

تغییرات هورمونی و متابولیکی مولد میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول

حسین آدینه*^۱، محمد سوداگر^۲، محمد گرگیج^۳، محمدرضا گروسی^۱

^۱گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

^۲گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

^۳گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، بندعباس، ایران.

adineh.h@gmail.com: *نویسنده مسئول

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۴

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی نقش هورمون ۱۷ بتا استرادیول بر پارامترهای متابولیکی و هورمون‌های استروئیدی همولنف میگوی وانامی بود. میگوها با میانگین وزن $40/118 \pm 2/46$ گرم سطوح صفر (کنترل)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هر کیلوگرم غذای تجاری مولدین (E0, E20, E40, E60) به مدت ۲۵ روز دریافت کردند. پس از سازگاری با شرایط محیطی تعداد ۸۰ میگو در ۴ تیمار (هر یک با ۲ تکرار) جایابی شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی و کنترل به جز هموسیانین و پروتئین پلاسما در اکثر پارامترهای مورد بررسی، تغییرات قابل توجهی وجود نداشت ($P > 0/05$). بیشترین میزان پروتئین، کلسترول و گلوکز در تیمار E40 بترتیب برابر $0/722 \pm 0/30$ ، $97/65 \pm 8/70$ و $80/78 \pm 4/35$ میلی‌گرم بر دسی-لیتر به دست آمد. مقدار هورمون‌های استروئیدی بین تیمار کنترل با دیگر تیمارهای آزمایشی (به جزء تیمار E40) تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). بر اساس نتایج می‌توان گزارش داد که افزودن ۴۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هر کیلوگرم غذای تجاری مولدین (تیمار E40) باعث تحریک بیشتر فعالیت‌های هورمونی میگوی وانامی می‌شود. واژگان کلیدی: میگوی سفید اقیانوس آرام، همولنف، هورمون‌های استروئیدی.

مقدمه

میگوی وانامی با نام عمومی میگوی پا سفید (Whiteleg shrimp)، میگوی سفید غربی و میگوی سفید اقیانوس آرام (Pacific white shrimp) و نام علمی *Litopenaeus Vannamei* در حال حاضر رتبه اول پرورش در ایران را به خود اختصاص داده است. از مزایای استفاده از میگوی وانامی در کارگاه‌های تکثیر و پرورش تحمل محدوده وسیع شوری، مقاومت به تراکم بالا، رشد سریع و مقاومت بالا به استرس می‌باشد (Machado-Tamayo, 2006). این گونه توانایی زیادی به تکمیل چرخه زندگی خود و رسیدن به مرحله بلوغ در شرایط پرورش دارد و در استخرهای پرورشی به بلوغ جنسی می‌رسد.

سیستم غدد درون‌ریز سخت‌پوستان کاملاً با آن‌چه در مهره‌داران دیده می‌شود متفاوت است و هنوز کلیه مکانسیم‌های درگیر در آن به خوبی شناسایی نشده است. مجموعه غده سینوسی (اندام X) واقع در

دو طرف پایه‌های چشمی به‌عنوان غده درون‌ریز عصبی اصلی در سخت‌پوستان است (Chang, 1992) و مشابه فعالیت پیچیده عصبی ترشحی هیپوتالاموس-هیپوفیز در مهره‌داران است (Reddy and Ramamurthi, 1999). در این غده هورمون‌ها سنتز، ذخیره و به ترشح در همولنف برای تنظیم فرآیندهای متابولیکی مختلف کمک می‌کند.

استروئیدها گروهی از هورمون‌های غیر پپتیدی با عملکرد تولیدمثلی هستند که به اشکال مختلف همچون پروژسترون، استرادیول، استرون، تستوسترون در سخت‌پوستان شناسایی شده که در تخمدان ساخته می‌شوند (Kanazawa and Teshima, 1971). در سخت‌پوستان هپاتوپانکراس یک اندام شبیه به کبد در مهره‌داران است که نقش مهمی در کاتابولیسم هورمون‌های استروئیدی و زرده‌سازی ایفا می‌کند. استروئیدها به‌طور بیولوژیکی در سخت‌پوستان فعال هستند و در بافت تخمدان میگو در

نماید (آدینه و همکاران، ۱۳۹۳). در این پژوهش علاوه بر قطع یکطرفه پایه چشمی مولدین ماده، از سطوح مختلف صفر (کنترل)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی گرم هورمون در جیره غذایی استفاده شد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان تاثیر استفاده خوراکی از هورمون ۱۷ بتا استرادیول بر پارامترهای متابولیسمی و هورمونی همولنف میگوی مولد وانامی بود.

مواد و روشها

آماده سازی میگوها و قطع پایه چشمی: این آزمایش در کارگاه تولید میگوی سندرفت واقع در بندر جاسک استان هرمزگان انجام شد. میگوهای ماده با میانگین وزنی $46/2 \pm 118/40$ گرم از مخازن ذخیره سازی به مخازن تکثیر مولدین انتقال یافتند و برای سازگاری آنها به مدت ۵ روز در این مخازن نگهداری شدند. برای انجام قطع یکطرفه پایه چشمی میگوهای ماده وسایل همچون ساچوک صید میگو، قیچی لبه پهن، چنگک نگهدارنده پایه چشم، مخزن تولید حرارت (کپسول پیک نیک) تهیه گردید. بعد از صید میگو، سریعاً یکی از پایه های چشمی میگو با چنگک نگه داشته و از ناحیه میانی توسط قیچی داغ شده قطع گردید. برای جلوگیری از وقوع عفونت احتمالی از محلول بتادین رقیق سازی شده استفاده - شد. تعداد ۸۰ قطعه میگوها در ۴ تیمار (هر یک با ۲ تکرار) جایابی شدند. ۴ تانک نگهداری مولدین مدور و سیاه رنگ با حجم آبیگری ۱۵۰۰ لیتر توسط قاب گونی (چهارچوب آن از تخته چوبی و پوشش آن از کیسه گونی) به دو قسمت تقسیم شدند. اتاق نگهداری میگوها در طول شبانه روز تاریک و آرام بود تا هیچ گونه استرسی به آنها وارد نشود. آب مصرفی مخازن دارای شوری ۳۰ تا ۳۲ گرم در لیتر، دمای ۲۷ تا ۳۰ درجه سانتی گراد و پی اچ ۷/۸۴ تا ۸/۱۲ بود. تعویض آب روزانه دو دفعه در روز (هر بار در حدود ۷۰ درصد) انجام شد.

تغذیه مولدین به همراه مصرف خوراکی هورمون: غذای تجاری از شرکت خوراک آبزیان حاتمی (استان

مراحل مختلف زرده سازی یافت شده اند (*Fairs et al.*, 1990). محققین اظهار داشتند که تکامل تخمدان و بلوغ اووسیتها در سخت پوستان ممکن است توسط هورمون های استروئیدی مشابه در ماهیان استخوانی و دوزیستان تنظیم گردند. در تکمیل این مطالب این گونه بیان شده است که اندام ماندیبولار سخت پوستان، استروئیدها و تریپنوتیدها را سنتز و ترشح می نمایند که ممکن است نقش کلیدی در تحریک تخمدان داشته باشند.

در سال های اخیر محققین به منظور افزایش عملکرد تولیدمثل با کمترین میزان استرس و کاهش طول دوره تخم ریزی از محرک های تولیدمثل در جیره غذایی مولدین خرچنگ و میگو استفاده می نمایند. برخی از گزارشات در ارتباط با ترکیب هورمون ها به غذای سخت پوستان وجود دارد که می توان به، افزودن متیل فارنسوات به پلت غذایی برای القاء زرده سازی خرچنگ *Procambarus clarkii* (Laufer et al., 1998)، استفاده از پیش ساز پروستاگلاندین ها برای تحریک بلوغ نهایی تخمدان میگوی آب شیرین (Yano, 2000)، بکارگیری هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون به غذا برای ارتقاء عملکرد تولیدمثل خرچنگ *Chasmagnathus granulata* (Zapata et al., 2003) و همچنین به مطالعه افزودن هورمون های استروئیدی (۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول و پروژسترون) به غذای لابستر *Panulirus interruptus* اشاره کرد (Nan et al., 2015).

در بیشتر مطالعات انجام شده ارزیابی میزان عملکرد تولیدمثل از جمله طول دوره تخم ریزی، تعداد مولدین جفت گیری کرده، تعداد تخم ریخته شده، درصد تخم گشایی، تناوب پوست اندازی و غیره مورد توجه قرار گرفته است در حالی که، مطالعه مکانسیم درونی تولیدمثل میگو (تغییرات متابولیسمی و هورمونی) پس از قطع پایه چشم می تواند ما را در درک بهتر رسیدگی جنسی در میگوهای ماده کمک

انجام شد. سپس سرم به لوله‌های پلاستیکی درب‌دار شماره‌گذاری شده منتقل و در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر نگهداری شدند. تعیین مقادیر هورمون‌های استروئیدی (۱۷ بتا استرادیول، تستوسترون و پروژسترون) به روش Radioimmunassay با استفاده از دستگاه گاماکانتر و به کارگیری کیت Immunotech انجام شد (Migaud et al., 2004). مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (ایران) و با روش آنزیمی-کالیمتری مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت آگلوتینوتیک به روش ارئه شده Maggioni و همکاران (۲۰۰۴) اندازه‌گیری شد. هموسیانین بر اساس روش Adachi و همکاران (۲۰۰۱) با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پروتئین کل همولنف به روش بیورت استفاده شد (Shi et al., 2006). در این روش پیوندهای پپتیدی پروتئین‌ها در شرایط قلیایی با یون‌های مس دو ظرفیتی ایجاد کمپلکس آبی ارغوانی می‌کند که در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق روش Kunst و همکاران (۱۹۸۳)، غلظت گلوکز به روش رنگ سنجی با کیت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۶ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت.

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (Anova one way) و مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. رسم نمودارها در Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج

آنالیز فاکتورهای متابولیکی همولنف در جدول ۱ آورده شده است. مقدار هموسیانین بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، بیشترین میزان آن در تیمار کنترل

هرمزگان، جاده میناب- بندرعباس، شهرک صنعتی تیرور) با ترکیب تقریبی پروتئین خام ۳۳ درصد، چربی خام ۸ درصد، فیبر خام ۴ درصد، خاکستر ۱۴ درصد و رطوبت ۱۰ درصد تهیه شد. هورمون ۱۷ بتا استرادیول از شرکت Sigma Alderich تهیه و به-مدت ۲۵ روز به جیره تجاری افزوده شد. تیمارهای آزمایشی E0، E20، E40، E60 بترتیب شامل صفر (کنترل)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذای تجاری مولدین بود. هورمون با استفاده از روش استاندارد خشک‌سازی توسط الکل (Alcohol Dry Method) به غذا اضافه شد (علم دوست، ۱۳۸۵). بدین‌منظور مقدار هورمون مورد نیاز توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین و در الکل اتیلیک ۹۶ درجه کاملاً حل شد. محلول الکلی هورمون به‌صورت یکنواخت روی غذا اسپری شد. برای یکسان‌سازی شرایط غذایی، غذای میگوها در تیمار کنترل با الکل بدون افزودن هورمون مخلوط گردید. بعد از تبخیر کامل الکل موجود در غذا (حدود ۲۴ ساعت)، غذا جمع‌آوری و در طول دوره آزمایش در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. در طی دوره رسیدگی جنسی به میگوها علاوه بر غذای تجاری حاوی سطوح مختلف هورمون از غذای تر مانند اسکوئید، آرتمیا و کرم خونی استفاده شد. تغذیه میگوها ۱۵ درصد وزن بدن در ۴ وعده انجام شد. اولین وعده غذایی ساعت ۶ صبح از غذای تجاری حاوی هورمون، دومین وعده غذایی ساعت ۱۱ صبح از اسکوئید قطع شده، سومین وعده غذایی ساعت ۱۷ از آرتمیای بالغ و کرم خونی و چهارمین وعده غذایی ساعت ۲۲ از غذای تجاری حاوی هورمون استفاده شد.

سنجش هورمون و فاکتورهای بیوشیمیایی

همولنف: همولنف توسط انسولین با سرسرنگ شماره ۲۶ از سینوس شکمی در فاصله بین سفالوتراکس و اولین بند شکمی خارج شد. برای سنجش هورمون و برخی از فاکتورهای متابولیکی سرم، جداسازی پلاسما توسط سانتریفیوژ به مدت ۷ دقیقه در دور ۱۵۰۰ g

جدول ۱- مقایسه پارامترهای متابولیکی همولنف میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول.

E60	E40	E20	E0 (کنترل)	تیمارها	
				همولنف	هموسانین (mmol/L)
۱/۹۸±۰/۲۱ ^{bc}	۲/۲۷±۰/۱۶ ^b	۱/۶۸±۰/۱۸ ^c	۳/۱۵±۰/۱۶ ^a	فعالیت آگلوتینوتیک (Titre)	
۵۰۰/۶۹±۱۳/۸۱ ^a	۵۱۲/۸۴±۲۲/۰۲ ^a	۲۵۶/۰۰±۱۰/۷۷ ^b	۵۱۲/۳۹±۲۲/۳۵ ^a	تری گلیسرید (mg/dl)	
۳۵/۲۰±۵/۶۹ ^{ab}	۳۴/۳۲±۴/۷۱ ^{ab}	۳۲/۱۷±۶/۰۶ ^b	۴۵/۷۳±۷/۳۲ ^a	کلسترول (mg/dl)	
۶۱/۴۱±۸/۹۱ ^b	۹۷/۶۵±۸/۷۰ ^a	۶۰/۲۹±۶/۹۴ ^b	۷۳/۸۷±۵/۶۴ ^b	پروتئین (mg/dl)	
۴/۳۹±۰/۳۲ ^d	۷/۲۲±۰/۳۰ ^a	۵/۹۷±۰/۲۳ ^b	۵/۰۲±۰/۱۹ ^c	گلوکز (mg/dl)	
۷۰/۷۳±۳/۰۸ ^b	۸۰/۷۸±۴/۳۵ ^a	۴۰/۴۶±۱/۰۲ ^c	۴۰/۳۸±۱/۹۰ ^c		

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان از تفاوت معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین هورمون‌های استروئید میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول.

تستوسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)	پروژسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)	۱۷ بتا استرادیول (نانوگرم بر میلی لیتر)	هورمون	
			تیمار	E0 (کنترل)
۰/۵۱±۰/۰۶ ^a	۰/۴۸±۰/۰۴ ^a	۰/۹۲±۰/۰۸ ^{bc}	E20	
۰/۵۲±۰/۰۴ ^a	۰/۴۵±۰/۰۴ ^a	۱/۰۵±۰/۱۲ ^{ab}	E40	
۰/۳۸±۰/۰۳ ^b	۰/۲۵±۰/۰۷ ^b	۱/۱۲±۰/۰۴ ^a	E60	
۰/۴۴±۰/۰۵ ^{ab}	۰/۳۸±۰/۰۴ ^a	۰/۸۵±۰/۰۹ ^c	E0	

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان از تفاوت معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است ($P < 0.05$).

استرادیول، پروژسترون و تستوسترون) در جدول ۲ آورده شده است. مقدار ۱۷ بتا استرادیول تفاوت معنی دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی داشت ($P < 0.05$) به طوری که بیشترین مقدار این هورمون در تیمار E40 (1.12 ± 0.04) نانوگرم بر میلی لیتر) و کمترین آن در تیمار E60 (0.85 ± 0.09) نانوگرم بر میلی لیتر) بدست آمد. پروژسترون بین تیمارهای آزمایشی و کنترل (به جزء تیمار E40) اختلاف آماری معنی داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار این هورمون در تیمارهای کنترل و E40 به ترتیب برابر 0.48 ± 0.045 نانوگرم بر میلی لیتر و 0.25 ± 0.07 نانوگرم بر میلی لیتر به دست آمد. به جزء در تیمار E40، مقدار تستوسترون بین تیمارها تفاوت معنی دار نداشت ($P > 0.05$). کمترین مقدار این هورمون در تیمار E40 برابر 0.38 ± 0.03 نانوگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

بحث

قطع یکطرفه پایه چشمی مولدین ماده میگو در محیط‌های محصور تکنیکی قابل استفاده برای تحریک بلوغ جنسی در کارگاه‌ها می باشد. در سال‌های اخیر محققین برای تسریع در روند تولیدمثل از

(3.15 ± 0.16) میلی مول بر لیتر) و کمترین مقدار آن در تیمار E20 (1.68 ± 0.18) میلی مول بر لیتر) بدست آمد. فعالیت آگلوتینوتیک بین تیمار کنترل با دیگر تیمارهای آزمایشی (به جزء تیمار E20) تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$), کمترین مقدار این فاکتور در تیمار E20 (256.00 ± 10.77) به دست آمد. تری گلیسرید بین تیمارهای مصرف هورمونی و تیمار کنترل اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$) به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار کنترل برابر 45.73 ± 7.32 میلی گرم بر دسی لیتر به ثبت رسید. بیشترین مقدار کلسترول در تیمار E40 به دست آمد و اختلافی بین دیگر تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). مقدار پروتئین بین همه تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی داری داشت ($P < 0.05$) به طوری که بیشترین و کمترین آن به ترتیب در تیمارهای E40 (7.22 ± 0.30) میلی گرم بر دسی لیتر) و E60 (4.39 ± 0.32) میلی گرم بر دسی لیتر) بدست آمد. بیشترین میزان گلوکز در تیمار E40 برابر 80.78 ± 4.35 میلی گرم بر دسی لیتر و کمترین آن در تیمار کنترل برابر 40.38 ± 1.90 میلی گرم بر دسی لیتر به ثبت رسید. مقدار هورمون‌های استروئیدی (۱۷ بتا

2001). در سخت‌پوستان کلاستروال به‌عنوان جزئی از غشاء سلولی و همچنین به‌عنوان ماده پیش‌ساز ویتامین D و هورمون‌های استروئیدی نقش ایفا می‌کند (Klaoudatos et al., 2004). مقادیر به‌دست آمده در میزان کلاستروال و تری‌گلیسرید تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی نداشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمارهای E40 ($97/65 \pm 8/70$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کنترل ($45/73 \pm 7/32$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به‌دست آمد. در مطالعه‌ای Fatima و همکاران (۲۰۱۳) غلظت پروتئین و چربی در همولنف، تخمدان، هپاتوپانکراس و ماهیچه میگوی *Fenneropenaeus merguensis* و *F. penicillatus* در طول دوره بلوغ تخمدان مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که مقادیر چربی و پروتئین در تخمدان هر دو گونه در زمان بلوغ تخمدان افزایش یافت که این نشان از عملکرد تخمدان در جهت رسیدن به بلوغ می‌باشد.

گلوکز به‌عنوان منبع اصلی انرژی متابولیسمی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bonilla-Gómez et al., 2012). غلظت گلوکز در همولنف با کمیت و کیفیت کربوهیدرات موجود در غذا ارتباط دارد (Rosas et al., 2001). در این تحقیق، میزان گلوکز بین تیمارهای کنترل و تیمارهای خوراکی هورمون (E40 و E60) تفاوت آماری معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار E40 ($80/78 \pm 4/35$) به‌دست آمد. آدینه و همکاران (۱۳۹۵ الف) گزارش دادند که ۴۵ دقیقه بعد از تزریق هورمون، میزان گلوکز از $20/75 \pm 1/08$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به $75/14 \pm 3/29$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر افزایش یافت. افزایش گلوکز می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت هورمون آزادکننده هاپیپرگلیسمیک در سخت‌پوستان باشد.

در سخت‌پوستان، سلول‌های فولیکولی نقش اصلی در ترشح هورمون تحریک‌کننده زرده‌سازی را دارند که در نتیجه آن بلوغ تخمدان صورت می‌گیرد (Van, 1992). به‌نظر می‌رسد که سلول‌های

هورمون‌ها به‌صورت خوراکی و تزریقی استفاده می‌کنند. در این مطالعه، علاوه بر قطع پایه چشم از سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول خوراکی در جیره مولدین جنس ماده استفاده شد. پایان دوره آزمایش همولنف استخراج و پارامترهای متابولیکی و هورمونی مورد ارزیابی قرار گرفت. همولنف به‌صورت حدواسط در انتقال مواد و ترکیبات بیوشیمیایی از هپاتوپانکراس به تخمدان در طی دوره گامتوزن عمل می‌کند (Fatima et al., 2013)، بنابراین برای سنجش مقادیر پارامترهای متابولیکی و هورمون‌های استروئیدی می‌توان از آن استفاده نمود. مقدار هموسیانین و پروتئین بین تیمار کنترل و دیگر تیمارهای آزمایشی مصرف خوراکی هورمون ۱۷ بتا استرادیول تفاوت آماری معنی‌داری داشت. بیشترین میزان هموسیانین در تیمار کنترل و بیشترین مقدار پروتئین در تیمار E40 به‌دست آمد. هموسیانین پروتئین تنفسی در بندپایان است که وظیفه اصلی آن حمل اکسیژن به سمت سلول‌های بدن می‌باشد که توانایی تنظیم فشار اسمزی را دارد (Paul and Pirow, 1998). در تحقیقی (Chiu et al., 2006) با تزریق دوزهای 10^{-6} ، 10^{-7} و 10^{-8} مول دوپامین نشان دادند که میزان پروتئین و هموسیانین میگوهای وانامی نسبت به تیمار شاهد (تزریق سرم فیزیولوژی) افزایش یافت. دلیل مغایرت در این یافته‌ها می‌تواند وجود و عدم وجود قطع پایه چشمی، نوع و روش مصرف هورمون، اندازه و نوع گونه میگو باشد. یکی از مواد مهم در سخت‌پوستان چربی‌ها هستند که نقش اساسی در متابولیسم و دیگر فعالیت‌های فیزیولوژیک از جمله مصرف انرژی در تخمدان و همچنین منبع انرژی در فرآیند زرده‌سازی دارند (Nan et al., 2015). کلاستروال منبع اصلی در چربی‌ها است و نقش مهمی در فرآیند زرده‌سازی ایفا می‌کند. کلاستروال یکی از فاکتورهای مهم در ارتقاء بلوغ تخمدان میگوها که توسط هپاتوپانکراس جذب و از طریق لنفوسیت‌های خونی به درون تخمدان انتقال یافته و در آنجا تجمع می‌یابد (Wouters et al.,

(Subramoniam, 2000). در این آزمایش کمترین مقادیر به دست آمده از هورمون‌های پروژسترون و تستوسترون در تیمار آزمایشی E40 مشاهده شد. به هر حال علت کاهش این هورمون‌ها می‌تواند به دلیل تغییر در دیگر انواع کلسترول‌ها در طی بلوغ تخمدان باشد (Chen et al., 2014). در تحقیقی (Nan et al., 2015) نشان دادند که افزودن هورمون‌های استروئیدی به غذا لابلستر خاردار *Panulirus interruptus* باعث کاهش هورمون پروژسترون شد که همسو با مطالعه حاضر است. تزریق 10^{-7} مول هورمون 17 بتا هیدرواکسی پروژسترون باعث رشد و بلوغ تخمدان خرچنگ *Ozietelphusase* شد بنابراین می‌توان اظهار داشت که می‌توان از این هورمون برای تحریک سخت‌پوستان تجاری استفاده نمود (Reddy et al., 2006). همچنین در مقایسه بین تیمار اعمال قطع پایه چشمی و تیمارهای تزریق سطوح مختلف هورمون اوپریم مشخص شد که تزریق هورمون به تنهایی نمی‌تواند باعث تکامل و رسیدگی کامل جنسی میگوی وانامی شود و برای افزایش کارایی تکثیر بهتر است عمل قطع پایه چشمی و مصرف هورمون باهم انجام شود (آدینه و همکاران، 1395 ب). هورمون‌های ممانعت‌کننده از تولیدمثل در پایه چشم اثر منفی بر عملکرد تولیدمثل می‌گذارد که با قطع یکطرفه پایه چشمی این اثر کاهش می‌یابد. در سال‌های اخیر تحقیقات انجام شده برای تسریع در روند تولیدمثل بیشتر به استفاده تزریقی از انواع هورمون‌های تحریک‌کننده تولیدمثل معطوف شده است در حالی که در این مطالعه به بررسی اثرات مصرف خوراکی هورمون در جیره غذایی مولدین ماده میگوی وانامی مورد توجه قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

محققین در مطالعات متعددی تاثیر مثبت تزریق هورمون‌های مختلف استروئیدی بر تحریک بلوغ تخمدان و تخم‌ریزی را ثبت کرده‌اند اما به نظر می‌

فولیکولی به‌طور موضعی GnRH تولید می‌کنند و گنادوتروپین موضعی ممکن است به‌صورت درون ریز و یا برون ریز در تحریک بلوغ تخمدان و تخم‌ریزی نقش داشته باشد (Ngermsoungnern et al., 2008). در مطالعه حاضر علاوه بر اعمال قطع پایه چشمی، افزودن سطوح مختلف هورمون 17 بتا استرادیول به غذای میگوها باعث افزایش مقادیر بدست آمده از این هورمون در تیمارهای آزمایشی E40 و E20 شد. با افزایش مقدار این هورمون به غذا (60 میلی‌گرم هورمون بر ازای هر کیلوگرم غذا) در تیمار E60 میزان هورمون 17 بتا استرادیول همولنف کاهش یافت که این امر نشان از اثر منفی این دوز می‌باشد. در آزمایشی نقش 17 بتا استرادیول و پروژسترون بر عملکرد تولیدمثل خرچنگ آب شیرین (*Cherax albidus*) با استفاده از ویتیلوژنین به عنوان بیومارکر بررسی شد. تزریق استرادیول باعث افزایش رونوشت ویتیلوژنین در هیپاتوپانکراس شد و تزریق پروژسترون باعث افزایش غلظت ویتیلوژنین در همولنف گردید (Coccia et al., 2010). اگرچه اطلاعات بدست آمده نشان می‌دهد که این دو هورمون بر سنتز ویتیلوژنین از مسیرهای مختلف اثر گذاشته‌اند اما باید توجه داشت تا زمانی که شرایط مطلوب برای فعالیت هورمون‌ها فراهم نشود عملکرد آنها اثر قابل قبولی ندارد. مطالعه تاثیر هورمون‌های 17 بتا- هیدرواکسی پروژسترون، هورمون جوان III (*Juvenile Hormone III*) و همچنین ضد دوپامین اسپیپرون (*Spiperone*) با دوزهای بترتیب 10^{-8} ، 10^{-7} و 10^{-6} مول از طریق ترکیب با غذا و تزریق باعث خرچنگ *Chasmagnathus granulata* افزایش شاخص گنادوسوماتیک تخمدان در فصل تابستان و بهار گردید (Zapata et al., 2003) بنابراین رشد تخمدان نشان از مناسب بودن شرایط زیستی و هورمونی می‌باشد.

پروژسترون نقش مهمی در تولیدمثل بازی می‌کند و تحقیقات نشان داده است که پروژسترون در مرحله نزدیک به زرده‌سازی افزایش می‌یابد

غذای تر و خشک)، اندازه و مرحله پوست اندازی میگو، مدیریت شرایط نگهداری مولدین مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس انجام شده است. نگارنده از زحمات کارشناسان کارگاه تکثیر میگوی سنتدرفت بندر جاسک تشکر و قدردانی را دارد.

رسد بهتر است برای کاهش استرس در کارگاه تکثیر هورمون‌ها به صورت خوراکی استفاده شوند. نتایج متابولیکی حاصل از مصرف خوراکی سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول نشان داد که بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بررسی مقادیر هورمونی بدست آمده نشان از اثربخش بودن مصرف خوراکی به میزان ۴۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هر کیلوگرم غذای تجاری مولدین می‌باشد، اما برای دستیابی به نتایج دقیق و جامع‌تر پیشنهاد می‌گردد استفاده از هورمون‌های مختلف تحریک‌کننده تولیدمثل، نوع غذای مصرفی (انواع

منابع

- آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۳. مطالعه مکانیسم درونی تولیدمثل میگو پس از قطع پایه چشمی. اولین همایش ملی آبی‌پروری نوین- چالش‌ها و فرصت‌ها. صفحات: ۸-۱.
- آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۵ (الف). تاثیر قطع پایه چشمی و تزریق هورمون بر عملکرد تولیدمثل و استرس فیزیولوژیکی در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*). فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۸ (۴): صفحات ۲۱۹-۲۲۶.
- آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۵ (ب). مقایسه اثرات قطع پایه چشمی و تزریق هورمون اوپریم بر روند رسیدگی جنسی، مطالعات بافت‌شناسی و ترکیبات بیوشیمیایی میگوی مولد وانامی. مجله بوم‌شناسی آبریان، ۶ (۱): صفحات ۷۱-۶۲.
- علم دوست ا. ۱۳۸۵. بررسی امکان نرسازی ماهی هاپ آبی (*Sciaenochromis ahli*) با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران. صفحات ۸۵-۱۳.
- Adachi K., Hirata T., Nagai K., Sakaguchi M. 2001. Hemocyanin a most likely inducer of black spots in kuruma prawn *Penaeus japonicus* during storage. *Journal of Food Science* 66, 1130-1136.
- Bonilla-Gómez J.L., Chiappa-Carrara X., Galindo C., Jeronimo G., Cuzon G., Gaxiola G. 2012. Physiological and biochemical changes of wild and cultivated juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Crustacea: Penaeidae) during molt cycle. *Journal of Crustacean Biology* 32, 597-606.
- Chang E.S. 1992. Endocrinology. In: Fast, A.W., Laster, J. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, pp: 53-91.
- Chen T.L., Zhang P., Wong N.K., Zhong M., Ren, C.H., Hu C.Q. 2014. Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) vitellogenesis-inhibiting hormone (VIH) is predominantly expressed in the brain and negatively regulates hepatopancreatic vitellogenin (VTG) gene expression. *Biology of Reproduction* 90, 1-10.
- Chiu H.T., Yeh S.P., Huang S.H., Chang C.C., Kuo C.M., Cheng W. 2006. Dopamine induces transient modulation of the physiological responses of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 251, 558-566.
- Coccia E., Delisa E., Dicristo C., Dicosmo A., Paolucci M. 2010. Effects of estradiol and progesterone on the reproduction of the freshwater crayfish (*Cheraxalbidus*). *Biological Bulletin* 218, 36-47.
- Fairs N.J., Quinlan P.T., Goad L.J. 1990. Changes in ovari-an unconjugated and conjugated steroid titers during vitellogenesis in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 89, 83-99.
- Fatima H., Ayub Z., Ali S.A., Siddiqui G.

- 1367-1386.
- Ngernsoungnern A., Ngernsoungnern P., Weerachayanukul W., Chavadej J., Sobhon P., Sretarugsa P. 2008. The existence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) immunoreactivity in the ovary and the effects of GnRHs on the ovarian maturation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 279, 197-203.
- Paul R., Pirow R. 1998. The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates. *Zoology* 100, 319-327.
- Reddy P.R., Kiranmayi P., ThanujaKumari K., Reddy P.S. 2006. 17 α -Hydroxyprogesterone induced ovarian growth and vitellogenesis in the freshwater rice field crab *Oziotelphusa senexsenex*. *Aquaculture* 254, 768-775.
- Reddy P.S., Ramamurthi R. 1999. Recent trends in crustacean endocrine research. *PINSA* 65, 15-32.
- Rosas C., Cuzon G., Gaxiola G., Le Priol Y., Pascual C., Rossignol J., Contreras F., Sanchez A., Van Wormhoudt A. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259, 1-22.
- Shi X., Li D., Zhuang P., Nie F., Long L. 2006. Comparative blood biochemistry of amur sturgeon, *acipenserschrenchii*, and Chinese sturgeon, *Acipensersinesis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 32, 63-66.
- Subramoniam T. 2000. Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology* 125 C, 135-156.
- Van H.F. 1992. Inhibiting and stimulating neuropeptides controlling reproduction in Crustacea. *Invertebr. Journal of Reproduction and Development* 22, 21-30.
- Wouters R., Piguave X., Bastidas L., Calderon J., Sorgeloos P. 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research* 32, 573-582.
- Yano I. 2000. Endocrine control of reproductive maturation in economically important crustacean for aquaculture. In: Adiyodi, K.G., Adiyodi, R.G. (Eds.), *Reproductive Biology of Invertebrates*, vol. 2013. Biochemical composition of the hemolymph, hepatopancreas, ovary, and muscle during ovarian maturation in the penaeid shrimps *Fenneropenaeus merguensis* and *F. penicillatus* (Crustacea: Decapoda). *Turkish Journal of Zoology* 37, 334-347.
- Kanazawa A., Teshima S. 1971. In vivo conversion of cholesterol to steroid hormones in the spiny lobster, *Panulirus japonicus*. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 37, 891-898.
- Klaoudatos S., Iakovopoulos D.G., Klaoudatos D.S. 2004. *Pagellus erythrinus* (common Pandora): a promising candidate species for enlarging the diversity of aquaculture production. *Aquaculture International* 12, 299-320.
- Kunst, A., Draeger, B., Ziegenhorm, J. 1983. UV- methods with hexokinase and glucose- 6- phosphate dehydrogenase. In: Bergmeyer, H.U. Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*. vol. 6, 3rd ed. Verlag Chemie, Weinheim, pp: 163-185
- Laufer H., Biggers W.J. and Ahl J.S.B. 1998. Stimulation of ovarian maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* by methyl farnesoate. *General Comparative Endocrinology* 111, 113-118.
- Machado-Tamayo R.J. 2006. Assessment of genetic variability in two lots of White shrimp, *Litopenaeus Vannamei* (Boon, 1931) introduced to Cuba. Master in Science thesis. Norwegian College of Fishery Science, University of Tromso, Norway.
- Maggioni D.S., Andreatta E.R., Hermes E.M., Barracco A. 2004. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture* 241, 501-515.
- Migaud H., Fontaine P., Wang N., Brun-Bellut J. 2004. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 241, 561-574.
- Nan F.H., Wu Y.S., Chang N.C. 2015. The effect of steroid hormone feeds on the reproductive biology of the Spiny Lobster, *Panulirus interruptus* (J. W. Randall, 1840) (Decapoda, Palinura). *Crustaceana* 88,

X. Wiley, New York, pp: 161-194.
Zapata V., López Greco L.S., Medesani D.,
Rodríguez E.M. 2003. Ovarian growth in
the crab *Chasmagnathus granulata* induced
by hormones and neuroregulators
throughout the year. In vivo and in vitro
studies. *Aquaculture* 224, 339-352.

Changes of hormone and metabolic parameters of White shrimp broodstock, *Litopenaeus vannamei*, fed with different levels of 17 beta-estradiol

Hossein Adineh^{*1}, Mohammad Sudagar², Mohammad Gorgij³, Mohammad Reza Garousi¹

¹Department of Fisheries, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

²Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

³Fisheries Department, Faculty Natural Resources, Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding author: adineh.h@gmail.com

Received: 2018/1/4

Accepted: 2018/3/17

Abstract

The purpose of this study was to find the role of 17 beta-estradiol on metabolic parameters and steroid hormones of *Litopenaeus vannamei* hemolymph. Shrimp with an average weight of 40.18 ± 2.46 g received 0, 20, 40 and 60 mg/kg levels (E0, E20, E40 and E60) in the diet for 25 days. After adaptation to the rearing conditions, 80 shrimps were placed in 4 treatments (each with 2 replications). The results showed no significant changes in the majority of the parameters analyzed, except for the Haemocyanin and protein in the plasma ($P > 0.05$). The highest protein, cholesterol and glucose levels in E40 treatment were 7.22 ± 0.30 , 97.65 ± 8.70 and 80.78 ± 4.35 mg/dL, respectively. There was no significant difference in the amount of steroid hormones between treatments with other treatments (except E40 treatment) ($P > 0.05$). Based on the results, it can be reported that adding 40 mg of hormone to broodstock commercial feed improves hormonal activities of *L. vannamei*.

Keywords: Pacific white shrimp, Hemolymph, Steroid hormones.