Archive of SID

اثرات عصاره هیدروالکلی گزنه (*Urtica dioica*) بر بافت‌شناسی گناد و هورمون‌های جنسی مولدین ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

- **شبنم نژادمقدم***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- **محمدرضا ایمانپور**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- **ولی‌اله جعفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- **رقیه صفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۶

چکیده

در این مطالعه اثر سطوح مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر بافت‌شناسی گناد و هورمون‌های جنسی مولدین ماهی قرمز (*Carassius auratus*) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در سه سطح ۲، ٤ و ۸ گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی و گروه شاهد به‌صورت کاملاً تصادفی انجام شد. ذخیره‌سازی با تراکم ۵ عدد ماهی با میانگین وزنی۴/۷۰± ۲۱/۸۸ گرم در هر مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری به‌مدت ۸ هفته در شرایط یکسان انجام شد. پایش سطح استروئیدهای جنسی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح غلظت تستوسترون بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما در بررسی سطوح هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماده تغذیه شده با عصاره گزنه در سطح ۲ گرم در کیلوگرم غذا بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین در بررسی نمو بافت اندام جنسی در تمامی تیمارها، هردو جنس نر و ماده در مرحله ٤ رسیدگی جنسی قرار داشتند. نتایج نشان می‌دهد که استفاده از عصاره گیاهی گزنه در سطح ۲ گرم در کیلوگرم غذا می‌تواند بر توان تولیدمثلی ماهی اثرگذار باشد.

کلمات کلیدی: ماهی قرمز، گزنه، استروئیدهای جنسی، گناد، تولیدمثل

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sh.n.moghadam88@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آبزی‌پروری به‌عنوان یکی از بخش‌های تولید غذا در سال‌های اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است (FAO، ۲۰۱۴؛ Srinath و همکاران، ۲۰۰۰). در انواع گونه‌های آبزیان انرژی به‌صورت پروتئین، لیپید و گلیکوژن در اندام‌های مختلف ذخیره می‌گردد، در دوکفه‌ای‌ها منبع مهم انرژی، گلیکوژن و لیپید و در اسکالوپ‌ها گلیکوژن و پروتئین است که تجمع آن به‌ترتیب در ماهیچه‌های گنادی-احشایی و ماهیچه‌های نزدیک کننده می‌باشد. در کپورماهیان ذخیره چربی در ماهیچه صورت می‌گیرد (Lapina و همکاران، ۱۹۷۸). قبل از زمان رسیدگی جنسی هنگامی‌که گناد غیرفعال است، چربی و پروتئین در بدن ماهی ذخیره می‌شود. هم‌زمان با شروع رسیدگی جنسی، گناد ماهی (بیضه و تخمدان) شروع به رشد می‌کند و این چربی و پروتئین صرف تولید تخمک و اسپرم می‌شود. تشکیل، توسعه و بلوغ تخمک‌ها، پروسه‌ای پیچیده است که نیازمند مشارکت هورمونی می‌باشد. رشد اووسیت در مرحله سوم از تکامل تخمک، پروسه‌ای زرده‌ساز می‌باشد که در آن کبد به ساختن فسفوگلیکوپروتئین مبادرت می‌نماید (Arukwa و Goksory، ۲۰۰۳). مطالعات در برخی از آبزیان نشان داده است که در مرحله مشخصی از توسعه گنادی، نرخ انتقال چربی به سلول‌های گامتی بیش‌تر از نرخ دریافت چربی می‌باشد و ممکن است که عضله یا اندام‌های دیگر در تأمین اندوخته غذایی سلول‌های گامتی نقش داشته باشد (صفری و همکاران، ۱۳۸۷). هم‌چنین به‌هنگام بلوغ تغییرات شکلی در ماهی ایجاد شده که از بازارپسندی آن می‌کاهد. در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و سایر آزادماهیان رنگ بدن تیره شده و فک ماهی نر انحناء می‌یابد (Bye و Lincoln، ۱۹۸۶؛ Johnstone و همکاران، ۱۹۸۶). در ماهیانی نظیر تیلاپیا مشکل بلوغ زودرس (در حدود وزن ۲۰ گرم) و تولیدمثل کنترل‌نشده، باعث ازدیاد جمعیت با اندازه کوچک می‌شود که سبب تولید بیش از حد با بازدهی کم و کاهش رشد بچه‌ماهیان می‌شود (Jegede، ۲۰۱۰؛ Phelps و Poms، ۲۰۰۰). بنابراین کاهش و یا مهار تولیدمثل باعث می‌شود که از یک‌سو انرژی به‌جای صرف رشد گنادها، صرف رشد بدن شود و از سوی دیگر مشکلات ناشی از تولیدمثل ناخواسته نیز کاهش یابد. درحال حاضر فناوری استفاده از گیاهان دارویی در آبزی‌پروری به جهت عوارض جانبی کم آن‌ها، در حال توسعه از محیط‌های آزمایشگاهی به سمت استفاده گسترده آن در مزارع پرورش ماهی می‌باشد. گزنه یک گیاه چندساله با نام علمی (*Urtica dioica*) متعلق به خانواده (Urticaceae) می‌باشد و به‌عنوان گیاه دارویی در سطح جهان شناخته شده است (Lourdes و همکاران، ۲۰۰۸). برگ گیاه گزنه سرشار از ترکیبات فعال زیستی است. مطالعات متعدد در مورد اثرات مهارکنندگی تولیدمثلی گیاهان دارویی در حیوانات آزمایشگاهی مانند موش انجام شده است، این در حالی است که مطالعات کمی بر آبزیان صورت گرفته است. قربانی رنجبری و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اثر عصاره هیدروکسی گزنه بر تغییرات هورمون تستوسترون و اسپرم‌سازی در موش صحرایی، دریافتند که احتمالاً عصاره گزنه با دارا بودن ترکیبات فیتواستروژنی خاصیت ضدآندروژنی داشته و میزان تستوسترون را کاهش داد و در بررسی بافت‌شناسی تغییرات ساختاری در لوله‌های اسپرم‌ساز، تخریب سلول‌های بینابینی و نیز تحلیل اپیتلیوم زاینده‌ی اسپرم‌ساز مشاهده شد. هم‌چنین Jegede (۲۰۱۰) اثر گیاه (*Hibiscus rosa sinensi*) را بر ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمود و گزارش کرد که اثر این گیاه سبب تخریب فولیکول تخمدان و اسپرماتید و نکروز در بیضه‌ها شد. ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپورماهیان به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک مدل بسیار عالی در مطالعات غدد درون‌ریز تولیدمثلی ماهیان مهم اقتصادی می‌باشد (Popesku و همکاران، ۲۰۰۸)، از آن‌جاکه تاکنون مطالعه جامعی در رابطه با اثر تغذیه با جیره غذایی حاوی عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر ساختار بافت شناسی گناد و هورمون‌های جنسی ماهی مولد قرمز (*Carassius auratus*) صورت نگرفته است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی شاخص‌های مذکور انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای تحقیق: این مطالعه در بهار ۱۳۹۵ به‌مدت ۸ هفته در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهیدفضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

تهیه مولدین و ذخیره‌سازی: ۶۰ قطعه مولد (با میانگین وزنی ۴/۷۰±۲۱/۸۸ گرم) از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهی قرمز شهرستان رشت خریداری شد. ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۲٪ ضدعفونی و به‌مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با شرایط پرورش با غذای پایه تغذیه شدند. آزمایش با تغذیه از جیره حاوی سه سطح ۲، ۴ و ۸ گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی و گروه شاهد به‌صورت کاملاً تصادفی انجام شد. جهت حفظ کیفیت آب هفته‌ای دوبار، دوسوم حجم آب مخازن پرورشی تعویض شده و مدفوع ماهی و باقی‌مانده غذا از طریق سیفون کردن از محیط خارج گردید.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: باتوجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی هر یک از مخازن پرورشی، پس از محاسبه میزان عصاره گیاهی مورد نیاز برای هر تیمار، مقدار عصاره محاسبه‌شده در محلول ژلاتین ۴٪ حل شده و با غذا مخلوط گردید. سپس مخلوط به‌هم زده شد تا به‌صورت همگن درآید و بعداز آن در مجاورت جریان

www.SID.ir

Archive of SID

هوای ملایم که توسط فن ایجاد گردیده بود خشک شد. جیره تهیه‌شده تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. غذادهی با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف از عصاره گیاهی گزنه با دوزهای ۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا (Obaro و Nzeh، ۲۰۱۲) در حد سیری (Caballero و همکاران، ۲۰۰۲) انجام شد.

خون‌گیری از ماهیان: جهت نمونه‌برداری خون از ماهیان در انتهای دوره، ۲۴ ساعت قبل غذادهی قطع شد. جهت بی‌هوش کردن ماهیان از عصاره گل میخک به‌عنوان ماده بی‌هوشی استفاده شد. در ادامه ماهیانی که از نظر ظاهری سالم بودند به‌طور تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان خشک گردیده و از ناحیه ساقه دمی خونگیری صورت گرفت. خون استحصال شده به جهت ارزیابی استروئیدهای جنسی به ویال‌های فاقد ماده ضدانعقاد خون که قبلاً مشخصات ماهی درآن ثبت شده بود منتقل گردید. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Germany, D-7200 Tutilige 7) به‌مدت ۷ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه نمونه‌های سرم جدا و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (Feldman و همکاران، ۲۰۰۰).

بررسی تغییرات بافت‌شناسی گناد ماهیان نر و ماده

تهیه مقطع بافتی: دراین مطالعه‌برای بررسی‌تغییرات بافتی گناد ماهیان نر و ماده، روش بافت‌شناسی کلاسیک هماتوکسیلین-آئوزین استفاده شد. جهت تهیه مقطع بافتی آب‌گیری، شفاف‌سازی و آب‌گیری، پارافینه کردن، قالب‌گیری، برش بافت با دستگاه میکروتوم، چسباندن مقاطع بافتی تهیه‌شده روی لام، رنگ‌آمیزی و چسباندن لامل انجام شد و برحسب قرار گرفتن بیش از نیمی از اووسیت‌ها در یکی از این ۴ مرحله، مراحل رسیدگی تخمدان تعیین شد (Figueiredo Fernandes و همکاران، ۲۰۰۷). لام‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ اینورت (مدل نیکون TS۱۰۰) مجهز به دوربین دیجیتال با بزرگ‌نمایی X۳۰۰ عکس‌برداری گردید.

سنجش استروئیدهای جنسی

هورمون تستوسترون: هورمون تستوسترون پیش‌ساز (Precursor) ۱۱ کتوتستوسترون، که غالباً از بیضه تولید می‌شوند، با روش الایزا (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay :ELISA) و با استفاده از کیت‌های پارس آزمون بررسی گردید. این روش متشکل از کیت الایزای مونوبایند (Monobind) و روش رقابتی به‌کمک آنتی‌بادی مونوکلونال می‌باشد. در این روش بدون استفاده از مواد رادیواکتیو، مولکول با آنتی‌بادی ضد آن تشخیص داده می‌شود، یعنی مولکول خود آنتی‌ژن است که اصطلاحاً آنتی‌بادی مونوکلونال نام دارد. به این‌ترتیب که مقادیر ۲۵ میکرولیتر از سرم نمونه به‌همراه استاندارد و سرم کنترل در چاهک مخصوص الایزا ریخته و سپس ۲۰۰ میکرولیتر آنزیم کنژوگه در چاهک‌ها ریخته شد و پس از یک ساعت محتوای چاهک‌ها خالی گردید، در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا به هرکدام از چاهک‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه گردید و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده فعالیت آنزیمی به چاهک‌ها اضافه شد و با دستگاه الایزاریدر و سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های مخصوص مقادیر هورمون‌ها سنجیده شد (Guzman و همکاران، ۲۰۰۸).

هورمون ۱۷-آلفا هیدروکسی پروژسترون: هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون یک استروئید ۲۱ کربنه می‌باشد که پیش‌ساز دی‌هیدروکسی پروژسترون است و در این بررسی توسط کیت مونوبایند به‌روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت. جهت سنجش این هورمون با استفاده ازکیت مونوبایند۲۵ میکرولیتر نمونه و ۲۵ میکرولیتر استاندارد به‌همراه ۲۰۰ میکرولیتر کنژوکه که در چاهک‌های مخصوص ریخته شد و به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و در ادامه چاهک‌ها خالی شد و ۵ بار با بافر شستشو داده شد. سپس به هرکدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده فعالیت آنزیمی به چاهک افزوده شد و در طول موج ۴۵۰ نانومتر و رسم منحنی‌های مخصوص سنجش انجام گردید، محدوده تشخیص فرایند نانوگرم برمیلی‌لیتر بود (Guzman و همکاران، ۲۰۰۸).

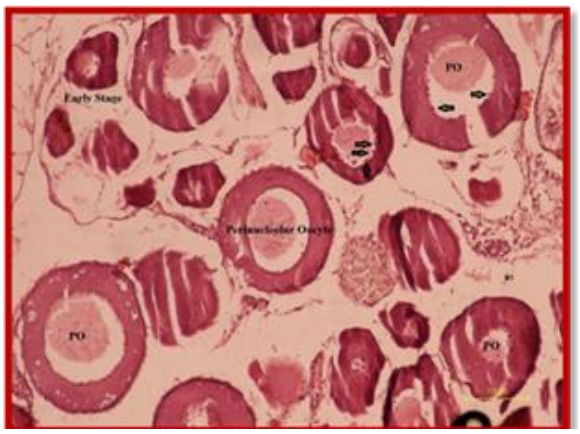
تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار (هر تیمار با ۲ تکرار) انجام شد. پس از آزمون همگن بودن داده‌ها تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه‌وتحلیل آماری‌قرارگرفت. تمام داده‌ها به‌صورت (میانگین± انحراف استاندارد) ارائه شده‌اند.

نتایج

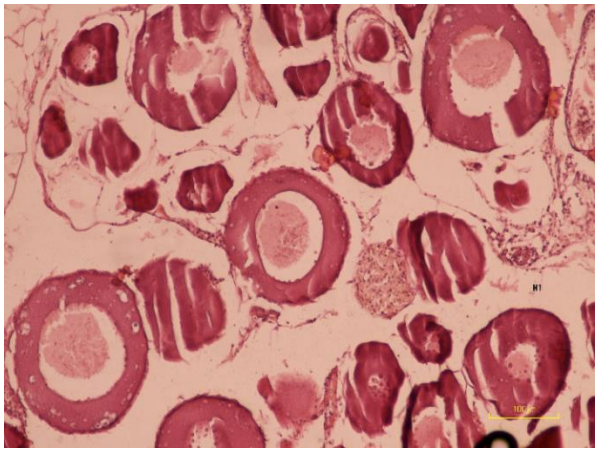
بافت‌شناسی تخمدان و بیضه مولدین: نتایج حاصل از بافت شناسی تحقیق حاضر نشان داد که تخمدان ماهیان ماده تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی عصاره گزنه همگی در مرحله ۴ از رسیدگی جنسی قرار داشتند (شکل‌های ۱، ۲). نمو بیضه نیز با استفاده از کلید شناسایی در ۴ مرحله (رشد اولیه، نمو اولیه، نمو میانی و رسیده) تقسیم‌بندی شد (Genten و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج حاصل از بافت‌شناسی تحقیق حاضر نشان داد که بیضه ماهیان نر تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی عصاره گزنه نیز تیمار شاهد همگی در مرحله ۴ رسیدگی جنسی بودند (شکل‌های ۳ و ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

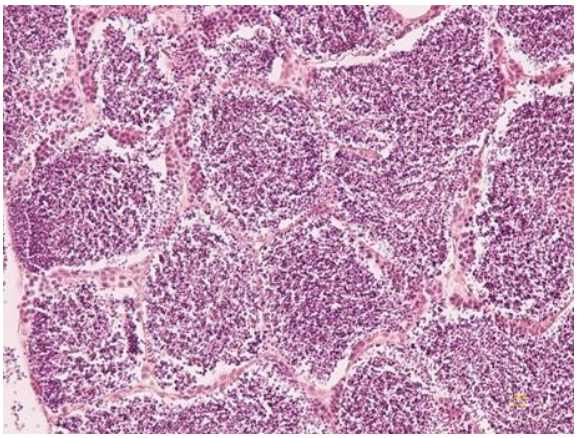


شکل ۱: مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگ‌نمایی X۳۰۰)، تخمدان تیمار شاهد

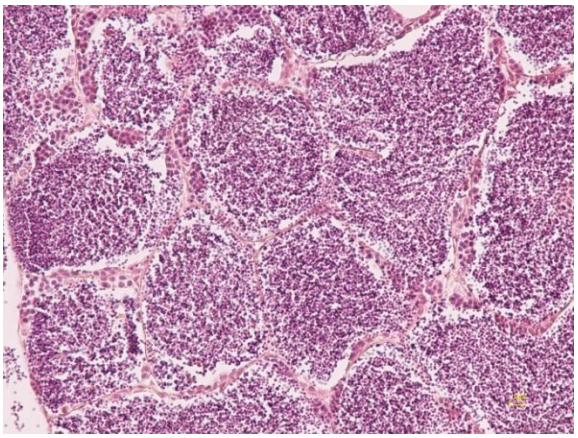


شکل ۲: مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگ‌نمایی X۳۰۰)، تخمدان تیمار تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی عصاره گیاهی گزنه۲ گرم در کیلوگرم غذا

نتایج استروئیدهای جنسی: مقایسه داده‌های (میانگین ± انحراف معیار) تغییرات شاخص هورمون تستوسترون و هورمون هورمون ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز تغذیه شده با عصاره گیاهی گزنه درجدول ۱ نشان داده شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد تغییرات هورمون تستوسترون در ماهیان نر تغذیه‌شده با مقادیر مختلف عصاره گزنه مشاهده شد، هرچند این تفاوت معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). هم‌چنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد تغییرات هورمون پروژسترون تفاوت معنی‌داری در برخی تیمارها وجود داشت (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که تیمار تغذیه‌شده با عصاره گزنه در سطح۲ گرم در کیلوگرم غذا از سایر تیمارها مقادیر بیش‌تری را نشان داد (P<۰/۰۵).



شکل ۳: مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگ‌نمایی X۳۰۰)، بیضه تیمار شاهد



شکل ۴: مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین- ائوزین و بزرگ‌نمایی X۳۰۰)، بیضه تیمار تغذیه‌شده با جیره غذایی حاوی عصاره گیاهی گزنه ۲گرم در کیلوگرم غذا

جدول ۱: مقایسه داده‌های (میانگین ± انحراف معیار) هورمون تستوسترون و ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم به میلی‌لیتر) مولدین نر تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره گیاهی گزنه (۰، ۲،۴ و ۸ گرم در کیلوگرم غذا)

تیمار	شاهد	گزنه ۲ گرم	گزنه ۴ گرم	گزنه۸ گرم
تستوسترون	۲/۰±۰۸/۲۲a	۲/۱±۲۲/۰۱a	۰/۰±۸۵/۲۸a	۰/۰±۶۹/۴۴a
۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون	۰/۰±۲۴/۰۲b	۰/۰±۴۵/۰۷a	۰/۰±۲۳/۰۴b	۰/۰±۱۹/۰۷b

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

آبزی‌پروری یکی از فعالیت‌های اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها است. این صنعت در جهان برای پاسخ به افزایش تقاضای غذاهای دریایی و محدود کردن صید از ذخایر طبیعی که به‌دلیل صید بی‌رویه و آلودگی‌های زیست‌محیطی به‌شدت روبه کاهش است، در حال توسعه روزافزون می‌باشد (Akinbowale و همکاران، ۲۰۰۶). بلوغ جنسی رشد و بهبود کیفیت گوشت ماهی (Bye و Lincoln، ۱۹۸۶؛ Johnstone و همکاران، ۱۹۸۶) را تحت تأثیر قرار داده و از بازارپسندی آن می‌کاهد و هم‌چنین تولیدمثل ناخواسته و نامطلوب در برخی از گونه‌های ماهی مانند تیلاپیا باعث ازدیادجمعیت بااندازه کوچک می‌شود (Jegede، ۲۰۱۰)، بنابراین استفاده از ترکیبات طبیعی که باعث کنترل تولیدمثل می‌شوند و خطر کم‌تری برای انسان، حیوان و محیط زیست دارنددرحال توسعه می‌باشند.طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی حاوی ساپونین در برگ، ریشه، ساقه، دانه، پوست، میوه و شکوفه می‌باشند. این ترکیبات گیاهی دارای ساختار استروئیدی یا تریپونوئیدی با زنجیره جانبی قندی می‌باشند. اثر مثبت فیتواستروژن‌ها ازجمله فیتواسترول‌ها بر رفتار تولیدمثلی مهره‌داران آبزی گزارش شده است (Bucholtz و همکاران، ۲۰۰۸؛ Miller و Ankley، ۲۰۰۴). بلوغ و ساختار بافتی تخمدان ماهیان تحت تأثیر عواملی مانند طول روشنایی روز، درجه حرارت محیط، آب و تغذیه تغییر می‌کند (Bapary و Fainuulelei، ۲۰۰۹). تعیین دقیق و علمی کیفیت عملکرد تولیدمثل منجر می‌شود که‌خود در تصمیم گیری‌های شیلاتی به‌ویژه در بخش کنترل تولیدمثل ماهی نقش مهمی را ایفا می‌کند (Bucholtz و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه حاضر نتایج حاصل از مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که گناد ماهیان مولد (نر و ماده) تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره گیاهی گزنه در مرحله ۴ رسیدگی قرار داشتند. تاکنون در خصوص اثر گیاه گزنه بر فیزیولوژی تولیدمثل در آبزیان گزارشی نشده است اما همان طورکه قبلاً نیز اشاره شد در مطالعاتی که بر موش‌های آزمایشگاهی صورت گرفت، اثر منفی گیاه گزنه تنها بر اندام جنسی نر موش‌های آزمایشگاهی گزارش شد. اما در مطالعات انجام‌شده بر سایر گیاهان ازجمله مطالعاتی که بر اثر استفاده از جیره غذایی حاوی عصاره گیاهی (*Sesamum indicum*) بر مولدین ماده گربه‌ماهی آفریقایی صورت گرفته است، بهبود عملکرد رشد، بهبود شاخص‌های گنادی و شاخص‌های تولیدمثلی در ماهیان تغذیه‌شده با عصاره گیاهی مشاهده شد (Dada و Adeparusi، ۲۰۱۲؛ Dada و Ebhodaghe، ۲۰۱۱). در مقابل نتایج مطالعه حاضر، مطالعات دیگری نیز افزایش شدت تغییرات بافتی با افزایش سطح عصاره گیاه پاپایا در جیره غذایی مولدین تیلاپیای نیل نسبت به گروه شاهد گزارش شده است (Raji و همکاران، ۲۰۰۵؛ Lucidiet و همکاران، ۲۰۰۳). نکته قابل‌توجه این‌است که در بررسی‌های انجام شده، زمانی‌که عصاره گیاهی پاپایا از زمان جذب کیسه زرده به لارو ماهی تیلاپیای نیل خورانده شد نسبت به زمانی‌که ماهیان با وزن متوسط ۴۰ گرم بعد از بلوغ جنسی (Abbas و Abbas، ۲۰۱۱) با جیره غذایی عصاره گیاهی تغذیه شدند، تغییرات بافتی بارزتر بود. بنابراین می‌توان‌نتیجه‌گرفت که علاوه بر میزان دوز مصرفی عصاره و مدت زمان دوره‌پرورش، سن‌ماهیان نیز بر شدت بروز تغییرات بافتی مؤثر می‌باشد.

تغییرات هورمون‌های جنسی: در ماهیان استخوانی رشد و رسیدگی تخمک‌ها شامل مراحل مختلفی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلفی‌نظیر هورمون‌های گنادوتروپین، پروژسترون، تستوسترون و استرادیول می‌باشند(Lee و Yang، ۲۰۱۱). پایش غلظت هورمون‌های استروئیدی جنسی و پروفیل آن‌ها ابزار سودمندی جهت مطالعه اثرات برخی مواد مداخله‌گرهای غدد درون‌ریز در جمعیت‌های طبیعی است (Spano و همکاران، ۲۰۰۴). هورمون‌های استروئیدی برخلاف هورمون‌های پپتیدی که در وزیکول ترشحی انباشته می‌شوند فقط متناسب با نیاز ساخته و ترشح خواهند شد. فیتواستروژن باعث اثرات منفی بر تولیدمثل و تولید استروئید در مهره‌دارن مختلف شده است (Opałka و همکاران، ۲۰۰۴). در مورد غلظت تستوسترون، Friendmanو Baron(۲۰۰۱)نشان دادند که کاهش غلظت تستوسترون به‌علت اثر ممانعتی عملکرد سلول لایدیگ بوده است. در ماهیان نر تغذیه شده با جیره‌های‌غذایی محتوی عصاره گزنه اختلاف معنی‌داری در غلظت تستوسترون پلاسما بین تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). برطبق نتایج تحقیق حاضر، سطوح هورمون ۱۷-آلفا هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماده در تیمار تغذیه‌شده با عصاره گزنه در سطح ۲ گرم در کیلوگرم غذا بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). نتایج این مطالعه با نتایج Zhang و همکاران (۲۰۰۲) مبنی بر اثر فیتو استروژنی جینستین بر ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) مطابقت دارد.

به‌نظر می‌رسد که اثر فیتواستروژن‌ها بسته به گونه، شرایط تولیدمثلی، مدت‌زمان قرار گرفتن در معرض آن، روش وارد شدن به بدن (جیره، تزریق، آب) و دوز مصرفی دارد. هم‌چنین نکته‌ای که حائز اهمیت می‌باشد این است که باتوجه به کاربرد بسیاری از گیاهان از جمله گزنه، آلوئه‌ورا، بومادران و... به‌عنوان محرک ایمنی در آبزی پروری، باید اثرات سایر ترکیبات موجود در گیاهان (فیتواستروژن‌ها) که ممکن است خاصیت ضداستروژنی و منفی بر عملکرد تولیدمثل داشته باشند مدنظر قرار داده شود و قبل از تجویز این گیاهان برای بخش تکثیر و یا پرورش ماهیان، ترکیبات مؤثره موجود در گیاهان مورد بررسی و مطالعه دقیق قرار گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. **قربانی‌رنجبری، ع.؛ قربانی‌رنجبری، ن.؛ قربانی‌رنجبری، ز. و قربانی‌رنجبری، س.، ۱۳۹۳.** بررسی تاثیر عصاره هیدرواکسی گزنه بر تغییرات هورمون تسترون و اسپرماتوژنز در موش صحرایی. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی‌مولکولی.شماره ۱۴، صفحات ۳۱ تا ۳۹.

۲. **صفری، ر.؛ ایمانپور، م.ر. و شعبانپور، ب.، ۱۳۸۷.** اثر مراحل رسیدگی جنسی روی ترکیب شیمیایی عضله ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در خلیج گرگان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. دوره ۱۶، شماره ۱. صفحات ۲۸ تا ۳۴.

۳. **عبدالله‌مشایی، م.، ۱۳۸۸.** فیزیولوژی ماهی در سیستم‌های پرورش متراکم. انتشارات دریاسر. چاپ دوم. ۳۰۲ صفحه.

۴. **Abbas, H.H. and Abbas, W.T., 2011.** Assessment study on the use of pawpaw; (*Carica papaya*) seeds to control (*Oreochromis niloticus*) breeding. Pakistan Journal of Biological Sciences. Vol. 14, pp: 1117-1123.

۵. **Akinbowale, O.L.; Peng, H. and Barton, M.D., 2006.** Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. Journal of Applied Microbiology. Vol. 100, pp: 1103-1113.

۶. **Arukwa, A. and Goksory, A., 2003.** Egg shell and egg yolk proteins in fish, hepatic proteins for the next generation: Oogenetic, population and evolutionary, implication of endocrine disruption. Comparative Hepatology. Vol. 6, pp: 1-46.

۷. **Bapary, M.A.J. and Fainuulelei, P., 2009.** Environmental control of gonadal development in the tropical damselfish. Marine Boilogy Research. Vol. 5, pp: 462-469.

۸. **Bucholtz, R.H.; Tomkiewicz, J. and Dalskov, J., 2008.** Manual to determine gonadal maturity of herring (*Clupea harengus*). DTU Aqua-report. 197-08, Charlottenlund: National Institute of Aquatic Resources. 45 p.

۹. **Caballero, M.J.; Obach, A.; Rosenlund, G.; Montero, D.; Gisvold, M. and Izquierdo, M.S., 2002.** Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 214, pp: 253-271.

۱۰. **Citarasu, T.; Sivaram, V.; Immanuel, G.; Rout, N. and Murugan, V., 2006.** Influence of selected Indian immunostimulat herbs against white spot syndrome virus (wssv) infection in black tiger shrimp, with reference to haematological, biochemical and immunological changes. Fish and shellfish immunology. Vol. 21, pp: 372-384.

۱۱. **Dada, A.A. and Adeparusi, E.O., 2012.** Dietary effects of two medicinal plants (*Sesamum indicum*) and (*Croton zambesicus*) on the reproductive indices in female African catfish (*Clarias gariepinus*) broodstock. Egyptian Journal of Aquatic Research. Vol. 38, pp: 269-273.

۱۲. **Dada, A.A. and Ebhodaghe, B.E., 2011.** Effect of (*Garcinia kola*) seed meal on egg quality of the African catfish (*Clarias gariepinus*) (Burchell) broodstock. Cameroon Journal of Experimental Biology. Vol. 7, No.1, pp: 1-8.

۱۳. **FAO. 2014.** Aquaculture Department 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 p.

۱۴. **Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jain, N.C., 2000.** Schalms Veterinary Hematology. Lippincott Williams and Wilkins. pp: 1120-1124.

۱۵. **Figueiredo Fernandes, A.; Ferreira-Cadoso, J.V.; Garcia Santos, S.; Monteiro, S.M.; Carrola, J.; Matos, P. and Fontainhas Fernandes, A., 2007.** Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), exposed to waterborne copper. Pesquisa Veterinaria Brasileria. Vol. 27, pp: 103-109.

۱۶. **Friendman, M. and Baron, D.L., 2001.** Nutritional and health benefits of soy proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 49, No. 3, pp: 1069-1086.

۱۷. **Genten, F.; Terwinghe, E. and Danguy, A., 2009.** Atlas of fish histology. Science publisher. 215 p.

۱۸. **Guzman, J.M.; Norberg, B.; Ramos, J.; Mylonas, C.C. and Manano, E.L., 2008.** Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured female Senegalese sole. General & Comparative Endocrinology. Vol. 156, pp: 285-297.

۱۹. **Jegede, T., 2010.** Control of reproduction in *Oreochromis niloticus* using *Hibiscus rosa-sinensis* leaf meal as reproduction inhibitor. Journal of Agricultural Science. Vol. 2, pp: 149-154.

۲۰. **Johnson, I.T.; Gee, J.M.; Price, K.; Curl, C. and Fenwick, G.R., 1986**. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. Journal of Nutrition. pp: 2270-2277.

۲۱. **Lapina, N.N., 1978.** Seasonal change in the biochemical composition of organs and tissues in (*Rutilus rutilus*) from the Mozhhaisk Reservior. Vopr. Ikhtiol. pp: 1099-1109.

۲۲. **Lee, W.K. and Yang, S.W., 2002.** Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and Induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female korean spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). Aquaculture. Vol. 207, pp: 169-183.

۲۳. **Lourdes, R.F.; Jorge, R.E.; Scott, B.; Dea H.R. and Eliseo, T., 2008.** Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. Toxicology and Applied Pharmacology. Vol. 227, pp: 125-135.

۲۴. **Lucidiet, P.; Bemabo, N.; Turriani, M.; Mattioli, M. and Barboni, B., 2003.** Cumulus steroido genesis is influenced by the degree of oocyte maturation. Reproductive Biology and Endocrinology. Vol. 1, pp: 45-55.

۲۵. **Miller, D.H. and Ankley, G.T., 2004.** Modeling impacts on populations: fathead minnow exposure to the endocrine disruptor 17btrenbolone as a case study. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 59, pp: 1-9.

۲۶. **Nayak, S.K., 2010**. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 1553-1573.

۲۷. **Opałka, M.; Kamińska, B.; Ciereszko R. and Dusza, L., 2004.** Genistein affects testosterone secretion by Leydig cells in roosters (*Gallus gallus domesticus*). Reproductive Biology. Vol. 4, No. 2, pp:185-193.

۲۸. **Obaro, I.O.; Nzeh, C.G. and Oguntoye, S.O., 2012.** Control of Reproduction in (*Oreochromis Niloticus*) Using Crude Extract of (*Azadirachta Indica*) Saponin. Advances in Environmental Biology. Vol. 6, No. 4, pp: 1353-1356.

۲۹. **Phelps, P.R. and Popma, J.T., 2000**. Sex reversal of tilapia. In: Costa-pierce AB, Rakocy EK (eds) Tilapia aquaculture in the Americas.The World Aquaculture Society: Baton Rouge, Louisiana. Vol. 2, pp: 39-59.

۳۰. **Popesku, J.T.; Martyniuk, C.J.; Mennigen, J.; Xiong, H.; Zhang, D.; Xia, X.; Cossins, A.R. and Trudeau, V.L., 2008.** The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signalin. Molecular and Cellular Endocrinology. Vol. 293, pp: 43-56.

۳۱. **Raji, Y.; Morakinyo, A.O.; Oloyo, A.K.; Akinsomisoye, O.S.; Kunle-Alabi, O.T.; Esegbue-Peters, P.R.C. and Awobajo, F.O., 2005.** Impact of the chloroform extract of (*Carica papaya*) seed on oesterous cycle and fertility in female albino rats. Journal of Medical Science. Vol. 5, No. 4, pp: 337-343.

۳۲. **Spano, L.; Tyler, C.R.; Aerle, R.V.; Devos, P.; Mandiki, S.N.M.; Silvestre, F.; Thome, J.P. and Kestemont, P., 2004.** Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult Goldfish. Aquatic Toxicology. Vol. 6, pp: 369-379.

۳۳. **Srinath, K.; Sridhar, M.; Kartha, P.N.R. and Mohanan, A.N., 2000.** Group farming for sustainable aquaculture. Ocean and coastal management. Vol. 43, pp: 557-571.

۳۴. **Zhang, L.; Khan, I.A. and Foran, C.M., 2002.** Characterization of the estrogenic response to genistein in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Comparative Biochemistry and Physiology C. Vol. 132, pp: 203-211.

www.SID.ir