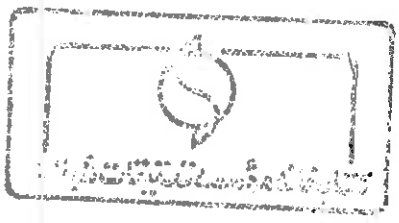
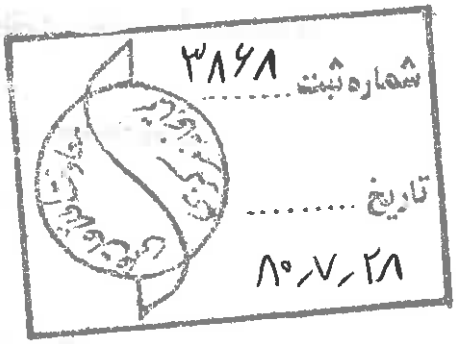
۸۲۹



کاربرد فیزیولوژی ماهی
در آبزی‌پروری



تألیف : آ.ای. گلوباکووا

ترجمه و ویرایش : فرحناز حیدرپور ، محمود بهمنی

نام کتاب : کاربرد فیزیولوژی ماهی در آبزی‌پروری
تألیف : آ.ای. گلوباکووا
ترجمه : فرحناز حیدرپور و محمود بهمنی
ویراستار : محمود بهمنی
شمارگان : ۱۰۰۰ نسخه
چاپ اول : ۱۳۸۰
ناشر : مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ـ مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین‌الملل
تاریخ نشر : ۱۳۸۰
لیتوگرافی ، چاپ ، صحافی : حکمت
شابک : ۹ ـ ۰۱ ـ ۵۸۵۶ ـ ۹۶٤
ISBN: 964 - 5856 - 01 - 9
قیمت : ۷۰۰۰ ریال

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

فهرست مندرجات

* پیش‌گفتار
* برخی خواص فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متابولیت‌های خارجی ماهی و نقش آنها در فرآیندهای پیام‌رسانی ۱
* استفاده صنعتی از ترکیب "Nerestin-1" جهت تکثیر مصنوعی ماهیان علفخوار در ازبکستان ۱۲
* مدت زمان رسیدگی تاسماهیان ماده ، که در ساعات مختلف شبانه‌روز مورد تزریق هورمونی قرار گرفته‌اند ۲۱
* اثر هورمون‌های استروئیدی بر رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus nigricans* در دوران پیش از تخم‌ریزی در شرایط in vitro و in vivo ۲۶
* ابعاد جدید مشکلات تنظیم هورمونی در فعالیت‌های تولیدمثلی تاسماهیان از نقطه‌نظر اهداف تاسماهی‌پروری ۵۴
* برخی پیش‌نیازهای نوروفیزیولوژیک برای استفاده از عوامل و مواد فعال بیولوژیک جهت تحریک بلوغ در ماهیان ۸۴
* کنترل رشد و نمو جنینی و لاروی در ماهی کفال *(Mullet)* ، به روش تحریک هورمونی مولدین ۱۱۵
* روش‌های ممکن جهت تنظیم استرس ناشی از مواد فعال بیولوژیک در ماهیان ۱۳۴
* علل تغییرات خواص طیفی کاروتنوئیدها در رشدو نمو جنینی ماهیان استخوانی ۱۵۲

«بسمه تعالی»

ایران ، سرزمین سرفرازان، پهنه دلیران و خانه مردان خداست. از آن زمان که نام این دشت را ایران نهادند خداوند جهان ، دست مهر بر آن کشید. قبای سبز کوهستان ، زردی کویر ، نیلی دریا، جملگی حاصل رنگ آمیزی نقاش فلک بر این ملک بود. چه نیکو ترکیبی از الوان بر این لوح به یادبود است.

پس ای ایرانیان ، غبار را از این نقش پاک کنید. دست بدست هم بکوشیم تا ظـرافت دست خالق را درک کنیم. ما در این میان رنگ آبی را می‌کاویم. در ژرفای خزر ، سواحل بلوچستان و در میان آبهای سردگهر ، بدنبال رموز خالق هستی ، سر از پا نمی‌شناسیم.

مؤسسه تحقیقات شیلات ایران ، این افتخار را دارد که به یاری خداوند منّان و دست گرم و توانای هموطنان عزیز ، وظیفه تفحص و پژوهش را در زمینه آب و آبزیان بعهده داشته ، با نشر علم ذکات آنرا این چنین پیش روی شما قرار داده است. البته بدیهی است که ایـن منظومه نیز مانند مجموعه‌های دیگر خالی از لغزش و اشتباه نبوده ، لذا بدینوسیله از کلیه دانشمندان و اندیشمندان تقاضا می‌گردد تا با ایراد انتقادات و پیشنهادات خود ، مـا را در بهبود هر چه بهتر و مناسبتر تهیه و طبع نشریات علمی کمک و یاری فرمائید.

مدیریت اطلاعات علمی

مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

فرومونها و کایرومونها نیز در امتداد تکامل سیستم هشداری و گیرنده‌های شیمیایی شکل گرفته و در فرآیندهای پیام‌رسانی در بیوسنوز شرکت می‌کنند. مطالعه چگونگی تأثیر این مواد نیز بعنوان گامی مهم در طراحی سیستم‌های مطلوب در آبزی‌پروری بشمار می‌رود بطوریکه افزایش غلظت آنها می‌تواند عواقب منفی بدنبال داشته و بعنوان عامل تنش عمل نمایند. بررسی ویژگی‌ها و مکانیسم اثر فرومونهای طبیعی که در سطح ملکولی ـ سلولی و کل موجود زنده انجام پذیرفته نتایج با ارزشی را در برداشته و حاوی اطلاعات مربوط به محیط پیرامون است که ماهیان نسبت به آن سازگاری یافته و برای حفظ ثبات درونی خود (Homeostasis) توانایی لازم را کسب می‌کنند. همچنین یکی از راههای اساسی دیگر در بیوتکنیک باز تولید مصنوعی آبزیان ایجاد شرایط مناسب در مراحل اولیه انتوژنز جهت دستیابی به روشهایی برای تأمین شرایط مناسب بمنظور کسب نتایج مطلوب از انکوباسیون تخمها و پرورش لاروهای حاصل می‌باشد.

استفاده از این معیارها برای ارزیابی ماهیان اقتصادی مقاومتر از جهت اهداف آبزی‌پروری ضروری بنظر می‌رسد. با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از جمعیت ماهیان اقتصادی پرورشی و تاسماهیان در اکوسیستم‌های آبی طبیعی و مصنوعی ناشی از فعالیت کارگاههای تکثیر و پرورش است لذا تجزیه و تحلیل مکانیسمهای تنظیم فعالیتهای تولید مثلی و زیستی ماهیان در مراکز تحقیقاتی و تولیدی شیلات و نیز پرورش‌دهندگان ماهی امری اجتناب‌ناپذیر بنظر می‌رسد.

کتاب حاضر که توسط محققین برجسته انستیتو تحقیقات شیلاتی و اقیانوس‌شناسی ونیرو (VNIRO) تألیف گردیده، حاوی اطلاعات ارزنده‌ای در زمینه‌های گوناگون فیزیولوژی ماهیان می‌باشد. با توجه به اینکه در تمام فصول کتاب نقش عملی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک مورد تأئید قرار گرفته، عنوان کتاب بصورت "کاربرد فیزیولوژی ماهی در آبزی‌پروری ، خلاصه گردید.

در این مجموعه مسائل اساسی از چشم‌اندازهای نوین فیزیولوژی ماهی در توسعه آبزی‌پروری مطرح و مورد بحث واقع شده که مطالعه آن را به کلیه دانشجویان و محققین علوم شیلاتی، دست‌اندرکاران تکثیر و پرورش ماهی و علاقمندان به رشته فیزیولوژی ماهی توصیه می‌نمائیم.

تابستان ۱۳۷۷

برخی خواص فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متابولیت‌های خارجی ماهی و نقش آنها در فرآیندهای پیام‌رسانی

(ن.ان.لیبدیوا ، ت.و.گالوفکینا)

در مهره‌داران رشد تکاملی سیستم هشداری از دو طریق انجام می‌گیرد ، بدین ترتیب که به موازات تکامل گیرنده‌های شیمیایی[۱] از میان متابولیت‌های خارجی[۲] نیز ترکیباتی انتخاب شده‌که در هرگونه خاص قابلیت شرکت در فرآیندهای پیام‌رسانی را دارا می‌باشند. متابولیتهای خارجی پس از ورود به محیط داخلی جانوران ، بر روی موجوداتی که در شرایط طبیعی زندگی می‌کنند اثر گذاشته بطوریکه نقش هشداری ، تنظیمی و یا غذایی را در بیوسنوز (Biocenose)[۳] ایفا می‌نمایند.

نتیجه تحقیقات نشان می‌دهد که در برخی گونه‌ها از جمله گاوماهی راتان *(Neogobius ratan)* سوف بزرگ‌سر [*Acerina (Gymnocephalus), Bloch*] ، ماهی کوهستان *(Phoxinus,* Rafinesque) (لیبدیوا و همکاران ،۱۹۷۸) و کپور (لیبدیوا و همکاران ،۱۹۸۰) ، شرکت متابولیت‌های خارجی در فرآیند پیام‌رسانی احتمالاً به وجود نسبت‌های مختلف از ترکیبات مولکولی بزرگ و کوچک ، تعداد و جرم مولکولی مختلف آنها بستگی دارد. احتمال می‌رود که متابولیت‌های خارجی عامل بوجود آورنده بو در این گونه‌ها بوده و بعنوان علامت خاص هرگونه در غلظت‌های زیاد همانند عامل تنش[۴] در ماهی عمل نموده و تأثیر آنها عواقب منفی بدنبال داشته باشد (لیبدیوا ، گالوفکینا ،۱۹۸۶).

همانگونه که در مطالعات مربوط به کپور ماهیان نشان داده شد ، پوست و ترشح آن یعنی مخاط ،

1- Chemoreceptor *2- External Metabolites*

۳ـ مجموعه‌ای از موجودات زنده که در شرایط اکولوژیک یکسان بسر می‌برند.

4- Stress

هشداردهنده[1] ماهیان طعمه تنها با پاره نمودن غشاء پوست می توانند وارد آب شوند. مقایسه خواص بیوشیمیایی مواد طبیعی هشداردهنده که در دو گونه مختلف (شکارچی ـ طعمه) دارای جایگاه بافتی مشابهی بوده در فرآیندهای پیام‌رسانی بیوسنوز نقش یکسانی را ایفاء کرده و در ماهیان طعمه بعنوان علائم شیمیایی هشداردهنده خطر می‌باشند که از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از آنجاکه در این سیستم ، ماهی طعمه (ماهی کوهستان) با استفاده از گیرنده‌های شیمیایی خود هر دو سیگنال را دریافت می‌کند و بطور یک بعدی به آنها پاسخ می‌دهد ، این نظریه مطرح شد که علائم شیمیایی هشداردهنده ، دارای ترکیب شیمیایی مشترکی است. ولی اثبات تفاوتهای موجود در دو نوع علائم هشداردهنده از نظر خواص بیوشیمیایی و ویژگیهای واکنشهای رفتاری که در نتیجه اثر آنها مشاهده می‌شود ، ناهمسان بودن ساختار شیمیایی این مواد را تأیید نمود. احتمالاً در پروسه تکامل در دو گونه مختلف ماهی که در یک بیوسنوز زندگی می‌کنند و از طریق رابطه شکارچی ـ شکار (طعمه) با یکدیگر ارتباط دارند ، مواد دارای تراکم مولکولی کم که حاصل متابولیسم این جانوران می‌باشند ، بعنوان علائم شیمیایی هشداردهنده برگزیده می‌شوند. این مواد از راههای مختلف وارد آب شده و تا حدی از نظر خواص فیزیکو ـ شیمیایی با یکدیگر تفاوت دارند ولی همه آنها نقش واحدی در فرآیندهای پیام‌رسانی بیوسنوز دارا بوده و بعنوان علائم شیمیایی هشداردهنده خطر شناخته می‌شوند (لبیدیوا و همکاران ، ۱۹۸۲).

توانایی ماهیان طعمه[2] در تشخیص کایرومونهای ماهیان شکارچی مختلف که در واکنشهای متفاوت (از نظر قدرت دفاعی) آشکار می‌گردد (ماروسوف ،۱۹۷۷) موجب شکل‌گیری این نظریه شد که اکولوژی ماهیان شکارچی (Predator) و شکار (Non-predator) و نیز ترکیب شیمیایی مواد تشکیل دهنده کایرومون و نسبتهای مختلف این مواد ، بر واکنش‌های دفاعی جانور تأثیر می‌گذارد. مطالعه ترکیب بیوشیمیایی پوست (که در ماهیان شکارچی منشأ کایرومون است) این

1- Alerting pheromones *2- Non-predator fish*

نظریه را تأیید نمود. پوست ماهیان شکارچی از قبیل سوف و Snakehead که موجب شدیدترین واکنش‌ها در ماهیان طعمه‌ای چون کپور نقره‌ای[1] و کپور معمولی[2] می‌گردد ، تقریباً دارای ترکیب بیوشیمیایی (از نظر نوع مواد تشکیل دهنده ، مقدار این مواد و برخی خواص فیزیکوشیمیایی) مشابهی است ، در حالیکه از نظر ساختمان بافت‌شناسی در پوست این ماهیان شکارچی تفاوتهای بسیار قابل ملاحظه‌ای مشاهده می‌گردد. از اینرو با وجود تشابه ساختمان بافت‌شناسی پوست Snakehead و اردک‌ماهی ، ترکیب بیوشیمیایی اجزای پوست و واکنش ایجاد شده در ماهیان طعمه کاملاً متفاوت است. از آنجاکه منشأ کایرومون‌ها سلولهای غدد اپیدرمی[3] می‌باشد ، می‌توان حدس زد که در غدد پوستی مواد ترشحی تقریباً مشابهی ساخته می‌شود ، وجود ترکیبات خاص در پوست ومخاط ماهیان شکارچی به ویژگیهای تغذیه‌ای آنها بستگی دارد. لذا نقش گروههای متابولیتی و کایرومونهای موجود در پوست ماهیان شکارچی که موجبات تغذیه آنها را از غذای زنده (طعمه) فراهم می‌آورد ، انکارناپذیر است. امکان دارد که این مواد در چگونگی واکنش‌های فطری ماهیان طعمه نسبت به شکارچیان نیز نقش تعیین‌کننده‌ای داشته باشند. یکی از متابولیت‌ها ماده‌ای است که از طریق جداسازی الکتروفورزی ترکیبات محلول در آب تراوش شده از پوست ماهیان شکارچی کشف گردید. این ماده که قبلاً در ترکیب متابولیت‌های خارجی اردک‌ماهی شناسایی شده بود (ممکن است در دفع دشمنان طبیعی ماهی نیز شرکت داشته باشد) ، از جمله مواد پپتیدی بشمار می‌رود که دارای قابلیت تحرک الکتروفورزی ضعیفی هستند (با تحرک الکتروفورزی نسبی ۳/۲).

بدنبال جداسازی مواد ترشحی پوست با استفاده از روش کروماتوگرافی ژلی ، گروههایی از ترکیبات مولکولی بزرگ و کوچک مشاهده شد. ترکیب خاص پوست هرگونه از ماهیان شکارچی از طریق نسبت درصدهای مختلف این گروه مواد مشخص می‌شود. مقایسه ترکیب کمّی مواد ، و نیز خواص کیفی آنها (RF و فعالیت إلکتروفورتیک نسبی) نشان می‌دهد که ترکیب بیوشیمیایی

1- Silver Carp *2- Common Carp* *3- Epidermis*

کایرومون در Snakehead و ماهی سوف که واکنش‌های شدیدی را در جانور بوجود می‌آورد ، تقریباً مشابه است (لبیدیوا ، گالوفکینا، ۱۹۸۹).

تغییرات رفتاری ماهی بدنبال علائم هشدار دهنده خطر ، تحولات سازگاری مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آنها به همراه دارد. عواملی مانند تنش[۱] که موجب ترس و وحشت شده ، باعث تحریک واکنش‌هایی در جانور می‌گردند. چنین واکنش‌هایی در ماهی نسبت به علائم شیمیایی هشداردهنده خطر یعنی کایرومون‌ها و فرومون‌ها باید در موجود زنده مورد بررسی قرار گیرد تا بدینوسیله شناخت کاملی از مکانیزم اثر و واکنش موجود نسبت به مواد هشداردهنده دریافتی بدست آید. تغییرات ترشحات عصبی (Neurohumor)[۲] اساس واکنش‌های رفتاری را تشکیل می‌دهد و موجب دگرگونی وضعیت فیزیولوژیک موجودات زنده شده که آن نیز بنوبه خود در ارتباط با تغییرات ترکیب بیوشیمیایی و ترشحات غدد مختلف می‌باشد. در مهره‌داران اصول واحدی جهت تنظیم و شکل‌گیری فرآیند تولید ترشحات و مایعات بیولوژیک وجود دارد و تغییرات همزمانی در ترکیب آنها تحت تأثیر ترشحات عصبی بوجود می‌آید (ناتوچین ،۱۹۸۴).

در زمینه تغییرات بیوشیمیایی که تحت تأثیر کایرومون و فرومون در ماهی کپور و کپور نقره‌ای در فصول مختلف سال اتفاق می‌افتد تحقیقاتی انجام شده که معیار این تغییرات بررسی پارامترهای بیوشیمیایی نظیر غلظت الکترولیت‌ها در مخاط و گلوکز در خون است که با یکدیگر نیز در ارتباط می‌باشند.

در ماهی کپور و کپور نقره‌ای تغییراتی در تبادل مواد تحت تأثیر کایرومون ماهیان شکارچی که از نظر اکولوژیک با یکدیگر متفاوتند ، رخ می‌دهد. ضمن مطالعه قوانین کلی مربوط به تغییر در تبادل

1- Stress

۲- *Neurohumor* : ماده شیمیایی که توسط یک نرون ترشح می‌شود ، یا انتقال دهنده مواد هورمونی نظیر استیل کولین که از انتهای عصب آزاد می‌شوند.

مواد در کپور ماهیان تغییرات بیوشیمیایی اولیه‌ای آشکار می‌گردد که می‌توان بعنوان معیار مراحل آغازی تنش از آنها استفاده نمود. میزان تغییرات بیوشیمیایی بوجود آمده در اثر استرس به قدرت و خصوصیات کیفی تنش‌ها و نیز فاصله زمانی آنها و فصول مختلف سال بستگی دارد. بیشترین تغییرات بیوشیمیایی در ماهیان طعمه ، تحت تأثیر علائم هشداردهنده مهم بیولوژیک یعنی کایرومونهای شناخته شده در ماهیان شکارچی بوجود می‌آید. مکانیزم واکنش جانورکه امکان دارد یک ویژگی فردی و یا گونه‌ای باشد تعیین کننده توان پاسخ جانور نسبت به محرک است (لبیدیوا و همکاران ،۱۹۸۹ ، ۱۹۸۸ ، ۱۹۸۷ ؛ لبیدیوا ، گالوفکینا،۱۹۸۸). تغییرات فیزیولوژیک - بیوشیمیایی ماهیان طعمه در پاسخ به کایرومونهای ماهیان شکارچی نشاندهنده واکنش سازگاری جانور است که نه تنها در تغییرات رفتاری بلکه در تغییرات متابولیک و دگرگونیهای سیستم عصبی و غدد درون‌ریز[1] آنها نیز ظاهر می‌شود. بررسی همه‌جانبه واکنشهای رفتاری ، ارزیابی کیفی واکنش‌ها و نیز تعیین منابع تأمین انرژی و قدرت اثر محرک‌ها را ممکن ساخته و همچنین جهت مشکلات مربوط به مکانیزم واکنش جانور نسبت به اثر عوامل خارجی راه‌حل مناسبی ارائه می‌دهد. جانور نسبت به تغییر اخیر (ظاهر شدن ماهی شکارچی و محرک شیمیایی) واکنش "سازگاری سریع" از خود نشان داده که احتمالاً به هر صورت موجب تغییر در تبادل مواد می‌گردد.

تنظیم‌کننده‌های زیستی[2] که موجب بروز اثرات مختلفی در جانور می‌شوند (از جمله تغییر رفتار) ، همانند اصلاح کننده‌های بیولوژیک در برخی عملکردهای فیزیولوژیک عمل می‌نمایند (لبیدیوا ، گالوفکینا ، مجموعه مقالات).

مطالعه ویژگیها و مکانیزم اثر علائم هشداردهنده شیمیایی طبیعی بر ماهی که در سطح مولکولی - سلولی و کل موجود زنده انجام پذیرفته ، نتایج مهم و امیدبخشی دربرداشته است. تحت تأثیر علائم هشداردهنده شیمیایی که حاوی اطلاعات محیط پیرامون هستند ، ماهیان نسبت به محیط اطراف

1- Neuroendocrinology *2- Bioregulator*

خود سازگار شده و برای حفظ ثبات درونی خود[1] توانایی لازم را کسب می‌نمایند. علائم هشداردهنده شیمیایی در طبیعت قادرند با غلظتهایی که برای جانور تقریباً شناخته شده و عادی است ، روی آنها تأثیر گذارند. علائم هشداردهنده شیمیایی طبیعی ، برخلاف آن دسته از علائم هشداردهنده که منشأ بیوژنی ندارند ، موجب بروز تغییرات بیوشیمیایی در حد تنظیم هورمونی فرآیندهای هموستاتیک[2] می‌گردند. در هر گونه ، علائم خاص هشداردهنده طبیعی به فراخور گونه‌های مختلف دارای نقش هشداری بوده و از آنجا که گونه‌های خالص اکولوژیک نسبت به پایین‌ترین غلظت این مواد در آب واکنش نشان می‌دهند ، مانع از آلودگی محیط اطراف می‌گردند. بنظر می‌رسد موادی که دارای خواص بیوژن هستند در محیط‌های آبی تجزیه می‌شوند و تجمع این مواد مشاهده نمی‌شود. مطالعه واکنش‌های تنش[3] و ویژگیهای آن ، واکنشهای دفاعی و سندرمهای مربوطه ، موجب تعیین معیارهای صحیح بیوشیمیایی در وضعیت افزایش شدت تنش می‌گردد. استفاده از این معیارها برای بوجود آوردن شرایط مطلوب پرورش ماهیان باارزش اقتصادی و انتخاب گونه‌های مقاوم‌تر (در برابر استرس) برای اهداف بازتولیدی ضروری است. از این معیارها برای ارزیابی مراحل اولیه تنش در ماهیان به منظور جلوگیری از عواقب ناخواسته نیز استفاده بعمل می‌آید. گردآوری معیارهای مطلوب بیوشیمیایی در گرو جستجو ، انتخاب و تأیید روشهای سریع ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهیان می‌باشد.

1- Homeostasis *2- Homeostatic* *3- Stress*

فهرست منابع

- کاسومیان، آ.اُ. ؛ لبیدیوا،ن.ی. (۱۹۷۷). ماهیت شیمیایی مواد دفعی بدست آمده از پوست ماهی کوهستان *(minnow)*. علوم بیولوژیک ، شماره ۱ ، ص. ۳۷ .
- کاسومیان ،آ.اُ. ؛ لبیدیوا،ن.ی. (۱۹۷۹). اطلاعات جدید درباره ماهیت فرومون ترس در کپور ماهیان . مسائل ماهی‌شناسی ، شماره ۵ ، ص. ۸۹۵-۸۹۰ .
- لبیدیوا،ن.ی. (۱۹۷۸). ترکیب بیوشیمیایی مخاط و پوست برخی کپور ماهیان . مسائل ماهی‌شناسی شماره ۳ ، جلد ۱۸ ، ص. ۵۳۴-۵۲۶ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ بورلاکوف ،آ.ب. (۱۹۷۳). لیپوپروتئین ، موکوپلی‌ساکاریدها و ایزوفرمنت‌ها در پوست ماهی کوهستان نهری. مجله فیزیولوژی و بیوشیمی تکامل ، شماره ۵ ، ص. ۵۲۹-۵۲۷ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ بورلاکوف ،آ.ب. (۱۹۷۵). نوسانات ترکیب آلبومین‌های محلول در آب مخاط و پوست ماهی کوهستان تحت تأثیر نگهداری درازمدت در شرایط آزمایشگاهی. مسائل ماهی شناسی ، شماره یک ، ص. ۱۸۳-۱۸۰ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ بورلاکوف ،آ.ب. (۱۹۷۶). تأثیر تزریق هیپوفیزی بر ترکیب استراز غیر تخصصی در سلولهای کپور نقره‌ای. مجله بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل ، شماره ۱۲ ، ص. ۲۸۶-۲۸۴ .
- لبیدیوا، ن.ی. ؛ مالیوکینا،گ.آ. ؛ کاسومیان ،آ.اُ. (۱۹۷۵). مواد دفعی (repellent) طبیعی از پوست کپور ماهیان. مسائل ماهی‌شناسی ، شماره ۳ ، ص. ۵۳۷-۵۲۷ .
- لبیدیوا، ن.ی. ؛ چیریناکوف،یو.د. (۱۹۷۸) . علائم شیمیایی خطر در سیستم شکارچی ـ شکار در ماهیان. مجله بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل ، شماره ۴ و ۱۴ ، ص. ۳۹۸-۳۹۲ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ استیگار،ی.ای. ؛ آمیلیخینا،آ.م. (۱۹۷۸) . ترکیب بیوشیمیایی متابولیت‌های داخلی در برخی گونه‌های ماهیان. مجله هیدروشیمی ، شماره ۶ ، ص. ۱۸۰-۱۱۷ .

- لبیدیوا،ن.ی. ؛گالوفکینا،ت.و. (۱۹۷۹). بررسی الکتروفورتیک آلبومین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در پوست و مخاط ماهی کوهستان نر و ماده. علوم بیولوژیک ، شماره ۱ ، ص. ۱۰۵ .
- لبیدیوا،ن.ی. (۱۹۷۸). ترکیب بیوشیمیایی مخاط و پوست برخی کپور ماهیان. مسائل ماهی‌شناسی ، شماره ۳ ، جلد ۱۸ ، ص. ۵۳۴-۵۲۶ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ چرنواوسوف،آ.ن. (۱۹۸۰) . متابولیت‌های داخلی کپور ماهی یکساله ، ترکیب آنها و برخی خواص بیوشیمیایی. مجله هیدروبیولوژی ، شماره ۲ ، ص. ۱۰۱-۹۶ .
- لبیدیوا، ن.ی. ؛ کاسومیان،آ.آ. ؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۲). خصوصیات نسبی بیوشیمیایی علائم شیمیایی (طبیعی) خطر در سیستم شکارچی ـ شکار در ماهیان. علائم شیمیایی خطر در جانوران، مسکو ، ص. ۳۱۷-۳۱۰ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ کاسومیان،آ.آ. ؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۶). تصفیه کایرومون ترس و واکنشهای سازگاری که توسط این مواد در برخی کپور ماهیان بوجود می‌آید. ارتباط شیمیایی در جانوران : تئوری و عمل ، مسکو : انتشارات «نااوکا» ، ص. ۱۹۱-۱۸۶ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۶). متابولیت‌های داخلی و نقش آنها بعنوان یک عامل تنش‌زا برای ماهی. مجله هیدروبیولوژی ، انتشارات وی.نی.تی ، شماره B۸۶ ـ ۰۶۶۳۱ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ ال ـ گاراباوی،م.م. (۱۹۸۷). ترکیب و برخی خواص مخاط در ماهیان علفخوار بعنوان معیاری برای تشخیص وضعیت استرس. انتشارات دانشگاه دولتی مسکو ، سری ۱۶ ، شماره ۴ ، ص. ۳۳-۲۸ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ ال ـ گاراباوی،م.م. (۱۹۸۸). تنش اولیه و تغییرات میزان الکترولیت‌ها در مخاط کپور ماهی. مسائل ماهی‌شناسی ، جلد ۲۸ ، شماره ۶ ، ص. ۱۰۲۲-۱۰۱۴ .

- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۸). تأثیر علائم شیمیایی خطر بر تبادل کربن در کپور ماهی یکساله. بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل ، جلد ۲۴ ، شماره ۱ - ص. ۱۰۶-۱۰۳ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ ال -گاراباوی،م.م. (۱۹۸۹). تنش در کپور نقره‌ای، انتقال و تبادل مواد تحت تأثیر کایرومون‌های شکارچیان. انتشارات دانشگاه دولتی مسکو ، سری ۱۶ ، شماره ۱، ص. ۲۸-۲۳ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ ال -گاراباوی،م.م. (۱۹۸۹). ترکیب بیوشیمیایی منشاء کایرومون‌ها در ماهیان شکارچی. علائم شیمیایی در بیولوژی ماهی ، مسکو ، ص. ۱۶۸-۱۵۸ .
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ گالوفکینا،ت.و. تنش در ماهیان تحت تأثیر ترکیبات فعال بیولوژیک و راههای احتمالی کنترل آن (در مجموعه حاضر).
- ماروسوف،ی.آ. (۱۹۷۷). اهمیت گیرنده‌های شیمیایی در شناسایی شکارچیان توسط ماهیان طعمه. رساله دکترای نامزد علوم بیولوژیک ، مسکو ، دانشگاه دولتی مسکو ، ص. ۲۲ .
- ناتوچین،یو.و. (۱۹۸۴). مسائل فیزیولوژی تکاملی تبادل آب - نمک. لنینگراد، انتشارات «نااوکا» ، ص. ۳۸ .

استفاده صنعتی از ترکیب "Nerestin-1" جهت تکثیر مصنوعی ماهیان علفخوار در ازبکستان

(ب.و.وریگین ، آ.پ.ماکی‌یوا ، ن.و.بیلووا ، ن.گ.امیلیانووا)

در سالهای ۱۹۹۰-۱۹۸۸ تولید ترکیبات جدید برای تحریک بلوغ ماهیان طی تکثیر مصنوعی آنها، درکانادا و شوروی سابق پایه‌گذاری گردید. شرکت "Syndel Laboratories Ltd." در شهر «ون کوور» تولید ماده تجاری جدیدی بنام "Ovariin" و مؤسسه آبزی‌پروری «پوشکینو» در روسیه ساخت ترکیباتی از سری "Nerestin" را آغاز نمودند. اجزای اصلی ترکیبات تولید شده توسط این شرکت‌ها شامل عوامل مصنوعی بسیار فعال آزاد کننده گنادوتروپین‌ها و ترکیبات تغییردهنده گیرنده‌های سلولهای گنادوتروفی آدنوهیپوفیز (هیپوفیز پیشین) از گروه آنتاگونیست‌های دوپامینی می‌باشد.

فعالیت اصلی در زمینه استفاده صنعتی از "Nerestin-1" که توسط مجتمع علمی ـ تولیدی آبزی‌پروری پوشکینو تولید می‌شود ، در مؤسسه شیلاتی «بالیک‌چی» در ازبکستان در فصول تکثیر ماهی طی سالهای ۱۹۸۹ و ۱۹۹۰ انجام پذیرفت. در سال ۱۹۸۹ ، در نتیجه استفاده از این ماده میزان لارو حاصل از ماهیان علفخوار حدود ۵۰٪ برنامه تعیین‌شده بود که در سال ۱۹۹۰ نتیجه تکثیر این ماهیان کاملاً طبق برنامه انجام گرفت.

در رابطه با نقش ماهیان علفخوار در پرورش توأم[1] در ازبکستان ،کپور نقره‌ای[2] از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بود. ولی در سال ۱۹۸۹ ، کپور هیبرید ویتنامی که هیبرید بین کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و کپور *H.harmandi* است سهم بسزایی از بازتولید را به خود

1- Polyculture *2- Silver Carp*

اختصاص داد. در این مؤسسه شیلاتی نزدیک به ۱۰ سال از گنادوتروپین کوریونیک (C.G.)[1] برای تزریق استفاده می‌گردید.

در سال ۱۹۸۹ ، "Nerestin-1" به ۷۹۴ عدد کپور نقره‌ای ماده تزریق شد. در ۶۶۲ عدداز ماهیان، این ترکیب هم بعنوان تزریق اولیه و هم بعنوان تزریق نهایی بکار رفت ، در ۱۱۶ عدد ماهی بعنوان تزریق نهایی و پس از تزریق اولیه .C.G و در ۱۶ عدد ماهی بعنوان تزریق اولیه‌ای که تزریق نهایی آن .C.G بود مورد استفاده قرارگرفت. در این آزمایش ۱۵۱ عدد ماهی ماده در هر دو تزریق .C.G را دریافت نمودند. در سال ۱۹۹۰ به کلیه ماهیان ماده (نزدیک به ۱۰۰۰ عدد کپور نقره‌ای) "Nerestin-1" تزریق گردید.

بازتولید مصنوعی کپور هیبرید ویتنامی با بیش از ۲۰۰ عدد ماهی انجام شد. ماهیان نر نیز یک بار ترکیبات تزریق شده به ماده‌ها را دریافت کردند. همچنین در مؤسسه «بالیک‌چی» علاوه بر برنامه‌های عادی ، تزریق نهایی نرها بطور همزمان با تزریق اولیه (نه تزریق نهایی) ماده‌ها انجام پذیرفت.

گله‌های مولد ، متشکل از ماهیانی جوان و در سنین ۶-۵ سالگی (بندرت ۴ سالگی) بوده که قبلاً به مرحله رسیدگی جنسی رسیده‌اند. بخش اصلی گله‌های مولد را در سال ۱۹۸۹ ماهیان ماده با وزن در حدود ۵/۵کیلوگرم و در سال ۱۹۹۰ با وزن بیش از ۶/۵-۶کیلوگرم تشکیل داده بود. ماهیان نر نسبت به ماده‌ها کمی کوچکتر ، ولی ماهیان ماده کپور هیبرید ویتنامی وزن بیشتری در حدود ۷/۵کیلوگرم داشتند.

ترکیب "Nerestin-1" برای بازتولید مصنوعی ماهیان علفخوار در استخرها بکار گرفته شد. ماهیان پس از تزریق نهایی به استخرهای واجد سیستم گردش آب که محل مناسبی برای تخمریزی بشمار می‌روند ، انتقال داده شدند. در هر استخر (بطول ۱۰-۷ متر) ، ۱۵-۱۰ عدد (گاهی تا ۲۰ قطعه) مولد نگهداری می‌شود. تخمهای چشم‌زده از آب خارج و در ظروفی به شکل غربال جمع‌آوری شده

1- Chorionic Gonadotropin

جدول ۱ : فاکتورهای بیولوژیک آبزی‌پروری در بازتولید مصنوعی ماهی کپور نقره‌ای *(silver carp)* در مؤسسه شیلاتی «بالیک‌چی» طی سالهای مختلف .

تعداد ماده‌ها** (قطعه)	درصد لاروهای با ظاهر طبیعی (٪)	درصد تخمهای بارور شده (٪)	استعداد هم‌آوری عملی (cm^3)	درصد ماده‌ها (٪)	وزن ماده‌ها *(kg)*	ترکیب هورمونی	سال
۱۵۴-۷۸۰	۴۳/۰	۷۱/۰	۴۳۵/۰	۵۰/۳	۵/۰	C.G.	۱۹۸۱*
۸۹-۱۱۰	۳۶/۲	۷۴/۹	۶۰۵/۷	۵۳/۵	۵/۸	C.G.	۱۹۸۲*
۱۴۰-۲۲۰	۳۸/۴	۷۱/۲	۴۸۰/۷	-	۴/۸	C.G.	۱۹۸۳*
۵۵-۸۳	۵۰/۰	۷۱/۰	۵۱۹/۶	-	۴/۶	C.G.	۱۹۸۴*
۹۵۰	۳۸/۰	۷۱/۵	-	۸۰/۰	-	C.G.	۱۹۸۸
۱۵۱	۳۴/۰	۵۴/۰	-	۶۶/۰	۵/۵	C.G.	۱۹۸۹
۶۶۲	۲۹/۰	۶۵/۰	۵۴۴/۷	۷۲/۰	۵/۵	Ner.	
۱۱۶	۴۲/۰	-	-	۳۲/۰	۵/۵	C.G.+Ner.	
۱۶	۴۶/۰	۸۷/۰	-	۷۰/۰	۵/۵	Ner.+C.G.	
۵۷۰	۴۷/۰	۷۰/۰	۵۷۱/۰	۶۵/۰	۶/۰	Ner.	۱۹۹۰

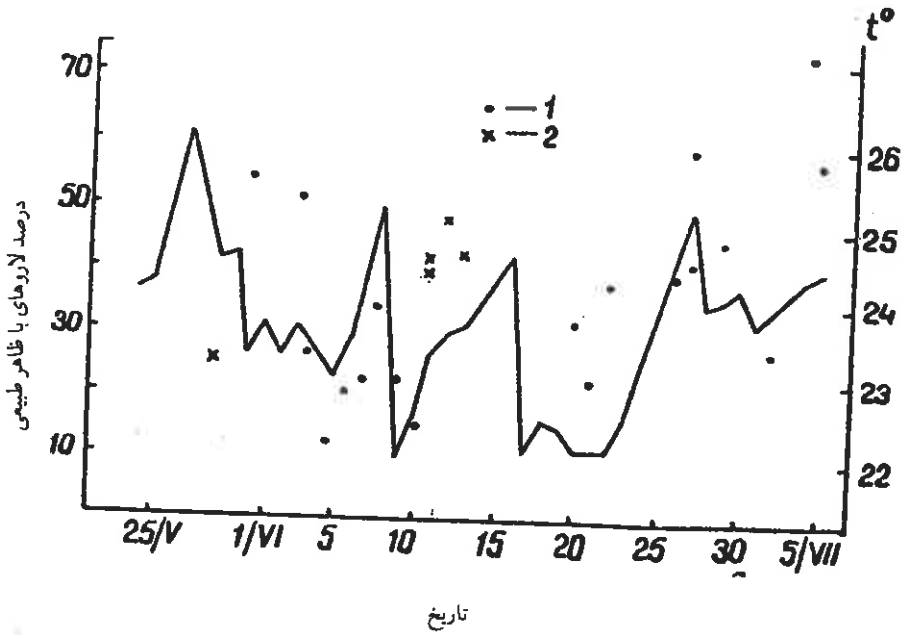
* اطلاعات مربوط به سالهای ۱۹۸۴-۱۹۸۱ با استفاده از روش پیش‌بینی درصد لقاح مصنوعی تخمها بدست آمده است.

** تعداد ماهیان ماده در برخی از آمار مربوط به سالهای ۱۹۸۴-۱۹۸۱ تفاوتهایی داشت که به همین دلیل حداقل و حداکثر تعداد در این جدول ارائه شده است. برای توضیح بیشتر به مقاله «آخرین مقاله مجموعه حاضر» مراجعه نمایید.

و سپس به دستگاه انکوباتور منتقل می‌شوند (ب.و.ویریگین و همکاران ، ۱۹۸۸).

دُز تزریقی ترکیب "Nerestin-1" در آغاز کار طبق دستورالعمل پیشنهادی *ml/kg* ۰/۳-۰/۱۵ بود که بدلیل برخی ناهماهنگیها در مراحل بلوغ مولدین و ناکافی بودن این مقادیر نتایج مثبتی بدست نیامد. از اینرو مقادیر تزریق آن به *ml/kg* ۰/۵-۰/۴ افزایش یافت.

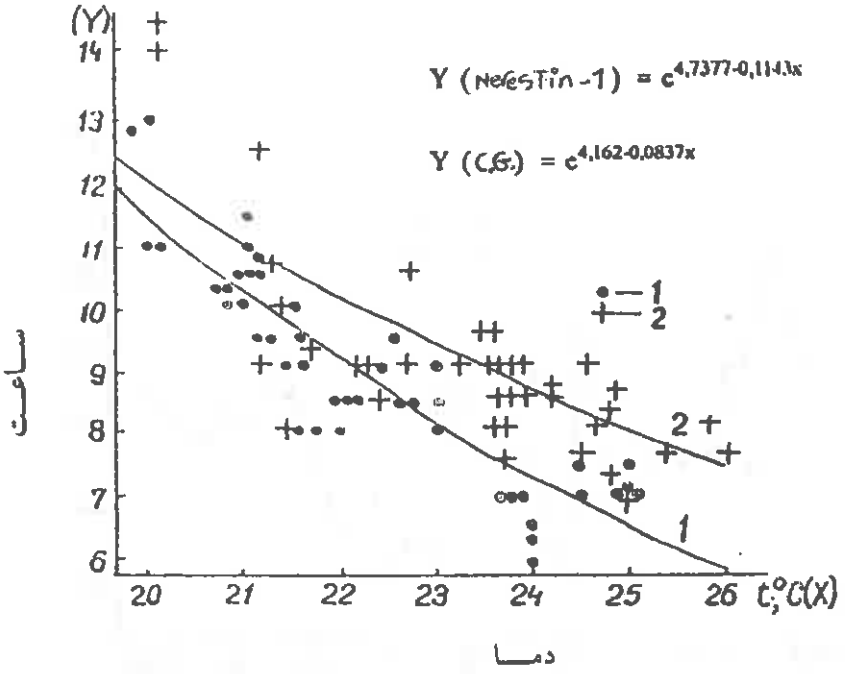
هنگام استفاده از "Nerestin-1" درگله‌های مولدین فاکتورهای بیولوژیک آبزی‌پروری (درصد تخمهای استحصال شده ، استعداد هم‌آوری عملی ، درصد تخمهای بارور شده ، لاروهای با ظاهر طبیعی) مشابه فاکتورهای مربوط به زمان استفاده از C.G. بودند (جدول ۱). به درصد پایین



تصویر ۱ : درصد لاروهای با ظاهر طبیعی ضمن استفاده از ترکیبات هورمونی مختلف با توجه به تغییرات شرایط دما در فصل پرورش
۱) Nerestin-1 ، ۲) C.G.

لاروهای با ظاهر طبیعی ضمن استفاده از "Nerestin-1" در سال ۱۹۸۹ توجه نمایید. بررسی دینامیک فاکتورهای موردنظر در طول فصل تکثیر ، فرضیه ارتباط این موضوع را با عامل دما مطرح ساخت. بخش عمده بررسی و استفاده از "Nerestin-1" زمانی انجام گرفت که ناپایداری هواو دمای پایین آب مشاهده گردید (تصویر ۱). در پایان فصل ، زمانیکه دما افزایش یافت و در سطح ۲۵-۲۴ درجه سانتیگراد ثابت ماند ، درصد لاروهای با ظاهر طبیعی افزایش یافته و به ۷۰-۶۰ درصد رسید. تجربیات در زمینه استفاده از ترکیبات مختلف جهت تزریق اولیه و نهایی ، ارجحیت و اولویت "Nerestin-1" را بعنوان تزریق اولیه نشان دادند.

اوولاسیون و آغاز تخمریزی ماهیان در استخرها با استفاده از "Nerestin-1" کمی زودتر از زمانی



تصویر ۲ : زمان آغاز اوولاسیون (تخمریزی) ضمن تزریق ترکیبات هورمونی مختلف («بالیک‌چی» ، تکنولوژی پرورش استخری) :
۱) Nerestin-1 ، ۲) C.G.

که از گنادوتروپین کوریونیک استفاده شود ، اتفاق می‌افتد. سه سال تحقیق در زمینه تکنولوژی تکثیر ماهی در استخر با استفاده از C.G. و دو سال تجربه با "Nerestin-1" بر روی ماهی کپور نقره‌ای نشان داد که دوره رسیدگی ماهیان پس از دومین تزریق "Nerestin-1" در گروههای مختلف مولدین ، نسبت به زمان استفاده از C.G. از ثبات بیشتری برخوردار است (تصویر ۲).

بطورکلی استفاده صنعتی از "Nerestin-1" در طی تکثیر ماهی کپور نقره‌ای در استخر هیچگونه مشکل خاص تولیدی بهمراه نداشت . در مؤسسه شیلاتی «بالیک‌چی» عملاً در تمام فصل تکثیر ، استفاده از این ماده بطور منظم انجام می‌پذیرد.

در زمینه تکثیر صنعتی آزمایشهایی از نظر نسبت دُز اولیه و ثانویه در سه وضعیت ۱:۱ ، ۱:۲ ، ۱:۳ و دُز کلی ۰/۵-۰/۳ *ml/kg* انجام گرفت. در هر سه حالت هیچ تفاوت اساسی دیده نشد و در همه

موارد ۵۷-۵۰ درصد از ۱۹۵ عدد ماهی ماده مورد بررسی به بلوغ رسیدند و مشخص گردید که در تکثیر انبوه ماهی و در شرایطی که ترکیب گله‌ها از نظر اندازه ماهیان یکسان نیست به سختی می‌توان دُز دقیق ترکیبات هورمونی را که معمولاً مقادیر بسیار کوچکی می‌باشند متناسب با اندازه هـ ماهی تعیین نمود. به همین دلیل غالباً از نسبت ۱:۲ (نسبت تزریق اولیه به ثانویه) برای ماهیان بزرگ و از نسبت ۱:۱ برای ماهیان کوچک استفاده بعمل می‌آید.

در آزمایشهای انجام شده با کپور نقره‌ای نر، افزایش دُز "Nerestin-1" موجب افزایش نسبی قابلیت باروری اسپرمها و نیز تراکم آنها گردید (جدول ۲) ولی این نشانه‌ها نسبت به زمانی که از C.G. استفاده می‌گردد، ضعیف‌تر می‌باشند (بیلووا و همکاران، ۱۹۸۵). استفاده از ریتم شبانه‌روزی فعالیت فیزیولوژیک ماهیان و در این میان رژیم دمایی آب از اهمیت بیولوژیک و تکنولوژیک بسزایی برخوردار است. بنظر می‌رسد که مناسب‌ترین زمان جهت تزریق ثانویه در ساعات صبح می‌باشد، یعنی زمانیکه فرآیندهای فیزیولوژیک پیش از اوولاسیون در طی گرم شدن روزانه آب در جریان است. در واقع، مقایسه سه نوبت تزریق در صبح و سه نوبت تزریق در عصر (تزریق ثانویه در ساعات ۷ و ۲۴ انجام می‌گیرد) از نظر مشخصاتی نظیر رسیدگی تخم‌ها، نشان می‌دهد که تزریق در صبح از ارجحیت بیشتری برخوردار است (در این حالت ۶۹/۳٪ از ماهیان ماده به بلوغ می‌رسند در حالیکه در تزریق هنگام عصر در ۵۶/۷٪ از ماده‌ها بلوغ مشاهده می‌گردد). لذا با توجه به راحت بودن تزریق از نقطه‌نظر فنی، اکثر تزریقها در ساعات عصر انجام می‌پذیرد. این کار باعث می‌شود که نیروی انسانی مستقر در کارگاههای تکثیر و پرورش در ساعات روز وقت کافی برای انجام امور روزمره از قبیل تزریق مقدماتی به مولدین بعدی، جمع‌آوری رستنی‌ها از آب استخرها، صید ماهیان از استخرها، انتقال لاروها به استخرهای مخصوص و غیره را داشته باشند. ولی حتی از نقطه‌نظر بیولوژیک نیز تزریق در صبح قطعی و کاملاً مناسب نیست زیرا ثابت شده که تخمریزی این ماهیان در طبیعت معمولاً در ساعات صبح اتفاق می‌افتد و این بدان معناست که فرآیندهای پیش از اوولاسیون

در این

جدول ۲ : علائم باروری ماهی در کپور نقره‌ای نر

تعداد ماهی (عدد)	توان عملی هم‌آوری		تراکم اسپرمها (میلیارد در cm^3)	حجم منی (cm^3)	دُز (ml/kg)	ترکیب هورمونی	اندازه ماهی		سال
	میلیارد در kg	cm^3/kg					وزن (kg)	طول (cm)	
۱۸	-	۲/۶۲	-*	۱۱/۷	۰/۱۱	Ner-1	۴/۴۶	-	۱۹۹۰
۱۹	-	۳/۷۵	-	۱۸/۳	۰/۲۱	Ner-1	۴/۹۸	-	»
۱۰	-	۳/۶۰	-	۱۵/۶	۰/۳۵	Ner-1	۴/۳۴	-	»
۵	۹۴/۴	۲/۶۰	۳۶/۴۰	۱۰/۴	۰/۱۲۵	Ner-1	۴/۰۱	۶۶/۰	»
۶	۹۳/۷	۳/۲۰	۳۷/۳۸	۱۳/۴	۰/۲۵۰	Ner-1	۴/۱۵	۶۶/۸	»
۵۷	۱۰۲/۸	۴/۷۰	۲۲/۰۰	۱۸/۷	۱۰۰۰**	C.G.	۴/۰۰	۶۴/۷	۱۹۸۲
۷۲	۱۳۲/۹	۳/۶۰	۳۶/۶۰	۱۲/۷	-»-	C.G.	۳/۵۰	۶۰/۲	۱۹۸۳
۲۴	۱۲۵/۶	۳/۵۰	۳۶/۲۰	۱۱/۸	-»-	C.G.	۳/۴۰	۵۹/۹	۱۹۸۴

* در این ستون علامت تیره نشان می‌دهد که اطلاعات در این مورد وجود ندارد.

** واحد این عدد بر حسب ME/kg (طبق متن روسی) است.

ماهیان دقیقاً در طول شب جریان دارد (وریگین ، نیگونوفسکایا ، ۱۹۹۰).

لاروهایی که پس از استفاده از ترکیبات مختلف هورمونی ("Nerestin-1" و .C.G) بدست آمده بودند طی دو آزمایش از نظرکیفی مورد ارزیابی قرارگرفتند. در آزمایش اول لاروها بصورت همزمان در حوضچه‌های کوچک طی ۱۷ شبانه‌روز با دو بار پرورش ارزیابی شدند. نتایج این بررسی از نظر مشخصه زنده‌مانی (درصد بقاء) لاروهای حاصل از استفاده "Nerestin-1" نشان داد که در ۱۸ آکواریوم (آبزیدان) درصد بقاء بطور میانگین ۹۳/۴٪ (از ۹۳ تا ۱۰۰٪) می‌باشد که این وضعیت با مقادیری که ضمن تجربه با روشهای مشابه در سالهای قبل بدست آمده بود (سالهایی که کار عمدتاً با .C.G انجام می‌گرفت) تفاوت چندانی نداشت. بدین ترتیب نگرانی از تعداد لاروهای بدست آمده به کمک "Nerestin-1" بی‌مورد است.

در مؤسسه شیلاتی «بالیک‌چی» از "Nerestin-1" در حجم محدودی برای تکثیر صنعتی ماهی کپور سرگنده *(Aristichthys oshima)* ، ماهی علفخوار چینی *(Grass Carp)* و در برخی موارد کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* استفاده گردید. شایان ذکر است که تکثیر صنعتی این گونه‌ها نیز مانند کپور نقره‌ای هنگام استفاده از این ترکیب بدون دشواری انجام می‌پذیرد. در سایر مؤسسات ماهی‌پروری و شیلاتی ازبکستان (از قبیل مجتمع ماهی‌پروری خوارزمی ، مرکز پرورش ماهی زونالنی) که در امر تکثیر از .C.G استفاده می‌نمایند نتایج مشابه با مؤسسه «بالیک‌چی» بدست آمده است.

فهرست منابع

- بیلووا،ن.و. ؛ شاخا،د.ن. ؛ وریگین،ب.و. (۱۹۸۵). تولید اسپرم و مقدار آن در ماهیان علفخوار طی بازتولید کارگاهی آنها در ازبکستان. ماهیان علفخوار و سازگار شدن انواع جدیدی از ماهیان با شرایط پرورش مصنوعی : مجموعه مقالات علمی ، دوره ۴۴ ـ ص. ۸۲-۷۴ .
- وریگین،ب.و. ؛ ماکییوا،آ.پ. ؛ بورلاکوف،آ.ب. ؛ لبیدیوا،ن.ی. (۱۹۷۵). اصول بیولوژیک و تجارب استفاده از گنادوتروپین کوریونیک و پرورش کپور ماهیان استخری. انتشارات ونیرو ، جلد ۱۱۱ ، ص. ۱۵۵-۱۴۳ .
- وریگین،ب.و. ؛ نیگونوفسکایا،ای.ت. (۱۹۹۰). ماهیان علفخوار در آبگیرهای طبیعی و مخازن آب (پس از سازگاری). انتشارات مؤسسه دولتی تحقیقات ماهی‌شناسی ـ شماره ۳۰۱ ـ ص. ۳۷-۵ .
- وریگین،ب.و. ؛ شاخا،د.ن. ؛ ایمیلیانووا،د.گ. ؛ ماکییوا،آ.پ. (۱۹۸۸). برخی مشخصات زیست‌شناسی ماهیان علفخوار ماده طی بازتولید مصنوعی آنها در ازبکستان. ماهیان علفخوار و سازگار شدن انواع جدیدی از ماهیان با شرایط پرورش مصنوعی : مجموعه مقالات علمی دوره ۴۴ ـ مسکو ، ص. ۱۰۵-۹۶ .
- وریگین،ب.و. ؛ ماکییوا،آ.پ. ؛ ایمیلیانووا،ن.گ. ؛ ویبورنوف،آ.آ. ؛ بیلووا،ن.و. (۱۹۸۸). تجربه استفاده از استخرهای دارای سیستم گردش آب بمنظور پرورش کپور نقره‌ای. تحقیقات شیلاتی بر روی ماهیان علفخوار ، مسکو ، ۱۵ صفحه .

مدت زمان رسیدگی تاسماهیان ماده ، که در ساعات مختلف شبانه‌روز مورد تزریق هورمونی قرار گرفته‌اند

(اس.ب.پادوشکا)

در برنامه‌ریزی فعالیت‌های تکثیر و پرورش ، پیش‌بینی زمان رسیدگی ماهیان ماده پس از تأثیر هورمون دارای اهمیت بوده ، بویژه ضمن بررسی گونه‌هایی که تخمک آنها پس از اوولاسیون به سرعت به مرحله رسیدگی رسیده و تدریجاً توانایی زیست خود را از دست می‌دهند، این پیش‌بینی از اهمیت بیشتری برخوردار است. تاسماهیان از جمله این ماهیان بشمار می‌روند.

ضمن مطالعه گزارش‌های علمی شیلاتی در کارگاه تکثیر و پرورش مصنوعی تاسماهیان ایکریانسکی در طی ۲۰ سال ، برخی تفاوتها در مدت زمان رسیدگی مولدینی که در اوقات مختلف شبانه‌روز مورد تزریق هورمونی قرارگرفته بودند توجه ما را به خود جلب نمود. مدت زمان رسیدگی ماهیان ماده که با واحد مطلق T_0 بیان می‌گردد (طول مدت یک چرخه میتوتیک[۱] در دوره تقسیم همزمان[۲] تخم) (دتلاف و همکاران ،۱۹۸۱) ، در ماهیانی که در ساعات نزدیک به طلوع خورشید تزریق هورمونی می‌شوند کوتاهتر و در ماهیانی که ۱۲ ساعت پس از طلوع خورشید مورد تزریق هورمونی قرار می‌گیرند ، طولانی‌تر است. این مسئله در فیلماهی[۳] و در تاسماهی روسی[۴] بدقت بررسی و تأیید شده ، اما در مورد ازون‌برون جداول دقیقی در دست نمی‌باشد.

لیکن تفاوتهای مشاهده شده در مدت زمان رسیدگی، مربوط به گروههای متفاوت ماهیانی است که در اوقات مختلف روز و یا سال بدست آمده‌اند. از اینرو برای مشخص شدن اینکه آیا زمان تزریق واقعاً بر طول مدت رسیدگی اثر می‌گذارد یا خیر ، می‌بایست آزمایشات دقیق و مفصلی بر روی

1- *Mitotic* 2- *Synchronic* 3- Beluga *(Huso huso)*

4- Russian sturgeon *(Acipenser gueldenstaedti)*

جدول ۱ : مدت زمان رسیدگی ماهیان ماده استرلیاد که در ساعات مختلف شبانه‌روز تزریق هورمونی شده‌اند.

زمان از لحظه تزریق برحسب ساعت	تعداد ماهیان ماده بالغ شده (عدد)	
	پس از تزریق در ساعت ۱۸/۰۰	پس از تزریق در ساعت ۶/۰۰
۱۷	۰	۰
۱۹	۰	۳
۲۱	۶	۲
۲۳	۱	۰

ماهیان هم‌جنس انجام پذیرد. چنین آزمایشاتی در کارگاههای تکثیر و پرورش تاسماهیان در آستراخان ، نظیر برتولسکی در سال ۱۹۸۶ بر روی ماهیان ماده استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) و درکارگاه الکساندروفسکی در سال ۱۹۸۷ بر روی ماهیان ماده تاسماهی روس (*A.gueldenstaedti*) صورت گرفت.

استرلیادهای ماده به مدت چندین سال و بطور ثابت درکارگاه نگهداری گردیدند. قبل از انجام آزمایش این ماهیان نزدیک به یک ماه در حوضچه‌های بتونی با آب جاری قرار داده شدند. وزن ماده‌ها از ۶۰۰ تا ۱۲۰۰ گرم بود . جهت آزمایش از ۱۴ عدد ماهی استفاده شد که سوسپانسیون استونی شده هیپوفیز تاسماهیان به میزان ۱۰ میلیگرم ماده خشک به ازای هر ماهی ماده به آنها تزریق گردید. ۷ ماهی در ساعت ۱۸/۰۰ روز ۳۱ ماه مه و ۷ ماهی دیگر ساعت ۶/۰۰ روز اول ژوئن مورد تزریق قرارگرفتند. دمای آب در دوران آزمایش بطور ثابت بالاتر از ۱۶/۸°C و در لحظه تزریق در ۳۱ ماه مه ، هنگام رسیدگی آخرین ماهیان به ۱۷/۵°C رسیده بود. کنترل ماهیان ماده از نظر مراحل رسیدگی جنسی که از طریق ارزیابی تخم‌ها بدست می‌آید ، ۱۷ ساعت پس از تزریق آغاز و هر دو ساعت یکبار انجام می‌گیرد. نتایج آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

آزمایش با تاسماهی در نهم ماه مه انجام شد. در این آزمایش از ۱۳ ماهی ماده که به میزان ۲۰

جدول ۲ : مدت زمان رسیدگی تاسماهی روس ماده که در ساعات مختلف شبانه‌روز تحت تزریق هورمونی واقع شدند.

زمان از لحظه تزریق برحسب ساعت	تعداد ماهیان ماده بالغ شده پس از تزریق		زمان از لحظه تزریق برحسب ساعت	تعداد ماهیان ماده بالغ شده پس از تزریق	
	در ساعت ۷/۳۰	درساعت ۱۸/۰۰		در ساعت ۷/۳۰	درساعت ۱۸/۰۰
۲۶	۰	۰	۳۱	۱	۱
۲۷	۰	۰	۳۲	۱	۲
۲۸	۱	۰	۳۳	۱	۱
۲۹	۱	۰	۳۴	۰	۰
۳۰	۱	۲	۳۵	۰	۱

میکروگرم سورفاگون (ماده مصنوعی مشابه لولیبرین) به هر ماهی تزریق شده بود استفاده گردید. وزن هر ماهی ۲۵-۲۰ کیلوگرم بود. ماهیان در ماه آوریل تهیه و تا زمان تزریق در استخرهای قزاقستان نگهداری می‌شدند. شش ماهی در ساعت ۷/۳۰ و هفت ماهی دیگر در ساعت ۱۸/۰۰ تحت تزریق سورفاگون قرارگرفتند. دمای آب در لحظه تزریق ۱۴°C و در شب به ۱۳°C رسید ، و روز بعد از تزریق تا ۱۳/۵°C افزایش یافت. میزان رسیدگی ماهیان هر ساعت کنترل می‌گردید. اطلاعات مربوط به مدت زمان رسیدگی در جدول ۲ آمده است.

ثابت شده که مدت زمان لازم جهت اوولاسیون پس از تزریق ترکیبات هورمونی به عوامل مختلف بستگی دارد. دمای آب بعنوان یکی از عوامل مؤثر در مدت زمان رسیدگی در سطح وسیع مورد مطالعه قرارگرفته است (دتلاف و همکاران ،۱۹۸۱؛ ایگومنووا،۱۹۸۶). بعلاوه طولانی شدن مدت زمان رسیدگی به ماهیت ترکیبات هورمونی (بورلاکوف،۱۹۷۸؛ گانچاروف،۱۹۸۵) ، درجه بلوغ مولدین (شوروخین ،۱۹۸۶) ، مناطق صید و مدت زمان نگهداری آنها در اسارت (ایگومنووا، دتلاف ،۱۹۸۳) بستگی دارد.

علاوه بر اینها اطلاعاتی در مورد تأثیر زمان مشخص تزریق (در هر شبانه‌روز) بر مدت زمان رسیدگی وجود دارد (Zohar,1988). این پدیده را می‌توان به وجود ریتم شبانه‌روزی فعالیت گیرنده‌های سیستم هیپوتالاموس ـ هیپوفیز که قادر به تنظیم ترشح هورمون می‌باشند ، مربوط دانست.

درکارگاههای تکثیر و پرورش تاسماهیان به منظور پیش‌بینی زمان رسیدگی ماهیان مولد معمولاً از جداول ویژه‌ای که نشاندهنده رابطه مدت زمان رسیدگی و دما هستند استفاده می‌گردد (دتلاف و همکاران ،۱۹۸۱). با وجود آنکه غالباً تزریق به ترتیبی انجام می‌شود که رسیدگی اولین ماهیان ماده در ساعات صبح و شروع روزکاری صورت پذیرد ، ولی ساعات تزریق ترکیبات هورمونی در طی شبانه‌روز را می‌توان با توجه به دمای آب و به دلخواه انتخاب نمود.

نتایج حاصل از آزمایشهای بعمل آمده بر روی تاسماهیان که یکبار با استفاده از ترکیب هیپوفیزی (جدول ۱) و یکبار با استفاده از مواد مشابه GnRH (جدول ۲) انجام پذیرفت ، تفاوتهای جزئی را در مدت زمان رسیدگی ماهیانی که در ساعات مختلف شبانه‌روز مورد تزریق هورمونی واقع شده بودند ، نشان می‌دهد. این اختلافها کمتر از حدی است که انتظار می‌رفت و به راحتی می‌توان آنها را با نوسانات دمای آب در آزمایشهای مختلف توجیه کرد. حتی اگر این تفاوتها واقعاً نیز وجود داشته باشند ، عملاً نمی‌توان آنها را در نظر گرفت ، زیرا مدت زمان رسیدگی ماهیان در هر دو آزمایش در محدوده معمول و قابل قبولی بوده است.

منابع

- بورلاکوف ،آ.ب. (۱۹۷۸). هورمونهای گنادوتروپینی هیپوفیز ماهی و ویژگیهای تاکسونومیک آنها . مجموعه انتشارات ونیرو. جلد اول ، صفحه ۲۵-۱۷.
- گنجاروف،ب.ف. (۱۹۸۵) . چشم‌انداز استفاده از مواد مصنوعی مشابه لولیبرین برای دستیابی به تولیدات جنسی بالغ از مولدین تاسماهی . ششمین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه فیزیولوژی و بیوشیمی اکولوژیک ماهی . اسناد علمی ، ویلینوس ـ صفحه ۳۸۵-۳۸۴.
- دتلاف ،ت.آ. ؛ گینزبورگ،آ.س. ؛ اشمالگائوزن،او.ای. (۱۹۸۱) . پرورش تاسماهیان . مسکو ، انتشارات «نااوکا» ـ صفحه ۲۲۲.
- ایگومنووا،ل.و. (۱۹۸۶) . قانونمندی زمان رسیدگی و رشد جنینی در استرلیاد. پرورش ذخایر تاسماهیان در شرایط بهره‌برداری جامع از منابع آبی. آستراخان ، صفحه ۱۱۰-۱۰۹.
- ایگومنووا،ل.و. ؛ دتلاف،ت.آ. (۱۹۸۳) . قانونمندی زمان رسیدگی در جمعیت تخمریز ازون برون ولگا. مسایل ماهی‌شناسی. جلد ۲۳ ، دوره اول ـ صفحه ۸۰-۷۶.
- شوروخین،آ.س. (۱۹۸۶) . قانونمندیهای رسیدگی ماهیان استرلیاد ماده پس از تزریق هیپوفیز. مجموعه مقالات علمی مؤسسه دولتی تحقیقات شیلاتی (گوسنیورخ) شماره ۲۵۴ ، صفحه ۱۱۷-۱۰۸ .
- Zohar,Y. 1988 . Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in Teleosts : Basic and applied considerations. Les colloques de l'INRA. N.44 p.47-62 .

اثر هورمونهای استروئیدی بر رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus nigricans* در دوران پیش از تخم‌ریزی در شرایط in vitro و in vivo

(آ.ب.بورلاکوف)

کاربرد موفقیت‌آمیز روش القای هورمونی جهت تسریع بلوغ سلولهای جنسی ماهیان در بازتولید مصنوعی آنها ، تنها به شناخت ویژگیهای کمّی و کیفی ترکیبات هورمونی بکار رفته در ماهی‌پروری بستگی نداشته ، بلکه شاید بیش از آن به امکان ارزیابی اولیه میزان آمادگی مولدین ماده در فرآیند تکثیر وابسته است. تحقیق به منظور تعیین معیارهای انتخاب مولدین مناسب ، از طریق تحریکات هورمونی مدتهاست در دست بررسی بوده و این تحقیقات را می‌توان در چند جهت دسته‌بندی نمود: **الف)** انتخاب مولدین براساس علائم مورفولوژیک (بادنکو،۱۹۶۷؛ وینوگرادف ، ایروخینا،۱۹۷۵ ؛ بالتاجی ،۱۹۸۰) ، **ب)** انتخاب مولدین براساس شدت علائم فیزیولوژیک که بدنبال فرآیند تبادل مواد در مسیرهای مختلف نوروهورمونی بوقوع می‌پیوندد (ل.و.بارنکو و همکاران ۱۹۷۶؛ پاپوف ،سولاماتینا،۱۹۷۸) ، **ج)** انتخاب مولدین براساس اووسیت‌های نسل گذشته (تروسوف ،۱۹۶۷). یکی دیگر از این جنبه‌ها ، ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک فولیکولها پیش از تزریق هورمون است که شاخص واکنش آنها نسبت به هورمونها ، بخصوص هورمونهای استروئیدی مختلف می‌باشد (گنچاروف ،۱۹۶۹، ۱۹۸۱ ؛ بورلاکوف ،خاپچایوا، ۱۹۸۳a,b ،۱۹۸۴؛ خاپچایوا،۱۹۸۸).

هورمونهای استروئیدی متعلق به گروههای عملکردی مختلف از قبیل : آندروژن ، استروژن ، کورتیکواستروئید و گستاژن[1] ، القاءکننده‌های فعال فرآیند بلوغ اووسیت‌ها در برخی از گونه‌های

1- Gestagen

ماهیان بشمار می‌روند (گوریوا- پری‌آبراژنسکایا،۱۹۷۸ ؛ بورلاکوف ، خاپچایوا، ۱۹۷۹،۱۹۸۳،۱۹۸۴ ؛ ساعات ،۱۹۸۰،۱۹۸۵ ؛ خاپچایوا،۱۹۸۸ وهمکاران) ، در حالیکه اووسیت‌های سایرگونه‌های ماهیان قابلیت انتخاب طیف وسیع‌تری از هورمونها را دارا می‌باشند (Goswami,Sundararaj,1971; Jalabert et al.,1972; Jalabert et al.,1973 ; Nagahama et al.,1980).

که این ویژگی ضمن بررسی و تحقیق در مورد امکان جایگزین‌کردن هورمونهای مصنوعی بجای هیپوفیز و هنگام تحریک فرآیند بلوغ درگونه‌های باارزش باید در نظرگرفته شود.

هدف مقاله حاضر ، مطالعه تأثیر هورمونهای استروئیدی متعلق به گروههای عملکردی مختلف نظیر آندروژن ، استروژن ، کورتیکواستروئید و گستاژن ، بر رسیدگی اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و شناسایی استروئیدهای مؤثرتر جهت استفاده در زمینه تکثیر مصنوعی در شرایط طبیعی (in vivo) در یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی یعنی ***Prochilodus nigricans*** *(Headstander)* آمازون) می‌باشد.

مواد و روشها

تحقیقات از اکتبر سال ۱۹۸۷ لغایت مارس ۱۹۸۸ روی ۳۵ عدد ماهی ماده ***Headstander*** در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و ۳۲ عدد ماهی در شرایط طبیعی (in vivo) که از استخرهای مرکز تحقیقات محلی IVITA (شهر پوکالپا ، پرو) تهیه شده بودند ، انجام گردید. از جمله ترکیباتی که جهت پرورش اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) مورد استفاده قرار می‌گیرند ، مخلوطی از مایع ۱۹۹ ، BME (Serra) به نسبت ۵:۱ می‌باشد. انکوباسیون قطعات تخمدان با ۹۰-۷۰ اووسیت در ۵ میلی‌لیتر محلول در ظروف پتریدیش به قطر ۴ سانتیمتر در دمای $26^{\circ}C$-۲۵ به روشی که قبلاً اشاره شد ، انجام پذیرفت (بورلاکوف، خاپچایوا،۱۹۸۳). در هر ظرف پتریدیش قطعات تخمدان مربوط به یک ماهی ماده قرار داده شد. مخلوط نمودن دائمی محلول با استفاده از

وسیله خاصی که به منظور پرورش موجودات در شرایط مصنوعی (in vitro) بکار می‌رود ، انجام می‌گیرد. برای جلوگیری از آلودگی باکتریایی ، آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین به غلظت ۱۰۰۰۰۰ واحد بر لیتر و استرپتومایسین (۰/۰۵ گرم بر لیتر) به محلول اضافه می‌گردد. غلظت هر یک از هورمونهای استروئیدی در محلول ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. ارزیابی کیفی بلوغ اووسیت‌ها ۲۴ ساعت پس از قرار دادن آنها در محلول هورمون‌دار انجام می‌پذیرد. پس از شفاف شدن اووسیت‌ها در مایع سرا (Serra fluid) (بورلاکوف ،گوریوا - پری‌آبراژنسکایا ،۱۹۷۷) به کمک میکروسکوپ دوچشمی می‌توان اووسیت‌های بدون هسته راکه فاقد علائم دژنره شدن (تحلیل) بوده و قطب جانوری در آنها بوضوح مشاهده می‌گردد و تعدادی از اووسیت‌های طبیعی واجد هسته را مشاهده کرد. از طریق اطلاعات فوق درصد رسیدگی اووسیت‌ها محاسبه می‌شود. تزریق ترکیبات هورمونی در شرایط طبیعی (in vivo) درکپور ماهیان براساس رژیم از قبل تعیین شده انجام می‌پذیرد (آ.ب.بورلاکوف ، آ.پ.کریموف ، آ.و.زومورین و سایرین ،۱۹۸۶،۱۹۸۸).

نتایج

تحقیقات بعمل آمده نشان داد که در ماهیان ماده *Prochilodus* که در یک زمان صید شده‌اند ، عکس‌العمل اووسیت‌ها نسبت به هورمونهای استروئیدی مختلف بطور چشمگیری متفاوت است . براساس واکنش ماهیان ماده نسبت به هورمونهای آزمایش شده (استروژنها ، پروژسترون‌ها ، آندروژن‌ها و کورتیکواستروئیدها) می‌توان آنها رابه سه گروه اصلی تقسیم نمود : ماهیان با حساسیت کم (گروه سوم) ، ماهیان با حساسیت متوسط (گروه دوم) ، ماهیان با حساسیت زیاد (گروه اول) تقسیم‌بندی فوق نه تنها براساس ویژگیهای کیفی بلوغ اووسیت‌ها (درصد رسیدگی) بلکه براساس پایداری پاسخ ماهیان ماده مختلف نسبت به مجموعه هورمونهای مورد بررسی انجام پذیرفته است. مبنای این تقسیم‌بندی براساس درصد ماهیان ماده‌ای است که نسبت به هورمونهای مختلف از خود

واکنش نشان می‌دهند.

در اینجا به بررسی رسیدگی اووسیت‌ها در ماهیان ماده تحت تأثیر هورمونهایی که به گروههای عملکردی مختلف تعلق دارند ، می‌پردازیم. در گروه گستاژن‌ها (جدول ۱) هیچیک از هورمونهای مورد آزمایش نتوانست موجب رسیدگی اووسیت‌ها در کلیه ماهیان ماده گردد. تنها 17∝-Oxyprogesterone با ۳/۴۰±۳۸/۸۸ درصد رسیدگی اووسیت‌ها فعال‌ترین القاءکننده بلوغ اووسیت‌ها در ماهیان با حساسیت زیاد بوده که قدرت خود را در تحریک بلوغ اووسیت‌های ماهیان با حساسیت متوسط و پایین ، بطور قابل ملاحظه‌ای از دست داده و واکنش نسبتاً ضعیفی در اووسیت‌های ۵۷٪ از ماهیان مورد بررسی ایجاد می‌نماید. Oxydoprogesterone که به این گروه عملکردی از هورمونهای استروئیدی تعلق دارد دارای باثبات‌ترین اثر در رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus* می‌باشد. این هورمون در ماهیان با حساسیت زیاد موجب رسیدگی ۱/۷۹±۲۶/۰۲ درصد از اووسیت‌ها و در ماهیان با حساسیت متوسط موجب رسیدگی ۱/۲۳±۹/۱۶ درصد از اووسیت‌ها و در ماهیان با حساسیت پایین موجب رسیدگی ۰/۹۳±۲/۸۵ درصد از اووسیت‌ها می‌گردد. در این میان ضعیف‌ترین اثر تحریک‌کنندگی بر رسیدگی اووسیت‌ها را هورمون 6-Dehydro-17∝-acetoxyprogesterone دارا می‌باشد. این هورمون در کلیه ماهیان ماده مورد بررسی متعلق به گروه با حساسیت بالا تنها موجب رسیدگی ۰/۵۹±۵/۳۳ درصد از اووسیت‌ها ، و در ۷۵٪ ماهیان با حساسیت متوسط موجب رسیدگی ۰/۴۶±۱/۶۱ درصد از اووسیت‌ها شده و در ماهیان ماده با حساسیت کم هیچگونه تأثیری بر تحریک رسیدگی اووسیت‌ها ندارد.

گستاژنهایی از قبیل Capronat-17∝-Oxyprogesterone ، Megestrol-acetate و Chloromadinol-acetate در هیچیک از ماهیان ماده *Prochilodus* موجب تحریک بلوغ اووسپت‌ها نگردیدند. شایان ذکر است که در ماهیان با حساسیت کم ، تنها دو گستاژن به نامهای 17∝-Oxyprogesterone و Oxydoprogesterone قادر به تحریک رسیدگی اووسیت‌ها بوده و

در کل اووسیت‌های ۵۷٪ از ماهیان ماده آزمایشی نسبت به این ترکیبات از خود واکنش نشان می‌دهند.

تحقیق درباره اثر استروژنها بر رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus* نشان داد که این گروه از هورمونهای استروئیدی ، در ارتباط با تحریک فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها نقش مؤثرتری دارند (جدول ۱). از میان هشت نوع استروژن (و ترکیبات مشابه مصنوعی آن) که مورد مطالعه قرارگرفت ، تنها دو هورمون موجب بلوغ تعداد کمی از اووسیت‌ها درکلیه ماهیان ماده با حساسیت زیاد گردید. در ۵۰٪ از ماهیان ماده با حساسیت متوسط که مورد مطالعه قرارگرفتند ، Estradiol-3-benzoate تنها اووسیت‌های یک ماهی را بالغ نمود. همچنین Estradiol-17β-benzoate موجب بلوغ ۰/۵۹±۲/۶۶ درصد از اووسیت‌های ماهیان با حساسیت زیاد و ۰/۱۹±۰/۵۱ درصد از اووسیت‌های ماهیان با حساسیت متوسط گردید. سایر استروژنها نتوانستند اووسیت‌های *Prochilodus* را به مرحله رسیدگی برسانند (ادامه جدول ۱).

تحقیق در مورد اثر آندروژن‌ها بر بلوغ اووسیت‌های *Prochilodus* نشان داد که از میان ده نوع هورمون مورد بررسی ، پنج هورمون دارای اثر چشمگیر ، سه هورمون دارای اثر جزیی و دو هورمون نیز هیچ تأثیری در تحریک بلوغ اووسیت‌ها نداشتند (جدول ۲).

متاآندروژن‌ها بیشترین کارایی را در تحریک فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها دارا بوده (جدول ۲) و تنها هورمونی است که درکلیه ماهیان ماده مورد بررسی که به گروههای با حساسیت بالا و متوسط تعلق دارند موجب رسیدگی اووسیت‌ها شده و در ماهیان با حساسیت پایین نیز این هورمون ۵۰٪ از اووسیت‌ها را به بلوغ می‌رساند. میزان رسیدگی اووسیت‌ها تحت تأثیر متاآندرواستنولون (متاآندرواستندیول) در ماهیان با حساسیت بالا ۶/۱۲±۳۷/۳۳ درصد و در ماهیان با حساسیت متوسط ۰/۷۵±۵/۲۸ درصد است. علاوه بر متاآندرواستنولون (متاآندرواستندیول) هورمونهای دیگری از قبیل: متیل آندرواستندیول ، تستوسترون ، متیل تستوسترون و تستوسترون پروپیونات نیز

جدول ۱ : بلوغ اووسیت‌ها در ماهیان ماده *Prochilodus* در شرایط in vitro تحت تأثیر گستاژن‌ها و استروژن‌ها در فصل بازتولید مصنوعی .

هورمون‌های استروئیدی	ماهیان گروه I		ماهیان گروه II		ماهیان گروه III		میزان بلوغ اووسیت‌ها در ماهیانی که حد فاصل گروههای مشخص قرار دارند	
	اووسیت‌ها							
	درصد بلوغ		درصد بلوغ		درصد بلوغ			
	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۹	تعدادکلی (عدد)	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۲	تعدادکلی (عدد)	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴	تعدادکلی (عدد)	I-II	II-III
	تحت تأثیر گستاژنها										
- Progesterone	۱۵/۳۳±۰/۹۰	۱۰۰	۸۵۵	۳/۵۰±۰/۷۱	۷۵	۱۰۹۴	*	۰	۱۴۳۲	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- 17α- oxiprogesterone capronat	۰	۰	۹۲۰	*	۰	۱۱۴۵	*	۰	۱۲۶۴	-	-
- 17α-oxiprogesterone	۳۸/۸۸±۳/۴۰	۱۰۰	۸۶۴	۱۲/۹۱±۲/۶۹	۱۰۰	۱۲۱۰	±۱/۵۸	۵۷	۱۳۱۲	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- 6-dehydro-17α-acetoxyprogesterone	۵/۳۳±۰/۵۹	۱۰۰	۸۴۲	۱/۶۱±۰/۴۶	۷۵	۱۲۷۷	۰	۰	۱۴۷۶	۰/۹۹۹	-
- Oxidoprogesterone	۲۶/۰۲±۱/۷۹	۱۰۰	۸۲۵	۹/۱۶±۱/۲۳	۱۰۰	۱۳۳۲	۲/۸۵± ۰/۹۳	۵۷	۱۳۴۲	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- Megestrol-acetate	*	۰	۸۹۱	*	۰	۱۰۶۲	۰	۰	۱۲۱۰	-	-
- Pregnin	۱۰/۶۶±۰/۷۲	۱۰۰	۹۴۷	۱/۲۷±۰/۴۳	۴۲	۱۱۲۴	۰	۰	۱۲۴۳	۰/۹۹۹	-
- Chlormadinol - acetate	۰	۰	۹۵۲	*	۰	۱۳۶۴	۰	۰	۱۴۵۱	-	-

* در اینجا و در جدول ۲ و ۳ تفاوتهای معنی‌داری دیده نمی‌شود.

ادامه جدول ۱ :

هورمون‌های استروئیدی	ماهیان گروه I			ماهیان گروه II			ماهیان گروه III			میزان بلوغ اووسیت‌ها در ماهیانی که حد فاصل گروههای مشخص قرار دارند	
	اووسیت‌ها										
	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	I-II	II-III
	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۹		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۲		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴			
	تحت تأثیر استروژنها										
- Estradiol-17β	۰	۰	۸۰۶	۰	۰	۱۲۸۱	۰	۰	۱۳۰۵	-	-
- Mestranol	۰	۰	۹۲۴	۰	۰	۱۲۱۱	۰	۰	۱۴۵۲	-	-
- Ethynilstradiol-sulphonate	۰	۰	۹۵۶	۰	۰	۱۱۵۴	۰	۰	۱۳۷۶	-	-
- Estradiol-17β-benzoate	۲/۶۶±۰/۵۹	۱۰۰	۸۹۷	۰/۵۱±۰/۱۹	۳۳	۱۲۹۳	۰	۰	۱۴۲۵	۰/۹۹۰	-
- Estradiol-3-benzoate	۴/۶۶±۰/۴۳	۱۰۰	۸۱۴	۰/۵۰±۰/۲۴	۵۰	۱۰۷۶	۰	۰	۱۲۷۱	۰/۹۹۹	-
- 19-norethystrone	۰	۰	۹۱۸	۰	۰	۹۹۵	۰	۰	۱۳۵۲	-	-
- Estriol	۰	۰	۹۰۲	۰	۰	۹۸۷	۰	۰	۱۲۴۴	-	-
- Estrone	۰	۰	۸۳۴	۰	۰	۱۱۰۲	۰	۰	۱۲۹۶	-	-

در تحریک فرآیند بلوغ اووسیت‌ها در *Prochilodus* از کارایی قابل ملاحظه‌ای برخوردار می‌باشند. میزان رسیدگی اووسیت‌ها تحت تأثیر این هورمونها ، در گروه ماهیان با حساسیت بالا از ۲۲/۷٪ تا ۲۹/۲٪ و در ماهیان با حساسیت متوسط از ۳/۱۲٪ تا ۵/۵۷٪ متغیر است .

گروه دیگری از هورمونها که اثر تحریک‌کنندگی نسبتاً ضعیف‌تری دارند شامل : Testosterone-17-benzoate، Acetate-dehydro-epiandrosterone و 3-acetate-Δ^5-androstendiol-3,17 می‌باشد. این آندروژن‌ها مانند 3-acetate-17-benzoate-Δ^5-androstendiol-3β,17β و 17-benzoate-Δ^5-androstendiol-3β,17β، در هیچیک از ماهیان مورد بررسی موجب رسیدگی اووسیت‌ها نمی‌شوند (جدول ۲) .

از آنجا که کورتیکواستروئیدها نیز قادرند در ماهیانی که به گروههای مختلف سیستماتیک تعلق داشته ، بعنوان محرک فعال در فرآیند بلوغ اووسیت‌ها عمل نمایند. تحقیقات زیادی درباره عملکرد این گروه از هورمونها در فرآیند مذکور و در نمونه‌هایی از ماهیان تراپلوئید صورت گرفته است. این بررسیها نشان داد که انواع مختلف کورتیکواستروئیدها اثرات متفاوتی بر اووسیت‌ها دارند (جدول ۳).

همانطور که در آزمایشهای مربوط به هورمونهای جنسی استروئیدی بیان شد ، در مقایسه گروههای مختلف (از ماهیان با حساسیت پایین تا ماهیان با حساسیت بالا) ، نه تنها طیف اثر هورمونها گسترده می‌شود ، بلکه تعداد ماهیانی که نسبت به هورمونهای معین واکنش نشان می‌دهند و نیز درصد اووسیت‌های رسیده بیشتر می‌گردد. در ماهیان با حساسیت بالا کورتیکواستروئیدهای مورد بررسی موجب بلوغ اووسیت‌ها در کلیه ماهیان ماده می‌شوند ؛ در گروه ماهیان با حساسیت متوسط تنها ۱۰ هورمون (از ۱۸ هورمون) قادر به تحریک بلوغ بوده و در ماهیان با حساسیت پایین هیچیک از هورمونها نمی‌توانند بلوغ اووسیت‌ها را در همه ماهیان ماده سبب شوند. قوی‌ترین اثر

جدول ۲ : رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus* در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) تحت تأثیر آندروژن‌ها در فصل بازتولید مصنوعی .

هورمون‌های استروئیدی	ماهیان گروه I			ماهیان گروه II			ماهیان گروه III			میزان بلوغ اووسیت‌ها در ماهیانی که حد فاصل گروههای مشخص قرار دارند	
	اووسیت‌ها										
	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)		
	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۹		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۲		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴		I-II	II-III
- Testosterone	۲۷/۶۶±۲/۴۰	۱۰۰	۹۳۹	۵/۵۲±۱/۲۵	۶۷	۱۱۳۳	۰/۵۲±۰/۲۰	۱۳	۱۴۰۷	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- Metiltestosterone	۲۹/۲۱±۲/۰۸	۱۰۰	۸۴۶	۶/۷۱±۱/۳۹	۸۳	۱۲۳۷	۰	۰	۱۳۴۴	۰/۹۹۹	-
- Testosterone-propionate	۲۹/۶۷±۳/۴۷	۱۰۰	۱۰۵۱	۲/۲۱±۰/۶۲	۷۵	۱۰۸۶	۰	۰	۱۴۷۵	۰/۹۹۹	-
- Testosterone-17β-benzoate	۱۷/۳۳±۲/۰۴	۱۰۰	۹۱۵	۲/۴۶±۰/۸۱	۵۰	۱۰۵۱	۰	۰	۱۳۸۴	۰/۹۹۹	-
- Acetate dehydro-epiandrosterone	۶/۱۲±۱/۱۸	۱۰۰	۱۱۲۱	۰/۵۷±۰/۱۵	۲۹	۱۲۴۵	۰	۰	۱۳۰۷	۰/۹۹۹	-
- Metaandrostendiol	۳۷/۳۳±۶/۱۲	۱۰۰	۸۶۴	۵/۲۸±۰/۷۵	۱۰۰	۱۰۳۴	۰/۶۵± ۰/۲۱	۵۰	۱۲۶۴	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- Metilandrostendiol	۳۰/۳۱±۲/۷۵	۱۰۰	۷۸۵	۳/۷۱±۰/۵۱	۶۷	۹۸۷	۰	۰	۱۳۵۱	۰/۹۹۹	-
- 3-acetate- Δ^5-androstendiol-3β,17α	۳/۸۲±۰/۵۸	۱۰۰	۸۸۱	۰	۰	۱۱۲۳	۰	۰	۱۲۷۲	-	-
- 3-acetate-17-benzoate- Δ^5-androstendiol-3β,17α	۰	۰	۸۰۴	۰	۰	۱۰۵۶	۰	۰	۱۳۰۵	-	-
- 17-benzoate- Δ^5-androstendiol-3β,17α	۰	۰	۷۵۹	۰	۰	۱۰۸۱	۰	۰	۱۲۸۳	-	-

تحریک‌کنندگی در این گروه از هورمونها به مونواستات[1] "R" تعلق دارد. از نظر اثر تحریک کنندگی (با غلظت معین) ، این کورتیکواستروئید بیشترین کارایی را در میان ۴۳ هورمون بررسی شده از خود نشان داد. در ماهیان با حساسیت بالا این هورمون موجب رسیدگی ۳/۵۶±۴۵/۲۱ درصد و در ماهیان با حساسیت متوسط موجب رسیدگی ۱/۵۵±۱۱/۸۴ درصد از اووسیت‌ها گردید (جدول ۳). هورمون "R" (Reichstein substance) از نظر میزان کارایی در جایگاه دوم قرار دارد. لیکن برخلاف کارایی زیادی که این هورمونها در تحریک فرآیند رسیدگی اووسیت‌های ماهیان با حساسیت زیاد و متوسط دارا هستند ، در ماهیان با حساسیت کم اثر نسبتاً ضعیفی از خود بر جای می‌گذارند. بیشترین کارایی در تحریک فرآیند بلوغ در ماهیان با حساسیت کم در کورتکسولون و استات کورتکسولون دیده شد که هم از نظر درصد بلوغ اووسیت‌ها و هم از نظر درصد ماهیان ماده‌ای که تحت تأثیر این ترکیبات به مرحله رسیدگی اووسیت‌ها می‌رسند نسبت به هورمونهای دیگر از کارایی بالاتری برخوردارند.

پنج نوع از کورتیکواستروئیدها ، از جمله Acetate prednisone ، Hydrocortisone ، Acetate cortisone ، هورمون "R" (Reichstein substance) ، Acetate cortexolone (جدول ۳) و 21-acetoxypregnanolone (ادامه جدول ۳) اثر تحریک‌کنندگی قابل ملاحظه‌ای (۲۲٪) بر بلوغ ماهیان ماده با حساسیت بالا داشته و تنها سه هورمون از ۱۸ نوع کورتیکواستروئید شامل 16α-oxycortexolone , Prednisone , Prednisolone اثر تحریکی ضعیفی در ماهیان ماده *Prochilodus* نشان دادند. میزان رسیدگی اووسیت‌ها تحت تأثیر این هورمونها حتی در ماهیان با حساسیت بالا از ۸٪ تجاوز نمی‌کند (جدول ۳).

در اینجا ضمن بررسی واکنش‌های متفاوت اووسیت‌های ماهیان مختلف نسبت به هورمونهای استروئیدی از انواع گروههای عملکردی ، سعی داریم علل وجود این ناهماهنگی‌ها را در واکنش‌ها

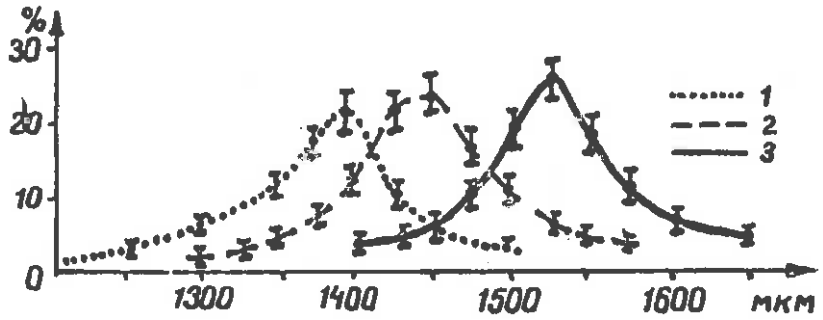
1- Monoacetate

جدول ۳ : رسیدگی اووسیت‌های *Prochilodus* در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) تحت تأثیر کورتیکواستروئیدها ، پرگننولون و فرآورده‌های آن در فصل بازتولید مصنوعی

هورمون‌های استروئیدی	ماهیان گروه I			ماهیان گروه II			ماهیان گروه III			میزان بلوغ اووسیت‌ها در ماهیانی که حد فاصل گروههای مشخص قرار دارند	
	اووسیت‌ها										
	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)		
	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴		I-II	II-III
	تحت تأثیر کورتیکوستروئیدها										
- Prednisolone	۶/۱۴±۱/۰۳	۱۰۰	۸۳۱	۱/۶۹±۰/۷۷	۵۵	۱۱۱۵	۰	۰	۱۴۱۶	۰/۹۹۰	-
- Prednisone	۷/۱۲±۱/۰۶	۱۰۰	۷۲۷	۰/۵۷±۰/۲۱	۳۳	۱۲۷۳	۰	۰	۱۲۱۷	۰/۹۹۰	-
- Acetate-prednisone	۲۵/۲۱±۴/۳۲	۱۰۰	۹۱۵	۳/۰۰±۰/۸۳	۵۰	۱۱۸۴	۰	۰	۱۳۴۴	۰/۹۹۰	-
- Epicortisol	۱۲/۶۱±۰/۶۷	۱۰۰	۸۵۴	۲/۱۵±۰/۶۴	۹۱	۱۳۰۵	۰	۰	۱۲۷۶	۰/۹۹۰	-
- Hydrocortisone	۲۲/۱۲±۱/۶۶	۱۰۰	۷۸۷	۵/۵۷±۱/۱۰	۱۰۰	۱۱۵۳	۱/۲۴±۰/۳۷	۶۷	۱۴۲۷	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Acetate cortisone	۲۷/۴۱±۳/۰۷	۱۰۰	۹۳۴	۴/۲۳±۰/۳۴	۱۰۰	۱۳۱۷	۲/۱۵±۰/۵۹	۵۷	۱۳۷۳	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Acetate desoxycorticosterone	۱۸/۰۷±۱/۷۴	۱۰۰	۸۳۲	۵/۰۷±۰/۳۷	۱۰۰	۱۲۵۳	۱/۶۵±۰/۴۱	۴۳	۱۲۹۷	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Monoacetate "R"	۴۵/۲۱±۳/۵۶	۱۰۰	۷۸۷	۱۱/۸۴±۱/۵۵	۱۰۰	۱۱۲۱	۱/۵۶±۰/۴۳	۴۳	۱۱۹۲	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Substance "R"	۳۳/۴۲±۳/۱۵	۱۰۰	۸۷۵	۱۱/۲۱±۱/۴۷	۱۰۰	۱۲۳۷	۰/۷۵±۰/۱۸	۲۸	۱۲۵۴	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Cortexolone (11-desoxycortisol)	۱۹/۲۶±۱/۷۳	۱۰۰	۸۱۵	۶/۷۱±۰/۶۸	۱۰۰	۱۳۱۲	۳/۲۱±۰/۴۶	۷۸	۱۴۷۱	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- Acetate cortexolone	۲۲/۰۸±۲/۱۲	۱۰۰	۹۲۱	۸/۵۴±۱/۴۲	۰	۱۱۷۵	۲/۳۷±۰/۵۹	۷۸	۱۵۱۵	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰
- 16α-oxycortexolone	۳/۷۹±۰/۷۶	۱۰۰	۷۵۲	-		۱۲۵۳	-	۰	۱۲۱۶	-	-

ادامه جدول ۳:

هورمون‌های استروئیدی	ماهیان گروه I			ماهیان گروه II			ماهیان گروه III			میزان بلوغ اووسیت‌ها در ماهیانی که حد فاصل گروههای مشخص قرار دارند	
	اووسیت‌ها										
	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	درصد بلوغ		تعدادکلی (عدد)	I-II	II-III
	M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۹		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۲		M ± m	درتعدادی از ماده‌ها n=۱۴			
	تحت تأثیر پرگننولون و فرآورده‌های آن										
- Pregnenolone	۱۹/۵۵±۳/۰۴	۱۰۰	۸۷۴	۲/۱۲±۰/۸۸	۱۰۰	۱۳۵۴	۰/۵۷±۰/۱۶	۲۸	۱۳۴۲	۰/۹۹۹	-
- 17α-oxypregnenolone	۱۵/۸۱±۱/۹۳	۱۰۰	۹۰۷	۲/۱۵±۰/۶۳	۶۷	۱۲۹۶	-	۰	۱۲۸۴	۰/۹۹۹	-
- 21-acetoxypregnenolone	۲۲/۵۳±۱/۰۷	۱۰۰	۷۹۸	۵/۰۶±۰/۷۲	۱۰۰	۱۳۱۲	۰/۵۴±۰/۱۸	۴۳	۱۴۷۳	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- Acetate dehydropregnenolone	۱۴/۲۲±۱/۸۲	۱۰۰	۶۷۵	۳/۲۱±۰/۶۷	۸۳	۱۱۵۰	۰	۰	۱۱۷۵	۰/۹۹۹	-
- Oxydopregnenolone	۱۹/۴۱±۲/۳۷	۱۰۰	۸۴۳	۵/۵۳±۰/۶۹	۱۰۰	۱۲۲۴	۱/۳۳±۰/۴۵	۴۳	۱۲۵۴	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹
- Acetate oxydopregeneolone	۱۹/۱۲±۰/۹۲	۱۰۰	۷۸۶	۵/۶۹±۰/۶۷	۱۰۰	۱۰۸۶	۱/۲۸±۰/۴۷	۴۳	۱۲۰۵	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹



ترکیب اندازه‌های اووسیت‌ها در گنادهای ماهیانی که دارای حساسیت‌های متفاوت نسبت به هورمونهای استروئیدی می‌باشند :
۱) ماهیان با حساسیت کم ، ۲) ماهیان با حساسیت متوسط ، ۳) ماهیان با حساسیت بالا.

توضیح دهیم. بدین منظور در وهله نخست تحقیقاتی در زمینه ترکیب اندازه اووسیت‌ها در کلیه ماهیان مورد بررسی انجام گرفت. نتایج حاصل از این تحقیقات درتصویر فوق نشان داده شده است. همانطورکه در تصویر مشخص است ، ترکیب اندازه اووسیت‌ها درگروههای مختلف ماهی که براساس توانایی واکنش آنها نسبت به بلوغ ، تحت تأثیر هورمونهای استروئیدی مختلف دسته‌بندی شده‌اند ، بشدت متفاوت می‌باشد. اووسیت‌های کوچکتر درگروه ماهیان با حساسیت کم مشاهده شده و قطر متوسط اووسیت‌ها در ماده‌های این گروه بالغ بر ۱۶/۴±۱۱۶۳ میکرومتر است. بعلاوه در این گروه اختلاف چشمگیری در اندازه‌های اووسیت‌ها مشاهده می‌شود (از ۸۵۰ تا ۱۴۰۰ میکرومتر). در ماهیان با حساسیت متوسط ، دامنه تغییرات اندازه اووسیت‌ها محدودتر (از ۱۰۰۰ تا ۱۵۵۰ میکرومتر) و قطر متوسط آنها ۱۸/۸±۱۲۹۳ میکرومتر می‌باشد و بالاخره در ماهیان با حساسیت بالا قطر اووسیت‌ها بیشتر و دامنه تغییرات اندازه آنها کوچکتر است : در این ماهیان قطر متوسط اووسیت‌ها ۱۷/۲±۱۴۷۳/۱ میکرومتر ، اندازه اووسیت‌ها از ۱۲۰۰ تا ۱۷۰۰ میکرومتر متغیر است. این آمار و ارقام بار دیگر ناهمگونی موجود در جمعیت *Prochilodus* را در شرایط طبیعی از نظر میزان آمادگی جهت تکثیر ، با توجه به وضعیت ریخت‌شناسی آنها تأیید می‌نماید.

جدول ۴ : بلوغ ماهیان ماده *Prochilodus* با درجات مختلف حساسیت در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) نسبت به هورمونهای استروئیدی ، ترکیبات مختلف هورمونی در شرایط طبیعی (in vivo) .

مدت زمانی که پس از تزریق ثانویه اوولاسیون اتفاق می‌افتد (ساعت)	درصد بلوغ ماده‌ها	دُز تزریق (کیلوگرم /میکروگرم)		تعداد ماهیان ماده در آزمایش (عدد)	ترکیب هورمونی	میزان حساسیت ماهی ماده
		تزریق‌دوم	تزریق‌اول			
۱۰-۱۶	۴۰	۶	۲	۵	کورتکسولون	حساسیت زیاد
۸-۱۱	۸۰	۶	۲	۵	مونواستات	
۸-۱۱	۸۰	۳/۵	۰/۵	۵	هیپوفیزکپور	
۱۴-۱۸	۴۰	۶	۲	۵	مونواستات	حساسیت متوسط
۱۲-۱۸	۵۰	۳/۵	۰/۵	۴	هیپوفیزکپور	
-	۰	۶	۲	۴	مونواستات	حساسیت کم
۲۵	۲۰	۴/۵	۰/۶	۴	هیپوفیزکپور	

توضیح : فاصله زمانی بین تزریق‌ها ۱۲ ساعت است.

علاوه بر تشخیص و ارزیابی تفاوتهای موجود در جمعیت ماهیان از نظر میزان آمادگی برای تکثیر، بدنبال تحقیقات بعمل آمده در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) ، هورمون مونواستات "R"[1] بعنوان مؤثرترین هورمون محرک فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها درگروههای مختلف ماهی (از نظر حساسیت) معرفی گردید. این امر امکان انجام آزمایشهای مربوطه را در سیستم in vivo (در شرایط طبیعی) در حد لازم فراهم ساخت. براساس نتایج تکّه‌برداری (بیوپسی) مربوط به تعیین ترکیب اندازه‌ای اووسیت‌ها و واکنش آنها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) نسبت به Estradiol-17β-benzoate ومتاآندروستنولون[2] ۵ (عدد) ماهی ماده با حساسیت بالا ، ۹(عدد)با حساسیت متوسط و ۸(عدد) نیز با حساسیت کم نسبت به هورمونهای استروئیدی شناخته شدند. براساس نمودار بدست آمده

1- Monoacetate "R" *2- Metaandrostenolone*

قبلی و رژیم تزریق کورتیکواستروئیدها به کپور ماهیان (آ.ب.بورلاکوف ، آ.پ.کریموف ، آ.و.زومورین ،۱۹۸۶،۱۹۸۸؛ آ.ب.بورلاکوف ، م.ای.تیتوف ، و.آ.وینوگرادف و سایرین ،۱۹۸۹) آزمایشهایی در زمینه بلوغ ماهیان ماده *Prochilodus* در شرایط طبیعی (in vivo) در دمای ۲۶ درجه سانتیگراد انجام گردید که نتایج آن در جدول ۴ آمده است.

بنابر آمار و اطلاعات موجود ، ماهیان ماده‌ای که از درجات مختلف حساسیت نسبت به هورمونهای استروئیدی برخوردارند ، واکنش‌های ناهمسانی نسبت به تحریکات هورمونی یکسان از خود بروز می‌دهند. مطلوب‌ترین نتایج حاصل از تحریک هورمونی تنها در گروه ماهیان ماده با حساسیت بالا بدست می‌آید و ماهیان با حساسیت پایین ابداً جهت بازتولید مصنوعی تحت شرایط تحریک هورمونی مناسب نمی‌باشند.

بدین ترتیب رابطه دقیقی بین حساسیت آندوکرینولوژیک اووسیت‌ها نسبت به هورمونهای استروئیدی مختلف ، اندازه اووسیت‌ها در تخمدان ماهیان هم سن و میزان آمادگی ماهیان ماده جهت تحریک هورمونی بلوغ وجود دارد.

نتیجه‌گیری

آزمایشهای بعمل آمده نشان دادند که هورمونهای استروئیدی متعلق به گروههای مختلف عملکردی ، فعال‌ترین القاءکننده‌های فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) در *Prochilodus* بشمار می‌روند ؛ از میان گستاژنها : 17-Oxyprogesterone و اکسی دوپروژسترون ، از میان آندروژنها : متاآندرواستنولون ، متیل آندرواستندیول ، متیل تستوسترون، تستوسترون پروپیونات و تستوسترون ، از میان کورتیکواستروئیدها : استات پردنیزون ، استات کورتیزون ، منواستات ترکیب "R" و خود هورمون "R" ، و بطورکلی فقط استروژنها پتانسیل قابل توجهی در تحریک پروسه‌های بلوغ اووسیت‌های *Prochilodus* را ندارند. در ماهیانی که از نظر

سیستماتیک به گروههای مختلف تعلق دارند ، ثابت شد که حساسیت اووسیت‌ها نسبت به هورمونهای استروئیدی یکسان نمی‌باشد. در برخی از کپورماهیان از قبیل لوچ لجنی *Misgurnus fossilis* ، کپور معمولی *Cyprinus carpio L.* و کپور نقره‌ای *Hypophthalmichthys molitrix (Val.)* ، فعال‌ترین القاءکننده‌های فرآیند بلوغ اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) (گوریوا- پری‌آبراژنسکایا ،۱۹۷۸؛ بورلاکوف ،خابچایوا،۱۹۷۹، ۱۹۸۳،۱۹۸۴ ؛ ساعات ،۱۹۸۰،۱۹۸۵؛ خابچایوا،۱۹۸۸) و در محیط طبیعی (in vivo) (کیرشنبلات ،۱۹۶۱ ؛ آ.ب.بورلاکوف ، آ.پ.کریموف ، آ.و.زومورین و سایرین ،۱۹۸۶،۱۹۸۸؛ آ.ب.بورلاکوف ، م.ای.تیتوف ، و.آ.وینوگرادوف و سایرین ،۱۹۸۹) هورمونهای متعلق به گروههای مختلف عملکردی از قبیل آندروژنها ، گستاژنها و کورتیکواستروئیدها می‌باشند. در برخی آزادماهیان و گربه‌ماهیان ، اووسیت‌ها توان پذیرش طیف وسیع‌تری از هورمون‌ها را دارا می‌باشند. بطوریکه در قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Fostier et al.,1973; Jalabert et al.,1972; B.Jalabert,1973) و در آزادماهی *Oncorhynchus masou* [1] (Nagahama et al.,1980) رسیدگی اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی تنها به کمک پروژسترون و فرآورده‌های آن حاصل شد و کورتیکواستروئیدها در این فرآیند کاملاً بی‌تأثیر می‌باشند. همچنین تستوسترون (هورمون استروئیدی از گروه آندروژن‌ها) بر قزل‌آلای رنگین‌کمان بی‌اثر بوده ، در حالیکه در آزادماهی موجب رسیدگی اووسیت‌ها می‌گردد. برعکس درگربه‌ماهی *Heteropneustes fossilis Bloch.* اووسیت‌ها تنها نسبت به کورتیکواستروئیدهایی از قبیل : دزوکسی کورتیکوسترون ، هیدروکورتیزون و استات‌های آنها واکنش نشان داده و در مقابل پروژسترون و فرآورده‌های آن هیچ واکنشی از خود نشان نمی‌دهند (Sundararaj,Goswami,1966; Goswami, Sundararaj,1971). بدین ترتیب در ماهیان مختلف (از نقطه‌نظر سیستماتیک) ویژگیهای خاصی در تنظیم رسیدگی اووسیت‌ها بدنبال

1- Cherry Salmon

اثر هورمونهای استروئیدی از گروههای مختلف عملکردی وجود دارد. این مسئله ظاهراً بدلیل وجود انواع مختلف استروئیدوژن‌ها در تخمدانهای این ماهیان است. این نظریه نه تنها به کمک آزمایشهایی که در زمینه رسیدگی اووسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی تحت تأثیر هورمونهای استروئیدی مختلف انجام گرفته ، بلکه از طریق بررسی مستقیم ویژگیهای استروئیدوژنز در این ماهیان تأیید شده و نشان می‌دهد که در ماهی قزل‌آلا استروئیدوژنز با سنتز یکی از انواع پروژسترون (مشتقات پروژسترون) به اتمام می‌رسد در حالیکه در ماهی کپور استروئیدوژنز به این نقطه محدود نمی‌شود (ساکون ، گوریوا- یری‌آبراژنسکایا ،۱۹۷۵ ۱۹۷۶ ;B.jalabert et al.,1973).

از طرف دیگر ، براساس میزان آمادگی اووسیت‌های ماهیان ماده مختلف نسبت به بلوغ ، حساسیت‌های متفاوتی نسبت به هورمونها را از خود نشان می‌دهند. در حال حاضر در برخی گونه‌ها میزان حساسیت اووسیت‌ها نسبت به تأثیرات هورمونی در افراد مختلف یک گونه در دوران آمادگی جهت تکثیر مورد بررسی قرار گرفته است (گناتچنکو،۱۹۸۶،۱۹۸۱،۱۹۷۹،۱۹۷۶ ؛ گنچاروف ۱۹۷۶، ساعات ،۱۹۸۰ ؛ بورلاکوف ، خاپچایوا ،۱۹۸۴،۱۹۸۳ ؛ خاپچایووا،۱۹۸۸؛ Epler P., Bieniarz,1978; Iwamatsu, Katch,1978). ثابت شده که هر چه حساسیت ماهی ماده بیشتر باشد ، به طیف گسترده‌تری از غلظت‌های هورمونی پاسخ می‌دهد (بورلاکوف-خاپچایوا ۱۹۸۴،۱۹۸۳ ؛ خاپچایوا ،۱۹۸۸). در این صورت توانایی عکس‌العمل فیزیولوژیک به شدت افزایش می‌یابد. ظاهراً نوع تخمریزی نیز می‌تواند ویژگی تغییر حساسیت اووسیت‌ها نسبت به هورمونها را تعیین نماید. بدین ترتیب در ماهیانی که یکبار اقدام به تخمریزی می‌نمایند ، یکبار نیز در فصل تکثیر با نزدیک شدن زمان آمادگی ماده‌ها جهت تخمریزی میزان حساسیت آندوکرینولوژیک آنها نسبت به هورمون‌ها افزایش می‌یابد. در ماهیانی که تخمریزی آنها به دفعات صورت می‌گیرد ، افزایش حساسیت تخمک‌ها نسبت به هورمونها نیز طی مراحل مختلف و همگام با آمادگی مراحل گوناگون جنسی اووسیت‌ها جهت بلوغ و اوولاسیون صورت می‌گیرد ، بطوریکه در فواصل بین

رسیدگی هر بخش از تخمک‌ها حساسیت اووسیت‌ها نیز نسبت به هورمونها کاهش می‌یابد (چاپچایوا،۱۹۸۸).

در *Prochilodus* نیز مانند سایر ماهیانی که یکبار تخمریزی می‌کنند ، حساسیت فولیکولهای تخمدان نسبت به هورمونهای اگزوژن با نزدیک شدن فصل تکثیر طبیعی بتدریج افزایش یافته ، لیکن در این گونه نیز ناهمگونی قابل ملاحظه‌ای در جمعیت ماهیان از نظر آمادگی اووسیت‌ها جهت تکثیر مشاهده می‌شود. تجزیه و تحلیل ریخت‌شناسی ترکیب اندازه‌ای اووسیت‌ها در این گونه ، وجود اختلاف در میزان آمادگی سه گروه از ماهیان ماده (با حساسیت بالا ، متوسط و پایین) را برای تکثیر بخوبی تأیید می‌نماید. هر چند اندازه اووسیت درگنادهای ماهیان ماده هم‌سن و هم‌اندازه بزرگتر باشد ، حساسیت آندوکرینولوژیک آنها نسبت به هورمونهای استروئیدی اگزوژن بیشتر می‌گردد (به تصویر مراجعه شود). بدین ترتیب اطلاعات فوق یکبار دیگر ناهمگونی موجود در جمعیت *Prochilodus* در طبیعت را از نظر میزان آمادگی برای تکثیر نشان داده و این مسئله در شرایط رو به تغییر محیط زیست بی‌تردید از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است.

در تجزیه و تحلیل ناهمگونی موجود در جمعیت *Prochilodus* از نظر میزان حساسیت اووسیت‌های آنها نسبت به هورمون‌ها ، ظاهراً بایستی درباره تأثیر کورتیکواستروئیدها که بعنوان فعال‌ترین گروه هورمونی القاءکننده فرآیند بلوغ اووسیت‌ها بشمار می‌روند ، مطالعات جامع‌تری انجام پذیرد. آزمایشهای بعمل آمده نشان داد که از ۱۸ نوع کورتیکواستروئید مطالعه شده تنها ۳ هورمون (16α-Oxycortexolone , Prednisolone , Prednisone) دارای قابلیت تحریکی ضعیفی در فرآیند بلوغ اووسیت‌ها می‌باشند.

این ویژگی یعنی تأثیر فیزیولوژیک هورمونهای کورتیکواستروئیدی تا حد زیادی موجب تمایز این گروه هورمونی از سایر هورمونها نظیر استروژنها ، آندروژنها و گستاژنها می‌شود. شایان ذکر است که اکثر کورتیکواستروئیدهای مورد مطالعه علاوه بر ویژگی القای فرآیند بلوغ ، باثبات‌ترین اثر را در

ماهیان مختلف (از نظر حساسیت نسبت به هورمون‌ها) از خود نشان می‌دهند. این مسئله بویژه در ماهیان با حساسیت پایین بارز است (جدول ۳). در هیچیک از گروههای عملکردی هورمونهای استروئیدی چنین ثبات نسبی در تأثیرگذاری بر ماده‌ها مشاهده نمی‌شود. بررسی مقایسه‌ای ماهیان مختلف نشان داد که در *Cyprinus carpio L.* و *Ictiobus cyprinella (Val.)* از میان کورتیکواستروئیدهای مورد مطالعه بیشترین اثر تحریکی بر بلوغ اووسیت‌ها به کورتکسولون (ترکیب "S" Reichstein) تعلق دارد ، در حالیکه در *Hemiculture* - *Ctenobrycon hauxwelianus* , *eigenmanni (Jord et Metz)* بیشترین اثر تحریکی ، در استات ترکیب "S" مشاهده می‌شود (بورلاکوف ، خاپچایوا ،۱۹۸۴، ۱۹۸۳، ۱۹۷۹ ؛ خاپچایوا ، ۱۹۸۸). در دیگر کپورماهیان از جمله ماهی طلایی[۱] *Carassius auratus (Bloch.)* بیشترین اثر تحریکی بلوغ به II-desoxycorticostrone و II-desoxycortisole (B.jadabert et al.,1973) تعلق دارد. یافته‌های فوق نشان می‌دهد در *Prochilodus* نیز همانند بسیاری از کپور ماهیانی که قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، ظاهراً کورتیکواستروئیدهایی که به منواستات ترکیب "R" شباهت نزدیکی دارند نقش مهمی در تحریک بلوغ اووسیت‌ها ایفاء می‌کنند. آمار و اطلاعات بدست آمده در سیستم in vitro ، در شرایط طبیعی نیز کاملاً تأیید می‌شوند. به کمک این استروئید می‌توان همپای استفاده از هیپوفیز کپور به بازتولید مصنوعی *Prochilodus* مبادرت ورزید ، در حالیکه کورتکسولون ضمن بازتولید مصنوعی کپور ، آمور سفید[۲] و ماهی بوفالو[۳] تغییراتی در هیپوفیز آنها ایجاد می‌نماید (آ.ب.بورلاکوف ، آ.پ.کریموف و سایرین ۱۹۸۸ ،۱۹۸۶ ؛ آ.ب.بورلاکوف ، م.ای.تیتوف و سایرین، ۱۹۸۹) ، بطور قابل ملاحظه‌ای جهت تحریک فرآیند بلوغ در *Prochilodus* دارای توان کمتری بوده (جدول ۴) و به همین دلیل استفاده از آن در این گونه توصیه نمی‌شود.

۱- ماهی حوض

2- Grass Carp *3- Buffalos*

در *Prochilodus* برخلاف سایر نماینده‌های کپور ماهیان که قبلاً مورد بررسی قرار گرفتند منواستات ترکیب "R" نسبت به ترکیب "R" دارای نیروی محرک بسیار قوی‌تری می‌باشد. قانون مشابهی در زمینه کارایی اثر پردنیزون و استات آن وجود دارد که در این مورد استات پردنیزون ، از هورمون پردنیزون بسیار باثبات‌تر است . احتمالاً در *Prochilodus* طولانی شدن اثر استات‌ها در تنظیم فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها نسبت به سایر ماهیان از اهمیت بیشتری برخوردار است. ضمن تجزیه و تحلیل فرآیند بلوغ اووسیت‌ها تحت تأثیر هورمونهای گروههای مختلف عملکردی در *Prochilodus* که یکی از نمایندگان کپور ماهیان است (خانواده *Characidae*) ، ثابت گردید که در ماهیان متعلق به گروههای مختلف سیستماتیک ، بی‌تردید ویژگیهای معینی جهت تنظیم فرآیند بلوغ اووسیت‌ها بدنبال اثر هورمونهای استروئیدی گروههای مختلف عملکردی وجود دارد. ظاهراً این امر موجب بروز تفاوتهایی در استروئیدوژنز تخمک در این ماهیان می‌شود. در این صورت مطالعه ویژگیهای استروئیدوژنز در ماهیان مختلف (با توجه به جایگاه سیستماتیک) نه تنها از نظر تئوریک (از نقطه‌نظر تکاملی ، فیزیولوژی مقایسه‌ای و آندوکرینولوژی) بلکه از نظر عملی نیز جهت تحول نظریات مربوط به تنظیم هورمونی تکثیر و یافتن ترکیبات هورمونی مناسب و ارزان که بطور مؤثر در بازتولید مصنوعی گونه‌های ارزشمند از آنها استفاده نمود ، از اهمیت زیادی برخوردار است.

در اینجا نتایج مطالعات مربوط به حساسیت اووسیت‌های *Prochilodus* را نسبت به هورمونهای اگزوژن در فصل بازتولید مصنوعی از دیدگاه ارزش کاربردی آنها به تفصیل بررسی می‌کنیم. همانطورکه قبلاً بیان گردید ، ماهیان ماده *Prochilodus* هنگام نگهداری در استخرها در دوران آماده‌سازی جهت بازتولید مصنوعی ، از نظر آمادگی برای تکثیر در شرایط متفاوتی می‌باشند. این مسئله در وهله نخست بطور غیرمستقیم در قابلیت‌های متفاوت واکنش تخمک‌های این ماهیان نسبت به هورمونهای دریافتی ظاهر می‌شود. در یک استخر واحد ، بطور همزمان ماده‌هایی که اووسیت‌های آنها عملاً تحت تأثیر هورمونهای مختلف استروئیدی بالغ نشده‌اند (گروه ماده‌های با

حساسیت پایین) ، ماده‌هایی که اووسیت‌های آنها نسبت به اکثر هورمونهای استروئیدی ازگروههای مختلف عملکردی واکنش نشان داده ولی نیروی واکنش ضعیفی دارند (کمتر از ۱۰٪ ، درگروه ماده‌های با حساسیت متوسط) و بالاخره ماده‌هایی که دارای نیروی شدید واکنش نسبت به بسیاری از هورمونهای استروئیدی هستند (ماده‌های با حساسیت بالا) ، مشاهده می‌گردند. طبیعی است که چنین ناهمگونی در حساسیت ماده‌ها نسبت به ترکیبات هورمونی موجب بروز یکسری مشکلات در استفاده یکسان از ترکیبات هورمونی استاندارد برای تحریک مصنوعی تکثیر *Prochilodus* در آبزی‌پروری می‌گردد. بمنظور حل موفقیت‌آمیز این مشکلات و طراحی تکنولوژی تحریک هورمونی در بازتولید مصنوعی این موجودات با ارزش ماهی‌پروری در آمازون ، انتخاب ماهیانی که بیشترین حساسیت را نسبت به ترکیبات هورمونی دارند با توجه به خصوصیات ژنتیکی آنها ضروری است. تحقق این امر به ما امکان می‌دهد که از میان مولدین ماده مختلفی که در یک استخر جای دارند ، ابتدا از ماده‌های بالغ با آمادگی بیشتر در تکثیر مصنوعی استفاده کنیم (ماده‌های با حساسیت بالا) . می‌توان ماهیان ماده‌ای که دارای حساسیت متوسط و آمادگی نسبتاً کمتری می‌باشند را مدت زمانی در استخر دیگری نگهداری نمود تا در این فاصله حساسیت آنها بتدریج نسبت به هورمونها افزایش یافته و یا در صورت استفاده از آنها در فرآیند ماهی‌پروری به همراه ماهیان ماده با آمادگی بیشتر (با حساسیت بالا) با استفاده از دُزهای بیشتر یا افزایش دفعات تزریق هورمونی حساسیت آنها را نیز بالا برد (در صورت امکان فاصله زمانی بین تزریق‌ها باید افزایش یابد). ماده‌های با حساسیت پایین بطور جداگانه در استخر دیگری نگهداری شده و حساسیت آنها بطور تدریجی نسبت به تحریک هورمونی افزایش می‌یابد ، در پایان فصل تکثیر مصنوعی ، پس از کنترل مکرّر حساسیت آنها نسبت به هورمونها ، می‌توان از این ماهیان جهت دستیابی به سلولهای جنسی استفاده نمود و یا آنها را برای فصل بعد ذخیره ساخت.

ارزیابی آمادگی عملی ماهیان ماده برای بازتولید مصنوعی ، با توجه به واکنش آنها نسبت به

هورمونهای استروئیدی مشخص در سیستم in vitro ، با موفقیت انجام می‌گیرد. بنابراین بمنظور جداسازی گروه ماده‌های با حساسیت بالا از سایر گروهها ، کافی است واکنش اووسیت‌های آنها را که از طریق بیوپسی مشخص می‌شود تنها نسبت به 3-acetate-Δ^5-androstendiol-3β,17β و یا Estradiol-17β-benzoate بررسی نمود. در صورت واکنش مثبت نسبت به این آندروژن و یا استروژن ، ماهیان ماده قطعاً به گروه ماهیان با حساسیت بالا تعلق دارند . اگر تقسیم‌بندی و جداسازی ماهیان نیز ضروری باشد بایستی آزمایشها را با متاآندرواستنولون (آندروژن) و یا اکسی دوپروژسترون (گستاژن) ادامه داد. در صورت بلوغ بیش از ۸٪ اووسیت‌ها تحت تأثیر اکسی دوپروژسترون و یا بیش از ۳٪ آنها تحت تأثیر متاآندرواستنولون ، این ماده‌ها را می‌توان متعلق به گروه ماهیان با حساسیت متوسط دانست. بدین ترتیب بمنظور دسته‌بندی ماده‌های *Prochilodus* به سه گروه از نظر آمادگی عملی برای بازتولید مصنوعی ، باید بطور همزمان واکنش آنها را حداقل نسبت به دو هورمون مثلاً Estradiol-17β-benzoate و متاآندرواستنولون ارزیابی کرد. این نوع دسته‌بندی مقدماتی ماهیان ماده با توجه به میزان آمادگی عملی آنها برای بازتولید مصنوعی که با استفاده از تحریک هورمونی بلوغ در فرآورده‌های جنسی آنها انجام می‌گیرد ، نه تنها امکان یکسان‌سازی طرح و رژیم تحریک هورمونی را فراهم می‌سازد بلکه مخارج مربوط به ترکیبات هورمونی گران‌قیمت را بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش داده و موجب محدود شدن تعداد مرگ و میر مولدین در نتیجه استفاده بیش از حد از هورمونها گشته و کیفیت نسل‌های بدست آمده را نیز بطور چشمگیری افزایش خواهد داد.

فهرست منابع

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ تیتوف،م.ای. ؛ وینوگرادوف،و.آ. ؛ سپالووا،ژ.د. ؛ کریموف،آ.پ. ؛ روبینا،آ.یو. ؛ زومورین،آ.و. ؛ گودویچ.پ.ل. ؛ شماکوف،آ.ن. ؛ شیلو.آ.ای. ؛ دیمچنکو،ب.ای. ، میلوسردوف،یو.و. (۱۹۸۹). روشهای دستیابی به فرآورده‌های جنسی از کپور ماهیان. شماره ثبت ۱۲۸۲۸۲ .
- بادنکو،ل.و. (۱۹۶۷). استفاده از مشخصات مورفو-فیزیولوژیک در انتخاب مولدین ازون‌برون دون برای اهداف تاسماهی پروری. انتشارات سنیبورخ ، جلد اول ، ص. ۲۲۸-۲۲۲ .
- بالتاجین،ر.آ. (۱۹۸۰). توصیه‌های متدیک در زمینه تکمیل بیوتکنیک بازتولید ماهیان علفخوار در آبهای گرم. لیووف : ویلنا اکراین ، ص. ۲۱ .
- یروخینا،ل.و. ؛ وینوگرادوا،و.ک. ؛ واروپایف،ن.و. ؛ کالمیکووا،و.و. ؛ کریفسوف،و.ف. (۱۹۸۰). بیوتکنیک پرورش ماهی بوفالو (توصیه‌ها). مسکو ، انتشارات ونی‌ایپرخ، ص. ۷۸ .
- بورلاکوف،آ.ب. ؛ گوری‌یوا - پری‌آپراژنسکایا،ی.و. (۱۹۷۷). دینامیک میزان گنادوتروپین‌ها در هیپوفیز کپور ماهیان نقره‌ای نر (*Hypophthalmichthys molitrix*) در مراحل مختلف رسیدگی غدد جنسی. مسائل ماهی‌شناسی ، جلد ۱۷ ، دوره پنجم ، ص. ۹۵۶-۹۵۲ .
- بورلاکوف،آ.ب. ؛ خاپچایوا،ی.و. (۱۹۷۹). تأثیر هورمون‌های استروئیدی بر بلوغ و اوولاسیون اووسیت‌های برخی کپور ماهیان در شرایط in vitro. مقالات ارائه شده در چهارمین کنفرانس اکولوژی ، فیزیولوژی و بیوشیمی ماهی. جلد دوم ، آستراخان ، ص. ۱۰ .
- بورلاکوف ،آ.ب. ؛ خاپچایوا،ی.و.(۱۹۸۲). حساسیت فصلی اووسیت‌های *Misgurnus fossilis L.* در شرایط in vitro نسبت به تأثیر هورمون‌های استروئیدی و گنادوتروپینی. مقالات ارائه شده در پنجمین کنفرانس سراسری اکولوژی ، فیزیولوژی ، و

بیوشیمی ماهی. کیف : انتشارات «نااوکا دومکا» . ص. ۷۸-۷۷ .

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ خاپچایوا،ی.و. (۱۹۸۳). رسیدگی اووسیت‌های *Hemiculter eigenmanni (Jordan et Metz)* تحت تأثیر هورمون‌های استروئیدی. علوم بیولوژیک . شماره ۲ ، ص. ۵۵-۴۹.

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ خاپچایوا،ی.و. (۱۹۸۳). رسیدگی اووسیت‌های کپور نقره‌ای [*Hypophthalmichthys molitrix (Val)*] تحت تأثیر استروژن‌ها ، آندروژن‌ها و گستاژنها در in vitro در ارتباط با حساسیت‌های متفاوت ماهیان در in vivo نسبت به گنادوتروپین کوریونیک. مسائل ماهی‌شناسی . جلد دوم - دوره چهارم . ص. ۶۶۰-۶۵۲ .

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ خاپچایوا،ی.و. (۱۹۸۴). رسیدگی اووسیت‌های کپور نقره‌ای [*Hypophthalmichthys molitrix (Val.)*] تحت تأثیر کورتیکواستروئیدها در in vitro در ارتباط با حساسیت‌های متفاوت ماهیان در in vivo نسبت به گنادوتروپین کوریونیک. علوم بیولوژیک . شماره ۳ - ص. ۳۷-۳۲ .

- وینوگرادوف،و.ک. ؛ پروخینا،ل.و. (۱۹۷۵). بیوتکنیک پرورش مولدین و بهره‌برداری از گله‌های مولدین ماده در ماهیان علفخوار (توصیه‌های متدیک). مسکو ، انتشارات ونی‌ایپرخ ، ص. ۶۶.

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ کریموف،آ.پ. ؛ زومورین،آ.و. ؛ دیمچنکو،ب.ای. ؛ شیلو،آ.ای. (۱۹۸۶). امکان استفاده از کورتکسولون برای دستیابی به تخم در کپور ماهی. مجله شیلات ، شماره ۸ ، ص. ۴۱-۴۰ .

- بورلاکوف،آ.ب. ؛ کریموف،آ.پ. ؛ زومورین،آ.و. ؛ دیمچنکو،ب.ای. ؛ شیلو،آ.ای. (۱۹۸۸). امکان استفاده از کورتکسولون برای دستیابی به تخم در آمور سفید. مجله شیلات ، شماره ۴ - ص. ۶۴-۶۳ .

- گنادچنکو،ل.و. (۱۹۷۶). ارزیابی میزان آمادگی ماهی کفال برای تخم‌ریزی از طریق

واکنش اووسیت‌های آنها در in vitro. اسناد گزارشات ارائه شده در سومین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه فیزیولوژی اکولوژیک ماهیان . کیف ، انتشارات «نااوکووا دومکا» ، ص. ۱۴۲ .

- گنادچنکو،ل.و. (۱۹۷۹). حساسیت اووسیت‌ها نسبت به گنادوتروپین هیپوفیزی در کفال خاکستری *(Mugil cephalus L.)* در طی فصل تخم‌ریزی. انتشارات ونیرو، جلد ۱۳۸ ، ص.۲۰-۱۴ .

- گنادچنکو،ل.و. (۱۹۸۱). ایجاد حساسیت گروهی در اووسیت‌های ماهی کفال طلایی [*Liza aurata (Risso)*] نسبت به هورمون‌های هیپوفیزی و استروئیدی در زمان مهاجرت تخم‌ریزی. اصول اکولوژیک - فیزیولوژیک آبزی‌پروری در دریای سیاه. مسکو ، ص. ۶۷-۵۳.

-گنادچنکو،ل.و. (۱۹۸۶). حساسیت اووسیت‌های ماهی کفال طلایی [*Liza aurata (Risso)*] نسبت به هورمون‌های هیپوفیزی و استروئیدی در زمان مهاجرت تخم‌ریزی. مسائل ماهی‌شناسی. جلد ۲۶ ، دوره ششم ، ص. ۹۷۹-۹۷۴ .

-گنچاروف،ب.ف. (۱۹۶۹). بحث پیرامون مسئله قانونمندی بروز حساسیت گناد نسبت به هورمون گنادوتروپین هیپوفیز. وضعیت فعلی روش تزریق هیپوفیزی - آستراخان، ص. ۴۴-۳۹.

-گنچاروف،ب.ف. (۱۹۷۶). وضعیت فیزیولوژیک فولیکول‌ها در نسل قدیمی ماهیان اوزون‌برون در زمان مهاجرت تخم‌ریزی. اسناد گزارشات سومین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه فیزیولوژی اکولوژیک و بیوشیمی ماهیان . جلد دوم -کیف ، ص. ۱۴۰-۱۳۹.

- گنچاروف،ب.ف. (۱۹۸۱). استفاده از روش تزریق هیپوفیزی در ماهی‌پروری .برخی نتایج و چشم‌اندازها. تحقیقات تکثیر و پرورش ماهی (روش‌های متدیک) - مسکو، ص. ۴۸-۱۶.

-گوریوا - پری‌آبراژنسکایا،ی.و. (۱۹۷۸). بررسی آزمایشگاهی فولیکول تخمدان ماهی و حساسیت آن با درنظرگرفتن آنالیز رابطه بین بلوغ و اوولاسیون. انتشارات انستیتوی علوم بیولوژی دانشگاه دولتی لنینگراد ، شماره ۲ ، ص. ۱۲۵-۱۱۲ .

- گوریوا - پری‌آبراژنسکایا،ی.و. (۱۹۸۸). اثر هورمون‌های جنسی استروئیدی بر رسیدگی اووسیت‌های خارماهی *(Gastrosteidae)*. اسناد گزارشات سومین کنگره سراسری آزاد ماهیان روسیه ، تولیاتی ، ص. ۸۳-۸۲ .
- کیرشنبلات،پا.د. (۱۹۶۱). مکانیزم فیزیولوژیک تنظیم پروسه‌های رسیدگی اووسیت‌ها و اوولاسیون در ماهی لوچ [*Misgurnus fossilis L.*]. مسائل ماهی‌شناسی. جلد اول ، دوره اول (۱۸) ، ص. ۱۹۳-۱۶۶ .
- پاپوف،او.پ. ؛ سولوماتینا،ت.و. (۱۹۷۸). توصیه‌هایی در زمینه تکمیل بیوتکنیک روش کارگاهی دستیابی به لاروکپور ماهیان در منطقه تغذیه ماهیان در دلتای ولگا. آستراخان : ولگا، ص. ۲۵ .
- ساعات، ت.و. (۱۹۸۰). رسیدگی و اوولاسیون اووسیت‌های ماهی لوچ در محیطهای مختلف in vitro و ضمن اثرات هورمونی متفاوت. انتوژنز. جلد دوم ، شماره ۵ ، ص. ۵۵۴-۵۴۵ .
- ساعات،ت.و. (۱۹۸۵). رسیدگی اووسیت‌های کاراس نقره‌ای در in vitro. انتوژنز. جلد ۱۶، شماره ۳ - ص. ۲۵۹-۲۵۴ .
- ساکون،او.ف. ؛ گوریوا - پری‌آبراژنسکایا،ی.و. (۱۹۷۵). بررسی رسیدگی اووسیت‌ها در ماهیان استخوانی. انتشارات دانشگاه دولتی لنینگراد ، شماره ۱۵ ، دوره سوم ، ص. ۲۲-۱۵ .
- ساکون،او.ف. ؛ گوریوا - پری‌آبراژنسکایا،ی.و. (۱۹۷۶) . تحقیقات آزمایشگاهی درباره مکانیزم تنظیم هورمونی پروسه رسیدگی اووسیت‌ها در ماهیان استخوانی. اسناد گزارشات سومین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه فیزیولوژی اکولوژیک و بیوشیمی ماهی . کیف . انتشارات «نااوکووا دومکا» - ص. ۱۴۷-۱۴۶ .
- پادنکو،ل.و. ؛ گورنی‌ینکو،گ.گ. ؛ گاشنکو،ل.آ. ؛ شیگیلسکایا،و.پ. (۱۹۷۶). وضعیت گنادها در ازون‌برون کوبان (*Acipenser stellatus Pallas*) پشت سد شبکه آبرسانی فدروفسکی و استفاده از آن در آبزی‌پروری. مسائل ماهی‌شناسی. جلد ۱۶ ، دوره چهارم ، ص. ۶۵۳-۶۴۴ .

- تروسوف ، و.ز. (۱۹۶۷). تجربه استفاده از تاسماهیان مولد رها شده در آب کانال ایستگاه برق سد ولگاگراد. انتشارات انستیتوی دولتی تحقیقات آبزی‌پروری در دریاچه‌ها و رودخانه‌ها . جلد ۶۳ ص. ۲۳۰-۲۰۶ .
- خاپچایوا،ی.و. (۱۹۸۸). رسیدگی اووسیت‌ها در کپور ماهیان تحت تأثیر هورمون‌های گنادوتروپینی و استروئیدی. رساله دکتری کاندیدای علوم بیولوژیک. مسکو : دانشگاه دولتی مسکو ، ص. ۲۴ .
- کازانسکی،ب.ن. ؛ فیکلوف،یو،آ. ؛ پادوشکا،س.ب. ؛ مولوتسف،آ.ن. (۱۹۷۸). روش سریع تعیین درجه بلوغ گنادها در تاسماهیان مولد. مجله شیلات ، شماره ۲ - ص. ۲۷-۲۴.
- Epler P.,Bieniarz K. Invitro ovulation of european eel (Anguilla anguilla L.) oocytes following in vivo stimulation of sexual maturation. Ann.de biol. anim.,biochem.,biophys.-1978.-Vol.18,-N4.- P.991-995.
- Etude comparee de L'action des hormones hypophysaires et steroides sur maturation in vitro des ovocytes de la truite et de carassion (Poisson, teleosteen). B.Jalabert, C.Bry. D.Szollosi, A.Fostier. Ann.de biol. anim., biochim., biophys.,-1973.-Vol.13, N horser.-P.59-72 .
- Fostier A., Jalabert B., Tergui M. Action predominate d'une derive hydroxyle de la progesterone sur la maturation in vitro des ovocytes de la truite arc-en-ciel Salmo gairdnerii. C.r.Acad. sci.- 1973.- Vol.277.- P.421-424 .
- Goswami S.V., Sundararaj B.I. In vitro maturation and ovulation of oocytes of the catfish , Heteropneustes fossilis (Bloch): effect of mammalian hupophyseal hormones , catfish pituitary homogenate , steroid precursors

and metabolytes, and gonadal and adrenocortical steroides. J.Exp. Zool.-1971.- Vol.178, N4.- P.467-468.

- Iwamatsu T., Katch T. Maturation in vitro of oocytes of the loach Misgurnus guillicaudatus by steroid hormones and gonadotropis. Annot.Zool. Japan.- 1978.- Vol.51.- N2.- P.79-89 .

- Jalabert B., Breton B., Bry C., Maturation et ovulation in vitro des ovocytes de la truite arc-en-ciel Salmo gairdnerii. C.r.Acad.sci.- 1972.- Ser "D".- Vol.275, N1. - P.1139-1142 .

- Nagahama Y., Kagawa H., Tashiro F. The in vitro effeats of various gonadotropins and steroid hormones on oocytes maturation in amago salmon, Oncorhynchus rhodurus and rainbow trout, Salmo gairdnerii. Bull.Jap.soc.sci.fish.- 1980.- Vol.46, N9.- P.1097-1102 .

- Sundararaj B.I., Goswami S.V. Effects of mammalian hypophysial hormones , placental gonadotropins, gonad hormones and adrenal corticosteroids on ovulation and spawning in hypophyscetomized catfish Heteropneustes fossilis (Bloch.). Journ.Exper.Zool.-1966.- Vol.166, N2.-P.287-291 .

ابعاد جدید مشکلات تنظیم هورمونی در فعالیت‌های تولیدمثلی تاسماهیان از نقطه‌نظر اهداف تاسماهی‌پروری

(ای.آ.بارانیکووا، آ.آ.بویف ، او.س.بوکوفسکایا ، ن.آ.افیموا)

در حال حاضر بخش قابل توجهی از جمعیت تاسماهیان در اکوسیستم‌های طبیعی ، ناشی از فعالیت کارگاههای تاسماهی‌پروری به منظور بازسازی ذخایر گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری و رهاسازی بچه ماهیان به دریا می‌باشد. پرورش انبوه تاسماهیان امکان پرورش تجاری آنها را فراهم ساخته و در نتیجه بررسی کلیه مراحل زیستی آنها در شرایط مصنوعی فراهم خواهد گردید. تاسماهی سیبری ، استرلیاد و بستر پرورشی تا مرحله بلوغ در کارگاهها باقی می‌مانند. به همین دلیل مطالعه هر چه بیشتر مکانیزمهای کنترل فعالیت‌های تولیدمثلی در ناسماهیان ، که امکان تنظیم دوره‌های جنسی را در ماهیان میسر می‌سازد ، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برخی از مقالات این مجموعه حاوی اطلاعاتی در ارتباط با این مسئله می‌باشد (ای.آ.بارانیکووا ، آ.آ.بویف ، او.س.بوکوفسکایا و سایرین ، ۱۹۸۳).

تاکنون یافته‌های جدید زیادی در زمینه تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی در گروههای مختلف ماهیان بدست آمده است. تحقیقات مفصل‌تری در این زمینه بر روی ماهیان استخوانی به انجام رسیده که راههای گوناگون تأثیر بر بخشهای مختلف درگیر در سیستم‌های تنظیمی عصبی ـ هورمونی را نشان داده و از این یافته‌ها می‌توان به منظور هدایت بلوغ غدد جنسی در ماهیان سود جست (تصویر شماره ۱) (بارانیکووا،۱۹۸۴ ؛ دونالدسون و هانتر،۱۹۸۳ ؛ پیتر،۱۹۸۳).

در سالهای اخیر یافته‌های نوینی در رابطه با تاسماهیان بدست آمده که جهت تجزیه و تحلیل مکانیزمهای تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی ضروری می‌باشند ؛ اهمیت این اطلاعات برای شیلات در استفاده از مولدین خاویاری به منظور دستیابی به سلولهای جنسی بالغ و لاروهایی است که بدنبال

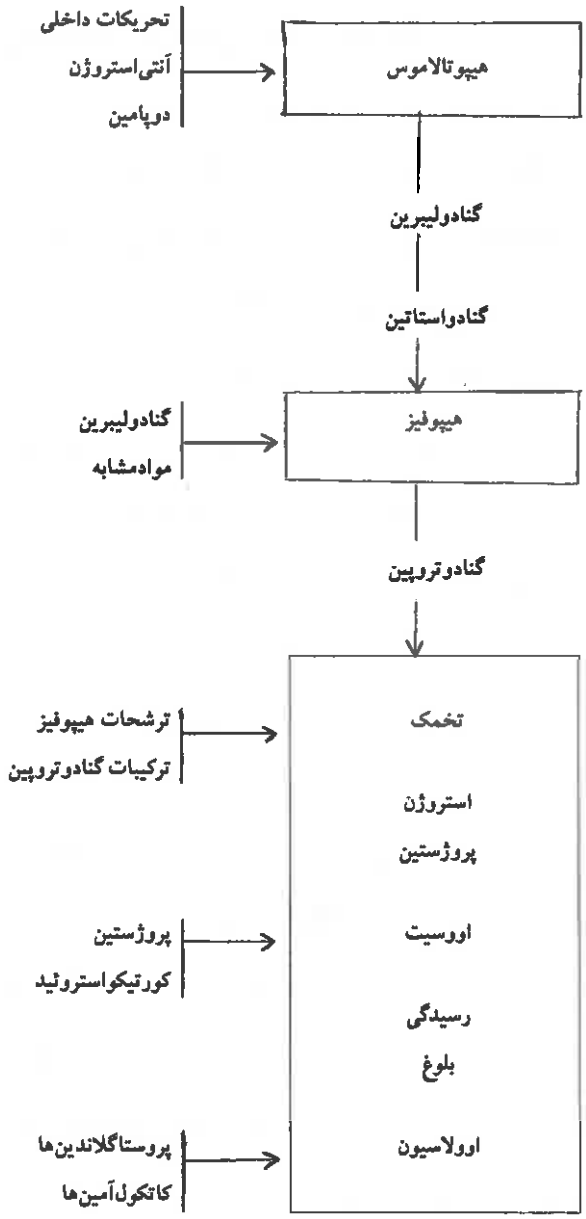
تزریقات هورمونی بدست می‌آیند.

کنترل فعالیتهای تولیدمثلی در ماهی از طریق هیپوتالاموس . نقش سیستم نور و هورمونی هیپوتالاموس در تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی مهره‌داران ، از جمله ماهیان ، بطور مفصل مورد بررسی قرار گرفته است (پالینوف ،۱۹۷۵ ؛ بارانیکووا ،۱۹۸۱،۱۹۸۴ ؛ پیتر ،۱۹۸۲،۱۹۸۳؛ دونالدسون و هانتر،۱۹۸۳). وجود هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)[1] در هیپوتالاموس که بر سنتز و ترشح هورمون گنادوتروپین (GTH) در هیپوفیز مؤثر است ، موجب کشف رمز ساختار این هورمون و بدنبال آن سنتز برخی ترکیبات براساس این کشف گردیده که در ترشح هورمون گنادوتروپین مؤثر می‌باشند ، این موضوع اهمیت فوق‌العاده‌ای در رشد نظریات تئوریک و طراحی‌های عملی در زمینه تنظیم فعالیت تولیدمثلی ماهیان دارد. هم‌اکنون استفاده از ترکیبات لولیبرین و برخی مواد مصنوعی مشابه دیگرکه موجب استحصال سلولهای جنسی بالغ در بسیاری از گونه‌های ماهیان می‌گردد ، رواج بسیار زیادی یافته است. لیکن استفاده از این ترکیبات هورمونی در برخی ماهیان مهم اقتصادی از جمله کپور، کپور نقره‌ای[2] وگروهی دیگر اثر تحریکی کافی از خود بر جای نمی‌گذارد.

در پاره‌ای از آثار Peter و سایر مؤلفین نشان داده شده که در هیپوتالاموس ماهیان استخوانی علاوه بر هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) ، فاکتور بازدارنده هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GRIF)[3] ساخته می‌شود که اثر بازدارنده بر ترشح هورمون گنادوتروپین دارد. این تألیفات نشان می‌دهند که دوپامین یکی از این عوامل بشمار می‌رود (پیتر ،۱۹۸۳؛ G.Van Der Kraak et al.,1984) در حال حاضر و براساس این اطلاعات ، از تأثیر توأم GnRH ومواد بازدارنده‌ای مانند دوپامین و یا ترکیبات مشابه ، در سطحی وسیع استفاده بعمل

1- GnRH = Gonadotropin releasing hormone *2- Silver carp*

3- GRIF = Goandotropin release inhabitory factor



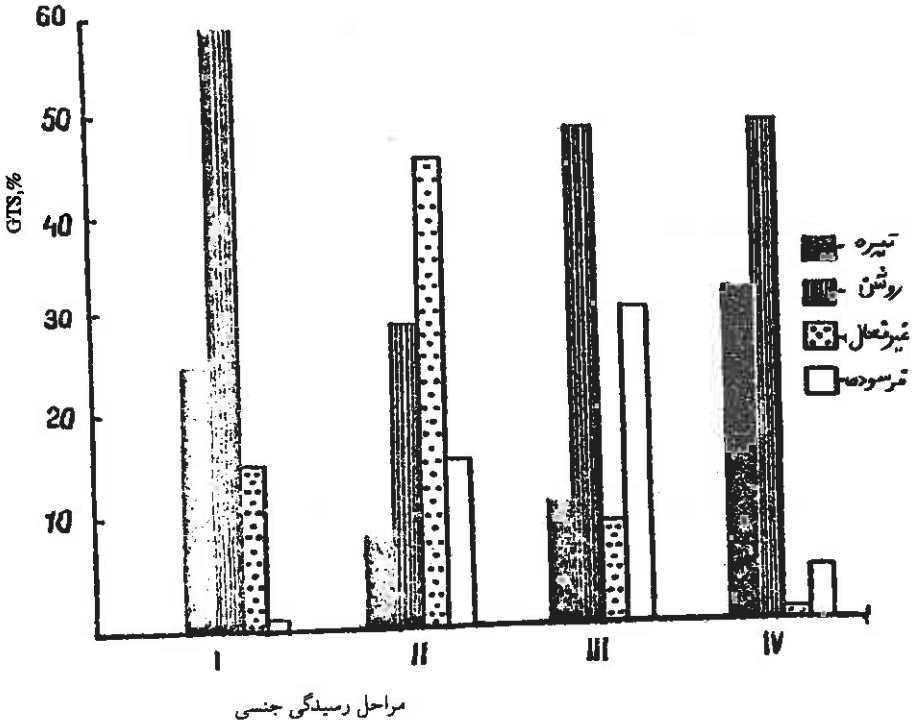
تصویر ۱ : راههای احتمالی کنترل عملکرد اندام‌های جنسی ماهیان در سطوح مختلف

می‌آید ،که در این میان پیموزاید و رزپین کاربرد بیشتری دارند. نتایج حاصل از موارد فوق در تکثیر آن دسته از ماهیان استخوانی که کاربرد مواد مصنوعی مشابه لولیبرین تأثیر مثبتی بر بلوغ آنها ندارد و با اینحال بلوغ جنسی در آنها مشاهده می‌گردد ، مورد استفاده واقع می‌شود (Lin Hao Ren et al.,1986;R.De-Leeuw et al.,1985);Van der Kraak et al., 1986. چگونگی تأثیرگذاری دیگر مسیرهای سیستم تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی در تصویر یک نشان داده شده است.

استفاده از نوروهورمونهای هیپوتالاموس جهت تحریک بلوغ در تاسماهیان مولد. در سالهای اخیر براساس مطالعات جامع بر روی ماهیان استخوانی در ارتباط با استفاده از لولیبرین و یا ترکیبات مصنوعی مشابه به منظور تحریک بلوغ تاسماهیان در مرحله پنجم رسیدگی ، اطلاعاتی بدست آمده است. بعنوان مثال پس از تزریق لولیبرین ، تاسماهی ، ازون‌برون و استرلیاد به بلوغ می‌رسند (Barannikova et al.,1982,1984a,1985a ; Horvath et al.,1986). در صورتی که فقط یکبار از لولیبرین در دُزهای مختلف استفاده شود ، مقدار گنادوتروپین‌ها در خون افزایش یافته و علیرغم مشاهده فعالیت آنها ، پدیده بلوغ در ماهیان نر ازون‌برون مشاهده نمی‌گردد. پس از استفاده مجدد از لولیبرین ، حتی اگر دُزهای شبانه‌روزی آن تفاوتی با دُزهای اولین تزریق نداشته باشد ، ماهیان نر ازون‌برون و تاسماهی به بلوغ می‌رسند. در هر دو گونه آزادسازی اسپرم‌ها[1] پس از یکبار استفاده از لولیبرین مشاهده می‌شود (بارانیکووا و سایرین ،۱۹۸۵ ؛ بارانیکووا ، بوکوفسکایا، ۱۹۹۰).

جهت تحریک بلوغ در تاسماهیان به جز لولیبرین از مواد مصنوعی مشابه نیز می‌توان استفاده نمود. نتایج مثبتی از تأثیر این مواد بر گونه‌های مختلف از قبیل تاسماهی ، ازون‌برون ، فیلماهی و تاسماهی سفید بدست آمده است (گنچاروف ،۱۹۸۴، ۱۹۸۵ ؛ ایگومنووا، گنچاروف ،۱۹۸۵ ؛

1- Spermation



تصویر ۲ : نسبت سلولهای گنادوتروف در حالت‌های مختلف عملکرد در تاسماهیان ماده :
I - قبل از تخمریزی (در مرحله چهارم بلوغ جنسی)
II - پس از تخمریزی (در مرحله ششم بلوغ جنسی)
III- بلوغ بدنبال تزریق هورمون آزادکننده گنادوتروپین
IV - بلوغ بدنبال تزریق گنادوتروپین

دوروشف ، لوتس، ۱۹۸۴). در اکثر موارد پس از یکبار مصرف مواد مصنوعی مشابه لولیبرین در دُز نسبتاً بالا ، بلوغ جنسی در ماهیان دیده می‌شود.

این موضوع را می‌توان به طولانی بودن دوره تأثیر این مواد نسبت به لولیبرین ارتباط داد (Lin Hao Ren et al.,1986). تجزیه و تحلیل مقادیر مؤثر لولیبرین و مواد مصنوعی مشابه آن در تحریک بلوغ گونه‌های مختلف تاسماهیان نشان می‌دهد که برای دستیابی به نتایج مثبت در این ماهیان ، مقادیر نسبتاً کمتری از مواد مذکور نسبت به ماهیان استخوانی بکار برده می‌شود

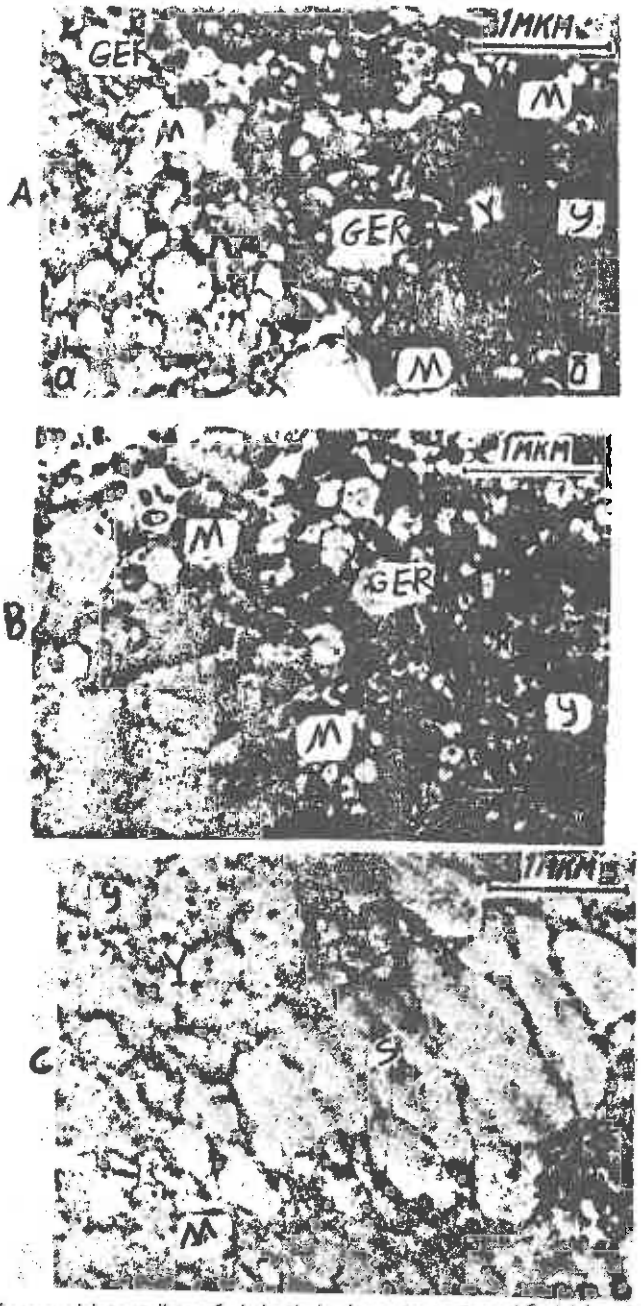
(بارانیکووا، بوکوفسکایا، ۱۹۹۰) . آنالیز مقایسه‌ای کیفیت فرآورده‌های شیلاتی حاصل از ماهیانی که بلوغ در آنها تحت تأثیر لولیبرین ، مواد مصنوعی مشابه آن و یا ترکیبات هیپوفیزی صورت گرفته ، تفاوت معنی‌داری را تا زمان رهاسازی بچه ماهیان از استخرها نشان نمی‌دهد. لیکن طول مدت رسیدگی در مولدینی که تحت تأثیر لولیبرین و یا مواد مصنوعی مشابه آن قرار گرفته‌اند بیشتر از مولدینی است که تحت تأثیر ترکیبات هیپوفیزی تاسماهیان به بلوغ رسیده‌اند (بارانیکووا و سایرین ، ۱۹۸۴a ؛ بارانیکووا و همکاران ، ۱۹۸۹ ؛ گنچاروف ،۱۹۸۵ ؛ ایگومنووا ، گنچاروف ،۱۹۸۶). نتایج بدست آمده نشان‌دهنده چشم‌انداز استفاده از این ترکیبات هورمونی در تکثیر ماهیان خاویاری می‌باشد. در این میان تشریح مکانیزم اثر لولیبرین بر روند بلوغ سلولهای جنسی در تاسماهیان ، مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است.

تأثیر لولیبرین بر عملکرد سلولهای گنادوتروف هیپوفیز و دینامیک هورمون گنادوتروپین و هورمونهای جنسی استروئیدی در خون تاسماهی و ازون‌برون .

مطالعه هیپوفیز در ماهیان ماده ازون‌برون و تاسماهی که تحت تأثیر لولیبرین به بلوغ رسیده‌اند ، نشان‌می‌دهد که فعالیت سلولهای گنادوتروف بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته و عمدتاً در بخش انتهایی (Distal lobe) ناحیه شکمی (Ventral area) هیپوفیز قرار دارند. در بررسی به کمک میکروسکوپ نوری ، تعدادی از سلولهای تخریب شده با هسته‌های بزرگ مشاهده گردید. در برخی قسمتها تراکم سلولهای رنگ‌ناپذیر[1] با هسته‌های کوچک دیده شد. ظاهراً افزایش حجم عروق در این بخش‌ها مرتبط با افزایش غلظت ترشحات می‌باشد. لیکن شمای کلی قسمت انتهایی[2] هیپوفیز در این ماهیان با منطقه مشابه در تاسماهی و ازون‌برون در زمان تخمریزی طبیعی تفاوت دارد ،

1- Chromophobic

2- Distal lobe



تصویر ۳: اجزای سلولهای گنادوتروف هیپوفیز در تاسماهیان ماده‌ای که بدنبال تزریق لولیبرین به بلوغ رسیده‌اند.

GER = شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک دانه‌بندی شده

CG = گرانولهای ترشحی (دانه‌های ریز ترشحی)

M = میتوکندری

Y = هسته

y = هستک

S = شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک دانه‌بندی شده فرسوده

A(a) = روشن ، A(b) = تیره ، B = روشن ، C = فرسوده

همچنین در ماهیانی که بطور طبیعی تخمریزی می‌کنند محل خاصی جهت تخریب اتصالات اپیتلیوم[1] وجود دارد که در این نقاط ، ترشحاتی که حاوی هورمون گنادوتروپین بوده، بصورت متراکم مشاهده می‌گردند (بارانیکووا،۱۹۷۸).

ضمن مطالعه و بررسی ساختمان ویژه سلولهای گنادوتروف هیپوفیز در تاسماهیان ماده‌ای که درمرحله چهارم بلوغ جنسی قرار دارند ، وجود سلولهایی با حالات مختلف عملکردی آشکارگردید (Lin Hao Ren et al.,1986) در ماهیان ماده قبل از تخمریزی سلولهای گنادوتروف (GTS) روشن و تیره دارای برتری هستند (تصویر ۲). بطوریکه سلولهای گنادوتروف تیره محتوی تعداد زیادی دانه‌های ترشحی بوده و ارگانوئیدها تقریباً دیده نمی‌شوند. ولی سلولهای گنادوتروف روشن در شروع فاز ترشح فعال قرار دارند. تعداد سلولهای گنادوتروف در مراحل پایانی چرخه ترشحی ، نسبتاً کمتر می‌باشد. در تاسماهی ماده بلافاصله پس از تخمریزی تعداد سلولهای تیره و روشن کاهش یافته و در مقابل تعداد سلولهای گنادوتروف تخریب شده ، غیرفعال و یا فرسوده افزایش می‌یابد (بارانیکووا و سایرین ،۱۹۸۴). در تاسماهیان ماده‌ای که تحت تأثیر لولیبرین به بلوغ رسیده‌اند ، نسبت سلولهای گنادوتروف در حالات مختلف عملکردی ، تقریباً مشابه وضعیت این سلولها در ماهیانی است که در مرحله ششم رسیدگی جنسی قرار داشته و بطور قابل ملاحظه‌ای با وضعیت موجود در تاسماهیان ماده‌ای که در مرحله چهارم رسیدگی جنسی هستند و یا ماهیانی که تحت تأثیر گنادوتروپین‌های خالص ، به بلوغ رسیده‌اند متفاوت می‌باشد (تصویر ۲).

در قسمت انتهایی ناحیه شکمی هیپوفیز ماهیانی که تحت تأثیر لولیبرین به بلوغ رسیده‌اند سلولهای تیره بندرت دیده شده و آثاری از تجزیه و تخریب [2] آنها مشاهده می‌گردد که ظاهراً با کوتاه‌بودن قابل ملاحظه زمان فعالیت آنها مرتبط است (تصویر ۳a). دلیل کاهش تعداد دانه‌های ترشحی پیدایش ارگانوئیدهایی در سلولهای گنادوتروف است که در سلولهای تیره ماهیان در مرحله

1- Epithelium

2- Lysis

پیش از تخمریزی وجود ندارد.

در مرحله ترشح فعال ، تعداد بسیار زیادی سلول روشن یافت می‌شود ؛ دستگاه گلژی ، شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک دانه‌بندی شده (GER) و دانه‌ها و گلبولهایی در اندازه‌های مختلف بوضوح در آنها مشاهده می‌گردد (تصویر ۳،b) ؛ ظاهراً در نتیجه تأثیر لولیبرین تغییراتی در روند فعالیت بخش عمده‌ای از سلولهای تیره رخ داده و موجب تبدیل آنها به سلولهای روشنی می‌گردد که بطور فعال هورمون گنادوتروپین را ترشح می‌نمایند. وجه مشخصه هیپوفیز در این دسته از تاسماهیان ماده آن است که سلولها در مرحله آخر چرخه ترشحی در فاصله زیادی از اتصالات اپیتلیوم[1] و اکثراً در نزدیکی عروق قرار گرفته ، و این سلولها دارای شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک بشدت فرسوده ، واکوئل و گرانولهایی با ابعاد مختلف می‌باشند (تصویر ۳،c).

بنابراین لولیبرین موجب سنتز و ترشح هورمون گنادوتروپین از سلولهای هیپوفیز می‌گردد. در حقیقت فعالیت گنادوتروپینی هیپوفیز این تاسماهیان بیش از ماهیانی است که پس از تأثیر ترکیبات هیپوفیزی به بلوغ رسیده‌اند (ای.آ.بارانیکووا ، آ.آ.بویف و سایرین ،۱۹۸۹). اکثراً پدیده بلوغ پس از تزریق ترکیبات هیپوفیزی و بدنبال اثر گنادوتروپین‌های خارجی (اگزوژن) اتفاق می‌افتد.

تقریباً پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تزریق لولیبرین به تاسماهی و ازون‌برون ، افزایش میزان هورمون گنادوتروپین در خون آنها مشاهده می‌شود (تاکنون مدت زمان کمتر از ۳۰ دقیقه گزارش نشده است). همچنین افزایش غلظت هورمون گنادوتروپین در خون ادامه یافته ، بطوریکه این افزایش در هر ماهی تا حدودی متفاوت است. بیشترین افزایش مقدار هورمون گنادوتروپین پس از دومین تزریق لولیبرین مشاهده می‌گردد. در ماهیانی که بطور همزمان محلول فیزیولوژیک نیز به آنها تزریق شده ، افزایش غلظت هورمون گنادوتروپین در خون دیده نمی‌شود (تصویر ۴).

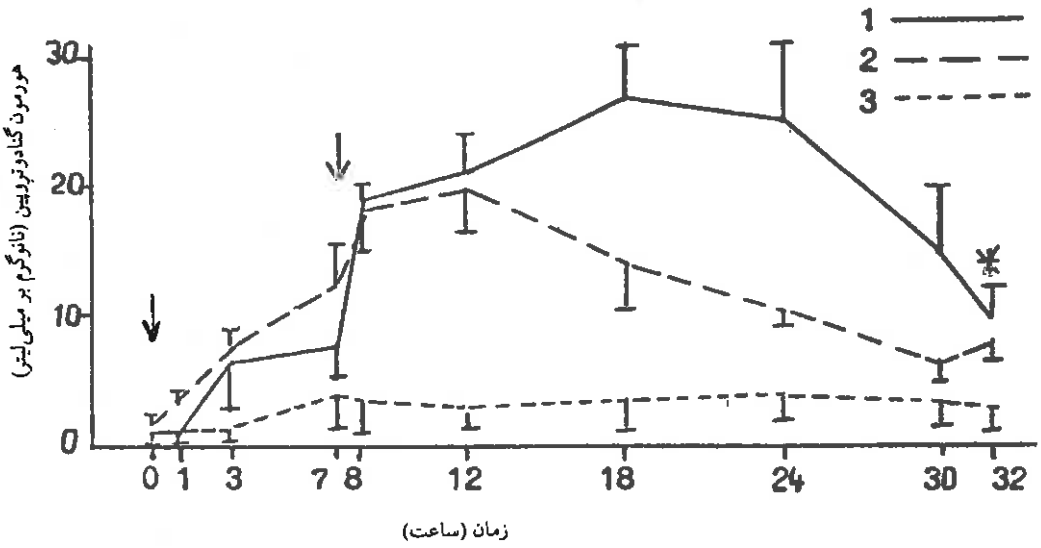
شایان ذکر است که دینامیک هورمون گنادوتروپین در این ماهیان ماده ، بطور قابل ملاحظه‌ای با

1- Epithelium

آنچه پس از تزریق ترکیبات هیپوفیزی ملاحظه گردید ، تفاوت دارد. افزایش سطح هورمون گنادوتروپین پس از تزریق ترکیبات هیپوفیزی نسبت به زمان تزریق لولیبرین ،کمی دیرتر آغاز شده و مدت زمانی نیزکه تراکم بالای هورمون گنادوتروپین در خون ثابت می‌ماند ، پس از تزریق ترکیبات هیپوفیزی بیشتر می‌باشد (ای.آ.بارانیکوا، آ.آ.بویف ، او.س.بوکوفسکایا ، ن.آ.افیموا و سایرین ، ۱۹۸۵b).

مقایسه خصوصیات هورمونی در ماهیانی که بدنبال تأثیر این ترکیبات به بلوغ می‌رسند و ماهیانی که در نتیجه اثر عوامل اکولوژیک ، سیستم تنظیم نور و هورمونی در آنها تحریک و موجب رسیدن به وضعیت تخمریزی و در نهایت بلوغ جنسی می‌گردد ، یکی از مباحث بسیار جالب فیزیولوژی می‌باشد. بدین ترتیب در حوضه کارگاه تاسماهی پروری ولگاگرادکه در منطقه تخمریزی ماهیان قرار دارد بلوغ طبیعی یا خودانگیز[1] در پنج تاسماهی نر و پنج تاسماهی ماده تحت تأثیر عوامل اکولوژیک نظیر دمای محیط تخمریزی ، وضعیت ریگ‌های بستر ، جریان شدید آب در حوضه و تعداد مساوی ماهیان نر و ماده بوقوع پیوست . در دوره پیش از اوولاسیون ، در طول یک یا دو شبانه‌روز قبل از شروع تخمریزی در هر یک از تاسماهیان ماده ، غلظت بسیار زیاد هورمون گنادوتروپین در خون دیده شد (۱۷۰-۱۵۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر) . همچنین در ماهیان نری هم که نزدیک به وضعیت تخمریزی هستند میزان هورمون گنادوتروپین بسیار بالا می‌باشد (۱۶۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر). احتمالاً مدت زمان رسیدن به اوج ترشح این هورمون بسیار کوتاه بوده ، زیرا در دوران تخمک‌گذاری[2] و اسپرم‌گذاری[3] غلظت هورمون گنادوتروپین در این ماهیان پایین است (۱۲-۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر). ظاهراً در تاسماهیان نیز مانند برخی ماهیان استخوانی ، بیشترین میزان گنادوتروپین در مرحله پیش از تخمریزی مورد نیاز است. در این دوران فعالیت بافتهای استروئیدوژن گنادها و تشدید ترشح استروئیدهای جنسی که موجب بروز مرحله نهایی بلوغ سلولهای جنسی ،

1- Spontaneous *2- Ovulation* *3- Spermation*



تصویر ۴ : تغییرات غلظت هورمون گنادوتروپین در سرم خون تاسماهیان ماده پس از :

۱) دو بار تزریق لولیبرین مصنوعی با دُزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم به ماهیان ماده در فواصل ۷ ساعت.

۲) یک بار تزریق لولیبرین مصنوعی با دُز ۲۰۰ میکروگرم به ماهیان ماده.

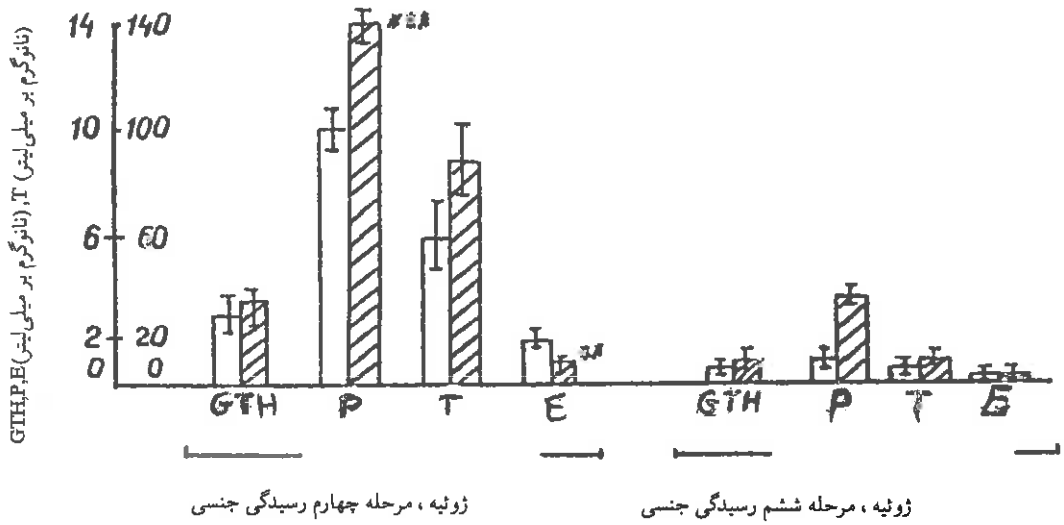
۳) تزریق محلول فیزیولوژیک

- در محور افقی زمان نسبت به تزریق و در محور عمودی غلظت هورمون گنادوتروپین بر حسب (نانوگرم بر میلی‌لیتر) نشان داده شده است.
- عقربک‌ها نشاندهنده زمان تزریق و ستاره نشاندهنده زمان اوولاسیون ماهیان ماده می‌باشد.

تخمک‌گذاری و آزادسازی اسپرم‌ها می‌گردد ، صورت می‌پذیرد.

دینامیک هورمون گنادوتروپین و برخی هورمونهای جنسی استروئیدی در مراحل نهایی دوره تولیدمثلی تاسماهی و ازون‌برون

فعالیت تولیدمثلی در تاسماهیان از طریق مطالعات هیستوفیزیولوژی هیپوفیز و گنادها انجام گرفت ، قابلیت فعالیت گنادوتروپینی ترکیبات هیپوفیز تنها از طریق بررسی این مواد بر روی



تصویر ۵: غلظت هورمون گنادوتروپین و هورمونهای جنسی در سرم خون ماهی ازون‌برون در دوره زندگی رودخانه‌ای . ستونهای سفید نشان‌دهنده غلظت هورمونها در ماهی ماده و ستونهای هاشورزده مربوط به ماهی نر می‌باشد. ستاره‌های کوچک اختلاف معنی‌دار بین جنس‌ها را نشان می‌دهد. $P<0/05$ ؛ $P<0/01$ ؛ $P<0/001$

E = استروژن ، T = تستوسترون ، P = پروژسترون ، GTH = هورمون گنادوتروپین .

موجودات آزمایشگاهی مختلف تعیین می‌شود. بدنبال طراحی سیستم‌ها و دستگاههای آنالیز رادیوایمنولوژیک[1] ، امکان استفاده از روشهایی جهت تعیین میزان هورمون گنادوتروپین (بارانیکووا و همکاران ،۱۹۸۱) و هورمونهای جنسی استروئیدی در پلاسمای خون تاسماهیان میسر گردید. این امر موجب دستیابی به اطلاعات و آمار جدید در زمینه تنظیم فعالیت تولیدمثل در این ماهیان شد.

1- RIA

جدول ۱ : میزان هورمون گنادوتروپین سرم خون تاسماهی زمستانه در شرایط مختلف رشد غدد جنسی از فصول مختلف ، در دوران زندگی رودخانه‌ای (منطقه ولگاگراد).

ماه	جنس	تعدادماهی (عدد)	شاخص گنادوسوماتیک (درصد)	مقدار GTH در خون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
ژوئیه	ماده	۴۷	۱۴ ± ۰/۵	۲/۰ ± ۰/۲
	نر	۲۸	۵/۰ ± ۰/۶	۲/۱ ± ۰/۲
اکتبر	ماده	۴۳	۲۳/۸ ± ۰/۴	۱/۶ ± ۰/۲
	نر	۶	۶/۱ ± ۰/۷	۳/۰ ± ۱/۰
مارس	ماده	۲۷	۲۴/۹ ± ۱/۱	۱/۲ ± ۰/۱
	نر	۳۰	۴/۷ ± ۰/۳	۱/۳ ± ۰/۱

بعنوان مثال ثابت گردید ، میزان هورمون گنادوتروپین در خون ماهیان نر و ماده ازون‌برون (ولگا، منطقه ولگاگراد) که در ماه ژوئیه در مرحله چهارم بلوغ جنسی قرار گرفته‌اند ، مساوی می‌باشد. براساس غلظت استروئیدهای جنسی خون در دوران پیش از تخمریزی ، تمایزات جنسی در ماهی تعیین می‌شود . تراکم پروژسترون در ماهی نر بمراتب بیشتر ، ولی میزان استرادیول در آن بسیار کمتر از ماهی ماده است ؛ غلظت تستوسترون نیز در ماهی نر کمی بیش از ماهی ماده است (تصویر ۵). در ماهی ازون‌برون به هنگام تخمریزی طبیعی (مرحله پنجم رسیدگی گنادها) غلظت هورمون گنادوتروپین در خون به بالاترین مقدار خود می‌رسد (۲۵/۵ و ۱۰۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر در دو نمونه ماهی ماده و ۷۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر در یک نمونه ماهی نر). در دو نمونه دیگر از ماهیان نری که در مرحله پنجم رسیدگی گنادها قرار دارند غلظت این هورمون ۳/۱±۵/۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود (بوکوفسکایا، ۱۹۸۱). بنظر می‌رسد که میزان بالای هورمون گنادوتروپین در خون بصورت تناوبی اتفاق افتاده و نیازی به مقدار زیاد هورمون بطور دائمی نمی‌باشد. این مسئله نتایج مطالعات مربوط به دینامیک هورمون گنادوتروپین را در تاسماهیانی که تحت تأثیر عوامل اکولوژیک به بلوغ رسیده‌اند ،تأیید می‌نماید. بعنوان مثال ، یک ماه پس از تخمریزی میزان هورمون گنادوتروپین در خون ماهیان نر

و ماده‌ای که در مرحله VI بلوغ جنسی هستند بطور قابل ملاحظه‌ای ، نسبت به سطوح این هورمون در ماهیانی که در مرحله IV بلوغ جنسی قرار دارند ، کاهش می‌یابد ($P<0/05$) ، که این کاهش به تغییرات وضعیت هیپوفیز در این دوره مربوط است (بارانیکووا،۱۹۷۵). در ماهی ازون‌برون بعد از تخمریزی کاهش سایر هورمونهای استروئیدی نیز در خون مشاهده می‌شود. اختلاف میزان هر سه هورمون در ماهی نر و ماده معنی‌دار است ، $P<0/001$ (تصویر ۵).

در تاسماهی مهاجر زمستانه ، در دوره زندگی رودخانه‌ای ، طولانی‌ترین مرحله از دوره جنسی مشاهده می‌شود. مهاجرت تاسماهی زمستانه به رودخانه ولگا مدتها پیش از تخمریزی آغاز می‌گردد و فرآیند گامتوژنز در این دوران ، هنوز در مراحل اولیه است. در منطقه ولگاگراد در ماه ژوئیه ، اووسیت‌های تاسماهیان زمستانه هنوز به اندازه کافی رشد نکرده و شاخص گنادوسوماتیک[1] پائین می‌باشد (مرحله سوم بلوغ جنسی) (جدول ۱).

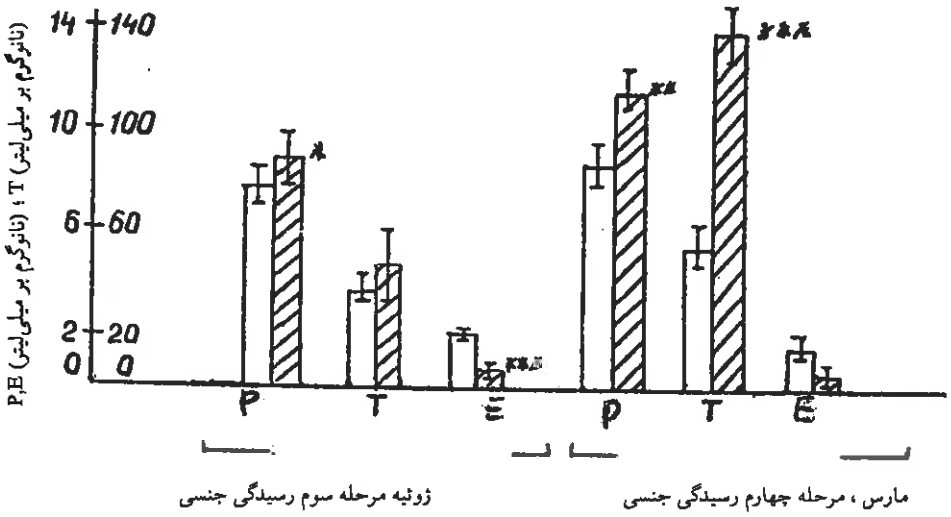
در این دوران غلظت هورمون گنادوتروپین در خون نسبتاً پایین بوده و جنس نر و ماده ، تقریباً تفاوتی با یکدیگر ندارند. پیش از ماه اکتبر اندازه اووسیت‌ها افزایش یافته ، سپس اندازه تخمک‌ها بیشتر شده و میزان شاخص گنادوسوماتیک نیز افزایش می‌یابد ، گنادهای ماهی پیش از زمستان به مرحله IV بلوغ جنسی نزدیک می‌گردد. در ماه مارس رشد تروفوپلاسماتیک اووسیت‌ها کامل ، شاخص گنادوسوماتیک در ماهیان نر و ماده به بیشترین مقدار خود می‌رسد. با این وجود در فصل زمستان و در فصل بهار ، افزایش غلظت GTH در خون ، و بدنبال آن تمایز جنسی مشاهده نشد. ظاهراً ، افزایش هورمونهای گنادوتروپینی[2] در خون بصورت تناوبی و در مراحل مشخصی از دوره جنسی ، از جمله در شروع ویتلوژنز ، در دوره پیش از اوولاسیون و در زمان تخمریزی ، اتفاق می‌افتد.

پس از تخمریزی میزان GTH خون در تاسماهی و ازون‌برون بشدت کاهش می‌یابد.

بررسی دینامیک هورمونهای جنسی استروئیدی در خون تاسماهی زمستانه در منطقه ولگاگراد

1- GSI

2- GTH



تصویر ۶ : غلظت هورمونهای جنسی در سرم خون تاسماهی روسی در دوران زندگی رودخانه‌ای ـ توضیحات مانند تصویر ۵ می‌باشد.

نشان داد که در ماه ژوئیه تمایز جنسی از طریق تعیین مقادیر پروژسترون و استروژن قابل تشخیص است (تصویر ۶).

در دوران بهار به هنگام نزدیک شدن زمان تخمریزی ، برخلاف دمای پایین آب ، ترشح تستوسترون ($P<0/001$) و پروژسترون ($P<0/05$) در ماهی نر و تستوسترون در ماهی ماده ($P<0/05$)) به شدت افزایش می‌یابد. این فرآیند در ماهیان نر بوضوح بیشتری قابل مشاهده است و در این دوره تمایزات جنسی مشخصی از نظر تغییر مقادیر پروژسترون و تستوسترون بوجود می‌آید (تصویر ۶). بنظر می‌رسد که این مسئله نقش هورمونهای فوق را در فعالیت تولیدمثلی دوره پیش از تخمریزی تأیید می‌نماید. باید خاطرنشان کرد که در ماهی ازون‌برون در دوره نزدیک به تخمریزی میزان پروژسترون و تستوسترون در ماهیان نر نسبت به ماهیان ماده کمتر است.

میزان استرادیول مشاهده شده در خون تاسماهیان نر و ماده در ماه مارس ، در مقایسه با ماه ژوئیه برابر است (تصویر ۶). پس از تخمریزی تاسماهی و ازون‌برون ، میزان هورمونهای جنسی استروئیدی در خون به شدت کاهش یافته ، تستوسترون و استرادیول در حداقل میزان مقادیر ممکن در بدن مشاهده می‌گردند (بوکوفسکایا ، a,b ۱۹۸۱).

بافت سازنده استروئیدها (استروئیدوژن) و عملکرد آن در تاسماهیان . در ماهیان استخوانی تعیین محل قرارگیری بافت استروئیدوژن در گنادها ، روشهای بیوسنتز استروئیدها و شرکت عناصر سلولی مختلف در این فرآیند بطور مفصل مورد بررسی قرار گرفته است (Nagahama , 1983 ; Hoar, Nagahama, 1987). تولید استروئیدهای جنسی در تخمک‌ها بوسیله سلولهای پوششی[1] و گرانولوزا[2] فولیکولها ، و در جنس نر بوسیله سلولهای بینابینی[3] و سلولهای سرتولی[4] انجام می‌پذیرد.

بافت تولید کننده استروئید در اندامهای جنسی تاسماهیان به اندازه کافی مورد مطالعه قرار نگرفته و بسیاری از اطلاعات بدست آمده متناقض می‌باشند. بعلاوه هورمونهای جنسی تولید شده توسط بافتهای جنسی ، تحت تأثیر تنظیم هورمون گنادوتروپین هیپوفیز قرار داشته و مراحل مهم رشد و بلوغ سلولهای جنسی ، تخمک‌گذاری و رهاسازی اسپرم توسط این هورمون کنترل و تنظیم می‌گردد. براساس تحقیقات بعمل آمده در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) ، ثابت شده که در تاسماهیان سلولهای پوششی[5] فولیکولها ، پروژسترون و یا مواد مشابه پروژسترون را ترشح می‌نمایند که موجب رسیدگی اووسیت‌ها می‌گردند (دتلاف ، ۱۹۷۰).

در تحقیقات تخصصی که در این ارتباط روی لایه خارجی بافت فولیکول تخمک‌های تاسماهی

1- Thecal cells *2- Granulosa cells* *3- Interstitial tissue* *4- Sertoli cells*

5- Epithelial cells

انجام گرفت ، سلولهای واجد علائم فعالیت جنسی مشاهده شدند. بعدها ثابت گردید که این سلولها دارای ماهیت ماهیچه‌های صاف می‌باشند (پولینوف و همکاران ، ۱۹۸۴ ، ۱۹۷۸).

با استفاده از برخی روشهای هیستوشیمیایی در تخمک تاسماهی (مرحله IV رسیدگی جنسی) پس از اندازه گیری اووسیت‌ها به روش پریمتری (Perimetry)[۱] ، تعدادی سلول مشاهده گردید که نسبت به 3βHSH (3β-hydroxisteroid-de hydrogenase) واکنش مثبت نشان داده و ظاهراً این سلولهای ویژه در پدیده استروئیدوژنز شرکت دارند. همچنین بافت استروما (Stroma)[۲] تخمک واکنش مثبتی نسبت به 3βHSH نشان داد. در مجاری بسیار باریک[۳] و نیز در بافت بینابینی[۴] تخمک تاسماهی (مرحله IV رسیدگی جنسی) بخشی از سلولها نسبت به 3βHSH واکنش مثبت نشان می‌دهند (دیوبین ،۱۹۸۶). در استروما تخمک استرلیادهای جوان نیزگروهی از سلولهای ترشحی نسبت به 3βHSH واکنش مثبت نشان داده و این سلولها دارای برخی خصوصیات فراساختاری (Ultrastructure)[۵] بوده ، که از مشخصات سلولهای سازنده استروئیدها می‌باشد. در گنادهای جنس نر نیز در دوره تمایز هیستولوژیک جنسی ، سلولهای ترشحی مشاهده می‌شوند (ک.ای.فدوروف ، و.و.سیمنوف ، س.ا.زوبکووا و سایرین ، ۱۹۸۶).

با ادامه تحقیقات اطلاعات جدیدی در زمینه مراحل مختلف بلوغ تخمک تاسماهیان ، در دوران پیش از تخمریزی (مرحله IV رسیدگی جنسی) و پس از رسیدگی تحت تأثیر لولیبرین ، بدست آمده که ماهیت استروئیدزایی سلولها را با توجه به ویژگیهای فراساختاری آنها و بر اساس تغییرات عملی که مرتبط با ترشح استروئیدها در ضمن بلوغ و اوولاسیون ماهیان می‌باشد ، اثبات می‌نماید. سلولهای دارای خاصیت فراساختاری ، معمولاً در بخش‌های تولیدکننده استروئید بوفور یافت شده

۱ـ اندازه‌گیری توسط دستگاه Perimeter

۲ـ بافتی که ماده بینابینی شبکه یک عضو را می‌سازد ، بستر بافت . در داخل تخمدان سلولهای پشتیبان نیز خوانده می‌شوند.

3- Canaliculus *4- Interstitial tissue*

۵ـ یک سطح صاف وسیع از شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک یا چین‌های لوله‌ای دیواره داخلی میتوکندری .

شده ، در بافت فولیکولها و در استروم تخمک‌ها قرار دارند. در این سلولها میتوکندری‌های واجد کریستاهای[1] لوله‌ای ، شبکه رتیکولوم آندوپلاسمیک (شبکه درون سیتوپلاسمی) در اشکال گرانوله (دانه‌دار) و آگرانوله (بدون دانه) ، قطره‌های چربی و لیپوسوم مشاهده می‌گردد. در ماهیان ماده که دارای گنادهای در مرحله IV رسیدگی جنسی بوده ، و یا ماده‌هایی که تحت تأثیر تزریق هورمونی ، بالغ شده‌اند تغییرات قانونمندی در تراکم حجمی خصوصیات فراساختمانی اصلی مشاهده می‌شود. در ماده‌های بالغ تراکم حجمی میتوکندری‌ها و شبکه‌های رتیکولوم آندوپلاسمیک افزایش یافته و ابعاد این اندامک‌ها نیز بطور قابل ملاحظه‌ای زیاد شده که این مسئله نشان‌دهنده نقش فعال آنها در فرآیند بلوغ ماهی می‌باشد (واسیلیوا،۱۹۸۸). در واقع میزان هورمونهای استروئیدی در خون تعدادی از ماهیان ماده که پس از تزریق لولیبرین به بلوغ رسیده‌اند ، افزایش می‌یابد.

نگرشی بر تکمیل بیوتکنیک تحریک هورمونی بلوغ مولدین در پرورش تاسماهیان .

در صفحات قبل اطلاعاتی در رابطه با استفاده از لولیبرین و مواد مصنوعی مشابه آن به منظور تحریک بلوغ در تاسماهیان ارائه شد. بدیهی است که همگام با سنتز پپتیدهای واجد خواص تنظیم‌کنندگی ، این روش توسعه بیشتری خواهد یافت. باید خاطرنشان کرد که استفاده از نوروهورمونهای هیپوتالاموسی در صورتی امکان‌پذیر است که گیرنده‌های گنادوتروپینی هیپوفیز توانایی واکنش نسبت به آنها را داشته باشند و بتوانند با استفاده از مکانیسم‌های پیچیده سلولی سیستم‌های آنزیمی مختلف درگیر در سلولهای هیپوفیزی را فعال نموده که در نهایت منجر به ترشح گنادوتروپین‌ها از این سلولها در خون می‌گردد.

در شرایطی که به دلایل مختلف ، تأثیر عوامل فوق بر موجود زنده دچار اختلال شود ، ممکن است از دست دادن توانایی ارتباط گیرنده‌های سلولهای مختلف گنادوتروف مشاهده گردد. در حال

1- Cristae

حاضر چنین بنظر می‌رسد که اثرات نامطلوب مختلف بر روی اندامهای ماهی افزایش یافته و وضعیت فیزیولوژیک تاسماهیان مولدی که به رودخانه‌ها مهاجرت می‌نمایند، تغییر پیداکرده است. همانگونه که هورمون گنادوتروپین پس از تزریق، بر حلقه بعدی زنجیره روابط هورمونی اثر می‌گذارد و بطور غیرمستقیم موجب تحریک بافت سازنده استروئید درگنادها و تولید استروئیدهای جنسی می‌شود، استفاده از ترکیبات هیپوفیزی جهت تحریک بلوغ مستلزم شرکت سلولهای آن در واکنش نیست. در این شرایط ضروری است که گیرنده‌های سلولهای سازنده استروئیدها توانایی نشان دادن واکنش در مقابل هورمون گنادوتروپین را داشته باشند. به همین دلیل مطالعه گیرنده‌های گنادوتروپین و هورمونهای جنسی استروئیدی بسیار ضروری و مفید می‌باشد.

استفاده از ترکیبات هیپوفیز، ضمن تکمیل روشهای مؤثر، نتایج مطلوبی دربردارد. در میان انواع تاسماهیان قسمت جنوبی ولگا، ماهی ازون‌برون دشوارترین و پیچیده‌ترین فرآیند تحریک را دارا می‌باشد. دلیل این امر وجود تفاوت شدیدی است که در مولدین مهاجر به رودخانه از نظر درجه رسیدگی گنادها در یک دوره زمانی مشاهده می‌گردد. به همین جهت بکارگیری تزریقات هورمونی معمولی موجب بلوغ همه ماهیان نشده و کیفیت سلولهای جنسی بالغ بدست آمده نیز پایین خواهد بود. بعلاوه، ازون‌برون به مراتب بیش از تاسماهی از اثرات منفی تزریقات نامناسب متأثّر می‌گردد. به همین دلیل روند تکمیل روش تزریق مکرر با مقادیر اندک از ترکیبات هیپوفیزی ادامه دارد. این امر تنها در سایه مطالعه و تعیین مقادیر مناسب تزریق ترکیبات هیپوفیزی به تاسماهیان و نیز استفاده از ترکیبات گلیسرولی هیپوفیز و گنادوتروپین خالص شده که تعیین دُزهای دقیق آنها عملی می‌باشد، امکان‌پذیر است (بویف، آرتوخین، ۱۹۷۸؛ بویف، ۱۹۷۹).

برخلاف طرحهای شناخته شده تزریق دو مرحله‌ای (بارانیکووا، ۱۹۷۸؛ بارانیکووا و سایرین، ۱۹۸۳) اشکال جدید ترکیبات هورمونی، در تزریق اول از دُز ۳-۲ واحد استفاده می‌شود که $\frac{۱}{۳۵}$ تا $\frac{۱}{۲۷}$ از دُز تزریقی معمول ۸۰-۷۰ واحد (از نظر وزنی، از ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم ماده خشک

ترکیب هیپوفیزی در ازون‌برون ماده) را تشکیل می‌دهد. در تجربه N_1 از ترکیب هیپوفیزی گلیسیرینی استفاده شد. فاصله زمانی بین تزریق اول و دوم ۲۴-۱۸ ساعت است . ماهیان ازون‌برون ماده‌ای که تزریق ترکیب هیپوفیزی گلیسیرینی در آنها یکبار به میزان مذکور انجام گرفته بود بعنوان شاهد مورد استفاده واقع گردیدند. نتایج آزمایشات (جدول ۲) نشان داد که ماهیان ازون‌برون ماده مورد آزمایش ۷-۵ ساعت زودتر و هماهنگ‌تر از ماهیان شاهد به بلوغ می‌رسند (در تمام آزمایشها تأثیر تزریق دوم در یک زمان آغاز شد). در صورت تکرار تزریق ترکیبات هیپوفیزی ، تعداد ماهیان ماده‌ای که در طول یکسال می‌توان از تخم آنها برای اهداف ماهی‌پروری سود جست ، به مراتب بیشتر از ماهیان شاهد خواهد بود ($P<0/01$). این قانون درکلیه آزمایشهایی که در درجات مختلف دمایی انجام پذیرفت ، صدق می‌کند. لیکن ضمن استفاده از طرح تزریق دو مرحله‌ای ترکیبات هورمونی ، کیفیت تخم درگروهی از ماهیان به اندازه کافی بالا نخواهد بود.

بررسی بافت‌شناسی نمونه‌های تخم بعد از تزریق مقادیر کم ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی و پیش از تزریق مقادیر نهایی آنها ، نشان داد که ۲۴-۱۸ ساعت پس از تزریق ۳-۲ واحد از این ترکیب ، تغییرات واضحی در هسته اووسیت‌ها مشاهده می‌گردد : هستک‌ها ازکناره‌های هسته به قسمتهای مرکزی آن منتقل شده و سپس در طی مطالعه با میکروسکوپ نوری دیگر قابل مشاهده نمی‌باشند. تخمهای بدست آمده از چنین ماهیانی پس از دومین تزریق ، درصد بسیار بالایی از توان باروری را کسب می‌نمایند. قبلاً نیز تغییرات مشابهی ضمن اولین تزریق ترکیبات هیپوفیزی در دُزهای بالاتر مشاهده شده بود (کازانسکی ،۱۹۶۲؛ بارانیکووا،۱۹۷۸). درگروهی از ماهیان وضعیت اولیه اووسیت‌ها بیشتر بصورت قطبی درآمده ، بطوریکه هستک‌ها در هسته مشاهده نمی‌شوند و این بدان معنی است که این ماهیان در بهترین شرایط رسیدگی قرارگرفته‌اند. در این ماهیان ۲۴-۱۸ ساعت پس از تزریق اولین مقادیر جزیی ترکیبات هورمونی ، فرآیند تخریب کیسه جنینی آغاز شده و هسته اووسیت‌ها

جدول ۲ : بلوغ ماهیان ازون‌برون ماده و کیفیت تخم‌ها ضمن تزریق دو مرحله‌ای و یک مرحله‌ای ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی .

N تعداد حالات آزمایش و کنترل (K)	دُز و نحوه تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی (واحد)	تعداد ماهیانی که مورد تزریق قرار گرفتند (عدد)	تعداد مولدینی که تخم آنها برای ماهی‌پروری مناسب است (عدد) ، درصد)	میانگین باروری تخم‌ها (درصد)	دمای آب (C)	طول مدت رسیدگی ماهیان ماده (ساعت)
۱	۳+۸۰	۱۰	۷(۷۰)	۷۶	۱۶-۱۸	۲۲-۲۷
۱(K)	۸۰	۲۵	۱۰(۴۰)	۷۶	۱۶-۱۸	۲۴-۳۲
۲	۳+۷۵	۱۲	۶(۵۰)	۷۸	۱۷-۱۹	۱۶-۲۲
۲(K)	۸۰	۲۹	۸(۲۷)	۷۷	۱۷-۱۹	۲۱-۲۷
۳	۲+۷۰	۱۱	۸(۷۳)	۸۲	۲۳-۲۵	۱۲-۱۷
۳(K)	۷۵	۱۷	۸(۴۷)	۷۳	۲۳-۲۵	۱۵-۲۱
مجموع		۳۳	۲۱(۶۳)*	۷۸/۶		
مجموع K		۷۱	۲۶(۳۶/۶)	۷۵/۳		

* تفاوت موجود بین ماهیانی که می‌توان از تخم آنها در ماهی‌پروری استفاده نمود در گروههای آزمایشی و کنترلی معنی‌دار است (P<۰/۰۱).

نسبت به غشاء به طرف قطب جانوری[1] منتقل می‌شوند. کیفیت تخم‌های بدست آمده از این ماهیان ماده پس از دومین تزریق ، پایین‌تر بوده که این مسئله ظاهراً بدلیل زیاد بودن نسبی فاصله زمانی بین تزریقها و عدم افزایش سطح هورمون گنادوتروپین به حد لازم در خون در زمان مشخص می‌باشد که در نهایت منجر به اختلال در مراحل نهایی بلوغ سلولهای جنسی می‌گردد. مقدار متوسط هورمون گنادوتروپین در خون ماهیان ماده‌ای که در نتیجه دو بار تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی بالغ شده ، و در هشت ماهی ماده‌ای که پس از یک بار تزریق این ترکیب به بلوغ رسیده‌اند به ترتیب ۴۶/۸ و ۵۶/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد . از اینرو مقادیر غلظت هورمون گنادوتروپین در خون ماهیان ازون‌برون شاهد به مراتب بیش از ماهیان مورد آزمایش با دو بار تزریق ترکیبات هیپوفیزی

1- Animal pole

جدول ۳ : بلوغ ازون‌برون‌های ماده و کیفیت تخم‌ها ضمن دو بار تزریق هورمون گنادوتروپین و یک بار تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی (K).

N تعداد حالات آزمایش و کنترل (K)	دُز و نحوه تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی (واحد)	تعداد ماهیانی که مورد تزریق قرار گرفتند (عدد)	تعداد مولدینی که تخم آنها برای ماهی‌پروری مناسب است (عدد) ، درصد)	میانگین باروری تخم‌ها (درصد)	دمای آب (C)	طول مدت رسیدگی ماهیان ماده (ساعت)
۱	۴+۸۰	۹	۵(۵۵)	۸۰	۱۸/۵-۲۰/۰	۱۲-۱۶
۱ k	۸۰	۹	۵(۵۵)	۸۱	۱۸/۵-۲۰/۰	۱۸-۲۳
۲	۲+۷۰	۶	۳(۵۰)	۸۳	۱۹/۵-۲۰/۵	۱۵-۱۸
۲ k	۷۰	۹	۳(۳۳)	۷۷	۱۹/۵-۲۰/۵	۱۸-۲۱
۳	۲+۸۰	۷	۵(۷۱)	۸۴	۲۱-۲۲	۱۵-۱۹
۳ k	۸۰	۸	۵(۶۲)	۷۶	۲۱-۲۲	۱۷-۲۴
۴	۱/۵+۷۵	۸	۵(۶۲)	۸۸	۲۰-۲۲	۱۴-۱۸
۴ k	۷۵	۱۰	۶(۶۰)	۷۶	۲۰-۲۲	۱۵-۲۲
۵	۱/۵+۷۵	۸	۵(۶۲)	۹۲	۲۱-۲۳	۱۲-۱۷
۵ k	۷۵	۹	۶(۶۶)	۷۷	۲۱-۲۳	۱۶-۲۲
مجموع		۳۸	۲۳(۶۰/۵)	۸۵/۴ *		
مجموع K		۴۵	۲۵(۵۵/۵)	۷۷/۴		

* تفاوت از نقطه نظر میانگین درصد باروری تخم‌ها ، بین آزمایش‌ها و نمونه‌های شاهد معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

گلیسیرینی‌بوده است (P<۰/۰۱).

دومین سری آزمایش‌ها براساس همان طرح انجام شد ، لیکن ضمن دو بار تزریق ، از ترکیبات تقریباً خالص گنادوتروپینی تاسماهیان که توسط گ.آ.زنکیویچ (انستیتوی بیولوژی آکادمی علوم جمهوری لتونی) تهیه شده بود ، استفاده گردید و در طی یک بار تزریق نیز ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی بکارگرفته شد. با افزایش دمای آب دُز ترکیبات در اولین تزریق از ۴ واحد به ۱/۵ واحد کاهش یافت ، بطوریکه دُزکلی بکار رفته در ماهیان مورد آزمایش و شاهد ، نزدیک به یکدیگر بود (جدول ۳). تحلیل نتایج بدست آمده نشان داد که ضمن دو بار تزریق هورمون گنادوتروپین ،

جدول ۴ : بلوغ ازون‌برون‌های ماده و کیفیت تخم‌ها ضمن تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی و سورفاگون .

طول مدت رسیدگی ماهیان ماده (ساعت)	دمای آب (C)	میانگین باروری تخم‌ها (درصد)	تعداد مولدینی که تخم آنها برای ماهی‌پروری مناسب است (عده) ، درصد)	تعداد ماهیانی که مورد تزریق قرار گرفتند (عده)	دُز ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی (واحد) + سورفاگون (میکروگرم) و نحوه تزریق ترکیبات	N تعداد حالات آزمایش
۲۰-۲۳	۱۷/۶-۱۸/۰	۹۰	۵(۸۳)	۶	۳+۷۰	۱
۲۲-۳۱	۱۷/۶-۱۸/۰	۸۹	۵(۷۱)	۷	۱۰	۲*
۱۶-۱۷	۱۸/۹-۱۹/۲	۹۵	۶(۶۶)	۹	۳+۷۰	۳
۲۲-۳۰	۱۸/۹-۱۹/۲	۸۴	۴(۴۴)	۹	۱۰	۴*
۱۳-۱۶	۱۹/۵-۲۱/۶	۹۰	۹(۷۵)	۱۲	۳+۷۰	۵-۶
۱۸-۲۵	۱۹/۵-۲۱/۶	۸۳	۶(۵۰)	۱۲	۱۰	۷-۸*
۱۱-۱۳	۲۱/۷-۲۲/۴	۸۳	۶(۱۰۰)	۶	۳+۷۰	۹
۱۷-۲۳	۲۱/۷-۲۲/۴	۸۳	۵(۸۳)	۶	۱۰	۱۰*
		۹۰	۲۶(۷۹)	۳۳	-مجموع پس از تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی	
		۸۵	۲۰(۵۹)	۳۴	-مجموع پس از تزریق سورفاگون	

* آمار ارائه شده در موارد ۲ ، ۴ ، ۷ ، ۸ ، ۱۰ مربوط به تزریق سورفاگون است.

همانطورکه در آزمایش اول نیز مشاهده شد ، بلوغ هماهنگ‌تر و زودتر از زمانی انجام می‌گیرد که پس از یک بار تزریق اتفاق می‌افتد.

با توجه به نتایج آزمایش اول ، در آزمایش سوم فاصله زمانی بین تزریق‌ها کاهش یافته و به ۱۴-۱۲ ساعت رسید . در بخش اول آزمایش ، دو بار ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی به ماهیان تزریق شد و در بخش دوم از یکبار تزریق سورفاگون طبق دستورالعمل‌های تولیدی استفاده گردید (جدول ۴). در بخش اول آزمایش ماهیان به مراتب هماهنگ‌تر و در فاصله زمانی کوتاهتری از بخش دوم به بلوغ

رسیدند.

فواصل زمانی در بلوغ ماهیان پس از تزریق سورفاگون بیشتر از زمان استفاده از ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی (ضمن یک یا دو بار تزریق) بود. نتایج آزمایش‌های قبلی در مورد طول مدت بلوغ تاسماهیان ماده پس از تزریق لولیبرین و مواد مصنوعی مشابه آن ، یافته‌های حاصل از این تجربیات را تأیید می‌نماید.

پس از دو بار تزریق ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی ، تعداد ماهیانی که تخم آنها برای تکثیر آمادگی کافی را پیدا کرده‌اند ، به مراتب بیش از ماهیان مورد تزریق توسط سورفاگون بود ($P<0/01$) در ضمن تخم‌های بدست آمده نیز از کیفیت بالایی برخوردار بودند. همچنین لاروها و بچه‌ماهیان بدست آمده و پرورش یافته از ماهیانی که تحت تأثیر ترکیبات هیپوفیزی گلیسیرینی به بلوغ رسیده‌اند از نظر آهنگ رشد و درصد بقاء نسبت به ماهیان بالغ شده توسط سورفاگون دارای کیفیت پایین‌تری نمی‌باشند.

نتایج بدست آمده مؤید آن است که بیوتکنیک تحریک هورمونی بلوغ مولدین در تاسماهی‌پروری را می‌توان کامل‌تر نمود.

شناخت مکانیزم‌های تنظیم فعالیت دستگاه تولیدمثل در ماهی ، امکان دستیابی به روشهای کامل‌تری جهت کنترل وضعیت گنادها در مراحل مختلف دوره جنسی را فراهم می‌سازد.

فهرست منابع

- بارانیکووا،ای.آ. ؛ بویف،آ.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. ؛ افیموا،ن.آ. ؛ پرسنوف،د.ای. ؛ اسکورچینسکایا،ی.آ. (۱۹۸۹). آنالیز بلوغ تاسماهی *(Acipenser gueldenstaedti Brandt)* تحت تأثیر لولیبرین با توجه به امکان استفاده از این ترکیب در ماهی‌پروری. مسائل ماهی‌شناسی. جلد ۲۹ ، دوره سوم ، ص. ۴۴۸-۴۳۹ .
- بارانیکووا،ای.آ. (۱۹۷۵). ارتباط متقابل هیپوفیز و تخمدان در تاسماهیان در سیکل جنسی طبیعی و در شرایط بی‌نظمی در سیکل جنسی. مجموعه انتشارات ونیرو. جلد ۱۱۱ ـ ص. ۹۷-۸۶ .
- بارانیکووا،ای.آ. (۱۹۷۸). اصول هیستوفیزیولوژیک استفاده مکرر و یا یکبار تزریق هیپوفیزی در پرورش ماهیان خاویاری. مجموعه انتشارات ونیرو. جلد ۱۳۰ ، ص. ۹۳-۸۵ .
- بارانیکووا،ای.آ. (۱۹۸۱). مکانیزم‌های تنظیم هورمونی فعالیت‌های تولیدمثل در مهره‌داران پست. مکانیزم‌های تنظیم هورمونی و نقش رابطه فیدبکی در پدیده‌های رشد و همواستاز . انتشارات نااوکا ، ص. ۲۰۲-۱۸۶ .
- بارانیکووا،ای.آ. (۱۹۸۴). تنظیم هورمونی فعالیت تولیدمثل در ماهیانی که از نظر اکولوژیک با یکدیگر متفاوتند. اصول بیولوژیک ماهی‌پروری. مسکو ، ص. ۲۱۸-۱۷۸ .
- بارانیکووا،ای.آ. ؛ بویف،آ.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. ؛ افیموا،ن.آ. (۱۹۸۰). ویژگی‌های عملکرد گنادوتروپینی هیپوفیز و دینامیک گنادوتروپین در سرم خون تاسماهی پس از تأثیر لولیبرین در مقایسه با ترکیبات هیپوفیزی. ششمین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه اکولوژی ، فیزیولوژی و بیوشیمی ماهی . مقالات ارائه شده ، ویلینوس ، ص. ۳۶۹-۳۶۸ .
- بارانیکووا،ای.آ. ؛ بویف،آ.آ. ؛ افیموا،ن.آ. ؛ پرسنوف،د.ای. (۱۹۸۴a). تحلیل مقایسه‌ای فرآورده‌های ماهی که در نتیجه تحریک بلوغ تاسماهی بوسیله لولیبرین مصنوعی و ترکیبات

هیپوفیزی گلیسیرینی بدست آمده‌اند. پرورش ماهیان خاویاری در آبهای اتحاد شوروی خلاصه مقالات علمی اجلاس سراسری روسیه ـ آستراخان ، ص. ۳۶-۳۴ .

ـ بارانیکووا،ای.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. (۱۹۹۰). تأثیر لولیبرین بر وضعیت سلول‌های گنادوتروف هیپوفیز و دینامیک مقدار هورمون گنادوتروپین در سرم خون ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus Pallas*). مسائل ماهی‌شناسی ، جلد ۳۰ ، شماره اول ، ص. ۱۲۶-۱۳۶.

ـ بارانیکووا،ای.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. ؛ افیموواِن.آ. (۱۹۸۴a). دینامیک گنادوتروپین و وضعیت سلول‌های گنادوتروف هیپوفیز تاسماهی *Acipenser gueldenstaedti Brandt* در حالات مختلف غدد جنسی در دوران زندگی رودخانه‌ای. مسائل ماهی‌شناسی. ۱۹۸۴ ، جلد ۲۴ ، دوره پنجم، ص. ۸۲۸-۸۲۲ .

ـ بویف،آ.آ. (۱۹۷۹). واکنش تاسماهیان وکپور ماهیان مولد ضمن تحریک توسط ترکیبات هیپوفیزی ماهی با دُزهای مختلف. فیزیولوژی اکولوژیک ماهی. جلد دوم ـ ص.۸-۷ .

ـ بویف،آ.آ. ؛ آرتیوخین،ی.ن. (۱۹۷۸). تشخیص دُزهای مناسب برای ترکیبات آزمایشی هیپوفیز استونی شده بمنظور تحریک بلوغ مولدین تاسماهی در بخش سفلای ولگا. مجموعه انتشارات ونیرو . جلد ۱۳۰ ، ص. ۹۷-۹۳ .

ـ بوکوفسکایا،او.س. (۱۹۸۱). تعیین مقادیر گنادوتروپین و هورمون‌های جنسی در سرم خون ماهی ازون‌برون در برخی مراحل دوره‌های جنسی با استفاده از روش‌های رادیوایمنولوژیک . اصول منطقی پرورش ماهیان خاویاری ، ولگاگراد ، ص. ۳۲-۳۱ .

ـ بوکوفسکایا،او.س. (۱۹۸۱). میزان گنادوتروپین و هورمون‌های جنسی در سرم خون تاسماهی روسی در برخی مراحل دوره‌های جنسی. اصول منطقی پرورش ماهیان خاویاری. ولگاگراد، ص. ۳۴-۳۳ .

- واسیلیوا،ی.و. (۱۹۸۸). سلولهای استروئیدوژن در تخمک‌های تاسماهی روسی در مراحل مختلف چرخه‌های حیات. سیتولوژی . جلد ۳۰ ـ شماره ۹ ، ص. ۱۰۶۶ـ۱۰۶۳ .
- گنچاروف،ب.ف. (۱۹۸۴). ترکیبات مصنوعی مشابه لولیبرین بعنوان محرک جدید بلوغ سلول‌های جنسی در ماهیان خاویاری . آکادمی علوم اتحاد شوروی . جلد ۲۷۶ ، شماره ۴ ، ص. ۱۰۰۶ـ۱۰۰۲ .
- گنچاروف،ب.ف. (۱۹۸۵). چشم‌اندازهای استفاده از ترکیبات مصنوعی مشابه لولیبرین برای دستیابی به فرآورده‌های جنسی بالغ از تاسماهیان مولد. ششمین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه اکولوژی ، فیزیولوژی و بیوشیمی ماهی . مجموعه گزارشات ارائه شده . ویلینوس، ص. ۳۸۵ـ۳۸۴ .
- بارانیکووا،ای.آ. ؛ بویف،آ.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. ؛ افیموا،ن.آ. (۱۹۸۳). تنظیم هورمونی فعالیت‌های تولیدمثل در تاسماهیان و بیوتکنیک تحریک بلوغ مولدین ضمن پرورش ماهیان خاویاری . اصول بیولوژیک پرورش ماهیان خاویاری . مسکو ، انتشارات «نااوکا» ، ص. ۴۲ـ۲۲ .
- دتلاف،ت.آ. (۱۹۷۰). اثرات بین سلولی در فرآیند بلوغ اووسیت‌ها در ماهیان خاویاری . اثرات متقابل بین سلولی در تمایز و رشد . مسکو، انتشارات «نااوکا» ، ص. ۲۴۳ـ۲۴۱ .
- دیوبین،و.پ. (۱۹۸۶). تحقیقات هیستولوژیک بر روی بافت‌های استروئیدوژن غدد در تاسماهی روسی . سیتولوژی . جلد ۲۴ ، شماره ۴ ، ص. ۴۵۱ـ۴۴۸ .
- ایگومنووا،و.و. ؛ گنچاروف،ب.ف. (۱۹۸۶). تهیه فرآورده‌های جنسی بالغ از فیلماهیان مولد به کمک مواد مصنوعی مشابه لولیبرین . شکل‌گیری ذخایر تاسماهیان در شرایط بهره‌برداری همه جانبه از منابع آبی : خلاصه مقالات ارائه شده در اجلاس سراسری روسیه . آستراخان، ص. ۱۱۱ .
- کازانسکی،ب.ن. (۱۹۶۲). بررسی آزمایشگاهی فصلی بودن تکثیر تاسماهیان ولگا با توجه به تنوع

بیولوژیک درون گونه‌ای . از سری علوم بیولوژیک ، شماره ۳۱۱ ، بخش ۴۸ ، ص. ۴۵-۱۹ .

- فدورف،ک.ی. ؛ سیمینوف،و.و. ؛ زویکووا،س.ا. ؛ بورلاکوف،آ.ب. (۱۹۸۶). سلولهای ترشحی گنادها در ماهیان استرلیاد جوان . قوانین رشد فردی جانوران . مقالات ارائه شده در هفتمین کنگره جنین‌شناسی سراسری روسیه . جلد اول ، ص. ۴۰ .

- پالینوف،آ.ل. (۱۹۷۵). کنترل هیپوتالاموسی پروسه‌های تکثیر در ماهیان . مجموعه انتشارات ونیرو . جلد سوم ، ص. ۷۰-۵۴ .

- پالینوف،آ.ل. ؛ گاربوف،ب.ی. ؛ سابینین،گ و. (۱۹۸۴). سلول‌های ماهیچه‌ای صاف در مجاورت غشاء فولیکول‌های تخمک تاسماهیان .

- بارانیکووا،ای.آ. ؛ بویف،آ.آ. ؛ بوکوفسکایا،او.س. ؛ افیموا،ن.آ. ؛ زنکیویچ،گ.آ. ؛ لاتسه،ا.م. (۱۹۸۵). وضعیت هیپوفیز و دینامیک هورمون گنادوتروپین در خون تاسماهی روس و ازون‌برون.

- Barannikova I.A., Bukovskaya O.S., Efimova N.A. Hormonal control of the reproductive function of sturgeon (Chondrostei). Proceedings of the international Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Wageningen, 1982.-P.49

- Donaldson E.M., Hunter G.A. Induced final maturation , ovulation and spermiation in cultured fish. Fish physiol. Eds. Hoar W.S., Rendall D.R., Donadson E.M. Academic Press. New-York. 1983.- Vol.9,Part.2.- P.351-403.

- Doroshov S.I., Lutes P.B. Preliminary data on the induction of ovulation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). Aquaculture.-1984.- Vol.30.-N3.- P.221-227.

- Effects of LH-RH and des-Gly (D-Ala)- LH - RH - ethylamide on plasma

gonadotropin levels and oocyte maturation in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). G.Van Der Kraak, Lin Hao-Ren, E.M. Donaldson H.M.Dye, G.A.Hunter. Gen.Comp.Endocrinol.-1983.-Vol 49,N 2.- P.470-476.

- Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentrations and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition on gonadotropin secretion . J.P.Chagn, R.E.Peter, C.S.Nahorniak. M.Sokolowska. Gen.Comp.Endoerinol.-1984.-Vol.55.- P.351-360.

- Hoar W.S., Nagahama Y. The sources of sex steroids in teleost gonads. Ann.Biol.Anim.Biochem.Biophys.-1978.-Vol.18.-P.893-898.

- Horvath L., Peteri A., Kouril J. Successful sterlet ,Acipenser ruthenus L., propagation with synthetic LH-RH hormone. Aquacult. and Fish Menag.-1986.- Vol.17.- P.113-116.

- Nagahama Y. The functional morphology of teleost gonads. Fish Physiology. Eds.: Hoar W.S., Randall D.J. Donaldson E.M. - P.A.- 1983.-Vol.9.-P.223-276.

- Peter R.E. Nature , location and action of neurohormones regulating gonadotropin secretion in teleosts. Proceedings of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish.: Goos H.H.TH.,Richter C.J.J., Wageningen, 1982.- P.20-30.

- Peter R.E. The brain and neurohomones in teleost reproduction.W.S. Hoar, D.J. Randall; E.M. Donaldson. Fish Physiology.- New York: Ac.Press.-P.A.-

1983.-Vol.9.- P.97-135.

- R.De-Leeuw, J.W.Resink, E.J.M. Rooyakkers, H.J.Th.Goos. Pimozide modulates the luteinizing hormone - releasing hormone effect on gonadotropin release in the African catfish, *Clarias lazerta*. Gen.Comp. Endocrinol.-1985.- Vol.58.- P.120-127.

- Lin Hao Ren, J.-Y.Kraak, C.Liang, G.-Y.Peng, L.-Z. Li, X.-Y. Lu, M.-L. Zhou, J.P.Chang, R.E.Peter. The effects of LH-RH analogue and drugs wich block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China.G.V.D. Aquaculture of Cyprinids , Eds.: Billard R. et Marcel J. INRA.- Paris, 1986.- P.139-150.

- Van Der Kraak G., Donaldson E.M., Chang J.P. Dopamine involvement in the regulation of gonadotropin secretion in coho salmon. Can.J.Zool.- 1986.- Vol.64, N.6.- P.1245-1248.

برخی پیش‌نیازهای نوروفیزیولوژیک برای استفاده از عوامل و مواد فعال بیولوژیک جهت تحریک بلوغ در ماهیان

(آ.ای.گلوباکوف)

در حال حاضر توسعه کامل آبزی‌پروری بدون استفاده همه جانبه از عوامل و مواد فعال بیولوژیک به هیچ‌وجه عملی نیست. یکی از زمینه‌های مهم کاربرد این مواد ، که در هر نوع بیوتکنولوژی پرورش ماهی ضروری است ، استفاده از آنها بمنظور اثر بر فرآیند گامتوژنز می‌باشد. مراحل نهایی گامتوژنز از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا در صورت هدایت آگاهانه این فرآیند ، امکان دستیابی به فرآورده‌های جنسی (اسپرم و تخمک) مرغوب در موقع لزوم میسر می‌گردد. برای طراحی روش‌های دقیق و مؤثر ، شناخت کامل مکانیزم‌های نوروفیزیولوژیک در عملکرد سیستم‌های تولیدمثلی ضروری است.

در این کتاب سعی شده است نقش عوامل و مواد فعال بیولوژیک در تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی ماهی (و نیز تا حدودی در سایر مهره‌داران) بمنظور پیش‌بینی راههای ممکن جهت تحریک بلوغ ماهیان مورد بررسی قرارگیرد.

گنادولیبرین‌ها[1] و گنادوتروپین‌ها[2] هورمون‌هایی هستند که در تنظیم عملکرد سیستم‌های تولیدمثلی شرکت دارند. تاریخچه سیستم تولیدمثلی ماهی به بیش از ۵۵ سال قبل بازمی‌گردد. Von R.Ihering (۱۹۳۵) و Hasler (۱۹۳۹) بطور جداگانه نشان دادند که تزریق ترکیبات هیپوفیزی به ماهی نر موجب بلوغ آن می‌شود. در اتحاد شوروی سابق روش تزریق هیپوفیز طراحی و تکمیل ، سپس مدتی بعد توسط ن.ل.ژربیلسکی (۱۹۴۱) وارد علم شیلات گشت. در طول دهها سال این روش به تنها روش تنظیم فعالیت تولیدمثلی در ماهیان تبدیل گردید. از وظایف تحقیقات علمی

1- Gonadoliberin = Gonadotropin - releasing factor *2- Gonadotropin*

در این زمینه شناسایی و انتخاب بهترین روش‌های تزریق ترکیبات هیپوفیزی (در بطن مغز ، داخل عضلات ، داخل صفاق ، داخل غدد) و روش‌های تهیه آن (بصورت تازه یا استونی شده) بود ، بنحوی که دارای تأثیر عمومی بر هیپوفیزگونه‌های مختلف ماهی باشد (تزریق همو ـ هتروپلاستیک).

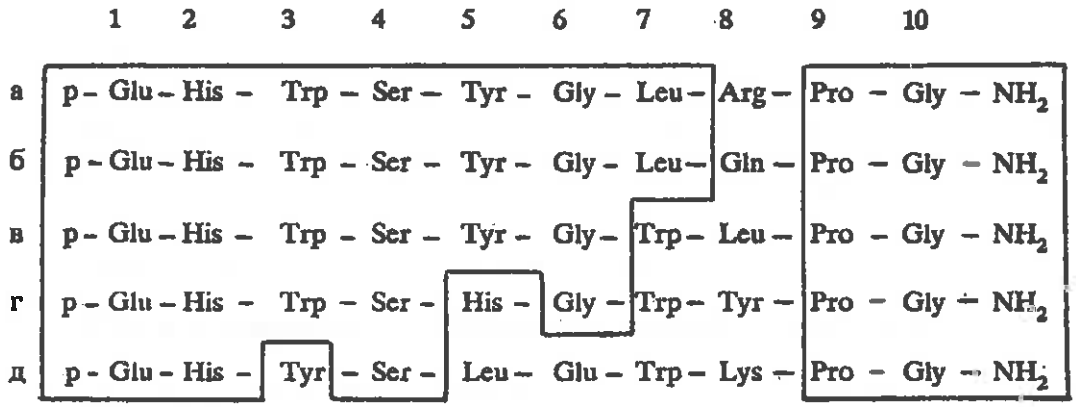
از اواخر سال‌های دهه ۱۹۶۰ ، جداسازی ، کشف رمز ژنی و استفاده از هورمونهای گنادوتروپین هیپوفیز و هورمون‌های دیگر به منظور تحریک بلوغ در ماهیان آغاز گردید (Burzawa - Gerad,1971; Donaldson et al.,1972) ، بارانیکووا و همکاران ،۱۹۷۵ ؛ ساکون ، لیمانووا ، ۱۹۷۶؛ Jalabert et al.,1977؛ بورلاکوف ، خایچایووا،۱۹۸۳). لیکن بسیاری از گنادوتروپین‌ها ، آندروژن‌ها و استروژن‌ها عمومیت نداشته بلکه مختص گونه‌های خاصی بوده و نمی‌توان در همه موارد اوولاسیون جهت تزریق اگزوژن از آنها استفاده نمود ؛ تزریق این مواد تنها بر مراحل پایانی گامتوژنز تأثیر می‌گذارد.

تحقیقات بعدی نشان داد که در سیستم تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی ، حلقه نهایی گنادولیبرین‌ها (GnRH) می‌باشند. وجود ترشحات عصبی [1] در هیپوتالاموس در اواخر سالهای دهه ۱۹۳۰ اثبات شد ولی پدیده تنظیم نوروهورمونی ترشح گنادوتروپین‌ها که توسط هورمون‌های هیپوتالاموسی انجام می‌گیرد ، در اواخر سال‌های دهه ۱۹۶۰ تأیید گردید (Peszely,1989).

بررسی ساختمان گنادولیبرین‌ها نشان داد که این مواد دکاپپتیدهایی هستند که ساختار آمینواسیدی آنها در پستانداران ، پرندگان ، ماهیان و مارماهیان متفاوت است (تصویر ۱).

دو نوع گنادولیبرین (و یا بیشتر) در کلیه گونه‌های مهره‌داران مشاهده شده که این مسئله نشان‌دهنده نسخه‌برداری (دوپلیکاسیون) ژن مربوطه در مراحل اولیه تکامل می‌باشد. در ماهیان گنادوتروپین جوجه II [2] و آزادماهی فراوانی بیشتری دارد (Barnett et al.,1982). گنادوتروپین جوجه II که در مهره‌داران بطور گسترده‌ای دیده می‌شود ،

1- Neurosecretion *2- Chicken gonadotrope*



تصویر ۱ : ساختار گنادولیبرین‌ها [(GnRH-receptor) Millar et al., 1988] a,b,c,d,e به ترتیب گنادولیبرین‌های پستانداران ، گنادوتروپین جوجه I ، آزادماهی ، گنادوتروپین جوجه II و مارماهی .

احتمالاً تحت تأثیر یکی از ژنهای بسیار پایدار نسخه‌برداری شده از ابتدای مسیر فیلوژنتیک آنها تولید شده است (King,Millar,1989). گنادولیبرین‌ها از پیش‌ماده‌ای ساخته می‌شوند که این پیش‌ماده در پستانداران از ۹۲ اسیدآمینه تشکیل شده است. گنادولیبرین در محلول آبی به شکل حرف "C" دیده می‌شود. پیوند ۶-۵ (که در اکثر گنادولیبرین‌ها پیوند تیروزین -گلیسین می‌باشد) آمادگی بیشتری برای شکسته شدن دارد. جایگزین شدن گلیسین با دی‌آمینواسید هیدروفوب ، موجب تحکیم مولکول و فعالیت بیشتر آن می‌گردد. از این مواد مشابه نیز جهت تحریک بلوغ جنسی در ماهی استفاده می‌شود (گاشکووا و سایرین ، ۱۹۸۸؛ میکودینا و سایرین ، ۱۹۸۹؛ Kouril et al.,1989). لیکن گنادولیبرین‌های ناپایدار آستانه هیدروفوبی مناسبی دارند که افزایش آن موجب کاهش فعالیت مولکول می‌گردد (بعنوان مثال در 3-/dicyclohexil petil/- Ala^{6} - GnRH). پیوند Tyr^{3} - Ser^{4} (تریپتوفان - سرین) و His^{2} - Tyr^{3} (هیستیدین - تریپتوفان) به ترتیب پیوندهای ضعیف بعدی هستند. قطعات انتهایی که شامل Pro-Gly^{10} می‌باشد بمنظور برقراری پیوند مولکول با گیرنده‌ها

بوجود آمده است. جایگزین شدن گلیسین با اتیل‌آمید موجب افزایش خاصیت گیرندگی می‌گردد. بعنوان مثال LHRH - ([D - Ala^{6}] des Gly^{10} در تحریک گامتوژنز ماهی ، در مراحل نهایی بطور موفقیت‌آمیزی بکار می‌روند (Glubokov et al.,1990). پروتئین‌هایی که دارای دی - آمینواسیدهایی در موقعیت‌های ۳-۱ و ۶ هستند نسبت به GnRH از خاصیت آنتاگونیستی برخوردار می‌باشند (گاشکووا و سایرین ، ۱۹۸۸ ؛ Jennes,Conn,1988).

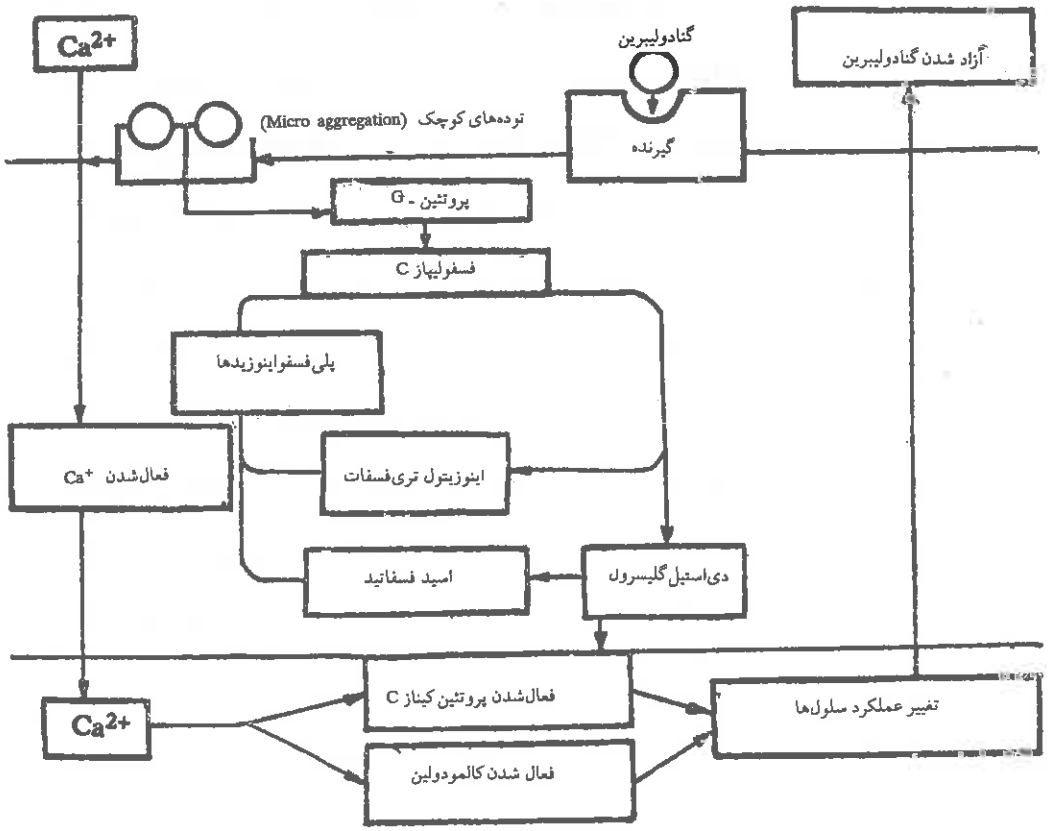
انتقال گنادولیبرین‌ها از هیپوتالاموس ، یعنی جایی که این مواد آزاد می‌شوند ، عمدتاً بصورت درون‌آکسونی [۱] و سپس از طریق سیستم گردش خون در آدنوهیپوفیز (هیپوفیز قدامی) انجام می‌گیرد. علاوه بر آن ، رشته‌های عصبی که از قسمت‌های مختلف داخلی و خارجی هیپوتالاموس منشعب می‌شوند ، حاوی گنادولیبرین‌ها بوده که این نشان‌دهنده نقش بالقوه پپتیدها بعنوان میانجی‌های عصبی [۲] است. احتمالاً این مسئله می‌تواند از راههای خاصی بر رفتارهای تولیدمثلی اثر گذارد. همچنین گیرنده‌های ویژه گنادولیبرین‌ها در اووسیت‌های موش‌خرما نیز شناسایی شده‌اند (Dekel et al.,1988).

ارتباط گیرنده‌های گنادولیبرین‌ها در حال حاضر در پستانداران بیش از سایر گروههای جانوری مطالعه شده است. جرم مولکولی گیرنده‌های غشایی [۳] حدود ۱۳۶۰۰۰ دولیا[۴] می‌باشد. ترکیب شیمیایی گیرنده‌ها بدرستی شناخته نشده ، لیکن براساس دلائل غیرمستقیم بنظر می‌رسد که این گیرنده‌ها باقیمانده‌های گلیکولیز شده اسیدهای بزاقی هستند. انکوباسیون سلول‌های گنادوتروف با آنتی‌بادی‌های دوظرفیتی [۵] در محل اتصال گنادولیبرین‌ها موجب تحریک اثر هورمونی و در برخی موارد حتی تحریک پاسخ گنادوتروپینی می‌گردد. آگونیست‌های GnRH که به شکل آنتی‌بادی‌های

1- Intraaxonal *2- Neuromediator* *3- Membrane receptor*

۴- دولیا : واحد اندازه‌گیری وزن معادل ۴۴ میلی‌گرم است.

5- Bivalent antibody



تصویر ۲ : مکانیزم درون سلولی تأثیر گنادولیبرین‌ها در سلولهای گنادوتروف هیپوفیز (Jennes,Conn,1988; Conn et al.,1987)

دوزنجیره‌ای [1] هستند نسبت به آگونیست‌های خالص از فعالیت بیشتری برخوردارند. فاصله حساس بین دو محل اتصال از ۱۵ تا ۱۵۰ نانومتر است. پلیمرهای D و L لیزین - آرژنین (Arg. - Lys) دارای اسیدهای آمینه‌ای هستند که حداقل دو بار مثبت دارند ، اندازه آنها ۱۲۰ نانومتر و جرم مولکولی آنها ۴۰۰۰ دولیا بوده و بیشترین فعالیت گنادوتروپینی در آنها مشاهده می‌شود (Jennes,Conn,1988). اطلاعات فوق در نتیجه مطالعه بر روی پستانداران بدست آمده و امکان دارد این روش‌های تجریک گنادوتروپینی فعالیت هیپوفیز در آینده در ماهیان نیز مورد استفاده قرار گیرد.

مکانیزم عملکرد گنادولیبرین‌ها در پستانداران در تصویر ۲ نشان داده شده است.

گنادولیبرین‌ها از دو راه موجب تحریک ترشح گنادوتروپین می‌گردند (Jennes,Conn,1988). راه اول از طریق Ca^{2+} و فعال شدن کالمودولین و راه دوم از طریق تحریک هیدرولیز اینوزیتول فسفولیپید. احتمالاً این دو راه بصورت توأم عمل می‌کنند ، زیرا در تحریک پاسخ گنادوتروپین‌ها همکاری (Synergism) بین Ca^{2+} و 1,2 - diacetylglycerol که محصول هیدرولیز پلی‌فسفواینوزیتیدهای فسفولیپاز C می‌باشد ، مشاهده می‌شود (Jennes,Conn,1988). همچنین شواهد غیرمستقیمی که دال بر شباهت مکانیزم درون سلولی تأثیر گنادولیبرین‌ها در ماهیان و پستانداران می‌باشد ، بدست آمده است.

همانطورکه در تیلاپیا [2] نشان داده شد ، یونوفور[3] کلسیم A32187 با غلظت ۰/۱ (میلی‌مول) تنها قادر است با حضور Ca^{2+} درون سلولی اثر تحریکی داشته باشد. فسفولیپاز C[4] ضمن تسریع هیدرولیز بی‌فسفات فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ به اینوزیتول تری‌فسفات و دی‌استیل گلیسرول ،

1- Dimer antibody *2- Tilapia*

۳- *Ionophore* : مولکول‌های کوچک هیدروفوبی که در دو لایه چربی حل شده و توانایی نفوذپذیری غشای سلولی را نسبت به یونها افزایش می‌دهد.

4- Phospholipase C

موجب تقویت ترشح گنادوتروپین می‌گردد (Levavi - Zermonsky,Yaron,1989). در ضمن تفاوت‌هایی نیز در مکانیزم تأثیر گنادولیبرین‌ها در ماهیان و پستانداران وجود دارد. در ماهیان AMP با دُزهای از ۰/۲ تا ۲۰ (میلی‌مول) به تناسب دُز مصرفی موجب افزایش سرعت ترشح گنادوتروپین‌ها شده ، و فعالیت زیر واحد کاتالیزوری آدنیلات سیکلازفورسکولینوم (۱۰-۱ میکرومول) نیز موجب تقویت ترشح گنادوتروپین‌ها می‌شود. اطلاعات بدست آمده مؤید آن است که در ماهیان سیستم Adenilat cyclase - CAMP می‌تواند بعنوان میانجی [1] تکمیلی در انتقال سیگنال‌های GnRH عمل نماید (Levavi - Zermonsky,Yaron,1989).

ترشح دوره‌ای گنادولیبرین‌ها نقش مهمی در تنظیم فعالیت گنادوتروپین‌ها توسط این مواد دارد. ترشح گنادولیبرین‌های آندوژن همواره به صورت جریانی ضربان‌دار و منظم انجام می‌پذیرد. هنگام ترشح اگزوژن گنادولیبرین‌ها ، یک یا دو بار در روز فعالیت گنادها متوقف شده ولی ترشح یکباره و ضربان‌دار موجب تحریک فعالیت گنادها در بسیاری از پرندگان و پستانداران می‌شود (Schally,1984). این نکته نقش مهمی در بکارگیری مواد مشابه GnRH برای تحریک بلوغ در ماهیانی دارد که درست قبل از تخمریزی به مرحله IV رسیدگی رسیده‌اند. در نتیجه در هنگام تحریک بلوغ توسط ترکیبات هیپوفیزی ، این مواد بایستی به دفعات زیاد به جانور تزریق گردد. بعنوان مثال ، می‌توان از تحریک بلوغ در کفال ***(Mullet)*** نام برد. شایان ذکر است که در مرحله تزریق گنادولیبرین‌ها ممکن است اثر معکوس نیز دیده شود ، اگرچه نتایج مثبت استفاده از گنادولیبرین‌ها در تحریک مکرر بلوغ در ماهیان (سه بار در طول سه روز) به اثبات رسیده است (Donaldson,Hunter,1983). ظاهراً ، تقارن زمانی ترشح آندوژن و اگزوژن گنادولیبرین‌ها در هنگام تحریک مصنوعی بلوغ نقش بسیار مهمی در واکنش موجود زنده ایفاء می‌نماید.

بروز اثر معکوس و بی‌حسی شامل دو مرحله می‌باشد. مرحله اول مرحله مقدماتی بوده که در

1- Mediator

جریان آن کاهش تعداد گیرنده‌ها اتفاق می‌افتد و در نتیجه پپتیدهای فعال بیولوژیک ذخیره شده و این تراکم موجب توقف فعالیت گنادوتروپینی سلولهای گنادوتروف می‌گردد. مرحله دوم بی‌حسی شامل کاهش فعالیت عملکرد شبکه‌های یونی بوده ، و در زمانی اتفاق می‌افتد که تعداد گیرنده‌ها به اندازه طبیعی خود بازگشته است. کاهش حساسیت ۲۰ دقیقه پس از تأثیر GnRH اتفاق می‌افتد و ممکن است تا ۱۲ ساعت ادامه یابد. در پستانداران سلولهای گنادوتروف پس از گذشت چندین روز بطور کامل بازسازی می‌شوند (Jennes,Conn,1988).

بنابر آنچه گفته شد برای تهیه طرح‌ها و نمودارهای مربوط به تحریک بلوغ در ماهیان به کمک گنادولیبرین‌ها و یا مواد مشابه آن ، تحقیق و مطالعه دقیق مکانیزم‌های ارتباط گیرنده‌ها و واکنش‌های درون سلولی ضروری بنظر می‌رسد ، زیرا در نتیجه این مطالعات ، زمان ، مقادیر (دُزها) و برنامه‌های زمان‌بندی تزریق این ترکیبات مشخص شده و امکان استفاده از موادی نظیر C-AMP ، Ca^{2+} ، یونوفورهای Ca^{2+} ، پروتئین کیناز C و دی‌استیل گلیسرول مصنوعی بعنوان مواد تکمیلی در کنار گنادولیبرین‌ها و یا به عنوان موادی مستقل فراهم می‌گردد.

یکی دیگر از جنبه‌های مهم تنظیم فعالیت دستگاه تولیدمثل ، مانند تنظیم اکثر دستگاههای طبیعی بدن ، روابط معکوس مثبت و منفی است که شامل تأثیر یک هورمون بر ترشح و سنتز هورمونی دیگر می‌باشد و به نوبه خود موجب تنظیم ترشح هورمون اولیه می‌شود. یکی از این هورمون‌های پپتیدی غیر استروئیدی Inhibin است. گنادوتروپین‌ها و استروئیدهای جنسی موجب تحریک ترشح این هورمون شده و تحت تأثیر گنادولیبرین‌ها و استروئیدهای جنسی ترشح این هورمون متوقف می‌گردد. Inhibin نیز بنوبه خود موجب تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها و استروئیدهای جنسی شده و ترشح گنادولیبرین‌ها و بدنبال آن فرآیند اوولاسیون را به تأخیر می‌اندازد. این هورمون (Inhibin) از هر دو جهت (مثبت و منفی) بر ترشح هورمون‌های استروئیدی جنسی مؤثر است. همچنین ثابت شده که ترشح Inhibin در پستانداران به موازات

رشد و رسیدگی فولیکول‌ها و فعالیت آروماتیک [1] آنها یعنی زمانی که شکل‌گیری جسم زرد [2] سنتز آن را به تعویق می‌اندازد ، افزایش می‌یابد (Franchmont et al.,1989; Rivier,Vale,1989).

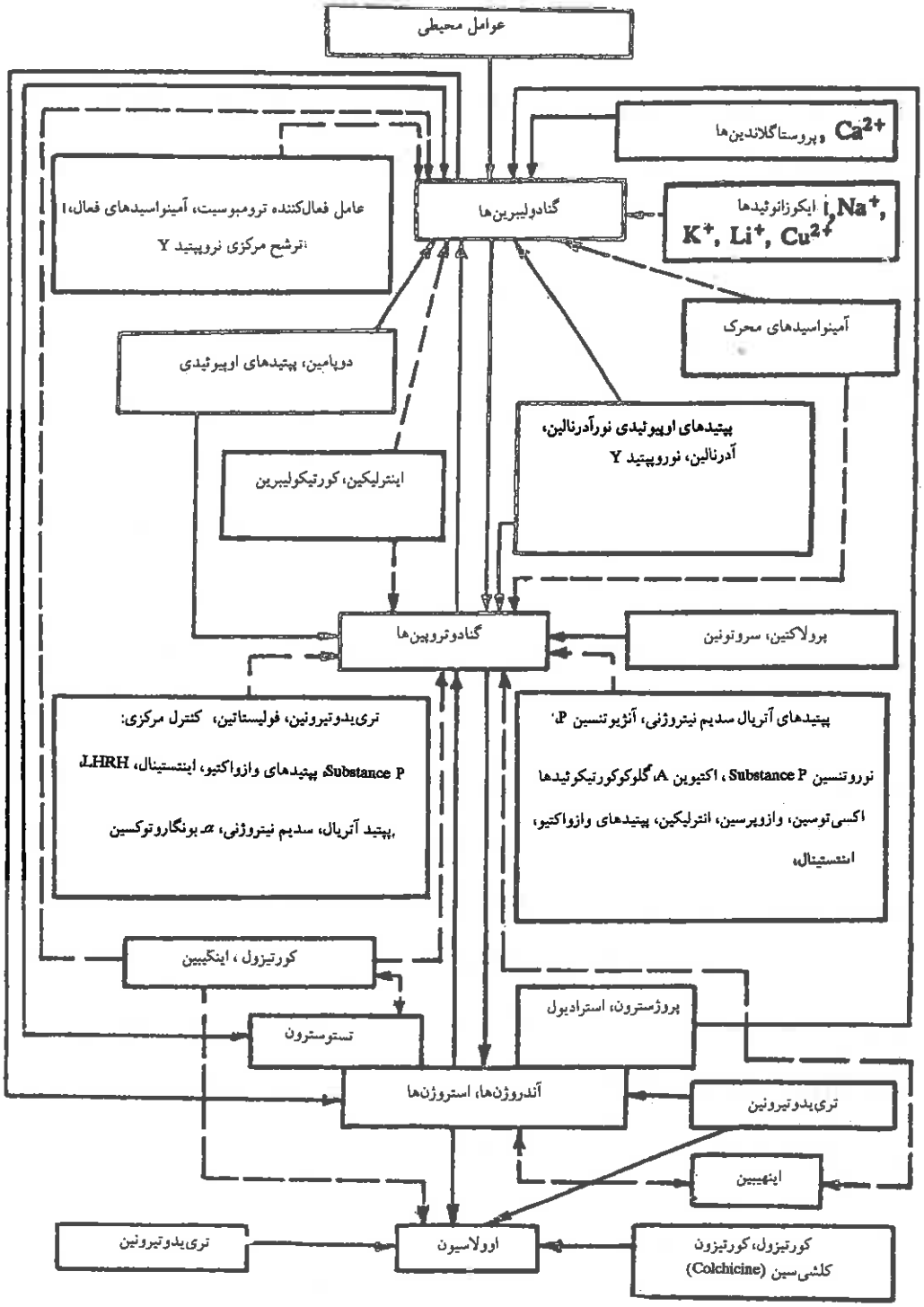
پروتئینی بنام اکتیوین [3] که از هم‌خانواده‌های Inhibin است با غلظت ۱ نانومول در طول ۴۸-۶ ساعت مقدار هورمون محرک فولیکول‌ها را در پلاسمای خون موش‌خرما از ۱۶۲-۱۲۰ درصد نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش می‌دهد (Kitaoka et al.,1988).

صرف‌نظر از Activin و Inhibin ، تنظیم عملکرد دستگاه تولیدمثل براساس رابطه معکوس در سطح هورمون‌های استروئیدی انجام می‌پذیرد. در صورت افزایش ترشح آنها عمل آزادسازی گنادولیبرین‌ها متوقف شده ، ترشح تستوسترون به تعویق می‌افتد و پروژسترون و استرادیول موجب تحریک ترشح هورمون آزادکننده هورمون‌های هیپوتالاموس می‌گردند. گنادولیبرین‌ها و گنادوتروپین‌ها نیز با رابطه معکوس منفی با یکدیگر ارتباط می‌یابند (Donaldson,Hunter,1983).

تأثیر آنتی‌استروژن‌ها نظیر کلومی‌فن سیترات و تاموکسی فن موجب افزایش ترشح گنادوتروپین‌ها می‌شود که در آزاد ماهیان و کپور ماهیان نشان داده شده است (Billard,Peter,1977; Popek,1988).

بدین ترتیب حلقه‌های محور اصلی تنظیم فعالیت سیستم تولیدمثلی مورد بررسی قرار گرفت. لیکن تحقیقات بعدی نشان داد که تنظیم جریان گامتوژنز از پیچیدگی بیشتری برخوردار است (تصویر ۳). در این نمودار روابط موجود تنها براساس هورمون‌های تولیدمثلی نشان داده شده ، و تأثیرات متقابل مواد فعال بیولوژیک که بسیاری از آنها در هر موجود دیده می‌شود ، در نظرگرفته شده است. برای وضوح بیشتر ، موادی که دارای اثرات مثبت هستند در سمت راست نمودار و مواد با اثرات منفی ، در سمت چپ نمودار بسته‌بندی شده‌اند. اگر در شرایط خاصی این مواد بتوانند هم نقش محرک و هم نقش بازدارنده را ایفاء نمایند ، در نمودار تکرار خواهند شد. ترتیب قرارگرفتن این

1- Aromatic *2- Luteinization* *3- Activin*



تصویر ۳ : تنظیم فعالیت هورمون‌های دستگاه تولیدمثل . خطوط پیوسته نشان‌دهنده روابطی است که در ماهیان کاملاً ثابت شده ، و خطوط نقطه‌چین روابطی را نشان می‌دهد که در ماهیان هنوز به اثبات نرسیده است.

مواد در تمام قسمت‌های نمودار با در نظرگرفتن محل سنتز آنها رعایت نشده است. به همین دلیل ، وازوپرسین [1] در نمودار پایین‌تر از گنادوتروپین‌ها قرار دارد. اگرچه محل سنتز آن در هیپوتالاموس است.

در ادامه مقاله برخی جنبه‌های دیگر از اثرات متقابل مواد فعال بیولوژیک که در نمودار به آنها اشاره شده ، تشریح خواهد گردید. بعنوان مثال اثر برخی یون‌ها و عوامل فعال‌کننده واکنش‌های زیستی و نیز تا حدی تنظیم اگزوژن فعالیت‌های تولیدمثلی مورد بررسی بیشتر قرار خواهند گرفت.

تنظیم کاتکول‌آمینرژیک [2] فعالیت دستگاه تولیدمثل

یکی ازگروههای اصلی مواد فعال‌کننده واکنش‌های زیستی که در تنظیم هورمون‌های تولیدمثلی هیپوتالاموس ـ هیپوفیزی شرکت دارند کاتکول آمین‌ها هستند که از تیروزین و فنیل‌آلانین ساخته شده‌اند.

دوپامین : از میان این مواد در وهله نخست باید به تأثیر دوپامین که پیش‌ماده سنتز سایر کاتکول‌آمین‌ها (نورآدرنالین و آدرنالین) است ، اشاره نمود.

دوپامین به عنوان دارو در سال‌های دهه اول قرن بیستم توسط «بادر» و «اونس» ساخته شد و در اواخر سال‌های دهه ۱۹۵۰ در مغز کشف گردید (Horny Kiewicz,1985).

در سال‌های دهه ۱۹۷۰ ، تحقیقات مربوط به تأثیر گنادولیبرین‌ها بر بلوغ ماهیان عدم وابستگی این واکنش‌ها را به مقادیر (دُزهای) این ماده نشان داد. در سال ۱۹۸۳ ، Peter و Fryer اثرات متناقض دوپامین راکه در هیپوتالاموس تولید می‌شود برگنادولیبرین‌های ماهی مورد بحث و بررسی قرار دادند.

1- Vasoperssin *2- Catecholaminergic*

سلول‌های حاوی دوپامین مغز پیشین [1] و در قسمت‌های پشتی و ساب‌کامیسرال [2] (الیاف عصبی پیوند دهنده دو قسمت مغز) منطقه شکمی واقع شده‌اند ، در مغز رابط [3] این سلول‌ها در قسمت پیش بصری [4] قرار داشته ، و همچنین در بخش جلویی - جانبی هیپوتالاموس و در بخش‌های پوششی پشتی مغز میانی [5] یافت می‌شوند (Meek et al.,1989).

در مغز پستانداران سنتز دوپامین توسط سیستم مربوطه Ca^{2+} ـ کالمودولین [6] تنظیم می‌گردد (Sutoo et al.,1989). در تنظیم آزادسازی دوپامین ، ظاهراً گیرنده حساس ایبوتنات بعنوان واسط تحریک متابولیسم اینوزیتول پلی‌فسفات‌ها شرکت دارد (Crawford,Roberts,1989). در ارتباط با این فرآیندها مطالعات بسیار محدودی بر روی ماهیان صورت گرفته است.

مسیر تأثیر دوپامین بر فعالیت‌های تولیدمثلی ماهیان به شرح زیر است : منطقه جانبی پیش بصری ، بخش جلویی - جانبی هیپوتالاموس و محور هیپوفیز. در پستانداران دوپامین نمی‌تواند از موانع هموانسفالیک عبور کند و احتمالاً در ماهیان استخوانی نیز این موانع وجود دارند (Chang,Peter,1983).

دوپامین می‌تواند از دو راه بر فعالیت دستگاه تولیدمثل ماهی اثر گذارد : ۱) بصورت ضد گنادوتروپین عمل نماید مانند فاکتور بازدارنده ترشح گنادوتروپین ؛ ۲) با تأثیر مستقیم بر سلولهای گنادوتروف. اثر دوپامین در پستانداران شبیه به اثر آن در ماهیان بوده ، لیکن بطورکلی از طریق هیپوتالاموس و سپس GnRH عمل می‌کند. راه دوم ـ که تأثیر مستقیم بر سلولهای گنادوتروف است بندرت در پستانداران ملاحظه می‌شود. ظاهراً جلوگیری دوپامین از واکنش گنادوتروپین‌ها روش تحول‌یافته مکانیزم قدیمی است. اهمیت این روش در طی مسیر تکاملی کاهش یافته و در

1- Telencephalon *2- Subcommissural* *3- Diencephalon* *4- Preoptic*

5- Mesencephalon *6- Calmodulin*

مهره‌داران عالی ممکن است تنها در شرایط ویژه‌ای بعنوان مثال ضمن مطالعات آسیب‌شناسی[1] از از این روش استفاده بعمل آید (Peter, Fryer , 1983).

در حال حاضر در پستانداران چهار نوع اصلی از گیرنده‌های دوپامینی شناسایی شده است : D_1, D_2, D_3, D_4 . در عین حال برای D_1 دو نوع فرعی نیز اختصاص یافته ، درباره عملکرد خاص انواع مختلف گیرنده‌ها نیز تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. ظاهراً گیرنده‌های نوع D_1 موجب تحریک سیستم دوپامینرژیک می‌شوند. در حالیکه نوع اول گیرنده‌های D_1 در پایانه‌های آکسونی قرار گرفته ، هیچ ارتباطی با فسفوپروتئین‌ها ندارند و در تنظیم سریع ترشح هورمونهای هیپوتالاموس شرکت می‌نمایند. نوع دوم گیرنده‌های D_1 در تنظیم درازمدت آزادسازی این مواد دخالت دارند. گیرنده‌های نوع D_2 مانع سیگنال‌های دوپامینرژیک می‌شوند. درباره گیرنده‌های نوع D_4 که به تازگی شناسایی شده‌اند اطلاعاتی بدست آمده از جمله آنکه این گیرنده‌ها مانع تصفیه [2] می‌گردند. جرم مولکولی واحدهای سازنده گیرنده‌های نوع D_2 در خوک ۱۴۰۰۰۰ و ۹۴۰۰۰ (d)[3] و در سگ ۹۴۰۰۰ و ۳۴۰۰۰ (d) است (Fuxe K. et al.,1988; Kebabien,Calne,1979; Broaddus,Bennet,1990).

مکانیزم عمل دوپامین از طریق گیرنده‌های D_2 در پستانداران به شرح زیر می‌باشد. فعال شدن گیرنده‌های D_2 مانع ترشح آدنیلات سیکلازها و کاهش میزان C - AMP می‌شود. این فعالیت منفی با هیدرولیز فسفاتیدل اینوزیت ـ ۴ و ۵ـ بی‌فسفات به فسفولیپاز C همراه است که در نتیجه آن دو ناقل نوری [4] بوجود می‌آید : اینوزیت ـ ۱ ، ۴ ، ۵ ـ تری‌فسفات و دی‌استیل گلیسرول . خارج شدن Ca^{+2} از ذخیره درون سلولی ، فرآیندی است که به اینوزیت تری‌فسفات بستگی دارد ، در

1- *Pathology* 2- *Grooming*

۳ـ (d) علامت اختصاری واحدی بنام دولیا که معادل ۴۴ میلی‌گرم است.

4- *Messenger*

نتیجه با کاهش میزان این ماده ضمن فعال شدن گیرنده‌های D_2 موجب کاهش مقدار Ca^{+2} در سیتوپلاسم نیز می‌گردد. در نرون‌های حساس ، دوپامین باعث توقف یا به تعویق‌افتادن فعالیت کانال‌های Ca^{+2} شده و تأثیر معکوسی بر کانال‌های K^+ بر جای می‌گذارد که در نهایت منجر به قطبی‌شدن شدید غشاء می‌شود. احتمالاً تغییر در قابلیت رسانایی K^+ ، در کاهش پتانسیل اثر Ca^{+2} و تغییرات میزان Ca^{+2} در سیتوپلاسم نیز اهمیت قابل توجهی دارد. بدین ترتیب گیرنده‌های D_2 از طریق دو سیستم مؤثر عمل می‌کنند : سیستم آدنیلات سیکلاز و سیستم کانال‌های یونی از طریق پروتئین (Vallar,Meldolesi,1989) . فعال شدن رابطه لیگاندی [1] گیرنده‌های دوپامینی به کمک کالمودولین تنظیم می‌گردد (Sartania et al.,1989).

تأثیر آنتاگونیستی دوپامین بر فعالیت گنادوتروپین‌ها که بویژه در مهره‌داران پست بوضوح قابل مشاهده است مستلزم توقف فعالیت گیرنده‌های دوپامینی ضمن تحریک مصنوعی بلوغ در ماهیان می‌باشد. امروزه ماهی‌شناسان بدین منظور آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی را با موفقیت مورد استفاده قرار می‌دهند. از جمله این مواد می‌توان به رزرپین (نوع D_1) ، دومپریدون (نوع D_2) ، پیموزید (نوع D_2) ، گالوپریدون (نوع D_2) ، متوکلوپرامید (نوع D_2) ، سولپیرید (انواع D_2 و D_4) و فلوفنازین اشاره نمود (J.Kouril et al.,1989 ; De Leeuw et al.,1989). در ماهی طلایی [2] از نظر میزان تأثیر ، می‌توان بازدارنده‌های دوپامینی را به ترتیب زیر مرتب کرد: دومپریدون > پیموزید > متوکلوپرامید > فلوفنازین ؛ از میان دو نوع سولپیرید نیز نوعی که مربوط به گیرنده‌های D_2 است مؤثر می‌باشد (Omeljaniuk et al.,1987). همانطور که مشخص است توقف فعالیت گیرنده‌های دوپامینی نوع D_1, D_2 و D_4 موجب تحریک روند بلوغ در ماهیان می‌شود. در ضمن یک نوع آنتاگونیست می‌تواند از فعالیت دو نوع گیرنده جلوگیری کند.

۱- Ligand: یک مولکول آلی که توسط پیوندهای منظم متعدد به یک یون فلزی مرکزی متصل است.

2- *Goldfish*

تنظیم خودکار سیستم دوپامینی ، فرآیند بسیار پیچیده‌ای است . بطوریکه تأثیر بسیاری از آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی موجب افزایش تعداد نقاط تماس دوپامین ، ترشح و در برخی موارد سنتز آن می‌گردد. آنتاگونیست‌هایی از قبیل گالوپریدول ، رزرپین ، متوکلوپرامید ، سولپیرید و بسیاری دیگر که بطور گسترده در ماهی از آنها استفاده بعمل می‌آید از جمله آنتاگونیست‌های مورد نظر می‌باشند. بدین معنا که حذف دوپامین در ابتدا مانع فعالیت‌های تولیدمثلی محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز شده و سپس فعالیت شدید بازدارنده‌ها را بدنبال دارد. موادی که در مقابل گیرنده‌های دوپامینی خصوصیت آنتاگونیستی دارند ، در بدن موجودات زنده فعالیت‌های دیگری را نیز انجام می‌دهند. بعنوان مثال پیموزید آنتاگونیست کالمودولین بوده ، و همانطورکه قبلاً نیز گفته شده توقف تأثیر کالمودولین باعث بروز اختلال در انتشار پاسخ GnRH و فعالیت گیرنده‌های دوپامینی می‌شود (Jennes,Conn,1988; Sartania et al.,1989). به همین دلیل عمل پیموزید ممکن است غیرمؤثر باشد.

آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامین ظاهراً در برخی موارد موجب تحریک بلوغ در ماهیان شده بنابراین بسیاری از آنها مانع آزاد شدن دوپامین می‌شوند (بعنوان مثال ، آپومرفین ، برموکریپتین ، لیزورید ، CY 208-243 , RU 24926 , RU 24213 , B-HT 920 و غیره). ولی بعضی از آگونیست‌ها باعث آزادشدن و سنتز دوپامین می‌شوند بطوریکه پرگولید بسته به شرایط ممکن است بازدارنده و یا تحریک کننده ترشح دوپامین باشد. برخی از آگونیست‌ها بصورت واسط از طریق سیستم عصبی مرکزی می‌توانند موجب تحریک جنسی پستانداران شده ، در حالیکه آنتاگونیست‌ها در صورت عبور از سدهای هماتوانسفالیک موجب توقف این فرآیند می‌گردند (Okuda,Togashi,1990).

علاوه بر اینها موادی وجود دارند که دارای خاصیت دوگانه آنتاگونیستی ـ آگونیستی نسبت به دوپامین بوده ، که از جمله می‌توان به پروپیل پیریدین ، ترانس دی‌هیدرولیز لیزورید و ترگولید اشاره

کرد. در عین حال موادی نیز مانند CU 32-085 شناسایی شده‌اند که نسبت به گیرنده‌های دوپامین دارای خاصیت آنتاگونیستی بوده ولی متابولیت آنها آگونیستی است (Fluckiger,1985).

بدین ترتیب یکی از ویژگیهای موادی که دارای خاصیت آگونیستی و یا آنتاگونیستی نسبت به گیرنده‌های دوپامین هستند ، تنوع عملکرد آنها می‌باشد بطوریکه تأثیر آنها بر دستگاه تولیدمثلی ممکن است شامل یک یا چند جهت بوده و به همین دلیل هنگام انتخاب آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی (که امروزه بخوبی شناخته شده‌اند)، به منظور استفاده از آنها در تحریک بلوغ ماهیان لازم است که در صورت امکان، عملکرد و مکانیزم تأثیر آنها بطور همه جانبه مورد مطالعه و بررسی قرارگیرد.

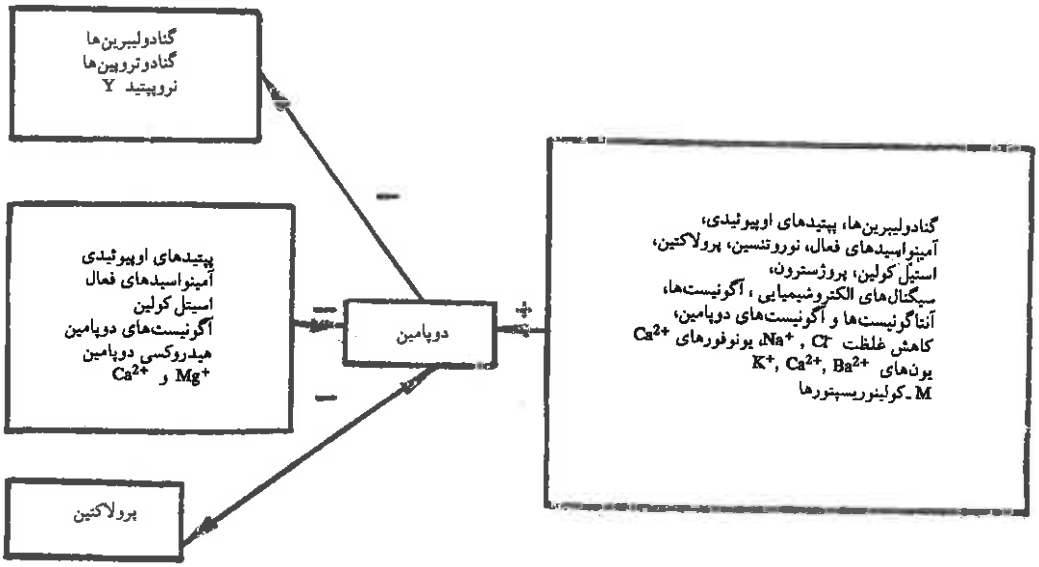
در تنظیم سیستم دوپامینی نیز همانند سیستم هورمون‌های غدد هیپوتالاموس و هیپوفیز روابط فیدبکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در استریاتوم [1] پستانداران منابعی از گیرنده‌های خودکار دوپامین که مسئول جلوگیری از آزادسازی دوپامین هستند دیده می‌شود (Valler,Meldolesi,1989). در حذف دوپامین ، هورمون LHRH [2] تأثیر بسزایی دارد (آتلین ، آروشانیان ، ۱۹۸۹). بعلاوه بسیاری از مواد فعال بیولوژیک به درجات مختلف در تنظیم عملکرد سیستم دوپامینی شرکت می‌نمایند (تصویر ۴).

در اینجا به مطالعه اثر مواد مشخص می‌پردازیم. سیستم کولینرژیک بعنوان یک واسط از طریق دوپامین در تنظیم هورمون‌های هیپوتالاموس ـ هیپوفیز شرکت می‌کند. تأثیر استیل‌کولین استرازها بر نرون‌های ماده خاکستری (لایه خارجی مغز) موجب آزاد شدن دوپامین و مانع آزاد شدن سلول‌های بخش متراکم ماده خاکستری (هسته‌های مغزی) می‌شود (آتلین ، آزوشانیان ، ۱۹۸۹). تزریق آگونیست‌های M ـ کولینورسپتورها[3] AF 102 B و اکسوترمورین بسته به میزان تزریق

1- *Striatum* = قسمتی از مغز

2- *Lutcininzing - hormone relealing hormone*

3- *Cholinorcccptor*



تصویر ۴ : طرح تنظیم ترشح دوپامین و مواد مرتبط با آن .

موجب تشدید حذف دوپامین در استریاتوم [1] موش‌خرما می‌شود ؛ پیرنزپین که آنتاگونیست M ـ کولینورسپتورها می‌باشد مانع اثر تحریکی AF102B می‌گردد (Kato,1989). نقش گیرنده‌های کولینرژیک [2] در تنظیم ترشح دوپامین در ماهیان تاکنون بطورکامل مورد مطالعه واقع نشده است.

نوروتنسین [3] یکی دیگر از پپتیدهایی است که در نرون‌های دوپامینرژیک دیده شده و گیرنده‌های آن در بدن و در پایانه‌های نرون‌های دوپامینرژیک شناسایی شده است. بدین ترتیب می‌توان حدس زد که فعال شدن گیرنده‌های نوروتنسین موجب کاهش ارتباط گیرنده‌های خودکار

1- Striatum *2- Cholinergic receptor* *3- Neurotensin*

دوپامین و افزایش آزادسازی این ماده در استریاتوم می‌شود (Ervin,1989; Nemeroff,1988; Neurotensin counteract ...,1989). همانطورکه در مورد سیستم‌های کولینرژیک [1] گفته شد ، اثر متقابل نوروتنسین و سیستم دوپامینرژیک تنها در مهره‌داران عالی مورد مطالعه قرارگرفته است.

آدرنالین و نورآدرنالین .

از این پس به بررسی نقش مواد دیگر کاتکول آمینی [2] در تنظیم تولیدمثل می‌پردازیم.

آدرنالین از تیروزین و فنیل آلانین ، و نورآدرنالین از دوپامین تشکیل شده است : جداشدن گروه هیدروکسیلیک موجب شکل‌گیری پاراتیرامین و اتصال این گروه به موقعیت β موجب تشکیل مولکول نورآدرنالین می‌شود (گالکینا و همکاران. ۱۹۸۹). ممکن است که در گرانول‌های کرومافینی [3] در شرایطی که جذب دوپامین متوقف شده است این ماده به نورآدرنالین تبدیل شود.

اثر نورآدرنالین و آدرنالین بر دستگاه تولیدمثل درست نقطه مقابل تأثیر دوپامین می‌باشد: این مواد و آگونیست‌های آلفا و بتای آنها [4] یعنی کلونپدین و ایزوپروپانول موجب فعال شدن مرحله‌ای نرون‌های تولید کننده LHRH (Wuttke et al.,1989) و از طریق گیرنده‌های آلفا ـ آدرنرژیک [5] سلولهای گنادوتروف هیپوفیز موجب ترشح گنادوتروپین‌ها می‌شوند (Chang,Peter,1984) (به تصویر ۳ مراجعه شود). از اینرو آدرنالین و نورآدرنالین تنها در مراحل اولیه انتوژنز قادرند چنین اثری بر دستگاه تولید مثل ماهی بگذارند. طرح استفاده از این مواد به منظور تحریک فعالیت گنادوتروپینی در مراحل نهایی گامتوژنز تاکنون بدرستی مطالعه و بررسی نشده است.

در پستانداران مکانیزم تنظیم هورمون‌های تولیدمثلی هیپوتالاموس ـ هیپوفیز توسط مواد کاتکول آمین دارای ویژگی جنسی می‌باشد. هورمون‌های جوجه‌ای (گنادوتروپین جوجه) موجب تحریک

1- Colinergic systems *2- Catecholamines* *3- Chromaffin* *4- α,β-agonists*

5- α -adernergic

ترشح نورآدرنالین و آدرنالین از طریق حذف بازدارنده‌های تونیک (Tonic) به کمک پپتیدهای اوپیوئید [1] می‌گردند. سپس سیستم‌های مرکزی نورآدرنرژیک و آدرنرژیک ترشح LHRH را از نرون‌ها تنظیم می‌نمایند. در موش‌خرمای نر این سیستم‌ها نسبت به هورمون‌های بیضه حساس نیستند (Growley,1988).

مکانیزم اثر نورآدرنالین و آدرنالین شبیه به مکانیزم عمل دوپامین ولی در جهت عکس آن است. در حالیکه فعال شدن گیرنده‌های دوپامین مانع فعالیت آدنیلات سیکلاز[2] است ، فعال شدن گیرنده‌های آدرنرژیک باعث افزایش فعالیت این آنزیم می‌گردد (Deery,1975).

سایر جنبه‌های تنظیم عملکرد دستگاه تولیدمثل .

دخالت سیستم‌های سروتونینرژیک [3] در تنظیم محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد ، در مهره‌داران عالی از مدتها پیش کاملاً شناخته و بررسی شده است. ولی چنین مطالعاتی در مورد ماهیان تنها در چند سال اخیر صورت گرفته است. در جریان این تحقیقات تأثیر مثبت سروتونین [4] بر میزان گنادوتروپین سرم خون ماهیان نر و ماده طلایی [5] که بویژه در دوران پیش از تخمریزی بسیار شدید می‌باشد نشان داده شده است. بنظر می‌رسد که سروتونین بر هیپوفیز اثر می‌گذارد (Somoza et al.,1988). اثر متقابل سروتونین و گیرنده‌های ویژه بر یکدیگر مانند سیستم نورآدرنرژیک موجب فعال شدن آدنیلات سیکلازها می‌گردد.

همچنین غده تیروئید نیز در تنظیم رسیدگی اووسیت‌های ماهیان دخالت دارند. استفاده همزمان از تری‌یدوتیرونین و گنادولیبرین تعداد ماهیان ماده قزل‌آلای رنگین کمان که به مرحله اوولاسیون رسیدند را از ۵۰٪ (که در صورت استفاده مجزا از این مواد حاصل می‌شود) تا ۹۰٪ افزایش می‌دهد.

1- Opioid *2- Adenylate cyclase* *3- Serotoninergic* *4- Serotonin*

5- Goldfish

هورمون‌های غده تیروئید می‌توانند تحت تأثیر گنادوتروپین واکنش‌های استروئیدوژن را در تخمک تقویت و تشدید نمایند. در عین حال ، آزمایش‌های بعمل آمده در شرایط in vitro غلظت‌های بالای تری‌یدوتیرونین (۵۰۰-۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) موجب توقف روند حرکت هسته به طرف قطب جانوری می‌شود (C.V.Sullivan et al.,1989). در نتیجه ، تعیین میزان دقیق غلظت هورمون‌های تیروئید هنگام استفاده از آنها در تحریک بلوغ ماهی ضروری است.

کورتیکولیبرین [1] که یکی از نروهورمون‌های هیپوتالاموس است مانع ترشح گنادولیبرین‌ها و هورمون محرک فولیکول‌ها در پستانداران می‌گردد (Barbarino A. et al.,1989) در حالیکه کورتیکواستروئیدها[2] نظیر کورتیزول و کورتیزون در صورت تزریق همزمان با استروئیدهای جنسی موجب تشدید واکنش اوولاسیون در ماهیان می‌شوند (Goetz,1983).

کنترل ترشح نروهورمون‌های هیپوتالاموس علاوه بر مواد نامبرده در بالا توسط پروستاگلاندین‌های [3] $F_{2\alpha}$ و E_2 که موجب تحریک ترشح گنادولیبرین‌ها می‌شوند ، نیز انجام می‌گیرد. بعلاوه ، این مواد ضمن آنکه موجب سنتز C-AMP و کاهش ماهیچه‌های صاف سلول‌های بافت فولیکول‌ها و استرومای گنادها شده در تنظیم مرکزی رفتارهای تخمریزی نیز شرکت نموده و از اوولاسیون جلوگیری می‌کنند (Goetz,1983).

فاکتور فعال‌کننده ترومبوسیت ، برعکس ، مانع آزاد شدن LHRH از هیپوتالاموس موش‌خرما شده و بر ترشح گنادوتروپین‌ها تأثیری ندارند (Junier et al.,1988). در مورد تأثیر این مواد بر ماهیان تاکنون مطالعه‌ای انجام نگرفته است.

پپتیدهای اوپیوئید[4] مهمترین گروه موادی هستند که تقریباً در تنظیم کلیه فرآیندهای فیزیولوژیک جانور شرکت می‌نمایند. هر سال اطلاعات جدیدی در مورد خواص این پروتئین بدست می‌آید. پپتیدهای اوپیوئید نقش اساسی در تنظیم فعالیت تولیدمثلی ایفا می‌کنند. در ماهی

1- Corticoliberin *2- Corticosteroid* *3- Prostaglandin* *4- Opioid*

طلایی نر ، نالوکسون [1] که آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئید می‌باشد ، ترشح هورمون گنادوتروپین را یک ساعت پس از تزریق متوقف کرده و دو ساعت بعد مقدار آن را به میزان اولیه خود می‌رساند. در عین حال در ماهیانی که قبلاً دومپریدون دریافت کرده‌اند ، تزریق همزمان گنادولیبرین و نالوکسون میزان هورمون گنادوتروپین را تا ۹ برابر زمانی که تنها دومپریدون به آنها تزریق شده بود ، افزایش داد. در نتیجه ، آنتاگونیست‌های پپتیدهای اوپیوئید قادرند ترشح هورمون‌های گنادوتروپین را در ماهی طلایی نر تشدید و یا متوقف نمایند. پپتیدهای اوپیوئیدی ترشح دوپامین ، گنادوتروپین و گنادولیبرین را تنظیم کرده ، همچنین حساسیت هیپوفیز را تعدیل می‌کنند (Rosenblum,Peter, 1989).

اثر پپتیدهای اوپیوئیدی بر دستگاه تولیدمثل از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی δ , μ , x صورت می‌پذیرد (Reimann,1988). انتقال سیگنال‌ها به دلیل ختم شدن ترمینال‌های کاتکول آمینی به گنادولیبرین و ترمینال‌های حاوی اندورفین [2] با طول متوسط انجام می‌شود. بدین ترتیب ، انکفالین [3] در حالیکه بطور مستقیم بر روی پایانه‌های آکسونی نورون‌های با طول متوسط اثر گذاشته مانع سنتز ۳ و ۴ ـ دی‌هیدروکسی‌فنیل آلانین (DOPA) (3,4-dihydroxyphenylalanine) که پیش ماده دوپامین نیز بشمار می‌رود ، می‌گردد (Arita,Kimura,1988). مکانیزم عمل گیرنده‌های اوپیوئیدی نیز مانند دوپامین ، آدرنرژیک و سیستم سروتونرژیک یا آدنیلات سیکلاز که فعالیت آن پس از رابطه متقابل آگونیستی مواد با گیرنده‌های اوپیوئیدی متوقف می‌شود ، مرتبط است (Heijna et al.,1988). پپتیدهای اوپیوئیدی به مثابه یک سیستم چند پیام‌برنده [4] عمل می‌کند. سنتز آن نیز مانند مواد دیگر توسط گنادوتروپین‌ها که موجب تحریک سنتز شده و گنادولیبرین و هورمون‌هایی که مانع سنتز آن می‌گردد ، تنظیم می‌شود (Fabbri et al.,1989).

پپتید دیگری که در تنظیم ترشح گنادولیبرین‌ها و گنادوتروپین‌ها نقش دارد نروپپتید Y است. در

1- Naloxone *2- Endorphin* *3- Enkephalin* *4- Multimessenger*

ماهیان نروپپتید Y از جمله پری‌کاریون‌های فعال‌کننده سیستم ایمنی[1] است که عمدتاً در قسمت پایه‌ای مغز جلویی ـ در بخش پیشین هیپوتالاموس [2]، در مغز جلویی در ناحیه Entopendicularis و در اطراف Frontal commissura ، در هیپوتالاموس ـ در هسته پیش بصری [3]، در هیپوفیز ـ در قسمت‌های مختلف ، بویژه در ناحیه تماس با سلول‌های گنادوتروف واقع شده‌اند. نروپپتید Y مصنوعی در دُزهای 10^{-7}ـ10^{-6} (مول) موجب تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها در ماهی طلایی و ماهی قزل‌آلا می‌شود (Pontent et al., 1989 ; Denger et al.,1989).

پرولاکتین یا هورمون لوتیوتروپین [4] یکی دیگر از هورمون‌های پپتیدی بخش پیشین هیپوفیز است که تأثیر گنادوتروپینی دارد. ترشح پرولاکتین به Ca^{+2} بستگی داشته و تزریق این پپتید (in vitro) با غلظت ۱۰۰۰ـ۱۰ (نانوگرم بر میلی‌لیتر) موجب افزایش ترشح گنادوتروپین (به نسبت دُز تزریق) می‌گردد (Kugu et al.,1989). همچنین پرولاکتین مانع ترشح دوپامین شده و خود دوپامین به نوبه خود از آزاد شدن پرولاکتین جلوگیری می‌نماید (Denef,1988). تحریک همزمان واکنش گنادوتروپینی و متوقف کردن ترشح دوپامین از خصوصیاتی است که موجب شده تا این پپتید بعنوان یکی از مواد محرّک بلوغ ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

براساس میزان دُز هورمون‌های پپتیدی هیپوتالاموس ـ هیپوفیز از جمله اکسی‌توسین [5] و وازوپرسین [6] موجب افزایش ترشح هورمون‌های محرک فولیکول و جسم زرد [7] در پستانداران می‌گردند. تحریک از طریق سیستم گیرنده‌ای انجام می‌گیرد که از گیرنده‌های گنادولیبرین‌ها متمایز بوده و بعنوان سیستم تکمیلی کنترل هیپوتالاموس جهت تنظیم درازمدت ترشح گنادوتروپین‌ها محسوب می‌شود. در عین حال تأثیر بیش از اندازه وازوپرسین موجب افزایش سندرم از دست دادن نمک سدیم شده که قادر است بر بسیاری از فعالیت‌های جانور منجمله فعالیت تولیدمثل آن تأثیر

1- *Immunereactive* 2- *Basal telencephalone* 3- *Preoptic* 4- *Lutiotropin*

5- *Oxytocine* 6- *Vasoperssin* 7- *Lutein*

گذارد (Evans et al.,1989).

هیستون [1] H2A دارای اثر آنتی‌گنادوتروپینی مشابه GnRH بر سلول‌های تخمدان موش‌خرما می‌باشد که این اثر از طریق گیرنده‌های GnRH عمل ننموده و اثر بیشتری دارد (Aten, Behrman,1989).

تأثیر اکسی‌توسین ، وازوپرسین و هیستون H2A بر دستگاه تولیدمثل، تنها در مهره‌داران عالی مورد بررسی قرارگرفته است.

اسید آمینه‌های محرک [2] مانند پروتئین‌های کامل آمادگی دارند که در تنظیم عملکرد دستگاه تولیدمثل فعالانه شرکت نمایند. بی‌دلیل نیست که در سال‌های دهه ۱۹۸۰ اسید آمینه‌های محرک بعنوان ستاره‌های درخشان آسمان علم عصب‌شناسی شناخته شدند ، زیرا حضور آنها در بسیاری از فرآیندهای مهم حیاتی جانوران به اثبات رسیده است. اسیدآمینه‌های محرک باعث تحریک ترشح گنادولیبرین‌ها و گنادوتروپین‌های پستانداران می‌گردند (Masotto et al.,1989). لیکن اطلاعاتی نیز در مورد نقش بازدارنده گاباارژیک [3] نرون‌های LHRH وجود دارد. اسید آمینه‌های آزاد در تنظیم ترشح دوپامین نیز شرکت نموده بطوریکه نرون‌های دوپامینرژیک دارای گیرنده‌های GABA (N-Mettyl-D-Aspartat) و سایر اسیدهای آمینه می‌باشند.

با توجه به شرایط مختلف ، تنظیم ممکن است دارای ویژگی‌های مثبت یا منفی باشد. تأثیر اسیدهای آمینه محرک مانند گنادولیبرین‌ها و دوپامین تحریک کمپلکس اینوزیتول فسفولیپید[4] را بدنبال دارد (Nicoletti et al.,1990).

از جمله مولکول‌های دیگری که در تنظیم عملکرد گنادولیبرین‌ها ، گنادوتروپین‌ها ، دوپامین و

1- Histone *2- Excitatory amino acids* *3- GABA-ergic : γ - Aminobutyric acid*

4- Inositol phospholipid

سایر سیستم‌ها شرکت دارند می‌توان به C-AMP[1] و G-protein اشاره نمود که قادرند بعنوان ناقل بین سلولی GnRH جهت تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها عمل نمایند ، و یا ممکن است بعنوان واسطه سنتز آنها محسوب شوند. در عین حال GnRH دارای ماهیت و خاصیت آنتی‌گنادوتروپینی بوده که مانع سنتز C-AMP و ذخیره شدن آن در سلول‌های لوتئین [2] می‌گردد (Asselt et al,1989). سمّ بوبین [3] که در حکم واسطه G-protein می‌باشد موجب افزایش تشکیل mRNA در پروگنادولیبرین‌ها می‌شود (Bonnekleiv et al.,1989).

کاتیون‌ها نقش اساسی در عملکرد کانال‌های یونی و تنظیم پتانسیل غشاء [4] برعهده دارند. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد ، شروع واکنش گنادتروپین‌ها نسبت به گنادولیبرین‌ها در بسیاری از موارد به ورود یون کلسیم به سلول بستگی نداشته ، در صورتیکه ترشح درازمدت هورمون LH در پستانداران با جریان یافتن یون کلسیم امکان‌پذیر می‌باشد. آنتاگونیست کانال کلسیم (نیفدیپین) که توسط آنتاگونیست GnRH القا شده موجب توقف آزاد شدن گنادوتروپین‌ها درگربه‌ماهی آفریقایی می‌گردد ، ولی یونوفور[5] کانال‌های کلسیم A23187 موجب تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها حتی در غیاب GnRH می‌شود (Asselt et al.,1989). در صورت تزریق نرولپتیک‌ها که بعنوان آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامین بشمار می‌روند ، در مقادیر ۱۵۰ میلی‌مول محلول Na^+ ، ۵۰۰ میلی‌مول محلول Li^+ و ۵۰۰ میلی‌مول محلول K^+ ارتباط گیرنده‌ها در مغز سگ به ترتیب تا ۷۰۰، ۴۴۰ و ۲۹۰ درصد افزایش می‌یابد (Jarvie et al.,1987).

یکی از عواملی که دارای نقش سیگنالی و هشداری در انتشار القاء هورمونی می‌باشد ، اثر متقابل الکتریکی است. بدین ترتیب القاء الکتریکی بعنوان محرک ترشح منظم گنادولیبرین‌ها ، گنادوتروپین‌ها ، دوپامین ، نورآدرنالین و سایر هورمون‌ها بشمار می‌رود. انتقال سیناپسی سیگنال‌ها از

1- Cyclic AMP *2- Lutein* *3- Bobbin toxin* *4- Membrane potential*
5- Ionophore

دو مسیر عمده و از طریق افزایش پتانسیل غشاء [1] و تغییر مقاومت انجام می‌شود (Jennes,Conn, 1988). در حال حاضر در تحقیقات آزمایشگاهی در زمینه نروفیزیولوژی دستگاه تولیدمثل ، روش تحریک الکتریکی با موفقیت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

تنظیم الکتروشیمیایی سیگنال‌ها از طریق تغییر فشار نیز انجام می‌پذیرد. بعنوان مثال در آزمایش‌های بعمل آمده در شرایط in vivo ، فشار معادل ۸۱ بار ، سیگنال‌های الکتروشیمیایی را افزایش داده و این امر موجب تقویت و تشدید ترشح دوپامین در استریاتوم موش [2] می‌شود (Forni, et al.,Rostain,1989).

همانطورکه قبلاً اشاره شد ، هر ماده یا عامل فعال‌کننده واکنش‌های زیستی دارای طیف وسیعی از فعالیت می‌باشد. میزان و جهت تأثیر هر ماده نیز به دخالت عوامل زیادی نظیر غلظت ، محل تأثیر ، تناوب و ترکیب موادی که همزمان تزریق می‌شوند ، بستگی دارد. برای اثبات پیچیدگی تأثیر متقابل موادی که در تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی شرکت می‌کنند ، می‌توان نمونه زیر را مطرح نمود: در پایانه‌های آکسونی نرون‌های با طول متوسط ، بین LHRH و پایانه‌های نرون‌های دوپامینی ، تیرئولیبرین ، کورتیکولیبرین ؛ و بین نرون‌های آدرنالین ، سوماتوستاتین و دوپامین سیناپس‌هایی وجود دارد. اطلاعات متعدد آناتومیک ، الکتروفیزیولوژیک ، نروشیمیایی و رفتاری که درباره تأثیر متقابل بین نروپپتیدها و سیستم دوپامینرژیک مزوتلن انسفالیک در پستانداران بدست آمده از جمله نمونه‌های تنظیم کننده سیستم پیچیده دوپامینرژیک بشمار می‌رود. موادی نظیر سوماتوستاتین ، نروتنسین ، تاکیکینین [3] ، کوله‌سیستوکینین [4] ، تیرئولیبرین و پپتیدهای اوپیوئیدی می‌توانند بر سرعت واکنش‌ها اثر گذاشته و همچنین قادر به تغییر پارامترهای ارتباطی دوپامین و گیرنده‌ها می‌باشند. از طرف دیگر ، دوپامین در مغز ، مقادیر سوماتوستاتین ، نروتنسین ، ماده P ، نروکینین A، کوله سیستوکینین ـ 8S و پپتیدهای اوپیوئیدی هر منطقه را تغییر می‌دهد (Stoessl,1989).

1- Membrane potential *2- Hamster* *3- Tachykinin* *4- Cholecystokinin*

در قسمت‌های قبل جنبه‌های مختلف و مقدمات نروفیزیولوژیک هدایت و کنترل فرآیند گامتوژنز بدنبال تنظیم آندروژنی مورد مطالعه قرار گرفت. تنظیم اگزوژنی نیز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد که بعنوان مثال می‌توان به اثر فرومون‌های [1] هر گونه بر دوره تخمریزی اشاره کرد. بدین ترتیب ، اگر ماهیان نر با ماهیان ماده‌ای که در نتیجه تزریق ترکیبات هیپوفیزی به مرحله اوولاسیون [2] رسیده‌اند ، نگهداری شوند ، در ماهیان نر تولید اسپرم [3] مشاهده می‌شود (Billard et al.,1989).

عامل دیگری که در چگونگی و نتیجه تأثیر مواد فعال بیولوژیک بر دستگاه تولیدمثل نقش تعیین کننده‌ای را برعهده دارد ، آمادگی فیزیولوژیک موجود برای تخم‌ریزی است. تنظیم مناسب رژیم دمایی ـ نوری ، شدت تغذیه و ترکیب غذا ، شرایط اکسیژنی و شوری آب می‌تواند موجب تخمریزی زودهنگام موجود و یا ایجاد موقعیت تخمریزی بدون دخالت مواد فعال بیولوژیک مصنوعی گردد. در هر کارگاه ماهی‌پروری باید بطور مشخص و به دقت بررسی و محاسبه شود که بکارگیری کدام روش مطرح شده و به چه نسبت مقرون به صرفه و اقتصادی‌تر است : ایجاد شرایط هیدروبیولوژیک نزدیک به شرایط طبیعی و یا استفاده از اثرات هورمونی بر دستگاه تولیدمثل .

دما یکی از عوامل مهم فعال‌کننده واکنش‌های زیستی است و نقش اساسی در تنظیم مکانیزم‌های مختلف فعالیت تولید مثل بویژه در تنظیم ریتم شبانه‌روزی [4] و ریتم سالانه [5] آن برعهده دارد. به همین دلیل ، رژیم دمایی نیز به موازات رژیم نوری سیستم آندوژنی راکه تنظیم‌کننده مراحل مختلف انتقال جانور از مرحله پیش از تخمریزی [6] به وضعیت تخمریزی [7] است ، بکار می‌اندازد. با این وجود افزایش قابل ملاحظه دما همراه با تحریک هورمونی ماهیان جهت انتقال سریع به وضعیت

1- *Pheromones* 2- *Ovulation* 3- *Spermation* 4- *Ciracdian Rythms*

5- *Annual Rythms* 6- *Prespawning* 7- *Spawning*

تخمریزی ممکن است موجب کاهش باروری ماهی گردد ، که این مسئله قبلاً در آثار محققین چک [1] نشان داده شده است (Kouril et al.,1986). کاهش دمای محیط در دوران پیش از تخمریزی نیز تأثیر منفی بر فرآیند بلوغ داشته و موجب توقف آن می‌شود ، و حتی در برخی ماهیان ، بعنوان مثال درکفال [2] شرق دور ، می‌تواند موجب از بین رفتن اووسیت‌ها گردد. فرآیندهای تنظیم دمایی ، مانند تنظیم هورمونی در مهره‌داران خونسرد ، بنوبه خود توسط سیستم دوپامینرژیک کنترل می‌شود. در پستانداران ، آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی نوع D_1 ، یعنی SCH23390 و رزرپین موجب کاهش دمای بدن شده و آگونیست SKF38393 دمای بدن را افزایش می‌دهد (Duterte-Boucher et al.,1988). در ماهی که جانوری خونسرد بشمار می‌رود ، ظاهراً دوپامین بعنوان واکنش جبرانی با دُزهای ۱۰-۵ نانوگرم برای ماهیان به وزن ۴۵-۸۵gr موجب کاهش محدوده دمای انتخابی شده و توقف فعالیت گیرنده‌های دوپامینی توسط گالوپریودول موجب افزایش این محدوده می‌گردد (Wollumuth et al.,1989).

جنبه‌های عملی استفاده از مواد فعال بیولوژیک در آبزی‌پروری

روش استفاده و محل تأثیر مواد محرک بکار برده شده در فرآیند بلوغ ، دارای اهمیت زیادی در کارآیی این مواد می‌باشد. در اینجا لازم است که سه جنبه مختلف این مسئله از یکدیگر متمایز گردد. نخست جنبه صرفاً فیزیولوژیک است که راههای عمل ، انتقال و سرعت مصرف مواد فعال بیولوژیک در بدن جانور ، توانایی غلبه این مواد بر موانع هماتوانسفالیک [3] ، ضرورت تهیه این ترکیبات در محلول آبی نمک‌های کلرید فلزات مختلف یک یا دو ظرفیتی ، و اضافه نمودن آلبومین به آن که موجب افزایش فعالیت بیولوژیک برخی ترکیبات می‌شود را دربرمی‌گیرد.

۱- چکسلواکی

2- *Mullet*

۳- تجمع خون در داخل جمجمه

نکته دوم ، جنبه فیزیکو ـ شیمیایی است که در برگیرنده رفتار ترکیبات محلول می‌باشد. بدین ترتیب ، برای کاهش تجزیه ترکیبات در ظروف شیشه‌ای و افزایش ثبات آن ضمن نگهداری کوتاه‌مدت آنها ، محلول‌هایی که کمی اسیدی شده‌اند به همراه آلبومین مورد استفاده قرار می‌گیرند (Iwao , 1984). جنبه بیولوژیک که سومین مسئله مهم است شامل شدت تنش در ماهی بدنبال استفاده از هر یک از روش‌های تزریق می‌باشد. این جنبه از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا ثابت شده که هنگام استرس میزان کاتکول آمین‌های خون از جمله دوپامین ، بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد و این سطح بالا در طول چندین ساعت حفظ می‌شود. استفاده از مواد بی‌حس‌کننده [1] به حل مسئله کمک نمی‌کند و افزایش میزان کاتکول آمین‌ها را بدنبال دارد (Gingerich,Drottar,1989).

در حال حاضر متداول‌ترین روش برای وارد نمودن مواد محرک بلوغ در ماهیان ، تزریق و متداول‌ترین نقاط برای تزریق ، بافت ماهیچه‌ای ، اندام‌های جنسی [2] ، ناحیه شکم (بطن) و حفره بینی می‌باشد. روشی که در آینده ممکن است برای وارد نمودن مواد محرک از آن استفاده شود و ویژگی آن اثرگذاری ملایم در درازمدت است ، کاشتن [3] کپسول‌های سیلاستیک کلسترولی حاوی ترکیبات هورمونی در بافت‌های بدن ماهی می‌باشد (Kobayashi et al.,1989). توصیه می‌شود که در ماهیان stress - labial برای وارد نمودن ترکیبات از غذا استفاده گردد. این روش بمراتب گران‌تر از سایر روش‌هاست زیرا در این روش باید مواد با دُزهای بیشتری (یک تا دو برابر مقادیر معمول) مورد استفاده قرار گیرند. بعنوان مثال دُز مؤثر برای ماهی ماده شوریده خال‌دار [4] ، ۲/۵-۱/۰ میلی‌گرم مواد مشابه لولیبرین به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی می‌باشد (Thomas, Boyd,1989).

1- Anaesthetics *2- Gonads* *3- Implantation* *4- Spotted Croaker*

نتیجه‌گیری

در خاتمه این بحث به روش‌های تحریک بلوغ ماهی که رو به تکمیل شدن و پیشرفت است اشاره می‌کنیم. گنادولیبرین‌ها و نرولپتیک‌ها که مانع فعالیت گیرنده‌های دوپامینی می‌گردند ، بطور گسترده‌ای در شیلات و آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند. جستجو و کشف آنتاگونیست‌های جدید گیرنده‌های دوپامینی و مواد مشابه گنادولیبرین‌ها با فعالیت فوق‌العاده زیاد [1] جایگاه ویژه‌ای را در تحقیقات مربوط به تحریک بلوغ ماهی که از مراحل بسیار اولیه گامتوژنز آغاز می‌شود ، به خود اختصاص می‌دهد. این مواد جدید در مقایسه با گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروئیدی از کارایی بالایی برخوردار هستند. بمنظور تحریک بلوغ در ماهیان ، ظاهراً استفاده از سروتونین ، آنتاگونیست‌های گیرنده‌های اوپیوئیدی ، نورآدرنالین ، آدرنالین ، پروستاگلندین ، پرولاکتین ، نروپپتید Y ، کورتیزول و کورتیزون ، یون کلسیم در محلول آب و C-AMP و نیز در شرایط ویژه استفاده از پپتیدهای اوپیوئیدی سروتونین و تری‌یدوتیرونین نتایج امیدبخشی را دربرخواهد داشت. نقش محرک اکسی‌توسین ، وازوپرسین ، اینترلیکین[2] ، پپتیدهای فعال‌کننده روده‌ای [3]، آنژیوتنسین II ، نروتنسین و غیره بر جریان مراحل نهایی گامتوژنز پستانداران به اثبات رسیده است. از آنجاکه قبلاً نیز شباهت بین مکانیزم‌های اصلی تنظیم فعالیت دستگاه تولیدمثل در پستانداران و ماهیان به اثبات رسیده ، و اثر محرک اکثر موادی که امروزه در آبزی‌پروری برای تحریک بلوغ از آنها استفاده می‌شود ابتدا بر روی پستانداران بررسی و آزمایش شده است ، می‌توان پیش بینی نمود که استفاده از این مواد در تحریک بلوغ ماهی در آینده جنبه عمومی و متداول پیدا خواهد کرد.

در طراحی روش‌های نوین تحریک بلوغ در ماهیان ، توجه به تنوع عملکرد و پیچیدگی تنظیم متقابل کلیه محورهای ارتباطی سیستم هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ گناد ضروری می‌باشد.

1- Superactive *2- Interleukin* *3- Vasoactive intestinal*

- آکمایف، ای.گ. (۱۹۸۱) . مکانیزم‌های رابطه فیدبکی در سیستم هیپوتالاموس - هیپوفیز. مکانیزم‌های تنظیم هورمونی و نقش رابطه فیدبکی در پدیده‌های رشد و هموستاز. مسکو ، ص. ۱۳۹-۱۱۵ .
- بورلاکوف ، آ.ب. ؛ خاپچایوا، ی.و. (۱۹۸۳) . رسیدگی اووسیت‌ها در ماهی کپور *Hypophthalmichthys molitrix (Val.)* تحت تأثیر استروژن‌ها ، آندروژن‌ها و گستاژن‌ها در شرایط in vitro با توجه به حساسیت‌های متفاوت ماهی در in vitro نسبت به گنادوتروپین کوریونیک. مسائل ماهی‌شناسی . جلد ۲۳ ؛ بخش ۴ ؛ ص. ۶۶۰-۶۵۲ .
- گالیکنا، او.و. ؛ پادگورنایا، ی.ک. ؛ پولیاکوف، او.و. (۱۹۸۹) . تبدیل دوپامین به پاراتیرامین ، نورآدرنالین و ۳ و ۴ - دی‌اکسی فنیل آلانین در ارتباط با گیرنده‌های غشاء سیناپسی ، تحت تأثیر تخلیه‌های آندی ضعیف. مجموعه انتشارات وی‌نی‌تی . شماره ۷۲۷۱ ؛ بخش ۸۹ ؛ ص. ۱۱ .
- گاشکووا، ل.و. ؛ پادوشکا، س.ب. ؛ نیکولایف، س.و. (۱۹۸۸) . بررسی اثر مواد مشابه آنتاگونیست‌های لولیبرین در رشد لارو ماهی سه خاره . مجموعه انتشارات وی.نی.تی. شماره ۷۶۵۷ - بخش ۸۸ - ص. ۶ .
- ژربیلسکی، ن.ل. (۱۹۴۱) . روش تزریق هیپوفیزی و نقش آن در ماهی‌پروری . روش تزریق هیپوفیزی و نقش آن در احیای ذخایر ماهی - ص. ۳۶-۵ .
- بارانیکووا، ای.آ. ؛ بویف، آ.آ. ؛ ساینکو، ای.ای. ؛ ترافکین، ب.گ. (۱۹۷۵) . امکان استفاده از گنادوتروپین برای تحریک بلوغ ماهی . مجموعه انتشارات ونیرو . جلد ۱۱۱ - بخش I - ص. ۱۴۲-۱۳۶ .

- اوتلین، و.آ. ؛ آروشانیان، ا.ب. (۱۹۸۹) . سیستم نیگرواستریونیگرال . مجله پزشکی - ص. ۲۷۱.
- بارانیکووا، ای.آ. ؛ بویف، آ.آ. ؛ دیوبین، و.پ. ؛ ترافکین ، ب.گ. (۱۹۸۹) . استفاده از اثرات هورمونی برای تحریک بلوغ کپور ماهیان . مجموعه مقالات ارائه شده در هفتمین کنفرانس سراسری روسیه در زمینه فیزیولوژی اکولوژیک و بیوشیمی ماهی . جلد اول - یاروسلاو . ص. ۳۱-۳۰ .
- ساکون، او.ف. ؛ لیمانووا، ای.آ. (۱۹۷۶) . اثر گنادوتروپین‌های پستانداران بر فرآیند رسیدگی اووسیت‌ها در ماهی کپور . خبرنامه مؤسسه تحقیقات شیلاتی دولتی روسیه - جلد ۱۰۷ - ص. ۱۳۴-۱۲۶ .
- میکودینا، ی.و. ؛ کائورزیل، یا. ؛ گلوبوکوف، آ.ای. ؛ واختا، ر. ؛ سدووا، م.آ. ؛ ناولودسکی، و.آ. (۱۹۸۹) . همزمانی بلوغ و اوولاسیون در قزل‌آلای رنگین‌کمان به کمک مواد مصنوعی مشابه هورمون آزاد کننده گنادوتروپین آزاد ماهی (des Gly^{10} $D\text{-}Ala^{6}$) و بازدارنده دوپامین (متوکلوپرامید) . مجموعه مقالات ارائه شده در سمپوزیوم بین‌المللی مسائل آبزی‌پروری در کشورهای سوسیالیستی . مسکو ، ونیرو . ص. ۱۳۲-۱۳۱ .

کنترل رشد و نمو جنینی و لاروی در ماهی کفال *(Mullet)* ، به روش تحریک هورمونی مولدین

(ال.ای.سیمننکو ؛ ای.ام.فیتینگوف)

بومی شدن ماهی کفال *(Mullet)* در حوضه دریای آزوف از سال ۱۹۷۰ آغاز شد و تا بخش‌هایی از شمال غربی دریای سیاه و خلیج‌های مربوط به آن ادامه یافت (کازانسکی، استاروشنکو، ۱۹۸۰؛ کازانسکی ،۱۹۸۹).

گله‌های مولدین ماده (دو هزار عدد) در مزارع خلیج مالوچنی در سال ۱۹۸۴ تشکیل شد و برای نخستین بار از این گله‌ها به روش کارگاهی نسل‌های مقاوم بدست آمد (سیمننکو،۱۹۸۷،۱۹۸۶؛ سیمننکو و همکاران ،۱۹۸۹،۱۹۸۷؛ سیمننکو،۱۹۸۶؛ سیمننکو ، کودلینا،۱۹۸۳،۱۹۸۲).

در سال ۱۹۸۵ و ۱۹۸۶ به درخواست مؤسسات تحقیقات شیلاتی «یوگ‌نیرو»[1] و «اگز»[2] بخشی ازگله مولدین ماهی کفال که در خلیج مالوچنی پرورش یافته بود به «اگز» منتقل شد و توسط محققین آزمایشاتی در زمینه تولید صنعتی و بیوتکنولوژی بازتولید مصنوعی آنها در این کارگاهها انجام پذیرفت ، که در نتیجه این فعالیت‌ها ۳۰۰ هزار عدد بچه ماهی مقاوم بدست آمد. شانس زنده‌مانی در این گله‌های مولد به ۴۰ درصد بالغ گردید ، در حالیکه درصد بقاء در خلیج مالوچنی تنها ۲۰ درصد بود. بدین ترتیب بیوتکنیک پرورش کفال *(Mullet)* پایه‌گذاری شد. این بیوتکنولوژی بمنظور بهره‌برداری صنعتی طراحی شده است. استفاده از آن در آینده امری مسلم و غیرقابل اجتناب خواهد بود. یکی از مقدمات اساسی در بیوتکنیک بازتولید مصنوعی ماهی کفال ، ایجاد

1- *YOGNIRO* «یوگ‌نیرو» مخفف نام مؤسسه تحقیقات شیلات دریایی و اقیانوس‌شناسی جنوب می‌باشد .

2- *EGS*

شرایط زیستی و غیرزیستی [1] مناسب در مراحل اولیه انتوژنز[2] است. هدف از این تحقیقات یافتن روش‌هایی برای تأمین شرایط مناسب بمنظور کسب نتایج مطلوب از انکوباسیون تخم‌ها و پرورش لاروهای حاصل از روش‌های بازتولید کارگاهی می‌باشد.

مواد و روش کار

در این بررسی از یافته‌های قبلی که در زمینه انکوباسیون تخم‌ها و پرورش لاروهایی که طی سال‌های ۱۹۸۷-۱۹۸۴ از خلیج مالوچنی و در سال‌های ۱۹۹۰-۱۹۸۸ از خلیج شابولاتسکی از گله‌های مولدین پرورش یافته در اسارت [3] بدست آمده بود ، استفاده شد. تکمیل گامتوژنز به روش تحریک هورمونی و به کمک هیپوفیز استونی شده ماهی کپور (AHC) و یا گنادوتروپین کوریونیک (C.G.) صورت گرفت (a.c.N 1570047;11). بدین منظور از سورفاگون و مواد مشابه لولیبرین نیز استفاده می‌گردد. تخم‌های بالغ به روش «نیمه خشک» بارور شده و در انکوباتور قرار داده می‌شوند (سیمننکو،۱۹۸۹، ۱۹۸۸). این تخم‌ها در مرحله جنین زنده به استخرهای پرورشی منتقل شدند. در برخی موارد نیز لاروهای نورس یکی - دو روزه (مرحله خروج لارو از تخم) پس از خروج از تخم به استخرها انتقال داده می‌شوند.

ابتدا لاروها به مدت ۲۰ شبانه‌روز در حوضچه‌های پلاستیکی نگهداری و سپس در مزارع بتونی و یا مستقیماً در استخرها پرورش می‌یابند.

بمنظور ارزیابی رژیم هیدروشیمیایی (اکسیژن ، میزان شوری ، آمونیاک ، نیترات و فسفات) از

1- Biotic & Abiotic

۲- *Ontogeny*: هستی‌زایی . سیر تکاملی یک عضو منفرد یا یک موجود زنده (فیلوژنی).

3- Captivity

روش‌های متداول در «آذینرخ»[1] استفاده گردید (شیشکینا،۱۹۷۴).

ضمن پرورش لاروها مقدار ازت معدنی و فسفات بسیارکمتر از مقادیر محاسبه شده بود و عملاً با مقادیر مشابه در منطقه ساحلی خلیج‌ها تفاوتی نداشت . این مقادیر در مورد نیترات تا ۲ میکروگرم بر لیتر ، در مورد ازت آمونیاکی تا ۱۸ میکروگرم بر لیتر و در مورد آمونیاک و فسفات نیز کمتر از یک میکروگرم بر لیتر می‌باشد.

لاروهای کفال *(Mullet)* با غذای زنده از جمله لارو نرمتنان دوکفه‌ای در مرحله «ولیجر»[2] ، کلادوسرها *Brachionus plicatilis* ، ناپلیوس‌های *Artemia salina* ، ناپلیوس‌های کوپه‌پودا و کوپه‌پودای بالغ *(Calanipeda aguahhulcis, Acartia calusi, Harpacticus litoralis, Tisbe furcate, Diaptomus salinus)* ؛ و نیز آنتن منشعب‌های رده *Cladocera P.podon* تغذیه می‌گردند. بعلاوه دافنی‌های آب شیرین که از قبل تهیه و بصورت قطعات منجمد در یخچال‌های مخصوص نگهداری می‌شوند نیز در تغذیه این لاروها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

با افزایش سن لاروها تا حد ۲۰-۱۵ روز ، تغذیه آنها با غذای مصنوعی اولیه ، به ابعاد متغیر از ۵۰ تا ۴۰۰ میکرون آغاز می‌شود.

هر روز ۲۰ قطعه از جنین‌ها و لاروها به کمک میکروسکوپ یا لوپ دوچشمی میکرومتریک اندازه‌گیری (پراودین، ۱۹۶۶) ، و تغذیه لاروها به روش تشریح روده‌ای مورد بررسی قرار گرفت. ترکیب گونه‌ای و اندازه موجودات تعیین ، و تعداد آنها شمارش شد. بمنظور اندازه‌گیری جرم موجودات از جداول مربوط به وزن بازسازی شده که مخصوص انواع اصلی زئوپلانکتون‌ها می‌باشد استفاده گردید (پتینا،۱۹۵۷).

لاروها و بچه‌ماهیان از طریق روش نمونه‌برداری معیاری (اتالون) شمارش شدند.

۱- آذینرخ : مؤسسه تحقیقات شیلات دریایی و اقیانوس‌شناسی جمهوری آذربایجان .

۲- *Veliger* : لارو نرم‌تنان دوکفه‌ای در مرحله‌ای که غشاء پوشیده از مژک بوده و شناکردن آغاز می‌شود.

نتایج تحقیقات

انکوباسیون تخم‌ها :

جهت انکوباسیون تخم‌ها ، شرایط زیستی و غیرزیستی شبیه به شرایط طبیعی مورد نیاز این ماهی ***(Mullet)*** در دوران تکثیر مهیا شده و تخم‌ها ابتدا بطور آزمایشی در این شرایط قرار داده می‌شوند (تصویر ۱).

در این وضعیت ، رژیم دمایی مطلوب برای آب از طریق خنک یا گرم نمودن آن بوسیله دستگاههای تهویه فراهم می‌گردد. ضمناً دمای آب از آغاز انکوباسیون تا خروج لاروها به میزان ۲-۱ درجه سانتیگراد افزایش می‌یابد.

برای تأمین شوری مورد نیاز به آب خلیج مقداری نمک طعام و یا آب دریا اضافه نمودیم.

مقدار مطلوب اکسیژن مورد نیاز نیز با هوادهی آب (به کمک ایجاد جریان در آن) تأمین می‌شود.

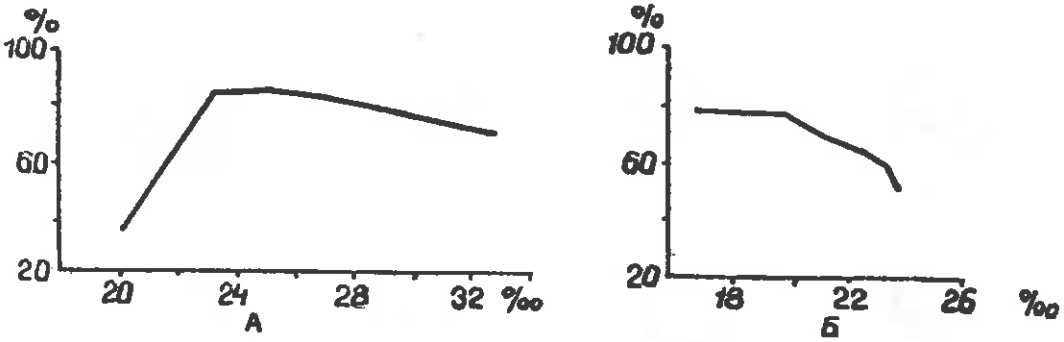
بدین ترتیب ، در نتیجه برقراری عوامل غیرزیستی [1] در حد مطلوب و یا نسبتاً مناسب در دوران انکوباسیون ، خروج جنین‌ها بطور متوسط از ۶۰-۵۰ درصد به ۸۰-۷۵ درصد افزایش می‌یابد. در برخی موارد ۹۵-۸۷ درصد از جنین‌ها به تخم چشم‌زده تبدیل می‌شوند که این مقدار بعنوان ذخیره لازم برای تکمیل روش‌های انکوباسیون تخم ماهیان کفال در آینده بشمار می‌رود.

مرحله جنین‌زایی در درجه حرارت‌های مختلف آب از ۳۶ تا ۶۰ ساعت طول می‌کشد. از پیدایش اولین جنین‌های از تخم خارج شده تا پایان خروج کامل آنها ۸-۴ ساعت وگاهی تا ۱۰ ساعت زمان لازم است.

قطر تخم‌ها پس از بارور شدن ۹۵۰-۸۰۰ میکرون و قطر قطرات چربی ۵۵۰-۳۹۰ میکرون می‌باشد.

بلاستودیسک که اولین مرحله رشد و نمو جنینی است ، ۴۵ دقیقه پس از بارور شدن تشکیل

1- Abiotic factors



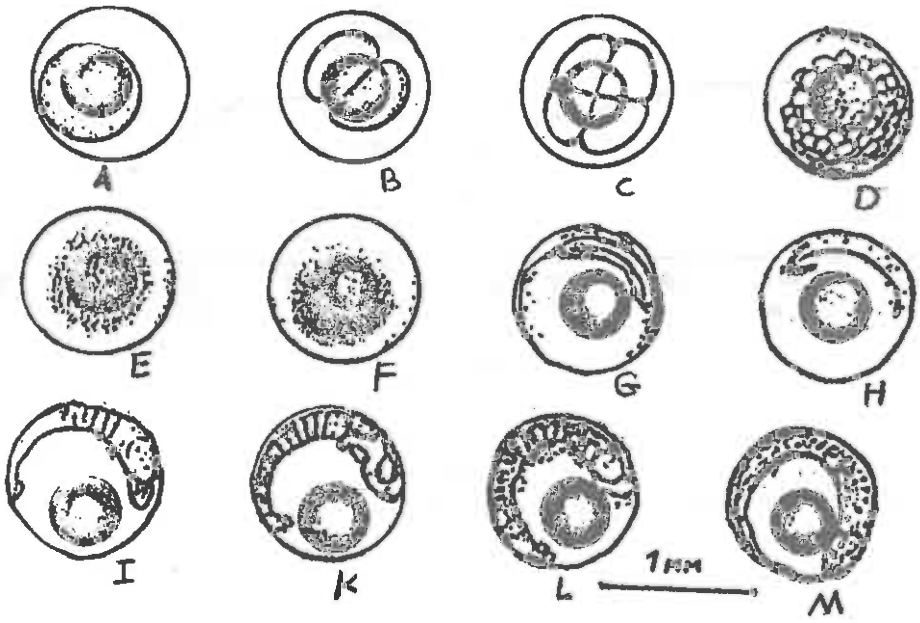
تصویر ۱ : رابطه درصد جنین‌های خارج شده از تخم در ماهی کفال *(Mullet)* با :
A) درجه شوری آب
B) دمای آب

می‌گردد. در این زمان، عملاً میکروپیل [1] مشاهده نمی‌شود ولی فضای پری‌ویتلین [2] بوضوح قابل رؤیت می‌باشد (تصویر ۲ و ۴).

اندازه تخم در شروع تقسیم (دومین مرحله) به اندازه ۱۰۰۰-۹۵۰ میکرون افزایش یافته ، بعد از دو ساعت ۸-۴ بلاستومر (C) دیده می‌شود . پس از ۳ ساعت و ۴۵ دقیقه مورولای دارای سلول‌های درشت (D) ، و پس از ۸ ساعت و ۱۰ دقیقه مورولا با سلول‌های متوسط و ریز و یا بلاستولا (E - F - G) قابل مشاهده است. شکل‌گیری نطفه (گاسترولا) پس از ۱۰ ساعت و ۵۵ دقیقه (H) شروع شده و بالاخره آغاز اندام‌زایی (ارگانوژنز) (مرحله IV) پس از ۲۶-۱۵ ساعت صورت می‌گیرد.

جدا شدن بخش دمی از کیسه زرده (مرحله V) و شروع تحریک جنینی (L) پس از ۳۰ ساعت ملاحظه می‌شود. رسیدن دم به سر (M) پس از ۴۰ ساعت انجام می‌گیرد. آغاز خروج از تخم‌ها (مرحله VI) پس از ۲۴ ساعت رخ خواهد داد. بطوریکه خروج از تخم ۸-۶ ساعت ادامه می‌یابد.

1- Micropyle *2- Perivitelline space*

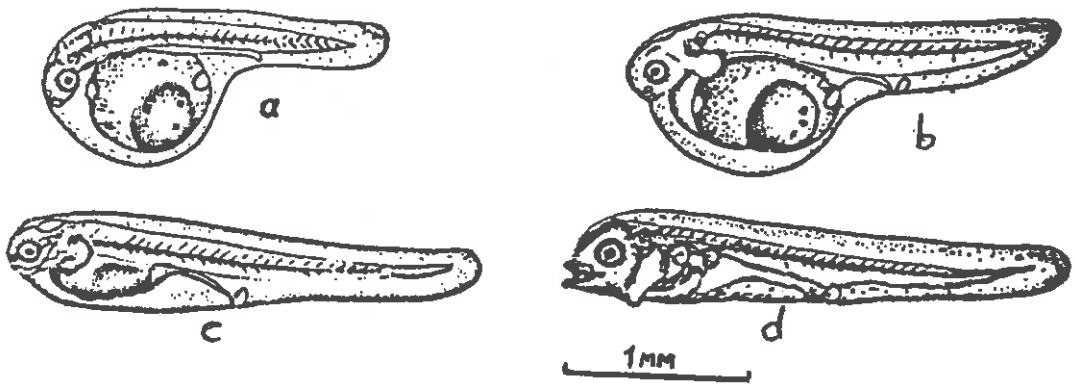


تصویر ۲ : رشد و نمو جنینی در ماهی کفال *(Mullet)* :

A- بلاستودیسک
B- مرحله دو بلاستومری
C- مرحله چهار بلاستومری
D- مرحله مورولا با سلول‌های درشت
E- مرحله مورولا با سلول‌های متوسط
F- مرحله مورولا با سلول‌های ریز
G - مرحله بلاستولا، آغاز گاسترولاسیون
H - مرحله گاسترولا
I - آغاز مرحله اندام‌زایی (ارگانوژنز) - شش سومایتی*
K - مرحله ۱۲ سومایتی ، کیسه‌های کوپفری مشاهده می‌شود.
L - مرحله ۱۶ سومایتی
M - جنین ۴ ساعت قبل از خروج از تخم.

: Somite : قطعه یا یکی از ۴۲ جفت قطعه‌ای که در امتداد ستون فقرات جنین از تقسیم‌های عرضی مزودرم بوجود می‌آید.

طول جنین‌های خارج شده از تخم ۲/۵-۱/۷ میلیمتر بود (تصویر a ۳). جنین‌ها از ۰/۲-۰/۱۲ میلی‌گرم وزن داشتند و نطفه‌ها در سطح آب که دارای شوری نسبتاً مناسبی است ، شناور شدند. ۸ ساعت پس از خروج از تخم ، سر از کیسه زرده جدا می‌شود (b) ، حفره دهان و باله سینه‌ای دیده شده و پس از ۲۵ ساعت اندازه کیسه زرده به نصف کاهش می‌یابد (c).



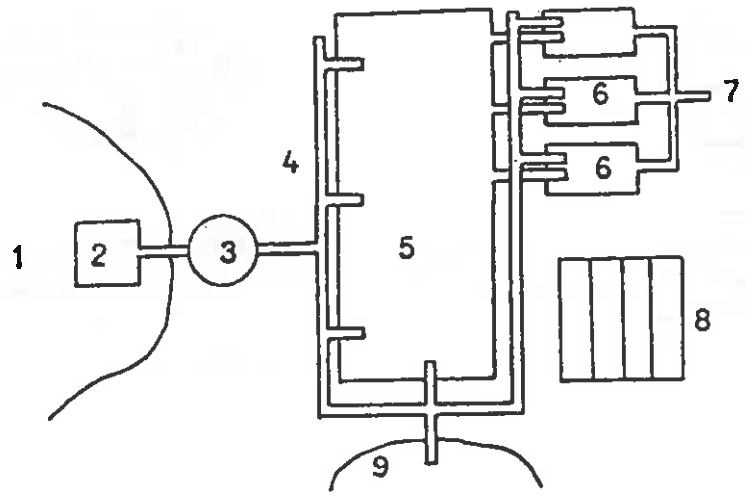
تصویر ۳ : مراحل مختلف جنین و لارو در ماهی کفال *(Mullet)* :
a) جنین بلافاصله پس از خروج از تخم.
b) جنین ۸ ساعت بعد از خروج از تخم .
c) جنین ۲۵ ساعت بعد از خروج از تخم.
d) لارو (به سن ۳ شبانه‌روز).

دهان باز شده ، روده شکل می‌گیرد ، غذا وارد روده می‌شود ، باله سینه‌ای شکل گرفته (d) وجنین تبدیل به لارو می‌گردد.

پرورش لاروها

رژیم هیدروشیمیایی خلیج‌ها همیشه برای پرورش لاروها مناسب نمی‌باشد. از جمله عوامل نامساعد ، می‌توان به طوفان اشاره نمود که در اثر آن آب حاوی مقادیر زیادی مواد معلق شده و مانع فعالیت طبیعی و شکل‌گیری آبشش‌ها و سیستم تنفسی ماهی می‌گردد. کاهش شبانه میزان اکسیژن محلول در آب و فقدان اکسیژن در مناطق مصبی ، شیرین شدن آب تا ۱۵ ‰ (در هزار) و نوسان شدید دمای آب و بالاخره وجود آبزیان شکارچی از قبیل گاماروس‌ها ، مدوزها و غیره در محیط ، از دیگر عوامل نامساعد در خلیج‌ها بشمار می‌رود.

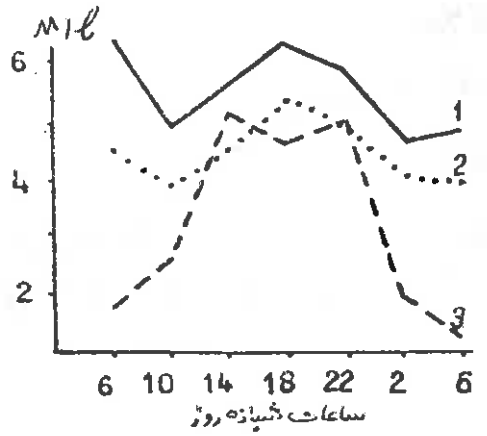
موارد فوق ضرورت احداث تأسیسات ، و اجرای برخی تدابیر ایمنی بمنظور تأمین امکانات بیشتر و شرایط مساعدتر برای پرورش لاروها را نمایان می‌سازد.



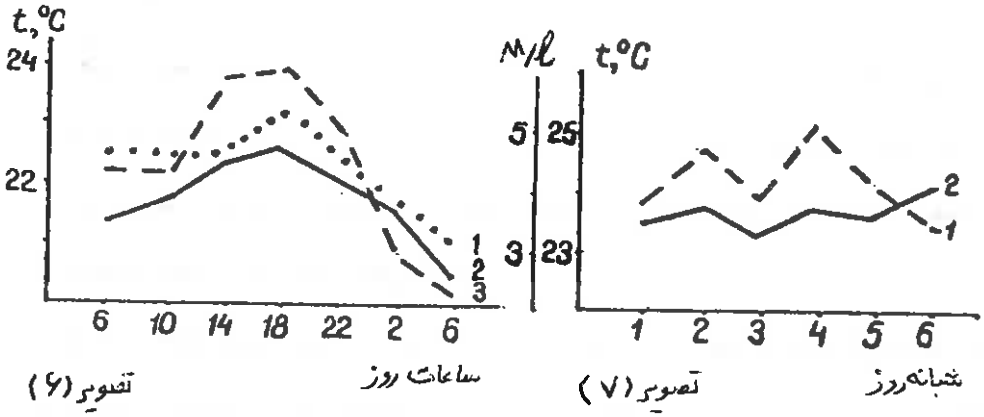
تصویر ۴ : طراحی (Modeling) پرورش لاروها :
۱ـ خلیج ، ۲ـ مخزن آب با دیواره دو جداره ، ۳ـ تلمبه ، ۴ـ مرحله ریزش آب ، ۵ـ استخر رسوبی ، ۶ـ مخازن پرورش ، ۷ـ سیستم خروج آب ، ۸ـ مخازن پرورش غذای زنده ، ۹ـ استخر مواد غذایی .

برای تصفیه مکانیکی آب ، مخزن آبی با دیواره دو جداره ساخته می‌شود که فاصله دو جدار آن باکیسه‌هایی از صدف‌های نرم‌تنان و شن پر شده است. آب حین ورود به این سیستم از صافی‌ها عبور کرده و مقداری از مواد معلق آن تصفیه می‌گردد (تصویر ۴). جداسازی ذرات ریز معلق بوسیله راکد نمودن آب در حوضچه‌های رسوبی به ابعاد $۲۰\times۵\times۱\ m^3$ که در فضای باز قرار دارند انجام می‌گیرد (تصویر ۱ـ۴). ضمن ریختن آب به این استخرها ، به دلیل عبور از هوا ، آب از نظر میزان اکسیژن نیز غنی می‌شود (تصویر ۵).

پس از رسوب مواد معلق ریزتر ، آب ضمن عبور از سیستم غربال مانندی که از صافی‌های بسیار ساخته شده و مانع نفوذ آبزیان شکارچی به داخل مخازن می‌شود وارد مخازن پرورشی می‌گردد. حوضچه‌های پرورشی به شکلی ساخته شده‌اند که آب آنها طی روز بیش از حد گرم و در ساعات شب بیش از حد سرد نشود (تصویر ۶).



تصویر ۵: نوسانات شبانه‌روزی غلظت اکسیژن در: ۱) استخرهای پرورشی، ۲) استخرهای رسوبی، ۳) خلیج.



تصویر ۶: نوسانات شبانه‌روزی دما در: ۱) مخازن پرورشی، ۲) مخازن رسوبی، ۳) خلیج.

تصویر ۷: ۱) تغییرات متوسط دما در شبانه‌روز، ۲) غلظت اکسیژن هنگام پرورش لاروها. تراکم لاروها ۸۵ عدد در هر لیتر می‌باشد.

بعلاوه بمنظور تثبیت دمای آب، مخازن پرورشی و مخازن رسوبی توسط سایبانی از جنس صفحات سنگی و غشای پلی‌اتیلنی پوشانده می‌شوند. در مراحل اولیه پرورش لاروها، میزان انحراف دما از مقادیر معمول در شبانه‌روز از ۱/۶ درجه سانتیگراد تجاوز نمی‌کرد (تصویر ۷). و در مراحل انتهایی

تصویر ۸ : تغییرات درجه شوری آب هنگام پرورش لاروهای ماهی کفال (*Mullet*).

بعلت افزایش جریان و در نتیجه آن افزایش تأثیر دمای محیط اطراف ، میزان این انحراف به ۴ درجه‌سانتیگراد می‌رسید.

معمولاً غلظت اکسیژن محلول در آب در حد ۳/۵-۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر ثابت است ، ولی برخی روزها بعلت مصرف غذای زنده بیش از مقادیر تعیین شده تا ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نیز کاهش می‌یابد. در این شرایط ، تلفات محسوسی در لاروها مشاهده نمی‌شود ، تنها رفتار آنها در سطح آب نشان‌دهنده وضعیت نامساعد آنها می‌باشد.

ضرورت حفظ شوری نسبتاً زیاد آب در مرحله جنین‌های آزاد از آنجا نشأت می‌گیرد که لاروهای خارج شده از تخم باید مانند تخم‌های در حال رشد در سطح آب بمانند. پس از تشکیل کیسه‌های شنا ، بویژه هنگام شروع تغذیه از موجودات زئوپلانکتونی ، تحرک لاروها فوق‌العاده افزایش یافته و درجه شوری آب اثر اولیه خود را بر زنده‌مانی لاروها از دست می‌دهد (تصویر ۸).

از آنجا که تاکنون غذای مصنوعی اولیه (استارتر) که از نظر فیزیولوژیک دارای خواص طبیعی باشد برای لاروهای کفال *(Mullet)* ساخته نشده است ، غذای اصلی آنها تا بیستمین روز از دوره پرورشی شامل زئوپلانکتون‌های زنده و غذاهای با منشأ طبیعی می‌باشد.

غذاهای زنده پرورشی که شامل روتیفر (روتاتوریا) و ناپلیوس آرتمیا است قادر به تأمین نیازهای

جدول ۱ : تهیه غذای زنده از آبگیرها و مخازن پرورشی

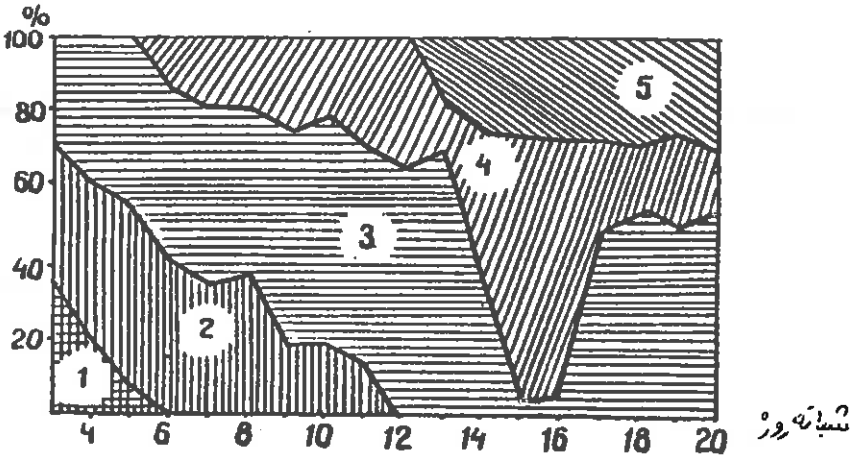
آبگیر ، مخزن	جرم خام ، درصد	تعداد موجودات ، درصد
ـ خلیج شابولاتسکی	۶/۹	۴/۶
ـ دریای سیاه	۴۳/۴	۹/۶
ـ مخازن آب شور	۹/۶	۱۷/۶
ـ استخرهای غذایی	۲۵/۱	۵۴/۷
ـ مخازن پرورشی	۱۵/۰	۱۳/۵
مجموع	۱۰۰	۱۰۰

غذایی لاروها نبوده (جدول ۱) ، لذا از طریق صید آنها از آبگیرهای طبیعی یا مصنوعی ، غذای مورد نیاز لاروها در استخرها تأمین می‌گردد.

برای تهیه کوپه‌پودای مورد نیاز در قسمت‌های ساحلی دریای سیاه ، خلیج‌های مالوچنی و شابولاتسکی و مخازن کم عمق آب شور ، به صید این گونه پرداخته شد. گونه‌های اصلی کوپه‌پوداعبارتند از ***Acartia*** و ***Harpacticus*** (طبق متن روسی) که در مراحل مختلف رشد (از ناپلیوس تا موجود بالغ) قرار داشتند. درکنار آنها لارو نرم‌تنان و روتیفرها نیز صید گردیدند.

مطمئن‌ترین منابع تغذیه‌ای ، استخرهای غذایی بشمار می‌روند. پس از افزودن کود به این استخرها در دوران پرورش لاروها ، تراکم موجودات مغذّی در آنها بالا رفته ، بطوریکه روزانه بطور متوسط ۲۲۵ گرم وزن خام روتیفر و کوپه‌پودا (در مرحله ناپلیوس) از این استخرها بدست می‌آید که حدود یک درصد بیوماس غذای زنده موجود در استخر را تشکیل می‌دهد (مساحت استخر ۶۰۰ مترمربع است).

براساس تجارب حاصل از فعالیت‌های پیشین مشخص گردید که موجودات با اندازه ۲۵۰-۵۰ میکرون می‌توانند بعنوان غذای اولیه قابل دسترس برای لاروها در مرحله تغذیه فعال محسوب شوند (سیمننکو و همکاران ،۱۹۸۶ ؛ سیمننکو ،۱۹۸۶؛ سایفولینا،۱۹۸۷). وجود ناهمگونی



تصویر ۹: تغییرات ترکیب غذایی لاروهای کفال *(Mullet)* به نسبت سن:
۱ـ لارو نرم‌تنان ، ۲ـ ناپلیوس کوپه‌پودا ، ۳ـ روتیفر ، ۴ـ کوپه‌پودا ، ۵ـ ناپلیوس آرتمیا.

بیولوژیک که در اندازه‌های مساوی لاروها متبلور شده است را می‌توان به ناهمگونی اندازه موجودات غذایی مربوط دانست. در پرورش انبوه ، لارو نرم‌تنان دوکفه‌ای به طول ۱۵۰ـ۱۰۰ میکرون ، روتاتوریا به طول ۲۵۰ـ۲۰۰ میکرون ، ناپلیوس کوپه‌پودا به طول ۲۰۰ـ۱۵۰ میکرون و در برخی موارد به طول ۱۰۰ میکرون از جمله غذاهای زنده بشمار می‌روند. تراکم کلی این موجودات ۵ـ۴ قطعه در میلی‌لیتر از آب استخرهای پرورشی می‌باشد.

نسبت موجودات مغذّی از نظر وزن در غذای لاروها بشرح زیر است : روتیفر ۳۰ درصد ، کوپه‌پودای ناپلیوس ۳۵ درصد ، لارو نرم‌تنان ۳۵ درصد (تصویر ۹).

در روزهای چهارم ـ پنجم لاروهای به طول ۳/۷ـ۳/۵ میلیمتر شروع به استفاده فعال‌تری از روتیفر و کوپه‌پودا (ناپلیوس) نموده و سهم غذاهای ریزتر از قبیل لارو نرم‌تنان در خوراک آنها به شدت کاهش می‌یابد. در روده لارو ماهی کفال مواد غذایی شامل لارو نرم‌تنان تا ۲۷ قطعه ، روتیفر تا ۴۵ قطعه و ناپلیوس کوپه‌پودا تا ۳۲ قطعه یافت گردید. در روز پنجم ، در جیره غذایی لاروها ، کوپه‌پودای

جدول ۲ : تعداد و وزن موجودات مصرف شده برای پرورش یک قطعه لارو ماهی کفال *(Mullet)* تا سن ۲۰ روزگی .

عنوان موجودات مصرف‌شده	تعداد (قطعه)	٪	وزن (میلیگرم)	٪
ـ لارو نرم‌تنان	۱۸۱	۰/۸	۰/۱۱	۰/۱
ـ ناپلیوس کوپه‌پودا	۱۱۰۶	۵/۲	۰/۷۳	۰/۷
ـ روتیفر	۱۷۱۱۸	۷۹/۶	۳۹/۳۷	۳۶/۶
ـ کوپه‌پودا	۲۰۶۱	۹/۶	۵۶/۹۹	۵۳/۰
ـ ناپلیوس آرتمیا	۱۰۳۶	۴/۸	۱۰/۳۴	۹/۶
مجموع	۲۱۵۰۰	۱۰۰	۱۰۷/۵۴	۱۰۰

Acartia به طول ۴۰۰ـ۳۰۰ میکرون مشاهده می‌شود. روز ششم کوپه‌پودای بالغ ۱۵ درصد وزن جیره غذایی را تشکیل داده ، ناپلیوس کوپه‌پودا و روتیفر به ترتیب ۴۰ و ۴۵ درصد از وزن جیره غذایی را تشکیل می‌دهند.

از روز هفتم تا سیزدهم مقدار ناپلیوس‌ها در روده لاروها کاهش ، و میزان روتیفر ۷۰ـ۶۴ درصد افزایش می‌یابد ، ولی این امر مبیّن انتخاب آنها توسط لاروها نیست بلکه بدین‌خاطر است که در این دوره روتیفرها از نظر تراکم نسبت به سایر منابع غذایی دارای فراوانی بیشتری در استخرهای‌پرورشی می‌باشند. در روزهای چهاردهم ـ پانزدهم یعنی زمانی که امکان تغذیه لاروها با *Acartia* فراهم شد این موجودات نسبت به سایرین ارجحیت می‌یابند (۶۸ درصد). در روزهای هفدهم ـ بیستم تعداد *Acartia* مجدداً کاهش یافته و روتیفرها نقش عمده‌تری در تغذیه لاروها پیدا می‌کنند.

از روز دوازدهم لاروها از ناپلیوس‌های آرتمیا نیز تغذیه کرده بطوریکه ۳۰ـ۲۰ درصد وزن جیره غذایی را تشکیل می‌دهند. علاوه بر گونه‌های نامبرده ، ناپلیوس‌های بالانوس ، آنتن منشعب‌ها (راسته *Cladocera* ، جنس *Podon*) ، روتیفر *P.synchaeta* ، کوپه‌پودا *P.diaptomus* و *P.cyclops* و گونه‌های مختلفی از جلبک‌های دیاتومه‌ای در روده لاروها مشاهده می‌شود.

برای پرورش ماهی کفال *(Mullet)* از مرحله لاروی با وزن متوسط ۰/۳ میلی‌گرم تا بچه ماهی به

وزن متوسط ۲۰ میلی‌گرم ، حدود ۱۰۷/۵ میلی‌گرم غذای زنده مورد نیاز است (جدول ۲). از میان موجودات مصرف شده توسط لاروها ، از نظر تعداد ، روتیفرها و از نظر وزن ، کوپه‌پودا (عمدتاً *Acartia*) نسبت به سایرین برتری دارند.

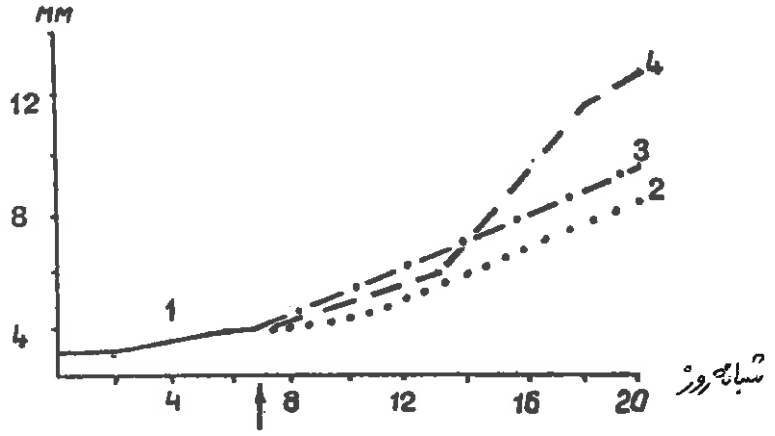
غذای اولیه مصنوعی ساخته شده برای ماهی قزل‌آلا ، اولین بار از پانزده روزگی برای گروهی از لاروهای ماهی کفال بکار می‌رود. از بیست و یکمین روز پس از ورود بچه ماهیان به استخرهای پرورشی سهم غذای مصنوعی تا ۹۰ درصد افزایش می‌یابد ، و از روز سی‌ام بچه ماهیان منحصراً از غذای خمیر شده که ترکیبی از غذای مصنوعی و ماهی چرخ شده به نسبت ۱:۱ است ، تغذیه می‌کنند.

رشد و زنده‌مانی لاروها و چگونگی تأثیر توأم بر تراکم آنها در محیط ، در ماهیان هم‌جنسی که از یک ماهی ماده بدست آمده‌اند ، مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.

تخم‌ها ۵ ساعت قبل از خروج جنین به استخرهای پرورشی با حجم مفید ۵ مترمکعب منتقل گردیدند. میزان باروری آنها بالغ بر ۶۰ درصد بود ، و ۴۲۵ هزار عدد لارو از تخم‌ها خارج شدند ، به عبارت دیگر ۸۳/۳ درصد از تخم‌های در حال رشد تبدیل به لارو گردید. طول لاروها در روز اول پرورش ۰/۱ ± ۳/۱ میلیمتر ، تراکم آنها در محیط استخر در شش روز اول بالغ بر ۸۵ عدد در لیتر ، و میزان زنده‌مانی آنها تا روز هفتم ۷۶/۵ درصد بود.

روز هفتم لاروها به سه حوضچه با تراکم ۳۰ ، ۲۰ و ۱۵ عدد در هر لیتر انتقال یافتند و تا روز بیستم با این تراکم پرورش داده شدند. لاروها با غذای زنده (روتیفر ، ناپلیوس آرتمیا ، کوپه‌پودا) به میزان ۴۰-۳۰ درصد وزن بدن بعنوان جیره شبانه‌روزی مورد تغذیه قرار گرفتند. پارامترهای اصلی هیدروشیمیایی در استخرهای مختلف یکسان بود.

آهنگ رشد لاروها (تصویر ۱۰) در وضعیت حداقل تراکم در محیط ، به حداکثر مقدار خود رسید ضمن آنکه میزان بقای آنها حدود ۶۶ درصد از کل لاروهایی که به مرحله تغذیه فعال



تصویر ۱۰ : رابطه رشد طولی لاروها و میزان تراکم آنها در شرایط مختلف پرورش :
۱) در تراکم به میزان ۸۵ عدد در لیتر
۲) در تراکم به میزان ۳۰ عدد در لیتر
۳) در تراکم به میزان ۲۰ عدد در لیتر
۴) در تراکم به میزان ۱۵ عدد در لیتر

رسیده بودند ، می‌باشد. در تراکم ۲۰ و ۳۰ عدد در هر لیتر ، زنده‌مانی لاروها به ترتیب به ۵۵ و ۴۳ درصد رسید.

لاروها در بیست و یکمین روز پس از شروع پرورش با تراکم ۴-۳ عدد در هر لیتر به استخرها منتقل شدند. تا روز سی و ششم تلفات قابل توجهی در استخرهای پرورشی مشاهده نگردید. طول متوسط بچه ماهیان در این سن ۰/۲ ± ۲/۴ سانتیمتر و وزن آنها ۰/۰۳ ± ۰/۲۱ گرم بود. از تعداد تخم‌های اولیه این گروه ۱۷۰ هزار عدد بچه ماهی مقاوم بدست آمد که بیش از ۴۰٪ جنین‌های خارج شده از تخم را شامل می‌شود.

نتیجه‌گیری

تحریک ماهیان کفال مولدی که در اسارت پرورش یافته‌اند ، موجب تکمیل مراحل گامتوژنز شده و بچه ماهیان مقاومی که برای ماهی‌دارکردن خلیج‌ها و استخرها مناسب بودند ، بدست آمد.

هدایت رشد و نمو جنینی در ماهی کفال به طریق ایجاد شرایط ایده‌آل از نظر عوامل غیرزیستی مانند دما ، درجه شوری و مقدار اکسیژن محلول در آب قابل اجراست .

هدایت رشد و نمو لاروها به موازات بهینه‌سازی عوامل غیرزیستی ، به کمک تأمین نیازهای غذایی لاروها در مراحل مختلف رشد انجام می‌گیرد.

کنترل و هدایت رشد و نمو جنینی و لاروی ، شانس زنده‌مانی ماهی کفال از مرحله جنین زنده تا دستیابی به بچه ماهیان مقاوم را از ۲۰ درصد تا ۴۰ درصد افزایش می‌دهد.

در طی این تحقیق مسائل مختلفی در زمینه حفظ و تنظیم رژیم هیدروشیمیایی مورد نیاز و نیز تصفیه آب مورد بررسی قرارگرفت.

مدل پیشنهادی پرورش لارو ماهی کفال را می‌توان در ابعاد گسترده و صنعتی مورد استفاده قرار داد. به منظور تکمیل بیوتکنولوژی پرورش تخم و لارو ماهی کفال ، احداث مجتمع‌های آزمایشگاهی ـ تولیدی که در آنها به موازات انجام آزمایشات مختلف تهیه بچه ماهی با اهداف تولیدی نیز امکان‌پذیر است ، امری ضروری می‌باشد.

فهرست منابع

- سیمننکو، ل.ای. (۱۹۸۹). روش دستیابی به لارو کفال ماهیان . به شماره ثبت اطلاعات N 4627119/13-30 مورخ ۸۸/۱۱/۲۳ .

دستورالعمل پرورش ماهی کفال . مسکو ، ونیرو . ۱۹۸۶ .

دستورالعمل پرورش ماهی سوف . مسکو ، ونیرو . ۱۹۸۷ .

- کازانسکی ، ب.ن. (۱۹۸۹) . ماهی کفال (*Mullet*) بعنوان موضوعی جدید در آبزی‌پروری . مجله شیلات ، ص. ۶۹-۶۷ .

- کازانسکی ، ب.ن. استاروشنکو، ل.ای. (۱۹۸۰) . بومی ساختن کفال (*Mullet*) در حوضه دریای سیاه . بیولوژی دریا ، ص. ۵۰-۴۶ .

- پراودین، ای.ف. (۱۹۶۶) . توصیه‌هایی در زمینه مطالعه ماهی . مسکو .

- پتیپا، ت.س. (۱۹۵۷) . وزن متوسط انواع اصلی زئوپلانکتون‌های دریای سیاه . مجموعه انتشارات مرکز بیولوژی سواستوپول جلد ۹ - ص. ۳۹-۳۷ .

- سایفولینا، ی.یو. (۱۹۸۷) . تغذیه لاروهای کفال (*Mullet*) ضمن پرورش در شرایط مصنوعی . وضعیت فعلی و چشم‌انداز بهره‌برداری بهینه و حفاظت از منابع شیلاتی حوضه دریای آزوف : مجموعه مقالات ارائه شده درکنفرانس سراسری روسیه در زمینه آبزی‌پروری ، راستوف - نادون ص. ۱۸ .

- سیمننکو، ل.ای. (۱۹۸۶) . چشم‌انداز آتی و مشکلات توسعه آبزی‌پروری در بخش شمالی پری‌آزوف . نخستین اجلاس پرورش جانوران . جلد سوم ، ص. ۷۴-۷۲ .

- سیمننکو، ل.ای. (۱۹۸۷) . تجربه پرورش گله‌های مولد کفال (*Mullet*) در پری‌آزوف شمالی . مجله شیلات . شماره ۳ - ص. ۳۴-۳۱ .

- سیمننکو، ل.ای. (۱۹۸۸). تجربه تغذیه ماهی کفال *(Mullet)* ضمن پرورش مصنوعی در دریای آزوف . غذا و روش‌های تغذیه جانوران در آبزی‌پروری : مجموعه انتشارات علمی ونیرو. مسکو، ص. ۶۹-۶۰ .
- سیمننکو، ل.ای. ، پروسکورینا، ی.س. ، دوبروین، ای.یا. (۱۹۷۷). چشم‌انداز توسعه آبزی‌پروری در پری‌آزوف شمالی . سمپوزیوم دو جانبه روسیه - ژاپن در زمینه مسائل آبزی‌پروری و افزایش تولید زیستی اقیانوس جهانی . مجموعه مقالات ارائه شده مسکو ، ص. ۹۸-۹۵ .
- سیمننکو، ل.ای. ، کودلینا، ی.آ. (۱۹۸۲) . وارد ساختن کفال *(Mullet)* به خلیج لیمان . مجله شیلات . شماره ۸ - ص. ۳۴-۳۳ .
- سیمننکو، ل.ای. ، کودلینا، ی.آ. (۱۹۸۳) . ارزیابی پرورش مصنوعی کفال *(Mullet)* . مقالات ارائه شده در کنفرانس علمی - منطقه‌ای در زمینه فعالیت‌های مؤسسه آذینرخ در طول ۲۵ سال . راستوف در ساحل دُن - ص. ۲۱۰-۲۰۹ .
- سیمننکو، ل.ای. ، سایفولینا، ی.یو. ، رادنکو، و.ن. ، ترنتیلف ، پ.و. (۱۹۸۶) . تجربه تغذیه لارو بچه ماهی کفال (*Mulltet*) . مقالات ارائه شده در اجلاس هماهنگی پیشرفت‌های علمی - فنی در بخش دولتی شیلات روسیه . مسکو ، ص. ۵۶-۵۴ .
- سیمننکو، ل.ای. سایفولینا، ی.یو. و همکاران (۱۹۸۶) . نخستین تجربه تغذیه لارو و بچه ماهی کفال *(Mullet)* در شرایط آزمایشگاهی . مجموعه انتشارات علمی ونیپرخ. شماره ۴۹ .
- سیمننکو، ل.ای. ، بولی. آ.ف. ، فیتینگوف، ی.م. (۱۹۸۹) . نتایج پرورش کفال *(Mullet)* در دریای سیاه و آزوف . مقالات ارائه شده در سمپوزیوم بین‌المللی مشکلات کنونی آبزی‌پروری در کشورهای سوسیالیستی . مسکو، ص. ۱۲۳-۱۲۰ .
- اسپکتوروا، ل.و. (۱۹۸۶) . نمونه‌ای از تجارب خارجی پرورش آرتمیا بمنظور استفاده از آن در آبزی‌پروری . مسکو ، ونیرو . ص.۶۳ .

- فینکو، و.آ. ، اسورپا، و.آ. (۱۹۷۳) . نخستین تجربه پرورش کفال *(Mullet)* در استخرهای آب شور در جنوب اوکراین . مجله شیلات . شماره ۲ ، ص. ۱۶-۱۵ .
- فینکو، و.آ.، اسورپا، و.آ. (۱۹۷۴) . پرورش کفال در استخرهای آب شور کپور ماهیان . تکنولوژی تولید ماهیان . مسکو ، ص. ۱۴۵-۱۳۸ .
- شیشکین ، ل.آ. (۱۹۷۴) . هیدروشیمی ، ص. ۵۰.

روش‌های ممکن جهت تنظیم
استرس ناشی از مواد فعال بیولوژیک در ماهیان

(ن.ای.لبیدوا ، ت.و.گالوفکینا)

یکی از اجزای مهم اکوسیستم‌های آبی ، مواد بیوژن محلول است که بخشی از آنها فرآورده فعالیت‌های حیاتی آبزیان (متابولیت‌های داخلی آنها) می‌باشد. برخی از این مواد نقش‌های تنظیمی، غذایی و یا اطلاع‌رسانی در بیوسنوز بعهده دارند (لوین‌سون ،۱۹۷۴). بسیاری از این مواد در صورت ورود مجدد به سیستم فعالیتی موجود ، موجب تغییرات شدیدی در تبادل مواد می‌گردند (شوارتس ۱۹۷۲) ، بطوریکه متابولیت‌های داخلی و علائم هشداردهنده خطر (کایرومونهای ماهیان شکارچی یا فرومونهای هشداردهنده) موجب افزایش استرس در کپور ماهیان می‌گردد (لبیدوا و سایرین ، ۱۹۸۲). متابولیت‌های داخلی تحت شرایط نامناسب در ماهیان ترشح می‌شوند ، بعنوان مثال در کپور ماهیان در صورت تراکم زیاد (لبیدوا ،گالوفکینا، ۱۹۸۶) و در ماهی قزل‌آلا پس از تحریک ماهی بوسیله جریان الکتریسیته (لبیدوا و سایرین ، ۱۹۹۰) ، اثرات قابل ملاحظه‌ای در افزایش قند خون ماهی و نیز ایجاد برخی تغییرات در تبادل مواد در هر یک از افراد گونه از خود برجای می‌گذارند. در صورت افزایش غلظت هورمون‌ها در خون نیز استرس افزایش می‌یابد. در فعالیت‌های ماهی‌پروری ، ضمن استفاده از تزریقات هیپوفیزی برای تکثیر مصنوعی ، اغلب با چنین مواردی مواجه می‌شویم. در این شرایط تغییر در تبادل مواد تنها ناشی از عمل تزریق (بعنوان یک عمل فیزیکی) نمی‌باشد بلکه جریان یافتن طیف کامل هورمون‌های هیپوفیز و متابولیت‌های جانور موجب این تغییرات است (لبیدوا ، بورلاکوف ، ۱۹۷۶). ضمن ارزیابی اثر مواد فعال بیولوژیک بر موجودات ، باید به خاطر داشت که این مواد در شرایط مختلف فیزیولوژیک ماهی اثرات متفاوتی داشته ، و در عین حال خود با ارتباط متقابل و تلفیق با سایر تنظیم‌کننده‌های زیستی ، شرایط فیزیولوژیک ماهی را تعیین می‌سازد

(آشمارین ، کامینسکایا ، ۱۹۸۸). تأثیر فیزیولوژیک مواد فعال بیولوژیک ممکن است به اثرات قبلی سایر تنظیم‌کننده‌ها بر روی موجود نیز ، بستگی داشته باشد.

مجموعه تحقیقات بعمل آمده شامل آزمایشاتی در جهت محدود کردن اثرات استرس ناشی از فرومونها ، کایرومونها ، هورمونها و متابولیت‌های داخلی و برخی عوامل انسانی ، با استفاده از مواد فعال بیولوژیک است.

مواد و روش‌ها

آزمایشات بر روی کپور معمولی و کپور سرگنده نقره‌ای درگروههای مختلف سنی (ماهیان کمتر از یکسال با وزن متوسط ۳۰گرم و ماهیان یکساله با وزن متوسط ۱۰۰-۵۰گرم) و نیز بر روی کپور ماهیان سرگنده نقره‌ای بالغ (به وزن متوسط ۴/۵ کیلوگرم) در مؤسسه ماهی‌پروری «بالیک‌چی» (ازبکستان) و «لیمانسکی» (اوکراین) انجام شد. در این تحقیق از حدود ۴۵۰ ماهی که با توجه به تجربیات مختلف ، بطور منظم توزیع شده بودند ، استفاده بعمل آمد. ماهیان پس از خروج از استخر در گروههای پنج‌تایی در آکواریوم‌های آزمایشگاهی واجد تهویه و به حجم ۲۰ لیتر ، نگهداری شدند.

پارامترهای مختلف بیوشیمیایی از قبیل : میزان یون کلسیم ، سدیم و غلظت ترکیبات بیوشیمیایی در مخاط خارجی و نیز غلظت گلوکز در خون ماهی ، بعنوان شاخص‌های استرس بکارگرفته شدند.

جمع‌آوری مخاط ماهیان بکمک لامهای کند بافت‌شناسی انجام گرفت. سپس مخاط بدست آمده به روی کاغذهای صافی که از قبل توزیع شده بودند ، منتقل ، و پس از یک شبانه‌روز در معرض هوا قرار گرفتن ، وزن آنها دوباره اندازه‌گیری شد. بمنظور حفظ و پیشگیری از تجزیه مواد آلی ، مخاط خشک را در کوره «الکترونیک» که دارای جریان با فرکانس بالا و طول موج کوتاه است ، قرار دادند (نادکارنی، ۱۹۸۴). برای تعیین الکترولیت‌های مخاط ، به همراه کاغذ صافی از ۴ میلی‌گرم محلول اسید کلریدریک (HCL) ۰/۱ نرمال استفاده بعمل آمد و سه روز پس از برداشت مخاط ، مقدار

کلسیم و سدیم بکمک نورسنج شعله‌ای نیمه اتوماتیک IL-943 اندازه‌گیری شد. غلظت الکترولیت‌ها نیز برحسب میلی‌اکی‌والان بر یک گرم از جرم خشک مخاط محاسبه گردید.

در روز آزمایش میزان گلوکز خون نیز تعیین شد. به ۰/۴ میلی‌لیتر از سرم خون یا خون کامل ماهی ۱ میلی‌لیتر ماده (T.K.U.) ۴/۹ درصد اضافه کرده و آنرا در دستگاه سانتریفوژ قرار می‌دهیم ؛ به ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سانتریفوژ شده ۱ میلی‌لیتر محلول تجاری مرک (Merk) اضافه کرده و رنگ‌ها بوسیله دوربین فوتوالکترونیک اندازه‌گیری می‌شود. روش استاندارد شرکت Mercotest تحت عنوان GOD-PAP-Method و براساس تعیین فرآورده‌های اکسیداسیون گلوکز به اجزای اکسیدهای گلوکز استوار می‌باشد (GOD).

شناسایی اجزای بیوشیمیایی مخاط و تعیین غلظت گلوکز در خون با استفاده از شیوه تحلیلی اکسپرس متد و بکمک معرف‌های ناقل‌های سخت انجام گرفت (در فیلم‌های رنگی چندین لایه Ames) (لبیدوا ، گالوفکینا ،۱۹۸۷). میزان ترکیبات بیوشیمیایی نیز بطور کامل اندازه‌گیری شده و شدت نسبی واکنش‌های نوری مایع تجزیه شده نیز بوسیله مقیاس‌های نوری استاندارد محاسبه می‌گردد.

بطورکلی ترشحات فرومون ، کایرومون‌های ماهیان شکارچی ، متابولیت‌های داخلی و تزریق هورمون‌ها ، از جمله عوامل استرس‌زا محسوب می‌شوند. ترشحاتی که حاوی فرومون‌های هشداردهنده و کایرومون‌های ماهیان شکارچی هستند طبق روشی که قبلاً شرح داده شد ، آماده گردیدند (لبیدوا و سایرین ، ۱۹۸۲) : ۲۰۰ میلی‌گرم پوست تازه ماهی راکه کاملاً از ماهیچه ، مخاط و فلس پاک شده است در هاون کوبیده سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه می‌کنیم ، عصاره آنرا گرفته و پس از عبور دادن از صافی ، آنها را در آکواریوم‌های آزمایشی می‌ریزیم (در ازای هر ۲۰۰ میلی‌گرم پوست تازه ، ۲۰ لیتر آب). به منظور ارزیابی تأثیر استرس‌زایی متابولیت‌های داخلی ، که هنگام تراکم زیاد جمعیت توسط ماهیان ترشح می‌شود ، غلظت استاندارد این مواد محاسبه می‌گردد (لبیدوا ،

گالوفکینا،۱۹۸۶). متابولیت‌های داخلی را که از صافی عبور نموده‌اند ، با غلظت تعیین شده به آکواریوم‌های آزمایشی اضافه نموده ، زمان تأثیر متابولیت‌های داخلی نیز از ۱ تا ۱۶ ساعت متغیر است.

هورمون‌ها با غلظت‌های متفاوتی به آب اضافه می‌شوند : هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) با غلظت ME/Kg[1] ۴ ، آدرنالین با غلظت ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ، سوسپانسیون هیپوفیز با غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و از تزریق محلول فیزیولوژیک نیز برای کنترل استفاده بعمل می‌آید.

از برخی مواد نیز می‌توان بعنوان ضد تنش (آنتی استرسور)[2] استفاده کرد. بعنوان مثال بمنظور جلوگیری از سنتز پروستاگلندین‌ها[3] ۱ گرم استیل سالیسیلیک (آسپیرین) به ازای ۲۰ لیتر آب به آکواریوم‌ها اضافه می‌کنیم.

اثر استرس‌زایی ـ محافظتی مواد روانگردان [4] (۳ *mg/kg*) گالوپریودول (۱ *mg/kg*) ؛ فنازپام (۰/۲۵ *mg/kg*) ؛ آمینازین (۳ *mg/kg*) و نئوتروپیل بصورت تزریقی (۵۰ـ۳۰ *mg/kg*) و بصورت مستقیم در آب (۱۰۰ *mg/L*) ، مورد بررسی قرار گرفت.

اثر آرام‌بخش دو نوع پپتید به نام‌های پپتید دلتاسن (۱۸۰۰ـ۱۶۰ ±*g/kg*) و پپتید لی‌انکفالین (۶ـ۲ *mg/kg*) ، نیز مورد بررسی و مطالعه واقع شد.

نتایج و بحث

ضمن مطالعه افزایش استرس در کپور نقره‌ای سرگنده (در ماهیان جوان و ماهیان مولد) قوانین عمومی دربرگیرنده تغییرات بیوشیمیایی اولیه نیز شناسایی گردید (لبیدوا و همکاران ،۱۹۸۸،

۱ـ واحد طبق متن روسی است .

2- *Antistressor* 3- *Prostaglandins* 4- *Psychotrope*

۱۹۸۹). تحت تأثیر مواد استرس‌زای بیوژن (فرومون هشداردهنده و کایرومون در ماهیان شکارچی) افزایش گلوکز خون [1] در کپور سرگنده به ۱۵۰٪ مقدار عادی رسید و ضمن تزریق هورمون‌ها به جانور (بعنوان مثال تزریق آدرنالین) این مقدار تا ۲۲۵٪ افزایش می‌یابد. این مطالعه نشان داد که ترکیب یونی مخاط نیز مانند افزایش قند خون می‌تواند بعنوان معیار تعیین‌کننده وضعیت ماهی از نظر میزان استرس بکار رود. غلظت سدیم و کلسیم در مخاط ، تحت تأثیر عوامل استرس‌زای طبیعی به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد. تغییرات ناموزون الکترولیت‌ها به کاهش تبادل آنها منجر شده که بنوبه خود نشانه تغییرات سیستم آدرنالین در جانور می‌باشد. میزان تغییرات بیوشیمیایی ظاهر شده در هنگام استرس، به شدت و ویژگی‌های کیفی عامل استرس‌زا بستگی دارد. عوامل استرس‌زا به دو گروه طبیعی (شامل کایرومونها ، فرومونها ، متابولیت‌های داخلی و هورمون‌ها) و مصنوعی تقسیم‌بندی می‌گردند که از نظر فیزیولوژیک دارای ارزش می‌باشد. تغییراتی که ضمن تأثیر مواد استرس‌زای طبیعی در جانور مشاهده می‌شود مرزهای فیزیولوژیک پارامترهای بیوشیمیایی جانور را تعیین می‌کند. از میان مواد استرس‌زای بیوژن که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند ، کایرومون‌های جانوران شکارچی و تزریق هورمون‌هایی که غلظت آنها هنگام استرس افزایش می‌یابد (بعنوان مثال ، آدرنالین و هورمون ACTH) دارای بیشترین تأثیر می‌باشند. باید توجه داشت که در این صورت با تزریق هورمون‌ها به ماهی مجموعه‌ای از عوامل استرس‌زا شامل هورمون، عمل تزریق، در دست گرفتن ماهی بر آنها تأثیر می‌گذارد.

ثابت شده است که تأثیر دو عامل استرس‌زا ، حتی در مقادیر کمتر از حد لازم ، موجب تنش شدید در ماهی می‌شود (لبیدوا ، گالوفکینا،۱۹۸۸). عوامل استرس‌زای با منشأ انسانی [2] بیشترین تغییرات را در پارامترهای بیوشیمیایی ایجاد می‌کنند. ویژگی‌های فردی هر جانور تعیین‌کننده توان واکنش موجود بوده و شدت و واکنش آن نیز به این توان بستگی دارد. حداقل توان واکنش که متعلق

1- Hyperglycemia *2- Anthropogenic*

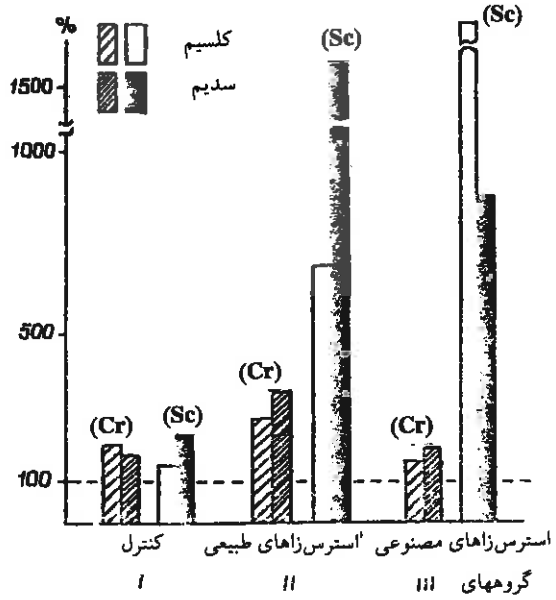
ماهی کپور است موجب تغییرات بسیار ناچیزی در پارامترهای بیوشیمیایی (در شرایط استرس) می‌گردد. حداکثر توان واکنش در کپور نقره‌ای [1] دیده می‌شود و معمولاً با تغییرات شدیدی در ترکیب الکترولیتی مخاط (تصویر ۱) همراه بوده و بطور قابل ملاحظه‌ای از توان واکنش ماهی کپور بیشتر است. میزان تغییرات بیوشیمیایی هنگام استرس ، به فاصله زمانی تأثیر عوامل استرس‌زا و فصول سال بستگی دارد. تغییراتی که کایرومونها در فصل بهار در الکترولیت‌ها و نسبت آنها (از نظر اندازه و توازن) بوجود می‌آورند به مراتب ضعیف‌تر از این تغییرات در فصل پاییز است.

یکی از علل افزایش میزان بیماری‌ها بدنبال ضعف سیستم ایمنی در ماهیان ، افزایش استرس می‌باشد. موجوداتی که تحت فشار استرس قرار دارند معمولاً نابود شده و طعمه شکارچیان می‌شوند. از سوی دیگر تلاش به منظور کاهش اثرات نامطلوب استرس یکی از مهمترین مسائل در آبزی‌پروری بشمار می‌رود. استفاده از مواد بیوژن نیز که از نظر بیولوژیک فعال هستند یکی از روش‌های حل این معضل می‌باشد.

پپتیدهای تنظیم کننده بیوژن ، نقش مهمی در سازگار نمودن جانوران عالی نسبت به بسیاری از عوامل محیط خارجی ایفاء کرده و وضعیت احساسی ، حافظه ، فرآیندهای متابولیک ، مصونیت‌ساز و رفتار جانور را به حالت عادی بازمی‌گردانند. نروپپتیدها بطور گسترده‌ای در طب بکار رفته ولی در ارتباط اثر آنها بر ماهیان مطالعات مختصری صورت پذیرفته است. بمنظور کاهش هر چه بیشتر اثرات استرس در کپور نقره‌ای از دو نوع نروپپتید به نام‌های لی‌انکفالین و نروپپتید دلتا- سنا استفاده می‌شود.

اثبات شده که در صورت استفاده از لی‌انکفالین در کپور نقره‌ای (از طریق تزریق درون حفره بینی ، درون آبششی و درون ماهیچه‌ای و نیز بصورت مستقیم در آب) تغییری در غلظت عوامل بیوشیمیایی مطالعه شده بوجود نمی‌آید.

1- Sliver Carp



تصویر ۱ : حداکثر تغییرات در میزان الکترولیت‌های مخاط ماهی کپور (Cr) و کپور نقره‌ای (Sc) و نسبت آنها با حداقل میزان مشاهده شده .

همچنین ضمن آزمایش با پپتید دلتا ـ سنا آشکار گردید که این ماده اثرات مشخص و درازمدتی بصورت واکنش‌های مختلف عملکردی در ماهی برجای می‌گذارد ؛ از جمله موجب بروز تغییراتی در رفتار، فعالیت حرکتی و برخی واکنش‌های فیزیولوژیک ـ بیوشیمیایی درکپور نقره‌ای شده (لبیدوا و سایرین ، ۱۹۸۸a)وقابلیت سازگاری ماهی کپور را افزایش داده و اختلالات رفتاری راکه در شرایط استرس در این ماهی بوجود می‌آید ، تعدیل می‌نماید (لبیدوا و سایرین ، ۱۹۸۹). اثرات فیزیولوژیک این پپتید ، با مقادیری تقریباً معادل دُزهای مشاهده شده در مهره‌داران عالی ، آشکار می‌گردد و دُز فعال این ماده متناسب با تغییرات سن و گونه در هر ماهی می‌باشد. درکپور نقره‌ای دُز مؤثر مناسب برای بچه ماهیان ۲۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم و برای ماهیان نیمه بالغ ۳۶۰ میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد. زمان آشکار شدن اثر این ماده در محدوده وسیعی متغیر است : این زمان برای بچه ماهیان بین ۵ تا ۱۵ دقیقه و برای ماهیان بالغ بین ۳۰ تا ۶۰ دقیقه بوده و حداکثر تأثیر درگروه اول پس از ۱۲ـ۲ ساعت و درگروه دوم پس از یکساعت آشکار می‌گردد. تأثیر این ماده در بچه ماهیان تا یک شبانه‌روز و در ماهیان بالغ تا ۴ـ۳ ساعت باقی می‌ماند. همچنین ثابت شده که اثر این پپتید به وضعیت فیزیولوژیک ماهی در لحظه تزریق آن نیز بستگی دارد. در شرایط فیزیولوژیک مختلف

(گرسنگی ، تخم‌ریزی ، استرس) اثر پپتید ، کوتاه‌مدت بوده و با افزایش دُز ترکیب و چندمرحله‌ای نمودن تزریق آشکار می‌شود. با تزریق چند مرحله‌ای ترکیب بطور شبانه‌روزی و در دُزهای ۱۰۰۰ و ۱۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم اثر آن مشاهده شد ، در حالیکه افزایش دُز ترکیب تا ۱۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم ، اگر بصورت تزریق یک مرحله‌ای انجام گیرد ، اثر آرام‌بخش در ماهی نخواهد داشت. اثر آرام‌بخش این ترکیب به فاصله زمانی بین تزریق‌ها و نسبت دُز در اولین و دومین تزریق بستگی دارد. دُز مؤثر پپتید نیز در فصل بهار ۴-۳ برابر بیشتر از دُز مؤثر آن در پاییز است. ظهور اثر آرام‌بخش پپتید در بچه ماهیان بیشتر به شکل دگرگونی حرکات ، و در ماهیان نیمه بالغ بصورت آرامش کلی در آنها مشاهده می‌شود ، بطوریکه می‌توان ماهیان را در دست نگاه داشت و آنها را از یک حوضچه به حوضچه دیگر منتقل نمود. دگرگونی حرکات بچه ماهیان در شرایط استرس شامل افزایش تعداد حرکات عمودی ماهی بدون ایجاد تغییر کلی در توان فعالیت حرکتی آنها می‌باشد (تصویر ۲). تعداد حرکات عمودی در ماهیانی که تحت تأثیر مواد استرس‌زای مصنوعی دچار استرس شده‌اند ، پس از تزریق این پپتید بسرعت به حال عادی بازمی‌گردد. بعلاوه تزریق پپتید نه تنها باعث کاهش مقادیر قند خون نمی‌گردد بلکه موجب افزایش آن نیز می‌شود ، غلظت گلوکز در این شرایط بالغ بر ۲۱۵ میلی‌گرم درصد می‌باشد (در حالیکه پس از تزریق محلول فیزیولوژیک این غلظت به ۱۳۵ میلی‌گرم درصد کاهش می‌یابد). این تأثیر ثابت بوده و تا ۴۸ ساعت حفظ می‌گردد. تزریق پپتید به ماهیانی که در حال سازگاری با محیط خود هستند در میزان افزایش قند خون آنها اثری ندارد. هنگامی که کپور نقره‌ای تحت تأثیر فرومون ترس قرار گرفته باشد ، این پپتید اثر آرام‌بخش در ماهی نخواهد داشت.

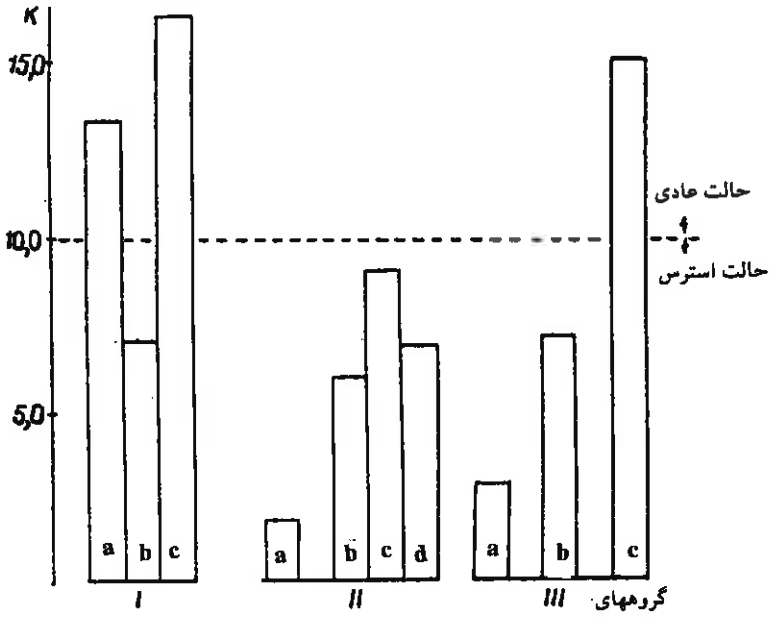
اثرات مشاهده شده در پپتید دلتا ـ سنا در گونه‌های مختلف ، مخصوص گونه‌ای بوده و نشان‌دهنده تنوع عملکرد این پپتید در ماهیان می‌باشد. بروز و دوام اثر آرام‌بخش این پپتید و نیز دُزهای مؤثر آن به وضعیت فیزیولوژیک هر ماهی و برخی عوامل غیرزیستی [1] محیط پیرامون

1- Abiotic

بستگی داشته و احتمالاً نقش تعیین‌کننده‌ای در سازگاری ماهی نسبت به محیط ایفاء می‌نماید. در آینده کاربرد پپتیدها در جهت ایجاد تغییرات و اصلاحات در شرایط مختلف فیزیولوژیک ماهیان بسیار متداول‌تر خواهد شد. بعلاوه استفاده از این پپتید در طی پرورش مصنوعی ماهی محدودیت‌هایی را نیز به همراه دارد که در وهله نخست به کارایی پایین این ترکیب در وضعیت‌های فیزیولوژیک خاص در ماهیان مربوط است. ولی کاربرد وسیع پپتید دلتا ـ سنا در انجام فعالیت‌های علمی و تحقیقاتی تحت تأثیر این وضعیت قرار نمی‌گیرد.

یکی از راههای ممکن برای کنترل استرس‌هایی که با تزریق هورمون‌ها بوجود می‌آیند استفاده از نرولپتیک‌ها (آمینازین وگالوپریدول) ، ترانکویلنداتورها (فنازپام) و موادی است که بر سیستم عصبی مرکزی اثرگذاشته (نظیر نئوتروپیل) و همراه با تزریق هورمونی وارد بدن ماهی می‌شوند. با توجه به طیف وسیع اثرات فیزیولوژیک این مواد ، انتظار می‌رود که واکنش‌های استرسی بوجود آمده بدنبال استفاده از هورمون‌ها توسط این مواد کاهش یابد. ضمن استفاده از سه ماده روان درمان ، هیچ اثر آرام‌بخشی در آنها مشاهده نگردید (به جدول زیر توجه نمایید).

نوع تزریق	گلوکز (میلی‌گرم درصد)
آدرنالین	۲۲۵
آدرنالین + آمینازین	۱۷۷
آدرنالین + گالوپریدول	۱۶۱
آدرنالین + فنازپام	۱۸۹
هیپوفیز	۱۴۵
هیپوفیز + آمینازین	۱۲۲
ACTH	۱۵۸
ACTH + آمینازین	۱۶۸
ACTH + گالوپریدول	۲۵۳
ACTH + فنازپام	۲۰۶
محلول فیزیولوژیک	۱۸۷
محلول فیزیولوژیک + آمینازین	۱۳۵



تصویر ۲ : تغییرات توان فعالیت حرکتی در کپور نقره‌ای تحت تأثیر هورمون‌های مختلف :
گروه I – a)کنترل ؛ b) تزریق محلول فیزیولوژیک ؛ c) تزریق ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم پپتید دلتا ـ سنا .
گروه II ـ a) فرومون ؛ b) پپتید + فرومون ؛ c) تزریق ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم پپتید ؛ d) تزریق محلول فیزیولوژیک .
گروه III ـ a) ماده استرس‌زای مصنوعی ؛ b) ماده استرس‌زای مصنوعی + ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم پپتید پس از ۳۰ دقیقه ؛ c) ماده استرس‌زای مصنوعی + پپتید پس از ۲۴۰ دقیقه
K ـ نسبت میزان حرکات افقی به حرکات عمودی .

از میان سه گروه هورمون تزریق شده یعنی آدرنالین ، هیپوفیز و ACTH ، هورمون آدرنالین بیشترین ، و هیپوفیزکمترین افزایش قند خون را موجب می‌شود. آمینازین نیز باعث کاهش اثر وجود قند در خون [1] توسط تزریق شده بطوریکه وجود آمینازین در تزریق هیپوفیزی افزایش قند خون را تا سطح تزریق محلول فیزیولوژیک تقلیل می‌دهد. تزریق ACTH نیز اثر نامحسوسی بر افزایش قند خون دارد. تزریق نوروپتیک‌ها همراه با ACTH سطوح قند خون را در مقایسه با زمانی که ACTH به تنهایی تزریق گردد ، افزایش می‌دهد.

1- Glycohemia

جدول ۱ : مقادیر الکترولیت‌ها تحت تأثیر استرس

وضعیت	تعداد ماهی	سدیم	کلسیم	نسبت کلسیم/سدیم
کنترل	۱۵	۰/۰۲۶	۰/۰۴۴	۱/۷۰
تزریق درون ماهیچه‌ای (۶۰ دقیقه)	۹	۰/۰۷۶	۰/۰۵۸	۰/۷۶
تزریق درون آبششی (۶۰ دقیقه)	۹	۰/۰۳۸	۰/۰۴۱	۱/۰۹

تأثیر شبانه‌روزی ACTH و مواد آرام‌بخش از نقطه‌نظر افزایش سطوح قند خون به اثر مشابه آدرنالین نزدیک است. نئوتروپیل تزریق شده در جانور (بصورت درون حفره بینی ، درون ماهیچه و آبشش و نیز بصورت مستقیم در آب) اثر آرام‌بخش قابل ملاحظه‌ای بر رفتار کپور نقره‌ای که تحت تأثیر مواد مصنوعی دچار استرس شده ، نداشته و تغییر اساسی نیز در ترکیب بیوشیمیایی مخاط مشاهده نمی‌شود. تغییرات بوجود آمده ، نتیجه کاهش میزان آلبومین در مخاط است که با کاهش دمای آب حوضچه ادامه یافته و مقدار کلی مخاط را در بدن ماهی تقلیل می‌دهد. در وضعیت استرس غلظت سدیم مخاط افزایش یافته ولی غلظت کلسیم عملاً تغییری نمی‌کند و بطورکل نسبت الکترولیت‌ها کاهش می‌یابد (جدول ۱).

آزمایشات مربوط به محدود نمودن اثر استرس توسط مواد آرام‌بخش نه تنها تأثیر قابل انتظار از این مواد درگونه‌های مورد مطالعه ماهی را نشان نمی‌دهد بلکه برعکس در این آزمایش‌ها تغییرات بیوشیمیایی برگشت‌ناپذیری نیز مشاهده شده است. بعلاوه ، تحقیقات بیشتر در زمینه طیف وسیع‌تری از این مواد ، از اهمیت ویژه‌ای جهت مطالعات بیوشیمیایی تکاملی و فارماکولوژیک برخوردار بوده ، زیرا در حال حاضر استفاده از این ترکیبات در پرورش ماهی متداول نمی‌باشد.

توان واکنش در ماهی کپور نقره‌ای به شرایط پرورش نیز بستگی دارد. درکپور نقره‌ای پرورش یافته

جدول ۲ : ترکیب بیوشیمیایی مخاط در ماهیان مولد کپور نقره‌ای در مزارع پرورشی

شرایط آزمایش	تعدادماهی (عده)	محتویات مخاط			
		کتون*	Hb	آلبومین	PH
در حالت عادی	۱۵/۱۰	۰/۵/۱/۱	۵۰/۴۱۰	۱/۰/۴/۰	۷/۰/۶/۷
پس از تزریق هیپوفیز	۱۵/۱۰	۱/۰/۰/۵	۱۸۰/۴۱۰	۲/۰/۳/۰	۷/۰/۷/۰

* Ketone :

توضیح : صورت کسرها مربوط به مزارع پرورش ماهی در اوکراین و مخرج کسرها مربوط به مزارع پرورشی در ازبکستان است.

در مزارع پرورشی اوکراین و ازبکستان غلظت الکترولیت‌ها در مخاط تقریباً مساوی بوده ، ولی تغییرات بیوشیمیایی که بدنبال ایجاد استرس در آنها بوقوع می‌پیوندد ، متفاوت است.

ترکیب بیوشیمیایی مخاط در ماهیان مولد کپور نقره‌ای در حالت عادی و بدنبال تزریق هورمون در جدول ۲ نشان داده شده است .

در مخاط ماهیان مولد مزارع پرورشی اوکراین پیش از تزریق هیپوفیز آثار هموگلوبین مشاهده می‌شود که گویای عدم تشدید استرس در شرایط عادی (پس از صید و لمس ماهیان با دست) می‌باشد. افزایش میزان هموگلوبین پس از تزریق در ماهیان مولد پرورش یافته در اوکراین ، به سطحی که در مولدین حاصل از مزارع پرورشی ازبکستان ، چه قبل و چه بعد از تزریق ، دیده می‌شود ، نمی‌رسد. مقدار آلبومین مخاط پس از تزریق ، در ماهیان مولد هر دو منطقه افزایش می‌یابد. مقدار کتون مخاط نیز تغییر نموده ، ولی چگونگی این تغییرات در این دو گونه متفاوت است. تحولات بیوشیمیایی در کپور نقره‌ای مزارع پرورشی بسیار کمتر و نزدیکتر به تغییرات مشاهده شده در ماهی کپور می‌باشد ، که از خصوصیات بارز آن مقاومت در قبال استرس است. این پدیده را می‌توان بدین شکل توجیه نمود که مقاومت بیشتر در برابر استرس در نتیجه ارتباط دائم جانور با دستاوردهای

جدول ۳ : مقادیر الکترولیت‌ها در مخاط ماهی کپور نقره‌ای تحت تأثیر مواد استرس‌زا

وضعیت	سدیم		کلسیم	
	میلی‌مول در لیتر	٪	میلی‌مول در لیتر	٪
در حالت طبیعی	۰/۲۱۹	۱۰۰	۰/۱۰۴	۱۰۰
متابولیت داخلی	۰/۲۸۳	۱۰۰	۰/۱۱۶	۱۱۱
متابولیت‌های داخلی + آسپیرین	۰/۳۸۰	۱۷۳	۰/۱۱۷	۱۱۲
کایرومون اردک‌ماهی	۰/۲۴۲	۱۱۰	۰/۱۳۴	۱۲۹
کایرومون اردک‌ماهی + آسپیرین	۰/۳۹۲	۱۷۹	۰/۱۱۰	۱۰۶

فعالیت‌های انسانی است که به موازات پرورش مصنوعی ماهی در مزارع تکرار شده و برای ماهی عادی می‌گردد.

بمنظور شناسایی اثر متقابل موادی که دارای خواص بیولوژیک هستند آزمایشاتی انجام پذیرفت که طی آنها کپور نقره‌ای در معرض اثر استرس‌زای مواد متابولیت داخلی و کایرومون‌های اردک ماهی و نیز تحت تأثیر اسید استیل سالیسیلیک قرار داده شد و بدین ترتیب مشخص گردید که آسپیرین مانع از بیوسنتز شده و اثرات فیزیولوژیک پروستاگلندین‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین آشکار شد که مقدار مخاط که پس از تأثیر متابولیت‌های داخلی کاهش یافته ، در حضور آسپیرین به حد طبیعی خود می‌رسد. آسپیرین بدون آنکه در غلظت کلسیم مخاط تغییری ایجاد نماید مقادیر سدیم مخاط را که تحت تأثیر متابولیت‌های داخلی و کایرومون اردک‌ماهی کاهش یافته بود ، تقریباً تا دو برابر افزایش می‌دهد (جدول ۳).

آسپیرین همچنین تاحدی درصد ماهیانی راکه تحت تأثیر استرس میزان هموگلوبین مخاط در آنها افزایش چشمگیری داشته ، کاهش می‌دهد . در نتیجه استفاده از آسپیرین غلظت آلبومین و کتون‌ها در مخاط افزایش می‌یابد . برخی اثرات بیوشیمیایی که ضمن استرس در ماهیان مشاهده می‌شود

ممکن است از طریق پروستاگلندین‌ها در بدن ماهی اعمال گردد. احتمالاً در پیش‌بینی شرایط مطلوب برای پرورش مصنوعی ماهی ، نه تنها تأثیر مواد و ترکیبات معین ، بلکه اثر مشترک و توأم این مواد نیز بایستی مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

تحت تأثیر محرک‌هایی که موجب ترس و وحشت در ماهی می‌شوند تغییراتی در تبادل مواد در بدن جانور بوجود می‌آید که معمولاً با معیارهای بیوشیمیایی سنجیده شده و به مجموعه این محرک‌ها عوامل استرس‌زا اطلاق می‌گردد. توانایی واکنش جانوران نسبت به استرس دارای اهمیت زیادی در آماده‌سازی منابع انرژی‌زای بدن که هنگام فرار از خطر مورد نیاز جانور است ، می‌باشد. این واکنش سازگاری نیاز جانور به ثبات داخلی [1] را نیز تأمین می‌سازد. برخی ترکیبات فعال بیولوژیک ، مانند فرومون ترس و یا کایرومون ماهیان شکارچی که در محیط زندگی آبزیان یافت می‌شود ، حتی اگر دارای غلظت بسیار کمی نیز باشند ، قادرند که در کپور ماهیان تغییرات اساسی در تبادل مواد ایجاد نمایند. افزایش غلظت متابولیت‌های داخلی که از نظر بیولوژیک فعال هستند در استخرهای پر تراکم و یا در شرایط مطلوب برای ماهی موجب تغییرات بیوشیمیایی مهمی شده ،که این نوسانات از حدود تغییرات فیزیولوژیک تجاوز نمی‌کند. محدوده طبیعی حفظ ثبات داخلی برای پارامترهای مختلف بیوشیمیایی در هر گونه اختصاصی بوده و با افزایش توان واکنش ماهی رشد می‌نماید. تأثیر ترکیبات فعال بیولوژیک در جانور اغلب جزیی بوده و همیشه نمی‌توان آن را به کمک روش‌های بیوشیمیایی امروزی ارزیابی نمود ، ولی اثر استرس‌زای برخی از این ترکیبات می‌تواند موجب تغییراتی شود که تنها در واکنش نسبت به عوامل استرس‌زای قوی رخ داده و جزء تغییرات غیرقابل بازگشت محسوب می‌گردند. در محیط‌هایی که تحت تأثیر فعالیت‌های انسانی [2] قرار دارد تغییراتی که بدنبال استرس رخ می‌دهد بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته ، حتی اگر کوچکترین و ضعیف‌ترین عوامل بیولوژیک موجب استرس گردند. پدیده اثرات جانبی عوامل استرس‌زا بر روی جانوران را باید ضمن ایجاد شرایط کاملاً مطلوب برای ماهیان ، در محیط‌های پرورش آنها مورد

1- Homeostasis *2- Anthropogenic*

مطالعه قرار داد. کنترل تشدید استرس از طریق استفاده از ترکیبات فعال بیولوژیک یکی از روش‌های فیزیولوژیک تنش‌زدایی است. احتمالاً یافتن چنین ترکیباتی باید از طریق مطالعه اثر متقابل این مواد و نیز تأثیر استفاده همزمان از آنها میسر گردد. یکی از چشم‌اندازهای مهم در مهار هر چه بیشتر استرس ، افزایش مقاومت جانور نسبت به عوامل استرس‌زا می‌باشد. سازگار شدن جانور نسبت به هرگونه استرسی ، مقاومت ماهی را نسبت به عوامل نامطلوبی که ضمن تأثیر ممکن است با آن روبرو شود ، افزایش می‌دهد. تماس مکرر با عوامل استرس‌زایی که دارای اثرات کوتاه‌مدت در جانور بوده و همچنین استفاده از ترکیبات استرس‌زا در دُزهای پایین‌تر از حد آستانه تحریک ، روش‌های مناسبی برای مهار استرس در ماهیان بشمار می‌روند.

فهرست منابع

- آشمارین،ای.پ ؛ کامنسکایا،م.آ. (۱۹۸۸). نروپپتیدها در انتقالات سیناپسی . فیزیولوژی انسان و جانوران ، مسکو.
- لبیدیوا،ن.ی. ؛ بورلاکوف،آ.ب. (۱۹۷۶). اثر تزریق هیپوفیزی بر وضعیت استرازهای عمومی در بافت‌های کپور نقره‌ای . مجله بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل . جلد ۱۲ ، شماره ۳ ، صفحه ۲۸۴-۲۸۶ .
- لبیدیوا،ن.ی ؛ کاسومیان ، آ.او.؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۲). خصوصیات نسبی بیوشیمیایی سیگنال‌های طبیعی شیمیایی خطر در سیستم شکارچی ـ شکار در ماهی . علائم شیمیایی در جانوران : مجموعه انتشارات علمی ، مسکو، انتشارات «نااوکا» ، ص. ۳۱۷-۳۱۰ .
- لبیدیوا،ن.ی ؛گالوفکینا،ت.و.(۱۹۸۶). متابولیت‌های خارجی و فاکتورهای استرس‌زا برای ماهی . اسناد منتشر شده توسط ونی.نی.تی ، شماره 6631-B-86 .
- لبیدیوا،ن.ی ؛ گالوفکینا،ت.و. (۱۹۸۷). ترکیب و سایر خصوصیات مخاط در ماهیان گیاهخوار بعنوان معیاری برای تشخیص وضعیت استرس در جانور . آثار منتشر شده توسط دانشگاه دولتی مسکو . سری ۱۶ ، شماره ۴ ، ص. ۳۳-۲۸ .
- لبیدیوا ،ن.ی ؛ گالوفکینا، ت.و. (۱۹۸۸). تأثیر علائم شیمیایی خطر تبادل کربن در کپور ماهیان یکساله . مجله بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل ، شماره ۱ ، ص. ۱۰۶-۱۰۳ .
- لبیدیوا،ن.ی ؛گالوفکینا،ت.و ؛ ال ـگاراباوی،م.م. (۱۹۸۸). استرس اولیه و تغییر میزان الکترولیت‌ها در مخاط ماهی کپور . مسائل ماهی‌شناسی . جلد ۲۸ ، دوره ۶ ـ ص. ۱۰۲۲-۱۰۱۴ .
- لبیدیوا،ن.ی ؛گالوفکینا،ت.و. ؛ میخالیوا،ای.ای. ؛ آشمارین، ای.پ. (۱۹۸۸a). تأثیر پپتید دلتا ـ سنا در برخی کپور ماهیان . اسناد آکادمی علوم اتحاد شوروی . جلد ۳۰۴ ، شماره ۴ ،

ص. ۱۰۱۱-۱۰۱۰ .

- لبیدیوا، ن.ی. ؛گالوفکینا،ت.و. ؛ ال -گاراباوی،م.م. (۱۹۸۹). استرس درکپور نقره‌ای : تغییرات در تبادل مواد تحت تأثیر کایرومون‌های ماهیان شکارچی . انتشارات دانشگاه دولتی مسکو . سری ۱۶ شماره ۱ ، ص. ۲۸-۲۳ .

- لبیدیوا،ن.ی. ؛ واسیلینه، م.پ. ؛گالوفکینا،ت.و. (۱۹۹۰). سندرم استرس و انتقال اطلاعات در ماهی . اسناد گزارشات دهمین اجلاس سراسری فیزیولوژی تکامل یادواره اوربل (ل.آ.) ؛ لنینگراد : انتشارات «نااوکا» ، ۷۵ صفحه .

- لیوینسون،گ. (۱۹۷۴). فرومون‌های ترپنوئید و هورمون‌ها : بیوسنتز و تکامل آنها . موفقیت‌های شیمی . جلد ۱۱ ، دوره اول ، ص. ۱۸۱ .

- لبیدیوا،ن.ی. ؛ واسیلینه،م.پ. ؛ اینوزمسف،آ.ن. ؛ گالوفکینا،ت.و. ؛ میخالوا،ای.ای. (۱۹۸۹). پپتیدها بعنوان اصلاح کننده برخی عملکردهای فیزیولوژیک که هنگام استرس دچار اختلال شده‌اند . اسناد گزارشات هفتمین کنفرانس سراسری فیزیولوژی تکامل . عشق آباد : انتشارات «علم» ، ص. ۱۷۸-۱۷۷ .

- شوارتس، س.س. (۱۹۷۲). تنظیم متابولیک رشد و نمو در جانوران در سطح جمعیت و جانور . انتشارات آکادمی علوم اتحاد شوروی . سری بیولوژی . شماره ۶ ، ص. ۸۳۵-۸۲۲ .

- Nadkarni R.A. Applications of microwave oven sample sissolution in analysis. Anal. Chem.1984. - Vol.56.- P.2233-2237.

علل تغییرات خواص طیفی کاروتنوئیدها در رشد و نمو جنینی ماهیان استخوانی

(آ.ئی.میکولین)

بررسی تغییرات کمّی کاروتنوئیدها در روند رشد جنینی لامپ‌ماهی [۱]، کپور معمولی [۲]، ماهی ناواگا[۳]، ماهی سه‌خاره [۴] و ماهی آزاد [۵] نشان داد که تفاوت در مقدار کاروتنوئیدهای رنگی تخم در مراحل مختلف رشد (تصویر ۱)، که از روی شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها در عصاره استونی شده تخم‌ها تعیین می‌شود، با تغییرات ساختمان و کاروتنوئیدها مرتبط است (میکولین و دیگران، ۱۹۷۸).

هدف تحقیقات حاضر به شرح زیر می‌باشد: بررسی علل تغییرات خواص طیفی کاروتنوئیدها و تعیین نقش اصلی این تغییرات در رشد و نمو جنینی ماهیان.

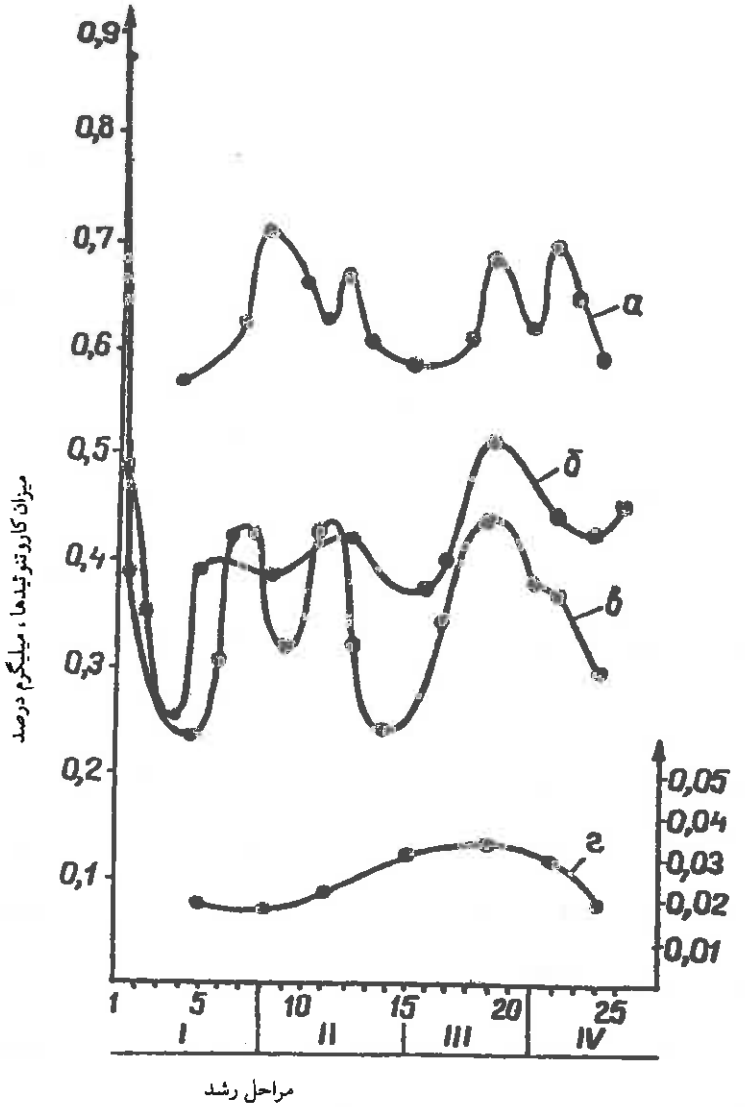
مواد و روش کار

تهیه تخم در مراحل مختلف رشد، از ماهیان *Cyclopterus lumpus L.*، ماهی آزاد (*Salmo Salar*)، *Gasterosteus aculeatus L.*، *Eleginus navaga P.* و *Cyprinus carpio L.*.

مولدین مورد نیاز از خلیج «کاندالاکشسکی» در دریای سفید واقع در منطقه ایستگاه بیولوژیک «بلومورسکی» دانشگاه دولتی مسکو، از رود «کول» در شبه‌جزیره «کولا»، از مرکز پرورش ماهی کولا و در آسیای مرکزی از آبهای صیادی «آکورگانسکی» تهیه گردیدند.

تخم‌ها به روش «روسی خشک» بارور شدند. پرورش ماهیان دریایی در قایق‌هایی به ابعاد (۱۵۰×۵۰×۳۰ سانتیمتر) در شرایط دریایی، و پرورش ماهیان آب شیرین در ایستگاههای «ویس» با

1- *Cyclopterns lumpus L.* 2- *Cyprinus carpio L.* 3- *Eleginus navaga P.* 4- *Gasterosteus aculeatus L.*
5- *Salmo Salar*



تصویر ۱ : دینامیک کاروتنوئیدهای رنگی (تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها) در روند رشد جنینی ماهی (میکولین، کوتیک، دوبروویین،۱۹۷۸).
a) ماهی آزاد ؛ b) ماهی کپور ؛ c) لامپ‌ماهی ؛ d) ناواگا
I- مرحله تقسیم ؛ II- مرحله اپیبولی (Epiboly)[1] ؛ III- مرحله اندام‌زایی (Organogense) ؛ IV- مرحله تشکیل عروق (Vascularization).

۱ـ Epiboly : پروسه‌ای است که در طی گاسترولاسیون جنین مهره‌داران رخ داده و در آن بلاستومرهای کوچکتر که در قطب حیوانی تخمک بارور قرار دارند ، رشد نموده و یاخته‌های قطب گیاهی را دربرمی‌گیرند.

جریان آب شیرین صورت پذیرفت.

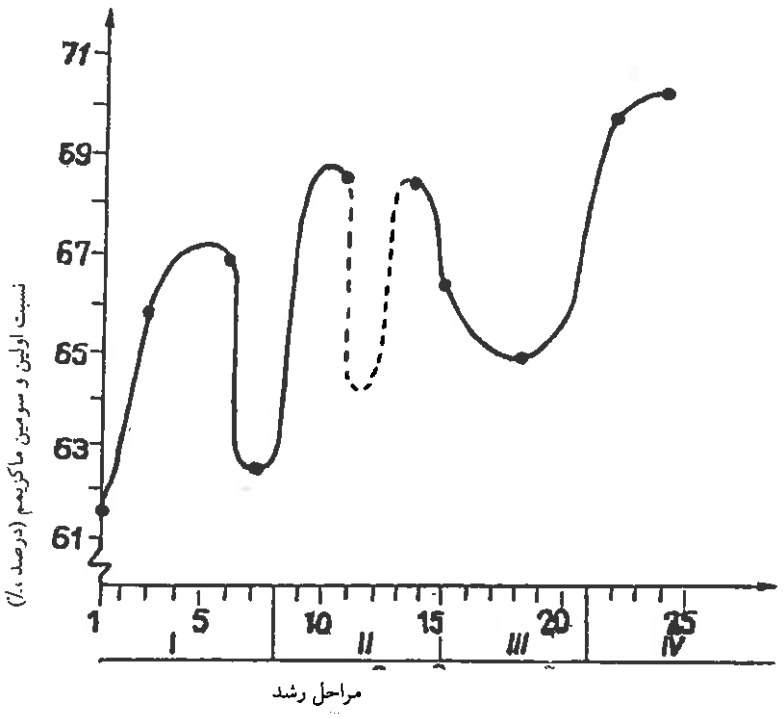
بررسی رنگ تخم‌ها از نظر طیفی مستقیماً بر روی مواد زنده انجام گرفت. تخم‌ها در اسپکتروفتومتر SP-10 قرار داده شدند. کاروتنوئیدها به کمک استون و بدنبال عبور سریع رنگدانه‌ها از اترپترولیوم سبک استخراج گردیدند. مقدار کاروتنوئیدها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (Davies,1965) و از روی اندازه ماکزیمم ثانویه طیف جذب نور بوسیله کاروتنوئیدها در استون ، منهای میزان جذب اجزای لیپیدی در اسپکتروفتومتر SP-10 ، بدست آمد.

با توجه به حداکثر سیس در منطقه ۳۸۰-۳۲۰ نانومتر ، می‌توان تغییرات کمّی سیس - ترانس (Cis-trans isomerization) در کاروتنوئیدها را تجزیه و تحلیل نمود (Zechmeister,1944; Jaffe,Orckin,1962).

وجود ویتامین‌های گروه A ، از طریق طیف جذب نور توسط آنها (در منطقه ۳۸۱-۳۲۵ نانومتر) اثبات می‌شود (ناتانسون ،۱۹۶۱ ؛ دیمتروفسکی و دیگران ،۱۹۷۵ ؛ سالوویوا،۱۹۷۵).

چگونگی رابطه ماکزیمم‌ها در طیف جذب نور ، توسط کاروتنوئیدها با مقایسه نسبت جذب نور توسط سایر اجزای ترکیبات لیپیدی تعیین گردید. رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از طریق تفکیک اجزاء (Davies,1955) و کروماتوگرافی لایه‌های نازک (Czeczuga,1971) بر روی صفحات سیلوفول (Silufol R) به ابعاد ۱۵×۱۹ سانتیمتر (محصول کارخانجات Kavalier جمهوری چکسلواکی) در سیستم محلول بنزول - کلروفرم - الکل ایزوپروپیل (6:5:1) بدست آمد. جداسازی کاروتنوئیدهای فرعی اجزای اصلی لیپیدها از طریق توزیع آنها بر روی صفحات سیلوفول به کمک بنزول ، و بدنبال آن جداسازی رنگدانه‌ها از فسفولیپیدها ، از طریق توزیع آنها همراه با استون انجام پذیرفت. تعیین نسبت رنگدانه‌ها در میکرودانسیتومتر IFO-451 با توزیع آنها (بشکل میکروفوتو) بر روی صفحات کروماتوگرافی صورت گرفت.

وجود فلزات دو ظرفیتی در کاروتنوئیدها از طریق ترکیب رنگدانه‌ها با طلا در کوره موفل در



تصویر ۲ : تغییر نسبت درصد اولین و سومین ماکزیمم در طیف جذب نور توسط کاروتنوئیدهای تخم در روند رشد جنینی لامپ‌ماهی (میکولین و همکاران ،۱۹۷۸) ؛
I- مرحله تقسیم ؛ II- مرحله اپی‌بولی ؛ III- مرحله اندام‌زایی ؛ IV-مرحله تشکیل عروق (Vascularization) .

حرارت ۴۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷ ساعت و شستشوی بقایای آن در محلول ۰/۵ نرمال اسید کلریدریک (HCl) و تعیین ساختار میکروالمنت‌های موجود در آن به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (مدل ۴۰۳ ، ساخت شرکت «مرکین المر») ثابت می‌شود.

نتایج و بحث

مطالعه نسبت درصد ماکزیمم‌ها در طیف‌های جذبی عصاره‌های استونی شده کاروتنوئیدهای

موجود در تخم در مراحل مختلف رشد و نمو جنینی لامپ‌ماهی *(Cyclopterus lumpus L.)* نشان داد که (تصویر ۲) ، مقدار درصد جذب نور در دومین ماکزیمم کاروتنوئیدها ثابت بوده ، در حالیکه نسبت اولین و سومین ماکزیمم جذب نور توسط کاروتنوئیدها در روند رشد تخم این ماهی تغییر می‌نماید.

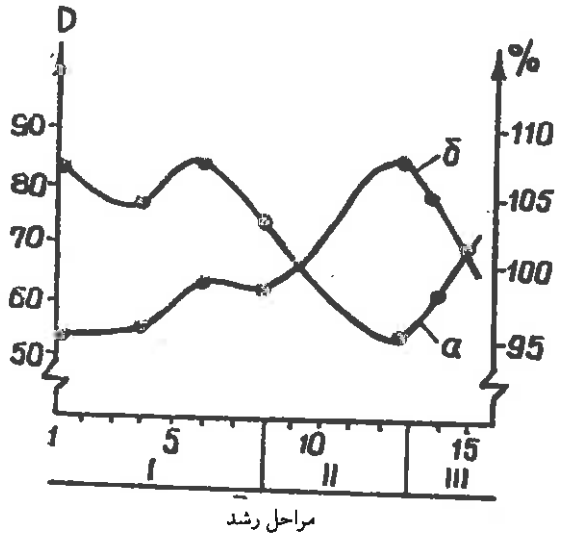
مقایسه اطلاعات مربوط به نسبت درصد اولین و سومین ماکزیمم طیف جذبی کاروتنوئیدهای تخم‌ها در مراحل مختلف رشد و میزان تغییرات مقادیر کاروتنوئیدهای رنگی موجود در تخم در پروسه جنین‌زایی (میکولین و دیگران ،۱۹۷۸) ، وجود رابطه‌ای بین شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها و نسبت درصد اولین و سومین ماکزیمم را در طیف جذبی و عصاره استونی شده تخم نشان می‌دهد.

مطالعه نسبت ماکزیمم‌ها در طیف‌های جذبی که مستقیماً از تخم در حال رشد ماهی سه خاره *(Castrosteus acrleltus L.)* بدست آمده است ، نیز وجود رابطه بین شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها و نسبت اولین و سومین ماکزیمم کاروتنوئیدها را در طیف جذبی تخم زنده نشان می‌دهد که این نیز بنوبه خود وجود روند تغییرات ساختار رنگدانه‌ها در درون تخم را اثبات می‌کند.

محققین تغییرات پیش‌بینی شده در ساختار کاروتنوئیدهای تخم را به شرح زیر مورد بررسی قرار دادند :

- تغییر حالت کاروتنوئیدها از وضعیت ترانس به سیس و بالعکس ؛
- تجزیه کاروتنوئیدها به ویتامین‌های A و بدنبال آن سنتز رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از ویتامین A؛
- تغییرات گروه‌بندی در حلقه‌های یونی کاروتنوئیدها ؛
- اثر متقابل کاروتنوئیدها و مواد مختلف .

مقایسه جذب نور توسط رنگدانه‌های بدست آمده از تخم‌های لامپ‌ماهی ، که در مراحل مختلف رشد قرار داشتند ، در بخش‌های مرئی و ماورای بنفش طیف ، نشان داد که تغییرات در



تصویر ۳ : تغییر در شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدهای تخم در ماهی سه‌خاره در روند رشد جنینی (I- مرحله تقسیم ؛ II- مرحله اپی‌بولی ؛ III- مرحله اندام‌زایی (ارگانوژنز) (میکولین و همکاران ،۱۹۷۸) :
a) دینامیک تغییرات شدت جذب نور (D) توسط کاروتنوئیدهای تخم‌ها ؛
b) نسبت درصد جذب نور توسط کاروتنوئیدهای تخم‌ها

شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها در بخش‌های مرئی طیف با تغییر حالت کاروتنوئید از سیس به ترانس و یا با تبدیل دو طرفه کاروتنوئیدها به ویتامین A ارتباط ندارد ، زیرا هیچگونه تغییر مشخصی در بخش ماورای بنفش طیف جذبی مشاهده نگردید. توجیه تفاوت‌های عمده‌ای که در میزان شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدهای تخم در مراحل مختلف رشد مشاهده می‌شود (تا ۵۱٪) با تغییرات کم اهمیت در منطقه ماکزیمم سیس کاروتنوئیدها امکان‌پذیر نیست زیرا حتی در صورت تغییر کامل رنگدانه‌ای مانند بتاکاروتین از حالت ترانس به حالت سیس ، ضریب تجزیه مولی از ۴۸٪ تجاوز نمی‌کند (Jaffe,Orckin,1962).

تقسیم فازی (اترپترولیوم ـ متانول ۹۵٪) نشان داد که تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدهای تخم در لامپ‌ماهی در روند رشد و نمو جنینی ، عمدتاً ناشی از وجود گزانتوفیل‌ها

می‌باشد.

با توجه به تفاوت‌های ضرایب تجزیه هیدروکسی ـ وکتوکاروتنوئیدها (Foppen,1971) تصور می‌شود که علت تغییر ویژگی‌های طیفی کاروتنوئید تخم در روند رشد و نمو جنینی ممکن است در نتیجه افزایش متقابل گزانتوفیل‌ها در مراحل معین رشد باشد.

نسبت رنگدانه‌ها از مراحل اولیه رشد تا مرحله «اواسط بلاستودرمی اپی‌بولی» (Epiboly) که به روش فتومتریک اندازه‌گیری می‌شود ، ثابت است. از اواسط مرحله اپی‌بولی افزایش نسبی اجزای آستاگزانتین مشاهده شده که تا خروج لاروهای اولیه از غشاء ادامه می‌یابد. با تشکیل سیستم خونی کیسه زرده ، اجزاء جدید رنگدانه‌ها ظاهر می‌شوند که با استریفیکاسیون کتوکاروتنوئیدها ارتباط دارد. آخرین رنگدانه‌ها معمولاً با پیدایش رنگدانه‌هایی نظیر اریتروفورها و گزانتوفورها در سلولهای بدن نوزاد ظاهر می‌گردند.

براساس یافته‌ها نتیجه‌گیری می‌شود که عدم ثبات ترکیب کیفی رنگدانه‌ها به دلیل تغییرات ویژگی‌های طیفی کاروتنوئیدهای تخم‌ها در روند رشد و نمو جنینی نیست . بررسی علل نوسانات ترکیب کیفی کاروتنوئیدهای موجود در تخم در روند تحول جنینی نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد. در وهله نخست ، علل تغییرات ویژگی طیفی کاروتنوئیدهایی که در ساختار تخم‌ها وجود دارند ، جالب توجه است. مطالعات نشان داد که بخش عمده کاروتنوئیدهای موجود در تخم دستخوش این تغییرات می‌شوند. وجود اشتراک در رنگدانه‌های مختلف که به عدم ثبات ویژگی‌های طیفی آنها منجر می‌شود باعث شکل‌گیری این تفکر گردید که باید در ساختار مولکولی نیز بعنوان یکی از عوامل بی‌ثباتی خصوصیت طیفی رنگدانه‌ها ، تشابهات زیادی وجود داشته باشد.

ساختاری ک مسئولیت جذب نور را در مولکول‌های کاروتنوئید بعهده دارد دارای سیستم اتصال دوگانه است (گاریسون و همکاران ، ۱۹۵۰ ؛ گودن ، ۱۹۵۲ ؛ تیرتین ، ۱۹۶۷ ؛ برانه ، اکلینتون، ۱۹۶۷). بررسی‌های طیفی انجام شده توسط محققین نشان داد که کلیه کاروتنوئیدهای موجود در تخم ، نور را

در محدوده ۴۵۵-۴۴۵ نانومتر (در استون) جذب نموده ، بنابراین دارای سیستمی مرکب از حداقل ۹ اتصال دوگانه می‌باشند.

از مسائل مربوط به علل تغییرات ویژگی طیفی کاروتنوئیدهای موجود در تخم در روند رشد و نمو جنینی ، تنها یک مورد مبهم باقیمانده ، و آن تأثیر متقابل کاروتنوئیدها با مواد مختلف است. در بررسی این مسئله بر دو نکته تأکید می‌شود ، نخست آنکه مواد شرکت کننده در ترکیب با کاروتنوئیدها بایستی بر وضعیت الکترونی اتصالات توأم دوگانه اثر بگذارند و در عین حال موجب تغییر خواص طیفی کاروتنوئیدها گردند. ثانیاً ، ترکیبات بدست آمده از مواد مورد بررسی و کاروتنوئیدها باید دارای همان خاصیت جذب در سیلیکاژل باشند که در رنگدانه‌های آزاد (غیرترکیبی) دیده می‌شود ، زیرا ضمن بررسی ترکیب کیفی کاروتنوئیدهای تخم در مراحل مختلف رشد تشکیل مناطق جدید جذب مشاهده نشد و ما تنها شاهد نوسانات شدت نور در اجزای مختلف رنگدانه‌ها بودیم .

با توجه به اینکه تأثیر متقابل لیپیدها با کاروتنوئیدها ، از یکسو موجب تغییراتی در ویژگی جذب کاروتنوئیدی شده و از سوی دیگر تغییرات شدیدی در خواص طیفی ترکیبات بدست آمده نسبت به مواد اولیه بوجود می‌آورد (Foppen,1971) ، به این نتیجه می‌رسیم که استریفیکاسیون برخی از کاروتنوئیدها که در روند رشد تخم‌ها مورد بررسی قرار گرفتند ، نمی‌تواند علت عدم ثبات خواص طیفی کاروتنوئیدها در روند رشد جنینی ماهی باشد.

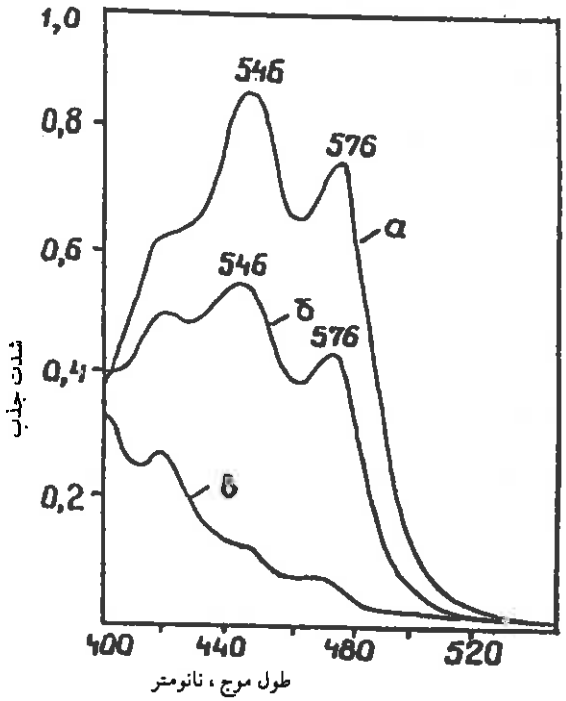
به نظر «و.ن.کارنااوخوف» (۱۹۶۹، ۱۹۷۰، 1971a,b و ۱۹۷۳) کاروتنوئیدها ضمن ذخیره نمودن اکسیژن در سلول قادرند با توجه به سیستم اتصالات دوگانه در پیوند مولکولی اکسیژن موجب پیوند آن با بازمانده‌های قبلی آن گردند. اتصال اکسیژن براساس پیوند دوگانه چه به شکل پراکسید ، چه در صورت اتصال آن از طریق پیوند دوگانه مرکزی ، که بدنبال شکستن مولکول‌های کاروتنوئید به دو مولکول ویتامین A بوقوع می‌پیوندد ، باید موجب کاهش شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها

در بخش مرئی طیف و همزمان با آن پیدایش بالاترین جذب ترکیبات بدست آمده در بخش ماورای بنفش طیف گردد. اما بررسی میزان جذب عصاره کاروتنوئیدهای تخم در بخش ماورای بنفش طیف نشان داد که حتی در صورت بروز تغییرات چشمگیر در شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها در بخش مرئی طیف ، در بخش ماورای بنفش طیف هیچگونه تغییر معادلی مشاهده نمی‌شود.

با توجه به اینکه میزان تجزیه مولی درکاروتنوئیدهای موجود در تخم‌ها بستگی به جریان آب و مقدار آمونیاک موجود در آن دارد و نیز با استفاده از اطلاعات موجود در مورد احتمال وجود کاروتنوئیدهای ازت‌دار (از نظر یارژومبک ، گراچف ،۱۹۶۴ ؛ آ.آ.یارژومبک ، ۱۹۶۶a,b، ۱۹۷۰) می‌توان به این نتیجه رسید که وظیفه اصلی رنگدانه‌های کاروتنوئیدی ، خنثی کردن اثر فرآورده‌های متابولیسم نیتروژن تخم‌ها از طریق ایجاد پیوند بین آنها و کاروتنوئیدها می‌باشد. لیکن تحقیقات بعمل آمده از طریق کروماتوگرافی کاروتنوئیدهای بدست آمده از تخم‌هایی که در مراحل مختلف رشد جنینی و نیز درگروههای مختلف از نظر میزان ازت قرار داشتند ، وجود هیچگونه کاروتنوئید ازت‌داری را در عصاره استونی شده تخم لامپ‌ماهی‌ها نشان نداد.

به نظر «و.و.پطرونیاکا» (۱۹۷۶ a,b) ، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و ویتامین‌های A قادرند در حمل فلزات دو ظرفیتی در سلول‌ها و بافت‌های اندام‌های مختلف بدن موجودات زنده شرکت نمایند.

بررسی‌های مشترک انجام شده توسط محققین این طرح و «پطرونیاکا» (آزمایشگاه انستیتوی بیوفیزیک آکادمی علوم اتحاد جماهیر شوروی) ، روی گزانتوفیل‌های زرده تخم پرندگان نشان داد ؛ در حالیکه Ca^{++} ، Mg^{++} و Mn^{++} به شکل نمک‌های $CaCl_2$ ، $MgCl_2$ و $MnCl_2$ تأثیری بر کاروتنوئیدها ندارند ، در صورت استفاده از محلول‌های آب ـ استون و یا آب ـ الکل کاروتنوئیدها به همراه نمک‌های مذکور ، موجب تشکیل اتصال این عناصر با کاروتنوئیدهایی که کاهش‌دهنده محلول‌های کاروتنوئیدی هستند ، می‌شود. این یافته نظریه «پطرونیاکا» را در مورد اینکه یون‌های



تصویر ۴ : تغییرات ویژگی‌های طیفی کاروتنوئیدها ضمن تأثیر متقابل با نمک‌های فلزات دو ظرفیتی (پطرونیاکا، ۱۹۷۹b).
a) رنگدانه اولیه ؛
b,c) کمپلکس رنگدانه و Ca^{++}

فلزات دو ظرفیتی قادرند در اتصال با کاروتنوئیدها بطور عمده به شکل نمک‌های گازکربنیک شرکت نمایند ، تأیید می‌کند.

بررسی ویژگی‌های طیفی حاصل از محلول‌ها نشان داد که با افزایش تراکم فلزات دو ظرفیتی در محلول و به موازات افت تجزیه مولی کاروتنوئیدها که تعیین کننده اصلی حداکثر جذب هستند ، تغییراتی در نسبت ماکزیمم جذب کاروتنوئیدها مشاهده می‌شود ، ضمناً با افزایش تراکم فلزات دو ظرفیتی در محلول،جذب در طول موجهای دومین و سومین ماکزیمم کاروتنوئیدها سریع‌تر افت

می‌کنند (تصویر ۴). بررسی تأثیر تراکم فلزات دو ظرفیتی روی تغییرات ویژگی‌های طیفی کاروتنوئیدها ، و همچنین دیفرانسیل‌گیری طیف‌ها بین تولیدات اولیه و نهایی واکنش‌ها نشان داد که اتصال کاروتنوئیدها با فلزات دو ظرفیتی مانند Ca^{++} ، Mg^{++} و Mn^{++} دارای یک ماکزیمم جذبی در بخش مرئی نور است ، که از روی محل استقرار نظیر اولین ماکزیمم گزانتوفیل مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

در زیر اتصال‌های نمک‌های اسید کربنیک که مستقیماً به زنجیره‌های پلی‌ینی‌کاروتنوئیدها متصل می‌باشند تغییرات زیادی در فرم طیف جذبی کاروتنوئیدهای آزاد و مجموعه‌های آن مشاهده می‌شود که تحت تأثیر بار نمک‌های اسید کربنیک تغییرات شدیدی در شکل ابر الکترونی پیوندهای کاروتنوئیدها ایجاد می‌کند. طیف جذبی برخی پیوندهای کاروتنوئیدها با نمک‌های فلزات دو ظرفیتی مختلف شباهت زیادی به هم دارند که می‌توان آنها را در زیر اتصال به سیستم دو پیوندی پیوستگی کاروتنوئیدها از طریق آنیون اسید کربنیک نشان داد.

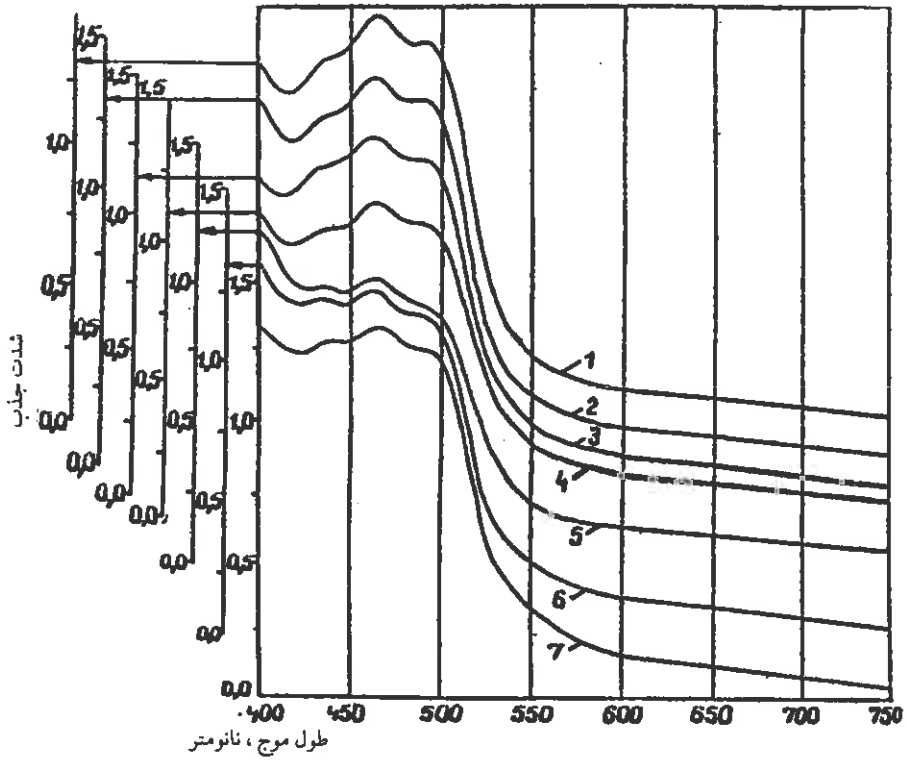
زیرا اتصال نمک‌های اسید کربنیک از طریق کاتیون‌ها ممکن است منجر به تغییرات اساسی در ویژگی طیفی برخی پیوندهای کاروتنوئیدها با نمک‌های فلزات مختلف دو ظرفیتی بدلیل اثرات مختلف هسته آنها در سیستم پیوند کاروتنوئیدها در اتصال‌ها شود. ظاهراً اتصال نمک‌های فلزات ، در نتیجه اشتراک اربیتال‌های اتم‌های اکسیژن و آنیون کربن اسید کربنیک و اربیتال اتم‌های کربن سیستم دو پیوندی پیوستگی کاروتنوئیدها ،بوجود می‌آید (دیوار ،۱۹۷۲).

کلیه گرانتوفیل‌های زرده تخم‌مرغ که مورد مطالعه قرار گرفتند اتصالاتی با نمک‌های کلسیم ، منیزیم و منگنز تشکیل می‌دادند که در این میان آسان‌تر از همه کلسیم و سخت‌تر از همه منگنز در این اتصالات شرکت می‌کنند. اتصال کاروتنوئیدهای آزاد مشابه ، آسان‌تر از اتصال با استون و الکل در اترهای دی‌اتیلیک وپترولیومی صورت می‌گرفت. در تفکیک کروماتوگرافی کاروتنوئیدها در سیلیکاژل ، ترکیبات کاروتنوئیدی دارای همان مقدار RF می‌باشند که کاروتنوئیدهای اولیه حاصل

از آنها دارا بوده ، بعبارت دیگر ، اتصال کاروتنوئیدها با نمک‌های فلزات دو ظرفیتی ویژگی جذب سطحی کاروتنوئیدهای اولیه را ضمن پرش در سیلیکاژل حفظ نموده ، اما از شدت طیف حدید بر روی صفحه می‌کاهد.

تحقیقات انجام شده نشان داد ، که کلیه کاروتنوئیدهای موجود در تخم لامپ‌ماهی می‌توانند با نمک‌های فلزات دو ظرفیتی اتصال تشکیل دهند ، که ظاهراً علت آن وجود بیش از ۹ پیوند دوگانه در سیستم پیوند آنها می‌باشد. تشخیص مستقیم کلسیم ، منیزیم و منگنز در اجزاء کاروتنوئیدهای موجود در تخم در مراحل اتصال زرده‌ای به روش آنالیز اتمی و جذب سطحی این عناصر ، و همچنین در صورت فقدان آنها وجود سیلیس را در اجزاء لیپیدی نشان داد.

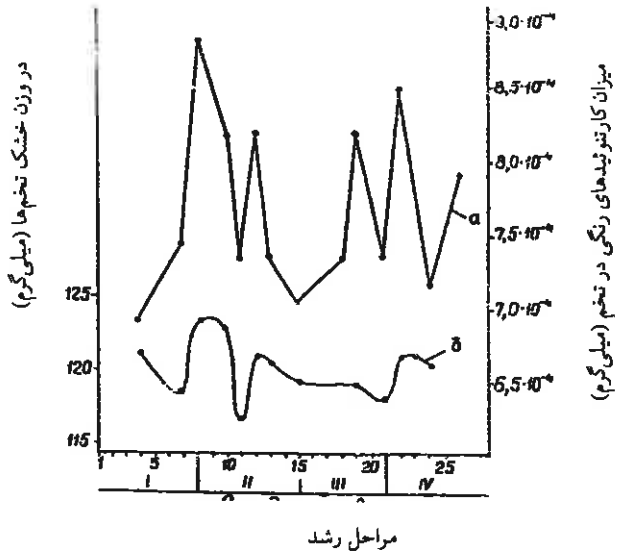
با توجه به اطلاعات ارائه شده در فوق ، و نیز ارتباط متقابل بین تغییرات ویژگی‌های طیفی کاروتنوئیدها (تصویر ۱) در روند رشد و نمو جنینی ماهیان (میکولین و دیگران ،۱۹۷۸) و نوسان تناسب اولین و سومین ماکزیمم در طیف جذبی کاروتنوئیدها (تصاویر ۲ و ۳) چه درکشش استونی کاروتنوئیدهای موجود در تخم لامپ‌ماهی و چه در طیف‌های کاروتنوئیدهایی که مستقیماً از تخم‌های در حال رشد ماهی سه خاره (تصویر ۵) گرفته شده بودند ، به این نتیجه رسیدیم که دینامیک نوسانات ویژگی طیف کاروتنوئیدها در تخم ، ظاهراً ، بعلت روابط مختلف کاروتنوئیدهای آزاد و اتصالات کاروتنوئیدها با نمک‌های فلزات دو ظرفیتی در مراحل مختلف رشد و نمو جنینی ماهی می‌باشد . این امر تقریباً با ساختارکیفی دائمی کاروتنوئیدها در روند رشد و نمو جنینی ماهیان ضمن تغییرات قانونمند شدت نور حاصل از اجزاء کاروتنوئیدها درکروماتوگرام تأیید می‌گردد. در نتیجه بررسی دینامیک کاروتنوئیدهای رنگی در روند رشد و نمو جنینی لامپ‌ماهی ،کپور معمولی و ماهی سه‌خاره (میکولین و دیگران ،۱۹۷۸) ثابت شد که تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها با تناوب مشخصی در مرحله جنین‌زایی ماهیان اتفاق می‌افتد و تا حد قابل ملاحظه‌ای به چگونگی مرحله‌بندی رشد این ماهیان بستگی دارد.



تصویر ۵ : طیف جذب نور توسط تخم‌های ماهی سه‌خاره در مراحل مختلف رشد : ۱ـ تودهٔ پلاسمایی ، ۲ـ در مرحله هشت بلاستومری ، ۳ـ در مرحله شصت و چهار بلاستومری ، ۴ـ در مرحله صد و بیست و هشت بلاستومری ، ۵ـ یک سوم اپی‌بیوس، ۶ـ اواسط اپی‌بولی ، ۷ـ تشکیل حفره‌های چشمی .

با توجه به ارتباط متقابل کاروتنوئیدها و ویتامین A با تبادل کلسیم در موجود زنده (پطرونیاکا، ۱۹۷۹a,b) بررسی رابطه تناوب تغییرات ویژگی‌های طیفی کاروتنوئیدها (تغییرات تناسب کاروتنوئیدهای آزاد و پیوندی با کربنات‌ها) در روند تحول جنینی با مرحله‌بندی رشد ماهیان و روشن شدن علل نامشخص و مشروط این فرآیندها بسیار جالب توجه است .

تصور می‌شود که یکی از فعالیت‌های احتمالی کاروتنوئیدهای موجود در تخم ماهی شرکت آنها در تبادل آب و نمک باشد. ارتباط بین دینامیک تغییرات تجزیه کاروتنوئیدها و دینامیک نوسانات



تصویر ۶: چگونگی رابطه تغییرات مقدار کاروتنوئیدهای رنگی (تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها) در تخم.
a) در وزن خشک تخم‌ها ، b) در روند رشد جنینی ماهی آزاد (میکولین ، کوتیک ، روبروویین، ۱۹۷۸).
I- مرحله تقسیم ؛ II- مرحله اپی‌بولی ؛ III- مرحله اندام‌زایی ؛ IV- مرحله تشکیل عروق.

میزان آب تخم‌ها در روند تحول جنینی در آزمایش‌های انجام شده بر روی تخم لامپ‌ماهی (میکولین و دیگران ،۱۹۷۸) و ماهی آزاد (تصویر ۶) و نیز نقش عمده کلسیم و دیگر فلزات دو ظرفیتی در تنظیم تبادل یونی در سلول (تاش‌محمداف ،۱۹۷۱ ، گوردون،۱۹۷۶) مؤید این فعالیت است. در برخی از تحقیقات نیز به اهمیت زیاد تبادل نمک در فرآیند اندام‌زایی موجودات زنده در حال رشد اشاره شده (Morril et al.,1971; Hori,1973,1975) ، و مشخص گردید که روند تحول جنینی

تغییراتی در مقدار برخی از یونهای آزاد از جمله Mg^{++}, K^{+}, Na^{+} (به میزان ۲۵-۱۵ درصد) و خصوصاً Ca^{++} (به میزان ۸۰ درصد) رخ می‌دهد.

ضمناً مقدار کلی کلسیم در روند تحول جنینی *Oryzias latipes* (Hori,1973,1975) و نقش Ca^{++} بنوبه خود در قابلیت چسبندگی سلول‌ها بسیار زیاد بوده (ترین‌کائوس ،۱۹۷۲) بطوریکه آنکوباتورکردن تخم‌ها در محیط بدون کلسیم موجب تجزیه بلاستودرم‌ها به بلاستومرها می‌شود (Herbst,1900). افزودن Ca^{++} در محیط موجب چسبندگی شده ، سایر یون‌های دو ظرفیتی از جمله منیزیم و استرنسیوم نیز هر چند به مقدارکم ولی دارای اثر مشابه هستند. ظاهراً نقش Ca^{++} در چسبندگی سلول‌ها ممکن است از طریق «پیوند» موکوپلی‌ساکاریدهای اسیدی ، موجود در سطح سلول‌ها (R-Co-Ca-Co-R) و با کاهش بار منفی سطح سلول‌ها انجام گیرد که در نتیجه منجر به تمایل سلول‌ها به دور شدن از یکدیگر می‌شود (Curtis,1962). به نظر محققین ممکن است افزایش تراکم کلسیم در فضای بین سلولی ، و تغییرات تراکم کلسیم روی سطح بلاستومرها بدلیل تقسیم مجدد آب بین زرده تخم‌مرغ ، بلاستومرها ، و فضای بین سلولی روی دهد. در این رابطه باید نقش Mg^{++} و Ca^{++} در تنظیم پمپ سدیم ـ پتاسیم (تاش‌محمد اف ،۱۹۷۱) ،که تغییرات تبادل آب و نمک در سلول را به انجام می‌رساند ، اشاره نمود.

با مقایسه دینامیک تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدهایی که در مراحل مختلف رشد جنینی ماهی روی می‌دهد (ترنیکااوس ،۱۹۷۲ ؛ مخاتین ،۱۹۷۸) مشاهده می‌کنیم که در مراحل مختلف تقسیم ، کاهش شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها از مرحله برجستگی پلاسمایی تا مراحل ۱۶-۸ بلاستومری صورت می‌گیرد. از ویژگی‌های این مراحل تقسیم همزمان بلاستودیسک و افزایش سطح بلاستومرها می‌باشد. بلاستومر پس از تقسیم متناوب تا مراحل ۱۶ سلولی در یک سطح قرار می‌گیرند . ضمناً چسبندگی در زمان انترفازها افزایش یافته ، در حالیکه در آغاز میتوز کاهش نشان داده و بلاستومرها ضمن تشکیل دوایری پراکنده می‌شدند. رشد سطح عمومی

بلاستومرها در این مراحل با کاهش کلی چسبندگی سلول همراه است.

از مرحله شانزده بلاستومری تا مرحله مورولا (دارای سلولهای ریز) افزایش شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها مشاهده می‌شود. در این مراحل سلول‌ها بطور همزمان در سطوح نصف‌النهاری و استوایی تقسیم می‌گردند . همچنین بلاستودرم از سه نوع سلول به نام‌های بلاستومرهای سطحی ، بلاستومرهای عمقی و پری‌بلاست (غشاء سلولی که بلاستومرهای «عمقی» را از زرده جدا می‌کند) تشکیل شده است. بلاستومرها بصورت فشرده بهم متصل شده ، بنابراین با افزایش تعداد بلاستومرها ، چسبندگی کلی در این مراحل افزایش می‌یابد.

در مرحله بلاستولاهای پارنکیمی (Parenchyma) میزان جذب نور توسط کاروتنوئیدها بشدت کاهش یافته ، در این مرحله چسبندگی بلاستومرهای «عمقی» نیز بشدت کاهش می‌یابد. بلاستومرهای «عمقی» دور هم جمع شده و در آنها پاهای کاذب (Lobopodia) تشکیل می‌شود ، اما بعلت وجود بلاستومرهای انتهایی به یکدیگر متصل نمی‌شوند (Trinkaus,Lentz,1967).

از لحظه عبور از مرحله بلاستولا تا شروع مرحله اپی‌بولی ، شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها با نزدیک شدن به سطحی که خاص مراحل مورولا (دارای سلول‌های ریز) است ، افزایش می‌یابد. در مراحل آغازی اپی‌بولی چسبندگی سطوح بلاستومرها افزایش یافته و به علت وجود پاهای کاذب ، این بلاستومرها به سطح سایر سلولهای عمقی و نیز سلول‌های لایه پوششی بلاستومرها اتصال می‌یابند.

اپی‌بولی لایه سطحی و تقارب محور سلول‌های «عمقی» با کاهش شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها و افزایش تحرک عمومی سلول‌ها همراه است.

در مرحله ارگانوژنز (اندام‌زایی) شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها افزایش یافته و بطور همزمان چسبندگی سلول‌های سازنده اندام‌های مختلف و بافت‌های نوزاد افزایش می‌یابد.

در مرحله تشکیل عروق (واسکولاریزاسیون) کاهش شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها رخ

می‌دهد ، که این مسئله را ظاهراً می‌توان با تشکیل عناصر مختلف خونی که دارای میزان چسبندگی کمی در غشاء سطحی هستند ، تفسیر نمود.

نتیجه‌گیری

براساس فعالیت‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات شدت جذب نور توسط کاروتنوئیدها در روند تحول جنینی بعلت رابطه متقابل کاروتنوئیدها با لایه‌های فلزات دو ظرفیتی و تجزیه آنها است. تصور می‌شود که این فرآیند با تغییرات چسبندگی غشاء سطحی بلاستومرها و سلول‌ها در تحول جنینی ماهی در ارتباط بوده و حرکات مورفولوژیک و ژنتیکی در رشد و نمو جنینی موجودات را تنظیم می‌کند.

فهرست منابع

- براند،د. ؛ اگلینتون،گ. (۱۹۶۷) . استفاده از اسپکتروسکوپی در شیمی آلی . مسکو - انتشارات میر.
- گارسیون،د. ؛ لاید،ر. ؛ لوبفیروف ،د. (۱۹۵۰). اسپکترومتری عملی ، مسکو .
- گورنف ،ت.ن. (۱۹۵۲). ساختمان کلروفیل و روش‌های ارزیابی کمّی آن ، مینسک : آکادمی علوم اتحاد شوروی .
- گوردون ،ل.خ. (۱۹۷۶) . تنفس و تبادل آب - نمک در بافت‌های گیاهی . مسکو ، انتشارات «نااوکا» .
- دمیتروفسکی ،آ.آ. ؛ سالووی‌یوا،ن.و. ؛ یرمیلووا،ل.ک. (۱۹۷۵). تعیین اشکال مختلف ویتامین A با استفاده از کروماتوگرافی قشر نازک . روش‌های جدید در بیوشیمی ، مسکو.
- دیوآر،م. (۱۹۷۲). تئوری اربیتال‌های مولکولی در شیمی آلی . مسکو ، انتشارات میر.
- کارنائوخوف ،و.ن. (۱۹۶۹). کاروتنوئیدها در متابولیسم اکسیداسیون سلول‌های جانوران . اسناد گزارشات دومین اجلاس سراسری بیوشیمی . دوره هشتم ، تاشکند ، ص. ۳۰ .
- کانائوخوف ،و.ن. (۱۹۷۰) . نقش کاروتنوئیدها در متابولیسم اکسیداسیون در نرون‌های نرم‌تن *Lymnaea stagnata*. بیوفیزیک سلول‌های زنده : مجموعه مقالات علمی زیر نظر گ.م.فرانک - دوره اول ، پوشینو ، ص. ۲۹-۲۵ .
- کارانائوخوف ،و.ن. (۱۹۷۱) . درباره نقش کاروتنوئیدها در ذخیره‌سازی درون سلولی اکسیژن . آکادمی علوم اتحاد شوروی . جلد ۱۹۶ ، شماره ۵ ، ص. ۱۲۲۴-۱۲۲۱ .
- کارنائوخوف ،و.ن. (۱۹۷۱). درباره عملکرد کاروتنوئیدها در سلول‌های جانوران . بیوفیزیک سلول‌های جانوری : مجموعه مقالات علمی زیرنظر گ.م.فرانک ؛ دوره دوم ، پوشینو ،ص. ۸۳-۶۸ .

- کارنائوخوف،و.ن. (۱۹۷۳). عملکرد کاروتنوئیدها در سلول‌های جانوران . مسکو : انتشارات «نااوکا» .
- ماخوتین،و.و. (۱۹۷۸). تمایز مرفوژنتیک در رشد و نمو جنینی برخی ماهیان روغنی *(Cod)* . خلاصه مقالات دومین کنفرانس سراسری «مسائل انتوژنز اولیه در ماهیان» .
- میکولین ،آ.ی. ؛ کوتیک،ل.و. ؛ دوبروین،و.ن. (۱۹۷۸). قانونمندی دینامیک تغییرات رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در پروسه رشد جنینی تخم در ماهیان استخوانی . علوم بیولوژیک . شماره ۹ ، ص. ۳۷-۳۱ .
- ناتانسون،آ.او. (۱۹۶۱) . ویتامین A و کمبود آن . مسکو : انتشارات «مدگیز» .
- پترونیاکا ،و.و. (۱۹۷۹). توزیع نسبی و نقش کاروتنوئیدها و ویتامین A در سلول‌های جانوران . مجله بیوشیمی و فیزیولوژی تکامل . جلد ۱۵ ، شماره ۱ ، ص. ۱۱۹-۱۱۲ .
- پترونیاکا،و.و. (۱۹۷۹) . بررسی جایگاه درون سلولی و نقش عملکردی کاروتنوئیدها در سلول‌های جانوران . رساله دکترای نامزد علوم بیولوژی ، مسکو .
- سالووی‌یوا،ن.و. (۱۹۷۵) . مطالعه راههای متابولیسم ویتامین A در جانوران . رساله دکترای کاندیدای علوم بیولوژی ، مسکو .
- تاشموخامدوف ، پ.آ. (۱۹۷۱) . انتقال فعال یونها از طریق غشاء بیولوژیک . رساله دکترای نامزد علوم بیولوژی ، تاشکند .
- ترفین ،آ.ای. (۱۹۶۷). فوتونیک مولکول‌های مواد رنگی و ترکیبات آلی مشابه آنها . لنینگراد ، انتشارات «نااوکا» .
- ترینکاااوس،ج. (۱۹۷۲) . از سلول تا اندام . مسکو ، انتشارات «میر» .
- اشتال،گ. (۱۹۶۵) . کروماتوگرافی در لایه‌های نازک ، مسکو : انتشارات «میر» .
- یارژومیک ،آ.آ. (۱۹۶۶) . دینامیک چربی و ایستاکسانتین در گنادهای آزاد ماهی .

مسائل ماهی‌شناسی . جلد ۶ ، دوره اول (۳۸) ، ص. ۱۷۶-۱۷۱ .

- یارژومیک ،آ.آ. (۱۹۶۶). کاروتنوئیدهای آزاد ماهیان و ارتباط آنها با بازتولید . رساله دکتری نامزد علوم بیولوژی ،مسکو .

- یارژومیک،آ.آ. (۱۹۷۰) . کاروتنوئیدهای آزاد ماهیان و ارتباط آنها با بازتولید این ماهیان . انتشارات ونیرو . جلد ۶۹ ،ص. ۲۶۷-۲۳۴ .

- یارژومیک ،آ.آ. ؛ گراچف ،آ.ی. (۱۹۶۴) . مواد لازم جهت آشنایی با اهمیت عملکرد کاروتنوئیدها در آزاد ماهیان . مسائل ماهی‌شناسی . جلد ۴ ، دوره سوم (۳۲) ، ص. ۶۱۰-۶۰۶ .

- Curtis A.S.G. Gell contact and adhesion. Biol.Rev. Cambridge Phil. Soc.-1962.-Vol.37.-P.82-129.

- Czeczuga B. Carotenoids in Fish. 1. Carotenoids in the Eggs of *Acipenser ruthenus ruthenus* L. (Acipenseridae) from the Danube . Hidrobiologia.-1971.-Vol.39.-N 1.-P.9-16 .

- Davies B.H. Analysis of carotinoid pigments. Chemsitry and biochemistry of plant pigments .T.W.Goodwin (ed). N.Y.-London Acad. Press.- 1965.-P.489-533.

- Foppen F.H. Tables for the identification of carotenoid pigments. Chromatogr.Rev.-1971.-vol.14,N 3.-P.133-298 .

- Herbst C. Uber das auseinaddergehen von furchungs und Geweberellen in kalkfreiem Medium, Arch. Entwicklungmech.Organ.-1900.-Vol9.-P.424-463.

- Hori R. On the relationship between water soluble protein and calcium in the egg of *Oryzias latipes*. Protoplasma.-1973.-Vol.78,N 3.-P.285-290 .

- Hori R. On the magnesium contein of the egg of medaca, *Oryzias latipes* and its changes accompanying fertilization. Protoplasma.- 1975.- Vol.84, N1-2.- P.71-73

- Jaffe H.H.,Orckin M. Theory and Application of Ultraviolet spectroscopy. Willey, New-Yord.-1962.-P.233.

- Morril G.A.,Kostellow A.B.,Murphy J.B. Sequential forms of ATP-ase activity correleted with changes in cation binding and membrane potential from meiosis to first cleavage in R. pipens. Exp.Cell. Research.-1971.-Vol.66.-P.289-298 .

- Trinkaus J.P.,Lentz T.L. Surface specialization of Fundulus cells and their relation to cell movements during gastrulation. J.Cell. Biol.-1967.-Vol.32.- P.139-154.

- Zechmeister L. Cis-trans isomerization and stereochemistry of carotenoids and diphenilpolyenes. Chem. Rev.-1944.-Vol.34.- P.267-344.

- Zechmeister L. Cis-trans isomeric carotenoids, vitamins A and arylpolyenes. Springer - Verlag, Vienna.-1962.