

خصوصیات بافت‌شناسی و بیوشیمیایی اووسیت‌های فوق رسیده مولدین تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

غفار ابراهیمی^۱، باقر مجازی امیری^{۲*}، *، غلامرضا رفیعی^۲، علی شعبانی^۳

۱. دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۷/۱۶

چکیده

هدف این مطالعه بررسی خصوصیات بافتی و بیوشیمیایی اووسیت‌های فوق رسیده تخمدان تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بوده است. فولیکول‌های تخمدانی (رسیده و فوق‌رسیده) از مولدین وحشی تاس ماهی ایرانی مهاجر به رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر برداشته شد. فوق‌رسیدگی اثری منفی بر روی زنده‌مانی تخم تاس ماهی ایرانی داشت. درصد لقاح و نرخ تفریح در اووسیت فوق رسیده کاهش معنی‌داری در مقایسه با اووسیت رسیده نشان دادند ($P < 0.05$). در اووسیت رسیده، چهار لایه متمایز زونارادیا تا کاملاً مشخص بوده و زرده از بافتی همگن تشکیل شده بود و تفاوت قابل ملاحظه‌ای در شکل فضای پری و تیلینی این اووسیت‌ها در نقاط مختلف وجود نداشت. در حالی که در اووسیت‌های فوق‌رسیده تاس ماهیان، تعدد لایه‌های زونارادیا تا ناپدید شده و لایه‌ی یکپارچه را شکل دادند. همچنین مجموعه زرده ناهمگن و هتروژنوس شده و تجمع آن در قطب حیوانی بیشتر بود. شکل فضای پری و تیلینی در قسمت‌های مختلف اووسیت فوق‌رسیده متفاوت بوده است. تفاوت قابل ملاحظه‌ایی در پروفایل‌های اسید چرب اووسیت مشاهده شده بود، که می‌توان به مقدار بالاتر اسیدهای چرب اشباع در اووسیت رسیده ($26/29 \pm 1/76$) نسبت به اووسیت فوق رسیده ($21/70 \pm 1/53$) اشاره نمود ($P < 0.05$). به علاوه، اسیدهای چرب $\omega-6$ در اووسیت‌های رسیده ($4/42 \pm 0/37$) نسبت به اووسیت‌های فوق رسیده ($6/21 \pm 0/33$) کمتر بود ($P < 0.05$). اسید چرب اشباع غالب در اووسیت‌ها پالمیتیک اسید بوده، در حالی که اولئیک اسید، اسید چرب غیر اشباع با تک پیوند دوگانه غالب بوده است. نتایج به‌دست آمده در این آزمایش مشخص نمود که علاوه بر تفاوت لایه‌های زونا رادیا تا و لایه فولیکولی اووسیت، می‌توان از برخی اسیدهای چرب موجود در اووسیت ماهیان خاویاری مثل پالمیتیک اسید، پالمیتولیک اسید، آراشیدونیک اسید و ایکوزا پنتانویک اسید به‌عنوان فاکتوری مهم جهت تشخیص اووسیت‌های فوق رسیده استفاده نمود.

واژگان کلیدی: تاس ماهی ایرانی، اووسیت، فوق رسیده، تغییرات ساختاری، اسیدچرب.

۱. مقدمه

می‌دهند. البته قابل ذکر است که زمان بین رسیدن شدن اووسیت و فوق رسیدگی به عوامل متفاوتی از جمله شرایط فیزیولوژیکی مولدین و شرایط فیزیوکوشیمیایی محیط وابسته است. تغییرات اووسیت‌های اووله شده در تخمدان ماهیان خاوباری بدین صورت است که، تخمک‌ها به تدریج استحکام خود را از دست داده و شل می‌شوند و اگر از تخمدان تخلیه نشوند پس از زمان کوتاهی با تغییر ساختار لایه ملانینی دور تخمک و یا تغییر رنگدانه‌هایشان اصطلاحاً شیر (سفید) شده و قوام خود را از دست داده و در اثر فشار جزیبی می‌ترکند (Mohagheghi Samarini *et al.*, 2008).

شروع پدیده فوق رسیدگی فاقد علایم ظاهری مشخص در اووسیت ماهیان است. گرچه در ابتدای فوق رسیدگی علایم ماکروسکوپی را نمی‌توان در اووسیت‌ها مشاهده کرد، ولی با به کار گرفتن روش‌های بافت‌شناختی می‌توان این مرحله را تا حدی مطمئن‌تر ارزیابی نمود. از بارزترین تغییرات ماکروسکوپی گزارش شده برای اووسیت‌هایی که به مرحله‌ی فوق رسیدگی وارد شده‌اند، می‌توان به بی‌رنگ شدن یا تیره شدن و از دست رفتن شفافیت اووسیت و میکروسکوپی به آسیب دیدن غشاء، ادغام وزیکول‌های کورتیکالی، ایجاد حفرات در سیتوپلاسم، شکل گرفتن نامنظم فضای پری‌ویتلین و وزیکولار شدن توده زرده اشاره کرد (Kjorsvik *et al.*, 1990; Lahnsteiner, 2000; Bahrekazemi *et al.*, 2010).

پدیده فوق رسیدگی همچنین باعث کمبود یا فعالیت بسیار کم آنزیم‌ها و مقادیر کم و ناکافی یک متابولیت می‌شود که این امر می‌تواند موجب قطع مسیرهای متابولیکی (Metabolic pathways) و در نتیجه موجب تجمع یا کمبود سوسترها و متابولیت‌ها در اووسیت‌ها گردد (Lahnsteiner, 2000). بنابراین مقادیر متابولیت‌ها یا فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند با پارامترهای زنده‌مانی و شاخص‌های کیفیت اووسیت مرتبط باشد. مهمترین تغییرات بیوشیمیایی در اووسیت‌های فوق رسیده کاهش ماده خشک، افزایش محتوی آب، تغییرات پروتئین و کاهش در تعلق پذیری پروتئین می‌باشد که بیشتر این تغییرات ایجاد شده به علت شکسته شدن پروتئین زرده و از بین رفتن مولکول‌های ارگانیک مثل پپتیدها و آمینواسیدهای

اوولاسیون آخرین مرحله تکاملی تخمک‌ها در مولدین می‌باشد و حصول حداکثر مقدار اووسیت‌های قابل لقاح و بارور در این مرحله مورد توجه بیشتر مزارع تکثیر ماهیان قرار دارد. ایجاد شرایط مناسب جهت حصول بلوغ جنسی ماهیان کار پیچیده ایست که با فراهم آمدن این شرایط برای ماهی می‌توان به تولید تخم‌های قابل لقاح اطمینان حاصل نمود. عدم برداشت اووسیت‌ها در زمان مناسب منجر به ایجاد پدیده فوق رسیدگی (Overripening) در ابتدا و سپس پدیده اترزیا (Atresia) در برخی ماهیان می‌شود. اما فوق رسیدگی حصول یکسری از واکنش‌ها در بدن ماهی و اووسیت است که منجر به تبدیل شدن اووسیت‌های با قابلیت لقاح به تخمک‌های غیر قابل بارور می‌گردد.

فوق رسیدگی در ماهیان هم در شرایط اسارت و هم در شرایط طبیعی پدیدار می‌گردد، که با توجه به گونه‌ی مختلف آبیان زمان و شدت وقوع آن متفاوت می‌باشد (Aegerter and Jalabert, 2004; Aegerter *et al.*, 2005). در شرایط طبیعی عواملی مانند نبود پارامترهای تحریک کننده تولید مثل، همچون نبود شرایط مناسب دمایی، نور، جنس مخالف و ... می‌تواند اووسیت‌ها را به سمت مرحله فوق رسیدگی هدایت کند. اما مشکل فوق رسیدگی بیشتر در ماهیانی به چشم می‌خورد که در شرایط اسارت به مرحله نهایی بلوغ تخمک و پدیده اوولاسیون رسیده، ولی به عللی قادر به تخم‌ریزی نمی‌باشند که در این صورت باید اووسیت آنها در زمان مناسب استحصال گردد و لقاح داده شوند. این امر به خصوص در مورد ماهیانی که تحت تیمارهای هورمون‌تراپی به رسیدگی نهایی می‌رسند، اهمیت بسیار زیادی می‌یابد. هر گونه تیمار هورمونی نادرست و با دز نامناسب در مورد مولدین و یا عدم خارج شدن اووسیت پس از اوولاسیون در زمان مقتضی منجر به واکنش ماهی خواهد شد که یکی از این پاسخ‌ها ورود اووسیت‌ها به مرحله فوق رسیدگی است (Bobe and Labbe, 2010).

باقی ماندن تخمک اووله شده در درون حفره شکمی ماهی موجب کاهش شدید قابلیت لقاح‌پذیری اووسیت می‌شود و در فاصله زمانی متفاوت با توجه به گونه ماهی مورد نظر کارایی خود را برای لقاح از دست

چرب آن با قاطعیت بیشتری در مورد وقوع پدیده فوق رسیدگی و تغییرات حادث شده در حین آن اظهار نظر کرد و ضمناً فاکتورهایی را به عنوان بیومارکر در تشخیص ماهیان با اووسیت فوق رسیده ارائه نمود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ماهیان

جهت انجام آزمایش از مولدین تاس ماهی ایرانی وحشی صید شده که به مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی واقع در شهرستان گرگان در استان گلستان و مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی شهرستان رشت در استان گیلان منتقل شده، استفاده شد. به منظور بررسی اثر پدیده فوق-رسیدگی در اووسیت تاس ماهی ایرانی از بین مولدین تاس ماهی ایرانی آماده‌ی تکثیر (۴ مولد رسیده و ۴ مولد فوق رسیده تاس ماهی ایرانی)، استفاده گردید. برای بررسی چگونگی لقاح‌پذیری در اووسیت‌های استحصالی از این مولدین نیز از مخلوط اسپرم ۳ عدد تاس ماهی ایرانی (پرورش داده شده در دو مرکز ذکر شده) جهت لقاح اووسیت‌های مزبور استفاده شد. ماهیان ماده در دو مرحله و ماهیان نر در یک مرحله با عصاره خشک شده هیپوفیز ماهیان خاویاری در محل ناحیه پستی به فرم عضلانی مورد تزریق قرار گرفتند. تزریق دوم در ماهیان ماده، ۱۲ ساعت بعد از تزریق اول و با دوزی ۹ برابر نسبت به تزریق اول صورت پذیرفت، تزریق در ماهیان نر، همزمان با تزریق دوم ماهیان ماده شکل گرفت. عملیات تخم‌کشی در ماهیان ماده، حدود ۲۰ ساعت پس از دومین تزریق، با حصول اطمینان از وقوع انجام پدیده اولواسیون انجام شد.

۲.۲. ساختار اووسیت و تعیین درصد لقاح

جهت مطالعه تغییرات شکلی بیرونی (Morphologic) اووسیت‌های رسیده و فوق‌رسیده، از هر ماهی ۲۰-۳۰ عدد اووسیت به‌طور تصادفی از ماهیان مولد انتخاب و در محلول‌های فیکساتور بوئن و فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. از اووسیت‌ها در ابتدا جهت تغییر شکل خارجی عکسبرداری گردید. برای اندازه‌گیری قطر اووسیت نیز از لوپ با عدسی چشمی مدرج استفاده شده است. برای به‌دست آوردن وزن تر

غشای تخمک می‌باشد. در ادامه تجزیه شیمیایی ترکیبات موجود در تخمک تجزیه و شکسته شدن پیوندهای چربی در لیپوپروتئین زرده می‌باشد، که باعث ایجاد شکل آزاد لیپید می‌شود (Lahnsteiner, 2000; Rime et al., 2004; Lu et al., 2011).

در ماهیان خاویاری برخلاف دیگر ماهیان که بحث فوق رسیدگی فقط با بحث رسیدگی کامل اووسیت بارور برای تکثیر مطرح است، مسن شدن و به دنبال آن وقوع پدیده‌ی فوق رسیدگی و اترزیا در اووسیت‌های ماهیان خاویاری باعث برهم خوردن شرایط طبیعی و نرمال اووسیت‌ها برای تهیه و تولید اووسیت بارور و اووسیت‌های مناسب جهت تهیه خاویار می‌شود. اگر در کارگاه‌های پرورش ماهیان خاویاری در مراحل ابتدایی این پدیده از آن آگاه شوند، در صورت مناسب بودن اووسیت‌ها می‌توانند از آن در جهت تولید خاویار استفاده نمایند. اما اگر تشخیص آن با تاخیر همراه باشد، اووسیت‌ها دچار زوال شده و طعم و شکل مناسب خود را از دست داده و دیگر مناسب تولید خاویار نخواهند بود. وجود فعالیت‌های تجزیه‌ی آنزیم‌ها در حین فوق رسیدگی می‌تواند منجر به تغییر ترکیبات با ارزش خاویار پروفایل اسیدهای چرب خاویار گردد که بر اثر فعالیت آنزیم‌های لیزوزومی کاتپسین دچار تغییرات شدید می‌شود. در گزارشات دیگر هم اشارات مختلفی به تغییرات گسترده‌ی پروفیل اسید چرب اووسیت در طی فصل تخم‌ریزی شده است و با تکوین اووسیت و حرکت به سمت بلوغ میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع بلند زنجیر آن تغییرات بیشتری را نشان می‌دهند (Yanes-Roca et al., 2009).

در طی عملیات پرورش ماهیان از جمله تاس‌ماهیان ایرانی، وقوع پدیده‌های مختلف می‌تواند باعث ایجاد شرایط نامطلوب برای سیر تکاملی تخمدان شود و ناچاراً باعث ورود فولیکول‌های تخمدانی به مرحله تجزیه و باز جذب تخمک شود. این فرآیند باعث قطع شدن و از بین رفتن کل فرآیند پرورش جهت تولید تخمک‌های قابل لقاح و همچنین تولید خاویار مناسب خواهد شد. بنابراین در این تحقیق با به کارگیری دو گروه متفاوت تاس ماهی ایرانی رسیده و فوق رسیده سعی شده است تا با استفاده از پارامترهایی نظیر تفاوت در درصد لقاح‌پذیری، تغییر ساختار بافتی، ترکیب اووسیت‌ها و پروفیل اسیدهای

برای تعیین پروفایل اسیدهای چرب اووسیت، بعد از استخراج چربی آنها به شکل یکنواخت با n - هگزان رقیق شده طبق دستورالعمل متیله شدن و برای تعیین مقادیر اسیدهای چرب به کروماتوگراف گازی GC تزریق شدند (Luthria, 2004). دستگاه کروماتوگراف مورد استفاده با مارک تجاری Agilent 7890A (ساخت آمریکا) و آشکار ساز (Detector) از نوع یونیزاسیون شعله از نوع (FID) و ستون مورد استفاده BP 70 به طول ۵۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی متر بود. گاز حامل ستون کروماتوگراف نیتروژن بوده است.

۵.۲. روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

کلیه داده‌های با استفاده از نرم‌افزار Excel پردازش گردید. مقادیر مربوط به داده‌های درصدی، به Arcsin تبدیل گردید. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف-اسمیرنوف بررسی شد و پس از اثبات نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از آزمون t مستقل و در صورت غیر نرمال بودن داده‌ها از آزمون یو-من ویتنی در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ و به صورت $Mean \pm SD$ انجام گردید. آنالیز آماری طرح با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ صورت پذیرفت. نمودارهای مورد نیاز نیز در نرم‌افزار Excel ترسیم گردیدند.

۳. نتایج

۱.۳. شاخص‌های ساختاری اووسیت

نتایج حاصل از مطالعه ظاهری اووسیت‌های رها شده تاس‌ماهیان ایرانی نشان داده است که اووسیت‌ها در مرحله‌ی اوولاسیون به حداکثر اندازه و قطر خود در طی بلوغ رسیده‌اند که اندازه‌ی آنها در این مرحله با توجه به اندازه مولد متفاوت بوده است. در مولدین تاس‌ماهی ایرانی به کار گرفته شده در این آزمایش که اوولاسیون در آنها به شکل کامل صورت گرفته و اووسیت‌های رسیده تولید کرده بودند، اندازه قطر اووسیت‌ها 2895 ± 540 میکرومتر بوده است. در حالی که مولدین تاس‌ماهی ایرانی داری اووسیت‌های فوق رسیده، دارای تخمک قدری بزرگتر و با قطر 3290 ± 360 میکرومتر بوده است (جدول ۱). اووسیت

تخمک از هر ماهی ۴۵-۵۰ عدد اووسیت به طور تصادفی انتخاب و با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای تعیین درصد لقاح و نرخ تفریخ نیز از روابط زیر استفاده شده است:

$$100 \times (\text{کل تخم} / \text{تعداد تخم منواسپرمی}) = \text{درصد لقاح}$$

$$100 \times (\text{کل تخمک} / \text{تعداد لارو}) = \text{نرخ تفریخ}$$

۳.۲. بافت‌شناختی اووسیت

جهت انجام عمل بافت‌شناسی نمونه‌های تخمک از روش روتین آماده‌سازی بافت استفاده گردید (پوستی و صدیق مروستی، ۱۳۷۸). بافت‌ها ابتدا در محلول بوئن تثبیت و پس از طی مراحل آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه کردن، مقاطعی از تخمک به ضخامت ۵-۷ میکرون تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی بافت‌ها، از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین استفاده گردید. برای عکسبرداری از لام‌های تهیه شده زیر میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال با بزرگنمایی-های $100 \times$ و $400 \times$ عکسبرداری گردید.

۴.۲. اندازه‌گیری ترکیبات اووسیت

در ابتدای آزمایش از هر تاس‌ماهی ایرانی (رسیده و فوق‌رسیده) ۳۰ گرم اووسیت در ۳ نمونه ۱۰ گرمی در نیتروژن مایع فریز شده و در دمای -80 - نگهداری گردیدند تا آنالیز ترکیب تخمک صورت پذیرد. ترکیبات تقریبی اووسیت شامل رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر از طریق روش‌های استاندارد (AOAC (1995) اندازه‌گیری و تعیین گردیدند. اندازه رطوبت نمونه‌ها از طریق خشک کردن آنها در دمای 105 درجه سانتی‌گراد در آون تا دستیابی به یک وزن ثابت، صورت پذیرفت. تعیین مقدار خاکستر نیز از طریق سوزاندن نمونه‌ها در دمای 550 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت در کوره الکتریکی انجام شد. مقدار پروتئین نمونه‌ها (نیتروژن کل $\times 6/25$) از طریق روش کلدال و بعد از هضم نمونه در اسید سولفوریک ۹۸ درصد تعیین شد. برای استخراج چربی نمونه‌ها از روش حل چربی نمونه در اتر از روش سوکسله استفاده شد (AOAC, 1995).

۴.۲. تعیین پروفایل اسیدهای چرب اووسیت

جدول ۱- طول و وزن ماهیان، میزان، وزن و قطر در لقاح و تفریح اووسیت‌های رسیده و فوق رسیده تاس ماهی ایرانی

ماهی رسیده	ماهی رسیده	
۲۸/۵ ± ۵/۴۵	۲۷/۲۵ ± ۶/۵۴	وزن ماهی (kg)
۱۵۱/۲۵ ± ۱۲/۵	۱۵۱/۲ ± ۸/۵	طول ماهی (cm)
۳/۷۵ ± ۱/۶۱	۳/۲۵ ± ۱/۴۹	میزان تخمک استحصالی (kg)
۴۷ ± ۳	۵۱/۲۵ ± ۱/۵	تعداد تخم در گرم
۲۱/۳ ± ۱/۶	۱۹/۷ ± ۱/۸	وزن هر تخمک (mg)
۳۲۹۰ ± ۳۶۰	۲۸۹۵ ± ۵۴۰	قطر تخمک (μm)
۱۶ ^b	۷۵ ± ۹ ^a	درصد لقاح
۰/۰۰ ^b	۶۵ ± ۱۱ ^a	درصد تفریح

* اعداد یک ردیف که دارای حرف متفاوت هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشتند ($P > 0.05$).



شکل ۱- اووسیت‌های فوق رسیده (سمت چپ X۲) و رسیده (سمت راست X۴) تاس ماهی ایرانی.

طی فرایند انکوباسیون تبدیل به لارو نشدند.

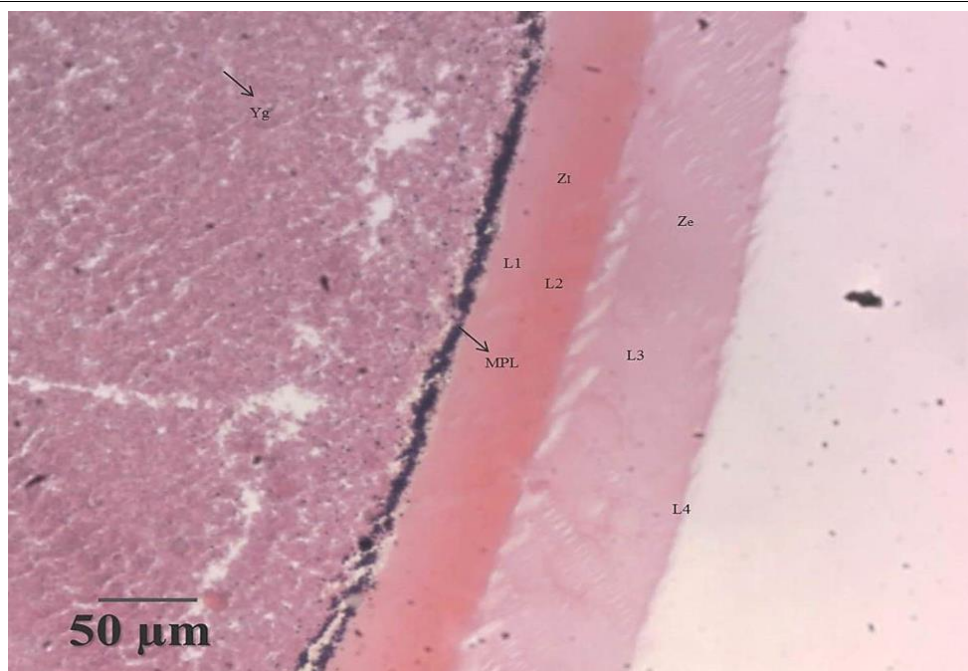
۳.۳. شاخص‌های بافتی اووسیت

اووسیت‌های رسیده به کار گرفته شده در این آزمایش دارای لایه‌های متمایز زونارادیاتا بوده (شکل ۲) و تجمع زرده در این اووسیت‌ها در سمت قطب حیوانی بیشتر و زرده در این سمت متراکم‌تر و فشرده‌تر از قطب گیاهی اووسیت بوده است. اووسیت‌های فوق رسیده با توجه به پیشرفت فوق رسیدگی، ویژگی‌های بافت‌شناختی متفاوتی را از خود نشان داده، به طوری- که اووسیت‌ها در مراحل اولیه فوق رسیدگی قوام و استحکام خود را حفظ کرده و شکل لایه‌های جداره‌ی اووسیت تغییرات محسوسی از خود نشان نمی‌دهند، اما بعد از شروع فوق رسیدگی، کاهش قطر و افتراق لایه‌های دور اووسیت آغاز می‌شود (شکل ۳). سلول‌های لایه فولیکولی (گرانولوزا و تکا) اووسیت‌های رسیده به‌طور یکنواخت در این لایه بدون هیچ‌گونه علائمی از هایپرتروفی دیده می‌شدند اما با شروع و ادامه فوق رسیدگی در اووسیت‌ها، به مرور تغییرات در لایه‌ی

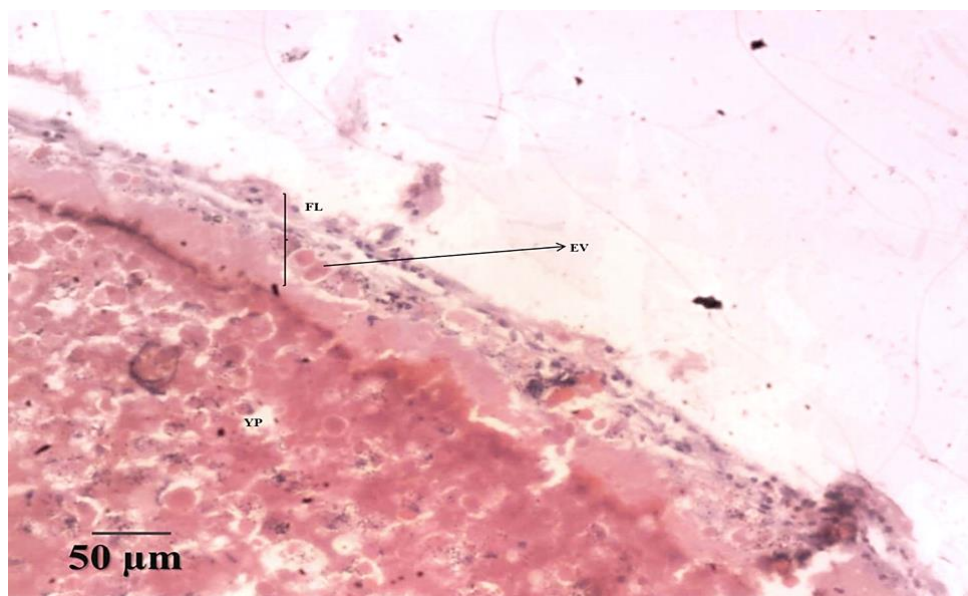
رسیده تاس ماهی ایرانی، دارای انسجام و قوام مناسب و از نظر رنگ ظاهری نیز یک‌دست و دارای یک حلقه دایره‌ای شکل در قطب حیوانی خود بوده و فاقد هر گونه اختلال رنگ‌ها در کوریون و دیواره‌ی خود بوده‌اند. اما اووسیت‌های فوق رسیده برداشت شده قوام و استحکام خود را تا حدود زیادی از دست داده و رنگ دیواره‌ی آن نیز دچار تغییرات محسوسی (شیری و تداخل رنگ‌های سیاه و سفید) شده بود (شکل ۱).

۲.۳. شاخص‌های لقاح

نتایج مقایسه میانگین‌های درصد لقاح (تعداد تخم منواسپرمی تشکیل شده به کل تخم) و نرخ تفریح (تعداد لارو به کل اووسیت) بین دو تیمار تخمک‌های رسیده و فوق رسیده در جدول ۱ آمده است. درصد لقاح و تفریح برای تخمک‌های رسیده به ترتیب ۷۵ و ۶۵ درصد بوده‌اند، در حالی که درصد لقاح برای این دسته از تخمک‌ها تنها ۱۶ درصد بوده است. اما درصد تفریح در این ماهیان صفر بوده چون هیچ‌یک از تخم‌های تولید شده در طی فرایند لقاح از این ماهیان در



شکل ۲- اووسیت رسیده تاس‌ماهی ایرانی با دو لایه زونارادیاتا مشخص. BI: غشای پایه، لایه‌های فولیکولی (L1, L2, L3 and L4)، GI: لایه سلولی گرانولوزا، MPL: لایه رنگدانه‌ی ملانین، Og: گلبول چربی، TI: لایه سلولی تکا، Yp: پلیت‌های چربی، Z: زونارادیاتا، Ze: زونارادیاتای خارجی، و Zi: زونارادیاتای داخلی.

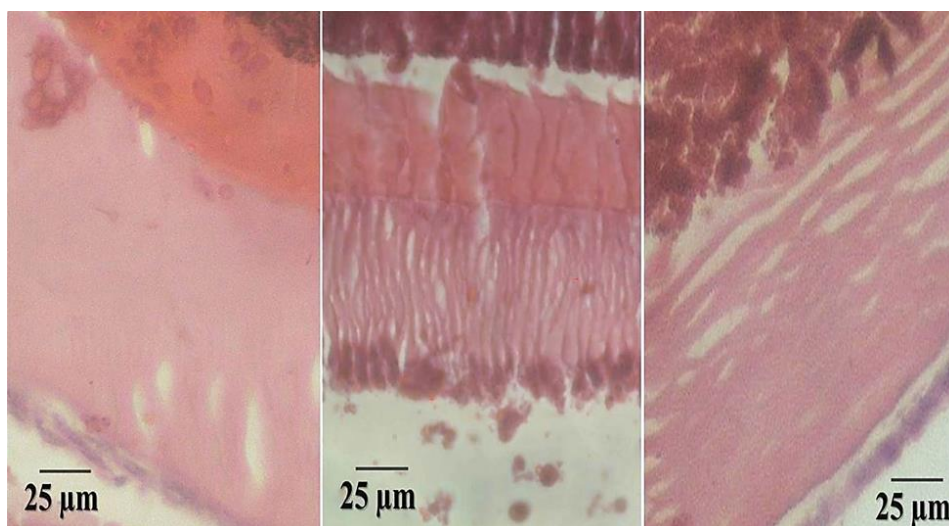


شکل ۳- اووسیت فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی با لایه زونارادیاتا شکسته و تجزیه شده و لایه تکا و گرانولوزای هایپرتروف. EV: پوشش تخم، FL: لایه فولیکولی (BI: غشای پایه، TI: لایه سلولی تکا و GI: لایه سلولی گرانولوزا)، Yp: پلیت‌های چربی.

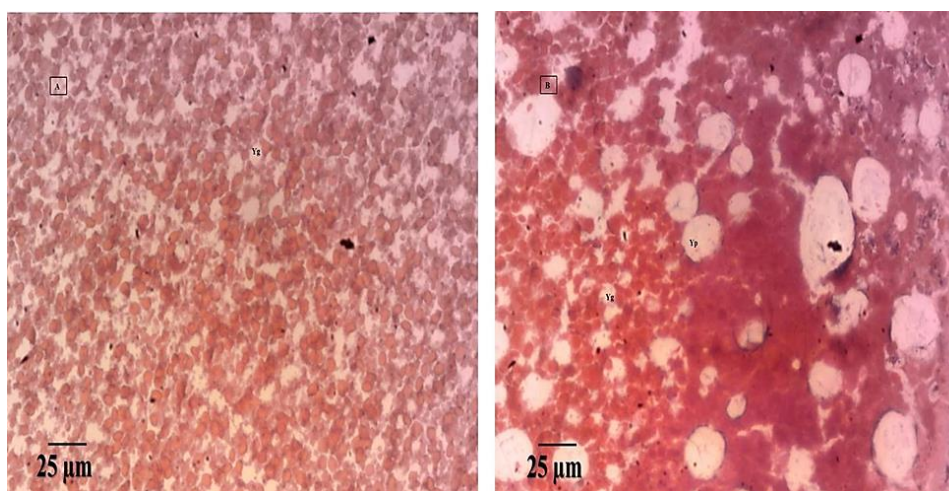
مشاهده شده و در مرحله فوق رسیدگی از این کانال‌ها خبری نیست. لایه‌های زونارادیاتا با ساختاری ساده و حداقل ضخامت و درهم تنیدگی یافته شده، در حالی که لایه زونارادیاتای خارجی ضخیمتر است (شکل‌های ۱ و ۴).

ماده زرده در اووسیت‌های رسیده تاس‌ماهی ایرانی به صورت یکپارچه و فاقد هر گونه به هم ریختگی بوده و فضای اووپلاسم به صورت یکنواخت و

زونارادیاتا شروع شده و ضمن تغییرات در اندازه لایه‌ها، از تعداد لایه‌ی زونارادیاتا کاسته شده و در موارد پیش رفته فوق رسیدگی و تا حدودی شروع اترزیا فقط یک لایه زونارادیا قابل مشاهده بوده است و تجزیه و شکسته شدن لایه‌های اووسیت در موارد دیده شد (شکل ۴). در محل لایه‌ی زونارادیاتا کانال‌هایی برای ارتباط لایه در مراحل ابتدایی تکامل تخمدان به تعداد زیادی وجود داشته که این کانالها در مرحله اوولاسیون به تعداد کم



شکل ۴ - تغییرات لایه پوششی و زونارادیاتا در اووسیت رسیده (سمت چپ) و فوق رسیده (شکل میانی و سمت راست).



شکل ۵ - توزیع و اندازه گلبول ها و پلیت‌های زرده در اووسیت رسیده (A) و فوق رسیده تاس (B) ماهی ایرانی.

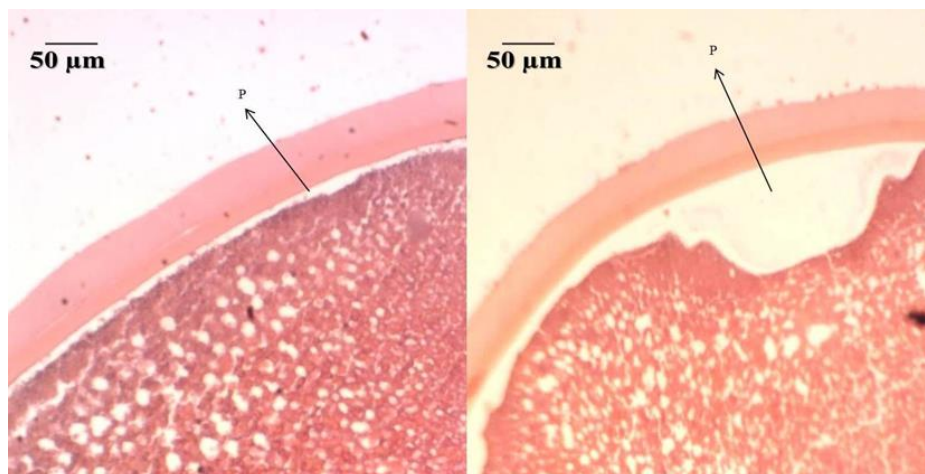
این مقادیر در دو دسته مذکور مشاهده نشده است ($P > 0.05$).

در بین اسیدهای چرب اشباع، پالمیتیک اسید (Palmitic acid; C16) از فراوانی بیشتری برخوردار بوده است که این اسید چرب به ترتیب ۲۱/۷۵ و ۱۷/۴۱ درصد از اسیدهای چرب اووسیت رسیده و فوق رسیده را تشکیل داده و تفاوت مقدار این اسید چرب در بین دو گروه از نظر آماری نیز معنی دار بوده است. علاوه بر این میزان دیگر اسیدهای چرب اشباع اندازه-گیری شده مانند میریستیک اسید (Myristic acid; C14) و استئاریک اسید (Stearic acid; C18) نیز در اووسیت‌های رسیده بیشتر از اووسیت‌های فوق رسیده بوده است، اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی-دار نبوده است ($P > 0.05$). بررسی آماری نمونه‌ها نشان داد که به‌طور تقریبی حدود ۳۰ درصد از چربی استخراج شده از نمونه‌های تخمک را اسیدهای چرب

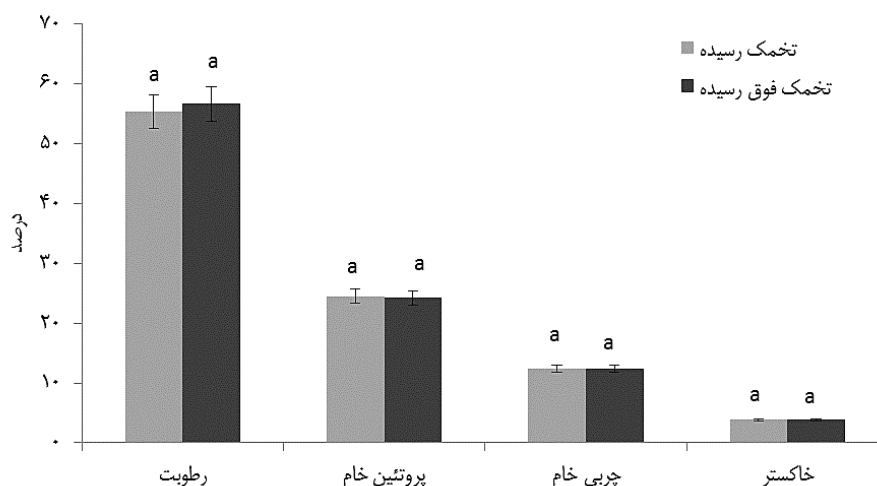
حداقل فضای پرویتیلینی دیده شده است. این در حالیست که در اووسیت فوق رسیده یکپارچه‌گی زرده-ی اووپلاسم کمتر شده و پلیت‌های چربی به اندازه بزرگتر و بیشتر دیده شده و فضای پرویتیلینی دیگر به همان شکل منظمی که در اووسیت رسیده تاس‌ماهی ایرانی وجود داشته نبوده است (شکل‌های ۵ و ۶).

۴.۳. شاخص‌های بیوشیمیایی اووسیت

در جدول ۲ میانگین اسیدهای چرب تشکیل دهنده اووسیت‌های رسیده و فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی مورد مطالعه نشان داده شده است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اولئیک اسید (Oleic acid; C18:1 ω-9) در بین تمامی اسیدهای چرب اووسیت‌های ماهیان خاویاری مورد مطالعه از فراوانی بالاتری در میان هر دو دسته اووسیت‌های رسیده و فوق رسیده برخوردار بوده و اختلاف معنی‌داری بین



شکل ۶- تغییرات شکل فضای پروتیلین (P: perivitelline space) در اووسیت رسیده (سمت چپ) و فوق رسیده (سمت راست).



شکل ۷- درصد رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر اووسیت‌های فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی.

درصد) بیشتر از میزان رطوبت در اووسیت‌های رسیده (۵۴/۶۷±۰/۸۸ درصد) بوده است.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

۱.۴. شاخص‌های ساختاری اووسیت

در بررسی حاضر نتایج نشان داد که اووسیت‌های فوق رسیده در این آزمایش دارای تفاوت‌های ظاهری و ساختاری مشخص نسبت به اووسیت رسیده‌ی تاس‌ماهی ایرانی بودند، که می‌توان به تغییراتی همچون بزرگ شدن اووسیت فوق رسیده و همچنین تغییر رنگ اووسیت فوق رسیده نسبت به تخمک رسیده اشاره نمود. این تغییرات در اندازه‌ی اووسیت فوق رسیده را می‌توان به تغییرات ساختاری رخ داده در لایه‌های

دارای یک پیوند دوگانه (MUFA) تشکیل داده‌اند. به طور کلی اسیدهای چرب غالب در تخمک تاس ایرانی مورد مطالعه عبارت بودند از اولئیک اسید، پالمیتیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید (Eicosapentaenoic acid) که مجموعاً به ترتیب حدود ۶۸ و ۶۳ درصد از کل اسیدهای چرب اووسیت رسیده و فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی را تشکیل داده بودند.

آنالیز ترکیبات تقریبی اووسیت تاس‌ماهی ایرانی رسیده و فوق رسیده در این آزمایش در شکل ۷ نشان داده شده است. رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر تخمک‌های رسیده و فوق رسیده اختلاف معنی‌داری با هم نداشت ($P > 0.05$). هر چند میزان رطوبت تخمک‌های فوق رسیده (۵۴/۵۹±۰/۷۹)

جدول ۲- ترکیبات اسیدهای چرب اووسیت‌های رسیده و فوق رسیده تاس ماهی ایرانی.

اسید چرب	تخمک رسیده	تخمک فوق رسیده
C14	۰/۵۸±۰/۰۸	۰/۵۳±۰/۱۱
C16	۲۱/۷۵±۱/۶ ^a	۱۷/۴۱±۰/۴۲ ^b
C18	۳/۹۵±۰/۱۷	۳/۶۳±۰/۱۶
C20	.	۰/۱۲±۰/۰۶
C22	.	.
C24	.	.
C14:1 ω-5	۰/۰۸±۰/۰۲	۰/۰۷±۰/۰۲
C16:1 ω-7	۵/۳۶±۰/۲۶ ^a	۴/۲۲±۰/۰۲ ^b
C18:1 ω-9	۳۰/۰۹±۰/۵۳	۲۸/۰۱±۱/۲
C18:1 ω-7	۳/۹۳±۰/۰۷	۳/۸۴±۰/۲۴
C20:1 ω-9	۰/۶۲±۰/۰۸	۰/۷۲±۰/۱۱
C22:1 ω-9	۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۲۲±۰/۰۸
C18:2 ω-6	۱/۳۰±۰/۲۳	۱/۳۸±۰/۱۴
C20:2 ω-6	۰/۲۰±۰/۰۰	۰/۳۴±۰/۰۴
C20:4 ω-6	۲/۹۲±۰/۱۳ ^a	۴/۴۷±۰/۶۷ ^b
C22:5 ω-6	.	.
C18:3 ω-3	۰/۸۶±۰/۱۸	۰/۹۵±۰/۱۴
C20:3 ω-3	۰/۵۴±۰/۱۲ ^a	۰/۲۴±۰/۰۳ ^b
C20:5 ω-3	۵/۵۸±۰/۴۴ ^a	۶/۵۳±۰/۰۴ ^b
C22:6 ω-3	۱۶/۰۵±۰/۷۸	۱۷/۷۱±۱/۹۵
دیگر اسیدهای چرب	۶/۶۴±۰/۲۱ ^a	۱۰/۱۲±۱/۳۲ ^b
اسید چرب اشباع SFA	۲۶/۲۹±۱/۷۶ ^a	۲۱/۷۰±۱/۵۳ ^b
اسید چرب تک غیر اشباع MUFA	۴۰/۲۷±۰/۱۷	۳۷/۱۰±۱/۴۴
اسید چرب چند غیر اشباع PUFA	۲۷/۴۷±۱/۶۷	۳۱/۶۴±۲/۲۲
SFA/PUFA	۰/۸۶±۰/۱۶	۰/۶۸±۰/۰۸
امگا ۳	۲۳/۰۵±۱/۳۰	۲۵/۴۳±۲/۱۰
امگا ۶	۴/۴۲±۰/۳۷ ^a	۶/۲۱±۰/۳۳ ^b
نسبت امگا ۳ به امگا ۶	۵/۲۳±۰/۱۴	۴/۱۲±۰/۳۹

* اعداد یک ردیف که دارای حرف متفاوت هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشتند ($P > 0.05$).

(*al.*, 2011).

دیواره‌های پوششی مهمترین نقش را در استحکام و انسجام اووسیت‌ها را دارند و به‌عنوان بخشی مهم در نقل و انتقال مواد به داخل و خارج از اووسیت نقش بازی می‌کنند. هر گونه تغییر در این لایه‌ها می‌تواند منجر به تغییرات در اندازه اووسیت، مواد تشکیل دهنده و ساختارهای داخلی اووسیت شود. ماندن اووسیت‌های فوق رسیده در حفره تخمدانی منجر به تجزیه و از هم پاشیدن انسجام و لایه‌های پوششی اووسیت‌ها شده و در نتیجه نفوذ مواد از جمله مایع سلومیک حفره تخمدانی به داخل اووسیت‌های تاس ماهی ایرانی شده است. البته با توجه به جدول ۱، اندازه‌ی تاس ماهی مولد، اووسیت برداشت شده و قطر اووسیت‌ها دارای اختلاف قابل توجهی در مقدار انحراف

پوششی اووسیت و همچنین رصوبت جذب شده بیشتر نسبت داد.

در اووسیت‌های ماهیان خاوباری، با وقوع فوق رسیدگی تغییرات در الگوی رنگدانه‌ی اووسیت‌ها رخ خواهد داد. تجمع رنگدانه‌ها در قطب حیوانی بیشتر شده، و کمان روشن دور تخمک محو و رنگدانه‌ها پخش و ناپدید می‌شوند. با پیشرفت رسیدگی اووسیت، رنگدانه‌ها در مرکز قطب حیوانی تجمع می‌یابند و رنگ اووسیت‌ها روشن می‌شود که این تغییرات رنگ با تغییر باروری اووسیت‌ها نیز همراه است. وقوع تغییرات رنگ در اووسیت فوق رسیده تاس ماهی ایرانی را میتوان به تغییرات توزیع رنگدانه‌ها در لایه‌ی پوششی اووسیت و تغییرات حاصل از فعالیت آنزیم‌ها در لایه‌ی ملانینی اووسیت تاس ماهی ایرانی نسبت داد (*Chebanov et*

است که فوق رسیدگی ناشی از ماندگاری و عدم برداشت به موقع اووسیت از تخمدان ماهی، منجر به تغییرات زیاد ساختاری و بیوشیمیایی در اووسیت و تخمدان ماهیان خواهد شد (Lahnsteiner *et al.*, 2008). متلاشی شدن لایه کورتیکال الوالی فعال شده به وسیله آب در تخم‌های فوق رسیده نسبت به تخم‌های رسیده زمان بیشتری را می‌گیرد و این پدیده ممکن است با کندی و کاهش پیشرفت تقسیمات سلولی و مراحل تکامل جنینی پس از لقاح در ارتباط باشد. در ضمن شکسته شدن و متلاشی شدن لایه کورتیکال الوالی موجب افزایش زمان بین ورود اسپرم به اووسیت تا بسته شدن سوراخ میکروپیل شود که این عمل منجر به وقوع پلی‌اسپرمی در تخمک‌های فوق رسیده می‌شود، که شاید بتواند علت کاهش درصد لقاح و تفریح و ماندگاری لاروها در این اووسیت‌ها باشد (Nomura *et al.*, 1974; Lahnsteiner, 2000; Azuma *et al.*, 2003).

۳.۴. شاخص‌های بافتی اووسیت

همه‌ی اووسیت‌های فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی مورد ارزیابی در این آزمایش تغییرات میکروسکوپی و بافت‌شناختی یکسانی را نشان نداده‌اند. فاصله زمانی بین اوولاسیون و رها شدن اووسیت‌ها در حفره تخمدانی تا زمان استحصال اووسیت‌ها نقش مهمی در بروز یا عدم بروز علایم بافت‌شناختی دارند. در اووسیت‌های فوق رسیده وزیکول‌های کورتیکولی و قطرات چربی تمایل داشتند تا در قطب حیوانی تجمع بیابند، اما این گلبول‌ها در اووسیت رسیده به‌صورت یک‌دست در سیتوپلاسم اووسیت پراکنده شده بودند. ضمناً شکستگی‌هایی کوچکی در وزیکول‌های کورتیکول اووسیت فوق رسیده تاس‌ماهی ایرانی دیده شده و فضای پری‌وتیلینی دیگر به شکل مشخص و یک‌دست نبوده و حفرات متفاوت در سیتوپلاسم اووسیت ایجاد شده بود. در ضمن تغییرات اندازه‌ی گویچه چربی در نمونه‌های اووسیت فوق رسیده تاس‌ماهیان ایرانی مشهود بوده و در اووسیت فوق رسیده این گلبول‌های چربی بزرگتر از اووسیت‌های رسیده بوده است. در برخی از مطالعات، تغییرات اندازه گویچه چربی به‌عنوان بارزترین علامت فوق رسیدگی معرفی

معیار می‌باشند که علت آن را می‌توان به اختلافات فردی مولدین استفاده شده در این آزمایش نسبت داد. با این وجود اطلاعات در مورد چگونگی تغییرات اندازه اووسیت فوق رسیده محدود می‌باشد، اما نتایج این تحقیق با یافته‌های تحقیقات Talbott و همکاران (۲۰۱۱) در مورد تاس‌ماهی سفید و Lam و همکاران (۱۹۷۸) در مورد ماهی سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*) مطابقت داشت که اووسیت‌های ماهیانی که وارد فرایند فوق رسیدگی و انترزیا شده‌اند، بزرگ‌تر از اووسیت‌های رسیده‌ی در آن آزمایش بوده است. در ماهی‌های طلایی Formacion و همکاران (۱۹۹۳) گزارش داد که این تغییرات اندازه‌ی اووسیت فوق رسیده نسبت به اووسیت رسیده مربوط به افزایش محتوی آب اووسیت در طی فوق رسیدگی می‌باشد. در مطالعه‌ی بر روی ماهی سه‌خاره، اووسیت‌های فوق رسیده بزرگتر از اووسیت‌های اووله‌نرمال بوده و این اووسیت‌ها حاوی مقادیر بالاتر آب نسبت به اووسیت‌های اووله رسیده بوده، که این افزایش آب به جبران آب از دست رفته در طی ماندگاری اووسیت در حفره تخمدانی مرتبط بوده است (Lam *et al.*, 1978). از سوی دیگر، در قزل‌آلای رنگین‌کمان این افزایش اندازه و آب اووسیت در طی بیست روز بعد از اوولاسیون مشاهده نشده بود که به احتمال زیاد این مسئله را به اختلافات فردی بین گونه‌های مختلف ماهی نسبت دادند (Springate *et al.*, 1984).

۲.۴. شاخص‌های لقاح

اووسیت‌های رسیده و فوق رسیده از نظر لقاح پذیری نیز بسیار متفاوتند. داده‌های مربوط به لقاح و تخم تفریح شده نشان داد که جنین‌های تولید شده از لقاح اووسیت‌های فوق رسیده بر خلاف تخم‌های رسیده فاقد خاصیت زنده‌مانی بودند. البته اووسیت تاس‌ماهیان فوق رسیده برداشت شده از یکی از مولدین منجر به لقاح شده است که نتایج حاصل از آن در جدول ۱ آمده است و لقاح اووسیت‌های سه‌مولد فوق رسیده‌ی دیگر منجر به تولید تخم‌های لقاح یافته نشد. نتایج حاصل از این بررسی تأیید کننده‌ی یافته‌های به‌دست آمده از آزمایشات پیشین در مورد بررسی پدیده‌ی فوق رسیدگی در اووسیت و تخمدان ماهیان دیگر

و غیر قابل تشخیص می شوند، به طوری که در مراحل پیشرفته رسیدگی اووسیت‌ها و فوق رسیدگی به علت پر شدن این کانال‌ها با میکروویلی، سلول‌های فولیکولار و آلولار کوریون (Alveolar chorion) اووسیت‌ها این کانال‌ها به طور کامل محو می‌شوند (Bobbe and Labbe, 2010).

در تاس‌ماهیان گزارش شده است که لایه پوششی در مرحله ۴ تکامل تخمدانی بر روی سطح اووسیت تشکیل می‌شود (Siddique et al., 2014). این پوشش خارجی اووسیت به چهار لایه مختلف تقسیم می‌شود که خارجی‌ترین لایه، لایه‌ی ژلاتینی است که اطراف تخم را در بر گرفته و در منافذ لایه L3 تنیده است و این لایه به لایه L4 شناخته شده و تشخیص آن به دلیل ضخامت کوچک (۰/۶۸-۰/۳ میکرومتر) توسط میکروسکوپ نوری غیر ممکن است و نیاز به میکروسکوپ الکترونی عبوری دارد. لایه سوم یا زونارادیاتای خارجی از طریق الیاف مارپیچی به لایه L2 متصل شده است، این لایه بر روی خود مجاری چاهک‌مانندی به اندازه‌ی ۳ میکرون دارد. درونی‌ترین لایه‌ی زونارادیاتای L1 نام دارد که به طور مستقیم پلاسمای اووسیت را احاطه می‌کند و فضای پری-ویتیلوژنیکی از این طریق از اوولوما (Oolemma) جدا شده است (Cherr and Clark, 1982). لایه‌های L1 و L2 با هم لایه زونارادیاتای داخلی و لایه‌ی L3 لایه زونارادیاتای خارجی را تشکیل می‌دهند. بین خود به دو بخش متفاوت تقسیم می‌شود که کارکردهای و وظایف آن ناشناخته است.

در اووسیت فوق رسیده‌ی تاس‌ماهی ایرانی با توجه به مرحله فوق رسیدگی و پیشرفت آن، این لایه‌های چهارگانه تحت تاثیر فرایند تجزیه‌ی توسط آنزیم‌ها قرار گرفته و به مرور شکسته و تجزیه شده و از تعداد این لایه‌ها نیز کاسته شده بود، تا جایی که دیگر این لایه به شکلی متحد و یکپارچه در دور اووسیت دیده نمی‌شدند، هر چند که بقایای این لایه‌ها قابل تفکیک و تمایز بوده است. تغییرات تعداد لایه‌های پوششی به خصوص لایه‌های زونارادیاتای در طی فرایند تکامل اووسیت‌ها در تخمدان امری روشن است. در ماهی پایپ (Pipefish, *Syngnathus scovelli*) در اواسط مرحله ویتیلوژنیک تا وقوع اوولاسیون، لایه زونارادیاتای ۲ یا Z2 ناپدید شده است، این در حالیست که لایه

شده است (Craik and Harvey, 1984)، که این تفاوت اندازه به علت کاهش فسفولیپیدها، آنهم به علت فسفولیپید دی فسفوریلیشن در طی فوق رسیدگی می‌باشد. این به نوبه‌ی خود منجر به چسبندگی قطرات چربی در تعداد محدودتر گلبول چربی بزرگ و کاهش وجود قطرات چربی در اندازه کوچک می‌گردد (Lahnsteiner, 2000). تحقیقات دیگر نیز بروز تغییراتی همچون ایجاد حفرات متفاوت در سیتوپلاسم اووسیت به علت از بین رفتگی انسجام توده زرده و ایجاد تغییراتی در شکل فضای پروتئینی اووسیت‌ها به علت تغییرات اسموتیک ما بین اووسیت-های فوق رسیده و مایع سلومیک تخمدان در طی فرایند فوق رسیدگی گزارش کرده‌اند (Kjorsvik et al., 1990; Lahnsteiner, 2000).

بررسی لایه‌های پوششی اطراف اووسیت تاس‌ماهی ایرانی در این آزمایش نشان داد که اووسیت‌های رسیده دارای ۴ لایه زونارادیاتای مشخص هستند. اما در نمونه‌های بافتی اووسیت‌های فوق رسیده‌ی در این آزمایش، با توجه به مرحله‌ی شروع و پیشرفت پدیده‌ی فوق رسیدگی، تمایز بین لایه‌های زونارادیاتای داخلی (لایه‌های L1 و L2) و لایه‌های زونارادیاتای خارجی (L3) به مرور زمان کم شده و تا جایی که تشخیص این دو لایه در مواردی غیرممکن بوده است. در اووسیت رسیده تاس‌ماهیان تعداد کانال‌هایی در بین دو لایه زونارادیاتای داخلی و خارجی دیده می‌شود که با وقوع فوق رسیدگی و با توجه به از بین رفتن تمایز این دو لایه، کانال‌ها نیز به طور کامل محو شدند. Moghaddam و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی خود بر روی تخمک تاس‌ماهی ایرانی گزارش دادند که در اووسیت رسیده بین لایه‌های زونارادیاتای شیارها و نوارهایی وجود دارد که نقش کانال و مسیر عبور مواد از خارج به داخل اووسیت را بر عهده دارند. تعداد و اندازه‌ی کانال‌ها با توجه به مرحله‌ی تکاملی اووسیت متفاوت می‌باشد. در اووسیت‌های مراحل ۳ و ۴ که اووسیت‌ها در حال زرده‌گیری و جذب مواد هستند تعداد این کانال‌ها بیشتر هستند، و این به علت پیچیده بودن فرایند ساخت زرده، بلوغ تخمک و تفریح تخم‌هاست که نیاز فراوانی به حمل مواد خام به تخمک را دارد (Kaviani et al., 2013). بعد از اوولاسیون تعداد این کانال‌ها کاهش یافته و تا حد زیادی ناپدید

چرب چیزی حدود ۶۸ درصد اسیدهای چرب تخمک فوق رسیده و ۷۳ درصد اسیدهای چرب اووسیت رسیده تاس‌ماهیان ایرانی را تشکیل دادند و فوق رسیدگی اووسیت تأثیری بر روی اهمیت و نقش این ۴ اسید چرب، به عنوان اسیدهای چرب مهم در روغن استخراج شده از ماهیان ایجاد نکرده است. نتایج مطالعه‌ی Yanes-Roca و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که ارتباط مستقیم بین میزان اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید و لقاح و تفریح در ماهی اسنوک (*Centropomus undecimalis*) وجود داشت که با افزایش میزان این اسید چرب درصد لقاح، تفریح و بقای لارو نیز افزایش یافته بود.

چربی موجود در زرده اووسیت نقش مهمی در تامین انرژی لارو ماهی در طی مرحله انکوباسیون و نوزادی (Weaning) ایفا می‌کند (Tocher *et al.*, 1991; Gershanovich, 1984; Lahnsteiner, 2000). در بررسی بیوشیمیایی اووسیت فوق رسیده قزل‌آلای رنگین کمان نشان داد که اسیدهای چرب استری و غیراستری در طی فوق رسیدگی در اووسیت-ها کاهش یافت، با این وجود این کاهش اسیدچرب تأثیر معنی‌دار بر روی زنده ماندن تخم‌ها نداشته است. البته مطالعات دیگری هم در مورد اثر مراحل مختلف سیر تکامل اووسیت در تخمدان بر روی میزان اسیدهای چرب آن وجود دارد، که حاکی از عدم ارتباط بین این دو عامل بوده است (Kaitaranta and Ackman, 1981; Pickova *et al.*, 1999; Bekhit *et al.*, 2009).

آنالیز تقریبی ترکیبات اووسیت (رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین) تاس‌ماهی ایرانی در این آزمایش تحت تأثیر پدیده‌ی فوق رسیدگی قرار نداشتند. هر چند که در اووسیت نابالغ این تغییرات می‌تواند بیشتر باشد، اما در مرحله فوق رسیدگی این تغییرات چندان زیاد نبوده است. البته گزارشاتی مبنی بر تغییر محتوی آب و ماده خشک تخمک فوق رسیده در ماهی طلائی وجود دارد، که ۲۴ ساعت بعد از اوولاسیون مقدار آب در اووسیت‌های فوق رسیده افزایش یافته بود. شاخص رطوبت اووسیت فوق رسیده تاس‌ماهی در این آزمایش مقداری بیشتر از میزان رطوبت اووسیت رسیده در این ماهی بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. ترکیبات

Z1 نازکتر و در عوض لایه Z3 ضخیمتر شده بود (Begovac and Wallace, 1989). همکاران (۱۹۹۳) کاهش تعداد لایه‌های پوششی اووسیت را در ماهی طلائی در طی پدیده فوق رسیدگی گزارش داده‌اند. تعداد لایه‌های پوششی اووسیت در اووسیت فوق رسیده در این ماهی از ۷ به ۴ یا ۵ عدد کاهش یافت.

۴.۴. شاخص‌های بیوشیمیایی تخمک

اولئیک اسید (C18:1 ω-9)، اسید چرب غالب در آنالیز اسید چرب اووسیت ماهی قره‌برون رسیده و فوق رسیده در این آزمایش بوده است. از دیگر اسیدهای چربی که بخش زیادی از اسیدهای چرب اووسیت تاس‌ماهی ایرانی را تشکیل داده بودند می‌توان به پالمیتیک اسید (C16:0)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA; C20:5 ω-3)، و دکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic acid, DHA; C22:6 ω-3) اشاره کرد. مقدار پالمیتیک اسید، پالمیتولیک اسید (C16:1 ω-7)، آراشیدونیک اسید (C20:4 ω-6) و ایکوزا پنتانوئیک اسید در اووسیت‌های فوق رسیده اختلاف آمار معنی‌داری را با تخمک رسیده تاس‌ماهیان ایرانی نشان دادند، این در حالی بود که مقدار دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) علیرغم نقش مهم آن در لقاح و نرخ تفریح در بین تخمک‌های فوق رسیده و رسیده تفاوتی را نشان نداده است. در میان اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع با یک و چند پیوند دوگانه، فقط اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بودند که مقدار آن تحت تأثیر فوق رسیدگی قرار داشته و مقدار این اسیدهای چرب در اووسیت فوق رسیده کمتر از اووسیت رسیده‌ی تاس‌ماهیان ایرانی بوده است.

اسیدهای چرب اولئیک اسید، پالمیتیک اسید، ایکوزاپنتانوئیک اسید و دکوزاهگزانوئیک اسید از اسیدهای چرب غالب روغن استخراج شده از اندام ماهی یا تولیدات و محصولات جانبی ماهی (Hughes *et al.*, 1980; Bechtel *et al.*, 2007; Wu and Bechtel, 2008) می‌باشد، حتی مراحل تکاملی بلوغ ماهی (Kaitaranta *et al.*, 1981)، یا گونه‌ی ماهیان (Hughes *et al.*, 1980; Shirai *et al.*, 2001) نیز بر غالب بودن این اسیدهای چرب در روغن آن‌ها نقشی ندارد. نتایج این آزمایش هم نشان داد که این اسیدهای

لایه‌های پوششی فولیکول اووسیت، شکل فضای پرویتیلینی و ... و بیوشیمیایی (پروفایل اسید چرب) تاثیرگذار باشد و منجر به کاهش پارمترهای کیفی اووسیت شود. در کنار تفاوت‌های ساختاری لایه‌های پوششی اووسیت‌های فوق رسیده، می‌توان از برخی اسیدهای چرب موجود در اووسیت تاس‌ماهیان ایرانی همچون پالمیتیک اسید، پالمیتولیک اسید، آراشیدونیک اسید و ایکوزا پنتانوئیک اسید به‌عنوان فاکتوری جهت تشخیص اووسیت‌های فوق رسیده در این ماهی استفاده نمود.

References

- Aegerter, S., Jalabert, B., 2004. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 231, 59-71.
- Aegerter, S., Jalabert, B., Bobe, J., 2005. Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and post-ovulatory ageing. *Molecular Reproduction and Development* 72, 377-385.
- AOAC International, 1995. Official methods of analysis of AOAC (International Association of Analytical Communities). Arlington, VA, USA.
- Azuma, T., Ohta, H., Muto, S., Yada, T., Unuma, T., 2003. Changes in fertility of rainbow trout eggs retained in coelom. *Fisheries Science*, 69, 131-136.
- BahreKazemi, M., Soltani, M., Matinfar, A. Abtahi, B., Pusti, I., Mohagheghi Samarin, A., Mojazi Amiri, B., 2010. Biochemical and histological studies of over-ripened oocyte in the Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) to determine biomarkers for egg quality. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 9(1), 33-48.
- Bobe, J., Labbé, C., 2010. *Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology*, 165, 535-548.
- Bechtel, P. J., Chantarachoti, J., Oliveira, A., Sathivel, S., 2007. Characterization of protein fractions from immature Alaska Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) roe. *Journal of Food Science*, 72, 338-343.
- Begovac, P.C., Wallace, R.A., 1989. Major vitelline envelope proteins in pipefish oocytes originate within the follicle and are associated with the 23 layer. *Journal of Experimental Zoology*, 25, 56-73.
- Bekhit, A., Morton, J.D., Dawson, C.O., Zhao, J.H., Lee, H.Y.Y. 2009. Impact of maturity on the physicochemical and biochemical properties of chinook salmon roe. *Food Chemistry*, 117, 318-325.
- Bledsoe, G.E., Bledsoe, C., Rasco, B., 2003. تقریبی اووسیت ماهی تحت تاثیر عوامل داخلی (گونه، بلوغ اووسیت‌ها، موقعیت اووسیت در تخمدان) و خارجی (جیره غذایی، بلوغ ماهی، فصل، ناحیه برداشت ماهی و فرایند آماده سازی) قرار دارد (Katsiadaki *et al.*, 1999; Wirth *et al.*, 2000; Bledsoe *et al.*, 2003).
- روی هم رفته بیشتر نتایج این آزمایش حاکی از آن است که فوق رسیدگی اووسیت در تخمدان تاس‌ماهیان ایرانی می‌تواند بر رنج متفاوتی از فاکتورهای ظاهری (اندازه)، ساختاری و بافت شناختی (تغییرات Caviars and fish roe products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 317-356.
- Chebanov, M.S., Galich, E.V., 2011. Surgeon hatchery manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Rome, Italy, 303 p.
- Cherr, G.N., Clark, W.H.J., 1982. Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. *Development, Growth & Differentiation*, 24, 341-352.
- Craik, J.C.A., Harvey, S.M., 1984. Egg quality in rainbow trout. The relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40, 115-134.
- Formacion, M., Hori, R., Lam, T.J., 1993. Overripening of ovulated eggs in goldfish I. Morphological changes. *Aquaculture*, 114, 155-168.
- Gershanovich, A., 1991. Lipid mobilization during early development of sturgeons. In: Williot, P. (Ed), *First International Symposium on Sturgeon*. Bordeaux, Gironde, France. 41-52 p.
- Hughes, J., Czochanska, Z., Pickston, L., Hove, E., 1980. The nutritional composition of some New Zealand marine fish and shellfish. *New Zealand Journal of Science*, 23, 43-51.
- Kaviani, E., Shabanipour, N., Mirnategh, S., 2013. Light and electron microscope structural study of the zona radiata in the oocytes of zebrafish (*Danio rerio*). *Microscopy* (Tokyo), 62(3), 377-381.
- Kaitaranta, J., Ackman, R., 1981. Total lipids and lipid classes of fish roe. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 69, 725-729.
- Katsiadaki, I., Taylor, K., Smith, G., 1999. Assessment of quality of cod roes and relationship between quality and maturity stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1249-1259.
- Kjorsvik, E., Mangor Jensen, A., Holmefjord, T., 1990. Egg quality in fishes. *Advance in Marine Biology*, 26, 71-113.

- Lahnsteiner, F., 2000. Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiology and Biochemistry* 23, 107–118.
- Lahnsteiner, F., Soares, F., Ribeiro, L., Dinis, M.T., 2008. *Methods in Reproductive Aquaculture*. CRC Press, New York, 149–181pp.
- Lam, T.J., Nagahama, Y., Chan, K., Hoar, W.S., 1978. Overripe eggs and postovulatory corpora lutea in the threespined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. form trachurus. *Canadian Journal of Zoology*, 56, 2029–2036.
- Lu, X., Webb, M.A.H., Talbott, M.J., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Rasco, B., 2011. A study of biochemical parameters associated with ovarian atresia and quality of caviar in farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. *Aquaculture*, 315, 298–305.
- Luthria, D., 2004. Oil extraction and analysis: critical issues and comparative studies. Luthria, D (Eds.). AOCs Press, Champaign, IL. 282 p.
- Moghaddam, A., Oryan, Sh., Shabanipour, N., 2013. Study of the Zona Radiata Structure in Oocytes of the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) before and after Fertilization. *Journal of the Persian Gulf*, 4, 1-8.
- Mohagheghi Samarin, A., Ahmadi, M.R., Azuma, T., Rafiee, G.R., Mojazi Amiri, B., Naghavi, M.R., 2008. Influence of the time to eggs and hatching rates in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under cold temperatures. *Aquaculture*, 278, 195-198.
- Nomura, M., Sakai, K., Takashima, F., 1974. The overripening phenomenon of trout, temporal morphological changes of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 40, 977–984.
- Pickova, J., Kiessling, A., Pettersson, A., Dutta, P., 1999. Fatty acid and carotenoid composition of eggs from two non-anadromous Atlantic salmon stocks of cultured and wild origin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21, 147-156.
- Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B., 2004. Post-ovulatory ageing and egg quality: A proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 2-26.
- Shirai, N., Suzuki, H., Tokairin, S., Wada, S., 2001. Spawning and season affect lipid content and fatty acid composition of ovary and liver in Japanese catfish (*Silurus asotus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 129B, 185-195.
- Siddique, M.A.M., Cosson, J., Psenicka, M., Linhart, O., 2014. A review of the structure of sturgeon egg membranes and of the associated terminology. *Journal of Applied Ichthyology*, 30, 1246-1255.
- Springate, J.R.C., Bromage, N.R., Elliot, J.A.K., Hudson, D.L., 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eyeing, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* 43, 313-322.
- Talbott, M., Van Eenennaam, J., Linares-Casenave, J., Doroshov, S., Guy, C., Struffenegger, P., Webb, M., 2011. Investigating the use of plasma testosterone and estradiol-17 β to detect ovarian follicular atresia in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* 315, 283-289.
- Tocher, D., Sargent, R., 1984. Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. *Lipids* 19, 492–499.
- Wirth, M., Kirschbaum, F., Gessner, J., Kruger, A., Patriche, N., Billard, R., 2000. Chemical and biochemical composition of caviar from different sturgeon species and origins. *Nahrung-Food*, 44, 233-237.
- Wu, T., Bechtel, P., 2008. Salmon by-product storage and oil extraction. *Food Chemistry*, 111, 868-871.
- Yanes-Roca, C., Rhody, N., Nystrom, M., Maim, K., 2009. Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture*, 287, 335-340.

