در
امور دام و آبزیان شماره ۷۹ تابستان ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

تغییرات هورمونهای جنسی در طی مراحل رشد تخمدان ماهی *Epinephelus coioides* در خلیج فارس

• **فاطمه عباسی**
گروه زیست شناسی دانشگاه الزهرا
• **شهربانو عریان**
گروه زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم
• **عباس متین‌فر**
موسسه تحقیقات شیلات ایران
تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۶
Email: fabbassi_2000@yahoo.com

چکیده

ماهی‌هامور معمولی با نام علمی *Epinephelus coioides* یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان از نظر اقتصادی درآبهای خلیج فارس بوده و ارزش غذایی آن نیز حائز اهمیت است، لذا کسب اطلاع در خصوص بیولوژی تولید مثل این ماهی ضروری است. در این پژوهش ۲۴۵ قطعه ماهی هامور معمولی در طول ۱۷ ماه نمونه برداری از اردیبهشت ۸۰ لغایت شهریور ۸۱ در منطقه خوزستان مورد بررسی قرار گرفت. پس از صید ماهی هامور معمولی، ابتدا از ماهیان خونگیری به عمل آمده و پس از تهیه سرم از طریق روش RIA میزان هورمونهای استروئیدی اندازه گیری گردید. سپس بخشی از بافت گناد آن برداشته شده و مراحل مختلف رشد گنادها از طریق روش‌های بافت شناسی و میکروسکوپ نوری بررسی شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که غلظت هورمون‌های استروئیدی با رشد تخمدان مرتبط است به طوریکه غلظت هورمون۱۷- بتا استرادیول در ماه‌های فروردین و اردیبهشت به حداکثر میزان خود یعنی ng/ml ۱/۴۸۲ رسیدکه این افزایش غلظت با پیک GSI در ماه اردیبهشت همراه بوده است. میزان تستوسترون نیز در طول مراحل ویتلوژنز و بلوغ تخمک به حداکثر خود یعنی ng/ml ۱/۰۴۵ رسید. غلظت BP ۲۰-۱۷ به طور معنی داری در زمان بلوغ نهایی اووسیت افزایش یافت. بر طبق نتایج این تحقیق ،مشخص گردید که همزمان با رشدتخمدان میزان هورمونهای استروئیدی در ماهی‌هامور معمولی افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی : ماهی‌هامور معمولی، رشد گناد،۱۷- بتا استرادیول ، تستوسترون، BP.۲۰-۱۷

Pajouhesh & Sazandegi No 79 pp: 72-80

Interaction of ovarian development and gondal hormons in *Epinephelus coioides* of Presian Gulf

By: F, Abbassi, Dep. Bio,Alzahra Univ., Vanak, Tehran, Iran. S.Oryan, Dep. Bio., Teacher Training Univ., Tehran, Iran, A.Matinfar. Fisheries Research Organization, Tehran, Iran.

Epinephelus coioides (family Serranidae) is a protogynous fish. This species is one of the most important fishes in food chain of marine proteins of Persian Gulf. In this study, Monthly samples of *Epinephelus coioides* were examined during 17 months from may 2001 to September 2002 in Persian Gulf. Blood samples and oocytes at all stages of development were taken from this species. The hormones have assayed and also different stages of gonadal maturation. from the histological point of view were studied by light microscope. The results indicated that changes in serum levels of gonadal estradiol were correlated with ovarian development. Serum 17 β estradiol concentration increased in April and reached their highest levels (1.482 ng/ml. p<0.01) in ripe females. whose gonads contained both cortical alveoli and vitellogenic oocytes during the spawning season. 17β estradiol level was also correlated with gonadosomatic index(GSI). and the peak of GSI occurred in May. Testosterone peaked in female during vitellogenesis and maturation (1.045 ng/ml. p<0.01). Plasma concentration of 17- 20*B*P were significantly elevated in female with ovaries undergoing final oocyte maturation (FOM) and to have high potency to induce maturation. Regarding to the results of this research, it seems that the period of spawning in *Epinephelus coioides* is in May – June and the aquaculture procedure of this species could be performed in the above mentioned periods.

Keywords: *Epinephelus coioides*, Gonad of development, 17β–E2, Testosterone

مقدمه

با دست یافتن به یافته‌های علمی‌در دهه‌های اخیر دانش شناخت غدد درون ریز با تغییرات اساسی وارد مرحله نوینی شده است به طوریکه امروزه به منظور کنترل تولید مثل و توسعه روند تکثیر و پرورش آبزیان علم آندوکرینولوژی ماهیان از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار شده و کنترل هورمونی به عنوان یک ابزار کار آمد در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار می‌رود. مطالعات نشان داده که نوسانات سالانه هورمونها در ماهیان مرتبط با سیکل‌های تولید مثلی، تغذیه‌ای و رشد درآنهاست (۱۶).

در ماهیان استخوانی ویتلوژنز و بلوغ نهایی اووسیت‌ها بوسیله گنادوتروپین‌ها و از طریق استروئیدها تنظیم می‌شود. ۱۷- بتا استرادیول (E۲) باعث تحریک سنتز و ترشح ویتلوژنین در کبد و تجمع آن در اووسیت‌ها می‌شود. در تعدادی از ماهیان آب شیرین مانند ماهی آزاد ،گربه ماهی و کپور معمولی ارتباط بین تغییرات سطوح پلاسمای استروئیدهای گنادی و رشد اووسیت‌ها به خوبی ثابت شده است.

تغییر در سطوح E۲ با رشد اووسیت‌ها در تخمدان و افزایش GSI ارتباط دارد. در گونه‌های مختلف سطوح E۲ با فعالیت ویتلوژنیک افزایش می‌یابد و در سومین مرحله زرده سازی به بیشترین حد خود می‌رسد (۱۳).

حبیبی در سال ۱۳۸۱ ارتباط بین هورمونهای گنادوتروپینی واستروئیدی را با مراحل رسیدگی تخمک، ویتلوژنز،اوولاسیون و تخم ریزی به این صورت بیان نمود که در مرحله ویتلوژنز میزان استرادیول در مرحله مهاجرت Germinal Vesicle (GV) به قطب حیوانی، میزان تستوسترون (T)، پروژسترون BP ۲۰-۱۷ قبل از مرحله اوولاسیون به بالاترین سطوح خود در خون ماهی می‌رسند (۲).

هورمونهای استروئیدی اثرات معنی‌داری روی رشد گنادها دارند. در این ارتباط E۲، T و ۱۱ کتوتستوسترون بیشترین اثر را دارند.

با ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان دریایی گونه‌های متعلق به خانواده هامور ماهیان می‌باشد. هامور ماهیان به سبب گوشت لذیذ شان در بسیاری از کشورها طرفداران زیادی دارند. درآبهای جنوبی ایران (خلیج فارس ودریای عمان) نیز تعدادی گونه ازماهیان این خانواده وجود داشته که از ماهیان ممتاز شیلاتی محسوب می‌شوند.

هامور ماهیان متعلق به خانواده Serranidae می‌باشند که ماهیان هرمافرودیت پروتوژینوس را تشکیل می‌دهند، بدین معنی که ماهی در طول سیکل زندگی خود تغییر جنسیت داده و از فرم ماده به ماهی نر تبدیل می‌شود. این امر سبب بروز پاره‌ای مشکلات در تهیه مولدین و تکثیراین گونه ماهیان می‌گردد(۴).

گر چه اطلاعات کمی درباره نقش هورمون‌های جنسی در ماهیان دوجنسی و کنترل جنسی ماهیان هرمافرودیت وجود دارد. ولی از آنجائی که کنترل هورمونی به عنوان یک ابزار کارآمد در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار می‌رود و شناخت فیزیولوژی تولید مثل این گونه نقش مهمی‌در تکثیر و پرورش ماهی دارد و با توجه به اینکه تاکنون نقش هورمونهای استروئیدی و ارتباط آنها با بافت شناسی گنادها در ماهی‌هامور معمولی *Epinephelus coioides* در آبهای خلیج فارس بررسی نشده است، لذا هدف این تحقیق بدست آوردن الگوی تولید مثلی مراحل مختلف رشد گناد و به دنبال آن تغییرات هورمون‌های۱۷- بتا استرادیول ،۱۷-۲۰ BP و ۱۱ کتوتستوسترون در طی روند بلوغ و تخم ریزی و همچنین ارتباط آنها با یکدیگر در ماهی‌هامور معمولی می‌باشد.

روش کار

صید و نمونه برداری در منطقه بحرکان سواحل استان خوزستان در مدار ′۲۹ °۴ و ′۳۰ °۰۷ عرض شمالی و ′۴۸ °۴۵ و ′۴۹ °۵۰ طول شرقی انجام گرفته است.

با توجه به اینکه زیستگاه ماهی هامور معمولی بسترهای شنی و صخره‌ای است، بنابراین، این منطقه یکی از مناطق مهم صید این گونه می‌باشد. نمونه برداری در این منطقه در اعماق ۱۵-۸ متری به صورت ماهانه و تصادفی با استفاده از لنج‌های مجهز به گرگور انجام گرفت.

در تحقیق حاضر نمونه‌برداری بطور ماهانه از اردیبهشت ماه ۱۳۸۰ لغایت شهریور ۱۳۸۱ به مدت هفده ماه برای تهیه تخمدان و از شهریور ماه ۱۳۸۰ لغایت شهریور ۱۳۸۱ به مدت دوازده ماه برای تهیه خون ماهی انجام شد و به طور میانگین هر ماه ۱۴ ماهی و تعداد کل ۲۴۵ قطعه ماهی (حداکثر طول آن ۱۰۵ و حداقل طول ۲۸) مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌های زنده بلافاصله پس از ورود به عرشهٔ پنج مورد خونگیری قرار می‌گرفتند.

عملیات خونگیری از سیاهرگ دمی (۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر) و از پشت باله مخرجی ماهیان صورت می‌گرفت. در هر مرحله از خونگیری با استفاده از سرنگ مقداری خون از ماهی دریافت و بلافاصله با استفاده از سانتریفوژ دستی سرم آن تهیه و در داخل یخ نگهداری می‌شد و سپس به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد جهت آنالیز هورمونی نگهداری می‌شدند.

در هر ماه نمونه برداری از بخش‌های مختلف تخمدان جهت بدست آوردن مراحل مختلف رسیدگی جنسی ماهی صورت می‌گرفت.

تعیین میزان هورمونهای جنسی

مطالعه مقادیر هورمونهای استروئیدی ماهیان پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط به روش RIA و با استفاده از دستگاه گاماکانتر تمام اتوماتیک LKB و توسط کیت‌های هورمونی امکان‌پذیر شد (۹). اندازه‌گیری مقادیر هورمون ۱۷-بتا استرادیول با استفاده از کیت هورمونی DSL-۴۳۰۰ هورمون پروژسترون با استفاده از کیت هورمونی Diasorin s.r. و مقادیر هورمون تستوسترون با استفاده از کیت هورمونی DSL-۴۰۰۰ انجام شد

تعیین مراحل جنسی در سطح میکروسکوپی

برای تعیین مراحل جنسی در سطح میکروسکوپ نوری، ابتدا بخش‌های مختلف گنادی در محلول بوئن به مدت ۱۸ ساعت و یا فرمالین بافر نگهداری و سپس نمونه برای مراحل مختلف آبگیری از بافت، فیکس کردن آن در پارافین، رنگ زدایی و شفاف کردن نمونه در داخل دستگاه Processor Tissue قرار گرفت. در مرحله بعد قالب گیری نمونه‌ها و تهیه بلوک‌های پارافینی صورت گرفت و پس از اصلاح کردن بلوکها با Triming ، با استفاده از میکروتوم (Shanghai Vl۳-A Rotary microtom)، برش‌های بین ۵ تا ۷ میکرون تهیه شده و روی لام‌های چسب زده شده (چسب‌هاپت) قرار گرفتند و پس از حذف پارافین و آبگیری بافت، توسط هماتوکسیلین ائوزین (روش Hariss) رنگ آمیزی شدند و در نهایت اسلایدها فیکس گردیدند (۱۱). رسیدگی جنسی تخمدان در شش مرحله بررسی شد.

جهت مطالعه نتایج حاصل از آزمایشات انجام شده از روش‌های آماری زیر استفاده گردید:

۱ـ به منظور بررسی و به دست آوردن اقلام آماری (حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار، واریانس، خطای معیار میانگین، آنالیز واریانس) مربوط به مطالعات هورمونی، پارامترهای بیومتریک از نرم افزار SPSS و ANOVA استفاده شد ($p<0/05$). مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف میانگینها بوده است.

۲ـ جهت مطالعات هورمونی از آزمون دانکن (Dancan) به دنبال آنالیز واریانس استفاده گردید. این آزمون مقایسه میزان هورمونها و عوامل دیگر را در ماه‌های مختلف به معنی دار بودن اختلاف بین ماه‌ها و یا همسان بودن آنها در طی ماه‌های مختلف، بیان می‌کند.

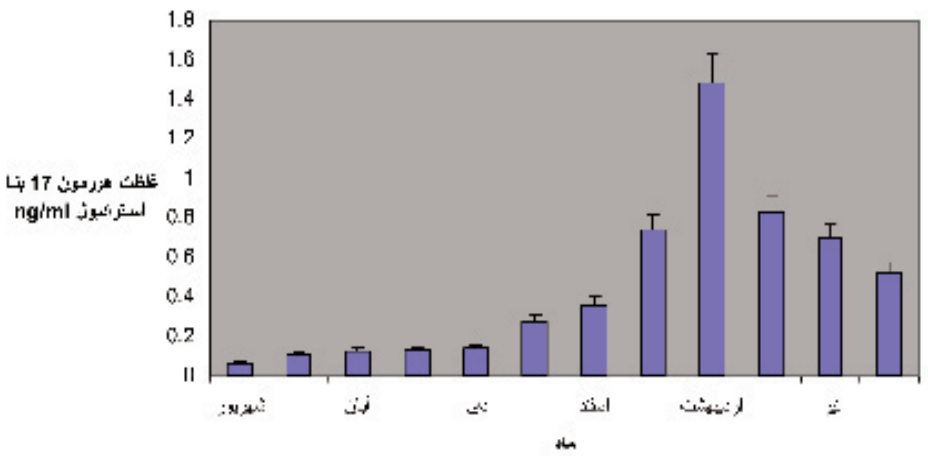
نتایج

مطالعات هورمونی

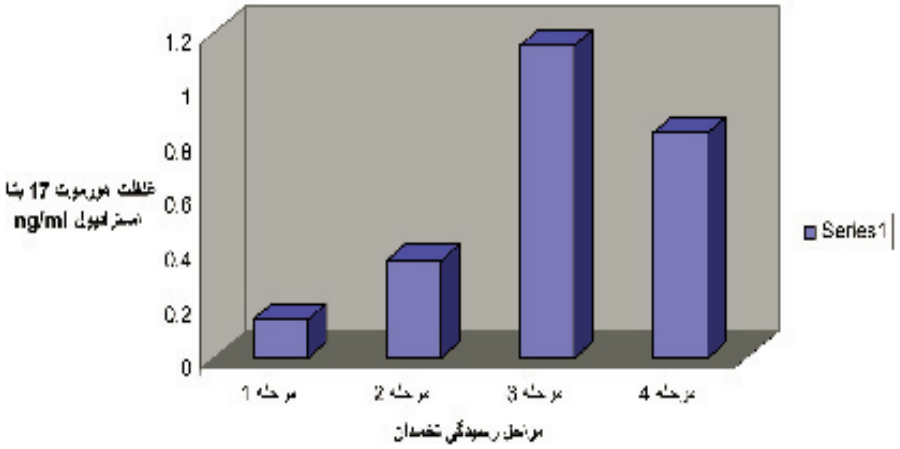
اندازه گیری هورمونهای استروئیدی در طول ۱۲ ماه و تعیین مراحل جنسی در ۱۷ ماه صورت گرفت و در ماه مرداد با توجه به شرایط یکسان صیدی به دست نیامد.

تغییرات هورمونهای استروئیدی: ۱۷- بتا استرادیول

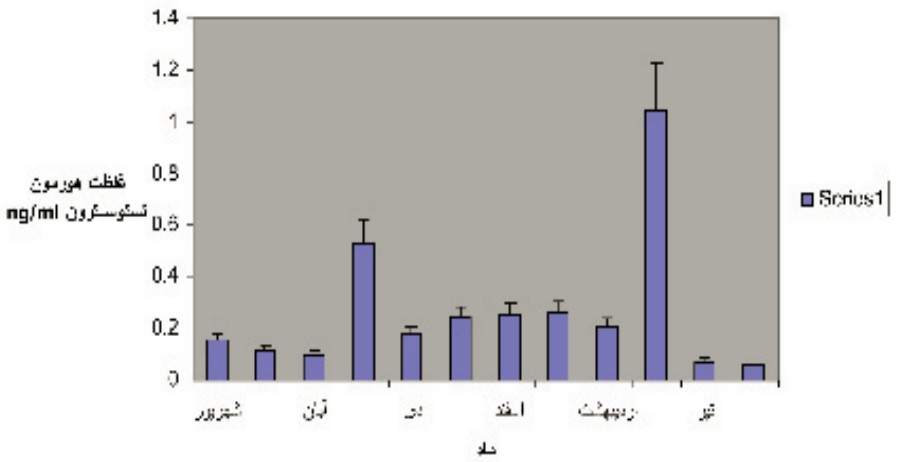
مطالعه غلظت سرمی‌استرادیول نشان دهنده افزایش این هورمون در زمان ویتلوژنز می‌باشد. افزایش قابل توجه استرادیول از اسفند شروع شده و پیک آن در اوایل ماه اردیبهشت ۱/۴۸۲ ng/ml قبل از تخم‌ریزی دیده



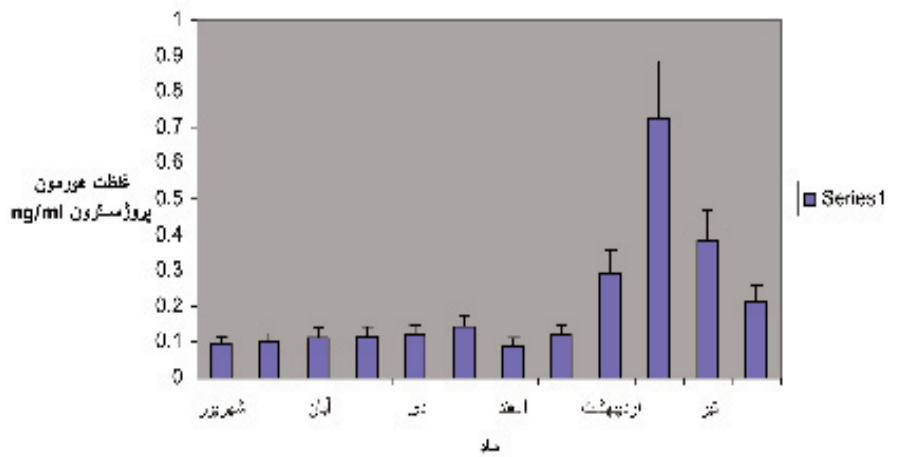
نمودار ۱: تغییرات ماهانه هورمون ۱۷- بتا استرادیول (ng/ml) در طی شهریور ۸۰ الی شهریور ۸۱ در گونه *E. coioides*



نمودار ۲: تغییرات هورمون۱۷- بتا استرادیول در طی مراحل مختلف جنسی در گونه *E. coioides* افزایش معنی‌دار سطح E_2 از مرحله I جنسی به مرحله II جنسی به هنگام بلوغ مشاهده می‌شود. ($P<0.01$)



نمودار۳: نوسانات ماهانه هورمون تستوسترون در طی شهریور ۸۰ تا شهریور ۸۱ در گونه *E. coioides* (SE)



نمودار ۴: نوسانات میزان پروژسترون در طی ماه‌های نمونه‌برداری در گونه *E. coioides*

می‌شود. میزان سطوح پلاسمایی استرادیول در طول سال و نیز پیک آن در ماه اردیبهشت بیانگر وقوع یکبار تخمریزی در سال است (نمودار ۱ و ۲).

تستوسترون: نتایج حاصل از سنجش تستوسترون بیانگر این است که در ماه خرداد میزان آن در حداکثر یعنی ۱/۰۴۵ ng/ml می‌باشد. به طور کلی میزان تستوسترون در طول مراحل ویتلوژنز و یا Final Oocyte Maturation (FOM) به بالاترین سطح خود می‌رسد. (نمودار ۳)

پروژسترون: میزان پروژسترون در ماه اردیبهشت و خرداد در حداکثر ۰/۲۹۳-۰/۷۲۵ ng/ml بوده است و در دیگر ماه‌های سال کاهش می‌یابد (نمودار ۴). افزایش قابل ملاحظه پروژسترون از مرحله جنسی ۲ به بعد تا مرحله FOM (در ماه خرداد) قابل مشاهده است ($p<0/01$). تغییرات بافت‌شناسی تخمدان ماهی E. coioides لولهای فولیکولی بتدریج در اطراف تخمکهای رشد یافته دیده می‌شوند (تصویر ۲).

مراحل رشد تخمدان (اووژنز) بر مبنای مطالعات میکروسکوپی

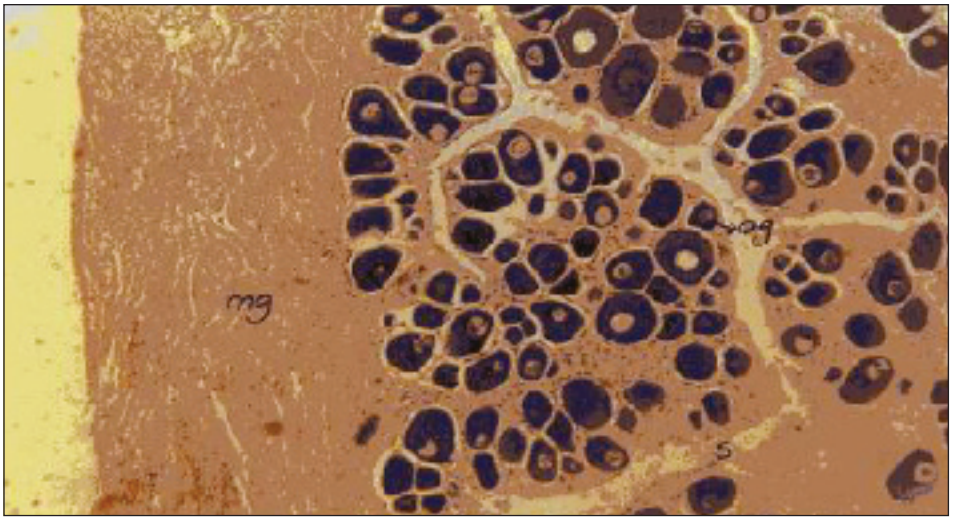
در این تحقیق با مطالعه میکروسکوپی، برشهای تخمدانی ماهی *E. coioides* و رشد و نمو تخمدان آن طی مراحل مختلف جنسی مورد بررسی قرار گرفت. اووژنز در ۶ مرحله زیر بدست آمد،

مرحله I جنسی: Immature Female

چین خوردگی های تخمدان بسیار زیاد بوده، اووگونی‌ها عمدتاً کوچک و چند ضلعی بوده و دارای یک هسته بزرگ و کروی می‌باشند. هسته دارای یک هستک و کروماتین هستند. (تصویر۱) اووگونیا بیشتردر تخمدان‌های نابالغ دیده می‌شود. سیتوپلاسم تخمک در این مرحله به شدت بازوفیلی است و طی رنگ آمیزی با هماتوکسیلین ائوزین رنگ بنفش به خود می‌گیرد. اووگونیا به صورت گروهی و در ارتباط با غشاء لاملا دیده می‌شوند.

مرحله II جنسی F۱ - Resting Female

دارای دو مرحله رشد است:مرحله ابتدایی رشد، سلولها دارای سیتوپلاسم بازوفیلی،



تصویر ۱: مرحله I جنسی تخمدان ماهی‌هامور معمولی : اووگونیهای کوچک و چند ضلعی (og) بافت عضلانی (mg) و استرومای تخمدان (s) قابل مشاهده است (۱۰۰۰X)

یک هسته بزرگ و یک هستک می‌باشند. در مرحله انتهایی رشد: میزان سیتوپلاسم سلولها افزایش یافته و اووسیت از نظر اندازه زیاد شده و هسته دارای هستک‌های متعددی است که در یک ردیف منظم در دیواره داخلی هسته قرار دارد.

مرحله جنسی III و ۲ Developing Female F

اووسیت‌ها در مراحل ابتدایی ویتلوژنز هستند، که از طریق افزایش تعداد ذرات ویتلین در سیتوپلاسم قابل مشاهده است. قطر اووسیت‌ها افزایش یافته سیتوپلاسم شامل وزیکولهای زرده‌ای و لایه سلول‌های فولیکولی است. تعداد و اندازه ذرات و حفرات درون سیتوپلاسم تخمکهای بزرگ افزایش یافته است. در مراحل ابتدایی این مرحله ذرات کورتیکال در دیواره داخلی غشاء سلول دیده می‌شود، اما در مراحل انتهایی بدلیل وجود ذرات ویتلین قابل مشاهده نیستند. قطر هسته افزایش یافته و دارای هستکهای زیاد و کروموزوم می‌باشد (تصویر۳)

مرحله جنسی IV،و ۳ Maturing Female F

در این مرحله تمامی مراحل رشد و نمو اووسیت‌ها قابل مشاهده است. تعداد دانه‌های زرده‌ای بشدت افزایش یافته و تشکیل توده‌های بزرگتر زرده‌ای را می‌دهند. حفرات که محل ذخیره ذرات چربی هستند در سیتوپلاسم به تعداد زیاد دیده می‌شوند. هسته به قطب حیوانی مهاجرت می‌کند و غشاء هسته به تدریج محو می‌شود، و هستکها قابل مشاهده هستند. منطقه رادیاتا یک لایه ضخیم را در این مرحله تشکیل می‌دهد. در این مرحله اووسیت‌ها شروع به آبگیری می‌نمایند و قطر آنها افزایش یافته و سلولهای فولیکولی اطراف آن از تخمک فاصله می‌گیرند (تصاویر ۴، ۵، ۶).

مرحله Spawning V: در این مرحله تخم ریزی صورت گرفت. مرحله VI : در این مرحله تخمدان دارای دو گروه سلولی یک گروه کوچک نابالغ و دیگری گروه بسیار بزرگتر می‌باشد که تخمکهای آن دارای دیواره‌های چند ضلعی می‌باشند و بسیاری آتروفیه شده‌اند. اووسیت‌های آتروفیه دارای چروکیدگی بوده و واکوئلهای زرده‌ای و ذرات چربی با یکدیگر تداخل یافته و دیواره سلولی تخریب گردیده است. (تصویر ۷)

بحث

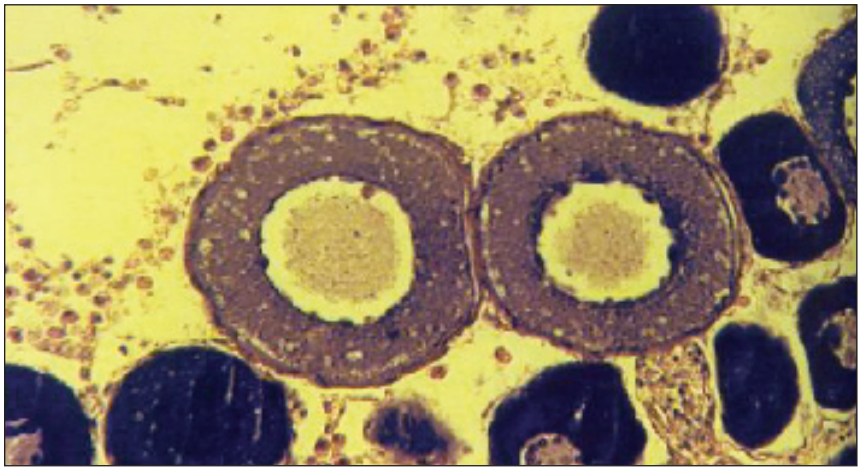
با توجه به فرضیات و اهداف پیش بینی شده در تحقیق و انجام آزمایشات مورد لزوم، بررسی نتایج آزمایشات و تجزیه و تحلیل آنها مورد بحث قرار می‌گیرد.

تغییرات هورمونی و بافت شناسی در رابطه با تولید مثل هورمون‌های استروئیدی: در ماهیان استخوانی رشد و رسیدگی اووسیت‌ها شامل مراحل مختلفی است که این مراحل تحت کنترل هورمونهای مختلفی از جمله هورمون‌های گنادوتروپین، پروژسترون، تستوسترون و استرادیول می‌باشند (۱۳). در طول رشد و نمو اووسیت‌ها، هورمونهای گنادوتروپینی باعث تحریک تخمدان و سپس تولید هورمون ۱۷ بتا استرادیول می‌شوند و تستوسترون نیز خود بعنوان پیش ساز استرادیول مطرح می‌باشد (۱۲) .

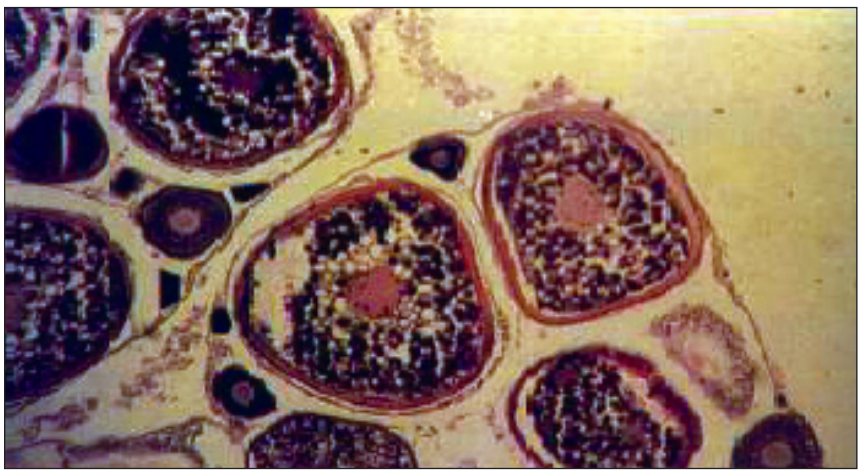
تغییرات سطوح E ۲ با رشد اووسیت‌ها و افزایش GSI مرتبط است. در ماهی‌ها، میزان استرادیول با شروع فعالیت ویتلوژنیک اووسیت‌ها افزایش میابد و در مرحله سوم رشد اووسیت‌ها (زرده سازی) به بالاترین سطح خود می‌رسد و در مرحله Post vitellognic و آترتیک تخمدان‌ها، شروع به کاهش می‌نماید (۱۳) همزمان با افزایش میزان استرادیول در طول مرحله ویتلوژنز، مقدار تستوسترون نیز افزایش میابد و در مرحله ویتلوژنز هر دو هورمون T و E ۲ به حداکثر میزان خود می‌رسند.

در پژوهش حاضر نتایج حاصل از مطالعات هورمونی حاکی از افزایش معنی‌داربودن هورمون استرادیول در ماه‌های فروردین و اردیبهشت و کاهش آن در طول سایر ماه‌های سال می‌باشد. (نمودار ۱) بطوریکه حداکثر میزان هورمون فوق الذکر در زمان قبل از بلوغ نهایی اووسیت‌ها و تخمریزی آن است.

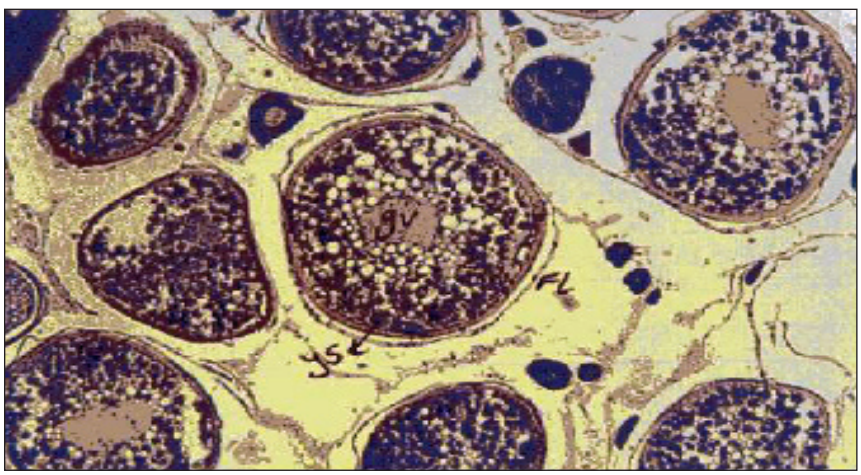
مطالعه حاضر بیانگر نقش استروژونها در عملکرد تولید مثلی ماهی‌هامور معمولی است. در ماهیان ماده در زمان قبل از تخم‌ریزی میزان هورمون ۱۷



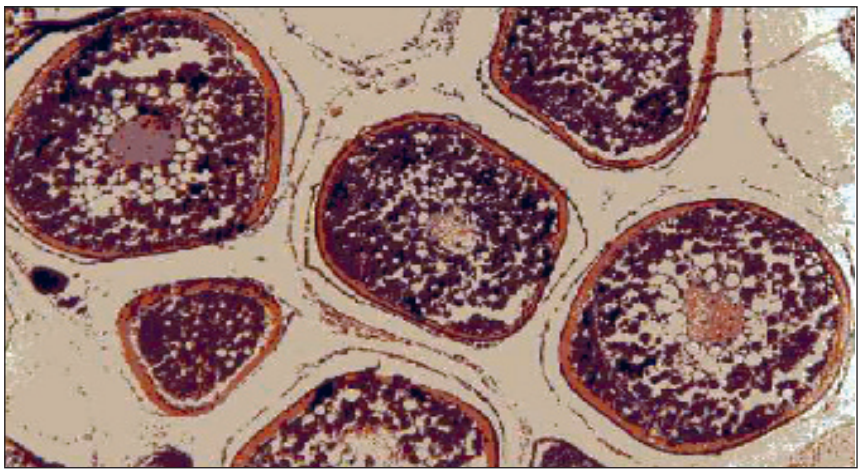
تصویر ۲: مرحله II جنسی تخمدان ماهی‌هامور معمولی :
اووسیت‌ها دارای هسته بزرگ(n) و هستک‌های زیاد (nu) (۱۰۰۰×)



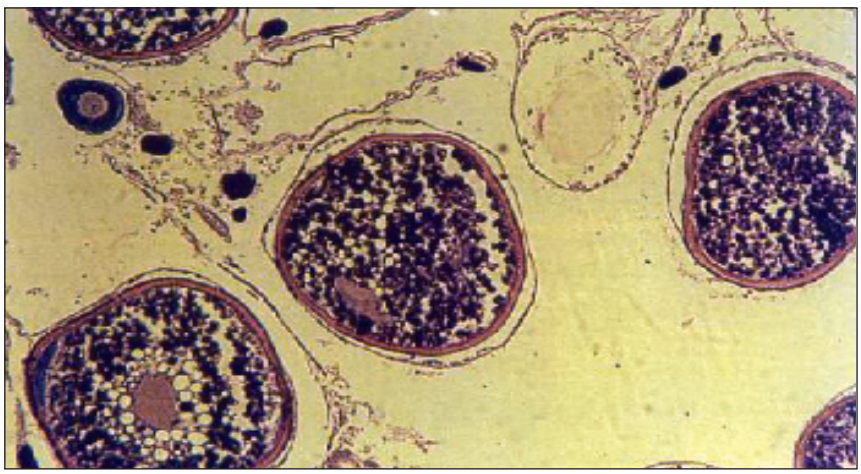
تصویر ۳: مرحله III جنسی یا شروع مرحله ویتلوژنز VG : وزیکولهای زرده و قطرات کوچک چربی در اطراف
وزیکول زاینده در تخمدان ماهی‌هامور معمولی مشاهده می‌شود (X ۱۰۰۰)



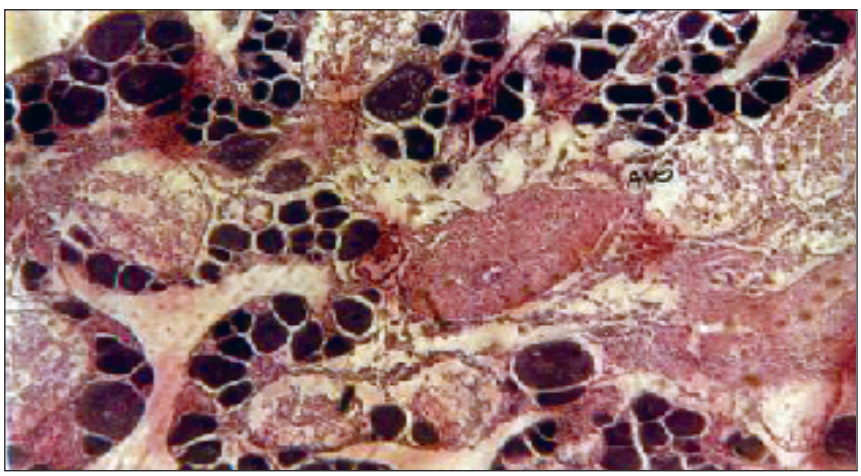
تصویر۴: اووسیت کاملاً رشد کرده (بعد از تشکیل زرده) قبل از شروع مهاجرت وزیکول زاینده (gv)
در مرکزاووسیت که توسط ذرات زرده (ys) و قطرات کوچک چربی (Fl: Lv) :لایه فولیکولی احاطه شده است. (X ۱۰۰۰)



تصویر ۵: اووسیت ماهی‌هامور معمولی در ابتدای بلوغ. وزیکول زاینده مهاجرت خود را به سمت قطب حیوانی شروع نموده و قطرات کوچک چربی به صورت قطرهای بزرگ در وسط اووسیت به هم پیوسته اند. نفوذ آب به مقدار کم که سبب افزایش اندازه اووسیت شده است مشاهده می‌گردد و سلولهای فولیکولی اطراف در آن فاصله می‌گیرند mn : اووسیت با مهاجرت هسته (۱۰۰۰×)



تصویر ۶: وزیکول زاینده مهاجرت خود را به طرف قطب حیوانی در اووسیت بالغ تخمک ماهی‌هامور معمولی کامل می‌کند. دانه‌های کوچک تیره، قطرات زرده هستند. واکوئلهای بزرگتر خالی قطرات ریز چربی هستند. (۱۰۰۰×)



تصویر ۷ : تخمدان ماهی‌هامور معمولی که شامل اووسیت‌های طبیعی و آتروفیه شده است.Avo: اووسیت‌های آتروفیه شده (۱۰۰۰×)

بتا استرادیول افزایش و در اوایل دوران تخم‌ریزی میزان آن کاهش می‌یابد و میزان آن در طی مراحل بلوغ جنسی اختلاف معنی‌داری دارد (نمودار ۲)

امروزه اهمیت استروژنهای تخمدان در تنظیم ویتلوژنز در بسیاری از گونه‌های گونوکوریست به اثبات رسیده است. همچنین افزایش استرادیول در هر دو مرحله کورتیکال آلوئولها (مرحله دوجنسی) و ویتلوژنز(مرحله سه جنسی) اووسیت‌ها در ماهیان پروتوژینوس و سپس کاهش آن در زمان تخمریزی قابل مشاهده است.

با توجه به اینکه مراحل رسیدگی در ماهی *E. coioides* بسیار سریع بوده و تخمدان در طول ماه‌های سال به جز ۴ ماه در حال استراحت است، میزان استرادیول در اسفندماه از ۰/۳۶۰ ng/ml به ۰/۶۴۰ ng/ml و در فروردین و اردیبهشت به ۱/۴۸۲ ng/ml می‌رسد و افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد، که این نشان دهنده انجام مراحل کورتیکال آلوئول(مرحله دوجنسی) و ویتلوژنز(مرحله سه جنسی) در ماهی فوق الذکر بوده است. این نتایج با مطالعات Johnson و همکاران وی در سال ۱۹۹۸ مشابهت تام دارد.وی گزارش نمود که بیشترین میزان E2 در مرحله کورتیکال آلوئول و ویتلوژنز مشاهده شده است (۱۱).

نتایج به دست آمده از تحقیق فوق نشان دهنده ارتباط بین میزان هورمون تستوسترون با هورمون استرادیول است. در ماه‌های اسفند و فروردین که میزان هورمون استرادیول افزایش می‌یابد، هورمون تستوسترون نیز از ۰/۲۵۵ ng/ml به ۰/۲۶۰ ng/ml افزایش مییابد. در حالیکه در ماه خرداد که اووسیت‌ها در مرحله بلوغ نهایی هستند، میزان استرادیول کاهش یافته ولی میزان تستوسترون به ۱/۰۴۵ ng/ml می‌رسد (نمودارهای۳ و ۴). عریان و همکاران در سال ۱۳۷۷ در ماهی یال اسبی کاهش هورمون E 2 و پروژسترون را در مرحله IV گزارش کردند (۵). Johnson و همکاران وی نیز در سال ۱۹۹۸ مشابه نتایج فوق گزارش نمودند که میزان تستوسترون بعد از مرحله ویتلوژنز در مرحله بلوغ جنسی به حداکثر میزان خود می‌رسد (۱۱).

در این مطالعه افزایش میزان هورمون استرادیول قبل از تخمک گذاری است، که نشان دهنده این موضوع است که تغییرات هورمون استرادیول تابع نوسانات GTH-II می‌باشد و در مراحل ابتدایی بلوغ نهایی اووسیت‌ها، همزمان با افزایش GTH-II ، میزان هورمون‌های استرادیول و تستوسترون نیز افزایش مییابد و در مراحل پایانی بلوغ نهایی اووسیت(مرحله چهارجنسی) میزان هورمون استرادیول کاهش می‌یابد، که با تحقیقات انجام شده توسط Poortenaar و همکارانش در سال ۲۰۰۱ روی (seriola king fish) Lalandi Lalandi ، و مطالعات Lee در سال ۲۰۰۲ روی ماهی sea bass (*Lateolabrax maculates*) منطبق است (۱۳، ۱۷).

کاهش میزان هورمونهای استروئیدی با کاهش فعالیت آروماتیزه شدن تخمدان و کاهش میزان هورمون GTH-Ii مرتبط است. این کاهش در نتیجه چندین فاکتور صورت میگیرد . ۱ـ کاهش قدرت تبدیل هورمون تستوسترون به استرادیول (آروماتیزه شدن) ۲ـ محدودیت غلظت هورمون تستوسترون. کاهش غلظت استرادیول همراه با کاهش غلظت تستوسترون است و استرادیول میتواند میزان هورمون تستوسترون را کم و یا بی‌اثر نماید (۱۲).

در طی تحقیقات بعمل آمده مدلی بنام مدل دو سلولی جهت تولید E 2 شناخته شده است، که در این مدل لایه سلولی تکا تحت تأثیر گنادوتروپینها ترشح آندروژنها و احتمالاً تستوسترون را آغاز کرده که به لایه سلولی گرانولوزا نفوذ نموده و در آنجا آروماتیزه شده و تبدیل به E 2 می‌شود.در بعضی از گونه‌ها فقط سلولهای گرانولوزا در این عمل دخالت دارند. گنادوتروپین با تأثیر بر این سلولها، تولید آندروژنها را تسهیل نموده و در عین حال باعث افزایش سریع هورمون ۱۷ بتا استرادیول می‌شود. استرادیول نیز با تأثیر بر سلولهای کبدی باعث افزایش سنتز ویتلوژنین می‌شود. اثر E 2 بر ویتلوژنز از طریق تأثیر بر گیرنده در سطح سیتوزول و افزایش فعالیت پروتئین سازی میسر می‌باشد. همچنین افزایش فعالیت ATP به استرادیول نسبت داده شده است. در مراحل پایانی FOM (مرحله چهارجنسی) سلولهای فولیکولی در پاسخ به افزایش سطح GTH-II ، تولید E 2 و T را کاهش داده و باعث سنتز و ترشح هورمون استروئیدی C 21 (هورمون القاء کننده FOM)می‌شوند (۶).

رشد اووسیت‌ها وابسته به جذب گلیکولیپوفسفوپروتئین یا ویتلوژنین است که پیش ساز زرده می‌باشد. ویتلوژنین در پاسخ به هورمون ۱۷ بتا استرادیول در کبد سنتز می‌گردد. ویتلوژنین پس از اینکه از هپاتوسیت‌ها به جریان خون ترشح شد از طریق لایه‌های فولیکولی که اووسیت‌ها را احاطه نموده‌اند عبور نموده و با تمایل بالا به رسپتورهای ویتلوژنینی در سطح اووسیت‌ها بایند گردیده و از طریق پدیده آندوسیتوز به داخل سلول راه می‌یابد. مشاهده شده است که همزمان با افزایش فولیکولها از نظر قطر، جذب ویتلوژنین نیز افزایش می‌یابد (۹).

در پژوهش حاضر پروژسترون نیز نوسانات ماهانه معنی‌داری را بویژه در زمان تخمریزی نشان می‌دهد. میزان این هورمون در ماه‌های اردیبهشت و خرداد افزایش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به ماه‌های دیگر سال دارد، و از ۰/۱۲۱ mg/ml در فروردین ماه به ۰/۷۲۵ mg/ml در ماه خرداد می‌رسد، (نمودار ۴) که این امر نیز در سایر ماهیان گزارش شده است. poortenaar و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش نمودند که غلظت پروژسترون در ماهی lalandi *S. lalandi* در مراحل پایانی FOM(مرحله چهارجنسی) و در ماهی *S. quinqueradiata* در زمان بلوغ اووسیت‌ها و FOM افزایش مییابد، که این امر مشابه نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است.

در تعدادی از ماهیان استخوانی هورمون ۱۷,۲۰BP به عنوان یک هورمون استروئیدی القاء کننده بلوغ اووسیت‌ها (MIS) Maturation - inducing steroid در مرحله post vitellgenes شناخته شده است (۱۱).

در مطالعه حاضر میزان این هورمون در زمان ویتلوژنز کم و در زمان FOM و تخمک گذاری که اووسیت‌ها در مراحل نهایی بلوغ هستند، زیاد می‌باشد.

هورمون پروژسترون و مشتقات آن از طریق اثر گنادوتروپین‌ها روی سلول‌های فولیکولی تخمدان سنتز می‌شوند و با تأثیر بر بلوغ اووسیت‌ها عمل خود را نشان می‌دهند.

به طور کلی، در این تحقیق از آنجائی که تولید استروئیدهای جنسی و رشد و نمو غدد جنسی در ارتباط مستقیم با میزان سنتز و غلظت هورمون‌های گنادوتروپین قرار دارند، در مرحله II جنسی، مقادیر استروئیدهای جنسی در ماهی‌هامور معمولی در سطح بسیار پائینی قرار داشته، ولی در مرحله تجمع ذرات زرده و یا مرحله III در داخل تخمک

که هنوز هسته تخمک در مرکز قرار دارد و لایه‌های سلولی تولید کننده استروئیدهای جنسی در تخمک کامل هستند و تحت تأثیر ترشح هورمون گنادوتروپین توسط غده هیپوفیز و افزایش غلظت آن در خون می‌باشند، تولید استروئیدهای جنسی در ماهی‌هامور معمولی افزایش می‌یابد و به صورت معنی‌داری در ماه‌های فروردین و اردیبهشت بالا می‌رود. پدیده ویتلوژنزیز، عامل بسیار مهم رشد تخمک‌های ماهی در طی این دوره تکامل است که در طی آن تحت تأثیر GTH-II ، سلولهای سنتز کننده استروئیدهای جنسی (سلولهای تکا و گرانولوزا) E ۲ را تولید و به داخل سیستم گردش خون رها می‌کنند، E ۲ به نوبه خود سنتز و ترشح ویتلین یا جسم زرده را در کبد تحریک می‌کند. جسم زرده که یک گلیکولیپوفسفو پروتئین است با تکامل تخمک به تدریج از طریق جریان خون وارد تخمک می‌شود که افزایش قطر تخمک را به همراه دارد.

در مرحله چهارم تکامل جنسی یعنی زمانی که هسته تخمک از مرکزیت خارج شد و به طرف قطب حیوانی در حال مهاجرت است ، کاهش در مقادیر هورمونهای استروئیدی دیده می‌شود و کاهش در مورد هورمونهای E ۲ و T معنی‌دار است. بررسی نتایج و تجزیه و تحلیل آنها نشان دهنده ارتباط بین مقادیر هورمونهای استروئیدی جنسی و مراحل تکامل و رسیدگی تخمک ماهی‌هامور معمولی است.

نتایج مطالعات بافت شناسی و مراحل رسیدگی گناد ماهی‌هامور معمولی مشابه نتایج گزارش شده توسط Mackie در سال ۲۰۰۰(۱۴) روی *Epinephelus rivulatus* ، Marino و همکاران در سال ۲۰۰۱ روی Dusky grouper (۱۵)، Abu Hakima و همکاران در سالهای ۱۹۸۷ و ۱۹۸۳ روی *Epinephelus tauvina* ،Hassin و همکاران(۱۰) در سال ۱۹۹۷ روی *Epinephelus aeneus* می‌باشدکه نتایج تحقیقات آنها با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

منابع مورد استفاده

۱ـ پوستی ا. صدیق مروستی س.ع. ۱۳۷۸؛ اطلس بافت‌شناسی ماهی، دانشگاه تهران.

۲ـ حبیبی حمید رضا، .(۱۳۸۱؛ کارگاه آموزشی فیزیولوژی تولید مثل ماهیان، رشت

۳ـ خالصی، م.ک. (۱۳۷۹) مطالعه بافت شناسی چرخه رسیدگی تخمک در ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* L. در شرایط پرورشی، پایان نامه MSc ، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس.

۴ـ زنده بودی ع.۱۳۷۲، اصول تکثیر و پوررش ماهی‌هامور، شرکت سهامی‌شیلات ایران

۵ـ عریان ش، پریور ک. یکرنگیان ،حسین‌زاده صحافی ه. ۱۳۷۷، نوسانات هورمونهای جنسی در طی سیکل تولید مثلی در جنس ماده ماهی یال اسبی مجله علمی‌شیلات ایران، شماره ۲، سال هفتم.

۶- عریان ش، ۱۳۸۲، نوروآندوکرینولوژی تولید مثل ماهیان،انتشارات دانشگاه آزاد واحد تهران شمال

7- Abu-Hakima R., 1987; Aspects of the reproductive biology of the grouper. *Epinephelus tauvina* (Forskal) in Kuwaiti waters, J. Fish biol: 30, 213-222

8- Abu-Hakima R., Al-Abdul-Ellah K. and teng S.K., 1983; Technical report the reproductive biology of *Epinephelus tauvina* (Forskal) (Family: Serranidae) in kuwaiti waters.

9- Evans D. H., 1998; The physiology of fishes (second edition) CRC press L.L.C.

10-Hassin S., de Monbrison D., Hanin Y., Elizur A., Zohar Y., Popper D.M., 1997; Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus* 1. Growth and reproduction, Aqu. 159: 305-316

11- Johnson A.K., Thomas P. and Wilson JR R.R. 1998; Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in *Epinehelus morio* a protogynous grouper in the eastern Gulf of Mexico, J. fish Bio. 52, 502 - 518

12- King W.V. thomas P., Reginal M.H., Ronald G.H., Lee G., kelly L.D., 1997; Characteristics of GnRH binding in the gonads and effects of Lamprey GnRH I and GnRH III on Reproduction in the Adult sea Lamprey, Gen . Com. End. 108: 327-339

13- Lee W.K., 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* (Jeom - nong - eo) aquaculture 207 169 – 183

14- Mackie M., 2000; Reproductive biology of the halfmoon grouper, *Epinephelus rivulatus* at Ningaloo Reef, Western Australia Env. Bio. Fishes 57: 363-376

15- Marino G., Azzurro E., Massari A., Finola M.G. and Mandich A., 2001; Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean, J. Fish. Bio. 58:909-927

16- Matty A.L., 1985; Fish Endocrinology, croom Helm london, 160 pp.

17- Poortenaar C.W, Hooker S.H., Sharp N., 2001; Assessment of jellowtail king Fish (*Seriola lalandi lalandi*) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development, Aquaculture 201: 271 - 286