دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره ششم، شماره سوم، پاییز ۹۷
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی تغییرات شاخص‌های یونی و هورمونی سرم خون مولدین وحشی کپور دریایی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 و مولدین دریایی پرورش‌یافته

کامران عقیلی[۱]، سکینه یگانه[۲]، کورش امینی[۳]

[۱]دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[۲]دانشیار، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

[۳]استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۱۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۹

چکیده

در تحقیق حاضر تغییرات شاخص‌های متابولیکی سرم خون شامل کورتیزول، گلوکز، ویتلوژنین خون، تستوسترون، پروژسترون، ۱۷- بتا استرادیول در جنس ماده و ۱۱- کتوتستوسترون و کورتیزول در ماهیان جنس نر ماهی کپور دریایی و دریایی پرورشی (*C. carpio*) در سواحل بندر ترکمن (جنوب شرق دریای خزر) بررسی شد. نتایج حاصل از مقایسه سطح هورمون‌های رسیدگی جنسی میان مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی در تحقیق حاضر نشان داد که در ماهیان دریایی ماده سطوح هورمون کورتیزول و پروژسترون به‌طور معنی‌داری بیشتر از مولدین دریایی پرورشی بود. همچنین سطح وتیلوژنین در ماهیان دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان دریایی پرورشی بود. اما سطح هورمون ۱۷- بتا استرادیول، هورمون تستوسترون، گلوکز و کلسیم در بین مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح هورمون ۱۱- کتوتستوسترون در ماهیان نر دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان نر دریایی پرورشی بود و سطح هورمون کورتیزول در ماهیان نر دریایی پرورشی به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان نر دریایی بود.

واژه‌های کلیدی **: *C. carpio*، شاخص‌های متابولیکی، هورمون‌های رسیدگی جنسی، ویتلوژنین**

*نویسنده مسئول: skyeganeh@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

مقدمه

مطالعه فرآیند تولید مثل صرف نظر از کاربرد در علم ارزیابی ذخایر، بهره‌برداری از الگوهای طبیعی در تکثیر و پرروش آبزیان را نیز فراهم می‌آورد. مطالعه تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی نظیر تغییر در سطوح هورمون‌های جنسی و الکترولیت‌های سرم خون از جمله موارد مرتبط با فیزیولوژی تولید مثل است که نقش مهمی در مطالعات پایه و کاربردی در این زمینه دارد. سنجش هورمون‌ها و بررسی‌های فیزیولوژیک سرم خون و نیز بررسی تأثیر عوامل محیطی بر چرخه تولید مثلی ماهیان به‌عنوان شاخصی در جهت تعیین وضعیت تولید مثلی و مراحل جنسی، در بررسی چرخه تولید مثلی ماهیان بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همچنین مطالعه و شناخت پروفایل‌های هورمونی در ماهیان یکی از مهم‌ترین عوامل تشخیص مکانیسم‌های درگیر و تنظیم‌کننده فرآیند تولید مثل در آنها بوده که دستیابی به سطوح این تغییرات در ماهیان وحشی و پرورشی حائز اهمیت است. محیط زیست ماهیان یک سیستم پیچیده بوده که تحت‌تأثیر عواملی نظیر دما، دوره‌ی نوری، غذای قابل دسترس، کیفیت آب و غیره قرار دارد. هر یک از این عوامل قادرند به‌عنوان یک عامل استرس‌زا بویژه در مولدین ماده نقش ایفاء نمایند و موجب توقف چندین مرحله از سیکل تولید مثلی از جمله گامتوژنز (شامل مراحل آغازین یا تکمیلی، کمیت و کیفیت تخمک‌ها)، بلوغ اووسیت‌ها و اوولاسیون و در نرها بلوغ اسپرم، رفتارهای جنسی و اسپرم‌ریزی گردند (Bahmani, 2000).

توماس (Thomas, 1990) بیان نمود که سطوح هورمون‌های تولید مثلی خون معمولاً به‌عنوان علائم مناسبی برای شاخص‌های بیوشیمیایی ناشی از عملکرد غیر عادی سیستم تولید مثلی در شرایط تحت استرس می‌باشد. از آنجائی‌که شناخت ویژگی‌های زیستی و تعیین زمان تخم‌ریزی ماهی در ارزیابی مدیریت و بازسازی ذخایر آن تأثیر به‌سزایی دارد، لذا موفقیت در دست‌یابی به این اهداف مستلزم انجام مطالعات در زمینه شناخت فیزیولوژیک چرخه تولید مثلی ماهی است (Imanpour and Zadmajid, 2010).

هورمون‌های استروئیدی، بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل تولید مثل، رشد و تعادل را در مهره‌داران تنظیم می‌کنند. در بسیاری از گونه‌ها استروژن‌ها (استرادیول) رفتار جنسی و زرده‌سازی را در ماده‌ها تحریک می‌کنند در حالی که آندروژن‌ها (تستوسترون)، رفتارهای جنسی و اسپرماتوژنز را در نرها القا می‌نمایند. سطوح تستوسترون و استرادیول پلاسما رشد تخمک‌های نارس را در ماهیان استخوانی تنظیم می‌کند. فرآیند زرده‌سازی مهمترین مرحله رشد اووسیت‌ها در ماهیان بوده و به‌شدت تحت تأثیر هورمون‌های استروئیدی (۱۷- بتا استرادیول) است. در واقع در این مرحله زرده در داخل تخمک تجمع پیدا می‌کند تا در آینده نیاز غذایی جنین را برآورده سازد. در واقع اساس رشد و نمو تخمک طی فرآیند زرده‌سازی مشاهده می‌شود که دانه‌های زرده تخمک از طریق کبد تامین می‌شوند. سلول‌های لایه تکا تحت تأثیر گنادوتروپین‌های ترشح شده از غده هیپوفیز مواد آندروژنی مانند تستوسترون ترشح می‌کنند. یعنی گنادوتروپین‌ها لایه سلولی تکا را به‌منظور تولید هورمون تستوسترون

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

تحریک می‌کنند و درادامه تستوسترون در لایه گرانولوزا آروماتازی و به‌منظور تولید هورمون استروئیدی مانند استرادیول و سپس هورمون استرادیول از طریق رگ‌های خونی وارد کبد می‌شود و درآنجا کبد را به‌منظور تولید ویتلوژنین تحریک می‌کند. در واقع فعالیت آروماتازی لایه گرانولوزا در دوره زرده‌سازی در بالاترین میزان قرار می‌گیرد (Imanpour and Zadmajid, 2010).

تحقیقات نشان داده است که در بسیاری از ماهیان استخوانی سطوح ۱۷- بتا استرادیول در طول مرحله زرده‌سازی افزایش اما در طی مرحله بلوغ کاهش می یابد. هورمون ۱۷-آلفا- هیدروکسی پروژسترون در لایه گرانولوزا تحت تأثیر آنزیم ۲۰-بتا- هیدروکسی استروئید دی هیدروژناز قرارگرفته و تبدیل به هورمون دی‌هیدروکسی پروژسترون می‌شود که این هورمون ازطریق گیرنده‌های خاص در کورتکس تخمک پذیرفته می‌شود و به داخل تخمک نفوذ و رسیدگی نهایی را القا می‌کند. همچنین وقتی آندروژن ها در بخش اولیه چرخه اسپرماتوژنزی در ماهیان شرکت دارند، بلوغ اسپرماتوزوا و اسپرم‌زایی می‌تواند به‌وسیله دی‌هیدروکسی پروژسترون کنترل شود. برخی محققین گزارش کرده‌اند پروژسترون‌ها که مسئول بلوغ نهایی تخمک نابالغ در جنس ماده اکثر ماهیان هستند می‌توانند نقش مهمی در بلوغ نهایی اسپرم در ماهیان ایفا کنند (Imanpour and Zadmajid, 2010). وضعیت کلی سلامت ماهیان مولد بر عملکرد تولید مثل و تولید تخم با کیفیت می‌تواند تأثیر بگذارد. همچنین حفظ ایمنی مولدها در سطح بالا در مدت زرده‌زایی و تخمک‌زایی، از اهمیت به‌سزایی در کاهش مرگ و میر در مراحل لاروی و پست لاروی برخوردار می‌باشد. با استناد به اینکه خون مستقیماً در بسیاری از فرآیندهای متابولیک نقش داشته و تغییرات بدن جانور را دقیقاً منعکس می‌کند، ارزیابی‌های خونی و هورمونی می‌توانند در امر تشخیص وضعیت فیزیولوژیک ماهیان مفید واقع گردند (Sattari *et al*., 2003).

تحقیقات مؤید این امر می‌باشد که کورتیزول نیز در ماهیان استخوانی بر عملکرد تولید مثل و رشد گامت اثر می‌گذارد. کورتیزول به‌عنوان کورتیکوستروئید مهمی که طی فصل تخم‌ریزی تولید می‌شود می‌تواند ایمنی ماهیان را سرکوب کند. معمولاً در فصل تخم‌ریزی ماهیان، هورمون‌های جنسی افزایش می‌یابد و این افزایش تأثیر شدیدی بر ایمنی ماهیان می‌گذارد. ماهی کپور معمولی دریایی (*C. carpio* L, 1758) از خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است که در دریای خزر زیست می‌کند و یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های آبزی اقتصادی دریای خزر است. این گونه جزو گونه‌های شاخص و منحصربه‌فرد دریای خزر به شمار می‌رود که به‌دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، در معرض خطر قرارگرفته و بقای نسل این گونه آبزی به خطر افتاده است. درحال حاضر مراکز بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی استان گلستان، تنها به‌روش نیمه‌مصنوعی نسبت به تکثیر ماهی کپور دریایی اقدام نموده و بچه‌ماهیان تولیدشده را جهت حفظ ذخایر به دریا رهاسازی می‌نمایند که این امر سالانه نیاز به

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

مولد زیادی دارد که مستلزم هزینه و وقت زیادی است و در بعضی سال‌ها، با توجه به کاهش ذخایر ماهی در دریا، تهیه مولدین با مشکلات عدیده‌ای روبروست (Jabbari, 2014).

در این راستا، طی برنامه‌ای شیلات اقدام به پرورش لاروهای حاصله از مولدهای دریایی صیدشده به‌منظور مولدسازی نمود که این مولدین در کارگاه‌های تکثیر مورد استفاده قرار می‌گیرند. تعدادی از این مولدین دراین تحقیق جهت مقایسه دو گروه استفاده شد. باتوجه به این‌که مولدین دریایی و مولدین دریایی پرورش‌یافته در استخرهای خاکی با شرایط متفاوتی (محیطی و تغذیه‌ای) مواجه می‌باشند، در تحقیق حاضر به مطالعه تغییرات هورمون‌های جنسی در سرم خون مولدین نر و ماده ماهی کپور معمولی دریایی و دریایی پرورشی و مقایسه آنها با یکدیگر پرداخته شد تا به کمک این اطلاعات و با شناخت کامل‌تر از الگوی تولید مثلی این ماهی بتوان نسبت به ارائه راهکارهای لازم و مناسب جهت بهره‌برداری بهینه و نیز حفظ ذخایر این گونه ارزشمند گام برداشت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهار ۱۳۹۵ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی کلمه سیجوال (استان گلستان) واقع در ۵ کیلومتری شرق بندر ترکمن انجام گردید. بدین منظور تعداد ۱۰ جفت از مولدین دریایی که کاملاً به‌طور اتفاقی از سواحل شرقی استان گلستان صید گردیدند و ۱۰ جفت مولدین دریایی که از مرحله بچه‌ماهی تا مولد در استخرهای خاکی مرکز تکثیر سیجوال پرورش یافته بودند، کاملاً به‌طور اتفاقی انتخاب شدند. سن ماهیان مولدین پرورش یافته ۳ سال و مولدین دریایی نر ۱۰-۶ و ماده‌ها ۱۰-۷ سال بود. تزریق در هر دو گروه مولدین مذکور، در دو نوبت و با هورمون اواپریم (دوز تزریق به مولدین ماده به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن و نصف دوز برای نرها در یک مرحله در زیر باله شکمی) صورت گرفت. در هر نوبت نمونه‌برداری، بلافاصله پس از صید ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بیهوش شدند (Sharyfpoor *et al.*, 2003). خون‌گیری با استفاده از سرنگ هپارینه از ناحیه سیاهرگ دمی ماهیان انجام شد (Seale *et al.*, 2002). پس از خون‌گیری، محتویات سرنگ به آرامی به میکروتیوب منتقل شده و روی پودر یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. سپس نمونه‌های خون جهت جداسازی پلاسما، با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ شد. پلاسمای جداشده به داخل ویال منتقل شد و تا زمان بررسی‌های بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Fontain *et al.*, 2006). فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب نیز در طول پرورش اندازه‌گیری شدند. اکسیژن محلول و pH روزانه دو بار، یکی قبل از طلوع و دیگری بعد از ظهر و دمای آب روزانه ۲ بار (صبح و بعد ازظهر) و شفافیت روزانه یک‌بار و نیتریت، نیترات، فسفات و آمونیاک هر هفته یک‌بار انجام شد. جهت ثبت دما از دماسنج جیوه‌ای

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

آلمانی و اکسیژن با اکسیژن‌سنج دیجیتال WTW و pH نیز با pH سنج دیجیتال WTW و فاکتورهای نیتریت، نیترات، فسفات و آمونیاک با دستگاه مولتی پارامتر پالین تست، اندازه‌گیری شدند.

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و هورمونی پلاسما: جهت مقایسه فاکتورهای خونی مولدین هر دو گروه قبل از تزریق، نمونه خون تهیه و شاخص‌های یونی و متابولیکی خون شامل یون کلسیم، کورتیزول، گلوکز، ویتلوژنین خون، تستوسترون (T)، پروژسترون، ۱۷بتا استرادیول (E_2) در ماهیان ماده و ۱۱-کتوتستوسترون و کورتیزول در نرها اندازه‌گیری شد که در ماهیان مولد ماده بالغ، هورمون ۱۷ بتا استرادیول بروش ELISA مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین در ماهیان نر بالغ غلظت هورمون ۱۱-کتوتستوسترون با روش ELISA ارزیابی شد. غلظت هورمون‌های ۱۷ بتا استرادیول، با استفاده از کیت Estradiol (E2) ELISA kit Fish (شرکت سازنده EASTBIOPHARM)، ۱۱کتوتستوسترون با استفاده از کیت Fish11- keto Testosterone (11-KETO-T) ELISA kit، همچنین پروژسترون و تستوسترون به‌ترتیب با استفاده از کیت Fish Progesterone (PROG) ELISA kit و Testosterone(T) Fish ELISA kit و کورتیزول با استفاده از کیت the Monobind Cortisole EIA kit (شرکت سازنده EASTBIOPHARM) و گلوکز نیز با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون Glucose (GOD) و ویتلوژنین با استفاده از کیت ELISA kit، بر اساس تکنولوژی Biotine double antibody sandwich technology و کلسیم با روش کلریمتریک اندازه‌گیری شدند.

آنالیز آماری: مقایسه نرماتیوهای تکثیر میان مولدین پرورشی و دریایی در تکثیر مصنوعی با استفاده از آزمون MANCOVA (در نظر گرفتن سن و وزن مولد به‌عنوان متغیرهای کوواریت) و مقایسه سطح هورمون‌های رسیدگی جنسی میان مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی با آزمون تی- مستقل (independent t-test)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. قبل از تجزیه و تحلیل‌ها، نرمال بودن داده‌ها با استفاده آزمون Shapiro-Wilk بررسی گردید.

نتایج

نتایج حاصل از مقایسه سطح هورمون‌های رسیدگی جنسی میان مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی در تحقیق حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری از لحاظ سطح هورمون کورتیزول، هورمون پروژسترون، میان مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی وجود داشت (جدول ۱) به‌گونه‌ای که در ماهیان دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان پرورشی بود ($P<۰/۰۵$). همچنین سطح وتیلوژنین میان مولدین ماده دریایی وحشی و دریایی پرورشی اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$)، که در ماهیان دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان دریایی پرورشی بود ($P<۰/۰۱$). علاوه بر این نتایج تحقیق حاضر بیانگر این مسئله بود که از لحاظ سطح هورمون بتااسترادیول، هورمون تستوسترون،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

گلوکز و کلسیم میان مولدین ماده دریایی و دریایی پرورشی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در مولدین کپور (*C. carpio*) ماده دریایی و دریایی پرورشی در تحقیق حاضر (واحد نانو گرم بر میلی‌لیتر)

منابع تغییر	کورتیزول (ng/ml)	پروژسترون (ng/ml)	وتیلوژنین (ng/ml)	۱۷بتااسترادیول (ng/ml)	تستوسترون (ng/ml)	کلسیم (ng/ml)	گلوکز (ng/ml)
مولدین دریایی	۲۲۵/۴±۵۰/۴۴^{a}	۰/۲۷۳±۰/۰۱۷^{a}	۲۱۸/۳±۱۶/۰۱^{a}	۲/۰۵±۰/۳۷^{a}	۱/۶۸±۰/۴۶^{a}	۱۲/۸۱±۱/۵۱^{a}	۱۰۵/۱±۱۷/۲۹^{a}
مولدین دریایی پرورشی	۱۵۶/۴±۵۷/۱۹^{b}	۰/۲۳۷±۰/۰۳۷^{b}	۱۶۱/۴±۱۸/۲^{b}	۲/۲۳±۰/۲۳^{a}	۱/۳۹۵±۰/۳۴^{a}	۱۳/۴۲±۱/۹۰^{a}	۹۷/۵±۱۶/۶۳^{a}

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد (p<۰/۰۵).

نتایج حاصل از مقایسه سطح هورمون‌های رسیدگی جنسی میان مولدین نر دریایی و دریایی پرورشی نشان داد که اختلاف معنی‌داری از لحاظ سطح هورمون ۱۱-کتوتستوسترون میان مولدین نر دریایی و دریایی پرورشی وجود داشت (جدول ۲) به‌گونه‌ای که در ماهیان دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان دریایی پرورشی بود. همچنین اختلاف معنی‌داری از لحاظ سطح هورمون کورتیزول میان مولدین نر دریایی و دریایی پرورشی وجود داشت به‌طوری که در ماهیان دریایی پرورشی سطح این هورمون به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان دریایی بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در مولدین کپور (*C. carpio*) نر دریایی و دریایی پرورشی

منابع تغییر	۱۱-کتوتستوسترون	کورتیزول
مولدین دریایی	۲۲۵/۴±۵۰/۴۴ ^{a}	۰/۲۷۳±۰/۰۱۷ ^{b}
مولدین دریایی پرورشی	۱۵۶/۴±۵۷/۱۹ ^{b}	۰/۲۳۷±۰/۰۳۷ ^{a}

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

فاکتورهای خونی و هورمونی مولدین در زمان تکثیر در دو گروه مولدین کپور دریایی صیدشده از دریا و مولدین پرورش‌یافته کپور دریایی (با استفاده از غذای دستی و طبیعی) در استخرهای خاکی، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. لازم به ذکر است دامنه تغییرات فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب نیز در طول پرورش درمنطقه سیجوال مناسب ماهی کپور به‌منظور تکثیر و پرورش لارو بوده است.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

بحث و نتیجه‌گیری

در ماهیان استخوانی، هورمون‌های گنادوتروپینی نظیر (GtH-I=FSH) و (GtH-II=LH) همانند هورمون‌های پروژسترون، استرادیول و تستوسترون سبب رشد و رسیدگی اووسیت‌ها می‌گردند و این اعمال را تحت کنترل دارند (Bosak Kahkesh *et al*., 2010). گنادوتروپین‌های هیپوفیز، سبب تحریک ترشح ۱۷-بتااسترادیول توسط سلول‌های لایه فولیکولی اووسیت می‌شوند که این هورمون محرک ساخت پیش‌ساز زرده (وتیلوژنین) در هپاتوسیت‌های کبدی است (Lee and Yang, 2002). از این‌رو، افزایش مقدار هورمون ۱۷- بتااسترادیول سبب افزایش فرآیند زرده‌سازی و تجمع پروتئین‌های زرده در اووسیت‌ها می‌گردد. GtH_1 با تأثیر بر لایه گرانولوزا روند بلوغ اووسیت را شروع می‌کند. در اوایل دوره رشد، GtH_1 سبب ترشح تستوسترون از لایه تکا و استروژن (استرادیول) از لایه‌ی گرانولوزا می‌شود. استرادیول، تولید زرده در کبد را تحریک می‌کند. با تحریک‌های مکرر GtH به مقدارکم می‌توان روند زرده‌سازی را تحریک کرد. در مرحله زرده‌سازی میزان GtH_1 افزایش و GtH_2 کاهش نشان می‌دهد. در حالی‌که در اوولاسیون GtH_1 کاهش و GtH_2افزایش می‌یابد. پس از پایان زرده‌سازی، هورمون GtH_2 از هیپوفیز ترشح و رهاسازی پروژسترون از لایه تکا و DHP از لایه‌ی گرانولوزا را سبب می‌شود (Sattari *et al*., 2003).

همانطور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد و در جدول ۱ ارائه گردیده است، مقدار ویتلوژنین و پروژسترون که از مهم‌ترین هورمون‌ها در طی روند رسیدگی جنسی و بلوغ ماهیان ماده می‌باشد، در مولدین ماده دریایی بیشتر از مولدین ماده دریایی پرورشی بود. نتایج تحقیقات سایر محققین نشان داده است که در طول مرحله زرده‌سازی اووسیت‌ها، مقدار هورمون ۱۷- بتا استرادیول به شدت افزایش یافته و درست قبل از مرحله ورود به رسیدگی، مقدار آن کاهش یافته است (Thomas, 2003; Mehrpoosh *et al*., 2013; Akhondian *et al*., 2016).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطوح هورمون ۱۱-کتوتستوسترون و کورتیزول به‌طور معنی‌داری در مولدین نر دریایی بیشتر از مولدین نر پرورشی بود ($P<۰/۰۵$). در خصوص دلیل افزایش کورتیزول باید بیان نمود که این هورمون در زمان مهاجرت و تولید مثل میزان آن به‌طور طبیعی افزایش می‌یابد. از طرفی صید، جابجایی، دستکاری و نقل و انتقال مولدها از محیط طبیعی (دریا) به مراکز تکثیر باعث افزایش میزان استرس و متعاقب آن افزایش کورتیزول می‌گردد. علاوه بر دخالت در فرآیند تنظیم اسمزی در ماهیان استخوانی، فعالیت‌های متابولیکی دیگری را نیز در بدن ماهی به عهده دارد که از آن جمله می‌توان به تحریک گلوکونئوژنز، به‌منظور تأمین انرژی برای مهاجرت و تخم‌ریزی، به‌دلیل کاهش تغذیه و افزایش فعالیت‌های متابولیکی ماهی در زمان مهاجرت، اشاره نمود (Mommsen and Walsh, 1988).

سوزوکی و همکاران (Suzuki *et al*., 2000) نشان دادند که افزایش کورتیزول در زمان تخم‌ریزی ماهی کلمه، ممکن است در ارتباط با فعالیت‌های فیزیولوژیک ماهی مانند تنظیم اسمزی و فرآیندهای تأمین انرژی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

که هم‌زمان با مهاجرت تولید مثلی در ماهی رخ می‌دهد، باشد. مطالعات مشابهی مؤید افزایش سطح پلاسمایی هورمون کورتیزول همزمان با مهاجرت تولید مثلی در ماهیان استخوانی است.

آخوندیان و همکاران (Akhondian *et al*., 2015) افزایش غلظت پلاسمایی هورمون کورتیزول را در ماهی کلمه ماده (*Rutilus rutilus caspicus*)، با نزدیک‌شدن به زمان تخم‌ریزی مشاهده نمودند که این افزایش کورتیزول را به زمان مهاجرت تولید مثلی و تنش وارده به ماهی نسبت دادند. اگرچه در آزمایشات متعددی ثابت شده است که کورتیزول رها شده در خون در نتیجه تنش، با کاهش سطح استرادیول و ویتلوژنین در پلاسمای خون و همچنین کاهش سایز گنادها می‌تواند اثرات نامطلوبی بر تولید مثل ماهیان اعمال نماید (Pankhurst and Van Der Kraak, 1997). اما نتایج آزمایشات روی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) و تیلاپیا (*Orecheromos sp.*) با کاشت کورتیزول یا تزریق آن در بدن ماهی نشان داد که اثر منفی کورتیزول بر چرخه تولید مثلی، عموماً در مراحل اولیه رشد اووسیت‌ها اعمال می‌گردد و در مراحل بلوغ نهائی نقش منفی چندان مؤثری ایفا نمی‌کند و برعکس، می‌تواند اثر تحریک کننده‌ای بر رسیدگی گنادها و تخم‌ریزی داشته باشد (Pottinger and Carrick, 1999; Myszkowski *et al*., 2003).

ستاری و همکاران (Sattari *et al*, 2003) درخصوص نقش نغذیه در کیفیت تولید مثل بیان نمودند که غالباً در ماهیان وحشی (غیر پرورشی)، پروتئین‌ها یک منبع مهم انرژی برای پاسخگویی به احتیاجات مربوط به سوخت و ساز بدن می‌باشند. برای مثال، قزل‌آلای رنگین‌کمان در طبیعت، به میزان زیاد از بی‌مهرگان آبزی و خشکی تغذیه می‌کند. بدین ترتیب، پروتئین، درصد زیادی از غذای آنها را شامل می‌شود که بسیار بیشتراز مقدار مورد نیاز برای رشد است. از طرفی در محیط‌های طبیعی باتوجه به اینکه مولدها حق انتخاب غذا را دارند لذا تامین اسیدهای آمنیه مورد نیاز برای رشد و تولید مثل به آسانی در دسترس آنها قرار می‌گیرد و این درحالی است که در ماهیان پرورشی، پرورش‌دهندگان برای کاهش هزینه تأمین انرژی، چربی‌ها یا قندهای نسبتاً ارزان به‌عنوان جانشین پروتئین مورد استفاده قرار می‌دهند که می‌تواند در کیفیت گنادها و هورمون‌های جنسی تأثیر زیادی داشته باشد. ایمانپور و زادمجید (Imanpour and Zadmajid, 2010) نشان دادند که کیفیت متفاوت تخمک در بین گونه‌های ماهیان می‌تواند وابسته به ترکیب غذایی موجود در تخمک به‌خصوص مقادیر چربی در آن باشد و بیان نمودند که کیفیت تخمک تولیدی در مولدین وحشی در شرایط طبیعی بالاتر از کیفیت تخمک‌های حاصل از شرایط اسارت است و کیفیت تخمک‌های حاصل از والدین تغذیه‌شده با غذای طبیعی، بالاتر از کیفیت تخمک‌های حاصل از والدین تغذیه شده با جیره‌های مصنوعی است. به‌طوری‌که مولدین پرورش یافته در محیط اسارت از لحاظ بالانس اسیدهای آمینه دچار نقصان می‌شوند. در نتیجه می‌توان گفت اثر تغذیه و دمای مناسب در رشد و کیفیت گنادها و هورمون‌های جنسی متأثر از تغذیه والدین می‌باشد و لذا بالا بودن هورمون‌های تولیدمثلی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

نظیر ۱۱-کتو تستوسترون در مولدین وحشی دریایی به‌دلیل تغذیه از غذای زنده باکیفیت بالاتر از میزان آن در مولدین وحشی پرورش یافته در محیط اسارت و تغذیه شده با غذای کنسانتره می‌باشد.

کیم و دولبین (Kime and Dolben, 1985) در تحقیقی که تغییرات هورمونی را در زمان القای تخم‌ریزی ماهی کپور (*C. carpio*) بررسی نمودند، نشان دادند که تستوسترون بعد از تزریق اول غده هیپوفیز به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت. در مرحله دوم که ۱۲ ساعت پس از تزریق اول انجام گرفت، حداکثر مقدار تستوسترون مشاهده شد و اوج ۱۷ آلفا هیدروکسی‌پروژسترون، بعد از تزریق دوم مشاهده شد و مقدار آن از مقدار هورمون ۱۷ آلفا ۲۰ بتاپروژسترون بیشتر بود. گرچه مقدار کورتیزول، تغییرات زیادی را نشان داد، ولی مقدار استروئیدها با تحریک حاصل از اولین تزریق هیپوفیز افزایش چشمگیری را نشان داد. در تحقیق انجام‌شده توسط آخوندیان و همکاران (Akhondian *et al.*, 2015) مشخص شد که بعد از مرحله زرده‌سازی توانایی لایه‌های فولیکولی برای تولید E_2 کاهش یافته و از فعالیت آنزیم آروماتاز (که تستوسترون را به E_2 تبدیل می‌کند) در سلول‌های گرانولوزای لایه فولیکولی به طور چشم‌گیری کاسته می‌شود. در این زمان توانایی سلول‌های تکا در پاسخ به افزایش گنادوتروپین برای تولید تستوسترون افزایش می‌یابد (Mylonas *et al.*, 2010). محققین اثبات نموده‌اند که در مراحل نهایی رسیدگی اووسیت، غلظت پروژسترون افزایش می‌یابد (Poortenaar *et al.*, 2001; Akhondian *et al.*, 2015). که در تحقیق حاضر نیز نتایج حاصل از بررسی هورمون پروژسترون نشان داد که مقدار این هورمون در زمان تخم‌ریزی به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. نجفی‌پور (Najafy Poor, 2016) با مقایسه سطوح هورمون‌های ۱۷-بتا استرادیول، ۱۱-کتو تستوسترون، ۱۷ آلفا-هیدروکسی‌پروژسترون و یون کلسیم پلاسمای خون مولدین ماده با مقاطع بافت تخمدانی مولدین ماده ماهی سفید (*Rutilus frissi kutum*) (خانواده کپورماهیان) صید شده از دریا و رودخانه دریافت که بین نوسانات هورمون‌های فوق‌الذکر و یون کلسیم پلاسمای خون با میزان رسیدگی جنسی تخمدان‌ها در مولدین ماده ارتباط وجود دارد. حیدری و همکاران (Heidari *et al.*, 2010). در بررسی اکومورفولوژی و اکوفیزیولوژی اووسیت ماهی سفید دریای خزر، با اندازه‌گیری هورمون‌های جنسی در پلاسمای خون طی دوره تولید مثلی ماهی سفید نشان دادند که دو هورمون ۱۷-بتا استرادیول و تستوسترون در فاز رشد اووسیت یعنی تا انتهای مرحله زرده‌سازی در دریا، روند صعودی داشته و سپس مقدار آنها کاهش یافت. در حالی‌که در فاز رسیدگی اووسیت، یعنی تا تخم‌ریزی ماهی در رودخانه، دو هورمون پروژسترون و ۱۷-آلفا هیدروکسی‌پروژسترون سیر صعودی داشته و پس از تخم‌ریزی، میزان آنها نیز کاهش یافت.

در تحقیق عقیلی و همکاران (Aghili *et al.*, 2014)، در ارتباط با امکان پرورش بچه‌ماهی کپور دریایی در شرایط محصور در خلیج گرگان تا سن بلوغ (مولدسازی)، مشخص شد که دامنه غلظت هورمون ۱۷-بتا

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

استرادیول در جنس نر، ۱۳ تا ۳۲ و متوسط آن ۵/۴۵±۲۴ نانوگرم در میلی‌لیتر و ۱۱ کتوتستوسترون بین ۱۲/۶ الی ۱۵/۲ و متوسط ۰/۷۸± ۱۴/۱۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و در جنس ماده غلظت هورمون ۱۷-بتا استرادیول ۶ تا ۱۹ و متوسط آن ۴/۱۹±۱۰/۲۸ نانوگرم در میلی‌لیتر و ۱۱ کتوتستوسترون بین ۰/۸۷ الی ۱/۲ و متوسط ۰/۱± ۰/۹۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. فونتین و همکاران (Fontain *et al*., 1998)، در مطالعه چرخه تولید مثلی و استروئیدهای جنسی ماهی ماده سوف اروپایی (*Perca fluviatilis*)، دریافتند که میزان تستوسترون و ۱۷-بتااسترادیول، هنگام استراحت جنسی پایین بوده و میزان تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول تا زمان تخم‌ریزی در حد بالا باقی ماند که بیانگر وجود فعالیت زرده‌سازی بوده است.

روچا و همکاران (Rocha *et al*., 2009) بیان نمودند که در ماهیانی که در طول سال یک یا دو بار تخم‌ریزی می‌کنند (Synchronous gamete development) مقدار هورمون‌های استروئیدی جنسی در پلاسما قبل از زرده‌سازی کم یا غیرقابل تشخیص است و هنگام زرده‌سازی افزایش تدریجی در مقدار هورمون E_2 در ماهیان ماده رخ می‌دهد و با آغاز مرحله رسیدگی اووسیت‌ها مقدار E_2 به سرعت کاهش می‌یابد در حالی که غلظت OHP۱۷ در مرحله رسیدگی اووسیت افزایش می‌یابد.

وزیرزاده و همکاران (Vazirzadeh *et al*., 2014)، در تحقیقی به بررسی شاخص‌های فیزیولوژی تولید مثل جنس ماده کپور وحشی دریای خزر و القاء تخم‌ریزی آن با استفاده از روش‌های رسانش پایدار هورمون GnRHa، پرداختند و مشاهده کردند مقدار شاخص گنادوسوماتیک در زمان نمونه‌برداری، بتدریج افزایش پیدا نمود و حداکثر آن، در اوج فصل تخم‌ریزی ثبت شد و اوج زمان تخم‌ریزی ماهی کپور، اواخر زمستان و اوایل بهار گزارش شد. تستوسترون پلاسما در زمان نمونه‌برداری و مراحل مختلف توسعه تخمدانی نیز هیچ تفاوت معنی‌داری نداشت، اما بیشترین مقدار ۱۷-بتااسترادیول در زمان اواخر زرده‌سازی اندازه‌گیری شد و سپس در طول نمونه‌برداری، بتدریج کاهش یافت و کمترین آن در فصل تخم‌ریزی بود و مقدار ۱۷-بتااسترادیول در اواخر زمستان و اوایل بهار بالاتر بوده است.

حضور یون کلسیم و ایجاد پیام کلسیمی، یکی از مسیرهای متابولیکی مهم جهت وقوع فرآیندهایی چون آغاز مجدد تقسیم میوز، آبگیری سلول، یکپارچه شدن زرده و GVBD (Germinal Vesicle Break Down) (مرحله ناپدید شدن هسته) در مرحله رسیدگی ست. ارتباط بین یون کلسیم و وقوع GVBD در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. به‌گونه‌ای که درصورت عدم حضور کلسیم، GVBD در اووسیت متوقف می‌گردد. از طرفی کاهش غلظت پلاسمایی یون‌های پتاسیم و کلسیم در مرحله رسیدگی اووسیت‌ها، بیانگر ورود این یون‌ها به‌داخل اووسیت‌ها جهت ایجاد اسمز اجباری آب از محیط بیرون به سمت داخل سلول و در نتیجه، آبگیری اووسیت رسیده است (Tosti, 2006). مولکول ویتلوژنین که پیش‌ساز زرده است به لحاظ ساختاری، یک پروتئین غنی شده با فسفو لیپید و کلسیم

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

است و هنگام القای سنتز ویتلوژنین توسط E_2، مقدار زیادی یون کلسیم در ساختار این پروتئین شرکت می‌کند (Mommsen and Walsh, 1988). گلوکز نیز به‌عنوان یک ماده انرژی‌زا در طی فرآیند اسپرم‌سازی می‌تواند نقش داشته باشد (Secer *et al.*, 2004).

از آنجا که جمعیت این ماهی با ارزش در دریای خزر تحت‌تأثیر عوامل متعدد زیست‌محیطی و فشار بی‌رویه صیادی به‌شدت کاهش یافته است، جهت ارائه راهکارهای جدید و مؤثر در ارزیابی و بازسازی ذخایر این گونه اقتصادی بوم‌شناختی در دریای خزر به مطالعات تکمیلی نیازاست.

طبق نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر، مشاهده گردید که سطح ویتلوژنین که پیش‌ساز زرده تخمک می‌باشد و هورمون پروژسترون که در رسیدگی نهایی تخمک موثر است، در مولدین ماده دریایی بیشتر از مولدین ماده دریایی پرورشی بود. همچنین در خصوص مولدین نر مشاهده شد که سطح هورمون کتوتستوسترون در ماهیان نر دریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان نر دریایی پرورشی بود و سطح هورمون کورتیزول در مولدین دریایی پرورشی بیشتر از مولدین دریایی بود که ممکن است حاکی از وجود عوامل استرس‌زا در شرایط پرورشی نسبت به محیط طبیعی باشد. بنابراین اطلاعات فیزیولوژیکی به‌دست آمده از تحقیق حاضر در جهت مدیریت بهتر و صحیح تر کارگاه‌های تکثیر کپورماهیان، سالن‌های هچری و هم‌چنین در امر بازسازی ذخایر این ماهی ارزشمند و تجاری بسیار مفید و ارزشمند می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکاران مرکزتکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی کلمه (سیجوال) به‌ویژه ریاست محترم مرکزآقای مهندس جباری و مسئول محترم بخش تکثیر، مهندس مرادمحمد شکیبا، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی گرگان به‌ویژه مهندس سیدامین میرهاشمی رستمی تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

Aghili K., Moazedi J., Tazikeh E., Aghili S. M., Mir Hashemi Rostami S.A., Iri Y. 2014. The Study on pen culture of the common carp (*Cyprinus carpio* L.1758) fingerlings at the Gorgan Bay to the maturity stage (broodstock management) Project Report. Iranian Fisheries Research Institute. 99 P. (In Persian).

Akhondian M., Savari A., Salamat N., Movahdynya A.A., Salari M.A. 2015. Changes in plasma level of steroid hormones (Estradiol 17β, 17α20β Hydroxy Progesteron and Cortisol) and electrolytes, during different stages of reproductive cycle in *Rutilus rutilus caspicus* from Bandar Torkaman (South of Caspian Sea). Oceanography, 6 (21): 117-126. (In Persian).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Bahmani M. 2000. The survey on the ecophysiological effects of stress through the HPI axis and HPG, immune system and the reproductive process in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Ph.D thesis. Azad Islamin University of Tehran, Tehran, Iran. (In Persian).

Bosak Kahkesh F., Yooneszadeh Feshalami M., Amiri F., Nickpey M. 2010. Effect of Ovaprim, Ovatide, HCG, LHRH-A2, LHRHA2+CPE and Carp Pituitary in Benni (*Barbus sharpeyi*) artificial breeding. Global Veterinaria, 5(4): 209-214.

Fontain P., Pereira, C., Wang N., Marie M. 2006. Influence of pre-inductive photoperiod variations on Eurasian perch *Perca fluviatilis* brood stock response to an inductive photothermal program. Aquaculture, 255: 410-416.

Fontain P., Sulistyo I., Richard J.N., Capdeville B., Kestemont P. 1998. Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. Aquatic Living Resource, 11(2): 101-110.

Heidari B., Shabanipur N., Hassan¬Sajdy R. 2010. Evaluation of oocyte Ecomorphology and Ecophysiology of Caspian Sea kutum fish (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901). PhD thesis. Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran. (In Persian).

Imanpour M., Zadmajid V. 2010. Introduction to fish breeding. Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources Press. 192 P (In Persian).

Jabbari A. 2014. Performance Report of restocking Center of bony fish, Golestan province (the Kolmeh Syjuval). Fisheries Department of Golestan Province. 36 P. (In Persian).

Kime D.E., Dolben I.P. 1985. Hormonal Changes during Induced Ovulation of the Carp, *Cyprinus carpio*. General and Comparative Endocrinology, 58: 137-149.

Lee W.K., Yang S.W. 2002. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and Induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female korean spotted sea bass *Lateolabrax maculatus*. Aquaculture, 207: 169-183.

Mehrpoosh M., Akhoundian M., Khara H., Kabir M., Hajirezaee S. 2013. Serum biochemical parameters of endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, Kessler 1870. Comparative Clinical Pathology, 22: 899-901.

Mommsen T.P., Walsh P.J. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. Fish Physiology, 11: 347-406.

Mylonas C.C., Fostier A., Zanuy S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, 165: 516-534.

Myszkowski L., Kamiński R., Wolnicki J. 2003. Response of juvenile tench *Tinca tinca* L. to the anaesthetic 2-phenoxyethanol. Journal of Applied Ichthyology, 19: 142-145.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Najafy Poor N. 2016. Determine of the levels of sex steroid hormones and their relation to sexual maturation and some reproductive indices in female kutum fish in West of Gilan. MSc Thesis, Islamic Azad University, North Tehran Branch. (In Persian).

Pankhurst N., Van Der Kraak G. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. Fish Stress and Health in Aquaculture, 57: 73-93.

Poortenaar C., Hooker S., Sharp N. 2001. Assessment of yellow tail kingfish (*Seriola lalandi lalandi*) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development. Aquaculture, 201: 271-286.

Pottinger T., Carrick T. 1999. Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. General and Comparative Endocrinology, 116: 122-132.

Rocha A., Zanuy S. Carrillo M., Gómez A. 2009. Seasonal changes in gonadal expression of gonadotropin receptors, steroidogenic acute regulatory protein and steroidogenic enzymes in the European sea bass. General and Comparative Endocrinology, 162: 265-275.

Sattari M., Shahsavani D., Shabanipur N., Shafiee Sh. 2003. Ichtiology. Vol. 1: Anatomy and physiology. Guilan University Publication. 880 P. (In Persian).

Seale A.P., Riley L.G., Leedom T.A., Kajimura S. Dores R.M. Hirano T., Grau E.G. 2002. Effects of environmental osmolality on release of prolactin, growth hormone and ACTH from the tilapia pituitary. General and Comparative Endocrinology, 128: 91-101.

Secer S., Tekin N., Bozkurt Y., Bukan N., Akcay A. 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen. Israeli Journal of Aquaculure - Bamidgeh, 56: 274-280.

Sharyf poor A., Soltani M., Abdul Hai H., Gayomi R. 2003. Anesthetic effect of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) at different pH and temperature conditions in Fingerling of common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 4 (11): 59-74. (In Persian).

Suzuki H.I., Agostinho A.A., Winemiller K.O. 2000. Relationship between oocyte morphology and reproductive strategy in loricariid catfishes of the Paraná River. Brazilian Journal of Fish Biology, 57(3): 791-807.

Thomas P. 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In: Adams AM (Eds.). Biological indicators of stress in fish. American Fisheries symposium 8, Bethesda, Maryland, pp:9-28.

Thomas P. 2003. Breeding and Seed Production of Fin Fish and Shell Fish. Daya Publishing House, 402 P.

Tosti E. 2006. Calcium ion currents mediating oocyte maturation events. Reproductive Biology and Endocrinology, 4: 26-35.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Vazirzadeh A., Mojazi Amiri B., Fostier A. 2014. Ovarian development and related changes in steroid hormones in female wild common carp (*Cyprinus carpio*), from the south- eastern Caspian Sea. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 98(6): 1060-1067.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]