مجله شیلات
سال اول، پیش‌شماره سوم، پاییز ۸۶

بررسی مقایسه‌ای سطوح برخی از هورمون‌های استروئیدی جنسی سرم خون در مولدین نارس و بالغ کفال طلایی دریای خزر *(Liza auratus)*

*شهاب سراجیان[۱]، عباس‌علی زمینی[۲]، مهدی یوسفیان[۳]، علی‌اصغر سعیدی[۴] و عباس جعفری[۵]
[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، [۲]استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، [۳]دانشیار مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، [۴]پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، [۵]کارشناس گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، عضو باشگاه پژوهشگران جوان
E-mail: Shahab_sarajian@yahoo.com

چکیده

تأثیر هورمون‌های گناد و تروپینی بر فرآیند گامت‌زایی و تولیدمثل در ماهیان استخوانی از طریق هورمون‌های استروئیدی صورت می‌گیرد. بررسی روند تغییرات استروئیدهای جنسی در مراحل مختلف تکامل از جمله اندیکاتورهای مناسب جهت تعیین الگوی تولید مثل در ماهیان می‌باشد. در این تحقیق هورمون‌های استروئیدی جنسی تستوسترون، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون و ۱۷ بتا- استرادیول سرم خون مولدین نارس و بالغ به روش رادیوایمونواسی *(R.I.A)* اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در بین پارامترهای مورد بررسی بین ماهیان نارس و بالغ کفال طلایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. میانگین میزان هورمون تستوسترون در ماهیان نارس ۰/۱۱ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان بالغ ۰/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری گردید. میانگین میزان هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در ماهیان نارس ۰/۰۹ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان بالغ ۰/۰۳ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری گردید. میانگین میزان هورمون ۱۷ بتا- استرادیول در ماهیان نارس ۵/۷ نانوگرم در میلی‌لیتر و در ماهیان بالغ ۵/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری گردید. در تمام آزمایش‌های صورت گرفته اختلافات آماری معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد مشاهده نگردید که دلیل آن می‌تواند شرکت هورمون‌های استروئیدی در رفتارهای مهاجرتی باشد.

واژه‌های کلیدی: ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، ۱۷ بتا- استرادیول، تستوسترون، ماهی کفال طلایی دریای خزر

مقدمه

در ماهیان مانند سایر مهره‌داران، فرایند تولید مثل تحت کنترل آهنگ زیستی داخلی و نیز عوامل محیطی است. مهمترین مسیر ارتباطی بین سیستم عصبی مرکزی و اندام‌های جنسی (گنادها)، سیستم هورمونی است. بنابراین تحقیق روی هورمون‌های درون‌ریز و محور مغز، هیپوفیز و گنادها نقش اساسی در تلاش برای فهم تولید مثل در ماهیان ایفا می‌نماید (۲۵). در این بین، گنادها و هورمون‌های استروئیدی مرتبط با آن بیشترین تأثیر را نشان می‌دهند (۲۳). اگرچه سابقه بررسی هورمونی در ماهیان را می‌توان با شروع کاربرد عصاره هیپوفیز جهت القاء رسیدگی جنسی در ماهیان استخوانی و تاس‌ماهیان (۱٤)، در دهه ۱۹۳۰ همزمان دانست، ولی به‌نظر می‌رسد آغاز مطالعات علمی جدی در زمینه نقش هورمون‌ها در ماهیان، به اوایل ۱۹٦۰ میلادی مربوط می‌شود. هورمون‌ها مکانیزم‌های پیچیده‌ای را در بدن موجودات کنترل می‌کنند، تنظیم قند خون، تنظیم آب و الکترولیت‌ها، رشد، تنظیم اسمزی و از همه مهمتر فعالیت‌های تولید مثلی را به هورمون‌ها نسبت می‌دهند. دستیابی به مکانیسم‌های

فیزیولوژیک که درگیر با امر تولید مثل در ماهی‌ها می‌باشند نیازمند دانستن مفاهیم اولیه در خصوص تغییرات هورمونی در طی سیکل گنادی است (۲۱).

مطالعات متعدد در زمینه شناخت الگوهای تولید مثلی و رفتارهای مربوطه در طی سال‌های اخیر رو به رشد بوده و استفاده از تکنیک‌ها و روش‌های جدید علمی عامل مؤثری در تسریع این روند بوده است. شناخت این هورمون‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیک مؤثر بر تولید مثل ماهی‌ها به‌عنوان شاخصی در جهت تعیین وضعیت تولید مثلی و مراحل جنسی، در کنار استفاده از شاخص‌های بافت‌شناسی در بررسی چرخه تولید مثلی ماهی‌ها بسیار مؤثر است (۱).

اهمیت فیزیولوژیکی هورمون‌های استروئیدی جنسی زمانی آغاز می‌شود که تخمک‌ها آماده باروری باشند. این هورمون‌ها موجب تغییرات شکل ظاهری ماهی و رفتار آنها طی فصول تولید مثلی می‌شوند.

از صفات دیگری که خاص استروئیدهای جنسی است خروج تخمک و اسپرم، جفت‌یابی و رفتار معاشقه و همچنین لانه‌سازی در بعضی از گونه‌ها می‌باشد (۱۳).

از تحقیقات انجام شده در زمینه تعیین سطوح استروئیدهای جنسی می‌توان به بررسی رابطه بین مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی ایرانی (۷)، بررسی روند رسیدگی جنسی در کفال خاکستری (٦)، مطالعه برخی تفاوت‌های فیزیولوژیک مولدین ماده رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید (۸)، بررسی میزان زرده و استروئیدهای جنسی ازون‌برون در خلال مهاجرت تخم‌ریزی در رودخانه دانوب (۱۲)، مطالعه چرخه تولید مثلی و استروئیدهای جنسی سوف اروپایی (۱۵)، بررسی دینامیک استروئیدهای جنسی در فیل‌ماهی با خصوصیات متفاوت گنادی در شروع مهاجرت به ولگا (۱۱)، بررسی ۱۷ بتا- استرادیول و تستوسترون در طول تغییر شکل پار - اسمولت در *Masu salmon* (۳۱)، بررسی ریخت‌شناسی گنادها و هیستوشیمی آنزیم‌ها و سطوح هورمون‌های استروئیدی در طول سیکل تولید مثلی نر و ماده گربه‌ماهی قهوه‌ای (۲۸) و مطالعه محتوای استروئیدهای جنسی در خون ازون‌برون در شروع مهاجرت به ولگا (۱۰) اشاره نمود.

از مهمترین هورمون‌هایی که در فرایند تولید مثل ماهیان نر و ماده نقش اصلی و اساسی دارند، می‌توان دو هورمون استروئیدی استرادیول (E_2) و تستوسترون (T) را نام برد. استرادیول یک استروئید مهم است که به‌وسیله فولیکول‌های تخمدانی تولید می‌شود. این هورمون برای نخستین بار در سال ۱۹٦۱ در تخمدان‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تشخیص داده شد (٤). مطالعات نشان دادند که E_2 از طریق تأثیر بازدارنده بر بروز پدیده آپوپتوسیس (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی)، در نگهداری و حفظ سلامت فولیکول‌ها مؤثر است (۱۸). به‌نظر می‌رسد ترشح این هورمون تحت کنترل فیدبکی GtHI باشد. تستوسترون به‌عنوان یک آندروژن قوی، در رشد و نمو جنسی ماهیان نر و پدیده اسپرماتوژنز نقش به‌سزایی دارد. تأثیر عملی آن در ماهیان ماده، جدا از اینکه به‌عنوان یک ماده پیشرو برای ساخت E_2 توسط آنزیم آروماتاز در سلول‌های گرانولوزا (لایه فولیکولار) عمل می‌کند، کاملاً شناخته نشده است (۱۷). در ماهیان ماده، تغییرات فصلی در مقدار E_2 و T با پیشرفت تخمک‌سازی همبستگی زیاد دارد، به‌طوری‌که مقادیر آنها در خلال ویتلوژنین‌سازی افزایش می‌یابد (۲۰). فولیکول‌ها در تمام مراحل رشد و نمو قادر به تولید تستوسترون از ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون هستند (٢٤). کفال ماهیان دریای خزر به یکی از دو خانواده *Mugilidae* و یا *Atherinidae* متعلق می‌باشند (۹). در خانواده *Mugilidae* بالغ بر ۷۰ گونه از انواع کفال ماهیان وجود دارد (۲). دوگونه طلایی و پوزه باریک پس از ورود به دریای خزر فرآیند تابعیت را به‌مدت ۳۰ الی ۳۵ سال طی نمودند و در اواخر سال ۱۹٦۰ جزء مجموعه جانوری زیستگاه جدید و بومی دریای خزر تلقی شدند (۵). بومی

شدن ماهی کفال در دریای مازندران، به دلیل بالاتر بودن میانگین درجه حرارت دریای مازندران نسبت به دریای سیاه (حدود ۳ درجه سانتی‌گراد) و وسعت بیشتر مناطق کم‌عمق این دریاست، مضافاً اینکه این ماهی دتریت‌خوار بوده و در بین گونه‌های دیگر دریای مازندران، گونه دتریت‌خواری به‌عنوان رقیب غذایی وجود ندارد.

همچنین در خصوص علت عدم توفیق پیوند بیولوژیک کفال مخطط (*Mugil cephalus*) به‌نظر می‌رسد عدم شرایط مناسب محیطی از نظر درجه شوری در دریای خزر باشد. یعنی دریای مازندران درجه شوری مناسب را برای لقاح این ماهی دارا نمی‌باشد (۳). در مراحل اولیه وفق‌یابی این ماهی‌ها با شرایط خزر، ابتدا کفال پوزه باریک در فصل بهار مهاجرت خود را آغاز می‌کند، بعد گونه دیگر به مهاجرت می‌پردازد. این مهاجرت‌ها به‌نحوی است که بهار را در شمال و پاییز را در جنوب می‌گذرانند (۳۰).

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی، ۲۱ عدد ماهی کفال بالغ و ۲۱ عدد ماهی کفال نابالغ که طی فصل پاییز در سال ۱۳۸٤ از صیدگاه خیرود نوشهر در دریای خزر صید شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. معیار بالغ و نابالغ بودن، طی مطالعات فیزیولوژیکی بافت تخمدان صورت پذیرفت. عوامل بیومتریک این ماهیان شامل وزن، طول کل و طول چنگالی اندازه‌گیری و ثبت شد. تعیین سن این ماهیان، از روی فلس انجام شد. سپس از سیاهرگ دمی هر ماهی به‌میزان سه میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون در ظروف ایزوله حاوی یخ به آزمایشگاه بخش فیزیولوژی و بیوشیمی مرکز تحقیقات خیرود نوشهر منتقل گردید و با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه سرم آن به‌دست آمد. نمونه‌های پلاسمای مربوط به هر ماهی تا زمان انجام سنجش‌های هورمونی در فریزر۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با توجه به اینکه ساختار مولکولی استروئیدها در ماهیان مشابه با پستانداران است، جهت اندازه‌گیری مقادیر استروئیدهای جنسی کفال طلایی (اوراتوس) از روش رادیوایمونواسی (RIA) و با استفاده از کیت‌های هورمونی انسانی صورت پذیرفت.

در روش RIA حداکثر پرتودهی در کمترین غلظت (غلظت استاندارد صفر) و کمترین پرتودهی در بیشترین غلظت (آخرین استاندارد تعریف شده) به‌دست می‌آید. روش‌های رادیوایمونواسی برای اندازه‌گیری هورمون‌ها از دقت زیادی برخوردار بوده و فوق‌العاده حساس می‌باشد و غلظت‌هایی تا حدود نانوگرم ($۱۰^{-۹}$) هورمون را در میلی‌لیتر سرم می‌توان اندازه‌گیری نمود.

برای اندازه‌گیری تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول از کیت هورمونی *Spectria* ساخت کشور فنلاند استفاده شد. برای بالا بردن میزان اطمینان، هر تست سه بار تکرار گردید. محاسبات نهایی برحسب نانوگرم بر میلی‌لیتر و توسط سیستم کامپیوتری صورت گرفت.

جهت اندازه‌گیری ۱۷ آلفا-هیدروکسی پروژسترون از کیت هورمونی *Immunotech* ساخت کشور فرانسه استفاده گردید.

پس از ثبت اطلاعات زیست‌سنجی، جهت مقایسه میانگین‌های مقادیر استروئیدهای جنسی و فاکتورهای خونی، داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزارهای Excel و SPSS و آزمون‌های One way Anova, T- test, Tukey در سطح ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

تعداد ماهیان نابالغ که از آنها خونگیری به‌عمل آمده در کل ۲۱ قطعه بود که همگی ماده بودند. اولین آزمایش‌های انجام شده شامل اندازه‌گیری طول کل، وزن کل، طول فورک، وزن تخمدان و تعیین سن ماهی‌ها یکی‌یکی مورد بررسی قرار گرفت.

کمترین طول کل در این گروه ۲۱ قطعه‌ای، ۲۸/۷ سانتی‌متر و بیشترین آن ۳۸ سانتی‌متر بوده است و میانگین به‌دست آمده برابر با ۳۳ سانتی‌متر و انحراف معیار نمونه ۲/۵ بوده است ($\overline{X}$ =۳۳ ± ۲/۵).

در مورد وزن کل نیز کمترین مقدار آن ۱۷۰ گرم و بیشترین آن ۳۷۰ گرم بوده است و این میزان اختلاف

نشان‌دهنده وضعیت متفاوت تغذیه‌ای در آنان است که به‌میزان غذای مصرفی هر یک بستگی داشته و یا عواملی چون محیط و بیماری‌ها در آن دخالت دارند، میانگین به‌دست آمده برابر ۲۵۸/۱ گرم و انحراف معیار نمونه برابر ۵۱/۱ بود ($\overline{X}$ =۲۵۸/۱ ± ۵۱/۱).

کمترین طول فورک برابر با ۲۵/٤ سانتی‌متر و بیشترین آن ۳٤/۸ سانتی‌متر بوده است و میانگین به‌دست آمده برابر با ۲۹/٦ سانتی‌متر بود. انحراف معیار نمونه ۲/٤ بوده است ($\overline{X}$ =۲۹/٦ ± ۲/٤).

کمترین وزن تخمدان ۰/۱۲ گرم و بیشترین آن ۲/٦ گرم بوده است، میانگین به‌دست آمده برابر۱/۲ گرم و انحراف معیار نمونه برابر ۰/۹٦ بود. ($\overline{X}$ =۱/۲ ۰ ± /۹٦)

کمترین سن برابر با ۲ سال و بیشترین آن ٤ سال بوده است، میانگین به‌دست آمده برابر با ۳ سال بود. انحراف معیار نمونه ۰/۵ بوده است ($\overline{X}$ =۳ ± ۰/۵).

پس از بررسی آزمایشات فوق به نتایج آزمایش‌های هماتولوژی و تعیین سطوح هورمونی در ماهیان نابالغ اشاره می‌گردد.

کمترین مقدار تستوسترون اندازه‌گیری شده ۰/۰۱ نانوگرم در میلی‌لیتر و بیشترین آن ۰/٦۷ نانوگرم در میلی‌لیتر بوده است، میانگین آنها برابر ۰/۱۱ نانوگرم در میلی‌لیتر با انحراف معیار نمونه، ۰/۱٦ بود ($\overline{X}$ =۰/۱۱ ± ۰/۱٦).

کمترین مقدار ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون اندازه‌گیری شده ۰/۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر و بیشترین آن ۰/٤ نانوگرم در میلی‌لیتر بوده است، میانگین آنها برابر ۰/۰۹ نانوگرم در میلی‌لیتر با انحراف معیار نمونه، ۰/۱۲ بود ($\overline{X}$ =۰/۰۹ ± ۰/۱۲).

کمترین مقدار ۱۷ بتا- استرادیول اندازه‌گیری شده ۳/۳۰ نانوگرم در میلی‌لیتر و بیشترین آن ۷/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بوده است، میانگین آنها برابر ۵/۷ نانوگرم در میلی‌لیتر با انحراف معیار نمونه، ۱/۰٤ بود ($\overline{X}$ =۵/۷ ± ۱/۰٤). برای مقایسه بین دو جامعه آماری از آزمون‌های ANOVA استفاده شده و نتایج به‌دست آمده به‌شرح ذیل است:

جدول ۱- فاکتورهای اندازه‌گیری شده در ماهیان نابالغ کفال اوراتوس دریای خزر

نام فاکتور	میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار
طول کل (سانتی‌متر)	۳۳	۲۸/۷	۳۸	۲/۵
طول فورک (سانتی‌متر)	۲۹/٦	۲۵/٤	۳٤/۸	۲/٤
وزن بدن (گرم)	۲۵۸/۱	۱۷۰	۳۷۰	۵۱/۱
وزن تخمدان (گرم)	۱/۲	۰/۱۲	۲/٦	۰/۹٦
سن	۳	۲	٤	۰/۵
تستوسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۰/۱۱	۰/۰۱	۰/٦۷	۰/۱٦
۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۰/۰۹	۰/۰۰	۰/٤	۰/۱۲
۱۷ بتا- استرادیول (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۵/۷	۳/۳۰	۷/۵	۱/۰٤

جدول ۲- فاکتورهای اندازه‌گیری شده در ماهیان بالغ کفال اوراتوس دریای خزر

عامل مورد بررسی	میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار
طول کل (سانتی‌متر)	٤۳/٤	۳٤/۵	۵۰/۲	۳/٦
طول فورک (سانتی‌متر)	۳۸/۹	۳۰/۸	٤۵/۲	۳/۳
وزن بدن (گرم)	۵٦٦/٤	۳۱٦	۸۲۰	۱٤۵/۹
وزن تخمدان (گرم)	۷/۹	۳/۳۰	۲۲/۲	٤/۹
سن	٤/٦	۳	٦	۰/۷٤
تستوسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۰/۱	۰/۰۲	۰/۲۲	۰/۰۵
۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۰/۰۳	۰/۰۰	۰/۱۹	۰/۰۵
۱۷ بتا- استرادیول (نانوگرم / میلی‌لیتر)	۵/۵	۳/۱	۹/۳	۱/۵

جدول ۳- میزان هورمون تستوسترون، هورمون۱۷ بتا- استرادیول، هورمون۱۷آلفا- هیدروکسی پروژسترون، وزن، طول و سن در ماهیان نابالغ کفال اوراتوس ماده

وزن (گرم)	طول (سانتی‌متر)	سن	هورمون تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ بتا- استرادیول (نانوگرم/میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)
۱۷۰	۲۹	۲	۰/۱۲۸	۵/۲	۰/۰۳
۱۹۰	۳۰/۷	۳	۰/۰۲۷	۵/۹	۰/۰۵۲
۱۹۸	۲۸/۷	۲	۰/۰۲۸	۵/٤	۰/۱۰٦
۲۳۰	۳۰/۹	۳	۰/۰۷۷	۵/۷	۰/۱۳۳
۲۳۰	۳۱/۲	۳	۰/۰٦۲	٦/۱	۰/۰۱۵
۲۳٦	۳۱/۳	۳	۰/۰٤۱	۷/۱	۰/۰۰۳
۲٤۰	۳۲/۹	٤	۰/۰۲۷	۷/۵	۰/۰۰٤
۲٦۰	۳۳	۳	۰/۰۰۹	٦/۷	۰/۰۱۵
۲٦۹	۳٤/۹	۳	۰/۱۲۱	٦/۱	۰/۱۰۲
۲۷۲	۳٦/۲	۳	۰/٦۷۳	۵/۸	۰/۰۲
۲۸۰	۳۵/۳	۳	۰/۱۲٤	۵/٤	۰/۱۹۱
۲۹۰	۳۳/۹	۳	۰/۱۱۵	٦/۵	۰/۳۹۵
۲۹۰	۳٤/۲	۳	۰/۰۹۸	۳/۳	۰/۰۰۱
۳۳۰	۳۵/۸	٤	۰/۰۱۵	۵	۰/۰۳
۳۷۰	۳۷/۹	۳	۰/۱٦۲	٤/۵	۰/۳۲۲

جدول ٤- میزان هورمون تستوسترون، هورمون۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، هورمون۱۷ بتا- استرادیول، وزن، طول و سن در ماهیان بالغ کفال اوراتوس ماده

وزن (گرم)	طول (سانتی‌متر)	سن	هورمون تستوسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ آلفا-هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم / میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ بتا- استرادیول (نانوگرم / میلی‌لیتر)
۳۱٦	٤٤/۷	۵	۰/۱٤۳	۰/۰٦۹	۵/۲
۳٤۰	۳۷/۵	۳	۰/۱۲۸	۰/۰۱۹	٦/۱
٤٤۰	۳۸/۱	۵	۰/۰۷۸	۰/۱۹۱	۵/۹
٤۹۰	٤۱/۵	٤	۰/۰۹۸	۰/۰۰۲	٦/۳
٤۹۰	٤۲/٤	٤	۰/۰۲٦	۰/۱۱	٦
۵۱۰	٤۳/٤	٤	۰/۱۱۹	۰/۰۰۱	٤/۱
وزن (گرم)	طول (سانتی‌متر)	سن	هورمون تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)	هورمون۱۷ بتا- استرادیول (نانوگرم/میلی‌لیتر)
۵۵۰	٤۲/۵	۵	۰/۰۷۵	۰/۰۰٦	۹/۳
۵۵۰	٤۲/۵	۵	۰/۲۱٦	۰/۰۰۲	۵
۵۷۰	٤٤/۲	۵	۰/۰۱۵	۰/۰۹۲	٤/۹
۵۹۰	٤٤/۵	۵	۰/۱۰٦	۰/۰۰۱	٦/۲
٦۱۰	٤٤/۵	٤	۰/۱۸	۰/۰۰۳	۳/۱
٦۷۰	٤٤/۳	۵	۰/۰۸۳	۰/۰۸۳	۷/۷
۷۱۰	٤٦/۷	۵	۰/۱۰۷	۰/۰۰۲	٤/۱
۷٦۰	٤۷	۵	۰/۰۷٤	۰/۰۲۹	٤/۹
۸۲۰	۵۰/۲	٦	۰/۰۷۸	۰/۰۰٤	٤/۸

مقایسه بین میانگین هورمون تستوسترون (T) در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به‌طوری‌که میانگین تستوسترون در ماهیان نابالغ حدود ۰/۰۱ نانوگرم در میلی‌لیتر بیشتر از ماهیان بالغ است. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

مقایسه بین میانگین هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (17 α -HP) در ماهیان بالغ و نابالغ

نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به‌طوری‌که میانگین این هورمون در ماهیان نابالغ حدود ۰/۰۶ نانوگرم در میلی‌لیتر بیشتر از ماهیان بالغ است. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$).

مقایسه بین میانگین هورمون ۱۷ بتا- استرادیول (E_2) در ماهیان بالغ و نابالغ نشان‌دهنده کاهش در ماهیان بالغ است به‌طوری‌که میانگین این هورمون در ماهیان نابالغ حدود ۰/۲ نانوگرم در میلی‌لیتر بیشتر از ماهیان بالغ است. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$).

با توجه به داده‌های به‌دست آمده از جداول ۳ و ٤ وزن ماهی‌های کفال صید شده (بالغ و نابالغ) از ۱۷۰ تا ۸۲۰ گرم متغیر می‌باشد و بررسی‌ها نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین وزن ماهی‌ها و توانایی تولید استروئیدهای تستوسترون (T) و ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (17α-HP) و ۱۷ بتا- استرادیول (E_2) در مورد ماهی‌های بررسی شده وجود ندارد ($P>۰/۰۵$).

همچنین با توجه به داده‌های به‌دست آمده از جداول ۳ و ٤ سن ماهی‌های کفال صید شده (بالغ و نابالغ) از ۲ تا ٦ سال متغیر می‌باشد و بررسی‌ها نشان می‌دهد که بین سن ماهی‌ها و توانایی تولید استروئیدهای T و 17α-HP و E_2 در ماهی‌های بررسی شده، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$).

بحث و نتیجه گیری

بسیاری از مطالعات انجام شده درباره فیزیولوژی تولیدمثل، معطوف به بررسی تغییرات فصلی میزان استروئیدهای جنسی پلاسمای ماهیان استخوانی و همچنین نوسانات استروئیدهای جنسی در طول اوولاسیون می‌باشد (۲۹).

امروزه تغییرات هورمون‌های غدد جنسی ماهیان با تکنیک رادیوایمونواسی(RIA) و با انجام مطالعه تغییرات آندروژن و استروژن موجود در پلاسمای خون در طی مراحل مختلف تولید مثلی امکان‌پذیر گردیده است. این موضوع در مورد قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌خوبی مشخص شده است (٦).

دست‌کاری‌های هورمونی جهت القای رسیدگی نهایی اووسیت‌ها، اوولاسیون، اسپرم‌زایی و تخم‌ریزی امکان کنترل فرآیندهای تولید مثلی ماهیان پرورشی را فراهم می‌سازد که به‌طور قابل توجهی در گسترش و بهبود صنعت آبزی‌پروری مؤثر است.

در ماهیان استخوانی فعالیت گنادی در ابتدا توسط هورمون گنادوتروپین هیپوفیز کنترل می‌شود که این هورمون توسط پهلو گرفتن (باند شدن) با گیرنده‌های ویژه در بیضه‌ها و تخمدان، استروئیدسازی و گامت‌زایی را تنظیم می‌کند.

با فراهم‌سازی و ترشح GTH تقریباً همه جنبه‌های فرایند تولید مثلی در ماهی تحریک می‌شود که حتی قبلاً از طریق بررسی میزان هورمون یا هورمون‌ها قابل نشان دادن نبودند یا به‌میزان کم، باستثنای پیش از بلوغ نهایی جنسی قابل بررسی بودند (۱٦). این مشاهدات باعث شد که دخالت بیش از یک هورمون در کنترل تولیدمثل ماهی پیشنهاد گردد.

در ارتباط با نقش هورمون تستوسترون در تولید مثل ماهیان ماده اطلاعات زیادی موجود نمی‌باشد، ولی مطالعات اخیر نشان داده که تستوسترون در پلاسمای ماهیان استخوانی جنس ماده، پیش‌ساز ۱۷ بتا- استرادیول می‌باشد (۱۹).

سطوح بالای تستوسترون قبل از شروع بلوغ اووسیت جهت تحریک تولید استروئید القاءکننده بلوغ نهایی ضروری می‌باشد بدین‌طریق که تستوسترون از طریق فیدبک مثبت باعث افزایش گنادوتروپین قبل از اوولاسیون شده و افزایش گناد و تروپین باعث القاء ترشح استروئید القاءکننده بلوغ نهایی می‌شود (۲۷).

بالا بودن میزان تستوسترون در ماهیان نابالغ می‌تواند نقش مهمی بر ترشح گنادوتروپین داشته و تولید هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون نشان از وجود فعالیت آنزیمی در غشاء تخمک و سنتز استروئیدی در جهت حصول رسیدگی جنسی می‌باشد.

گنادوتروپین در سلول‌های لایه تکا تولید یک نوع استروئید به نام ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون می‌کند. استروئید فوق در لایه فولیکولی گرانولوزا تحت تأثیر آنزیم *20β-hydroxysteroid-dehydrogenase*

قرار گرفته و تبدیل به هورمون *17α-20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one(MIH)* می‌گردد. اتصال هورمون فوق (MIH) به گیرنده‌های خود در غشاء تخمک و عمل آن، منجر به شکل‌گیری عامل ارتقاءدهنده رسیدگی (MPF) می‌گردد که عمل آن شروع مجدد تقسیم میوزی است. میزان فعالیت گیرنده‌های MIH برروی غشاء تخمک در خلال مهاجرت هسته به حداکثر خود می‌رسد و سپس در مرحله تخمک‌گذاری تا حد صفر تقلیل می‌یابد (۲۶).

تولید هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون نیز به دلیل وجود روند فعالیت‌های آنزیمی و استروئیدزایی در غشاء تخمک‌ها می‌باشد.

بررسی تغییرات استروئید ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در ماهی کفال اوراتوس حاکی از آن است که در مولدین بالغ و نابالغ الگوهای مختلف تغییرات این استروئید مشابه یکدیگر بود و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر آنها مشاهده نگردید که این نتایج با نتایج به‌دست آمده از مطالعات بارانیکوا در سال ۱۹۹۹ (۱۰) منطبق می‌باشد.

۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، پیش‌ساز استروئید القاءکننده بلوغ نهایی است به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن همزمان با تجزیه هسته زاینده، به‌هم پیوستن قطرات چربی و حل شدن دانه‌های زرده مشاهده گردید.

تولید هورمون ۱۷ بتا- استرادیول (E_2) به طریقه دو فرم سلولی می‌باشد. تستوسترون تولید شده در لایه تکا در لایه گرانولوزا تحت تأثیر آروماتاز تبدیل به E_2 می‌گردد. این هورمون نیز منجر به تحریک کبد جهت سنتز زرده می‌گردد. با آغاز رسیدگی جنسی میزان این هورمون در خون کاهش می‌یابد که این کاهش به‌دلیل تقلیل فعالیت آروماتاز و افزایش سرعت تجزیه این هورمون در مرحله قبل از اوولاسیون می‌باشد. کاهش میزان این هورمون منجر به کاهش پس خورد منفی آن بر ترشح گنادوتروپین می‌گردد لذا افزایش ترشح هورمون مذکور منجر به رسیدگی نهایی جنسی در ماهیان خواهد شد (۲۲). مطالعات اخیر شواهدی را نشان می‌دهد که ۱۷ بتا- استرادیول مستقیماً در تخمدان و بیضه عمل می‌کند تا تولید استروئید را تنظیم کند. ۱۷ بتا- استرادیول برعکس فعالیت‌های ممانعت‌کنندگی که پیش از مرحله بلوغ در فولیکول‌ها دارد، دارای فعالیت تحریکی نسبتاً کمی برروی تولید تستوسترون حاصل از *HCG* در فولیکول‌های ویتلوژنی است که نشان‌دهنده تغییرات مربوط به رشد در پاسخ‌دهی فولیکول به ۱۷ بتا- استرادیول است.

معنی‌دار نبودن تفاوت سطح استروئیدهای جنسی (OHP, E2, T) در ماده‌های بالغ و نابالغ کفال طلایی می‌تواند همان‌طورکه در مطالعه بارانیکوا و همکاران اشاره شده به‌دلیل شرکت این هورمون‌ها در رفتارهای مهاجرتی باشد. در ماده‌های نابالغ نیز بالاتر بودن میزان استروئیدهای جنسی به‌علت شرکت آنها در فرآیند ساخت هورمون‌های استروئیدی می‌باشد که نقش مؤثر در فعالیت مهاجرتی داشته و نشان‌دهنده آمادگی بیشتر این ماهیان جهت مهاجرت می‌باشد.

بارانیکوا و همکاران در سال ۱۹۹۹ میزان هورمون‌های استروئیدی خون را در فیل‌ماهیان ماده مهاجر پاییزه و بهاره اندازه‌گیری کردند و نتایج حاصله بیانگر این بود که میزان این هورمون‌ها در ماده‌های پاییزه و بهاره در هیچ‌کدام تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (۱۰) که این نتایج با نتایج به‌دست آمده حاضر منطبق می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند ابراز می‌دارند.

منابع

۱-حسین‌زاده صحافی.، هـ ۱۳۸۰. بیولوژی تولید مثل ماهی با تاکید بر ماهی‌های ایران. وزارت جهاد کشاورزی. شرکت سهامی شیلات ایران. صفحات ۱۵ و ۱۶.

۲-رضوی‌صیاد.، ب. ۱۳۵۸. ماهیان اقتصادی قسمت جنوبی دریای خزر و کلید شناسایی ماهیان آب‌های داخلی ایران. سازمان تحقیقات شیلات ایران، بندرانزلی. ۱۲۱ صفحه.

۳-رنجبر، ط. ۱۳۷۲. آداپتاسیون و پرورش کفال ماهیان جهت بهره‌برداری از منابع آبی و خاکی شور بالا استفاده داخل کشور. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران.

٤-صافی، ش. ۱۳۷۷. اندازه‌گیری هورمون‌های مشابه FSH و LH پروژسترون، استرادیول و تستوسترون در ماهی قره‌برون جهت تفکیک ماهیان مولد بارور و غیربارور. پایان‌نامه دکتری تخصصی دامپزشکی. دانشگاه تهران. صفحات ۵۱ تا ۵۷.

۵-عبدالملکی، ش. ۱۳۷۹. وضعیت صید کفال ماهیان در سواحل ایرانی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال نهم، شماره ٤.

٦-قلیچی، ا. ۱۳۸۱. بررسی روند رسیدگی جنسی در کفال خاکستری. رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علو م و تحقیقات. ۱٤۱ صفحه.

۷-نظری، ر.، یوسفیان، م.، مجازی‌امیری، ب.، سلطانی، م. ۱۳۸۰. بررسی رابطه بین مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوئی در تاس‌ماهی ایرانی قره‌برون. پژوهش و سازندگی. شماره ۵۱. صفحه ۵۷-۵۱.

۸-نیکو، م. ۱۳۸۲. مطالعه برخی تفاوت‌های فیزیولوژیک مولدین ماده رسیده و در حال رسیدگی ماهی سفید. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تهران. ٦۲ صفحه.

۹-هوشمند، ر. ۱۳٦۸. زندگی کفال ماهیان. دانشگاه منابع طبیعی. دانشگاه تهران. کرج. ۸۸ صفحات.

10.Barannikova, I.A., Boev, A.A., Bayunova, L.V., Dyubin, V.P., and Saenko, I.I. 1999. Sex steroid hormone content in the blood serum of Acipenser stellatus at the beginning of the 4 anadromous migration into the Volga and at migration after hormonal impacts. J. Ichthyology, 39:111-116.

11.Barannikova, I.A., Bayunova, L.V., and Saenko, I.I. 1997. Dynamics of steroid hormones in sturgeon (*Acipenser guldenstaedtii*) with different characteristics of gonads at the beginning of an anadromous migration to the Volga. J. Ichthyology, 37:400-406.

12.Ceapa C., Williot P., Lemenn F., and Davail-Cuisset B. 2002. Plasma sex steroid and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) during spawning migration in the Danube River. J.Appl. Ichthyol., 18: 391-396.

13.Demski, L.S., Hornby, P.J. 1982. Hormonal control of fish reproductive behavior brain-gonadal steroid interaction. Can. J. fish. Aquat. sci., 39: 36-47.

14.Fenner, B., 1976. A Review of the literature on hormonal manipulation of fishes as an aquaculture technique. Internet search.

15.Fontain, P., Sulistyo, I., Rinchard, J., Gardeur, J.N., Capdeville, B., and kestemont, P. 1998. Reproductive cycle and plasma Levels of Sex steroids in female Eurasian perch fluviatilis. Aquat. Living Resource,11 (2):101-110.

16.Fontaine Y.A., and Dufur S. 1987. Current status of LH-FSH-like gonadotropin in fish. In "Proceedings of the third international symposium on reproductive physiology of fish", 48-56.

17.Frantzen, M.. Johnsen, H.K., and Mayer, I. 1997. Gonadal development and Sex steroidal in female. Arctic charr brood stock. Journal of fish biology, 51: 697-709.

18.Haddy, Y.A. and Pankhurst, N.W. 1999. Stress-induced changes in concentrations of plasma Sex 1 steroids in black bream. Journal of Fish Biology. 55:1304 -1316.

19.Kagawa, H., Young, G., Naghama, Y. 1984. Invitro estradiol-17β and testosterone production by ovarian follicls of gold fish (*carassius carassius*). J. Gen. Comp. Endocrinal., 54:139-143.

20.Mojazi Amiri, B., Maebayashi, M., Adashi, S., and Yamauchi, K. 1996. Relationship between serum 1 steroid levels and invitro steroidogenesis by gonads of a hybrid sturgeon, bester at different developmental stages. Aquaculture, 135: 127-129.

21.Mylonas, c., Sullivan, C.V., and Hinshaw, J.M. 1994. Throid hormones in brown trout reproduction and early development, fish physiol. Biochem., Pp. 485-493.

22.Nagahama Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. Int. J. Dev. Biol., 38: 217-229.

23.Neat, F.C. and Mayer, I. 1999. Plasma concentration of Sex steroids and fighting in male Tilapia zillii. Journal of fish Biology, 54: 697-695.

24.Pankhurst, N.W. 1997. Invitro steroid production by isolated ovarian follicle of the striped trumpeter. Journal of fish Biology, 51: 68-669.

25.Patino, R. 1997. Manipulations of the reproduction system of fishes by means of exogenous chemicals. The progressive fish culturist. American fisheries society, 59: 118-128.

26.Patino R., Yoshizaki G., Thomas P., and Kagawa H. 2002. Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: The two-stage concept and it's mechanisms. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 19: 427-439.

27.Rankin, J.C., pitcher, T.J., and Duggan, R.T. 1983. Control processes in fish physiology. Croom Helm. 298p.

28.Rosenblum, P.M., pudney, J., and Callard, I.P. 1987. Gonadal morphology, enzyme histochemistry and plasma steroid levels during the annual reproductive cycle of male and female brown bullhead cat fish, Ictalurus nebulosus lesueur. J. fish Biol., 31:325-341.

29.Tamaru, C.S., Kelley, C.D., Lee, C.S., Aida, K., Hanyu, I., and Goets, F. 1991. Steroid profiles during maturation and spawning of the striped mullet (*Mugil cephalus* L.) Aquaculture, 95:149-168.

30.Tereshenko, K.K. 1950. Materials for the Caspian sea mullet's fisheries (KASPINIRO).

31.Yamada, H., Ohta, H., and Yamauchi, K. 1993. Serum thyroxin, estradiol 17β and testosterone profile during the parr-smolt transformation of masu salmon oncorhynchus masou. Fish. Physiol. Biochem., Pp: 1-9.

Comparative survey of some sexual steroid hormones levels of blood Serum in immature and mature breeders of grey mullet (*Liza auratus*) in Caspian Sea

[*]SH. Sarajian[1], A.A. Zamini[2], M.Yousefian[3], A.A. Saeedi[4] and A. Jafari[5]

[1]M.Sc. in Fisheries, [2]Assistant Prof. Dept. of Fisheries of Islamic Azad University Lahijan Branch, [3]Ascociate Prof. of Iranian Fisheries Researcher organization, Caspian Sea Ecological Institute, [4]Dept. of Fish disease, Caspian sea Ecological Institute, [5]Expert Dept. of Fishery, Islamic Azad University of Ghaemshahr, young Researcher club

[*]*E-mail: Shahab_sarajian@yahoo.com*

Abstract

The effect of gonadotropine hormones on gamesomeness and reproduction process in teleosts takes place via steroid hormones. Investigation in changing processes of sexual steroid in different stages includes suitable indicators to select reproduction pattern in fish. In this research, sexual steroid hormones of testosterone, 17α- hydroxy progesterone and 17β- steroidal of immature and mature breeder's blood serum were measured by radio immunoassay method. The results showed that there is no meaningful difference in surveyed parameters in immature and mature fish of grey mullet. The average of testosterone hormone in immature fish measured 0.11 ng/ml and in mature fish 0.1 ng/ml. The average of 17α- hydroxy progesterone hormone in immature fish was 0.09 ng/ml and in mature fish 0.03 ng/ml. The average of 17β- hydroxy progesterone hormone in immature fish was 5.7 ng/ml and in mature fish 5.5 ng/ml. There was no meaningful difference in all examinations in 95% rate. The reason can be presence of steroid hormones in migration behaviors.

***Keywords**:* 17α-hydroxy progesterone; 17β-esteradiol; Testosterone; Golden grey mullet