



## نقش ژن کیسپتین در تولید مثل و متابولیسم ماهی: نگرشی بر پرورش آبزیان

ثمین شایان

گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

رشید علیجانی اردشیر

گروه زیست فناوری دریا، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

داریوش غلامی

گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

مجتبی رنجبر

گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

### چکیده

تولید مثل و متابولیسم ماهی فرآیندهای پیچیده ای هستند که توسط مکانیسم های مولکولی مختلف تنظیم می شوند. یکی از این مکانیسم ها که در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، نقش ژن کیسپتین است. کیسپتین ها، نوروپپتیدهایی هستند که نقش مهمی در تنظیم عملکرد تولید مثل، از جمله فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد دارند. با این حال، شواهد در حال ظهور نشان می دهد که کیسپتین ها بر متابولیسم ماهی نیز تأثیر دارند. هدف این بررسی ارائه یک مرور کلی از درک فعلی نقش ژن کیسپتین در تولید مثل و متابولیسم ماهی است.

کلمات کلیدی: کیس پتین، تولید مثل، متابولیسم، آبزیان

## مقدمه

ژن کیسپتین در ابتدا در سلول های توموری که ظاهراً متاستاتیک نیستند شناسایی شد (Elia, Mustafa, & AL-Mahdawi). این ژن یک پروتئین ۱۴۵ آمینو اسیدی را کد می کند که به طور آنزیمی به یک پپتید ۵۴ آمینو اسیدی، معروف به کیسپتین-۵۴ یا متاستین، و همچنین پپتیدهای کوتاه شده ۱۴، ۱۳ یا ۱۰ اسید آمینه تقسیم می شود. در این مطالعه، این پپتیدها در مجموع به عنوان کیسپتین نامیده می شوند (Elia et al.). علاوه بر سلول های تومور، بیان کیسپتین در هیپوتالاموس و جفت نیز شناسایی شده است (Gorbunova & Shirshv, ۲۰۲۰)، جایی که ممکن است به تنظیم روند تولید مثل و رشد کمک کند. در سال ۲۰۰۱، چندین گروه گزارش کردند که کیسپتین یک لیگاند گیرنده ای است که به نام GPR54 (و همچنین به عنوان OT7T175 یا AXOR12) شناخته می شود (Dungan, Clifton, & Steiner, ۲۰۰۶). ژن کیسپتین نقش مهمی در تنظیم تولید مثل و متابولیسم ماهی دارد. در حالی که مشارکت آن در فرآیندهای تولید مثل به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، شواهد در حال ظهور تأثیر آن بر تنظیم متابولیک راه های جدیدی را برای تحقیق باز می کند (Somoza, Mechaly, & Trudeau, ۲۰۲۰). تحقیقات بیشتر در مورد مکانیسم های زیربنایی برهمکنش بین کیسپتین، هورمون های تولید مثلی و مسیرهای متابولیک، درک ما را از تعامل پیچیده بین تولید مثل و متابولیسم در ماهی عمیق تر خواهد کرد. عملکرد این سیستم عصبی هورمونی اساساً متکی بر تعامل دینامیکی سه گروه اصلی سیگنال های ناشی از محور هیپوتالاموس، هیپوفیز قدامی، غدد جنسی می باشد (Oyola & Handa, ۲۰۱۷).

## ۲. تأثیر کیسپتین بر تولید مثل

### ۲.۱. تأثیر کیسپتین بر چرخه تولید مثل

کیسپتین به وفور در هسته کمانی (Arc) و هسته دور بطنی قدامی بطنی (AVPV) جلوی مغز بیان می شود (Franceschini et al., ۲۰۱۳). استرادیول و تستوسترون بیان ژن کیسپتین را در Arc و AVPV تنظیم می کنند. با این حال، پاسخ این ژن نسبت به این استروئیدها دقیقاً مخالف بین این دو هسته است (HM, ۲۰۰۶). سطوح هیپوتالاموسی Kiss1 و GPR54 mRNA به طور چشمگیری در دوران بلوغ افزایش می یابد، که نشان می دهد سیگنال دهی کیسپتین می تواند واسطه رویدادهای عصبی غدد درون ریز باشد که شروع بلوغ را آغاز می کنند (Navarro, Castellano, García-Galiano, & Tena-Sempere, ۲۰۰۷).

نتایج حاصل از طیف گسترده ای از مطالعات نشان می دهد که کیسپتین ترشح گنادوتروپین را از طریق یک مسیر هیپوتالاموس تحریک می کند که نوروں های GnRH را فعال می کند (Marques, Skorupskaite, Rozario, Anderson, & George, ۲۰۲۲). مدت ها تصور می شد که Arc و AVPV نقش مهمی در تنظیم بازخورد GnRH و ترشح گنادوتروپین توسط استرادیول (E) و تستوسترون (T) دارند. با این حال، مداری که واسطه این پدیده است مبهم است. شواهد از دو گروه مستقل از محققین نشان می دهد که نوروں های کیسپتین می توانند مسئول تأثیرات بازخورد منفی استروئیدهای جنسی بر ترشح GnRH باشند (HM, ۲۰۰۶; Marques et al., ۲۰۲۲).

این مشاهدات در ماهی سیکلید توسط پرهار و همکارانش با استفاده از میکروسکوپ لیزری و سنجش RT-PCR نشان داد که نوروں های GnRH در این حیوانات همزمان GPR54 mRNA را بیان می کنند (Lee, ۲۰۰۹). همچنین، این آزمایش ها استدلال می کنند که کیسپتین به GPR54 بیان شده روی نوروں های GnRH متصل می شود، که سپس مستقیماً آزادسازی GnRH را تحریک می کند. با این وجود، اثبات صریح مبنی بر اینکه نوروں های کیسپتین تماس مستقیم سیناپسی با نوروں های GnRH برقرار می کنند، هنوز ثابت شده است (HM, ۲۰۰۶; Lee, ۲۰۰۹).

حداقل دو شکل مولکولی GnRH در مغز همه گونه های مهره داران وجود دارد که برخی از آن ها سه شکل مختلف (یعنی GnRH1, GnRH2 و GnRH3) را بیان می کنند (Ogawa, Yamamoto, Hagio, Oka, & Parhar, ۲۰۲۲). GnRH1 به عنوان هورمون اصلی هیپوفیزیوتروپیک کنترل کننده سنتز و آزادسازی LH در تمام مهره داران در نظر گرفته می شود. در مقابل، GnRH3 یک شکل اختصاصی استخوانی است که در جمعیت های عصبی در پیاز بویایی، ناحیه گانگلیونی عصب انتهایی و ناحیه پیش بینایی (POA) بیان می شود (Pinilla, Aguilar, Dieguez, Millar, & Tena-Sempere, ۲۰۱۲). فیبرهای آکسونی GnRH3 به نواحی مختلف مغز می پردازند که نقشی را در تعدیل عصبی نشان می دهد. در ماهی هایی که دو شکل GnRH را بیان می کنند، مانند Salmonidae و Cyprinidae، GnRH3 نه تنها به عنوان یک تعدیل کننده عصبی عمل می کند، بلکه ترشح گنادوتروپین های هیپوفیز را نیز تنظیم می کند (Ohga, Selvaraj, & Matsuyama, ۲۰۱۸).

این مطالعه قویاً نشان می دهد که ارتولوگ کیسپتین ماهی مانند همتای پستانداران خود، یک فعال کننده قوی محور تولید مثل است. نوروں های GnRH1 mRNA ژن kissr2 را در ماهی سیکلید بیان می کنند (Ohga et al., ۲۰۱۸). به عنوان مثال، O. niloticus و Astatotilapia burtoni و باس راه راه (Morone saxatilis) یک مثال قابل توجه است. علاوه بر این، چندین مطالعه in vivo نشان داده اند که تزریق پپتید Kiss2 باعث ترشح GnRH و گنادوتروپین ها می شود. علاوه بر این، آنتاگونیست های کیسپتین برای مهار

تولید اسپرم در باس راه راه یافت شدند. با این حال، در گورخرماهی (Danio rerio)، جهش یافته‌های کیس‌سپتین بلوغ طبیعی غدد جنسی را نشان دادند، که نشان می‌دهد سیگنال‌دهی کیس‌سپتین برای تولید مثل این گونه ضروری نیست.

چند مطالعه نشان داده‌اند که نورون‌های GnRH گیرنده‌های کیس‌سپتین را در medaka (*Oryzias latipes*) یا ماهی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) بیان نمی‌کنند. بنابراین، نقش واقعی کیس‌سپتین در تولید مثل ماهی همچنان قابل بحث است. ماهی خال مخالی (سانتی متر) (*Scomber japonicus*) یک ماهی دریایی کوچک دریایی است که از راسته Perciformes و خانواده Scombridae است (B. Wang, Mechaly, & Somoza, ۲۰۲۲).

این گونه یکی از ۱۰ ماهی اصلی غذایی است که در تولید جهانی شیلات صید کمک می‌کند. علاوه بر این، cm یک ماهی مدل تجربی مناسب برای تحقیقات غدد درون ریز تولید مثلی در Perciformes است که تکامل یافته‌ترین و بزرگترین گروه ماهیان استخوانی است و شامل بسیاری از گونه‌های آبی پروری هدف می‌باشد. تیم ما اخیراً روش‌های استاندارد شده‌ای را برای پشتیبانی از چرخه زندگی کامل این گونه در آبی پروری در مقیاس کوچک در خشکی توسعه داده است. این سیستم به دستیابی به یک سری نمونه سانتی متری در کل چرخه تولید مثل برای تجزیه و تحلیل هورمون‌های کلیدی که در محور BPG عمل می‌کنند کمک می‌کند. و آزمایش‌های اصلاحی را امکان پذیر می‌کند (Caldwell, Pierce, Riley, Duncan, & Nagler, 2014).

با استفاده از این امکانات نمونه برداری ماهی، گروه ما عناصر مولکولی کلیدی محور BPG سانتی متر در تولید مثل، یعنی GnRHs (*Gnrh1*)، ۲، و ۳، گیرنده (*GnrhR1*) GnRH هورمون‌های گنادوتروپیک (*Gths*) و گیرنده‌های *Gth* را جدا کرده است. هورمون‌های استروئیدی دخیل در ویتولوژن و بلوغ تخمک در این گونه نشان داده شده است (Caldwell et al., 2014).

مطالعات گسترده‌ای در مورد مبانی فیزیولوژیکی و غدد درون ریز گامتوژن در ماهی وجود دارد. این ادبیات عمدتاً از گونه‌های ماهی مدل کوچک مانند گورخرماهی و مداکا مشتق شده است. با این حال، در بسیاری از موارد، داده‌های مربوط به مکانیسم‌های تنظیم تولید مثلی در ماهی‌های استخوانی بین گونه‌ها بسیار متفاوت است. این ممکن است به دلیل طول قابل توجه فرآیند تکاملی آنها و تنوع گونه‌ها، الگوهای تولید مثلی و زیستگاه‌ها باشد. برای روشن شدن مکانیسم‌های کلی زیربنای فیزیولوژی تولید مثل ماهی، مطالعات در گونه‌های غیرمدل ممکن است آموزنده باشد (Caldwell et al., ۲۰۱۴).

## ۲.۲. تاثیر کیس‌سپتین بر زمان بندی تولید مثل

کیس‌سپتین در تنظیم تولید مثل فصلی در بسیاری از گونه‌های ماهی نقش دارد. نشانه‌های محیطی، مانند تغییرات در دوره نوری و دما، می‌توانند بیان کیس‌سپتین را تعدیل کنند و بر زمان‌بندی رویدادهای تولید مثلی تأثیر بگذارند (Tena-Sempere, Felip, Gómez, ۲۰۱۴).

Zanuy, & Carrillo, ۲۰۱۲). در پاسخ به شرایط محیطی مطلوب، بیان کیسپتین افزایش می یابد که منجر به فعال شدن محور تولید مثل و شروع گامتوژنز و تخم ریزی می شود (MONDAL, HIRA, & SAHA).

کیسپتین همچنین در هماهنگ سازی وقایع تولید مثلی در یک جمعیت نقش دارد. در برخی از گونه های ماهی، کیسپتین به عنوان یک فرمون عمل می کند و به افراد اجازه می دهد تا وضعیت تولید مثلی هموعان را شناسایی کرده و به آن پاسخ دهند. این هماهنگ سازی تولید مثل موفق را تضمین می کند و موفقیت باروری را در یک جمعیت افزایش می دهد.

### ۲.۳. تاثیر فاکتورهای محیطی بر کیسپتین

عوامل محیطی مانند دوره نوری و دما می توانند بر بیان کیسپتین و زمان بلوغ جنسی در ماهی تأثیر بگذارند. تغییرات در دوره نوری و دما می تواند ترشح ملاتونین را تغییر دهد، هورمونی که در تنظیم تولید مثل فصلی نقش دارد. ملاتونین می تواند به طور مستقیم بر نورون های کیسپتین تأثیر بگذارد، فعالیت آنها را تعدیل کند و متعاقباً بر زمان بلوغ در پاسخ به نشانه های محیطی تأثیر بگذارد (Singh, Lal, & Parhar, ۲۰۲۲).

### ۳.۲. نقش کیسپتین بر متابولیسم ماهی

#### نقش کیسپتین بر تعادل انرژی

کیسپتین در تنظیم تعادل انرژی و وزن بدن در ماهی نقش دارد. مطالعات نشان داده اند که مصرف کیسپتین می تواند بر مصرف غذا و مصرف انرژی تأثیر بگذارد. در برخی از گونه های ماهی، کیسپتین رفتار تغذیه ای را تحریک می کند و مصرف غذا را افزایش می دهد، در حالی که در برخی دیگر، ممکن است اشتها را سرکوب کرده و مصرف غذا را کاهش دهد. تصور می شود که این اثرات بر تعادل انرژی از طریق تعامل با سایر هورمون های متابولیک و نوروپپتیدها انجام می شود (Chang et al., ۲۰۲۱).

#### تاثیر کیسپتین بر تنظیم سیستم های متابولیک

کیسپتین می تواند ترشح و عملکرد هورمون های متابولیک مانند انسولین و لپتین را تعدیل کند. در ماهی نشان داده شده است که کیسپتین ترشح انسولین را از سلول های بتای پانکراس تحریک می کند و باعث جذب و استفاده از گلوکز می شود (Dudek, Ziarniak, & Sliwowska, ۲۰۱۸).

علاوه بر این، کیسپتین ممکن است بر تولید و سیگنال دهی لپتین تأثیر بگذارد، که نقش مهمی در تنظیم اشتها و هموستاز انرژی ایفا می کند (Nestor, Kelly, & Rønnekleiv, ۲۰۱۴).

متابولیسم لیپید: کیسپتین همچنین در تنظیم متابولیسم لیپید در ماهی نقش دارد. مطالعات نشان داده اند که کیس پپتین می تواند بر بیان ژن های دخیل در متابولیسم لیپید، از جمله ژن های مربوط به لیپوژن و لیپولیز تاثیر بگذارد (S. Wang et al., ۲۰۰۸). سیگنال دهی کیسپتین ممکن است بر ذخیره و تحرک لیپیدها تأثیر بگذارد و در نتیجه بر در دسترس بودن و استفاده انرژی تأثیر بگذارد.

کیسپتین با سایر سیستم های تنظیم کننده متابولیک مانند سیستم ملانوکورتین و گرلین تعامل دارد. سیستم ملانوکورتین، که شامل آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده ملانوکورتین است، نقش مهمی در تعادل انرژی و رفتار تغذیه ایفا می کند (Wahab, Atika, Ullah, Shahab, & Behr, ۲۰۱۸). کیسپتین می تواند فعالیت سیستم ملانوکورتین را تعدیل کند و بر مصرف غذا و مصرف انرژی تأثیر بگذارد. گرلین، هورمونی که عمدتاً توسط معده تولید می شود، در تحریک اشتها و هموستاز انرژی نقش دارد. نشان داده شده است که کیسپتین با سیگنالینگ گرلین تعامل دارد و بر مصرف غذا و تعادل انرژی در ماهی تأثیر می گذارد (Wahab et al., ۲۰۱۸).

### بحث و نتیجه گیری

ژن کیسپتین نقش حیاتی در تنظیم تولید مثل و متابولیسم در ماهی دارد. در حالی که نقش آن در فرآیندهای تولید مثلی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، شواهد جدید در مورد تأثیر آن بر تنظیم متابولیک، راه هایی را برای تحقیقات آینده باز می کند. تحقیقات بیشتر در مورد مکانیسم های تعامل بین کیسپتین، هورمون های تولید مثلی و فرآیندهای متابولیکی به درک عمیق تر شبکه های نظارتی پیچیده در ماهی کمک می کند (Ohga et al., ۲۰۱۸). درک مکانیسم هایی که کیسپتین به وسیله آن متابولیسم را در ماهی تنظیم می کند، هنوز یک حوزه فعال تحقیقاتی است. مطالعات بیشتری برای روشن شدن مسیرهای سیگنالینگ خاص و گیرنده های دخیل در تنظیم متابولیک با واسطه کیسپتین مورد نیاز است. علاوه بر این، بررسی تداخل احتمالی بین عملکردهای تولید مثلی و متابولیکی کیسپتین، بینش ارزشمندی را در مورد تنظیم یکپارچه این فرآیندها در ماهی ارائه می دهد (Hatef & Unniappan, ۲۰۱۹).

## منابع

- Caldwell, L. K., Pierce, A. L., Riley, L. G., Duncan, C. A., & Nagler, J. J. (2014). Plasma nesfatin-1 is not affected by long-term food restriction and does not predict rematuration among iteroparous female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLoS One*, 9(1), e85700.
- Chang, B., Song, C., Gao, H., Ma, T., Li, T., Ma, Q., . . . Yi, X. (2021). Leptin and inflammatory factors play a synergistic role in the regulation of reproduction in male mice through hypothalamic kisspeptin-mediated energy balance. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 19, 1-13.
- Dudek, M., Ziarniak, K., & Sliwowska, J. H. (2018). Kisspeptin and metabolism: the brain and beyond. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 145.
- Dungan, H. M., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2006). Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*, 147(3), 1154-1158.
- Elia, Z. N., Mustafa, N. W., & AL-Mahdawi, F. K. I. Kisspeptin 54 as biomarker for breast and ovarian cancer. Franceschini, I., Yeo, S.-H., Beltramo, M., Desroziers, E., Okamura, H., Herbison, A. E., & Caraty, A. (2013). Immunohistochemical evidence for the presence of various kisspeptin isoforms in the mammalian brain. *Journal of neuroendocrinology*, 25(9), 839-851.
- Gorbunova, O., & Shirshv, S. (2020). Role of Kisspeptin in regulation of reproductive and immune reactions. *Biochemistry (Moscow)*, 85, 839-853.
- Hatef, A., & Unniappan, S. (2019). Metabolic hormones and the regulation of spermatogenesis in fishes. *Theriogenology*, 134, 121-128.
- HM, D. (2006). Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*, 147, 1154-1158.
- Lee, Y. Y. (2009). Understanding the role of GPR54 gene in controlling the puberty of high valued commercial fish.
- Marques, P., Skorupskaitė, K., Rozario, K. S., Anderson, R. A., & George, J. T. (2022). Physiology of GNRH and gonadotropin secretion. *Endotext [internet]*.
- MONDAL, P., HIRA, S. K., & SAHA, N. C. THE FUNCTIONAL ROLE OF MELATONIN AND KISSPEPTIN IN FISH REPRODUCTION.
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., García-Galiano, D., & Tena-Sempere, M. (2007). Neuroendocrine factors in the initiation of puberty: the emergent role of kisspeptin. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 8, 11-20.
- Nestor, C. C., Kelly, M. J., & Rønnekleiv, O. K. (2014). Cross-talk between reproduction and energy homeostasis: central impact of estrogens, leptin and kisspeptin signaling. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, 17(3), 109-128.
- Ogawa, S., Yamamoto, N., Hagio, H., Oka, Y., & Parhar, I. S. (2022). Multiple gonadotropin-releasing hormone systems in non-mammalian vertebrates: Ontogeny, anatomy, and physiology. *Journal of neuroendocrinology*, 34(5), e13068.
- Ohga, H., Selvaraj, S., & Matsuyama, M. (2018). The roles of kisspeptin system in the reproductive physiology of fish with special reference to chub mackerel studies as main axis. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 147.
- Oyola, M. G., & Handa, R. J. (2017). Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *stress*, 20(5), 476-494.
- Pinilla, L., Aguilar, E., Dieguez, C., Millar, R. P., & Tena-Sempere, M. (2012). Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiological reviews*, 92(3), 1235-1316.



- Singh, A., Lal, B., & Parhar, I. S. (2022). Effects of photoperiod and temperature on kisspeptin1 (kiss1) expression in the gonads of *Clarias batrachus*. *Environmental Biology of Fishes*, 105(11), 1589-1599.
- Somoza, G. M., Mechaly, A. S., & Trudeau, V. L. (2020). Kisspeptin and GnRH interactions in the reproductive brain of teleosts. *General and Comparative Endocrinology*, 298, 113568.
- Tena-Sempere, M., Felip, A., Gómez, A., Zanuy, S., & Carrillo, M. (2012). Comparative insights of the kisspeptin/kisspeptin receptor system: lessons from non-mammalian vertebrates. *General and Comparative Endocrinology*, 175(2), 234-243.
- Wahab, F., Atika, B., Ullah, F., Shahab, M., & Behr, R. (2018). Metabolic impact on the hypothalamic kisspeptin-kiss1r signaling pathway. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 123.
- Wang, B., Mechaly, A. S., & Somoza, G. M. (2022). Overview and new insights into the diversity, evolution, role, and regulation of kisspeptins and their receptors in teleost fish. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 862614.
- Wang, S., Soni, K. G., Semache, M., Casavant, S., Fortier, M., Pan, L., & Mitchell, G. A. (2008). Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism. *Molecular genetics and metabolism*, 95(3), 117-126.



## The role of kisspeptin gene in fish reproduction and metabolism: a perspective on aquaculture

Samin Shayan<sup>1</sup>

Department of Microbial Biotechnology, Faculty of  
Biotechnology, Amol University of New  
Technologies, Amol, Iran

Rashid Alijani Ardeshtir<sup>2\*</sup>

Department of Microbial Biotechnology, Faculty of  
Biotechnology, Amol University of New  
Technologies, Amol, Iran

Dariush Gholami<sup>3</sup>

Department of Microbial Biotechnology, Faculty of  
Biotechnology, Amol University of New  
Technologies, Amol, Iran

Mojtaba Ranjbar<sup>4</sup>

Department of Microbial Biotechnology, Faculty of  
Biotechnology, Amol University of New  
Technologies, Amol, Iran

### Abstract

Fish reproduction and metabolism are complex processes regulated by different molecular mechanisms. One of these mechanisms that has received attention in recent years is the role of the kisspeptin gene. Kisspeptins are neuropeptides that play an important role in regulating reproductive function, including activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. However, emerging evidence suggests that kisspeptins also affect fish metabolism. The purpose of this review is to provide an overview of the current understanding of the role of the kisspeptin gene in fish reproduction and metabolism.

**Keywords:** kisspeptin, reproduction, metabolism, aquatics