

تشخیص تمایز و مراحل جنسی گنادهای ماهی شیربت (*Tor grypus*) از طریق بافت‌شناسی

سارا چرخ‌آباد^۱، غلامحسین محمدی*^۱، مژگان خدادادی^۱، مؤده چله مال دزفول نژاد^۱

۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۹۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۵

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی روند تمایز گنادهای ماهیان نر و ماده در ماهیان شیربت (*Tor grypus*) و تمایز انجام گرفت. در این بررسی، از ۲۰۰ لارو شیربت در اندازه‌های ۱۰-۱ سانتی‌متری و با میانگین وزن $3/5 \pm 2$ گرم و طی اسفندماه ۱۳۹۰ تا آذرماه ۱۳۹۱، هر ۱۴ روز یک‌بار نمونه‌گیری به عمل آمد. در آذرماه لاروها به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تعیین مراحل رسیدگی از روش‌های استاندارد بافت‌شناسی، آبیگری، شفاف‌سازی و پارافینه و با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس برش عرضی ۵ میکرونی از آن‌ها تهیه و به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین عکس‌برداری مورد مطالعه قرار گرفتند. در ماهی نر غدد جنسی گلابی‌شکل با یک نوار مزانتیری تک (بیضه‌های آینده ماهی شیربت) و در ماهی ماده غدد جنسی دوکی‌شکل که به پریتونوم در هر دو طرف متصل شده بودند (تخمدان‌های آینده ماهی شیربت) مشاهده شدند. سلول‌های زایا همراه با گونوسیت‌ها (سلول‌های جنسی) ۱۵۲ روز بعد از تخم‌گشایی، در نرهای ۷ سانتی‌متری قابل مشاهده بود. در ماهی ماده اولین علائم تشخیص ریخت‌شناسی در ۱۱۳ روز بعد از تخم‌گشایی، در ماهی با طول بدن ۴/۶ سانتی‌متر ظاهر شد. در ۱۱۷ روز بعد از تخم‌گشایی، در ماده ۵/۳ سانتی‌متری، اولین سلول‌های اووگونیا ظاهر شدند. شکل‌گیری نهایی ساختار میکروسکوپی غدد جنسی در نرها با طول ۱۰ سانتی‌متری در ۳۰۰ روز و در ماده‌ها با طول ۹ سانتی‌متری در ۲۱۷ روز رخ داد و آن نشان می‌دهد که شکل‌گیری نهایی در ماده‌ها نسبت به نرها زودتر اتفاق می‌افتد. در ماده‌های ۶/۸-۶ سانتی‌متری، در ۱۴۵-۱۳۱ روز بعد از تخم‌گشایی، با ظهور اولین نشانه‌های تمایز سیتولوژیکی، تمایز پایان یافت. در مجموع رسیدگی غدد جنسی در نرها، ۳۰۰ روز بعد از تخم‌گشایی و در ماده‌ها زودتر از نرها و در ۲۱۷ روز مشاهده شد، که باید در تکثیر مصنوعی این گونه مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی شیربت (*Tor grypus*)، گنادهای جنسی، بافت‌شناسی، تمایز و تکامل جنسی.

مقدمه

شیربت بدون شک از باارزش ترین ماهی های رودخانه ای استان خوزستان است که در سال های اخیر بررسی هایی درباره ای امکان تکثیر و پرورش این ماهی صورت گرفته است و ممکن است در آینده جزء ماهیان پرورشی پرارزش به حساب آید (عمادی، ۱۳۷۵). ماهی شیربت با توجه به رشد نسبتاً خوب و اندازه ی بزرگ، دارای ارزش اقتصادی و صید ورزشی نیز می باشد (عبدلی، ۱۳۷۸). پرورش دهندگان ماهی با توجه به مشکلات مدیریتی که بلوغ جنسی برخی از ماهیان در استخرها به وجود می آورد، تمایل زیادی در جلوگیری از بلوغ جنسی و یا استفاده از گونه های عقیم دارند. مشاهدات دقیق بافت شناسی در مورد فرآیند ریخت زایی غدد جنسی و از نظر درک مکانیسم های تشخیص غدد جنسی، از بیشترین اهمیت برخوردارند (Nakamura et al., 1998).

به طور عمومی ماهی هایی که از نظر جنسی تمایز نیافته اند، نسبت به ماهی های تمایز یافته در مقابل هورمون، حساس ترند. در حقیقت بسیاری از ماهی ها به محض تمایز جنسی نسبت به تیمار استروئیدی واکنش نشان نمی دهند و یا حداقل با دوزهای مؤثر یکسان که برای ماهی های تمایز نیافته به کار می رود، عکس العمل نشان نمی دهند. دوره ای در طول رشد و نمو وجود دارد که به عنوان دوره ی تغییر پذیری شناخته می شود که در این دوره، گنادهای تمایز نیافته بیشترین حساسیت و تأثیر پذیری را نسبت به استروئیدهای با منشأ خارجی از خود نشان می دهند (Donaldson and Hunter, 1982). Dlugosz و همکاران (۱۹۸۳)، تمایز جنسی آناتومیکی لای ماهی (Tench) (*Tinca tinca*) را بررسی و بیان کردند که تخم گشایی در ماده ها و حدود ۴۱ روز بعد

از تخم گشایی در نرها صورت می گیرد. Parmentier و Timmermans (۱۹۸۵)، با بررسی روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) عنوان کردند که در ۱۷ تا ۲۰ هفته پس از باروری، زمانی که طول بدن ماهی کپور در حدود $8/2 - 5/2$ سانتی متر است، در این مراحل، غده های جنسی نر و ماده را می توان به وضوح تشخیص داد. Piferrer و Donaldson (۱۹۸۹) مشخص کردند که، ناپایداری جنسی در Coho salmon، قبل از ۳ هفته، حوالی تخم گشایی رخ می دهد. با توجه به تحقیقات Panadian و Sheela (۱۹۹۵)، از نظر تمایز جنسی، به طور کلی ۲ گروه اصلی، بین ماهیان استخوانی شناخته شده است؛ گروه نخست شامل گونه هایی است که تمایز فقط بعد از تخم گشایی رخ می دهد و قبل از آن برای یک دوره ی کوتاه ۴۹-۱۰ روز بیشتر ماهیان زینتی مانند Anabantids، Poecilids، Cichlids، متعلق به گروه نخست هستند. گروه دوم متشکل از ماهیان خوراکی مانند Salmonids، Cyprinids، که در این ها، تمایز در یک زمانی دیر، در مرحله ی نوجوانی و بعد از یک دوره ی بیش از ۱۵۰ روز رخ می دهد. Strussmann و Nakamura (۲۰۰۲) با تحقیق روی خورشید ماهی (*Lepomis macrochirus*) (Sun fish) blue gill بیان کرد که دوره مهم تمایز جنسی در خورشید ماهی زمانی که اندازه ای در حدود $1/32$ و $1/6$ سانتی متر دارد رخ می دهد، این زمانی است که غده های جنسی تمایز نیافته نسبت به عکس العمل آستروئیدی ها، عکس العمل بیشتری نشان می دهند. هدف اصلی این تحقیق، دستیابی به زمان تمایز جنسی از لحاظ اندازه (سایز) و سن، در گونه ی ماهی *Tor grypupus* بوده و نقطه برجسته فعالیت در این تحقیق، تعیین زمان ظهور گناد اولیه در این گونه است.

مواد و روش‌ها

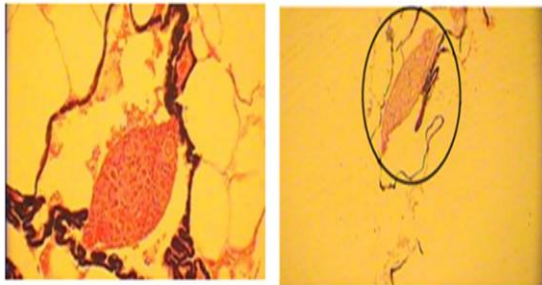
از ۲۰۰ بچه ماهی شیربت در گروه‌های سائری ۱۰-۱ سانتی‌متر، طی اسفندماه ۱۳۹۰ تا آذرماه ۱۳۹۱ از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان بومی سوسنگرد تهیه شد. هر ۱۴ روز یک‌بار نمونه‌گیری به عمل آمد. با توجه به اینکه احتمال وقوع دوره ناپایداری جنسی (زمانی که هنوز جنسیت به‌طور کامل تثبیت نشده است)، در بچه ماهیان شیربت با محدوده ۴-۷ سانتی‌متر بیشتر بود، در این مورد، هر ۷ روز یک‌بار نمونه به دست آمد و لاروهای شیربت (با دمای آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به آزمایشگاه انتقال داده شدند و در آزمایشگاه پس از تشریح، نمونه‌برداری از گنادهای انجام، و در محلول بوئن تثبیت گردیدند و با استفاده از روش‌های استاندارد بافت‌شناسی، آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شده و سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم (مدل Litz Watlar) برش عرضی ۵ میکرونی از آن‌ها تهیه با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین عکس‌برداری مورد مطالعه قرار گرفته و مرحله رسیدگی آن‌ها مشخص شد (پوستی، ۱۳۷۴). تمامی مراحل آزمایشگاهی از آبگیری تا مطالعه میکروسکوپی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، پاتولوژی دامپزشکی دانشگاه چمران اهواز و بافت‌شناسی مرکز تحقیقات آبرزی‌پروری جنوب انجام شد.

نتایج

جنس نر

در بافت‌شناسی گنادهای ماهیان، ۲ نوع غدد جنسی (گلابی‌شکل و دوکی‌شکل) مشاهده گردید. در شیربت ۳/۵ سانتی‌متری، سلول‌های جنسی گلابی‌شکل متصل

شده با یک‌رشته‌ی مزانتیری منفرد دیده شد که بیضه آینده را تشکیل می‌دهد. ۱۲۴ روز بعد از تخم‌گشایی، در ماهی شیربت با سائز ۵/۷ سانتی‌متر، سلول‌های جنسی گلابی‌شکل، با یک نوار مزانتیری منفرد متصل شده بود (شکل ۱ الف). در ماهی ۱۵۲ روزه با سائز ۷ سانتی‌متر، تقسیمات اولیه‌ی میتوزی سلول‌های زیای اولیه در سلول‌های جنسی گلابی‌شکل، مشخص شد (شکل ۱ ب).



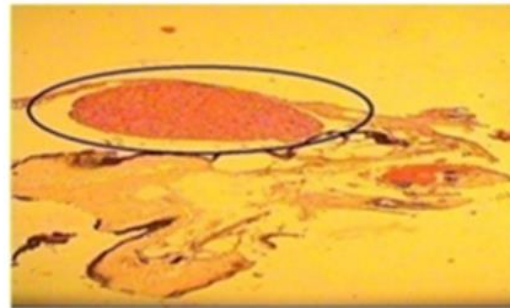
ب

الف

شکل ۱- گنادهای گلابی‌شکل نشان از نر بودن لاروهای ماهی شیربت (*Tor grypus*) می‌باشد. الف) گنادهای لارو ماهی ۵/۷ سانتی‌متری با بزرگنمایی $10\times$ ب) گنادهای بچه ماهی ۷ سانتی‌متری با بزرگنمایی $40\times$

در برش‌های بافتی ماهی ۱۸۰ روزه با سائز ۸ سانتی‌متر، گنادهای گلابی‌شکل، جدای از سلول‌های زیای اولیه (PGC) و همچنین در اسپرماتوگونیا توسعه یافته بودند (شکل ۲ الف). در شیربت ۳۰۰ روزه با سائز ۱۰ سانتی‌متر، بیضه‌های گلابی‌شکل با اسپرماتوگونیا، واقع در سمینال وزیکول انباشته شده بودند (شکل ۲ ب).

در ۱۵۲ روز بعد از تخم گشایی، در شیربت نر ۷ سانتی متری، سلول‌های زایا همراه با گونوسیت‌ها (سلول‌های جنسی) قابل مشاهده بود، این همان دوره‌ی عدم تمایز می‌باشد که با ظهور سلول‌های اووگونیا یا اسپرماتوگونیا پایان می‌پذیرد. جدول (۱) با توجه به سن و سایز ماهی، به مراحل مختلف توسعه‌ی جنسی که در گنادهای شیربت مشاهده شده، پرداخته شده است. به‌طور کلی، در بچه ماهی ۵-۸۰ روزه با طول ۱/۱-۴ سانتی متر هیچ کدام از مراحل توسعه‌ی گنادی، مشاهده نشد.



شکل ۲- نمای میکروسکوپی بیضه ماهی نر شیربت (*Tor grypus*) را نشان می‌دهد. گنادهای گلابی‌شکل، جدای از سلول‌های زایای اولیه (PGC) و همچنین در اسپرماتوگونیا توسعه یافته با بزرگمایی X ۱۰

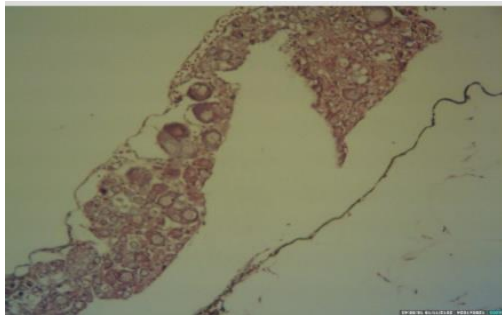
جدول ۱- مشاهدات روند تمایز گنادی در ماهی شیربت نر (*Tor grypus*)

مرحله‌ی جنسی	طول کل بدن (برحسب سانتی متر)	سن (برحسب روز)
مشاهده نشد (I)	۱/۱-۴	۵-۱۰۳
گنادهای گلابی‌شکل، متصل شده با یک رشته‌ی مزانتر منفرد (مرحله II و III)	۵/۷	۱۲۴
گنادهای گلابی‌شکل، با سلول‌های زایای اولیه و گونوسیت (سلول‌های جنسی) (مرحله III و IV)	۷	۱۵۲
بیضه‌های شیربت انباشته شده با اسپرماتوگونیا‌های مستقر شده در سمینال وزیکول (مرحله IV و V)	۸-۱۰	۱۸۰-۳۰۰

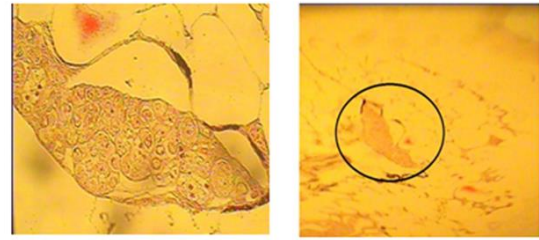
ظهور اووگونیا به دوره‌ی تمایز رسیده است. در ۱۱۷ روز بعد از تخم گشایی، با طول ۵/۳ سانتی متر، به تدریج، تغییراتی در شکل غدد جنسی از دوکی شکل به تخم مرغی شکل (بیضی) به وجود آمد (شکل ۳ الف). در برش‌های بافتی گنادهای ماهی ۱۳۱ روزه و ۱۴۵ روزه با سایز ۶ سانتی متر و ۶/۸ سانتی متر، غدد جنسی حاوی اووسیت‌های پرویتلوژنیک بودند (شکل ۳ ب).

جنس ماده
در بافت‌شناسی گنادهای ۲ نوع غدد جنسی (گلابی شکل و دوکی شکل) دیده شد. در برش عرضی بافت گنادهای بچه ماهی ۱۱۳ روز بعد از هج با طول ۴/۶ سانتی متری، تجمع سلول‌های جنسی به صورت دوکی شکل که تخمدان آینده را تشکیل می‌دهد به پریتونوم با مزانتری در هر دو طرف متصل شده، تشخیص داده شد. بچه ماهی ۱۱۷ روز بعد از تخم گشایی، که دارای طول ۵/۳ سانتی متر بود، با

سانتی متری، در ۱۴۵-۱۳۱ روز بعد از تخم گشایی، با ظهور اولین نشانه‌های تمایز سیتولوژیکی، دوره تمایز آغاز شد. در جدول (۲) با توجه به سن و اندازه ماهی، به مراحل مختلف توسعه‌ی جنسی که در گنادهای ماهی شیریت مشاهده شده است، پرداخته شده است. به‌طور کلی در بچه ماهی‌های ۸۰-۵ روزه، با طول ۴-۱/۱ سانتی متر هیچ کدام از مراحل توسعه‌ی گنادهای مشاهده نشد.



شکل ۴- تصویر تخمدان ماهی (*Tor grypus*) با بزرگنمایی ۴۰X



شکل ۳- نمای میکروسکوپی تخمدان ماهی ماده شیریت (*Tor grypus*) را نشان می‌دهد. الف) تغییراتی در شکل غدد جنسی از دوکی شکل به تخم مرغی شکل (بیضی) با بزرگنمایی ۱۰X ب) غدد جنسی حاوی اووسیت‌های پرویتلوژنیک با بزرگنمایی ۴۰X

در گنادهای بیضی شکل (تخم مرغی شکل) جدای از اووگونیا، اووسیت‌های پرویتلوژنیک قابل مشاهده بودند. آن‌ها سلول‌های بزرگ با یک گروه از سیتوپلاسم متجانس که رنگ شده بودند. در برش‌های بافتی گنادهای ماهی ۲۱۷ روزه با اندازه ۹ سانتی متر، تخمدان‌های شیاردار که در بردارنده‌ی اووگونیا و اووسیت‌های پرویتلوژنیک بودند، وجود داشتند (شکل ۴). در ماده‌های شیریت ۶/۸-۶

جدول ۲- مشاهدات روند تمایز گنادهای در ماهی شیریت (*Tor grypus*)

سن - روز	طول کل بدن - سانتی متر	مرحله‌ی جنسی
۵-۱۰۳	۱/۱-۴	مشاهده نشد
۱۱۳	۴/۶	گنادهای دوکی شکل، متصل شده به پریتونوم از هر دو طرف
۱۱۷	۵/۳	تخمدان شیریت انباشته شده با اووگونیا
۱۳۱	۶	تخمدان‌های حاوی اووسیت‌های پرویتلوژنیک
۱۴۵	۶/۸	تخمدان‌های حاوی اووسیت‌های پرویتلوژنیک
۲۱۷	۹	تخمدان‌ها با تیغه‌های تخمدانی، حاوی اووسیت‌های پرویتلوژنیک

ژنتیکی تعیین شده و شامل حساسیت غدد جنسی با پتانسیل قبلی به عوامل اندوکرینی درونی، قبل از مدت و حتی بعد از بروز نری یا مادگی می‌باشد. به‌هر حال ماهی‌های جوان، نسبت به فاکتورهای محیطی (فیزیکی

بحث

مشخصه‌ی تمایز جنسی مورفولوژیکی در ابتدایی‌ترین حیوانات پرسلولی، به مواد ژنتیکی والدین وابسته است. تکامل و توسعه گنادهای از قبل توسط عوامل

این یک مطلب بااهمیت برای پرورش ماهی جهت یافتن لحظه (زمان) و دوره‌ی تمایز جنسی است. در نتیجه این امر پرورش دهندگان را قادر به تعیین دوره‌ی مطلوب تمایز جنسی می‌سازد. در گنادهای ماهی شیربت، اولین تفاوت‌ها در روز ۵۷ پرورش در ساختار گنادهای نر و ماده آشکار شد و آن‌ها نسبت به شکلشان (دوکی شکل، گلابی شکل) و اندازه‌شان (گنادهای ماده بزرگ‌تر بودند)، تفاوت داشتند (Demska-Zakes et al., 1998). در برش‌های بافتی گنادهای ماهی شیربت با سایز ۴/۶ سانتی‌متر و ۱۱۳ روز بعد از تخم‌گذاری، گنادهای گلابی شکل و دوکی شکل قابل مشاهده بودند. در شیربت در نرها با سایز ۱۰ سانتی‌متر، در ۳۰۰ روزگی، وزیکول‌های سمینال بیضه‌ها مشخص شدند. در شیربت تمایز سیتولوژیکی در نرها با سایز ۸ سانتی‌متر، در ۱۸۰ روز بعد از تخم‌گذاری مشاهده شده بود و جنس ماده (*Tor grypus*) با سایز ۹ سانتی‌متر، در ۲۱۷ روز بعد از تخم‌گذاری، تیغه‌های تخمدانی انباشته شده با سلول‌های زایا، تشخیص داده شدند. در شیربت تمایز سیتولوژیکی در ماده‌ها با سایز ۶/۸ - ۶ سانتی‌متر، در ۱۴۵ - ۱۳۱ روز بعد از تخم‌گذاری مشاهده شده بود (نیک‌پی و همکاران، ۱۳۷۵). در *Vimba vimba* اولین تفاوت‌ها در ساختار گنادهای نر و ماده در شکل (دوکی شکل، گلابی شکل) و اندازه (گنادهای ماده بزرگ‌تر بودند) و در روز ۵۷ پرورش مشخص شد (Demska-Zakes et al., 1998).

در مورد *Vimba vimba*، سلول‌های زایای اولیه (PGC) عمدتاً در بخش مرکزی جنین‌های گنادهای مستقر شده بودند. PGC بعد از تقسیمات متعدد به سلول‌های جنسی (گونوسیت‌ها) و سپس به اووگونیا (ماده) یا اسپرماتوگونیا (نر) نمو پیدا می‌کند (Piferrer,

و شیمیایی) آسیب‌پذیر هستند. این فاکتورهای محیطی می‌تواند باعث قطع یا توسعه محور اندوکرینی درونی شود (Strussmann and Nakamura, 2002). تفاوت در ساختار غدد جنسی توسط سن یا اندازه تعیین می‌شود (Demska-Zakes et al., 2000; Malison et al., 1986). معمولاً در اولین هفته‌ها یا ماه‌های بعد از تخم‌گذاری، سلول‌های جنسی گنادهای نر و جنس شیه به نظر می‌رسند. بعد از نفوذ سلول‌های زایای اولیه (PGC)، در گنادهای، تفاوت در اندازه و شکل غده‌های جنسی به تدریج ظاهر می‌شود (Demska-Zakes et al., 1998). در مرحله‌ی بعدی فرم مناسب گنادهای تشکیل شده و ساختارهای مشخص جنسی یعنی لامیناها در تخمدان‌ها و وزیکول‌های سمینال در بیضه‌ها به وجود می‌آید. مشخصه‌ی ریختی تمایز جنسی در ماهی که تمایز آناتومیکی گنادهاست، معمولاً اول صورت می‌گیرد و بر تمایز سیتولوژیکی که شامل جنسی شدن سلول‌های زایا و تخصص سلول‌های بخش سوماتیک گنادهای می‌باشد، تقدم دارد (Demska-Zakes et al., 2000). یک غده‌ی جنسی گلابی شکل همیشه یک یا دو سلول زایای اولیه در هر برش عرضی دارد (Demska-Zakes et al., 1998). هسته سلول‌های زایا چندریختی بوده و اغلب دو لبه‌ای هستند، آن‌ها یک یا ۲ هستک بزرگ داشته و رنگ‌دانه را به شکل یک شبکه نامنظم پراکنده کرده‌اند و در آن توده‌های رنگ‌دانه‌ای کوچک بسیاری معلق‌اند. دوره‌ای را که سلول‌های جنسی (گونوسیت‌ها) و سلول‌های زایای اولیه (PGC) در گنادهای موجود هستند به عنوان یک دوره‌ی بی‌تفاوتی (غیر تمایز) تعریف می‌شود. زمانی که اووگونیا یا اسپرماتوگونیا ظاهر می‌شود، تمایز سیتولوژیکی رخ می‌دهد (Davies et al., 2000).

مشاهده نشده بود. در ۷۰ روز بعد از تفریخ، آن‌ها شکل گلابی مانند اولیه‌ی غده‌های جنسی تمایز نیافته را حفظ کردند و این غده‌ها بسیار کوچک‌تر از تخمدان‌ها در همان مرحله رشد بودند. بیشترین ویژگی مشخص، اجتماع سلول‌های بافت بنیادی بود. در ۹۰ روز بعد از تفریخ، برخی سلول‌های بیضه که دستخوش تقسیمات میتوزی شده بودند به اسپرماتوسیت تبدیل شدند (Nakamura, 1984).

در خورشید ماهی (*Lepomis macrochirus*) تمایز جنسی پس از تخم‌ریزی‌های متفاوت در اکثر ماهیان استخوانی ابتدا در نرها آغاز شد (الگوی مشترک با ماده‌ها) اما پدیدار شدن سلول‌های زیایی بود که دستخوش میتوز شده و نیز میوز بعداً در نرها رخ داد. دوره مهم تمایز جنسی در خورشید ماهی با طول کل بین ۱/۳۲ و ۱/۶ سانتی‌متر می‌باشد (Nakamura, 1981). بنابراین، تفاوت در طول ماهی در رسیدن به تمایز جنسی می‌تواند به دلیل تفاوت گونه‌ای باشد. مراحل رشد جنسی در نرها و ماده‌های ۱۷ تا ۲۰ هفته پس از باروری ۸/۲ - ۵/۲ سانتی‌متر در کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L. در این مراحل می‌توان به‌وضوح تشخیص داد. غده جنسی چماقی شکل باعث شکل‌گیری بیضه می‌شود (Parmentier and Timmermans, 1985). نتایج مذکور با یافته‌های تحقیق حاضر، قرابت زیادی دارد که احتمالاً به دلیل نزدیکی سیستماتیک این دو گونه باهم می‌باشد درحالی‌که به‌عنوان مثال تمایز جنسی در قزل‌آلای رنگین‌کمان تقریباً ۶۰ روز بعد از لقاح رخ می‌دهد (درافشان، ۱۳۸۹).

(2001). نشانه‌های اولیه‌ی تمایز سیتولوژیکی در نرها در حدود ۲۲۸ روز بعد از تخم‌گذاری مشاهده شده بود و در جنس ماده‌های سیاه کولی، در ۱۲۷ روز بعد از تخم‌گذاری مشاهده شده بود. این نظریه‌ی (Donaldson and Hunter, 1982) را تأیید می‌کند که فرایندها در افراد هموگامتیک در مورد ماده‌ی سیاه کولی زودتر شروع می‌شوند. یک نتیجه‌ی مشابه در لای ماهی (*Tinca tinca* L.) و ماش ماهی (*Aspius aspius*) مشاهده شد. بنابراین، عناصر سیتولوژیکی در نرهای ۱۵۱ روزه لای ماهی، مشاهده شدند، زمانی که طول بدن از ۶/۹ - ۳/۲ سانتی‌متر بود (Goetz et al., 1979). تمایز سیتولوژیکی در نرهای ماش ماهی ۲۶۸ روز بعد از تخم‌گذاری اتفاق افتاده بود. در ماش ماهی در ۳۱۰ روز بعد از تخم‌گذاری مشخصات وزیکول‌های سمینال بیضه‌ها آشکار شده است و در ماده‌ها در روز ۱۷۱ صورت گرفت؛ زمانی که اولین اووگونیا قابل رؤیت بود. تشکیل نهایی ساختار میکروسکوپی تخمدان‌های *Vimba vimba* در روز ۲۴۵ رخ داد. در این دوره تخمدان‌ها شکل خود را از دوکی به شیاردار تک‌عوض کردند. از روز ۲۸۸ پرورش، لامیناهای (لایه‌های نازک) تخمدان‌ها با سلول‌های زایا (جنینی) انباشته شدند که در لوله‌های رحم ظاهر شده بودند (Demska-Zakes et al., 1998). تمایز غده جنسی خورشید ماهی (*Epomisma crochirus*) با اندازه بیشتر از سن در ارتباط بود. غده‌های جنسی هنگام مشاهده در بخش‌ها، به شکل مثلثی یا قلوبه‌ای شکل بودند. اندازه‌ی غده‌ی جنسی و تعداد سلول‌های زایا به‌طور قابل توجهی بین ۶۰ روز بعد از تفریخ و ۷۰ روز بعد از تفریخ افزایش یافت. در مقایسه با رشد تخمدانی، علائم تمایز بافتی در بیضه‌های فرضی تا روز هفتماد

- hydroxyandrostenedione. North American Journal of Aquaculture, 62: 294-299.
9. Długosz, M., Grabowska, B., and Worniało, E., 1983. Sex differentiation in tench (*Tinca tinca L.*). Zesz. Nauk. ART Olsztyń, 12: 106-116.
 10. Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1982. Sex control in fish with particular reference to salmonids. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 39(1):99-110.
 11. Goetz, F.W., Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1979. Effects of estradiol-17b and 17a-methyltestosterone on gonadal differentiation in the Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture, 17:267-278.
 12. Malison, J.A., Kayes, T.B., Best, C.D., Amundson, C.H., 1986. Sexual differentiation and use of hormones to control sex in yellow perch (*Perca flavescens*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 43:26-35.
 13. Nakamura, M., 1981. Gonadal Sex Differentiation in White spotted Char, *Salvelinus Leucomaenis*. Japanese Journal of Ichthyology, 28(4): 431-436.
 14. Nakamura, M., 1984. Effects of estradiol-17b on gonadal sex differentiation in two species of salmonids, the masu salmon, *Oncorhynchus masou*, and the chum salmon, *O. keta*. Aquaculture. 43: 83-90.
 15. Nakamura, M., Kobayashi, T., Chang, X.T., Nagahama, Y., 1998. Gonadal sex differentiation in teleost fish. Journal of Experimental Zoology, 281: 362-372.
 16. Panadian, T.J., Sheela, S. G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture, 138:1- 22.
 17. Parmentier, H.K., Timmermans, L.P.M., 1985. The differentiation of germ cells and gonads during development of carp (*Cyprinus carpio L.*). A study with anti-carp sperm monoclonal antibodies. Journal of Embryology and Experimental Morphology, 90:13-32.
 18. Piferrer, F., 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture, 197 (1): 229-281.
 19. Piferrer, F., Donaldson, E.M., 1989. Gonadal differentiation in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, after a single

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. پوستی، ا.، ۱۳۷۴. بافت‌شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران. ایران.
۲. درافشان، س. و اب‌براهیم‌زاده، م.، ۱۳۸۹. زیست‌شناسی تولیدمثل ماهی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸-۱ و ۱۸-۱۱ و ۱۱۷-۱۰۵.
۳. عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آب‌های داخلی ایران. انتشارات نقش‌مانا. تهران. ۳۷۸ ص.
۴. عمادی، ح.، ۱۳۷۵. اصول پرورش آبزیان. شرکت چاپ و نشر ایران. تهران. ۱۸۳.
۵. نیک‌پی، م.، اسکندری، غ.، دهقان‌مدیسه، س.، ۱۳۷۵. گزارش‌نهایی پروژه بررسی بیولوژیکی ماهی شیربت *Barbus grypus* و بنی *Barbus sharpeyi*. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۶۴-۱۰، ۵۲-۱.
6. Davis, K.B., Morrison, J., Galvez, J.I., 2000. Reproductive characteristics of adult channel catfish treated with trenbolone acetate during the phenocritical period of sex. Aquaculture, 189: 351-360.
7. Demska-Zakęś, K., Kujawa, R., Hliwa, P., Mamcarz, A., Kucharzyk, D., Buczkowska, E. 1998. Sex differentiation of asp (*Aspius aspius L.*). Czech Journal of Animal Science, 43:439-440.
8. Demska-Zakes, K., Luczynski, M.J., Dabrowski, K., Luczynski, M., Krol, J., 2000. Masculinization of northern pike (*Esox lucius*) fry using the steroid, 11β-

differentiation in teleost fishes. *Fish Physiology. Biotechnology*, 26(1):13-29.

treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis. *Aquaculture*, 77: 251-262.

20. Strüssmann, C.A., Nakamura, M., 2002. Morphology, endocrinology and environmental modulation of gonadal sex