

بررسی بافت شناسی تغییرات غدد جنسی پس از تجویز هورمون ۱۷آلفا - متیل تستوسترون در ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مهندس مریم طلا^۱ دکتر مریم رضاییان^۲ دکتر فرهاد امینی^{۳*}

دریافت مقاله: ۱۰ خرداد ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱ مرداد ماه ۱۳۸۴

Histological Study of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after administration of 17 α -methyl testosterone

Tala, M.¹, Rezaian, M.², Amini, F.³

¹Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center- Bandar Abbas-Iran. ²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran. ³Department of Animal and poultry Health and nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

Objective: Study of histological changes in gonads of fish received a variety treatment of 17- α methyl testosterone.

Animals: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Design: Descriptive study.

Methods: Application of 17- α methyl testosterone (MT) using immersion and/or oral administration methods in two seasons and in 5 and 11 treatments along with a control group with no hormonal treatment for each season, respectively. In immersion method eyed eggs and larvae were immersed in 250 mg/l MT bath for 2 hours twice 4 and 8 days apart. In oral administration method newly feeding larvae were fed with food containing 0.5, 1, 2, 3 and 30 ppm MT for 60, 70, 90 and 120 days after commencing active feeding. Histological examination was carried out on gonads of 20 fish from each treatment as well as control group at the age of 11 and 24 months for two seasonal groups of fish, respectively.

Results: Masculinization and sterilization were successfully carried out on rainbow trout by using a variety treatment of MT. A range of histological changes were observed in gonads of different treatment groups. This included histologically normal males, normal females, intersex, totally atrophic gonads and sterile fish. In some testes a number of follicles were seen among the mass of spermatozoa. In intersex gonads both male and female cell types were observed alongside each other. Sterile gonads could be categorized as: sterile males, sterile females as well as completely sterile containing residual male cells, residual female cells and no cells at all, respectively. In a number of specimens spermatozoan cysts were typically observed.

Conclusion: Application of 17- α methyl testosterone to rainbow trout at early stages of development could dramatically change the histological profile of gonads ranging from functional testes, to intersex, to sterility.

J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,2:187-193,2006.

Keyword: Rainbow trout, gonads, sex reversal, 17- α methyl testosterone.

Corresponding author's email: famini@ut.ac.ir

هدف: بررسی بافت شناسی غدد جنسی ماهیان قزل آلائی رنگین کمانی که به منظور تغییر جنسیت به نر تحت تجویز هورمون ۱۷آلفا - متیل تستوسترون قرار گرفته بودند.

طرح: مطالعه توصیفی.

حیوانات: ماهی قزل آلائی رنگین کمان.

روش: تجویز هورمون ۱۷آلفا - متیل تستوسترون (MT) با استفاده از دو روش غوطه‌وری و خوراکی در دو فصل و در ۵ و ۱۱ تیمار و منظور نمودن یک گروه شاهد در هر فصل. تجویز ۲۵۰ میکروگرم در لیتر هورمون MT.

به تخمهای چشم زده و لاروهای دارای کیسه زرده در دو نوبت ۲ ساعته با فواصل زمانی ۴ و ۸ روز در روش غوطه‌وری. تجویز مقادیر ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۳۰ هورمون MT به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال برای دوره‌های زمانی ۶۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۲۰ روزه در روش خوراکی. تهیه لامهای بافتی از غدد جنسی ۲۰ عدد ماهی از هر یک از تیمارهای فصل اول و دوم به ترتیب در سن ۲۴ و ۱۱ ماهگی. بررسی تغییرات بافتی احتمالی در غدد جنسی و نیز تعیین نسبتهای جنسی (نر، ماده، جنسیت بینابینی و عقیمی) در هر تیمار و نیز در گروه شاهد.

نتایج: در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان در تیمارهای هر دو فصل، وضعیت‌های جنسی نر، ماده، جنسیت بینابینی و عقیمی مشاهده گردید. در مقاطع بافت شناسی بیضه یکی از ماهیان نر فصل اول، در میان انبوه سلولهای اسپرما توژوئید، چند عدد فولیکول نیز مشاهده شد. در جنسیت بینابینی، سلولهای جنسی نر و ماده در کنار یکدیگر مشاهده شدند و در حالت عقیمی که خود شامل سه گروه نر عقیم، ماده عقیم و کاملاً عقیم گردید، غدد جنسی به طور نسبی و یا مطلق عاری از سلولهای جنسی نر یا ماده بودند. در مقاطع بافت غدد جنسی تعدادی از ماهیان نر عقیم و ماهیان دارای جنسیت بینابینی در تیمارهای فصل اول و بعضی از ماهیان نر در تیمارهای فصل دوم، سیستهای که مملو از اسپرما توژوئید بودند در مجاورت سلولهای تمایز نیافته مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به مشاهدات بافت شناسی در این مطالعه می‌توان اظهار داشت که ایجاد نرسازی با روش تجویز خوراکی هورمون ۱۷آلفا - متیل تستوسترون میسر می‌باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۲، ۱۹۳-۱۸۷.

واژه‌های کلیدی: قزل آلائی رنگین کمان، غدد جنسی، تغییر جنسیت، بافت شناسی، ۱۷آلفا - متیل تستوسترون.

تاکنون مطالعات بسیاری در مورد تغییر جنسیت در ماهیان پرورشی و نیز

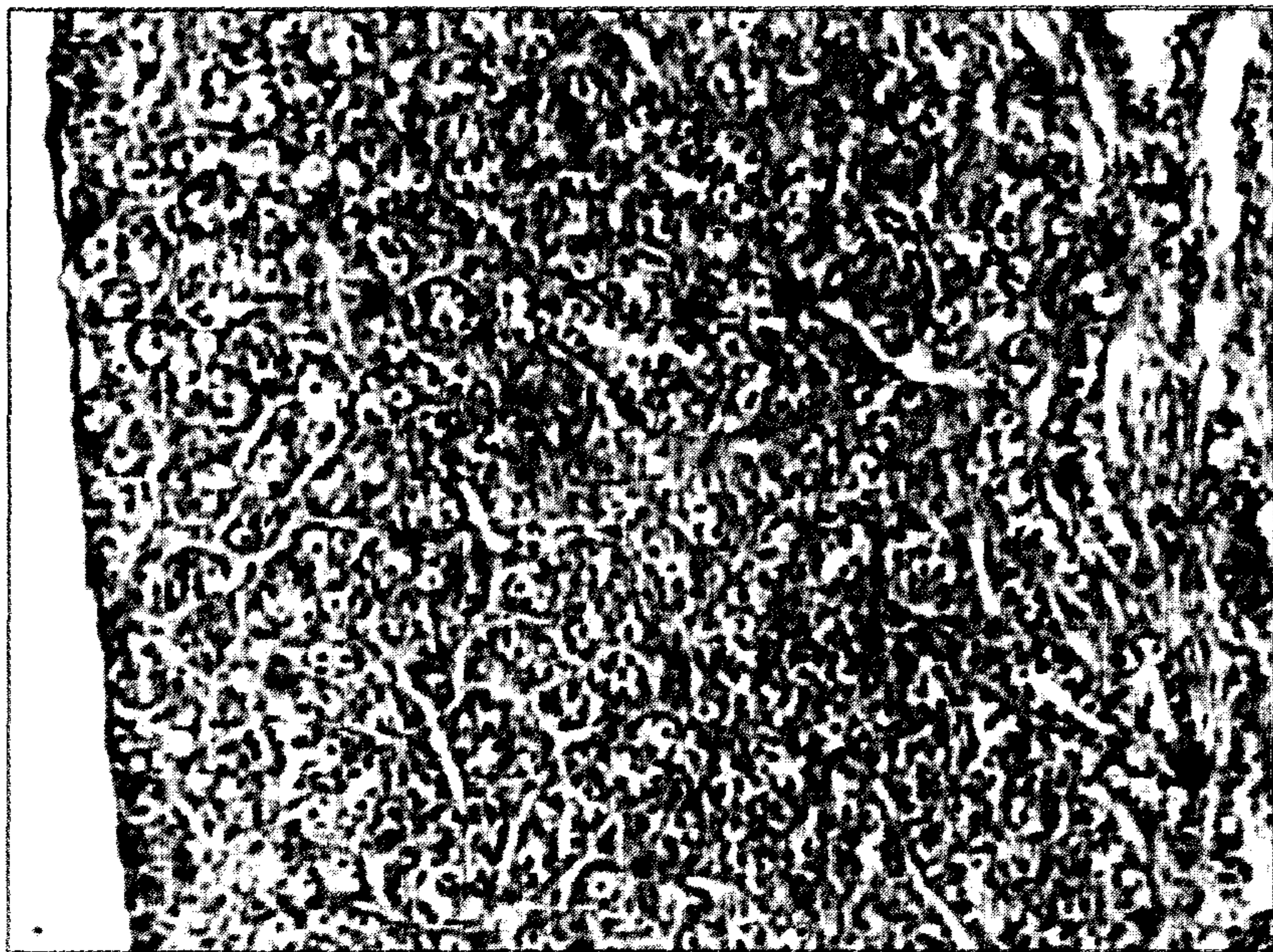
(۱) عضو هیئت علمی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان - موسسه تحقیقات شیلات ایران

(۲) گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(* نویسنده مسؤل: famini@ut.ac.ir





تصویر ۲- مقطعی از بافت یک بیضه طبیعی شامل سلولهای جنسی در ماهی نر. (گروه شاهد از فصل دوم، ۱۱ ماهگی، طول کل ۲۱ سانتیمتر، وزن ۱۲۹ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰x.

هورمون ۱۷آلفا-متیل تستوسترون در ماهی قزل آلابی رنگین کمان، پژوهش حاضر در دو فصل (زمستان ۷۷ و بهار ۷۹) انجام گردید. مراحل میدانی این پژوهش در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت و مراحل آزمایشگاهی آن در آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. تخم چشم زده و لارو دارای کیسه زرده برای انجام این بررسی از مرکز آزاد ماهیان شهید باهنر، هورمون مورد نیاز از شرکت داروسازی ابوریحان و غذای مورد نیاز از نوع کنسانتره و در اندازه SFT و FFT از کارخانه چینه تهیه گردیدند. برای تجویز هورمون به ماهیان مورد آزمایش در فصل اول از دوروش غوطه وری و خوراکی و برای انجام آزمایش در فصل دوم فقط از روش خوراکی استفاده شد. برای انجام این بررسی، ۵ تیمار و یک گروه شاهد در فصل اول و ۱۱ تیمار و یک گروه شاهد در فصل دوم در نظر گرفته شد.

تیمارهای فصل اول عبارت بودند از:

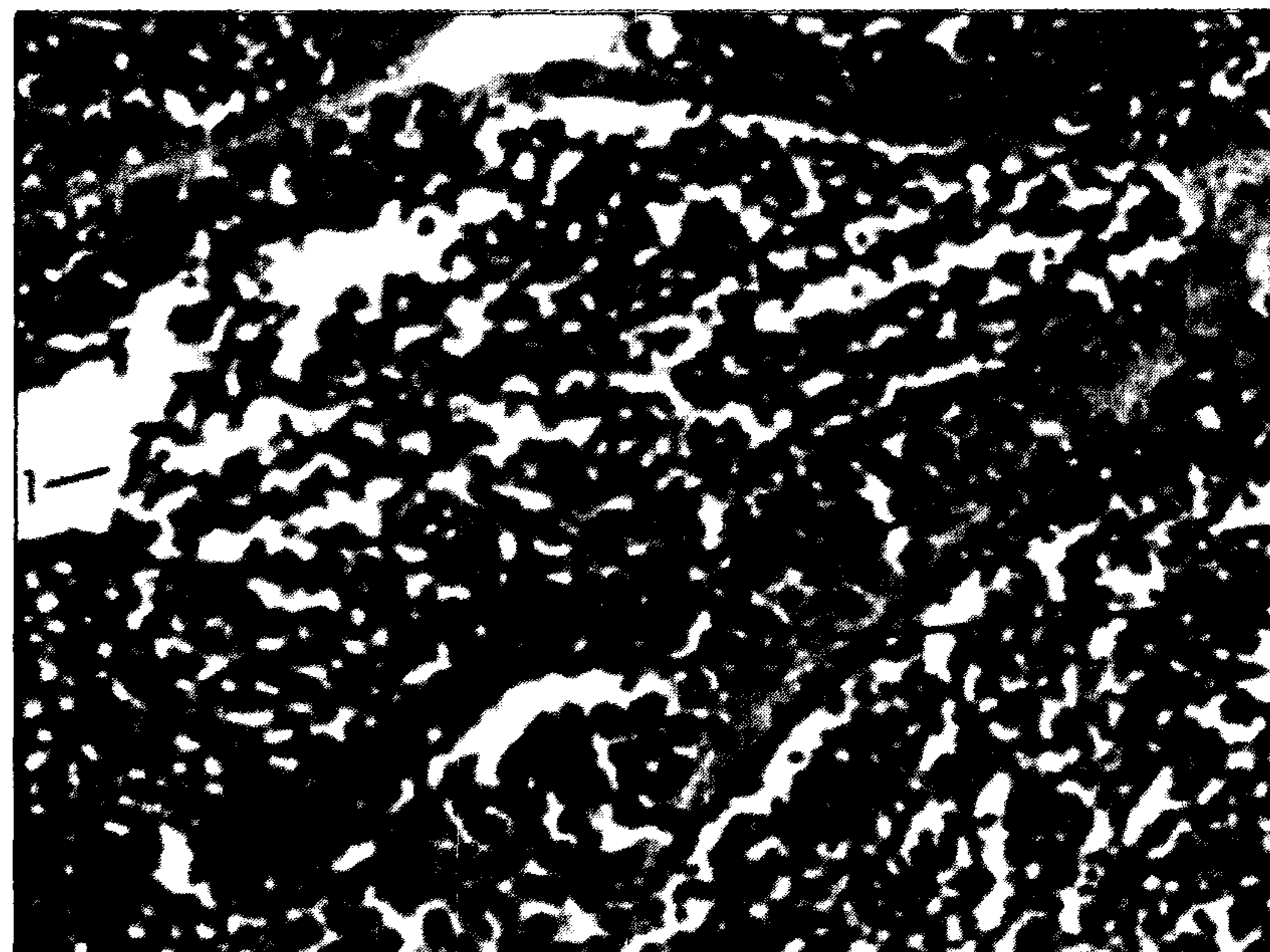
(۱) دو نوبت غوطه وری تخمهای چشم زده و لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصله ۸ روز و هر نوبت به مدت ۲ ساعت.

(۲) سه نوبت غوطه وری تخمهای چشم زده و لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصله ۴ روز و هر نوبت به مدت ۲ ساعت.

(۳) دو نوبت غوطه وری تخمهای چشم زده و لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصله ۸ روز و هر نوبت به مدت ۲ ساعت به اضافه تجویز خوراکی هورمون به مقدار ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز.

(۴) تجویز خوراکی هورمون به مقدار ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۷۰ روز.

(۵) تجویز خوراکی هورمون به مقدار ۳۰ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز.



تصویر ۱- مقطعی از بافت یک بیضه غده ای شکل که اسپرماتوزوئیدها (۱)، اسپرماتوسیتها (۲) و سلولهای سرتولی (۳) در آن مشاهده می شوند. (تیمار ۵ از فصل اول، ۲۴ ماهگی، طول کل ۲۷ سانتیمتر، وزن ۳۲۰ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین بزرگنمایی ۴۰۰x.

ماهیان زینتی انجام شده است زیرا در بیشتر گونه های ماهیان، معمولاً یک جنس نسبت به جنس دیگر برتری دارد. در آزاد ماهیان پرورشی، جنس ماده نسبت به جنس نر ارجح می باشد زیرا ماده ها دیرتر از نرها بالغ می گردند و در نتیجه در طول دوره پرورش بیشتر از جنس نر رشد می کنند (۱۳، ۱۴). همچنین در اکثر ماهیان زینتی، ماهیان نر نسبت به ماهیان ماده رنگهای متنوع تری داشته و لذا ارزش تجاری بیشتری دارند (۱۲).

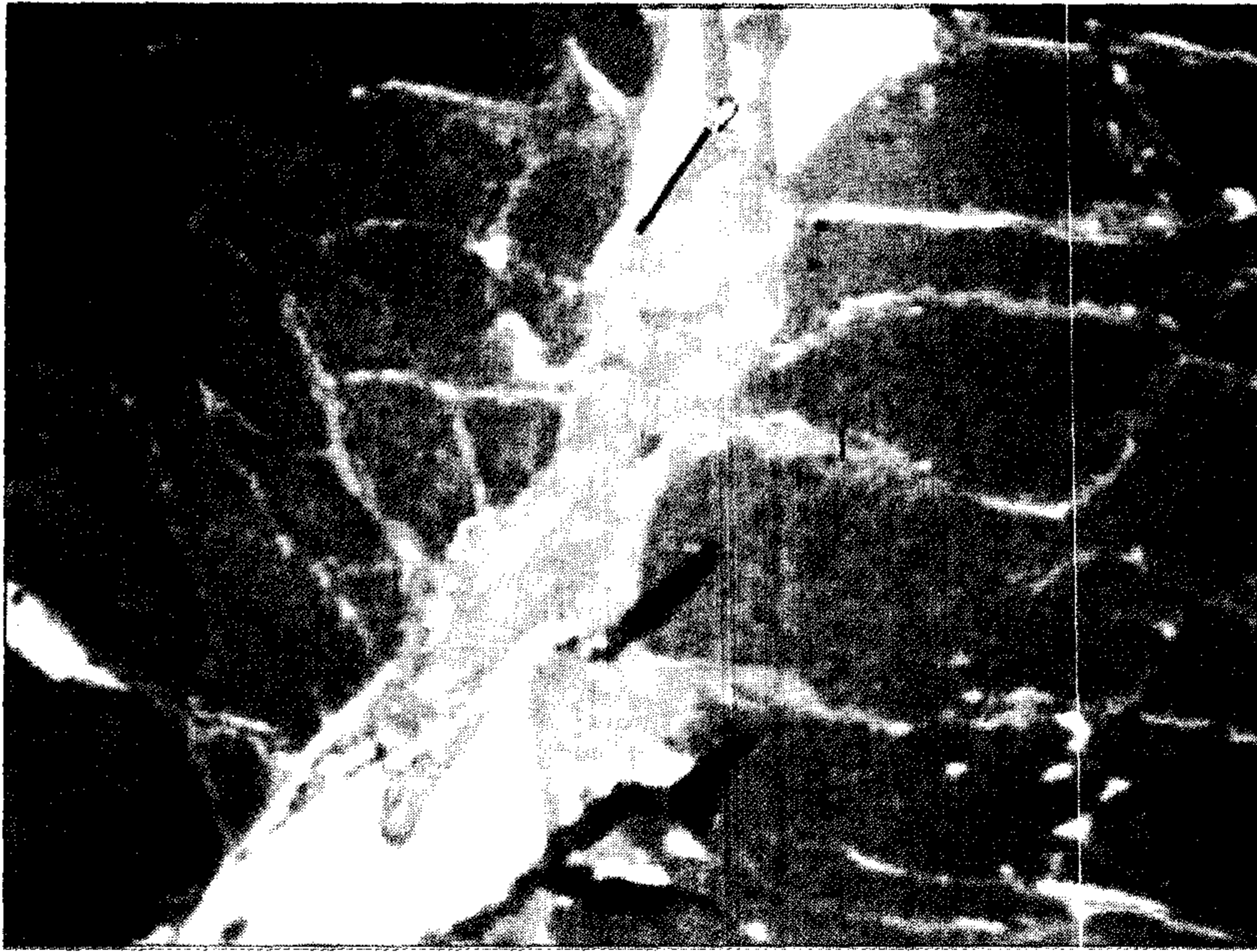
به منظور تغییر جنسیت در ماهیان، تجویز استروئیدهای جنسی باید در هنگام تمایز جنسی فیزیولوژیک آغاز گردد و برای دوره مناسبی ادامه یابد (۱۵). فرآیند تمایز جنسی در ماهیان استخوانی، فرآیندی بی ثبات است که زمینه را برای ایجاد تغییر جنسیت از طریق تجویز استروئیدهای جنسی در بسیاری از گونه های ماهیان فراهم می نماید. برای تجویز استروئیدهای جنسی به منظور تغییر جنسیت در ماهیان، روشهای متفاوتی وجود دارد که روش تجویز خوراکی و غوطه وری در حمام هورمون، مؤثرترین آنها می باشند (۱۲).

استفاده از هورمونها برای تغییر جنسیت در ماهیان در ایران از اوایل دهه ۱۳۷۰ آغاز شد و نرسازی در ماهی کپور معمولی و همچنین ماهی قزل آلابی رنگین کمان با استفاده از هورمون ۱۷آلفا-متیل تستوسترون انجام گردیده است (۱، ۲، ۵، ۶). با وجود پژوهشهای بسیاری که برای ایجاد تغییر جنسیت در انواع زیادی از ماهیان انجام شده است، اما تغییرات بافت شناسی ناشی از تجویز هورمون در غدد جنسی ماهیانی که مورد آزمایش قرار داشته اند، به طور خاص مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا مطالعه حاضر، صرفاً به منظور بررسی تغییرات بافت شناسی غدد جنسی پس از تجویز هورمون ۱۷آلفا-متیل تستوسترون در ماهی قزل آلابی رنگین کمان انجام گردید.

مواد و روشها

به منظور بررسی بافت شناسی تغییرات غدد جنسی ناشی از تجویز



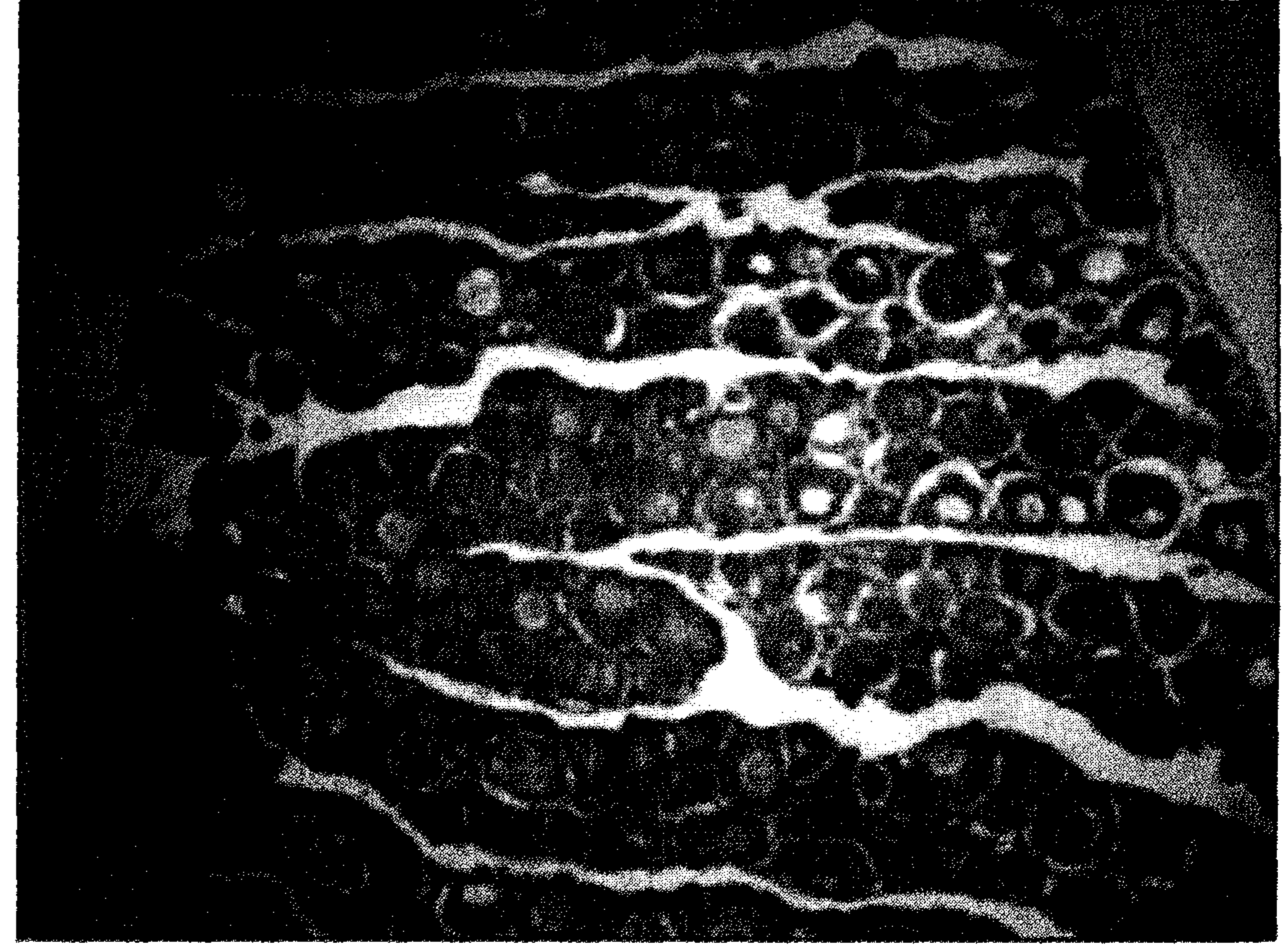


تصویر ۴- مقطعی از بافت یک بیضه غده‌ای شکل که متشکل از دو لوب نابرابر می‌باشد که مملو از اسپرماتوزوئید هستند (۱) و در محل اتصال دو لوب به یکدیگر، تعدادی فولیکول (۲) مشاهده می‌گردد. (تیمار ۱ از فصل اول، ۲۴ ماهگی، طول کل ۲۵ سانتیمتر، وزن ۶۸۳ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین، بزرگنمایی ۳۲x.

برداشته شد. سپس مراحل معمول در آزمایشگاه بافت‌شناسی انجام گردیده و مقاطع پارافینی با ضخامت $6\mu\text{m}$ بریده و با روش هماتوکسیلین - انوزین رنگ آمیزی گردیده و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج

غدد جنسی ماهیان گروه شاهد از آزمایش فصل اول که در هنگام بررسی ۲۴ ماهه بودند، کاملاً تمایز یافته بوده و به طور ماکروسکوپی دارای ساختار بیضه (در ماهیان نر) و تخمدان (در ماهیان ماده) بودند. مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان نر در گروه شاهد شامل اسپرماتوگونئیوم‌ها، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه، اسپرماتوزوئیدها، سلول‌های سرتولی و بافت همبند بودند (تصویر ۱) و در مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان ماده در این گروه غالباً تخمک‌های رسیده مشاهده گردید. غدد جنسی ماهیان گروه شاهد از آزمایش فصل دوم که به هنگام بررسی ۱۱ ماهه بودند، کاملاً رشد نکرده بودند، به طوری که تشخیص جنسیت ماهی فقط از طریق تهیه و بررسی مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی آنها میسر گردید. به این ترتیب که مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان نر شامل اسپرماتوگونئیوم‌ها و اسپرماتوسیت‌ها و در مورد ماهیان ماده شامل اووگونئیوم‌ها و اووسیت‌ها بودند (تصاویر ۲ و ۳). بررسی مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان ماده گروه شاهد در هر دو فصل نشان داد که تخمدان این ماهیان به طور مشخص ساختار تیغه‌ای داشتند. در حالی که بررسی بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان مورد آزمایش در تیمارهای مختلف نشان داد که این غدد در ماهیانی که هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون دریافت نموده بودند، در مقایسه با گروه‌های شاهد تغییرات چشمگیری داشتند که مهمترین آنها شامل نرسازی، جنسیت بینابینی و عقیمی بود. مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان نر در تیمارهای فصل اول (۲۴ ماهه) که مشخصاً ساختار بیضه داشتند، مانند بیضه ماهیان نر طبیعی در گروه شاهد شامل اسپرماتوگونئیوم‌ها،



تصویر ۳- مقطعی از بافت یک تخمدان طبیعی شامل سلول‌های جنسی در ماهی ماده. ساختار تیغه‌ای تخمدان به وضوح مشاهده می‌گردد. گروه شاهد از فصل دوم، ۱۱ ماهگی، طول کل ۲۳ سانتیمتر، وزن ۱۶۵ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین، بزرگنمایی ۳۲x.

تیمارهای فصل دوم عبارت بودند از:

۱، ۲، ۳، ۴) ۵ppm، ۱ppm، ۲ppm و ۳ppm از زمان شروع تغذیه فعال

به مدت ۶۰ روز.

۵ و ۶) ۱ppm و ۳ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز.

۷ و ۸) ۱ppm و ۳ppm از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز.

۹ و ۱۰) ۱ppm و ۳ppm از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰

روز.

۱۱) ۳۰ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز.

ماهیان مورد آزمایش، پس از پایان دوره تجویز هورمون تا رسیدن به اندازه مناسب جهت نمونه برداری از غدد جنسی، با غذای فاقد هورمون تغذیه شدند. سپس هنگامی که ماهیان فصل اول، ۲۴ ماهه و ماهیان فصل دوم ۱۱ ماهه بودند، از هر گروه آزمایشی تعداد ۲۰ ماهی و جمعا ۳۶۰ ماهی به طور تصادفی نمونه برداری گردید. سپس غدد جنسی تمام ماهیان نمونه خارج شده و به طور جداگانه درون ظروف شیشه‌ای درب دار حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. این ظروف پس از شماره‌گذاری، برای تهیه مقاطع بافت‌شناسی به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافتند. پس از پایداری غدد جنسی در فرمالین، بخش یا بخش‌های مورد نظر از غدد جنسی ماهیان نمونه جهت تهیه مقاطع بافتی جدا گردید. در ماهیان فصل اول از میان تعدادی که به طور مشخص واجد بیضه یا تخمدان بودند، به طور تصادفی دو نمونه بیضه و تخمدان انتخاب گردید و در مورد ماهیانی که غدد جنسی آنها ظاهری غیر طبیعی داشتند، آن بخش از هر غده جدا گردید که تغییرات مشخصی داشت. مثلاً در مورد بیضه‌هایی که از دو لوب تشکیل شده بودند، محل اتصال دو لوب جدا شد. در مورد ماهیانی که به ظاهر عقیم بوده و غدد جنسی تحلیل رفته داشتند، یکی از دو غده جنسی از هر ماهی انتخاب گردید. در مورد غدد جنسی ماهیان فصل دوم نیز که تمام آنها کوچک و تمایز نیافته بودند، یکی از دو غده جنسی مربوط به هر ماهی



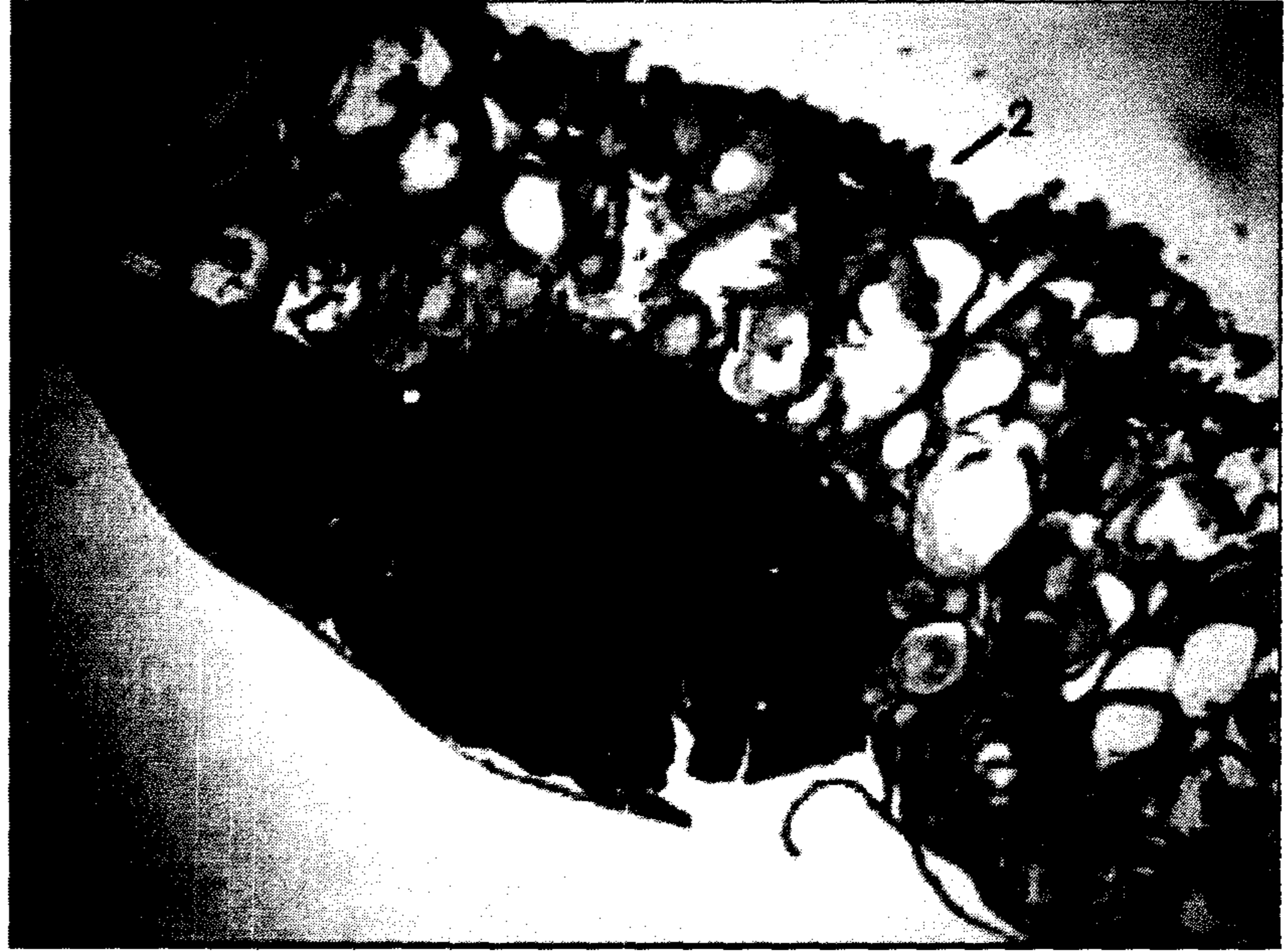


تصویر ۶- مقطعی از بافت یک بیضه نر عقیم که بیشتر متشکل از بافت پیوندی (۱) با چند منطقه کوچک شامل تعدادی سلولهای جنسی نر (۲) می باشد. (تیمار ۴ از فصل اول، ۲۴ ماهگی، طول کل ۲۷ سانتیمتر، وزن ۳۳۰ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۳۲x.

غدد جنسی ماهیان ماده در تیمارهای فصل دوم، شامل سلولهای جنسی تمایز نیافته و غالباً اووگونئومها و اووسیتها بودند و در غدد جنسی آنها، برخلاف ماهیان ماده در گروه شاهد، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده نگردید. به هنگام بررسی مقاطع بافت شناسی غدد جنسی یکی از ماهیان ماده مربوط به تیمارهای فصل دوم، اووسیتهایی مشاهده گردید که هر کدام دارای چندین هستک بودند (تصویر ۸). قابل ذکر است که از مجموع ۳۶۰ ماهی نمونه برداری شده در هر دو فصل، فقط ۲۷ ماهی ماده یافت گردید.

بحث

نتایج حاصل از مشاهدات بافت شناسی انجام شده در این بررسی نشان داد که تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون می تواند باعث تغییر جنسیت در ماهیان ماده و تبدیل آنها به ماهیان نر فنوتیپی (XX) گردد. بررسی بافت شناسی غدد جنسی ماهیان نر تغییر جنسیت یافته نشان داد که غدد جنسی این ماهیان، همانند ماهیان نر طبیعی شامل اسپرماتوگونئومها، اسپرماتوسیتها، اسپرماتوزوئیدها، همچنین سلولهای سرتولی و بینابینی می باشند، لذا آمیزش ماهیان نر تغییر جنسیت یافته که دارای ژنوتیپ XX می باشند با ماهیان ماده طبیعی (XX)، موجب تولید جمعیتهای تک جنسی تماماً ماده خواهد شد. Hunter و Donaldson در سال ۱۹۸۳ توانستند از طریق لقاح تخمکهای طبیعی با اسپرم ماهیان نر تغییر جنسیت یافته توسط هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در ماهی آزاد چینوک *Oncorhynchus tshawytscha* جمعیتهای تک جنسی تماماً ماده تولید نمایند (۸). بدیهی است در صورتی که یک جمعیت تماماً ماده (از نظر ژنتیکی) نرسازی شوند، ماهیان تغییر جنسیت یافته، تماماً ماهیان نر XX خواهند بود (۱۰). در بررسی مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان نمونه، چند مورد جنسیت بینابینی مشاهده گردید که در تمام آنها سلولهای جنسی نر و ماده به صورت لوبهای مجزا در مجاورت یکدیگر قرار داشتند و لابلای



تصویر ۵- مقطعی از بافت یک غده جنسی توسعه نیافته با جنسیت بینابینی. سلولهای جنسی نر به صورت یک لوب مشخص (۱) در حاشیه غده جنسی مشاهده می شوند و سایر نواحی شامل سلولهای جنسی ماده (۲) می باشند. (تیمار ۱ از فصل اول، ۲۴ ماهگی، طول کل ۳۰ سانتیمتر، وزن ۴۲۳ گرم). رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۳۲x.

اسپرماتوسیتهای اولیه و ثانویه، اسپرماتوزوئیدها، سلولهای سرتولی و بافت همبند بودند. در حالی که غدد جنسی تمام ماهیان نر (۱۱ ماهه) در تیمارهای فصل دوم تمایز نیافته بوده و مانند ماهیان نر در گروه شاهد غالباً متشکل از اسپرماتوگونئومها و اسپرماتوسیتها بودند. در مقاطع بافت شناسی بیضه تعدادی از ماهیان در تیمارهای فصل اول، در حالی که مملو از اسپرماتوزوئید بودند، چند عدد فولیکول نیز مشاهده گردید (تصویر ۴). مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان با جنسیت بینابینی در ماهیان نمونه مربوط به تیمارهای هر دو فصل مشاهده گردید. غدد جنسی در این حالت به طور همزمان شامل سلولهای جنسی نر و ماده بودند (تصویر ۵). در مجموع از ۳۶۰ ماهی نمونه برداری شده در هر دو فصل، ۸ ماهی با جنسیت بینابینی مشاهده گردید که از این تعداد، فقط در یک ماهی که متعلق به تیمارهای فصل اول بود، تشخیص جنسیت بینابینی به صورت ماکروسکوپی و بدون نیاز به تهیه مقاطع بافت شناسی میسر گردید. در این ماهی، بخش خلفی غده جنسی شامل بافت بیضه و بخش قدامی آن به طور مشخص دارای ساختمان تخمدان بود. در حالت عقیمی، مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان، غالباً شامل بافت همبند بوده و سلولهای جنسی به طور کامل از بین رفته و یا فقط به تعداد کمی باقی مانده بودند (تصویر ۶). در این بررسی، حالت عقیمی به سه گروه نر عقیم، ماده عقیم و کاملاً عقیم تقسیم گردید. پدیده جالبی که در مقاطع بافت غدد جنسی تعدادی از ماهیان نر عقیم و بعضی از ماهیان با جنسیت بینابینی در تیمارهای فصل اول و بعضی از ماهیان نر در تیمارهای فصل دوم مشاهده گردید، وجود سیستهای از سلولهای جنسی نر تکامل یافته بود که غالباً شامل اسپرماتوزوئید بودند (تصویر ۷). در بعضی از مقاطع بافت شناسی غدد جنسی نر در تیمارهای فصل دوم، سیستهای سلولی در حال تشکیل نیز مشاهده گردید. غدد جنسی ماهیان ماده در تیمارهای فصل اول به طور مشخص دارای ساختار تخمدان بوده و در مرحله ۳ یا ۵ رسیدگی جنسی قرار داشتند. در حالی که تمام مقاطع بافت شناسی





تصویر ۸- مقطعی از بافت یک تخمدان شامل فولیکولهای کوچک، بعضی از اووسیتها دارای بیش از یک هسته (۱) می باشند (تیمار ۱۱ از فصل دوم، ۱۱ ماهگی، طول کل ۱۹ سانتیمتر، وزن ۹۲ گرم)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x.



تصویر ۷- مقطعی از بافت یک بیضه شامل چندین سیست (۱) حاوی سلولهای جنسی در مراحل پیشرفته (تیمار ۳ از فصل دوم، ۱۱ ماهگی، طول کل ۲۰ سانتیمتر، وزن ۱۲۵ گرم)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۳۲x.

خونی قرار داشته اند، به دلیل دریافت مقدار بیشتر هورمون، تمایز یافته تر از سلولهای جنسی سایر نواحی شده اند. فرضیه ای که برای تفاوت تعداد این سیستمها در ماهیان نمونه مربوط به هر تیمار می توان در نظر گرفت، تفاوت رقابت غذایی در میان ماهیان مختلف هر تیمار و در نتیجه دریافت مقادیر متفاوت از هورمون می باشد. از طرفی عدم پخش کاملاً یکنواخت هورمون در تمام دانه های غذا و شانس متفاوت ماهیها برای دریافت دانه های غذایی که حاوی مقادیر کافی هورمون باشند، همچنین تفاوت های موجود در بین ماهیان از نظر گیرنده های سلولی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، ممکن است در این پدیده مؤثر بوده باشد. فرضیه ای که می توان برای نحوه تشکیل این سیستمهای سلولی در نظر گرفت، این است که سلولهایی که به دلیل دریافت مقادیر بیشتر هورمون، تمایز بیشتری یافته و کوچکتر شده اند، به تدریج از سلولهای مجاور فاصله گرفته و نهایتاً سیستمهای متشکل از سلولهای جنسی پیشرفته ایجاد شده است. سیستمهای سلولی که در غدد جنسی ماهیان فصل اول تشکیل شده بودند بسیار بیشتر از سیستمهای سلولی موجود در غدد جنسی ماهیان فصل دوم بود، به طوری که گاهی به تعداد زیاد در تمام سطح مقطع بافت مشاهده می گردید. احتمالاً دلیل کاهش تعداد این سیستمها در ماهیان فصل دوم نسبت به ماهیان فصل اول، سن کمتر ماهیان فصل دوم (۱۱ ماهه) در مقایسه با ماهیان فصل اول (۲۴ ماهه) می باشد.

به طور کلی بر اساس مشاهدات بافت شناسی انجام شده، غدد جنسی عقیم در سه گروه نر عقیم، ماده عقیم و کاملاً عقیم قرار گرفتند. مقاطع بافت شناسی در گروه نر عقیم به دو حالت مشاهده گردید. در حالت اول، غدد جنسی غالباً شامل بافت همبند بوده و سلولهای جنسی نر تحلیل رفته به تعداد اندک و به طور پراکنده در بعضی مناطق و یا فقط در یک قسمت مشاهده شدند. اما در حالت دوم، سلولهای جنسی نر در سراسر مقطع بافت غدد جنسی عقیم وجود داشتند. در هر دو حالت، سلولهای جنسی نر در گروه

یکدیگر نبودند. اما در بررسی که توسط فرحمند در سال ۱۳۷۲ بر روی ماهی کپور معمولی انجام گردید، سلولهای جنسی نر و ماده در غدد جنسی با جنسیت بینابینی در لابلاهای یکدیگر مشاهده شدند (۷). به نظر می رسد که ایجاد ماهیان با جنسیت بینابینی، احتمالاً بدلیل دریافت مقادیر ناکافی هورمون توسط ماهیان تحت تیمار باشد زیرا در این ماهیان به دلیل عدم حضور مؤثر در رقابت غذایی و یا دریافت دانه های غذایی که به طور تصادفی حاوی مقادیر کمتری هورمون بوده اند و یا به دلیل تفاوت های موجود بین ماهیان از نظر توانایی گیرنده های سلولی هورمون مذکور، تغییر جنسیت به طور کامل ایجاد نشده است. Okada و همکاران در سال ۱۹۸۱ [نوشته شده در Yamazaki (1983)] نیز در آزمایشی که با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در قزل آلاهای رنگین کمان انجام دادند، غدد جنسی با هر دو نوع سلولهای زایگر نر و ماده را مشاهده نمودند (۱۵). ماهیان با جنسیت بینابینی را می توان در زمان بلوغ برای ایجاد دودمانهای خالص جهت اهداف اصلاح نژادی مورد استفاده قرار داد. Chevassus و همکاران در سال ۱۹۸۸ [نوشته شده در Cousin-Gerber et al. (1989)] در آزمایشی که بر روی ماهی قزل آلاهای رنگین کمان انجام دادند، موفق به تولید ماهیان دو جنسی خودبارور گردیدند (۹). در بررسی حاضر نیز امکان ایجاد خودباروری در یکی از ماهیان دو ساله فصل اول که هر دو بافت بیضه و تخمدان به طور همزمان در غده جنسی آن مشاهده گردید، وجود داشت. سیستمهای سلولی متشکل از سلولهای جنسی پیشرفته که در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی تعدادی از ماهیان نر عقیم و نیز ماهیان با جنسیت بینابینی در فصل اول و همچنین تعدادی از ماهیان نر فصل دوم مشاهده گردید، در هیچ یک از ماهیان نر گروه شاهد یافت نشد. تعداد این سیستمهای سلولی، همچنین تعداد سلولهای تشکیل دهنده هر سیست در مقاطع بافت غدد جنسی ماهیان مختلف، متفاوت بود. یک فرضیه برای علت تشکیل این سیستمها، این است که سلولهای جنسی موجود در مناطقی از غدد جنسی که در مجاورت مویرگهای



غدد جنسی با تخمدانهای توسعه یافته در مرحله ۵ رسیدگی جنسی و ده مورد دارای تخمدانهای کوچک در مرحله ۳ رسیدگی جنسی بودند. احتمالاً ماهیان ماده مشاهده شده در آزمایش فصل اول، شامل ماهیان ماده طبیعی که هورمون دریافت نکرده اند و نیز ماهیانی می باشند که تحت تاثیر معکوس ماده سازی ناشی از تجویز مقادیر زیاد هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون قرار گرفته اند. اثر ماده سازی معکوس اندروژنها در تیلاپای موزامبیک *Oreochromis mossambicus* نیز گزارش شده است (۱۴). ممکن است دلیل این امر، پدیده عطری شدن حلقه A در مولکول تستوسترون باشد که باعث تبدیل آن به استرادیول می گردد (۴). احتمالاً هورمونهای نرو ماده که معمولاً در پستانداران نوعاً مختص به یک جنس هستند، می توانند در گونه‌هایی از مهره‌داران پست تر که ثبات جنسی ندارند، تمایز جنسی متضادی را در مقایسه با نسبت جنسی مورد انتظار ایجاد کنند. یعنی این موضوع که برای نرسازی در ماهیها از اندروژنهای ساختگی انسانی استفاده می شود، ممکن است باعث ایجاد تاثیراتی نظیر ماده سازی گردد. Hunter و Donaldson در سال ۱۹۸۳ نیز معتقدند که فعالیت بیولوژیک هورمونها، ممکن است با منشاء آنها مرتبط باشد. به علاوه به نظر می رسد اثر استروئیدهای با منشاء خارجی، ویژگی گونه‌ای داشته و بیش از جنبه فیزیولوژیک، دارای جنبه فارماکولوژیک باشد. با وجود این، مکانیسم این ماده سازی معکوس ایجاد شده هنوز به روشنی دانسته نشده و به دلیل تنوع وسیع پاسخها در گونه‌های مختلف ماهیها به مقادیر کم یا زیاد هورمون، شرح یک مکانیسم واضح مشکل است (۱۴). در آزمایش فصل دوم نیز ۱۴ ماهی ماده مشاهده گردید که ساختار تیغه‌ای تخمدان در مقاطع بافت هیچ یک از آنها مشاهده نشد. عدم وجود ساختار تیغه‌ای تخمدان در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان ماده در تیمارهای مورد بررسی را شاید بتوان به تاثیر هورمون نسبت داد. زیرا در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی تمام ماهیان ماده در گروه شاهد، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده گردید.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با استفاده از امکانات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران و با همکاری مؤسسه تحقیقات شیلات ایران انجام پذیرفته است. از جناب آقای مهندس حسین علی عبدالحی (مدیر کل تکثیر ماهی و بازسازی ذخایر آبزیان شرکت سهامی شیلات ایران)، جناب آقای مهندس امیر سعید ویلکی (رییس اداره تکثیر ماهیان آبهای داخلی معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شرکت سهامی شیلات ایران)، جناب آقای دکتر سید محمد رضا فاطمی (استادیار گروه شیلات و بیولوژی دریا، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی) و جناب آقای فردوس ابراهیم پور (کارشناس آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) که در مراحل مختلف انجام این پروژه همکاری نمودند، سپاسگزاری می شود.

ماهیان نر عقیم بسیار تمایز نیافته و غالباً شامل اسپرماتوگونوئومها و اسپرماتوسیتها بودند. یک توجیه احتمالی برای مشاهده حالت نر عقیم، وجود ماهیان نر طبیعی می باشد که به دلیل دریافت مقادیر زیاد هورمون، عقیم شده اند و در تعدادی از آنها که باز هم مقادیر بیشتری هورمون دریافت نموده اند، تقریباً تمام سلولهای جنسی از بین رفته و فقط تعداد اندکی سلولهای جنسی در حالی که تحلیل رفته اند مشاهده می شوند. Solar و Donaldson در سال ۱۹۸۴ نیز مشاهده کردند که تجویز مقادیر ۳ ppm و ۹ ppm از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، باعث بوجود آمدن غدد جنسی متشکل از بافت همبند و مناطقی می گردد که سلولهای زایگر در آنها کاهش یافته است (۱۴). غدد جنسی در گروه ماده عقیم نیز به دو حالت مشاهده شدند. در حالت اول، سلولهای جنسی ماده در حالی که تحلیل رفته و تعداد آنها بسیار اندک (۱ تا ۵ عدد) بود، فقط در قسمتهایی از مقاطع بافت شناسی مربوطه مشاهده شدند. اما در حالت دوم، سلولهای جنسی ماده در سراسر مقاطع بافت غدد جنسی عقیم مشاهده می شدند. در هر دو حالت، فولیکولهای مشاهده شده بسیار تمایز نیافته و غالباً شامل اووگونوئوم و اووسیتهای اولیه و ثانویه بودند. به طور کلی در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان ماده عقیم، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده نگردید. وجود غدد جنسی ماده عقیم را می توان به دریافت مقدار زیاد هورمون و دوره طولانی تجویز آن نسبت داد. Solar و Donaldson در سال ۱۹۸۴ نیز مشاهده کردند که تجویز مقادیر زیاد هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (۲۵ ppm، ۵۰ و ۱۰۰) علاوه بر تولید نسبتاً بالایی از ماهیان کاملاً عقیم، باعث تولید تعدادی غدد جنسی با مناطقی از بافت تخمدانی پراکنده گردید (۱۴). Yamazaki در سال ۱۹۷۶ [نوشته شده در (Hunter and Donaldson 1983)] نیز در آزمایشی که با تجویز متیل تستوسترون در سویه‌ای از ماهی قزل آلا رنگین کمان انجام داد، تولید یک تخمدان نخی شکل با تعداد کمی اووسیت فاقد زرده در یک ماهی ۳ ساله را گزارش کرد (۱۱). در حالت کاملاً عقیم، غدد جنسی فاقد سلول جنسی بودند. اما در بعضی موارد، سلولهای ویژه بافت همبند و سایر سلولهای پیکری مشاهده گردیدند و در بعضی نیز شدت عقیمی تا اندازه‌ای بود که هیچ سلولی وجود نداشته و فقط بافت نگهدارنده به صورت داربست مشاهده شد. در برخی موارد نیز فقط بافت چربی شامل سلولهای چند وجهی یافت گردید. احتمالاً مقدار بیش از حد هورمون و نیز طولانی بودن دوره تجویز هورمون، علل اصلی برای حذف تمام سلولهای جنسی بوده است. McBride و Fagerland در سال ۱۹۷۵ [نوشته شده در (1984) Solar and Donaldson] در مطالعه‌ای که بر روی ماهی آزاد کوهو *kisutch* *Oncorhynchus* انجام دادند، بعد از ۵۶ روز، تغییرات تخریبی در غدد جنسی ماهیانی که مقدار ۱۰ ppm هورمون دریافت کرده بودند، مشاهده نمودند. به این ترتیب که در پایان ۱۴۰ روز، هیچ اسپرماتوگونوئومی در غدد جنسی این ماهیان یافت نگردید و پس از ۲۴۴ روز، این غدد جنسی شامل بافت پیوندی ضخیمی بودند. به طور کلی در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان فصل اول، ۱۲ ماهی ماده مشاهده گردید که دو مورد دارای



References

۱. آذری تاکامی، ق. ف. امینی، ح. فرحمند. (۱۳۷۵): بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linne) به وسیله هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، مجله منابع طبیعی ایران، انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۴۹، صفحات ۱۵-۳.
۲. امینی، ف. (۱۳۷۰): جایگاه ژنتیک و اصلاح نژاد در پرورش ماهی، مجموعه مقالات دهمین کنگره دامپزشکی ایران، انتشارات جامعه دامپزشکان ایران، صفحات ۴۳۰-۴۲۳.
۳. تاکاشیما، ف.، هایبیا، ت. (۱۳۷۸): اطلس بافت‌شناسی ماهی اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی، ترجمه پوستی، ا. و ع. صدیق مروستی، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۲۸ صفحه.
۴. شهبازی، پ.، ملک‌نیا، ن. (۱۳۷۸): بیوشیمی عمومی، جلد ۲. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۹۸ صفحه.
۵. طلا، م. (۱۳۸۰): بهینه‌سازی تیمار هورمونی ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون برای ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۴۰ صفحه.
۶. علیشاهی، م. (۱۳۷۷): القای تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی به وسیله هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون خوراکی در سطح صنعتی، پایان‌نامه دکتری عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۹۸ صفحه.
۷. فرحمند، ح. (۱۳۷۰): ایجاد تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه منابع طبیعی نور، ۱۰۱ صفحه.
8. Baker, I., Solar, I. (1988) Musculinisation of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by immersion treatment using 17 α methyl testosterone around the time of hatching. *Aquaculture*. 72: 359-367.
9. Cousin-Gerber, M. Burger, G Boisseau, C., Chevassus, B. (1989) Effects of 17 α methyl testosterone on sex differentiation and gonad morphogenesis in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 2: 225-230.
10. Feist, G., Yeoh, C-G., Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B. (1995) The production of functional sex-reversal male rainbow trout with 17 α methyltestosterone and 11 β hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*. 131: 145-152.
11. Hunter, G. A., Donaldson, E. M. (1983) Hormonal sex control and its application to fish culture. In: *Fish physiology*. Vol. 9, Part B. Hoar, W. S., D. J. Randel and E. M. Donaldson (Editors), Academic Press INC., pp. 223- 303.
12. Pandian, T. J., Sheela, S. G. (1995) Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 138: 1-22.
13. Shepherd, C., Bromage, N. (1992) Intensive fish farming. Blackwell scientific publications, 404 pp.
14. Solar, I., Donaldson, E. (1984) Optimization of treatment regimes for controlled sex differentiation and sterilization in wild Rainbow trout (*Salmo gairdneri Richardsoni*) by oral administration of 17 α methyltestosterone. *Aquaculture*. 42: 129-139.
15. Yamazaki, F. (1983) Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture* 33: 329-354.

