تغییرات بیوشیمیایی، استروئیدهای جنسی و پارامترهای هماتولوژیک در قبل و پس از تخمریزی ماهی سوف سفید *Sander lucioperca*

بهرام فلاحتکار*[۱،*] و سارا پورحسین سارمه[۲]

[۱] **صومعه سرا، دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات**

[۲] **لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات**

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۷

چکیده

این تحقیق با هدف مقایسه تغییرات استروئیدهای جنسی، پارامترهای هماتولوژیک و شاخص های استرس در ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* در مرحله نهایی تخمریزی انجام گردید. در این بررسی از ۲۵ مولد ماده و ۹ مولد نر سوف سفید، قبل و پس از تخمریزی، به منظور تعیین شاخص های استرس، استروئیدهای جنسی وپارامترهای هماتولوژی خونگیری به عمل آمد. در مولدهای ماده، پروژسترون و در مولدهای نر، تستوسترون تفاوت معنی داری را در مراحل قبل و پس از تخمریزی نشان دادند. این در حالی بود که هورمون استرادیول در بین دو جنس نر و ماده تفاوت معنی داری را در قبل از تخمریزی نشان داد. از نظر شاخص های استرس (کورتیزول، گلوکز، لاکتات)، تنها گلوکز خون در ماهیان نر تفاوت معنی داری را در قبل و پس از تخمریزی نشان داد. در خصوص پارامترهای هماتولوژیک، تعداد گلبول های سفید در مولدهای ماده و تعداد گلبول های قرمز در مولدهای نر اختلاف معنی داری در قبل و پس از تخمریزی داشت. نتایج این تحقیق نشان داد با اینکه بسیاری از شاخص های اندازه گیری شده قبل و پس از تخمریزی تغییر یافت اما بیشتر تغییرات در سطح استروئیدهای جنسی ملاحظه گردید. به نظر می رسد تغییرات مشاهده شده در جنس نر و ماده و همچنین قبل و پس از تخمریزی، به دلیل تفاوت های فیزیولوژیک و نوع عمل هورمون ها در مرحله نهایی تکثیر می باشد.

واژه های کلیدی: تولید مثل، استروئیدهای جنسی، شاخص های استرس، هماتولوژی، ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*)

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۳۷۴۲۸، پست الکترونیکی: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* پراکنش وسیعی در مرکز و شرق اروپا داشته (۱۱) و یک گونه با ارزش از نقطه نظر اکولوژیک و صید تفریحی می‌باشد. هم‌اکنون در اکثر کشورهای اروپایی ماهیان با اندازه بازاری از آب های طبیعی صید می شود و مقدار ناچیزی نیز تحت شرایط پرورش متراکم تولید می گردد. وجود این ماهی در بازار به شدت متغیر و وابسته به فصل می باشد و به همین خاطر قیمت و کیفیت گوشت تازه آن با ثبات نیست (۲۲). همچنین تقاضای دایمی و رو به افزایش برای ماهی سوف که دارای کیفیت بالای گوشت می باشد به افزایش قیمت آن منتج شده است. به طوری که تولید مثل آن مورد توجه محققین قرار گرفته است (۲۸). از آنجا که اطلاعات مربوط به تولید مثل مصنوعی سوف ماهیان و پرورش آنها در محیط های کنترل شده کم و اغلب غیردقیق هستند (۴۹) و با توجه به اهمیت استروئیدهای جنسی در فرآیند تولیدمثل، درک این تغییرات در هنگام رسیدگی نهایی و تکثیر دارای اهمیت زیادی می باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

هورمون های استروئیدی، بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل تولیدمثل، رشد و تعادل را در مهره داران تنظیم می کنند. در بسیاری از گونه ها استروژن ها (استرادیول) رفتار جنسی و زرده سازی را در ماده ها تحریک می کنند در حالی که آندروژن ها (تستوسترون) رفتارهای جنسی و اسپرماتوژنز را در نرها القا می نمایند (۳۱). سطوح تستوسترون و استرادیول پلاسما رشد تخمک های نارس را در ماهیان استخوانی تنظیم می کند (۳۲). عموما استرادیول در ماهیانی که مرحله زرده سازی را پشت سر می گذارند به اوج خود می رسد، در حالی که مقدار تستوسترون طی دوره زرده سازی و مراحل اولیه بلوغ نهایی تخمک های نارس افزایش می یابد (۱۵). تحقیقات نشان داده است که در بسیاری از ماهیان استخوانی سطوح استرادیول در طول مرحله زرده سازی افزایش اما در طی مرحله بلوغ کاهش می یابد (۸، ۲۰، ۳۷، ۳۹).

پروژسترون در بسیاری از ماهیان استخوانی می تواند موجب بلوغ اووسیت گردد (۲۱، ۲۴، ۳۰، ۳۵). همچنین وقتی آندروژن ها در بخش اولیه چرخه اسپرماتوژنزی در ماهیان شرکت دارند، بلوغ اسپرماتوزوا و اسپرم زایی می تواند به وسیله پروژسترون ها کنترل شود (۲۹، ۳۰). برخی محققین گزارش کرده اند پروژسترون ها که مسئول بلوغ نهایی تخمک نابالغ در جنس ماده اکثر ماهیان هستند می توانند نقش مهمی در تنظیم اسپرم زایی در ماهیان ایفا کنند (۳۰). Kubokawa و همکاران (۲۵) نشان دادند پروژسترون در ماهی آزاد قرمز *Onchorynchus nerka* در مدت تخمریزی افزایش می یابد و پس از آن کاهش پیدا می کند. همچنین، Truscott و همکاران (۱۹۸۶) افزایش سطوح پروژسترون را بعد از تخمریزی ماهیان آزاد قرمز مهاجر گزارش کردند.

وضعیت کلی سلامت ماهیان مولد بر عملکرد تولید مثل و تولید تخم با کیفیت می تواند تاثیر بگذارد. همچنین حفظ ایمنی مولدها در سطح بالا در مدت زرده زایی و تخمک زایی، از اهمیت به سزایی در کاهش مرگ و میر در مراحل لاروی و پست لاروی برخوردار می باشد (۴۶). با استناد به اینکه خون مستقیما در بسیاری از فرآیندهای متابولیک نقش داشته و تغییرات بدن جانور را دقیقا منعکس می کند (۱۸). در نتیجه، ارزیابی های خونی و هورمونی می توانند در امر تشخیص وضعیت فیزیولوژیک ماهیان مفید واقع گردند (۴۲).

تحقیقات موید این امر می باشد که کورتیزول در ماهیان استخوانی بر عملکرد تولید مثل و رشد گامت اثر می گذارد (۵). Foo و Lam (۱۴) نشان دادند که تزریق کورتیزول به ماهیان سبب تاخیر رشد تخمک های نارس و کاهش ترشح تستوسترون و استرادیول در تیلاپیا *Oreochromis mossambicus* می شود. با این حال Pankhurst و همکاران (۳۳) با آزمایش بر روی ماهی طلایی *Carassius auratus* و کپور *Cyprinus carpio* نشان دادند که کورتیزول حداقل در سطح تولید استروئیدی تخمدان، تاثیری بر تولید تستوسترون و استرادیول ندارد. همچنین کورتیزول به عنوان کورتیکوستروئید مهمی که طی فصل تخمریزی تولید می شود می تواند ایمنی ماهیان را سرکوب کند (۴۰). معمولا در فصل تخمریزی ماهیان، هورمون های جنسی افزایش می یابند و این افزایش تاثیر شدیدی بر ایمنی ماهیان می گذارد (۴۱) به طوری که در ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* موجب تحریک تکثیر لنفوسیت ها می شود (۱۰). با توجه به اهمیت ماهی سوف به عنوان یک گونه با ارزش و با در نظر گرفتن اهمیت مکانیسم های هورمونی، بیوشیمیایی و خونی در فرآیند تولید مثل، این تحقیق با هدف بررسی روند تغییرات استروئیدهای جنسی، شاخص های استرس و پارامترهای هماتولوژیک در قبل و پس از تخمریزی در دو جنس نر و ماده به منظور بهبود روش های مدیریتی در تکثیر مولدها انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

ماهی، امکانات پرورش و کیفیت آب: مولدها در فصل پاییز از ذخیره گاه طبیعی واقع در دریاچه پشت سد ارس صید و به مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل واقع در استان گیلان منتقل شده و به مدت ۳ ماه در استخرهای خاکی ۲ هکتاری زمستان گذرانی، نگهداری و از ماهیان هرز (بچه ماهی کپور، کاراس و غیره) تغذیه شدند. در اسفند ماه، مولدین (۴ ماهی در هر تانک، سن ۵ سال، با نسبت جنسی ۱ به ۱) به ۷ تانک با حجم ۱۴۹۰ لیتر، عمق ۵۰ سانتی متر و دبی آب ۰/۸۸ ± ۲۰ لیتر در یک سیستم جریان دار و بدون برگشت آب منتقل شدند. مولدین ماده دارای میانگین وزنی ۳۶/۳ ± ۱۱۶۱/۴ گرم و میانگین طولی ۰/۵ ± ۵۴/۶ سانتیمتر (mean ±SE) و مولدین نر دارای میانگین وزنی ۱۴۰/۱ ± ۸۲۸/۱ گرم و میانگین طولی ۲/۳ ± ۴۱/۲ سانتیمتر بودند. دما و اکسیژن محلول روزانه در ۳ وعده صبح، بعدازظهر و شب، توسط اکسی متر و ترمومتر کنترل می گردید در این مدت دما ۰/۵ ± ۱۳/۴ درجه سانتی گراد و اکسیژن محلول در آب ۰/۴ ± ۹/۴ میلی گرم در لیتر بود. به منظور القای تخمریزی، لانه هایی با ابعاد (۵۳cm × ۵۳ به ارتفاع cm ۵) تشکیل شده از ریشه بید در تانک ها جاگذاری گردید، به طوری که هر تانک شامل ۲ لانه بود. پس از ایجاد شرایط لازم برای القای تخمریزی، هر ۲ ساعت یکبار از لانه ها بازدید به عمل می آمد و در صورت مشاهده تخمریزی، مولدهای تخمریزی کرده بیومتری و نمونه خون از آنها اخذ می گردید. هم چنین در طی دوره تخمریزی به مولدها هیچ غذایی داده نمی شد.

نمونه گیری و آنالیز نمونه ها: عملیات خونگیری پس از بیهوشی مولدها با پودر گل میخک با دوز ppm ۲۰۰ انجام گرفت. خون گیری اولیه، قبل از تخمریزی (در ابتدای آزمایش از تمامی مولدها به طور همزمان نمونه خون اخذ گردید) و خون گیری ثانویه بلافاصله پس از تخمریزی و از ناحیه سیاهرگ دمی با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین انجام شد. خون به مدت ۲۵ دقیقه با ۴۰۰۰rpm سانتریفوژ شد (g ۱۵۰۰) و پلاسما در ویال های مخصوص در $-25^{o}C$ تا زمان سنجش ذخیره می شد. تستوسترون (T)، ۱۷ بتا استرادیول (E_2) و پروژسترون (P) با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) بر طبق روش Fostier و Jalabert (۱۹۸۶) و به کارگیری کیت Immunotech (کمپانی Immunotech، مارسی فرانسه)، پس از ۲ عصاره گیری با Cyclohexane/ethylacetate (V/V) تعیین شدند. عصاره گیری ها بر روی ۵۰µl پلاسما برای هر استروئید انجام شد. نمونه ها به صورت دو تکراری و استانداردها به صورت ۳ تکراری آزمایش شدند. تمام نمونه ها در یک RIA جداگانه برای هر استروئید مورد سنجش قرار گرفتند. حد دقت برای تمام استروئیدها pg/ml ۷/۵ بود (۲۶). مقادیر کلسیم پلاسما با استفاده از کیت Calcium Arsenazo III (Sigma, St, Louis, MO, USA) سنجش گردید. سطح کورتیزول پلاسما به روش RIA (۳۶) واکنش رقابتی بین آنتی ژن نشان دار شده باید ۱۲۵ با آنتی ژن موجود در نمونه پلاسما جهت اتصال به آنتی بادی موجود در فاز جامد با استفاده از دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند و به کارگیری کیت Immunotech (کمپانی Immunotech، مارسی فرانسه) اندازه گیری شد. لاکتات از طریق روش رنگ سنجی آنزیمی بوسیله ELISA و با استفاده از کیت Sigma (Sigma, St, Luis, MO, USA) تعیین شد (۲). سطح گلوکز در هر نمونه پلاسما با استفاده از کیت Glucose C2-test Wako بر اساس روش آنزیمی به وسیله Mutarotase و گلوکزاکسید از (Wako Pure Chemical, Osaka, Japan) اندازه گیری شد (۲۵).

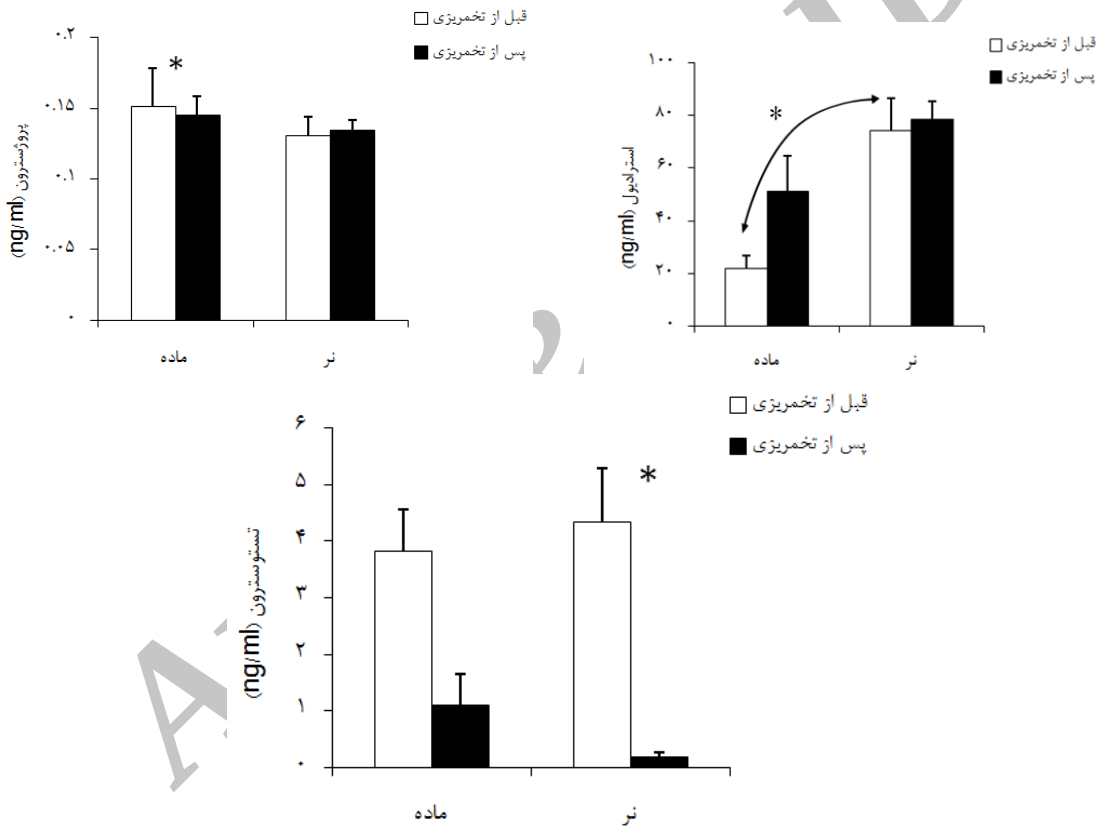
پارامترهای هماتولوژیک ظرف مدت ۲ ساعت بعد از نمونه گیری تعیین شدند. تعداد گلبول های قرمز (RBC) و سفید (WBC) بر اساس روش Barcellos و همکاران (۴) شمارش گردید. به منظور شمارش گلبول های قرمز و سفید، خون با محلول Natt and Herrick ۲۰۰ بار رقیق

Archive of SID

www.SID.ir

سازی شد و تعداد آنها به وسیله لام Neubauer تعیین گردید. بدین ترتیب که تعداد گلبول های قرمز در پنج مربع بزرگ مرکزی مشخص شد. برای شمارش تعداد گلبول های سفید نیز از لام Neubauer استفاده شد. با این تفاوت که گلبول های سفید در چهار مربع بزرگ لام شمرده شدند. میزان هماتوکریت بر اساس روش Valenzuela و همکاران (۴۸) با استفاده از روش Microhaematocrit بلافاصله بعد از نمونه گیری خون و از طریق سانتریفوژ کردن در ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه تعیین گردید. غلظت هموگلوبین نیز بر اساس روش Valenzuela و همکاران (۴۸) به روش Cyanmethaemoglobin و با خواندن میزان جذب در اسپکتروفتومتر (Schimadzu UV-1601) مشخص شد. میزان استاندارد مربوطه، مت هموگلوبین محلول در معرف Drabkin معادل ۱۸g/dl هموگلوبین بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: کلیه اطلاعات با استفاده از نرم افزار Excel پردازش گردید. داده ها با استفاده از نرم افزار سنجش آماری SPSS (Version 13, Chicago, IL, USA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و به صورت mean ± SE نشان داده شد.



نمودار ۱- مقایسه میانگین (±SE) استروئیدهای جنسی (استرادیول، پروژسترون و تستوسترون) مولدهای نر و ماده سوف سفید، قبل و پس از تخمریزی. در نمودار استرادیول، علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین جنس نر و ماده در قبل از تخمریزی می باشد. در نمودار پروژسترون و تستوسترون، علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در قبل و پس از تخمریزی، در جنس مربوطه می باشد.

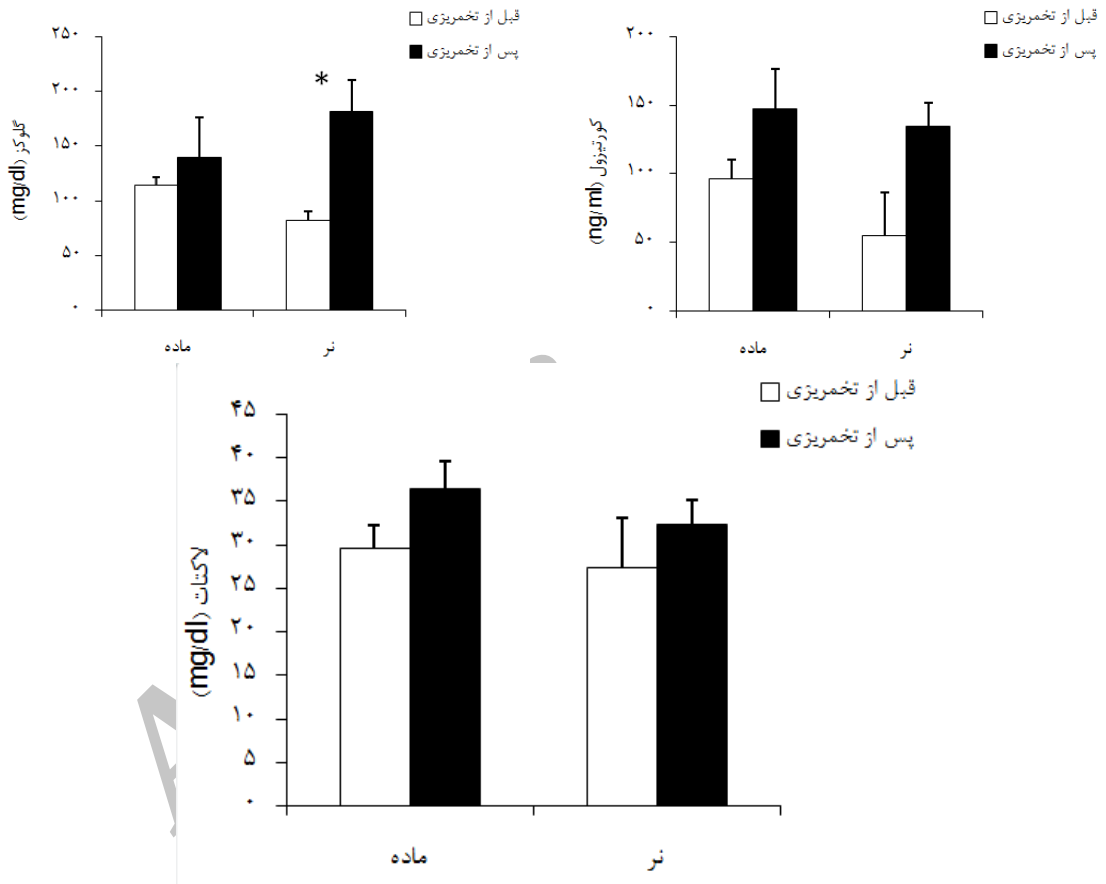
نرمال بودن داده ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد سنجش قرارگرفت. از آزمون T-Samples Independent Test برای مقایسه استروئیدهای جنسی و کلیه پارامترهای بیوشیمیایی قبل و بعد از تخمریزی در دو جنس نر و ماده استفاده شد. سطح معنی دار بودن در این بررسی $p < ۰/۰۵$ می باشد.

www.SID.ir

نتایج

مقایسه وزن ماهیان نر و ماده نشان از اختلاف معنی داری بین دو جنس بود (p = ۰/۰۰۰). همچنین این اختلاف در خصوص طول کل نیز معنی دار بود (p = ۰/۰۲۶). مولدها در فاصله زمانی ۳۴-۱۷ روز پس از خون گیری اولیه تخمریزی کردند.

استروئیدهای جنسی: مقایسه استروئیدهای جنسی قبل و پس از تخمریزی نشان داد که در جنس ماده مقدار هورمون پروژسترون (p = ۰/۰۱۳) و در جنس نر هورمون تستوسترون (p = ۰/۰۰۳) اختلاف معنی داری را نشان می دهند. این در حالی است که در سایر هورمون های اندازه گیری شده، اختلافی ملاحظه نگردید. مقایسه دو جنس حاکی از این بود که قبل از تخمریزی، مقدار هورمون استرادیول در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان می دهند (نمودار۱: p = ۰/۰۰۰). اما در سایر پارامترها و همچنین بعد از تخمریزی اختلافی بین دو جنس مشاهده نگردید.



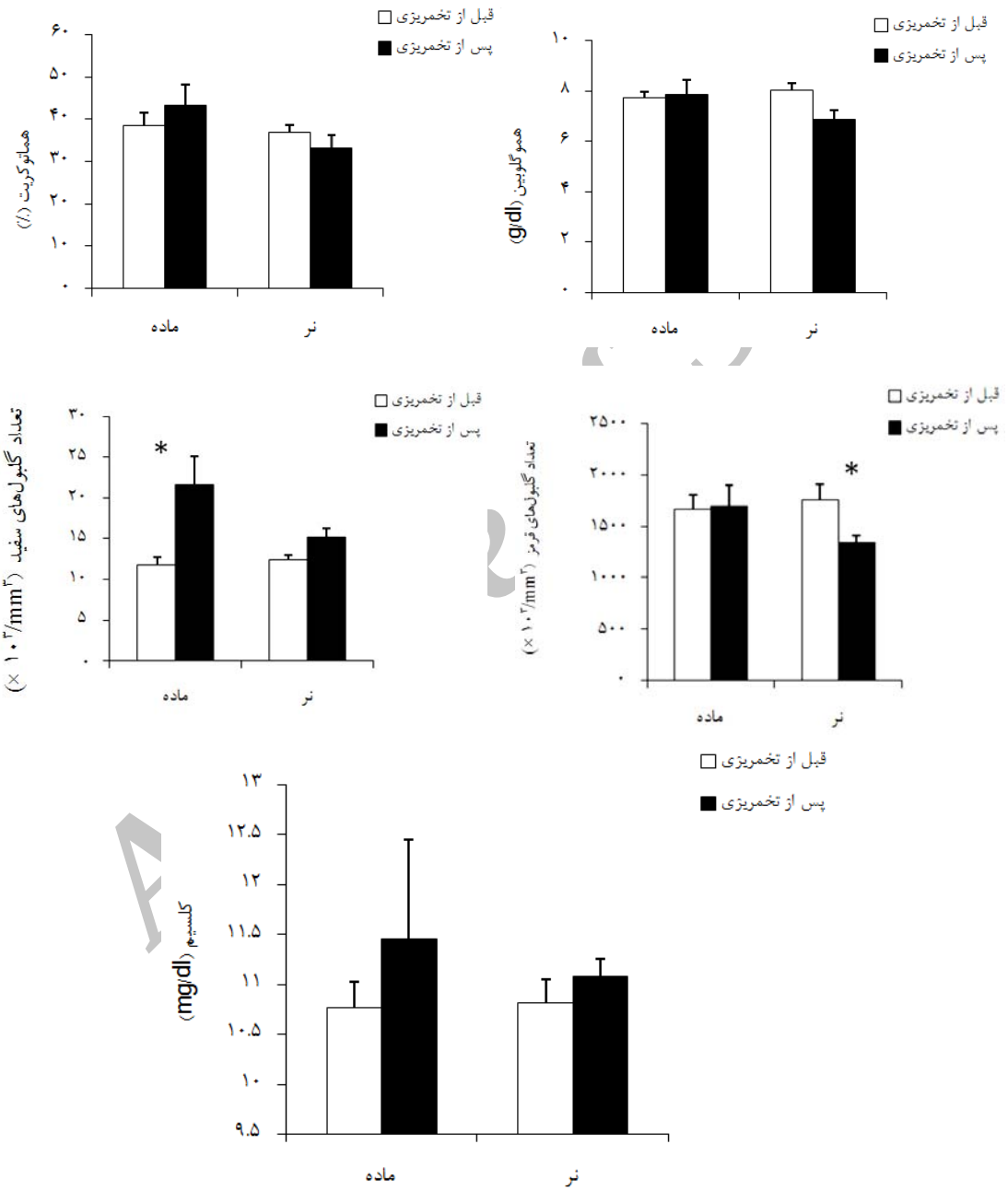
نمودار ۲- مقایسه میانگین (±SE) شاخص های استرس (کورتیزول، گلوکز و لاکتات) مولدهای نر و ماده سوف سفید، قبل و بعد از تخمریزی. در نمودار گلوکز، علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در قبل و پس از تخمریزی، در جنس نر می باشد

شاخص های استرس: در خصوص غلظت کورتیزول و لاکتات هیچ اختلافی چه در بین دو جنس و چه در قبل و پس از تخمریزی در ماهیان سوف مشاهده نگردید. اما غلظت گلوکز خون اختلاف معنی داری را در ماهیان نر، قبل و پس از تخمریزی نشان داد (نمودار ۲; p = ۰/۰۰۹).

پارامترهای هماتولوژیک: مقایسه ماهیان ماده، قبل و پس از تخمریزی نشان داد به جز تعداد گلبول های سفید، در

www.SID.ir

سایر پارامترهای هماتولوژیک (هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز) اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود (نمودار۳). این در حالی است که از پارامترهای اندازه گیری شده، فقط تعداد گلبول های قرمز در ماهیان نر، در قبل و پس از تخمریزی اختلاف معنی داری را نشان داد ($p = ۰/۰۴۴$). مقایسه دو جنس نر و ماده در قبل و پس از تخمریزی اختلاف معنی داری را در این دو جنس نشان نداد (نمودار ۳). مقدار کلسیم نیز اختلاف معنی داری را بین دو جنس و قبل و پس از تخمریزی نشان نداد (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میانگین (±SE) پارامترهای هماتولوژیک (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و تعداد گلبول سفید) و یون کلسیم در مولدهای نر و ماده سوف سفید، قبل و بعد از تخمریزی. در نمودار تعداد گلبول های سفید، علامت ستاره نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در قبل و پس از تخمریزی، در جنس ماده می باشد.

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

بررسی انجام گرفته بر روی این ماهی در دریاچه پشت سد ارس نشان از جمعیت مولدهایی با ترکیب سنی مختلف دارد (مشاهدات شخصی) که دلیل وجود اختلاف معنی دار در خصوص وزن ماهی های نر و ماده در این تحقیق را مشخص می سازد. این در حالی است که در بسیاری از گونه های ماهیان نیز اندازه جنس نر در سن بلوغ کوچکتر از جنس ماده است.

در بررسی حاضر، میزان پروژسترون در مولدهای ماده و تستوسترون در مولدهای نر پس از تخمریزی، کاهش معنی داری را در مقایسه با قبل از تخمریزی نشان داد. همچنین میزان استرادیول مولدهای نر در قبل از تخمریزی افزایش معنی داری در مقایسه با مولدهای ماده داشت. در بررسی Sulistyo و همکاران (۴۳) میزان پروژسترون سوف ماده حاج طرخان *Perca fluviatilis* درست قبل از تخمریزی افزایش یافت. Barry و همکاران (۵) نیز دو تا سه روز قبل از تخمریزی بیشترین میزان پروژسترون را در ماهی سوف وال آی *Stizostedion vitreum* مشاهده کردند. تحقیقات در ماهی کپور (۳۸)، سوف زرد *Perca flavescens* (۱۲،۱۷)، سوف سفید *Morone americana* و باس سفید *M. chrysops* (۲۳) نشان داد که این هورمون می تواند به عنوان یک استروئید القا کننده بلوغ عمل کند. در بررسی Sulistyo و همکاران (۴۴) نیز میزان تستوسترون سوف حاج طرخان نر قبل از تخمریزی افزایش یافت و آنها اظهار داشتند علت این افزایش موید نقش تستوسترون در اسپرماتوژنز می باشد. Kubokawa و همکاران (۲۵) بیان نمودند که در ماهیان آزاد ساک آی *Onchorhynchus nerka*نر و ماده و به ویژه در نرها، میزان تستوسترون درست قبل از تخمریزی افزایش و سپس کاهش می یابد. از آنجا که استرادیول به عنوان القا کننده سنتز ویتلوژنین عمل می کند (۳۸) و در زرده زایی و رشد تخمدان نقش دارد (۴۳)، علت کاهش معنی دار استرادیول مولدهای ماده در مقایسه با مولدهای نر در زمان قبل از تخمریزی در بررسی حاضر روشن می گردد.

از نظر پارامترهای استرس (کورتیزول، گلوکز، لاکتات)، پس از تخمریزی این شاخص ها افزایش یافت که البته معنی دار نبودند. در این بین، گلوکز در مولدهای نر افزایش معنی داری را پس از تخمریزی در مقایسه با قبل از تخمریزی نشان داد که احتمالاً به دلیل تاثیر کتکول آمین ها بر گلیکوژن ذخیره شده در کبد و سایر بافت ها می باشد (۷، ۳۴). زیرا طی شرایط پر استرس نگهداری در محیط اسارت، کتکول آمین ها مستقیماً بر روی کبد اثر گذاشته و گلیکوژنز را تحریک می کنند که نهایتاً به افزایش گلوکز منجر می گردد (۳). در نتیجه چنین مفروض است که عمل تخمریزی برای مولدهای سوف نر استرس زا بوده و آنها به این استرس، از طریق افزایش گلوکز پاسخ داده اند؛ اما در مولدهای سوف ماده عمل تخمریزی چندان استرس زا نبوده و شامل فعالیت ماهیچه ای زیادی نشده و لذا منجر به تغییر معنی داری در آنها نگردیده است. همچنین محتمل است مولدهای سوف ماده به علت تغییرات شرایط فیزیولوژیک از قبیل ورم حفره بدنی ناشی از تخمک های بالغ موجود در تخمدان، قبل از انجام تخمریزی دچار استرس شده اند، چرا که ورم حفره تخمدان می تواند استرس زیادی را در ماده ها ایجاد نماید (۲۵) و آنها از طریق افزایش کورتیزول به این استرس پاسخ می دهند، ولی همانگونه که بیان شد احتمالاً این افزایش قبل از زمان نمونه گیری صورت گرفته و دچار کاهش شده است (۲۵) چرا که مولدهای سوف ماده سطوح کورتیزول به مراتب بالاتری در مقایسه با مولدهای سوف نر در قبل و پس از تخمریزی نشان دادند. از طرفی، بنا بر اظهارات Fagundes و Urbinati (۱۳)، اندازه ماهیان نیز سطوح گلوکز آنها را تحت تاثیر قرار می دهد. بنابراین ویژگی های وابسته به جنسیت و اندازه نیز می تواند این اختلافات را به وضوح روشن سازد.

Archive of SID

www.SID.ir

در تحقیق حاضر، میزان کلسیم پس از تخمریزی تفاوت معنی داری را با قبل از تخمریزی نشان نداد. با این وجود میزان کلسیم در مولدهای نر و ماده پس از تخمریزی در مقایسه با قبل از تخمریزی افزایش یافت. تغییرات کلسیم مولدهای ماده حکایت از تغییرات سطوح ویتلوژنین در گردش خون داشته اما در خصوص علل احتمالی چنین تغییراتی در ماهیان نر اطلاعات زیادی در دست نیست، اگرچه احتمال دارد تغییرات مزبور به دلیل تغییرات کلسیم پیوند شده به پروتئین و یا از دست رفتن مایعات بدن باشد (۶).

در خصوص پارامترهای هماتولوژیک، تعداد گلبول های قرمز مولدهای نر، کاهش معنی داری را پس از تخمریزی در مقایسه با قبل از تخمریزی نشان داد. این در حالی بود که در مولدهای ماده تعداد گلبول های سفید پس از تخمریزی، افزایش معنی داری را در مقایسه با قبل از تخمریزی نشان داد. در این راستا، تحقیقات انجام شده بر روی چند گونه از ماهیان نظیر قزل آلای رنگین کمان، ماهی آزاد چینوک *Oncorhynchus tshawytscha*، ماهی طلایی و قزل آلای قهوه ای *Salmo trutta* نشان داد که تغییرات استرادیول و تستوسترون در طول فصل تخمریزی بر تکثیر لنفوسیت ها و سلول های تولید کننده آنتی بادی اثر می گذارد (۱۹، ۳۳، ۴۱، ۴۵). همچنین محققین اظهار داشته اند عواملی همچون سن، مرحله رسیدگی جنسی، تغذیه و رفتار تولید مثلی می تواند بر شاخص های ایمنی ماهیان مولد تاثیر بگذارد (۴۶) به طوری که وضعیت تولید مثلی می تواند تغییراتی را در شاخص های خونی (هماتوکریت، غلظت هموگلوبین وتعداد گلبول های قرمز) ایجاد نماید (۹). از طرف دیگر، کاهش تعداد گلبول های قرمز می تواند بازتابی از رقیق شدن خون در اثر اتلاف یونی و کاهش اسمولالیتی باشد (۲۷). در نتیجه، وجود تفاوت در مرحله رسیدگی جنسی و عملکرد تولید مثلی موجب تغییر در تعداد گلبول سفید و قرمز در مولدهای نر و ماده می گردد که این تغییرات در ماهی سوف و در تحقیق حاضر نیز ملاحظه گردید.

این بررسی با هدف افزایش اطلاعات در زمینه تغییرات بیولوژیک و فیزیولوژیک مولدهای سوف سفید در مرحله نهایی تکثیر انجام گردید. نتایج به وضوح نشان داد که تغییرات در سطوح استروئیدهای جنسی در قبل و پس از تخمریزی در مقایسه با سایر پارامترهای اندازه گیری شده بیشتر بوده و نقش موثر این عوامل را در مرحله نهایی تولید مثل مولدهای سوف سفید مشخص ساخت. اگرچه بررسی انجام شده در فاصله زمانی مذکور امکان مشاهده تغییرات استروئیدهای جنسی، پارامترهای هماتولوژی و شاخص های استرس را در مولدهای سوف سفید فراهم ساخت، اما جهت درک بهتر و مشخص کردن نقش سایر هورمون ها و شاخص های شیمیایی مرتبط با تکثیر، انجام آزمایشات تکمیلی و بررسی سایر پارامترهای مربوطه و در طول سال منتهی به تخمریزی در دو محیط وحشی و پرورشی لازم به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله لازم می دانیم از همکاری آقایان مهندس ایرج عفت پناه رئیس محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل و سایر پرسنل محترم آن مرکز به ویژه آقای مهندس بهمن مکنت خواه تشکر نماییم. همچنین مراتب تشکر خود را از زحمات آقای مهدی ملکی به دلیل همکاری در آنالیز آزمایشگاهی نمونه ها در آزمایشگاه دکتر فدایی ابراز می کنیم.

منابع

Archive of SID

www.SID.ir

۱- قلی اف، د.ب. ۱۹۹۷. کپور ماهیان و سوف ماهیان حوزه جنوبی و میانی دریای خزر. ساختار جمعیتها، اکولوژی، پراکنش و تدابیر جمعیت بازسازی ذخایر. ترجمه عادل، ی.ی. ۱۳۷۷. مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان، بندرانزلی، ص ۲۴.

2. Acerete, L., Balasch, J.C., Espinosa, E., Josa, A., Tort, L. 2004. Physiological responses in Eurasian Perch *Perca fluviatilis* (L.) subjected to stress by transport and handling. Aquaculture, 237: 167-178.

3. Axelord, J. Reisine, T.D. 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. Scienece, 224: 452-459.

4. Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., de Souza, C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad, J., de Almeida Lacerda, L., Terra, S. 2004. Hematological changes in jundia *Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae* after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects.Aquaculture, 237: 229-236.

5. Barry, T.P., Malison, J.A., Lapp, A.F., Procarione, L.S. 1995. Effects of selected hormones and male cohorts on final oocyte maturation, ovulation, and steroid production in walleye *Stizostedion vitreum.* Aquaculture, 138: 331-347.

6. Bjornsson, B.T., Halldorsson, O., Haux, C., Norberg, B., Brown, C.L. 1998. Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): plasma thyroid hormone and calcium levels. Aquaculture, 166: 117-140.

7. Bracewell, P., Cowx, I.G., Uglow, R.F. 2004. Effects of handling and electrofishing on plasma glucose and whole blood lactate of *Leuciscus cephalus*. Journal of Fish Biology, 64: 65-71.

8. Bromage, N.R., Whitehead, C., Breton, B. 1982. Relationships between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17β, and vitellogenin in the control of ovarian development in the rainbow trout. II. The effects of alterations in environmental photoperiod. General and Comparative Endocrinology, 47: 366-376.

9. Cech, J.J., Wohlschlag D.E. 1982. Seasonal patterns of respiration, gill ventilation, and hematological characteristics in the striped mullet, *Mugil cephalus* (L.). Bulletin of Marine Science, 32: 130-138.

10. Cook, J. 1994. The effects of stress, background colour and steroid hormones on the lymphocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PhD thesis, Sheffield, UK: University of Sheffield.

11. Craig, J.F. 2000. Percid Fishes: systematics, ecology and exploitation. Fish and Aquatic Resources Series, Vol.3. Blackwell Science. 352 p.

12. Dabrowski, K., Ciereszko, R.E., Ciereszko, A., Toth, G.P., Christ, S.A., El-Saidy, D., Ottobre, J.S. 1996. Reproductive physiology of yellow perch (*Perca flavescens*): environmental and endocrinological cues. Journal of Applied Ichthyology, 12: 139-148.

13. Fagundes, M., Urbinati, E.C. 2008. Stress in pintado *Pseudoplatystoma corruscans* during farming procedures. Aquaculture, 276: 112-119.

14. Foo, J.T.W., Lam, T.J. 1993. Retardation of ovarian growth and depression of serum steroid levels in the tilapia (*Oreochromis mossambicus*) by cortisol. Aquaculture, 115: 133-143.

15. Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B., Zohar, Y. 1983 The gonadal steroids. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds), Fish Physiology vol. IXA Academic Press, New York, pp 277-372.

16. Fostier, A., Jalabert, B. 1986. Steroidogenesis in rainbow trout *Salmo gairdneri* at various preovulatory stages: changes in plasma hormone levels and in vivo and in vitro responses of the ovary to salmon gonadotropin. Fish Physiology and Biochemistry, 2: 87-89.

17. Goetz, F.W., Theofan, G. 1979. In vitro stimulation of germinal vesicle breakdown ovulation of yellow perch (*Perca flavescens*) oocytes: Effects of 17α-hydroxy-20β-dihydroprogesteron and prostaglandins. General and Comparative Endocrinology, 37: 273-285.

18. Golovina, N.A. 1996. Morphofunctional Description of Blood in Piscicultural Fishes. Moscow: VNIIPRKh.

19. Hou, Y.Y. 1998. Endocrinological aspects of reduced immunocompetence whit gonadal maturation in rainbow trout. Ph.D. thesis, Tokyo: The University of Tokyo.

20. Kagawa, H., Young, G., Nagahama, Y. 1983. Relationship between seasonal plasma estradiol-17β and testosterone levels and *in vitro* production by ovarian follicles of Amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). Biology of Reproduction, 29: 301-309.

21. Kagawa, H., Young, G., Nagahama, Y. 1984. In vitro estradiol-17b and testosterone production by ovarian follicles of the goldfish, *Carassius*

Archive of SID

www.SID.ir

auratus. General and Comparative Endocrinology, 54: 139-143.

22. Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., Toko, I.I. 2007. Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. Aquaculture, 264: 197-204.

23. King, W.V., Berlinsky, D.L., Sullivan, C.V. 1995. Involvement of gonadal steroids in final oocyte maturation of white perch (*Morone americana*) and white bass (*M. chrysops*): in vivo and in vitro studies. Fish Physiology and Biochemistry, 14: 489-500.

24. Kobayashi, D., Tanaka, M., Fukada, S., Nagahama, Y.S. 1996. Steroidogenesis in the ovarian follicles of the medaka (*Oryzias latipes*) during vitellogenesis and oocyte maturation. Zoological Science, 13: 921-927.

25. Kubokawa, K., Watanabe, T., Yoshioka, M., Iwata, M. 1999. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. Aquaculture, 172: 335-349.

26. Miguad, H., Fontaine, P., Kestemont, P., Wang, N., Brun-Bellut, J. 2004. Influence of photoperiod on the on-set of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture, 241: 561-574.

27. Morgan, J.D., Iwama, G.K. 1997. Measurements of stressed states in the field. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.). Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge, pp 247-268.

28. Muller-Belecke, A., Zienert. S. 2008. Out-of-season spawning of pikeperch *Sander lucioperca* (L.) without the need for hormonal treatments. Aquaculture Research, 39: 1279-1285.

29. Mylonas, C.C., Zohar, Y., Woods III, L.C., Thomas, P., Schulz, R.W. 1998. Hormone profiles of captive striped bass *Morone saxatilis* during spermiation, and long-term enhancement of milt production, Journal of the World Aquaculture Society, 29: 379-392.

30. Nagahama, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. International Journal of Developmental Biology, 38: 217-229.

31. Norris, D.O. 1997. Vertebrate Endocrinology. Academic Press, San Diego, CA. 634 p.

32. Pankhurst, N.W., Carragher, J.F. 1991. Seasonal endocrine cycles in marine teleosts. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds), Reproductive Physiology of Fish 1991. Fish Symposium 91, pp 131-135.

33. Pankhurst, N.W., Van Der Kraak, G., Peter, R.E. 1995. Evidence that the inhibitory effects of stress on reproduction in teleost fish are not mediated by the action of cortisol on ovarian steroidogenesis. General and Comparative Endocrinology, 99: 249-257.

34. Pottinger, T.G. 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnet. Journal of Fish Biology, 53: 728-742.

35. Richter, C.J.J., Eding, E.H., Roem, A.J. 1985. 17α-hydroxyprogesterone-induced breeding of the African catfish, *Clarias gariepinus*, without priming gonadotropin. Aquaculture, 44: 285-293.

36. Rotllant, J., Balm, P.H.M., Perez-Sanchez, J., Wendelaar-Bonga, S.E., Tort, L. 2001. Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.,Teleostei) after handling and confinement stress. General and Comparative Endocrinology, 121: 333-342.

37. Sakai, N., Iwamatsu, T., Yamauchi, K., Suzuki, N., Nagahama, Y. 1988. Influence of follicular development on steroid production in the medaka (*Oryzias latipes*) ovarian follicle in response to exogenous substrates. General and Comparative Endocrinology, 71: 516-523.

38. Santos, A.J.G., Furukawa, K., Kobayashi, M., Bando, K., Aida, K., I. Hanyu, I. 1986. Plasma gonadotropin and steroid hormone profiles during ovulation in the carp *Cyprinus carpio*. Bulletin of Japanese Society of Science and Fisheries, 52: 1159-1166.

39. Shimizu, A., Aida, K., Hanyu, I. 1985. Endocrine profiles during the short reproductive cycle of an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*. General and Comparative Endocrinology, 60: 361-371.

40. Schreck, S.B. 1996. Immunomodulation: endogenous factors. In: Iwama, G., Nakanishi, T. editors. The fish immune system: organism, pathogen and environment, New York: Academic Press, pp 311-337.

41. Slater, C.H., Schreck, C.B. 1993. Testosterone alters the immune response of Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. General and Comparative Endocrinology, 89: 291-298.

42. Stoskopf, M.K. 1993. Clinical Pathology. In: Stoskopf, M.K. (Ed.), Fish Medicine. Saunders, Philadelphia, pp 113-131.

43. Sulistyo, I., Rinchard, J., Fontaine, P., Gardeur, J.N., Capdeville, B., Kestemont, P. 1998.

Archive of SID

www.SID.ir

Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquatic Living Resources, 11: 101-110.

44. Sulistyo, I., Fontaine, P., Rinchard, J., Gardeur, J.N., Migaud, H., Capdeville, B., Kestemont, P. 2000. Reproductive cycle and plasma levels of steroids in male Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquatic Living Resources, 13: 99-106.

45. Suzuki, Y., Otaka, T., Sato, S., Hou, Y.Y., Aida, K. 1997. Reproduction related immunoglobulin changes in rainbow trout. Fish Physiology and Biochemistry, 17: 415-421.

46. Swain, P., Nayak, S.K. 2009. Role of maternally derived immunity in fish. Fish and Shellfish Immunology, 27: 89-99.

47. Truscott, B., Idler, D.R., So, Y.P., Walsh, J.M. 1986. Maturational steroids and gonadotropin in upstream migratory sockeye salmon. General and Comparative Endocrinology, 62: 99-110.

48. Valenzuela, A.E., Silva, V.M., Klempau, A.E. 2008. Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiology and Biochemistry, 34: 159-167.

49. Zakes, Z., Szczepkowski, M. 2004. Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture International, 12: 11-18.

Archive of SID

Biochemical, sex steroids and hematological changes in pikeperch *Sander lucioperca* pre and post spawning

Falahatkar B.[1] and Pourhosein Sarameh S.[2]

[1] Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, I.R. of Iran

[2] Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, I.R. of Iran

Abstract

This study was conducted with the purpose of comparing the changes of sex steroids, hematological parameters and stress indices of pikeperch *Sander lucioperca* in final stage of reproduction. The blood samples were taken from 25 females and 9 males in order to determine stress indices, sex steroids and hematological parameters pre and post spawning of pikeperch. The testosterone in males and progesterone in females showed significant difference before and after spawning. While, estradiol in male and female brooders showed significant difference before spawning. In terms of stress indices (cortisol, lactate, glucose), only glucose in males showed significant different before and after spawning. Regards the hematological parameters, the number of white blood cells (WBC) in females and the number of red blood cells (RBC) in males showed significant different before and after spawning. The obtained results showed that although many measured indices changed during pre and post spawning, main changes was observed in sex steroids levels. These changes in male and female as well as pre and post spawning are due to different physiological and hormonal during the final maturation and spawning.

Keywords: Reproduction, Sex Steroids, Stress Indices, Hematology, pikeperch, *Sander lucioperca*

www.SID.ir