شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴
ص ۶۳۱-۶۳۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۲۰

«یافته‌های علمی کوتاه»

اثر هورمون‌های استروئیدی در القای فرایند رسیدگی نهایی در تخمک ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) در شرایط *In vitro*

❖ **باقر مجازی امیری*:** استاد گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
❖ **فاطمه فداکار ماسوله:** دکتری شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
❖ **اسفندیار نجفی:** دانشجوی دکتری شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران

چکیده

این تحقیق با هدف شناخت مؤثرترین هورمون استروئیدی در رسیدگی هم‌زمان تخمک ماهی آزاد دریای خزر انجام شد. تخمک‌های ماهی تحت تأثیر ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ ng/ml از تستوسترون، پروژسترون و ۱۷ بتا استرادیول قرار گرفتند و به مدت ۴۰ ساعت انکوبه شدند. GVBD[1] به‌منزلهٔ شاخص فعالیت هورمون‌ها در نظر گرفته شد. تأثیرات مثبت پروژسترون با افزایش غلظت هورمون افزایش یافت. تأثیرگذاری استرادیول فقط در غلظت ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود و تستوسترون نیز هیچ‌گونه تأثیر مثبتی در رسیدگی تخمک‌ها نداشت. در این آزمایش هورمون پروژسترون مؤثرترین هورمون در بروز رسیدگی و بلوغ تخمک شناخته شد.

واژگان کلیدی: دریای خزر، ماهی آزاد، هورمون استروئیدی، *in vitro*.

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۰۲۶۳۲۲۲۳۰۴۴
Email: bmamiri@ut.ac.ir

1. Germinal Vesicle Break Down

۱. مقدمه

تکثیر مصنوعی موفق در ماهی آزاد مستلزم رسیدگی هم‌زمان گامت‌های نر و ماده در کارگاه است. ۱۷ بتا استرادیول (E2) به‌منزلهٔ اصلی‌ترین استروئید در زرده‌سازی ماهیان (Lubzens et al., 2010)، ۱۱ کتوتستوسترون (11KT) به‌مثابهٔ اصلی‌ترین هورمون در تمایز جنسی ماهیان نر (Sousa, 2011) و هورمون‌های پروژسترونی در رسیدگی نهایی تخمک‌ها در گونه‌های مختلف ماهی مؤثرند (Babin et al., 2007). هدف از این مطالعه مقایسهٔ کارایی هورمون‌های استروئیدی ذکرشده در رسیدگی هم‌زمان تخمک‌ها تا رسیدن به GVBD و شناسایی مؤثرترین آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی بوده است.

۲. مواد و روش‌ها

پس از جداسازی فولیکول‌های تخمدانی از سه ماهی مولد آزاد، تخمک‌های سالم در ظروف ۲۴ چاهکه حاوی محیط کشت لیبویتز (Libovits, Sigma USA)، بافر Hepes ۵ میلی‌مولار (pH=۷/۵) و پنی‌سیلین- استرپتومایسین $۱۰۰۰۰ UL^{-1}$ (Sigma, USA) در مقابل هورمون‌های تستوسترون، پروژسترون و ۱۷ بتا استرادیول (Sigma, USA)، به غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر قرار گرفتند. انکوباسیون به مدت ۴۰ ساعت در انکوباتور مرطوب و دمای ۱۰°C انجام شد. گروهی از تخمک‌ها در الکل اتانول و گروهی دیگر نیز در محیط کشت به‌منزلهٔ شاهد قرار داده شدند. سپس، تخمک‌ها در محلول بوئن ثابت شدند و از دو منظر بیرونی و درونی بررسی شدند.

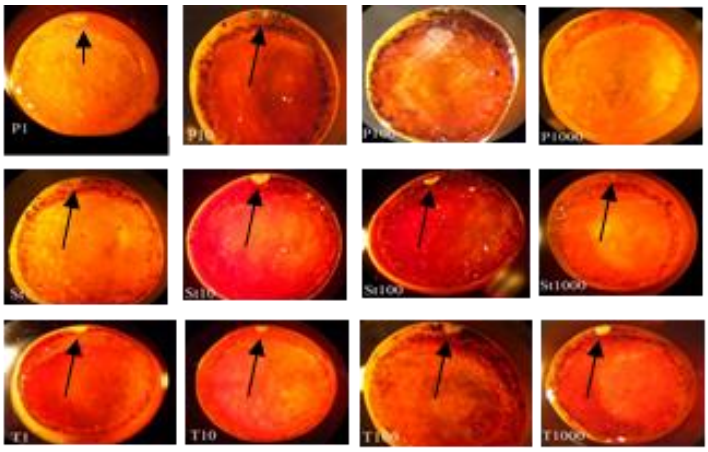
۳. نتایج

وضعیت هسته قبل از انکوباسیون و گروه‌های شاهد در وسط قطب حیوانی مشاهده شد. هورمون تستوسترون و غلظت ۱، ۱۰ و ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از هورمون E2 هیچ تغییری در وضعیت هستهٔ تخمک‌ها ایجاد نکرد. ۶۰ درصد از تخمک‌های انکوبه‌شده در ۱۰۰۰ نانوگرم از هورمون E2 ، GVBD را به‌وضوح نشان دادند. در تیمار ۱ و ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از هورمون پروژسترون هسته به شکل توده‌ای محو در قطب حیوانی مشاهده شد، اما در تخمک‌های تیمارشده با ۱۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر پروژسترون دیوارهٔ هسته شکسته شد و هسته در هیچ‌یک از بررسی‌های خارجی و داخلی موجود نبود (شکل ۱).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه پدیدهٔ GVBD در ۱۰۰ درصد تخمک‌های کشت‌یافته تحت تأثیر غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر از هورمون پروژسترون به‌وضوح مشاهده شد. پیش‌روی هسته‌ها به سمت شکسته شدن تحت تأثیر غلظت بالای هورمون استرادیول مشاهده شد، اما در هیچ‌یک از تیمارهای مربوط به تستوسترون این پدیده قابل مشاهده نبود. سه هورمون پروژسترونی 17αOHP، 17,20β,21triol و DHP به‌منزلهٔ هورمون‌های مؤثر در GVBD در تخمک ماهیان خاویاری هیبرید bester در شرایط *in vitro* گزارش شده‌اند (Mojazi amiri et al., 2001). در ماهی کپور و گربه‌ماهی نیز 17 α -20β P به‌منزلهٔ مؤثرترین استروئید القاکنندهٔ رسیدگی در شرایط *in*

vitro گزارش شـد (Nayak et al., 2001). بنـابراین، می‌توان هورمون پروژسترون را از جمله هورمون‌های القاگر مؤثر در بـروز رسـیدگی و بلـوغ تخمـک‌هـای ماهی آزاد دریای خزر معرفی کرد.



شکل ۱. نمای داخلی تخمک‌های برش‌داده‌شده تحت تیمارهای مختلف هورمونی؛
P: پروژسترون؛ St: ۱۷ بتا استرادیول و T: تستوسترون؛ پیکان‌ها نشان‌دهندهٔ هسته تخمک؛ بزرگنمایی x ۲۵.

References

[1]. Babin, P.J., Cerdá, J., Lubzens, E., 2007. The fish oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications, Springer, The Netherlands, 508 p.

[2]. Lubenz, E., Young, G., Bobe, J. & Cerda, J., 2010. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. General and Comparative Endocrinology 165, 367-389.

[3]. Mojazi- Amiri, B., Maebayashi, M., Omoto, N., Adachi, S., Yamauchi, K., 2001. In vitro oocyte maturation in a hybrid sturgeon, Bester: Changes in the germinal vesicle breakdown and 17, 20b-dihydroxy-4-pregnen-3-one production. Journal of Agricultural Science and thechnology 3, 199-207.

[4]. Nayak, P.K., Mishra, T.K., Mahapatre, C.T., Singh, B.N., Ayyappan, S., 2001. Relative in vitro effectiveness of various steroid hormones on oocyte maturation in catfish *Heteropneustes fossilis*, Indian Journal of Fisheries 48, 77-84.

[5]. Sousa, M, 2011. In vitro modeling of the oocyte development in zebrafish (*Danio rerio*): the role of hormones in maturation, apoptosis and sex-reversal of oocytes at different development stages. MSc thesis. Institute of Biomedical Sciences, Unversity of porto, 97p.