Archive of SID

اثر استرس نگه‌داری در شرایط اسارت بر تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک موثر در تولیدمثل ماهی ماده سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)

• **علی‌نقی سرپناه***: مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۷

چکیده

ماهیان استخوانی دریای خزر ازجمله مهم‌ترین و باارزش ترین ماهیان این دریا می باشند، که متأسفانه ذخایر آن در سال‌های اخیر به‌دلایل متعدد رو به کاهش نهاده است. تحقیق حاضر، به‌منظور بررسی اثر استرس نگه‌داری بر تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک موثر در تولیدمثل ماهیان مولد سفید دریای خزر انجام شد. ماهیان برای تطابق با شرایط جدید به‌مدت ۳ روز دوره سازگاری را طی کردند و سپس به‌طورتصادفی و به تعداد مساوی (۱۰ عدد در هر مخزن) در ۳ مخزن فایبرگلاس (گروه شاهد، تیمار اول، تیمار دوم) توزیع و به‌مدت ۱۰ روز در شرایط اسارت نگه‌داری شدند. بعد از ۱۰ روز نگه‌داری، به ماهیان تیماراول و دوم هورمون محرک رسیدگی جنسی (Ovaprim) تزریق شد. از نمونه‌ها طی ۳ مرحله، نمونه خون گرفته شد. نتایج نشان داد، میزان هورمون ۱۷بتااسترادیول پلاسما، بعد از ۱۰ روز نگه‌داری و بعد از رسیدگی جنسی در تمام گروه‌های آزمایشی نسبت به قبل از شروع آزمایش کاهش یافت که این کاهش بعد از رسیدگی‌جنسی، نسبت به قبل از شروع آزمایش معنی‌دار بود($P<0/05$). میزان تستوسترون پلاسما، درهمه‌گروه‌های آزمایشی‌کاهش معنی‌داری داشت ($P<0/05$). تغییرات سطح‌هورمون‌پروژسترون در تمامی گروه‌های آزمایشی معنی‌دار نبود($P>0/05$). براساس نتایج‌این‌تحقیق، می‌توان بیان نمود که استرس نگه‌داری درشرایط اسارت در مولدین ماده بر روی شاخص‌های فیزیولوژیک مورد بررسی، تاثیرگذار بوده است. کاهش نسبی مقادیر پارامترهای بررسی شده موجود در پلاسمای خون این ماهیان، نظیر هورمون‌های جنسی پلاسما (۱۷بتااسترادیول، تستوسترون و پروژسترون) که در برخی موارد قابل ملاحظه و معنی‌دار بود، نشان‌دهنده این اثرات است.

کلمات کلیدی: شرایط اسارت، هورمون‌های جنسی پلاسما، کورتیزول، تولیدمثل، *Rutilus frisii kutum*

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sarpanah5050@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دریای خزر با دارا بودن گونه‌های بومی ماهیان استخوانی و ماهیان خاویاری دارای ارزش اکولوژیک و زیست‌شناسی بسیاری می‌باشد. هم‌چنین این دریا به‌عنوان بزرگ‌ترین دریاچه و حوزه آبی بسته جهان، مأمن گرانبهاترین ماهیان باارزش اقتصادی و زیستی دنیا نظیر ماهی سفید می‌باشد (امینیان‌فتیده و همکاران، ۱۳۹۵). ماهی سفیددریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)از اعضای خانواده کپورماهیان بوده و گونه بومی دریای خزر به‌شمار می‌رود. عمده پراکنش ماهی سفید در دریای خزر مربوط به مناطق جنوبی و جنوب‌غربی این دریا بوده و این ماهی به‌عنوان یک ماهی اقتصادی ارزشمند توسط صیادان صید می‌گردد. این گونه‌ها در آب‌های ساحلی در دسته‌های کوچک زندگی می‌کنند و در ماه‌های مارس تا آوریل برای تخم‌ریزی به‌آب‌های کم‌عمق رودخانه می‌روند (Falahatkar و همکاران، ۲۰۱۳).صید انبوه ماهیان مولد در رودخانه‌ها به هنگام آمادگی برای تخم‌ریزی یکی از عوامل مهم و اصلی کاهش ذخایر ماهی سفید می‌باشد. فرم بهاره ماهی سفید دریای خزر در فصل تولیدمثل (اواخر زمستان و اوایل بهار) به رودخانه مهاجرت می‌کند. گروهی از آنان به‌طور طبیعی و گروهی نیز پس از صید توسط شیلات به طریقه مصنوعی تکثیر می‌یابند (خانی‌پور و ولی‌پور، ۱۳۸۸). استرس، عامل محرک تهدید کننده حیات با منشا داخلی یا خارجی است که موجب بروز یک پاسخ ویژه و هماهنگ در سیستم غدد درون‌ریز بدن می‌شود. در واقع می‌توان گفت که استرس شامل مجموع واکنش‌های فیزیولوژیک است که به‌وسیله آن یک حیوان تلاش می‌کند تا سوخت و ساز طبیعی خود را در برابر تغییرات فیزیکی و شیمیایی ایجادشده حفظ کند. استرسور یا عامل استرس‌زا، سبب بروز تغییر در سیستم فیزیولوژیک بدن و پاسخ‌های مربوط به استرس و در نتیجه تغییر هوموستازی می‌گردد. عوامل استرس‌زای بالقوه را به انواع محیطی، فیزیکی و بیولوژیک تقسیم می‌کنند. عوامل استرس‌زای محیطی عمدتاً تغییر در شرایط فیزیکوشیمیایی آب را در بر می‌گیرد. دست‌کاری، تراکم، نگه‌داری در اسارت و حمل و نقل از انواع اختلالات فیزیکی هستند که اثرات رفتاری مهمی در ماهیان برجای می‌گذارند (عسکریان و کوشا، ۱۳۸۵). به هنگام وقوع استرس، عود یا کاهش مقاومت در برابر بیماری‌ها که به‌توقف کار سیستم ایمنی بدن یا اختلال در این سیستم مربوط می‌شود، بروز می‌نماید. شیوه‌های معمول در حوزه آبزی‌پروری، ازجمله صید ماهی، چگالی بالای ذخیره‌سازی، دست‌کاری و حمل و نقل می‌تواند برای ماهی‌ها تنش‌زا باشند و در نتیجه بر تولیدمثل تأثیر می‌گذارد (Nikoo و Falahatkar، ۲۰۱۲). شکست در تولیدمثل یا کاهش بقاء نوزادان‌و کاهش درصد لقاح و کاهش یا توقف کامل رشد به‌خصوص در مورداسترس‌های مزمن شایع‌تر می‌باشد.بنابراین باتوجه به توضیحات‌فوق می‌توان گفت‌برخورداری‌ازیک‌درک پایه از فیزیولوژی واکنش ماهیان مولد سفید دریای خزر با توجه به اهمیت اکولوژیک و اقتصادی این ماهی، در برابر استرس‌های ناشی از نگه‌داری در شرایط اسارت کمک می‌کند تا بتوان شرایط محیطی را که برای مولدین ایجاد استرس می‌کند و باعث کاهش راندمان تکثیر می‌شود شناسایی نمود و به‌روش‌های مناسب جهت تخفیف اثرات این عوامل بر شرایط فیزیولوژیک ماهی دست یافت. لذا انجام این مطالعه به‌منظور ارزیابی پاسخ‌های‌فیزیولوژیک‌وعملکرد تکثیر ماهی مولد سفید به استرس‌های ناشی از نگه‌داری ضروری می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثراسترس‌نگه‌داری‌درشرایط‌اسارت‌بر‌تغییرات‌شاخص‌های‌فیزیولوژیک موثر در تولیدمثل و تکثیر ماهی سفید دریای خزر به‌منظور جمع‌آوری اطلاعات و دانش لازم در این خصوص‌و پرکردن خلاء علمی در این زمینه و استفاده از نتایج پژوهش حاضر در جهت امکان‌سنجی کاهش اثرات منفی این نوع از استرس در فرایند تکثیر و پرورش ماهی سفید دریای خزر مد نظر بوده است. بدین‌منظور تحقیق حاضر در فصل تکثیر در یکی از مهم‌ترین مراکز شیلاتی تکثیر و رهاسازی بچه ماهی سفید دریای خزر در استان گیلان به‌منظور ارائه راهکار مدیریتی در اجرای عملیات تکثیر مصنوعی‌این ماهیان با ارزش و کاهش ضایعات موجود و افزایش راندمان کمی و کیفی تولید جهت حفظ ذخایر و توسعه پایدار منابع آبزیان دریای خزر برنامه‌ریزی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

صید و حمل مولدین: مولدین در منطقه غرب استان گیلان از دریای خزر در فروردین ماه سال ۱۳۹۰توسط پره ساحلی براساس شرایط وزن بدن (۵-۱/۱ کیلوگرم) و میزان آمادگی برای رسیدگی جنسی با چک کردن ناحیه شکم (سفتی یا نرمی این ناحیه) انتخاب و به کارگاه بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل منتقل شدند.

تیماربندی مولدین وگرفتن نمونه خون:مولدین‌درون مخازن ۲ مترمکعبی فایبرگلاس مکعبی شکل توزیع گردیدند. مجموعاً ۳ مخزن که هر کدام حاوی ۱۰ عدد مولد بودند جهت این کار درنظر گرفته شد. در مرحله اول از ماهیان پس از آداپته شدن با شرایط مخازن (۳ روز بعد از معرفی) نمونه خون (نمونه‌های اولیه) با سرنگ هپارینه به‌میزان ۲ میلی‌لیتر از ساقه دمی و ناحیه باله مخرجی جهت اندازه‌گیری پارامترهای مربوطه اخذ شد. ۳ تیمار برای این تحقیق در نظر گرفته شد که شامل شاهد (تزریق سرم فیزیولوژی پس از ۱۰ روز نگه‌داری)، تیمار اول (تزریق هورمون Ovaprim پس از ۱۰

www.SID.ir

Archive of SID

روز نگه‌داری) و تیمار دوم (تزریق هورمون کورتیزول در ابتدای تحقیق و تزریق هورمون Ovaprim پس از ۱۰روز نگه‌داری) بودند. سعی شد تمامی تیمارها در شرایط محیطی یکسان از نظر نور، سر و صدا، میزان آب ورودی و خروجی، دما و حجم آب قرار گیرند (Falahatkar و همکاران، ۲۰۰۹). تیمارهای مذکور به‌مدت ۱۰ روز بر روی ماهیان اعمال شد و پس از آن ماهیان آماده تزریق (سرم فیزیولوژی برای تیمار شاهد و هورمون Ovaprim برای تیمارهای اول و هورمون Ovaprim و هورمون کورتیزول برای دوم) جهت القای رسیدگی جنسی شدند. تزریق سرم فیزیولوژی یا هورمون Ovaprim به‌میزان ۲ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن ماهی در بالای خط جانبی با استفاده از سرم انسولین انجام گرفت. در مرحله دوم نمونه‌گیری و هم‌زمان با تزریق (قبل از انجام تزریق)، مجدداً از ماهیان هر تیمار نمونه خون گرفته شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از تزریق، هر ۶ ساعت یک‌بار به طور منظم ماهیان تمامی تیمارها از نظر رسیدگی جنسی چک شدند (گرفتن ماهی و فشار به ناحیه شکم و بررسی خروج یا عدم خروج تخمک از ناحیه شکم) و زمان رسیدگی جنسی یا فوق رسیدگی جنسی ماهیان ثبت و در مرحله سوم نمونه‌گیری، هم‌زمان با رسیدگی هر ماهی، مجدداً نمونه خون آن گرفته شد. اندازه طول کل تمامی ماهیان توسط اشل چوبی مدرج و وزن آنان به‌وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت شد. در انتها پارامترهای مربوط به تولیدمثل شامل هم‌آوری‌کاری، تعداد تخمک در هر گرم به‌ازای هر مولد تعیین گردید. از نمونه‌های تخمک هر مولد نیز مقدار یک گرم نمونه جهت اندازه‌گیری مقدار کورتیزول تخمک در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگه‌داری شد.

مرحله آزمایشگاهی: پلاسمای نمونه‌های خون گرفته شده از ماهیان از طریق سانتریفیوژ جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش هورمون‌ها و ترکیبات مورد نظر نگه‌داری گردید. این عمل توسط دستگاه سانتریفوژ با سرعت g ۱۶۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. سپس با استفاده از سمپلر با دقت پلاسما جدا و به محفظه‌های پلاستیکی درب‌دار (موسوم به اپندورف) منتقل گردید. نمونه‌های پلاسما شماره‌گذاری شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند (Pottinger و Carrick، ۲۰۰۱). نمونه‌ها به آزمایشگاه ارسال و مقادیر هورمون‌های جنسی (استرادیول، تستوسترون و پروژسترون) در آن‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. نمونه‌های تخمک برداشت شده هم برای اندازه‌گیری غلظت کورتیزول داخل آن‌ها استفاده شدند.

هورمون ۱۷ بتا استرادیول پلاسما: تعیین مقادیر هورمون استرادیول در نمونه‌های پلاسما به‌روش Radioimmunoassay (RIA) (Fischbach و Dunning، ۲۰۰۹) انجام پذیرفت. لوله‌های حاوی آنتی‌بادی ضد استرادیول کد شده (فاز جامد) به‌طور پیاپی با ۱۰۰ میکرولیتر از کالیبراتور کنترل شده یا نمونه و ۵۰۰ میکرولیتر از ردیاب حاوی ید نشان‌دار (ید ۱۲۵) مخلوط گردیدند. سپس به‌مدت ۳ ساعت در درجه حرارت اتاق (۱۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد) با سرعت ۳۵۰ rpm سانتریفوژ شدند. لوله‌ها تخلیه شدند و توسط سه شوآر خشک گردیدند. سپس در دستگاه گاما کانتر LKB نمونه‌ها تعیین گردیدند. اعداد حاصل بر حسب واحد نانو گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

هورمون تستوسترون پلاسما: تعیین مقادیر هورمون تستوسترون در نمونه‌های پلاسما به‌روش Radioimmunoassay (RIA) (Fischbach و Dunning، ۲۰۰۹) انجام پذیرفت. لوله‌های حاوی آنتی‌بادی ضد تستوسترون کد شده (فاز جامد) با ۵۰ میکرولیتر از کالیبراتور کنترل شده یا نمونه و ۵۰۰ میکرو لیتر از ردیاب حاوی ید نشان‌دار (ید ۱۲۵) مخلوط شدند. نمونه‌ها در حمام آبی با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت نگه‌داری شدند. لوله‌ها تخلیه شدند و توسط سه شوآر خشک گردیدند. سپس در دستگاه گاما کانتر LKB نمونه‌ها تعیین گردیدند. اعداد حاصل بر حسب واحد نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

هورمون پروژسترون پلاسما: تعیین مقادیر هورمون پروژسترون در نمونه‌های پلاسما به‌روش Radioimmunoassay (RIA) (Kubokawa و همکاران، ۱۹۹۹) انجام پذیرفت. لوله‌های حاوی آنتی‌بادی ضدپروژسترون کدشده (فاز جامد) با ۵۰ میکرولیتر از کالیبراتور کنترل شده با نمونه و یک میلی‌لیتر از ردیاب حاوی ید نشان‌دار (ید ۱۲۵) مخلوط گردیدند. نمونه‌ها در حمام آبی با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت نگه‌داری شدند. لوله‌ها تخلیه و توسط سه‌شوآر خشک گردیدند و سپس در دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند نمونه‌ها تعیین گردیدند. اعداد حاصل بر حسب واحد نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

کورتیزول تخمک: پس از نمونه‌برداری، ۳۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تخمک به ویال‌های اپندروف منتقل و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۷۰-درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. جهت انجام دادن آزمایش، بافت‌ها با محلول بافرفسفات (۰/۱ M, pH=۷/۲) سرد شده در یخ (پنج برابر وزن بافت‌های توزین شده)، توسط دستگاه هموژنایزر (Ultra turrax, Germany) هموژن گردیدند. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از بافت هموژن شده به لوله‌های جدید پیپت شدند و ۳ میلی‌لیتر دی‌اتیل‌اتر به‌منظور استخراج کردن کورتیزول از درون بافت به لوله‌ها اضافه و به مدت دو دقیقه به‌شدت تکان داده شد. بعد از این مرحله، لوله‌های حاوی بافت هموژن شده به‌همراه دی‌اتیل‌اتر به دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند تا دو فاز جامد و مایع تشکیل گردند. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لایه رویی که حاوی دی‌اتیل‌اتر بود جمع‌آوری و به لوله جدید

www.SID.ir

Archive of SID

منتقل شد. سپس دی‌اتیل‌اتر موجود در لوله‌ها در دمای اتاق تبخیر شدند. بعد از تبخیر دی‌اتیل‌اتر، به عصاره خشک شده باقی‌مانده در لوله‌ها، ۳۰۰ میکرولیتر تتراکلروکربن اضافه و به‌مدت ۴دقیقه‌با دستگاه شیکر به‌شدت تکان داده شد. بعد از این مرحله، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول بافرفسفات که حاوی ۰/۱ درصد ژلاتین بود به لوله‌ها اضافه گردید و به‌مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شدند. بعد از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها(۱۶۰۰g در ۱۰ دقیقه)،لایه رویی که حاوی هورمون کورتیزول بود با سمپلر جدا شد و تا زمان انجام اندازه‌گیری در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (Hiroi و همکاران، ۱۹۹۷).

تعداد تخمک در گرم: نمونه‌هایی از تخمک‌های ماهیان مولد گروه‌های آزمایشی برداشته شد. پس از وزن کردن نمونه‌های تهیه شده، تعداد تخمک‌های موجود در هریک از آن‌ها با استفاده از لوپ دو چشمی شمارش شد. سپس با به‌دست آوردن میزان تعداد تخمک در آن وزن مشخص، ازطریق عملیات تناسب ریاضی،تعداد تخمک در گرم برای هر ماهی تعیین گردید (Snyder، ۱۹۹۴).

آنالیز آماری:برای‌انجام‌تجزیه و تحلیل آماری،نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها توسط تست Tukey انجام گرفت. برای انجام آنالیز آماری نمونه‌ها در داخل هر تیمار در طول دوره آزمایش از آزمون آماری Independent sample t-test استفاده گردید. کلیه عملیات آماری مربوطه از طریق نرم‌افزارهای SPSS و Excel انجام شد.

نتایج

تغییرات میزان ۱۷بتااسترادیول پلاسما: میزان تغییرات هورمون ۱۷بتا استرادیول موجوددر نمونه‌های پلاسمای خون ماهیان مولد ماده سفیددریای‌خزر در گروه‌های‌مختلف آزمایشی‌مطابق‌جدول ۱ می‌باشد. تغییرات میزان هورمون ۱۷بتا استرادیول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پلاسمای‌خون‌در‌مولدین‌ماهی‌سفید دریای‌خزر ۱۲۱۷/۶±۳۴/۳ گرمی در قبل از شروع آزمایش و گروه شاهد، تیمارهای اول و دوم، بعد از ۱۰ روز نگه‌داری و بعد از رسیدگی جنسی مورد مطالعه‌و بررسی‌قرار گرفت.نتایج نشان‌داد‌که میزان‌سطوح هورمون‌جنسی ۱۷بتااسترادیول پلاسما در ماهیان مولد مورد مطالعه، به‌ترتیب بین مقدار حداقل ۲۹۴/۳±۶۶/۷نانوگرم برمیلی‌لیتر(در‌تیمار‌اول‌بعداز‌رسیدگی جنسی) تا میزان حداکثر ۷۹۳/۴±۴۳/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر (در نمونه‌های گرفته شده قبل از شروع آزمایش)، متغیر بود. بعد از رسیدگی جنسی (اوولاسیون) در میزان هورمون ۱۷بتااسترادیول نمونه‌های پلاسمای همه‌گروه‌های‌آزمایشی نسبت به قبل از شروع آزمایش (۷۹۳/۴±۴۳/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) کاهش قابل توجه‌ای دیده شد (P<۰/۰۵). در تمامی گروه‌های آزمایشی پس از ۱۰ روز نگه‌داری، سطح هورمون ۱۷بتااسترادیول کم‌تر از قبل از شروع آزمایش بود، که این تفاوت تنها در مقایسه تیمار دوم (۴۸۵±۶۶/۲ نانوگرم برمیلی‌لیتر) با قبل از شروع آزمایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). آزمون T انجام شده برای هر گروه آزمایشی به‌صورت مجزا، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار میزان ۱۷بتا استرادیول‌پلاسما بین‌نمونه‌های بعداز ۱۰روزنگه‌داری‌و بعداز رسیدگی جنسی (اوولاسیون) در‌گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). میزان این هورمون در گروه‌شاهد‌پس از اوولاسیون به‌شدت‌کاهش یافت و از ۷۰۸/۶±۶۹ نانوگرم‌بر‌میلی‌لیتر‌به ۳۴۶/۹±۱۱۱/۳نانوگرم‌بر‌میلی‌لیتر‌رسید.آزمون T در تیمارهای دیگر با وجود بروز تغییرات جزئی سطوح هورمون ۱۷بتااسترادیول‌بین‌نمونه‌های‌پلاسما بعد از ۱۰ روز نگه‌داری مولدین و بعد از رسیدگی جنسی (اوولاسیون) اختلاف فاحش و معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول۱: تغییرات میزان هورمون ۱۷بتا استرادیول پلاسمای خون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماهی سفید دریای خزر

گروه آزمایشی	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	قبل از شروع آزمایش
زمان نمونه برداری				
بعد از ۱۰ روز نگه‌داری	۷۰۸/۶±۶۹$^{ab(*)}$	۵۱۹±۱۰۵/۹^{ab}	۴۸۵±۶۶/۲^{b}	۷۹۳/۴±۴۳/۰^{a}
بعد از رسیدگی جنسی	۳۴۶/۹±۱۱۱/۳^{b}	۲۹۴/۳±۶۶/۷^{b}	۴۱۰/۲±۶۵/۲^{b}	

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شده است (n=۱۰، Mean ± SE). حروف غیرمشابه در هر سطر و علامت * در هر ستون نشانه اختلافات معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

تغییرات میزان تستوسترون پلاسما: میزان تغییرات هورمون تستوسترون موجود در نمونه‌های پلاسمای خون ماهیان مولد ماده سفیددریای خزر در گروه‌های مختلف آزمایشی مطابق جدول ۲ می‌باشد. تغییرات میزان هورمون تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پلاسمای خون در مولدین ماهی سفید دریای خزر ۱۲۱۷/۶±۳۴/۳ گرمی در قبل از شروع آزمایش و گروه شاهد، تیمارهای اول و دوم، بعد از ۱۰روز نگه‌داری‌و بعد از رسیدگی جنسی مورد مطالعه و بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که درخصوص غلظت تستوسترون پلاسما، میزان کمینه از ۰/۰۱±۰/۰۷ نانو گرم بر میلی‌لیتر (در تیماردوم، بعد از ۱۰روز نگه‌داری) تا بیشینه ۰/۹۲±۲/۳۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر (در قبل از شروع آزمایش) متغیر بود. کلیه تیمارهای موجودنسبت‌به‌قبل از شروع آزمایش کاهش قابل توجه و معنی‌داری را هم بعد از ۱۰ روز نگه‌داری مولدین و هم بعد از رسیدگی جنسی (اوولاسیون)نشان‌دادند

www.SID.ir

Archive of SID

(P<۰/۰۵). اما بین گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی هم بعد از ۱۰ روز نگه‌داری و نیز بعد از رسیدگی جنسی، اختلاف معنی‌داری مشاهده‌نشد(P>۰/۰۵). نتایج حاصل از آزمون T در تیمار دوم (ماهیان تحت استرس دستکاری) در مورد میزان تستوسترون پلاسما بعد از ۱۰روز نگه‌داری مولدین و بعد از رسیدگی جنسی(اوولاسیون) نمایانگر تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، که نشان‌دهنده افزایش میزان این هورمون بعد از رسیدگی جنسی ماهیان (از ۰/۰۱±۰/۰۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر به ۰/۰۳±۰/۱۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر) می‌باشد. این تفاوت در گروه شاهد و نیز تیمار اول بین دو حالت فوق الذکر معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۲: تغییرات میزان هورمون تستوسترون پلاسمای خون (نانو گرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماهی سفید دریای خزر

گروه آزمایشی	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	قبل از شروع آزمایش
زمان نمونه برداری				
بعد از ۱۰ روز نگه‌داری	۰/۱۹±۰/۰۴^{b}	۰/۲±۰/۰۵^{b}	۰/۰۷±۰/۰۱^{b}	۲/۳۲±۰/۹۲^{a}
بعد از رسیدگی جنسی	۰/۱۲±۰/۰۳^{b}	۰/۱۴±۰/۰۸^{b}	۰/۱۹±۰/۰۳$^{b(*)}$	

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شده است (n=۱۰، Mean ± SE). حروف غیرمشابه در هر سطر و علامت * در هر ستون نشانه اختلافات معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

تغییرات میزان پروژسترون پلاسما: میزان تغییرات هورمون پروژسترون موجود در نمونه‌های پلاسمای خون ماهیان مولد ماده سفید دریای خزر در گروه‌های مختلف آزمایشی مطابق جدول ۳ می‌باشد. تغییرات میزان هورمون پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) پلاسمای خون در مولدین ماهی سفید دریای خزر ۱۲۱۷/۶±۳۴/۳ گرمی در قبل از شروع آزمایش و گروه شاهد، تیمارهای اول و دوم، بعد از ۱۰روز نگه‌داری و بعد از رسیدگی جنسی مورد مطالعه و بررسی قرارگرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان هورمون پروژسترون پلاسما در نمونه‌ها از حداقل ۰/۲۹±۰/۰۲ نانوگرم برمیلی‌لیتر (در تیمار دوم، بعد از ۱۰ روز نگه‌داری) تا حداکثر ۰/۴۵±۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر (در تیمار اول، بعد از رسیدگی جنسی) نوسان داشت. آنالیزهای آماری انجام شده هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با نمونه‌های گرفته شده قبل از شروع آزمایش، هم بعد از ۱۰ روز نگه‌داری مولدین و هم بعد از رسیدگی جنسی (اوولاسیون) نشان نداد (P>۰/۰۵). آزمون T نیز بیانگر این موضوع بود که تفاوت معنی‌داری در میزان سطح پروژسترون پلاسمای دو حالت فوق‌الذکر در هر تیمار وجود نداشت (P>۰/۰۵).

تغییرات میزان کورتیزول تخمک: میزان تغییرات هورمون کورتیزول داخل تخمک نمونه‌های گرفته‌شده ازماهیان‌مولد ماده سفید دریای خزردر گروه‌های مختلف آزمایشی مطابق جدول ۴ می‌باشد. تغییرات میزان هورمون کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) تخمک در مولدین ماهی سفید دریای خزر ۱۲۱۷/۶±۳۴/۳ گرمی در گروه شاهد، تیمار اول و تیماردوم، بعد از رسیدگی جنسی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. پس از رسیدگی جنسی ماهیان در گروه‌های آزمایشی مختلف(شاهد، تیمار اول وتیمار دوم) میزان کورتیزول تخمک تعدادی از آنان‌نیزاندازه‌گیری‌شد. نتایج نشان داد که سطح کورتیزول داخل تخمک در گروه شاهد و تیمار اول تقریباً مشابه هم بود اما در تیماردوم این میزان به‌طرزمحسوسی نسبت به دو گروه دیگر افزایش داشت (تقریباً ۲ برابر آنان بود). با این وجود آنالیزهای آماری صورت گرفته تفاوت معنی‌داری را بین تغییرات سطوح کورتیزول تخمک در مقایسه گروه‌های آزمایشی مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵).

تغییرات تعداد تخمک در گرم: میزان تغییرات تعداد تخمک در گرم نمونه‌های گرفته شده از ماهیان مولد ماده سفید دریای خزر در گروه‌های مختلف آزمایشی مطابق جدول۵می‌باشد. تغییرات تعداد تخمک‌درگرم درمولدین‌ماهی‌سفیددریای‌خزر ۱۲۱۷/۶±۳۴/۳ گرمی درگروه‌شاهد (استرس‌ندیده‌و بدون تزریق هورمون Ovaprim)، تیمار اول (استرس ندیده همراه با تزریق هورمون Ovaprim) و تیمار دوم (استرس دیده با تزریق هورمون Ovaprim)، بعد از رسیدگی جنسی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. پس از رسیدگی جنسی ماهیان در گروه‌های آزمایشی مختلف(شاهد، تیمار اول و تیمار دوم)تعداد تخمک در گرم تعدادی از آن‌ها نیز محاسبه شد. نتایج نشان داد که میانگین تعداد تخمک در گرم در تمامی گروه‌های آزمایشی با وجود داشتن اختلاف اندک نسبت به هم تقریباً مشابه می‌باشد و اختلاف معنی‌داری بین میزان آنان دیده نمی‌شود (P>۰/۰۵).

جدول۳ تغییرات میزان هورمون پروژسترون پلاسمای خون (نانو گرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماهی سفید دریای خزر

گروه آزمایشی	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	قبل از شروع آزمایش
زمان نمونه برداری				
بعد از ۱۰ روز نگه‌داری	۰/۳۸±۰/۱۰^{a}	۰/۳۴±۰/۰۱^{a}	۰/۲۹±۰/۰۲^{a}	۰/۳۰±۰/۰۳^{a}
بعد از رسیدگی جنسی	۰/۳۸±۰/۰۶^{a}	۰/۴۵±۰/۰۵^{a}	۰/۳۰±۰/۰۵^{a}	

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شده است (n=۱۰، Mean ± SE). حروف غیرمشابه در هر سطر و علامت * در هر ستون نشانه اختلافات معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۴: تغییرات میزان هورمون کورتیزول داخل تخمک (نانو گرم بر میلی‌لیتر) در مولدین ماهی سفید دریای خزر

گروه آزمایشی	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم
زمان نمونه برداری			
بعد از رسیدگی جنسی	۴/۰۸±۱/۰۱[a]	۴/۳۰±۱/۴۰[a]	۸/۷۹±۲/۱۶[a]

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شده است (n=۱۰، Mean ± SE). حروف غیرمشابه در هر سطر و علامت * در هر ستون نشانه اختلافات معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول۵: تغییرات میزان تعداد تخمک در گرم در مولدین ماهی سفید دریای خزر

گروه آزمایشی	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم
زمان نمونه برداری			
بعد از رسیدگی جنسی	۲۶۲/۶۶±۶۱/۰۱[a]	۲۵۷/۳۳±۶۷/۴۰[a]	۲۵۸/۵۶±۶۵/۱۶[a]

نتایج به‌صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش شده است(n=۱۰، Mean ± SE).حروف غیرمشابه در هر سطر و علامت * در هر ستون نشانه اختلافات معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

بحث

تحقیقات انجام شده توسط محققین موید این است که پاسخ به استرس وراثتی بوده و پاسخ‌های فردی در طول زمان خصوصیتی پایدار محسوب می‌گردند (Pottinger و Carrick، ۱۹۹۹) در نتیجه تغییرات به‌وجود آمده در اثر استرس با توجه به گونه ماهی، مرحله زندگی آن، ماهیت عامل استرس‌زا و غیره می‌تواند سریعاً رخ دهد، یا باتأخیر اتفاق بیافتد و یا این‌که بلندمدت، میان‌مدت یا کوتاه‌مدت باشد(Ramsay و همکاران، ۲۰۰۶).درخصوص نوسانات هورمون‌های جنسی چون ریتم‌های گلوکوکورتیکوستروئیدی بازتابی از تغییرات تعادل انرژی جانوران می‌باشند، بنابراین وقتی نیاز ماهیان به انرژی، بیش‌تر از منابع انرژی موجود باشد، سطوح گلوکوکورتیکوستروئیدها افزایش می‌یابدو ازآن‌جا که به‌لحاظ فیزیولوژیک استرس باعث کاهش میزان گردش این استروئیدهای جنسی در خون از طریق عملکرد کورتیزول می‌گردد، در نتیجه افزایش کورتیزول سبب خواهد شد میزان ترشح هورمون‌های جنسی در ماهیان استرس دیده کاهش یابد(Pankhurst و Van Der Kraak، ۱۹۹۷).در تحقیق کنونی کاهش سطح هورمون ۱۷بتا استرادیول در پلاسمای خون ماهیان مولد استرس دیده بعد از ۱۰ روز نگه‌داری در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی دیده شد که تنها با نمونه‌های اولیه گرفته شده از مولدین قبل از شروع آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان داد.بعداز رسیدگی جنسی (اوولاسیون) مولدین، میزان این هورمون در ماهیان تیمار دوم بیش‌تر از گروه شاهد و کم‌تر از نمونه‌های قبل از شروع آزمایش بود که این اختلاف از نظر آماری با گروه شاهد معنی‌دار نبود. ولی با نمونه‌های قبل از شروع آزمایش تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. هم‌چنین در همه تیمارها اختلاف فاحش و معنی‌داری بین سطح تستوسترون پلاسما با نمونه‌های اولیه گرفته شده از مولدین قبل از انجام تیماربندی مشاهده شد. در تحقیقی مشخص گردید که چرخه هورمون‌های ۱۷بتااسترادیول و تستوسترون در ماهیان ماده بالغ سفید دریای خزر از اواسط بهمن ماه تا اوایل فروردین ماه هر سال بسیار کم و به تدریج تغییر کرده و غلظت این دو استروئید جنسی در پلاسما از فروردین ماه افزایش قابل توجه‌ای یافته و در اواخر این ماه و اوایل اردیبهشت به‌حداکثر میزان خود رسید (Shafiei Sabet و همکاران، ۲۰۰۹). کاهش میزان آندروژن‌ها و استروژن‌های خون ماهیان استخوانی در اثر استرس ایجاد شده یک پدیده شایع و معمول محسوب می‌شود (Haddy و Pankhurst، ۲۰۰۰).از موارد موید این موضوع می‌توان به کاهش شدید میزان هورمون‌های ۱۷بتااسترادیول و تستوسترون خون در ماهی سیم سیاه در اثر استرس دست‌کاری اشاره نمود (Haddy و Pankhurst، ۲۰۰۰). هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی گونه‌ای از گربه ماهی *Rhamdia quelen* که تحت تاثیر استرس دست‌کاری قرار گرفته بود، مشخص گردید که این عامل سبب کاهش معنی‌دار هورمون ۱۷بتااسترادیول در پلاسمای خون آنان گشته و به‌علاوه تخمک‌های کم‌تر و با کیفیت پایین‌تری نیز از آنان به‌دست آمده‌است(Soso و همکاران، ۲۰۰۸).درضمن کاهش تولید هورمون‌های جنسی توسط فولیکول‌های تخمدان در ماهیان می‌تواند در اثر استرس وارده به آنان اتفاق بیفتد (Janz و Van Der Kraak، ۱۹۹۷). پس می‌توان نتیجه گرفت که استرس می‌تواند روند طبیعی تبدیل پروژسترون به تستوسترون و تستوسترون به ۱۷بتااسترادیول توسط فولیکول‌های تخمدان را در ماهیان مختل نماید. بررسی اثرات استرس حاد بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مرحله قبل از اوولاسیون نشان داد که استرس حاد باعث کاهش تستوسترون خون شد، اما اثر معنی‌داری برغلظت گنادوتروپین و استرادیول پلاسما نداشت. این مطالعه نشان داد که استرس، بدون تاثیر بر ترشح گنادوتروپین نقش بازدارنده بر عملکرد تولیدمثل دارد (Pankhurst و Van Der Kraak، ۲۰۰۰). آنالیزهای آماری انجام شده درخصوص میزان پروژسترون پلاسما در نمونه‌های موجوددر تحقیق حاضر هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف با هم و با نمونه‌های اولیه گرفته شده قبل از تیماربندی، هم درحالت پس از ۱۰ روز نگه‌داری مولدین و هم درحالت بعداز رسیدگی جنسی (اوولاسیون) نشان نداد. نتایج بررسی Kubokawa وهمکاران (۱۹۹۹) که طی آن مولدهای ماهی *Oncorhynchus nerka* تحت تأثیر استرس دست‌کاری با تور قرار گرفتندو(پس از ۳۰ ثانیه قرارگیری در تور) از آن‌ها نمونه خون اخذ کردند نشان داد، سطوح پروژسترون در ماهیان ماده در پاسخ به استرس تقریباً ثابت ماند. چنین عنوان شد، که ممکن است سطح اولیه پروژسترون در آن‌ها احتمالاً

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌قدر پایین بوده که نمی‌توانست از استرس حاد تأثیر بپذیرد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. از موارد مشابه این حالت می‌توان به عدم تغییر معنی‌دار سطح پروژسترون خون در ماهی سیم سیاه در اثر نگه‌داری اشاره نمود (Haddy و Pankhurst، ۲۰۰۰). درخصوص کوتیزول داخل تخمک ماهیان سفید دریای خزر همان‌طور که در تحقیق حاضر مشخص شد، باوجوداین‌که تخمک ماهیان تیمار دوم نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی افزایش زیادی داشت (سطح کورتیزول تخمک در ماهیان استرس دیده ۲ برابر گروه‌های استرس ندیده بود)، اما این میزان افزایش، از نظر آماری نسبت به تیمارهای شاهد و تیمار اول معنی‌دار نبود. در مطالعات گوناگون در این خصوص، در شرایط مختلف و گونه‌های متفاوت، نتایج گوناگونی به‌دست آمد. به‌نحوی که در مطالعه بر روی تخم ماهیان قزل‌آلا افزایش معنی‌دار میزان کورتیزول داخل تخمک در اثر استرس وارده به آن‌ها دیده نشد (Janz و Van Der Kraak، ۱۹۹۷). بررسی‌های متعدد نشان داده است که کورتیزول در اووسیت‌های ماهیان در حال نمو انباشته می‌شود و در تخم‌های لقاح یافته و جنین‌ها نیز وجود دارد (Hwang و همکاران، ۱۹۹۲). در تحقیقات انجام شده کورتیزول در تخم ماهی فلاندر ژاپنی، *Papalichthys olivaceus* (De Jesus و همکاران، ۱۹۹۱)، ماهی تیلاپیای موزامبیک *Oreochromis mossambicus* (Hwang و Wu، ۱۹۹۳)، و ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Stouthart و همکاران، ۱۹۹۸) گزارش شد. Jentoft و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی مراحل تکاملی واکنش کورتیزول به استرس در ماهی سوف زرد (*Perca fluviatilis*) نشان دادند که در تخم‌های تازه لقاح یافته در آنان میزان کورتیزول موجود ۰/۳±۴۱ pg/embryo می‌باشد و ۶ روز بعد از آن به ۳±۸ pg/embryo کاهش یافت و سپس تا زمان تخم‌گشایی (روز دهم) بدون تغییر باقی ماند و استرس حاد وارد شده به جنین‌ها (روزهای ۶ و ۸ بعد از لقاح) و لاروها (تخم‌گشایی و ۲ روز بعد از تخم‌گشایی) تفاوت‌هایی را در میزان کورتیزول بین استرس دیده‌ها و استرس ندیده‌ها ایجاد نکرد. Simontacchi و همکاران (۲۰۰۸) میزان کورتیزول و هورمون‌های جنسی (تستوسترون و استرادیول) را در تخم تاس‌ماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) اندازه‌گیری کردند و به‌این نتیجه رسیدند که کورتیزول بعد از رسیدگی جنسی کاهش پیدا می‌کند. تعداد تخمک در گرم ماهیان مولد از جمله شاخص‌های مرتبط با هماوری در تولیدمثل ماهیان می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز بررسی نمونه‌های تخمک گرفته شده از گروه‌های آزمایشی نشان داد که با وجود اختلافات جزئی در میانگین تعداد تخمک در گرم، تفاوت معنی‌داری بین ماهیان تیمارهای مختلف، مشاهده نگردید. در مولدین گربه‌ماهی (*Ictalurus punctatus*) در ماهیان تحت استرس، هیچ اختلافی در وزن تخم، هم‌آوری و درصد تفریخ بین آنان و گروه شاهد مشاهده نشد (Small، ۲۰۰۴). در تحقیقی که بر روی تون ماهیان انجام گرفت، اثرات قابل ملاحظه و معنی‌داری در اثر بروز استرس صید بر روی تعداد تخمک در گرم آن‌ها مشاهده نشد (Schaefer، ۲۰۰۱). Campbell و همکاران (۱۹۹۴) بر اساس نتایج حاصل از یک تحقیق، معتقد بودند که استرس موجب کاهش هم‌آوری کاری، کیفیت گامت‌های بالغ و لاروها در طی تکثیر و پرورش مصنوعی ماهیان قزل‌آلا گردید. در مطالعه دیگری که بر روی کپورماهیان صورت پذیرفت، مشخص شد که ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی غدد هیپوتالاموس و هیپوفیز که قطع ترشح هورمون‌های محرک رسیدگی جنسی را به‌دنبال داشته است باعث اشکال در تکامل تخمک‌ها و فرآیند زرده‌سازی گردیده است. این حالت به‌ویژه در مراکز تکثیر و پرورش مصنوعی این ماهیان که شرایط زندگی محدود و اسارت بر آنان حاکم بوده است از شدت بیش‌تری برخوردار بود. در این موقعیت استفاده از هورمون‌های محرک رسیدگی جنسی به‌طور مصنوعی سبب برگشت روند طبیعی در رسیدگی تخمک‌ها و کاهش ضایعات بافتی در آن‌ها گردیده است (Podhorec و Kouril، ۲۰۰۹). ماهیان مولد سفید دریای خزر ازجمله ماهیانی هستند که ساختار بدنی آنان در مواجهه با استرس تطابق حاصل کرده و در صورت تداوم استرس اعمال شده، شاخص‌های بروز استرس در پلاسما به‌میزان زیادی کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از سنجش عوامل هورمونی در پلاسمای خون ماهیان تیمار دوم، پس از ۱۰ روز نگه‌داری در اسارت شاهد این مدعا است. هرچند نگه‌داری ۱۰ روزه ماهیان مولد سفید دریای خزر نیز در عدم موفقیت رسیدگی جنسی مناسب تخمک‌های آنان بی تاثیر نبوده است. درخصوص اسارت و روند دستکاری ماهی هم‌باید اشاره کرد که اغلب سبب افزایش پاسخ‌های استرس فیزیولوژیک می‌شود از اثرات منفی اسارت و استرس می‌توان کاهش ایمنی بدن ماهی و استعداد و ابتلا به بیماری و کاهش کیفیت تخمک و اسپرم در ماهی‌های مولد اشاره کرد. پس می‌توان نتیجه گرفت که هرچه محل صید مولدین به مرکز تکثیر نزدیک‌تر باشد و نیاز به نگه‌داری کوتاه مدت‌تری در مرکز تکثیر داشته باشند و عملیات تزریق هورمون در آنان زودتر انجام شود، شاهد اوولاسیون مناسب‌تر و تخمک‌های با کیفیت‌تر و در نتیجه لقاح موفق آمیز و طبیعتاً لاروهای مناسب و دارای بازماندگی بیش‌تر خواهیم بود.

منابع

۱. **امینیان‌فتیده، ب.؛ کریم‌زاده، ق.؛ جعفری، ع. و وحدتی‌راد، ن.، ۱۳۹۵.** بررسی بیولوژی و تأثیر شرایط محیطی بر میزان صید و مهاجرت ماهی سفید در حوضه جنوب‌شرقی دریای خزر (استان گلستان). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۹، شماره ۴، صفحات ۳۸۰ تا ۴۰۰.

www.SID.ir

Archive of SID

۲. **خانی‌پور، ع.ا. و ولی‌پور، ع.، ۱۳۸۸.** ماهی سفید جواهر دریای خزر. موسسه تحقیقات شیلات ایران. مدیریت اطلاعات علمی. ۷۷ صفحه.

۳. **عسکریان، ف. و کوشا، آ.، ۱۳۸۵.** مجموعه فیزیولوژی ماهی و آبزیان. نشر علوم کشاورزی. ۴۳۲ صفحه.

۴. **Campbell, P.M.; Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P., 1994.** Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture. Vol. 120, No. 1-2, pp: 151-169.

۵. **de Jesus, E.G.; Hirano, T. and Inui, Y., 1991.** Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 82, No. 3, pp: 369-376.

۶. **Falahatkar, B.; Poursaeid, S.; Langroudi, H.E.; Efatpanah, I.; Meknatkhah, B. and Rahmati, M., 2013.** Spawning induction in Kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamensky), with different hormones: Analysis of hormone profiles and induced spawning success. Arch. Pol. Fish. Vol. 21, No. 4, pp: 271-281.

۷. **Falahatkar, B.; Poursaeid, S.; Shakoorian, M. and Barton, B., 2009.** Responses to handling and confinement stressors in juvenile great sturgeon Huso huso. J. Fish Biol. Vol. 75, No. 4, pp: 784-796.

۸. **Fischbach, F.T. and Dunning, M.B., 2009.** Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 8th end. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 1317 p.

۹. **Hwang, P.P.; Wu, S.M.; Lin, J.H. and Wu, L.S., 1992.** Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 86, No. 2, pp: 189-196.

۱۰. **Haddy, J.A. and Pankhurst, N.W., 2000.** The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild black bream Acanthopagrus butcheri is improved by treatment at capture. Aquaculture. Vol. 191, No. 4, pp: 351-366.

۱۱. **Hiroi, J.; Sakakura, Y.; Tagawa, M.; Seikai, T. and Tanaka, M., 1997.** Developmental changes in low-salinity tolerance and responses of prolactin, cortisol and thyroid hormones to low-salinity environment in larvae and juveniles of Japanese flounder, Paralichthys olivaceus. Zool. Sci. Vol. 14, No. 6, pp: 987-992.

۱۲. **Hwang, P.P. and Wu, S.M., 1993.** Role of cortisol in hypoosmoregulation in larvae of the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 92, No. 2, pp: 318-324.

۱۳. **Janz, D.M. and Van Der Kraak, G., 1997.** Suppression of apoptosis by gonadotropin, 17β-estradiol, and epidermal growth factor in rainbow trout preovulatory ovarian follicles. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 105, No. 2, pp: 186-193.

۱۴. **Jentoft, S.; Aastveit, A.H.; Torjesen, P.A. and Andersen, Ø., 2005.** Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol. Vol. 141, No. 3, pp: 353-358.

۱۵. **Kubokawa, K.; Watanabe, T., Yoshioka, M. and Iwata, M., 1999.** Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. Aquaculture. Vol. 172, No. 3-4, pp: 335-349.

۱۶. **Nikoo, M. and Falahatkar, B., 2012.** Physiological responses in wild broodstocks of the Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*) subjected to transportation stress. J. Appl. Anim. Welfare Sci. Vol. 15, No. 4, pp: 372-382.

۱۷. **Pankhurst, N.W. and Van Der Kraak, G., 2000.** Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 117, No. 2, pp: 225-237.

۱۸. **Pankhurst, N.W. and Van Der Kraak, G., 1997.** Effects of stress on reproduction and growth on fish. Fish Stress and Health in Aquaculture, GK Iwama, AD Pickering, JP Sumpter, CB Schreck (ed), Cambridge. pp: 73-93.

۱۹. **Podhorec, P. and Kouril, J., 2009.** Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. Vet. Med. Vol. 54, No. 3, pp: 97-110.

۲۰. **Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., 1999.** Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. Gen. Comp. Endocrinol. Vol. 116, No. 1, pp: 122-132.

۲۱. **Ramsay, J.M.; Feist, G.W.; Varga, Z.M.; Westerfield, M.; Kent, M.L. and Schreck, C.B., 2006.** Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, Danio rerio. Aquaculture. Vol. 258, No. 1-4, pp: 565-574.

۲۲. **Schaefer, K.M., 2001.** Reproductive biology of tunas. In Tuna physiology, ecology, and evolution. Vol. 19. Fish Physiology. (Eds BA Block and ED Stevens). pp: 225-270.

۲۳. **Shafiei Sabet, S.; Imanpoor, M.R.; Aminian Fatideh, B. and Gorgin, S., 2009.** Study on sexual maturity and levels of gonad steroid hormones in female *kutum Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) during spawning season from river Sefid-Rood of the Southern Caspian Sea. J. Cell Anim. Biol. Vol. 3, No. 11, pp: 208-215.

۲۴. **Simontacchi, C.; Poltronieri, C.; Carraro, C.; Bertotto, D.; Xiccato, G.; Trocino, A. and Radaelli, G., 2008.** Alternative stress indicators in sea bass Dicentrarchus labrax, L. J. Fish Biol. Vol. 72, No. 3, pp: 747-752.

۲۵. **Small, B.C., 2004.** Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. J. Fish Biol. Vol. 64, No. 3, pp: 589-596.

۲۶. **Snyder, D.E., 1984.** Fish eggs and larvae. In Fisheries techniques. Nielsen, L.A. Johnson, D.L. (Eds). American Fisheries Society, Bethesda. pp: 165-198.

۲۷. **Soso, A.B.; Gil Barcellos, L.J.; Ranzani-Paiva, M.J.; Kreutz, L.C.; Quevedo, R.M.; Lima, M.; Bolognesida Silva, L.; Ritter, F.; Bedin, A.C. and Finco, J.A., 2008.** The effects of stressful broodstock handling on hormonal profiles and reproductive performance of Rhamdia quelen (Quoy & Gaimard) females. J. World Aquacult. Soc. Vol. 39, No. 6, pp: 835-841.

۲۸. **Stouthart, A.J.; Lucassen, E.C.; Van Strien, F.J.; Balm, P.H.; Lock, R.A. and Bonga, S.W., 1998.** Stress responsiveness of the pituitary-interrenal axis during early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of endocrinology. Vol. 157, No. 1, pp: 127-137.

www.SID.ir