مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۳، شماره ۴، پاییز ۱۴۰۳، صفحات ۱۸۲ تا ۱۹۳

اثر عوامل القا کننده هورمونی مختلف بر سطوح استروئیدهای جنسی و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*)

عرفان اکبری نرگسی[۱،۲]، بهرام فلاحتکار[۲،۳*]، دنیل زارسکی[۴]، دانیال گروهی[۵]

۱- پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، گیلان، ایران.
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران.
۳- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان، ایران.
۴- گروه زیست شناسی گامت‌ها و جنین، انجمن تحقیقات تولیدمثلی و تغذیه‌ای حیوانات، آکادمی علوم لهستان، اولشتین، لهستان
۵- مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری، رشت، گیلان، ایران.

چکـــیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات تزریق عوامل هورمونی مختلف بر سطوح استروئیدهای جنسی و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) انجام پذیرفت. به منظور انجام آزمایش، مولدین ماده در پنج گروه (هر گروه ۲۰ قطعه ماهی) به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. پنج گروه آزمایشی عبارت بودند از: ۱- دو مرحله تزریق هورمون اواپریم (Ova)، ۲- دو مرحله تزریق هورمون اوپل (Ovo)، ۳- تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز ثانویه (Comb1)، ۴- تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز ثانویه (Comb2) و ۵- دو مرحله تزریق سرم فیزیولوژی (گروه شاهد). طبق مشاهدات، بیشترین غلظت هورمون ۱۷- بتا استرادیول و ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون قبل از تزریق اندازه‌گیری شد و میزان این هورمون‌ها پس از تخم‌ریزی در تیمارهای القا شده با هورمون به شدت کاهش یافت ($P<0/05$). همچنین، کمترین میزان هورمون تستوسترون قبل از تزریق مشاهده شد و پس از تخم‌ریزی میزان آن در تمامی تیمارهای القا شده با هورمون افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). بیشترین میزان گلوکز پلاسمای خون مولدین در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار Comb1 مشاهده گردید ($P<0/05$). در غلظت سایر پارامترهای بیوشیمیایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P>0/05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عوامل هورمونی می‌توانند به طور قابل توجهی بر سطوح استروئیدهای جنسی پلاسما مولدین ماهی کلمه اثر بگذارند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که استفاده از تیمار هورمونی مناسب می‌تواند باعث کاهش میزان گلوکز پلاسما و در نتیجه کاهش استرس در مولدین ماهی کلمه شود. این نتایج بیانگر این موضوع است که با استفاده از روش القای هورمونی مناسب می‌توان شرایط رفاهی مولدین ماهی کلمه را در شرایط اسارت بهبود بخشید.

کـــلید واژه‌ها: تولیدمثل، فراسنجه‌های فیزیولوژیک، کپور ماهیان، مدیریت مولدین.

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۳/۰۹/۱۶

*نویسنده مسئول:
falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ارزیابی پارامترهای مرتبط با خون اطلاعات قابل‌توجهی در مورد جنبه‌های فیزیولوژیک رفاه حیوانات از جمله وضعیت سیستم غدد درون ریز، سیستم ایمنی، کیفیت شرایط پرورشی، بیماری‌های بالقوه و استعدادهای ژنتیکی ارائه می‌دهد [۱-۲]. با این حال، خون ماهیان هنوز به طور کاربردی در تحقیقات و آبزی‌پروری برای ارزیابی سلامت یا وضعیت رفاهی ماهیان مورد تجزیه و تحلیل قرار نمی‌گیرد [۳]. به خوبی ثابت شده است که ارزیابی پلاسمای خون ماهیان می‌تواند تصویر مناسبی از عملکرد تولیدمثلی و سطوح استروئیدهای جنسی و متابولیت‌ها تحت شرایط و تیمارهای آزمایشی مختلف ارائه نماید [۲،۴]. در همین راستا، بررسی پلاسمای خون می‌تواند به مدیران شیلاتی در نظارت بر وضعیت سلامت جمعیت مولدین طی عملیات تکثیر کمک شایانی نماید.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) یکی از مهم‌ترین گروه‌های ماهیان آب شیرین می‌باشند که در ۲۰۱۰ گونه و ۲۱۰ جنس دسته‌بندی شده‌اند و در مناطق مختلف آمریکای شمالی، آفریقا و اوراسیا یافت می‌شوند [۵]. جنس *Rutilus* یکی از جنس‌های خانواده کپور ماهیان می‌باشد که در اروپا و آسیای میانه گسترش یافته است. یکی از این گونه‌های این جنس که در ایران شناسایی شده کلمه (*Rutilus caspicus*) است که در تالاب انزلی، تالاب گمیشان، سپیدرود و گرگانرود پراکنش دارد [۶]. ماهی کلمه یک گونه مهاجر است که در انواع زیستگاه‌های آب شیرین یافت می‌شود. معمولا بلوغ در نرها بسته به شرایط در ۱ تا ۳ سالگی و در ماده‌ها در ۲ تا ۵ سالگی مشاهده می‌شود. تخم‌ریزی یک‌بار در سال در فصل بهار و یا تابستان هنگامی که دمای آب از ۱۶ درجه سانتی‌گراد تجاوز می‌کند انجام می‌گیرد. با این‌که ماهی کلمه یک ماهی آب شیرین است، اما توانایی تحمل سطوح پایین شوری را نیز دارد و در آبگیرهای جزرومدی مناطق مصبی برخی نواحی با شوری ۱ تا ۱۰ قسمت در هزار نیز مشاهده شده است [۷].

بسیاری از گونه‌های ماهیان در محیط اسارت نوعی اختلال در عملکرد تولیدمثلی را از خود بروز می‌دهند. در خانواده کپور ماهیان این اختلال عمدتا به مرحله رسیدگی نهایی تخمک‌ها مربوط می‌شود [۵، ۸]. در واقع، علت عدم مشاهده رسیدگی نهایی تخمک‌ها در محیط اسارت در کپور ماهیان ترشح میزان ناکافی LH از هیپوفیز می‌باشد [۹]. در همین راستا، استفاده از تیمارهای هورمونی می‌تواند راهکاری مناسب جهت القای رسیدگی نهایی در این ماهیان باشد. با این حال، نوع هورمون مورد استفاده، پروتکل استفاده از آن و روش‌های به دست آوردن گامت‌ها ممکن است با توجه به زیست‌شناسی هر یک از گونه‌ها تفاوت داشته باشد و درک کامل کنترل اندوکرینی رسیدگی نهایی، تخم‌ریزی و سطوح پارامترهای بیوشیمیایی پس از اعمال تیمارهای هورمونی مختلف برای مدیریت مناسب گونه‌ها امری ضروری است [۱۰].

در بسیاری از دستکاری‌های هورمونی از هورمون آزاد کننده گنادوتروپین مصنوعی (Gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRHa) که بر روی هیپوفیز برای آزادسازی LH اثر می‌گذارد استفاده می‌شود [۱۱]. در کپور ماهیان که اثر مهاری دوپامین (DA) پس از تحریک آزادسازی GnRH، از انتشار LH جلوگیری می‌کند، استفاده از آنتاگونیست‌های دوپامین در هنگام استفاده از GnRHa این اثر مهاری را برطرف نموده و اثر تحریکی GnRH بر LH را تقویت می‌نماید [۱۲]. در حال حاضر شرکت‌های مختلفی با استفاده از روش GnRHa/DA اقدام به تولید محصول جهت القای تولیدمثل در ماهیان نموده‌اند که از جمله این محصولات می‌توان به اواپریم (Ovaprim) و اوپل (Ovopel) اشاره نمود. طی عملیات تکثیر مصنوعی، ماهیان پاسخ‌های متفاوتی نسبت به هورمون‌های به‌کار رفته در القای تولیدمثلی از خود نشان می‌دهند، به طوری که نوع تیمار هورمونی مورد استفاده در گونه هدف می‌تواند بر کیفیت گامت‌ها و وضعیت فیزیولوژیک آنها تاثیرگذار باشند [۸، ۱۳]. از آنجایی که یکی از گزینه‌های مطلوب برای نمونه‌برداری سریع و غیرکشنده از تعداد زیادی ماهی، تجزیه و تحلیل خون است، ارزیابی پلاسمای خون مولدین می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در مورد فیزیولوژی و وضعیت سلامت آنها ارائه نماید. با توجه به اهمیت اکولوژیک و اقتصادی ماهی کلمه، در مطالعه حاضر اثر هورمون‌های تجاری مختلف (که از دو نوع GnRH و آنتی دوپامین متفاوت تشکیل شده‌اند) بر سطوح استروئیدهای جنسی و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون مولدین ماده این ماهی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در زمینه وضعیت رفاهی مولدین ماهی کلمه پس از اعمال تیمارهای هورمونی مختلف در اختیار محققان و پرورش دهندگان قرار دهد.

مواد و روش‌ها

تمامی مولدین مورد نیاز آزمایش طی دو مرحله در ابتدای فروردین ماه در دو روز متوالی از بخش غربی تالاب انزلی به‌وسیله تور میکروفیلامنت نامرئی با چشمه تور ۱ سانتی‌متر صید شدند. پس از پایان فرآیند صید در هر مرحله، ماهیان صید شده بلافاصله به‌وسیله کیسه‌های پلاستیکی مخصوص حمل ماهی پر شده با اکسیژن خالص به مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت (گیلان، ایران) منتقل شدند. در هر کیسه پلاستیکی حداکثر ۲۵ قطعه ماهی قرار داده شد. برای بارگیری ابتدا یک سوم کیسه (حدودا ۲۰ لیتر) با آب محل صید ماهی‌ها آبگیری می‌شد و پس از قرار دادن ماهی‌ها در کیسه پلاستیکی، مابقی حجم آن با استفاده از مخزن اکسیژن پر می‌شد [۱۴]. دمای آب در محل صید در تالاب انزلی ۱۲/۵ درجه سانتی‌گراد بود. در هر دو مرحله، انتقال ماهی‌ها حداکثر طی مدت ۱۵۰ دقیقه انجام گرفت.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

بلافاصله بعد از انتقال مولدین به مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری، مولدین بر اساس جنسیت جداسازی شدند. بدین منظور، مولدین دارای ظاهر سالم و محدوده وزنی یکسان انتخاب و از نظر جنسیت به‌وسیله بررسی شکل ظاهری، برآمدگی سطح شکمی و فشار آرام به ناحیه شکمی از طریق مشاهده مواد تناسلی جداسازی شدند [۱۴]. مجموعا ۱۸۰ مولد ماده کاملا سالم برای انجام آزمایش جداسازی شد و مولدین دارای آسیب‌دیدگی و علائم بیماری در مطالعه مورد استفاده قرار نگرفتند.

پس از جداسازی، ماهی‌ها به مخازن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری منتقل شدند. تراکم ذخیره‌سازی حدودا ۱۰ کیلوگرم در هر مترمکعب آب مخزن بود [۱۴]. قبل از انجام آزمایش، مولدین به مدت ۳ روز در شرایط کارگاه نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند [۱۳]. میانگین دما، pH و سطح اکسیژن محلول طی دوره سازگاری به ترتیب ۰/۳۹ ± ۱۵/۸۵ درجه سانتی‌گراد، ۰/۲۲ ± ۸/۲۷ و ۰/۰۸ ± ۶/۰۶ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش، ماهی‌ها در شرایط نوری طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. آب مورد استفاده از رودخانه (آب رسوب‌زدایی شده سفیدرود) تامین می‌شد و میانگین دبی آب برای هر مخزن ۳۰ لیتر در دقیقه بود.

پس از پایان دوره سازگاری با محیط، مولدین ماده به ۵ گروه تقسیم‌بندی شدند (جدول ۱). این گروه‌ها عبارت بودند از: دو مرحله تزریق سرم فیزیولوژی (گروه شاهد)، دو مرحله تزریق هورمون اواپریم (Ova)، دو مرحله تزریق هورمون اوپل (Ovo)، تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز ثانویه (Comb1) و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز ثانویه (Comb2). به منظور تیماربندی، ابتدا بیومتری مولدین انجام گرفت. طول مولدین به‌وسیله خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر و وزن مولدین به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. هورمون‌ها در دو دوز (اولیه و ثانویه) به مولدین تزریق شدند و فاصله بین تزریق‌ها ۲۴ ساعت بود. در گروه شاهد فقط از سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد جهت تزریق استفاده شد. هورمون‌های مورد استفاده در تیمارهای آزمایشی و دوز استفاده از آن‌ها مطابق مطالعات قبل تعیین گردیدند [۱۵-۱۹]. هورمون‌های تجاری اواپریم (Syndel, Nanaimo, BC, Canada) حاوی آنالوگ هورمون آزادکننده گنادوتروپینی ماهی آزاد (Salmon gonadotropin releasing hormone, sGnRH) به مقدار ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و آنتی دوپامین دامپریدون (Domperidone) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است [۱۰، ۱۳]. پلت‌های مورد نیاز هورمون اوپل (Unic-trade, Budapest, Hungary) (میانگین وزن تقریبی هر پلت ۵۰ میلی‌گرم است) نیز حاوی آنالوگ هورمون آزادکننده گنادوتروپینی پستانداران (Mammalian gonadotropin releasing hormone, mGnRH) به مقدار ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و آنتی دوپامین متوکلوپرامید (Metoclopramide) به مقدار ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است [۱۰، ۱۳]. هورمون اواپریم به‌صورت مایع آماده به مصرف تهیه شد و پلت های هورمون اوپل قبل از استفاده در هاون کاملا پودر شد، سپس با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مخلوط و جهت تزریق مورد استفاده قرار گرفت. تزریق در تمامی مولدین در قاعده باله سینه‌ای به صورت داخل صفاقی با استفاده از سرنگ انسولین (حجم ۱ میلی‌لیتر) انجام گرفت. مشخصات مولدین ماده مورد استفاده در آزمایش در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۱- هورمون‌ها و دوز مورد استفاده از آن‌ها برای القای تخم‌ریزی و تولیدمثل کنترل شده مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*)؛ در دوز اول ۱۰ درصد و در دوز دوم ۹۰ درصد هورمون به مولدین تزریق شد. فاصله بین تزریق‌ها ۲۴ ساعت بود.

گروه‌های آزمایشی	دوز اولیه	دوز ثانویه
شاهد	۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن	۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن
Ova	۰/۱ میلی‌لیتر اواپریم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن	۰/۵ میلی‌لیتر اواپریم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن
Ovo	۰/۲ پلت اوپل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن	۱/۰ پلت اوپل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن
Comb1	۰/۲ پلت اوپل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن	۰/۵ میلی‌لیتر اواپریم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن
Comb2	۰/۱ میلی‌لیتر اواپریم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن	۱/۰ پلت اوپل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

جدول ۲- مشخصات مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) انتخاب شده برای القای تخم‌ریزی در شرایط کنترل شده؛ شاهد: دو مرحله تزریق سرم فیزیولوژی، Ova: دو مرحله تزریق هورمون اواپریم، Ovo: دو مرحله تزریق هورمون اوپل، Comb1: تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز ثانویه، Comb2: تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز ثانویه

	گروه‌های آزمایشی				
	شاهد	Ova	Ovo	Comb1	Comb2
تعداد ماهی‌ها	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
وزن (گرم)	۸۶/۸ ± ۲/۱	۹۱/۳ ± ۱/۵۷	۸۹/۹ ± ۱/۹۷	۸۷/۷ ± ۲۰/۱۷	۹۰/۲ ± ۲/۱۹
طول کل (سانتی‌متر)	۱۸/۲ ± ۰/۲۰	۱۸/۵ ± ۰/۱۸	۱۸/۴ ± ۰/۱۷	۱۸/۳ ± ۰/۱۹	۱۸/۴ ± ۰/۱۶

در زمان رسیدگی مولدین و بعد از عملیات تخم‌گیری، از هر مولد به میزان ۱ میلی‌لیتر خون گرفته شد. قبل از هرگونه دستکاری، مولدین با غوطه‌وری در عصاره پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر آب کارگاه بیهوش شدند [۱۴]. خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری هپارینه انجام گرفت. بلافاصله پس از خون‌گیری، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Hettich, Tuttlingen, Germany) به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شدند [۱۴]. در ادامه، نمونه‌های پلاسما با استفاده از سمپلر به درون میکروتیوب ریخته شدند و تا مرحله انجام تست‌های آزمایشگاهی در فریزر (دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

اندازه‌گیری غلظت ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون، ۱۷- بتا استرادیول و تستوسترون در مولدین ماده به روش سنجش ایمنی آنزیمی (Enzyme-linked immunosorbent assay) با استفاده از میکروپلت ریدر (Epoch 2, Microplate Spectrophotometer, Vermont, USA) و کیت‌های تشخیصی انسانی شرکت مونوبایند (Monobind Inc., Lake Forest, California, USA) در طول موج ۴۵۰ نانومتر انجام گرفت. طبق توضیحات شرکت مونوبایند، دقت اندازه‌گیری برای ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون، ۱۷- بتا استرادیول و تستوسترون به ترتیب ۰/۱۰۵۰، ۰/۰۰۸۲ و ۰/۰۵۷۶ نانوگرم در میلی لیتر می‌باشد.

غلظت گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل و آلبومین به روش رنگ سنجی با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Dayton, USA) در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق پروتکل شرکت سازنده کیت‌ها، ابتدا اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها و استاندارد انجام گرفت و سپس از رابطه‌های زیر برای برآورد نهایی غلظت پارامترهای بیوشیمیایی استفاده گردید [۱۴]:

غلظت استاندارد × (جذب استاندارد/ جذب نمونه) = مقدار گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

غلظت استاندارد × (جذب استاندارد/ جذب نمونه) = مقدار تری گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

غلظت استاندارد × (جذب استاندارد/ جذب نمونه) = مقدار کلسترول (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

غلظت استاندارد × (جذب استاندارد/ جذب نمونه) = مقدار پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر)

غلظت استاندارد × (جذب استاندارد/ جذب نمونه) = مقدار آلبومین (گرم بر دسی لیتر)

جهت سنجش غلظت گلوبولین نمونه‌ها، غلظت آلبومین نمونه‌ها از میزان پروتئین کل آن‌ها کسر شد و غلظت گلوبولین محاسبه گردید [۲۰].

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا با استفاده از آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov–Smirnov) نرمال بودن داده‌ها سنجش گردید. در ادامه، با استفاده از آزمون لون (Levene test) همگنی واریانس‌ها بررسی شد. سپس، تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و تست توکی (Tukey's test) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. به منظور مقایسه سطوح هورمون‌های استروئیدی قبل از تزریق و بعد از استحصال تخمک از آزمون تی جفتی (Paired sample t-test) استفاده شد. تمامی سنجش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

(IBM Corporation, Armonk, USA) نسخه ۲۳ انجام شد. همچنین از نسخه ۲۰۲۱ نرم‌افزار اکسل (Microsoft Excel, Washington, USA) برای رسم نمودارها استفاده گردید. تمامی داده‌های درون متن به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (mean ± SEM) ارائه شده‌اند.

نتایج

استروئیدهای جنسی

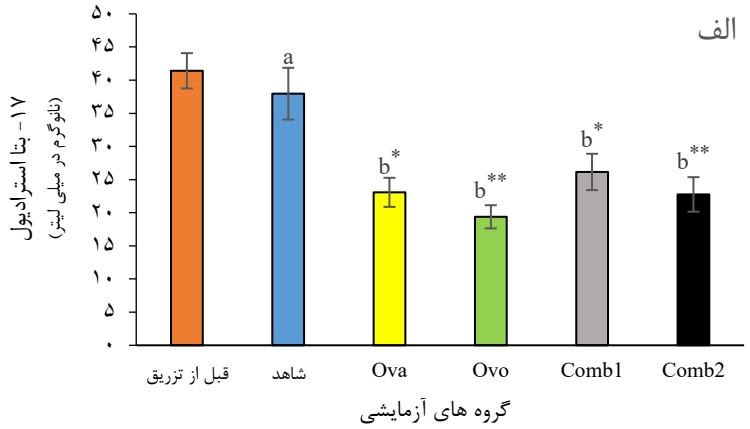
در شکل ۱ نتایج مربوط به سطوح استروئیدهای جنسی پلاسما مولدین ماده ماهی کلمه ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده پس از تزریق، غلظت ۱۷- بتا استرادیول پلاسما مولدین در تیمارهای تزریق شده با عوامل هورمونی کاهش یافت (P<۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری در میزان این هورمون بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این حال، تفاوتی در میزان ۱۷- بتا استرادیول بین تیمارهای تزریق شده با هورمون مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

با توجه به نتایج به دست آمده پس از تزریق، غلظت ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون در تمامی تیمارهای تزریق شده با عوامل هورمونی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، به طوری که میزان ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون تمامی تیمارهای آزمایشی به‌طور قابل توجهی با گروه شاهد اختلاف نشان داد (P<۰/۰۵). بین تیمارهای هورمونی در میزان ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

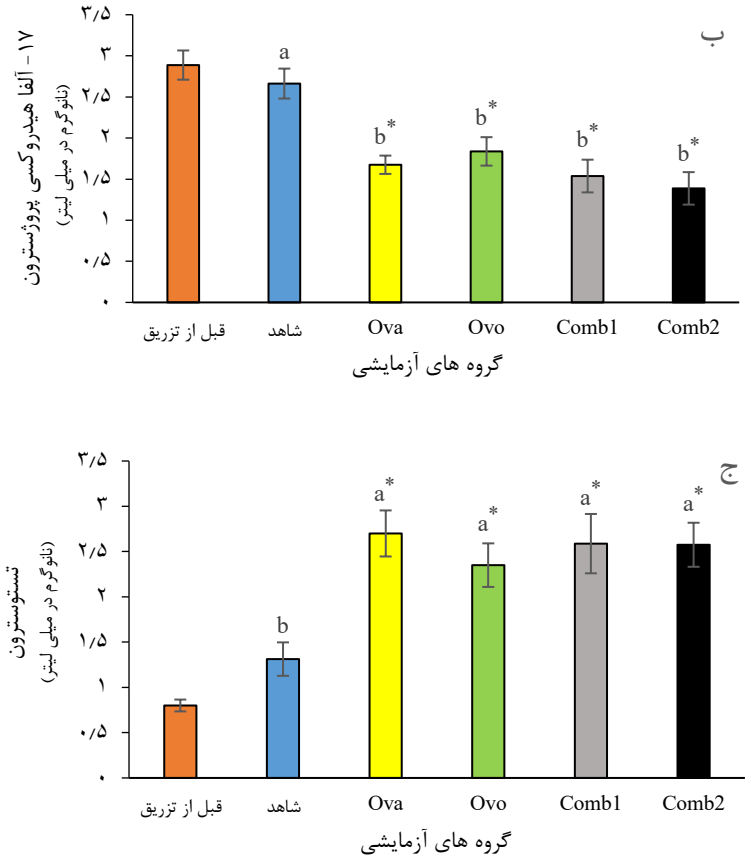
طبق مشاهدات، پس از تزریق عوامل هورمونی، غلظت تستوسترون در تمامی تیمارها افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین تفاوت معنی‌داری در میزان تستوسترون پلاسما بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده گردید (P<۰/۰۵). با این حال، تفاوتی در میزان تستوسترون بین تیمارهای تزریق شده با هورمون مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳، غلظت گلوکز در گروه شاهد با سایر تیمارهای آزمایشی تفاوت قابل توجهی نشان داد (P<۰/۰۵). بر طبق مشاهدات، بیشترین میزان گلوکز (۸/۴ ± ۱۴۳/۳ میلی‌گرم در دسی لیتر) در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن (۵/۲ ± ۱۰۹/۴ میلی‌گرم در دسی لیتر) در تیمار Comb1 مشاهده گردید. طبق ارزیابی‌های انجام شده، در سایر پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون مولدین تفاوت قابل توجهی بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵).



[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]



شکل ۱- اثر عوامل القا کننده هورمونی مختلف بر غلظت ۱۷- بتا استرادیول (الف)، ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون (ب) و تستوسترون (ج) پلاسمای مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*). Ova: دو مرحله تزریق هورمون اواپریم، Ovo: دو مرحله تزریق هورمون اوپل، Comb1: تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز ثانویه، Comb2: تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز ثانویه. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵). تفاوت آماری معنی‌دار با زمان قبل از تزریق با ستاره مشخص شده است (P<۰/۰۱. * و P<۰/۰۰۱ **). داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند (برای هر تیمار n=۸).

جدول ۳- پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما مولدین ماده ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) پس از القا با عوامل هورمونی مختلف (میانگین ± خطای استاندارد؛ n= ۱۲)

پارامترهای بیوشیمیایی	گروه‌های آزمایشی				
	شاهد	Ova	Ovo	Comb1	Comb2
گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۴۳/۳ ± ۸/۴^{a}	۱۱۱/۲ ± ۴/۳^{b}	۱۲۷/۴ ± ۹/۹^{b}	۱۰۹/۴ ± ۵/۲^{b}	۱۲۳/۸ ± ۸/۶^{b}
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۲۱۸/۸ ± ۱۳/۶	۲۰۷/۸ ± ۱۲/۸	۲۳۹/۰ ± ۱۱/۳	۲۲۰/۱ ± ۱۶/۶	۲۱۳/۴ ± ۱۷/۲
تری گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۹۷/۲ ± ۹/۹	۱۸۰/۷ ± ۱۳/۲	۱۹۱/۲ ± ۱۵/۱	۱۹۴/۰ ± ۱۰/۶	۱۸۶/۳ ± ۱۳/۸
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	۴/۸ ± ۰/۲	۵/۳ ± ۰/۳	۵/۱ ± ۰/۴	۴/۷ ± ۰/۵	۵/۱ ± ۰/۴
آلبومین (گرم در دسی لیتر)	۲/۹ ± ۰/۲	۳/۰ ± ۰/۳	۳/۲ ± ۰/۳	۲/۷ ± ۰/۴	۳/۳ ± ۰/۴
گلوبولین (گرم در دسی لیتر)	۲/۰ ± ۰/۳	۲/۲ ± ۰/۴	۱/۹ ± ۰/۵	۲/۱ ±۰/۴	۱/۸ ± ۰/۵

Ova: دو مرحله تزریق هورمون اواپریم، Ovo: دو مرحله تزریق هورمون اوپل، Comb1: تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز ثانویه، Comb2: تزریق هورمون اواپریم به عنوان دوز اولیه و تزریق هورمون اوپل به عنوان دوز ثانویه. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

بحث و نتیجه‌گیری

به خوبی ثابت شده است که بررسی فراسنجه‌های فیزولوژیک ماهیان می‌تواند اطلاعات مناسبی در ارتباط با وضعیت سلامت و شرایط زیست ماهیان طی مراحل مختلف چرخه زندگی آنها در اختیار ما قرار دهد [۲-۱]. در همین راستا با توجه به اهمیت ماهی کلمه، در مطالعه حاضر اثرات تزریق عوامل هورمونی مختلف بر سطوح استروئیدهای جنسی و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون مولدین ماده این ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به مطالعات، میزان هورمون ۱۷- بتا استرادیول در ماهیان با پیشرفت مراحل تکاملی تخمدان روند افزایشی نشان می‌دهد و در مرحله زرده سازی به بالاترین میزان خود می‌رسد [۲۱]. میزان این هورمون همزمان با تخم‌ریزی و تخلیه تخمدان به شدت کاهش یافته و روند نزولی نشان می‌دهد [۲۲]. طبق نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، بالاترین میزان هورمون ۱۷- بتا استرادیول در مولدین تزریق نشده و گروه شاهد مشاهده شد. در واقع، پس از تخم‌کشی غلظت هورمون ۱۷- بتا استرادیول در تیمارهای القا شده با هورمون به طور معنی‌داری کمتر از مولدین تزریق نشده و گروه شاهد بود و در سطح این هورمون بین تیمارهای القا شده تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد. نتایج پژوهش حاضر با تحقیقات Johnson و همکاران [۲۳] در ماهی *Epinephelus morio*، Poortenaar و همکاران [۲۴] در ماهی *Seriola lalandi*، Lee و Yang [۲۵] در ماهی *Lateolabrax maculates*، Heidari و Roozati [۲۶] و Falahatkar و همکاران [۲۷] در ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* و Akhoundian و همکاران [۲۸] در ماهی کلمه مطابقت دارد. در واقع، این نتایج بیانگر نقش استروژن‌ها در مرحله رشد و تکامل اووسیت‌ها در طول دوره تولیدمثلی است. به عنوان مثال، Akhoundian و همکاران [۲۸] گزارش نمودند که مقدار ۱۷- بتا استرادیول با مراحل رسیدگی جنسی در ماهی کلمه ارتباط معنی‌داری نشان می‌دهد، به طوری که با افزایش ترشح ۱۷- بتا استرادیول شدت زرده‌سازی در اووسیت‌ها افزایش یافته و در مرحله رسیدگی نهـایی اووسیت‌ها مقدار آن به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در واقع، فرآیند زرده‌سازی در اووسیت‌ها به ترشح گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز وابسته است که باعث تحریک تولید استروژن‌ها توسط لایه‌های فولیکولی می‌شوند [۲۲]. با توجه به این موضوع که ۱۷- بتا استرادیول پس از ترشح از طریق جریان خون به کبد منتقل می‌شود و سنتز ویتلوژنین در کبد را کنترل می‌کند، افزایش سطح آن در مرحله زرده‌سازی و کاهش شدید آن در مرحله رسیدگی نهایی روندی طبیعی می‌باشد [۸، ۱۱].

در پژوهش حاضر، بالاترین سطح هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین تزریق نشده و گروه شاهد مشاهده شد به طوری که پس از عملیات تخم‌کشی سطح آن در تیمارهای آزمایشی کاهش قابل توجهی نشان داد. هم راستا با نتایج بررسی حاضر، در مطالعه Akhoundian و همکاران [۲۸] میزان هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون در آغاز رسیدگی جنسی و قبل از مرحله تخم‌ریزی بالاترین سطح این هورمون را در پلاسمای خون ماهی کلمه گزارش نمودند. طبق نتایج این محققان میزان هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون در ماهی کلمه بلافاصله پس از تخم‌ریزی با شیب تندی روند کاهشی در پیش می‌گیرد. مطالعات انجام شده روی سایر ماهیان استخوانی به خوبی نقش هورمون‌های پروژسترونی در القای رسیدگی نهایی اووسیت‌ها را بازگو می‌کنند. طبق مطالعه Heidari و Roozati [۲۶] روی ماهی سفید، میزان ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون طی مرحله رسیدگی نهایی اووسیت‌ها به بالاترین سطح خود می‌رسد و سپس طی بلوغ نهایی روند کاهشی نشان می‌دهد. در واقع ثابت شده است که پروژسترون پیش‌ساز سایر استروئیدها است [۱۱] و روند کاهشی آن پس از تخم‌ریزی مشابه تحقیق حاضر در ماهی کلمه [۲۸] و ماهی سفید [۲۷] گزارش شده است.

در این مطالعه، افزایش معنی‌دار غلظت هورمون تستوسترون در تمامی مولدین تیمارهای القا شده با هورمون که تخم‌ریزی کردند مشاهده شد. به‌طور مشابه، افزایش معنی‌دار هورمون تستوسترون پس از رسیدگی نهایی اووسیت‌ها و تخم‌ریزی در ماهی طلایی *Carassius auratus* [۲۹]، خامه ماهی *Chanos chanos* [۳۰]، *Latris lineata* [۳۱] و ماهی سفید [۲۷] گزارش شده است. در واقع، نقش دقیق این آندروژن در ماهی‌های ماده نامشخص است و باید مطالعات بیشتری برای تعیین رابطه این هورمون در چرخه تولیدمثلی مولدین ماده انجام گیرد. سطوح بالای هورمون تستوسترون بعد از رسیدگی نهایی اووسیت‌ها و تخم‌ریزی را می‌توان با کاهش فعالیت آنزیم آروماتاز در این مرحله یا نقش آن به عنوان یک فرومون در مولدین ماده مرتبط دانست [۲۷]. با این حال، برای بررسی عملکرد فرومونی این هورمون باید مطالعات بیشتری انجام گیرد. به‌طور کلی، همان‌طور که در مطالعه حاضر مشاهده شد، کاهش غلظت هورمون ۱۷- بتا استرادیول پس از القای هورمونی و رسیدگی نهایی اووسیت‌ها همراه با مقادیر بالای هورمون تستوسترون در این مرحله نشان می‌دهد که مرحله زرده‌سازی پایان یافته و ماهی‌های ماده آماده تخم‌ریزی هستند [۸]. در همین راستا، ممکن است کاهش غلظت ۱۷- بتا استرادیول و افزایش تستوسترون پس از رسیدگی نهایی اووسیت‌ها به‌علت اثرات بازدارنده هورمون تستوسترون بر بیـان ژن آنزیم آروماتاز و یا ایجاد اختلال در فعالیت آن باشد که باعث جلوگیری از تبدیل تستوسترون به ۱۷- بتا استرادیول

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

می‌شود [۲۷]. از طرفی، ثابت شده است که سطوح کورتیکوستروئیدها در ماهیان ماده اغلب در حوالی زمان تخم‌ریزی افزایش می‌یابد که ممکن است منعکس کننده نیازهای انرژی این دوره باشد [۳۲]. در برخی موارد در این زمان میزان کورتیزول بیش از حد افزایش می‌یابد و می‌تواند اثرات منفی در موفقیت تولیدمثل ماهی ایجاد نماید [۳۳]. در همین راستا عنوان شده است که سطوح بالای تستوسترون می‌تواند باعث اثر بر محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–اینتررنال و کاهش ترشح کورتیزول شود [۳۴]. در واقع، پیشنهاد شده است که سطوح بالای تستوسترون در مولدین ممکن است بازخوردی برای مقابله با اثرات تحریکی استروژن بر پاسخ استرس باشد [۳۵]. هرچند برای اثبات این موضوع نیاز است در مطالعات آتی بررسی‌های دقیقی انجام گیرد.

پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون اطلاعات مناسبی در ارتباط با وضعیت سلامت و شرایط زیست ماهی ارائه می‌دهند. کاهش غلظت پروتئین کل پلاسمای خون در برخی از بیماری‌ها قابل مشاهده است و این عارضه ممکن است بر اثر کاهش جذب پروتئین و انواع بیماری‌های کبدی بروز کند [۴]. افزایش غیر طبیعی غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول در پلاسما نیز می‌تواند نشانگر عدم تعادل فیزیولوژیک خون باشد که در چنین شرایطی وضعیت سلامت ماهی در معرض تهدید قرار می‌گیرد [۳۶]. در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین‌های پلاسما، غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول بین گروه‌های مختلف مورد آزمایش مشاهده نشد. در زمینه پروتئین‌های پلاسما، نتایج مشابهی در مطالعه Svoboda و همکاران [۳۷] و Kouřil و همکاران [۳۸] در لای ماهی (*Tinca tinca*) گزارش شده است. با این حال Shokr [۳۹] پس از اعمال تیمار هورمونی افزایش سطوح پروتئین کل در پلاسمای خون مولدین ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) را گزارش نموده است. در زمینه غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول نیز Kouřil و همکاران [۳۸] و Svoboda و همکاران [۳۷] در لای ماهی نتایج مشابهی هم راستا با مطالعه حاضر گزارش نموده‌اند. این در حالی است که Shokr [۳۹] پس از اعمال تیمارهای هورمونی کاهش تری گلیسرید در پلاسمای خون مولدین ماهی تیلاپیا را نسبت به گروه شاهد گزارش کرده است. به طور کلی، تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند با وضعیت فیزیولوژیک، سن و شرایط تغذیه‌ای گونه مورد مطالعه در ارتباط باشد. در هر صورت، نتایج مطالعه حاضر بیانگر این موضوع است که تیمارهای هورمونی تاثیرات نامطلوبی بر وضعیت فیزیولوژیک مولدین ماهی کلمه ایجاد نکرده‌اند.

ثابت شده است که عواملی از جمله استرس‌های حمل و نقل و دستکاری، تغییرات فصلی، تغییرات محـیطی، رسیدگی جنسی و وضعیت تغذیه‌ای می‌توانند بر غلظت گلوکز پلاسمای خون تاثیر بگذارند [۴]. در همین راستا، می‌توان غلظت گلوکز خون را به‌عنوان شاخص پاسخ استرس در نظر گرفت. در بررسی حاضر، پس از تخم‌ریزی میزان گلوکز پلاسمای خون مولدین القا شده با هورمون، به‌طور قابل توجهی کمتر از مولدین تخم‌ریزی نکرده (گروه شاهد) بود. با توجه به این موضوع که اوولاسیون و تخم‌ریزی سبب مصرف انرژی قابل توجهی در مولدین می شود [۳۸]، کاهش میزان گلوکز در مولدین القا شده با هورمون منطقی به نظر می‌رسد. از طرفی، این تفاوت می‌تواند به‌علت استرس دستکاری مشاهده شده باشد، زیرا از ۱۶ ساعت پس از عملیات تزریق تمامی مولدین در بازه‌های ۲ تا ۳ ساعته برای بررسی میزان آمادگی جهت تخم‌ریزی بررسی می‌شدند. عملا تعداد این بررسی‌ها در مولدین دریافت‌کننده هورمون کمتر بود، چون اکثر مولدین القا شده ۲۴ ساعت پس از القای هورمونی برای تخم‌ریزی آماده شدند. این در حالی است که بررسی مولدین گروه شاهد تا ۴۸ ساعت پس از تزریق سرم فیزیولوژی ادامه داشت و پس از آن نمونه‌گیری از آن‌ها انجام گرفت. ممکن است دستکاری‌های بیشتر در مولدین گروه شاهد علت مشاهده میزان گلوکز بیشتر در پلاسمای خون آن‌ها باشد. لازم به ذکر است که عدم توانایی مولدین گروه شاهد برای رهاسازی تخمک‌ها نیز می‌تواند دلیلی برای افزایش غلظت گلوکز در پلاسمای خون آن‌ها در نظر گرفته شود. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، Kouřil و همکاران [۳۸] عنوان نموده‌اند که پاسخ استرسی در مولدین به‌علت عدم امکان رهاسازی تخمک‌ها و باقی ماندن آن‌ها در حفره شکمی می‌تواند باعث افزایش غلظت گلوکز در پلاسمای خون مولدین شود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، عدم توانایی رهاسازی تخمک‌ها می‌تواند از عوامل مهم استرس‌زا در مولدین ماهی کلمه باشد. این امر به‌طور قابل توجهی رفاه ماهی‌ها را تحت شعاع قرار می‌دهد. بر همین اساس، استفاده از تیمار هورمونی مناسب برای جلوگیری از ایجاد استرس و توجه به رفاه مولدین امری ضروری می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

طبق نتایج پژوهش حاضر، پس از انجام عملیات تخم‌کشی سطح هورمون ۱۷– بتا استرادیول و ۱۷– آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین ماهی کلمه القا شده با عوامل هورمونی به‌طور قابل توجهی کاهش و سطح هورمون تستوسترون به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، کمترین میزان گلوکز پلاسما در مولدین القا شده با عوامل هورمونی پس از انجام عملیات تخم‌کشی اندازه‌گیری گردید. نتایج حاضر بیانگر این موضوع است که استفاده از تیمارهای هورمونی سبب اثرگذاری فیزیولوژیک مناسب در مولدین ماده ماهی کلمه و بهبود وضعیت رفاهی این ماهی در

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

شرایط اسارت طی فصل تخم‌ریزی می‌شود. در نتیجه، برای دستیابی به نتایج مطلوب در امر القای تخم‌ریزی و فراهم نمودن شرایط رفاهی مناسب در مولدین ماده ماهی کلمه، استفاده از هورمون‌های تجاری اواپریم، اوپل و یا ترکیب آنها به‌صورت دو مرحله با فاصله تزریق ۲۴ ساعت پیشنهاد می‌شود. توصیه می شود در مطالعات آتی فراسنجه‌های استرسی مولدین و کیفیت لاروهای حاصل از تکثیر مصنوعی پس استفاده از عوامل هورمونی مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

تأییدیه اخلاقی: این پژوهش مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی موسسه ملی بهداشت (the National Institute of Health) انجام گرفته است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: بخشی از هزینه‌های پژوهش حاضر توسط پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر تامین شده است.

سهم نویسندگان: عرفان اکبری نرگسی: ایده اولیه پژوهش، تحقیق، روش شناسی، فراهم آوردن داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها، تامین منابع، نوشتن پیش نویس اولیه مقاله، تحصیح و ویرایش نسخه نهایی. بهرام فلاحتکار: ایده اولیه پژوهش، روش شناسی، استاد راهنمای دانشجو، بررسی و ویرایش. دنیل زارسکی: روش شناسی، بررسی و ویرایش. دانیال گروهی: تامین منابع.

منابع

[1] Seibel, H., Baßmann, B. and Rebl, A., 2021. Blood will tell: what hematological analyses can reveal about fish welfare. Frontiers in Veterinary Science, 8, p.616955.

[2] Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K. and Bojarski, B., 2022. Hematological methods in fish–Not only for beginners. Aquaculture, 547, p.737498.

[3] Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. Aquaculture, 500, pp.237-242.

[4] Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., Sajjadi, M.M., 2020. Dietary supplementation of probiotics and influence on feed efficiency, growth parameters and reproductive performance in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock. Aquaculture Nutrition, 26, 98–108.

[5] Podhorec, P., Kouril, J., 2009. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: A review. Veterinarni Medicina, 54, 97–110.

[6] Naddafi, R., Abdoli, A., Kiabi, B.H., Amiri, B.M., Karami, M., 2005. Age, growth and reproduction of the Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in the Anzali and Gomishan wetlands, North Iran. Journal of Applied Ichthyology, 21, 492–497.

[7] Fatahi, S., Hosseni, S.A., Sudagar, M., Mazandarani, M., Khani, F., 2015. Growth, feeding factors and the effect of salinity stress on thesurvival rate on roach (*Rutilus rutilus caspicus*) juveniles fed with different levels of betaine and tryptophan. Journal of Fisheries Science and Technology, 4, 65-77.

[8] Babin, P.J., Cerdà, J., Lubzens, E., 2007. Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications. Springer, Netherlands. 508 p.

[9] Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, 165, 516–534.

[10] Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., Żarski, D., Gorouhi, D., 2023. The effectiveness of Ovaprim, Ovopel, and their combinations in artificial reproduction of common rudd *Scardinius erythrophthalmus* under controlled conditions. Theriogenology, 199, pp.114-120.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[11] Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J., 2010. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. General and Comparative Endocrinology, 165, 367–389.

[12] Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J.A., Elizur, A., Kah, O., 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. General and Comparative Endocrinology, 165, 438–455.

[13] Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., Żarski, D., 2022. Artificial reproduction of Caspian roach, *Rutilus caspicus* following stimulating ovulation with Ovaprim, Ovopel, and their combinations under controlled conditions. Animal Reproduction Science, 238, p.106932.

[14] Akbari Nargesi, E., 2022. Reproductive performance and physiological changes of the Caspian roach, *Rutilus caspicus* broodstocks under controlled conditions after induction with Ovopel and Ovaprim. PhD thesis. University of Guilan. 119 p.

[15] Jamróz, M., Kucharczyk, D., Hakć-Błażowska, A., Krejszeff, S., Kujawa, R., Kupren, K., Kwiatkowski, M., Targońska, K., Żarski, D., Cejko, B.I., Glogowski, J., 2008. Comparing the effectiveness of Ovopel, Ovaprim, and LHRH analogue used in the controlled reproduction of ide, *leuciscus idus* (L.). Archives of Polish Fisheries, 16, 363–370.

[16] Żarski, D., Kucharczyk, D., Targońska, K., Jamróz, M., Krejszeff, S., Mamcarz, A., 2009. Application of Ovopel and Ovaprim and their combinations in controlled reproduction of two reophilic cyprinid fish species. Polish Journal of Natural Sciences, 4, 235-244.

[17] Targońska, K., Kupren, K., Kujawa, R., Mamcarz, A., Kaczkowski, Z., Glogowski, J., Kowalski, R.K., Żarski, D., Wyszomirska, E., Kucharczyk, D., 2015. Artificial reproduction of different dace, *Leuciscus leuciscus* (L.) populations as a method for biodiversity preservation. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15, 477–485.

[18] Hakuć-Błażowska, A., Kupren, K., Turkowski, K., Targońska, K., Żarski, D., Kucharczyk, D., 2010. A comparison of the economic effectiveness of various spawning agents for stimulating the reproduction of the cultured and wild forms of the common barbel *Barbus barbus* (L.). Polish Journal of Natural Sciences, 25, 272–286.

[19] Kucharczyk, D., Nowosad, J., Wyszomirska, E., Cejko, B.I., Arciuch-Rutkowska, M., Juchno, D., Boroń, A., 2020. Comparison of artificial spawning effectiveness of hCG, CPH and GnRHa in combination with dopamine inhibitors in a wild strain of ide *Leuciscus idus* (L.) in hatchery conditions. Animal Reproduction Science, 221, 106543.

[20] Campbell, T.W., 2015. Exotic Animal Hematology and Cytology: Fourth Edition. Wiley Blackwell, New York, United States. 402 p.

[21] Nagahama, Y., 2002. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. International Journal of Developmental Biology, 38, 217–229.

[22] Nagahama, Y., Yamashita, M., 2008. Regulation of oocyte maturation in fish. Development, Growth and Differentiation, 50, 195–219.

[23] Johnson, K., Thomas, P., Wilson, R.R., 1998. Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in *Epinephelus morio*, a protogynous grouper in the eastern Gulf of Mexico. Journal of Fish Biology, 52, 502–518.

[24] Poortenaar, C.W., Hooker, S.H., Sharp, N., 2001. Assessment of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi lalandi*) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development. Aquaculture, 201, 271–286.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[25] Lee, W.K., Yang, S.W., 2002. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Lateolabrax maculatus*. Aquaculture, 207, 169–183.

[26] Heidari, B., Roozati, S., 2018. Changes in plasma levels of steroid hormones during oocyte development of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky, 1901). Animal Reproduction, 7, 373–381.

[27] Falahatkar, B., Poursaeid, S., Ershad Langroudi, H., Efatpanah, I., Meknatkhah, B., Rahmati, M., 2013. Spawning induction in Kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamensky), with different hormones: Analysis of hormone profiles and induced spawning success. Fisheries and Aquatic Life, 21, 271–281.

[28] Akhoundian, M., Salamat, N., Savari, A., Movahedinia, A., Salari, M.A., 2020. Influence of photoperiod and temperature manipulation on gonadal development and spawning in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*): Implications for artificial propagation. Aquaculture Research, 51, 1623–1642.

[29] Kobayashi, M., Aida, K., Hanyu, I., 1988. Hormone changes during the ovulatory cycle in goldfish. General and Comparative Endocrinology, 69, 301–307.

[30] Lee, C.S., Tamaru, C.S., Weber, G.M., 1987. Studies on the maturation and spawning of milkfish *Chanos chanos* Forsskal in a photoperiod-controlled room. Journal of the World Aquaculture Society, 18, 253–259.

[31] Pankhurst, N.W., 1997. In vitro steroid production by isolated ovarian follicles of the striped trumpeter. Journal of Fish Biology, 51, 669–685.

[32] Milla, S., Wang, N., Mandiki, S.N.M., Kestemont, P., 2009. Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction?. Comparative Biochemistry and Physiology, 153A, 242–251.

[33] Falahatkar, B., Bazrafshan, H., Asadi, M., 2016. Effects of LHRH-A2 on sex steroids levels, stress indices, and some plasma biochemical parameters in female sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*, broodstock. Journal of Fisheries Science and Technology, 5, 121-136.

[34] Fuzzen, M.L., Bernier, N.J., Van Der Kraak, G., 2011. Stress and Reproduction. In: Norris, D., Lopez, K. (Eds.), Hormones and Reproduction of Vertebrates. Academic Press, United States. pp. 65–82.

[35] Pottinger, T.G., Carrucj, T.R., 2000. Contrasting seasonal modulation of the stress response in male and female rainbow trout. Journal of Fish Biology, 56, 667–675.

[36] Ahmed, I., Sheikh, Z.A., 2019. Hematological and serum biochemical parameters of five freshwater snow trout fish species from river Jhelum of Kashmir Himalaya, India. Comparative Clinical Pathology, 28, 771–782.

[37] Svoboda, M., Kouřil, J., Hamáčková, J., Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z., Vykusova, B., 2001. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre-and postspawning period. Acta Veterinaria, 70, 259–268.

[38] Kouřil, J., Svoboda, M., Hamackova, J., Kalab, P., Kolarova, J., Lepicova, A., Sedova, M., Savina, L., Moreno Rendón, P., Svobodova, Z., Barth, T., 2007. Repeated administration of different hormonal preparations for artificial propagation and their effects on reproduction, survival and blood biochemistry profiles of female tench (*Tinca tinca* L.). Czech Journal of Animal Science, 52, 183–188.

[39] Shokr, E.S.A.M., 2015. Effect of follicular stimulating hormone and luteinizing hormone on reproduction, physiological and biochemical changes of *Oreochromis niloticus*. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 7, 61–73.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume 13, Issue 4, Fall 2024
Pages: 182-193

The effect of different hormonal inducing agents on the levels of sex steroids and biochemical parameters of blood plasma in the Caspian roach (*Rutilus caspicus*) female breeders

Erfan Akbari Nargesi[1,2], Bahram Falahatkar[2,3*], Daniel Żarski[4], Danial Gorouhi[5]

1- Inland Water Aquaculture Research Centre, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research Education and Extension Organization, Bandar-e Anzali, Iran
2- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
3- Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran
4- Department of Gamete and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland
5- Shahid Ansari Teleost Fish Restocking and Genetic Conservation Center, Rasht, Guilan, Iran

A B S T R A C T

The present study aimed to investigate the effects of injecting different hormonal agents on the levels of sex steroids and biochemical parameters of the blood plasma in the Caspian roach females (*Rutilus caspicus*). In order to perform the experiment, groups of five fish (n=20 in each group) were injected intraperitoneally as follows: 1- two injections of Ovaprim (Ova), 2- two injections of Ovopel (Ovo), 3- a priming dose of Ovopel with a resolving dose of Ovaprim (Comb1), 4- a priming dose of Ovaprim with a resolving dose of Ovopel (Comb2), and 5- sterile 0.9% NaCl solution as a control group. According to the observations, the highest concentrations of progesterone and 17-β estradiol were measured in control group and concentrations of these hormones sharply decreased after spawning in the experimental treatments ($P < 0.05$). Moreover, the lowest testosterone concentration was observed in the control group and after spawning; its concentration showed a significant increase in hormone-induced treatments ($P < 0.05$). The highest plasma glucose concentration was obtained in the control group, and the lowest concentration was observed in the Comb1 treatment ($P < 0.05$). No significant difference was observed among experimental treatments in the concentration of other biochemical parameters ($P > 0.05$). The results of the present study showed that hormonal agents can significantly affect the levels of sex steroids in the blood plasma of the Caspian roach breeders. Additionally, the findings indicated that proper hormonal treatment could lower plasma glucose levels, thereby reducing stress in the Caspian roach breeders. These findings suggest that the appropriate hormonal induction method can improve the welfare conditions of Caspian roach breeders in captivity.

KEYWORDS: Broodstock management, Cyprinidae, Physiological parameters, Reproduction.

ARTICLE TYPE
Original Research

ARTICLE HISTORY
Received: 22 May 2024
Accepted: 21 November 2024
ePublished: 22 November 2024

* Corresponding Authors: Bahram Falahatkar
Email address: falahatkar@guilan.ac.ir
Tel: +989122037428 (Falahatkar, B.)
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]