جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره دوم، خرداد ـ تیر ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

مطالعه تغییرات استروئید ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون در طول القاء تخمریزی مولدین ماده کفال خاکستری *(Mugil cephalus)*

افشین قلیچی[1*]، عبدالمجید حاجی مرادلو[2] و سارا جرجانی[3]

[1و3]استادیار و مربی گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، [2]دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸٤/۱۲/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۸/۱۳

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی مقادیر هورمون استروئیدی ۱۷ آلفا – هیدروکسی پروژسترون (17-OHP) و روند رسیدگی تخمک‌ها پس از القاء هورمونی مولدین ماده ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) می‌باشد. در این مطالعه جهت القاء تخمریزی دوازده مولد کفال خاکستری، ترکیباتی از هورمون‌های هیپوفیز کپور، HCG و LRH-a2 در دو مرحله تزریق گردید. به سه مولد دیگر که به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند، فقط سرم فیزیولوژی تزریق گردید. از تمامی نمونه‌ها در طول ٤۸ ساعت نمونه‌هایی از خون و تخمدان برداشته شد. شصت و هفت درصد از مولدینی که به آنها هورمون تزریق شد، تخمریزی کردند. تخمک‌های این مولدین در ابتدای آزمایش در انتهای مرحله ٤ رسیدگی (مرحله دانه‌های زرده) بود. مقادیر 17-OHP در سرم خون این ماهیان تا ۳۰ ساعت پس از تزریق اول افزایش و بعد از آن کاهش یافت. این تغییرات همزمان با آبگیری تخمک، تجزیه وزیکول زاینده و اوولاسیون بود. مقادیر 17-OHP در سرم خون مولدینی که تخمریزی نکردند، تا انتهای آزمایش افزایش یافت. تخمک‌های این مولدین در ابتدای آزمایش در اواسط مرحله ٤ بود که در انتهای آزمایش تا ابتدای مرحله ۵ (مرحله بلوغ) تکامل یافتند. تغییر معنی‌داری در مقادیر 17-OHP و روند تکامل تخمک‌های مولدین شاهد در مقایسه با مولدینی که به آنها هورمون تزریق شده بود، مشاهده نگردید. بنابراین با توجه به نتایج، 17-OHP یکی از مهمترین استروئیدهای القاءکننده بلوغ نهایی در کفال خاکستری می باشد.

واژه‌های کلیدی: ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، القاء تخمریزی، رسیدگی تخمک، کفال خاکستری، گمیشان

مقدمه

کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) یکی از گونه‌های ماهیان استخوانی دریایی یوری‌هالین[2] است که در استخرهای پرورشی با آب شیرین، لب شور و شور، به‌عنوان گونه توأم بصورت نیمه متراکم کشت می‌شود (کاردونا و همکاران، ۱۹۹٦). این ماهی به‌دلیل رفتار تغذیه‌ای کفزی‌خواری، به‌عنوان یک بهبود دهندهٔ زیستی کارآمد در آبزی‌پروری در نظر گرفته می‌شود (لوپاچ و همکاران، ۲۰۰۳).

*- مسئول مکاتبه: afshin_ghelichi@yahoo.com

2- Euryhaline

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

درباره نوسانات استروئیدهای جنسی پلاسما و گنادوتروپین‌ها که نمایانگر تغییرات فعالیت‌های تولیدمثلی در ماهیان استخوانی است، مطالعات فراوانی صورت گرفته است. اکثر مطالعات انجام شده معطوف به نوسانات استروئیدهای جنسی در طول دوره تولیدمثلی سالیانه (اسکات و همکاران، ۱۹۸٤؛ برتون و همکاران، ۱۹۸٦؛ فیتا پاتریک و همکاران، ۱۹۸٦؛ تامارو و همکاران، ۱۹۸۸) و یا در طول اوولاسیون (اسکات و همکاران، ۱۹۸۳؛ اسکات و همکاران، ۱۹۸٤؛ کوبایاشی و همکاران، ۱۹۸۸؛ تامارو و همکاران، ۱۹۹۱) است. از آنجا که تعدادی از گونه‌های مهم پرورشی دوره تولیدمثلی خود را در شرایط پرورشی کامل نمی‌کنند، اطلاعات پایه‌ای از فیزیولوژی تولید مثل و روش‌های کنترل تولیدمثل در شرایط پرورشی امری ضروری می‌باشد (تامارو و همکاران، ۱۹۹۱).

مولدین ماده کفال خاکستری، در شرایط پرورشی مراحل زرده‌زایی[1] را طی می‌کنند ولی بلوغ نهایی و تخمریزی در این شرایط صورت نمی‌گیرد (شهاده و الیس،۱۹۷۰؛ کیو وهمکاران، ۱۹۷٤؛ تامارو وهمکاران، ۱۹۹۱). این ماهی در شرایط پرورشی حتی در شوری معادل شوری آب دریا تخمریزی نمی‌کند (آیزن و همکاران، ۲۰۰۵). انواع مختلف هورمون‌ها به‌طور موفقیت‌آمیزی جهت بلوغ نهایی و اوولاسیون در مولدین ماده پرورشی به کار رفته است (کیو و همکاران، ۱۹۷٤ و ۱۹۹۵؛ لی و همکاران، ۱۹۸۷). روش القاء اوولاسیون در مورد ماهی کفال خاکستری بیشتر بر مبنای استفاده از عصاره هیپوفیزکپور، HCG[2] و LHRH-a[3] استوار است. LHRH-a رهاسازی گنادوتروپین را از هیپوفیز تحریک می‌کند، در حالی‌که عصاره هیپوفیز کپور و HCG دارای گنادوتروپین بوده و بر گناد تأثیر می‌گذارند (هادی و پانکورست، ۲۰۰۰). ترشح گنادوتروپین بوسیله هیپوفیز جهت بلوغ تخمک و اوولاسیون ضروری می‌باشد و عمل گنادوتروپین بر بلوغ تخمک، از طریق استروئیدهای ۱۷ آلفا ـ ۲۰بتا ـ دی هیدروکسی پروژسترون و ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون تنظیم می‌شود (اسکات و همکاران، ۱۹۸۳؛ تامارو وهمکاران، ۱۹۹۱). علم مطالعه فیزیولوژی تولیدمثل از طریق بررسی تغییرات استروئیدهای جنسی در ایران علم بسیار جوانی است و تحقیقات اندکی در این مورد صورت گرفته است (عریان و همکاران، ۱۳۷۳؛ بهمنی، ۱۳۷۸؛ اسکندری وهمکاران، ۱۳۷۸). ولی در اکثر کشورهای پیشرو در علم شیلات مطالعه فیزیولوژی تولیدمثل از اهمیت زیادی برخوردار است و از مطالعات پایه ای در این زمینه برای تکثیر ماهیان استفاده می شود. بنابراین تحقیقات بسیار زیادی در این خصوص صورت گرفته است (کوبایاشی و همکاران، ۱۹۸۸؛ هادی و پانکورست، ۲۰۰۰).

در این تحقیق پاسخ‌دهی ماهی به تزریق هورمونی و کنترل بلوغ نهایی و اوولاسیون با استفاده از بررسی نوسانات مقادیر ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون و پیگیری روند تکوین تخمک‌ها در طی دوره القاء هورمونی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

پانزده عدد مولد ماده کفال خاکستری که تخمک‌های آنهادر مرحله چهار رسیدگی جنسی (مرحله دانه‌های زرده) بودند، از یک استخر نگهداری مولدین واقع در مرکز تکثیر و پرورش گمیشان به صورت تصادفی انتخاب شدند. به دوازده عدد از این مولدین ترکیب‌های مختلفی از هورمون‌های هیپوفیز کپور، HCG (ساخت شرکت ارگانن هلند) و LRH-a2 (ساخت شرکت شوشنگ مالزی) و به سه عدد دیگر که به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، فقط سرم فیزیولوژی بصورت عضلانی در ناحیه پائین باله پشتی اول بصورت دو مرحله‌ای با فاصله ۲٤ ساعت تزریق گردید. ترکیب‌های هورمونی تزریق شده، مشابه آنچه بود که کیو (۱۹۹۵) و لی و همکاران

1- Vitellogenesis
2- Human Chorionic Gonadotropin
3- Luteniaing Hormone Releasing Hormone – Analogue

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(۱۹۸۷) بطور موفقیت‌آمیزی برای القاء بلوغ نهایی کفال خاکستری بکار بردند. برای این منظور هر بار، دو مولد به حوضچه‌های ٤-۳ متر مکعبی، منتقل گردید. چون حوضچه‌ها مجهز به سیستم هوادهی بودند، اکسیژن در حد اشباع (۱۲-۱۰ میلی‌گرم در لیتر) و pH آب در محدودهٔ ۷/۹-٦/۸ بود. دمای آب حوضچه‌ها در طول مدت آزمایش، ۱۹-۱٦ درجه سانتی‌گراد و شوری آب بوسیله مخزن ذخیره آب شور در ۳۲ قسمت درهزار تنظیم گردید.

نمونه‌برداری از خون در ساعات صفر، بیست و چهار، سی و چهل و هشت پس ازتزریق اول صورت گرفت. به‌طوری‌که ۲ سی‌سی خون از سیاهرگ و سرخرگ دمی، برداشته شد. نمونه‌های خون به لوله‌های آزمایش دربدار استریل منتقل و سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ به‌مدت ٤ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm، سرم از سلول‌های خونی جدا گردید. سرم‌های جدا شده به‌ظروف مخصوص نگهداری (اپندروف) منتقل و شماره گذاری شد. نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در دمای ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری گردید (تامارو و همکاران، ۱۹۹۱).

جهت بررسی تغییرات بافتی در تخمک‌ها در طول روند بلوغ نهایی، همزمان با نمونه‌برداری از خون، قطعه‌ای از گناد نیز بوسیله کانولا برداشته و فیکس شد. مایع فیکساتیو مورد استفاده با مخلوط کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر فرمالین ٤۰ درصد در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و افزودن ۱۰۰ گرم کلریدسدیم به محلول ساخته شد (بیسواس، ۱۹۹۳).

جهت اندازه‌گیری مقادیر ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون از روش RIA[1] استفاده شد. دستگاه گاماکانتر مورد استفاده، LKB تمام اتوماتیک، ساخت کشور فنلاند بود. همچنین کیت استروئید ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون مورد استفاده، ساخت شرکت Immuno Tech کشور فرانسه بود.

نمونه‌های فیکس شده تخمدان به آزمایشگاه فیزیولوژی و بافت‌شناسی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری رشت منتقل شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه آبگیری و سپس در متیل‌بنزوئیت و یا گزیلول شفاف و در پارافین جامد بلوک‌گیری گردید. مقاطعی با ضخامت ۸-۵ میکرومتر بوسیله میکروتوم برداشته و نمونه‌ها با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مراحل مختلف رسیدگی هر نمونه با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی مراحل مختلف رسیدگی از تقسیم‌بندی ٦ مرحله‌ای (مرحله هستک‌های کروماتینی، مرحله هستک‌های کناری، مرحله وزیکول‌های زرده، مرحله دانه‌های زرده، مرحله بلوغ و مرحله تخم ریخته) استفاده شد (سلوکاناما و همکاران،۱۹۸۱). قطر تخمک‌ها نیز بوسیله میکرومتر چشمی اندازه‌گیری گردید.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین بر اساس طرح کاملاً تصادفی به وسیله آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج

از دوازده قطعه مولدی که به آنها هورمون تزریق شد، هشت مولد تخمریزی کردند. با توجه به اینکه ترکیب‌های هورمونی مورد استفاده در تمام نقاط دنیا جهت القاء بلوغ نهایی کفال خاکستری به کار می‌رود، تفاوتی در تأثیر آنها در مولدین نگهداری شده در مرکز تکثیر و پرورش گمیشان مشاهده نگردید. بنابراین برای توضیح بهتر نقش استروئید ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون در تکامل تخمک‌ها، نتایج حاصل از بررسی میانگین آن در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری در مولدین تخمریزی کرده، تخمریزی نکرده و شاهد مورد بررسی قرار گرفت:

الف – در زمان تزریق اول: در بررسی میانگین مقادیر ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون در زمان تزریق اول مشاهده شد که کمترین مقدار این استروئید در مولدین شاهد و بیشترین مقدار مربوط به مولدین تخمریزی نکرده بود.

1-Radioimmunoassay

ولی اختلاف بین میانگین مقادیر آن در سه گروه معنی‌دار نبود (شکل ۱- الف).

ب - بیست و چهار ساعت پس از تزریق اول: مطالعه میانگین مقادیر ۱۷ آلفاـ هیدروکسی پروژسترون در زمان تزریق دوم نشان داد که کمترین مقدار مربوط به مولدین گروه شاهد و بیشترین مقدار مربوط به مولدین تخمریزی کرده بود. همچنین اختلاف بین میانگین مقادیر این استروئید در هر سه گروه، با یکدیگر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱- ب).

ج- سی ساعت پس از تزریق اول: بررسی میانگین مقادیر ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در سومین نمونه‌برداری حاکی از آنست که کمترین مقدار مربوط به مولدین شاهد و بیشترین مقدار مربوط به مولدین تخمریزی کرده بود. اختلاف بین میانگین مقادیر این استروئید در این زمان، در هر سه گروه مولدین با یکدیگر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱-ج).

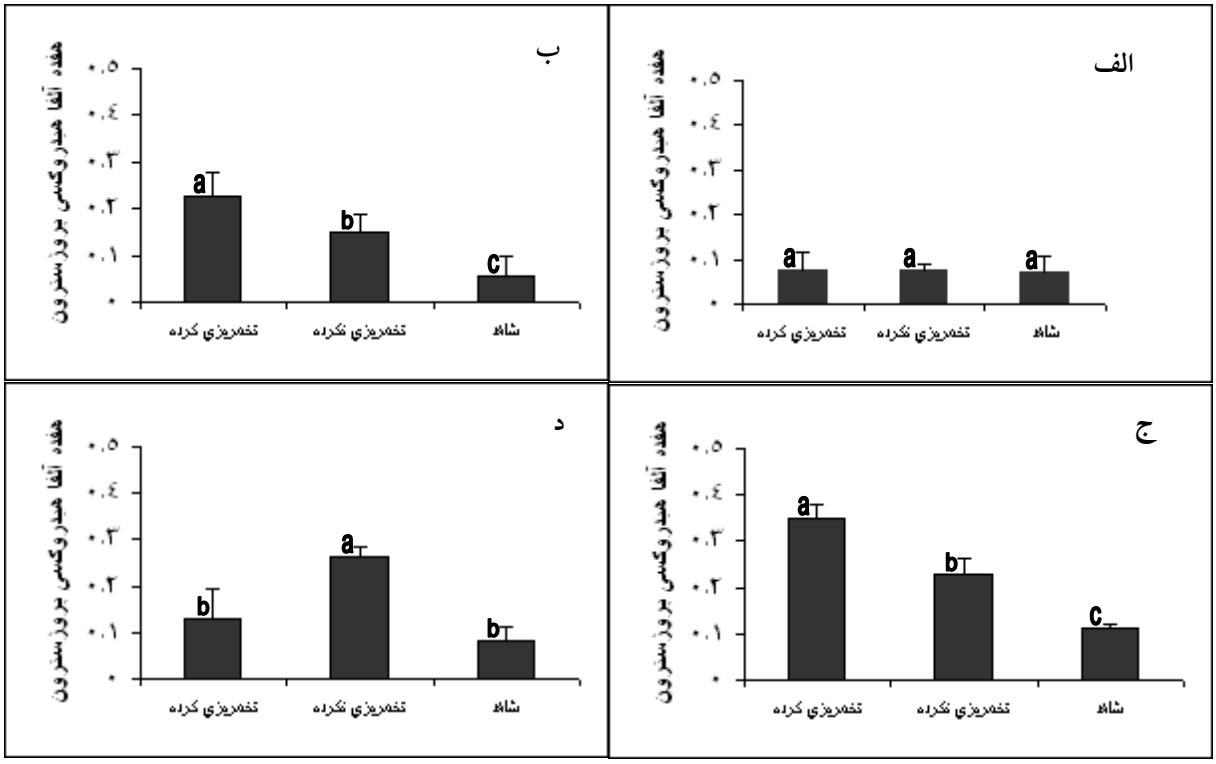
د - چهل و هشت ساعت پس از تزریق اول: مطالعه میانگین مقادیر ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون در نمونه‌برداری چهارم حاکی از آنست که کمترین مقدار مربوط به مولدین گروه شاهد و بیشترین مقدار مربوط به مولدین تخمریزی نکرده بود. بطوری‌که اختلاف بین میانگین مقادیر این استروئید در این زمان مولدین تخمریزی کرده و شاهد معنی‌دار نبود، ولی میانگین مقادیر آن در گروه اخیر با مولدین تخمریزی نکرده معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۱- د).

همچنین نتایج حاصل از بررسی نوسانات میانگین مقادیر۱۷ آلفا ــ هیدروکسی پروژسترون در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در مولدین تخمریزی کرده حاکی از آنست که کمترین مقدار این استروئید در زمان تزریق اول و بیشترین مقدار آن، سی ساعت پس از تزریق اول مشاهده گردید. اختلاف بین مقادیر این استروئید در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری نسبت به زمان‌های دیگر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (شکل ۲- الف) در حالی‌که در مولدینی که نتوانستند تخمریزی نمایند با کمترین مقدار ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون در زمان تزریق اول و بیشترین مقدار آن در آخرین نمونه‌برداری مشاهده شد. اختلاف بین مقادیر این استروئید در زمان‌های سوم و چهارم نمونه‌برداری معنی‌دار نبود (شکل ۲-ب).

نتایج حاصل از مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که در ابتدای آزمایش تخمک‌های مولدینی که تخمریزی نکردند، در مراحل میانی دانه‌های زرده بودند (شکل ۳-الف)، در حالی‌که در مولدینی که تخم‌ریزی کردند، تخمک‌ها در شروع آزمایش در انتهای مرحله دانه‌های زرده بودند (شکل ۳-ب). تزریق هورمون در مولدینی که تخمریزی نکردند باعث شد که تخمک‌ها به مراحل انتهایی دانه‌های زرده و یا تا مراحل ابتدای بلوغ برسند. در مولدینی که موفق به تخمریزی شدند، در زمان نمونه‌برداری دوم، تمامی تخمک‌ها در مرحله ابتدایی بلوغ (مهاجرت وزیکول زاینده به سمت قطب حیوانی) (شکل ۳-ج) و در زمان سوم نمونه‌برداری در مرحله تجزیه وزیکول زاینده[1]، انعقاد قطرات چربی و حل شدن دانه‌های زرده (شکل۳- د) بودند. تا زمان چهارم نیز مولدین تخمریزی کردند. تخمک‌های مولدین شاهد نیز در شروع آزمایش در مراحل میانی و یا انتهایی دانه‌های زرده بودند و تا پایان آزمایش هیچ پیشرفتی در تکوین تخمک‌های مولدین یاد شده مشاهده نگردید.

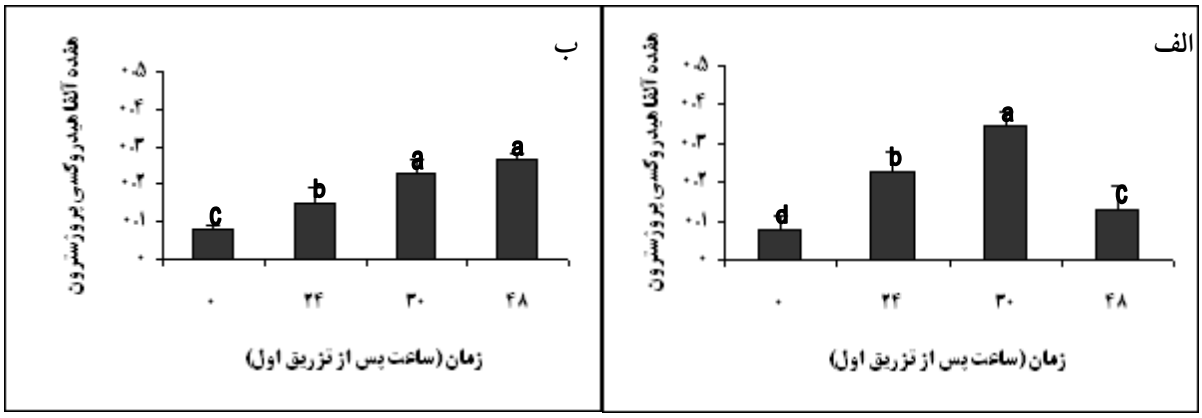
قطر تخمک‌های مولدین تخمریزی کرده، مولدینی تخمریزی نکرده و مولدین شاهد در آغاز آزمایش به‌ترتیب ۲۲/۶۱ ± ۵۸۹/۵۹، ۲۹/۶۱± ۵۵۶/۶٤ و ۲۷ ± ۶۰۱/۰۳ میکرون بود. میانگین قطر تخمک‌ها در مولدین تخمریزی کرده و نکرده معنی‌دار نبود. قطر تخم‌های ریخته شده مولدین تخمریزی کرده، ۱۶/۰۸ ± ۸۹۷/۰۵ میکرون و قطر تخمک‌های مولدین تخمریزی نکرده در آخرین نمونه‌برداری ۲۶/۲۹±۷۶۸/۶۸ میکرون بود.

1- Germinal Vesicle Breakdown



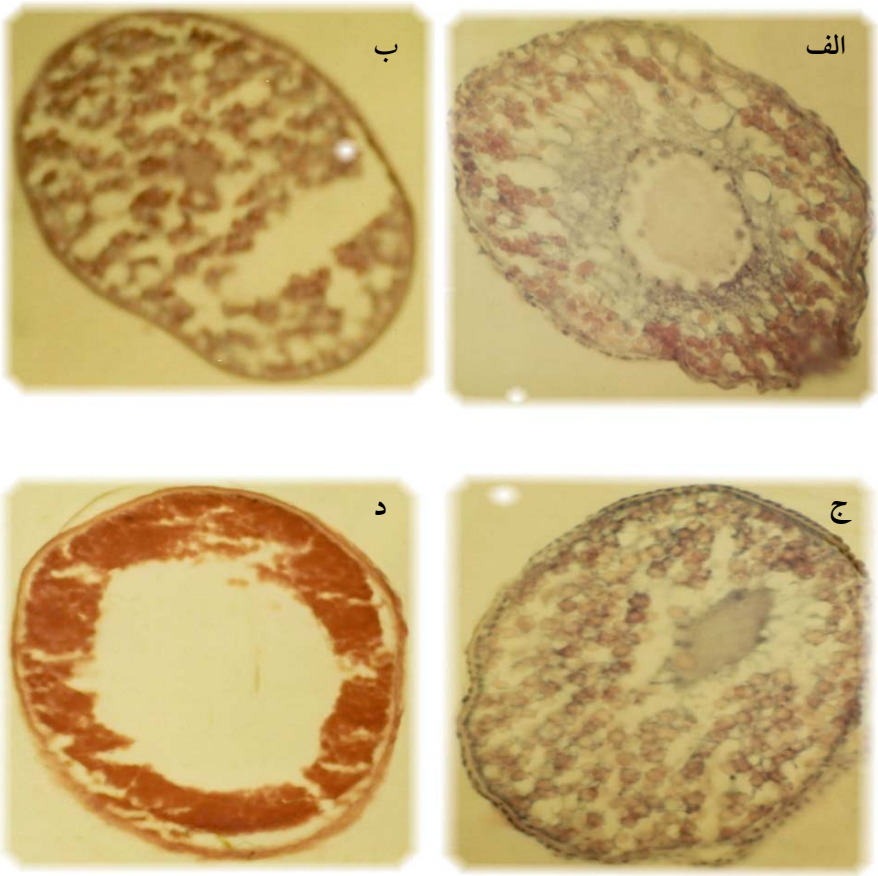
شکل ۱- نوسانات ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانو گرم در میلی‌لیتر) در چهار زمان نمونه‌برداری در مولدین تخمریزی کرده، تخمریزی نکرده و شاهد.

الف- زمان تزریق اول ب- زمان تزریق دوم ج- ۳۰ ساعت پس از تزریق اول د- ٤٨ ساعت پس از تزریق اول



شکل ۲- نوسانات ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) در چهار زمان نمونه‌برداری.

الف- مولدین تخمریزی کرده ب- مولدین تخمریزی نکرده



شکل ۳- تخمک‌های کفال خاکستری.

الف- مرحله دانه‌های زرده (تخمک در اواسط مرحله چهار به قطر ۳٤۱ میکرومتر)

ب- مرحله دانه‌های زرده (تخمک در انتهای مرحله چهار به قطر ۵۸٤ میکرومتر)

ج- مرحله بلوغ (تخمک در مرحله پنج به قطر ٦٤۷ میکرومتر، هسته درحال مهاجرت به سمت قطب حیوانی)

د- مرحله بلوغ (تخمک در انتهای مرحله پنج به قطر ۸۵۲ میکرومتر، یک قطره چربی در وسط تخمک)

بحث

نوع تخمدان در کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) همانند اکثر ماهیان دیگر به صورت هم زمانی گروهی[1] است. به این صورت که یک دسته از تخمک‌ها در هر سال به مرحله بلوغ می‌رسند (تامارو و همکاران، ۱۹۹۱).

بررسی تغییرات ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون حاکی از آنست که در مولدینی که تخم‌ریزی کردند، بین میانگین مقادیر آن در زمان دوم و سوم نمونه‌برداری در مقایسه با میانگین مقادیر این استروئید در مولدین شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵)، بطوری‌که حداکثر مقدار آن در مولدینی که تخمریزی کردند، سی ساعت پس از تزریق اول مشاهده شد. زمان به حداکثر رسیدن این استروئید هم زمان با مرحله تجزیه وزیکول زاینده و انعقاد قطرات چربی و حل شدن دانه‌های زرده بود. در مولدینی که تخمریزی نکردند، میانگین مقادیر ۱۷آلفاـ هیدروکسی پروژسترون در زمان‌های دوم، سوم و چهارم نمونه‌برداری با میانگین مقادیر آن در مولدین شاهد اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج حاصل بیشترین مقدار۱۷ آلفاـ هیدروکسی پروژسترون در مولدین تخمریزی نکرده در آخرین زمان نمونه‌برداری بود. در مقایسه با مولدینی که تخمریزی کردند، در زمان به حداکثر رسیدن ۱۷ آلفاـ هیدروکسی

1- Group Synchronus

پروژسترون، تأخیر وجود داشت، به‌طوری‌که اختلاف بین میانگین مقادیر این استروئید در آخرین نمونه‌برداری در مولدین تخمریزی کرده و مولدین تخمریزی نکرده، معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). با توجه به مطالعات بافت شناسی می‌توان انتظار داشت که ادامه تزریق‌های هورمونی باعث عمل تجزیه وزیکول زاینده و اوولاسیون خواهد شد.

عقیده بر این است که غلظت کم و یا عدم گونادوتروپین هیپوفیز باعث ناتوانی تولیدمثل در کفال و سایر ماهیان می‌شود (میلوناس و زهر، ۲۰۰۱؛ لی و یانگ، ۲۰۰۲)، زیرا زرده‌زایی و بلوغ نهایی تخمک بوسیلهٔ گونادوتروپین‌ها و از طریق استروئیدهای جنسی که توسط سلول‌های فولیکول ترشح می‌شود، تنظیم می‌گردد (لی و یانگ، ۲۰۰۲). ناقاما (۱۹۹٤) گزارش نمود که سلول‌های تکا در پاسخ به گنادوتروپین‌ها در مرحله قبل از بلوغ نهایی تخمک‌ها قادر به تولید ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون می‌باشند. یانگ و همکاران (۱۹۸٤) نیز بیان داشتند که ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون که بوسیله سلول‌های تکا تولید می‌شود، در سلول‌های گرانولوزا بوسیله آنزیم ۲۰ بتا – هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (20β - HSDH) به ۱۷ آلفا- ۲۰ بتا دی هیدروکسی پروژسترون تبدیل می شود. بر طبق گزارش تامارو و همکاران (۱۹۹۱) مهمترین استروئید القاءکننده عمل تجزیه وزیکول زاینده در کفال خاکستری، ۱۷ آلفا - ۲۰ بتا - دی هیدروکسی پروژسترون (17α-20β-diOH - P) می باشد. همچنین طبق گزارش آنها، استروئید ۱۷، ۲۰ بتا - ۲۱ - تری هیدروکسی - ٤ - پرگنن - ۳ - وان (17,20β-21-trihydroxy-4-Pregnen-3-one) نیز می‌تواند بلوغ نهایی را در تخمک‌های کفال خاکستری در شرایط آزمایشگاهی القاء نماید. بنابراین افزایش ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در هنگام تجزیه وزیکول زاینده در تحقیق حاضر احتمالاً به این دلیل است که این استروئید که در سلول‌های تکای فولیکولهای تخمک تولید می‌شود به ۱۷ آلفا-۲۰ بتا دی هیدروکسی- پروژسترون در سلول‌های گرانولوزا تبدیل می‌شود که استروئید اخیر یا وابسته های آن نقش اساسی را در تجزیه وزیکول زاینده ایفا می نمایند.

با توجه به اینکه پروژستین‌ها در مسیر بیوسنتز قبل از آندروژن‌ها قرار گرفته‌اند (عریان، ۱۳۷۳)، افزایش مقادیر ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون قبل از اوولاسیون احتمالاً به‌دلیل بلوکه شدن سنتز آندروژن‌های تخمدانی در فولیکول‌ها باشد، زیرا فولیکول‌ها در این زمان جهت تولید استروئیدهای القاءکننده بلوغ نهایی آماده می‌شوند.

جهت القاء بلوغ نهایی در کفال خاکستری از انواع ترکیب‌های هورمونی استفاده می‌شود. به‌طوریکه لی و همکاران (۱۹۸۷) از هورمون‌های هیپوفیز کپور، hCG و LHRH-a جهت القاء بلوغ نهایی به صورت تزریق دو مرحله‌ای استفاده نمودند. بر طبق نظر آنها ترکیب هورمونی هیپوفیز کپور در تزریق اول و LHRH-a در تزریق دوم بهترین ترکیب هورمونی جهت القاء بلوغ نهایی در کفال خاکستری است. در تحقیق آنها عواملی نظیر نتیجه تزریق و هزینه هورمون‌ها در نظر گرفته شده بود. یافته‌های این تحقیق نیز نشان داد که ترکیب‌های هورمونی فوق باعث القاء بلوغ نهایی مولدینی شد که تخمک‌های آنها در انتهای مرحله دانه‌های زرده بودند. عدم تخم‌ریزی برخی از مولدین به این علت بود که تخمک‌های آنها مرحله دانه‌های زرده را تکمیل نکرده بودند، ولی تزریق هورمون باعث تسریع در تکمیل مرحله زرده سازی گردید.

پیوستگی روند تکامل تخمدان و مقادیر استروئیدهای جنسی پلاسما به‌عنوان ابزار با ارزشی جهت درک کنترل اندوکرینی تولید مثل به شمار می‌رود (لی و یانگ، ۲۰۰۲). بررسی مطالعات بافت‌شناسی در مرحله القاء بلوغ‌نهایی حاکی از آنست که میانگین قطر تخمک‌های مولدینی که تخم‌ریزی کرده‌اند، در شروع آزمایش بیش تر از ۵۸۰ میکرومتر بود. در مقایسه، مولدینی که نتوانستند تخم‌ریزی نمایند دارای تخمک‌های با قطر کمتر از ۵۵۰ میکرومتر بودند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که قطر تخمک‌ها به

میزان ۵۸۰ میکرومتر، حداقل اندازه‌ای است که می‌توان بلوغ نهایی را در کفال‌های خاکستری گمیشان القاء نمود. مطالعات بافت‌شناسی نیز نشان داد که تخمک‌های مولدینی که تخم‌ریزی نکرده‌اند، در اوایل یا اواسط مرحله چهار بودند و تزریق هورمون فقط موجب تسریع در روند تکوین تخمک‌ها گردید، به‌طوری‌که در انتهای آزمایش مولدین یاد شده تا انتهای مرحله چهار رشد یافته و احتمالاً تزریق‌های بعدی موجب بلوغ نهایی و اوولاسیون در مولدین فوق خواهد شد. تامارو و همکاران (۱۹۹۱) نیز قطر تخمک‌ها را به میزان ٦۰۰ میکرومتر، حداقل اندازه‌ای گزارش نموده‌اند که می‌توان بلوغ نهایی را در کفال‌های خاکستری منطقه هاوایی القاء نمود. شهاده (۱۹۷۳) و کیو و نش (۱۹۷۵) قطر تخمک‌ها را به میزان ۷۰۰-٦۰۰ میکرومتر در کفال‌های خاکستری آب‌های اقیانوس آرام مناسب جهت القاء بلوغ نهایی بیان داشتند. در حالی‌که نتایج مطالعات مونبریسون و همکاران (۱۹۹۷) نشان می‌دهد که در آب‌های مدیترانه، ۵۳۰-۵۱۰ میکرومتر، اندازه مناسب تخمک‌ها جهت القاء بلوغ نهایی است. همچنین کیو (۱۹۹۵) مولدینی را که تخمک‌های آنها در انتهای مرحله چهار و با قطر ٦۰۰ میکرومتر (ترجیحاً ٦۵۰ میکرومتر) بود مناسب جهت القاء نهایی بلوغ ذکر کرده است.

تغییرات کیفی تخمک‌ها در طول القاء تخمریزی به‌هم پیوستن واکوئل چربی به صورت یک واکوئل بزرگ و حل شدن دانه‌های زرده می‌باشد. حل شدن دانه‌های زرده در تخمک‌های ماهیان استخوانی دریایی که دارای تخم‌های شناور هستند، به علت افزایش فعالیت پروتئولیتیک در طول بلوغ نهایی است (والاس و سلمن، ۱۹۸۱). لی و همکاران (۱۹۸۷) و تامارو و همکاران (۱۹۹۱) نیز چنین تغییراتی را در تخمک‌های کفال خاکستری در طول بلوغ نهایی گزارش کرده‌اند. در تحقیق حاضر نیز چنین تغییراتی در طی روند بلوغ نهایی و اوولاسیون مشاهده گردید.

تشکر و قدردانی

این پروژه با همکاری مرکز تحقیقات اکولوژی دریای خزر- مازندران و مرکز تحقیقات شیلاتی استان گلستان انجام شده است. از کارشناسان آن مراکز قدردانی می‌شود. همچنین از همکاری‌های مهندس رضوانا... کاظمی و همکاران ایشان در بخش فیزیولوژی و بافت‌شناسی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری تشکر می‌گردد.

منابع

۱.اسکندری، غ.، امیری نیا، س.، سواری، ا.، و یاوری، و.، ۱۳۷۸. تعیین زمان بلوغ و فصل تخم‌ریزی ماهی شوریده (*Otolithes rubber*) در آبهای ساحلی استان خوزستان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱. سال هشتم. صفحات ۱ تا ۲۲.

۲.بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPG، HPI، سیستم ایمنی و فرایند تولیدمثل در تاس ماهی ایران (*Acipenser persicus*). رساله دکتری دوره عالی تحقیقات و تحصیلات تکمیلی دانشگاه آزاد تهران. ۲۷٤ ص.

۳.عریان، ش.، ۱۳۷۳. تولید مثل از دیدگاه‌های پزشکی و بیولوژی. مؤسسه انتشارات جهاد دانشگاهی. صفحات ۳۹ تا ۵۰.

٤.قلیچی، الف.، ۱۳۸۱. بررسی روند رسیدگی جنسی در کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به طریق اندازه گیری هورمون‌های جنسی و مطالعات هیستولوژیک. رساله دکتری دوره عالی تحقیقات و تحصیلات تکمیلی دانشگاه آزاد تهران. ۱٤۳ص.

5.Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Levavi-Sivan, B. and Rosenfeld, H., 2005. Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. J. Gen. Comp. Endoctinol. 142: 212-221.

6.Biswas, S.P., 1993. Manual of methods in fish biology. South Asian Publishers Put Ltd. New Delhi, 145 p.

7.Breton, B., Motin, A., Billard, R., Kah, O., Geoffre, S., and Precigoux, G., 1986. Immunoreacitive gonadotropin – releasing hormone – like material in the brain and the pituitary gland during the

periovulatory in the brown trout (*Salmo trutta*) relationships with the plasma and pituitaty gonadotropin. J. Gen. Comp. Endoctinol. 61: 109-120.
8.Cardona, L., Torras, X., Gisbrt, E., and Castell, F., 1996. The effect of striped grey mullet (*Mugil cephalus*) on freshwater ecosystem. Israeli. J. Aquaclt. Bamidgeh. 48: 179-185.
9.Fitapatrick, M.S., Van Der Kraak, G., and Schrech, C.B., 1986. Profiles of plasma sex steroids and gonadotropins in coho salmon (*Oncorhynchus Kisutch*) during final maturation. Gen. Comp. Endocrinol. 62: 437-451.
10.Haddy, A., and Pankhurst, N.W., 2000. The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild blach bream (*Acanthopagrus butcheri*) is improved by treatment at capture. Aquaculture, 191: 351-366.
11.Kobayashi, M., Aida, K., and Hanyu, I., 1988. Hormone changes during the ovulatory cycle in goldfish. Gen. Comp. Endocrinol. 69: 301-307.
12.Kuo, C.M., Nash, C.E., and Shehadeh. Z.H., 1974. A procedural guide to induce spawning in grey mullet (*Mugil cephalus* L.). Aquaculture, 3:1-14.
13. Kuo, C.M., and Nash, C.E., 1975. Recent progress on rhe contol of ovarion development and induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). Aquaculture, 5:19-29.
14.Kuo, C-M., 1995. Manipulation of ovarian development and spawning in grey mullet (*Mugil cephalus*). Israeli J. Aquclt. Bamidgeh. 47: 43-58.
15.Lee, C.S., Tamaru, C.S., Myamoto, G.T., and Kelley, C.D., 1987. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) by LHRH – a. Aquaculture, 62: 327-336.
16.Lee, W.-K. and Yang, S.-W., 2002. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female KOREAN SPOTTED SEA BASS *Lateolabrax maculates*. Aquaculture, 207:169-183.
17.Lupatsch, I., Katz, T. and Angel, D.L., 2003. Assessment of the removal efficiency of fish farm effluents by grey mullets: A nutritional approach. Aquacult. Res. 34: 1367-1377.
18.Monbrison, D., Tzchori, I., Holland, M.C., Zohar, Y., Yaron, Z., and Elizur, A., 1997. Acceleration of gonadal development and spawning induced in the Mediterranean grey mullet (*Mugil cephalus* L): Preliminary. J. Aquclt. Bamidgih. 49: 214-221.
19.Mylonas, C.C. and Zohar, Y., 2001. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. Rev. Fish Biol. Fisher. 10:4 63-491.
20.Naghama, Y., 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. Int. J. Dev. Biol. 38: 217-229.
21.Scott, A.P., Sumpter. J.P., and Hardiman, P.A., 1983. Hormone changes during ovulation in the rainbow trout. J.Gen. Comp. Endocrinol. 49:128-134.
22.Scott, A.P., Machenzie, D.S., and Stacey, N.E., 1984. Induced spawning of the white sucker (*Catostomus commersoni*). II. Steroid hormunes. Gen. Comp. Endocrinol. 56: 349-359.
23.Shehadeh, Z.H., and Ellis, J.N., 1970. Induced spawning of the stripped mullet (*Mugil cephalus* L.). J. Fish Biol. 2: 355-360.
24.Shehadeh, Z.H., Kuo, C.M., and Milisen, K.L., 1973. Induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.) with fractionated salmon pituitary extrat. J. Fish Biol. 5: 471-478.
25.Sulochanamma, G.P., Reddy, S., and Natarajan, R. 1981. Maturity and spawning of *mugil cephalus* in Porto Novo waters. J. Marin. Biol. Ass. India. 23: 55-61.
26.Tamaru, C.S., Lee, C.-S., Kelley, C.D., Banno, J.E., Ha, P.Y., Aida, K., and Hanyu, I., 1988. Characterizing the stage of maturity most receptive to an acute LHRH – analogue therapy for inducing milkfish (*Chanos chanus*) to spawn. Aquaculture, 74: 147-163.
27.Tamaru, C.S., Kelley, C.D., Lee, C.S., Aida, K., Hanyu, l., and Goets, F., 1991. Steroid profiles during maturation and spawning of the striped mullet (*Mugil cephalus* L.). Aquacultute, 95: 149-168.
28.Wallace, R.A., and Selman, K., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. J. American zoologist. 21: 325-343.
29.Young, G., Kagava, H., and Naghama, Y., 1984. Role of the thecal and granulose cells in the production of maturation_inducing steroid by ovarian follicles of salmonid fishes. J. Gen Comp. Endocrinol. 53: 455-465.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(2), June -July 2007
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

17α-Hydroxyprogestrone profiles during induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus*)

A. Ghelichi[1], A. Hajimoradloo[2] and S. Jorjani[3]
[1&3] Assistant Prof. and Instructor Dept. of Fisheries of Islamic Azad University of Azadshahr Branch, [2]Associate Prof. Dept. of Fisheries of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

The major objective of this research was to investigate plasma 17α-Hydroxyprogestrone (17-OHP) and oocyte maturation of grey mullet *(Mugil cephalus)* after stimulation with hormones. Two hormone injections, a primer and a resolver, were used to induce spawning in 12 grey mullets combination of carp pituitary homogenate, HCG and LRH-A2 each used as a primer or resolver of a two-injection protocol. Another three fish received saline injections as controls. All fish were bled and checked for ovulation for 48 hours. During hormonally induced spawning, 67% of mullets spawned. Oocyte of this mullets in the onset of experiment, were in the later period of stage IV (yolk globule stage). Peak levels of 17-OHP in spawned fishes occurred 30 hour after first injection. These changes are coincident with oocyte undergoing hydration, germinal vesicle breakdown and ovulation. Plasma 17α-hydroxyprogesterone levels in unspawned mullets increase to the end of experiment. Oocytes of these mullets in the onset of experiment were in the middle period of stage IV that developed to onset of stage V (mature stage) in the end of experimental period. In contrast to female in the treatment groups, none of three females in the control group had significant changes in maturing stages of oocyte and levels of 17-OHP in experimental period. This suggests that 17-OHP is one of the most effective steroid in the final maturation- inducing for grey mullet.

Keywords:17α-Hydroxyprogestrone; Hormonal inducing; Oocyte maturation; Grey mullet (*Mugil cephalus*); Gomishan