تقدير محتوى الهرمونات في مناسل ثلاث أنواع من الاسماك العراقية ودراسة تأثيرها على الهرمونات الذكرية والأنثوية للجرذان المختبرية

طارق خالد محمود البشر د. فاروق محمود كامل د. ضياء فالح عبدالله
E-mail: tariqkhald36@gmail.com

الخلاصة

درس مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل مناسل الاسماك (مبايض وخصى) وتأثير ذلك على الهرمونات الذكرية والانثوية في الحيوانات المختبرية لثلاث انواع من الاسماك العراقية هي كارب اعتيادي *Cyprinuscarpio* و كارب بري *Cyprinuscarpio* و جري *Silurustriostegus* وشلك ***Aspiusvorax*** والتي يكثر تواجدها في أسواق مدينة تكريت وخاصة في أشهر الخريف و الربيع وبدء موسم التكاثر وذلك بأخذ وزن معلوم من عينات مناسل الاسماك (خصى ومبايض) المثرومة في اكياس من البولي اثيلين وخزنت بالتجميد في الثلاجة على درجة حرارة ٨مْ لحين اجراء الفحوصات سجلت عينات مناسل الاسماك ارتفاع مستوى هرمون البروجستيرون في مبايض الاسماك المدروسة اذ تراوح بين (43.6 - 65.1)n/ng كان اعلى مستوى له في مبايض سمك كارب التربية ، سجل هرمون التستوستيرون مستوى عالي بلغ (97.5, 1, 95 , 67.9 , 79.4) n/ng في خصى كارب التربية والكارب البري والجري والشلك سجلت نتائج التجربة البايلوجية ارتفاع قليل في مستوى الهرمونات الذكرية والأنثوية لاناث وذكور في جرذان الحيوانات المختبرية التي غذيت على مبايض وخصى الاسماك المدروسة بتركيز 2% ولمدة 28 يوم.

المقدمة:

تمتاز مناسل الاسماك بمحتواها الغذائي المرتفع من البروتينات والاحماض الامينية بألاضافة الى الدهون والاحماض الدهنية والاملاح المعدنية ، هناك اهتمام واسع في تجارة مبايض الاسماك (الكافيار) الذي ينتج من مبايض أسماك الحفش وبعض الانواع الاخرى بشكل انتاج تجاري واسع خاصة في الدول المحيطة ببحر قزوين مثل روسيا وأيران ومناطق أخرى من العالم، حيث يستهلك الكافيار في العديد من دول العالم المختلفة ،، تستهلك المنتجات الثانوية من مبايض وخصى في العراق بصورة مباشرة كوجبة أضافية في تغذية الانسان مع الاسماك، هناك دراسات قليلة أهتمت بدراسة تطور المناسل للأسماك المختلفة ولاتوجد دراسات تذكر حول تقدير مستوى الهرمونات في مناسل الاسماك وأنما اقتصرت الدراسات على تتبع مستوى الهرمونات في الدم أثناء مراحل النضج الجنسي للاسماك أو من خلال استثارة الغدد التناسلية بالهرمونات الخارجية سواء كانت هرمونات أنثوية أو ذكرية ومن هذه الدراسات (1) الذي درس تأثير الاجهاد الحاد والمزمن على مستوى هرمونات الجسنية في مصل دم ذكور اسماك السلمون البني الناضجة حيث تسبب هذا الاجهاد الى خفض مستوى هرمون التستوستيرون و١١-كيتوتستوستيرون ان الستيرويدات الجنسية الرئيسية التي تم تشخيصها في بلازما ذكور Teleosts هي التستوستيرون و١١-كيتوتستوستيرون حيث يعد الاخير اكثر وفرة ويعتبر الهرمون المنشط للعمليات الجنسية في ذكور هذه الاسماك في حين سجل هرمون هرمون البروجستيرون النسبة الاعلى في اناث اسماك Teleost (٢ -3) اشارة الكثير من الدراسات ان الغدد التناسلية مع السلوك الذكري الجنسي في الاسماك اذ ان الدور الئيسيلستيرويدات الغدد التناسلية يأخذ مستواه العلي في الاسماك عندما تدخل الاسماك مرحلة التكاثر الجنسي اذ تلعب الهرمونات الدور الرئيسي في اثارة السلوك الجنسي خلال موسم التزاوج (٤)كما ذكر (٤)في جميع اصناف الاسماك سجل هرمون ١١-كيتوتستوستيرون المستوى الاعلى في ذكور الاسماك يليه التستوستيرون.أظهرت بعض الدراسات أن كل من هرمون ١١-كيتوتستوستيرون يعتبر الستيرويد الرئيسي في ذكور الاسماك لجميع الأصناف وسجل نسب منخفضة جدا في اناث الاسماك (٥)، لذا اهتمت هذه الدراسة في تحديد مستوى الهرمونات والذكرية في مبايض وخصى الانواع المدروسة ومدى تأثيرها على مستوى الهرمونات الانثوية عند أدخالها في تغذية جرذان التجربة.

مواد وطرائق العمل

١- تقدير الهرمونات determination hormones :

- تم وزن بحدود (250) غم من مناسل الاسماك المفرومة .
- وضعت العينات مناسل الاسماك (خصى ، مبايض) المثرومة في اكياس من البولي اثيلين وخزنت بالتجميد في الثلاجة المنزلية.
- اخذ بحدود (5) غم من العينات مناسل الاسماك (خصى ، مبايض) المفرومة المجمدة ونقلت كميا الى انبوب طرد مركزي وتم اجراء عملية الطرد المركزي بسرعة (5000) دورة \دقيقة لمدة (10) دقائق بأستخدام جهاز طرد مركزي نوع LW Scientific للحصول على السائل المترشح .

- سحبت كمية من السائل المترشح بأستخداممايكروبايبيت Micropipette وحسب الطريقة المذكورة في شهادات الفحص المجهزة من الشركة لكل هرمون ولكل شركة.
- نقلت الى الطبق الخاص بفحص الهرمونات وكما هو مشار اليه في ادناه وبواقع ثلاثة مكررات لكل نموذج قيد الدراسة.
- حضنت العينات بعد اضافة المحاليل الخاصة بكل هرمون وحسب مواصفات الشركة المجهزة و لمدة ساعة وعلى درجة حرارةالغرفة التي تم ضبط جهاز الايلايزاELISA عليها.
- اجريت عملية المسح الضوئي وتم تسجيل القراءات للنماذج المختبرة بجهاز سكانر الملحق بجهاز الايلايزا ELISAعلما ان الاختبارات السابقة لفحص الهرمون.

٢-الفحص الخاص بهرمون البروجستيرون

- تحضير الخلايا للصفائح الميكروسكوبية بالطبق الخاص للفحص وبعدد ٣ مكررات لكل عينة يراد فحصها.
- اخذ بحدود (0.025) مل من العينة المراد فحصها وتضاف الى خلايا الصفائح الميكروسكوبية.
- اضافة (0.050) مل من كاشف البروجستيرون الانزيمي لكل الخلايا.
- تحريك الصفائح الميكروسكوبية بحركة دائرية وبرفق لمدة 10-20 ثانية لغرض مزج المحتويات.
- اضافة (0.050) مل كاشف البروجستيرون البايوتيني الى جميع الخلايا.
- تحريك الصفائح الميكروسكوبية بحركة دائرية وبرفق لمدة 10-20 ثانية لغرض مزج المحتويات.
- تغطية الخلايا والتحضين لمدة 60 دقيقة وعلى درجة حرارة الغرفة.
- افراغ المحتويات من خلايا الصفائح المايكروسكوبية.
- اضافة (0.350) مل من محلول الغسل الى الخلايا وافراغها مع تكرار العملية لمرتين.
- اضافة (0.100) مل من محلول الركيزة الى جميع الخلايا.
- التحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.
- اضافة (0.050) مل من محلول الايقاف الى كل خلية والتحريك بلطف لمدة 15-20 ثانية.
- قراءة الامتصاصية لكل خلية على طول موجي قدره 450 نانومتر بعد 30 دقيقة من اضافة محلول التوقف.

3-**الفحص الخاص بهرمون التستوستيرون**

تحضير الخلايا للصفائح الميكروسكوبية بالطبق الخاص للفحص وبعدد 3 مكررات لكل عينة يراد فحصها.

- اخذ بحدود (0.010) مل من العينة المراد فحصها وتضاف الى خلايا الصفائح الميكروسكوبية.
- اضافة (0.050) مل من كاشف التستوستيرون الانزيمي لكل الخلايا.
- تحريك الصفائح الميكروسكوبية بحركة دائرية و برفق لمدة 20-30 ثانية لغرض مزج المحتويات.
- اضافة (0.050) مل كاشف التوستيرونالبايوتيني الى جميع الخلايا.
- تحريك الصفائح الميكروسكوبية بحركة دائرية و برفق لمدة 20-30 ثانية لغرض مزج المحتويات.
- تغطية الخلايا والتحضين لمدة 60 دقيقة وعلى درجة حرارة الغرفة.
- افراغ المحتويات من خلايا الصفائح المايكروسكوبية.
- اضافة (0.300) مل من محلول الغسل الى الخلايا وافراغها مع تكرار العملية لمرتين.
- التحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة.
- اضافة (0.100) مل من محلول الركيزة الى جميع الخلايا.
- اضافة (0.050) مل من محلول الايقاف الى كل خلية والتحريك بلطف لمدة 15-20 ثانية.

قراءة الامتصاصية لكل خلية على طول موجي قدره 450 نانومتر بعد 30 دقيقة من اضافة محلول التوقف.(الجبوري ،٢٠١٦).

النتائج والمناقشة:

١-محتوى مصل مناسل الاسماك من هرمون التستوستيرون والبروجستيرون

يوضح الجدول (١) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مبايض الأسماك المدروسة حيث يلاحظ أن مستوى هرمون البروجستيرون في مصل مبايض الاسماك المدروسة تراوح بين (43.6 - 65.1) أذ سجل على مستوى للبروجستيرون (65.1) ng/gفي مبايض سمك الكارب التربية وقد يعود سبب ذلك الى طبيعة التغذية العالية الغنية البروتين المقدم لها. في جين سجل اقل تركيز لهرمون البروجستيرون في مبايض سمك الجري اذ بلغ (43.6)ng/g، أما مستوى التستوستيرون فتراوح بين (0.1-2.8)ng/gوتتفق هذه النتائج مع

ماتوصل اليه (6) أذ سجل أعلى مستوى لهرمون البروجستيرون في سمك الحفش خلال فترة الانضاج (65.9) ng/g في حين بلغ مستوى هرمون التستوستيرون (0.4) ng/g في مصل مبايض الاسماك ذاتها.

جدول(١) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مبايض ng/n

المعاملة	testosterone	Progesterone
مبايض كارب تربية	**2.8**	**65.1**
مبايض كارب نهر	**1.87**	**52.5**
مبايض جري	**0.1**	**43.6**
مبايض شلك	**1.3**	**47.6**

توضح نتائج الجدول(٢) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل خصى الاسماك أذ سجل هرمون الستوستيرون مستوى عالي بلغ (97.5, 1, 95 , 67.9 , 79.4)ng/n في كل من خصى كارب التربية والكارب البري وخصى الجري وخصى الشلك في حين كان هرمون البروجستيرون منخفض بالمقارنة مع هرمون التستوستيرون وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه [6] الذي اشر الى ان مستوى هرمون التستوستيرون سجل مستوى عالي في خصى اسماك االحفش أذ بلغ (85.6)ng/n خلال فترة التناسل ، ويعود سبب ذلك الى النشاط الهرموني العالي خلال فترة النضج التي يقوم بها الهرمون [7].

جدول(٢) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في خصى الاسماك ng/n

المعاملة	testosterone	Progesterone
خصى كارب تربية	**97.5**	**0.29**
خصى كارب نهر	**95.1**	**0.45**
حصى جري	**67.9**	**1.78**
خصى شلك	**79.4**	**4.9**

يوضح جدول (٢) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل خصى الاسماك أذ سجل هرمون الستوستيرون مستوى عالي بلغ (97.5, 1, 95 , 67.9 , 79.4)ng/g في كل من خصى كارب التربية والكارب البري وخصى الجري وخصى الشلك في حين كان هرمون البروجستيرون منخفض بالمقارنة مع هرمون التستوستيرون وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه (6) الذي اشر الى ان مستوى هرمون التستوستيرون سجل مستوى عالي في خصى اسماك االحفش أذ بلغ (85.6) خلال فترة وضع البيوض ، ويعود سبب ذلك الى النشاط الهرموني العالي خلال فترة النضج التي يقوم بها الهرمون ().

٢- تأثير التغذية بمبايض الاسماك على مستوى على مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل دم ذكور جرذان التجربة.

يبين الجدول (3)تأثير التغذية بمبايض ثلاث اصناف من الاسماك المختلفة على مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل دم ذكور جرذان التجربة ، حيث يوضح الجدول وجود زيادة معونية$P<0.05$ في مستوى هرمون التستوستيرون في مصل ذكور الجرذان التي غذيت على مبايض الاسماك المختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت انخفاض معنوي $P>0.05$ في مستوى هرمون التستوستيرون ،ومن النتائج نلاحظ ان أعلى مستوى لهرمون التستوستيرون بلغ (7.493) نانوغم/ مليلتر في مصل ذكور الجرذان التي غذيت على خصى اسماك الكارب البري مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت ادنى مستوى لهرمون التستوستيرون بلغ (1.706) نانوغم/ مليلتر ،ونلاحظ من الجدول ارتفاع مستوى هرمون التستوستيرون في جميع المجموعات التي غذيت على مبايض الاسماك المختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة وقد يعود سبب ذلك الى احتوائها على نسبة عالية من Omega 3 المفيدة للجسم (٧) ،وتشير نتائج الجدول الى انخفاض مستوى هرمون البروجستيرون في جميع عينات مصل الدم لذكور الجرذان التي غذي على وجبات قياسية تحتوي على 20% من مبايض الاسماك المدروسة

جدول (٣)تأثير التغذية بمبايض الاسماك على مستوى على مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل دم ذكور جرذان التجربة

المعاملات	Testosterone Male: 2-8 ng/ml	Progesterone Male: 0.2-1.5 ng/ml
مبايض كارب تربية	2.166 D	0.566 A
مبايض كارب بري	7.493 A	0.200 B
مبايض جري	3.836 C	0.033 B
مبايض شلك	5.386 B	0.100 B
السيطرة	1.706 D	0.033 B

٤ -تأثير التغذية بخصى الاسماك على مستوى على مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل دم ذكور جرذان التجربة.

يبين الجدول رقم (٤) مستوى هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في عينات مصل الدم لذكور الجرذان التي تم تغذيتها على وجبات قياسية تحتوي على 20% من خصى الاسماك المدروسة لمدة 28 يوم، اذ اشارت نتائج الجدول ارتفاع مستوى هرمون التستوستيرون في جميع عينات مصل الدم مقارنة بعينة السيطرة ، فقد بلغت اعلى قيمة معنوية $P<0.05$ (4.010) نانوغم/ مليلتر في المجموعة التي غذيت على خصى الكارب البري مقارنة بمجموعة السيطرة (1.703) نانوغم/ مليلتر ، وبلغت اقل قيمة لهرمون التستوستيرون (2.933 , 2.133) نانوغم/ مليلتر في عينات مصل الدم للمجموعات التي غذيت على خصى اسماك الشلك وخصى اسماك الجري مقارنة بعينة السيطرة وقد يعود سبب ذلك ان النشاط الجنسي وتكوين الحيوانات المنوية تعتمد على الهرمونات التي منها هرمونات ستيرويدية والاندروجينية التي تتأثر بأيض الزيوت والدهون غير المشبعة وتحول الى الكولسترول وهذا الأخير الذي يعتبر اللبنة الأساسية للكثير من الهرمونات وان الدهون غير المشبعة تؤدي الى تنشيط وتغير في السائل المنوي للحيوانات المختبرية (**8**) ، وقد اكد ايضا (٩) ان استخدام زيت السمك يؤدي الى تنشيط الانزيمات الموجودة في خصية الفئران المختبرية ، واشارة النتائج ان تركيز هرمون البروجستيرون في جميع عينات مصل الدم لذكور الجرذان التي غذيت على خصى اسماك المدرسة كانت منخفضة، حيث سجل اعلى مستوى (0.700 ,0.033) نانوغم/ مليلتر في المجموعة التي غذيت على خصى اسماك الكارب البري وخصى اسماك كارب التربية علماً ان هذه التراكيز كانت ضمن الحدود الطبيعية لهرمون البروجستيرون في مصل دم الجرذان وان كان هناك فروق معنوية $P<0.05$.

جدول (٤)تأثير التغذية على خصى الاسماك على هرمون التستوستيرون والبروجستيرون في مصل الدم لذكور الجرذان

المعاملات	Testosterone Male: 2-8 ng/ml	Progesterone Male: 0.2-1.5 ng/ml
خصى كارب تربية	3.893 A	0.700 A
خصى كارب نهر	4.010 A	0.033 B
خصى جري	2.133 C	0.000 B
خصى شلك	2.933 B	0.000 B
السيطرة	1.703 D	0.000 B

المصادر العربية

[1] الجبوري ، مهند صالح خلف (٢٠١٦)**التحري عن مستويات بعض الهرمونات الستيرويدية في اللحوم المستوردةوالمحلية**، رسالة ماجستير .

REFERENCES:

[1] Pickering ,A.; Pottinger,T.; Carragher,j and Sumpte p.1987. The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmotrutta* L. Volume 68, Issue 2, November 1987, Pages 249-259

[2]Lokman, P. M., Harris, B., Kusakabe, M., Kime, D. E., Schulz, R. W., Adachi, S., et al (2002). 11-Oxygenated androgens in female teleosts: prevalence, abundance, and life history implications. Gen. Comp. Endocrinol., 129, 1e12.

[3]Borg, B. 1994. Androgens in teleost fishes. Comparative Biochemistry and Physiology, 109C, 219e245.

[4]Goncalves, D., Teles, M., Alpedrinha, J., & Oliveira, R. F. 2008. Brain and gonadal aromatase activity and steroid hormone levels in female and polymorphic males of the peacock blenny Salariapavo. Hormones and Behavior, 54, 717e725.

[٥]Balthazart, J., and Ball, G. F. 2006. Is brain estradiol a hormone or a neurotransmitter? Trends in Neurosciences, 29, 241e249.

[6] Barannikova, I. A.; Bayunova, L. V.; And Semenkova. T.B.(2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17b in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatmen . Journal of Fish Biology (2004) 64, 1330–1338**.**

[7] Melamed, P., Gur, G., Rosenfeld, H., Elizur, A., Schulz, R. W. &Yaron, Z. (2000). Reproductive development of male and female tilapia hybrids (Oreochromisniloticus_O. aureus) and changes in mRNA levels of gonadotropine (GtH) Ib and IIb subunits. Journal of Experimental Zoology 286, 64–75.

[8]Gaiva MH CR ,Oyama LM, Couto GE, Silveria VL, Riberio EB and Nascimento CM. 2001.Polyunsaturated fatty acid-rich diets : effect on adipose tissue metabolism in rats .Br J Nutr 86:371-377.

[9]Paulenz,H.;Taugbol,O.;Hofmo,P.O. and Saarem,K. 1995.A preliminary study on the effect of dietary supplementation with cod liver oil on the polyunsaturated fatty acid composition of boa semen.J.Veterinary Research Communicat ,Vol.19(4):pp.273-284.

[10]Arechaga,G.;Prieto,I.;RamirezExposito,M.J.;MartinezMartos,J.M.;Ramivez ,M.;Alba,F.;Ruiz-Larrea,M.B.andRuiz Sanz,J.I. 2002.Effects of dietary supplementation with fish oil ,Lard or coconut oil on oxytocinase activity in the testis of mice. .J.Archives of Andrology .vol.(48):233-236.

[11]Borg, B., & Mayer, I. 1995. Androgens and behaviour in the threespined stickleback. Behaviour, 132, 1025e1035.

[12]Levavi-Sivan, B., Biran, J., & Fireman, E. 2006. Sex steroids are involved in the regulation of gonadotropin-releasing hormone and dopamine D2 receptors in female tilapia pituitary. Biology of Reproduction, 75, 642e650.

[13] Neyaz,N;Sadiq,M.;Zarger,S.; and Siddiqui.W.A.2014. Synthesis and characterization of modified magnetic super paramagnetic nano composite for removal of toxic metals from ground water.*Int.J.Environ.Sci.,*5(2):260-269.

STIMATING THE CONTENT OF HORMONES IN THE THREE TYPES OF IRAQ FISH AND STUDYING THEIR IMPACT ON MALE FEMALE HORMONES FOR LABORATORY RATS

Faroq M. K. Al- Habib Tariq K.M.Al-Besher
Diaa F. A. Al-Fakiki
E-mail**:** **tariqkhald36@gmail.com**

ABSTRACT :

The paper studied the level of testosterone and progesterone in fish gonads (genitalia) serum (ovulations and testicular) and its effect on male and female hormones in laboratory animals of three types of Iraqi fish *CyprinusCaprio*, *SilurusTriostegus,* and*AspiusVorax* which are frequent in the markets of the city of Tikrit, especially in the autumn and spring months and the start of the breeding season. The experiment was carried out by taking a specific weight from the samples of minced fish gonads (testicles and ovaries) mummified in bags of polycarbonate liquid. These samples were stored with freezing at a temperature of 8 until the tests were conducted. Fish breeders recorded a high level of progesterone in the ovulations of studied fish ranging from (-43.6 to 65) n/ng and the highest level of testosterone was found in the testicle of*Cyprinus Capri, SilurusTriostegus,* and*AspiusVorax*which ranged as follows (97.5, 1,95, 67.9, 79.4)n/ng.. The results of the biologic experiment recorded a slight increase in the level of male and female hormones in females and males of laboratory rats, which were fed on ovulation and testicular of the studied fish.

Keyword: (level of testosterone, progesterone , hormones, testicles and ovaries **).**