

بررسی اثر اخلاص گر هورمونی نونیل فنل اتوکسیلات بر میزان هورمون تستوسترون پلازما در ماهی زبرا سیچلید (*Cichlasoma nigrofasciatum*)

ظاهره مکتبی^۱، همایون حسینزاده صحافی^{۲*}، ژایلا صفائیانی^۳

۱- دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: tnm_maktabi@yahoo.com

۲- دانشیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: h_hosseinzadeh@yahoo.com

۳- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و فنون دریایی واحد تهران شمال، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: shila2962462@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۵

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۹

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس شناسی ۱۳۹۲، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس شناسی است.

چکیده

اخلاص گرهای هورمونی گروهی از مواد شیمیایی هستند که می توانند سامانه‌ی هورمونی را در انسان و به‌ویژه جانوران آبی، از جمله ماهی‌ها، دچار اختلال کنند. پژوهش حاضر در مورد تأثیرات یکی از مواد مختل کننده‌ی هورمونی (متعلق به مواد شیمیایی شوینده) به نام نونیل فنل اتوکسیلات (Nonylphenol Ethoxylates) در ماهی زبرا سیچلید صورت گرفته و اثرات غلظت‌های مختلف ترکیب نونیل فنل اتوکسیلات را بر شاخص هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف وزنی مورد بررسی قرار داده است. به‌منظور تعیین اثرات نونیل فنل اتوکسیلات بر میزان هورمون مذکور، تعداد ۸۴۰ قطعه بچه ماهی زبرا سیچلید (*Cichlasoma nigrofasciatum*) در سه گروه با میانگین وزنی ۳±۰/۱ گرم، ۴±۰/۳ گرم و ۵±۰/۱ گرم پس از علامت‌گذاری با تگ‌های رنگی الاستومر (Abc-Tag) در قالب ۳ تیمار (۱۰-۵۰-۱۰۰ µg/l) از ماده نونیل فنل اتوکسیلات، تیمار شاهد (بدون ماده مخرب) و تیمار کنترل مثبت (اتانول بدون ماده مخرب) و با ۳ تکرار، به مدت ۶۰ روز در آکواریوم‌های شیشه‌ای در معرض غلظت‌های ذکر شده این ترکیب قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که در غلظت‌های ۱۰۱ µg/l و ۵۰ و ۱۰۰، میزان هورمون تستوسترون، دستخوش تغییرات معنی‌داری شد ($P < 0.01$). همچنین تغییرات هورمون تستوسترون در تمامی گروه‌های وزنی نسبت به شاهد، اختلاف معنی‌دار داشته و در گروه وزنی بالای ۵ گرم از کاهش نسبی برخوردار بوده است. به‌نظر می‌رسد نونیل فنل اتوکسیلات به‌میزان بیش از ۱۰ µg/l می‌تواند با تأثیر بر محورهای آندوکرینی در سطوح مختلف میزان هورمون تستوسترون خون ماهی را تحت تأثیر قرار دهد.

کلمات کلیدی: نونیل فنل اتوکسیلات، اخلاص گرهای هورمونی، ماهی زبرا سیچلید، تستوسترون.

در هر دو جنس ماده و نر تنظیم می‌کنند، کنترل می‌شود. محور مغز - هیپوفیز - گنادر (Brain Pituitary Gonad Axis) با مکانیسم‌های بازخورد، خود در روندهای تولیدمثلی تأثیرگذار بوده و در این میان دو گروه هورمون استروئیدی (آندروژن‌ها و

۱. مقدمه

تولیدمثل در ماهی‌ها همانند سایر مهره‌داران، از طریق هورمون‌های غده هیپوفیز (گنادوتروپین‌ها) که فعالیت گنادها را

رسیده است (Jobling et al., 1996; Coldham et al., 1998). همچنین اثرات استروژنیک این ترکیب در ماهی نر به صورت القای تولید ویتلوژنین در کبد می‌باشد (Jobling and Sumpter, 1994; White et al., 1993). مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر آلاینده‌های محیطی حاکی از اثرات کاهش‌دهنده این ترکیبات و بویژه نونیل فنل‌ها بر میزان هورمون تستوسترون در ماهی کپور رودخانه‌ای در آمریکا است (Leroy et al., 1996). امروزه بسیاری از ترکیبات شوینده حاوی نونیل فنل‌ها به صورت گسترده در طبیعت پراکنده شده که زمینه در معرض قرارگرفتن انواع آبزیان و اختلالات جنسی در آنها را فراهم آورده است (Hariss et al., 2001). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیرات یکی از مواد مختل‌کننده هورمونی به نام نونیل فنل اتوکسیلات (Nonyl phenol Ethoxylate) در ماهی زبرا سیچلید صورت گرفته و اثرات غلظت‌های مختلف ترکیب نونیل فنل اتوکسیلات را بر شاخص هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف وزنی مورد بررسی قرار داده است.

۲. مواد و روش‌ها

گونه‌ی مورد استفاده در این پژوهش زبرا سیچلید (*Cichlasoma nigrofasciatum*) نابالغ بوده که در گروه‌های وزنی ۳ تا ۵ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش زرکان کرج تامین گردید. به‌منظور تعیین اثرات نونیل فنل اتوکسیلات (تهیه شده از شرکت کیمیاگران امروز با خلوص ۹۹٪) بر میزان هورمون تستوسترون، تعداد ۸۴۰ قطعه ماهی زبرا سیچلید در قالب سه گروه با میانگین وزنی 3 ± 0.1 گرم، 4 ± 0.3 گرم و 5 ± 0.1 گرم در قالب ۳ تیمار تحت تاثیر نونیل فنل اتوکسیلات ($10 \mu\text{g} / 1 - 50$) (بدون ماده مخرب) و تیمار کنترل مثبت (اتانول ۱۰۰) (بدون ماده مخرب) و با ۳ تکرار، به مدت ۶۰ روز در آکواریوم‌های شیشه‌ای در معرض غلظت‌های ذکر شده این ترکیب قرار گرفتند. در هر تیمار گروه‌های وزنی به‌وسیله‌ی علامت‌های رنگی الاستومر (ABC-Tag) از انستیتو تحقیقات علوم و فن‌آوری کانادا (CIST)، علامت‌گذاری شدند. برای گروه وزنی ۳، ۴ و ۵ گرم به ترتیب رنگ‌های قرمز، سبز و زرد در نظر گرفته شد. به منظور انجام عملیات تیماربندهی به هر آکواریوم تعداد ۲۴ عدد ماهی افزوده شد. ماهی‌ها در مدت آزمایش روزانه ۳ بار با غذای تترا ساخت کشور آلمان که با ترازوی دیجیتالی با دقت $\pm 0.1 \text{ g}$

استروژن‌ها) و فعال‌کننده‌ها و بازدارنده‌های آنها که از گنادها ترشح می‌شوند بر روی هیپوتالاموس و هیپوفیز اثر گذاشته و سنتز و ترشح گنادوتروپین‌ها را کنترل می‌کنند. در بیشتر ماهی‌هایی که تاکنون بررسی شده‌اند دو نوع گنادوتروپین به نام‌های GtH I و GtH II شناسایی شده‌اند که مشابه هورمون‌های LH و FSH در پستانداران هستند (Swanson et al., 1991). در عین حال استروئیدهای تولید شده در تخمدان و بیضه می‌توانند اثرات تنظیم افزایشی (Upregulation) یا تنظیم کاهش‌دهنده (Downregulation) خود را بر اساس نیاز فیزیولوژیکی ماهی در سطح هیپوتالاموس اعمال نمایند (Archand and Benson, 1998). در حال حاضر اخلاص‌گرهای هورمونی استروژنیک که به‌عنوان زنواستروژن‌ها یا استروژن‌های با منشأ خارجی نامیده می‌شوند، بیشترین توجه را به خود اختصاص داده‌اند. این مواد می‌توانند در ایجاد اختلالات تولیدمثلی نقش داشته باشند (Colborn et al., 1998; Kovlock et al., 1996; Tyler et al., 1998). زنواستروژن‌ها می‌توانند از تعدادی از استروژن‌ها تقلید کنند و اثراتی نظیر تحریک سنتز ویتلوژنین را در هر دو جنس نر و ماده القا نمایند. بنابراین قادر به تقلید سایر اثرات مانند اعمال بازخورد نیز هستند و از این رو مراکز بالاتر محور مغز - هیپوفیز - گناد را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند و به این ترتیب محور تولید مثلی را دچار درهم ریختگی می‌نمایند. بسیاری از مواد شیمیایی ساخته انسان که در محیط به‌عنوان آلاینده نامیده می‌شوند، با دستگاه درون‌ریز در جانوران، تداخل عملکرد دارند. این مواد شیمیایی که بر هم زننده دستگاه درون‌ریز نامیده می‌شوند، پاسخ استروژنیک را با تقلید و یا محدود کردن عمل استروژن نشان می‌دهند (Cakmak et al., 2005). نونیل فنل اتوکسیلات یک آلکیل فنل اتوکسیلات (APEs) است. این ترکیب به‌عنوان مکمل در انواع شوینده‌ها وجود داشته و به‌طور عام انواع آبزیان در معرض آن قرار می‌گیرند. مطالعات نشان دهنده اثرات فیزیولوژیکی و تاثیر مختل‌کننده (Endocrine Disruptor) این ماده در انواع ماهی‌ها بوده است (Coldham et al., 1998). انواع APEs از جمله سورفکتانت‌هایی هستند که با تراکم‌های بالا در محیط‌های آبی وجود دارند (Ahel et al., 1994; Blackburn and Waldock, 1995). اگرچه مطالعات در زمینه اثرات مخرب هورمونی این ترکیبات بر روی آبزیان در کشور انجام نشده، اما طبق مطالعات انجام شده نونیل فنل در آزمایش بر روی ماهی در شرایط آزمایشگاهی (in vivo) اثرات مخرب هورمونی را به جای گذاشته و خواص استروژنیک آن به اثبات

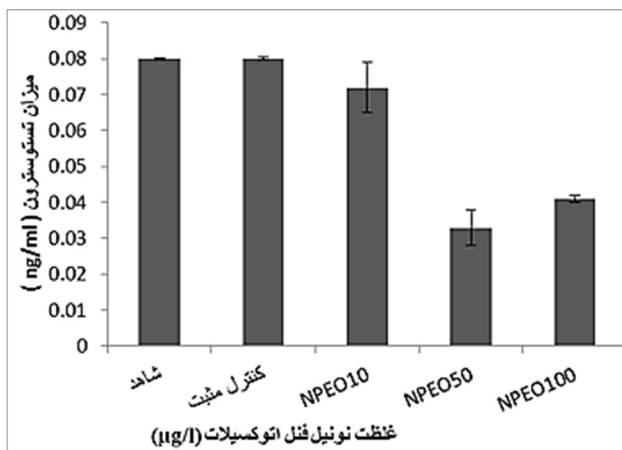
پرتودهی حاصل از این اتصال با گاما کاتر LKB ساخت کشور فنلاند اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلافات مشاهده شده در میزان هورمون جنسی تستوسترون و مقایسه آن با گروه شاهد از بسته نرم افزاری SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. برای انجام محاسبات آماری و ترسیم نمودارها نیز از بسته نرم‌افزاری Excel ۲۰۰۷ استفاده گردید.

۳. نتایج

نتایج حاصل از پژوهش در مورد اثرات ماده نونیل فنل اتوکسیلات بر هورمون جنسی تستوسترون در سرم خون ماهی زبرا بر حسب نانوگرم در میلی‌لیتر سرم، مورد بررسی قرار گرفت. در مورد اثر غلظت‌های مختلف نونیل فنل اتوکسیلات (۱۰ - ۵۰ - ۱۰۰) میکروگرم بر لیتر آب، بر میزان هورمون تستوسترون در سرم خون ماهی‌های با میانگین وزنی ۳ گرم، بین تیمارهای شاهد و کنترل مثبت اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود (نمودار ۱). بین تیمارهای ۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر با شاهد و کنترل مثبت اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.01$). همچنین اختلاف معنی‌دار بین تیمار ۱۰ میکروگرم بر لیتر با تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر نیز معنی‌دار بود ($P < 0.01$). سطح هورمون تستوسترون در تیمار ۱۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات معادل 0.049 ± 0.054 میکروگرم بر میلی‌لیتر و در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات به ترتیب معادل 0.11 ± 0.036 و 0.04 ± 0.033 نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بیشترین مقدار افزایش هورمون تستوسترون در تیمار ۱۰ میکروگرم دیده شد. در مورد تیمار ۱۰۰ نسبت به تیمار ۵۰ و ۱۰، کاهش میزان هورمون دیده شد.

همچنین اثر نونیل فنل اتوکسیلات بر ماهی‌های با وزن ۴ گرم نیز مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۲). نتایج نشان داد که بین تیمارهای کنترل با هم و تیمار ۱۰ و ۵۰ اختلاف معنی‌داری دیده نشده ولی با تیمار ۱۰۰ اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0.01$). سطح این هورمون در تیمار ۱۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات معادل 0.08 ± 0.045 نانوگرم بر میلی‌لیتر و در تیمار ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات معادل 0.06 ± 0.053 نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بیشترین افزایش هورمون

توزین گردید، به میزان ۴ - ۳ درصد وزن بدن تغذیه شدند. برای کاستن از احتمال بروز خطا در آزمایش و ایجاد شرایط یکسان برای همه تیمارها از نظر نور و دما و سایر عوامل محیطی، محل قرارگیری تکرارهای هر تیمار به‌طور تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) تعیین شد. تیمارها شامل تیمار شاهد (بدون ماده نونیل فنل اتوکسیلات)، تیمار کنترل مثبت (شامل حلال بدون ماده نونیل فنل اتوکسیلات) و تیمار اول (نونیل فنل اتوکسیلات $10 \mu / 1 g$) تیمار دوم (نونیل فنل اتوکسیلات $100 \mu / 1 g$) و تیمار سوم (نونیل فنل اتوکسیلات $100 \mu / 1 g$) بوده و برای بررسی اثر ماده شیمیایی نونیل فنل اتوکسیلات بر میزان هورمون تستوسترون، این ترکیب به‌صورت محلول در میزان مساوی اتانول ۹۶ درجه با نسبت‌های لازم حل شد. غلظت تیمارها براساس مطالعات (Hariss et al., 2001) تعیین گردید. سپس محلول الکل - نونیل فنل اتوکسیلات تهیه شده، به آب آکواریوم‌های ۳ و ۴ و ۵ افزوده شد. اگرچه به آب آکواریوم الکل و نونیل فنل اتوکسیلات گروه شاهد اضافه نشد، اما گروه کنترل مثبت به میزان مساوی اتانول دریافت نمود. طی مدت آزمایش روزانه غذای اضافی خورده نشده و فضولات ماهی‌ها و تلفات احتمالی آن‌ها از آب خارج شدند. در پایان ماه دوم، ماهی‌ها با عصاره آویشن بی‌هوش و پس از اطمینان از بی‌هوشی آنها ساقه‌های مقطوع شده و با لوله‌های موئینه هماتوکریت خون‌گیری انجام شد. آنگاه حدود ۱ سانتی‌متر مکعب از خون مورد نیاز برای اندازه‌گیری هورمون تستوسترون با جمع‌آوری خون از ۸ - ۷ ماهی، با مخلوط کردن (Pooling) برای هر نمونه انجام شد (برای هر تیمار، ۳ نمونه خونی از ۳ گروه وزنی ماهی‌ها جمع‌آوری شد). سرانجام خون‌های هر گروه در لوله‌های آزمایش درب دار استریل و هیپارینه برای جداسازی پلاسما با دستگاه سانتریفیوژ (مدل Labofuge 200، ساخت شرکت SpatechHeraeus کشور آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شدند. سرم مربوطه با استفاده از پی پت پاستور به اپندورف‌های شماره‌گذاری شده منتقل و تا زمان سنجش پارامترهای مورد نظر، در دمای $20^{\circ}C$ با استفاده از یخ خشک نگهداری شدند (Pottinger and Carrick, 2001). اندازه‌گیری هورمون تستوسترون بر اساس نانوگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از روش رادیو ایمنونواسی (Radioimmunoassay) بر اساس واکنش رقابتی بین هورمون موجود در سرم با هورمون نشان‌دار شده با ید رادیواکتیو ^{125}I ، جهت اتصال به آنتی‌بادی ضد هورمون در فاز جامد انجام گرفت.

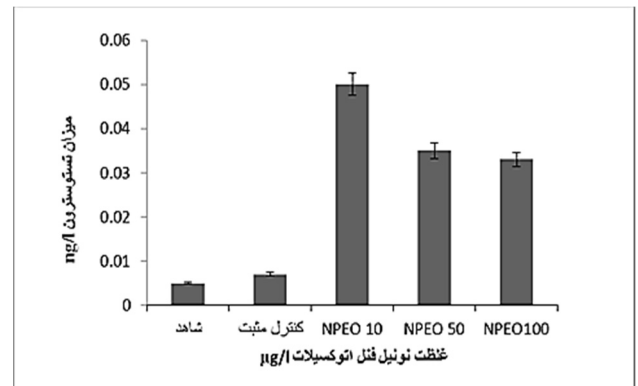


نمودار ۳: اثر نونیل فنل اتوکسیلات بر غلظت تستوسترون سرم در ماهی‌های زبرا سیچلید با میانگین وزنی ۵ گرم

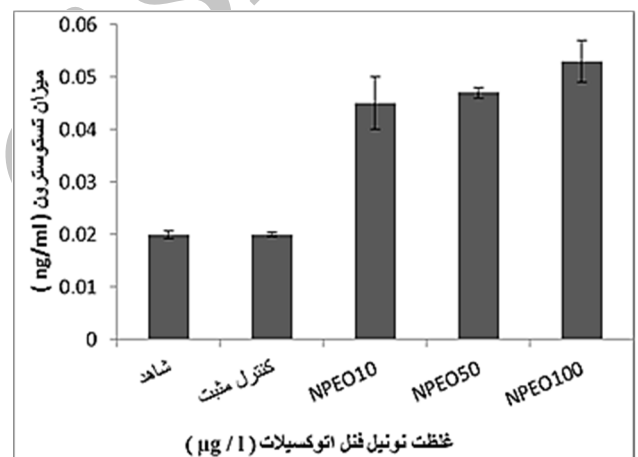
۴. بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تأثیر مواد اخلاص‌گر هورمونی محیطی بر روی دستگاه تولیدمثل ماهی‌ها به اثبات رسیده است (Kovlock et al., 1996; Tyler et al., 1998). این ترکیبات با هورمون‌هایی که از بافت‌های مختلف ترشح می‌شوند تداخل عملکرد داشته و فرایندهای تولیدمثلی را در یک یا چند مسیر فیزیولوژیک مختل می‌سازند (Kime et al., 1999). غلظت به‌کار گرفته شده در تیمارهای مربوط به این پژوهش در زیر حد مرگ در نظر گرفته شد (۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر). مطالعات حاکی از غلظت کشندگی ترکیب نونیل فنل اتوکسیلات با مقدار بیش از ۱۲۵ میکروگرم بر لیتر برای ماهی‌ها بوده (Servos, 1999) که استفاده از دامنه غلظت‌های بیشتر، احتمالاً منجر به مرگ آبری ناشی از سمیت مواد و یا تخریب عام مسیرهای هورمونی می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر تأثیر ترکیب نونیل فنل بر تغییر سطح هورمون تستوسترون پلاسمای ماهی زبرا سیچلید است؛ هر چند که در ماهی‌های با میانگین وزنی ۳ و ۴ گرم، اختلاف معنی‌داری در میزان غلظت هورمون تستوسترون بین گروه شاهد و کنترل مثبت وجود نداشت. اثراتی مشابه در ایجاد اختلالات هورمونی در ماهی‌ها به اثبات رسیده است (White et al., 1994). نونیل فنل اتوکسیلات با غلظت 10 μg/L میزان تستوسترون پلاسمایی را افزایش داده و به‌طور معنی‌داری در غلظت‌های ۵۰ μg/L و ۱۰۰ μg/L از این ترکیب میزان تستوسترون پلازما تغییر کرد ($P < 0.01$). افزایش سطح هورمون تستوسترون در ماهیان نابالغ را

مربوط به تیمار ۱۰۰ و کمترین آن مربوط به تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر از ماده نونیل فنل بود.



نمودار ۱: اثر نونیل فنل اتوکسیلات بر غلظت هورمون تستوسترون در ماهی‌های زبرا سیچلید با میانگین وزنی ۳ گرم



نمودار ۲: اثر نونیل فنل اتوکسیلات بر هورمون تستوسترون در ماهی‌های زبرا سیچلید با میانگین وزنی ۴ گرم

همچنین اثر نونیل فنل اتوکسیلات بر میزان هورمون تستوسترون به‌صورت کاهش دهنده بوده و بیشترین کاهش میزان هورمون تستوسترون در سرم ماهی زبرا سیچلید مربوط به تیمار ۵۰ و کمترین کاهش مربوط به تیمار ۱۰ بود (نمودار ۳). سطح این هورمون در تیمار ۱۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات معادل 0.007 ± 0.007 نا نوگرم بر میلی لیتر و در تیمار ۵۰ میکروگرم بر لیتر نونیل فنل اتوکسیلات معادل 0.033 ± 0.005 نانوگرم بر میلی لیتر به‌دست آمد. اختلاف بین تیمارهای کنترل و تیمار ۱۰ معنی‌دار نبود ولی بین این تیمارها با تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($P < 0.01$).

کاهش می‌یابند. در عین حال این ترکیبات کنژوکه محلول در آب هستند و نمی‌توانند به پروتئین‌های سرم متصل شوند و به همین علت است که به آسانی از کلیه‌ها دفع می‌شوند (Vermeissen and Scott, 1996). سرعت رشد و تکامل گنادها و تولید استروئیدهای جنسی به‌طور قابل توجهی با قرار گرفتن ماهی در معرض ترکیب نونیل فنل اتوکسیلات با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر کاهش می‌یابد (Hariss et al., 2001). در پژوهش دیگر اثر نونیل فنل اتوکسیلات‌ها بر کاهش رقابت جنس نر در ماهی-های نابالغ (Fathead minnows) مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه آن بود که پس از ۶۴ روز قرار داشتن در معرض این ترکیب، ماهیان در حال بلوغ رفتارهای تولید مثلی متعارف، نظیر لانه-سازی، رقابت و رفتارهای پرخاشگرانه را از خود نشان ندادند. این تغییر رفتار در بچه ماهیان به تأثیرگذاری ترکیب نونیل فنل اتوکسیلات بر سطح هورمون تستوسترون در خون ماهیان نسبت داده شده است (Bistodeau et al., 2006). در مجموع با توجه به اثرات حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد که اختلال‌گر نونیل فنل اتوکسیلات بر روند تولید مثلی و هورمون‌های جنسی ماهی اثرگذار بوده و با توجه به رشد افزاینده جمعیت و استفاده روزافزون از مواد شیمیایی حاوی نونیل فنل اتوکسیلات مانند رنگ‌ها، امولسیفایرها، آفت‌کش‌ها، مواد بهداشتی و آرایشی و به ویژه در شوینده‌های مختلف از جمله پودرهای لباسشویی و شامپوها و نرم‌کننده‌ها و غیره، کنترل کاربرد این ماده در محیط زیست به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اقدامات راهبردی در حفظ تداوم نسل آبزیان محسوب می‌شود. در پژوهشی که در مورد اثر شوینده‌های آنیونی بر شاخص‌های خونی ماهی فیتوفاگ انجام گرفته، به ایجاد تغییرات هورمونی به‌وسیله شوینده‌های آنیونی اشاره شده است (حیدری و همکاران، ۱۳۹۱). از این‌رو با توجه به مصرف بسیار زیاد شوینده‌ها و ورود آن‌ها به زیست‌بوم‌های آبی، می‌تواند باعث عدم موفقیت در تکثیر و پرورش ماهی‌ها باشد.

منابع

حیدری، ب؛ گلچین راد، ع؛ حقی، ن؛ یآوری، ل، ۱۳۹۱. مطالعه پاسخ فیزیولوژیکی ماهی فیتوفاگ در پاسخ به شوینده‌های آنیونی. مجله اقیانوس‌شناسی، سال چهارم، شماره ۱۴، صفحات ۷۶-۶۹.

Ahel, M.; Giger, W.; Koch, M., 1994. Behaviour of

می‌توان به اثرات تحریکی این ترکیب در بخش‌های مختلف در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد نسبت داد که با تأثیر بر گیرنده‌های هورمونی تحریک ترشح هورمون‌ها را سبب شده است. بررسی‌های دیگر نیز مؤید تأثیر این ترکیب بر تغییرات سطح گنادوتروپین‌ها است (Hariss et al., 2001). اثر ترکیب اختلال‌گر هورمونی نونیل فنل اتوکسیلات بر گیرنده‌های هورمونی در سلول‌های کبد و هیپوتالاموس توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (Yadete et al., 1999). در عین حال اثرات کاهش دهنده‌ی مشتقات نونیل فنل بر سطح هورمون تستوسترون در ماهی کپور بالغ رودخانه‌ای، در می‌سی‌سی‌پی آمریکا به اثبات رسیده است (Leroy et al., 1996). در این تحقیق میزان هورمون تستوسترون بین ۱۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ پیکوگرم بر سی‌سی متغیر بوده که به دخالت ترکیب نونیل فنل و سایر اختلال‌گرهای هورمونی نسبت داده شده است. این در حالی است که در تحقیق حاضر نیز تغییر در میزان تستوسترون از ۰/۰۳ تا ۰/۰۵۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر متفاوت بوده و در ماهی‌های با وزن متوسط ۵ گرم به ۰/۰۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر رسید. با توجه به این که ماهی‌های با وزن متوسط ۵ گرم در حال بلوغ بوده و ماهیان نر به‌طور طبیعی دارای قابلیت تولید هورمون تستوسترون هستند. به همین دلیل میزان تستوسترون در آن‌ها بالا بوده و اثر کاهندگی ماده نونیل فنل اتوکسیلات در این گروه را می‌توان مرتبط با اثر بازدارندگی ماده نونیل فنل اتوکسیلات در بیوستز هورمون تستوسترون دانست. اثر این ماده مخرب بر مکانیسم‌های آنزیمی و به‌ویژه آنزیم سیتوکرم اکسیداز (P450) بر روند بیوستز هورمون‌های استروئیدی به اثبات رسیده است (Chang et al., 2010). در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Rainbow trout) ماده، که در معرض ترکیب نونیل فنل قرار گرفته بود، سنتز گنادوتروپین (GTH) سرکوب شد (Hariss et al., 2001). علاوه بر این، بیوستز هورمون‌های استروئیدی که درگیر چندین پروتئین و همچنین چندین آنزیم کلیدی است در اثر این ترکیب دچار اختلال می‌گردند. نونیل فنل اتوکسیلات می‌تواند فعالیت آنزیم‌هایی مانند ۱۷آلفا-هیدروکسیلاز و C17,20 لیاز (P450 C17) را که در سنتز هورمون تستوسترون نقش دارند، محدود کند (Laurenzana et al., 2002). عامل دیگر در کنترل غلظت هورمون‌های جنسی تولید و دفع در ماهی است. از آنجایی که بیشترین متابولیسم در کبد انجام می‌شود، در این اندام زنجیره‌های جانبی که هنگام تشکیل گلوکوکورونیدها (آندروژن‌ها و استروژن‌ها) به‌هم پیوسته‌اند،

- R.; Sumpter, P., 2001. Nonylphenol Affects Gonadotropin Levels in the Pituitary Gland and Plasma of Female Rainbow Trout. *Aquatic Toxicology*, 19(2): 118-123.
- Jobling, S.; Sheahan, D.; Osborne, J.A.; Matthiessen, P.; Sumpter, J.P., 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 194-202.
- Jobling S and Sumpter JP .1993. Detergent compounds in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 127: 361-372.
- Kavlock, R.J.; Daston, G.P.; DeRosa, C.; Fenner-Crisp, P.; Gray, L.E.; Kaattari, S.; Lucier, G.; Luster, M.; Mac, M.J.; Maczka, C.; Miller, R.; Moore, J.; Rolland, R.; Scott, G.; Sheehan, D.M.; Sinks, T.; Tilson, H.A., 1996. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives*, 104 (4): 715-740.
- Kime, D.E.; Nash, J.P.; Scott, A.P., 1999. Vitellogenesis as a biomarker of reproductive disruption by xenobiotics. *Aquaculture*, 177: 345 - 352.
- Laurenzana, E. M.; Balasubramanian, G.; Weis, C.; Blaydes, B.; Newbold, R. R.; Delclos, K. B., 2002. Effect of nonylphenol on serum testosterone levels and testicular steroidogenic enzyme activity in neonatal, pubertal, and adult rats. *Chemico-biological interactions*, 139: 23-41.
- Leroy, C.; Folmar, I.; Denslow, N.D., 1996. Vitellogenin Induction and Reduced Serum Testosterone Concentrations in Feral Male Carp (*Cyprinus carpio*) Captured near a Major Metropolitan Sewage Treatment Plant. *Environmental Health Perspect*, 104: 1098-1101.
- Pottinger, T.G.; Carrick, T.R., 2001. ACTH does not mediate divergent stress responsiveness in Rainbow alkylphenolpolyethoxylate surfactants in the aquatic environment. I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Research*, 28: 1131-1142.
- Archand, L.D.; Benson, W.H., 1998. Fish reproduction: An ecologically relevant indicator of endocrine disruption. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 49-57.
- Bistodeau, T.J.; Barberb, L.B.; Bartella, S.E.; Cediela, R.A.; Grovea, K.J.; Klaustermeiera, J.; Woodarda, J. C.; Leec, K.E.; Schoenfussa, H.L., 2006. Larval exposure to environmentally relevant mixtures of alkylphenolethoxylates reduces reproductive competence in male fathead minnows. *Aquatic Toxicology*, 79(3): 268-277.
- Blackburn, M.A.; Waldock, M.J., 1995. Concentrations of alkyl phenols in rivers and estuaries in England and Wales *Water Research*, 29: 1623-1629.
- Cakmak, G.; Togan, I., 2005. 17 β -Estradiol induced compositional, structural and functional changes in rainbow trout liver, revealed by FT-IR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol. *Comparative Endocrinology*, 4: 211-219.
- Chang, W.L.; Wun, S.A.; Wang, P.S., 2010. Expand Effects and Mechanisms of Nonylphenol on Corticosterone Release in Rat Zona Fasciculata-Reticularis Cells. *Toxicological Sciences*, 118(2): 411-419.
- Colborn, T.; Saal, F.S.; Soto, A.M., 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives*. 101: 378-3841.
- Coldham, NG.; Sivapathasundaram, S.; Dave, M.; Ashfield, LA.; Pottinger, TG.; Goodall, C.; Sauer, MJ., 1998. Biotransformation, tissue distribution, and persistence of 4-nonylphenol residues in juvenile rainbow trout. *Drug Metabolism and Disposition*, 26: 347-354.
- Harris, A.; Santos, M.; Eduarda, J.; Pottinger, G.; Tyler,

- and conjugated steroids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence for branchial excretion of the maturation- inducing steroid, 17, 20 β - dihydroxy - 4 - pregnen - 3 - one. *General Comparative Endocrinology*, 101: 180 – 194.
- White, R.; Jobling, S.; Hoare, S.A.; Sumpter, J.P.; Parker, M.G., 1994. Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, 135: 175-182.
- Yadette, F.; Arukwe, A.; Goksoyr, A.; Male, R., 1999. Induction of hepatic estrogen receptor in juvenile Atlantic salmon in vivo by the environmental estrogen, 4-nonylphenol. *Science and Environment*, 233: 201-210.
- Trout. *Comparative biochemistry and physiology*, 1998. 399 – 404 pp.
- Servos, M.R., 1999. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. *Canadian Journal of Water Quality Research*, 34: 123–77.
- Swanson, P.; Suzuki, K.; Kawachi, H.; Dickhoff, W.W., 1991. Isolation and characterization of two Coho Salmon gonadotropins, GTH I and GTH II. *Biology of Reproduction*, 44: 29-38.
- Tyler, C.R.; Jobling, S.; Sumpter, J.P., 1998. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Critical Reviews in Toxicology*, 28: 319-361.
- Vermeirssen, E.I.; M, Scott, A., 1996. Excretion of free