**مجله بوم شناسی آبزیان**

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

# مقایسه اثر القایی عصاره تازه و منجمد اعصاب شعاعی خیار دریایی *Holothuria arguinensis* در رسیدگی نهایی تخمک

**بی‌تا کلوانی نیتلی[۱]، محمد سوداگر[۱*]، محمد مازندرانی[۱]، احمد نوری[۲]، مرسدس گنزالس وانگومرت[۳]**

[۱] *گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران*

[۲] *گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران*

[۳] Centro de Ciências do Mar, University of Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro Portugal

**نوع مقاله:**
پژوهشی

**تاریخچه مقاله:**
دریافت: ۹۷/۰۶/۲۲
اصلاح: ۹۷/۰۸/۲۵
پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۸

**کلمات کلیدی:**
اووسیت
تخمک
خیار دریایی
عصب شعاعی

**چکیده**

تخمک متوقف شده در مرحله پروفاز میوز I، کمی پیش از تخم‌ریزی به رسیدگی نهایی می‌رسد. از جدیدترین روش‌ها در زمینه تکثیر مصنوعی خیارهای دریایی، القای رسیدگی نهایی تخمک با تحریک عصاره بافت عصبی موجود است. از آنجا که زمان مناسب برای عصاره گیری در بازه زمانی محدودی از سال می‌باشد، ذخیره‌سازی عصاره به روش انجماد اهمیت بالایی دارد. هدف این تحقیق، مقایسه اثر القایی عصاره عصبی خیار دریایی در دو حالت تازه و منجمد در رسیدگی نهایی تخمک در گونه *Holothuria arguinensis* در شرایط *in vitro* می‌باشد. خیارهای دریایی از سواحل فارو- پرتغال برداشت و در آزمایشگاه عصاره بافت عصبی جانور در فصل تولیدمثل استخراج شد.. تخمک‌های خارج شده از بدن موجود ماده به مدت ۹۰ دقیقه، در معرض عصاره تازه و یا در معرض عصاره ذوب شده پس از انجماد قرار گرفتند. هر یک از تیمارها با ۳ تکرار صورت گرفت. میزان بروز پدیده GVBD در تخمک‌ها به عنوان شاخص عملکرد القایی عصاره بافت عصبی در القای رسیدگی نهایی تخمک در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج، عملکرد القایی عصاره بافت عصبی این گونه پس از انجماد کاهش نیافته و می‌توان از عصاره استحصال شده در فصل تولیدمثل، برای مدت طولانی استفاده نمود.

## مقدمــه

خیارهای دریایی از جهات زیادی گونه‌های با ارزش تلقی می‌شوند. میزان بالای پروتئین و چربی کم در بسیاری از گونه‌ها به علاوه وجود مقادیر مناسب ویتامین و مواد معدنی، آن‌ها را تبدیل به گونه‌های مناسبی برای تغذیه انسانی در بسیاری از کشورها نموده است (Bordbar *et al*., 2011; Omran, 2013; Roggatz *et al*., 2016; Wen *et al*., 2010). همچنین خیارهای دریایی در پزشکی مدرن و نیز طب سنتی بسیار ارزشمند هستند که دلیل آن خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد (Chen, 2003; Farouk *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2009; Hawa *et al.*, 1999; Sugawara *et al.*, 2006). از طرف دیگر، نقش مهم اکولوژیک خیارهای دریایی در اکوسیستم‌های دریایی در گذشته آشکار شده است. برهم زدن بستر دریا، بازیافت مواد آلی ، تبدیل مواد رسوبی و ارگانیک به ذرات کوچک‌تر و افزایش نفوذ اکسیژن به لایه‌های رسوبات

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: sudagar_m@yahoo.com



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

کف از جمله عملکردهای خیارهای دریایی در اکوسیستم‌های دریایی می‌باشد. در نتیجه این موجودات برای تعیین کیفیت زیستگاه‌ها برای سایر گونه‌ها دارای اهمیت بوده و می‌توانند بخش قابل توجهی از بایومس اکوسیستم را ارائه دهند (Bruckner *et al*., 2003).

افزایش تقاضای بازار برای خیارهای دریایی و فشار صید منجر به کاش جمعیت بسیاری از گونه‌های آن شده است (Domínguez-Godino *et al*., 2015; Friedman *et al*., 2011; Huang *et al*., 2018; Ivy and Giraspy, 2006). به دلیل اهمیت بالای خیارهای دریایی جوان و بالغ، کاهش این موجودات می‌تواند منجر به اختلال عملکرد اکوسیستم و بی‌نظمی شبکه غذایی دریایی گردد (Purcell *et al*., 2013). در این شرایط، آبزی‌پروری می‌تواند راه مؤثری برای حفظ جمعیت وحشی و کاهش فشار صید شود (Domínguez-Godino and González-Wangüemert, 2018; Huang *et al*., 2018; Ivy and Giraspy, 2006). از آنجا که به دست آوردن تعداد کافی تخم لقاح یافته با کیفیت خوب می‌تواند یک چالش محسوب گردد، دسترسی به تعداد کافی تخم لقاح یافته طی مدت طولانی یک گام مهم و تعیین‌کننده در پرورش خیارهای دریایی است (Battaglene *et al*., 2002).

در حال حاضر در تکثیر خیار دریایی، خروج تخمک و اسپرم با استفاده از شوک حرارتی انجام می‌گیرد (Battaglene *et al*., 2002; Chen, 2003; Domínguez-Godino and González-Wangüemert, 2018; Domínguez-Godino *et al*., 2015; Ivy and Giraspy, 2006; Laxminarayana, 2005; Yamano *et al*., 2015)، هرچند روش‌های دیگری برای القای خیارهای دریایی به خروج گامت ها به کار رفته‌اند که از جمله می‌توان به تحریک جلبکی (Domínguez-Godino *et al*., 2015; Hu *et al*., 2013)، شدت نور (Fujiwara *et al*., 2010)، کاربرد جریان آب قوی پس از خشکی محیط و تحریک با استفاده از افزودن گناد نر (Hu *et al*., 2010; Hu *et al*., 2013; Ivy and Giraspy, 2006). گرچه شوک حرارتی معمول‌تر از سایر روش‌های القایی بوده و در حال حاضر در مراکز مورد استفاده قرار می‌گیرد اما بنا بر برخی گزارش‌ها این روش می‌تواند نسبتاً غیر کارآمد بوده و نرخ تخم‌ریزی غیرقابل پیش‌بینی باشد (Eeckhaut *et al*., 2012; Fujiwara *et al*., 2010; Yamano *et al*., 2015). همچنین موفقیت این روش کاملاً وابسته به فصل تخم‌ریزی می‌باشد (Léonet *et al*., 2009). از جدیدترین روش‌های مورد استفاده در القای رسیدگی نهایی تخمک‌های خیار دریایی، استفاده از عصاره بافت عصبی خیارهای دریایی می‌باشد.

در خیارهای دریایی تخمک رشد یافته در پروفاز میوز I متوقف شده و ادامه تقسیمات بلافاصله قبل از تخم‌ریزی رخ می‌دهد (Battaglene *et al*., 2002; Eeckhaut *et al*., 2012; Kato *et al*., 2009; Maruyama, 1985). طبق تحقیقات عصاره بافت عصبی خیارهای دریایی در فصل تخم‌ریزی دارای فعالیت شبه گنادوتروپیک بوده و کاربرد عصاره تازه به صورت *In vitro* در برخی گونه‌های خیار دریایی منجر به ادامه تقسیمات میوزی و رسیدگی نهایی تخمک می‌گردد و علت این ویژگی، حضور پپتیدهای کوچک است که به عنوان ماده محرک رشد گناد (Gonad Stimulatimg Substance-GSS) عمل می‌کنند (Maruyama 1985; Fujiwara *et al*., 2010; Kato *et al*., 2009). با توجه به اینکه برای دستیابی به هدف مورد نظر، عصاره بافت عصبی می‌بایست در فصل مناسب (هنگام تخم‌ریزی) تهیه گردد، چنانچه عصاره قابلیت نگهداری به صورت انجماد را داشته باشد برای مدت طولانی‌تری در دسترس خواهد بود اما با توجه به ماهیت پروتئینی ماده مؤثر موجود در عصاره باید اطمینان حاصل کرد که فرآیند انجماد و ذوب تأثیر مخرب بر عملکرد پپتید موردنظر نخواهد داشت.

خیار دریایی گونه *Holothuria arguinensis* گونه ارزشمند نواحی شمال شرقی اقیانوس اطلس می‌باشد که از سواحل پرتغال تا مراکش و موریتانی از جمله جزایر قناری یافت می‌شود و پراکنش آن به سمت دریای مدیترانه نیز گسترش یافته است (González-Wangüemert and Borrero-Pérez, 2012; Rodrigues, 2012). این گونه در بسترهای ماکروجلبکی، شنی و بر روی علفزارهای دریایی در اعماق صفر تا ۵۲ متر یافت می‌شود (Domínguez-Godino *et al*., 2015). این گونه نسبتاً بزرگ با طولی بالغ بر ۱۸۵ میلی‌متر (González-Wangüemert and Borrero-Pérez, 2012)، به دلیل نسبت مناسب پروتئین به چربی، میزان بالای پروتئین و چربی و کربوهیدرات پایین می‌تواند گزینه مناسبی برای مصرف انسانی (در برخی کشورها) تلقی گردد (Domínguez-Godino *et al*., 2015).



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

هدف از این تحقیق مشاهده اثر انجماد کوتاه مدت بر عملکرد ماده پپتیدی مؤثر در عصاره بافت عصبی و در نتیجه کارآیی آن در القای رسیدگی نهایی تخمک خیار دریایی *Holothuria arguinensis* و مقایسه آن با اثرات عصاره تازه در این گونه در شرایط *In vitro* می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

فصل تخم‌ریزی طبیعی خیارهای دریایی گونه *H. arguinensis* طی ماه‌های تابستان می‌باشد (Domínguez-Godino *et al.* 2015; Marquet *et al*., 2014). نمونه‌ها در جولای ۲۰۱۷ (تیر ماه ۱۳۹۶) در مناطق جزر و مدی از بسترهای علفزار در منطقه Ria Formosa شهر فارو در جنوب کشور پرتغال برداشت شدند. هر یک از نمونه‌ها در کیسه حاوی آب دریا ذخیره شده و در داخل مخازن سرد به مرکز آبزی‌پروری Ramalhete وابسته به مؤسسه CCMAR دانشگاه آلگارو انتقال یافتند. خیارهای دریایی در مرکز نامبرده داخل مخازن حاوی آب دریا با سیستم آب گردشی نگه‌داری شده و هر دو روز یک بار با جلبک خشک تغذیه می‌شدند. دمای آب مخازن در زمان نگه‌داری نمونه‌ها ۲۲ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد سنجش شد.

سیستم عصبی خیارهای دریایی همانند سایر گونه‌های شاخه خارپوستان شامل یک حلقه دهانی و ۵ رشته شعاعی می‌باشد که از حلقه دهانی مشتق شده و در امتداد ماهیچه‌های طولی قرار می‌گیرند (Mashanov *et al*., 2009). طبق تحقیقات گذشته هر دو قسمت حلقوی و شعاعی بافت عصبی دارای فعالیت یکسان شبه گنادوتروپیک می‌باشد (Kato *et al*., 2009). در تحقیق حاضر به دلیل سهولت کار، بافت‌های عصبی شعاعی جانور با ایجاد برش طولی در بدن همانند روش شرح داده شده توسط Maruyama در سال ۱۹۸۵، استخراج شد. بافت جدا شده وزن شد و در حجم برابر با آب دریایی Herbst هموژن شد. آب دریایی Herbst دارای فرمول (۲/٦ ٪ NaCl، ۰/۰۷ ٪ KCl، ۱/۲ ٪ $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۱۱ ٪ $CaCl_2$، ۰/۰٤٥ ٪ $NaHCO_3$) می‌باشد که pH آن می‌بایست در حد ۸/۲ ثابت گردد (Maruyama, 1985). بافت عصبی هموژن شده، با دور ۱۳۰۰۰rpm به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع شفاف رویی جدا و به عنوان عصاره عصب‌های شعاعی (Radial Nerve Extract-RNE) با غلظت یک میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر عصاره در نظر گرفته شد. بخشی از این عصاره بلافاصله در القای رسیدگی نهایی اووسیت ها استفاده شده و بخش دیگر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز و ذخیره شد. در مواردی که RNE بلافاصله استفاده شد، فاصله آماده شدن آن تا تماس با اووسیت ها کمتر از یک ساعت بود.

برای به دست آوردن اووسیت ها، بخشی از تخمدان توسط ایجاد برشی در منطقه شکمی جانور از بدن خارج شد. در زیر لوب اووسیت ها از تخمدان خارج و ۳ بار با آب دریا شسته شد. سپس اووسیت ها به مدت یک ساعت در آب دریا نگه‌داری شدند تا از نظر بروز پدیده رسیدگی نهایی خود به خودی بررسی شوند. اووسیت هایی که دارای درصد غیرقابل اغماضی از رسیدگی نهایی خودبه‌خودی بودند از روند آزمایش خارج شدند و سایر اووسیت ها تا زمان استفاده در داخل آب دریا باقی ماندند. لازم به ذکر است که مدت زمان خروج اووسیت ها از تخمدان تا استفاده آن‌ها در آزمایش کمتر از ۱/۵ ساعت بود.

اووسیت ها به مدت ۹۰ دقیقه در قالب ۳ تیمار در دمای اتاق، یک بار در معرض RNE تازه و یک بار در معرض RNE منجمد قرار گرفتند. T100 (۱۰۰٪ RNE)، T50 (۵۰٪ RNE و ۵۰٪ آب دریا) و T0 (۱۰۰٪ آب دریا). همچنین برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. معیار رسیدگی نهایی اووسیت ها، درصد بروز GVBD در آن‌ها بود (Kato *et al*., 2009).

نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک مورد سنجش قرار گرفت و اختلاف بین تیمارها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) به همراه آزمون چند دامنه توکی سنجیده شد. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شدند. تمامی آنالیزهای آماری در سطح معنی‌داری $\alpha$=۰/۰۵ انجام شد.

## نتایـج

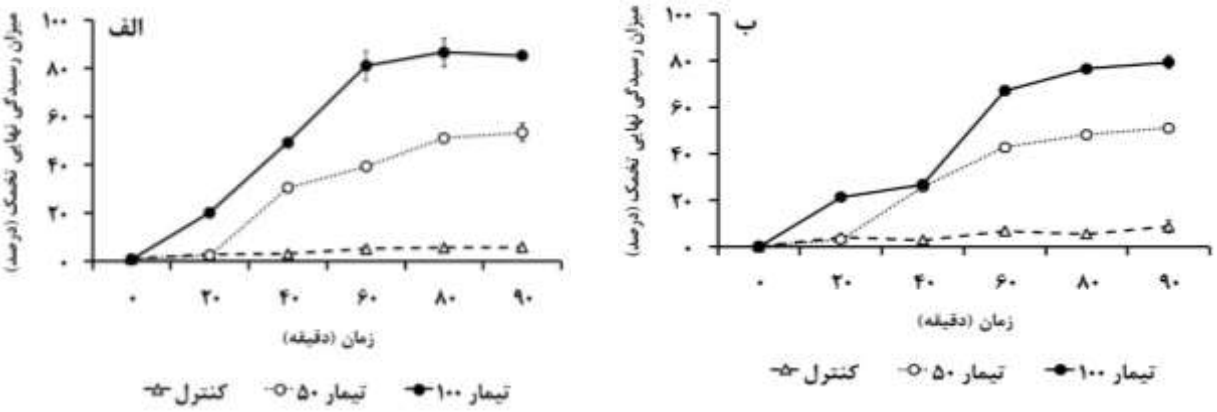


[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

تأثیر استفاده از عصاره تازه و منجمد شده اعصاب شعاعی خیار دریایی بر میزان رسیدگی نهایی تخمک (درصد) در شکل ۱ نشان داده شده است. همان گونه که در شکل نیز قابل مشاهده است، درصدهای مختلف عصاره تازه تأثیر زیادی بر میزان رسیدگی نهایی تخمک (درصد) در مقایسه با تیمار شاهد دارند. در گروه کنترل مربوط به تیمارهای عصاره تازه، این مقادیر از ۱/۰۷±۲/۹۰ در دقیقه ۲۰، تا ۱/۴۰±۵/۸۴ درصد در دقیقه ۹۰ اندازه‌گیری شد و بررسی آماری نشان داد که تفاوتی از نظر درصد رسیدگی تخمک بین زمان‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۹۰ دقیقه وجود نداشت (P> ۰/۰۵). همچنین در گروه کنترل مربوط به تیمارهای عصاره منجمد نیز درصد رسیدگی تخمک در زمان ۲۰ دقیقه ۱/۰۷±۴/۲۴ درصد اندازه‌گیری شد که این مقدار با روندی تقریباً یکنواخت در زمان ۹۰ دقیقه مقدار ۲/۷۷±۸/۸۴ را نشان داد. آنالیز آماری در این گروه نیز تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۹۰ دقیقه نشان نداد (P > ۰/۰۵).

در تیمار ۵۰، درصد رسیدگی تخمک در دقیقه ۲۰ در تیمارهای عصاره تازه و منجمد به ترتیب ۰/۴۳±۲/۴۴ درصد و ۰/۱۶±۳/۲۵ درصد بود. این مقدار در تیمارهای عصاره تازه در دقیقه‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به ترتیب ۱/۰۱±۳۰/۵۱، ۰/۷۶±۳۹/۳۴ و ۰/۹۲±۵۱/۰۹ درصد بود که روند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). همچنین در تیمارهایی که از عصاره منجمد استفاده شد، درصد رسیدگی تخمک در زمان‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به ترتیب ۲/۹۸±۲۵/۸۴، ۱/۱۳±۴۲/۸۶ و ۰/۷۲±۴۸/۳۱ درصد بود که روند افزایشی آن معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵).




**شکل ۱.** میزان رسیدگی نهایی تخمک (درصد) خیار دریایی *Holothuria arguinensis* تحت تاثیر عصاره تازه عصب شعاعی (الف) و عصاره منجمد شده عصب شعاعی (ب).

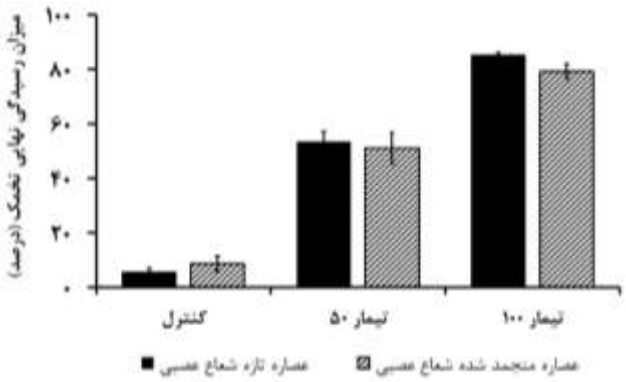
در تیمار ۱۰۰ نیز این روند افزایشی، در هر دو گروه تیماری استفاده از عصاره تازه و منجمد از دقیقه ۲۰ تا دقیقه ۹۰ مشاهده شد. در گروه تیماری استفاده از عصاره تازه، درصد رسیدگی تخمک در زمان ۲۰ دقیقه برابر با ۰/۳۶±۲۰/۲۱ درصد و در زمان‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به ترتیب ۰/۴۴±۴۹/۲۵، ۵/۹۳±۸۱/۰۳ و ۵/۸۰±۸۶/۵۹ درصد بود. در گروه تیماری استفاده از عصاره منجمد نیز در دقیقه ۲۰، میانگین درصد رسیدگی تخمک، ۱/۳۷±۲۱/۴۳ درصد بود. این مقدار برای سایر زمان‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به ترتیب ۱/۸۴±۲۶/۸۸، ۲/۱۱±۶۷/۱۱ و ۰/۸۵±۷۶/۴۷ درصد مشاهده شد.

درصد رسیدگی تخمک در دقیقه ۹۰ در تیمارهای مختلف و مقایسه بین آن‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. همان گونه که در شکل دیده می‌شود، کمترین مقدار درصد رسیدگی تخمک در گروه کنترل مشاهده شد. این مقدار در گروه کنترل عصاره تازه ۰/۴۹±۰/۸۵ درصد و در گروه کنترل عصاره منجمد ۰/۰۴±۰/۰۴ درصد بود که از نظر آماری تفاوتی بین این دو میانگین دیده نشد (P> ۰/۰۵). همچنین میانگین درصد رسیدگی تخمک در دقیقه ۹۰ برای گروه تیماری ۵۰ در عصاره تازه



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

۵۳/۳۶±۳/۷۴ درصد و در عصاره منجمد ۵۱/۱۳±۵/۷۹ درصد بود که مقایسه آماری بین این دو میانگین تفاوتی را از نظر آماری نشان نداد (P> ۰/۰۵). در گروه تیماری ۱۰۰ نیز در عصاره تازه میانگین درصد رسیدگی تخمک ۸۵/۲۶±۱/۰۰ درصد و در گروه استفاده از عصاره منجمد ۷۹/۲۶±۲/۷۲ درصد به دست آمد که همچنان تفاوت آماری بین این دو میانگین وجود نداشت (P> ۰/۰۵).




**شکل ۲.** مقایسه میزان رسیدگی نهایی تخمک (درصد) خیار دریایی *Holothuria arguinensis* بعد از ۹۰ دقیقه تیمار شدن با استفاده از عصاره تازه شعاع عصبی (ستون سیاه) و یا عصاره منجمد شده شعاع عصبی (ستون راه راه).

## بحث

اهمیت اقتصادی، اکولوژیک، تغذیه‌ای و دارویی خیارهای دریایی امروزه آشکار است و دلیل اصلی کاهش ذخایر آن در نقاط مختلف دنیا ناشی از فشار صید به سبب اهمیت و افزایش تقاضای آن است (Bruckner *et al*., 2003; Roggatz *et al*., 2016). در بین روش‌های مختلف تکثیر، استفاده از عصاره بافت عصبی آن‌ها به عنوان روش نسبتاً جدید و مؤثر در القای رسیدگی نهایی تخمک، در حال گسترش است (Kato *et al*., 2009; Huang *et al*., 2018).

برای دستیابی به حداکثر تأثیر القایی عصاره عصبی در رسیدگی نهایی تخمک‌ها، لازم است که عصاره در زمان خاص که زمان پیک فعالیت تولیدمثلی موجود می‌باشد استخراج گردد و از آنجا که زمان مذکور نسبت به کل سال زمان کوتاهی می‌باشد، تلاش برای نگه‌داری عصاره برای مدت طولانی‌تر ضروری به نظر می‌رسد. در تحقیق حاضر، تأثیر انجماد عصاره عصبی خیار دریایی در القای رسیدگی نهایی تخمک‌ها و مقایسه آن با اثرات عصاره تازه بررسی شد.

در این مطالعه دو گروه کنترل وجود داشت که در یکی از آن‌ها تخمک‌ها در معرض آب دریای تازه و در دیگری آب دریای منجمد قرار گرفتند. همان گونه که انتظار می‌رفت از دقایق ۲۰ تا ۹۰ دقیقه در هیچ‌یک از دو گروه افزایش معنی‌دار در رسیدگی نهایی تخمک‌ها صورت نگرفت. رسیدگی نهایی در تعداد کمی از تخمک‌ها رخ داد که این مسئله به رسیدگی نهایی خودبه‌خودی ارتباط داده می‌شود؛ پدیده‌ای که در اولین تحقیقات صورت گرفته در همین زمینه مشاهده شده بود (Maruyama, 1985). در تحقیق مذکور، در تخمک‌های خیار دریایی *H. leucospilota* در تماس ۱/۵ساعته با آب دریا، ندرتاً رسیدگی نهایی رخ داد که این تعداد کم، غیر مرتبط با ماده القاکننده در نظر گرفته می‌شود.

در تیمار ۵۰، در هر دو گروه استفاده شده از عصاره تازه و منجمد، با افزایش زمان میزان بروز رسیدگی نهایی در تخمک‌ها افزایش یافت. با مقایسه نتایج حاصل از دو گروه مذکور در پایان دقیقه ۹۰، با وجود بالاتر بودن میزان رسیدگی در تخمک‌های گروه عصاره تازه، افزایش معنی‌دار در نتایج مشاهده نشد. یافته‌های مشابه در تیمار ۱۰۰ مشاهده شد. بدین‌صورت که علی‌رغم بالاتر بودن میزان رسیدگی نهایی تخمک‌ها در گروه عصاره تازه، میزان اختلاف بین دو گروه از نظر آماری قابل اغماض بوده است. بر اساس یافته‌های Maruyama در سال ۱۹۸۵، انجماد بافت‌های عصبی پس از جدا شدن از بدن جانور و سپس ذوب و



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

استخراج عصاره از آن، موجب کاهش اثرات القایی ماده مؤثر در بافت عصبی نمی‌گردد. در تحقیق یاد شده مقداری از بافت عصبی ۵ گونه خیار دریایی شامل *H. leucospilota*، *H. pervicax*، *H. moebi*، *H. pardalis* و *Stichopus japonicus* پس از جدا شدن از بدن جانور، به صورت تازه و بخش دیگری پس از انجماد در دمای ۲۰- درجه و سپس ذوب، هموژن شده و سپس برای تهیه عصاره به کار رفت. نتایج حاصل تفاوتی در عملکرد القایی دو نوع عصاره استخراج شده نشان نداد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Kato و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گونه *Apostichopus japonicus* صورت گرفت، بافت‌های عصبی بلافاصله پس از استخراج از بدن وارد نیتروژن مایع شد و سپس تا زمان استفاده در دمای ۸۰- نگه‌داری شدند. عصاره حاصل از ذوب این بافت‌ها در غلظت یک هشتصدم بافت عصبی یک جانور در ۲۰۰ میکرولیتر به طور موفقیت‌آمیز منجر به القای *In vitro* رسیدگی نهایی تخمک‌ها شد. در تحقیق حاضر، بافت عصبی به صورت تازه در تهیه عصاره به کار رفت و انجماد پس از آماده سازی عصاره انجام شد.

ماده مؤثر در عصاره بافت عصبی خیار دریایی که موجب القای رسیدگی نهایی در تخمک‌ها می‌گردد (Gonad Stimulating Substance) یک پروتئین می‌باشد. برای اولین بار Maruyama (۱۹۸۵) عنوان نمود که احتمالاً ماده مذکور پروتئینی با وزن مولکولی چند کیلو دالتون می‌باشد. همچنین ماده موردنظر برگرفته از یک گونه ، الزاماً بر رسیدگی نهایی تخمک‌های گونه‌های دیگر خیار دریایی تأثیر ندارد. بنابراین احتمالاً ماده GSS در گونه‌های مختلف خیار دریایی تفاوت‌هایی دارد (Katow *et al.*, 2009). بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق کنونی، شاید بتوان عنوان نمود که انجماد و ذوب کوتاه مدت عصاره بافت عصبی اثر مخرب بر پروتئین یاد شده ندارد.

در تحقیقات صورت گرفته، اطلاعات چندانی در مورد مقایسه اثرات القایی عصاره تازه با عصاره انجماد یافته بافت عصبی وجود ندارد. با توجه به نتایج مشاهده شده در این مطالعه، انجماد کوتاه مدت عصاره بافت عصبی خیار دریایی *H. arguinensis* اثری بر عملکرد پروتئین مؤثر موجود در عصاره در القای رسیدگی نهایی تخمک‌های این گونه در مقایسه با عصاره تازه نداشته و بنابراین می‌توان عصاره مذکور را پس از تهیه، منجمد نمود و در مراحل بعد بدون کاهش اثر، آن را در القای رسیدگی نهایی تخمک‌ها به صورت *In vitro* به کار برد. مشاهده کاهش احتمالی تأثیر القاکنندگی عصاره منجمد شده طی زمان طولانی، نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

## منابـع


Battaglene, S.C., Seymour, J.E., Ramofafia, C., Lane, I. 2002. Spawning induction of three tropical sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*. Aquaculture. 207: 29-47.

Bordbar, S., Anwar, F., Saari, N. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods-A Review. Marine Drugs. 9: 17-61.

Bruckner, A., Johnson, K., Field, J. 2003. Conservation strategies for sea cucumbers: Can a CITES Appendix II listing promote sustainable international trade. SPC Bêche-de-mer information Bulletin. 18: 24-33.

Chen, J. 2003. Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. SPC beche-de-mer Information Bulletin. 18: 18-23.

Domínguez-Godino, J.A., González-Wangüemert, M. 2018. Breeding and larval development of *Holothuria mammata*, a new target species for aquaculture. Aquaculture Research. 49: 1430-1440.

Domínguez-Godino, J.A., Slater, M.J., Hannon, C., González-Wangüermert, M. 2015. A new species for sea cucumber ranching and aquaculture: breeding and rearing of *Holothuria arguinensis*. Aquaculture. 438: 122-128.

Eeckhaut, I., Lavitra, T., Léonet, A., Jangoux, M., Rasolofonirina, R. 2012. In-vitro fertilisation: a simple, efficient method for obtaining sea cucumber larvae year round. Asia-Pacific Tropical Sea Cucumber Aquaculture. 136: 40-49.




[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

Farouk, A., Ghouse, F.A.H., Ridzwan, B. 2007. New bacterial species isolated from Malaysian sea cucumbers with optimized secreted antibacterial activity. American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 3: 60-65.

Friedman, K., Eriksson, H., Tardy, E., Pakoa, K. 2011. Management of sea cucumber stocks: patterns of vulnerability and recovery of sea cucumber stocks impacted by fishing. Fish and Fisheries. 12: 75-93.

Fujiwara, A., Yamano, K., Ohno, K., Yoshikuni, M. 2010. Spawning induced by cubifrin in the Japanese common sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Fisheries Science. 76: 795-801.

González-Wangüemert, M., Borrero-Pérez, G. 2012. A new record of *Holothuria arguinensis* colonizing the Mediterranean Sea. Marine Biodiversity Records. 5: 1-4.

Han, H., Yi, Y., Li, L., Liu, B., La, M., Zhang, H. 2009. Antifungal active triterpene glycosides from sea cucumber *Holothuria scabra*. Acta Pharmaceutica Sinica. 44: 620-624.

Hawa, I., Zulaikah, M., Mohamed, J., AA, Z.A., Kaswandi, M., Ridzwan, B. 1999. The potential of the coelomic fluid in sea cucumber as an antioxidant. Malaysian Journal of Nutrition. 5: 55-59.

Hu, C., Xu, Y., Wen, J., Zhang, L., Fan, S., Su, T. 2010. Larval development and juvenile growth of the sea cucumber *Stichopus* sp. (Curry fish). Aquaculture. 300: 73-79.

Hu, C., Li, H., Xia, J., Zhang, L., Luo, P., Fan, S., Peng, P., Yang, H., Wen, J. 2013. Spawning, larval development and juvenile growth of the sea cucumber *Stichopus horrens*. Aquaculture. 404: 47-54.

Huang, W., Huo, D., Yu, Z., Ren, C., Jiang, X., Luo, P., Chen, T., Hu, C. 2018. Spawning, larval development and juvenile growth of the tropical sea cucumber *Holothuria leucospilota*. Aquaculture. 488: 22-29.

Ivy, G., Giraspy, D.A.B. 2006. Development of large-scale hatchery production techniques for the commercially important sea cucumber *Holothuria scabra* var. veriscolor (Conand, 1986) in Queensland, Australia. Beche-de-Mer Information Bulletin. 24: 28-34.

Kato, S., Tsurumaru, S., Taga, M., Yamane, T., Shibata, Y., Ohno, K., Fujiwara, A., Yamano, K., Yoshikuni, M. 2009. Neuronal peptides induce oocyte maturation and gamete spawning of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. Developmental Biology. 326: 169-176.

Katow, H., Katow, T., Moriyama, A. 2004. Gonad-stimulating substance-like molecule from the radial nerve of the sea cucumber. International Journal of Developmental Biology. 53(4): 483-491.

Laxminarayana, A. 2005. Induced spawning and larval rearing of the sea cucumbers, *Bohadschia marmorata* and *Holothuria atra* in Mauritius. SPC Beche-de-mer Information Bulletin. 22: 48-52.

Léonet, A., Rasolofonirina, R., Wattiez, R., Jangoux, M., Eeckhaut, I. 2009. A new method to induce oocyte maturation in holothuroids (Echinodermata). Invertebrate reproduction & development. 53: 13-21.

Marquet, N., Conand, C., Canario, A., Hubbard, P., González-Wangüemert, M. 2014. Reproductive cycle of the sea cucumber Holothuria arguinensis in the Algarve (Southern Portugal): Preliminary results. Sea Cucumber: The New Resources for a Hungry Fishery (CUMFISH) Workshop. Faro 14-15 May 2014.

Mashanov, V.S., Zueva, O.R., Heinzeller, T., Aschauer, B., Naumann, W.W., Grondona, J.M., Cifuentes, M., Garcia-Arraras, J.E. 2009. The central nervous system of sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) shows positive immunostaining for a chordate glial secretion. Frontiers in Zoology. 6(1): 11-25.

Maruyama, Y.K. 1985. Holothurian oocyte maturation induced by radial nerve. The Biological Bulletin. 168: 249-262.

Omran, N.E.-S.E.-S. 2013. Nutritional value of some Egyptian sea cucumbers. African Journal of Biotechnology. 4: 12-35.

Purcell, S.W., Mercier, A., Conand, C., Hamel, J.F., Toral-Granda, M.V., Lovatelli, A., Uthicke, S. 2013. Sea cucumber fisheries: global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing. Fish and Fisheries. 14: 34-59.

Rodrigues, N.V. 2012. New geographic distribution records for Northeastern Atlantic species from Peniche and Berlengas Archipelago. Arquipélago: Life and Marine Sciences. 29: 1-4.



[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]

Roggatz, C.C., González-Wangüemert, M., Pereira, H., Rodrigues, M.J., da Silva, M.M., Barreira, L., Varela, J., Custódio, L. 2016. First report of the nutritional profile and antioxidant potential of *Holothuria arguinensis*, a new resource for aquaculture in Europe. Natural Product Research. 30: 2034-2040.

Sugawara, T., Zaima, N., Yamamoto, A., Sakai, S., Noguchi, R., Hirata, T. 2006. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebrosides and their cytotoxicity against human colon cancer cells. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70: 2906-2912.

Wen, J., Hu, C., Fan, S. 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90: 2469-2474.

Yamano, K., Fujiwara, A., Yoshikuni, M. 2015. Induced Spawning in the Sea Cucumber *Apostichopus japonicus* by Neuropeptide, Cubifrin. Bull. Fisheries Research Agency. No. 40, 121.

[ Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.2.7.8 ]