



# بررسی تغییرات سلول های جنسی در میگوی سفید غربی (*L. vannamie*) پرورشی

احمد مال الهی، رضا قربانی واقعی، خلیل پذیر، عباسعلی زنده بودی و علی نظاری

f.malollahi@yahoo.com

پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

## چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تغییرات اووسیت‌های میگوهای وانامی در یک دوره ۷ ماهه از بهمن ماه ۱۳۹۰ لغایت مردادماه ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه متعلق به پژوهشکده میگوی کشور انجام گرفت. پس از صید و توزین میگوها عملیات کالبد گشایی نمونه‌ها به منظور تخلیه تخمدانها انجام می شد. نتایج کلی بدست آمده نشان میدهد همزمان با افزایش دمای محیط مقادیر GSI نیز افزایش میابد. این وضعیت بدنبال تکامل اجزاء درون سلولی اووسیتها رخ میدهد که افزایش وزن و حجم تخمدانها در پی دارد. براین اساس طی ماههای مختلف مراحل مختلف از رشد اووسیتها به این شرح مشاهده شد. پیش ویتلوژنیز در ماههای بهمن، اسفند، ابتدا ویتلوژنیز در ماههای فروردین، اردیبهشت و انتهای ویتلوژنیز در اواخر بهار تا تابستان رویت گردید. دستاوردهای تحقیق حاضر نشأت داد تغییرات دمایی منطقه نقش انکار ناپذیری در رسیدگی تخمدانها دارد. علاوه بر این براساس نتایج اخذ شده میتوان از میگوهای پرورشی جهت مولد سازی دوره های بعدی استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** اووسیت، میگوی وانامی، GSI، بافت شناسی تخمدان

## مقدمه

خانواده میگوهای پناپیده دارای ۲۵ گونه میباشد که در گستره وسیعی از آبهای جهانی یافت میشوند. از مهمترین گونه‌های این خانواده میتوان از میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamie*) یاد نمود (Dore & Frimod, 1987). این گونه در گستره وسیعی از جهان نظیر کشورهای امریکای لاتین، آسیا و امریکا شناخته شده میباشد. این میگو نخستین بار

(۱۹۷۳) در فلوریدا تولید و پرورش داده شد. سپس در کشورهای امریکای لاتین و سایر کشورهای آسیایی نیز رایج گردید (2012, FAO).

متعاقب توسعه روزافزون مراکز پرورش میگو، تقاضا برای لارو میگو نیز افزایش می یابد. یکی از مهمترین راه کارهایی که میتواند نقش اساسی در تولید انبوه لارو میگو دارا باشد، شناسایی مراحل بلوغ تخمک و اسپرم در گونه مورد نظر میباشد. فرایند اووژنیزیس یا بلوغ اووسیتها در میگوها با قرار گرفتن پروتئینهای زرده درون سلول تخمک رخ میدهد. تاکنون بررسیهای متعددی در خصوص چگونگی تکامل و تعیین مراحل رشد سلولهای جنسی میگوها صورت پذیرفته است. Josefa (1989) در بررسیهای خود چهار مرحله متمایز از رشد اووسیتها در میگوی ببری وحشی به شرح زیر گزارش نموده است: Previtellogenic, Cortical rod, Vitellogenic و Spent ایشان بر اساس مطالعات بافت شناسی طبقه بندی فوق را ارائه نموده اند. ایوب (۲۰۰۲) مراحل باروری میگوهای آبهای ساحلی پاکستان را از طریق مطالعات بافت شناسی معین نمود. اکنون با توجه به گزارشات بخش آبی پروری شیلات استان بوشهر، مبنی بر تولید بیش از ۱۰۰۰ تن میگوی پرورشی از گونه لیتوپنئوس وانامی، تعیین زمان دقیق رسیدگی جنسی میگوهای ماده امری اجتناب ناپذیر می باشد. بنابر این پروژه حاضر با هدف شناسایی مراحل رشد اووسیتها و تعیین زمان بالاترین مرحله از رشد اووسیتها میتواند مورد توجه قرار گیرد. طی این تحقیق هفت ماهه (دی ماه ۱۳۹۱- تیر ماه ۱۳۹۲) روند تکامل اووسیتهای میگوها تا زمان رسیدگی متعارف تخمدانها در منطقه استان بوشهر مورد بررسی گرفت. در مجموع تعداد ۴۰ عدد میگوی نارس

یکی از مهمترین  
راه کارهایی که  
میتواند نقش  
اساسی در تولید  
انبوه لارو میگو دارا  
باشد، شناسایی  
مراحل بلوغ تخمک  
و اسپرم در گونه  
مورد نظر میباشد.  
فرایند اووژنیزیس  
یا بلوغ اووسیتها  
در میگوها با قرار  
گرفتن پروتئینهای  
زرده درون سلول  
تخمک رخ میدهد.

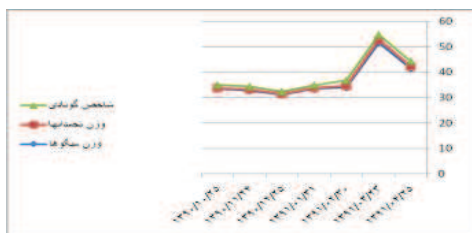


شکل ۱-نمایی کلی از تخمدان نسبتاً رشد یافته میگوهای موجود در ایستگاه بندرگاه

جدول ۱- میانگین نتایج بیومتری ماهانه میگوهای ماده را نشان می دهد.

تاریخ بیومتری	میانگین وزن میگوها	میانگین وزن تخمدانها	میانگین GSI
۹۰/۱۰/۲۵	۳۳/۴۵	۳۹	۱/۱۶
۹۰/۱۱/۲۴	۳۲/۷۷	۴	۱/۲۲
۹۰/۱۲/۲۵	۳۱/۱۰	۳	۰/۹۶
۹۱/۱/۳۱	۳۳/۴۴	۳۶	۱/۰۹
۹۱/۲/۳۰	۳۳/۹۶	۷۳	۲/۱۵
۹۱/۳/۲۳	۵۱/۵۳	۱۱۴	۲/۲۱
۹۱/۴/۲۵	۴۱/۴۵	۱۸۶	۲/۰۸

واحد وزن: گرم. تعداد نمونه در ماه: ۸ عدد



شکل ۲- تغییرات وزن، وزن تخمدان و شاخص گونادی میگوها

یافته های بافت شناسی اندامهای تولید مثلی میگوهای ماده سه مرحله متمایز از رشد تخمدانها مشاهده شد.

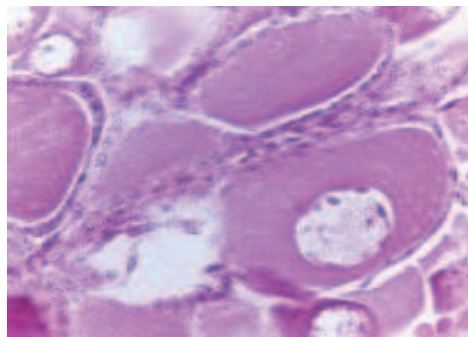
۱- مرحله پیش ویتلوژنیز: تخمدانها شفاف، لوله ای شکل انشعابات تخمدان کوتاه و تاناحیه خلفی معده کشیده شده است. مهمترین مشخصه اووسیتها دارا

با میانگین وزنی  $(33,96 \pm 6,33)$  گرم از استخرهای گلخانه ای ایستگاه بندر گاه جداسازی و درون تانکهای فایبرگلاس نگهداری می شد. نمونه های میگو از تانکهای نگهداری صید، سپس به آزمایشگاه پژوهشکده میگوی کشور حمل می شد. پس از تعیین وزن انفرادی میگوها ( تا دو رقم اعشار) تخمدانها با دقت از جایگاه خود خارج و درون سرم فیزیولوژی تا زمان توزین شستشو داده می شد. شاخص تخمدانی (GSI) از طریق تعیین درصد وزن تخمدانها به وزن بدن نمونه ها (وزن بدن /وزن تخمدان  $\times 100$ ) محاسبه گردید. به منظور مطالعات بافت شناسی تخمدانها از روش معمول بافت شناسی استفاده شد. در این مرحله ابتدا از محلول دیویدسون به منظور نگهداری نمونه ها بمدت ۲۴ ساعت، سپس از درجات مختلف الکل (۳۰-۱۰۰) به منظور آگیری نمونه ها استفاده گردید (افشار نسب). بکمک دستگاه میکروتوم مدل نیکون (Nikon Japan-e) مقاطع ۵-۷ میکرون تهیه و از روش هموتوکسیلین-اٹوزین به منظور رنگ آمیزی نمونه ها استفاده شد. در آخرین مرحله بکمک میکروسکوپ نوری اجزاء درونی اووسیتها به منظور تعیین تغییرات انجام شده مورد بررسی قرار می گرفت.

### یافته های قابل ترویج:

۱- آناتومی تخمدانها: تخمدان میگوها بصورت دو رشته مزدوج در بخش فوقانی عضلات و بصورت شاخه ای در قسمت فوقانی هیپاتوپانکراس قرار دارند. در ابتدا چرخه رشد، تخمدانها بصورت نوارهای شفاف در محل های فوق الذکر قرار دارند و به سختی قابل تمایز از بافتهای همجوار خود می باشند. بتدریج با افزایش سن اووسیتها به رنگ سفید، شیری، زرد و سبز تیره مشاهده می شوند. شکل ۱ نمایی از تخمدان میگوهای موجود را نشان می دهد. در این تصویر بخوبی بخش رشته ای و انشعابی تخمدانها نشان داده شده است.

نتایج اخذ شده از بیومتری نمونه ها میانگین وزن، میانگین وزن تخمدانها و میانگین GSI طی ماههای تحقیق در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نمودار شماره ۲ تغییرات ماهیانه فاکتورهای فوق را نمایش می دهد.



شکل ۵- مرحله انتهایی ویتلوژنیز بزرگنمایی ۴۰

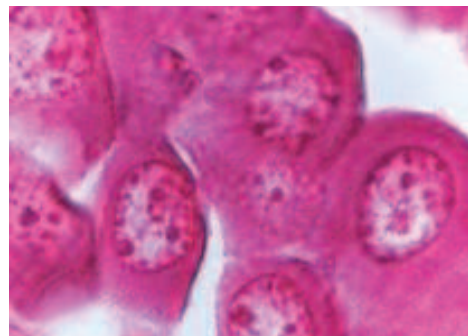
آنچه تاکنون مشخص شده رشد اووسیتها در میگوهای وانامی موجود در ایستگاه بندر گاه از الگوی عمومی تکامل اووسیتها پیروی می نماید. بر این اساس سه مرحله متمایز از رشد اووسیتها در میگوها موجود می باشد. در فاز Previtellogenic، اووسیتها بسیار کوچک تنها هسته و سیتوپلاسم توسط یک غشا از یکدیگر قابل تمایز می باشند. در فاز Early vitellogenic اووسیتها تا اندازه ای بزرگتر و درون سیتوپلاسم دانه دار غشاء فولیکول بوضوح قابل رویت می باشد. در مرحله Vitellogenic & Late vitellogenic طی این مرحله اووسیتها بخوبی رشد یافته و سیتوپلاسم کاملاً دانه دار و رسیده بنظر می رسند.

لازم به ذکر است در طول دوره نگهداری مولدین از هیچگونه غذای کمکی استفاده نشد. از مجموعه فرایندهای ذکر شده اینگونه بنظر می رسد با اعمال یک برنامه مدون تغذیه ای میتوان علاوه بر تسریع در رشد اووسیتها، میگوها را تا مرحله رسیدگی کامل و آماده جفتگیری نگهداری نمود. میگوهای وانامی از گونه های (رسیدگی بعد از جفت گیری) محسوب می گردند. بنابراین مشاهده تخمکهای رسیده منوط به جفتگیری مولدین بوده که در این تحقیق اتفاق نیافتاده است. از یافته های پروژه میتوان اینگونه استنباط نمود. رسیدگی کامل تخمدانها در ماههای خرداد لغایت مرداد ماه رخ می دهد.

#### نتیجه گیری

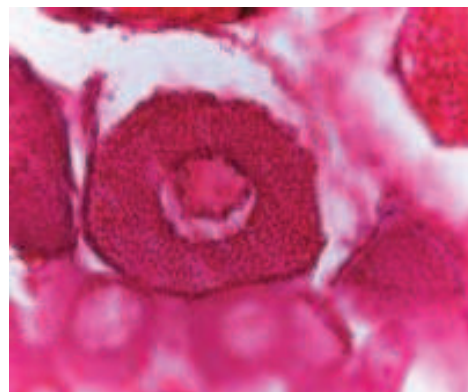
با یک نگاه اجمالی به جداول ۱، ۲ و تصاویر تهیه شده از مقاطع بافتی تخمدان میگوها اینگونه می توان

بودن فرم خوشه ای، رویت غشای هسته و هستکها در کنار هسته می باشد (شکل ۳). این مرحله بیشتر در ماههای دی و بهمن رویت می گردد.



شکل ۳- مرحله پیش ویتلوژنیز (بزرگنمایی ۱۰۰).

۲- مرحله ویتلوژنیز: در این فاز از رسیدگی رنگ تخمدانها قدری تیره تر بنظر میرسد. انشعابات قدامی به وضوح مشاهده می گردد. سیتوپلاسم به سبب دانه های زرده قدری دانه دار به نظر می رسد. در این جا نیز (شکل ۴) به ترتیب براساس بزرگنمایی، ظهور اجزاء مذبور درون سیتوپلاسم را می توان ملاحظه نمود.



شکل ۴- مرحله ابتدایی ویتلوژنیز بزرگنمایی ۱۰۰

۳- مرحله انتهایی ویتلوژنیز: در این مرحله سیتوپلاسم اووسیت به علت دانه های زرده و گویچه های لیپیدی کاملاً دانه دار به نظر می رسد (شکل ۵). شکل دانه ها کروی تا بیضوی و ائوزینوفیلیک بنظر می آید. این مرحله ماههای خرداد لغایت مرداد ماه رویت گردید.



7- FAO (2012) Fisheries and Aquaculture Department, *Penaeus Vannamei*.

8- Meeratanas, P. and Sobhon, P. (2007) Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de man. *Aquaculture*, 370, 249- 258.

استنتاج نمود.

۱- تغییرات ایندکس تخمدانی و رشد اووسیتها تابع تغییرات دمایی منطقه است.

۲- می توان میگوهای مولد از گونه مورد نظر را تا مرحله بلوغ کامل و رسیدگی تخمکها درون ایستگاه و یا در هر مکان دیگری در محدوده استان بوشهر نگهداری نمود.

۳- با توجه به دستاوردهای تحقیق حاضر میتوان چشم انداز روشنی در خصوص مولدسازی میگوهای وانامی تصور نمود.

۴- نظر به امکانات موجود هر کارگاه میتوان نسبت به کاهش هزینههای مولد سازی اقدامات لازم پیش بینی نمود.

#### فهرست منابع

1- Abraham, J. and Manisser, M. K. (2012) Histological and morphological changes associated with ovarian development of speckled shrimp *Metapenaeus Monoceros* (Fabricius, 1798).

2- Ayub, Z. and Ahmed M. (2002) A description of the ovarian development stages of penaeid shrimps from the coast of Pakistan.

3- Bruno, R. de C; Luiz, F. C. D; Fernando D'Incao and Joaquim, O. B. (2009) Ovarian development and length at first maturity of the sea-bob-shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) based on histological analysis

4-Dore, I. and Frimod, C. (1987) An illustrated guide to Shrimp of the world. ISBN 0174-132 .2-20-943738-.

5- Hui-Chen Kao<sup>1</sup>, Tin-Yam Chan<sup>1</sup>, and Hsiang-Ping Yu<sup>2</sup> (1999). Ovary Development of the Deep-water Shrimp *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1826) (Crustacea: Decapoda: Aristeidae) from Taiwan.

6- Josefa D. Tan-Fermin, Rosario A. Pudadera (1989) Ovarian maturation stages of the wild giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius,. 77 (2-3), 229-242.