Archive of SID

بررسی روند تغییرات برخی از فاکتورهای خون، ایمنی، یون‌ها، بافت‌شناسی بیضه و هورمونی ماهی سفید و رابطه آن با سن ماهی (*Rutilus kutum*) در فصول زمستان و بهار در منطقه چاف و چمخاله استان گیلان

- **اکرم تهرانی‌فرد***: گروه زیست‌شناسی دریا، واحدلاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
- **اعظم مشفق**: گروه زیست‌شناسی دریا، واحدلاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
- **ساناز نسرین‌نوکنده**: گروه زیست‌شناسی دریا، واحدلاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۶

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی روند تغییرات برخی ازفاکتورهای خون، ایمنی، یون‌ها، بافت‌شناسی بیضه و هورمونی ماهی سفید و رابطه آن با سن ماهی (*Rutilus kutum*) در فصول زمستان و بهار در منطقه چاف وچمخاله استان گیلان از بهمن ۱۳۹٤ تا اردیبهشت ۱۳۹۵در منطقه چمخاله و نیز تعیین رابطه رگرسیونی سن ماهی و میزان هورمون‌ها بوده است. جهت انجام تحقیق حاضر، ۲٤ ماهی مولد نرصید گردید. نمونه‌های خون جهت اندازه‌گیری فاکتورهای خونی (گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت)، ایمنی (IgM و لیزوزیم)، یون‌ها (کلسیم، سدیم، پتاسیم و منیزیم) و هورمون‌ها (استرادیول و پروژسترون) جمع‌آوری گردید. مقاطع بافتی نیز از بیضه تهیه و مورد مشاهده قرار گرفت. هم‌چنین از فلس ماهیان جهت تعیین سن نمونه‌برداری شد. نتایج این تحقیق حاکی از افزایش میزان هورمون‌های مورد بررسی هم‌زمان با تکامل بیضه بوده است. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در میزان هورمون‌ها در برخی از ماه‌های نمونه‌برداری در این منطقه مشاهده و بیش‌ترین میزان هورمون‌های پروژسترون و استرادیول در منطقه چمخاله به‌ترتیب در ماهیان ٤ و ٥ ساله مشاهده شد (پروژسترون چمخاله ۰/۰۲±۰/۳۳ و چاف ۰/۰۱±۰/۳۱ در اردیبهشت ماه). نتایج این تحقیق حاکی از بروز تغییرات در فاکتورهای ا ندازه‌گیری شده هم‌زمان با تکامل بیضه بوده است. به‌طوری‌که میزان هورمون پروژسترون طی ماه‌های مختلف تغییرات معنی‌داری نمود و در اردیبهشت ماه به بیش‌ترین مقدار رسید (P<۰/۰۵) اما میزان استرادیول از بهمن ماه شروع به افزایش نمود (P<۰/۰۵) و تا اردیبهشت ماه در اوج باقی ماند. (۹/۲±۱/۰) میزان یون‌ها نیز از اسفند یا بهمن ماه روندی کاهشی را درپیش گرفت و میزان آن‌ها در اردیبهشت ماه به کم‌ترین حد خود رسید کلسیم ۰±۱۲/۵، منیزیم ۰/۱۵ ± ۵/۸، سدیم ۲±۱٤۵ و پتاسیم ۰/۰۵±۰/۷ (P<۰/۰۵). میزان برخی فاکتورهای خونی (ازجمله تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین وهماتوکریت) درمراحل نهایی رسیدگی جنسی افزایش معنی‌داری یافت. به‌طوری‌که گلبول‌های قرمز خون ۱۰۰۰۰۰±۱۸۵۰۰۰۰، گلبول‌های سفید خون ۳۵۰±٦۱۵۰، هموگلوبین ۰/٦۵±۱۱/۸۵، هماتوکریت ۳/۵±۵۸/٦ (P<۰/۰۵) اما میزان لیزوزیم و Igm در اردیبهشت ماه درکم‌ترین میزان خود قرار داشتند، لیزوزیم ۲ ± ۲۳ و Igm ۱±۲٦ بود (P<۰/۰۵). در رابطه با میزان IgM سرم خون ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت، تفاوت معنی‌داری در دو منطقه چاف و چمخاله، مشاهده نگردید و روند تغییرات این عامل تقریباً ثابت بوده است و مراحل مختلف رسیدگی جنسی طی ماه‌های منتهی به رسیدگی کامل جنسی و تکامل بیضه تاثیری بر تغییر میزان این عامل نداشته است.

کلمات کلیدی: ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*)، چاف، چمخاله، هورمون جنسی، بافت‌شناسی، لیزوزیم

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Tehranifard@Liau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مطالعه زیست‌شناسی گونه‌های مختلف ماهیان در اکوسیستم‌های آبی از ضرورت حفظ و بازسازی ذخایر ماهیان می‌باشد که در این راستا تمامی گونه‌های اقتصادی و غیراقتصادی به‌دلیل نقش آن‌ها در اکوسیستم‌های آبی از اهمیت فراوانی برخوردار هستند. هم‌چنین با وجود فشارهای فزاینده در اثر رشد جمعیت بر منابع محدود کنونی و دخالت انسان در طبیعت از طریق انواع آلودگی‌ها که موجب تهدید این منابع خدادادی شده، نیاز مبرمی به شناخت هرچه بیش‌تر زیست شناسی آبزیان به‌منظور اعمال مدیریت صحیح و تکثیر مصنوعی گونه‌های در معرض خطر احساس شده است. امروزه باز سازی گونه‌های مختلف ماهیان از طریق تکثیر و پرورش مصنوعی به‌سرعت رو به گسترش است (Lorenzen و همکاران، ۲۰۱۲؛ Duarte و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی بررسی شاخص‌های تولیدمثلی گونه‌های بومی کشور که دارای ارزش اقتصادی می‌باشند امکان بهره‌برداری آن‌ها را در صنعت آبزی پروری فراهم نموده و منجر به افزایش تولید پروتیین مورد نیاز جامعه خواهد شد. ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) یکی از با ارزش‌ترین ماهیان استخوانی دریای خزر و متعلق به خانواده کپور ماهیان است (Rezai و همکاران، ۲۰۱۱). صید بی‌رویه این ماهی و از بین‌رفتن بسیاری از مسیرهای مهاجرت‌طبیعی آن به‌دلیل دخالت‌های انسان، سبب شده تا این گونه قادر به بازسازی ذخایر خود تنها از طریق تولیدمثل طبیعی نباشد و از این رو هر ساله تعداد زیادی بچه ماهی تکثیر مصنوعی شده و وارد دریای خزر می گردند (Farzadfar و همکاران، ۲۰۱۳). جهت تکثیر مصنوعی ماهیان نیاز است تا زیست شناسی تولیدمثل گونه ماهی به‌خوبی شناخته شده و بررسی غدد جنسی و هورمون‌های جنسی به‌صورت دقیق انجام گیرد تا مراحل مختلف تکامل جنسی گنادها و تغیرات ایجاد شده در بافت‌ها و هورمون‌های جنسی مشخص گردد و گامی درست در جهت تکثیر مصنوعی صورت گیرد (Heidari و همکاران، ۲۰۱۰). اطلاعات کمی در رابطه با شناخت تغییرات هورمونی و بافت‌شناسی غدد جنسی در ماهی سفید دریای خزر در جنس نر وجود دارد و اغلب مطالعات به بررسی جنس ماده این ماهی پرداخته‌اند (Shafieisabet و همکاران، ۲۰۱۲). تعیین شاخص‌های تولیدمثلی می‌تواند گامی در جهت بررسی امکان بهره‌برداری صنعتی این گونه در امر تکثیر و پرورش و بازسازی این گونه با ارزش باشد. هدف از تحقیق حاضر بررسی شاخص‌های تولیدمثلی جنس نر ماهی در طی فصل تولیدمثلی به‌منظور آگاهی از قابلیت‌های این گونه برای بهره‌گیری در آبزی‌پروری تجاری و تامین اطلاعات مدیریتی برای حفاظت از این گونه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات شیلات دکتر کیوان واقع در چمخاله، استان گیلان انجام شد و نمونه‌برداری‌ها طی ماه‌های بهمن و اسفند سال ۱۳۹۴ و فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۹۵ در چمخاله استان گیلان، صورت گرفت. در هر ماه، در هر منطقه، ۶ عدد ماهی سفید نر صید و بررسی شد. ماهیان ابتدا از طریق غوطه‌وری در محلول آب و عصاره گل میخک به‌میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بی‌هوش گردیدند (Sharifpour و همکاران، ۲۰۰۳).

زیست‌سنجی مولدین: طول کل و طول استاندارد (سانتی‌متر) مولدین نر به‌وسیله تخته زیست‌سنجی و وزن کل (گرم) آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و در دفترچه زیست‌سنجی ثبت گردید (Heidari و همکاران، ۲۰۱۰). جهت تعیین سن ماهیان با استفاده از روش فلس‌خوانی تعدادی فلس از قسمت میانی بدن ماهی بین باله پشتی و سینه‌ای برداشته شد و در آزمایشگاه با استفاده از لوپ چشمی نیکون تعیین سن صورت گرفت (Biswas و همکاران، ۱۹۹۳).

خونگیری، تعیین شاخص گنادی و بافت‌شناسی بیضه: خونگیری با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از ناحیه سیاهرگ دمی ماهی انجام گردید و خون تهیه شده در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال شد (Trofi Moazenzadeh و همکاران، ۲۰۱۵). جهت تهیه سرم، نمونه خون جمع‌آوری شده از طریق سرنگ غیرهپارینه به‌داخل ویال‌های غیرهپارینه انتقال داده شد تا لخته خون تشکیل گردد. ویال‌ها نیز بلافاصله در سانتریفیوژ یخچال‌دار قرار داده شدند و به‌مدت ۵ دقیقه با ۱۵۰۰ دور در دقیقه جداسازی شدند. سرم جدا شده نیز با استفاده از میکروپیپت جمع‌آوری شده به ویال‌هایی که مشخصات مربوط به ماهی و مرحله آزمایش توسط برچسب روی آن نصب شده انتقال داده شد تا زمان آنالیز استروئیدهای جنسی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد، قرار داده شد (Trofi Moazenzadeh و همکاران، ۲۰۱۵). شاخص رسیدگی جنسی (GSI) با استفاده از معادله Biswas و همکاران (۱۹۹۳) محاسبه گردید

سنجش استروئیدهای جنسی: تعیین میزان هورمون‌های جنسی (استرادیول و پروژسترون) با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) برطبق روش Fostier و Jalabert (۱۹۸۶) و به‌کارگیری کیت Immunotech (کمپانی Immunotech، مارسی فرانسه) اقدام شد. تمام نمونه‌ها در یک RIA جداگانه برای هر استروئید مورد سنجش قرار گرفتند استروئیدهای جنسی در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و داده‌ها به‌صورت نانوگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردید.

فاکتورهای خونی، ایمنی و یون‌ها: پس از خونگیری نسبت به تعیین مقدار فاکتورهای خونی مورد بررسی که شامل

www.SID.ir

Archive of SID

شمارش گلبول‌های قرمزخون (RBC)، شمارش گلبول‌های سفید خون (WBC) اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین (Hb) برمبنای g L−1 روش درابکین و مقدارهماتوکریت (Hct) برمبنای درصد (Barroset و همکاران، ۲۰۰۲) انجام شد. میزان IgM و فعالیت لیزوزیم سرم خون نیز به‌عنوان شاخص‌های ایمنی مورد بررسی قرار گرفتند (Barroset و همکاران، ۲۰۰۲). یون‌های اندازه‌گیری شده در خون ماهیان سفید نر مورد بررسی در این تحقیق شام کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سدیم بودند که هریک با استفاده از کیت‌های مربوطه اندازه‌گیری شدند (فلاحتکار و پورحسین‌سارمه، ۱۳۹۲).

بافت‌شناسی بیضه: جهت بررسی بافت بیضه نمونه‌های بافتی فیکس شده در محلول بوئن پس از مراحل آبگیری و شفاف‌سازی در پارافین قرار داه شد و مقاطع بافتی ۴ میکرومتری توسط دستگاه میکروتوم Leica تهیه شد (Alagappan و همکاران، ۲۰۰۹). پس از برش با هماتوکسیلین – ائوزین رنگ‌آمیزی شده و از تمام نمونه‌های گنادی در آزمایشگاه ۵ عدد لام تهیه شد و اسلایدهای بافتی به‌کمک میکروسکپ نوری مجهز به مانیتور و دوربین بررسی شد و مراحل تکامل و ساختار سلولی براساس روش ارائه شده توسط بلازر (Blazer، ۲۰۰۲) تعیین گردید.

تجزیه‌و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست‌آمده ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون Shapiro-wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد بررسی، با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪، ابتدا اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص و سپس با آزمون دانکن (Duncan)، گروه‌ها از یکدیگر تفکیک گردیدند و در مواقعی که داده‌ها نرمال نبودند، از آزمون ناپارامتری کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) جهت مقایسه استفاده شد.

نتایج

ماهیان نمونه‌برداری شده طی تحقیق حاضر در رده سنی بین ۳ تا +۶ قرار داشتند. بیش‌ترین فراوانی سنی مربوط به ماهیان ۴ ساله و پس از آن ماهیان ۵ ساله بوده است و تنها ۲ مورد ماهیان زیر ۴ سال (۳سال) بوده‌اند. حداقل و حداکثر میزان طول چنگالی در ماهیان نمونه‌برداری‌شده در تحقیق حاضر به‌ترتیب برابر با ۲۱ و ۵۱ سانتی‌متر بوده است(جدول۱). تعداد WBC از اسفندماه تا اردیبهشت ماه روندی افزایشی داشته و هم‌زمان با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی بیضه، تعداد گلبول سفید افزایش یافته است البته روند طی شده طی یک ماه بهمن تا اسفند، کاهشی بوده است. تغییرات مشاهده شده در هر دو منطقه چاف و چمخاله مشابه هم بوده است.

جدول ۱: حداقل و حداکثر سن ماهیان سفید دریای خزر صید شده در ماه‌های مورد بررسی در دو منطقه چاف و چمخاله

ماه	منطقه	حداقل سن	حداکثر سن
بهمن	چاف	۴	۵
	چمخاله	۴	۵
اسفند	چاف	۴	۶ +
	چمخاله	۳	۴
فروردین	چاف	۴	۴
	چمخاله	۳	۴
اردیبهشت	چاف	۵	۵
	چمخاله	۴	۴

در رابطه با تشخیص افتراقی تعداد گلبول سفید نیز مشخص شد که تعداد نوتروفیل خصوصاً در طی ماه‌های بهار روندی افزایشی دارد که این‌حالت در هر دو منطقه نمونه‌برداری مشاهده شد. اما تعداد لنفوسیت با طی شدن روند رسیدگی جنسی و رسیدن به فصل بهار، کاهش یافت. روند تغییرات مونوسیت نیز به‌صورتی بود که تفاوت معنی‌داری در میزان آن در طی هیچ‌یک از ماه‌ها در هیچ‌یک از دو منطقه‌نمونه‌برداری، مشاهده نشد.روند کلی تغییرات میزان ائوزینوفیل نیز در هر دو منطقه نمونه‌برداری افزایشی بوده است اما افزایش تعداد ائوزینوفیل در منطقه چاف معنی‌دار بوده است و در اردیبهشت ماه به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر ماه‌ها بوده است و این در حالی است که افزایش تعداد ائوزینوفیل در منطقه چمخاله، معنی‌دار نبوده است و هرچند روندی افزایشی را در پیش گرفت اما تفاوت معنی‌داری در میزان آن طی ماه‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد. روند کلی تغییرات مشاهده‌شده در تعداد گلبول قرمز خون (RBC)، هموگلوبین، هماتوکریت، ماهی سفید نر دریای خزر در هر دو منطقه چاف و چمخاله، افزایشی بوده است. اما تغییرات چندانی در میزان MCV این ماهی در ماه‌های مختلف و مناطق مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد و روند نسبتاً ثابتی داشت که این‌حالت برای میزان MCH در منطقه چاف نیز حاکم بوداما درمنطقه چمخاله، میزان MCH روندی افزایشی را طی‌نمود. میزان MCHC نیز تا فروردین ماه در هر دو منطقه افزایشی بوده است اما پس از آن روندی کاهشی را درپی گرفته است. در رابطه با میزان IgM سرم خون ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت، تفاوت معنی‌داری در دو منطقه چاف و چمخاله، مشاهده نگردید و روند تغییرات این عامل تقریباً ثابت بوده است نتایج اندازه‌گیری یون کلسیم نشان داده است که در منطقه چاف، میزان این یون از بهمن ماه شروع به افزایش نموده و در فروردین ماه به حداکثر مقدار رسیده است و سپس در اردیبهشت ماه مجدداً کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

یافته است. در چمخاله نیز تقریباً همین روند طی شده است به گونه‌ای از بهمن ماه شروع به افزایش نموده و در اسفند ماه و فروردین ماه در بیش‌ترین میزان خود بوده است و مجدداً در اردیبهشت ماه کاهش یافته است. روند تغییرات یون منیزیم در دو منطقه چاف و چمخاله مشابه هم بوده است و تقریباً روندی مشابه با کلسیم را داشته است به گونه‌ای که میزان یون منیزیم از بهمن ماه روندی صعودی را در پیش گرفته و در اسفندماه در اوج خود بوده است و سپس به‌آرامی روندی کاهشی را درپیش گرفت و در اردیبهشت‌ماه کاهش چشمگیری یافت. روند تغییرات پتاسیم نیز تقریباً مشابه با منیزیم و سدیم بوده است‌خصوصاً در منطقه چاف اما در منطقه چمخاله حداکثر میزان این یون در ماه فروردین مشاهده شده است و در واقع روند تغییرات میزان این هورمون از بهمن تا اسفند افزایشی و پس از آن کاهشی بوده است به‌طوری‌که در اردیبهشت ماه به‌طور چشمگیری کم‌تر از سایر ماه‌ها بوده است. در رابطه با یون سدیم نیز بیش‌ترین مقدار این یون در بهمن ماه در هر دو منطقه نمونه‌برداری مشاهده شد. روند تغییرات یون سدیم در هر دو منطقه مشابه بوده است به‌طوری‌که میزان آن از بیش‌ترین مقدار در بهمن ماه به کم‌ترین مقدار در اردیبهشت ماه رسیده است و روندی کاملاً کاهشی را درپیش گرفته است. در تحقیق حاضر، نتایج اندازه‌گیری میزان هورمون پروژسترون در منطقه چاف نشان داد که میزان این هورمون در ماه‌های بهمن تا فروردین تفاوت معنی‌داری باهم نداشت اما در اردیبهشت‌ماه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در منطقه چمخاله نیز میزان هورمون پروژسترون در اردیبهشت ماه در بیش‌ترین مقدار خود قرار داشت به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری باماه‌های قبل‌داشت‌وبه‌طورکلی‌روندتغییرات‌میزان‌هورمون‌پروژسترون از بهمن ماه تا اردیبهشت ماه، در هر دو منطقه نمونه‌برداری، افزایشی بوده است و بیش‌ترین مقدار هورمون پروژسترون در جنس نر ماهی سفید دریای خزر در هر دو منطقه نمونه‌برداری در اردیبهشت ماه یعنی در مراحل نهایی رسیدگی جنسی این گونه، مشاهده شده است. نتایج اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، ایمنی، هورمون‌ها و یون‌های مورد بررسی در این تحقیق در جدول ۲ ارائه شده است. مقادیر هورمون‌های پروژسترون و استرادیول در دو منطقه مورد بررسی و طی ۴ ماه نمونه برداری در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای خونی، یون‌ها، هورمون‌ها و فاکتورهای ایمنی مورد بررسی ماهی سفید نر دریای خزر در منطقه چاف طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت

فاکتور	ماه	بهمن ۱۳۹۴	اسفند ۱۳۹۴	فروردین ۱۳۹۵	اردیبهشت ۱۳۹۵
RBC		۱۴۹۰۰۰۰±۴۰۰۰b	۱۲۲۵۰۰۰±۱۲۵۰۰۰c	۱۴۸۵۰۰۰±۱۳۵۰۰۰b	۱۸۵۰۰۰۰±۱۰۰۰۰۰a
WBC		۳۹۵۰±۴۵۰b	۳۲۰۰±۱۰۰c	۴۱۰۰±۲۰۰b	۶۱۵۰±۳۵۰ a
Hb		۹/۲±۰/۳bc	۸±۰/۷c	۹/۸±۰/۸b	۱۱/۸۵±۰/۶۵a
Hct		۴۶±۱b	۳۸/۶±۳/۵c	۴۷/۶±۴/۵b	۵۸/۶±۳/۵a
کلسیم		۱۳/۴±۰/۴c	۱۴/۴±۰/۴b	۱۷/۰۵±۰/۱۵a	۱۲/۵±۰d
منیزیم		۵/۵±۰/۲c	۷/۷±۰/۲a	۷/۲۵±۰/۲۵b	۵/۸±۰/۱۵c
سدیم		۱۶۷/۵±۲/۵a	۱۵۳±۲b	۱۴۴±۷c	۱۴۵±۲c
پتاسیم		۰/۶±۰/۰۹c	۱/۳±۰/۱a	۰/۹۲±۰/۰۷b	۰/۷±۰/۰۵c
پروژسترون		۰/۲۵±۰/۰۰۵b	۰/۲۵±۰/۰۱b	۰/۲۷±۰/۰۱b	۰/۳۱±۰/۰۱a
استرادیول		۱/۳۵±۰/۰۵c	۱/۴±۰/۱c	۱/۶±۰/۱b	۱/۹±۰/۰۵a
لیزوزیم		۱۷±۲b	۳۵±۶a	۲۴±۴b	۲۳±۲b
IgM		۲۴±۱a	۲۸±۱a	۲۴/۶±۲/۵a	۲۶±۱a

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری است (p<۰/۰۵).

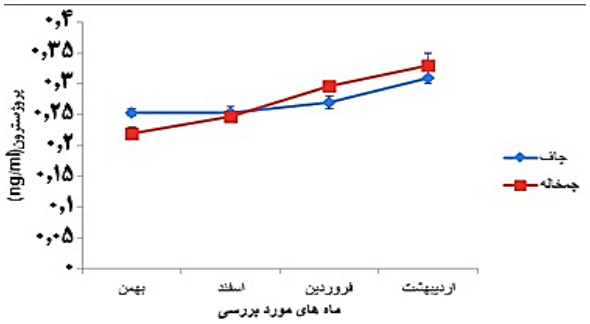
جدول ۳: میانگین و انحراف معیار هورمون‌های پروژسترون و استرادیول در ماهی سفید نر در چاف و چمخاله طی بهمن ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ۱۳۹۵

منطقه و هورمون		ماه	بهمن ۱۳۹۴	اسفند ۱۳۹۴	فروردین ۱۳۹۵	اردیبهشت ۱۳۹۵
چمخاله	پروژسترون		۰/۲۲±۰/۰۱d	۰/۲±۰/۰۰۵c	۰/۲۹±۰/۰۰۵b	۰/۳۳±۰/۰۲a
	استرادیول		۱/۴±۰b	۱/۸±۰/۱a	۱/۹±۰/۱a	۱/۹±۰/۲a
چاف	پروژسترون		۰/۲۵±۰/۰۰۵b	۰/۲۵±۰/۰۱b	۰/۲۷±۰/۰۱b	۰/۳۱±۰/۰۱a
	استرادیول		۱/۳۵±۰/۰۵c	۱/۴±۰/۱c	۱/۶±۰/۱b	۱/۹±۰/۰۵a

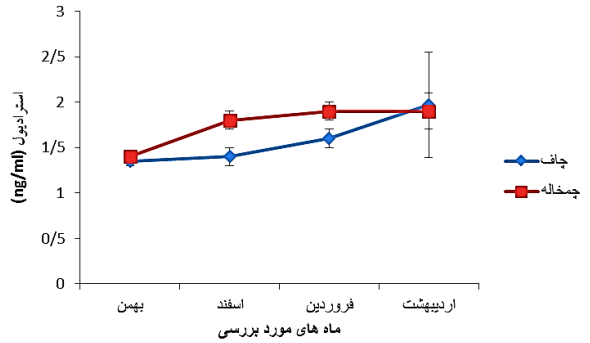
حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری است.

www.SID.ir

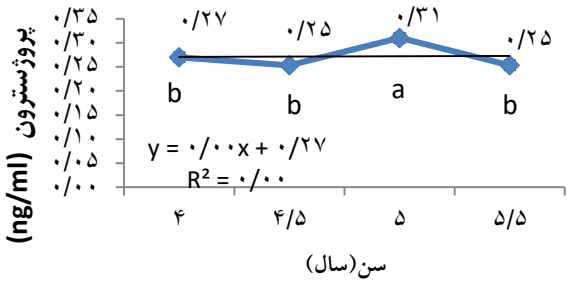
Archive of SID



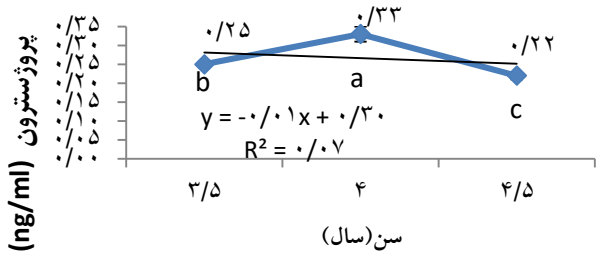
شکل ۱: روند کلی تغییرات هورمون پروژسترون در ماه‌های مختلف در دو منطقه چاف و چمخاله



شکل ۲: روند کلی تغییرات هورمون استرادیول در ماه‌های مختلف در دو منطقه چاف و چمخاله

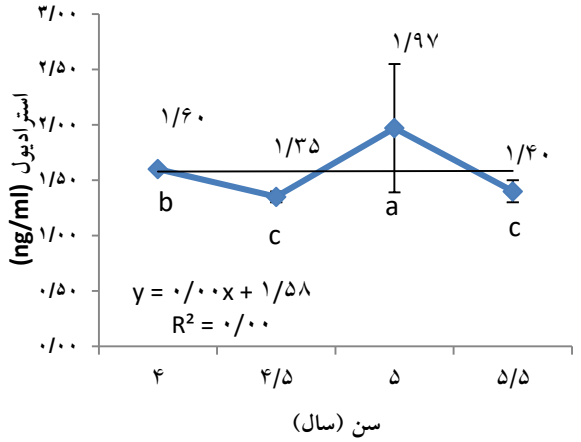


شکل ۳: رابطه رگرسیون بین سن و هورمون پروژسترون ماهی سفید نر در منطقه چاف

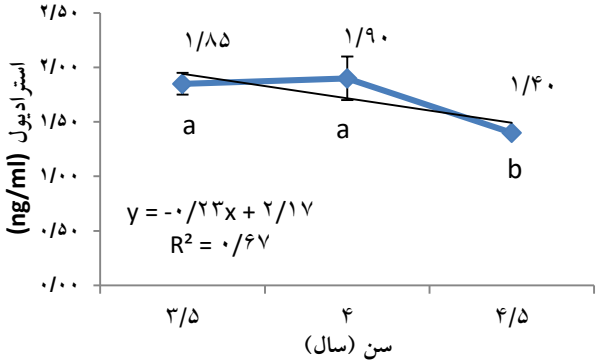


شکل ۴: رابطه رگرسیون بین سن و هورمون پروژسترون ماهی سفید نر در منطقه چمخاله

روند کلی تغییرات هورمون‌های مذکور نیز در این دو منطقه، در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. حداقل و حداکثر سن مشاهده شده به‌ترتیب ۳ سال و + ۶ بوده است که مشخصات سن نمونه ماهیان در جدول ۱ آورده‌شده‌است. هم‌چنین رابطه رگرسیون بین سن و هورمون پروژسترون و استرادیول در دو منطقه چاف و چمخاله در شکل‌های ۳تا ۶ نشان داده شده است. بیش‌ترین میزان هورمون پروژسترون و استرادیول در مناطق چاف و چمخاله به‌ترتیب در سنین ۴و ۵ سال بوده است.



شکل ۵: رابطه رگرسیون بین سن و هورمون استرادیول ماهی سفید نر در منطقه چاف

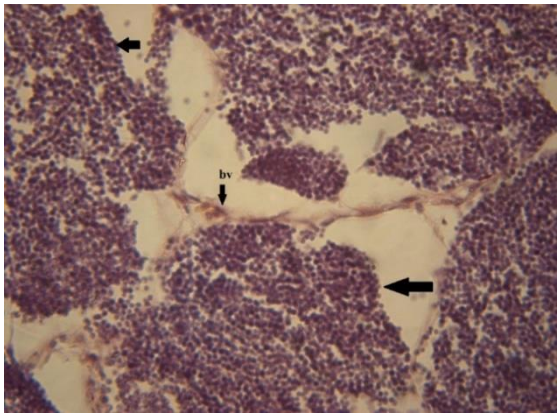


شکل ۶: رابطه رگرسیون بین سن و هورمون استرادیول ماهی سفید نر در منطقه چمخاله

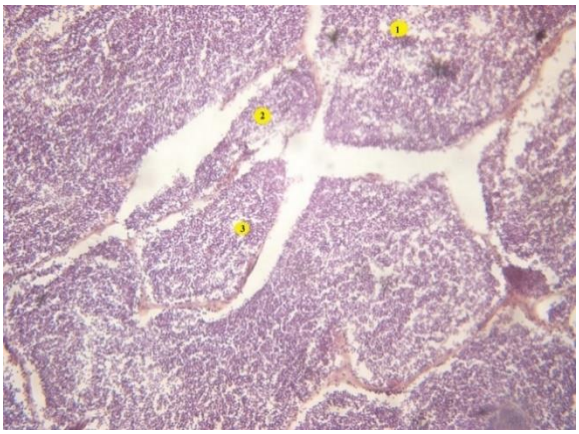
نتایج بافت‌شناسی نیز در شکل‌های ۷ تا ۱۰ نشان داده شده است. در بهمن ماه، لوله‌های اسپرم‌ساز محتوی تعداد زیادی کیست دیده شدند. در اسفند ماه، سلول‌های زایا (اسپرماتو گونیا) که از مراحل مشخصی در طی اسپرماتو ژنزیس عبور می‌کنند، مشخص شده است و کیست‌های محتوی اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیست اولیه و ثانویه و

www.SID.ir

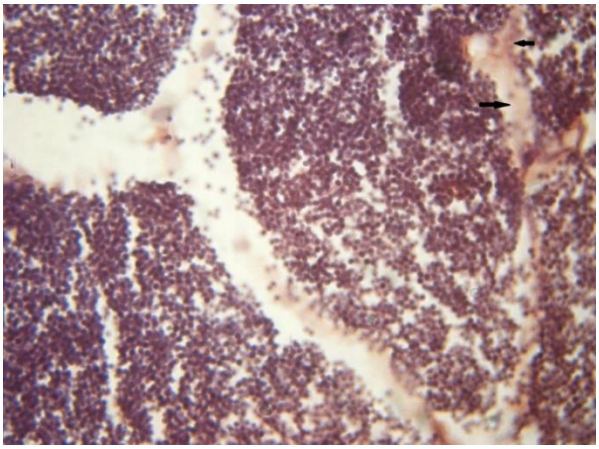
Archive of SID



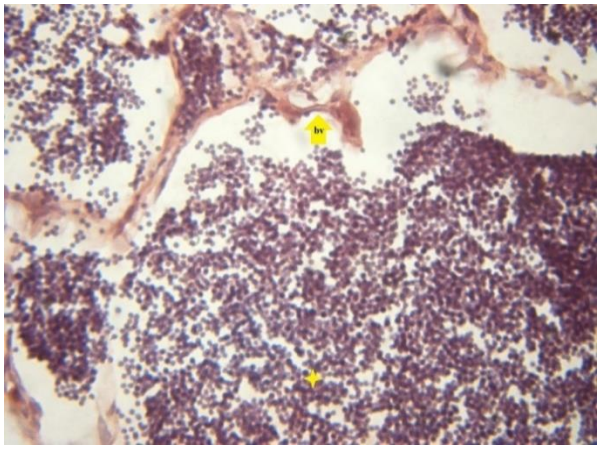
شکل ۷: بافت بیضه ماهی سفید در منطقه چاف، بهمن ماه. فلش کوتاه=مرحله ابتدایی، فلش بلند= مرحله پیشرفته‌تر. bvرگ خونی بین لوله‌های اسپرم‌ساز



شکل ۸: بافت بیضه ماهی سفید در منطقه چاف، اسفند ماه. ۱=کیست محتوی اسپرماتوگونیا،۲-کیست محتوی اسپرماتوسیست اولیه و ثانویه و۳- کیست محتوی اسپرماتید و اسپرماتوزوآ



شکل ۹: بافت بیضه ماهی سفید در منطقه چاف، فروردین ماه. فلش= اسپرماتوزوآهای آماده تخلیه



شکل ۱۰: بافت بیضه ماهی سفید در منطقه چاف، اردیبهشت ماه

اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در شکل ۸ دیده می‌شوند. در فروردین ماه، لوله‌ها پرشده از اسپرماتوزوآ بوده و در شکل ۹، مرحله قبل از شکسته شدن دیواره کیست مشاهده می‌شود البته در این مرحله هم کیست‌هایی در مراحل مختلف دیده می‌شوند. در نمونه بافت اردیبهشت ماه، مرحله آخر رسیدگی بیضه دیده می‌شود که لوبول‌ها از اسپرم پرشده و ماهی در این مرحله در شرایط تخم‌ریزی می‌باشد. دیواره کیست پاره شده و اسپرماتوزوآها در داخل لومن لوله‌ها رها شده‌اند.

بحث

نتایج تغییرات تعداد گلبول سفیدخون نشان داد که تعداد WBC از اسفند ماه تا اردیبهشت ماه روندی افزایشی داشته و هم‌زمان با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی بیضه، تعداد گلبول سفید افزایش یافته است البته روند طی شده طی یک‌ماه بهمن تا اسفند، کاهشی بوده است. تغییرات مشاهده شده در هر دو منطقه چاف و چمخاله مشابه هم بوده است. افزایش تعداد گلبول سفید خون ماهیان همراه با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی در ماهی سفید دریای خزر (که در همین تحقیق و طی بررسی‌های بافت‌شناسی، مشخص شد) می‌تواند هم ناشی از تغییرات فیزیولوژیکی بدن ماهی طی روند تکامل گنادی و هم ناشی از تغییرات محیط‌زیست خصوصاً تغییرفصل و دمای دریای خزر باشد که جهت اثبات هر یک از این موارد باید مطالعات تکمیلی صورت گیرد چراکه به‌نظر می‌رسد، افزایش گلبول سفید خون می‌تواند نشان‌دهنده واکنش ماهی در برابر شرایط استرس‌زا و ضعف ایجاد شده در مراحل‌نهایی رسیدگی‌جنسی، فعالیت تولیدمثلی و تخم‌ریزی باشد. از طرفی نیز مشخص شده است که موجودات زنده زیادی از لحاظ فیزیولوژیکی، رفتاری و یا هر دو نسبت به تغییرات فصلی واکنش نشان می‌دهند. ماهی باس‌دریایی اروپایی، نمونه‌ای در این رابطه است،

www.SID.ir

Archive of SID

به‌طوری‌که تغییرات فصل و دما سبب افزایش تعداد لکوسیت‌های این ماهی در تابستان و کاهش آن‌در زمستان شده‌است(رفعتی و همکاران، ۱۳۹۴). از این‌رو نتایج این تحقیق در رابطه با تغییرات گلبول سفید خون می‌تواند درک تغییرات فیزیولوژیک و تاثیرات فصلی در سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی در ماهی را به‌منظور سازگاری با شرایط را نشان دهد و می‌توان دریافت که تغییرات ایجادشده درسطح هورمونی، فاکتورهای‌بیوشیمیایی‌خون و املاح‌موجوددرخون طی روند رسیدگی جنسی ماهی سفید دریای خزر در متابولیسم این ماهی و مقاومت ماهی تاثیر می‌گذارد. در رابطه با تشخیص افتراقی تعداد گلبول سفید نیز مشخص شد که تعداد نوتروفیل‌خصوصاً درطی ماه‌های بهار روندی افزایشی دارد که این‌حالت در هر دو منطقه نمونه‌برداری مشاهده شد. اما تعداد لنفوسیت با طی شدن روند رسیدگی جنسی و رسیدن به فصل بهار، کاهش یافت. روند تغییرات مونوسیت نیز به‌صورتی بود که تفاوت معنی‌داری در میزان آن در طی هیچ‌یک از ماه‌ها در هیچ‌یک از دو منطقه نمونه‌برداری، مشاهده نشد. روند کلی تغییرات میزان ائوزینوفیل نیز در هر دو منطقه نمونه‌برداری افزایشی بوده است اما افزایش تعداد ائوزینوفیل در منطقه چاف معنی‌دار بوده است و در اردیبهشت ماه به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر ماه‌ها بوده است و این درحالی است‌که افزایش تعداد ائوزینوفیل در منطقه چمخاله، معنی‌دار نبوده است و هرچند روندی افزایشی را در پیش گرفت اما تفاوت معنی‌داری در میزان آن طی ماه‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد. به‌نظر می‌رسد که افزایش تعداد نوتروفیل و نیز ائوزینوفیل در افزایش تعداد گلبول سفید طی ماه‌های منتهی به رسیدگی جنسی ماهی سفید دریای خزر موثر بوده‌اند که احتمالاً تغییرات هورمونی و افزایش میزان هورمون‌های استرادیول و پروژسترون که در ادامه مورد بحث قرار می‌گیرند، در این زمینه تاثیر داشته‌اند که این تاثیرات احتمالی باید طی مطالعات آتی مورد بررسی کامل‌تر قرار گیرند. در این راستا، تحقیقات انجام شده بر روی چند گونه از ماهیان استخوانی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*)، ماهی طلایی و قزل‌آلای قهوه‌ای(*Salmo trutta*)نشان‌داد که تغییرات استرادیول و تستوسترون در طول فصل تخم‌ریزی بر تکثیر لنفوسیت‌ها و سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی اثر می‌گذارد (Swain و همکاران، ۲۰۰۹).هم‌چنین محققین اظهارداشته‌اندکه‌عواملی هم‌چون سن، مرحله رسیدگی جنسی، تغذیه و رفتار تولیدمثلی می‌تواند بر شاخص‌های ایمنی ماهیان مولد تاثیر بگذارد (Schulz و همکاران، ۲۰۰۲). روند کلی تغییرات مشاهده شده در تعداد گلبول قرمز خون (RBC)، هموگلوبین، هماتوکریت، ماهی سفید نر دریای خزر در هر دو منطقه چاف و چمخاله، افزایشی بوده است.اماتغییرات چندانی درمیزان MCV این ماهی در ماه‌های مختلف و مناطق مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد و روند نسبتاً ثابتی داشت‌که این‌حالت برای میزان MCH در منطقه چاف نیز حاکم بود اما در منطقه چمخاله، میزان MCH روندی افزایشی را طی نمود. میزان MCHC نیز تا فروردین ماه در هر دو منطقه افزایشی بوده است اما پس از آن روندی کاهشی را درپی‌گرفته است. به‌طورکلی مشخص شده است که تفاوت در مرحله رسیدگی جنسی و وضعیت و عملکرد تولیدمثلی می‌تواند تغییراتی را در شاخص‌های خونی هم‌چون هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز خون ایجاد نماید که این تغییرات در گونه‌های مختلفی از ماهیان مشاهده شده است فلاحتکار و پورحسین‌سارمه، ۱۳۹۲).درتحقیق‌حاضر،نتایج‌اندازه‌گیری میزان هورمون پروژسترون در منطقه چاف نشان داد که میزان این هورمون در ماه‌های بهمن تا فروردین تفاوت معنی‌داری با هم نداشت اما دراردیبهشت‌ماه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.در منطقه چمخاله نیز میزان هورمون پروژسترون در اردیبهشت ماه در بیش‌ترین مقدار خود قرار داشت به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری با ماه‌های قبل داشت و به‌طورکلی روند تغییرات میزان هورمون پروژسترون از بهمن ماه تا اردیبهشت ماه، در هر دو منطقه نمونه‌برداری، افزایشی بوده است و بیش‌ترین مقدار هورمون پروژسترون در جنس نر ماهی سفید دریای خزر در هر دو منطقه نمونه‌برداری در اردیبهشت ماه یعنی درمراحل نهایی رسیدگی جنسی این گونه، مشاهده شده است. گزارش مشابهی از افزایش سطح هورمون پروژسترون تا بالاترین حد در ماهیان نر گونه *Epinephelus morio* در فصل تخم‌ریزی (بهار) نیز ارائه شده است (Johnson و همکاران، ۱۹۹۸). مطالعات نشان داده که نوسانات سالانه هورمون‌ها در ماهیان مرتبط با سیکل‌های تولیدمثلی، تغذیه‌ای و رشد در آن‌هاست(عباسی و همکاران، ۱۳۸۷)ریتم‌سالیانه هورمون‌ها به‌طور بسیار نزدیکی با فاکتورهایی هم‌چون درجه حرارت، محیط زیست، گونه ماهی، طول شبانه روز و استروئیدهای جنسی گناد مرتبط است (Pavlidis و همکاران، ۲۰۰۰) و نوسانات هورمون‌های استروئیدی از جمله پروژسترون می‌تواندبه‌عنوان‌شاخصی از فعالیت‌جنسی‌در ماهی‌ها و تعیین زمان تخم‌ریزی باشد. هرچند در اغلب مطالعات انجام شده، هورمون پروژسترون به‌عنوان شاخص جنسیت مولدین ماده گزارش شده است (خدادوست و همکاران، ۱۳۹۴)اما طی برخی تحقیقات، در ماهی نر نیزمورد بررسی‌و اندازه‌گیری‌قرارگرفته‌است(El-Gharabawy و همکاران، ۲۰۰۷) (Johnson و همکاران، ۱۹۹۸). چراکه پروژسترون در بسیاری از ماهیان استخوانی می‌تواند موجب بلوغ اووسیت گردد (Nagahama، ۱۹۹۴) و (Kobayashi و همکاران، ۱۹۹۶). از طرفی وقتی آندروژن‌ها در بخش اولیه چرخه اسپرماتوژنزی درماهیان شرکت دارند، بلوغ اسپرماتوزوا و اسپرم‌زایی می‌تواند به‌وسیله پروژسترون‌ها کنترل شود (Nagahama، ۱۹۹۴) و از این‌روست که برخی محققین

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش کرده‌اند که پروژسترون‌ها که مسئول بلوغ نهایی تخمک نابالغ در جنس ماده اکثر ماهیان هستند، می‌توانند نقش مهمی در تنظیم اسپرم‌زایی در ماهیان ایفا کنند (Nagahama، ۱۹۹۸). به‌طورکلی در نتایج بسیاری از تحقیقات مشخص شده است که برخی هورمون‌ها از جمله هورمون پروژسترون و استرادیول طی روند بلوغ نهایی ماهیان استخوانی افزایش می‌یابد(Johnson و همکاران، ۱۹۹۸) (Nagahama، ۱۹۹۴) که هم‌سو با نتایج حاصله در تحقیق حاضر است چرا که میزان هورمون پروژسترون در ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های منتهی به رسیدگی جنسی روندی افزایشی را درپیش گرفت و هم‌زمان با مرحله بلوغ نهایی در اردیبهشت ماه به بالاترین حد خود رسید و این امر نشان می‌دهد که میزان هورمون پروژسترون در جنس نر ماهی سفید دریای خزر می‌تواند نشان‌دهنده میزان رسیدگی جنسی در این ماهی باشد هم‌چنین این هورمون در جنس نر ماهی سفید دریای خزر به‌عنوان هورمون القاء کننده بلوغ و موثر در امر اسپرماتوژنزیس عمل می‌نماید. از موارد مشابه در رابطه با افزایش سطح هورمون پروژسترون در ماهیان نر می‌توان علاوه برگزارش موجود در رابطه با جنس نر گونه *Epinephelus morio*، به ماهی کفال نر (*Mugil csephalus*) (El-Gharabawy و همکاران، ۲۰۰۷) نیز اشاره نمود که نتایج آن‌ها در رابطه با افزایش میزان سطح هورمون پروژسترون در مرحله نهایی رسیدگی جنسی و در زمان تخم‌ریزی، هم‌چون نتایج حاصل از تحقیق حاضر درماهی سفید نر دریای‌خزر است.دررابطه‌با هورمون استرادیول نیز روندی افزایشی در میزان این هورمون از بهمن ماه تا اردیبهشت ماه در نمونه ماهیان سفید نر دریای خزر مشاهده شد و در واقع با پیشرفت رسیدگی جنسی ماهیان نر، میزان این هورمون افزایش یافت (البته این هورمون در منطقه چمخاله از اسفند ماه به بالاترین حد خود رسید و تا اردیبهشت ماه این اوج را حفظ نمود) که این امر نشان دهنده اهمیت این هورمون در تولیدمثل و رسیدگی بیضه ماهی سفید نر دریای خزر است. هوررمون استرادیول نیز هم‌چون پروژسترون، جزء هورمون‌هایی است که اغلب به‌عنوان کنترل‌کننده رسیدگی تخمک‌ها در ماهیان استخوانی مطرح است (Lee و همکاران، ۲۰۰۲). در بررسی انجام‌شده توسط فلاحتکار و پورحسین‌سارمه (۱۳۹۲)، میزان هورمون استرادیول در دو جنس نر و ماده ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) در زمان قبل و بعد از تخم‌ریزی اندازه‌گیری شد که میزان این هورمون در ماهیان نر در زمان قبل از تخم‌ریزی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ماهیان ماده بوده است و در زمان پس از تخم‌ریزی میزان این هورمون افزایش می‌یابد که در ماهی نر میزان این افزایش چشمگیر و معنی‌دار نبوده است. به‌نظر می‌رسد که، سطح این هورمون در جنس نر طی روند تکامل گنادی، در حد بالایی باقی می‌ماند و کاهش نمی‌یابد پس می‌تواند وظیفه‌ای در قبال اسپرماتوژنزیس داشته باشد. Schulz و Miura (۲۰۰۲) هورمون استرادیول را در تکامل بیضه دخیل دانسته‌اند. بنابراین میزان تغییرات این هورمون در ماهی سفید دریای خزر طی ماه‌های اسفند، فروردین و اردیبهشت (ماه‌های منتهی به تخم‌ریزی) به‌ویژه در منطقه چاف می‌تواند بر تاثیر هورمون استرادیول در تکامل گنادی جنس نر ماهی سفید دریای خزر دلالت داشته باشد. در این تحقیق میزان هورمون‌های جنسی با افزایش سن ، افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد دلیل این امر پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی با توجه به افزایش سن باشد. پروژستین‌ها در جنس نر باعث القا عمل اسپرمیشن می‌شوند. تولید این استروئید تحت القا گنادوتروپین بلوغ صورت می‌گیرد. با مقدار گنادوتروپین بلوغ مقدار این استروئید افزایش می‌یابد و به این صورت فعالیت اسپرمیشن فعال می‌شود.

فاکتورهای ایمنی: فاکتورهای ایمنی مورد بررسی در تحقیق حاضر شامل میزان لیزوزیم و IgM بوده‌اند که مقادیر آن‌ها طی ماه‌های مختلف در سرم خون ماهی سفید نر اندازه‌گیری و مورد مقایسه قرار گرفتند. لیزوزیم به‌عنوان مهم‌ترین پارامتر سیستم ایمنی غیراختصاصی هومورال است که در ماهیان اندازه‌گیری می‌شود (El-Soltani و همکاران، ۲۰۰۲) و در طیف وسیعی از مهره‌داران از جمله گونه‌های آب شیرین و دریایی وجود دارند و از آن به‌عنوان داروی ضدباکتریایی نام می‌برند (Yangو همکاران، ۲۰۰۲) زیرا مولکول دفاعی مهم در سیستم ایمنی ذاتی است که به‌عنوان یک واسطه مناسب به محافظت در برابر هجوم میکروب‌ها می‌پردازد (Saurabh و همکاران، ۲۰۰۸). این آنزیم از گرانول‌های گلبول‌های سفید (بیش‌تر توسط نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و کم‌تر توسط ماکروفاژها) و هم‌چنین بافت‌های غنی از لکوسیت‌ها از جمله کلیه، مخاط پوست، طحال، آبشش و دستگاه گوارش ترشح می‌شود، چون این محل‌ها در ماهیان بیش‌تر از سایر مناطق مورد تهاجم باکتری‌ها قرار می‌گیرد (Holloway و همکاران، ۲۰۰۲). این آنزیم قادر به شکستن پیوند گلیکوزیدی لایه پپتیدوگلیکان (از زنجیره بتا ۱و ۴-N استیل مورامیک اسید و N استیل گلوکزآمین) در دیواره سلولی باکتری‌ها است. لیزوزیم علیه باکتری گرم مثبت به‌طور مستقیم و بر باکتری گرم منفی بعد از عمل عامل مکمل عمل می‌کند (Yanoو همکاران، ۱۹۹۶). در تحقیق حاضر هرچند حداکثر میزان لیزوزیم در ماهیان سفید نر در هر دو منطقه چاف و چمخاله در اسفند ماه مشاهده شد اما میزان آن با پیشرفت رسیدگی جنسی روندی کاهشی را در پیش گرفت و طی ماه‌های فروردین و اردیبهشت کاهش یافت اما میزان این عامل در فروردین و اردیبهشت ماه تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. در تحقیق انجام شده توسط فرزادفر و همکاران (۱۳۹۲) که به بررسی تغییرات میزان لیزوزیم در خون ماهی سفید نر هم‌زمان با تغییرات رسیدگی جنسی در آن‌ها پرداختند، مشخص شد که میزان لیزوزیم

www.SID.ir

Archive of SID

سرم خون در ماه‌های مختلف نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری هم‌زمان با طی نمودن روند تکامل جنسی ندارند که تا حدی مغایر با نتایج تحقیق حاضر است. لیزوزیم به‌عنوان اولین خط دفاعی غیراختصاصی عمل می‌کند و عوامل متعددی ازجمله فصل، مرحله رسیدگی جنسی، جنس ماهی، دمای محیط، گونه ماهی، استرس و مصرف مواد محرک بر میزان آن تاثیر می‌گذارد. در اغلب مطالعات مشخص‌شده که غلظت لیزوزیم در فصل زمستان و ماه‌های سرد سال کاهش می‌یابد (فرزادفر و همکاران، ۱۳۹۲) که البته روندی کاهشی از اسفند ماه تا اردیبهشت ماه در ماهی سفید دریای خزر نیز مشاهده شد دلیل این کاهش می‌تواند به کاهش میزان فعالیت بدن و هم‌چنین کاهش عوامل پاتوژن و بیماری‌زا در محیط سرد آب طی اواخر زمستان و اوایل بهار باشد (فرزادفر و همکاران، ۱۳۹۲). رسیدگی جنسی و مراحل رشد گناد از عوامل موثر بر میزان فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی است که در ماهیان ماده بیش‌تر مورد بررسی قرار گرفته است (Abbasi و همکاران، ۲۰۰۹) و در مطالعه حاضر میزان سطح لیزوزیم در سرم خون ماهی سفید نر در مراحل آخر رشد بیضه کاهش می‌یابد که چنین وضعیتی در مطالعه انجام شده توسط فرزادفر و همکاران (۱۳۹۲) در رابطه با ماهی سفید دریای خزر نیز مشاهده شد. در نهایت به‌نظر می‌رسد که دمای آب و مراحل رسیدگی جنسی یعنی هم عامل زیست محیطی و خارجی و هم عامل فیزیولوژیک و درونی ماهی سفید دریای خزر بر تغییرات میزان لیزوزیم به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم ایمنی در ماهیان، موثرند. در رابطه با میزان IgM سرم خون ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت، تفاوت معنی‌داری در دو منطقه چاف و چمخاله، مشاهده نگردید و روند تغییرات این عامل تقریباً ثابت بوده است و مراحل مختلف رسیدگی جنسی طی ماه‌های منتهی به رسیدگی کامل جنسی و تکامل بیضه تاثیری بر تغییر میزان این عامل نداشته است. آنتی‌بادی‌های ترشح شده در سرم و موکوس ماهیان، از رده ایمنوگلوبولین‌های M (IgM) هستند (Kollner و همکاران، ۲۰۰۲) و IgM یک ایمنوگلوبولین مهم است. در تحقیقات فیلوژنتیکی، IgM اولین و معمولاً تنها ایمونوگلوبولینی است که در ماهیان ظاهر می‌شود (Kollner و همکاران، ۲۰۰۲). افزایش IgM نشان‌دهنده بهبود کارایی سیستم ایمنی ماهی است (Anderson و همکاران، ۱۹۹۸)، اما از آن‌جائی‌که طی این ۴ ماه تغییری در میزان آن مشاهده نشد نمی‌توان تفسیری بر تغییرات این فاکتور ارائه نمود خصوصاً این‌که میزان آن در ماه‌های قبل از اسفند یا بعد از اردیبهشت نیز اندازه‌گیری نشده است.

یون‌ها: یون‌های اندازه‌گیری شده در خون ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت شامل کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سدیم بوده‌اند. نتایج اندازه‌گیری یون کلسیم نشان داده است که در منطقه چاف، میزان این یون از بهمن ماه شروع به افزایش نموده و در فروردین ماه به‌حداکثر مقدار رسیده است و سپس در اردیبهشت ماه مجدداً کاهش یافته است. در چمخاله نیز تقریباً همین روند طی شده است به گونه‌ای از بهمن ماه شروع به افزایش نموده و در اسفند ماه و فروردین ماه در بیش‌ترین میزان خود بوده است و مجدداً در اردیبهشت ماه کاهش یافته است. روند تغییرات یون منیزیم در دو منطقه چاف و چمخاله مشابه هم بوده است و تقریباً روندی مشابه با کلسیم را داشته است به گونه‌ای که میزان یون منیزیم از بهمن ماه روندی صعودی را در پیش گرفته و در اسفند ماه در اوج خود بوده است و سپس به‌آرامی روندی کاهشی را درپیش گرفت و در اردیبهشت ماه کاهش چشمگیری یافت. روند تغییرات پتاسیم نیز تقریباً مشابه با منیزیم و سدیم بوده است خصوصاً در منطقه چاف اما در منطقه چمخاله حداکثر میزان این یون در ماه فروردین مشاهده شده است و در واقع روند تغییرات میزان این هورمون از بهمن تا اسفندافزایشی و پس از آن کاهشی بوده‌است به‌طوری‌که در اردیبهشت ماه به‌طور چشمگیری کم‌تر از سایر ماه‌ها بوده است. در رابطه با یون سدیم نیز بیش‌ترین مقدار این یون در بهمن ماه در هر دو منطقه نمونه‌برداری مشاهده شد. روند تغییرات یون سدیم در هر دو منطقه مشابه بوده است به‌طوری‌که میزان آن از بیش‌ترین‌مقدار در بهمن ماه به‌کم‌ترین مقدار در اردیبهشت ماه رسیده است و روندی کاملاً کاهشی را در پیش گرفته است. در واقع می‌توان اظهار نمود که روند تغییرات یون‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیوم (با تفاوت در حداکثر پیک بین دو ماه فروردین یا اسفند ماه)، مشابه‌هم‌بوده است به‌طوری‌که از بهمن ماه شروع به افزایش نموده و در اسفند یا فروردین به اوج خود رسیده و سپس‌روندی‌کاهشی را درپیش گرفته و در اردیبهشت‌ماه کاهش نشان داده است. اما روند تغییرات یون سدیم مغایر با روند سه یون دیگر بوده است به‌طوری‌که حداکثر میزان این یون در ماه بهمن مشاهده شده‌است و پس از آن روندی کاهشی را درپیش گرفته و در اردیبهشت ماه به‌حداقل مقدار خود رسیده است. شاید بتوان دلیل تفاوت در تغییرات یون سدیم و پتاسیم را به عملکرد دستگاه آنزیمی سدیم- پتاسیم ATP-as مرتبط دانست چرا که در این دستگاه، مسیر این دو یون معکوس یکدیگر است (شعبانی و درویش‌بسطامی، ۱۳۸۹). یون‌های سدیم و کلر از نظر غلظت، یون‌های اصلی را تشکیل می‌دهند و پس از آن‌ها، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و هم‌چنین، اوره و اسیدهای آمینه آزاد قرار دارند (ستاری، ۱۳۸۵). به‌طورکلی مطالعات کم‌تری در رابطه با تغییرات یونی و الکترولیت‌ها در ماهیان طی زمان رسیدگی جنسی و تکامل بیضه ماهیان صورت گرفته است و اغلب آن‌ها به بررسی یون‌ها در جنس ماده ماهیان پرداخته‌اند خصوصاً به‌دلیل نقش مشخصی که یون کلسیم در فرایند زرده‌سازی دارد (آخوندیان و همکاران، ۱۳۹۴؛ شعبانی و درویش‌بسطامی، ۱۳۸۹). در این راستا در تحقیق انجام شده

www.SID.ir

Archive of SID

توسط آخوندیان و همکاران(۱۳۹۴)، مشخص شد که میزان غلظت یون کلسیم در جنس ماده ماهی کلمه خزر (*Rutilus rutilus caspicus*) تا قبل از اسفندماه روندی ثابت و در اسفند ماه به‌حداکثر مقدار رسیده و در مراحل نهایی تکامل اووسیت‌ها (اواخر فروردین تا اواسط فروردین ماه) روندی نزولی را درپیش گرفت. در این تحقیق نمونه‌برداری در اردیبهشت ماه انجام نشد. نتایج بررسی آخوندیان و همکاران (۱۳۹۴) در رابطه با تغییرات میزان کلسیم در ماهی کلمه خزری ماده مشابه نتایج تحقیق حاضر در ماهی سفید نر، بوده است. روند تغییرات پتاسیم در ماهی کلمه خزری مغایر با تحقیق حاضر بوده است به‌طوری‌که کم‌ترین میزان پتاسیم در اسفندماه مشاهده شد. تغییرات یون سدیم نیز طی ماه‌های مختلف نمونه‌برداری روندی ثابت داشت و تفاوت معنی‌داری در میزان آن در ماهی کلمه خزری ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی مشاهده نشد (آخوندیان و همکاران، ۱۳۹۲). ماهیان استخوانی تحت آداپتاسیون با آب شور دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- بین کلیوی می‌گردند و به این ترتیب تغییراتی در عواملی نظیر یون‌ها، سلول‌های کلراید و هماتوکریت ایجاد می‌شود. یون‌های محلول در پلاسمای خون از نظر کمیت به‌ترتیب شامل یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌باشند. کلسیم و منیزیم در فرایندهای بیولوژیکی خون ماهی ضروری هستند (شعبانی و درویش بسطامی، ۱۳۸۹). ایمانپور و همکاران (۱۳۹۲) نیز مقادیر یون‌های مذکور را در آب رودخانه محل مهاجرت ماهی سفید و مایع منی آن اندازه‌گیری نموده‌اند اما متاسفانه زمان نمونه‌برداری فقط دو روز و در نیمه دوم فروردین ماه بوده است که مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج پژوهش حاضر چندان مناسب نیست. به‌طور کلی تغییرات مشاهده شده در میزان یون‌های اندازه‌گیری شده هم‌زمان با مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهی سفید نر دریای خزر نشان‌دهنده نقش این یون‌ها در فرایندهای زیستی متفاوتی که طی تکامل گناد رخ می دهد، است خصوصاً این‌که با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی، میزان این یون‌ها در خون کاهش می‌یابد که می‌تواند به‌دلیل احتمالی استفاده در بیضه و ترکیب مایع منی و اسپرماتوزواها باشد که باید طی مطالعاتی دقیق‌تر، جزئیات آن مشخص گردد. اما نقش این یون‌ها در تحرک اسپرم در مطالعات بسیاری ازجمله مطالعات انجام شده در رابطه با ماهی سفید دریای خزر (تکه و همکاران، ۱۳۸۸) به‌اثبات رسیده است.

بافت‌شناسی: مطالعات مختلفی در رابطه با بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان انجام شده است (شفیعی ثابت و همکاران، ۱۳۹۵) چراکه تشخیص میکروسکوپی گناد، بهترین و مطمئن‌ترین راه برای تعیین جنسیت و تشخیص مرحله رسیدگی جنسی در ماهیان است (Biswas و همکاران، ۱۹۹۳). فرزادفر و همکاران (۱۳۹۲) نیز به بررسی مورفوهیستولوژی گناد نر ماهی سفید دریا خزر پرداختند. نمونه‌برداری جهت انجام این تحقیق از مهر ماه تا اردیبهشت ماه و در منطقه جفرود انزلی، انجام شد. براساس یافته‌های آن‌ها، ۴ مرحله در تکامل بیضه این ماهی مشاهده شد و مشخص شد که در برهه زمانی مورد مطالعه، مراحل تشکیل اسپرم در این ماهی به سرانجام می‌رسد و اسپرم‌ریزی صورت گرفت. هم‌چنین امینیان‌فتیده و همکاران (۱۳۸۷)، به تعیین مراحل رسیدگی جنسی ماهی سفید دریای خزر با استفاده از مطالعات بافت شناسی پرداختند. نتایج مطالعات مربوط به جنس نر ماهی سفید نشان داد که ماهیان طی ماه‌های اسفند، فروردین و اردیبهشت ماه دارای مرحله رسیدگی ۴ و ۵ فعال و یا شش غیرفعال بودند. از دیدگاه بافت‌شناسی اگر گونه‌های ماهی در شرایط یکسان محیطی پرورش یافته باشند، هم‌زمانی در مراحل مختلف رشد و نمو گنادی مشهود می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر هم‌سو و مشابه نتایج سایر مطالعات بافت شناسی انجام شده در رابطه با تکامل بیضه ماهی سفید دریای خزر است (فرزادفر و همکاران، ۱۳۹۲؛ امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۸۷) به‌طوری‌که همه این تحقیقات هم‌چون تحقیق حاضر روند تکاملی بیضه را در ماه‌های بهمن تا اردیبهشت ماه نشان داده‌اند و حتی مشخص شده که طی سایر ماه‌های سال بیضه به‌خوبی تکامل نیافته و در مراحل اولیه یعنی مراحل ۱، ۲ و یا ۳ قرار دارد (حلاجیان و همکاران، ۱۳۸۴). روند تکاملی مشاهده شده در بافت بیضه ماهی سفید نر دریای خزر طی ماه‌های بهمن تا اردیبهشت ماه، متناسب با روند تغییرات سایر فاکتورهای مورد بررسی هم‌چون انواع هورمون‌های جنسی است.

وزن، طول و سن ماهیان: ماهیان نمونه‌برداری شده طی تحقیق حاضر در رده سنی بین ۳ تا +۶ قرار داشتند. بیش‌ترین فراوانی سنی مربوط به ماهیان ۴ ساله و پس از آن ماهیان ۵ ساله بوده است و تنها ۲ مورد ماهیان زیر ۴ سال (۳ سال) بوده‌اند. طی بررسی انجام شده توسط امینیان‌فتیده و همکاران (۱۳۸۷)، نیز رده سنی نمونه‌برداری شده از ماهیان سفید شامل ۳ تا ۷ سال با میانگین سنی ۴ سال بوده است که نمونه‌های صید شده از لحاظ رده سنی و میانگین سنی مشابه تحقیق حاضر بوده است. شفیعی‌ثابت و همکاران (۱۳۹۵) نیز رده سنی ۳ تا ۶ سال را در ماهیان سفید نمونه‌برداری شده گزارش نمودند. شاید دلیل تشابه کلاس‌های سنی صید شده و فراوانی آن‌ها، استفاده از روش صید پره با چشمه مش مناسب برای صید ماهیانی که به مرحله بلوغ و رسیدگی جنسی می‌باشند بوده است. چراکه ماهیان سفید نر در سن ۲-۳ سالگی به بلوغ جنسی می‌رسند (امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۸۷) و مشاهده روند کامل رسیدگی جنسی در همه نمونه ماهیان مورد بررسی در این تحقیق نیز به‌دلیل داشتن سن مناسب (بالای ۲ سال) ماهیان و بالغ شدن آن‌ها، بوده است. حداقل و حداکثر میزان طول چنگالی در ماهیان نمونه‌برداری شده در تحقیق حاضر به‌ترتیب برابر با ۲۱ و ۵۱ سانتی‌متر بوده است که

www.SID.ir

Archive of SID

تقریباً مشابه با میزان اندازه‌های مشاهده شده در تحقیات دیگر است (امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۸۷). وزن کل ماهیان نمونه‌برداری شده در تحقیق حاضر نیز بین ۱۱۰ تا ۱۶۸۹ گرم بوده است که تا حدی کم‌تر از وزن کل گزارش شده در همین ماهی توسط امینیان‌فتیده و همکاران (۱۳۸۷) یعنی ۱۵۰ تا ۲۰۲۳ بوده است البته در تحقیق مذکور میانگین وزنی ۵۶۳/۵۱ گرم بوده است که کم‌تر از میانگین وزنی مشاهده شده در تحقیق حاضر (بیش از ۷۰۰ گرم) بوده است. هرچند موارد مربوط به طول و وزن در تحقیق حاضر با موارد ذکر شده سایر محققین در این رابطه در همین محدوده سنی برای ماهیان سفید دریای خزر تفاوت چندانی با هم ندارند اما باید در نظر داشت که‌اصول و قواعد افتراقی و اشتراکی بسیار زیادی درعلم زیست‌شناسی ماهی وجود دارد که ازجمله آنان مطالعات شکل‌شناختی است که به میزان زیادی با مراحل زندگی و کیفیت و جزئیات آن‌ها مرتبط است، به‌عبارت دیگر می‌توان گفت که اندازه و شکل موجود زنده، براساس تجزیه و تحلیل تغییرات در موجودات زنده است. در واقع اندازه‌گیری طول و وزن ماهیان دارای کاربردهای متعددی در علوم زیستی ماهی و ازجمله در تعیین دقیق مراحل رسیدگی جنسی آن با فاکتورهایی نظیر وزن، سن، بلوغ، می‌باشد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۹). از طرفی هرچند اظهارشده که طول‌ماهی‌معمولاً با میزان‌هم‌آوری،دارای ارتباط نزدیکی است و می‌توان با تعیین هریک از اشکال طولی، تخمینی از وضعیت وزنی و بلوغی و هم‌آوری ماهیان داشت اما باید درنظر داشت که عوامل‌مختلفی هم‌چون شرایط زیست‌محیطی، تغذیه، فراوانی و در دسترس بودن غذا، بیماری و... بر رشد ماهی و نهایتاً طول و وزن ماهیان تاثیر می‌گذارند و گاهاً ماهیان بالغ با اوزان و طول‌های تا حدی متفاوت دیده می‌شوند. در رابطه با وزن بیضه نیز در تحقیق حاضر مشاهده شد که میانگین وزن بیضه در ماهیان طی ماه‌های بهمن، اسفند، فروردین و اردیبهشت ماه به‌ترتیب برابر با ۶۷، ۲۴۵/۶۹، ۱۳۶/۳۴ و ۴۵/۶۵ گرم بوده‌است که همان‌طورکه مشخص است میزان آن در بهمن ماه و اردیبهشت ماه کم‌تر از ماه‌های اسفند و فروردین است زیرا در بهمن ماه، اولین مراحل رسیدگی جنسی در حال طی شدن است و هنوز اسپرماتوزواها به‌میزان کامل نرسیده و بیضه وزن چندانی ندارد اما طی اسفند و فروردین رشد و تکامل بیضه‌ها بیش‌تر شده و محصولات جنسی و مایع منی در بیضه تولید شده و نتیجتاً وزن بیضه‌ها بالا می‌رود، در نهایت در اردیبهشت ماه نیز تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی صورت می‌گیرد و بیضه‌ها تخلیه شده و وزن آن‌ها کاهش می‌یابد که این تغییرات وزن بیضه بر روی شاخص GSI که نسبتی از وزن بیضه به وزن کل است تاثیر می‌گذارد که در ادامه بحث می‌گردد.

شاخص گنادی: هم‌زمان با تغییرات بافت‌شناسی و سایر تغییرات مشاهده شده در بیضه ماهی سفید نر، شاخص GSI نیز تغییر نموده است، به‌طوری‌که میزان این شاخص از بهمن ماه تا اردیبهشت ماه روندی افزایشی را درپی می‌گیرد و پس از تخلیه اسپرم به ناگهان افت می‌نماید. شاخص گنادوسوماتیک یا GSI به‌عنوان یکی از شاخص‌های تخم‌ریزی در ماهی شناخته شده است (حسین‌زاده صحافی، ۱۳۸۰). دلیل افزایش تدریجی GSI، رشد بیضه‌ها و تولید اسپرماتوزوا و نتیجتاً افزایش وزن گناد و دلیل افت ناگهانی آن، تخلیه اسپرماتوزواها در زمان تخم‌ریزی‌و کاهش وزن گناداست(امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۸۷). به‌طورکلی رشد گنادها در غالب ماهیان استخوانی واجد چرخه تولیدمثل سالیانه کند است و روند افزایش GSI با تولید محصولات جنسی در گناد ماهیان همراه است. روند تغییرات GSI در تحقیق حاضر در برخی دیگر از مطالعات انجام شده در رابطه با ماهی سفیدنیز مشاهده‌شده‌است به‌طوری‌که نوسان‌معنی‌داری‌درمقدار GSI ماهی سفید دریای خزر طی ماه‌های مهر، آبان و آذر مشاهده نشد اما وجود تغییرات عمده در این شاخص طی ۴ تا ۵ ماه بعد (دی ماه تا اردیبهشت ماه)، گزارش گردید (امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۸۷) که نتایجی مشابه با نتیجه تحقیق حاضر است. شفیعی‌ثابت و همکاران (۱۳۹۵)که‌به‌بررسی‌روند‌تغییرات‌تدریجی‌شاخص‌وزن گنادوسوماتیک ماهی سفید ماده در طول ماه‌های بهمن تا اردیبهشت ماه پرداختند اظهار نمودند که شاخص وزنی گناد در ماهی سفید ماده در ماه بهمن دارای روند افزایشی تدریجی بوده است و در طول ماه‌های اسفند و فروردین افزایش معنی‌داری را از خودنشان می‌دهد و پس از آن به‌طور ناگهانی افت می‌نماید که این افت ناگهانی ناشی از تخلیه تخمدان و تخم‌ریزی است. از آن‌جائی‌که ماهی سفید دریای خزر دارای لقاح خارجی است و ماهیان نر و ماده با قرار گرفتن در کنار هم اقدام به تخلیه تخمدان و بیضه می‌نمایند تا لقاح صورت گیرد، از این‌رو روند تغییرات GSI در ماهی ماده مطابق با ماهی نر است و از این‌رو نتایج شفیعی‌ثابت و همکاران (۱۳۹۵) مطابق با نتایج تحقیق حاضر است.

منابع

۱. **آخوندیان، م.؛ سواری، ا.؛ سلامات، ن.؛ موحدی‌نیا، ع. و سالاری،م.، ۱۳۹۴.** تغییرات سطح پلاسمایی هورمون‌های استروئیدی و الکترولیت‌ها (کلسیم، سدیم و پتاسیم) طی مراحل مختلف چرخه تولیدمثلی ماهی کلمه خزری (*Rutilus rutilus caspicus*) در بندر ترکمن. اقیانوس‌شناسی. سال ۶، شماره ۲۱، صفحات ۱۱۷ تا ۱۲۶.

۲. **امینیان‌فتیده، ب.؛ حسین‌زاده‌صحافی، ه.؛ شعبانی، ع.؛ یغمایی، ف. و شفیعی‌ثابت، س.، ۱۳۸۷.** تعیین مراحل رسیدگی جنسی ماهی سفید دریای مازندران با کمک شاخص‌های زیستی. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم. جلد ۸، شماره ۲، صفحات ۱۰۷ تا ۱۲۰.

www.SID.ir

Archive of SID

۳. **ایمانپور، م.ر.؛ اسفندیاری‌ملکی، م. و پاکروان، س.، ۱۳۹۳.** ترکیبات بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهی سفید *(Rutilus frisii kutum)* جنوب‌دریای‌خزر و تاثیر آن روی خصوصیات حرکتی اسپرم. مجله پژوهش‌های جانوری. جلد ۲۷، شماره ۳، صفحات ۳۰۰ تا ۳۰۶.

۴. **حسین‌زاده‌صحافی، ه.، ۱۳۸۰.** بیولوژی تولیدمثل ماهی. انتشارات شرکت سهامی شیلات ایران.

۵. **حلاجیان، ع.؛ کاظمی، ر. و دژندیان، س.، ۱۳۸۴.** مطالعه بافت شناسی ماهی سفید در نواحی جنوب دریای خزر در غیر از فصل تخم‌ریزی. ششمین همایش علوم و فنون دریایی.

۶. **خدادوست، ع.؛ ایمانپور، م.؛ خارا، ح. و تقی‌زاده، و.، ۱۳۹۴.** بلوغ جنسی و سطوح هورمون‌های استروئیدی گنادی در اردک ماهی (*Esox lucius*) تالاب انزلی. نشریه توسعه آبزی‌پروری. سال ۹، شماره ۱، صفحات ۳۳ تا ۴۱.

۷. **شریف‌پور، ع.؛ سلطانی، م.؛ عبدالحی، ح. و قیومی، ر.، ۱۳۸۱.** اثر بی‌هوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهی کپور معمولی. مجله علمی شیلات ایران. سال ۱۱، شماره ۴، صفحات ۷۴ تا ۵۹.

۸. **رفعتی، ه.؛ میرواقفی، ع. و سلطانی، م.، ۱۳۹۴.** بررسی تغییرات آندروژنیک برخی‌شاخص‌های ایمنی و خون ماهی نر قزل‌آلای رنگین کمان در فصل تکثیر. مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۶۸، شماره ۴، صفحات ۵۴۵ تا ۵۵۴.

۹. **فلاحتکار، ب. و پورحسین‌سارمه؛ س.، ۱۳۹۲.** تغییرات بیوشیمیایی، استروئیدهای جنسی و پارامترهای هماتولوژیک در قبل و پس از تخم‌ریزی ماهی سوف سفید *Sander lucioperca*. مجله پژوهش‌های جانوری. جلد ۲۶، شماره ۳، صفحات۳۳۳ تا ۳۴۳.

۱۰. **فرزادفر، ف.؛ حیدری، ب. و آقامعالی، م.، ۱۳۹۲.** بررسی تاثیر رسیدگی جنسی بر میزان لیزوزیم و پروتئین تام سرم خون جنس نر ماهی سفید دریای خزر. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال ۱، شماره ۲، صفحات۳۷ تا ۵۴.

۱۱. **فرزادفر، ف.؛ حیدری، ب. و غفوری‌رحیم‌آبادی، ز.، ۱۳۹۲.** مورفوهیستولوژی گناد ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) . مجله اقیانوس‌شناسی. سال ۴، شماره ۱۶، صفحات ۱۵ تا ۲۲.

۱۲. **Abbasi, F.; Oryan, S. and Matinfar, A., 2009.** Changes in sex hormones during the development of the ovaries coioides(*Epinephelus coioides*) in Persian Gulf. Research and development in aquaculture. Vol. 79, pp. 72-80.

۱۳. **Alagappan, K.; Deivasigamani, B.; Kumaran, S. and Sakthivel, M., 2009.** Histological alterations in Esturian Catfish(*Arius maculatus*)due to hydrophila infection. World Journal Fish and Marine Science. Vol. 1, No. 3, pp: 185-189.

۱۴. **Aminian Fatideh, B. 2006.** Determin sexual maturation stages of *Rutilus frisii kutum* in Caspian sea by biological Indicators. Science journal of Tarbiat Moalem. Vol. 8, No. 2, pp: 107-120.

۱۵. **Biswas, S.; Fostier, A. and Williot, P., 1993.** In: *M*anual of method in Fish Biology. New Dehli: South Asian Publisher. pp: 79-91.

۱۶. **Blazer, V.S., 2002.** Histopathological assessment of gonadal tissue in fishes. Fish Histol & Pathol. Vol. 26, pp: 85-101

۱۷. **Cuisset, B., 1995**. Occurance and in vitro biosynthesis of 11-ketotestosteron in Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*,maturing females. Fish physiology and Biochemistry. Vol. 14, pp: 313-322.

۱۸. **Eigdery, Q., 2002**. Histology study materials growth genital sex find hermaphrodite fish sauce over large *Barbus capito*. M.Sc . Thesis fisheris , Tehran University. 96 P.

۱۹. **El-Gharabawy, M.; Fahmy, A.F. and Assem, S.S., 2007.** Steroid hormone in serum of male *Mugil cephalus* from lake Quaron in relation to ultrastructure of steroidogenic secreting tissue. Egyption Journal of Agriculture research. Vol. 33, No. 3, pp: 156-178.

۲۰. **Farzadfar, F.; Heidari, B. and Ghafori Rahimabadi, Z., 2013.** Morphohistology gonads of *Rutilus frsii kutum*. Journal of Oceanography. Vol. 4, No. 16, pp: 15-22.

۲۱. **Flahatkar, B. and Pourhossein, S., 2005.** Biochemical changes, sex steroids and hematological parameters before and after spawning white perch fish (*Sander lucioperca*). Journal of Animal Reseach. Vol. 26, No. 3, pp: 333-343.

۲۲. **Halajian, A.; Kazemi, R. and Dejandian, S., 2007.** Histological study of *Rutilus frisii kutum* iIn the non spawning season in the southern part of the Caspian Sea. Tehran, 6th Iranian Congress of Marine Science and Technology.

۲۳. **Heidari, B.; Roozat, S.A. and Yavari, L., 2010.** Changes in plasma levels of steroid hormones during oocyte development of Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*). Animal Reproduction. Vol. 7, No. 4, pp: 373-381.

۲۴. **Johnson, L. and Casillas, E., 1998.** The use of plasma parameters to predict ovarian maturation stage in English Sole *Parophrysvetulus giard* and Epinephelusmorio. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 151, pp: 257-270.

۲۵. **Khodadost, A.; Imanpour , M.; Khara, H. and Taghizadeh, V., 2016.** Sexual Maturity and the level of gonadal steroid hormones in pike (*Esox lucus*) in Anzali Lagoon. Expansion of aquaculture. Vo. 1, pp. 33-41.

۲۶. **Kobayashi, D.; Tanaka, M.; Fukada, S. and Nagahama, Y.S., 1996.** Steroidogenesis in the ovarian follicles of the medaka (*Oryzias lapipes*) during vitellogenesis and oocyte maturation. Zoology Science. Vol. 13, pp: 921-927.

۲۷. **Lee, W. and Yang, S.W., 2002.** Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation the cultured female Korean spotted sea bass (*Lateolabrax maculates*). Aquaculture. Vol. 207, pp: 169-183.

۲۸. **Luteus, P., 1987.** Oocyte maturation in white sturgeon *Acipenser transmontanus*;some mechanism and applications. Environmental Biology of Fishes. Vol. 14, No. 1, pp: 87-92.

۲۹. **Nagahama, Y., 1994.** Endocrine regulation of gametogenesis in fish. International Journal of Development Biology. Vol. 38, pp: 217-229.

۳۰. **Nagahama, Y.; Yoshikuni, M.; Sakai, N. and Tanaka, M., 1993.** Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 11, pp: 13-14.

۳۱. **Nikolsky, G., 1963.** The Ecology of Fishes. London: Academic.

۳۲. **Pavlidis, G., 2000.** Seasonal variation and maturity stages in relation to diffrences in serum levelsof gonadal steroids,vitellogenin and thyroid hormones in the common dentex (*Dentex dentex*). General and Comparative Endocrinology. Vol. 118, pp: 14-25.

۳۳. **Rezai, M.; Shabani, A.; Shabanpour, M. and Kshyri, B., 2011.** The study process of gonadal changes in *Rutilus frisii kutum* in spawning season changes in the Caspian Sea province of Gilan. Environmental Science and Technology. Vol. 18, No. 2, pp: 177-189.

۳۴. **Schulz,, R. and Miura, T., 2002.** Spermatogenesis and its endocrine regulation. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 26, pp: 43-56.

۳۵. **Shafie sabet, S.; Imanpour, M.; Aminian Fatideh, B. and Gorgin, S., 2012.** The study process of changes in *Rutilus frisii kutum* gonads in spawning season in Guilan province (Kiashahr port). Environment Science and Technology. Vol. 18, No. 2, pp: 177-189.

۳۶. **Sharifpour, A.; Soltani, M.; Abdulhai, H. and Ghayomi, R., 2003.** The effect of anesthetic Clove oil (*Eugenia caryophyllata*) In different situationspH,temperatureIn children, common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Iran Fisheries. Vol. 11, No. 4, pp: 59-74.

۳۷. **Trofi Moazenzadeh, M.., 2015.** Refrence itervals for haematological and plasma biochemical parameters in sobaity sea bream juveniles (*Sparidentex hasta*). Comparative Clinical Pathology. Vol. 24, pp: 1501-1507.

www.SID.ir