



مربوط به جدول شماره ۱۳ - هر ر ۳

مندرجات

۳	هاشم پور آذرنگ حبیب معاون شهیدی	بررسی تغییرات ارزش غذایی دو نوع سبب زمینی بومی خراسان بنامهای دهرسرخ و مشهدی در شرایط مختلف انبارداری
۱۹	سیاوش دهقانیان احمد توکلی	بهینه سازی فعالیتهای کشاورزی شرکت سهامی زراعی نیل آباد
۳۵	غلامعلی کمالی عوض کوچکی	بررسی شرایط هم اقلیمی پنبه از دیدگاه اکولوژی زراعی در استان خراسان
۵۵	امین عزیزاده ابوالقاسم گلپیان	روابط شدت - مدت - تناوب بارندگی در مشهد استفاده از کنجاله پنبه دانه در جیره های غذایی ذرت -
۶۷	جواد آرشامی	سویا و یا گندم - سویا برای پرورش جوجه های گوشتی
۷۹		بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک گوسپول در بیضه قوچ

جدول
شماره ۱۳

جواد آرشامی^۱

بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک گوسیپول در بیضه قوچ

تاریخ دریافت ۱۹/۱۰/۷۲

چکیده

به منظور تعیین اثرات بالقوه گوسیپول موجود در کنجاله پنبه دانه بر بافت اسپرماتوژنیک، سلولهای سرتولی و لایدیگ، تعداد ۱۲ رأس قوچ نژاد رامبویه (Rambouillet) طی دو دوره شش ماهه (دوره اول) و سه ماهه (دوره دوم) بطور پیوسته مورد استفاده قرار گرفتند. قوچها با شرایط یکسان (۱۸ ماه سن) بطور تصادفی انتخاب و به دو گروه مساوی تقسیم گردیدند و با جیره های ایزوکالریک - ایزونیتروژنوس تغذیه شدند. جیره غذایی گروه کنترل (بدون منبع گوسیپول) شامل: یونجه، آرد ذرت و کنجاله سویای و جیره غذایی گروه آزمایش شامل: یونجه، آرد ذرت، کنجاله سویا و ۱۲٪ کنجاله پنبه (دارای ۰/۰۷۶ درصد گوسیپول آزاد) بود. گروه آزمایش در دوره دوم جیره غذایی گروه کنترل را دریافت کرد تا درجه ناپدید شدن اثرات سمی گوسیپول بر روی بافت مزبور بررسی شود. مشاهدات بافت شناسی، افزایش قطر لومن ($P < .01$) و کاهش معنی دار ضخامت دیواره، تعداد لایه های سلولی در لوله سمینی فرس (اسپرم ساز) و اندازه سلولهای لایدیگ در قوچهای دریافت کننده جیره غذایی گوسیپول دار را نشان می دهد. قطر لوله های اسپرم ساز و اندازه سلولهای سرتولی تفاوت

(52) : 21- 24.

- 10- Yannakopoulos. A. L., and A. S. Tserveni gousi, 1989. The effect of Greek cottonseed meal on the performance of laying japanese Quail. *Anim. Feed Sci. and Technology*, 27 : 77 - 82.
- 11- Zablan., T. A., M. Griffith, M. C. Nesheim, R. J. Young and M. L. Scott. 1963. Metabolizable energy of Oil seed meals as Some unusual feed stuffs. *Poult. Sci* 42 : 619 - 625.



معنی داری در دوره اول نشان نداد. مشاهدات میکروسکوپی، تخریب سلول‌های اسپرمانتوسیت و اسپرمانتوگونی همراه با جدا شدن سلول‌های سرتولی از لایه پایه لوله‌های اسپرم ساز در گروه آزمایش را نشان دادند. در گروه آزمایش دوره دوم افزایش معنی دار قطر لوله‌های اسپرم ساز، لومن، اندازه سلول‌های سرتولی و سلول‌های لایدیگ بدون تغییر در تعداد لایه‌ها و ضخامت دیواره لوله‌های اسپرم ساز مشاهده گردید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کنجاله پنبه دانه دارای گوسپیول سبب تخریب بافت اسپرمانتوژنیک قوچ‌ها در دوره اول می‌شود. ترمیم هیستولوژیکی بعضی از پارامترهای بافت اسپرمانتوژنیک در پایان دوره دوم نمایانگر برگشت پذیر بودن اثرات گوسپیول است.

مقدمه

گوسپیول، ماده رنگدانه‌های سمی گیاه پنبه (*Gossypium*) است که یک ترکیب پلی فنولیک به رنگ زرد و دارای فرمول پسته $C_{30}H_{28}O_8$ می‌باشد (۸). گوسپیول در تکمعه ایها سمی است ولی سمیت آن در نشخوارکنندگان کمتر است، که علت این امر هنوز بدرستی مشخص نشده است. دنکی و همکارانش (۵) معتقدند که میکربهای موجود در شکمبه با تغییر فیزیولوژیکی محیط شکمبه سبب کاهش سمیت گوسپیول می‌شوند. راپزو و فو (۱۰) دریافتند که گوسپیول آزاد در محیط شکمبه سرعت با پروتئین آزاد ترکیب می‌شود و توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک شکسته نمی‌شود.

خاصیت ضد باروری گوسپیول به دلیل ایجاد ناهنجاری در بافت اسپرمانتوژنیک همراه با کاهش تعداد سلول‌های اسپرم و تغییرات مورفولوژیکی آن در گاو، خرگوش و موش مورد بررسی قرار گرفته است (۱۳، ۴، ۱۲). همچنین گزارش شده که اسپرمانتوسیت‌های اولیه و ثانویه بیشترین حساسیت را نسبت به سمیت گوسپیول دارند (۱۱). پژوهشگران چینی در یک مطالعه دریافتند که مصرف گوسپیول به مدت ۳ ماه در مردان سبب عقیم شدن موقت می‌شود که با حذف گوسپیول از رژیم غذایی باروری پس از ۶ ماه مجدداً به دست می‌آید (۹). امروزه محصولات فرعی پنبه دانه به علت دارا بودن پروتئین و انرژی بالا در جیره غذایی

دامها مورد استفاده دامداریهای بزرگ قرار می‌گیرد، ولی به علت اثرات سوء آن بر روی دستگاه تولید مثل به مطالعه بیشتری در این زمینه نیاز است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سمی گوسپیول موجود در کنجاله پنبه دانه بر روی بافت اسپرمانتوژنیک و سلول‌های پیوست آن در قوچ و تعیین میزان برگشت پذیری اثرات گوسپیول در بافتهای بیضه می‌باشد.

مواد و روشها

به منظور بررسی اثرات کنجاله پنبه دانه دارای گوسپیول بر بافت اسپرمانتوژنیک و سلول‌های پیوست، تعداد ۱۲ رأس قوچ نژاد رامبویه (Rambouillet) با شرایط یکسان (۱۸ ماه سن و وزن متوسط ۸۲/۵ کیلوگرم) انتخاب و در محلی سرپوشیده به صورت انفرادی نگهداری شدند. قوچها بر اساس وزن بدن و اندازه محیط بیضه‌ها به یکی از دو رژیم غذایی زیر تقسیم شدند و به میزان ۳٪ از وزن بدن جیره غذایی ایزوکالریک - ایزونیتر و ژنوس را دریافت کردند (جدول ۱). جیره غذایی گروه کنترل (بدون منبع گوسپیول) شامل: یونجه خرد شده، آرد ذرت و کنجاله سویا و جیره غذایی گروه آزمایش (دارای منبع گوسپیول) شامل: یونجه خرد شده، آرد ذرت، کنجاله سویا و ۱۲٪ کنجاله پنبه دانه (حاوی ۰/۰۷۶٪ گوسپیول آزاد) بودند. مطالعه در دو دوره شش ماهه (دوره اول) و سه ماهه (دوره دوم) به طور پیوسته انجام گرفت. قوچهای گروه آزمایش در دوره دوم جیره غذایی گروه کنترل را دریافت کردند تا در مقایسه با همان گروه در دوره اول میزان برگشت پذیری اثرات القایی گوسپیول بر روی بافت اسپرمانتوژنیک و سلول‌های پیوست مطالعه شود. هریک از قوچهای گروه آزمایش در طول دوره اول به طور متوسط ۴۰/۸ گرم گوسپیول آزاد در جیره غذایی دریافت نمودند.

برای مطالعه بافت شناسی در آخر هر دوره یک بیضه از هر قوچ جدا و نمونه‌های بافتی در ابعاد ۵ میلی‌متر مکعب تهیه و شماره گذاری شدند. نمونه‌های بافتی به منظور فیکس شدن در محلول ۱۰٪ بافری فرمالین به مدت ۴ روز قرار گرفته، پس از دهیدراسیون و فیلتراسیون با استفاده از پارافین به صورت بلوک در آمدند (۷). برش‌هایی به ضخامت ۲mm توسط میکروتوم تهیه و بر روی لامل ثابت شدند. برش‌های حاصله با تولوئیدین آبی و ۱ درصد بوراکس رنگ آمیزی و مورد مطالعه بافتی قرار گرفتند. برای مطالعه بافت بیضوی قوچ‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری، ۲۰ عدد لوله اسپرم ساز دایره‌ای شکل از برش‌های رنگ آمیزی شده هر قوچ انتخاب شد و قطر لوله اسپرم ساز، ضخامت دیواره لوله اسپرم ساز، تعداد لایه‌های سلول، اندازه

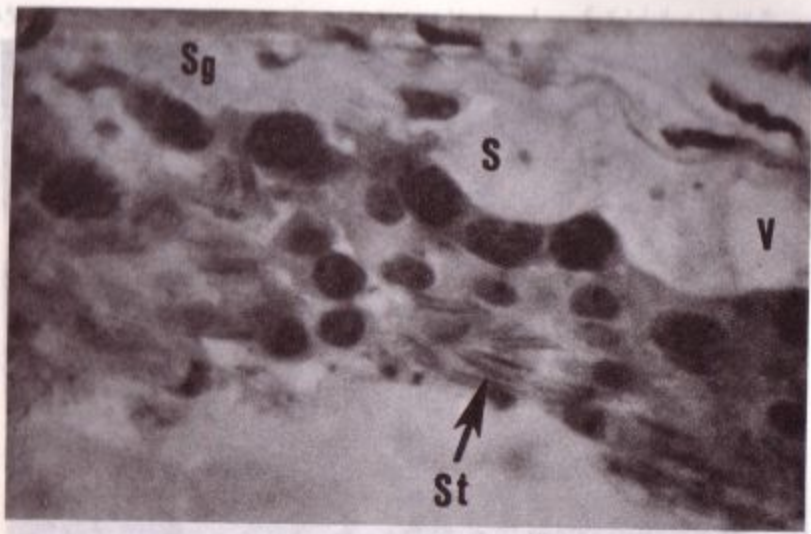
سلولهای سرتولی و لایدیگ اندازه گیری و ثبت شدند. داده های به دست آمده با استفاده از یک طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند (۶) و مقایسه میانگین ها توسط آزمون t انجام گرفت (۱۲).

نتایج و بحث

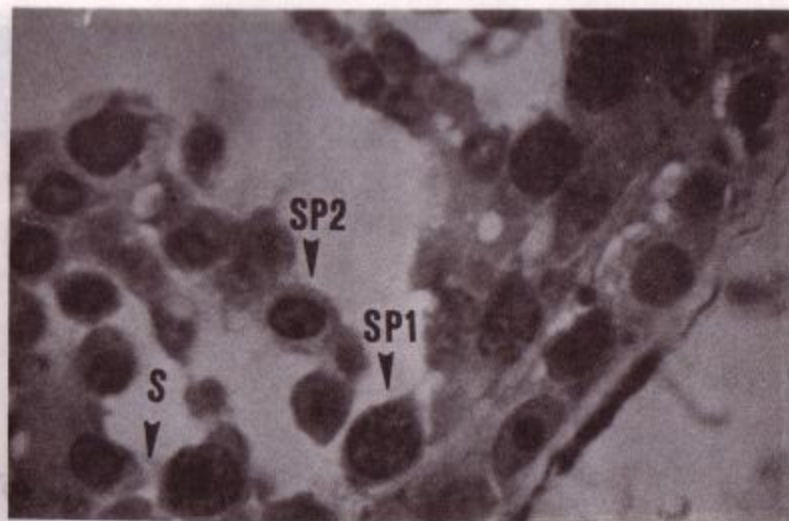
فعالیت بافت اسپرماتوژنیک در لوله اسپرم ساز تعیین کننده مراحل سیکل لوله اسپرم ساز است؛ به صورتی که سلولهای اسپرماتید در ناحیه لومن، سلولهای اسپرماتوگونی در کنار لایه محیطی و در ارتباط با لایه اصلی پایه و سلولهای اسپرماتوسیت در حد فاصل این دو به سمت لومن قرار دارند (۲). شکل ۱ ترتیب قرار گرفتن سلولهای اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید را در برش عرضی بافت اسپرماتوژنیک گروه کنترل نشان می دهد. همچنین شکل ۲ سلولهای اسپرماتوگونی را در ارتباط با لایه اصلی پایه و سلولهای اسپرماتوسیت و اسپرماتید را در حال تکامل به سمت لومن در بافت اسپرماتوژنیک گروه کنترل نشان می دهد. مرفولوژی بافت مزبور توسط بلوم و فاسیت (۳) نیز گزارش شده است. مطالعه میکروسکوپی نمونه های بافتی در قوچهای دریافت کننده کتجاله پنبه دانه ناهنجارهای بافتی، از تخریب سلولهای بافت اسپرماتوژنیک تا جابجایی سلولهای سرتولی و اسپرماتید را نشان می دهد. مشاهده واکوئول در لایه دوم و سوم بافت اسپرماتوژنیک گروه آزمایش، نشان دهنده اختلال در فعالیت سلولهای سرتولی و جدا سازی سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه از سایر سلولهای اسپرماتوسیت می باشد. (شکل های ۳ و ۴). شکل ۵ فقط دو لایه سلولی شامل سلولهای سرتولی و اسپرماتوگونی در لوله اسپرم ساز گروه دریافت کننده کتجاله پنبه دانه را نشان می دهد؛ در صورتی که شیپو و همکارانش (۱۱) تنها یک لایه سلولی شامل سلولهای سرتولی و اسپرماتوگونی را در لوله اسپرم ساز موشهای دریافت کننده گوسیپول مشاهده کردند. همچنین در گاوهای نر جوان که به مدت دو ماه جیره غذایی دارای کتجاله پنبه دانه دریافت کردند، فقط یک لایه سلول در لوله اسپرم ساز مشاهده شد؛ بعلاوه اندازه سلولهای سرتولی و لایدیگ کاهش یافته بودند (۱). مشاهدات میکروسکوپی، جابجایی سلولهای اسپرماتوسیت و سرتولی را در ناحیه لومن و سلولهای اسپرماتید را در لایه دوم لوله اسپرم ساز در قوچهای دریافت کننده گوسیپول نشان دادند (شکل ۶). شکل ۷ بافت بینابینی (Interstitial) دارای سلولهای لایدیگ و رگهای خونی بزرگ را نشان می دهد. افزایش میزان کلاژن، ازدیاد مویرگهای خونی در بافت بینابینی و تجمع سلولهای

اسپرماتوسیت در ناحیه لومن بدون سلولهای اسپرماتید پیشرفته در بافت اسپرماتوژنیک قوچهای گروه آزمایش مشاهده گردید (شکل ۸). تجمع سلولهای اسپرماتوسیت در ناحیه لومن نمایانگر عدم تکامل مراحل سلولی بافت اسپرماتوژنیک در گروه آزمایش است.

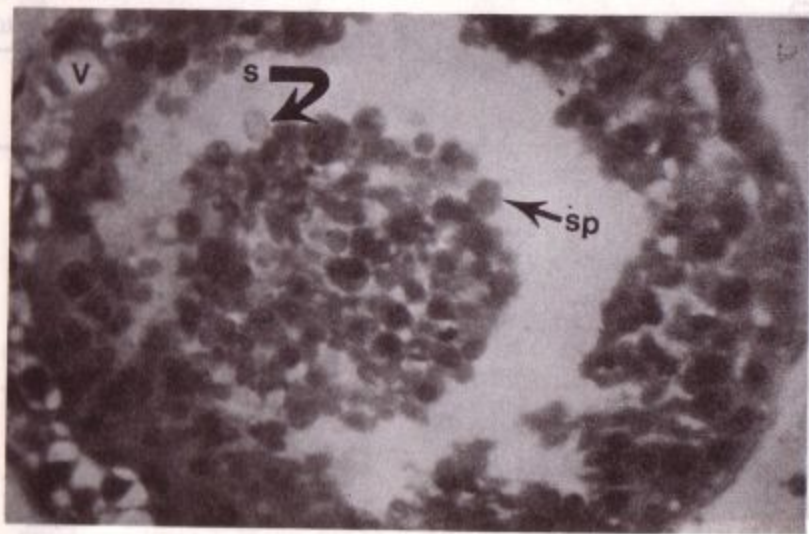
جدول ۲ نتیجه آنالیز واریانس پارامترهای هیستولوژیکی در گروه کنترل و آزمایش دوره اول را نشان می دهد. میانگین قطر لوله های اسپرم ساز و اندازه سلولهای سرتولی گروه آزمایش با گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت. در مطالعه بافتشناسی، افزایش قطر لومن، کاهش ضخامت دیواره لوله اسپرم ساز، تعداد لایه های سلولی در لوله اسپرم ساز و اندازه سلولهای لایدیگ گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < .01$). جدول ۳ نتیجه آنالیز واریانس پارامترهای هیستولوژیکی گروه آزمایش را در دو دوره اول و دوم نشان می دهد. قطر لوله اسپرم ساز و اندازه سلولهای سرتولی و لایدیگ گروه آزمایش در دوره دوم افزایش معنی داری در مقایسه با دوره اول نشان داد. افزایش قطر لوله های اسپرم ساز گروه آزمایش در دوره دوم نشان دهنده رشد آنها بر اثر حذف منبع گوسیپول از جیره غذایی قوچها می باشد. افزایش قطر لومن گروه آزمایش در دوره دوم ($P < .01$) تخریب شدید بافت اسپرماتوژنیک توسط گوسیپول را نشان می دهد که ترمیم سلولی در آن شروع نشده است. مقایسه تعداد لایه های سلولی در لوله های اسپرم ساز گروه آزمایش با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان می دهد ($4/4$ در مقابل $6/1$). همچنین، مقایسه تعداد لایه های سلولی گروه آزمایش در دو دوره اول و دوم تفاوت معنی داری را نشان نمی دهند ($3/9$ در مقابل $4/4$). کاهش ضخامت دیواره لوله اسپرم ساز گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل در دوره اول (83 در مقابل 108) و با افزایش آن در دوره دوم (83 در مقابل 96) نشان دهنده تکثیر لایه های سلولی است. اندازه سلولهای سرتولی گروه آزمایش در دوره دوم در مقایسه با دوره اول ($11/3$ در مقابل $6/35$) بطور معنی داری افزایش نشان دادند. افزایش اندازه سلولهای سرتولی در دوره دوم مشخصه شروع فعالیت بافت اسپرماتوژنیک می باشد. در این مطالعه اندازه سلولهای لایدیگ گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل ($6/4$ در مقابل $8/8$) کاهش معنی داری را نشان دادند؛ در صورتی که شیپو و همکارانش (۱۱) هیچ گونه تغییری در سلولهای لایدیگ موش که جیره غذایی دارای گوسیپول دریافت کرده بودند مشاهده نکردند. اندازه سلولهای لایدیگ گروه آزمایش در دوره دوم افزایش معنی داری در مقایسه با دوره اول را نشان دادند ($6/4$ در مقابل $8/3$). تغییرات هیستولوژیکی



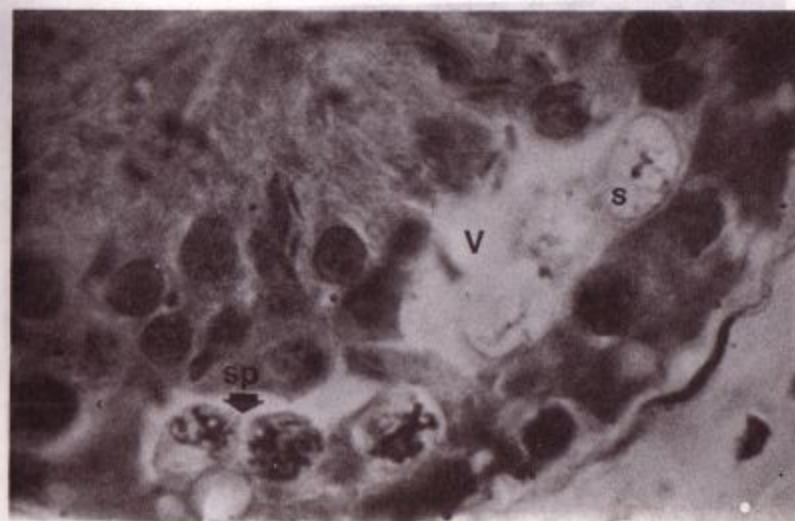
شکلی ۵. تصویر میکروسکوپی بافت اسپرماتوژنیک گروه آزمایش دارای سلول اسپرماتوگونی (Sg) همراه با سلول سرتولی (S) و اکوتول (V) مشاهده می گردد. ضمناً اسپرماتید بالغ (St) در لایه سوم موجود می باشد (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).



شکل ۳. تصویر میکروسکوپی بافت اسپرماتوژنیک گروه آزمایش که جذابی سلولهای اسپرماتوسیت اولیه (SP1) و اسپرماتوسیت ثانویه (SP2) و سرتولی (S) را با یکدیگر نشان می دهد (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).



شکل ۶. تصویر میکروسکوپی بافت اسپرماتوژنیک گروه آزمایش که تجمع سلولهای اسپرماتوسیت (Sp) و سرتولی (S) را در ناحیه لومن و اکوتول های (V) زیادی را در لایه دوم نشان می دهد (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).



شکل ۴. تصویر میکروسکوپی بافت اسپرماتوژنیک گروه آزمایش همراه با تعدادی اجسام و اکوتولی (V) در لایه دوم و سوم از لایه پایه. جذابی سلول سرتولی (S) با سلولهای اسپرماتوسیت (SP) در حال تحلیل مشاهده می شود (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).

جدول ۱. درصد مواد متشکله در جیره غذایی قوچهای گروه کنترل و آزمایش

مواد	کنترل	آزمایش
یونجه خشک	۶۴٫۷۵	۵۸
کنجاله پنبه دانه*	۱۲	۱۲
آرد سویا	۲۵	۲۸٫۷۵
آرد ذرت	۲۵	۲۵
NH ₄ Cl	۰٫۲۵	۰٫۲۵

* حاوی ۰٫۰۷۶ درصد گوسپیول آزاد

جدول ۲. مقایسه میانگین پارامترهای هیستولوژیکی قوچهای گروه کنترل و آزمایش در دوره اول

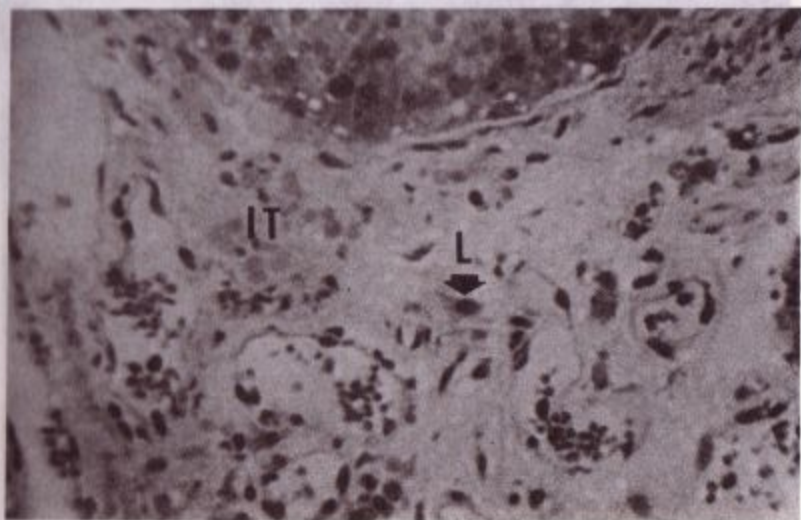
تیمار	قطر لوله اسپرم ساز (μ)	لوله اسپرم ساز (μ)	مسلولی (μ)	سرتولی (μ)	لایدیک (μ)
کنترل	۱۸۰٫۷۵a	۶۸٫۷۵a	۶۰٫۸۵a	۶۰٫۸۵a	۷۷٫۵۵a
آزمایش	۱۷۵٫۲۵a	۹۲٫۳b	۸۳b	۴۴b	۶۴b

۱- ارقامی که دارای حروف مختلف در هر ستون می باشند یا یکدیگر تفاوت دارند (P < 0.05)

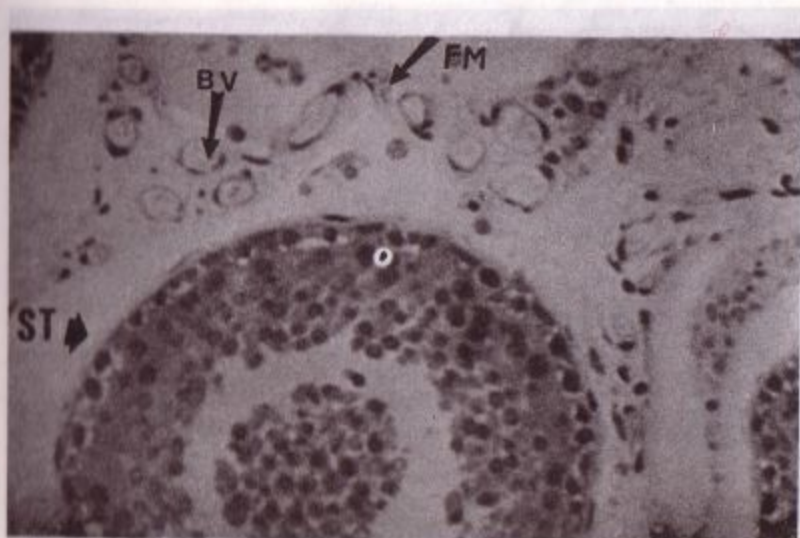
جدول ۳. مقایسه میانگین پارامترهای هیستولوژیکی قوچهای گروه آزمایش در دوره های اول و دوم

تیمار	اسپرم ساز (μ)	لوله اسپرم ساز (μ)	مسلولی	سرتولی (μ)	لایدیک (μ)
آزمایش اول	۱۷۵٫۲a	۹۲٫۳a	۸۳a	۴۴a	۶۴a
آزمایش دوم	۲۱۷٫۹b	۱۲۴٫۴a	۹۶a	۳٫۹a	۸٫۳b

۱- ارقامی که دارای حروف مختلف در هر ستون می باشند یا یکدیگر تفاوت دارند (P < 0.05)



شکل ۷. تصویر میکروسکوپی بافت بینابینی (IT) همراه با سلولهای لایدیگ (L) و رگ های خونی بزرگ در گروه کنترل (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).



شکل ۸. تصویر میکروسکوپی لوله اسپرم ساز (ST) گروه آزمایش همراه با افزایش رگهای خونی (BV) و مواد فیبری (FM) در بافت بینابینی (بزرگ نمایی ۹۰۰ برابر).

- 13- Stahnke, C. R. 1986. Effects of gossypol on scrotal circumference and semen quality of crossbred bulls. M. S. Thesis. New Mexico State University, Las Cruces, NM, pp 1-39.
- 14- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie, 1980. Principles and Procedures of Statistics. McGraw - Hill Book Co., Inc., New York.

منابع

- 1- Arshami, J. and J. L., Ruttle, 1988. Effects of diets containing gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. Theriogenology. 30 : 507 - 516.
- 2- Blom, E. 1969. Male Reproductive Organs. In : Hafez, E. S. E. (ed). Reproduction in Farm Animals. pp. 27-38. Lea and Febiger, Philadelphia.
- 3- Bloom, W. and D. W. Fawcet. 1986. A Text book of Histology. Saunders Co. Philadelphia, PA. PP. 796 - 834.
- 4- Chang, M. C., Z. Gu, and S. K. Saksena, 1980. Effects of gossypol on the fertility of male rats, hamsters and rabbits. Contraception. 21 : 461 - 469.
- 5- Danke, R. J., R. J. Panciera, and A. D. Tillman, 1965. Gossypol toxicity studies with sheep. J. Anim. Sci. 24 : 1199 - 1201.
- 6- Helming, H. T. and K. A. Council, 1979. Statistical Analysis System User's Guide. SAS Institute, Inc, Cary, North Carolina.
- 7- Luna, L. G. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw - Hill Book Co., New York.
- 8- Myers, B. D. and G. O. Throneberry, 1966. Effect of gossypol on some oxidative respiratory enzymes. Plant Physiol. 41: 787 - 791.
- 9- National Coordinating Group on Male Antifertility Agents. 1978. Gossypol - A new antifertility agent for males. Chinese Med. J. 6 : 417 - 423.
- 10- Reiser, R. and H. C. Fu, 1962. The mechanism of gossypol detoxification by ruminant animals. J. Nutr. 76 : 215 - 218.
- 11- Shepu, X., Z., Shudong, S., Shuyun, W., Yanwan, L., Yi, Z. Zengbua, and M. Xixin, 1980. Antispermatic effect of gossypol on the germinal epithelium of the rat testes. Scientia Sinica. 23 : 647 - 652.
- 12- Sotelo, A., I., Montalvo, M. de la Luz Crail, and M. T. Gonzalez - Garza. 1982. Infertility in male rats induced by diets containing whole cottonseed flour. J. Nutr. 112 : 2052 - 2057.