مجله شیلات
سال سوم، شماره چهارم، زمستان ۸۸

# نوسانات هورمون‌های جنسی وکورتیزول در مولدین ماده ازون برون (*Acipenser stellatus*) پرورشی پس از القاء اوولاسیون توسط GnRH ( Ova-Fact III )

*محمد یونس‌زاده فشالمی[۱]، حسین فیض‌بخش[۱]، محمود بهمنی[۲]، رضوان‌اله کاظمی[۲]، محمد پوردهقانی[۲]، راضیه قیصرکریملو[۱]، تکاور محمدیان[۱] و ساسان سعیدی[۱]
[۱]دانشگاه علوم وفنون دریایی خرمشهر، [۲]انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت

## چکیده

مقادیر تستوسترون (T)، پروژسترون (P4)، استرادیول (E2) و کورتیزول سرم خون در مولدین ماده ازون برون پرورشی در جریان رسیدگی نهایی با تحریک GnRH (Ova-Fact III) به‌روش RIA اندازه‌گیری شد. پس از تعیین شاخص قطبیت (PI=۱۰-۱٤) و بررسی هورمونی اقدام به تزریق با هورمون GnRH (Ova-Fact III) در مولدین ماده طی دو مرحله با دوز ۱۰µg/kg با فاصله زمانی ۱۲ ساعت شد. سه نمونه خون از مولدین در زمان‌های ۰، ۱۲ و ۲٤ ساعت پس از تزریق اول گرفته شد. نتایج اختلاف معنی‌داری در استروئیدهای جنسی و کورتیزول در مولدین اوولە شده (n=۵) و اوولە نشده (n=۲) نشان داد ($P<۰/۰۵$). T، P4,E2 پس از اوولاسیون کاهش یافت، در حالی که کورتیزول افزایش نشان داد. داده‌ها نشان دادند که استروئیدهای جنسی، خصوصا T، در مولدین ماده ازون برون پرورشی نقش مهمی در اوولاسیون دارد، بطوری‌که غلظت T در مولدین اوولە نشده به‌مراتب پائین‌تر از مولدین اوولە شده بود. بالا رفتن سطوح کورتیزول در ارتباط با تداخل بین کورتیکوستروئیدها و رسیدگی گامت در مولدین می‌باشد.

***واژه‌های کلیدی:*** استروئیدهای جنسی، اوولاسیون، کورتیزول، GnRH، مولدین ازون برون پرورشی

## مقدمه

ماهیان خاویاری اهمیت اقتصادی و پرورشی در دنیا دارند و آگاهی از تولید مثل آنها، کلیدی برای مدیریت موفق تاسماهیان در محیط طبیعی و آبزی‌پروری می‌باشد. استروئیدهای جنسی نقش مهمی در کنترل تولید مثل در ماهیان خاویاری دارد (۱٦ و ۲۰). توسعه روش‌های پرورش برای گونه‌های تاسماهیان و برنامه‌ریزی برای تکثیر، مستلزم آگاهی از تغییرات هورمونی در جریان رسیدگی جنسی و تخم‌ریزی می‌باشد (۳۱). در تاسماهیان در شرایط استرس‌های حاد و مزمن غلظت کورتیزول افزایش و غلظت استروئیدهای جنسی کاهش می‌یابد (۱٦ و ۳۲). بکارگیری هیپوفیز تاسماهیان، گنادوتروپین تاسماهیان و LH-RH-a در سطوح استروئیدهای جنسی تغییراتی را تحریک می‌کند که منجر به رسیدگی نهایی گامت‌ها می‌شود (۸). هورمون‌های جنسی و گلوکوکورتیکوئیدها می‌توانند شرایط بدن موجود را بوسیله تنظیم ذخایر انرژی و تغییرات رفتاری بهبود ببخشند (۲۱ و ۲۸). از طرفی دیگر، سطوح بالای گلوکوکورتیکوئیدها ممکن است شرایط نرمال را کاهش دهد و موجود را به‌سمت متوقف شدن عملکرد تولیدمثلی، هدایت کند (۱۸، ۲۲ و ۲٦). سیستم‌های پرورش ماهیان خاویاری متراکم است و عوامل استرس زای مدیریتی مختلف مثل دستکاری، تراکم، حمل و نقل، بیوپسی و تحریک تخم‌ریزی بوسیله هورمون را شامل

* - مسئول مکاتبه:Babak_yooneszadeh@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شود. اگر پاسخ‌های استرس را بتوان در رویه‌های مدیریتی تفریخگاه و در جریان حمل و نقل ارزیابی نمود، می‌توان اثرات استرس را کاهش داد (۱۵).

محور هیپوتالاموس – هیپوفیز- اینترنال (HPI) پاسخ‌های استرس در ماهیان را هماهنگ می‌کند (۱۱ و ۱۹). استرس قادر است در سطوح مختلف بر فرآیندهای کنترل اندوکرینی اثر گذاشته و موجب کاهش غلظت استروئیدهای جنسی و ویتلوژنین و در نتیجه کاهش کیفیت مولدین گردد (۲۷).

با بالا رفتن استرس در ماهیان مولد تولید هورمون‌های جنسی کاهش یافته و پدیده تکثیر دچار مشکل می‌شود، به‌عبارتی پس از وقوع استرس‌های زیست‌محیطی و همچنین پاسخ محور HPI به دستکاری ماهیان به‌عنوان استرس حاد باعث اختلال در محور HPG و موجب کاهش در کارایی تولیدمثلی در زمان تکثیر مصنوعی می‌گردد (۲).

تاکنون مطالعات اندکی در زمینه فیزیولوژی تولیدمثلی بر روی ازون‌برون پرورشی انجام گرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی هورمون‌های جنسی تاثیرگذار بر مرحله اوولاسیون پس از تزریق هورمون GnRH و ارتباط آن با شاخص استرس است.

## مواد و روش کار

**ماهیان مورد مطالعه و مکان تحقیق:** کلیه مراحل اجرایی این تحقیق در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان (رشت) از اردیبهشت‌ماه ۱۳۸۵ تا تیرماه ۱۳۸۵ در دو بخش فیزیولوژی و بیوشیمی و همچنین تکثیر و پرورش انجام شد.

پس از بررسی ظاهری در مولدین ماده برحسب شاخص قطبیت (۱۴-۱۰) و هورمونی، ۷ عدد مولد ماده ازون برون پرورشی ۸ ساله بامیانگین وزنی و طولی به‌ترتیب ۶۵/± ۸/۷۸ کیلوگرم و ۲±۱۲۷/۵سانتی‌متر که در مرحله IV رسیدگی قرار داشتند انتخاب شدند.

**بررسی شاخص قطبیت (PI):** پس از نمونه‌برداری از تخمک به‌منظور بررسی رسیدگی جنسی از رابطه ۱ برای تعیین PI استفاده شد (۳ و ۲۳).

رابطه ۱: $a/b\times100$ =شاخص قطبیت(PI)

a= فاصله بین GV و غشای سلولی (اووسیت)

b= قطر تخمک در محور جانوری- گیاهی

**دستورالعمل تحریک هورمونی بلوغ نهایی:** در این تحقیق از GnRH (نوع Ova-Fact III ساخت داروسازی ثامن) به‌عنوان عامل محرک بلوغ نهایی استفاده شد. دوز مورد استفاده در مولدین ماده ۱۰µg/kg (در دو مرحله با نسبت ۱۰:۹۰) بود.تزریق به‌صورت عضلانی و در عضله سومین پلاک پشتی استفاده شد و خونگیری در ماده‌ها در ۳ مرحله (۰، ۱۲ و ۲٤ ساعت پس از تزریق) صورت گرفت (۱). تزریق در دمای ۱±۲۰درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن مولدین به حوضچه‌های مخصوص تکثیر با نسبت۱:۱ انتقال داده شدند.

**نحوه خونگیری وآماده سازی سرم:** خونگیری از طریق سیاهرگ دمی (Caudal vein) و از پشت باله مخرجی ماهیان مولد صورت گرفت. در هر مرحله از خونگیری با استفاده از سرنگ‌های ۵ بی‌سی مقدار ۳ سی‌سی خون برداشته شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور۳۰۰۰ در ۱۰ دقیقه، سرم از خون جدا گردید (مدل Labofuge 200 ساخت شرکت Heraeus sepatech). نمونه‌ها به‌منظور مطالعات سرولوژیک دمای ۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۷).

**اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های جنسی و کورتیزول سرم خون:** تعیین مقادیر هورمون جنسی (T, P, E2) و کورتیزول با روش RIA (Radioimmunoassay)، Abraham (۱۹۷٤) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاماکانتر مدل L.K.B ساخت کشور فنلاند و بکارگیری کیت هورمونی Immunotech (ساخت فرانسه) انجام پذیرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

**روش مطالعه آماری:** جهت مطالعه و تجزیه و تحلیل داده از نرم‌افزار SPSS با روش آماری Tukey درسطح اطمینان ۰/۰۵ استفاده گردید.

## نتایج

در این بررسی روند تغییرات فاکتورهای هورمونی، کورتیزول در زمان‌های مختلف تکثیر در مولدین ماده پس از تزریق هورمون GnRH سنجیده شد (جدول ۱) و نتایج زیر حاصل گردید:

**جدول ۱- مقادیر میانگین، حداقل و حداکثر شاخص‌های هورمونی (T, P, E2)، کورتیزول نسبت به وضعیت تکثیر در مولدین ماده ازون برون پرورشی در زمان‌های مختلف تزریق**

| مرحله تزریق / وضعیت تکثیر | | در زمان تزریق | | | ۱۲ ساعت پس از تزریق (همگام با تزریق دوم) | | | ۲٤ ساعت پس از تزریق (پس از استخراج تخمک) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | میانگین ±SEM | حداقل | حداکثر | میانگین ±SEM | حداقل | حداکثر | میانگین ±SEM | حداقل | حداکثر |
| کورتیزول (نانوگرم/میلی‌لیتر) | اوواله شده(n=۵) | ۱۵/٤٤±٦/۳۷ [a] | ۰/۰۲ | ۳۳ | ٤۱/٤±٦/۸٦ [b] | ۲۳ | ٦۲ | ۱۷۰/۸±۱۹/٦٦ [a] | ۱۳۳ | ۲٤۰ |
| | اوواله نشده(n=۲) | ۱۸±۱۰ | ۸ | ۲۸ | ۳۳/۵±۱۰ | ۲۳ | ٤٤ | ۸۱/۵±٦۹/۵ | ۱۲ | ۱۵۱ |
| T (نانوگرم/میلی‌لیتر) | اوواله شده(n=۵) | ۳٤۰/٤±٦٤ [a] | ۲٦۹ | ۵۲۰ | ۵۰۵±۳٤/۷۱ [b] | ٤۳۰ | ۵۹۰ | ۲۵٤/٤±۲۹/۵٦ [a] | ۱۹۵ | ۳٤۷ |
| | اوواله نشده(n=۲) | ۱±۳/۲ | ۲/۲ | ٤/۲ | ۳/٤±۱/۳ | ۲/۱ | ٤/۷ | ٤۷/٦±٤۵/٤ | ۲/۲ | ۹۳ |
| P (نانو گرم/میلی لیتر) | اوواله شده(n=۵) | ۳/۲±۳/۱۷ [a] | ۰/۰۲ | ۱٦ | ۰/۲۵±۰/۰٤۹ | ۰/۱٤ | ۰/٤۲ | ۰/۱±۰/۰۳ | ۰/۲ | ۰/۰۳ |
| | اوواله نشده(n=۲) | ۰/۰۰٤ | ۰ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱۹±۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۳ | ۰/۰۵±۰/۰۲ | ۰/۰۳ | ۰/۰۸ |
| E2 (نانو گرم/میلی لیتر) | اوواله شده(n=۵) | ٤/۵±۰/٤۵ [a] | ۳/۳ | ٦ | ۳/۳۹±۰/۷٦ [a] | ۱/۲۵ | ۵/۷ | ۱/٤۹±۰/۱۸ [a] | ۱ | ۲/۱ |
| | اوواله نشده(n=۲) | ۱/۹٤±۰/۸۵ | ۱/۰۹ | ۲/۸ | ۱/۸۲±۰/۵۷ | ۱/۳ | ۲/٤ | ۱/۷٦±۰/۳٤ | ۱/٤۲ | ۲/۲ |

**بررسی سطوح کورتیزول در مولدین ماده ازون برون پرورشی در وضعیت تکثیر:** نتایج بدست آمده نشان داد هورمون کورتیزول به‌عنوان شاخص استرس یک روند صعودی در ساعت‌های مختلف تزریق در مولدین اوواله شده نشان داد، به‌طوری‌که بالاترین میزان سطوح کورتیزول (۱۷۰/۸±۱۹/٦٦ng/ml) در مراحل نهایی (۲٤ پس از تزریق) بدست آمد. سطوح کورتیزول در مرحله نهایی با مرحله صفر تزریق (۱۵/٤٤ ±٦/۳۷ng/ml) و ۱۲ ساعت پس از آن (٤۱/٤ ±٦/۸٦ng/ml) اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P$<۰/۰۵). در مقایسه با مولدینی که دچار فوق رسیدگی (شکل ۱) شدند سطوح کورتیزول در ساعت‌های صفر تزریق و ۱۲ ساعت پس از آن تقریباً شبیه به مولدین اوواله شده بود، در حالی که میزان سطوح کورتیزول (۸۱/۵ ±٦۹/۵ng/ml) در مرحله نهایی کمتر از مولدین تکثیر شده بود (جدول ۱).

**بررسی سطوح هورمون‌های تستوسترون، پروژسترون و استرادیول در مولدین ماده ازون برون پرورشی در وضعیت تکثیر:** نتایج نشان داد که در مولدین تکثیر شده میزان هورمون تستوسترون (۵۰۵± ۳٤/۷۱ng/ml) در ۱۲ ساعت پس از تزریق که با تزریق دوم GnRH همراه بود بالاترین مقدار را نشان داد و با ساعت صفر تزریق و مرحله نهایی که به‌ترتیب (۳٤۰/٤±٦٤ng/ml) و (۲۵٤/٤± ۲۹/۵٦ng/ml) بود اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P$<۰/۰۵). در حالی‌که در مولدین اوواله نشده که دچار فوق رسیدگی شده بودند میزان تستوسترون درساعت صفر تزریق، ۱۲ ساعت پس از آن و مرحله نهایی به‌ترتیب (۳/۲±۱ ng/ml)، (۳/٤±۱/۳ ng/ml) و (٤۷/٦±۲۹/۵٦ ng/ml) بود که اختلاف معنی‌داری با مولدین اوواله شده نشان داد ($P$<۰/۰۵). میزان هورمون پروژسترون و استرادیول، یک روند کاهشی از شروع تا

Archive of SID

www.SID.ir

مرحله نهایی نشان داد که بالاترین میزان P و E2 به‌ترتیب ng/ml ۳/۱۷ ±۳/۲ و ng/ml ٤/٥±۰/٤٥ بـــود کـــه در مرحله صفر تزریق به‌دست آمد. در ارتباط با مولدین شـیر شده میزان P و E2 به‌مراتب کمتر از مولدین تکثیـر شـده بود (جدول ۱).

**بررسی وضـعیت تکثیـر درمولـدین مـاده ازون بـرون پرورشی:** مولدین مـاده در ایـن تحقیـق از نظـر شـاخص قطبیـت (PI) در میـزان ١٤-١٠ قـرار داشـتند و اخـتلاف چندانی از نظر PI نداشتند، در حالی که بـا رونـد توسـعه مراحل اوولاسیون به دو گـروه تقـسیم شـدند. گـروه اول مولدینی بودند که تخمک‌هـای آنهـا اوولـه شـدند و وارد مرحله تکثیر شدند در این مولدین سـاعت جوابـدهی بـه هورمون GnRH، مقدار تخمک، تعداد تخمک در گرم و درصد لقاح به‌ترتیـب ۱۳-۱۰، ۱۵۰۰-۱۱۵۰گـرم، ۹۵-۸۷ و۸۷-۵۰ بود (جدول ۲). گـروه دوم مولـدینی بودنـد کـه اوولاسیون در آنها اتفاق نیفتـاد و تخمـک‌هـا دچـار شـیر شدگی شدند (جدول ۲). دامنه تغییرات دما ۲۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد بود.

**جدول ۲- اطلاعات مربوط به وضعیت تکثیر در ماهیان ماده ازون برون پرورشی**

| وضعیت مولدین | وزن کل (kg) | طول کل (cm) | نوع ماده تزریقی | دز تزریق µg/kg | PI قبل از تزریق | ساعت جوابدهی | مقدار تخمک (گرم) | تعداد تخمک در گرم | درصد لقاح | دما (OC) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکثیر شده (n =٥) | ٨/٧٨±٠/٦٥ | ١٢٧/٥±٢ | GnRH | ١٠ | ١٠-١٣ | ١٠-١٣ | ١١٥٠-١٥٠٠ | ٨٧-٩٥ | ٥٠-٨٧ | ١٩-٢٠ |
| تکثیر نشده(n=٢) | ٧/٥±٠/٣٥ | ١٢٦±٢ | GnRH | ١٠ | ١٢-١٤ | شیرشدگی | - | - | - | - |

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان دادکـه تزریـق GnRH باعـث بـالا رفـتن سـطوح کـورتیزول در مولـدین ازون بـرون پرورشی شد. بالاترین مقدار کورتیزول در مولـدین اوولـه شده (١٩/٦٦±١٧٠/٨ نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به اوولـه نشده (٦٩/٥±٨١/٥ نـانوگرم بـر میلـی‌لیتـر) دیـده شـد و تغییرات در مولدین اوولـه نـشده در سـاعت‌هـای ۰ و ۱۲ ساعت بعد از تزریق تقریباً شبیه هم بودند، ولـی اختلافـی در ٢٤ ساعت پس از تزریق که زمان جوابدهی مولدین به تزریق بود درمولدین اوولـه شده دارای کیفیت تخمک ۸۷-۵۰ درصد و اوولـه نشده مشاهده شد.

در صورتی که در بررسی هورمونی بـه غیـر ازسـطوح تـستوسترون (٣٤/٧١±٥٠٥ نـانوگرم بـر میلـی‌لیتـر در ۱۲ سـاعت پـس از تزریـق) چنـین وضـعیتی مـشاهده نـشد. هورمون تستوسترون مهمترین هورمون تاثیرگـذار در ایـن تحقیق بود که سطوح آن موفقیت یا عدم موفقیت مولـدین به تکثیر را نـشان داد. مولـدین مـاده‌ای کـه بـا توجـه بـه شاخص قطبیت (PI) مناسب، میزان سطوح T در آنها در شروع آزمـایش پـایین بـود، بـه مرحلـه خـروج تخمـک نرسیدند و تخمک‌ها دچار فوق رسیدگی شـدند همچنـین میـزان P و E2 در ایـن مولـدین پـایین بـود. در ایـن هورمون‌ها با افزایش کورتیزول، روند کاهشی در میزان P و E2 در مولدین اوولـه شده و نشده مشاهده شد. می‌توان چنین نتیجه گرفت که بالا رفتن کـورتیزول، باعـث پـایین آمدن سطوح این هورمون‌های جنسی خواهد شـد. میـزان سـطوح T در مولـدین اوولـه نـشده در شـروع آزمـایش (۱±۳/۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به مولدین اوولـه شده (٦٤±٣٤٠/٤ نانوگرم بر میلی‌لیتر) پایین بود. P و E2 نیـز چنین وضعیتی داشتند. تستوسترون در ۱۲ ساعت پـس از تزریق اختلاف معنی‌داری با ساعت‌های دیگر در مولـدین اوولـه شده نشان داد، در صورتی که در هورمون‌های دیگر چنین وضعیتی مشاهده نشد.

Semenkova و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند کـه بـین سطوح کورتیزول و کیفیت گامت ارتبـاط منطقـی وجـود دارد در مولدین ماده فیل‌ماهی بـا کیفیـت تخمـک نرمـال (۱۰۰-۸۰ درصد) سطوح کورتیزول ng/ml ±۹/۹۹ ۵۵/۷ بود، در حالی که سـطوح کـورتیزول در مولـدین مـاده بـا کیفیت تخمک پایین ng/ml ٦/٩٦± ۳۱/۸ یا اوولـه نشده ng/ml ١٤/٩٩±٢٤/٥ اندازه‌گیری شد که با نتایج به‌دسـت

Archive of SID

www.SID.ir

آمده در این تحقیق که در مولدین در مرحله اوولـه شـده بالاترین مقدار کورتیزول مشاهده شد، مطابقت دارد.

در تحقیقـی کـه بـرروی دو گـروه مولـدین مـاده ازون‌برون، (دستکاری و شاهد) با تزریـق هیپـوفیز انجـام دادند بـالا رفـتن سـطوح کـورتیزول را در هـر دو گـروه مشاهده کردنـد، بـا ایـن تفـاوت کـه بـالا رفـتن سـطوح کورتیزول درگروه شاهد نـسبت بـه دسـتکاری در میـزان پایین‌تری بود (١٦).

بهمنی و همکاران (١٣٨٣) در بررسـی تـستوسترون و کورتیزول در تکثیر مصنوعی ماهی ازون‌برون وحشی پس از تزریق GnRH، یک سیر صـعودی را از سـاعت صـفر تزریق تا ١٨ ساعت پس از آن مشاهده نمودند، به‌طوری‌که در قبل از تزریق میزان تستوسترون و کورتیزول به‌ترتیـب ٤٥/٥±٧/٧l و ٦٠/١٧±١٢/٥٧ng/ml و ١٨ ساعت پس از تزریـــــق بـــــه‌ترتیـــــب ١١٣/٦٧±٩/٥ng/ml و ٢٠٢±٤٥/٢١ng/ml بـه‌دسـت آمـد. در حـالی‌کـه چنـین روندی در هورمون‌های استرادیول و پروژسترون مـشاهده نـشد. نتـایج بدسـت آمـده در ارتبـاط بـا کـورتیزول و تـستوسترون در ازون‌بـرون وحـشی تقریبـاً نزدیـک بـه ازون‌برون پرورشی بود، با این تفاوت که میزان کـورتیزول در زمان قبل از تزریق بالاتر از مولدین پرورشی بود

نتایج نشان داد که در مولدین وحشی ازون‌بـرون پـس از انتقال به تفریحگاه ماهیان خاویـاری مقـدار کـورتیزول افزایش و تستوسترون کاهش می‌یابد (١٤ و ٣٢).

Semenkova و همکـــاران (٢٠٠٢) در مولـــدین ازون‌برون وحـشی پـس از تزریـق هیپـوفیز دریافتنـد کـه مولدین اوولـه شده اختلاف معنی‌داری در سطوح T نسبت به اوولـه نشده نشان دادند که این تحقیق با نتایج بـه‌دسـت آمده در آزمایشات ما مطابقت دارد.

Barannikova و همکـــاران (١٩٩٧) در بررســـی سطوح کورتیزول سـرم تاسـماهی روسـی، ازون بـرون و فیل‌ماهی در دوره مهاجرت تولیـد مثلـی (آنـادرموس) بـه ولگا مشاهده کردند کـه مقـادیر ایـن هـورون تـا ١٢٦/١٥ نانوگرم بر میلی‌لیتر افزایش می‌یابد، بطوری‌که در تاسماهی روسی ماده بـا شـاخص قطبیـت مناسـب تکثیـر، مقـادیر کورتیزول ٧٢/٥ ng/ml بوده و نتایج حاکی از آن بود کـه کورتیزول هورمون اصلی تـاس‌ماهیـان در دوره مهـاجرت بلوغ جنسی است. همچنین مقادیر کـورتیزول در مولـدین ماده تاس‌ماهی روسی در آغاز مهاجرت آنادرموس به‌میزان ١٠٩/٧ ng/ml و در مولـدین مـاده ازون بـرون بـه‌میـزان ١٧٠/٢ ng/ml و در مولـــدین مـــاده فیـــل‌مـــاهی به‌میزان١٦٥/٤ ng/ml رسید (٩). از آنجـایی کـه مولـدین ازون‌بـرون در شـرایط پرورشـی بـه مرحلـه مولدسـازی رسیدند و امکـان تکثیـر در آنهـا بوجـود آمـد، تغییـرات کورتیزول در زمان شـروع آزمـایش پـایین بـود هورمـون کورتیزول به‌عنوان یکی از هورمون‌هـای اصـلی مهـاجرت ماهی در زمان تولیدمثلی در نظر گرفته می‌شـود. بنـابراین میزان این هورمون در زمان تولید مثلی به‌خاطر سـازگاری و مهاجرت ماهی با شرایط جدیـد بالاسـت، در حـالی‌کـه چنین تغییراتی در ازون برون پرورشی مشاهده نشد. علت این امر تطابق با شرایط پرورشی می‌باشد.

Bayunova و همکاران (٢٠٠٦) با بررسـی سـطوح استروئیدهای جنسی و کورتیزول در خون ازون بـرون در جریان رسیدگی نهایی بوسیله تحریـک بـا آنـالوگ LH-RH-a دریافتند کـه پـس از تزریـق LH-RH-a مقـدار سطوح استروئیدهای جنسی ($T, P, E_2$) و کورتیزول قبل از اوولاسیون افزایش مـی‌یابـد و سـطوح T و کـورتیزول پس از اوولاسیون کاهش می‌یابد.

در ماهیانی که از هیپوفیزو GnRHa برای القاء بلوغ نهایی آنها استفاده شد، نسبت به گروه شاهد کورتیزول بالاتری را نشان دادند که نتایج به‌دست آمده با یافته‌های حاضر مطابقت دارد (٥، ١٤ و ٣٠).

در مقایسه با دیگر گونه‌های ماهیان، پاسخ‌های اولیه و ثانویه استرس در تاسماهیان مقدار کمتری را نشان می‌دهد (٤ و ٢٤). کمترین میزان کورتیزول در ماهیان غـضروفی- استخوانی گزارش شده است (١٣ng/ml)، در حـالی کـه بالاترین میزان کورتیزول در ماهیان استخوانی بـرای مثـال

Archive of SID

www.SID.ir

در باس مخطط و (۱۵۰۰–۲۰۰۰ng/ml) گزارش شده است (۱۰).

بالاترین مقدار T ۷ ساعت پس از تزریق دوم LH-RH-a (۱۷ ساعت قبل از اوولاسیون) در مولدین ازون‌برون وحشی مشاهده شد و سطوح T پس از اوولاسیون به‌شدت کاهش یافت (۱۲). در بعضی ماهیان استخوانی T به‌عنوان تسریع کننده مراحل اولیه رسیدگی اووسیت‌ها و تکمیل‌کننده، مراحل پایانی محسوب می‌شود بنابراین سطوح T ممکن است بر روی زمان رسیگی نهایی و اوولاسیون به‌طور همزمان تأثیر داشته باشد (۲۹). T نقش اساسی در کامل شدن اووسیت‌ها دارد (۲۰). به‌طوری‌که مولدینی که دارای T پایینی بودند، به مرحله اوولاسیون نرسیدند که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد (۱۲).

سطوح استرادیول در جریان آزمایش که بر روی ازون‌برون‌های وحشی پس از تزریق LH-RH-a انجام‌گرفت متغیر بود (۱۲). در تاس‌ماهی سفید (*Acipenser transmontanns*) در شرایط *in vitro*، پروژسترون‌ها از فولیکول‌های تخمدان تولید می‌شود و به‌عنوان تحریک‌کننده GVBD محسوب می‌شود (۳۳). حداکثر سطوح P4 در ماهیان ماده ازون‌برون در زمان اوولاسیون مشاهده شد (۱۲). با توجه به اینکه در شرایط کارگاه‌های ایران هنوز بهترین روش ارزیابی مولدین ماده بررسی شاخص قطبیت می‌باشد، تحقیق مذکور نشان داد در شرایط برابر این شاخص مولدین عملکردهای مختلفی نشان می‌دهد که می‌توان ناکارآمدی تکثیر ازون برون را در شرایط کارگاهی در ایران، آگاهی نداشتن از وضعیت هورمونی مولدین و همچنین استفاده از هیپوفیز که در یک سطح پایین‌تر از GnRH نقش ایفا می‌کند، دانست. با توجه به حساسیت ازون برون نسبت به گونه‌های دیگر ماهیان خاویاری و از طرفی با آگاهی از این موضوع که یکی از معضلات این ماهی نرسیدن به مرحله آخر رسیدگی جنسی (Ovulation) با استفاده از هورمون هیپوفیز می‌باشد و از آنجایی‌که این ماهیان اولین گروه از ماهیان خاویاری هستند که در شرایط پرورشی به تکثیر با GnRH جواب مثبت دادند، لذا می توانند به عنوان الگویی برای گونه‌های پرورشی دیگر محسوب شود. از آنجایی که در تحقیقات به‌عمل آمده بر روی تکثیر ازون‌برون وحشی با استفاده از GnRH و موفقیت دراین مسیر و با توجه به تحقیق حاضر بر روی ازون برون پرورشی، می‌توان GnRH را به‌عنوان یک هورمون کارآمد در این صنعت جایگزین هیپوفیز کرد (۱).

## تشکر و قدردانی

از بخش فیزیولوژی و تکثیر مؤسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری که در انجام این پروژه همکاری داشته‌اند صمیمانه تشکر می‌نماییم.

## منابع

۱- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، وهابی، ی.، حلاجیان، ع.، ملک‌زاده، ر.، محسنی، م.، و مجازی‌امیری، ب.، ۱۳۸۳. مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسائی‌ها در القای تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۷۷ صفحه.

۲- بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محور HPI، HPG و سیستم ایمنی در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم تحقیقات، ۲۷٤ صفحه.

3.Bahmani, M., Oryan, S., Pourkazemi, M. and Vosoughi, G., 2001. Ecophysiological indicators of stress in female Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fishereis Sciences., 2, 37-45.

4.Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. Journal of fish Biology 66, 208-221.

5.Barannikova, I.V., Bayunova, L.V., Kolmakov, N.N. and Semenkova, T., 2005. The Dynamics of Steroid Hormones in Blood under Hormonal Stimulation of Maturation in the Northern Dvina Sterlet(*Acipenser ruthenus*).Voprosy Ichthyologii 45, 131-139 (In Russian).

Archive of SID

www.SID.ir

6.Barannikova, I.V., Bayunova, L.V., Gruslova, A.B. and Semenkova, T., 2003. Steroids in sturgeon's migration regulation. J. Fish Physiol and Biochem. 28, 263-264.
7.Barannikova, I.V., Artyukin, E.N., Bayunova, L.V., Dyubin, V.P. and Semenkova, T., 2000. Strroids profiles in gaint sturgeon females (*Huso huso* (L.)) at the beginning of anadromous migration and at induced ovulation after reservation. In: Proceeding of the 6th Int. Symp. On Repr. Physiology of Fish. Eds; B. Norberg; O.S. Kjesbi; G.L. tarranger; E. Anderson; S.O. STEFFANSON. July 4-9, 1999, Berg, Norway, Bergen420p.
8.Barannikova, I.A., 1999. Sex steroids in the serum of Caspian sturgeons and their specific cytosol binding in brain and gonads during the migratory cycle. J. Appl. Ichthyol. 15, 193-195.
9.Barannikova, I.A., Bayunova, I.V. and Saenko, I.I., 1997. Dynamics of sex steroids of sturgeon (*Acipensre gueldenstaedti* Brandt) with various gonad states an beginning of anadromous migration into volga. voprosy Ichtiologii 37,400-407.
10.Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular refrence to changes in circulating corticosteroids. Integ. Comp Biol. 42,517.
11.Barton, B.A., 1997. Stress in finfish: past, present and future-a historical perspective. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (EDs.), Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge Univ. Press, New York, NY, pp.1-33.
12.Bayunova, L., Canario, A.M., Semenkova, T., Dybin, V., Svordlova, D. and Trenkler, I., 2006. Sex steroids and cortical levels in the blood of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* pallas) during final maturation induced by LH-RH-analogue. J. Appl. Ichthyol, 22: 334-339.
13.Bayanova, L.V., Barannikova, I.A. and Semenkova, T.B., 2002. Sturegeon stress reactions in aquculture. J. Appl. Ichthyol. 18,397- 404.
14.Bayanova, L.V., Barannikova, I.A., Dyubin, V.P. and Semenkova, T.B., 2000 cortisol and sex steroids profiles in stellate sturgeon female during maturation under pituitary preparation treatment in aquculture.In: proceedings of the 6th Int.symp. On Repr. Physiol. of Fish. Eds: B. Norberg, O.S. Kjesbi, G.I. Tarranger, E.Anderssonis, O. Steffunson. July 4-9, 1999, Bergen, Norway, Bergen. P: 418p
15.Belanger, J.M., Son, J.H., Laugero, K.D., Moberg, G.P., Doroshov, S.I. and Lankford, S.E., 2001. Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture 203, 165-175.
16.Bukovaskaya, O.S., Bayanova, L.V., Blokhin, S.V. and Boev, A.A., 1999. The effect of acute stress on hormonal levels in the serum of Russian and stellate sturgeon during induced maturation. J. Appl. Ichthyol. 15, 308-309.
17.Bukovaskaya, O.S., Lambert, J.G.D. and Kime, D.E., 1997. *In vitro* steroidogenesis by gonads of the Russian sturgeon, *Acipencer gueldenstaedti* Brandt. Fish Physiol. Biochem 16,345-353.
18.Dobson, H. and Smith, R.F., 1995. Stress and Reproduction in farm animals. J. Repord. Fertil. Suppl. 49, 451-461.
19.Donaldson, E., 1981. The pituitary–interregnal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D. (Ed.), Stress and fish. Academic Press, New York, pp 11- 47.
20.Kime, D.E. 1993. Classical and non-classical reproductive steroids in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 3, 160-180.
21.Korte, S.M., Bouws, G. and Bohus, B., 1993. Central actions of corticotrophin-releasing hormone on behavioral, neuroendocrine and cardiovascular regulation: brain corticoid receptor involvement. Horm. Behav, 27, 167-183.
22.Liptrap, R.M., 1993. Stress and Reproduction in domestic animals. Ann. NY. Acad. Sci. 697,275-284.
23.Lutes, P., 1985. Oocyte maturation in white sturgeon *Acipencer transmontanus*: some mechanisms and applications. In: Northern American sturgeon. Binkowski et al., eds. Pp. 87-92.
24.Milligan, C.L., 1996. Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. Comparative Biochemistry and physiology 113A. pp 51-60.
25.Moberg, G.P., 1992. Stress induced pathologies in fish: the cost of stress. NOAA Tech. Rep., NMFS, 111, 131-134.
26.Mostl, E. and Palme, R., 2002. Hormones as indicators of stress. Domestic Animal Endocrinlogy.23, 67-74.
27.Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., 1991. A comparison of glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress vespon sivenss in female rainbow trout. Aquaculture 175, 351-363.

Archive of SID

www.SID.ir

28.Raynert, R.D., Paepe, G. and Peeters, G., 1976. Influence of stress, age and sex on serum growth hormone and free faty acids in cattle. Horm. Metab. Res. 8, 109-114.
29.Redding, M. and Patino, R., 1993. Reproductive Physiology. In: The physiology of Fishes. Ed.: D.H. Evans. Boca Raton, Florida: CRC Press, pp. 503-534.
30.Semenkova, T.B., Barannikova, I.A., Kime, D.E., McAllister, B.G., Bayunova, L.V., Dybin, V.P. and Kolmakov, N.N., 2002. Sex steroid profiles in female and male stellate sturgeon during final maturation induced by hormonal treatment. J. Appl. Ichthyol. 18, 375-381.
31.Semenkova, T., 2002b. surgeon stress reaction in Aquaculture. J. Appl. Ichthyol. 18, 397-404.
32.Semenkova, T.B., Bayunova, L.V., Boev, A.A. and Dybin, V.P., 1999. Effect of stress on serum cortical levels of sturgeon in Aquaculture. J. Appl. Ichthyol. 15, 270-272.
33.Webb, M.A.H., Feist, G.W., Van Eenennaam, J.P., Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B. and Doroshov, S.I., 2002. Ovarian Steroid genesis in white sturgeon, *Acipenser transmontanus* during Oocyte Maturation and Induced Ovulation Gen, Comp Endocrinol. 129, 27-38.

Archive of SID

www.SID.ir

# Sequential of sex steroids and cortisol levels in farmed stellet sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) female brooders after induced ovulation by GnRH (Ova-Fact III)

**[*]M. Yooneszadeh[1], H. Fiezbakhsh[1], M. Bahmani[2], R. Kazemi[2], M. Pourdehghani[2], R. Ghaysar Karimlo[1], T. Mohammadian[1] and S. Saeidi[1]**

[1]Marine Science and Technology Khoramshahr University,
[2]Dr. Dadman International Sturgeon Research Institute, Rasht

**Abstract**

Blood serum testosterone (T), progesterone (P4), estradiol (E2) and cortisol concentrations were measured by radio-immunoassay (RIA) in farmed stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) female breeders during final maturation (FM) induced by GnRH (Ova-Fact III). After the detection of polar indices (PI=10-14) and hormonal survey in female breeders was carried out to induce by GnRH in 2 stage with 10µg/kg dose with interval 12 hour. Three blood samples were taken from females in timing 0, 12, 24 h after injection. Results showed there was a significant of sex steroid T, P4, E2 and cortisol levels in non-ovulated (n=2) with ovulated (n=5) fish. T, P4, E2 levels were decreased after ovulastion while cortisol increased. The data indicates that sex steroids, especially T, in farmef femal stellate sturgeon brood stock had important role in ovulation also T concenteration in non-ovulated females were significantly lower than in ovulated fish ($P<0.05$). The rise in cortisol level may indicate an interaction between corticosteroids and gamete maturation in farmed stellate sturgeon.

***Keywords***: Sex steroids; Ovulation; Cortisol, GnRH, Farmed stellate sturgeon.

Archive of SID

*- Corresponding Author; Email: Babak_yooneszadeh@yahoo.com

www.SID.ir