تغییرات هورمونی و متابولیکی مولد میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول

حسین آدینه*[۱]، محمد سوداگر[۲]، محمد گرگیج[۳]، محمدرضا گروسی[۱]

[۱]گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

[۲]گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

[۳]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، بندعباس، ایران.

*نویسنده مسئول: adineh.h@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۶

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی نقش هورمون ۱۷ بتا استرادیول بر پارامترهای متابولیکی و هورمون‌های استروئیدی همولنف میگوی وانامی بود. میگوها با میانگین وزن ۲/۴۶±۴۰/۱۸ گرم سطوح صفر (کنترل)، ۲۰ ، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذای تجاری مولدین (E0, E20, E40, E60) به مدت ۲۵ روز دریافت کردند. پس از سازگاری با شرایط محیطی تعداد ۸۰ میگو در ۴ تیمار (هر یک با ۲ تکرار) جایابی شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای آزمایشی و کنترل به جز هموسیانین و پروتئین پلاسما در اکثر پارامترهای مورد بررسی، تغییرات قابل توجهی وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین میزان پروتئین، کلسترول و گلوکز در تیمار E40 بترتیب برابر ۰/۳۰±۷/۲۲، ۸/۷۰±۹۷/۶۵ و ۴/۳۵±۸۰/۷۸ میلی‌گرم بر دسی-لیتر به‌دست آمد. مقدار هورمون های استروئیدی بین تیمار کنترل با دیگر تیمارهای آزمایشی (به جزء تیمار E40) تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج می‌توان گزارش داد که افزودن ۴۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذای تجاری مولدین (تیمار E40) باعث تحریک بیشتر فعالیت‌های هورمونی میگوی وانامی می‌شود.

واژگان کلیدی: میگوی سفید اقیانوس آرام، همولنف، هورمون‌های استروئیدی.

مقدمه

میگوی وانامی با نام عمومی میگوی پا سفید (Whiteleg shrimp)، میگوی سفید غربی و میگوی سفید اقیانوس آرام (Pacific white shrimp) و نام علمی *Litopenaeus Vannamei* در حال حاضر رتبه اول پرورش در ایران را به خود اختصاص داده است. از مزایای استفاده از میگوی وانامی در کارگاه-های تکثیر و پرورش تحمل محدوده وسیع شوری، مقاومت به تراکم بالا، رشد سریع و مقاومت بالا به استرس می‌باشد (Machado-Tamayo, 2006). این گونه توانایی زیادی به تکمیل چرخه زندگی خود و رسیدن به مرحله بلوغ در شرایط پرورش دارد و در استخرهای پرورشی به بلوغ جنسی می‌رسد.

سیستم غدد درون‌ریز سخت‌پوستان کاملاً با آن-چه در مهره‌داران دیده می‌شود متفاوت است و هنوز کلیه مکانسیم‌های درگیر در آن به‌خوبی شناسایی نشده است. مجموعه غده سینوسی (اندام X) واقع در دو طرف پایه‌های چشمی به‌عنوان غده درون‌ریز عصبی اصلی در سخت‌پوستان است (Chang, 1992) و مشابه فعالیت پیچیده عصبی ترشحی هیپوتالاموس- هیپوفیز در مهره‌داران است (Reddy and Ramamurthi, 1999). در این غده هورمون‌ها سنتز، ذخیره و به ترشح در همولنف برای تنظیم فرآیندهای متابولیکی مختلف کمک می‌کند.

استروئیدها گروهی از هورمون‌های غیر پپتیدی با عملکرد تولیدمثلی هستند که به اشکال مختلف همچون پروژسترون، استرادیول، استرون، تستوسترون در سخت‌پوستان شناسایی شده که در تخمدان ساخته می‌شوند (Kanazawa and Teshima, 1971). در سخت‌پوستان هپاتوپانکراس یک اندام شبیه به کبد در مهره‌داران است که نقش مهمی در کاتابولیسم هورمون‌های استروئیدی و زرده‌سازی ایفا می‌کند. استروئیدها به‌طور بیولوژیکی در سخت-پوستان فعال هستند و در بافت تخمدان میگو در

مراحل مختلف زرده‌سازی یافت شده‌اند (Fairs *et al*, 1990). محققین اظهار داشتند که تکامل تخمدان و بلوغ اووسیت‌ها در سخت‌پوستان ممکن است توسط هورمون‌های استروئیدی مشابه در ماهیان استخوانی و دوزیستان تنظیم گردند. در تکمیل این مطالب این‌گونه بیان شده است که اندام ماندیبولار سخت‌پوستان، استروئیدها و تریپنوئیدها را سنتز و ترشح می‌نمایند که ممکن است نقش کلیدی در تحریک تخمدان داشته باشند.

در سال‌های اخیر محققین به‌منظور افزایش عملکرد تولیدمثل با کمترین میزان استرس و کاهش طول دوره تخمریزی از محرک‌های تولیدمثلی در جیره غذایی مولدین خرچنگ و میگو استفاده می‌نمایند. برخی از گزارشات در ارتباط با ترکیب هورمون‌ها به غذای سخت‌پوستان وجود دارد که می‌توان به، افزودن متیل فارنسوات به پلت غذایی برای القاء زرده‌سازی خرچنگ *Procambarus clarkii* (Laufer *et al*., 1998)، استفاده از پیش‌ساز پروستاگلاندین‌ها برای تحریک بلوغ نهایی تخمدان میگوی آب شیرین (Yano, 2000)، بکارگیری هورمون ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون به غذا برای ارتقاء عملکرد تولیدمثل خرچنگ *Chasmagnathus granulata* (Zapata *et al*., 2003) و همچنین به مطالعه افزودن هورمون‌های استروئیدی (۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون، تستوسترون، ۱۷ بتا استرادیول و پروژسترون) به غذای لابستر *Panulirus interruptus* اشاره کرد (Nan *et al*., 2015).

در بیشتر مطالعات انجام شده ارزیابی میزان عملکرد تولیدمثل از جمله طول دوره تخمریزی، تعداد مولدین جفت‌گیری کرده، تعداد تخم ریخته‌شده، درصد تخم‌گشایی، تناوب پوست‌اندازی و غیره مورد توجه قرار گرفته است در حالی‌که، مطالعه مکانسیم درونی تولیدمثل میگو (تغییرات متابولیکی و هورمونی) پس از قطع پایه چشم می‌تواند ما را در درک بهتر رسیدگی جنسی در میگوهای ماده کمک نماید (آدینه و همکاران، ۱۳۹۳). در این پژوهش علاوه بر قطع یکطرفه پایه چشمی مولدین ماده، از سطوح مختلف صفر (کنترل)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون در جیره غذایی استفاده شد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان تاثیر استفاده خوراکی از هورمون ۱۷ بتا استرادیول بر پارامترهای متابولیکی و هورمونی همولنف میگوی مولد وانامی بود.

مواد و روش‌ها

آماده سازی میگوها و قطع پایه چشمی: این آزمایش در کارگاه تولید میگوی سنتدرفت واقع در بندر جاسک استان هرمزگان انجام شد. میگوهای ماده با میانگین وزنی ۲/۴۶±۴۰/۱۸ گرم از مخازن ذخیره‌سازی به مخازن تکثیر مولدین انتقال یافتند و برای سازگاری آنها به‌مدت ۵ روز در این مخازن نگهداری شدند. برای انجام قطع یکطرفه پایه چشمی میگوهای ماده وسایل همچون ساچوک صید میگو، قیچی لبه پهن، چنگک نگهدارنده پایه چشم، مخزن تولید حرارت (کپسول پیک‌نیک) تهیه گردید. بعد از صید میگو، سریعاً یکی از پایه‌های چشمی میگو با چنگک نگه داشته و از ناحیه میانی توسط قیچی داغ شده قطع گردید. برای جلوگیری از وقوع عفونت احتمالی از محلول بتادین رقیق‌سازی شده استفاده شد. تعداد ۸۰ قطعه میگوها در ۴ تیمار (هر یک با ۲ تکرار) جایابی شدند. ۴ تانک نگهداری مولدین مدور و سیاه رنگ با حجم آبگیری ۱۵۰۰ لیتر توسط قاب گونی (چهارچوب آن از تخته چوبی و پوشش آن از کیسه گونی) به دو قسمت تقسیم شدند. اتاق نگهداری میگوها در طول شبانه‌روز تاریک و آرام بود تا هیچ‌گونه استرسی به آنها وارد نشود. آب مصرفی مخازن دارای شوری ۳۰ تا ۳۲ گرم در لیتر، دمای ۲۷ تا ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد و پی‌اچ ۷/۸۴ تا ۸/۱۲ بود. تعویض آب روزانه دو دفعه در روز (هر بار در حدود ۷۰ درصد) انجام شد.

تغذیه مولدین به‌همراه مصرف خوراکی هورمون: غذای تجاری از شرکت خوراک آبزیان حاتمی (استان

هرمزگان، جاده میناب- بندرعباس، شهرک صنعتی تیرور) با ترکیب تقریبی پروتئین خام ۳۳ درصد، چربی خام ۸ درصد، فیبر خام ۴ درصد، خاکستر ۱۴ درصد و رطوبت ۱۰ درصد تهیه شد. هورمون ۱۷ بتا استرادیول از شرکت Sigma Alderich تهیه و به‌مدت ۲۵ روز به جیره تجاری افزوده شد. تیمارهای آزمایشی E0, E20, E40, E60 بترتیب شامل صفر (کنترل)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذای تجاری مولدین بود. هورمون با استفاده از روش استاندارد خشک‌سازی توسط الکل (Alcohol Dry Method) به غذا اضافه شد (علم دوست، ۱۳۸۵). بدین‌منظور مقدار هورمون مورد نیاز توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین و در الکل اتیلیک ۹۶ درجه کاملاً حل شد. محلول الکلی هورمون به‌صورت یکنواخت روی غذا اسپری شد. برای یکسان‌سازی شرایط غذایی، غذای میگوها در تیمار کنترل با الکل بدون افزودن هورمون مخلوط گردید. بعد از تبخیر کامل الکل موجود در غذا (حدود ۲۴ ساعت)، غذا جمع آوری و در طول دوره آزمایش در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد. در طی دوره رسیدگی جنسی به میگوها علاوه بر غذای تجاری حاوی سطوح مختلف هورمون از غذای تر مانند اسکوئید، آرتمیا و کرم خونی استفاده شد. تغذیه میگوها ۱۵ درصد وزن بدن در ۴ وعده انجام شد. اولین وعده غذایی ساعت ۶ صبح از غذای تجاری حاوی هورمون، دومین وعده غذایی ساعت ۱۱ صبح از اسکوئید قطع قطع شده، سومین وعده غذایی ساعت ۱۷ از آرتمیای بالغ و کرم خونی و چهارمین وعده غذایی ساعت ۲۲ از غذای تجاری حاوی هورمون استفاده شد.

سنجش هورمون و فاکتورهای بیوشیمیایی

همولنف: همولنف توسط انسولین با سرسرنگ شماره ۲۶ از سینوس شکمی در فاصله بین سفالوتراکس و اولین بند شکمی خارج شد. برای سنجش هورمون و برخی از فاکتورهای متابولیکی سرم، جداسازی پلاسما توسط سانتریفیوژ به‌مدت ۷ دقیقه در دور g ۱۵۰۰ انجام شد. سپس سرم به لوله‌های پلاستیکی درب‌دار شماره‌گذاری شده منتقل و در فریزر با دمای ۸۰- درجه‌سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر نگهداری شدند. تعیین مقادیر هورمون‌های استروئیدی (۱۷ بتا استرادیول، تستوسترون و پروژسترون) به روش Radioimmunassay با استفاده از دستگاه گاماکانتر و به کارگیری کیت Immunotech انجام شد (Migaud *et al*., 2004). مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (ایران) و با روش آنزیمی-کالریمتری مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت آگلوتیوتیک به روش ارئه شده Maggioni و همکاران (۲۰۰۴) اندازه‌گیری شد. هموسیانین بر اساس روش Adachi و همکاران (۲۰۰۱) با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پروتئین کل همولنف به روش بیورت استفاده شد (Shi *et al*., 2006). در این روش پیوندهای پپتیدی پروتئین‌ها در شرایط قلیایی با یون‌های مس دو ظرفیتی ایجاد کمپلکس آبی ارغوانی می‌کند که در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق روش Kunst و همکاران (۱۹۸۳)، غلظت گلوکز به روش رنگ سنجی با کیت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۶ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت.

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (Anova one way) و مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. رسم نمودارها در Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج

آنالیز فاکتورهای متابولیکی همولنف در جدول ۱ آورده شده است. مقدار هموسیانین بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، بیشترین میزان آن در تیمار کنترل

جدول ۱- مقایسه پارامترهای متابولیکی همولنف میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول.

تیمارها / همولنف	E0 (کنترل)	E20	E40	E60
هموسیانین (mmol/L)	۳/۱۵±۰/۱۶ a	۱/۶۸±۰/۱۸ c	۲/۲۷±۰/۱۶ b	۱/۹۸±۰/۲۱ bc
فعالیت آگلوتیوتیک (Titre)	۵۱۲/۳۹±۲۲/۳۵ a	۲۵۶/۰۰±۱۰/۷۷b	۵۱۲/۸۴±۲۲/۰۲ a	۵۰۰/۶۹±۱۳/۸۱ a
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۴۵/۷۳±۷/۳۲ a	۳۲/۱۷±۶/۰۶ b	۳۴/۳۲±۴/۷۱ ab	۳۵/۲۰±۵/۶۹ ab
کلسترول (mg/dl)	۷۳/۸۷±۵/۶۴ b	۶۰/۲۹±۶/۹۴ b	۹۷/۶۵±۸/۷۰ a	۶۱/۴۱±۸/۹۱ b
پروتئین (mg/dl)	۵/۰۲±۰/۱۹ c	۵/۹۷±۰/۲۳ b	۷/۲۲±۰/۳۰ a	۴/۳۹±۰/۳۲ d
گلوکز (mg/dl)	۴۰/۳۸±۱/۹۰ c	۴۰/۴۶±۱/۰۲ c	۸۰/۷۸±۴/۳۵ a	۷۰/۷۳±۳/۰۸ b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان از تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- مقایسه میانگین هورمون‌های استروئید میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول.

هورمون / تیمار	۱۷ بتا استرادیول (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
E0 (کنترل)	۰/۹۲±۰/۰۸bc	۰/۴۸±۰/۰۴a	۰/۵۱±۰/۰۶a
E20	۱/۰۵±۰/۱۲ab	۰/۴۵±۰/۰۴a	۰/۵۲±۰/۰۴a
E40	۱/۱۲±۰/۰۴a	۰/۲۵±۰/۰۷b	۰/۳۸±۰/۰۳b
E60	۰/۸۵±۰/۰۹c	۰/۳۸±۰/۰۴a	۰/۴۴±۰/۰۵ab

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان از تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($P<۰/۰۵$).

(۳/۱۵±۰/۱۶ میلی‌مول بر لیتر) و کمترین مقدار آن در تیمار E20 (۱/۶۸±۰/۱۸ میلی‌مول بر لیتر) بدست آمد. فعالیت آگلوتیوتیک بین تیمار کنترل با دیگر تیمارهای آزمایشی (به‌جزء تیمار E20) تفاوت معنی-داری نداشت ($P>۰/۰۵$)، کمترین مقدار این فاکتور در تیمار E20 (۲۵۶/۰۰±۱۰/۷۷) به‌دست آمد. تری-گلیسرید بین تیمارهای مصرف هورمونی و تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) به-طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار کنترل برابر ۴۵/۷۳±۷/۳۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به ثبت رسید. بیشترین مقدار کلسترول در تیمار E40 به‌دست آمد و اختلافی بین دیگر تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). مقدار پروتئین بین همه تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای E40 (۷/۲۲±۰/۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و E60 (۴/۳۹±۰/۳۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بدست آمد. بیشترین میزان گلوکز در تیمار E40 برابر ۸۰/۷۸±۴/۳۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و کمترین آن در تیمار کنترل برابر ۴۰/۳۸±۱/۹۰ میلی‌گرم بر دسی-لیتر به ثبت رسید.

مقدار هورمون‌های استروئیدی (۱۷ بتا استرادیول، پروژسترون و تستوسترون) در جدول ۲ آورده شده است. مقدار ۱۷ بتا استرادیول تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی داشت ($P<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین مقدار این هورمون در تیمار E40 (۱/۱۲±۰/۰۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین آن در تیمار E60 (۰/۸۵±۰/۰۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر) بدست آمد. پروژسترون بین تیمارهای آزمایشی و کنترل (به‌جزء تیمار E40) اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). بیشترین و کمترین مقدار این هورمون در تیمارهای کنترل و E40 به‌ترتیب برابر ۰/۴۸±۰/۰۴۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۰/۲۵±۰/۰۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر به-دست آمد. به‌جزء در تیمار E40، مقدار تستوسترون بین تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). کمترین مقدار این هورمون در تیمار E40 برابر ۰/۳۸±۰/۰۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد.

بحث

قطع یکطرفه پایه چشمی مولدین ماده میگو در محیط‌های محصور تکنیکی قابل استفاده برای تحریک بلوغ جنسی در کارگاه‌ها می‌باشد. در سال-های اخیر محققین برای تسریع در روند تولیدمثل از

هورمون‌ها به‌صورت خوراکی و تزریقی استفاده می‌کنند. در این مطالعه، علاوه بر قطع پایه چشم از سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول خوراکی در جیره مولدین جنس ماده استفاده شد. پایان دوره آزمایش همولنف استخراج و پارامترهای متابولیکی و هورمونی مورد ارزیابی قرار گرفت. همولنف به‌صورت حدواسط در انتقال مواد و ترکیبات بیوشیمیایی از هپاتوپانکراس به تخمدان در طی دوره گامتوژنز عمل می‌کند (Fatima *et al*., 2013)، بنابراین برای سنجش مقادیر پارامترهای متابولیکی و هورمون‌های استروئیدی می‌توان از آن استفاده نمود. مقدار هموسیانین و پروتئین بین تیمار کنترل و دیگر تیمارهای آزمایشی مصرف خوراکی هورمون ۱۷ بتا استرادیول تفاوت آماری معنی‌داری داشت. بیشترین میزان هموسیانین در تیمار کنترل و بیشترین مقدار پروتئین در تیمار E40 به‌دست آمد. هموسیانین پروتئین تنفسی در بندپایان است که وظیفه اصلی آن حمل اکسیژن به سمت سلول‌های بدن می‌باشد که توانایی تنظیم فشار اسمزی را دارد (Paul and Pirow, 1998). در تحقیقی (Chiu *et al*., 2006) با تزریق دوزهای 10^{-6}، 10^{-7} و 10^{-8} مول دوپامین نشان دادند که میزان پروتئین و هموسیانین میگوهای وانامی نسبت به تیمار شاهد (تزریق سرم فیزیولوژی) افزایش یافت. دلیل مغایرت در این یافته‌ها می‌تواند وجود و عدم وجود قطع پایه چشمی، نوع و روش مصرف هورمون، اندازه و نوع گونه میگو باشد. یکی از مواد مهم در سخت‌پوستان چربی‌ها هستند که نقش اساسی در متابولیسم و دیگر فعالیت‌های فیزیولوژیک از جمله مصرف انرژی در تخمدان و همچنین منبع انرژی در فرآیند زرده‌سازی دارند (Nan *et al*., 2015). کلسترول منبع اصلی در چربی‌ها است و نقش مهمی در فرآیند زرده‌سازی ایفا می‌کنند. کلسترول یکی از فاکتورهای مهم در ارتقاء بلوغ تخمدان میگوها که توسط هپاتوپانکراس جذب و از طریق لنفوسیت‌های خونی به درون تخمدان انتقال یافته و در آن‌جا تجمع می‌یابد (Wouters *et al*., 2001). در سخت‌پوستان کلسترول به‌عنوان جزئی از غشاء سلولی و همچنین به‌عنوان ماده پیش‌ساز ویتامین D و هورمون‌های استروئیدی نقش ایفا می‌کند (Klaoudatos *et al*., 2004). مقادیر به‌دست آمده در میزان کلسترول و تری‌گلیسرید تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی نداشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمارهای E40 (۹۷/۶۵±۸/۷۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کنترل (۴۵/۷۳±۷/۳۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به‌دست آمد. در مطالعه‌ای Fatima و همکاران (۲۰۱۳) غلظت پروتئین و چربی در همولنف، تخمدان، هپاتوپانکراس و ماهیچه میگوی *Fenneropenaeus merguiensis* و *F. penicillatus* در طول دوره بلوغ تخمدان مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که مقادیر چربی و پروتئین در تخمدان هر دو گونه در زمان بلوغ تخمدان افزایش یافت که این نشان از عملکرد تخمدان در جهت رسیدن به بلوغ می‌باشد.

گلوکز به‌عنوان منبع اصلی انرژی متابولیسمی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bonilla-Gómez *et al*., 2012). غلظت گلوکز در همولنف با کمیت و کیفیت کربوهیدرات موجود در غذا ارتباط دارد (Rosas *et al*., 2001). در این تحقیق، میزان گلوکز بین تیمارهای کنترل و تیمارهای خوراکی هورمون (E40 و E60) تفاوت آماری معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار E40 (۸۰/۷۸±۴/۳۵) به‌دست آمد. آدینه و همکاران (۱۳۹۵ الف) گزارش دادند که ۴۵ دقیقه بعد از تزریق هورمون، میزان گلوکز از ۲۰/۷۵±۱/۰۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به ۷۵/۱۴±۳/۲۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر افزایش یافت. افزایش گلوکز می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت هورمون آزادکننده هایپرگلیسمیک در سخت‌پوستان باشد.

در سخت‌پوستان، سلول‌های فولیکولی نقش اصلی در ترشح هورمون تحریک کننده زرده‌سازی را دارند که در نتیجه آن بلوغ تخمدان صورت می‌گیرد (Van, 1992). به‌نظر می‌رسد که سلول‌های

فولیکولی به‌طور موضعی GnRH تولید می‌کنند و گنادوتروپین موضعی ممکن است به‌صورت درون ریز و یا برون ریز در تحریک بلوغ تخمدان و تخمریزی نقش داشته باشد (Ngernsoungnern *et al*., 2008). در مطالعه حاضر علاوه بر اعمال قطع پایه چشمی، افزودن سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول به غذای میگوها باعث افزایش مقادیر بدست آمده از این هورمون در تیمارهای آزمایشی E40 و E20 شد. با افزایش مقدار این هورمون به غذا (۶۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذا) در تیمار E60 میزان هورمون ۱۷ بتا استرادیول همولنف کاهش یافت که این امر نشان از اثر منفی این دوز می‌باشد. در آزمایشی نقش ۱۷ بتا استرادیول و پروژسترون بر عملکرد تولیدمثل خرچنگ آب شیرین (*Cherax albidus*) با استفاده از ویتیلوژنین به عنوان بیومارکر بررسی شد. تزریق استرادیول باعث افزایش رونوشت ویتیلوژنین در هپاتوپانکراس شد و تزریق پروژسترون باعث افزایش غلظت ویتیلوژنین در همولنف گردید (Coccia *et al*., 2010). اگرچه اطلاعات بدست آمده نشان می‌دهد که این دو هورمون بر سنتز ویتیلوژنین از مسیرهای مختلف اثر گذاشته‌اند اما باید توجه داشت تا زمانی‌که شرایط مطلوب برای فعالیت هورمون‌ها فراهم نشود عملکرد آنها اثر قابل قبولی ندارد. مطالعه تاثیر هورمون‌های ۱۷ بتا- هیدروکسی پروژسترون، هورمون جوان III (Juvenile Hormone III) و همچنین ضد دوپامین اسپیپرون (Spiperone) با دوزهای بترتیب $۱۰^{-۸}$، $۱۰^{-۸}$ و $۱۰^{-۷}$ مول از طریق ترکیب با غذا و تزریق در خرچنگ *Chasmagnathus granulate* باعث افزایش شاخص گنادوسوماتیک تخمدان در فصل تابستان و بهار گردید (Zapata *et al*., 2003) بنابراین رشد تخمدان نشان از مناسب بودن شرایط زیستی و هورمونی می‌باشد.

پروژسترون نقش مهمی در تولیدمثل بازی می‌کند و تحقیقات نشان داده است که پروژسترون در مرحله نزدیک به زرده‌سازی افزایش می‌یابد (Subramoniam, 2000). در این آزمایش کمترین مقادیر به‌دست آمده از هورمون‌های پروژسترون و تستوسترون در تیمار آزمایشی E40 مشاهده شد. به‌هر حال علت کاهش این هورمون‌ها می‌تواند به‌دلیل تغییر در دیگر انواع کلسترول‌ها در طی بلوغ تخمدان باشد (Chen *et al*., 2014). در تحقیقی (Nan *et al*., 2015) نشان دادند که افزودن هورمون‌های استروئیدی به غذا لابستر خاردار *Panulirus interruptus* باعث کاهش هورمون پروژسترون شد که همسو با مطالعه حاضر است. تزریق $۱۰^{-۷}$ مول هورمون ۱۷ بتا هیدرواکسی پروژسترون باعث رشد و بلوغ تخمدان خرچنگ *Oziotelphusase nexsenex* شد بنابراین می‌توان اظهار داشت که می‌توان از این هورمون برای تحریک سخت‌پوستان تجاری استفاده نمود (Reddy *et al*., 2006). همچنین در مقایسه بین تیمار اعمال قطع پایه چشمی و تیمارهای تزریق سطوح مختلف هورمون اواپریم مشخص شد که تزریق هورمون به تنهایی نمی‌تواند باعث تکامل و رسیدگی کامل جنسی میگوی وانامی شود و برای افزایش کارایی تکثیر بهتر است عمل قطع پایه چشمی و مصرف هورمون باهم انجام شود (آدینه و همکاران، ۱۳۹۵ ب). هورمون‌های ممانعت‌کننده از تولیدمثل در پایه چشم اثر منفی بر عملکرد تولیدمثل می‌گذارد که با قطع یکطرفه پایه چشمی این اثر کاهش می‌یابد. در سال‌های اخیر تحقیقات انجام شده برای تسریع در روند تولیدمثل بیشتر به استفاده تزریقی از انواع هورمون‌های تحریک‌کننده تولیدمثل معطوف شده است در حالی‌که در این مطالعه به بررسی اثرات مصرف خوراکی هورمون در جیره غذایی مولدین ماده میگوی وانامی مورد توجه قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

محققین در مطالعات متعددی تاثیر مثبت تزریق هورمون‌های مختلف استروئیدی بر تحریک بلوغ تخمدان و تخمریزی را ثبت کرده‌اند اما به نظر می‌-

رسد بهتر است برای کاهش استرس در کارگاه تکثیر هورمون‌ها به‌صورت خوراکی استفاده شوند. نتایج متابولیکی حاصل از مصرف خوراکی سطوح مختلف هورمون ۱۷ بتا استرادیول نشان داد که بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بررسی مقادیر هورمونی بدست آمده نشان از اثربخش بودن مصرف خوراکی به میزان ۴۰ میلی‌گرم هورمون بر ازای هرکیلوگرم غذای تجاری مولدین می‌باشد، اما برای دستیابی به نتایج دقیق و جامع‌تر پیشنهاد می‌گردد استفاده از هورمون‌های مختلف تحریک‌کننده تولیدمثل، نوع غذای مصرفی (انواع غذای تر و خشک)، اندازه و مرحله پوست اندازی میگو، مدیریت شرایط نگهداری مولدین مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله با حمایت مالی دانشگاه گنبد کاووس انجام شده است. نگارنده از زحمات کارشناسان کارگاه تکثیر میگوی سنتدرفت بندر جاسک تشکر و قدردانی را دارد.

منابع

آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۳. مطالعه مکانیسم درونی تولیدمثل میگو پس از قطع پایه چشمی. *اولین همایش ملی آبزی‌پروری نوین- چالش‌ها و فرصت‌ها*. صفحات: ۸-۱.

آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۵ (الف). تاثیر قطع پایه چشمی و تزریق هورمون بر عملکرد تولیدمثل و استرس فیزیولوژیکی در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*). *فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری*، ۸ (۴): صفحات ۲۲۶- ۲۱۹.

آدینه ح.، سوداگر م.، صالحی ح.، حسینی ع.، قلی پور ح. ۱۳۹۵ (ب). مقایسه اثرات قطع پایه چشمی و تزریق هورمون اواپریم بر روند رسیدگی جنسی، مطالعات بافت‌شناسی و ترکیبات بیوشیمیایی میگوی مولد وانامی. *مجله بوم‌شناسی آبزیان*، ۶ (۱): صفحات ۷۱- ۶۲.

علم دوست ا. ۱۳۸۵. بررسی امکان نرسازی ماهی هاپ آبی (*Sciaenochromis ahli*) با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران. صفحات ۸۵- ۱۳.

Adachi K., Hirata T., Nagai K., Sakaguchi M. 2001. Hemocyanin a most likely inducer of black spots in kuruma prawn *Penaeus japonicus* during storage. *Journal of Food Science* 66, 1130-1136.

Bonilla-Gómez J.L., Chiappa-Carrara X., Galindo C., Jeronimo G., Cuzon G., Gaxiola G. 2012. Physiological and biochemical changes of wild and cultivated juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Crustacea: Penaeidae) during molt cycle. J*ournal of Crustacean Biology* 32, 597-606.

Chang E.S. 1992. Endocrinology. In: Fast, A.W., Laster, J. (Eds.), Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp: 53-91.

Chen T.L., Zhang P., Wong N.K., Zhong M., Ren, C.H., Hu C.Q. 2014. Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) vitellogenesis-inhibiting hormone (VIH) is predominantly expressed in the brain and negatively regulates hepatopancreatic vitellogenin (VTG) gene expression. *Biology of Reproduction* 90, 1-10.

Chiu H.T., Yeh S.P., Huang S.H., Chang C.C., Kuo C.M., Cheng W. 2006. Dopamine induces transient modulation of the physiological responses of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 251, 558-566.

Coccia E., Delisa E., Dicristo C., Dicosmo A., Paolucci M. 2010. Effects of estradiol and progesterone on the reproduction of the freshwater crayfish (*Cheraxalbidus*). *Biological Bulletin* 218, 36-47.

Fairs N.J., Quinlan P.T., Goad L.J. 1990. Changes in ovari-an unconjugated and conjugated steroid titers during vitellogenesis in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 89, 83-99.

Fatima H., Ayub Z., Ali S.A., Siddiqui G.

2013. Biochemical composition of the hemolymph, hepatopancreas, ovary, and muscle during ovarian maturation in the penaeid shrimps *Fenneropenaeus merguiensis* and *F. penicillatus* (Crustacea: Decapoda). *Turkish Journal of Zoology* 37, 334-347.

Kanazawa A., Teshima S. 1971. In vivo conversion of cholesterol to steroid hormones in the spiny lobster, *Panularis japonicus*. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 37, 891-898.

Klaoudatos S., Iakovopoulos D.G., Klaoudatos D.S. 2004. *Pagellus erythrinus* (common Pandora): a promising candidate species for enlarging the diversity of aquaculture production. *Aquaculture International* 12, 299-320.

Kunst, A., Draeger, B., Ziegenhorm, J. 1983. UV- methods with hexoquinase and glucose- 6- phosphate dehydrogenase. In: Bergmeyer, H.U. Ed., Methods of Enzymatic Analysis. vol. 6, 3rd ed. Verlag Chemie, Weinheim, pp: 163-185

Laufer H., Biggers W.J. and Ahl J.S.B. 1998. Stimulation of ovarian maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* by methyl farnesoate. *General Comparative Endocrinology* 111, 113-118.

Machado-Tamayo R.J. 2006. Assessment of genetic variability in two lots of White shrimp, *Litopenaeus Vannamei* (Boon, 1931) introduced to Cuba. Master in Science thesis. Norwegian College of Fishery Science, University of Tromso, Norway.

Maggioni D.S., Andreatta E.R., Hermes E.M., Barracco A. 2004. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture* 241, 501-515.

Migaud H., Fontaine P., Wang N., Brun-Bellut J. 2004. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 241, 561-574.

Nan F.H., Wu Y.S., Chang N.C. 2015. The effect of steroid hormone feeds on the reproductive biology of the Spiny Lobster, *Panulirus interruptus* (J. W. Randall, 1840) (Decapoda, Palinura). *Crustaceana* 88, 1367-1386.

Ngernsoungnern A., Ngernsoungnern P., Weerachatyanukul W., Chavadej J., Sobhon P., Sretarugsa P. 2008. The existence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) immunoreactivity in the ovary and the effects of GnRHs on the ovarian maturation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 279, 197-203.

Paul R., Pirow R. 1998. The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates. *Zoology* 100, 319-327.

Reddy P.R., Kiranmayi P., ThanujaKumari K., Reddy P.S. 2006. 17α-Hydroxyproges-terone induced ovarian growth and vitellogenesis in the freshwater rice field crab *Oziotelphusa senexsenex*. *Aquaculture* 254, 768-775.

Reddy P.S., Ramamurthi R. 1999. Recent trends in crustacean endocrine research. PINSA 65, 15-32.

Rosas C., Cuzon G., Gaxiola G., Le Priol Y., Pascual C., Rossignyol J., Contreras F., Sanchez A., Van Wormhoudt A. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259, 1-22.

Shi X., Li D., Zhuang P., Nie F., Long L. 2006. Comparative blood biochemistry of amur sturgeon, *acipenserschrenchii*, and Chinese sturgeon, *Acipensersinesis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 32, 63-66.

Subramoniam T. 2000. Crustacean ecdysteriods in reproduction and embryogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology* 125 C, 135-156.

Van H.F. 1992. Inhibiting and stimulating neuropeptides controlling reproduction in Crustacea. Invertebr. *Journal of Reproduction and Development* 22, 21–30.

Wouters R., Piguave X., Bastidas L., Calderon J., Sorgeloos P. 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research* 32, 573-582.

Yano I. 2000. Endocrine control of reproductive maturation in economically important crustacean for aquaculture. In: Adiyodi, K.G., Adiyodi, R.G. (Eds.), Reproductive Biology of Invertebrates, vol.

X. Wiley, New York, pp: 161-194.
Zapata V., López Greco L.S., Medesani D., Rodríguez E.M. 2003. Ovarian growth in the crab *Chasmagnathus granulata* induced by hormones and neuroregulators throughout the year. In vivo and in vitro studies. *Aquaculture* 224, 339-352.

Changes of hormone and metabolic parameters of White shrimp broodstock, *Litopenaeus vannamei*, fed with different levels of 17 beta-estradiol

Hossein Adineh*[1], Mohammad Sudagar[2], Mohammad Gorgij[3], Mohammad Reza Garousi[1]

[1]Department of Fisheries, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
[2]Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
[3]Fisheries Department, Faculty Natural Resources, Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, Bandar Abbas, Iran.
*Corresponding author: adineh.h@gmail.com

Received: 2018/1/4 Accepted: 2018/3/17

Abstract

The purpose of this study was to find the role of 17 beta-estradiol on metabolic parameters and steroid hormones of *Litopenaeus vannamei* hemolymph . Shrimp with an average weight of 40.18±2.46 g received 0, 20, 40 and 60 mg/kg levels (E0, E20, E40 and E60) in the diet for 25 days. After adaptation to the rearing conditions, 80 shrimps were placed in 4 treatments (each with 2 replications). The results showed no significant changes in the majority of the parameters analyzed, except for the Haemocyanin and protein in the plasma (P>0.05). The highest protein, cholesterol and glucose levels in E40 treatment were 7.22±0.30, 97.65±8.70 and 80.78±4.35 mg/dL, respectively. There was no significant difference in the amount of steroid hormones between treatments with other treatments (except E40 treatment) (P>0.05). Based on the results, it can be reported that adding 40 mg of hormone to broodstock commercial feed improves hormonal activities of *L. vannamei*.

Keywords: Pacific white shrimp, Hemolymph, Steroid hormones.