

## "مقاله پژوهشی"

## شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسمای خون و ترکیب تخمک مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii*) دریای خزر در مراحل انتهایی تولیدمثل

مرضیه عباسی<sup>۱</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۱،۲\*</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران

۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۳

### چکیده

این تحقیق با هدف بررسی روند تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون و ترکیب تخمک مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii*) در مراحل پایانی تولیدمثل انجام گردید. در پایان فصل تخم‌ریزی، در مجموع ۱۵ عدد ماهی سفید ماده در سه گروه مولدین قبل از تخم‌ریزی، آماده تخم‌ریزی و پس از تخم‌ریزی از رودخانه سفیدرود واقع در جنوب دریای خزر صید شدند. خونگیری و تخم‌کشی از هر گروه از مولدین انجام گرفت و پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون (تری‌گلیسرید، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل) و ترکیب تخمک (رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر) اندازه‌گیری شدند. آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی، اختلاف معنی‌داری در مقدار تری‌گلیسرید خون مولدین مرحله قبل از تخم‌ریزی با دو گروه دیگر مولدین نشان داد. در مقدار گلوکز پلاسمای ماهیان آماده تخم‌ریزی تفاوت معنی‌داری با دو گروه دیگر مولدین دیده شد. پروتئین کل و کلسترول بین گروه‌های مختلف مولدین تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند. آنالیز ترکیب تخمک نشان داد که در مقدار رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر بین گروه‌های مختلف مولدین تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بین پروتئین کل خون با پروتئین تخمک در مولدین قبل و پس از تخم‌ریزی همبستگی معنی‌داری مشاهده شد. مولدین مرحله قبل از تخم‌ریزی همبستگی معنی‌داری بین تری‌گلیسرید خون و چربی تخمک نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای خون و ترکیب تخمک مولدین ماده ماهی سفید دریای خزر در پایان فصل تخم‌ریزی تغییر کرده و با نوساناتی همراه می‌باشند.

**کلمات کلیدی:** پلاسمای خون، تولیدمثل، تخمک، *Rutilus frisii*

## مقدمه

ژنتیکی (Watanabe and Vassallo-Agius, 2003) و پارامترهای زیست محیطی (Atse *et al.*, 2002) بستگی داشته و در طول فصل تخم‌ریزی نوساناتی نشان می‌دهد (Faulk and Holt, 2008; Fuiman and Ojanguren, 2011).

پارامترهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل) نیز نشان دهنده وضعیت فیزیولوژیک مولدین بوده و در فصل تولیدمثل نوساناتی نشان می‌دهند (Erdouan *et al.*, 2002) زیرا برخی از این مواد در فرایندهای زرده سازی به عنوان ذخیره غذایی در تخمک انباشته شده و موجب بروز تغییراتی در ترکیب بیوشیمیایی تخمک می‌شوند (Jia *et al.*, 2014).

اگرچه مطالعات متعددی نوسان پارامترهای بیوشیمیایی خون در مراحل مختلف تولیدمثل را نشان داده‌اند (Firozbakhsh *et al.*, 2013; Jia *et al.*, 2014; Hatami Nasari *et al.*, 2014) اما روند نوسانات این پارامترها و تغییر در ترکیب تخمک در مراحل پایانی تخم‌ریزی و طی فرایند فوق رسیدگی تنها در مطالعات اندکی گزارش شده است (Zalepuchin, 2007; Hadjinikolova *et al.*, 2008).

ماهی سفید (*Rutilus frisii*) یکی از مهمترین گونه‌های اقتصادی دریای خزر می‌باشد که رود کوچ بوده و هر ساله برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های منتهی به دریای خزر مانند سفیدرود وارد می‌شود (Abdollahy *et al.*, 2011) اما متأسفانه به علت صید بی‌رویه، آلودگی، از بین رفتن زیستگاه‌ها و محل‌های طبیعی تخم‌ریزی، ذخایر این ماهی به‌طور عمده‌ای کاهش یافته است (Gharache *et al.*, 2013). از این رو یکی

یکی از رویدادهایی که در فصل تولیدمثل ماهی اتفاق می‌افتد نوسان پارامترهای بیوشیمیایی خون (Aras *et al.*, 2008) و تغییر کیفیت تخمک تولیدی می‌باشد (Mohagheghi Samarini *et al.*, 2015). کیفیت تخمک یکی از عوامل محدود کننده تولید تخم و توسعه آبی‌پروری بوده (Bobe and Labbe, 2010) که توسط فاکتورهای مانند وضعیت داخلی بدن، شرایط زیست محیطی، دستکاری‌های هورمونی، شیوه‌های مدیریت مولدین و غیره تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Mejri *et al.*, 2014). در تکثیر مصنوعی ماهی، کیفیت تخمک منعکس کننده تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مولدین می‌باشد (Zalepuchin, 2007) و بر بقا و موفقیت توسعه لاروی اثر می‌گذارد. در نتیجه هر گونه تغییر خصوصیات بیوشیمیایی تخمک می‌تواند نرخ تفریح و رشد لارو را تحت تاثیر قرار دهد (Valdebenito *et al.*, 2015). مهمترین عامل تاثیرگذار بر کیفیت تخمک، فوق رسیده شدن می‌باشد (Rime *et al.*, 2004)، زیرا در این شرایط تغییرات بیوشیمیایی مهمی در درون تخمک اتفاق می‌افتد که می‌تواند موجب تغییر کیفیت آن شود (Mohagheghi Samarini *et al.*, 2015). پارامترهای بسیاری برای تعیین کیفیت تخمک وجود دارند که از آن جمله می‌توان به ترکیب بیوشیمیایی تخمک (پروتئین، چربی، کربوهیدرات و خاکستر) اشاره نمود، که اهمیت بسیاری داشته و اطلاعات مهمی درباره ذخایر تخمک ارائه می‌دهد (Lubzens *et al.*, 2010; Samaee *et al.*, 2010; Lanes *et al.*, 2012). ترکیب بیوشیمیایی تخمک در بین گونه‌های مختلف متفاوت بوده و به طیف وسیعی از فاکتورها مانند تفاوت‌های

تغییرات فیزیولوژیک در مراحل پایانی تولیدمثل این گونه فراهم آید.

### مواد و روش‌ها انتخاب ماهی

مولدین ماده ماهی سفید در دهه سوم فروردین ماه ۱۳۹۵ در فصل مهاجرت تولیدمثلی، از مصب رودخانه سفیدرود (واقع در جنوب دریای خزر) (دمای آب ۱۵ درجه سانتی‌گراد) با تور پره (اندازه چشمه ۳۲-۲۸ میلی‌متر) جمع‌آوری و با کامیون مجهز به مخازن اکسیژن‌دهی به مرکز باسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل منتقل شدند. مشخصات زیستی ماهیان صید شده شامل طول کل با دقت ۱ سانتی‌متر و وزن کل با دقت ۱ گرم ثبت شد (جدول ۱) و مولدین بر اساس مشخصات ماکروسکوپی شرح داده شده توسط Patterson و همکاران (۲۰۰۴) و همچنین Brown-Peterson و همکاران (۲۰۱۱) به سه گروه تقسیم شدند (جدول ۲).

جدول ۱: مشخصات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) مولدین ماده ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صید شده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می باشد).

مرحله تولیدمثلی			
پارامتر	قبل از تخم‌ریزی	آماده تخم‌ریزی	پس از تخم‌ریزی
وزن (گرم)	۱۵۰۴/۶۴ $\pm$ ۵	۱۲۳۶/۳۷ $\pm$ ۰/۷	۹۶۴/۴۴ $\pm$ ۰/۳
طول کل (سانتی‌متر)	۵۱/۰ $\pm$ ۴/۹	۵۰/۰ $\pm$ ۲/۸	۴۸/۰ $\pm$ ۴/۷

جدول ۲: مشخصات ماکروسکوپی رسیدگی جنسی در مولدین ماده ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صید شده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل. برگرفته از Patterson و همکاران (۲۰۰۴) و Brown-Peterson و همکاران (۲۰۱۱).

مرحله تولیدمثلی	مشخصات ظاهری
قبل از تخم‌ریزی	در این گروه از مولدین، اووسیت‌ها با وارد آوردن فشار بسیار زیادی به حفره شکمی خارج می‌شدند.
آماده تخم‌ریزی	در این ماهیان اووسیت‌ها به راحتی و بدون هیچ فشاری به ناحیه شکمی بیرون ریخته می‌شدند.
پس از تخم‌ریزی	در این گروه اووسیت‌ها تحت آترشیا قرار گرفته بودند.

### طرح آزمایش و جمع آوری تخمک و پلاسما

تعداد ۱۵ مولد ماده ماهی سفید صید شده از مصب رودخانه سفیدرود انتخاب شدند و هر مولد با دوز ۱ mg/kg عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی تزریق شد (Ahmadnezhad et al., 2012). سپس مولدین تزریق شده به یک مخزن فایبرگلاس (حجم آبیگری ۱۷۰۰ لیتر، دما ۱۶ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ۸ میلی‌گرم در لیتر) انتقال داده شدند. ۲۴ ساعت پس از تزریق عصاره هیپوفیز، بر اساس مشخصات ماکروسکوپی برگرفته از Patterson و همکاران (۲۰۰۴) و همچنین Brown-Peterson و همکاران (۲۰۱۱) مولدین در دو گروه قبل از تخم‌ریزی و آماده تخم‌ریزی تفکیک شدند و برای هر گروه ۵ عدد ماهی انتخاب شد. سپس تخم‌کشی به صورت دستی و با فشار آوردن به ناحیه شکمی هر مولد صورت گرفت و تخمک هر ماهی به درون ظروف پلاستیکی منتقل و سپس تعداد تخمک در هر گرم برای هر مولد با شمارش تعداد تخمک‌ها در یک نمونه ۱ تا ۲ گرمی محاسبه شد. پس از آن، نمونه‌های گرفته شده تخمک برای آزمایش‌های بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی-گراد قرار داده شدند.

برای فوق رسیده کردن ماهی‌ها، ۵ عدد مولد در حال تخم‌ریزی، تخم‌کشی نشده و به مدت ۷۲ ساعت در حوضچه بتنی (حجم آبیگری ۸۰۰ لیتر، دما ۱۶ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ۸ میلی‌گرم در لیتر) نگهداری شدند. پس از این مدت، با فشار به محوطه شکمی، نمونه تخمک این گروه از مولدین نیز گرفته شد و تعداد تخمک در هر گرم برای هر مولد محاسبه گردید. سپس نمونه تخمک برای آزمایش‌های بعدی به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد. پس از

تخم‌کشی از هر سه گروه از مولدین، خونگیری از سیاهرگ دمی و با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری هپارینه انجام شد. نمونه‌های خون به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ g سانتریفیوژ (یونیورسال، تهران، ایران) شدند. نمونه‌های پلاسما جمع‌آوری و برای آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

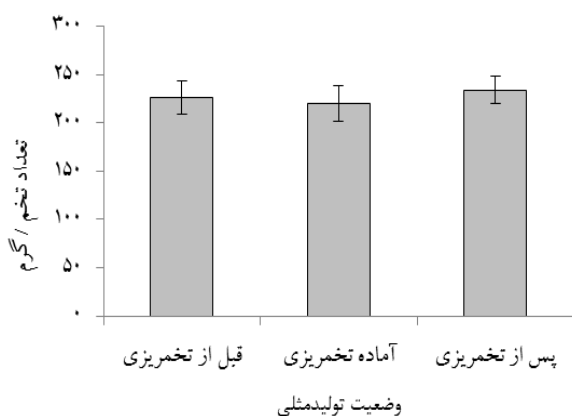
### آنالیز تقریبی نمونه‌های تخمک

نمونه‌های تخمک هر گروه از مولدین از فریزر خارج و در محیط آزاد یخ‌زدایی شدند و مقادیر رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر با روش ارائه شده توسط AOAC (1995) اندازه‌گیری شدند. برای تعیین مقدار رطوبت، نمونه‌های تخمک به مدت ۱۲ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از دستگاه خارج شده، در دسیکاتور قرار گرفتند و در نهایت با محاسبه وزن خشک شده هر نمونه، میزان رطوبت محاسبه گردید. اندازه‌گیری پروتئین با روش کلدال و قرار دادن ۰/۵ گرم وزن خشک تخمک در هر بالن به مدت ۴۰ دقیقه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از خنک شدن، بالن حاوی نمونه به دستگاه کلدال متصل و سود به آن اضافه شد و در نهایت درصد پروتئین با استفاده از فرمول  $N \times 6.25$  (مقدار ازت) محاسبه گردید. اندازه‌گیری چربی با استفاده از دستگاه سوکسله (Bakhshi, Tehran, Iran) و با قرار دادن ۱ گرم تخمک خشک شده به مدت ۴۵ دقیقه در حلال N-هگزان در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس نمونه‌ها از دستگاه خارج و برای خشک شدن در آون قرار داده شدند و پس از وزن شدن، درصد چربی

(Levene) مورد بررسی قرار گرفت. برای داده‌هایی که نرمال بودند ولی همگنی واریانس نداشتند از آزمون Dunnet's T-3 استفاده شد. ارتباط بین پارامترهای بیوشیمیایی خون و تخمک با استفاده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson Correlation) بررسی شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار ( SPSS (16, Inc., Chicago, IL, USA انجام گرفت و تفاوت‌ها در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شدند.

### نتایج

تعداد تخمک به ازای گرم در هر گروه از مولدین در شکل ۱ نشان داده شده است. بیشترین تعداد تخمک به ازای گرم در مولدین پس از تخم‌ریزی (۲۳۴ عدد) و کمترین در مولدین آماده تخم‌ریزی (۲۲۰ عدد) مشاهده شد اما بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).



شکل ۱: تعداد تخمک در گرم (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) در سه گروه از مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صید شده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می باشد).

محاسبه گردید. مقدار خاکستر با قرار دادن ۱ گرم نمونه خشک شده داخل هر بوته چینی و قرار دادن در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت محاسبه شد. پس از آن نمونه‌ها در دسیکاتور خشک شده و در نهایت میزان درصد خاکستر محاسبه شد.

### بیوشیمی خون

به منظور انجام آنالیزهای بیوشیمیایی خون مولدین، سطوح کلسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز با استفاده از کیت‌های تشخیصی (پارس آزمون، کرج، ایران) و طبق پروتکل مربوطه با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شدند (Morris and Davey, 2001). جذب نوری نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۵۴۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (آمریکا، نیوجرسی، شرکت UV/Vis 2100 plus, Unico) تعیین شد. برای تعیین مقدار پروتئین کل در نمونه‌های پلاسما از روش رفراکتومتری استفاده گردید به طوری که یک قطره از پلاسما بر روی صفحه دستگاه رفراکتومتر (Tokyo, Atago, Japan) ریخته شد و غلظت پروتئین کل در مجاورت نور قرائت شد که با مقدار پروتئین کل در نمونه برابر بود (Campbell, 2015).

### تجزیه و تحلیل آماری

برای مشاهده روند تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون و ترکیب تخمک در هر گروه مولدین ماهی سفید از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و سپس آزمون دانکن (Duncan test) استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و لون

نتایج پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در تخمک مولدین ماهی سفید در جدول ۳ نشان داده شده است. بین میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر اندازه‌گیری شده در مولدین قبل و آماده تخم‌ریزی با مولدین پس از تخم‌ریزی تفاوت معنی‌دار دیده شد ( $p > 0.05$ ). بیشترین میزان هر یک از پارامترهای رطوبت، پروتئین و چربی تخمک به ترتیب در مولدین پس از تخم‌ریزی، آماده تخم‌ریزی و قبل از تخم‌ریزی مشاهده شد. میزان خاکستر نیز در ماهیان پس از تخم‌ریزی به طور معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود ( $p > 0.05$ ).

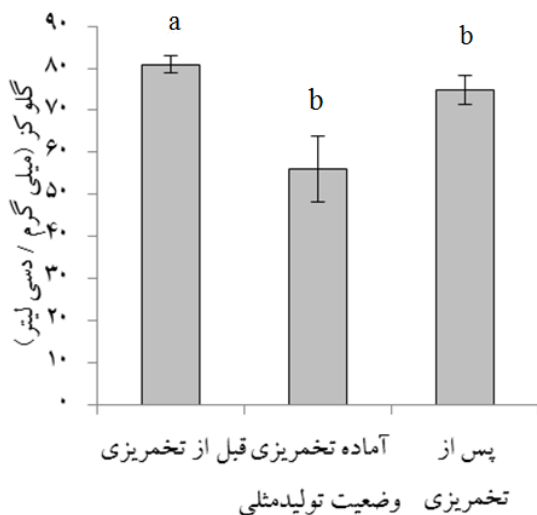
جدول ۳: ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) در تخمک مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صید شده از دریای خزر در انتهای فصل تولیدمثل (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می‌باشد).

پارامتر (درصد)	وضعیت تولیدمثل		
	پس از تخم‌ریزی	آماده تخم‌ریزی	قبل از تخم‌ریزی
رطوبت	۷۲/۲ $\pm$ ۸۸/۰۴ <sup>a</sup>	۶۶/۰ $\pm$ ۳۰/۲۹ <sup>b</sup>	۶۶/۰ $\pm$ ۱۴/۷۱ <sup>b</sup>
پروتئین	۱۶/۱ $\pm$ ۲۱/۳۱ <sup>b</sup>	۲۲/۰ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>a</sup>	۲۱/۰ $\pm$ ۹۹/۵۹ <sup>a</sup>
چربی	۰/۰ $\pm$ ۹۲/۱۰ <sup>b</sup>	۱/۰ $\pm$ ۳۵/۰۱ <sup>a</sup>	۲/۰ $\pm$ ۰۴/۱۹ <sup>a</sup>
خاکستر	۰/۰ $\pm$ ۳۳/۰۷ <sup>b</sup>	۰/۰ $\pm$ ۶۸/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۰ $\pm$ ۶۱/۰۹ <sup>a</sup>

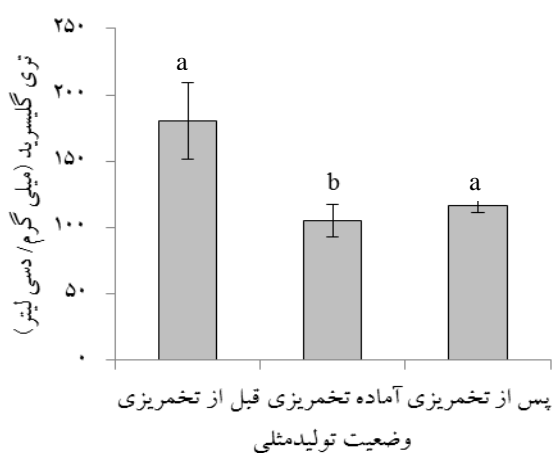
حروف متفاوت (a,b) در هر ردیف نشان دهنده اختلاف بین تیمارها می‌باشد ( $p > 0.05$ ).

نتایج اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما خون در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین مقدار تری-گلیسرید و گلوکز در مولدین قبل از تخم‌ریزی و کمترین میزان آن در مولدین آماده تخم‌ریزی دیده شد (شکل ۲ الف و ب؛  $p < 0.05$ ) اما پروتئین کل و کلسترول پلاسما در بین سه گروه مولدین تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان نداد (شکل ۲ ج و د؛  $p > 0.05$ ).

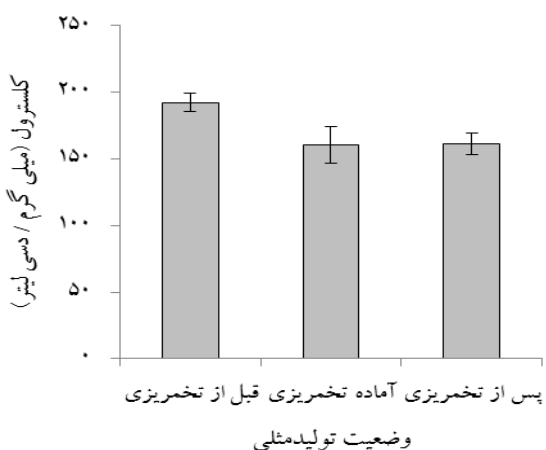
الف



ب



ج

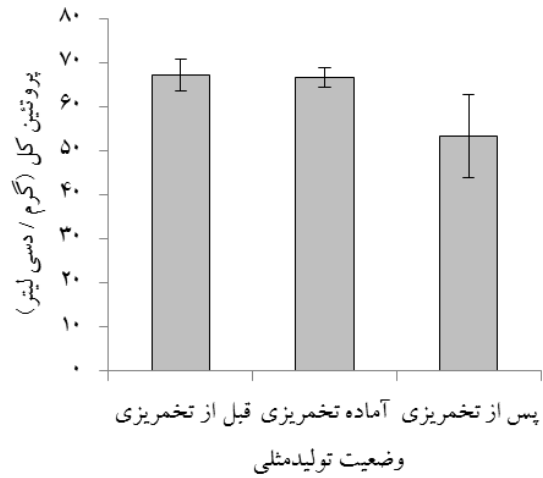


د

ارتباط معنی‌داری بین چربی تخمک با تری‌گلیسرید ( $P=0/11, R^2=-0/782$ ) و کلسترول خون ( $0/182$ ) تخم‌ریزی نیز چربی تخمک با تری‌گلیسرید ( $P=0/76, R^2=-0/615$ )، و کلسترول خون ( $P=0/27, R^2=0/428$ )، ارتباطی نشان نداد. ( $P=0/47$ )

جدول ۴: ارتباط بین پروتئین کل پلاسمای خون با پروتئین اندازه‌گیری شده در تخمک مولدین ماده ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صیدشده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل. (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می‌باشد).

P value	R <sup>2</sup>	مدل رگرسیون
0/04	-0/886	از قبل تخم‌ریزی $y = -1/3945x + 74/295$
0/41	-0/483	در حال تخم‌ریزی $y = -2/7923x + 83/871$
0/04	-0/891	پس از تخم‌ریزی $y = -0/3543x + 61/57$



شکل ۲: تغییرات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) در سه گروه از مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صیدشده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل. تری‌گلیسرید (الف)، گلوکز (ب)، پروتئین کل (ج) و کلسترول پلاسما (د) (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می‌باشد).

همبستگی بین پروتئین کل خون با پروتئین تخمک در هر سه گروه مولدین نیز بررسی شد (جدول ۴). در مولدین قبل از تخم‌ریزی ( $P=0/04, R^2=-0/886$ ) و پس از تخم‌ریزی ( $P=0/04, R^2=-0/891$ ) همبستگی متوسط، منفی و معنی‌داری بین پروتئین کل پلاسما و پروتئین تخمک مشاهده شد. مولدین در حال تخم‌ریزی همبستگی ضعیف، منفی و غیرمعنی‌داری بین این دو پارامتر نشان دادند ( $P=0/41, R^2=-0/483$ ).

ارتباط بین پارامترهای بیوشیمیایی تری‌گلیسرید و کلسترول خون با چربی تخمک در هر سه گروه مولدین ماهی سفید بررسی شد (جدول ۵). مولدین مرحله قبل از تخم‌ریزی همبستگی متوسط و معنی‌داری ( $P=0/09, R^2=0/813$ ) بین تری‌گلیسرید خون و چربی تخمک نشان دادند. در این مولدین بین کلسترول خون و چربی تخمک ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ( $P=0/40, R^2=0/489$ ). در مولدین مرحله تخم‌ریزی

جدول ۵: ارتباط بین تری گلیسرید و کلسترول خون با چربی تخمک در مولدین ماده ماهی سفید (*Rutilus frisii*) صید شده از رودخانه سفیدرود در انتهای فصل تولیدمثل. (تعداد در هر مرحله ۵ مولد می‌باشد).

قبل از تخم‌ریزی			در حال تخم‌ریزی			پس از تخم‌ریزی		
مدل رگرسیونی	R <sup>2</sup>	P value	مدل رگرسیونی	R <sup>2</sup>	P value	مدل رگرسیونی	R <sup>2</sup>	P value
تری-گلیسرید	۰/۸۱۳	۰/۰۹	۴/۴۰۶ x +	۰/۷۸۲	۰/۱۱	۷/۹۵۹ x +	۰/۶۱۵	۰/۲۷
			y = -۰/۰۵۱۰	y = ۰/۰۱۵۹		y = ۰/۱۱۶۴		
کلسترول	۰/۴۸۹	۰/۴۰	۱/۳۲۵ x +	-۰/۱۸۲	۰/۷۶	۲۶/۳۳۸ x +	۰/۴۲۸	۰/۴۷
			y = ۰/۰۱۱۲	y = ۰/۰۳۷۰		y = -۰/۱۲۸۵		

## بحث

تولیدمثل ماهی بر فیزیولوژی بدن تاثیر گذاشته و موجب بروز تغییراتی در وضعیت فیزیولوژیک موجود می‌شود (Svobodova et al., 2001). یکی از تاثیرات تولیدمثل بر فیزیولوژی ماهی، نوسان پارامترهای بیوشیمیایی خون مولدین می‌باشد. چربی‌ها در ماهی به-عنوان یک منبع مهم انرژی برای تولیدمثل شناخته شده-اند زیرا تولید تخم توسط ماده‌ها به مقدار زیادی لپید احتیاج دارد. چربی‌های غیر قطبی عمدتاً شامل کلسترول و تری گلیسریدها می‌باشند (Tocher, 2003) که می‌توانند به‌عنوان ذخایر انرژی و پیش ماده ساخت هورمون در فرایندهای تولیدمثل ماهی مورد استفاده قرار گرفته و دچار نوسان شوند. در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار تری گلیسرید در مولدین قبل از تخم‌ریزی و کمترین مقدار آن در مولدین آماده تخم‌ریزی دیده شد که با مشاهدات Svobodova و همکاران (۲۰۰۱) بر روی لای ماهی (*Tinca tinca*) و Hatami Nasari و همکاران (۲۰۱۴) بر روی شانگک زرد باله (*Acanthopagrus slatus*) مطابقت

داشت. Svobodova و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که تغییرات مشاهده شده در غلظت تری گلیسرید مولدین لای ماهی در مراحل مختلف تخم‌ریزی احتمالاً با چرخه‌های تولیدمثل در ارتباط بوده و به‌عنوان شاخصی برای مرحله تولیدمثل در نظر گرفته می‌شود. همچنین در پایان زرده‌سازی، سطوح هورمون‌های جنسی تغییر یافته و از آنجا که تری گلیسریدها برای بیوسنتز این هورمون‌ها استفاده می‌شوند در مراحل پایانی تولیدمثل در سطوح پلاسمایی تری گلیسریدها نیز نوساناتی مشاهده می‌شود. Huynh و همکاران (۲۰۰۷) نوسانات سطوح چربی ماهیان مولد را مستقیماً به بلوغ جنسی و تخم‌ریزی ماهی ارتباط دادند. در مطالعه حاضر، نوسانات مقادیر سطوح پلاسمایی تری گلیسرید مولدین در مراحل مختلف تولیدمثل می‌تواند با مصرف انرژی در ارتباط باشد. در این فرایندها تری گلیسریدها به‌عنوان منبع انرژی عمل می‌کنند (Bon et al., 1997; Hemati Nasari, 2014).

شکل عمده ذخیره انرژی در ماهی تری گلیسرید می‌باشد که در کبد و عضلات ذخیره می‌شود. در

تولیدمثلی ماهی در ارتباط بوده و به نمونه‌برداری در فصل‌های مختلف مربوط می‌باشد.

مقدار گلوکز مولدین ماهی سفید قبل و بعد از تخم‌ریزی با مولدین آماده تخم‌ریزی تفاوت معنی‌داری نشان داد به گونه‌ای که بیشترین مقدار در مرحله قبل از تخم‌ریزی و کمترین مقدار در مولدین در حال تخم‌ریزی مشاهده شد که با نتیجه گزارش شده توسط Kocaman و همکاران (۲۰۰۵) بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مطابقت و با مشاهده Yasemi و Nikoo (۲۰۱۰) بر روی ماهی سفید مغایرت دارد. در مطالعه حاضر، مقادیر بالای گلوکز در مولدین قبل از تخم‌ریزی می‌تواند به‌عنوان یک منبع انرژی اضافی برای پاسخ به نیاز انرژی ماهی در مرحله بعدی یعنی تخم‌ریزی بوده باشد. کاهش گلوکز مولدین در حال تخم‌ریزی نیز می‌تواند ناشی از مصرف گلوکز در فرایند تخم‌ریزی بوده باشد. همچنین در مطالعه موجود احتمالاً استرس ناشی از فرایندهای حمل و نقل ماهی، نگهداری مولدین در مخازن و القای هورمونی باعث نوسان مقدار گلوکز در مولدین مراحل مختلف شده باشد زیرا گلوکز یک پارامتر بسیار متغیر است که به‌شدت توسط دستکاری و سایر عوامل استرس‌زا تحت تاثیر قرار می‌گیرد ( Prasad and Charles, 2010).

مقدار پروتئین کل خون می‌تواند برای ارزیابی شرایط و وضعیت فیزیولوژی ماهی مورد استفاده قرار گیرد (Svetina et al., 2002). در مطالعه فعلی، با آنکه سطوح پروتئین کل بین مولدین اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما مقدار آن در مولدین قبل و در حال تخم‌ریزی بیشتر از مولدین تخم‌ریزی کرده بود که با مطالعه Hatami Nasari و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت

مطالعه حاضر، همبستگی متوسط و معنی‌داری بین تری-گلیسرید خون و چربی تخمک مولدین مرحله قبل از تخم‌ریزی دیده شد. Sutharshiny و همکاران (۲۰۱۳) در ماهی تون خالدار (*Scomberoides lysan*) بین چربی بافت گناد و مراحل رسیدگی گناد ارتباط مهمی نشان دادند. در مطالعه موجود ارتباط معنی‌دار بین چربی خون و تخمک می‌تواند از سرمایه‌گذاری بالاتر انرژی در تولیدمثل و نیاز تخمک به تجمع چربی برای ادامه بقای لارو نشأت گیرد زیرا در طول بلوغ و تخم‌ریزی، ذخایر چربی از کبد و عضلات حرکت کرده و به درون گناد و تخمک‌ها انتقال می‌یابند.

علاوه بر تری‌گلیسرید، کلسترول نیز در توسعه تخمدان، زرده سازی و رشد و نمو تخمک مورد استفاده قرار می‌گیرد و سطوح پلاسمایی آن در مراحل مختلف تولیدمثلی دارای نوسان می‌باشد ( Svobodova et al., 2001, Johnson, 2009). همچنین کلسترول در آماده‌سازی فیزیولوژیک ماهی جهت عمل تولیدمثل و افزایش هورمون‌های جنسی ضروری می‌باشد (نصری تجن و زهرابی، ۱۳۹۸). در مطالعه حاضر، بین سه گروه مولدین ماهی سفید تغییری در مقدار کلسترول مشاهده نشد در حالی که در تحقیق Hatami Nasari و همکاران (۲۰۱۴) بر روی ماهی ماده شانک زرد باله وحشی صید شده از خلیج فارس تفاوت‌هایی در غلظت‌های کلسترول پلازما در قبل و بعد از تخم‌ریزی مشاهده شد. همچنین Svobodova و همکاران (۲۰۰۱) نیز کاهش سطوح کلسترول پلازما در لای ماهی ماده تخم‌ریزی کرده را گزارش کردند. با این اوصاف به‌نظر می‌رسد که تغییرات مشاهده شده در مقدار کلسترول مولدین در مراحل مختلف با چرخه‌ها و فرایندهای

در مطالعه حاضر با نزدیک شدن مولدین ماده ماهی سفید به مراحل پایانی تخم‌ریزی، در پارامترهای بیوشیمیایی خون نوساناتی مشاهده شد و با فوق رسیده شدن ماهی، ترکیب تخمک تغییراتی نشان داد. آگاهی از نوسانات و روند تغییرات فیزیولوژی ماهی در مراحل پایانی تولیدمثل می‌تواند در برنامه‌های انتخاب و مدیریت مولدین و به دنبال آن، رشد و توسعه لاروی اثرگذار باشند. به عبارتی درک شاخص‌های فیزیولوژیک پلاسمای خون و ترکیبات بیوشیمیایی تخمک در گونه با ارزشی همچون ماهی سفید ضروری می‌باشد زیرا این اطلاعات می‌تواند در تکثیر به موقع مولدین، استحصال تخمک‌هایی با کیفیت مناسب و افزایش نرخ رشد و بازماندگی لارو اثرگذار باشند.

### سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم از زحمات مدیریت و کارشناسان محترم مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل، آقایان مهندس عفت پناه، مهندس مکت خواه، دکتر رحمتی و کارشناسان آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی آقایان دکتر موسی‌پور و مهندس زمانی و همچنین آقایان عبدالله‌پور و رازگردانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

داشت. این موضوع می‌تواند ناشی از این باشد که در فصل تولیدمثل مولدین آماده تخم‌ریزی احتمالاً از مقادیر بالای پروتئین به عنوان یک منبع انرژی به‌منظور مهاجرت ماهی به بالا دست رودخانه استفاده می‌کنند (Leonard and McCormick, 1999). در جمعیت‌های وحشی ماهیان، ترکیب و کیفیت تخمک توسط عوامل خارجی و فاکتورهای زیست محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Lahnsteiner et al., 2001، ناصری و همکاران، ۱۴۰۱). یکی از عوامل محدودکننده در موفقیت تکثیر مصنوعی ماهی فوق رسیده شدن تخمک می‌باشد (Bahre Kazemi et al., 2010). در مطالعه حاضر تمام پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در تخمک مولدین تخم‌ریزی کرده با تخمک مولدین دو گروه دیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند، در حالی که Jia و همکاران (۲۰۱۴) تفاوت معنی‌داری در مقدار رطوبت، پروتئین و چربی تخمک‌های کفشک ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) در طول فصل تخم‌ریزی مشاهده نکردند. پروفیل ترکیب شیمیایی تخمک در بین گونه‌های مختلف، متفاوت بوده و ممکن است در طول فصل تخم‌ریزی تغییراتی در این پروفیل دیده شود (Faulk and Holt, 2008; Fuiman, Aegerter and Jalabert, and Ojanguren, 2011, 2004). در ماهی سفید ماده، تغییرات در گلوکز، کلاسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل تابعی از فصل و وضعیت تولیدمثلی می‌باشد (Bani and Vayghan, 2011).

- Leuciscus cephalus*. Italian Journal of Animal Science, 7, 439-448.
8. Atse, C.B., Audet, C., De La nouee, J., 2002. Effects of temperature and salinity on the reproductive success of Arctic charr, *Salvelinu salpinus* (L.): egg composition, milt characteristics and fry survival. Aquaculture Research, 33, 299-309.
  9. Bahre Kazemi, M., Soltani, M., Matinfar, A., Abtahi, B., Pusti, I., Mohagheghi Samarin, A., Mojazi Amiri, B., 2010. Biochemical and histological studies of over-ripened oocyte in the Caspian brown trout *Salmo trutta caspius* to determine biomarkers for egg quality. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9, 33-48.
  10. Bani, A., Hagi Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research, 58, 126-133.
  11. Bobe, J., Labbé, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, 165, 535-548.
  12. Bon, E., Corraze, G., Kaushik, S., Le Menn, F., 1997. Effects of accelerated photoperiod regimes on the reproductive cycle of the female rainbow trout: seasonal variations of plasma lipids correlated with vitellogenesis. Comparative Biochemistry and Physiology, 118A, 183-190.
  13. Brown-Peterson, N.J., Wyanski, D.M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B.J., Lowerre-Barbieri, S.K., 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes, marine and coastal fisheries. Dynamics, Management and Ecosystem Science, 3, 52-70.
  14. Campbell, T.W., 2015. Exotic animal hematology and cytology, John Wiley and Sons. USA, 424 p.
  15. Erdoúan, O., Halüloúlu, H.U., Ciltas, A., 2002. Annual cycle of serum gonadal steroids and serum lipids in *Capoeta capoeta umbla*, Guldenstaedt, 1772 (Pisces: Cyprinidae). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 26, 1093-1096.
  16. Faulk, C.K., Holt, G.J., 2008. Biochemical composition and quality of captive-spawned

## منابع

۱. ناصری، س.، حسین زاده صحافی، ه.، عبدالحی، ح.، سپهداری، ا.، صیاد بورانی، م.، ۱۴۰۱. بررسی رشد سوماتیک و گنادیک ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ماده پرورش یافته در قفس در دریای خزر. نشریه توسعه آبرزی پروری، (۳)، ۱۶، ۱۱۶-۱۰۳.
۲. نصری تجن، م.، زهرابی، م.، ۱۳۹۸. مقایسه برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) و شیپ (*Acipenser nudiventris*) وابسته به سن و جنسیت. نشریه توسعه آبرزی پروری، (۲)، ۱۳، ۱۳۸-۱۲۵.
3. Abdollahy, H.A., Daud, S.K., Rezvani Ghilkolahi, S., Pourkazemi, M., Siraj, S.S. Abdul Satar, M.K., 2011. Fingerling production and stock enhancement of Mahisefid *Rutilus frisii kutum* lessons for others in the south of Caspian Sea. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 21, 247-257.
4. Aegerter, S., Jalabert, B., 2004. Effects of post ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 231, 59-71.
5. Ahmadnezhad, M., Oryan, SH., Hosseinzadeh Sahafi, H., Khara, H., Sattari, M. 2012. Effects of LHRH-A2 and chlorpromazine (dopamine antagonists) on inducing spawning in Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*, from the southwest of the Caspian Sea. Caspian Journal of Environmental Sciences, 10, 33-42.
6. AOAC., 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA. 1298 p.
7. Aras, M., Bayir, A., Sirkecioglu, A., Polat, H., Bayir, M., 2008. Seasonal variations in serum lipids, lipoproteins and some haematological parameters of chub

25. Johnson, R.B., 2009. Lipid deposition in oocytes of teleost fish during secondary oocyte growth. *Fisheries Research*, 17, 78-89.
26. Kocaman, E.M., Yanik, T., Erdogan, O., Ciltas, A.K., 2005. Alterations in cholesterol, glucose and triglyceride levels in reproduction of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4, 801-804.
27. Lahnsteiner, F., Urbanyi, B., Horvath, A., Weismann, T., 2001. Biomarkers for egg quality determination in cyprinid fish. *Aquaculture*, 195, 331-352.
28. Lanes, C.F.C., Bizuayehu, T.T., Bolla, S., Martins, C. Fernandes, J.M.D., Bianchini, A. Kiron, V., Babiak, I., 2012. Biochemical composition and performance of Atlantic cod *Gadus morhua* L eggs and larvae obtained from farmed and wild broodstocks. *Aquaculture*, 324, 267-275.
29. Leonard, J.B.K., McCormick, S.D., 1999. Changes in haematology during upstream migration in American shad. *Journal of Fish Biology*, 54, 1218-1230.
30. Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerda, J., 2010. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 367-389.
31. Mejri, S., Audet, C., Vandenberg, G.W., Parrish, C.C., Tremblay, R., 2014. Biochemical egg quality in a captive walleye *Sander vitreus* broodstock population relative to ovulation timing following hormonal treatment. *Aquaculture*, 431, 99-106.
32. Mohagheghi Samarin, A., Polica, T., Lahnsteiner, F., 2015. Fish oocyte ageing and its effect on egg quality. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 23, 302-314.
33. Morris, M., Davey, F., 2001. Basic examination of blood, clinical diagnosis and management by laboratory methods. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 20, 479-519.
34. Patterson, D.A., Macdonald, J.S., Hinch, S.G., Healy, M.C., Farrell, P., 2004. The effect of exercise and captivity on energy partitioning, reproductive maturation and fertilization success in adult Sockeye coho *Rachycentron canadum* eggs. *Aquaculture*, 279, 70-76.
17. Fazli, H., Daryanabard, G.R., Abdolmaleki, S.H., Bandani, G.A., 2013. Stock management implication of Caspian Kutum *Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901 in Iranian waters of the Caspian Sea. *Ecopersia*, 1, 179-190.
18. Firouzbakhsh, F., Abedi, Z., Rahmani, H., Khalesi, M., 2013. A comparative study of some blood factors in male and female Caspian Kutum *Rutilus frisii kutum* broodstock from the southern basin of the Caspian Sea. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 320-325.
19. Fuiman, L.A., Ojanguren, A.F., 2011. Fatty acid content of eggs determines antipredator performance of fish larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 407, 155-165.
20. Gharache, M.H., Paighambary, S.Y., Golpour, A., 2013. Hematological and biochemical indices of Kutum *Rutilus frisii kutum*, associated with capture methods. *Comparative Clinical Pathology*, 23, 979-982.
21. Hadjinikolova, L., 2008. Investigations on the chemical composition of carp *Cyprinus carpio* L, bighead carp *Aristichthys nobilis* rich and pike *Esox lusius* L during different stages of individual growth. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14, 121-126.
22. Hatami Nasari, F., Kochanian, P., Salati, A.P., Pashazanoosi, H., 2014. Variation of some biochemical parameters in female yellowfin sea bream *Acanthopagrus latus*. *Folia Zoologica*, 63, 238-244.
23. Huynh, M.D., Kitts, D.D., Hu, C., Trites, A.W., 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 146B, 504-511.
24. Jia, Y., Meng, Z., Liu, X., Lei, J., 2014. Biochemical composition and quality of turbot *Scophthalmus maximus* eggs throughout the reproductive season. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 1093-1105.

- parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50, 459-467.
40. Svobodova, M., Kouril, J., Hamaakova, J., Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z., Vykusova, B., 2001. Biochemical profile of blood plasma of tench *Tinca tinca* during pre- and post spawning period. *Acta Veterinaria Brno*, 70, 259-268.
  41. Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipid and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 11, 107-184.
  42. Valdebenito, I.I., Gallegos, P.C., Effer, B.R., 2015. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. *Zygote*, 23, 177-197.
  43. Watanabe, T., Vassallo Agius, R., 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 227, 36-61.
  44. Yasemi, M., Nikoo, M., 2010. The impact of captivity on fertilization, cortisol and glucose levels in plasma in Kutum broodstock. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9, 478-484.
  45. Zalepuchin, V., 2007. Endogenic various quality concept in the formation of biological resources of carp fish. PhD Thesis, Kuban State University. 137 p.
  - salmon. *Journal of Fish Biology*, 64, 1039-1059.
  35. Prasad, G., Charles, S., 2010. Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish *Horabagrus brachysoma* (Gunther 1864). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 435-443.
  36. Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B., 2004. Post-ovulatory ageing and egg quality: a proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 26-36.
  37. Samaee, S.M., Mente, E., Estevez, A., Gimenez, G., Lahnsteiner, F., 2010. Embryo and larva development in common dentex *Dentex dentex*, a pelagophil teleost: the quantitative composition of egg-free amino acids and their interrelations. *Theriogenology*, 73, 909-919.
  38. Sutharshiny, S., Sivashanthini, K., Thulasitha, W.S., 2013. Lipid changes in relation to maturation and spawning of tropical double spotted queenfish, *Scomberoides lysan* (Forsskål, 1775). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8, 555-570.
  39. Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M., Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical