تغییرات سطوح هورمون‌های استروئید جنسی، یون کلسیم و آنزیم آلکالین فسفاتاز طی مراحل مختلف رسیدگی جنسی در مولدین کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

مهران یاسمی[1*]، حمزه رفیع پرهیزکار[2]، بابک تیزکار[2] و ایوب یوسفی جوردهی[3]

[1] تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی

[2] رشت، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز آموزش عالی علمی- کاربردی میرزاکوچک‌خان، گروه فن‌آوری و بیوتکنولوژی آبزیان

[3] رشت، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر (Areo)

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۳

چکیده

مطالعه پروفایل‌های هورمونی از مهم‌ترین روشهای تشخیص مکانیسم‌های تنظیم‌کننده فرآیند تولیدمثل در ماهیان می‌باشد. تحقیق حاضر با هدف تعیین ارتباط روند تغییرات سطوح برخی شاخص‌های تولیدمثلی در مولدین ماهی کپور نقره‌ای طی ۶ ماه انجام شد. ۲۴ قطعه از مولدین (۱۲ قطعه ماده و ۱۲ قطعه نر) که در مراحل I–IV رسیدگی جنسی بودند، انتخاب، و خونگیری از آنها انجام شد. سطوح هورمون ۱۷ آلفا – هیدروکسی تستوسترون و پروژسترون در دو جنس ماده و نر، و سطوح هورمون ۱۷ بتا– استرادیول در جنس ماده همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز در هر دو جنس بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت و به حداکثر خود در مرحله IV رسید. سطوح یون کلسیم در جنس ماده در مراحل مختلف و همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵$). در مقایسه، سطوح هورمونهای پروژسترون و ۱۷ بتا – استرادیول در همه مراحل در ماده‌ها بیشتر از نرها بود. سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بین دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری در همه مراحل رسیدگی جنسی نشان داد ($P < ۰/۰۵$). در نتیجه، ارتباط مستقیم معنی‌داری بین سطوح هورمونهای استروئید جنسی با سطوح یون کلسیم و آنزیم آلکالین فسفاتاز در ارتباط با تکامل گناد در هر دو جنس نر و ماده ماهی کپور نقره‌ای مشاهده گردید. بنظر می‌رسد با دستیابی به سطوح این شاخص‌ها بتوان به تشخیص وضعیت تولیدمثلی ماهیان، زمان دقیق تکثیر در مولدین کپور نقره‌ای کمک نمود.

واژه‌های کلیدی: هورمونهای استروئید جنسی، مراحل مختلف رسیدگی جنسی، آلکالین فسفاتاز، کلسیم، کپور نقره‌ای

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۶۶۸۸۰۱۹۴ ، پست الکترونیکی: Yasemi_m@yahoo.com

مقدمه

ماهی فیتوفاگ با نام انگلیسی Silver carp (کپور نقره‌ای) و نام علمی *Hypophthalmichthys molitrix* یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان گرمابی می‌باشد که بواسطه استعداد رشد سریع، قابلیت سازگاری وسیع و گوشت لذیذ از گونه‌های غالب در ترکیب ماهیان گرمابی پرورشی بشمار می‌رود (۱۰). مطالعه شاخص‌های تولیدمثلی در ماهیان از مهمترین عوامل تشخیص فرآیند تولیدمثل در آن‌ها بوده که دستیابی به سطوح این تغییرات در ماهیان وحشی و پرورشی حائز اهمیت است (۱۴). با توجه به اهمیت تکثیر و پرورش ماهیانی از قبیل کپور نقره‌ای جهت تأمین بخش مهمی از نیاز منابع پروتئینی، بررسی شاخص‌های خون‌شناسی بعنوان یکی از مهمترین جنبه‌های عملیاتی این تحقیق

محسوب می‌گردد. شاخص‌های خونی پارامترهای بسیار مهمی جهت ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی ماهی هستند. تغییرات آنها بستگی به گونه ماهی، سن، دوره رسیدگی جنسی و بیماری‌ها دارد (۲).

بطورکلی عواملی دخیل و مؤثر بر رشد و رسیدگی دستگاه تولیدمثل ماهیان از جمله کپورماهیان را می‌توان به دو دسته عمده شامل عوامل داخلی و خارجی تقسیم‌بندی نمود. عوامل داخلی اغلب شامل عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیک و کلیه فرآیندهای مربوط به غدد درون‌ریز می‌باشند. از فاکتورهای خارجی مؤثر بر عملکرد دستگاه تولیدمثل آبزیان، طیف وسیعی از عوامل اکولوژیک شامل نور، حرارت، شوری، pH، تغذیه و نیز برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی آب می‌باشند (۲۰).

بلوغ، فرآیندی است مشتمل بر کلیه تغییرات فیزیولوژیک، مورفولوژیک و رفتاری که بطور همزمان با تغییر ماهیت و فعالیت گنادها همراه است. گرچه این فرآیند در مهره‌داران عالی بویژه پستانداران با تغییرات مورفولوژیک و علامت-های قابل رؤیت همراه است، لیکن در ماهی‌ها بندرت بلوغ با تغییرات مورفولوژیک همراه بوده و عمده تغییرات در سطح فیزیولوژیک معطوف به تغییرات هورمون‌ها و رشد گنادها است. در رابطه با این امر در جنس ماده طول تخمدان‌ها بتدریج افزایش یافته و تغییرات دوره‌ای در قطر تخمک‌ها مشاهده می‌گردد (۱۷ و ۲۶). ساختار گناد در ماهیان بطور عمده از الگوی نسبتاً مشابهی در گونه‌های مختلف تبعیت می‌کند. معمولاً تخمدان در ماهیان از ۴ تا ۶ مرحله رسیدگی جنسی تشکیل شده است. در مرحله I دیواره شیارهای تخمدان در اثر تقسیم از یکدیگر جدا شده، انتهای شیار اندکی بالاتر از بخش جانبی تخمدان قرار می‌گیرد. از دیدگاه بافت‌شناسی مرحله I رسیدگی جنسی تخمدان با ظهور یاخته‌های اووگونی آغاز و به رشد پروتوپلاسمیک تخمک‌هایی که در محل تشکیل یاخته‌های اووگونی جای گرفته‌اند، می‌انجامد. از نشانه‌های بارز مرحله II رسیدگی جنسی به پوشش ذخایر چربی در طرفین شکم در بخش‌های جانبی تخمدان و رشد سیتوپلاسم تخمک‌ها می‌توان اشاره نمود. در مرحله II رسیدگی جنسی رشد ترفوپلاسمیک تخمک‌ها با کاهش ذخایر چربی همراه است. حجم تخمک‌ها افزایش یافته و رنگدانه‌ها در زیر پوسته یاخته به رنگ خاکستری تیره تشکیل می‌گردد. در این زمان تخمک‌ها محکم به لایه چربی تخمدان می‌چسبند. در مرحله IV رسیدگی جنسی از مقدار چربی تخمدان کاسته و بر میزان رشد تخمک‌ها افزوده می‌شود. در این مرحله، هسته از مرکز یاخته بسوی قطب حیوانی تغییر وضعیت می‌دهد. زرده‌های دانه ریز قطب جانوری (AP) و زرده‌های دانه درشت بهمراه اثرات چربی در قطب نباتی (VP) متمرکز می‌شوند (۱۳).

تغییرات فصلی سطوح هورمونهای استروئید جنسی در ماهی کپور معمولی را مورد مطالعه قرارگرفت و اختلاف معنی‌داری در سطوح هریک از هورمونها در فصول مختلف مشاهده گردید (۲۸). تغییرات سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) طی دوره رشد جنسی فیل‌ماهی پرورشی ماده مورد مطالعه قرارگرفته و بعنوان یک شاخص مطالعه رسیدگی گناد معرفی گردید (۳۱). بلوغ جنسی و سطوح هورنهای استروئید گنادی در اردک‌ماهی (*Esox lucius* Linaeus,1958) تالاب انزلی را مورد بررسی قرارگرفت و بیان گردید سطوح هورمونهای استروئید گنادی یکی از شاخص‌های مهم بیولوژی تولیدمثل می‌باشد (۴). تغییرات بیوشیمیایی و استروئیدهای جنسی در قبل و بعد از تخمریزی در ماهی سوف (*Sander locioperca*) را مورد مطالعه قرارگرفت و تغییرات معنی‌دار سطوح هورمونهای جنسی در قبل و بعد از تخمریزی را گزارش نمودند (۵).

با دستیابی به دانش کافی و لازم در خصوص فیزیولوژی تولیدمثل از طریق تعیین شاخص‌های مورد نظر (سطوح هورمون‌های استروئید جنسی، یون کلسیم و آنزیم آلکالین فسفاتاز) امکان بهگزینی مولدین و افزایش کارایی تولید از

طریق تشخیص زمان دقیق تکثیر در ماهی کپور نقره‌ای فراهم می‌گردد. با توجه به اهمیت موضوع، این مطالعه با هدف تعیین روند تغییرات سطوح هورمون‌های استروئید جنسی (۱۷ آلفا – هیدروکسی تستوسترون، ۱۷ بتا – استرادیول و پروژسترون) و روند تغییرات سطوح یون کلسیم و آنزیم ALP همزمان با پیشرفت فرآیند بلوغ در دو جنس نر و ماده کپور نقره‌ای پرورشی به انجام رسید.

مواد و روشها

عملیات اجرایی این تحقیق در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شماره ۱۲ (رشت) و اندازه‌گیری شاخص-های هورمونی و بیوشیمیایی در آزمایشگاه ویرومد (رشت) طی ۶ ماه به انجام رسید. در مجموع تعداد ۲۴ قطعه مولد کپور نقره‌ای پرورشی شامل ۱۲ قطعه از هر جنس و ۳ قطعه از هر مرحله رسیدگی جنسی (I، II، III و IV) که در استخرهای خاکی پرورش یافته بودند، انتخاب گردید. جهت صید ماهیان از روش پره‌کشی استفاده شد. و ماهیان براساس جنسیت و سن جداسازی شدند. پس از بیومتری (طول و وزن کل) ماهیان با استفاده از متر نواری و ترازوی دیجیتال، جنسیت ماهیان از روی تجربه و مشخصات ظاهری (از قبیل برجستگی شکم و آنال قرمزتر در ماده و وجود خار در بالای سر نرها) مشخص شد. سپس خون-گیری از مولدین با استفاده از سرنگ‌های cc ۲، از طریق سیاهرگ دمی (Caudal vein) و از پشت باله مخرجی انجام شد. در هر مرحله مقدار ۲^{cc} خون از ماهیان دریافت و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ بمدت ۱۰ دقیقه نمونه-های پلاسما جدا گردید (۱۱).

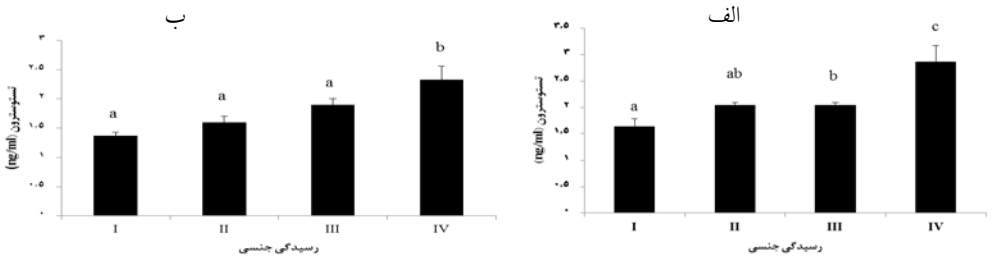
پس از جداسازی مقدار ۱ سی‌سی از پلاسما با استفاده از میکروسمپلر در درون ویال‌های مخصوص ریخته و تا زمان انتقال به آزمایشگاه در فریزر ۲۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود و جهت اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های استروئید جنسی (سطوح هورمون‌های ۱۷ بتا– استرادیول (E_2)، ۱۷ آلفا – هیدروکسی پروژسترون (17α- OHP)، تستوسترون (T))، و کلسیم به آزمایشگاه مربوطه ارسال شد. غلظت هورمون‌های تستوسترون، ۱۷بتا – استرادیول و پروژسترون در پلاسما به روش ELISA با استفاده از کیت تجاری (Monobined kit)، آمریکا اندازه‌گیری شد. برای انجام آزمایش‌ها در ابتدا به تعداد نمونه‌های لوله آزمایش حاوی آنتی‌بادی انتخاب و در هر لوله ۵۰ میکرولیتر از نمونه مورد نظر ریخته و لوله‌ها بر حسب نمونه‌های پلاسما، شماره‌گذاری گردید. از محلول استاندارد و کنترل نیز ۵۰ میکرولیتر در دو لوله بترتیب ریخته و حجم لوله‌ها با محلول معرف به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد (۱۳). پس از پوشانده شدن لوله‌ها، آن‌ها بمدت یک ساعت در دمای اتاق ($۲۵^{\circ C}$) همراه لرزاننده (۴۰۰rpm قرار گرفتند. سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید (۳۰). تعیین مقادیر کلسیم به روش فتومتریک با استفاده از Complexone Cresolphthalein انجام شد. کلسیم تولید شده بصورت فتومتریک و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS– ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۷۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید (۱۳). بمنظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Kolmogorov-smirnov استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها بمنظور مقایسه بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (Oneway - anova) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel ۲۰۰۷ استفاده شد. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید.

نتایج

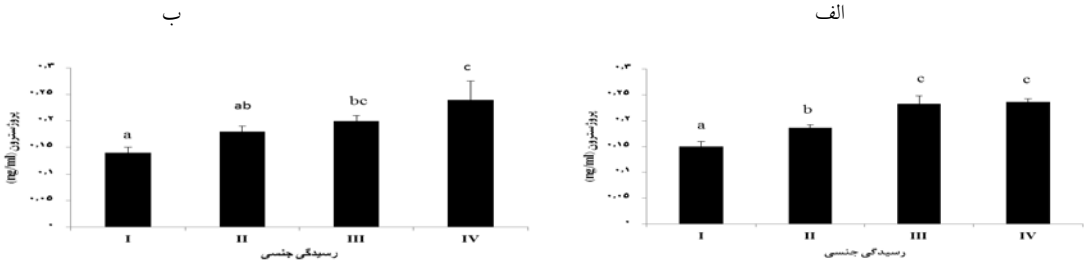
تغییرات سطوح هورمونهای استروئید جنسی : آنالیز

سطوح هورمون ۱۷ آلفا - هیدروکسی تستوسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در جنس ماده همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی سطوح آن افزایش یافت و در مرحله IV رسیدگی جنسی به حداکثر رسید و اختلاف معنی‌داری با سایر مراحل نشان داد (P <۰/۰۵) (نمودار۱- الف). سطوح هورمون ۱۷ آلفا - هیدروکسی تستوسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در جنس نر همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری افزایش یافت و در مرحله IV رسیدگی جنسی به حداکثر رسید (P <۰/۰۵) (نمودار۱- ب). تغییرات سطوح هورمون پروژسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در جنس ماده مولدین کپور نقره‌ای نشان داد که سطوح آن در مراحل III و IV رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری بیشتر از مراحل I و II رسیدگی جنسی بود (P <۰/۰۵) (نمودار۲- الف). تغییرات سطوح هورمون پروژسترون در مولدین نر کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت و به حداکثر خود در مرحله IV رسید (P <۰/۰۵) (نمودار۲- ب).

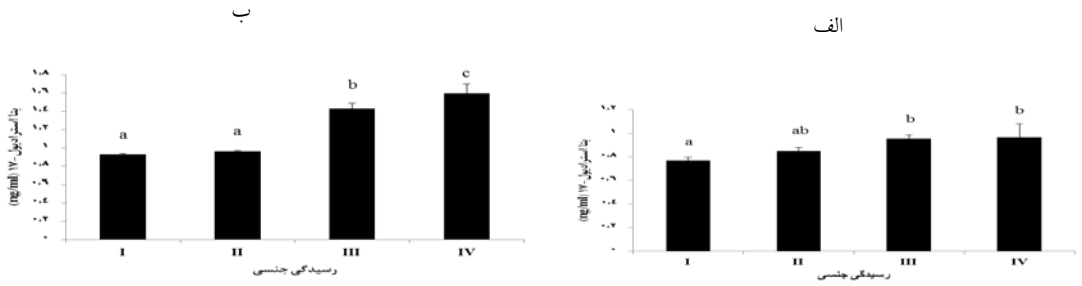
تغییرات سطوح هورمون ۱۷ بتا- استرادیول در جنس ماده مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت و به حداکثر خود در مرحله IV رسید (P <۰/۰۵) (نمودار۳- الف).



نمودار ۱- میانگین تستوسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی. الف) ماده و ب) نر



نمودار ۲ – میانگین تغییرات سطوح پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی. الف) ماده و ب) نر
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



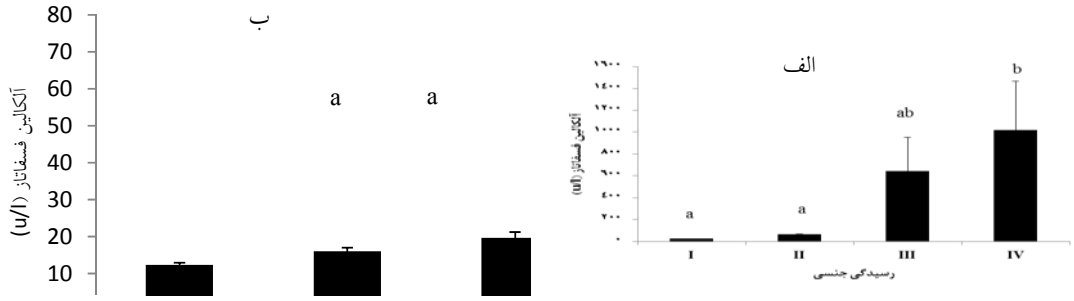
نمودار ۳ – میانگین تغییرات سطوح ۱۷بتا- استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی. الف) ماده و ب) نر
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

نتایج تغییرات سطوح هورمون ۱۷ بتا- استرادیول در جنس نر مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری در مراحل II و IV رسیدگی جنسی در مقایسه با مراحل I و II رسیدگی جنسی بیشتر بود (P <۰/۰۵) (نمودار۳- ب). سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز در جنس ماده مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت و به حداکثر خود در مرحله IV رسید (P <۰/۰۵) (نمودار۴- الف). تغییرات سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز (در جنس نر مولدین کپور نقره‌ای در مراحل I، II و III رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنی‌دار (P > ۰/۰۵)؛ ولی در مرحله IV رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری افزایش یافت و به حداکثر رسید (P <۰/۰۵) (نمودار۴- ب). تغییرات سطوح یون کلسیم در جنس ماده مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف و همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی سیر صعودی داشت و در برخی مراحل اختلاف معنی‌داری نشان داد (P <۰/۰۵) (نمودار۵- الف). براساس نتایج، حداکثر سطوح یون کلسیم در جنس نر مولدین کپور نقره‌ای در مرحله III رسیدگی جنسی مشاهده گردید که در مقایسه با مرحله I اختلاف معنی‌داری نشان داد (P <۰/۰۵) (نمودار۵- ب).

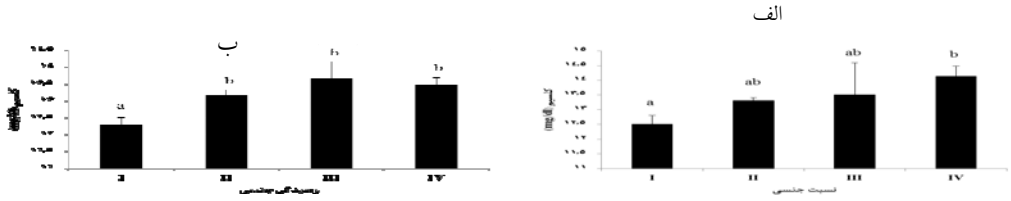
مقایسه تغییرات سطوح هورمونهای استروئید جنسی: مقایسه سطوح هورمون تستوسترون بین مولدین نر و ماده فیتوفاگ در مراحل مختلف رسیدگی جنسی اختلاف معنی-داری نشان نداد (P > ۰/۰۵) (نمودار ۶). در مقایسه، سطوح تغییرات هورمون پروژسترون بین مولدین کپور نقره‌ای نر و ماده در مرحله III رسیدگی جنسی در ماده‌ها بطور معنی‌داری بیشتر از نرها بود (P < ۰/۰۵) (نمودار ۷). مقایسه سطوح هورمون ۱۷ بتا – استرادیول بین دو جنس نر و ماده مولدین کپور نقره‌ای نشان داد که در همه مراحل سطوح آن در ماده‌ها بیشتر از نرها بود. بطوریکه در مراحل II و IV اختلاف معنی‌داری نشان داد (P < ۰/۰۵) (نمودار ۸). مقایسه سطوح تغییرات یون کلسیم بین دو جنس نر و ماده مولدین کپور نقره‌ای نشان داد که در ماده‌ها در مرحله IV رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری بیشتر از نرها بود (P < ۰/۰۵) (نمودار ۹). مقایسه سطوح تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بین دو جنس نر و ماده مولدین کپور نقره‌ای اختلاف معنی‌داری در همه مراحل رسیدگی جنسی نشان داد. بطوریکه در مراحل III و IV در ماده‌ها بیشتر از نرها بود (P < ۰/۰۵) (نمودار ۱۰).

بحث

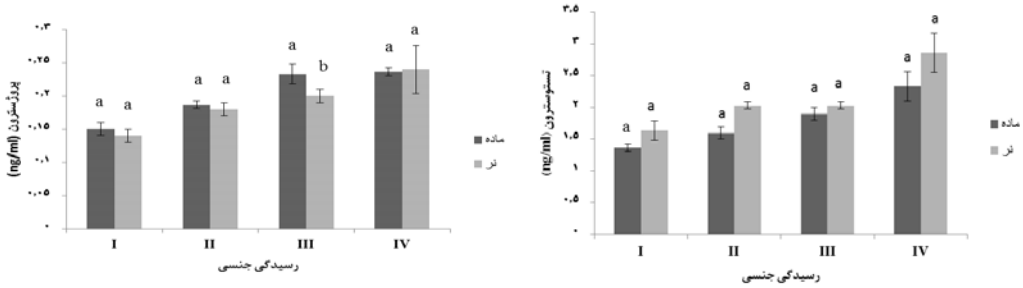
بهترین و آسانترین راه تشخیص مراحل رسیدگی جنسی در ماهیان بهره‌گیری از سطوح شاخص‌های تولیدمثلی و نشانه‌های بافت‌شناسی گناد و برای پیش‌بینی مراحل رسیدگی جنسی، حضور انواع یاخته‌های گامتوژنیک که بطور غالب در گناد ماهیان یافت می‌گردد، می‌باشد (۱۶).



نمودار ۴- میانگین تغییرات سطوح آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی) مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی. الف) ماده و ب) نر
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

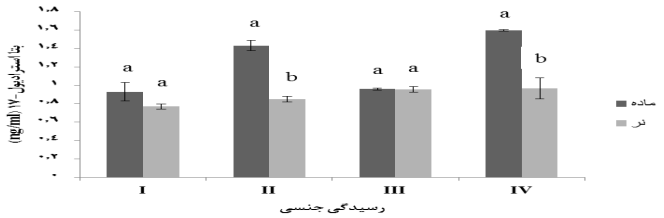


نمودار ۵- میانگین تغییرات سطوح یون کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مولدین کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی. الف) ماده و ب) نر

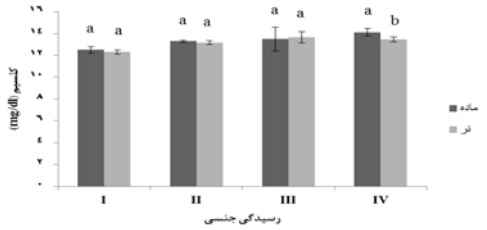


نمودار ۶ – مقایسه میانگین سطوح تستوسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین نر و ماده کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

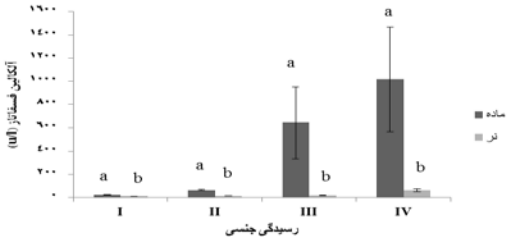
نمودار ۷- میانگین پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین نر و ماده کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



نمودار ۸- میانگین ۱۷ بتا - استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر) مولدین نر و ماده کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



نمودار ۹ - میانگین کلسیم (میلی‌گرم در دسی لیتر) مولدین نر و ماده کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.



نمودار ۱۰- میانگین آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی در لیتر) مولدین نر و ماده کپور نقره‌ای در مراحل مختلف رسیدگی جنسی
*حروف نامتشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

پس از تکمیل تقسیمات میتوزی سلول‌های اووگونیا، اووسیت‌های مراحل اولیه رشد ظاهر شده و بوسیله چند سلول گرانولوزا احاطه می‌گردد که بشدت بازوفیل هستند. مقدار زیادی بافت چربی تخمک‌ها و گنادها را در برگرفته و در آنها ذخیره می‌شوند، زیرا چربی‌ها مواد انرژی‌زایی هستند که برای آغاز رشد تخمک‌ها لازمند. در تخمک‌های مرحله سوم لایه سلولی گرانولوزا را می‌توان بطور کاملاً متمایز مشاهده نمود. در سلول‌های جنسی مرحله چهارم ماهیان ماده، روند رشد و حضور تخمک‌ها بعنوان شاخص تولیدمثلی قابل ارزیابی می‌باشد. رشد مواد زرده‌ای و اندازه مناسب قطر تخمک نشانه کیفیت بالا و تجمع ذرات چربی نشانه کیفیت پائین تخمک‌هاست (۶). در تخمک مرحله چهارم رسیدگی جنسی می‌توان لایه ژله‌ای، منطقه شعاعی خارجی و داخلی، لایه چربی، رنگدانه‌ها، سیتوپلاسم، هسته، هستک‌ها و میکروپیل را بطور وضوح مشاهده نمود (۱۴).

در تحقیق حاضر، نتایج تغییرات سطوح هورمون ۱۷ آلفا – هیدروکسی تستوسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در جنس ماده و نر همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). سطوح هورمون پروژسترون در جنس ماده فیتوفاگ در مراحل III و IV بطور معنی‌داری بیشتر از مراحل I و II رسیدگی جنسی بود ($P < ۰/۰۵$). سطوح هورمون پروژسترون در جنس نر ماهی فیتوفاگ بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت. سطوح هورمون ۱۷ بتا- استرادیول در جنس ماده بطور معنی‌داری همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$).

یک گروه از هورمونها که توسط تعداد وسیعی از مواد تأثیر می‌پذیرند، هورمونهای استروئید جنسی بویژه استروژنها هستند. استروژنها دامنه وسیعی از اثرات را بر تکامل، رشد، تمایز و عملکرد بسیاری از اندامها دارند (۱۹). با توجه به همبستگی نسبتاً خوبی که بین غلظت هورمون تستوسترون

و غلظت استرادیول سرم خون در مرحله سوم (زرده‌سازی) رسیدگی جنسی بعنوان ماده پیش مصرف‌کننده ساخت استرادیول در فولیکول‌های تخمدانی وجود دارد (۲۵)، و نیز با توجه به این که هورمون تستوسترون اصلی‌ترین و کلیدی‌ترین هورمون تولیدی گناد ماهیان است (۱۶)، می‌توان نتایج مطالعه حاضر در این خصوص را درست و منطقی پنداشت.

هورمون تستوسترون در ماهیان استخوانی ممکن است در مقادیر بالا نقش ویتلوژنی و یا نقش حفاظت از اووسیت‌ها و تکمیل فرآیند ویتلوژنز در تخمک را بر عهده داشته باشد (۲۳). تستوسترون در چرخه تولید هورمون‌های جنسی کپور نقره‌ای ماده نقش دارد و مانند یک لایه آروماتاز در ساخت استرادیول شرکت می‌کند. در واقع تستوسترون و ۱۱ کتو- تستوسترون دخیل در کنترل تولیدمثل هستند (۱۴). در چرخه تولیدمثلی و استروئیدهای جنسی ماهی سوف ماده اروپایی بیان گردید که سطح هورمون تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول در دوره استراحت جنسی (مرحله II رسیدگی جنسی) پایین بود (۱۹). اما سطح هورمون‌های استرادیول و تستوسترون بطور معنی‌داری پس از شروع اووژنز و در مرحله سوم رسیدگی جنسی (۴ – ۳ نانوگرم در میلی‌متر) مطابق با مطالعه ما افزایش یافت. سطح هورمون تستوسترون در بسیاری از گونه‌های ماهیان استخوانی، بیانگر حداکثر غلظت سطح این هورمون قبل از تخم‌ریزی و هنگام رسیدگی نهایی تخمک‌ها در مولدین ماده می‌باشد. اما بلافاصله پس از تخم‌ریزی سطح هورمون تستوسترون به حداقل میزان خود می‌رسد (۳). ۱۷ بتا – استرادیول بعنوان هورمون ماده‌ساز بوده که بعنوان یکی از مؤثرترین هورمونهای استروژنی شناخته می‌شود (۱). استروئیدهای سلولهای تکای تخمدان (مانند تستوسترون) قادرند به درون سلولهای گرانولوزا (Granulosa) نفوذ کرده، موجب بیان ژن آنزیم آروماتاز (P45Oaro) شده و سرانجام تستوسترون به ۱۷ بتا – استرادیول تبدیل می‌گردد، سپس استروئید مورد نیاز برای رشد اووسیت فراهم می‌شود (۸).

تغییرات معنی‌دار سطوح هورمونهای جنسی در قبل و بعد از تخمریزی در ماهی سوف (*Sander locioperca*) گزارش گردید و بیان شد این تفاوتها می‌تواند به دلیل تفاوتهای فیزیولوژیک و نوع عمل هورمونها در مراحل نهایی تکثیر باشد (۵). تغییرات فصلی سطوح هورمونهای استروئید جنسی در ماهی کپور معمولی اختلاف معنی‌داری در سطوح هریک از هورمونها در فصول مختلف نشان داد. بطوریکه همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی سطوح آنها نیز افزایش یافت (۲۸). بلوغ جنسی و سطوح هورمونهای استروئید گنادی در اردک ماهی (*Esox Lucius* Linaeus,1958) تالاب انزلی مورد بررسی قرارگرفت و بیان گردید سطوح هورمونهای استروئید گنادی یکی از شاخص‌های مهم بیولوژی تولیدمثل می‌باشد. همچنین سطوح ۱۷ بتا – استرادیول در فصل پاییز، تستوسترون در فصل زمستان و ۱۷ آلفا – هیدروکسی پروژسترون در پاییز و زمستان افزایش یافت (۴). کاهش میزان تستوسترون و افزایش هورمون استرادیول طی دوره پرورش را نتیجه افزایش فعالیت آروماتاز تخمدان بر اثر تغییرات دمایی محیط دانسته، تبدیل تستوسترون به استرادیول را وابسته به تغییرات دمایی اعلام کردند (۳۱). در واقع تغییرات فصلی در هورمونهای استروئیدی مرتبط با چرخه‌های تولیدمثلی سرانجام در رفتار تولیدمثلی مؤثر بوده، و برای موفقیت در امر تولیدمثل در همه مهره‌داران لازم و ضروری می‌باشند (۲۰، ۲۱ و ۲۷).

میزان یون کلسیم در ماهیان آب شیرین بین ۱۲– ۸ میلی-گرم در دسی‌لیتر می‌باشد و عوامل استرس‌زا و تغییرات دمایی شبانه‌روزی اثر ناچیزی روی کلسیم خون دارند. در ماهیان استخوانی ثابت شده است که پس از رسیدگی نهایی تخمک‌ها، برای فعال‌سازی و شروع عمل لقاح در غلظت یون Ca^{2+} درون سلولی (درون تخمک) افزایش ایجاد می

شود. این افزایش یون کلسیم علاوه بر فعال‌سازی تخمک، نقش مهمی در رشد و نمو جنینی بر عهده دارد. بطور مؤثر مطالعات روی فعال‌سازی تخمک در ماهیان استخوانی که در اثر افزایش در یون کلسیم درون سلولی پدید می‌آید، محدود به گونه‌های medaka (Oryzia) و Zebra fish (*Brachudanio rerio*) می‌باشد (۱۸). از این نتایج می‌توان دریافت که یونهای کلسیم و منیزیم و تغییرات آنها وابسته به جنسیت و نوع گونه، در ماهیان مختلف متفاوت است. در تحقیق حاضر، نتایج تغییرات سطوح یون کلسیم در جنس ماده مولد فیتوفاگ در مراحل مختلف و همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش معنی‌داری نشان داد ($P <۰/۰۵$).

مطالعات نشان داد که سطوح کلسیم با چرخه تولیدمثلی و رسیدگی گناد ارتباط دارد. یعنی برای تشکیل دانه‌ها و مولکول‌های زرده، وجود یون کلسیم امری ضروری است **(۷ و ۲۹)**. نتایج تحقیقات حاضر نیز ارتباط بین یون کلسیم و چرخه تولیدمثلی را نشان داد. هورمون‌های استروئید جنسی در جذب و بازسازی یون کلسیم در زمان رشد و نمو تولیدمثلی و بلوغ نقش دارند. در ماده‌ها گنادوتروپین از غده هیپوفیز آزاد می‌شود و تولید تستوسترون در سلولهای تکای تخمدان را تحریک می‌کند. تستوسترون سپس به سلول‌های گرانولوزا تخمدان منتقل و به استرادیول آروماتیزه می‌شود و متعاقباً به خون می‌ریزد. استرادیول بطور مستقیماً بر سلول‌های کبدی تاثیر می‌گذارد و سبب سنتز و رهاسازی ویتلوژنین می‌شود (۱۲ و ۲۴). در همه مهره‌داران، بویژه ماده‌ها، نیاز به کلسیم (Ca^{2+}) طی چرخه تولیدمثلی افزایش می‌یابد. در ماهیان، ویتلوژنین (VTG)، بعنوان یک پروتئین پیش‌ساز زرده، در کبد بدنبال تحریک با ۱۷ بتا- استرادیول (E_2) ساخته می‌شود. ویتلوژنین یک لیپوگلیکوفسفو پروتئین است که جهت ساختنش نیاز به یون کلسیم دارد و به دلیل فسفات قطبی (PO_4^{3-}) به مقدار زیادی از یون کلسیم و سایر کاتیونهای دو قطبی از قبیل منیزیم (Mg^{2+}) در پلاسما متصل می‌شود. پس از انتقال از طریق سیستم عروقی، مولکولهای ویتلوژنین درون اووسیت‌های در حال رشد ذخیره می‌شوند و بطور مؤثری کلسیم را از ذخیره اصلی حذف می‌کنند (۳۱). بنابراین، ذخیره یون کلسیم در زمان توسعه و تکامل جنسی تخلیه و کاهش می‌یابد. مطالعات نشان داد که سطوح کلسیم با چرخه تولیدمثلی و رسیدگی گناد ارتباط دارد. یعنی برای تشکیل دانه‌ها و مولکول‌های زرده، وجود یون کلسیم امری ضروری است (۲۹). نتایج تحقیقات حاضر نیز ارتباط بین یون کلسیم و چرخه تولیدمثلی را نشان داد.

با مقایسه سطوح هورمون‌های استرادیول، تستوسترون، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون و یون کلسیم پلاسمای خون مولدین ماده با مقاطع بافت تخمدانی مولدین ماده ماهی سفید صید شده از دریا و رودخانه می‌توان دریافت که بین نوسانات هورمون‌های یاد شده و یون کلسیم پلاسمای خون و میزان رسیدگی جنسی تخمدان‌ها در مولدین ماده ارتباط وجود دارد (۹).

سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز در دو جنس نر و ماده ماهی کپور نقره‌ای همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P <۰/۰۵$) و به حداکثر میزان خود در مرحله IV رسیدگی جنسی رسید. در مقایسه بین جنس ماده و نر، سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز در جنس ماده بطور معنی‌داری در همه مراحل رسیدگی بیشتر از نر بود که می‌تواند بدلیل نیاز بیشتر به این آنزیم جهت مصرف در زرده‌سازی در جنس ماده باشد. این در حالی است که در فیل‌ماهی پرورشی ماده همزمان با رشد اووسیت‌ها آلکالین فسفاتاز جهت زرده‌سازی مصرف شده و در نتیجه سطوح آلکالین فسفاتاز کاهش یافت. فسفر یکی از مواد اصلی سازنده زرده تخمک را تشکیل می‌دهد (۳۱). آلکالین فسفاتاز (ALP) یک آنزیم هیدرولاز مسئوول حذف گروه-های فسفات از بسیاری از انواع مولکول‌ها از قبیل نوکلئوتیدها و پروتئین‌ها می‌باشد. تحقیقات نشان داده است

که بروز آنزیم‌ها از جمله آلکالین فسفاتاز تحت کنترل هورمونهای تخمدانی است و تغییرات فعالیت در واکنش نسبت به هورمونهای تخمدانی استروژن و پروژسترون است (۱۵،۱۰). 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 آلکالین فسفاتاز با جدا کردن و انتقال گروه‌های فسفات، می‌تواند در فرایند استروئیدسازی سلولهای تکا کمک کند. از مهمترین هورمونهای استروئیدی مترشحه از سلولهای تکا هورمون پروژسترون است.

باتوجه به نتایج حاصل، سطوح هورمونهای استروئید جنسی در هر دو جنس نر و ماده همزمان با پیشرفت رسیدگی جنسی افزایش یافته و ارتباط مستقیم معنی‌داری با شاخص‌های یون کلسیم و آنزیم آلکالین فسفاتاز مشاهده گردید و حداکثر سطوح هورمونها و سایر شاخص‌های تولیدمثلی مذکور در مرحله IV رسیدگی جنسی بود. بنابراین، می‌توان براساس شاخص هورمون‌های جنسی (هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا – استرادیول) و بیوشیمیایی (کلسیم) و آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم خون مولدین کپور نقره‌ای پرورشی جنسیت و مراحل مختلف رسیدگی جنسی را در هر دو جنس این گونه تعیین نمود. بنظر می‌رسد با دستیابی به دانش کافی و لازم در خصوص فیزیولوژی تولیدمثل از طریق تعیین شاخص‌های مورد نظر (سطوح هورمون‌های استروئید جنسی، یون کلسیم و آنزیم آلکالین فسفاتاز) امکان بهگزینی مولدین و افزایش راندمان تولید و تکثیر در مولدین کپور نقره‌ای فراهم گردیده و با بکارگیری نتایج تحقیق بتوان به تشخیص کیفیت مولدین، زمان دقیق تکثیر مولدین کپور نقره‌ای و افزایش راندمان تکثیر کمک نمود.

منابع

۱. اخوان، س.، فلاحتکار، ب.، طلوعی، م.ح. و مجازی امیری، ب. ۱۳۹۳. اثر ایمپلنت هورمون ۱۷ بتا – استرادیول بر روند توسعه گنادی فیل‌ماهیان پرورشی در مرحله پیش‌زرده سازی، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۷، شماره ۲، صفحات ۲۵۰ – ۲۳۹.

۲. بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPI و HPG، سیستم ایمنی و فرایند تولیدمثل در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکترای تخصصی. (Ph.D)، صفحه۲۷۴.

۳. بهمنی، م.، کاظمی. ر.، یوسفی جوردهی، ا.، یزدانی ساداتی، م.ع.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، دژندیان، س. و محسنی، م. ۱۳۸۹. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی"بررسی امکان تکثیر مصنوعی شیپ و تاسماهی ایرانی پرورشی". موسسه تحقیقات شیلات ایران.

۴. خدادوست، ع.، ایمانپور، م.، خارا، ح.، و تقی زاده، و.، ۱۳۹۴. بلوغ جنسی و سطوح هورمونهای استروئید گنادی در اردک ماهی (*Esox lucius* Linaeus,*1958*) تالاب انزلی، نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نهم، شماره اول، صفحات ۴۱ – ۳۳.

۵. فلاحتکار، ب.، و پورحسین سارمه، س.، ۱۳۹۲. تغییرات بیوشیمیایی، استروئیدهای جنسی و پارامترهای هماتولوژیک در قبل پس از تخمریزی ماهی سوف سفید (*Sander locoiperca*)، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۶، شماره ۳، صفحات ۱۱ – ۱.

۶. کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، پرندآور، ح.، دژندیان، س.، پوردهقانی، م.، دژندیان، س.، و یوسفی، ا.، ۱۳۸۳. گزارش تعیین جنسیت فیل‌ماهیان پرورشی کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از طریق بیوپسی. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، تغییرات هورمونهای جنسی طی مراحل رشد تخمدان ماهی (*Epinephelus coioides*) در خلیج‌فارس. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، صفحات ۸۰ – ۷۲.

۷. کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، دژندیان، س.، حلاجیان، ع.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م.، یزدانی، م.ع.، محسنی، م.، محمدی پرشکوه، ح.، و یگانه، ه.، ۱۳۹۱. مطالعه امکان تکثیر در فیل‌ماهی با استفاده از هورمون سنتتیک GnRH جهت تولید بچه‌ماهی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحه ۸۰.

۸. نجفی‌پور، ش.، ۱۳۸۴. تعیین سطوح هورمونهای استروئیدی جنسی و ارتباط آنها با رسیدگی جنسی و برخی شاخص‌های تولیدمثلی در مولدین ماده ماهی سفید غرب گیلان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، صفحه ۱۷۷.

۹. نظری، ر.، ۱۳۷۵. بررسی کاربرد هورمونهای غده هیپوفیز ماهی اسبله در تکثیر کپور ماهیان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، صفحه ۷۸.

۱۰. یوسفی جوردهی، ا.، سوداگر، م.، بهمنی، م.، دهقانی، ا.، حسینی، ع.، و یزدانی، م. ۱۳۹۲. مطالعه اثر فیتواستروژنها بر روند رشد رسیدگی جنسی فیل‌ماهی ماده پرورشی، مقایسه اثرات فیتواستروژنهای جنیستین و اکوال بر سطوح هورمونهای استروئید جنسی در فیل‌ماهی ماده (*Huso huso*) پرورشی، فصلنامه علمی- پژوهشی محیط زیست جانوری، سال پنجم، شماره ۵، صفحات ۵۷ – ۵۱.

11. Bahmani, M., Kazemi, R., Yousefi Jourdehi, A., Yazdani Sadati, M., Pouedehghani, M., Hallajian, A., Dejhandian, S., and Mohseni, M., 2005. Final report of sexing of on evaluation of artificial propagation possibility in farmed *Acipenser nudiventris* and *Acipenser persicus*, Iranian Fisheries Research organization, 80P.

12. Bahmani, M., Yousefi Jourdehi, A., Kazemi, R., Pourdehghani, M., Hallajian, A., Dejhandian, S., and Jalilpoor, J., 2009. Seasonal fluctuations of testosterone (T), 17α-hydroxy progesterone (17α-OHP), 17β-estradiol (E_2) during sexual maturation in *Acipenser stellatus*, Iran. J. Fish. 4, PP: 7-16.

13. Barannikova, I.A., Bayounova, L.V., and Semenkova, T.B., 2004. Serum levels of testosterone, 11 ketotestosterone and estradiol and estradiol-17 in three species of sturgeon during gonadal Development and final maturation induced by hormonal treatment, Journal of fish biology. Vol: 64, issues. 5, 1330 p.

14. Bucci, M., and Murphy, C., 2001. Hormonal control of enzyme activity during the plasma membrane transformation of uterine epithelial cells, Cell BiolInt. 25, PP: 859-871.

15. Bukovskaya, O.S., Lambert, J.G.D., and Kime, D.E., 1997. In vitro steroidogenesis by gonads of the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedti* Brandt, *Fish Physiology and Biochemistry*, 16, PP: 345-353.

16. Crime, L.W., and Glebe, B. D., 1990. Reproduction (In: Methods for Fish Biology edit, Schreck & Moyle) American Fisheries Society Publication. PP: 529-553.

17. Coward, K., Bromage, N.R., Hibbitt, O., and Parrington, J., 2002. Gametogenesis, fertilization and egg activation in teleost fish, Rev. Fish Biol Fish. 12, PP: 33–58.

18. Fontain, P., Sulistyo, I., Richard, Jgardeur, J.N., Capdeville, B., and Kestemont, P., 1998. Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. Aquat Living Resource.11, (2) PP:101–110.

19. Hoar, W.S., Randal, D.J., and Donaldson, E.M., 1993. Development of egg and Larvae Fish physiology, Vol.IX Part B Academic Press London. 477 p.

20. Johnson, A.K., Thomas, P., and Wiilson, R.R., 1998. Seasonal cycles of gonadal develoment and plasma sex steroid levels in *Epinephelus morio*, a Protogynous grouper in the eastern Gulf of Mexico, Journal of Fish Biology. 52, PP: 502–518.

21. Joseph, A., Sisneros, P., Fornaldo, M., Rosemary, K., and Andrew, H.B., 2004. Seasonal variation of steroid hormone levels in an intertidal – nesting fish, the vocal Plianfin midshipman. General and Comparative Endocrinology. 136, PP: 101 – 116.

22. Kime, D.E., 1993. Classical and non-classical reproductive steroids in fish, Review Biology and Fisheries. 3, PP: 160-180

23. Nagahama, Y., and Yamashita, M., 2008. Regulation of oocyte maturation in fish, Develop, Growth Differ. 50, PP: 195–219.

24. Nazari, R.M., and Ghomi, M.R., 2010. Relationship between steroid hormones and maternal characteristics and larvae in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), *Italian Journal of Zoology*. 77(**4**), PP: 492–494.

25. Rankin, Y.C., Pitcher, R., and Duggan, T., 1983. Control processes in fish physiology, croom Helm, London. Physiol, B. 67, PP: 720-724.

26. Sisneros, J.A., Forlano, P.M., Deitcher, D.L., and Bass, A.H., 2004. Steroid-dependent auditory plasticity leads to adaptive coupling of sender and receiver Science. 305. PP: 404-407.

27. Taghizadeh, V., Imanpoor, M.R., and Mehdinejad, N., 2013. Study the seasonal steroid hormones of common Carp in Caspian Sea, Iran. Springer Plus. 2, 193 p.

28. Tsai, C.h.Li, and Wang, Li-H., 2000. Sex Differences in the Responses of Serum Calcium Concentrations to Temperature and Estrogen in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*, Zoological Studies. 39(1), PP: 55-60.

29. Yamada, H., Satoh, R., Ogoh, M., Takaji, K., Fujimoto, Y., Hakuba, T., Chiba, H., Kambegawa, A., and Iwata, M., 2002. Circadian changes in serum concentrations of steroids in Japanese char (*Salvelinus leucomaenis*) at the stage of final maturation. Zoolog Sci. 19, PP: 891-898.

30. Yousefi Jourdehi, A., Sudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S.M., Dehghani, A.A., and Yazdani, M., 2014. Comparative study of dietary soy phytoestrogens genistein and equol effects on growth parameters and ovarian development in farmed female beluga sturgeon, *Huso huso*. Fish Physiol Biochem. 40, PP: 117–128.

31. Zhang, Y., Doroshov, S., Famula, T., Conte, F., Kueltz, D., Linartes-Casenave, J., Van Eenennaam, J., Struffenegger, P., Beer, K., and Murata, K., 2011. Egg quality and plasma testosterone and estradiol-17β in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) farmed for caviar. J. Appl. Ichthyol. 27, PP: 558-564.

Fluctuations of sexual hormones, calcium ion and alkalinephosphatase enzyme during different sexual maturation stages in broodstock of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix L.*)

Yasemi M.[1], Rafi Parhizkar H.[2], Tizkar B.[2] and Yousefi Jourdehi A.[3]

[1] Institute of Technical & Vocational Higher Education Agriculture, Tehran, I.R. of Iran

[2] High Scientific-Practical Center of Mirzakoochakkhan, Rasht, I.R. of Iran

[3] International Sturgeon Research Institute (Areo), Rasht, I.R. of Iran

Abstract

Study of hormone profiles is one of the most important methods for detecting regulator mechanisms of reprodution process in fish. The present study was carried out with the aim of determining sexual steroid hormones, calcium ion and alkalinephosphatase enzyme (ALP) during different sexual maturation stages in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during 6 months. A total of 24 fish (including 12 males and 12 females) at different sexual maturation stages (I-IV) were selected and blood samples were taken. Testosterone and progesterone levels showed significant difference both in males and females at different sexual maturation stages ($P<0.05$). Esteradiol (E_2) levels increased significantly in females with sexual maturation stages improvement. ALP enzyme levels increased significantly in males and females with improving sexual maturation stages and reached to a maximum at stage IV ($P<0.05$). Calcium ion level increased significantly in females with sexual maturation development ($P<0.05$). In comparison, progesterone and E_2 levels in females were more than males at all stages. ALP levels showed significant different between males and females at all sexual stages ($P<0.05$). In conclision, it observed a direct significant relationship between sex steroid hormones, calcium ion and ALP both in males and females. It seems that with determining of desired indices, it could be help to detect status and accurate time for propagation in Silver Carp.

Key words: Sex steroid hormones, Sexual maturation stages, ALP, Calcium, Silver Carp