

آماده انتشار

بررسی مقایسه‌ای تغییرات فیزیولوژیکی تولید مثلی مولدین ماهی کپور دریایی وحشی و پرورشی
(*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

عافیه ناظر^۱، حسین آدینه^{۲*}، محمد هرسیج^۳، حجت الله جعفریان^۴، محمد فرهنگی^۵

۱- دانشجوی دکتری شیلات- صید و بهره‌برداری آبیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد

کاووس، ایران. رایانامه: afiehnazer1990@gmail.com

۲- نویسنده مسئول، دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

رایانامه: adineh.h@gmail.com; adineh.h@gonbad.ac.ir

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه:

m_harsij80@yahoo.com

۴- استاد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه:

hojat.jafaryan@gmail.com

۵- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. رایانامه:

s.farhangi@yahoo.com

Doi: [10.22069/japu.2025.23091.1920](https://doi.org/10.22069/japu.2025.23091.1920)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۱۰-۰۲

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳-۱۱-۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۱۱-۱۶

چکیده

مطالعه تغییرات هورمون‌های جنسی و بیوشیمیایی سرم خون نقش مهمی در مطالعات پایه و کاربردی فیزیولوژی تولیدمثل آبیان دارد. هدف از اجرای این پژوهش بررسی هورمون‌های جنسی، یونی، متابولیسم چربی و شاخص‌های خون‌شناسی در مولدین ماده ماهی کپور دریایی و دریایی پرورشی بود. تعداد ۴۰ مولد ماده ماهی کپور (۲۰ ماهی دریایی و ۲۰ ماهی پرورشی) تعیین سن گردید. برای مقایسه فاکتورهای هورمونی‌های جنسی و بیوشیمیایی از ۲۰ مولد ماده کپور در محدوده سن ۳ و ۴ ساله دریایی (بترتیب S3 و S4) و دریایی پرورشی (بترتیب C3 و C4) در زمان تخم‌ریزی خونگیری و نمونه‌های خون به دو قسمت تقسیم شدند. در پژوهش حاضر غلظت هورمون‌های استروئیدی بین گروه‌های آزمایش اختلاف معنی‌دار آماری داشت، بیشترین مقدار غلظت تستوسترون، ۱۷بتا- استرادیول، پروژسترون و کمترین مقدار غلظت هورمون ویتلوزنین

در سرم خون مولدین دریایی پرورشی بدست آمد (C3 و C4). غلظت یون‌ها بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت بطوریکه بیشترین مقدار غلظت یون سدیم و منیزیم و کمترین غلظت کلسیم، آلکالین فسفاتاز و پروتئین در سرم خون مولدین ماده کپور دریایی بدست آمد (S3 و S4). غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL کاهش و HDL افزایش معنی‌دار آماری در مولدین دریایی داشت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، همتوکریت، نوتروفیل و مونوسیت در خون مولدین دریایی پرورشی (بویژه در گروه C3) مشاهده شد. بطورکلی نتایج نشان داد که در جنس ماده مولدین وضعیت هورمون جنسی، غلظت یون‌ها و متابولیسم چربی تحت تاثیر سن نبوده بلکه عامل محل زندگی مولدین (دریایی و پرورشی) بر فاکتورهای فیزیولوژیکی تولیدمثل اثر معنی‌دار آماری داشت.

کلمات کلیدی: مولدین کپور دریایی، فیزیولوژی تولیدمثل، پاسخ‌های متابولیکی، هورمون‌های جنسی

Comparative study of reproductive physiological changes in wild and farmed sea carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) broodstock

Afieh Nazer¹, Hossein Adineh^{*2}, Mohammad Harsij³, Hojjatollah Jafaryan⁴, Mohammad Farhangi⁵

- 1- PhD student in Fisheries - Catching and Exploitation of Aquatic Animals, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: afiehnazer1990@gmail.com
- 2- Corresponding Author, Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: adinh.h@gmail.com; adinh.h@gonbad.ac.ir
- 3- Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: m_harsij80@yahoo.com
- 4- Professor, Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: hojat.jafaryan@gmail.com
- 5- Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: s.farhangi@yahoo.com

Abstract

The study of changes in sex hormones and blood serum biochemical plays an important role in basic and applied studies of aquatic reproductive physiology. The aim of this study was to investigate sex hormones, ionic, lipid metabolism, and hematological indices in female sea carp and farmed sea carp brood stock. Forty female carp brood stock (20 marine and 20 farmed marine) were age-determined. To compare sex hormonal and biochemical factors, blood samples at the time of ovulation were collected from 20 wild (S3 and S4, respectively) and farmed sea carp (C3 and C4, respectively) brood stock with 3 and 4 years old, and divided into two parts. In the present study, the concentrations of steroid hormones had a statistically significant difference between the experimental groups. The highest concentrations of testosterone, 17 β -estradiol, progesterone, and the lowest concentrations of vitellogenin hormone were found in the blood serum of cultured marine broodstock (C3 and C4). The concentration of ions was statistically significantly different between the experimental groups, with the highest concentrations of sodium and magnesium ions and the lowest concentrations of calcium, alkaline phosphatase, and protein were found in the blood serum of female sea carp broodstock (S3 and S4). Triglyceride, cholesterol and LDL concentrations decreased and HDL increased significantly in marine broodstock. The results of statistical analysis showed that the highest number of red blood cells, hemoglobin, hematocrit, neutrophils, and monocytes were observed in the blood of cultured marine brood stock (especially in group C3). In general, the results showed that in the female brood stock, the sex hormones status, Ion concentration, and lipid metabolism was not affected by age, but the factor of the brood stock habitat (marine or farmed) had a statistically significant effect on the reproduction physiological factors.

Keywords: Sea carp brood stock, reproductive physiology, metabolic responses, sex hormones

دریای خزر با وسعت ۴۳۶ هزار کیلومتر مربع بزرگترین دریاچه بسته جهان است (۱) که در حدود ۱۷ خانواده، ۵۳ جنس و ۱۲۳ گونه و زیرگونه ماهی را در خود جای داده است (۲). ماهی کپور دریا با نام علمی (*Cyprinus carpio*) به طور طبیعی در حوضه دریای سیاه، دریای آرال و دریای خزر زندگی می کند بطوریکه در ایران دارای ۳ جمعیت تالابی، مصبی و پرورشی می باشد. جمعیت وحشی (تالابی و مصبی) تنها در حوضه دریای خزر زیست نموده ولی جمعیت پرورشی آن امروزه در اغلب آبهای داخلی استان های کشور وجود دارد (۳). در مدیریت صید باید به سه اصل اساسی همچون مدیریت ذخایر آبی به منظور جلوگیری از صید بی رویه و تنظیم فعالیت صید، کاهش آلودگی ها و احیای زیستگاه های طبیعی و بازسازی مکان تخریب شده تخم ریزی آبریان و همچنین افزایش ذخایر از طریق تکثیر و رهاسازی آبریان به محیط زیست توجه داشت. از عوامل مهم در کاهش ذخایر این گونه در دریای خزر می توان به افزایش صید بی رویه و غیرمجاز، افزایش سطح آلودگی آب، احداث سد و در نتیجه از بین رفتن بستر تخم ریزی اشاره کرد (۴). هر ساله صید مولدین وحشی کپور و تکثیر مصنوعی و نیمه مصنوعی در مرکز تکثیر ماهیان استخوانی سیجوال در استان گلستان- ایران با هدف رهاسازی بچه ماهی و بهبود ذخایر دریای خزر انجام می شود (۵).

فیزیولوژی ماهیان یک سیستم بسیار پیچیده بوده که تحت تأثیر عوامل خارجی (مانند شرایط محیطی و تغذیه ای) و عوامل داخلی (ژنتیک و ترشحات هورمونی) قرار می گیرد. هر یک از این عوامل قادرند به عنوان یک عامل استرس زا بویژه در مولدین ماده نقش ایفاء نمایند و موجب توقف چندین مرحله از سیکل تولید مثلی از جمله گامتوژنز (شامل مراحل آغازین یا تکمیلی، کمیت و کیفیت تخمک ها)، بلوغ اووسیت ها و اوولاسیون و در نرها بلوغ اسپرم، رفتارهای جنسی و اسپرم ریزی گردند (۶)، بنابراین در کارگاه های تکثیر بایستی در انتخاب مولدین (دریایی و پرورشی) بسیار دقت نمود. بررسی و سنجش تغییرات هورمون های جنسی، فاکتورهای بیوشیمیایی و الکترولیت های خون از جمله موارد مرتبط با فیزیولوژی تولید مثل است که نقش مهمی در مطالعات پایه و کاربردی در این زمینه دارد (۷). درخصوص مطالعات انجام شده در ارتباط با فیزیولوژیکی تولیدمثل مولدین ماهی کپور دریای خزر می توان به بررسی مقایسه ای برخی پارمترهای زیستی در ماهی کور معمولی وحشی و پرورش یافته (۳)، بررسی برخی ویژگی های زیستی ماهی کپور دریایی منطقه مصبی گرگانرود (۴)، اثرات سن و وزن مولدین ماهی کپور صید شده از دریا و مولدین دریایی پرورش یافته در استخرهای خاکی روی برخی خصوصیات تولیدمثلی (۸) و بررسی تغییرات شاخص های یونی و هورمونی سرم خون مولدین وحشی کپور دریایی و مولدین دریایی پرورش یافته (۹) اشاره کرد. مطالعات متعددی در ارتباط با تغذیه و شرایط زیستی برای مولدین کپور انجام شده است اما بررسی تفاوت های پاسخ فیزیولوژیک در سنین مختلف در کپور ماهیان دریایی و پرورشی بسیار محدود می باشد از اینرو، هدف از اجرای این پژوهش

بررسی تغییرات هورمون‌های استروئیدی جنسی، متابولیسم یونی و چربی سرم خون و همچنین شاخص‌های خون‌شناسی مولدین ماهی کپور دریایی وحشی و پرورشی در سنین ۳ و ۴ ساله بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌براری از ماهی کپور دریایی وحشی و پرورشی

مولدین جنس ماده کپور دریایی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) صید شده از دریا به تعداد ۲۰ قطعه و کپور دریایی پرورشی به تعداد ۲۰ قطعه در مرکز تکثیر ماهیان استخوانی سیجوال (بندر ترکمن- استان گلستان) پس از صید تعیین سن گردید. بدین منظور تعدادی فلس از زیر باله پشتی و بالای خط جانبی (۱۰) مولدین ماده دریایی و پرورشی جدا و توسط استریومیکروسکوپ و بزرگنمایی ۱۵× سن آنها مشخص گردید. تکثیر مولدین دریایی و پرورشی به روش نیمه مصنوعی با تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر هورمون اوپریم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد (۸). در زمان رسیدگی نهایی و همزمان با تخم‌ریزی جهت مقایسه فاکتورهای خونی از مولدین ماده کپور دریایی با سنین ۳ و ۴ ساله (بترتیب S3 و S4) به تعداد ۱۰ قطعه و مولدین ماده کپور پرورشی با سنین ۳ و ۴ ساله (بترتیب C3 و C4) به تعداد ۱۰ قطعه خونگیری و نمونه‌های خون به دو قسمت تقسیم شد. خون هپارینه برای اندازه‌گیری پارامترهای خون‌شناسی و خون غیر هپارینه برای سنجش هورمون‌های جنسی، یون‌های مرتبط با تولیدمثل و فاکتورهای متابولیکی استفاده شد. نمونه‌های خون جهت اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی روی پودر یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. برای جداسازی سرم خون تیوپ‌های حاوی خون بدون هپارین در دمای ۴ درجه سانتیگراد یخچال به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و پس از ته‌نشین شدن لخته، نمونه‌های خون برای جداسازی سرم با سرعت ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ و سرم از لخته جدا و توسط سمپلر درون ویال‌های مربوطه منتقل و تا زمان بررسی‌های هورمون‌های تولیدمثلی و بیوشیمیایی درون فریزر با دمای ۸۰- درجه نگهداری شد (۱۱).

سنجش هورمون‌های جنسی، یونی و متابولیسم چربی مولدین

سنجش هورمون‌های ۱۷-بتا استرادیول، تستوسترون، پروژسترون و ویتلوجنین توسط کیت تشخیصی به روش رادیوایمونواسی (RIA) و با دستگاه گاما کانتر انجام شد (۱۲). یون‌های سدیم و پتاسیم سرم خون توسط دستگاه فلیم فتومتر مدل (Jenway pfp 7, England) و کلسیم و منیزیم سرم خون توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV/IS England-S2000) اندازه‌گیری شد (۱۳). غلظت گلوکز و پروتئین کل سرم خون بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد (۱۴). غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم خون با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری خواهد گردید (۱۵). سطح کلسترول و تری‌گلیسرید با روش آنزیمی تعیین خواهد شد و جذب

نوری در طول موج ۵۰۰ نانومتر سنجیده شد (۱۶). برای تفکیک لیپوپروتئین‌های سرم خون از روش الکتروفورز بر روی ژل استفاده شد. این لیپوپروتئین‌ها شامل لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته‌ی کم (LDL) هستند. در مرحله بعد رنگ آمیزی و تثبیت رنگ انجام شد (۱۱).

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی

برای فاکتورهای خون‌شناسی مانند تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز (RBC) با استفاده از لام هموسیتومتر نتوبار، درصد هماتوکریت (HCT) به روش استاندارد میکروهماتوکریت، غلظت هموگلوبین (Hb) به روش سیات‌مت هموگلوبین (۱۷). اندازه‌گیری ضرایب گلبولی (MCV، MCH، MCHC) از طریق فرمول‌های ذیل اندازه‌گیری گردید (۱۸).

$$MCV = (HCT/RBC) \times 10, MCH = (Hb/RBC) \times 10, MCHC = (Hb/RBC) \times 100$$

به‌منظور شمارش تفریقی گلبول‌های سفید (نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت‌ها) نیز گسترش خونی روی لام‌های شیشه‌ای معمولی تهیه و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی و نتایج بر حسب درصد بدست آمد (۱۹).

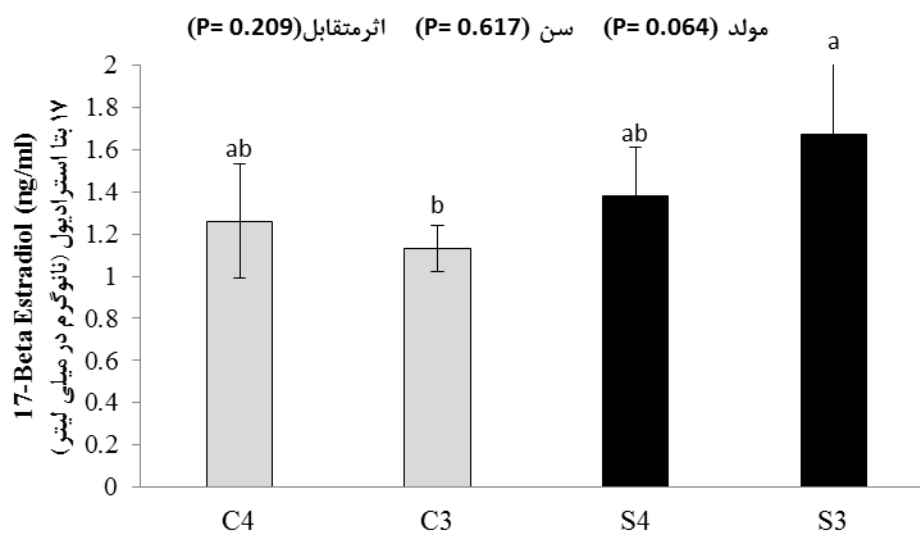
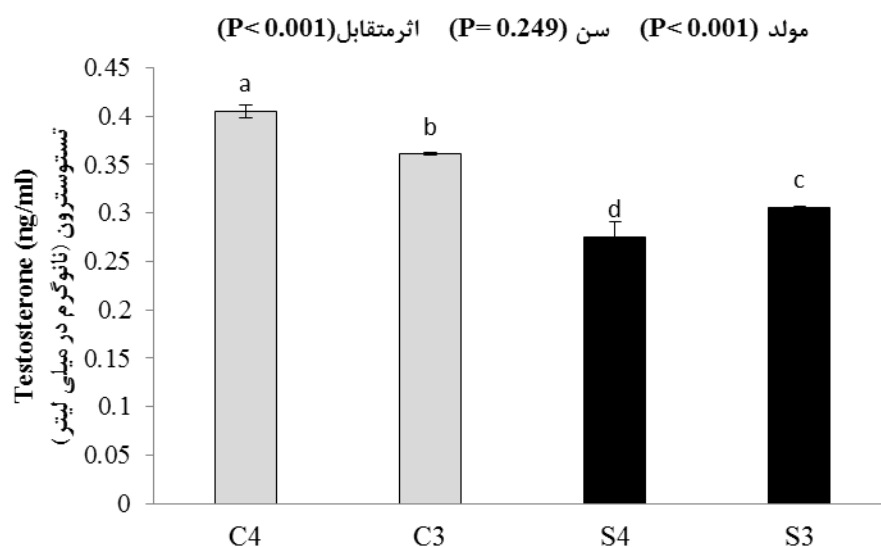
تجزیه و تحلیل آماری

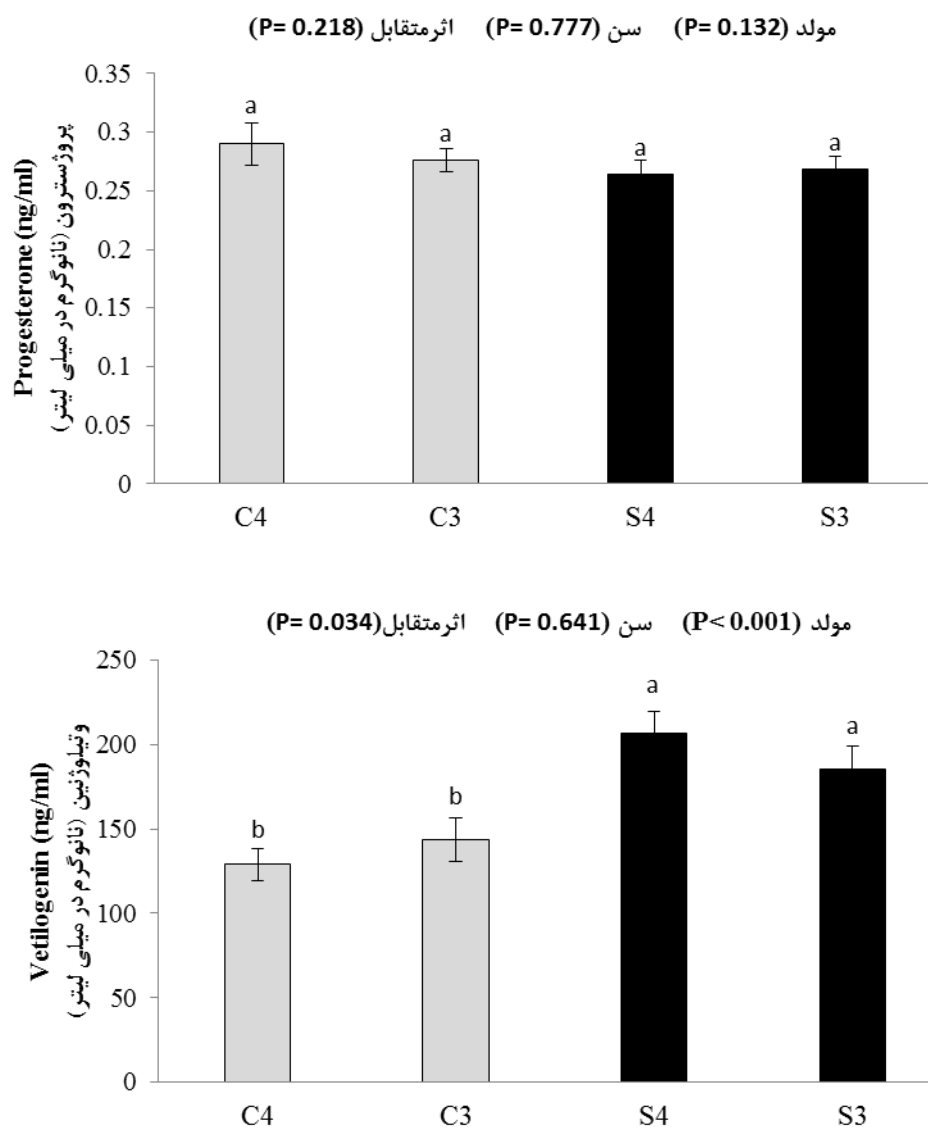
مقایسه میانگین داده‌های بین تیمارهای آزمایشی (انحراف معیار $\pm$ میانگین) با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و توسط آزمون چند دامنه دانکن تجزیه و تحلیل شدند. قبل از آنالیز نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) برای بررسی اثر متقابل دو عامل (مولد و سن) استفاده شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۱۶ انجام گردید و سطح معنی‌داری قابل قبول در کلیه آزمون‌های آماری به‌صورت ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج

نتایج آنالیز سنجش هورمون‌های تولیدمثلی مولدین جنس ماده کپور دریایی و پرورشی در دو سن ۳ و ۴ سالگی در شکل ۱ آورده شده است. هورمون تستوسترون تفاوت معنی‌دار آماری در میان مولدین دریایی وحشی و دریایی پرورشی در سنین ۳ و ۴ سالگی داشت ($P < 0.05$) بطوریکه بیشترین مقدار آن در گروه C4 و کمترین آن S4 بدست آمد. هورمون ۱۷ بتا استرادیول بین گروه‌های سنی ۳ و ۴ ساله کپور دریایی و دریایی پرورشی اختلاف معنی‌دار آماری نداشت بنابراین بیشترین و کمترین آن برابر 1.67 ± 0.37 و 1.13 ± 0.11 نانوگرم در میلی‌لیتر بترتیب در گروه مولدین ماده S3 و C3 بدست آمد. غلظت هورمون پروژسترون در گروه‌های مولدین کپور وحشی و پرورشی تفاوت معنی‌داری آماری نداشت ($P > 0.05$). غلظت هورمون ویتلوزنین در گروه مولدین کپور دریایی وحشی در مقایسه با گروه مولدین کپور پرورشی افزایش معنی‌دار آماری داشت و مقدار آن در دامنه کمترین 128.97 ± 9.47 (C4) و بیشترین 206.91 ± 12.74 (S4) نانوگرم در میلی‌لیتر بدست آمد. آنالیز دوطرفه هورمون‌های تولیدمثلی سرم خون مولدین کپور دریایی نشان داد که هورمون‌های تستوسترون، ۱۷ بتا

استرادیول و ویتلوژنین تحت تاثیر عامل مولد (دریایی وحشی و دریایی پرورشی) و تنها هورمون ۱۷ بتا استرادیول تحت تاثیر سن (مولدین ۳ و ۴ ساله) قرار گرفته است. دو عامل مولد و سن بطور همزمان بر همه هورمون‌های تولیدمثلی به جزء هورمون پروژسترون تاثیر معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$).





شکل ۱- تغییرات هورمون‌های تولیدمثلی سرم خون مولدین کپور دریایی و پرورشی با سنین ۳ و ۴ ساله در جدول ۱ آورده شده است. فاکتورهای ستون نشان از اختلاف معنی‌دار آماری است ($P < 0.05$). تیمارهای مولدین دریایی وحشی ۴ و ۳ ساله (بترتیب C4 و C3) و مولدین دریایی پرورشی ۴ و ۳ ساله (بترتیب S4 و S3).

Figure 1- Changes in serum reproductive hormones of sea carp broodstock. Different lowercase English letters in each column indicate statistically significant differences ($P < 0.05$). Treatments of 4 and 3 years old wild broodstock (C4 and C3, respectively)- and 4 and 3 years old farmed broodstock (S4 and S3, respectively).

نتایج آنالیز یون‌های سرم خون مولدین کپور دریایی و پرورشی با سنین ۳ و ۴ ساله در جدول ۱ آورده شده است. فاکتورهای یونی بین گروه‌های مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$), بطوریکه در مولدین ماده کپور دریایی (سنین ۳ و ۴ سال) مقدار غلظت یون سدیم و منیزیم در مولدین ماده کپور دریایی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$).

مقادیر کلسیم، پروتئین و گلوکز و همچنین آنزیم آلکانین فسفاتاز در گروه مولدین ماده دریایی کاهش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0/05$). بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیز واریانس دوطرفه مشخص شد که دو عامل مولد و سن بطور مجزا و بطور همزمان می‌توانند بر فاکتورهای یونی اثر معنی‌دار آماری داشته باشند ($P < 0/05$).

نتایج بدست آمده از آنالیز متابولیسم چربی (تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL) مولدین ماده دریایی و پرورش‌یافته در سن ۳ و ۴ سال در جدول ۲ نشان داده شده است. مقادیر متابولیسم چربی سرم خون مولدین ماده دریایی و پرورشی اختلاف آماری معنی‌داری داشت ($P < 0/05$), بطوریکه غلظت تری گلیسرید و کلسترول مولدین دریایی پرورشی در مقایسه با مولدین دریایی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0/05$). سرم خون مولدین ماده کپور دریایی (۳ و ۴ ساله) مقادیر غلظت HDL افزایش و غلظت LDL کاهش معنی‌دار آماری در مقایسه با مولدین ماده پرورشی داشت ($P < 0/05$). آنالیز واریانس دوطرفه فاکتورهای مرتبط با متابولیسم چربی نشان داد که غلظت تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL می‌تواند تحت تاثیر دو عامل مولد و سن بصورت مجزا و همزمان قرار گیرند. عامل مولد و سن می‌تواند بر متابولیسم چربی مولدین دریایی و پرورشی بطور معنی‌داری اثرمتقابل داشته باشد ($P < 0/05$).

بررسی شاخص‌های خونی مولدین ماده کپور دریایی و پرورشی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که بطور معنی‌دار بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت برای مولدین پرورشی ۳ سال (C3) و کمترین آن در خون مولدین ماده دریایی ۳ و ۴ سال (S3 و S4) بدست آمد ($P < 0/05$). تعداد گلبول‌های سفید در خون مولدین پرورشی ۴ ساله (C4) افزایش معنی‌دار آماری داشت ($P < 0/05$). بیشترین درصد نوتروفیل و مونوسیت در خون مولدین ۳ و ۴ ساله کپور پرورشی (C3 و C4) و کمترین آنها در خون مولدین ۳ و ۴ ساله کپور دریایی (S3 و S4) بدست آمد ($P < 0/05$).

جدول ۱- تغییرات یونی سرم خون مولدین صید شده و پرورشی کپور دریا در سنین مختلف

Table 1- Ionic changes in blood serum of caught and farmed sea carp broodstock at different ages

اثر متقابل Interaction	سن Age	مولدین Broodstock	مولد کپور دریایی وحشی (S) wild broodstock		مولد کپور دریایی پرورش یافته (C) cultured marine broodstock		
			۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	
P= 0.044	P= 0.026	P< 0.001	131.46 ± 0.05 ^a	130.16 ± 0.65 ^b	125.93 ± 0.25 ^c	125.85 ± 0.53 ^c	Sodium (mmol L ⁻¹) سدیم
P= 0.007	NS	P< 0.001	0.44 ± 0.01 ^c	0.52 ± 0.02 ^c	0.80 ± 0.10 ^a	0.64 ± 0.05 ^b	Potassium (mmol L ⁻¹) پتاسیم
P= 0.020	P= 0.007	P< 0.001	2.80 ± 0.01 ^a	2.79 ± 0.02 ^a	2.62 ± 0.02 ^b	2.53 ± 0.03 ^c	Magnesium (mg dl ⁻¹) منیزیم
P= 0.003	P= 0.001	P< 0.001	10.40 ± 0.02 ^c	10.33 ± 0.02 ^c	12.22 ± 0.01 ^a	11.64 ± 0.01 ^b	Calcium (mg dl ⁻¹) کلسیم
NS	P= 0.061	P< 0.001	112.57 ± 6.14 ^b	117.80 ± 7.40 ^b	142.77 ± 8.56 ^a	137.30 ± 14.25 ^a	ALP (u L ⁻¹) آلکالین فسفاتاز
P< 0.001	P= 0.003	P< 0.001	3.75 ± 0.02 ^d	3.88 ± 0.06 ^c	4.67 ± 0.05 ^a	4.30 ± 0.04 ^b	Protein (g dl ⁻¹) پروتئین
P= 0.003	P< 0.001	P< 0.001	114.49 ± 3.80 ^c	85.37 ± 3.85 ^d	151.20 ± 2.55 ^a	140.76 ± 4.65 ^b	Glucose (mg dl ⁻¹) گلوکز

در هر ردیف عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی دار می باشد (P<۰/۰۵). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی دار آماری است.

In each row, the difference in Latin letters indicates a statistically significant difference (P<0.05). NS (non-significant) means the absence of a statistically significant effect.

جدول ۲- متابولیسم چربی سرم خون مولدین صید شده و پرورشی کپور دریا در سنین مختلف

Table 2- Serum lipid metabolism of caught and farmed sea carp broodstock at different ages

اثر متقابل Interaction	سن Age	مولدین Broodstock	مولد کپور دریایی وحشی (S) wild broodstock		مولد کپور دریایی پرورش یافته (C) cultured marine broodstock		
			۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	
P< 0.001	P< 0.001	P< 0.001	91.72 ± 0.62 ^c	87.91 ± 1.40 ^d	142.33 ± 3.04 ^a	126.40 ± 0.55 ^b	تری گلیسرید Triglyceride (mg dl ⁻¹)
P< 0.001	NS	P< 0.001	228.50 ± 6.15 ^c	207.54 ± 2.11 ^d	240.91 ± 6.61 ^b	263.70 ± 3.45 ^a	کلسترول Cholesterol (mg dl ⁻¹)
P= 0.009	P< 0.001	P< 0.001	105.79 ± 0.39 ^a	102.54 ± 0.79 ^b	65.92 ± 2.44 ^c	56.70 ± 1.55 ^d	لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL (mg dl ⁻¹)
P< 0.001	P= 0.023	P< 0.001	114.09 ± 1.60 ^d	120.74 ± 0.59 ^c	136.03 ± 2.15 ^a	124.62 ± 1.06 ^b	لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL (mg dl ⁻¹)

در هر ردیف عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی دار می باشد (P<0.05). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی دار آماری است.

In each row, the difference in Latin letters indicates a statistically significant difference (P<0.05). NS (non-significant) means the absence of a statistically significant effect.

جدول ۳- شاخص‌های خونی مولدین صید شده و پرورشی کپور دریا در سنین مختلف

Table 3- Blood indices of caught and farmed sea carp broodstock at different ages

اثر متقابل Interaction	سن Age	مولدین Broodstock	مولد کپور دریایی وحشی (S) wild broodstock		مولد کپور دریایی پرورش یافته (C) cultured marine broodstock		
			۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	۳ سالگی (C3) 3-year old	۴ سالگی (C4) 4-year old	
NS	NS	P= 0.022	6.75 ± 0.05 ^{ab}	6.59 ± 0.11 ^b	7.05 ± 0.45 ^{ab}	7.20 ± 0.30 ^a	WBC (×10 ³ cells/mm ³)
NS	P= 0.009	P< 0.001	1.36 ± 0.03 ^{ab}	1.23 ± 0.13 ^c	1.63 ± 0.01 ^a	1.46 ± 0.06 ^b	RBC (×10 ⁶ cells/mm ³)
P= 0.001	P= 0.005	P< 0.001	6.68 ± 0.14 ^c	6.84 ± 0.09 ^{bc}	7.88 ± 0.05 ^a	7.06 ± 0.24 ^b	Hemoglobin (g/dL) هموگلوبین
P= 0.001	P= 0.004	P< 0.001	35.10 ± 1.10 ^c	35.58 ± 0.47 ^c	42.85 ± 0.85 ^a	38.04 ± 1.21 ^b	Hmatocrit (%) هماتوکریت
NS	P= 0.008	P= 0.001	256.44 ± 0.56 ^b	253.61 ± 1.39 ^c	259.62 ± 0.43 ^a	257.65 ± 1.75 ^{ab}	MCV(fl) حجم متوسط گلبول قرمز
NS	NS	P= 0.008	48.65 ± 1.45 ^a	48.76 ± 0.46 ^a	47.70 ± 0.60 ^b	47.90 ± 0.20 ^{ab}	MCH (Pg) مقدار متوسط هموگلوبین
NS	P= 0.004	P< 0.001	19.05 ± 0.15 ^b	19.25 ± 0.05 ^a	18.55 ± 0.05 ^d	18.80 ± 0.10 ^c	MCHC(g dl ⁻¹) غلظت متوسط هموگلوبین
NS	NS	P< 0.001	13.35 ± 0.64 ^b	13.68 ± 0.50 ^b	16.63 ± 0.44 ^a	17.25 ± 1.75 ^a	Neutrophilis (%) نوتروفیل‌ها
NS	P= 0.046	P= 0.001	83.13 ± 1.87 ^a	81.65 ± 1.35 ^{ab}	78.85 ± 0.85 ^{bc}	76.11 ± 1.88 ^c	Lymphocytes (%) لنفوسیت‌ها
NS	NS	P< 0.001	4.01 ± 1.01 ^b	3.69 ± 0.30 ^b	5.75 ± 0.45 ^a	6.74 ± 0.74 ^a	Monocytes (%) مونوسیت‌ها

در هر ردیف عدم تشابه حروف لاتین نشان از اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P<0/05). NS (non-significant) به معنی عدم وجود اثر معنی‌دار آماری است.

In each row, the difference in Latin letters indicates a statistically significant difference (P<0.05). NS (non-significant) means the absence of a statistically significant effect.

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی تغییرات سطح هورمون‌های استروئیدی جنسی خون ماهیان دریایی ابزاری ارزشمند در فهم کنترل درون‌ریز تولیدمثل با هدف بررسی شرایط فیزیولوژیک ماهی و شرایط زیستی در آب برای پیش‌بینی برنامه‌های مدیریت بازسازی ذخائر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند (۲۰ و ۲۱). در ماهیان استخوانی رشد و رسیدگی تخمک‌ها شامل مراحل مختلفی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلفی نظیر هورمون‌های گنادوتروپین، پروژسترون، تستوسترون و استرادیول می‌باشند (۲۲). چرخه تولیدمثلی ماهی که توسط ترشح هورمون‌ها در امتداد محور مغز-هیپوفیز-گنادها کنترل می‌شود. در این محور، هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) و دوپامین ترشح شده از مغز، ترشح گنادوتروپین را از هیپوفیز تنظیم می‌کند. گنادوتروپین‌ها از غده هیپوفیز در خون آزاد می‌شوند که بر روی غدد جنسی تأثیر می‌گذارند و باعث تولید هورمون‌های استروئیدی جنسی می‌شوند. ۱۷-بتا-استرادیول تحت کنترل گنادوتروپین (هورمون محرک فولیکول، FSH) ویتلوژنز و رشد تخمک را تنظیم می‌کند. استروئید القا کننده بلوغ یا هورمون محرک بلوغ تحت کنترل گنادوتروپین (هورمون لوتئینیزه کننده، LH) بلوغ و تخم‌ریزی را تنظیم می‌کند (۲۳). در پژوهش حاضر، بیشترین مقدار غلظت تستوسترون، ۱۷-بتا-استرادیول و ویتلوژنین در سرم خون مولدین ماده کپور دریایی بدست آمد همچنین غلظت پروژسترون بین گروه‌های سنی مولدین کپور دریایی و پرورشی اختلاف آماری معنی‌دار نداشت. در این راستا، تحقیقی در خصوص بررسی تغییرات هورمون سرم خون مولدین وحشی کپور دریایی و مولدین دریایی پرورش‌یافته نشان داد که سطح ویتلوژنین در ماهیان دریایی بطور معنی‌داری بیشتر از مولدین دریایی پرورشی بود (۹). از آنجائیکه تحقیقات مختلف در ارتباط تولیدمثل با فصل، سن، جنسیت مولدین و غیره منتشر شده است از اینرو می‌توان به تحقیق در خصوص تعیین چگونگی تأثیر فصل بر سیستم استروژن و پاسخ ایمنی در ماهی کپور معمولی (۲۴)، تأثیر پروژسترون بر رونویسی ژن‌ها در ریتم سیگنال‌دهی شبانه روزی محورهای هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و نسبت جنسی در ماهی کپور (*Carassius auratus*) (۲۵)، بررسی رشد غدد جنسی و هورمون‌های تولید مثل ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) (۲۶)، تأثیر فصل بر سیستم استروژن و پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی (۲۴)، اثرات GnRH نو ترکیب با آنتاگونیست دوپامین بر عملکرد تولید مثل، سطوح استروئید جنسی و پاسخ استرس در ماهی کپور ماده (*Cyprinus carpio*) (۲۷) اشاره کرد. در طی رشد و نمو تخمک‌ها هورمون‌های گنادوتروپینی باعث تحریک تخمدان و سپس تولید هورمون ۱۷ بتا استرادیول می‌شوند و تستوسترون نیز خود به‌عنوان پیش-ساز استرادیول مطرح است بنابراین افزایش مقدار هورمون ۱۷ بتا استرادیول باعث تحریک زرده‌سازی در کبد (ویتلوژنز) می‌شود و زرده از طریق خون به اووسیت‌ها انتقال می‌یابد (۲۸)، از اینرو می‌توان اظهار داشت که مقدار ویتلوژنین خون نشان موفقیت تکامل و رسیدگی جنسی در تولیدمثل است. بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق بیشترین مقدار ویتلوژنین سرم خون در مولدین ماده کپور دریایی بدست آمد. ویتلوژنین یک لیپوگلیکو فسفو پروتئین است که جهت ساختنش نیاز به

یون کلسیم دارد و به دلیل فسفات قطبی به مقدار زیادی از یون کلسیم و سایر کاتیون‌های دو قطبی از قبیل منیزیم در پلاسما متصل می‌شود.

یون کلسیم یکی از ابزارهای مهم برای شناسایی شرایط بلوغ ماهی و به‌عنوان شاخص غیرمستقیم در تعیین غلظت ویتلوژنین (۲۹) و به‌عنوان شاخص گردش استروژن در ماده‌ها (۳۰) جهت تعیین توسعه تخمدان و مرحله رسیدگی جنسی محسوب می‌شود. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که تغییرات غلظت یون‌های کلسیم و منیزیم وابسته به جنسیت و نوع گونه ماهی تغییر می‌یابد. مطالعات نشان می‌دهد که سطوح کلسیم با چرخه تولیدمثلی و رسیدگی گناد ارتباط دارد بدین معنا که برای تشکیل ذرات و مولکول‌های زرده نیز وجود یون کلسیم امری ضروری است (۳۱). در پژوهش حاضر، مقادیر کلسیم و پروتئین و همچنین آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه مولدین ماده دریایی کاهش معنی‌دار آماری داشت. در این خصوص کاهش کلسیم و پروتئین سرم خون در مراحل پایانی فرایند تولیدمثلی می‌تواند بدلیل انتقال این فاکتورها از سیستم عروقی به تخمدان جهت تکامل رسیدگی جنسی باشد (۳۲). همسو با نتایج ما گزارش شده است که، غلظت کلسیم پلاسما ماهی کلمه خزری در ابتدای چرخه تولیدمثلی مقداری نسبتاً ثابت داشت و در زمان زرده‌سازی اووسیت‌ها مقدار آن افزایش و در مراحل نهایی تکامل اووسیت‌ها غلظت کلسیم کاهش یافت (۳۳). تغییر غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد اما تحقیقات نشان داده است که در فرایند تولیدمثلی مولدین بروز آنزیم‌ها از جمله آلکالین فسفاتاز تحت کنترل هورمون‌های تخمدانی است و تغییرات فعالیت در واکنش نسبت به هورمون‌های تخمدانی استروژن و پروژسترون است (۳۴). بنابراین با تغییر سطح هورمون‌های گنادوتروپینی و تخمدانی پس از تحریک تخمک‌سازی احتمالاً میزان فعالیت آنزیم‌ها تغییر می‌کند. محل اصلی فعالیت ALP در تخمدان عمدتاً سلول‌های تکای فولیکول‌ها هستند. احتمالاً آنزیم آلکالین فسفاتاز با جدا کردن و انتقال گروه‌های فسفات می‌تواند در فرایند استروئیدسازی سلول‌های تکا کمک کند. در این مطالعه، کاهش غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم خون را می‌توان به مصرف این آنزیم در جهت زرده‌سازی دانست که با مطالعه انجام شده بر تغییرات این آنزیم در سرم خون فیل ماهی مطابقت داشت (۳۵)، در حالیکه در بررسی تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز طی مراحل مختلف رسیدگی جنسی در مولدین کپور نقره‌ای مشخص شد که با در دو جنس نر و ماده این گونه همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی بطور معنی‌دار افزایش یافت و به حداکثر میزان خود در مرحله ۴ رسیدگی جنسی رسید (۳۶). آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای شناخت رسیدگی جنسی در آبزیان باشد (۳۵)، اما تناقض در نتایج بدست آمده می‌تواند بدلیل زمان نمونه‌برداری در فرایند رسیدگی جنسی از مولد و همچنین اندام مورد نمونه‌برداری مانند خون، گنادها و کبد باشد.

ویتلوژنین علاوه بر اتصال به پروتئین، کلسیم و فسفر در انتقال لیپیدها و مواد حلال در چربی‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کند (۳۷). در پژوهش حاضر، مقادیر تری گلیسرید، کلسترول در مولدین ماده کپور دریایی در مقایسه با کپور پرورشی کاهش

معنی‌دار آماری داشت درحالی‌که غلظت HDL افزایش معنی‌دار داشت. در همین راستا، غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسمای خون ماهی قرمز در مرحله ۴ رسیدگی جنسی به بالاترین حد خود رسید و در مرحله تخم‌ریزی غلظت لیپدها کاهش معنی‌داری داشت (۳۸)، که با مطالعه ما همسو بود. در مطالعه‌ای تاثیر سن بلوغ بر تغییرات غلظت لیپدها مولدین ماهی کپور آمور (*Cyprinus carpio haematopterus*) نشان داد که غلظت‌های بالای HDL، LDL، کلسترول و تری‌گلیسرید در گروه‌های سنی ۲ بیشتر از ۱ ساله بود (۳۹). از اینرو در مطالعه ما عوامل مورد بررسی همچون مولد و سن توانستند بطور معنی‌داری بر متابولیسم چربی تاثیر بگذارند بنابراین می‌توان اظهار داشت که مولد دریایی و دریایی پرورشی و همچنین سن ۳ و ۴ ساله بطور مجزا و همزمان باعث تغییر در غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL و LDL می‌گردد.

مطالعات هماتولوژیک ماهی‌ها به عنوان یک شاخص کارآمد برای بررسی وضعیت سلامت، تغییرات فیزیولوژیکی و اختلالات متابولیک در بدن ماهی عمل می‌کند که می‌تواند به عنوان نشانگرهای زیستی غیر اختصاصی در زمینه‌های مختلف زیستی در طبیعت عمل نماید (۴۰). ارزیابی پارامترهای خونی به محققین کمک می‌کند تا پایش زیستی از تغییرات پاتوفیزیولوژیکی که مرتبط با عوامل درونی (مانند سن، جنسیت، چرخه بلوغ جنسی) و عوامل بیرونی (کیفیت آب، وضعیت تغذیه، دوره نوری، تغییرات اکسیژن محلول و غیره) درک نمایند (۴۱). وضعیت تولیدمثلی می‌تواند تغییراتی را در شاخص‌های خونی همچون تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتومریت داشته باشد. از طرفی کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند بازتابی از رقیق شدن خون در اثر اتلاف یونی و کاهش اسمولالیتی باشد، که در نتیجه وجود تفاوت در مرحله رسیدگی جنسی و عملکرد تولیدمثلی موجب تغییر در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز مولدین می‌گردد. نتایج بررسی شاخص‌های خون‌شناسی نشان داد که بطور معنی‌دار بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت برای مولدین پرورشی ۳ سال (C3) و کمترین آن در خون مولدین ماده دریایی ۳ و ۴ سال (S3 و S4) بدست آمد. مقایسه بین سنین مختلف میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون شگ ماهی (*Alosa braschnikowi*) اختلاف معنی‌دار آماری داشت (۴۲). مطالعاتی در خصوص تاثیر سن و جنسیت بر تغییرات شاخص‌های خونی ماهیان انجام شده است (۴۳ و ۴۴) که بر اساس نتایج بدست آمده گزارش شده که جنسیت بر شاخص‌های خونی تاثیر معنی‌دار ندارد اما بر اساس نتایج ما در این مطالعه که بر مولد جنس ماده کپور دریایی و دریایی پرورشی انجام شد، مشخص گردید که محیط زیست مولد (دریا/استخر) و سن (۳ و ۴ سال) می‌تواند بر شاخص‌های خونی تاثیر معنی‌دار داشته باشد. با استناد به اینکه خون مستقیماً در بسیاری از فرآیندهای متابولیک نقش دارد و تغییرات بدن جانور را دقیقاً منعکس می‌کند، ارزیابی‌های خونی و هورمونی مولدین ماهی می‌توانند در امر تشخیص وضعیت فیزیولوژیک ماهیان مفید واقع شود (۴۵). از اینرو بررسی تغییرات فیزیولوژیکی مولدین ماده ماهی کپور نشان داد که در جنس ماده مولدین وضعیت هورمون جنسی، غلظت یون‌ها و متابولیسم چربی تحت تاثیر سن نبوده بلکه عامل محل زندگی مولدین (دریایی و پرورشی) بر فاکتورهای فیزیولوژیکی تولیدمثل اثر معنی‌دار آماری داشت.

1. Hatami, T., Rakib, M. R. J., Madadi, R., De-la-Torre, G. E., & Idris, A. M. (2022). Personal protective equipment (PPE) pollution in the Caspian Sea, the largest enclosed inland water body in the world. *Science of the Total Environment*, 824, 153771.
2. Fazli, H., Kor, D., Tavakoli, M., Daryanabard, G., & Taghavi, H. (2013). Spatial-temporal distribution of common carp (*Cyprinus carpio*) in Iranian waters of the Caspian Sea. *Journal of Renewable Natural Resources Research*, 3(4), 29-38. (Translated in Persian)
3. Yeganeh, S., Abedi, S., & Rahmani, H. (2013). Comparative study of some biological parameters in wild and farmed common carp (*Cyprinus carpio*). *Quarterly Scientific and Research Journal of Animal Biology*, 5(3), 67-76. (Translated in Persian)
4. Yelghi, S., Kohanistani, Z., & Makrami, S. (2013). Investigation of some biological characteristics of sea carp (*Cyprinus carpio*) in the Mosabi area of Gorganrood. *Applied Ichthyological Research*, 1(4), 81-93. (Translated in Persian)
5. Jabbari, A. (2014). Annual report of the Bonny Fish Restocking Center of Shahid Marjani. 36p.
6. Santhakumar, K. (2024). Neuroendocrine regulation of reproduction in fish—Mini review. *Aquaculture and Fisheries*, 9(3), 437-446.
7. Bastel, I. (1996). Reproductive biology of the roach (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) in the middle Danube Inland delta. *Acta Universitatis Carolinae Biologica*, 35, 135-146.
8. Aghili, K., Yeganeh, S., & Amini, K. (2018). The effects of age and weight of carp fish (1758, *Cyprinus carpio* Linnaeus) caught from the sea and marine fry raised in earthen ponds on some reproductive characteristics. *Journal of Animal Environment*, 10(2), 171-176. (Translated in Persian)
9. Yeganeh, S., Aghili, K., & Amini, K. (2019). The investigation on variation of ionic and hormone indices in wild and wild cultivated carp brood stocks (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyological Research*, 6 (3), 85-98. (Translated in Persian)
10. Gulland, J.A. (1966) Manual of Sampling and Statistical Methods for Fisheries Biology. Part 1. Sampling Methods. FAO Man. Fish. Sci., 3.
11. Adineh, H., Naderi, M., Yousefi, M., Khademi Hamidi, M., Ahmadifar, E., & Hoseini, S.M. (2021). Dietary licorice (*Glycyrrhiza glabra*) improves growth, lipid metabolism, antioxidant and immune responses, and resistance to crowding stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Nutrition*, 27(2), 417-426.
12. Avella, M., Young, G., Prunet, P., & Schreck, C.B. (1990). Plasma prolactin and cortisol concentrations during salinity challenges of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at smolt and post-smolt stages. *Aquaculture*, 91, 359- 372.
13. Turker, A., Ergon, S. & Yigit, M. (2004). Changes in blood levels and mortality rate in different sized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following direct transfer to sea water. *The Israeli Journal AquacultureBamidgah*, 56, 51-58
14. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., & Wassermann, G.F. (2004). Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30, 21-25.
15. Adineh, H., Zahedi, S., Yousefi, M., Sedaghat, Z., Yilmaz, S., Gholamalipour Alamdari, E., & Farhangi, M. (2024). The Use of Perovskia abrotanoides Extract in Ameliorating Heat Stress-Induced Oxidative Damage and Improving Growth Efficiency in Carp Juveniles (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, (1), 5526562.
16. Rifai, N., Bachorik, P.S., & Albers, J.J., (1999). Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 809-861.

17. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., & Jain, N.C. (2000). Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, pp: 1120-1124.
18. Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P., & Rodgers, G.M. (1998) Wintrobe's Clinical Hematology. 10th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, New York.
19. Pathiratne, A. & Rajapakshe, W. (1998). Hematological Changes associated with the Epizootic Ulcerative Syndrome in the Asian Cichlid Fish, *Etroplus suratensis*. *Asian fisheries science*, 11, 203-212.
20. Mylonas, C. C., Zohar, Y., Pankhurst, N., & Kagawa, H. (2011). Reproduction and broodstock management. *Sparidae*, 95-131.
21. Tripathy, P.S., Parhi, J., & Mandal, S.C. (2021). Steroids and its receptors in fish reproduction. Recent updates in molecular endocrinology and reproductive physiology of fish: *An imperative step in aquaculture*, 53-61.
22. Lee, W.K., & 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 maculatus* (Jeom-nong-eo). *Aquaculture*, 207(1-2), 169-183.
23. Kumar, P., Behera, P., Christina, L., & Kailasam, M. (2021). Sex hormones and their role in gonad development and reproductive cycle of fishes. *Recent updates in molecular Endocrinology and Reproductive Physiology of Fish: An Imperative step in Aquaculture*, 1-22.
24. Maciuszek, M., Pijanowski, L., Kemenade, L. V. V., & Chadzinska, M. (2024). Season affects the estrogen system and the immune response of common carp. *Fish Physiology and Biochemistry*, 50(2), 797-812.
25. Wang, P., Sun, Q., Wan, R., Du, Q., & Xia, X. (2020). Progesterone affects the transcription of genes in the circadian rhythm signaling and hypothalamic-pituitary-gonadal axes and changes the sex ratio in crucian carp (*Carassius auratus*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 77, 103378.
26. Tucker, E.K., Zurliene, M.E., Suski, C.D., & Nowak, R.A. (2020). Gonad development and reproductive hormones of invasive silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in the Illinois River. *Biology of Reproduction*, 102(3), 647-659.
27. Yeganeh, S., Mohammadzadeh, S., Moradian, F., & Milla, S. (2022). The effects of recombinant GnRH with dopamine antagonist on reproduction performance, sex steroid levels, and stress response in female koi carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 22, 101001.
28. Martyniuk, C. J., Gallant, N. S., Marlatt, V. L., Wiens, S. C., Woodhouse, A. J., & Trudeau, V. L. (2020). Current perspectives on 17 β -Estradiol (E2) action and nuclear estrogen receptors (ER) in teleost fish. *Fish Endocrinology*, 625-663.
29. Linares-Casenave, J., Kroll, K.J., Van Eenennaam, J.P., & Doroshov, S.I. (2003). Effect of ovarian stage on plasma vitellogenin and calcium in cultured white sturgeon. *Aquaculture*, 221(1-4), 645-656.
30. Dahle, R., Taranger, G.L., Karlsen, Ø., Kjesbu, O.S., & Norberg, B. (2003). Gonadal development and associated changes in liver size and sexual steroids during the reproductive cycle of captive male and female Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 136(3), 641-653.
31. Yamada, H., Satoh, R. I., Ogoh, M., Takaji, K., Fujimoto, Y., Hakuba, T., & Iwata, M. (2002). Circadian changes in serum concentrations of steroids in Japanese char *Salvelinus leucomaenis* at the stage of final maturation. *Zoological science*, 19(8), 891-898.
32. Zhang, Y., Doroshov, S., Famula, T., Conte, F., Kueltz, D., Linares-Casenave, J., Murata, K. 2011. Egg quality and plasma testosterone (T) and estradiol-17 β (E2) in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) farmed for caviar. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 558-564.
33. Akhoundian M, Savari A, Salamat N, Movahedinia A, & Salari M A. (2015). Changes in Plasma Level of Steroid Hormones (Estradiol 17 β , 17 α 20 β Hydroxy Progesteron and Cortisol) and Electrolytes, During Different Stages of Reproductive Cycle in *Rutilus rutilus*

- caspicus from Bandar Torkaman (South of Caspian Sea). *Journal of Oceanography*, 6 (21), 117-126. (Translated in Persian)
34. El-Sayyad, H., E El-Gamal, A.E., T Darwih, S., & A Sheha, M. (2020). The correlation between the hypophysial gonadal axis with special reference to the role of fatty acids and isoenzyme during the ovarian maturation in female grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(1), 311-328.
 35. Barannikova, I. A., Bayunova, L. V., & Semenkova, T. B. (2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17 β in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of fish biology*, 64(5), 1330-1338.
 36. Yasemi, M., Rafi Parhizkar, H., Tizkar, B., & Yousefi Jourdehi, A. (2016). Changes in the levels of sex steroid hormones, calcium ions and alkaline phosphatase enzyme during different stages of sexual maturation in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) broodstock. *Journal of Animal Research (Iranian Biological Environment)*, 29 (4), 503-514. (Translated in Persian)
 37. Akhavan, S.R., Salati, A.P., Falahatkar, B., & Jalali, S.A.H. (2016). Changes of vitellogenin and Lipase in captive Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* females during previtellogenesis to early atresia. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42, 967-978.
 38. Roosta, Z., Falahatkar, B., Sajjadi, M.M., Kolangi Miandare, H., & Kestemont, P. (2020). A Comparative study on some biochemical and enzymatic parameters of plasma and mucus during reproductive stages in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(2), 123- 135. (Translated in Persian)
 39. Soranganba, N. (2023). Assessment of seasonal change in biochemical parameters of Amur common carp associated with reproduction in different age groups. *The Pharma Innovation Journal* 12(6): 2810-2815.
 40. Ahmed, I., Reshi, Q. M., & Fazio, F. (2020). The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquaculture international*, 28, 869-899.
 41. Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, 237-242.
 42. Banimahd, Z., Tehranifard, A., & Moshfegh, A. (2020). Evaluation of age, sexe and reproductive stage effects on hematological, immunological and hormonal factors of *Alosa braschnikowi* in the Caspian Sea (Guilan Province). *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 8(8), 117-144. (Translated in Persian)
 43. Svoboda, M., Kouřil, J., Hamáčková, J., Kalab, P., Savina, L., Svobodova, Z., & Vykusova, B. (2001). Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre-and postspawning period. *Acta Veterinaria Brno*, 70(3): 259-268.
 44. Matsche, M.A., Rosemary, K., & Stence, C.P. (2017). A comparison of hematology, plasma chemistry, and injuries in Hickory shad (*Alosa mediocris*) captured by electrofishing or angling during a spawning run. *Veterinary clinical pathology*, 46(3), 471-482.
 45. Sattari, S., Dryden, W. F., Eliot, L. A., & Jamali, F. (2003). Despite increased plasma concentration, inflammation reduces potency of calcium channel antagonists due to lower binding to the rat heart. *British journal of pharmacology*, 139(5), 945.