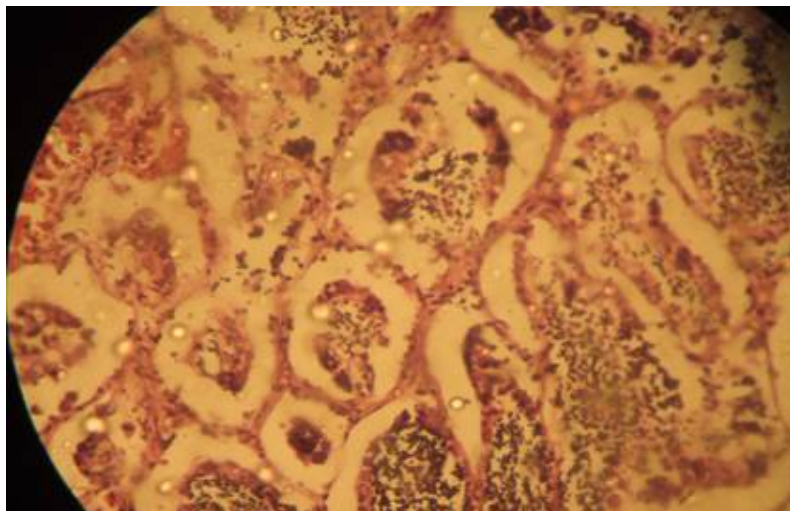


شکل ۲- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) مرحله دوم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

### مرحله III) در حال تکامل (Developing stage) و اسپرماتوژنزاویه :

مشاهدات میکروسکوپی: در این مرحله بیضه رویانی می باشد و خاکستری رنگ و بافت آن صاف است. مشاهدات میکروسکوپی: اندازه لوبول ها به تدریج افزایش یافته است در اکثر لوبول ها مراحل اسپرماتوگونی اولیه، ثانویه و اسپرماتوسیت اولیه وجود دارد. در لوبول ها تعداد اسپرماتوگونیا کاهش یافته و تعداد اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه بخش بیشتری از لوبول های بیضه را اشغال می کنند تقسیمات میتوزی به شدت انجام می شود. در واقع بیشتر

اسپرمتوسیت اولیه دیده می شود و تعداد کمی اسپرماتوگونی و تعداد کمتر اسپرماتوسیت ثانویه دیده می شود. از مشخصه های ظاهری این مرحله می توان تقسیم توده های اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه و تقسیمات آنها اشاره کرد. (شکل ۳)



شکل ۳- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله سوم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

مرحله IV) تکامل یافته (Developed) و اسپرماتوزن میانی :

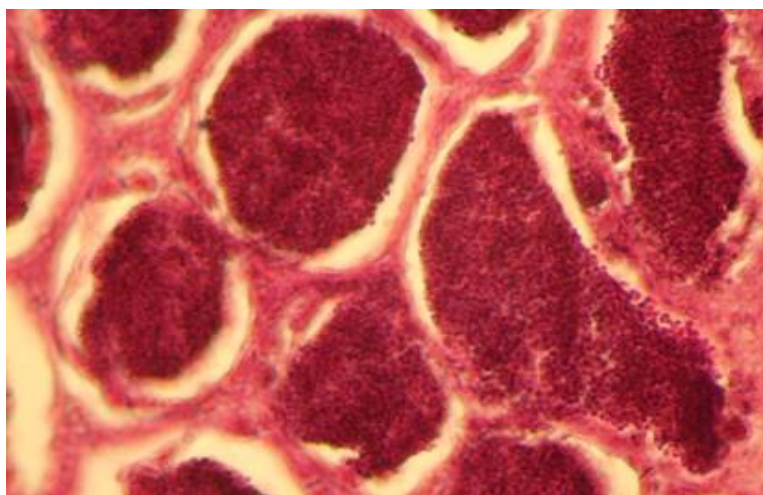
مشاهدات میکروسکوپی: در این مرحله بیضه روبانی شکل و سفید متمایل به صورتی می باشد که دارای رگ های خونی

کم و نیز  $\frac{1}{4}$  حفره شکمی را می پوشاند دارای برجستگی های جزئی می باشد.

مشاهدات میکروسکوپی: در این مرحله بیضه ها نشانگر رشد سلول های زایشی در مراحل مختلف بلوغ و تمایز می باشد

در شروع این مرحله تغییر شکل اسپرماتوسیت های اولیه و اسپرماتوسیت ثانویه به اسپروماتید را می توان به وفور مشاهده کرد. ادامه آن مرحله بعدی تبدیل اسپرماتید به اسپرم است. مشخصه ویژه این مرحله مشاهده کیسه های

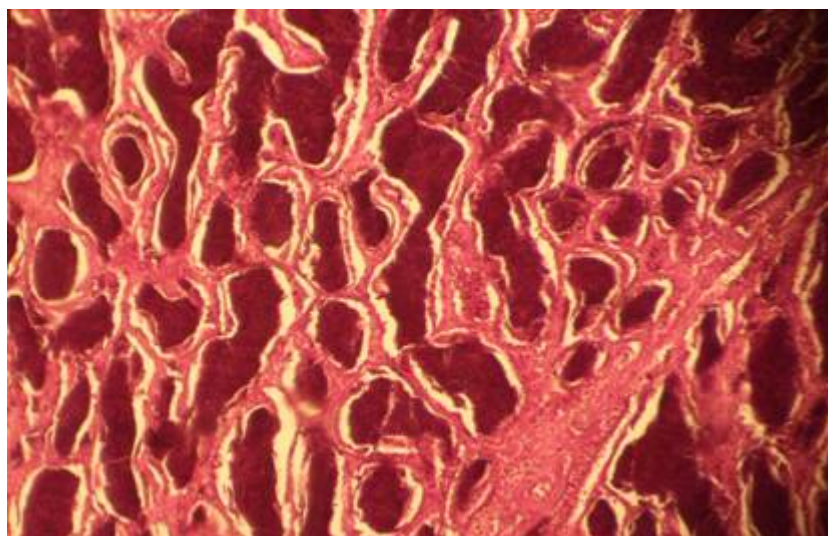
اسپرماتیدی می باشد. (شکل ۴)



شکل ۴- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

#### مرحله V) بالغ (Mature stage) و مرحله نهایی اسپرماتوژنز:

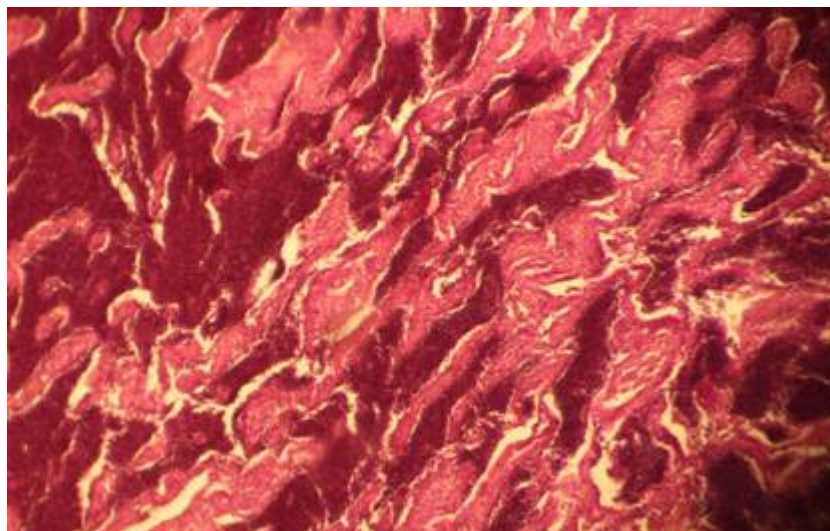
مشاهدات ماکروسکوپی: بیضه به رنگ قرمز خونی کدر کمی متمایل به صورتی که با کمترین فشار مایع شیری رنگ از مجرای خروجی خارج می شود. افزایش قابل توجهی در وزن و حجم بیضه مشاهده می شود. مشاهدات میکروسکوپی: در این مرحله اوج فعالیت اسپرماتوژنیک می باشد و اسپرمیوژنز تغییر شکل اسپرماتید به اسپرم، آغاز می گردد. در حالیکه فضای بین لوبولی کاهش می یابد، دیواره لوبولی نازکتر می شوند و حجم لوبول افزایش می یابد. در این حالت اسپرم ها به دسته های متعددی تقسیم می شوند. تعداد اسپرماتوگونی ها و اسپرماتوسیت ها کاهش می یابد. رگ های خونی بخوبی تغذیه دسته های اسپرم را تأمین می کند. در قسمت پیشین لوبول ها اسپرماتوگونی های در حال استراحت دیده می شود (شکل ۵).



شکل ۵- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله پنجم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

#### مرحله VI) قبل از خروج اسپرم (Pre spermiation stage):

مشاهدات ماکروسکوپی: بیضه ها پهن و دارای چین خوردگی می باشد. اسپرم ها به صورت مایع شیری رنگ خارج می گردد. فضای بین دو کیسه هوایی را می پوشاند بیضه ها به رنگ قرمز متمایل به صورتی دیده می شوند. مشاهدات میکروسکوپی: این مرحله با رقیق شدن مایع اسپرمی (Thinning of semen) همراه است. در این مرحله رها سازی اسپرم به صورت مایع مشاهده می شود. نازک بودن دیواره بیضه، وجود اسپرم در لوبول ها نیز از ویژگی های مهم این مرحله می باشد و نیز بر اساس اسلایدهای بافت شناسی در این مرحله کیسه های انباشته از اسپرماتوزوئیدهای تمایز یافته، کانال های اسپرمی و عروق خونی فراوان بخوبی قابل مشاهده می باشند. (شکل ۶)

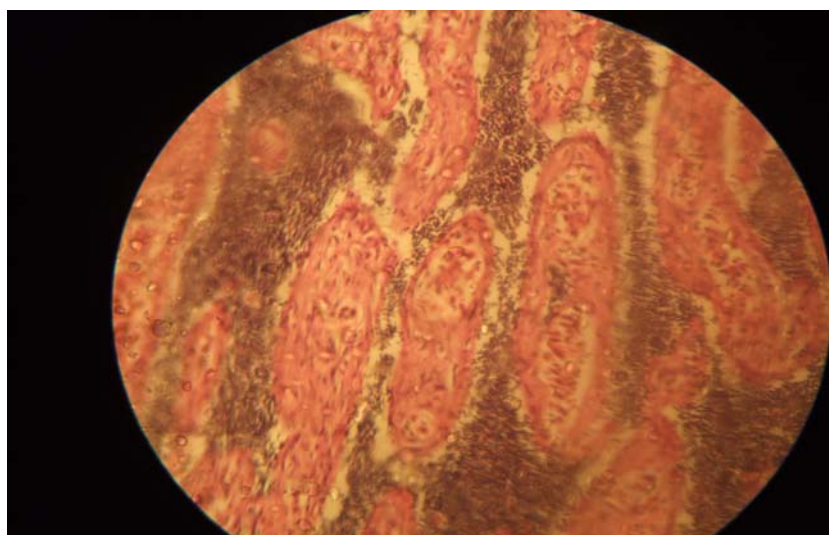


شکل ۶- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله ششم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 10$

#### مرحله (VII) اسپرم (Spermiation stage) و تخلیه نسبی:

مشاهدات ماکروسکوپی: طول شکم را می پوشاند رنگ بیضه قرمز متمایل به صورتی می باشد و تقریباً خالی از اسپرم می باشد.

مشاهدات میکروسکوپی: در این مرحله از ویژگیهای مهم وجود لوبول های خالی می باشد که در برخی از لوبول ها اسپرم های باقی مانده وجود دارند که تخلیه نشده اند که در این حالت این اسپرم ها توسط سلول های سرتولی نزدیک دیواره لوبول فاگوسیتوز می شوند و فرآیند بیگانه خواری بسرعت فعال می شود که نقش نابود کننده اسپرم های باقی مانده را ایفا می کند. (شکل ۷)

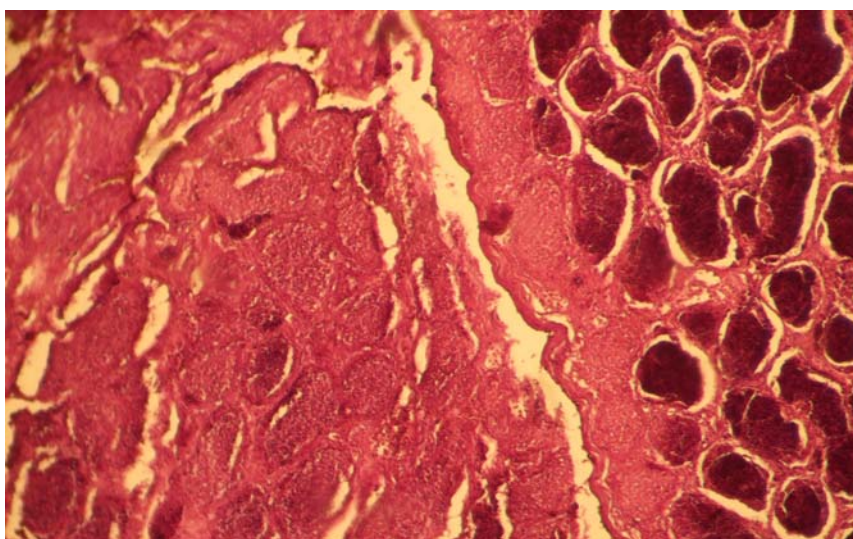


شکل ۷- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله هفتم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 10$

### مرحله VIII) تخلیه نهایی - تهی سازی (باز جذب (Reabsorbtion stage):

مشاهدات میکروسکوپی: بیضه قرمز رنگ و چروکیده می باشد و کاملاً خالی از اسپرم می باشد و به علت خروج اسپرم بیضه ها چروکیده، باریک و لوله شکل دیده می شود و رنگ بیضه به دلیل کاهش وزن خون در آنها، از قرمز متمایل به صورتی به قهوه ای روشن تغییر می یابد.

مشاهدات میکروسکوپی: لوبول های خالی یا کیسه های اسپرمی خالی از اسپرم (شکل ۸) مشاهده می شود. تعدادی از اسپرم های باقیمانده در برخی از لوبول ها وجود دارند که تخلیه نشده اند که طی فرآیند بیگانه خواری نابود می شوند یا باز جذب می شوند. علاوه بر آن سلول های جنسی که تمایز نیافته اند و شامل سلول های اسپرماتوگونی می باشند قابل مشاهده اند.



شکل ۸- برش عرضی بافت بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مرحله هشتم رسیدگی جنسی، عدسی  $X = 40$

اندازه میانگین قطر سلول و هسته سلول های جنسی بیضه ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در مراحل مختلف

#### رسیدگی جنسی

میانگین قطر سلول و هسته سلول های جنسی بیضه در ماهی بنی در مراحل مختلف در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱ - میانگین قطر سلول و هسته سلول های جنسی بیضه ماهی بنی (میکرون)

مراحل	I	میانگین	II	میانگین	III	میانگین	IV	میانگین	V	میانگین
قطر سلول (میکرون)	۳۹/۳۶	۱۴/۳۷	۲۸/۰۶	۱۰/۲۳	۱۵/۲۹	۵/۵۷	۱۲/۰۳	۴/۲۹	۱۰	۳/۶۶
قطر هسته (میکرون)	۲۵/۲	۹/۲۴	۱۸/۰۷	۶/۶۲	۸/۱۸	۲/۹۸	۶/۸۷	۲/۵۴	۴/۴۱	۱/۶۰

بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه به منظور مقایسه اندازه هسته در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بیضه اختلاف معنی داری مشاهده شده ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون توکی میزان اندازه سلول جنسی در مرحله I از میزان بیشتری برخوردار بوده است.



بر اساس آزمون T-TEST به منظور مقایسه اندازه سلول های جنسی در مراحل مختلف رسیدگی اختلاف معنی داری مشاهده شد. ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون توکی میزان میانگین اندازه سلول جنسی در مرحله I از میزان بیشتری برخوردار بوده است.

### بحث و نتیجه گیری

مراحل تکامل و رسیدگی غدد جنسی و استراتژی تولید مثل در بسیاری از گونه های ماهیان استخوانی با تلاش برای فهم مکانیسم فیزیولوژی تولید مثل قابل توصیف می باشد. بسیاری از تحقیقات به سوی بررسی تکامل و رسیدگی سلول های جنسی ماهیان کشیده شده است (Arockiaraj, 2004 & Wallace, 1981). مراحل رسیدگی سلول های جنسی در بسیاری از ماهیان استخوانی مشابه می باشد (Brandao, 2003 & Carrason, 2003 و 1993 و Kayaba, 2001 و Casadevall, 2001). مقایسه تغییرات مراحل مختلف رسیدگی جنسی گنادهای ماده و نر ماهیان در سنین مختلف و مشاهده ساختار میکروسکوپی آنها به ما امکان درک بهتر روند تکامل گنادها و تشخیص حدود عددی قطر غدد جنسی را به منظور ورود به مرحله تخم ریزی، اسپرم ریزی و در نهایت زمان تحقق تکثیر را می دهد. الگوهای متفاوتی در رشد بیضه ماهیان استخوانی حقیقی قابل مشاهده است. در برخی ماهیان از قبیل کپور ماهیان دندان زنده زاء، فعالیت اسپرماتوژنز در طول سال ادامه دا رد و در سایر ماهیان از قبیل آزاد ماهیان فعالیت اسپرماتوژنز تنها در دوره های مشخص، قابل مشاهده است و در دوره جدید تا اتمام دوره قبل شروع نخواهد شد (Billard, 1986). حالت های بینابینی نیز در برخی ماهیان مثل کپور مشاهده می شود (تاکاشیما، ۱۳۷۸). در مطالعه روند تکامل بیضه، مراحل مختلف تکامل بیضه بر اساس ترکیب مراحل مختلف تکاملی اسپرم موجود در لوبول های بیضه، بیان می گردد. بیضه ماهیان استخوانی بر اساس وجود یا عدم وجود حفره یا محل قرارگیری اسپرماتوگونی به دو نوع لوبولار و توبولار تقسیم می شوند (Billard, 1986 & Grier, 1981) بنابراین با توجه به مشاهده ساختار لوبولی و نحوه استقرار اسپرماتوگونی ها، ساختار بیضه ماهی بنی همانند بیشتر ماهیان استخوانی (تاکاشیما، ۱۳۷۸) از نوع لوبولار تشخیص داده شد. علت انتخاب دوره زمانی اسفند ماه تا تیر ماه جهت تعیین مراحل جنسی به این دلیل بوده که اوج فعالیت جنسی ماهیان بنی اسفند ماه تا اردیبهشت بوده است. در فروردین ماه با افزایش درجه حرارت آب، اسپرماتوژنز به سرعت پیشرفت می کند. در این زمان بیشتر لوبول های بیضه حاوی اسپرماتید و اسپرماتوزوا می باشند و اسپرم سیال نیز در آنها ظاهر می شود که قادر به انتقال به مجاری اسپرم بر یا اسپرم ریزی می باشند. در اوایل بهار فعالیت اسپرماتوژنز به اوج خود می رسد و ماهیان قادر به اسپرم ریزی می باشند و این توانایی در نرهای بالغ طی یک دوره طولانی مدت از فروردین ماه تا تیر ماه قابل مشاهده است. بنابراین طی فروردین ماه تا تیر ماه کمبودی از نظر ماهیان نر با توانایی اسپرم ریزی وجود ندارد و به نظر می رسد نیاز به تزریق هورمون برای القای اسپرم ریزی نباشد. نتایج مطالعات بافت شناسی ماهی بنی *B. sharpeyi* تالاب شادگان نشان داد که این ماهی، ۸ مرحله جنسی مختلف را دارا می باشد و در هر ماه می توان مراحل مختلف رسیدگی جنسی بیضه ها را مشاهده نمود که این موضوع اسپرم ریزی غیر همزمان این ماهیان را توضیح می دهد و با نتایج مطالعات هیستولوژیک بیضه هماهنگی دارد. کاکیسکی و اوکونیکو (۲۰۰۷) نیز در بررسی های خود به غیر همزمان بودن تخم ریزی در ماهی زبرا اشاره نموده است. در بیشتر گونه های ماهیان استخوانی فصول تخم ریزی بر انجام چندین مرحله تخم ریزی حمایت می گردد. از طرفی مشخص شده است که طبق تحقیقات قبلی در مورد ماهیان دیگر مانند کپورماهی معمولی و... ماهی بعد از عمل تخم ریزی به مرحله II رسیدگی جنسی در حال بلوغ باز می گردد که این مرحله به مرحله برگشتی اطلاق می شود (Yesaki, 1989).

نتایج مطالعات انجام شده توسط اسمیت و والکر در سال ۲۰۰۴ بر روی کپور معمولی برای تعیین مراحل رسیدگی جنسی به طور مجزا با مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی صورت گرفت و در این تحقیق تعداد ۲۳۱ گنادهای ماهی کپور معمولی نر و ماده مورد بررسی قرار گرفت. از طریق بررسی ویژگی های ماکروسکوپی تعیین مراحل رسیدگی جنسی بطور مجزا امکان پذیر نبود ولی به وسیله مطالعات هیستولوژی سه مرحله رسیدگی جنسی برای بیضه این ماهی شناسایی شده است.

در مرحله در حال بلوغ (I) ماهی کپور مانند مرحله III ماهی بنی، لوبولها نسبتاً کوچک و آشکار می باشند و بوسیله اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه و اسپرماتید پر شده اند. اسپرم در این مرحله قابل تشخیص نمی باشد. در مرحله پیشرفته (II) ماهی کپور لوبولها بزرگ و مجزا و پر از اسپرم می باشد و به راحتی و با کمترین فشار از محفظه شکمی خارج می شوند و اسپرم ریزی مانند مرحله V در ماهی بنی صورت میگیرد. در مرحله VIII در ماهی بنی با مرحله III ماهی کپور شباهت داشته و بعد از اسپرم ریزی لوبول کوچک و آشکار و رگهای خونی فراوانی دیده می شود. البته بر اساس مشاهده بافت های تهیه شده از بیضه سس ماهی بزرگ سر توسط ایگدری در سال ۱۳۸۱ ساختاری با حفرات لوبولی تشخیص داده شد که در آنها اسپرماتوگونی ها پیرامون این حفره یا لومن واقع شده بودند، همچنین اسپرمها پس از تولید در لوبولها، از طریق مجاری اسپرم بر به ابتدای مجاری اصلی هدایت اسپرم که می تواند به صورت یک مخزن تجمع اسپرم در نظر گرفته شود منتقل می شدند. با توجه به مشاهده بافت های تهیه شده از بیضه در طول یک سال، کلید ۶ مرحله ای برای تکامل بیضه بیان شد. که طبق آن در مرحله اسپرماتوگونی I، لوبولهای بیضه حاوی اسپرماتوگونیای اولیه بوده که در امتداد حفره لوبولی قرار میگیرند و این مرحله با مرحله II رسیدگی جنسی بیضه ماهی بنی مطابقت دارد و مرحله اسپرماتوژنزمیانی II، در لوبولهای بیضه سس ماهی تعداد اسپرماتوگونی کاهش یافته و تعداد اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه بخش بیشتری از لوبولهای بیضه را اشغال می کند و در برخی لوبولها اسپرماتید نیز قابل مشاهده است و با مرحله III رسیدگی جنسی بیضه ماهی بنی مطابقت دارد.

در مرحله اسپرماتوژن III، بیشتر لوبولهای بیضه سس ماهی توسط اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه و اسپرماتید اشغال می شود و تعداد کمی اسپرماتوزوا نیز در قسمت مرکزی لوبولها مشاهده می شود و با مرحله IV رسیدگی جنسی بیضه ماهی بنی مطابقت دارد.

مرحله نهایی اسپرماتوژن IV سس ماهی، تعداد اسپرماتید و اسپرماتوزوا در لوبولها افزایش و میزان اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه از نظر تعداد کاهش یافته و این با مرحله V رسیدگی جنسی بیضه بنی مطابقت دارد و در مرحله پیش از خروج اسپرم V در بررسی ایگدری در ۱۳۸۱ لوبولهای بیضه سس ماهی پر از اسپرماتوزوا و این مرحله با رقیق شدن مایع منی (آبگیری) و خروج اسپرم همراه بود که با مرحله VI و VII رسیدگی جنسی بیضه ماهی بنی مطابقت دارد.

در مرحله باز جذب VI، در صورت عدم اسپرم ریزی در سس ماهی اسپرمها توسط سلولهای سر تولی فاگوسیتوز شده و شباهت زیادی به مرحله VIII رسیدگی جنسی بیضه ماهی بنی دارد.

## تشکر و قدردانی

از همکاری مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز و مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اهواز جناب آقای دکتر لک در فراهم نمودن تجهیزات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می نمایم. از مسئولین محترم آزمایشگاه واحد علوم و تحقیقات سر کار خانم مکتبی به دلیل همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

## فهرست منابع

- آگارول، ن.ک. ۱۳۸۲. تولید مثل ماهیان. ترجمه عیسی، کمالی و تورج، ولی نسب. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین الملل. ایران.
- ایگدری، سهیل، مجازی امیری، باقر و میر واقضی، علیرضا. ۱۳۸۱. مقاله مطالعه بافت شناسی ساختار بیضه و چرخه تولید مثل جنس نر سس ماهی بزرگ سر مهاجر به رودخانه های سفید رود و پلرود. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. شماره چهارم. زمستان ۱۳۸۲.
- پوستی، ایرج. ۱۳۷۴. بافت شناسی مقایسه ای و هیستوتکنیک. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران. ایران.
- تاکاشیما، اف و ت. هاپیا. ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی. ترجمه ایرج، پوستی و صدیق، مروستی. انتشارات دانشگاه تهران.
- مرعشی شوشتری، جواد. ۱۳۷۰. گزارش بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی بنی. سازمان تحقیقات و آموزش شیلات ایران. مرکز تحقیقات شیلاتی استان خوزستان. بخش تکثیر و پرورش. ایران.
- نیک پی، منصور و صفی خانی، حسین. ۱۳۷۵. گزارش نهایی پروژه بررسی بیولوژیک ماهی شیربت (*Barbus grypus*) و ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) موسسه تحقیقات شیلات ایران.
- نجف پور، ناصر، اسکندری، غلامرضا و مدیسه، سیمین. ۱۳۷۵. گزارش نهایی پروژه شناسایی برخی از ماهیان آب شیرین خوزستان. موسسه تحقیقات شیلات ایران.
- یزدی پور، عبدالکریم. ۱۳۸۰. گزارش بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی بنی. سازمان تحقیقات و آموزش شیلات ایران. مرکز تحقیقات استان خوزستان. بخش تکثیر و پرورش. ایران.
- Arockiaraj, A. J.; Haniffa, M. A.; Seetharaman, S. & Singh, S. 2004. Cyclic changes in gonadal maturation and histological observations of threatened freshwater catfish "Narikeliru" *Mystus montanus* (Jerdon 1849). Acta Ichthyol. Piscat., 34 (2): 253-26.
- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and Spermatology of some teleost, Report. Nutr. Develop., 26:877-920.
- Brandao, C. A.; Valentim, F. M. & Pellegrini Caramaschi, E. 2003. Ovary maturation stages and oocyte features in three species of the Neotropical fish Hemiodus (Müller, 1842), Braz. Arch. Biol. Technol., 46 (3): 433-441.
- Carrason, M. & Bau, M. 2003. Reproduction and gonad histology of *Aidablennius sphyinx* (Pisces: Blenniidae) of the Catalan Sea (Northwestern Mediterranean). Sci. Mar., 67 (4): 461-469.
- Cakici, O. & Semaisa, U. 2007. Oocyte Development in the Zebrafish, *Danio Rerio* (Teleostei: Cyprinidae). E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2007: 137-141.
- Casadevall, M.; Streisinger, G.; Singer, F. & Walker, C. 1993. Description of different stages of oogenesis in *Ophidion barbatum* (Pisces, Ophidiidae). Environ. Biol. Fish., 36: 109-123.
- Coad, B.W. 1991. Fishes of the Tigris-Euphrates Basin: a critical checklist syllogus. Canadian Museum of Nature Canada, 68: 1-50.
- Guraya, S.S. 1986. The cell and molecular, biology of fish oogenesis, S.Karger Publi. New York.

- Grier, H.J. 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Amer. Zool.*, 21: 345-375.
- Kayaba, T.; Takeda, N. & Yamauchi, K. 2001. Ultra structure of the oocytes of the Japanese eel *Anguilla japonica* during artificially induced sexual maturation. *Fish. Sci.*, 67 (5): 870–879.
- Kraak, V.G.; Chang, J. P. & Jans, D.M. 1998. The physiology of fishes. Edited by D.H.Evans. Second edition, chapter 18. CRC Press.
- Smith, B.B. & Walker, K.F. 2004. Spawning dynamics of Common carp in the River Murry, South Australia, shown by macroscopic and histological staging of gonads. The Fisheries Society of the British Isles, *Journal of Fish Biology*, 64,336-354.
- Wallace, R. A. & Selman, K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer. Zool.*, 21: 325-343.
- Yesaki, M. 1989. A Review of biological fisheries in the Indo pacific region in interaction of Pacific tuna fisheries. FAO, Rome, Italy.