Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(2):109-116

Effect of Different Levels of Dietary Arachidonic Acid on Calcium, Thyroid Hormone, and Cortisol Levels in Vitellogenesis and Maturation Stages of Female Blue Gourami (*Trichopodus trichopterus, Pallas, 1770*)

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Masoudi Asil Sh. [1] *PhD*,
Abedian Kenari A.M. * *PhD*,
Rahimi Mianji Gh.[2] *PhD*,
Van Der Kraak G.[3] *PhD*

How to cite this article
Masoudi Asil Sh, Abedian Kenari A M, Rahimi Mianji Gh, Van Der Kraak G. Effect of Different Levels of Dietary Arachidonic Acid on Calcium, Thyroid Hormone, and Cortisol Levels in Vitellogenesis and Maturation Stages of Female Blue Gourami (*Trichopodus trichopterus, Pallas, 1770*). Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(2):109-116.

*Fisheries Department, Marine Science Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran
[1]Fisheries Department, Marine Science Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran
[2]Animal Science Department, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran
[3]Integrative Biology Department, Biological Science Faculty, University of Guelph, Ontario, Canada

Correspondence
Address: Marine Science Faculty, Tarbiat Modares University, Imam Reza Boulevard, Imam Khomeini Street, Noor City, Mazandaran, Iran
Phone: +98 (11) 44553101
Fax: +98 (11) 44554982
aabedian@modares.ac.ir

Article History
Received: October 3, 2017
Accepted: December 12, 2017
ePublished: June 21, 2018

ABSTRACT

Aims Arachidonic acid is an essential fatty acid that plays an important role in the fish reproduction process by regulating the function of the intravenous system, including the synthesis of steroid hormones. The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of dietary arachidonic acid on calcium, thyroid hormone, and cortisol levels in vitellogenesis and maturation stages of female blue gourami (*Trichopodus trichopterus*).

Materials & Methods In this applied research, 150 one-month blue gourami were distributed among 15 aquariums (3 replicates for each treatment) and fed with 5 different dietary ARA levels (0.02, 0.53, 1.05, 1.6 and 2.12% of diet) until the completion of maturation over 5 months. After they reached sexual maturity, 12 females from each treatment were selected; calcium level in plasma, cortisol concentrations in serum, and thyroid hormones, triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4), were measured in ovary in both vitellogenesis and maturation stages by photometry and ELISA methods, respectively. The data were analyzed by one-way ANOVA after Kolmogorov-Smirnov test. Duncan's multiple range test was used at 5% level for a meaningful comparison between the means. Pearson correlation coefficient was used to calculate the relationship between arachidonic levels of diet and the measured parameters. All analyses were performed by SPSS 22 software.

Findings In the vitellogenesis stage, in the treatments with high arachidonic levels, calcium ion had the highest and cortisol hormone had the lowest levels ($p<0.05$). The level of cortisol in the maturation stage was higher than that of the vitellogenesis and also increased with increasing arachidonic levels. The level of T_3 in the ovaries of fish in both stages of vitellogenesis and maturation increased significantly with increasing ARA levels ($p<0.05$). The level of T_4 in the ovaries of the fish did not have a significant relationship with the increase in ARA levels in the vitellogenesis stage, while in the maturation stage, with increasing ARA, the amount of storage of this hormone significantly increased ($p<0.05$).

Conclusion Using high levels of arachidonic in the reproduction stage can increase the level of calcium and thyroid hormones and, as a result, improve the vitellogenesis. In the maturation stage, increasing arachidonic levels up to 1.6% increases the levels of cortisol.

Keywords Arachidonic Acid; Calcium; Cortisol; Thyroid; Blue gourami

CITATION LINKS

[1] Effect of broodstock nutrition on ... [2] Effects of graded levels of arachidonic acid ... [3] Effect of n-3 and n-6 fatty acids in ... [4] Mechanisms of Action of Free Arachidonic ... [5] Effects of dietary arachidonic acid on ... [6] The use of immunostimulants in fish larval ... [7] The Effects of dietary long-chain essential fatty acids on growth and stress tolerance in pikeperch larvae ... [8] Effects of dietary arachidonic acid ... [9] Corticosteroids: Friends or foes ... [10] Interaction between cortisol ... [11] Dynamic actions of arachidonic ... [12] Thyroid receptor subtypes: Structure ... [13] Morphological and functional development ... [14] Haemorrhage and adrenocortical ... [15] Thyroid hormone profile during annual reproductive ... [16] Oogenesis control in multispawning blue gourami ... [17] Reproduction control in multi-spawning ... [18] The influence of dietary arachidonic acid on growth ... [19] A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal ... [20] 5 Vitellogenesis and Oocyte ... [21] Effects of dietary fatty acids on production ... [22] Arachidonic acid and ion channels ... [23] Arachidonic acid activates release of calcium ions from reticulum via ryanodine receptor channels ... [24] Seasonal changes in CRF-I and urotensin i transcript levels in masu salmon ... [25] The effect of capture and handling stress on plasma steroid levels and gonadal condition in ... [26] Transcriptional interference between glucocorticoid receptor and estradiol receptor mediates ... [27] Hormonal changes during induces ovulation of the carp ... [28] Measurement and regulation of thyroidal status ... [29] Thyroid hormone metabolism may depend ... [30] 15-Deoxy-Δ12, 14-Prostaglandin J2 is a ligand ... [31] 15-Deoxy-Δ12,14-prostaglandin J2facilitates thyroglobulin production by ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

اثر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک جیره بر میزان کلسیم، هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول در مراحل زردەسازی و رسیدگی نهایی مولدین مادەماهی گورامی آبی (*Trichopodus trichopterus*, Pallas, 1770)

شیما مسعودی‌اصیل PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران، ایران
عبدالمحمد عابدیان‌کناری* PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران، ایران
قدرت‌الله رحیمی‌میانجی PhD
گروه علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران، ایران
گلن ون در کرک PhD
گروه بیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه گلف، انتاریو، کانادا

چکیده
اهداف: اسید آراشیدونیک از اسیدهای چرب ضروری بوده که نقش مهمی در فرآیند تولیدمثل ماهیان از طریق تنظیم عملکرد سیستم درون‌ریز از جمله سنتز هورمون‌های استروئیدی دارد. هدف این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک جیره بر میزان کلسیم، هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول در مراحل زردەسازی و رسیدگی نهایی مولدین مادەماهی گورامی آبی بود.
مواد و روش‌ها: در این تحقیق کاربردی تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی گورامی آبی (*Trichopodus trichopterus*) در میان ۱۵ آکواریوم (۳ آکواریوم در هر تیمار) توزیع و تا رسیدن به بلوغ جنسی به مدت ۵ ماه از جیره‌های آزمایشی شامل سطوح مختلف اسید آراشیدونیک (۰/۰۲، ۰/۵۳، ۱/۰۵، ۱/۶، ۲/۱۲% از جیره) تغذیه کردند. پس از رسیدگی جنسی تعداد ۱۲ ماهی ماده از هر تیمار انتخاب و میزان یون کلسیم در پلاسما با روش فتومتری و میزان هورمون کورتیزول در سرم و میزان هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) ذخیره‌شده در تخمدان با روش الایزا در دو مرحله زردەسازی و رسیدگی نهایی اندازه‌گیری شدند. تمامی داده‌ها پس از تست نرمال‌بودن با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه معنی‌داری بین میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۵% استفاده شد. برای محاسبه ارتباط میان سطوح آراشیدونیک جیره و پارامترهای سنجیده‌شده از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. کلیه آنالیزها توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد.
یافته‌ها: در مرحله زردەسازی در تیمارهای با سطوح بالای آراشیدونیک میزان یون کلسیم بالاترین مقادیر و هورمون کورتیزول کمترین سطح را داشتند ($p<0/05$). میزان هورمون کورتیزول در مرحله رسیدگی نهایی نسبت به مرحله زردەسازی بالاتر بوده و همچنین با افزایش سطوح آراشیدونیک روند افزایشی داشت. میزان هورمون T_3 در تخمدان ماهیان در هر دو مرحله زردەسازی و رسیدگی نهایی با افزایش سطوح ARA افزایش معنی‌داری داشت ($p<0/05$). میزان هورمون T_4 در تخمدان ماهیان در مرحله زردەسازی با افزایش سطح ARA ارتباط معنی‌داری نداشت، در حالی که در مرحله رسیدگی نهایی با افزایش ARA جیره میزان ذخیره این هورمون به طور معنی‌داری افزایش یافت($p<0/05$).
نتیجه‌گیری: استفاده از سطوح بالای آراشیدونیک در مرحله مولدسازی می‌تواند باعث افزایش سطح کلسیم و هورمون‌های تیروئیدی و درنتیجه بهبود زردەسازی شود. در مرحله رسیدگی نهایی نیز افزایش آراشیدونیک تا سطح ۱/۶% باعث افزایش سطح کورتیزول می‌شود.
کلیدواژه‌ها: اسید آراشیدونیک، کلسیم، کورتیزول، تیروئید، گورامی آبی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۱
*نویسنده مسئول: aabedian@modares.ac.ir

مقدمه

شرایط تغذیه‌ای از جمله میزان و ترکیب لیپیدها و اسیدهای چرب اثرات مستقیم روی کارآیی تولیدمثلی ماهیان مولد دارند[1]. علی‌رغم توانایی ماهیان آب شیرین در طویل‌سازی و غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب بلند زنجیره چندغیراشباع (HUFA)، برخی مطالعات اخیر به نقش کلیدی این گروه از اسیدهای چرب، به‌خصوص اسید آراشیدونیک (ARA) در تنظیم عملکرد فیزیولوژیک تولیدمثل در ماهیان تاکید کرده‌اند[2]. اسید آراشیدونیک یکی از اسیدهای چرب غیراشباع ضروری بوده که در واکنش به تحریک هورمونی در تعداد زیادی از بافت‌ها از فسفولیپید غشاها آزاد شده و به‌همراه مشتقات حاصل از آن (شامل ایکوزانوئیدها) در تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیک از جمله تنظیم عملکرد سیستم درون‌ریز، رسیدگی اووسیت، القای اوولاسیون از طریق سنتز پروستاگلاندین‌ها و تولید هورمون‌های استروئیدی نقش دارد[3].
یون کلسیم یکی از الکترولیت‌های مهم در فرآیند تولیدمثل است. این یون در فرآیند زردەسازی نقش حیاتی دارد، چراکه هنگام القای زردەسازی توسط هورمون استرادیول مقادیر بالایی از این یون در تشکیل ساختار ویتلوژنین به کار می‌رود. نقش اسید آراشیدونیک در القای تولید هورمون‌های استروئیدی اثبات شده است[4, 5]، در نتیجه می‌توان ارتباط میان سطح اسید آراشیدونیک جیره و سطح کلسیم پلاسمای مولدین را در مراحل مختلف رسیدگی در ماهیان بررسی نمود.
تولید هورمون کورتیزول که یکی از هورمون‌های مهم گلوکوکورتیکوئیدی در ماهیان بوده و نقش مهمی در مقابله با شرایط استرس‌زا دارد، توسط محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- بین‌کلیوی کنترل می‌شود[6]. برخی مطالعات نشان دادند که سطح اسید آراشیدونیک جیره در تغییر سطح پایه این هورمون یا در میزان مقاومت به استرس در گونه‌های مختلف ماهیان نقش دارد [7, 8]. همچنین حضور گیرنده‌های کورتیکوستروئیدی در بافت‌های تولیدمثلی شامل تخمدان و بیضه اثبات شده است؛ احتمال ارتباط مثبت یا منفی میان سطح این هورمون و کارآیی تولیدمثل وجود دارد، اما تحقیقات روی ماهیان در این زمینه بسیار محدود است[9]. *نانگالما* و *موبرگ* در سال ۱۹۹۱ به بررسی ارتباط میان کورتیزول و اسید آراشیدونیک بر ترشح هورمون LH در هیپوفیز گوسفند پرداختند[10]. تحقیقات پیشین نشان دادند اسید آراشیدونیک می‌تواند باعث افزایش حساسیت سلول‌های هیپوفیز به هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها و در نتیجه افزایش ترشح LH شود[11].
نقش احتمالی هورمون‌های تیروئیدی در تولیدمثل ماهیان طی دهه‌های مختلف بررسی شده است[12, 13]. علی‌رغم مطالعات گوناگون در زمینه نقش هورمون‌های تیروئیدی در تولیدمثل، مکانیزم دقیق تاثیر این هورمون‌ها شامل هورمون محرک ترشح هورمون‌های تیروئیدی (TSH)، تری‌یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) هنوز ناشناخته باقی مانده است. برخی مطالعات در این زمینه روی دام و طیور صورت گرفته که به بررسی اثر تزریق اسید آراشیدونیک در شرایط استرسی و ارتباط آن با سطوح هورمون‌های تیروئیدی پرداختند[14]. با توجه به اینکه در برخی گونه‌ها مشاهده شده فعالیت غده تیروئید و سطح هورمون‌های تیروئیدی طی تولیدمثل افزایش می‌یابد[15]، و از آنجا که نقش اسید آراشیدونیک در سیستم درون‌ریز تولیدمثلی اثبات شده است، احتمال می‌رود سطح این اسیدچرب بر سطح این هورمون‌ها نیز اثرگذار باشد. تا به حال مطالعه‌ای به بررسی ارتباط اسیدهای چرب از جمله اسید آراشیدونیک و سطح هورمون‌های تیروئیدی در ماهیان و ارتباط آن با تولیدمثل نپرداخته است.

مشکلات مطالعه روی گونه‌های مولد تجاری، کمیاب و در معرض انقراض از علل کمبود اطلاعات در زمینه فیزیولوژی تولیدمثل ماهیان مولد است که با توجه به تشابه مسیرهای درون‌ریز در اغلب ماهیان برای حل این مشکل می‌توان از گونه‌های مدل استفاده کرد. ماهی گورامی آبی (*Trichopodus trichopterus*) یکی از گونه‌هایی است که در سال‌های اخیر به‌عنوان مدلی ایده‌آل برای مطالعات روی مسیرهای درون‌ریز و تنظیم تولیدمثل و همچنین مطالعات رفتارشناسی در ماهیان خانواده آنابانتیده مورد توجه قرار گرفته است[16]. این ماهی دارای مدل تولیدمثلی تخم‌ریزی چندمرحله‌ای و وابسته به نر بوده و همچنین تکامل تخمدان در ماده‌ها به‌صورت غیرهمزمان است[17].

مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی از مراحل مهم برای بررسی تغییرات سطوح مواد درون‌ریز مرتبط با سیستم تولیدمثل در این گونه و دیگر ماهیان هستند.

با توجه به اینکه اطلاعات در زمینه ارتباط اسید آراشیدونیک و کلسیم در تولیدمثل محدود بوده و تاکنون مطالعه‌ای درباره ارتباط اسید آراشیدونیک و کورتیزول و تاثیر همزمان آنها بر تولیدمثل در ماهیان صورت نگرفته، به همین منظور هدف این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک جیره بر میزان کلسیم، هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول در مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی مولدین ماده‌ماهی گورامی آبی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه کاربردی از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی استفاده شد.

تهیه جیره‌های آزمایشی: تیمارهای این مطالعه شامل ۵ جیره آزمایشی بود که از نظر میزان انرژی (۲۰/۴۱کیلوژول بر گرم) و پروتئین (۴۴/۷%) یکسان و از لحاظ درصد اسید آراشیدونیک در کل اسیدهای چرب با یکدیگر تفاوت داشتند. جیره‌ها به‌منظور رسیدن به سطوح صفر (کنترل)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲% طراحی شدند که برای تنظیم سطوح اسید آراشیدونیک مورد نظر در جیره‌ها از جایگزینی روغن آفتاب‌گردان با روغن وودار حاوی ۴۰% اسید آراشیدونیک (DSM Food Specialties؛ هلند) استفاده شد. پس از آنالیز اسید چرب جیره‌ها، سطوح متناظر ۰/۰۲ (کنترل)، ۰/۵۳، ۱/۰۵، ۱/۶ و ۲/۱۲% اسید آراشیدونیک (از کل جیره) به دست آمد. پودر ماهی و پودر سویای استفاده‌شده در جیره طبق روش *مسعودی‌اصیل* و همکاران[18] توسط هگزان چربی‌زدایی و میزان چربی آنها نزدیک به صفر (۰/۲%) رسید. پس از آنالیز مواد اولیه، جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار لیندو (Lindo, releases, 6.11998) فرموله شدند. اقلام و فرمولاسیون جیره ارایه شده است (جدول ۱).

استخراج چربی و سنجش اسیدچرب: استخراج چربی از جیره‌های آزمایشی به‌منظور آنالیز اسید چرب براساس روش *فولچ* و همکاران [19] انجام شد. پس از متیل‌استرکردن چربی‌های استخراجی، پروفیل اسید چرب آنها توسط دستگاه گاز کروماتوگراف مدل DNAI-1000 (Cologno Monzese؛ ایتالیا) تعیین شد. با مقایسه زمان ابقا در هر یک از نمونه‌ها و استاندارد تجاری GLC-68D (Nu Chek Prep؛ ایالات متحده) هریک از اسیدهای چرب متیل‌استرشده شناسایی و یک پیک مجزا در نمودار کروماتوگراف به دست آمد. به‌منظور آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Clarity GC (Data Alpex 2.4.0.180؛ جمهوری چک) استفاده شد. مقادیر به صورت درصد از کل اسید چرب ارایه شده‌اند (جدول ۲).

جدول ۱) ترکیب و میزان اقلام مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی سطوح مختلف اسید آراشیدونیک (٪ از کل اسیدهای چرب)

ترکیبات جیره (گرم در کیلوگرم)	جیره ۰/۰۲٪ (کنترل)	جیره ۰/۵٪	جیره ۱/۰۵٪	جیره ۱/۶٪	جیره ۲/۱۲٪
پودر ماهی چربی‌زدایی‌شده[a]	۴۲۰	۴۲۰	۴۲۰	۴۲۰	۴۲۰
پودر سویای چربی‌زدایی‌شده[a]	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰
آرد گندم[a]	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰
روغن آفتاب‌گردان[b]	۱۲۰	۱۰۷/۵	۹۵	۸۲/۵	۷۰
روغن وودار[c]	۰	۱۲/۵	۲۵	۳۷/۵	۵۰
بایندر	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
مخلوط موادمعدنی	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
مخلوط ویتامین	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
لسیتین	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
ضدقارچ [d]	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
کلسیم مونوفسفات	۵	۵	۵	۵	۵
ترکیب شیمیایی (٪ وزن خشک)					
رطوبت	۶/۲۵	۶/۶۷	۵/۳۶	۵/۵۹	۶/۳۰
پروتئین	۴۴/۲۵	۴۴/۳۰	۴۵/۱۵	۴۴/۷۰	۴۵/۰۰
چربی	۱۲/۳۵	۱۲/۸۲	۱۳/۱	۱۲/۶۴	۱۲/۱۵
کربوهیدرات	۲۸/۴۵	۲۸/۰۹	۲۷/۸۴	۲۹/۲۴	۲۷/۷۹
خاکستر	۸/۴۳	۸/۱۲	۸/۵۵	۷/۸۳	۸/۷۶
آراشیدونیک اسید (٪ از کل اسیدهای چرب)	۰/۰۲	۰/۵۳	۱/۰۵	۱/۶	۲/۱۲
انرژی (کیلوژول. گرم[e])	۲۰/۲۳	۲۰/۳۷	۲۰/۶۴	۲۰/۵۹	۲۰/۲۲

a: آنالیز تقریبی براساس وزن خشک: پودر ماهی چربی‌زدایی‌شده، پودر سویای چربی‌زدایی‌شده و پودر گندم به ترتیب حاوی ۶۸، ۵۴ و ۴۱% پروتئین و ۰/۲۵، ۰/۵ و ۲% چربی

b: حاوی ۲۸/۵% اولئیک‌اسید، ۵۶/۶% لینولئیک‌اسید، ۱۱% اسیدهای چرب اشباع (فریکو؛ ایران)

c: حاوی ۴۰% اسید آراشیدونیک، تولیدشده از تخمیر قارچ *Mortierella alpine*، (DSM؛ هلند)

d: ضدقارچ حاوی ۵۰% اسید پروپیونیک و ۵۰% اسید فورمیک (کارخانه خوراک دام میرود بابلسر؛ ایران)

e: نحوه محاسبه انرژی براساس: کربوهیدرات ۱۷کیلوژول/گرم، پروتئین ۲۳/۷کیلوژول/گرم، چربی ۳۹/۷کیلوژول/گرم

جدول ۲) ترکیب اسید چرب جیره‌های آزمایشی اسید آراشیدونیک (٪ از کل اسیدهای چرب)

ترکیب اسید چرب	جیره ۰/۰۲٪ (کنترل)	جیره ۰/۵٪	جیره ۱/۰۵٪	جیره ۱/۶٪	جیره ۲/۱۲٪
C۱۴:۰	۰/۵۱	۱/۳	۱/۱	۱/۴	۱/۳
C ۱۶:۰	۱۰/۳۷	۱۵/۴	۱۵/۳	۱۴/۳	۱۱/۸
C ۱۸:۰	۶/۷۱	۶/۶۶	۵/۵	۶/۰۳	۷/۱
C۲۰:۰	۰/۵	۰/۶	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۵
C ۲۲:۰	۱/۲	۰/۱۴	۰/۱۵	۱/۰۱	۱/۴۱
Σ SFA[a]	۱۹/۲۹	۲۴/۱	۲۲/۳۷	۲۳/۰۸	۲۲/۱۱
C۱۴:۱n-۵	۰/۳	۰/۶۲	۰/۱۵	۰/۱	۶/۱
C ۱۶:۱n-۷	۱/۰۱	۱/۲۴	۳/۶۲	۲/۵۳	۱/۲
C ۱۸:۱n-۹ + ۱۸:۱n-۷	۲۷/۱	۲۶/۳۲	۲۴/۳۵	۲۳/۳۹	۲۳/۲۴
C ۲۰:۱n-۹	۰/۴۴	۰/۳	۰/۲۹	۱/۵۲	۲/۱
Σ MUFA[b]	۲۸/۸۵	۲۸/۴۶	۲۸/۴۱	۲۷/۵۴	۲۸/۱۴
C ۱۸:۲n-۶	۴۱/۹۴	۳۴/۱۸	۲۸/۹۶	۲۳/۰	۱۸/۰۷
C ۲۰:۲n-۶	۲/۱	۱/۳۴	۲/۱۵	۱/۰	۱/۲
C ۲۰:۴n-۶	۱/۱۶	۴/۳۲	۸/۳۸	۱۳/۲۴	۱۶/۲۶
Σ n-۶	۴۵/۰	۳۹/۸۴	۳۹/۴۹	۳۷/۲۴	۳۵/۵۳
C ۱۸:۳n-۳	۴/۷۵	۳/۵	۲/۴۵	۲	۱/۷
C ۲۰:۳n-۳	۰/۰۵	۰/۵	۰/۷	۱	۱/۲
C ۲۰:۵n-۳	۰/۵۷	۱/۰۲	۱/۴۵	۱/۹	۲/۶
C ۲۲:۶n-۳	۱/۴	۲/۶۲	۴/۹۶	۶/۲۶	۸/۹۵
Σ n-۳	۶/۷۷	۷/۶۴	۹/۷۶	۱۱/۱۶	۱۴/۴۵
Σ PUFA[c]	۵۱/۷۷	۴۷/۴۸	۴۹/۲۵	۴۸/۴	۴۸/۹۸
Σ n-۳ HUFA[d]	۱/۹۷	۳/۶۴	۶/۶۱	۸/۱۶	۱۱/۵۵
n-۶/n-۳	۶/۶۴	۵/۲۱	۴/۰۴	۳/۳۳	۲/۴۵

a: مجموع اسیدهای چرب اشباع (Σ Saturate fatty acid)

b: مجموع اسیدهای چرب تک غیراشباع (Σ Monounsaturated fatty acid)

c: مجموع اسیدهای چرب چندغیر اشباع (Σ Poly unsaturated fatty acid)

d: مجموع اسیدهای چرب فوق غیراشباع سری ۳-n (Σ n-3 High unsaturated fatty acid)

پرورش مولدین و نمونه‌برداری: تعداد ۱۵۰ قطعه بچه‌ماهی یک‌ماهه گورامی آبی (میانگین طول و وزن اولیه به ترتیب ۰/۳± ۲/۵سانتی‌متر و ۰/۱۵±۱/۲گرم) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی (آریان فیش؛ تهران؛ ایران) تهیه و به سالن تکثیر و پرورش دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل و در ۱۵ آکواریوم (۱۰ ماهی در هر آکواریوم) توزیع شدند. به‌منظور آداپتاسیون، ماهیان به‌مدت ۲ هفته با جیره تجاری بیومار تغذیه شدند. سپس تا رسیدن به مرحله زرده‌سازی (قرارگرفتن ماهیان ماده به‌صورت جمعی و بدون حضور ماهی نر به‌مدت ۵ ماه منجر به تکمیل مرحله زرده‌سازی در این گونه می‌شود[17] که با مطالعات بافت‌شناسی نیز تایید شد)، روزی ۳ مرتبه با جیره‌های آزمایشی (به میزان ۳% از وزن بدن) غذادهی شدند.

پس از تکمیل مرحله زرده‌سازی، برای سنجش هر پارامتر تعداد ۱۲ ماهی ماده از هر تیمار (۴ ماهی از هر تکرار) انتخاب و بعد از بیهوشی با پودر گل میخک با قطع ساقه دمی خونگیری شدند. برای جداسازی سرم اجازه داده شد تا خون لخته شود و سپس سانتریفیوژ (۳۰۰۰دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه، ۴°C) شده و سرم جداشده تا زمان انجام آنالیز به فریزر ۲۰°C- منتقل شد. به‌منظور جداسازی پلاسما، از لوله‌های هپارینه استفاده شد و بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای جداشده به فریزر ۲۰°C- منتقل شد. تخمدان ماهیان نیز برای سنجش هورمون‌های تیروئیدی جدا و به فریزر ۸۰°C- منتقل شدند.

تعداد ۱۲ ماهی ماده از هر تیمار (۴ ماهی از هر تکرار) پس از تکمیل زرده‌سازی در آکواریوم‌های جداگانه در کنار ماهی نر آماده تکثیر (علامت آمادگی نرها: ساختن لانه حبابی) که قبلاً با جیره تجاری بیومار تغذیه شده بودند قرار گرفته و پس از ۴۸ ساعت به مرحله رسیدگی رسیده و پیش از تخم‌ریزی نمونه‌برداری صورت گرفت. ماهیان ماده مطابق مرحله قبل بیهوش و خونگیری شدند. به دلیل اینکه پایه ساختاری هورمون کوتیزول غیرپروتئینی بوده و نیز در سرم خون قابل اندازه‌گیری است برای سنجش آن از سرم و برای سنجش یون کلسیم که در بخش پلاسمای خون است از پلاسما استفاده شد. سرم (به‌منظور سنجش هورمون کورتیزول)، پلاسما (برای سنجش یون کلسیم) و تخمدان (برای سنجش هورمون‌های تیروئیدی) آنها جدا و در فریزر ۲۰°C- قرار گرفت.

سنجش یون کلسیم: سنجش یون کلسیم در پلاسما توسط یک کیت (پیشتاز طب؛ ایران) به روش فتومتری و با استفاده از معرف کرزول‌فتالئین کمپلکسون (CPC) انجام شد. اساس آزمایش واکنش میان معرف کرزول‌فتالئین کمپلکسون با یون‌های کلسیم است که در محیطی با قلیاییت متوسط رنگ ارغوانی ایجاد می‌کند. ابتدا ۱۶۰۰میکرولیتر بافر ۳۵۰میلی‌مولار AMP (با pH ۱۰/۷) با ۴۰۰میکرولیتر معرف مخصوص (شامل ۰/۱۶میلی‌مول بر لیتر کرزول‌فتالئین کمپلکسون، ۶/۹۰میلی‌مول بر لیتر ۸هیدروکسی کوایتولین ، ۰/۰۶ میلی‌لیتر بر مول اسید هیدروکلریدریک و دترجنت) مخلوط و برای صفرکردن دستگاه با نمونه شاهد ۴۰میکرولیتر آب مقطر به آن افزوده، داخل کووت ریخته و میزان جذب توسط دستگاه اسپکفوتومتر در طول موج ۵۷۰نانومتر خوانده شد. سپس خوانش با نمونه‌ها و محلول استاندارد نیز صورت گرفت و میزان کلسیم از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) غلظت استاندارد × (جذب نوری استاندارد/جذب نوری نمونه) = (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) کلسیم

سنجش هورمون کورتیزول: برای سنجش هورمون کورتیزول از روش رقابتی آنزیم بازدارنده (ELISA) و از یک‌سری کیت‌ها (IBL؛ آلمان) استفاده شد. سنجش طبق دستورالعمل کیت انجام شد. ابتدا ۵۰میکرولیتر از هر یک از نمونه‌های سرم و استانداردها به هر چاهک اضافه شد. سپس ۱۰۰میکرولیتر آنزیم کونژوگه به همه چاهک‌ها (به جز چاهک شاهد) افزوده و در تاریکی انکوباته شد. بعد از اتمام انکوباسیون و شست‌وشوی پلیت با محلول مخصوص شست‌وشو، ۱۰۰میکرولیتر محلول سوبسترای TMB به هر چاهک افزوده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباته شدند. سپس ۱۰۰میکرولیتر محلول متوقف‌کننده واکنش به هر چاهک افزوده و پس از ۱۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۴۵۰نانومتر (در مقابل طول موج شاهد، ۶۳۰نانومتر) توسط دستگاه الایزا ریدر مدل ELX-800 (Biotek؛ ایالات متحده) خوانده شد و غلظت نمونه‌ها براساس نمودار استاندارد به‌دست‌آمده بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

سنجش هورمون‌های تیروئیدی: برای سنجش هورمون‌های تیروئیدی تری‌یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) در تخمدان ابتدا عصاره‌گیری از تخمدان ماهیان مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی (۹ ماهی از هر تیمار) انجام شد. برای این منظور ماهیان پس از بیهوشی تشریح و تخمدان آنها جدا شد. یک گرم از تخمدان وزن شده و در ۱میلی‌لیتر بافر فسفات خنک (۴°C) به‌وسیله دستگاه سونیکیتور (تحت زنجیره دمایی سرد) به‌خوبی هموژن شد. پس از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه و ۵۰۰۰دور در دقیقه، ۴°C) سوپرناتانت جمع‌آوری شده و سنجش هورمون‌های تیروئیدی در این نمونه‌ها با استفاده از روش ELISA و کیت الایزای مخصوص ماهی (Cusabio؛ چین) انجام شد. سنجش هورمون‌ها طبق پروتکل کیت صورت گرفت. میزان جذب در طول موج ۴۵۰نانومتر خوانده شد. محاسبه غلظت‌ها براساس منحنی‌های استاندارد انجام گرفت.

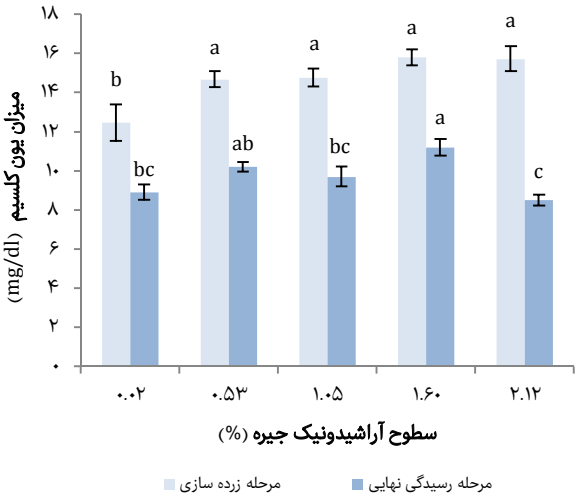
آنالیز آماری: تمامی داده‌ها پس از تست نرمال‌بودن با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه معنی‌داری بین میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۵% استفاده شد. برای محاسبه ارتباط میان سطوح آراشیدونیک جیره و پارامترهای سنجیده‌شده از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. کلیه آنالیزها توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) و همچنین ترسیم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL 2010 انجام شد.

یافته‌ها

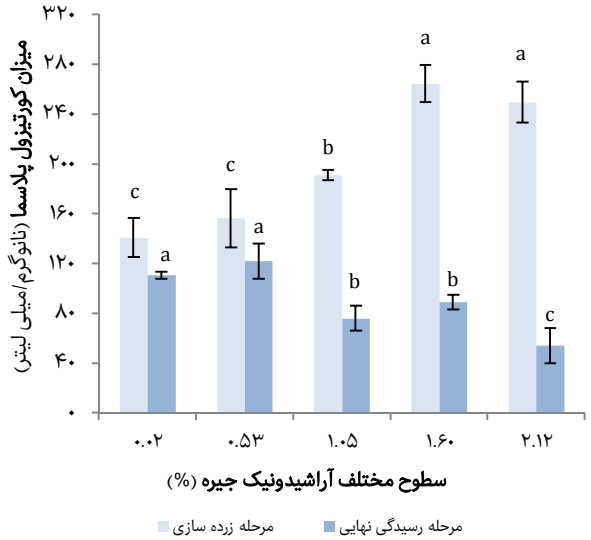
تغییرات یون کلسیم: میزان یون کلسیم در پلاسمای مولدین در مرحله زرده‌سازی بیشتر از مرحله رسیدگی بود. در مرحله زرده‌سازی، همبستگی مثبتی میان افزایش سطح اسید آراشیدونیک و سطح یون کلسیم ($r=۰/۸۹$؛ $p<۰/۰۵$) وجود داشت. کمترین و بیشترین سطح کلسیم (۱۲/۴ و ۱۵/۸میلی‌گرم/دسی‌لیتر) به ترتیب در تیمارهای کنترل و ۱/۶% اسید آراشیدونیک به دست آمد. میزان کلسیم در تیمار کنترل با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$)، ولی بین دیگر تیمارهای حاوی اسید آراشیدونیک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در مرحله رسیدگی نهایی، سطح کلسیم پلاسما علی‌رغم وجود اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های آزمایشی ($p<۰/۰۵$) روند منظمی نداشت. کمترین و بیشترین میزان کلسیم در این مرحله به ترتیب در تیمارهای ۲/۱۲ و ۱/۶% به دست آمد (نمودار ۱).

تغییرات هورمون کورتیزول: تغییرات هورمون کورتیزول در مولدین

نیز کاملاً متاثر از سطوح اسید آراشیدونیک جیره و همچنین مرحله رسیدگی بود. سطح این هورمون در تمامی تیمارها در مرحله رسیدگی نهایی کمتر از مرحله زرده‌سازی بود. در مرحله زرده‌سازی، میزان هورمون کورتیزول همزمان با افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره کاهش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). در مرحله زرده‌سازی، بیشترین میزان این هورمون (۲۶۴/۶نانوگرم/میلی‌لیتر) در تیمار ۱/۶% اسید آراشیدونیک بود که اختلافش با تیمار ۲/۱۲ معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵)، اما با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). ضریب همبستگی برابر با ۰/۹۳-بود. کمترین میزان آن نیز در مرحله زرده‌سازی و در تیمار کنترل (۱۴۰/۲۳ نانوگرم/میلی‌لیتر) بود (نمودار ۲).



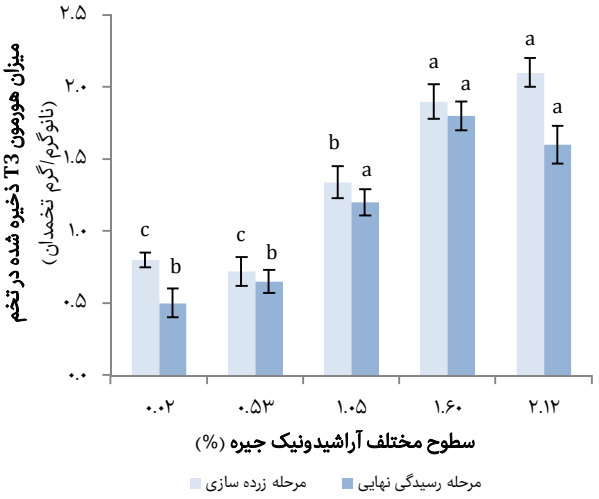
نمودار ۱) تغییرات سطوح یون کلسیم در پلاسمای مولدین در جیره‌های آزمایشی (مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی). حروف انگیسی متفاوت در ستون‌های دارای رنگ مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵% است



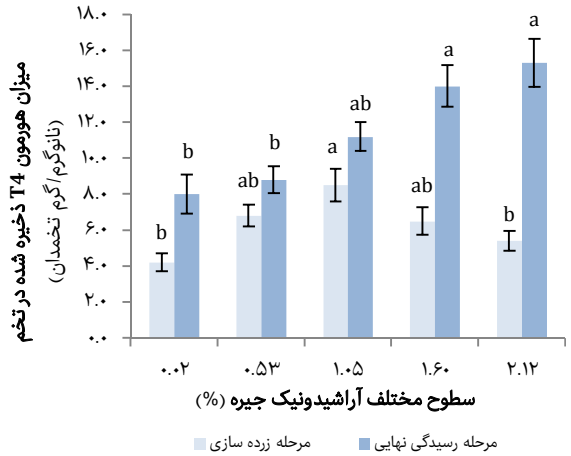
نمودار ۲) تغییرات سطوح هورمون کورتیزول در سرم خون مولدین در جیره‌های آزمایشی (مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی). حروف انگیسی متفاوت در ستون‌های دارای رنگ مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵% است

تغییرات هورمون‌های تیروئیدی: میزان هورمون T_3 در تخمدان ماهیان در هر دو مرحله زرده‌سازی و رسیدگی نهایی با افزایش سطوح اسید آراشیدونیک افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵)، میزان ذخیره این هورمون در تخمدان در مرحله زرده‌سازی بیش از مرحله رسیدگی نهایی بود. در مرحله زرده‌سازی بیشترین میزان ذخیره آن (۲/۱ نانوگرم/گرم تخمدان) در تیمار ۲/۱۲% اسید آراشیدونیک و در مرحله رسیدگی نهایی بیشترین ذخیره آن (۱/۸ نانوگرم/گرم تخمدان) در تیمار ۱/۶% اسید آراشیدونیک به دست آمد. همبستگی میان سطح این هورمون و میزان اسید آراشیدونیک در مراحل زرده‌سازی (r=۰/۹۵) و رسیدگی نهایی (r=۰/۹۳) معنی‌دار بود(p<۰/۰۵).

میزان هورمون T_4 در تخمدان ماهیان مرحله زرده‌سازی با افزایش سطح اسید آراشیدونیک ارتباط معنی‌داری نداشت، در حالی که در مرحله رسیدگی نهایی با افزایش اسید آراشیدونیک در جیره میزان ذخیره این هورمون به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش یافت و بیشترین و کمترین میزان ذخیره آن (به ترتیب ۱۵/۳ و ۸نانوگرم/گرم تخمدان) در تیمارهای ۲/۱۲% و ۰/۰۲% به دست آمد. همبستگی میان سطح هورمون T_4 و سطوح اسید آراشیدونیک در مرحله رسیدگی نهایی (r=۰/۹۸) معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود (نمودار ۳ و ٤).



نمودار ۳) تغییرات سطح هورمون تری‌یدوتیرونین (T_3) در تخمدان مولدین در جیره‌های آزمایشی (مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی). حروف انگیسی متفاوت در ستون‌های دارای رنگ مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵% است



نمودار ٤) تغییرات هورمون تیروکسین (T_4) در تخمدان مولدین در جیره‌های آزمایشی (مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی). حروف انگیسی متفاوت در ستون‌های دارای رنگ مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵% است

بحث

تکمیل مرحله زرده‌سازی که با تولید ویتلوژنین در کبد همراه است مستلزم وجود سطوح بالای کلسیم در پلاسما است، چراکه ویتلوژنین طی انتقال از کبد به تخمدان با کلسیم و دیگر کاتیون‌ها باند می‌شود[20].

نتایج معدود مطالعات انجام‌شده نشان دادند که سطوح بالای اسید آراشیدونیک می‌تواند باعث بهبود فرآیند زرده‌سازی و افزایش ذخیره زرده و ویتلوژنین در تخم مولدین شود[5, 18, 21]. تحقیقات همچنین نشان دادند همبستگی مثبتی میان فعالیت القایی اسید آراشیدونیک و غلظت یون کلسیم در محیط وجود دارد[22].

مطالعه روی اسکلت عضلانی انسان نشان داد که استفاده از اسید آراشیدونیک باعث افزایش غلظت کلسیم آزاد سیتوپلاسمی می‌شود؛ در واقع اسید آراشیدونیک باعث آزادشدن یون کلسیم از ذخایر درون‌سلولی می‌شود[23]. در مطالعه حاضر غلظت یون کلسیم در مرحله زرده‌سازی در جیره‌های دارای اسید آراشیدونیک بالاتر از تیمار کنترل بود و همبستگی مثبتی میان افزایش سطح اسید آراشیدونیک و میزان کلسیم پلاسما در مرحله زرده‌سازی وجود داشت. در مرحله رسیدگی نهایی، ارتباط معنی‌داری میان سطوح آراشیدونیک جیره و میزان یون کلسیم وجود نداشت. بنابراین می‌توان عنوان کرد که اثر القایی اسید آراشیدونیک بر افزایش فعالیت زرده‌سازی می‌تواند همزمان با افزایش آزادسازی ذخایر کلسیم بدن و آزادسازی آنها به خون باشد، اما پس از مرحله زرده‌سازی که میزان زیادی از کلسیم آزادشده در ساختار ویتلوژنین مصرف می‌شود، میزان این یون در پلاسما کاهش و احتمالا ذخایر درون‌سلولی آن افزایش خواهد یافت.

مطالعات گوناگون نتایج مختلفی از اثرات کورتیزول بر تولیدمثل در مراحل مختلف رسیدگی ماهیان ارایه داده‌اند[24, 25]. در مطالعه حاضر با افزایش سطوح آراشیدونیک جیره، میزان هورمون کورتیزول مولدین در مرحله زرده‌سازی کاهش یافت. از آنجا که اسید آراشیدونیک پیش‌ساز کلسترول و در نتیجه هورمون‌های استروئیدی است، لذا می‌تواند در سنتز کورتیزول نیز نقش داشته باشد[9].

در این پژوهش یکی از دلایل کاهش کورتیزول در مرحله زرده‌سازی می‌تواند نقش مهم‌تر اسید آراشیدونیک در این مرحله برای بهبود و پیشرفت فرآیند زرده‌سازی و افزایش میزان ویتلوژنین پلاسما باشد. در این مرحله بیشترین میزان اسید آراشیدونیک ذخیره‌شده در بدن برای سنتز دیگر هورمون‌های استروئیدی (مانند استرادیول) استفاده شده و کمتر در سنتز کورتیزول به کار می‌رود[9, 26]. در این مطالعه میزان کورتیزول در مرحله رسیدگی نهایی با افزایش سطوح آراشیدونیک افزایش یافت که برخلاف نتایج به‌دست‌آمده در برخی دیگر از گونه‌ها است. افزایش کورتیزول باعث سرکوب اثر القایی محور هیپوتالاموس- هیپوفیز بر رسیدگی جنسی‌شان می‌شود[25]. احتمالاً علت چنین روندی را بتوان به خنثی‌شدن اثرات منفی این هورمون در حضور سطوح بالای اسید آراشیدونیک نسبت داد. از طرفی در برخی گونه‌ها از جمله ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*)، ماهی قرمز و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) افزایش میزان کورتیزول در مراحل نهایی رسیدگی اووسیت می‌تواند باعث القای اوولاسیون شده و سطوح کورتیزول پلاسما در این گونه‌ها طی دوره پیش از تخم‌ریزی یا در زمان اوولاسیون و تخم‌ریزی افزایش چشمگیری داشتند[24, 27].

مطالعه‌ای روی سلول‌های هیپوفیز نشان داد کورتیزول با کاهش رهاسازی اسید آراشیدونیک از غشای فسفولیپید و در نتیجه کاهش فرم آزاد این اسید چرب در خون اثر کاهنده بر ترشح LH داشت که با به‌کاربردن اسید آراشیدونیک اضافی در محیط کشت این اثر منفی کاهش یافت[10]. در نتیجه در مطالعه حاضر نیز در مرحله رسیدگی با افزایش سطوح اسید آراشیدونیک جیره تولید کورتیزول افزایش یافت.

مطالعات نشان دادند افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره می‌تواند باعث افزایش سطح پروستاگلاندین‌ها و در نتیجه القای اوولاسیون شود[5]. همانگونه که اشاره شد در زمان تخم‌ریزی و اوولاسیون میزان هورمون کورتیزول نیز افزایش می‌یابد که این نکته نشان‌دهنده اثر مثبت افزایش سطح این هورمون در مرحله رسیدگی نهایی است. در این مطالعه در مرحله رسیدگی نهایی، همزمان با افزایش سطح اسید آراشیدونیک سطح این هورمون نیز افزایش یافت که این روند می‌تواند بر رسیدگی نهایی و القای اوولاسیون اثر مثبت داشته باشد.

ارتباط میان هورمون‌های تیروئیدی و تولیدمثل در ماهیان به اثبات رسیده است[12, 13]. طی دوره تخم‌ریزی میزان ذخیره هورمون‌های T_3 وT_4 در تخم در برخی گونه‌ها افزایش یافته و سطح این هورمون‌ها در پلاسما کاهش می‌یابد[15]. محققان کاهش هورمون‌های تیروئیدی پلاسما طی دوره تخم‌ریزی را به جذب این هورمون‌ها توسط اووسیت‌ها مرتبط دانستند. *ایلس* و *برون* نشان دادند میزان T_3 تخم در برخی گونه‌ها در مرحله زرده‌سازی و در برخی در مرحله رسیدگی نهایی افزایش می یابد که علت آن را اتصال هورمون‌های تیروئیدی به مولکول‌های ویتلوژنین طی انتقال وتیلوژنین به اووسیت‌ها عنوان کردند[28]. تا به حال مطالعه‌ای به بررسی ارتباط اسیدهای چرب از جمله اسید آراشیدونیک و سطح هورمون‌های تیروئیدی در ماهیان و ارتباط آن با تولیدمثل نپرداخته است. *لاچوویچ* و همکاران با بررسی انواع چربی و اسیدهای چرب در جیره موش‌های آزمایشگاهی و ارتباط آن با هورمون‌های تیروئیدی دریافتند چربی جیره در تنظیم فعالیت آنزیم‌های تیروئید پراکسیداز و یودوتیرونین دیودیناز نقش دارد[29].

برخی مطالعات نیز به تاثیر القایی مثبت n PUFA-۶ بر فعالیت غده تیروئید تاکید کردند[30]. مطالعات نشان داد لیگاند داخلی یکی از متابولیت‌های اسید آراشیدونیک به نام PPARγ-15d-PGJ2 باعث تسهیل سنتز تیروگلوبین در رده سلولی اپیتلیال موش می‌شود[31].

در مطالعه حاضر افزایش میزان هورمون T_3 در تخم ماهیان در مراحل زرده‌سازی و رسیدگی نهایی در سطوح بالای اسید آراشیدونیک جیره می‌تواند به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم تیروئید پراکسیداز یا افزایش فعالیت آنزیم دی‌یودیناز باشد. همچنین احتمال دارد اثر القایی مثبت اسید آراشیدونیک بر افزایش سطح T_3، از طریق متابولیت‌های آن و تاثیر آنها بر افزایش سنتز تیروگلوبین (پیش‌ساز هورمون‌های تیروئیدی) باشد.

محدودیت تهیه روغن آراشیدونیک با خلوص بالا و همچنین مشکل آماده‌سازی یا دسترسی به ماهیان مولد از محدودیت‌های انجام این تحقیق هستند.

نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق پیشنهاد می‌کند که افزودن اسید آراشیدونیک به جیره در مرحله زرده‌سازی می‌تواند باعث افزایش میزان کلسیم پلاسما و همچنین ذخایر هورمون‌های تیروئیدی در تخمدان شود که اثر مثبتی بر سنتز ویتلوژنین در مولدین خواهد داشت. افزایش میزان کورتیزول در مرحله رسیدگی نهایی در سطوح

بالای اسید آراشیدونیک جیره نیز نشان‌دهنده اثر مثبت این اسیدچرب بر القای رسیدگی و اوولاسیون در مولدین این گونه است.

نتیجه‌گیری: استفاده از سطوح بالای آراشیدونیک در مرحله مولدسازی می‌تواند باعث افزایش سطح کلسیم و هورمون‌های تیروئیدی و درنتیجه بهبود زرده‌سازی شود. در مرحله رسیدگی نهایی نیز افزایش آراشیدونیک تا سطح ۱/۶% باعث افزایش سطح کورتیزول می‌شود.

تشکر و قدردانی: محققان این مطالعه از دانشگاه تربیت مدرس که حمایت مالی این پروژه را بر عهده داشته و از مسئولین دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که در تهیه مکان پرورش یاری‌رسان ما بودند قدردانی می‌نمایند.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تضاد منافع: از نظر نویسندگان تحقیق حاضر هیچگونه تضاد منافعی وجود ندارد.

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: شیما مسعودی‌اصیل (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۳۰%)؛ عبدالمحمد عابدیان‌کناری (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰%)؛ قدرت‌الله رحیمی‌میانجی (نویسنده سوم)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۲۰%)؛ گلن ون در کرک (نویسنده چهارم)، پژوهشگر اصلی (۲۰%).

منابع

1- S Izquierdo M, Ferna'ndez-Palacios H, J Tacon AG. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture. 2001;197(1-4):25-42.

2- Norambuena F, Estévez A, Mañanós E, Gordon Bell J, Carazo I, Duncan N. Effects of graded levels of arachidonic acid on the reproductive physiology of senegalese sole (Solea senegalensis): Fatty acid composition, prostaglandins and steroid levels in the blood of broodstock bred in Captivity. Gen Comp Endocrinol. 2013;191:92-101.

3- Furuita H, Hori K, Suzuki, Sugita T, Yamamoto T. Effect of n-3 and n-6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel Anguilla japonica. Aquaculture. 2007;267(1-4):55-61.

4- Mercure F, Van Der Kraak G. Mechanisms of Action of Free Arachidonic acid on ovarian steroid production in the Goldfish. Gen Comp Endocrinol. 1996;102(1):130-40.

5- Norberg B, Kleppe L, Andersson E, Thorsen A, Rosenlund G, Hamre K. Effects of dietary arachidonic acid on the reproductive physiology of female Atlantic cod (Gadus morhua L.). Gen Comp Endocrinol. 2017;250:21-35.

6-Michael AE, Pester LA, Curtis P, Shaw RW, Edwards CRW, Cooke BA. Direct inhibition of ovarian steroidogenesis by Cortisol and the modulatory role of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase. Clin Endocrinol. 1993;38(6):641-4.

7- Lund I, Steenfeldt SJ. The Effects of dietary long-chain essential fatty acids on growth and stress tolerance in pikeperch larvae (Sander lucioperca L.). Aquac Nutr. 2011;17(2):191-9.

8- Martins DA, Rocha F, Castanheira F, Mendes A, Pousão-Ferreira P, Bandarra N, et al. Effects of dietary arachidonic acid on cortisol production and gene expression in stress response in Senegalese sole (Solea senegalensis) post-larvae. Fish Physiol Biochem. 2013;39(5):1223-38.

9- Milla S, Wang N, Mandiki SN, Kestemont P. Corticosteroids: Friends or foes of teleostfish reproduction? Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2009;153(3):242-51.

10- Nangalama AW, Moberg GP. Interaction between cortisol and arachidonic acid on the secretion of lh from ovine pituitary tissue. J Endocrinol. 1991;131(1):87-94.

11- Chang JP, Graeter J, Catt KJ. Dynamic actions of arachidonic acid and protein kinase C in pituitary stimulation by gonadotropin-releasing hormone. Endocrinology. 1987;120(5):1837-45.

12- Nelson ER, Habibi HR. Thyroid receptor subtypes: Structure and function in fish. Gen Comp Endocrinol. 2009;161(1):90-6.

13- Raine JC, Leatherland JF. Morphological and functional development of the thyroid tissue in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) embryos. Cell Tissue Res. 2000;301(2):235-44.

14- Radke WJ, Albasi CM, Harvey S. Haemorrhage and adrenocortical activity in the fowl (Gallus domesticus). Gen Comp Endocrinol. 1985;60(2):204-9.

15- Biswas A, Kundu S, Roy S, De J, Pramanik M, Ray AK. Thyroid hormone profile during annual reproductive cycle of diploid and triploid catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch). Gen Comp Endocrinol. 2006;147(2):126-32.

16- Degani G. Oogenesis control in multispawning blue gourami (Trichogaster trichopterus) as a model for the Anabantidae family. Int J Sci Res. 2016;5(7):16-21.

17- Degani G. Reproduction control in multi-spawning asynchronic Trichogaster trichopterus (Pallas) as a model for the anabantidae family. Trends Comp Biochem Physiol. 1993;1:1269-75.

18- Masoudi Asil Sh, Abedian Kenari AM, Rahimi Miyanji G, Van Der Kraak G. The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, Blue gourami (Trichopodus trichopterus, Pallas, 1770). Aquaculture. 2017;476:8-18.

19- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem. 1957;226(1):497-509.

20- Mommsen TP, Walsh PJ. 5 Vitellogenesis and Oocyte assembly. Fish Physiol. 1988;11(Part A):347-406.

21- Røjbek MC, Støttrup JG, Jacobsen C, Tomkiewicz J, Nielsen A, Trippel EA. Effects of dietary fatty acids on production and quality of eggs and larvae of Atlantic cod (Gadus morhua L.). Aquac Nutr. 2014;20(6):654-66.

22- Meves H. Arachidonic acid and ion channels: An update. Br J Pharmacol. 2008;155(1):4-16.

23- Muslikhov ER, Sukhanova IF, Avdonin PV. Arachidonic acid activates release of calcium ions from reticulum via ryanodine receptor channels in C2C12 skeletal myotubes. Biochemistry (Mosc). 2014;79(5):435-9.

24- Westring CG, Ando H, Kitahashi T, Bhandari RK, Ueda H, Urano A, et al. Seasonal changes in CRF-I and urotensin i transcript levels in masu salmon: Correlation with cortisol secretion during spawning. Gen Comp Endocrinol. 2008;155(1):126-40.

25- Cleary JJ, Pankhurst NW, Battaglene SC. The effect of capture and handling stress on plasma steroid levels and gonadal condition in wild and farmed snapper Pagrus uratus (Sparidae). J World Aquac Soc. 2000;31(4):558-69.

26- Lethimonier C, Flouriot G, Valotaire Y, Kah O,

Ducouret B. Transcriptional interference between glucocorticoid receptor and estradiol receptor mediates the inhibitory effect of cortisol on fish vitellogenesis. Biol Reprod. 2000;62(6):1763-71.
27- Kime DE, Dolben IP. Hormonal changes during induces ovulation of the carp Cyprinus carpio. Gen Comp Endocrinol. 1985;58(1):137-49.
28- Eales JG, Brown, SB. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. Rev Fish Biol Fish. 1993;3(4):299-347.
29- Lachowicz K, Koszela-Piotrowska I, Rosołowska-Huszcz D. Thyroid hormone metabolism may depend on dietary fat. J Anim Feed Sci. 2008;17(1):110-9.
30- Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-$\Delta^{12,14}$-Prostaglandin J_2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPARγ. Cell. 1995;83(5):803-12.
31- Kasai K, Banba N, Hishinuma A, Matsumura M, Kakishita H, Matsumura M et al. 15-Deoxy-$\Delta^{12,14}$-prostaglandin J_2facilitates thyroglobulin production by cultured human thyrocytes. Am J Physiol Cell Physiol. 2000;279(6):C1859-69.