

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۱۷

ص ۴۵۷-۴۶۶

تغییر رفتارهای خشوتی و غلظت تستوسترون در ماهی جنگجو (*Betta splendens*)، به دنبال در معرض گذاری با

فلوکستین

- ❖ محمدنوبید فرصت کار: دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ محمدعلی نعمت‌اللهی*: دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ❖ باقر مجازی امیری: استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیرات فلوکستین در رفتارهای خشوتی جنسیت نر در مقابل ماده و غلظت هورمون تستوسترون آن در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) طی یک دوره تولیدمثل انجام شد. ماهیان نر به مدت شش روز در معرض غلظت‌های صفر (گروه کنترل) و $0/54 \mu\text{g/L}$ (گروه در معرض قرار داده شده) فلوکستین قرار داده شدند و رفتارهای خشوتی ماهی نر در مقابل ماده «مزاحم» در مراحل قبل از لانه‌سازی، بعد از ساخت لانه، بعد از تخم‌ریزی و بعد از تفریح تخم‌ها اندازه‌گیری شد. پس از ۶ روز، سطوح تستوسترون در گروه در معرض قرار داده شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار نشان داد. رفتارهای خشوتی در اغلب مراحل تولیدمثلی از فلوکستین تأثیر گرفت و تفاوت تعداد رفتار رفت و برگشت به لانه در مراحل بعد از لانه‌سازی و بعد از تخم‌ریزی نیز بین دو گروه از لحاظ آماری معنادار بود. نتایج این مطالعه مشخص می‌کند که فلوکستین در غلظت کم ($0/54 \mu\text{g/L}$) با تأثیر در سیستم درون‌ریز ماهی جنگجو موجب کاهش سطوح کلی تستوسترون شده و خشونت جنسیت نر را در تقابلات مستقیم با ماده طی تولیدمثل کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: تولیدمثل، رفتار خشوتی، غلظت تستوسترون، فلوکستین، *Betta splendens*.

۱. مقدمه

مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRI ها) از جمله موادی‌اند که با افزایش میزان سروتونین در مغز موجب حفظ تعادل روحی می‌شوند و با ایجاد احساس آرامش همراه‌اند. در بیماران دچار افسردگی سطوح سروتونین در مغز کم است. سروتونین انتقال‌دهنده‌ای عصبی است که به محض رهاسدن، به ترمینال‌های پیش‌سیناپسی عصبی باز می‌گردد. فلوکستین یکی از معروف‌ترین SSRI ها است و به صورت تجاری در قالب داروی ضد افسردگی پروزاک (Prozac™) به فروش می‌رسد. در نقش یک داروی SSRI، راهکار فعالیت فلوکستین افزایش سطوح سروتونین در مغز است که این عمل را با جلوگیری از بازجذب سروتونین به ترمینال‌های پیش‌سیناپسی انجام می‌دهد و در نتیجه میزان سطوح سروتونین در مغز افزایش خواهد یافت. با این عمل، فلوکستین می‌تواند علائم افسردگی را با تصحیح بی‌نظمی‌های سروتونین در مغز برطرف کند (Stroud, 2012).

فلوکستین مانند اغلب داروهای دیگر با عوارض جانبی همراه است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به حالت تهوع، بی‌خوابی اما ایجاد حالت خواب‌آلودگی، بی‌اشتهایی، دست‌پاچگی، ضعف و ناتوانی و ایجاد رعشه اشاره کرد. باید توجه داشت که مشابه سایر داروهای SSRI، فلوکستین در پستانداران در سیستم جنسی نیز مؤثر است؛ این تأثیرات شامل کاهش میل جنسی و انزال دیررس است (Zajacka et al., 1991; Herman et al., 1990). با توجه به ورود این ترکیب دارویی به اکوسیستم آب‌های طبیعی (Brooks et al., 2003)، تاکنون مطالعات فیزیولوژیک و رفتارشناسی

بسیاری درباره تأثیرات آن در جنبه‌های مختلف زندگی آبزیان انجام شده است. نشان داده شده است که بروز رفتارهای خشونت‌آمیز در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) به دنبال تزریق (Clotfelter et al., 2007) یا در معرض گذاری با فلوکستین (Lynn et al., 2007; Forsatkar et al., 2014) کاهش می‌یابد. در معرض قراردعی جنسیت نر ماهی طلائی (*Carassius auratus*) با فلوکستین موجب اختلال در محور تولیدمثلی آن شده است (Mennigen et al., 2010). این محققان نشان دادند که در مدت ۱۴ روز، شاخص گنادی (GSI)، حجم مایع اسپرمی و سطوح پلاسمایی تستوسترون در اثر فلوکستین کاهش خواهد یافت. ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) قرار داده شده در معرض فلوکستین نیز افزایش معناداری از سطوح استرادیول نشان داده است (Foran et al., 2004). همچنین، در معرض قراردادن جنسیت ماده ماهی زبرا (*Zebra danio*) در دوره‌ای هفت‌روزه با فلوکستین با کاهش تعداد تجمعی تخم‌های تولیدشده و متوسط تعداد تخم تولیدی به ازای هر ماده در هر روز همراه بوده است (Lister et al., 2009). بنابراین، همانند تأثیرات جانبی فلوکستین در پستانداران، توجه به عواقب ناشی از حضور این داروی پرمصرف (Stroud, 2012) در محیط آبی بر مهره‌داران پست مانند ماهی‌ها اهمیت بسزایی دارد، اما به هر حال، مطالعه‌ای در زمینه تأثیر فلوکستین در تغییر رفتارهای خشونت‌آمیز جنسیت نر ماهی جنگجو در مقابل ماهی ماده طی دوره تولیدمثلی انجام نشده است.

ماهی جنگجو بومی آبگیرهای آب شیرین در جنوب شرقی آسیاست و یکی از عمومی‌ترین مدل‌ها برای مطالعات آزمایشگاهی است. این ماهی با توجه

پلاستیکی ۱ لیتری کاملاً کدر قرار داده شدند؛ ماده‌ها نیز در دو تانک ۲۰ لیتری نگهداری شدند. دمای آب در 26°C و دوره نوری در ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. ماهی‌ها روزانه یک یا دو مرتبه با کرم خونی منجمد (ماهیران) و غذای پلت (بیومار) تغذیه می‌شدند و هر سه روز یکبار نیز آب مخازن با آب تازه و کلرزدایی شده تعویض می‌شد.

۲.۲. آماده‌سازی محلول ذخیره

در این آزمایش از غلظت $0.54 \mu\text{g/L}$ فلوکستین استفاده شد، چرا که این غلظت در آب‌های طبیعی (در آمریکای شمالی به‌خصوص کشور کانادا) گزارش شده است (Fent et al., 2006) و البته دامنه غلظت $0.5 \mu\text{g/L}$ تا $6 \mu\text{g/ml}$ برای تغییر در بروز رفتارهای خشونت ماهی جنگجو مؤثر است (Lynn et al., 2007). برای ساخت محلول ذخیره، 1 mg فلوکستین (شرکت داروسازی دکتر عبیدی، تهران) در 10 ml سرم فیزیولوژیک حل شد و مقدار لازم به مخازن برای غلظت نهایی $0.54 \mu\text{g/L}$ اضافه شد. ماهی‌ها در دو مدت زمان شش روز (انتخاب این تعداد روز بر پایه مدت زمان لازم برای طی یک دوره تخم‌ریزی و محافظت از تخم‌ها و لاروها بود) ارزیابی شدند. بدین صورت که ماهی‌ها نخست در تیمار کنترل تست شدند سپس همان ماهیان در تیمار فلوکستین ارزیابی شدند تا رفتارها از نمونه‌های مشابه به دست آید و امکان مقایسه فراهم باشد. شایان ذکر است که همه شرایط خارجی از قبیل منبع آب مورد استفاده، درجه حرارت، کیفیت آب و رژیم نوری در بین دو تیمار یکسان بود.

به ویژگی‌های خاص رفتاری چه در زمان تولیدمثل و چه در فصول دیگر مورد توجه بسیاری از محققان بوده است. جنسیت نر در این ماهی با کمک اندام لایبرنت موجود در آبشش خود لانه‌ای حبایی می‌سازد، در زیر لانه با جنسیت ماده جفت‌گیری می‌کند و از تخم‌های حاصل و لاروهای تفریخ‌شده تا زمان شنای آزاد مراقبت می‌کند، البته نرها موفق می‌توانند طی یک فصل تولیدمثلی، ۲-۳ مرتبه جفت‌گیری کنند و قلمرو موفق را تشکیل دهند. ماده‌ها معمولاً کوچک‌تر از نرها و رنگ آن‌ها مات است. بعد از اتمام جفت‌گیری، ماهی نر جنسیت ماده را از ناحیه لانه دور کرده و به‌تنهایی به مراقبت از تخم‌ها می‌پردازد (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). هورمون تستوسترون به‌منزله یکی از مهم‌ترین آندروژن‌ها در تولید اسپرم و بروز رفتارهای جنسی / خشونتی مطرح است. بنابراین، در این مطالعه تغییرات غلظت هورمون تستوسترون همچنین واکنش‌های خشونت در مقابل جنسیت ماده در ماهی جنگجوی نر به دنبال شش روز قرارگیری در معرض فلوکستین بررسی شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ماهی‌ها

تعداد ۱۹ عدد ماهی جنگجوی نر با میانگین وزن $0.39 \pm 0.57 \text{ g}$ و 33 عدد ماده بالغ ($0.31 \text{ g} \pm$) از یک مرکز توزیع ماهیان زینتی در شهرستان کرج خریداری شد. ماهیان به آزمایشگاه انتقال داده شدند و نرها به صورت انفرادی در مخزن‌های

۳.۲. تانک تکثیر و عملیات تخم‌ریزی

از همه ماهیان نر آزمون‌های رفتاری به عمل آمد، اما تنها اطلاعات ۱۴ نر استفاده شد. پنج ماهی باقیمانده برای اندازه‌گیری میزان هورمون استفاده شدند. تانک‌های تکثیر (۳۰×۳۰×۴۰ cm؛ ۳۶ لیتر) بدون کف‌پوش شنی بود، ارتفاع آب ۲۰ cm و دمای آب به وسیله بخاری خودکار در ۲۶ °C تنظیم شد. هیچ‌گونه هوادهی انجام نشد. برای تخم‌ریزی، به ازای هر ماهی نر یک ماده به تانک اضافه شد. برای حفظ جان ماده از حملات و ضربه‌های ماهی نر طی لانه‌سازی، گلدانی سفالی در گوشه تانک قرار داده شد. تانک‌ها حاوی یک محفظه (B) برای معرفی «ماهی مزاحم» در سمت مخالف محل لانه‌سازی بودند. این محفظه با چسباندن شیشه‌ای (۱۱×۲۰ cm) به صورت مورب ایجاد شد. از یک قطعه یونولیت ۸×۱۰ cm به منظور لانه‌سازی در سطح آب استفاده شد (A؛ شکل ۱). در ابتدا ماهی نر به تانک معرفی شد. پس از لانه‌سازی اولیه، ماهی ماده آماده تخم‌ریزی نیز به آن اضافه شده و پس از اتمام تخم‌ریزی، بلافاصله از تانک خارج شد.

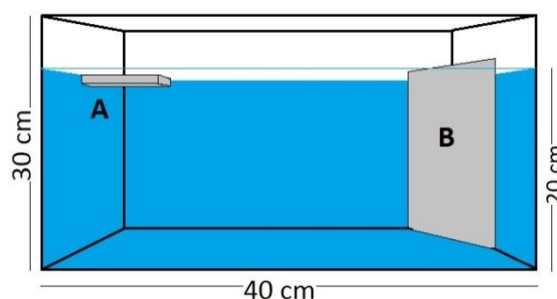
۴.۲. رفتارهای خوشوتی

اولین آزمون (به‌منزله آزمون قبل از لانه‌سازی؛ BB) در ۵ الی ۷ ساعت بعد از ورود ماهی نر به تانک انجام شد. دومین آزمون، پس از ساخت لانه حبابی اولیه (AB) انجام شد. در اکثر موارد، آزمون دوم در صبح روز بعد از ورود ماهی نر بود، چرا که اغلب نرها در این مدت لانه اولیه ساخته بودند. پس از انجام آزمون دوم، یک ماهی ماده آماده تخم‌ریزی به تانک معرفی شد. پس از تخم‌ریزی، ماده خارج شد و سومین آزمون رفتاری (AS) بررسی شد. چهارمین آزمون نیز پس از تفریح تخم‌ها (AH) صورت گرفت. همه آزمون‌های رفتاری ۵ دقیقه بودند. در هر مرحله، ماده مزاحم به محفظه B وارد می‌شد و رفتارها با اولین نمایش آبتش‌ها در ماهی میزبان به وسیله دوربین Nikon Coolpix P6000 فیلم‌برداری شد.

رفتارهای مورد بررسی شامل: ۱. بروز اولین واکنش به ماهی مزاحم، ۲. مدت زمان نمایش آبتش‌ها، ۳. مدت زمان گسترده کردن باله‌ها، ۴. تعداد گازگرفتن‌ها، ۵. تعداد رفت و برگشت به لانه و ۶. تعداد چرخش‌های ۹۰ درجه در مقابل مزاحم بودند.

۵.۲. اندازه‌گیری هورمون

برای سنجش میزان تستوسترون در نمونه‌ها (۵ نمونه از ۱۹ ماهی اولیه و ۵ نمونه از ۱۴ ماهی باقیمانده پس از در معرض‌گذاری با فلوکستین) از کیت الایزا شرکت پادتن‌گستر ایثار استفاده شد و با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر BioTek مدل GLX 808™ اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که این کیت انسانی روی ماهی سنجش شد. توازی خوب مشاهده‌شده



شکل ۱. نمای شماتیک از یک تانک تکثیر مورد استفاده در آزمایش. A نشان‌دهنده سوبسترای ساخت لانه حبابی روی سطح آب و B محفظه ورود ماهی مزاحم است.

۷.۱۹ پردازش شدند. نخست، تست نرمال‌بودن برای داده‌ها انجام شد. سپس از آزمون *t* مستقل (در صورت نرمال‌بودن) یا آزمون ناپارامتریک ویلکاکسون (در صورت نرمال‌نبودن) در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

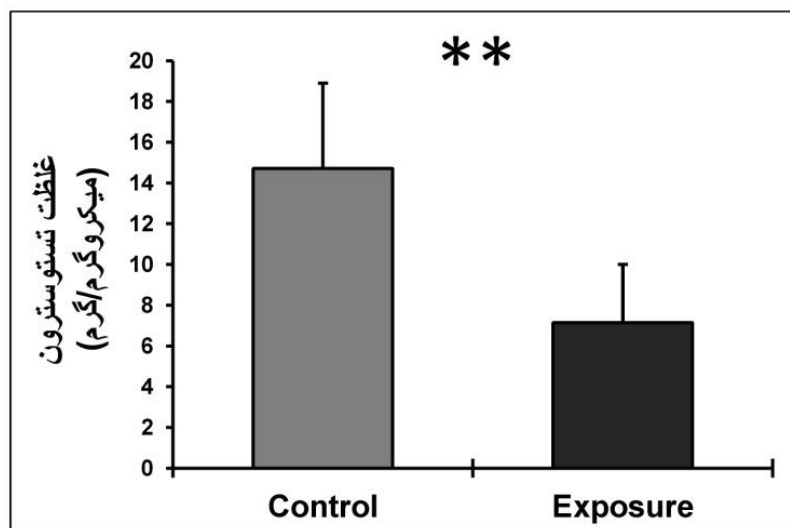
۳. نتایج

پس از گذشت ۶ روز از در معرض‌گذاری با غلظت‌های صفر و ۰/۵۴ $\mu\text{g/L}$ فلوکستین، تفاوت معناداری بین دو تیمار از لحاظ میزان تستوسترون کل بدن مشاهده شد ($F=3/067$, $p<0/01$). با توجه به شکل ۳ مشخص است که گروه کنترل میزان تستوسترون بیش‌تری ($4/19 \pm 14/71$) نسبت به گروه در معرض قرار گرفته با فلوکستین ($2/87 \pm 7/13$) داشته است.

بین خطوط استاندارد کیت انسانی و منحنی رقت نمونه‌های ماهی حاکی از اعتبار این سنجش در ماهی بود. به علت اندازه کوچک ماهی‌ها، از کل بدن آن‌ها سنجش هورمون انجام گرفت (Kroon and Liley, 2000). بدین صورت، پس از کوبیدن ماهی در یک ظرف دوجداره محتوی یخ، مقدار ۱ گرم از آن در اپندورف ریخته شد تا غلظت تستوسترون نهایی در ۱ گرم محاسبه شود. اپندورف‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتی‌فیوژ شدند. سپس سوپرناتانت به دقت خارج شد و در اپندورف‌های جدید در 4°C -۷۰ تا زمان سنجش نگهداری شدند.

۶.۲. آنالیز آماری

داده‌های مربوط به رفتارهای خشونت‌ی و سطح تستوسترون در دو تیمار آزمایشی در نرم‌افزار SPSS



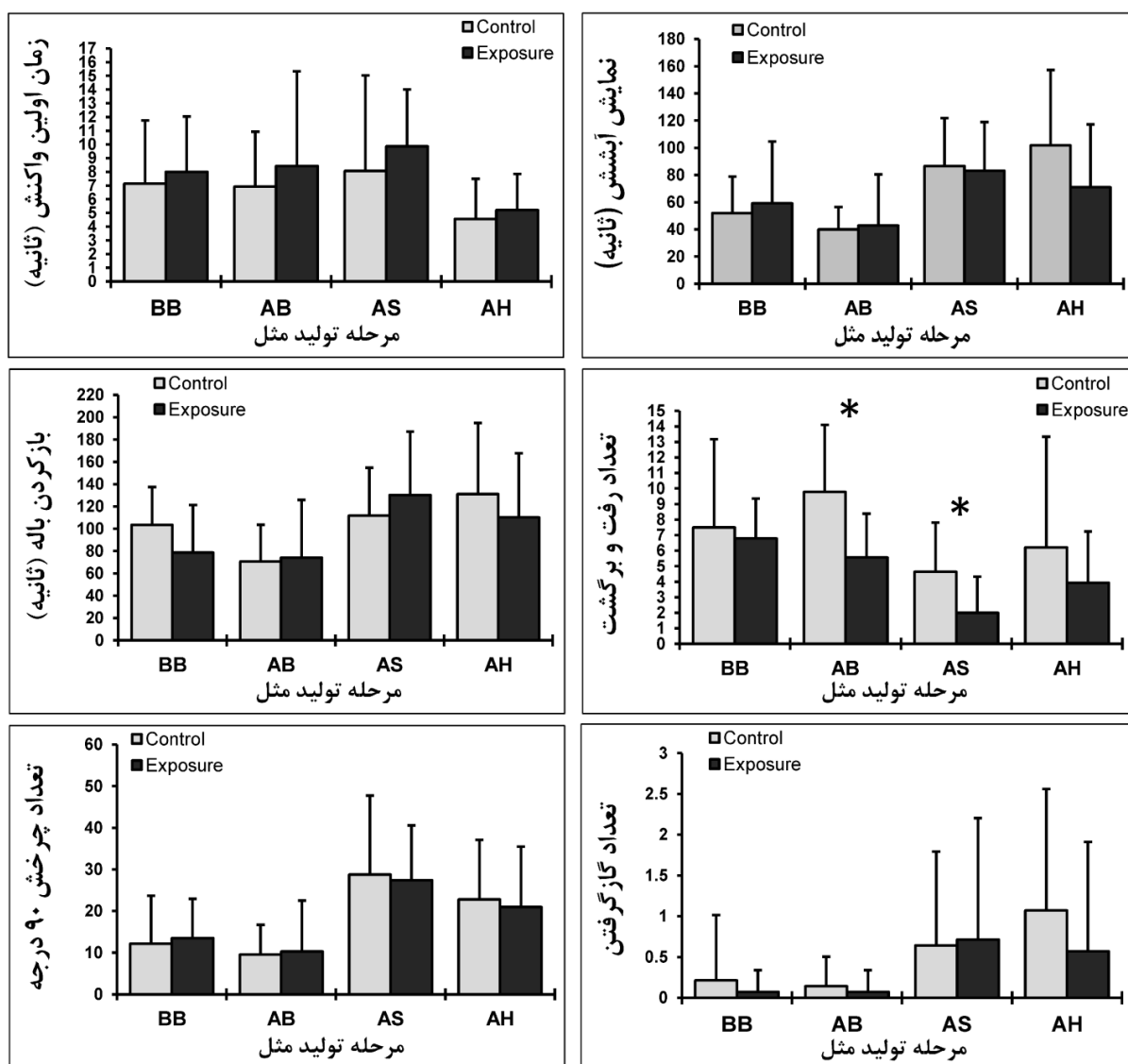
شکل ۲. غلظت هورمون تستوسترون کل بدن در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) به دنبال شش روز قرارگیری در معرض غلظت‌های صفر و ۰/۵۴ $\mu\text{g/L}$ فلوکستین؛ (** $p<0.01$).

رفتارهای زمان اولین واکنش به ماهی مزاحم، فراوانی نمایش آبخش‌ها و بازکردن باله‌ها در مقابل ماهی

طی شش روز در معرض‌گذاری با فلوکستین، اختلاف معنادار آماری بین دو تیمار آزمایشی در

قرار گرفته با فلوکستین است. در مورد رفتار رفت و برگشت به لانه در مقابل ماهی ماده مزاحم، مشخص است که علاوه بر بیش تر بودن تعداد این رفتار در تیمار کنترل در همه مراحل تولیدمثلی اختلاف دو گروه در مراحل بعد از لانه سازی و بعد از تخم ریزی معنادار است.

مزاحم، تعداد گاز گرفتن ها و تعداد چرخش های ۹۰ درجه در مقابل مزاحم در مراحل مختلف تولیدمثلی شامل قبل از لانه سازی، بعد از ساخت لانه، بعد از تخم ریزی و بعد از تفریح تخم ها مشاهده نشد. با وجود معنادار نبودن این رفتارها، در شکل ۴ مشخص است که مقادیر داده های خشونت در اغلب مراحل تولیدمثلی در تیمار کنترل بیش تر از ماهیان در معرض



شکل ۳. فراوانی یا تعداد بروز (میانگین \pm انحراف معیار) رفتارهای خشونت جنسیت نر ماهی جنگجو (*Betta splendens*) در مقابل ماهی ماده طی مراحل مختلف یک دوره تولیدمثلی (BB: قبل از لانه سازی؛ AB: بعد از لانه سازی؛ AS: بعد از تخم ریزی؛ AH: بعد از تفریح). (*، $p < 0.05$).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

با ورود هرچه بیش‌تر مواد دارویی به اکوسیستم‌های طبیعی، تأثیرات جانبی آن‌ها در جانوران مختلف آبی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این مواد آلاینده می‌توانند در سیستم درون‌ریز، مورفولوژی، رفتار و دیگر جنبه‌های زندگی یک موجود تأثیرگذار باشند. نتایج این مطالعه نشان داد که در ماهی جنگجو سطوح تستوسترون کل بدن به دنبال در معرض قرارگیری با غلظت محیطی فلوکستین نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشته است. این یافته با مطالعه انجام‌شده درباره *C. auratus* همخوانی دارد که در آن *Mennigen et al. (2010)* نشان دادند فلوکستین، با کاهش سطوح در گردش تستوسترون، موجب پایین آمدن شاخص گنادی و در نتیجه حجم کم‌تر مایع اسپرمی می‌شود. یکی از مهم‌ترین تأثیرات جانبی مصرف فلوکستین در افراد دارای افسردگی کاهش میل جنسی و حجم کم‌تر مایع منی در مردان است که ذکر شده است این تأثیرات با کاهش میزان تستوسترون پلازما در ارتباط مستقیم‌اند (*Safarinejad, 2008*). با توجه به این نکته که تستوسترون در ماهیان نقش اساسی در فرایندهای بلوغ اسپرم (اسپرماتوزنزیس و اسپرمیشن) ایفا می‌کند (*Schulz et al., 2009*)، بنابراین می‌توان گفت که القای فلوکستین موجب تغییرات جدی در بروز رفتارها و نتایج تولیدمثلی در آبزیان خواهد شد (برای مثال، کاهش تولید تخم در ماهی زبرا، *Lister et al., 2009*؛ اختلال در مسیر تولیدمثلی و کاهش هورمون استرادیول در جنسیت ماده ماهی طلایی، *Mennigen et al., 2008*؛ القای تخم‌ریزی و تغییر سطوح

استرادیول در صدف زبرا، *Dreissena polymorpha* (Lazzara et al., 2012).

بر اساس نتایج این مطالعه مشخص است که فلوکستین در رفتارهای خشونت‌ی ماهی نر در مقابل جنسیت ماده طی یک دوره تولیدمثل تأثیرگذار بوده است. زمان اولین واکنش به ماهی مزاحم در ماهیان در معرض بوده با فلوکستین در اغلب مراحل تولیدمثلی بیش‌تر از ماهیان تیمار کنترل بود. این امر نشان می‌دهد که فلوکستین سستی و رخوت را در ماهیان به همراه داشته است. (*Lynn et al. (2007)* نشان دادند که غلظت‌های ۳ و ۶ $\mu\text{g/ml}$ فلوکستین در ۳ و ۵ ساعت در معرض قراردعی موجب افزایش زمان لازم برای پاسخ ماهی جنگجوی نر به محرک مصنوعی می‌شود، اگرچه اختلاف معناداری در این رفتار گزارش نشده بود که مطابق نتایج مطالعه حاضر است. در این زمینه، تعداد رفت و برگشت‌ها به لانه و تعداد چرخش‌های ۹۰ درجه در مقابل ماهی مزاحم نیز از فلوکستین تأثیر گرفته بودند. کاهش میزان تحرک در ماهی جنگجو به دنبال القای فلوکستین از سوی دیگر محققان نیز گزارش شده است (برای مثال، *Kohlert et al., 2012*). در انسان، فلوکستین موجب کاهش استرس و حس آرامش می‌شود، هرچند میل جنسی را نیز پایین می‌آورد (*Stroud, 2012*). رفتار رفت و برگشت به لانه در ماهی جنگجو در مقابل جنسیت ماده بیش‌تر به معنای جذب آن برای جفت‌گیری است و کم‌تر شدن معنادار آن در حضور فلوکستین بیانگر کاهش میل جنسی ماهی نر برای تولیدمثل دوباره است.

رفتارهای نمایش آبخش‌ها و بازکردن باله‌ها عمومی‌ترین حالت‌های خشونت‌ی ماهی جنگجوی نر

بیش تر از ماهیانی بود که در معرض فلوکستین قرار گرفته بودند.

در نتیجه گیری کلی می توان گفت که فلوکستین با ایجاد اختلال در سیستم درون ریز و سطوح آندروژن ها و به تبع آن، تأثیر در بروز واکنش های خشونتی، نقش تخریبی زیادی بر موفقیت تولیدمثلی ماهی جنگجو دارد. فلوکستین موجب شد که ماهی میزبان در مدت زمان بیش تری به محرک پاسخ دهد که این امر احتمال ازدست دادن قلمرو را برای ماهی نر محافظ لانه بیش تر می کند. کاهش رفتارهای اصلی خشونتی همانند نمایش آبشش ها، بازکردن باله ها و گازگرفتن و کاهش سطح کلی تستوسترون از جمله تأثیرات در معرض قرارگیری ماهی جنگجو در غلظت ناچیز $0/54 \mu\text{g/L}$ فلوکستین است. مسلماً، با توجه به افزایش استفاده از داروهای SSRI برای درمان مجموعه اختلالات افسردگی، مدیریت مناسب در زمینه تصفیه پساب های شهری و بیمارستانی نیاز است تا از ورود آنها به طبیعت جلوگیری شود.

در مقابل افراد همنوع است (Dzieweczynski and Hebert, 2012) که در مطالعه حاضر به دنبال القای فلوکستین در اغلب مراحل تولیدمثلی کاهش داشتند. همچنین، گازگرفتن خشن ترین حالتی است که ماهی نر برای تقابل از خود بروز می دهد. این رفتار نیز در اثر فلوکستین کم تر شده بود. اگرچه چندین مطالعه کاهش رفتارهای فوق را در اثر فلوکستین در ماهی جنگجو نشان داده اند (Dzieweczynski and Lynn et al., Kohlert et al., 2012; Hebert, 2012; Clotfelter et al., 2007; 2007)، اما آزمایش این محققان به صورت تک فاز بوده است. این در حالی است که در مطالعه حاضر، رفتارهای ماهی جنگجوی نر در بستر یک فاز دنباله دار (تولیدمثل) بررسی شده است. با توجه به نتایج مشخص است که بروز رفتارهای اصلی خشونتی ماهی نر (نمایش آبشش ها، بازکردن باله ها و گازگرفتن) با نزدیک شدن به مراحل انتهایی تولیدمثل افزایش یافته اند. این وضعیت در هر دو تیمار آزمایشی قابل مشاهده است؛ هرچند میانگین رفتارها در اغلب مراحل تولیدمثلی در تیمار کنترل

References

- [1]. Brooks, B.W., Foran, C.M., Richards, S.M., Weston, J., Turner, P.K., Stanley, J.K., Solomon, D.R., Slattery, M., La Point, T.W., 2003. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. *Toxicological Letters* 142, 169-183.
- [2]. Clotfelter, E.D., O'Hare, E.P., McNitt, M.M., Carpenter, R.E., Summers, C.H., 2007. Serotonin decreases aggression via 5-HT_{1A} receptors in the fighting fish *Betta splendens*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 87, 222-231.
- [3]. Dzieweczynski, T.L. and Hebert, O.L., 2012. Fluoxetine alters behavioral consistency of aggression and courtship in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Physiology and Behavior* 107, 92-97.
- [4]. Fent, K., Westron, A.A., Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 76, 122-59.
- [5]. Foran, C.M., Weston, J., Slattery, M., Brooks, B.W., Huggett, D.B., 2004. Reproductive assessment of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) following a four week fluoxetine exposure (SSRI). *Archives Environmental Contaminant Toxicology* 46, 511-517.
- [6]. Forsatkar, M.N., Nematollahi, M.A., Amiri, B.M., Huang, W.B., 2014. Fluoxetine inhibits aggressive behaviour during parental care in male fighting fish (*Betta splendens*). *Ecotoxicology* 23(9), 1794-1802.
- [7]. Gaworecki, K.M., Klain, S.J., 2008. Behavioral and biochemical responses of hybrid striped bass during and after fluoxetine exposure. *Aquatic Toxicology* 80, 207-13.
- [8]. Herman, J.B., Brotman, A.W., Pollack, M.H., Falk, W.E., Biederman, J., Rosenbaum, J.F., 1990. Fluoxetine-induced sexual dysfunction. *Journal of Clinical Psychiatry* 51, 25-7.
- [9]. Jaroensutasinee, M. and Jaroensutasinee, K., 2001. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. *Journal of Fish Biology* 58, 1311-1319.
- [10]. Kohlert, J.G., Mangan, B.P., Kodra, C., Drako, L., Long, E., Simpson, H. 2012. Decreased aggressive and locomotor behaviors in *Betta splendens* after exposure to fluoxetine. *Psychological Reports* 110(1), 51-62.
- [11]. Kroon, F.J., Liley, N.R., 2000. The Role of Steroid Hormones in Protogynous Sex Change in the Blackeye Goby, *Coryphopterus nicholsii* (Teleostei: Gobiidae). *General and Comparative Endocrinology* 118(2), 273-283.
- [12]. Lazzara, R., Blázquez, M., Porte, C., Barata, C., 2012. Low environmental levels of fluoxetine induce spawning and changes in endogenous estradiol levels in the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology* 106-107, 123-13.
- [13]. Lister, A., Regan, C., Van Zwol, J., Van der Kraak, G., 2009. Inhibition of egg production in zebrafish by fluoxetine and municipal effluents: a mechanistic evaluation. *Aquatic Toxicology* 95, 320-329.
- [14]. Lynn, S.E., Egar, J.M., Walker, B.G., Sperry, T.S., Ramenofsky, M., 2007. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. *Advances in Physiology Education* 31, 353-63.
- [15]. Mennigen, J.A., Lado, W.E., Zamora, J.M., Duarte-Gutermna, P., Langlois, V.S., Metcalfe, C.D., Chang, J.P., Moon, T.W., Trudeau, V.L., 2010. Waterborne fluoxetine disrupts the

- reproductive axis in sexually mature male goldfish, *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* 100, 354-64.
- [16]. Mennigen, J.A., Martyniuk, C.J., Crump, K., Xiong, H., Zhao, E., Popesku, J., Anisman, H., Cossins, A.R., Xia, X., Trudeau, V.L., 2008. Effects of fluoxetine on the reproductive axis of female goldfish (*Carassius auratus*). *Physiological Genomics* 35, 273-282.
- [17]. Safarinejad, M.R., 2008. Evaluation of endocrine profile and hypothalamic-pituitary-testis axis in selective serotonin reuptake inhibitor-induced male sexual dysfunction. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 28, 418-423
- [18]. Schulz, R.W., de Franc, L.R., Lareyre, J.J., Legac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R.H., Miura, T., 2009. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165, 390-411.
- [19]. Stroud, P., 2012. Corticosteroidogenesis as a Target of Endocrine Disruption for the Antidepressant Fluoxetine in the Head Kidney of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thesis, University of Ottawa, p:127.
- [20]. Zajecka, J., Fawcett, J., Schaff, M., Jeffriess, H., Guy, C., 1991. The role of serotonin in sexual dysfunction: fluoxetine-associated orgasm dysfunction. *Journal of Clinical Psychiatry* 52, 66-8.