مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۳، دوره ۶۹، شماره ۴، ۴۳۰-۴۲۳
Original Article
Journal of Veterinary Research. 69,4:423-430, 2014

مطالعه هورمون‌های استروئیدی جنسی پلاسمای خون ماهیان مولد ماده خواجو (*Schizothorax pelzami*) طی فصول سال

امید صفری[1*] جواد باقری دربادام[2] مجید ناصری‌زاده[3]

۱) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران
۲) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گلستان- ایران
۳) گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج- ایران

(دریافت مقاله: ۱۹ شهریور ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ آبان ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: ماهی خواجو (*Schizothorax pelzami*) یکی از گونه‌های مهم بومی با ارزش اقتصادی در شمال شرق ایران می‌باشد. **هدف:** در مطالعه حاضر چرخه تولید مثل، زمان و محدوده دمای تخم‌ریزی در ماهی خواجو مورد بررسی قرار گرفت. **روش کار:** ۲۴۳ قطعه ماهی خواجوی صید شده ابتدا مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند و سپس مراحل توسعه تخمدانی و سنجش مقدار هورمون‌های استروئیدی جنسی (تستوسترون، ۱۷بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷آلفا هیدروکسی پروژسترون) پلاسما در طی دوازده ماه نمونه‌برداری مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** حداکثر مقدار معنی‌دار ($p<0/05$) شاخص گنادی (۱۰/۳٪) و قطر تخمک (۱۶۰۵/۶µm) در فروردین ماه مشاهده گردید. نتایج نشان داد که غلظت هورمون‌های جنسی تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول در طی مرحله کورتیکال آلوئولی (شهریور ماه) به طور معنی‌داری ($p<0/05$) شروع به افزایش نمودند و در انتهای مرحله زرده‌سازی یعنی در بهمن ماه با متوسط دمای آب ۱۳°C به حداکثر مقدار (به ترتیب ۶/۹۹ ng/mL و ۱۴۳/۴) معنی‌دار ($p<0/05$) رسیدند. غلظت هورمون پروژسترون در مرحله آخر زرده‌سازی شروع به افزایش نمود و در اسفند ماه به حداکثر مقدار (۳/۴۹ng/mL) معنی‌دار ($p<0/05$) خود رسید. غلظت هورمون ۱۷آلفا هیدروکسی پروژسترون با یک مرحله تأخیری نسبت به هورمون پروژسترون در فروردین ماه به طور معنی‌داری ($p<0/05$) افزایش یافت. **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ماهی خواجو دارای الگوی یکبار تخم‌ریزی در سال می‌باشد و هورمون‌های استروئیدی جنسی تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول در زرده‌سازی و پروژسترون و ۱۷آلفا هیدروکسی پروژسترون در بلوغ نهایی تخمک نقش دارند. بهترین زمان تخم‌ریزی در طی ماه‌های اسفند تا فروردین در طیف دمایی ۱۷/۳°C-۱۵/۷ بود.

واژه‌های کلیدی: پلاسما، هورمون‌های استروئیدی جنسی، ماهی خواجو، دوره تخم‌ریزی

مقدمه

ماهی خواجو، *Shizothorax pelzami* به عنوان یکی از گونه‌های مهم خانواده کپورماهیان بر اساس مطالعه Mirza در سال ۱۹۸۸ در ناحیه مونتان آسیا از جمله رودخانه‌های افغانستان و ترکمنستان پراکنش یافته است (۱۱). Abdoli و همکاران در سال ۲۰۰۷ پراکنش گسترده این گونه را در حوضه آبریز رودخانه تجن در شمال شرق ایران گزارش نمودند (۱). Mirza در سال ۱۹۸۸ بر حسب شباهت ظاهری زیاد ماهی خواجو به ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به آن، ماهی قزل‌آلای برفی نیز نام نهاد (۱۱). Pauly و Froese در سال ۲۰۰۱ از جنس Shizothorax، ۵۹ گونه ماهی در جهان گزارش کرد (۱۶). طبق گزارش Coad در سال ۱۹۹۸ دو گونه از جمله هامون ماهی، *Shizothorax zarudnyi* در جنوب شرق و ماهی خواجو، *Shizothorax pelzami* در شمال شرق ایران مشاهده می‌شوند (۲). مطالعه‌های متعددی در مورد تعیین زمان تخم‌ریزی و تغییرات چرخه تولید مثلی توسط Zabihi و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۲۴)، ترکیب شیمیایی لاشه در فصول مختلف توسط Zakipour Rahimabadi و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۲۵) و تکثیر با استفاده از هورمون‌های مصنوعی توسط Gharaee و همکاران در سال ۲۰۱۱ (۴) در هامون ماهی موجود در دریاچه هامون و چاه نیمه‌های سیستان انجام شده است. علیرغم تمایل بازارهای محلی به مصرف ماهی خواجوی موجود در شمال شرق ایران و قرارگیری در فهرست IUCN به عنوان گونه‌ای با حداقل نگرانی، اطلاعات محدودی در مورد زیست‌شناسی (پویایی جمعیت)، فیزیولوژی تولید مثل و ترجیح غذایی این گونه ارزشمند وجود دارد (۱). روش تولید مثلی یکبار تخم‌ریز در سال در برخی جنس‌های مشابه با ماهی خواجو همانند هامون ماهی و ماهی *Schizothorax prenanti* به ترتیب توسط Zabihi و همکاران در سال ۲۰۰۳ و Jing و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش شده است (۶،۲۴). همبستگی مثبت معنی‌دار بین شاخص وزنی گناد با متوسط قطر اووسیت‌ها در هامون ماهی و چرخه تولید مثل شش مرحله‌ای مشخص در ماهی *Schizothorax prenanti* توسط محققین مذکور مشاهده گردید (۶،۲۴). Zabihi و همکاران در سال ۲۰۰۳ طیف متنوعی از اندازه اووسیت‌ها (کمتر از ۱۰۰µm، ۱۰۰-۴۰۰، ۴۰۰-۱۳۰۰ و ۱۴۰۰-۲۲۰۰) را در تخمدان هامون ماهی در طی دوره رسیدگی گزارش کردند و با توجه به مشاهده فقط یک طیف اندازه اووسیت اوله شده در طی فصل تخم‌ریزی (اسفند تا فروردین) استراتژی یکبار تخم‌ریزی در سال را در ارتباط با این گونه بیان نمودند.

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۸۸۰۵۴۶۶-۰۵۱۳ نمابر: ۸۷۸۸۸۰۵-۰۵۱۳ Email: omidsafari@um.ac.ir

بررسی تغییرات بین توسعه گنادی با سطوح استروئیدهای جنسی پلاسما ابزار ارزشمندی در فهم کنترل درون‌ریز تولید مثل با اهداف بازسازی ذخایر و اهلی سازی گونه‌های ماهیان استخوانی می‌باشد (۵). در این ارتباط، بررسی هورمون‌های جنسی (تستوسترون، ۱۷بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) به عنوان گامی اولیه در معرفی گونه‌ای وحشی به صنعت آبزی‌پروری با هدف شناخت چرخه تولیدمثلی گونه و کنترل هورمونی آن مطرح است (۲۱). هورمون‌های استروئیدی مذکور در بررسی دوره تخم‌ریزی در گونه‌های ماهی آزاد کورگونوس، *Coregonus clupeaformis*، سیاه ماهی، *Capoeta capoeta*، شاه کولی، *Alburnus chalcoides* و سیاه کولی، *Vimba vimba* و ماهی سفید، *Rutilus frisii kutum* به ترتیب توسط Shimizu و همکاران در سال ۱۹۸۵، Erdogan و همکاران در سال ۲۰۰۲، Nikoo و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Heidari و همکاران در سال ۲۰۱۰ به کار گرفته شدند (۲۱،۱۴،۵،۳). علیرغم اهمیت اقتصادی و پراکنش گسترده ماهی خواجو، *Shizothorax pelzami* در منابع آبی شمال شرق کشور، اطلاعاتی راجع به هورمون‌های استروئیدی در ماهی مذکور به هنگام تخم‌ریزی و یا طی چرخه تولید مثلی سالیانه ارائه نگردیده است. از این رو تعیین مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنسی (تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) در این ماهیان به شناخت پایه‌ای فیزیولوژی تولید مثل در زمان تخم‌ریزی و همچنین به مطالعه مقدماتی در مدیریت مولدین در شرایط تکثیر مصنوعی کمک می‌کند.

مواد و روش کار

صید ماهی و خون‌گیری: دویست و چهل و سه قطعه ماهی خواجوی ماده سالم در فاصله زمانی ۱۶ تیر ماه ۱۳۹۰ لغایت ۲۷ خرداد ماه ۱۳۹۱ از رودخانه اخلمد (از N ۴۰ق۳۶ تا ۴۲ق۳۶ و E ۴۰ق۵۹ تا ۳۹ق۵۹) واقع در استان خراسان رضوی با کمک تور گوشگیر (با فاصله گره تا گره ۳Cm) صید شدند. درجه حرارت آب و دوره نوری در طی دوره مذکور در جدول ۱ گزارش گردید.

تمام نمونه‌های ماهی در دامنه وزنی ۶۳g تا ۴۱۵ در فاصله زمانی مذکور جمع‌آوری شدند. ماهیان با ۷۰mg/mL ماده آرام کننده تریکائین متان سولفانات (MS222, Sigma) بیهوش و از ساقه دمی به کمک سرنگ‌های هپارینه به میزان ۳/۵-۵/۵mL خونگیری به عمل آمد. پلاسما با کمک سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ در مدت ۲۰ min از خون جدا سازی و تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در دمای $-20^{o}C$ نگهداری گردید (۵). بعد از خونگیری، تخمدان از حفره شکمی خارج و در محلول بوئن فیکس گردید. نمونه‌های فیکس شده بعد از آبگیری، شفاف سازی و پارافینه کردن قالب گیری شدند و در نهایت برش‌های بافتی (به‌دست آمده از دستگاه میکروتوم) چسبانده شده روی لام با روش هماتوکسیلین- ائوزین، رنگ آمیزی (۱۷) و قطر ۴۵-۳۰ اووسیت به ازای هر ماهی ماده با استفاده از میکرومتر چشمی کالیبره شده تعیین گردید.

رادیوایمنواسی: میزان هورمون‌ها در پلاسما با استفاده از رادیوایمنواسی بعد از استخراج تعیین شد (۷). در این ارتباط، ۵۰µL تا ۱۰۰ از محلول‌های استاندارد، شاهد یا نمونه پلاسما به لوله‌های پوشش داده شده با آنتی‌بادی (حاوی آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال موش) اضافه شد. سپس ۵۰۰µL از هورمون‌های نشان‌دار شده با ید ۱۲۵ شامل استرادیول (با میزان فعالیت رادیواکتیو ۱۷۰ kBq، شرکت اوریون، فنلاند)، تستوسترون (با میزان فعالیت رادیواکتیو ۲۰۰kBq، شرکت اوریون، فنلاند)، پروژسترون (با میزان فعالیت رادیواکتیو ۱۸۵ kBq، شرکت ایمنوتک، فرانسه) یا ۱mL از ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (با میزان فعالیت رادیواکتیو ۱۸۵ kBq، شرکت ایمنوتک، فرانسه) به تمام لوله‌های آزمایش‌های اضافه و در حمام آب گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از شستشو با بافر فسفات، میزان فعالیت رادیواکتیو با استفاده از دستگاه شمارشگر گاما (RX-105, Taiwan) قرائت شد. غلظت‌های استاندارد در دامنه صفر تا ۴۳۰ng/mL برای استرادیول، صفر تا ۱۸/۷ng/mL برای تستوسترون، صفر تا ۷۱ng/mL برای پروژسترون و صفر تا ۶۹ng/mL برای ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون متغیر بود. به ترتیب ضرایب پراکنش بین و داخل گروهی برای استرادیول (۶/۷ و ۱/۸٪)، تستوسترون (۷/۷ و ۴/۵٪)، پروژسترون (۷/۱ و ۳/۵٪) و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (۴/۱ و ۳/۵٪) بود. حداقل میزان قابل تشخیص برای تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون به ترتیب ۰/۰۰۵ ng/mL، ۰/۰۰۲، ۰/۰۱۱ و ۰/۰۳۹ بود.

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. پس از تائید نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (۲۶)، تغییرات در میزان غلظت‌های هورمون‌های جنسی (تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) در طی رسیدگی جنسی از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مورد آزمون قرار گرفت. سپس میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵٪ با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ مقایسه شدند. روابط رگرسیونی بین تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول نیز با کمک نرم افزار SigmaPlot نسخه ۱۱ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

شاخص گنادی و قطر تخمک‌های ماهیان خواجوی ماده در طی دوره‌های مختلف نمونه‌برداری مطابق جدول ۱، شاخص گنادی (٪) در ماهیان خواجوی ماده صید شده به طور معنی‌داری ($p<0/05$) در مهر ماه (۴/۳٪) نسبت به ماه‌های تابستانی تیر، مرداد و شهریور (۱/۸-۱/۴٪) افزایش نشان داد و در فروردین ماه به حداکثر مقدار (۱۰/۳٪) معنی‌داری

جدول۱. مقادیر میانگین (±انحراف معیار) شاخص گنادی (٪)، قطر تخمک (μm) و غلظت هورمون‌های جنسی استروئیدی (ng/mL) تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در ماهیان خواجوی ماده صید شده از رودخانه اخلمد (خراسان رضوی، شمال‌شرق ایران). تفاوت آماری معنی‌دار در سطح آماری ۵ ٪ با حروف غیر مشترک مشخص شدند.

زمان نمونه‌برداری	تعداد	شاخص گناد (٪)	قطر تخمک (μm)	دوره نوری (روشنایی/تاریکی)	دمای آب (°C)	تستوسترون (ng/mL)	۱۷ بتا استرادیول (ng/mL)	پروژسترون (ng/mL)	۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (ng/mL)
تیر	۱۵	۱/۴±۰/۵ ^{a}	۵۶۱/۵±۳۴/۵ ^{b}	۸:۳۰:۱۵/۳۰	۱۹/۰	۰/۰۰۵±۰/۰۰۱ ^{a}	۸۵/۱±۲۴/۱ ^{bc}	۰/۰۵±۰/۰۱ ^{a}	۰/۶۵±۰/۲۱ ^{a}
مرداد	۱۸	۱/۶±۰/۴ ^{a}	۶۳۰/۶±۳۳/۱ ^{b}	۹:۲۰:۱۴/۴۰	۱۸/۸	۰/۰۰۷±۰/۰۰۱ ^{a}	۸۷/۷±۱۳/۹ ^{bc}	۰/۰۷±۰/۰۱ ^{a}	۰/۷۷±۰/۱۶ ^{a}
شهریور	۲۱	۱/۸±۰/۳ ^{a}	۷۲۵/۸±۳۲/۷ ^{b}	۱۰:۲۴/۱۳:۳۶	۱۸/۰	۳/۰۴±۰/۹۷ ^{b}	۱۱۲/۵±۱۳/۷ ^{d}	۰/۲۵±۰/۰۴ ^{a}	۰/۸۰±۰/۲۳ ^{a}
مهر	۲۴	۴/۳±۰/۷ ^{b}	۱۰۴۹/۸±۴۲/۱ ^{c}	۱۱:۳۵/۱۲:۲۵	۱۶/۹	۳/۸۴±۰/۶۲ ^{c}	۱۱۵/۵±۱۰/۱ ^{d}	۰/۳۱±۰/۰۸ ^{a}	۰/۸۵±۰/۰۸ ^{a}
آبان	۲۱	۵/۸±۰/۹ ^{b}	۱۲۱۹/۲±۳۲/۹ ^{c}	۱۲:۳۶/۱۱:۲۴	۱۶/۰	۳/۹۱±۰/۹۷ ^{bc}	۱۱۸/۵±۱۲/۲ ^{de}	۰/۳۷±۰/۰۷ ^{a}	۰/۸۷±۰/۰۷ ^{a}
آذر	۲۳	۸/۳±۰/۳ ^{c}	۱۳۶۸/۳±۵۴/۳ ^{d}	۱۳:۱۶/۱۰:۴۴	۱۵/۰	۴/۳۸±۰/۸۸ ^{c}	۱۲۱/۰±۹/۱ ^{e}	۰/۴۵±۰/۰۹ ^{ab}	۰/۹۴±۰/۱۹ ^{ab}
دی	۲۱	۸/۷±۰/۵ ^{c}	۱۳۷۱/۲±۴۵/۱ ^{d}	۱۳:۱۶/۱۰:۴۴	۱۲/۷	۶/۸۶±۰/۹۵ ^{e}	۱۲۵/۹±۱۲/۹ ^{e}	۰/۴۹±۰/۰۹ ^{ab}	۰/۹۷±۰/۱۱ ^{ab}
بهمن	۲۰	۹/۲±۰/۳ ^{d}	۱۴۲۵/۹±۲۳/۱ ^{d}	۱۲:۳۵/۱۱:۲۵	۱۳/۰	۶/۹۹±۱/۴۲ ^{e}	۱۴۳/۴±۸/۳ ^{f}	۰/۵۸±۰/۰۲ ^{ab}	۱/۰۱±۰/۳۲ ^{ab}
اسفند	۲۷	۹/۵±۰/۲ ^{d}	۱۵۸۵/۷±۲۸/۵ ^{e}	۱۱:۳۳/۱۲:۲۷	۱۵/۷	۵/۷۹±۱/۳۸ ^{d}	۱۰۰/۴±۷/۸ ^{c}	۳/۴۹±۰/۰۶ ^{d}	۱/۴۹±۰/۴۶ ^{b}
فروردین	۳۰	۱۰/۳±۰/۰۲ ^{e}	۱۶۰۵/۶±۳۳/۴ ^{f}	۱۰:۲۶/۱۳:۳۴	۱۷/۳	۴/۴۶±۰/۸۶ ^{c}	۹۰/۹±۵/۱ ^{bc}	۲/۶۵±۰/۰۹ ^{c}	۳/۶۷±۰/۴۳ ^{e}
اردیبهشت	۱۰	۴/۳±۰/۲ ^{b}	۴۲۱/۹±۴۳/۱ ^{ab}	۹:۱۶/۱۴:۴۴	۱۸/۲	۰/۳۵±۰/۰۹ ^{a}	۶۵/۵±۳/۹ ^{b}	۲/۲۷±۰/۴۳ ^{c}	۲/۵۵±۰/۳۸ ^{d}
خرداد	۱۳	۱/۱±۰/۲ ^{a}	۲۲۱/۸±۳۶/۷ ^{a}	۸:۲۹/۱۵:۳۱	۱۸/۵	۰/۰۳±۰/۰۱ ^{a}	۳۵/۶±۲/۰ ^{a}	۰/۷۷±۰/۶۱ ^{b}	۲/۳۱±۰/۳۷ ^{c}

($p<0/05$) خود نسبت به بقیه ماه‌ها رسید. اندازه قطر تخمک‌ها از تیر ماه (۵۶۱/۵ μm) به طور غیر معنی‌داری تا شهریور ماه (۷۲۵/۸ μm) افزایش یافت که به ترتیب مطابق با مراحل تکامل تخمدانی اووسیت ثانویه، پرنوکلئوس و کورتیکال آلوئولی بود (جدول۱) (تصویر۱). فرآیند زرده‌سازی تخمک‌ها از مهرماه شروع شد و تا بهمن ماه ادامه داشت (تصویر۱). در طی این مرحله اندازه قطر تخمک از ۱۰۴۹/۸ μm در مهرماه به طور معنی‌داری ($p<0/05$) به ۱۴۲۵/۹ μm در بهمن ماه افزایش یافت و در طی این مرحله شاخص گنادی نیز به طور معنی‌داری ($p<0/05$) از ۴/۳٪ در مهرماه به ۹/۲٪ در بهمن ماه روند افزایشی نشان داد (جدول۱).

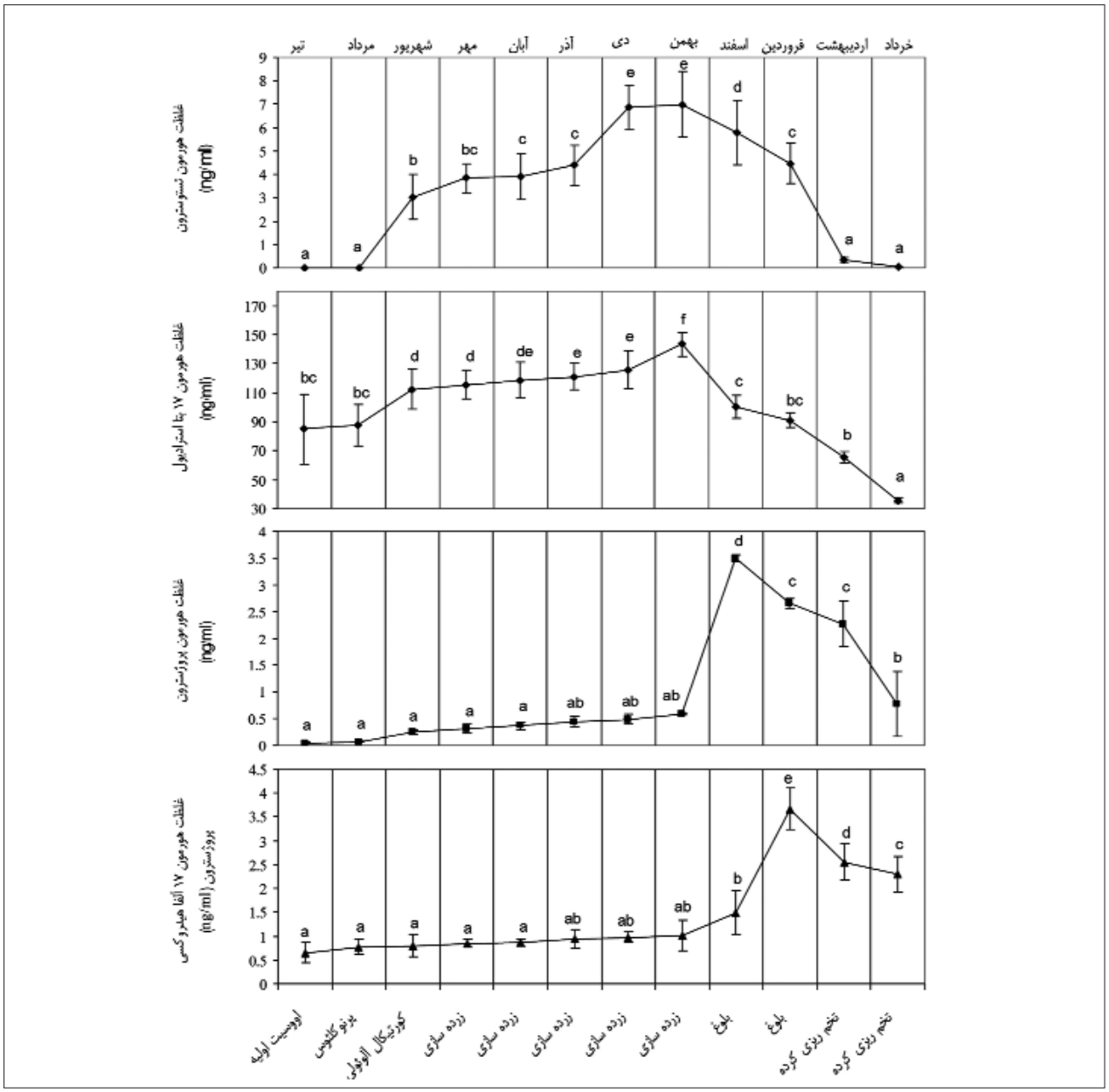
غلظت هورمون‌های استروئیدی (تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) در طی مرحله‌های پیش زرده‌سازی و زرده‌سازی: در طی مرحله پیش‌زرده‌سازی (از تیرماه تا مرداد ماه) که شامل مرحله‌های اووسیت ثانویه و پرنوکلئوس می‌باشد، در غلظت هورمون‌های استروئیدی تستوسترون (از ۰/۰۰۵ng/mL به ۰/۰۰۷)، ۱۷ بتا استرادیول (از ۸۵/۱ng/mL به ۸۷/۷)، پروژسترون (از ۰/۰۵ ng/mL به ۰/۰۷) و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (از ۰/۶۵ng/mL به ۰/۷۷) پلاسمای خون تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (تصویر۱).

در طی مرحله زرده‌سازی (از شهریور ماه تا بهمن ماه) که شامل مرحله کورتیکال آلوئولی و مراحل زرده‌سازی است، افزایش معنی‌دار ($p<0/05$) در غلظت‌های هورمون‌های استروئیدی تستوسترون (از ۳/۰۴ng/mL به ۶/۹۹) و ۱۷ بتا استرادیول (از ۱۱۲/۵ng/mL به ۱۴۳/۳) پلاسمای نمونه‌برداری شده مشاهده شد (تصویر۱)، این در حالی بود که در غلظت هورمون‌های پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (تصویر۱). در طی مرحله زرده‌سازی بیشترین مقدار غلظت هورمون تستوسترون در طی ماه‌های دی و بهمن به‌دست آمد و همین روند با کمی تأخیر در مورد غلظت هورموت استرادیول وجود داشت و این هورمون در بهمن ماه به غلظت بیشینه خود رسید.

غلظت هورمون‌های استروئیدی (تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) در طی مرحله بلوغ اووسیت: غلظت هورمون‌های پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون به طور غیر معنی‌دار در طی مرحله‌های پیش زرده‌سازی تا زرده‌سازی افزایش یافتند و در طی مرحله بلوغ به بیشترین میزان غلظت خود رسیدند (تصویر۱). غلظت هورمون پروژسترون پلاسمای خون در اسفند ماه (۳/۴۹ ng/mL) به طور معنی‌داری ($p<0/05$) بیشتر از بقیه ماه‌های نمونه‌بردای بود، در حالی که غلظت هورمون ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (۳/۶۷ ng/mL) با یک تأخیر زمانی بیشترین مقدار معنی‌دار ($p<0/05$) خود را در فروردین ماه نشان داد و همچنان در ماه‌های اردیبهشت و خرداد در غلظت‌های معنی‌دار ($p<0/05$) بیشتری نسبت به ماه‌های پیش‌زرده‌سازی و زرده‌سازی (از تیر ماه تا بهمن ماه) مشاهده شد.

بحث

بررسی و ارزیابی چرخه هورمون‌های جنسی استروئیدی (تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون) در آبزیان به خصوص گونه‌های ماهی به عنوان گامی اولیه در



تصویر ۱. مقادیر میانگین (±انحراف معیار) غلظت (نانوگرم بر میلی لیتر) هورمون‌های جنسی استروئیدی تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در پلاسمای خون ماهیان ماده خواجوی صید شده از رودخانه اخلمد در مراحل مختلف رشد تخمدانی در طی دوره نمونه‌برداری (خراسان رضوی، شمال‌شرق ایران).

زمینه‌هایی همچون ارزیابی و مدیریت ذخایر آبزیان با هدف زیست‌شناسی حفاظت، مقوله‌های مرتبط با مدیریت زهکش آلاینده‌های زیست محیطی مؤثر بر چرخه تولید مثلی به سیستم‌های آبی و در نهایت اهلی‌سازی گونه جهت بازسازی ذخایر و یا تکثیر مصنوعی مطرح می‌باشد. بررسی چرخه هورمون‌های جنسی مذکور از یک طرف به همراه مطالعات تکمیلی بافت‌شناسی تخمدان به شناسایی استراتژی تخم‌ریزی (یکبار یا چند باره تخم‌ریزی) کمک شایانی می‌نماید. هرچند توجه به محرک‌های خارجی (دما، طول دوره نوری، شفافیت آب، میزان دبی آب، شرایط فیزیکوشیمیایی آب، غذا و ...) به عنوان عوامل آغازگر چرخه تولید مثلی نکات ارزشمندی در بررسی فرآیند چرخه تولید مثلی محسوب می‌شوند (۱۵). در این ارتباط، اطلاعاتی در رابطه با چرخه تولید مثلی ماهی خواجو در دسترس نیست.

Tyler و Sumpter در سال ۱۹۹۶ رشد تخمدان ماهیان استخوانی را به سه مرحله رشد اولیه (پیش زرده‌سازی)، رشد اوسیت (زرده سازی) و بلوغ اوسیت تقسیم نمودند. نوسانات در غلظت هورمون‌های استروئیدی در حین مرحله زرده‌سازی و بلوغ به استراتژی تخم‌ریزی بستگی دارد. King و Pankhurst در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند در گونه‌های ماهی با الگوی توسعه همزمان گنادی (همانند کپورماهیان و آزادماهیان) که دارای یک یا

حداکثر دو پیک فعالیت با تخم‌ریزی سالیانه یا دو سال یکبار هستند، تنها یک دسته تخمک در تخمدان آنها مشاهده می‌شود (۸). در این الگو، غلظت هورمون‌های جنسی در مرحله قبل از زرده‌سازی کم است. در طی مرحله زرده‌سازی غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول به همراه هورمون تستوسترون افزایش می‌یابد و در انتهای مرحله زرده‌سازی به حداکثر مقدار خود می‌رسد و در مرحله بلوغ و سیال شدن تخمک‌ها (اوولاسیون) غلظت دو هورمون مذکور سریعاً کاهش می‌یابد. در این زمان، غلظت هورمون‌های محرک بلوغ (۱۷، ۲۰ بتا دی هیدروکسی-۴- پرگن-۳- یک) سریعاً افزایش می‌یابد ولی در ارتباط با استراتژی توسعه گناد در ماهیانی با توسعه گامتی غیرهمزمان، الگو متغیرتر است و فصل تخم‌ریزی وسیع‌تری با چرخه‌های چندگانه بلوغ گامت و تخم‌ریزی مشاهده می‌شود (۸). در این ارتباط، Rinchard و Kestemont در سال ۱۹۹۶ و Nikoo و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که غلظت هورمون‌های جنسی تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول در طی فرآیند بلوغ نهایی تخمک (سیال شدن) در گونه ماهیانی همانند ماهی کولی، *Alburnus alburnus*؛ سیم‌پرک *Blicca bjoerkna* و سیاه کولی، *Vima vimba* کاهش نمی‌یابد.

ماهی خواجوی ماده در مطالعه حاضر استراتژی تولید مثلی یکباره تخم‌ریزی را نشان داد و تا انتهای فروردین ماه واقعه تخم‌ریزی تکمیل شد. در این ماه بیشترین میزان شاخص گنادی (۱۰/۳٪) و قطر تخمک (۱۶۰۵/۶μm) مشاهده گردید. این در حالی بود که در فروردین ماه دمای آب، ۱۷/۳°C و طول دوره روشنایی، ۱۳:۳۴ بود. Zabihi و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند که تمرکز زمانی تخم‌ریزی در هامون ماهی، *Schizothorax zarudnyi* نیز از اسفند ماه تا فروردین ماه و در دامنه تقریبی ۱۴°C تا ۱۸°C می‌باشد. محققین مذکور استنتاج نمودند که استراتژی تخم‌ریزی در هامون ماهی، یکبار در سال است. غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در طی رشد اولیه شروع به افزایش نمود و به ۱۱۲/۵ng/mL در مرحله کورتیکال آلوئولی رسید و در انتهای مرحله زرده‌سازی (بهمن ماه، ۱۴۳/۸ng/mL) به حداکثر مقدار خود افزایش یافت و به طور معنی‌داری در حین بلوغ روندی کاهشی نشان داد. این مطلب بر اساس گزارش‌های Tyler و Sumpter در سال ۱۹۹۶ و Venkatesh و همکاران در سال ۱۹۹۰ مطابق با نقش تائید شده هورمون ۱۷ بتا استرادیول در تحریک ساخت پیش‌ساز پروتئین زرده (ویتلوژنین) در کبد است (۲۲،۲۳). Nagahama در سال ۱۹۹۴ اعلام نمود که غلظت زیاد هورمون ۱۷ بتا استرادیول پلاسما در طی مرحله رشد اولیه تخمک می‌تواند مربوط به بازسازی (تکثیر) سلول‌های زاینده باشد و غلظت اندک هورمون‌های استروئیدی در حین مرحله رشد اولیه (پیش زرده‌سازی) مربوط به مستقل بودن گناد و تروپینی این هورمون‌ها در این مرحله است (۱۲). Kagawa و همکاران در سال ۱۹۸۴ و Heidari و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش نمودند که تغییرات غلظتی تقریباً مشابه هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول پیشنهاد می‌نماید که هورمون تستوسترون می‌تواند به عنوان پیش‌ساز هورمون ۱۷ بتا استرادیول مشابه با برخی گونه‌های دیگر کپورماهیان همچون ماهی کارأس، *Carassius auratus* و ماهی سفید، *Rutilus frisii kutum* مطرح باشد (۵،۷).

غلظت هورمون‌های پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در طی مرحله بلوغ تخمدانی ماهیان خواجو به طور معنی‌داری افزایش یافت. استروئیدهای C21 همچون ۱۷ آلفا، ۲۰ بتا- دی هیدروکسی-۴- پرگنن-۳- یک (17a, 20b-DP)، ۱۷، بتا، - تری هیدروکسی-۴- پرگنن-۳- یک (20b-S)، ۲۰- بتا دی هیدروپروژسترون و ۱۱- دئوکسی‌کورتیکوسترون (DOC) به عنوان بالقوه‌ترین محرک‌های استروئیدی تجزیه هسته زایشی مطرح می‌باشند (۱۲،۱۳). در بین هورمون‌های فوق، هورمون 17a, 20b-DP مؤثرترین استروئید در بیشتر گونه‌های ماهیان استخوانی است (۱۳). در این ارتباط، هورمون ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون، هورمون پیش‌ساز 17a, 20b-DP می‌باشد و به صورت غیر مستقیم به فرآیند بلوغ نهایی تخمک کمک می‌نماید (۱۳). افزایش همزمان غلظت دو هورمون فوق در برخی ماهیان استخوانی همچون کارأس، *Carassius auratus* توسط Kobayashi و همکاران در سال ۱۹۸۶، *Chalcalburnus auratus* توسط Scott و همکاران در سال ۱۹۸۳ و *Acheilognathus rhombea* توسط Shimizu و همکاران در سال ۱۹۸۵ مشاهده شده است. در ماهی خواجو، بیشترین غلظت هورمون ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون (۳/۶۷ng/mL) در طی بلوغ نهایی تخمک (در حال تخمریزی) در فروردین ماه مشاهده شد و می‌تواند به عنوان مهمترین هورمون مرتبط با بلوغ نهایی تخمک (اوولاسیون) مطرح باشد. غلظت هورمون پروژسترون در پلاسمای ماهیان خواجوی ماده در اسفندماه (۳/۴۹ ng/mL) به بیشترین مقدار خود رسید و سپس با افزایش غلظت هورمون آلفا هیدروکسی پروژسترون، غلظت این هورمون به طور معنی‌داری کاهش یافت. این روند نشان دهنده این مطلب است که هورمون پروژسترون می‌تواند به عنوان پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی دیگر نیز مطرح باشد (۲۰). این امر در مورد مولدین ماده ماهی سفید به عنوان جنسی از خانواده کپورماهیان توسط Heidari و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز مطرح شد (۵). بلوغ نهایی تخمک و متعاقباً سیال شدن تخمک‌ها (اوولاسیون) در فصل تخم‌ریزی در ماهی خواجو مشابه گونه *Schizothorax niger* گزارش شده توسط Malhotra در سال ۱۹۷۰ می‌باشد (۱۰). در این ماهی نیز تخمک‌ها به بیشترین اندازه خود (۱۵۸۲-۱۶۰۰μm) در طی اسفند ماه تا فروردین ماه می‌رسند.

در مطالعه حاضر رشد تخمدانی و تغییر در غلظت هورمون‌های استروئیدی پلاسما در ماهی خواجو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که غلظت هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول مرتبط با مرحله زرده‌سازی و غلظت هورمون‌های پروژسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون مرتبط با بلوغ تخمک بود. بهترین زمان تکثیر

مصنوعی این ماهی در ماه‌های اسفند تا فروردین در طیف دمایی $17/3^{o}C$-$15/7$ و با میزان روشنایی ۱۲:۲۷ تا ۱۳:۳۴ قرار دارد.

تشکر و قدردانی

از کلیه کارشناسان محترم آزمایشگاه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد و آزمایشگاه استاندارد جهاد دانشگاهی مشهد در تأمین تجهیزات و همکاری لازم در زمان نمونه برداری و بهینه سازی کیت‌های سنجش هورمون‌های استروئیدی صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Abdoli, A., Rasooli, P., Yazdandad Bibalan, H., Abdoli, L. (2007) Study on some biological aspects of *Schizothorax pelzami* in Laeensoo in the northeast of Iran. Environ Sci. 4: 69-76.
2. Coad, B.W. (1998) Systematic biodiversity in the fresh water fishes of Iran. Ital J Zool. 65: 101-108.
3. Erdogan, O., Haliloglu, H.I., Ciltas, A. (2002) Annual cycles of serum gonadal steroids and serum lipids in *Capoeta capoeta umbla*, Guldenstaedt, 1772 (Pisces: Cyprinidae). Turk J Vet Anim Sci. 26: 1093-1096.
4. Gharaee, A., Rahdari, A.A., Ghafari, M. (2011) The reproduction of sistan sefidac mahi, *Schizothorax zarudnyi* using synthetic hormones. J Mar Sci Technol. 10: 1-11.
5. Heidari, B., Roozati, S.A., Yavari, L. (2010) Changes in plasma levels of steroid hormones during oocyte development of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky, 1901). Anim Reprod. 7: 373-381.
6. Jing, F., Min, H., Zhong-Jun, D., Kang Cheng, P. (2007) Histological studies on the ovary development of Schizothorax prenanti. Sich Nongye Dax Xu. 25: 88-93.
7. Kagawa, H., Young, G., Nagahama, Y. (1984) In vitro estradiol-17β and testosterone production by ovarian follicles of the goldfish, *Carassius auratus*. Gen Comp Endocrinol. 54:139-143.
8. King, H.R., Pankhurst, N.W. (2003) Ovarian growth and plasma sex steroid and vitellogenin profiles during vitellogenesis in Tasmanian female Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 219: 797-813.
9. Kobayashi, M., Aida, K., Hanyu, U. (1986) Annual changes in plasma levels of gonadotropin and steroid hormones in goldfish. Bull Jpn Soc Sci Fish. 52: 1153-1158.
10. Malhotra, Y.R. (1970) Studies on the seasonal changes in the ovary of *Schizothorax niger* Heckel from Dal Lake in Kashmir. Jpn J Ichthyol. 17: 110-116.
11. Mirza, M.R. (1988) A note on the systematic of the genus Schizothoraz Heckel, 1993 (Pisces: Cyprinidae). Pak J Zool. 20: 312-314.
12. Nagahama, Y. (1994) Endocrine regulation of gametogenesis in fish. Int J Dev Biol. 38: 217-229.
13. Nagaham, Y., Yamashita, M. (2008) Regulation of oocyte maturation in fish. Dev Growth Differ. 50: 195-219.
14. Nikoo, M., Rahmani, H., Ghomi, M.R., Asadollahpour, A., Zarei, M., Bavand, E. (2010) Serum sex steroid hormones (testosterone, 17β-estradiol and progesterone) of *Caspian vimba*, *Vimba vimba* and Shemaya, *Alburnus chalcoides* during spawning period. J Fisher. 63: 49-56.
15. Patterson, D.A., Macdonald, J.S., Hinch, S.G., Healy, M.C. Farrell, P. (2004) The effect of exercise and captivity on energy partitioning, reproductive maturation and fertilization success in adult Sockeye salmon. J Fish Biol. 64: 1039-1059.
16. Pauly, D., Froese, R. (2001) Fish stocks. In: Encyclopedia of Biodiversity. Levin, S.A. (ed.). (2nd ed.). Academic Press. San Diego, USA. p. 801-814.
17. Poustim I. (1994) Comparative Histology and Histo-Technique. (1st ed.). Tehran University Press. Tehran, Iran.
18. Rinchard, J., Kestemont, P. (1996) Comparative study of reproductive biology in single and multiple-spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features. J Fish Biol. 49: 883-894.
19. Rinchard, J., Dabrowski, K., Ottobre, J. (2001) Sex steroids in plasma of lake white fish *Coregonus clupeaformis* during spawning in Lake Erie. Comp

Biochem Physiol. 129: 65-74.

20. Scott, A.P., Sumpter, J.P., Hardiman, P.A. (1983) Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri Richardson*). Gen Comp Endocrinol. 49: 128-134.
21. Shimizu, A., Aida, K., Hanyu, I. (1985) Endocrine profiles during the short reproductive cycle of an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*. Gen Comp Endocrinol. 60: 361-371.
22. Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1996) Oocyte growth and development in teleosts. Rev Fish Biol Fish. 6: 287-318.
23. Venkatesh, B., Tan, C.H., Lam, T.J. (1990) Steroid hormone profile during gestation and parturition of the guppy (*Poecilia reticulate*). Gen Comp Endocrinol. 77: 476-483.
24. Zabihi, M., Poorkazemi, M., Kazemi, R., Kamali, A. (2003) Determination of spawning time and the changes of reproduction cycle of hamon mahi (*Schizothorax zarudnyi*) on the basis of gonadosomatic index, hepatic index and condition factor. Iran J Fish Sci J. 12: 41-56.
25. Zakipour Rahimabadi, E., Arshadi, A., Zare, P., Heydari, M.R. (2008) The comparative study of muscle chemical composition of *Schizothorax zarudnyi* and *Schizocypris altidorsalis* in different seasons and sex. J Fish. 3: 15-20.
26. Zar, J.H. (1984) Biostatistical Analysis. (2nd ed.) Englewood Cliffs, Prentice Hall, New Jersey, USA.

Study of plasma sex steroid hormones in female snow trout (*Schizothorax pelzami*) within a year

Safari, O.[1*], Bagheri Dorbadam, J.[2], Naserizadeh, M.[3]

[1]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad-Iran*

[2]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Golestan- Iran*

[3]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj-Iran*

(Received 10 September 2014, Accepted 14 November 2014)

Abstract:

BACKGROUND: Snow trout (*Schizothorax pelzami*) is an economically important species endemic in the north east of Iran. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to investigate the reproduction cycle, time and temperature range of spawning. **METHODS:** The biometry of 243 fishes was measured and the ovarian development stages and plasma sex steroid hormones (testosterone, 17β- estradiol, progesterone and 17α-OH-progesterone) were measured during 12-months sampling. **RESULTS:** The ($p<0.05$) maximum significant gonadosomatic index (10.3 %) and ova diameter (1605.6 μm) were observed during April. The results showed that the concentration of sex hormones testosterone and 17β- estradiol began to increase significantly ($p<0.05$) during cortical alveoli stage (in September) and reached the maximum level (6.99 and 143.4 ng/mL, respectively) in February with the mean water temperature 13 ^{o}C at the end of vitelogenesis stage. The progesterone concentration began to increase at the end of vitellogenesis stage and reached ($p<0.05$) maximum significant level (3.49 ng/mL) in March. The concentration of 17α-OH-progesterone increased significantly ($p<0.05$) with a lag phase compared to progesterone in February. **CONCLUSIONS:** The results of present study showed that snow trout had a single-spawning strategy and sex steroid hormones testosterone and 17β- estradiol involved in the vitellogenesis stage and progesterone and 17α-OH-progesterone involved in the final ova maturation. The best spawning time was within March to April with temperature range 15.7-17.3 ^{o}C.

Key words: plasma, sex steroid hormones, snow trout, spawning times

Figure Legends and Table Captions

Table1. The mean (± SD) of gonadosomatic index (%), ova diameter (mm) and the sex hormones (ng/mL) of testosterone, 17β- estradiol, progesterone and 17β-OH-progesterone of caught female snow trout during different sampling times in the Akhlamad River (Khorasan Razavi, Northeast of Iran). Significant differences ($p<0.05$) are marked by different letters.

Figure 1. The mean (± SD) concentrations of the plasma sex steroid hormones (ng/mL) of testosterone, 17β- estradiol, progesterone and 17β-OH-progesterone of caught female snow trout in the Akhlamad River during different sampling times with different ovary growth stages (Khorasan Razavi, Northeast of Iran).

***Corresponding author's email: omidsafari@um.ac.ir, Tel: 0513-8788805, Fax: 0513-8805466**