

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

*محمد یونس زاده فشالمی^۱، حسین فیض بخش^۱، محمود بهمنی^۲، رضوان‌اله کاظمی^۲،
محمد پوردهقانی^۳، راضیه قیصر کریملو^۱، تکاور محمدیان^۱ و ساسان سعیدی^۱

^۱دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، آنستیتو 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) به روش RIA اندازه‌گیری شد. پس از تعیین شاخص قطبیت (PI=۱۰-۱۴) و بررسی هورمونی اقدام به تزریق با هورمون GnRH (Ova-Fact III) در مولدین ماده طی دو مرحله با دوز $10 \mu\text{g/kg}$ با فاصله زمانی ۱۲ ساعت شد. سه نمونه خون از مولدین در زمان‌های ۰، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق اول گرفته شد. نتایج اختلاف معنی‌داری در استروئیدهای جنسی و کورتیزول در مولدین اولیه شده ($n=5$) و اولیه نشده ($n=2$) نشان داد ($P<0/05$). T، P4، E2 پس از اوولاسیون کاهش یافت، در حالی که کورتیزول افزایش نشان داد. داده‌ها نشان دادند که استروئیدهای جنسی، خصوصاً T، در مولدین ماده ازون برون پرورشی نقش مهمی در اوولاسیون دارد، بطوری‌که غلظت T در مولدین اولیه نشده به مراتب پایین‌تر از مولدین اولیه 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 آبی پروری می‌باشد. استروئیدهای جنسی نقش مهمی در کنترل تولید مثل در ماهیان خاویاری دارد (۱۶ 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

(۱۶ 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 به سمت متوقف شدن عملکرد تولیدمثلی، هدایت کند (۱۸، ۲۲ و ۲۶). 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

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 - ایتررنال (HPI) پاسخ‌های استرس در ماهیان را هماهنگ می‌کند (۱۱) و (۱۹). استرس قادر است در سطوح مختلف بر فرآیندهای کنترل اندوکروینی 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، به عبارتی 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 ازون‌برون پرورشی ۸ ساله بامیانگین وزنی و طولی به ترتیب $8/78 \pm 65$ کیلوگرم و $127/5 \pm 2$ سانتی‌متر 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: $a/b \times 100 = \text{شاخص قطبیت (PI)}$

$a =$ 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 $10 \mu\text{g/kg}$ (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 ۲۴ ساعت پس از تزریق) صورت گرفت (۱). تزریق در دمای 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن مولدین به حوضچه‌های مخصوص تکثیر با نسبت ۱:۱ انتقال داده شدند.

نحوه خون‌گیری و آماده‌سازی 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 سی‌سی مقدار ۳ سی‌سی خون برداشته شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ 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 (۱۹۷۴) با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاماکانتر مدل L.K.B ساخت کشور فنلاند و بکارگیری کیت هورمونی Immunotech (ساخت فرانسه) انجام پذیرفت.

روش مطالعه آماری: جهت مطالعه و تجزیه و تحلیل داده از نرم افزار SPSS با روش آماری Tukey در سطح 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

مرحله تزریق			در زمان تزریق			۱۲ ساعت پس از تزریق (همگام با تزریق دوم)			۲۴ ساعت پس از تزریق (پس از استخراج تخمک)			وضعیت تکثیر
حداکثر	حداقل	میانگین ± SEM	حداکثر	حداقل	میانگین ± SEM	حداکثر	حداقل	میانگین ± SEM	حداکثر	حداقل	میانگین ± SEM	
۳۳	۰/۰۲	۱۵/۴۴±۶/۳۷ ^a	۶۲	۲۳	۴۱/۴±۶/۸۶ ^b	۲۴۰	۱۳۳	۱۷۰/۸±۱۹/۶۶ ^a	کورتیزول	اوله شده (n=۵)		
۲۸	۸	۱۸±۱۰	۴۴	۲۳	۳۳/۵±۱۰	۱۵۱	۱۲	۸۱/۵±۶۹/۵	(نانوگرم/میلی لیتر)	اوله نشده (n=۲)		
۵۲۰	۲۶۹	۳۴۰/۴±۶۴ ^a	۵۹۰	۴۳۰	۵۰۵±۳۴/۷۱ ^b	۳۴۷	۱۹۵	۲۵۴/۴±۲۹/۵۶ ^a	T	اوله شده (n=۵)		
۴/۲	۲/۲	۳/۲±۱	۴/۷	۲/۱	۳/۴±۱/۳	۹۳	۲/۲	۴۷/۶±۴۵/۴	(نانوگرم/میلی لیتر)	اوله نشده (n=۲)		
۱۶	۰/۰۲	۳/۲±۳/۱۷ ^a	۰/۱۴	۰/۴۲	۰/۲۵±۰/۴۹	۰/۰۳	۰/۲	۰/۱±۰/۰۳	P	اوله شده (n=۵)		
۰/۰۱	۰	۰/۰۰۴	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۱۹±۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۳	۰/۰۵±۰/۰۲	(نانو گرم/میلی لیتر)	اوله نشده (n=۲)		
۶	۳/۳	۴/۵±۰/۴۵ ^a	۱/۲۵	۵/۷	۳/۳۹±۰/۷۶ ^a	۲/۱	۱	۱/۴۹±۰/۱۸ ^a	E2	اوله شده (n=۵)		
۲/۸	۱/۰۹	۱/۹۴±۰/۸۵	۱/۳	۲/۴	۱/۸۲±۰/۵۷	۲/۲	۱/۴۲	۱/۷۶±۰/۳۴	(نانو گرم/میلی لیتر)	اوله نشده (n=۲)		

بررسی سطوح کورتیزول در مولدین ماده ازون برون پرورشی در وضعیت تکثیر: نتایج بدست آمده نشان داد هورمون کورتیزول به عنوان شاخص استرس یک روند صعودی در ساعات‌های مختلف تزریق در مولدین اووله شده نشان داد، به طوری که بالاترین میزان سطوح کورتیزول (۱۷۰/۸±۱۹/۶۶ ng/ml) در مراحل نهایی (۲۴) پس از تزریق بدست آمد. سطوح کورتیزول در مرحله نهایی با مرحله صفر تزریق (۱۵/۴۴±۶/۳۷ ng/ml) و ۱۲ ساعت پس از آن (۴۱/۴±۶/۸۶ ng/ml) اختلاف معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). در مقایسه با مولدینی که دچار فوق رسیدگی (شکل ۱) شدند سطوح کورتیزول در ساعات‌های صفر تزریق و ۱۲ ساعت پس از آن تقریباً شبیه به مولدین اووله شده بود، در حالی که میزان سطوح کورتیزول (۸۱/۵±۶۹/۵ ng/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 (۳۴/۷۱±۵۰۵ ng/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 به ترتیب (۳۴۰/۴±۶۴ ng/ml) و (۲۵۴/۴±۲۹/۵۶ ng/ml) بود اختلاف معنی داری نشان داد (P<۰/۰۵). در حالی که در مولدین اووله نشده که دچار فوق رسیدگی شده بودند میزان تستوسترون در ساعت صفر تزریق، ۱۲ ساعت پس از آن و مرحله نهایی به ترتیب (۳/۲±۱ ng/ml)، (۳/۴±۱/۳ ng/ml) و (۴۷/۶±۲۹/۵۶ ng/ml) بود که اختلاف معنی داری با مولدین اووله شده نشان داد (P<۰/۰۵). میزان هورمون پروژسترون و استرادیول، یک روند کاهشی از شروع تا

مرحله نهایی نشان داد که بالاترین میزان P و E2 به ترتیب $3/17 \pm 3/2 \text{ ng/ml}$ و $4/5 \pm 0/5 \text{ ng/ml}$ بود که در مرحله صفر تزریق به دست آمد. در ارتباط با مولدین شیر شده میزان P و E2 به مراتب کمتر از مولدین تکثیر شده بود (جدول ۱).

بررسی وضعیت تکثیر در مولدین ماده ازون برون پرورشی: مولدین ماده در این تحقیق از نظر شاخص قطبیت (PI) در میزان ۱۰-۱۴ قرار داشتند و اختلاف چندانی از نظر PI نداشتند، در حالی که با روند توسعه

مراحل اوولاسیون به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول مولدینی بودند که تخمک‌های آنها اولیه شدند و وارد مرحله تکثیر شدند در این مولدین ساعت جوابدهی به هورمون GnRH، مقدار تخمک، تعداد تخمک در گرم و درصد لقاح به ترتیب ۱۰-۱۳، ۱۵۰۰-۱۱۵۰ گرم، ۸۷-۹۵ و ۵۰-۸۷ بود (جدول ۲). گروه دوم مولدینی بودند که اوولاسیون در آنها اتفاق نیفتاد و تخمک‌ها دچار شیر شدگی شدند (جدول ۲). دامنه تغییرات دما ۱۹-۲۰ 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	دوز تزریق $\mu\text{g/kg}$	PI قبل از تزریق	ساعت جوابدهی	مقدار تخمک (گرم)	تعداد تخمک در گرم	درصد لقاح	دما (OC)
تکثیر شده (n=5)	$8/78 \pm 0/65$	$127/5 \pm 2$	GnRH	۱۰	۱۰-۱۳	۱۰-۱۳	۱۱۵۰-۱۵۰۰	۸۷-۹۵	۵۰-۸۷	۱۹-۲۰
تکثیر نشده (n=2)	$7/5 \pm 0/35$	126 ± 2	GnRH	۱۰	۱۲-۱۴	شیر شدگی	-	-	-	-

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق GnRH باعث بالا رفتن سطوح کورتیزول در مولدین ازون برون پرورشی شد. بالاترین مقدار کورتیزول در مولدین اولیه شده ($170/8 \pm 19/66$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به اولیه نشده ($81/5 \pm 69/5$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) دیده شد و تغییرات در مولدین اولیه نشده در ساعت‌های ۰ و ۱۲ ساعت بعد از تزریق تقریباً شبیه هم بودند، ولی اختلافی در ۲۴ ساعت پس از تزریق که زمان جوابدهی مولدین به تزریق بود در مولدین اولیه شده دارای کیفیت تخمک ۸۷-۵۰ درصد و اولیه نشده مشاهده شد.

در صورتی که در بررسی هورمونی به غیر از سطوح تستوسترون ($505 \pm 34/71$ نانوگرم بر میلی‌لیتر در ۱۲ ساعت پس از تزریق) چنین وضعیتی مشاهده نشد. هورمون تستوسترون مهمترین هورمون تاثیرگذار در این تحقیق بود که سطوح آن موفقیت یا عدم موفقیت مولدین به تکثیر را نشان داد. مولدین ماده‌ای که با توجه به شاخص قطبیت (PI) مناسب، میزان سطوح T در آنها در شروع آزمایش پایین بود، به مرحله خروج تخمک نرسیدند و تخمک‌ها دچار فوق رسیدگی شدند همچنین

میزان P و E2 در این مولدین پایین بود. در این هورمون‌ها با افزایش کورتیزول، روند کاهشی در میزان P و E2 در مولدین اولیه شده و نشده مشاهده شد. می‌توان چنین نتیجه گرفت که بالا رفتن کورتیزول، باعث پایین آمدن سطوح این هورمون‌های جنسی خواهد شد. میزان سطوح T در مولدین اولیه نشده در شروع آزمایش ($3/2 \pm 1$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به مولدین اولیه شده ($340/4 \pm 64$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) پایین بود. P و E2 نیز چنین وضعیتی داشتند. تستوسترون در ۱۲ ساعت پس از تزریق اختلاف معنی‌داری با ساعت‌های دیگر در مولدین اولیه شده نشان داد، در صورتی که در هورمون‌های دیگر چنین وضعیتی مشاهده نشد.

Semenkova و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند که بین سطوح کورتیزول و کیفیت گامت ارتباط منطقی وجود دارد در مولدین ماده فیل ماهی با کیفیت تخمک نرمال ($80-100$ درصد) سطوح کورتیزول $55/7 \pm 9/99 \text{ ng/ml}$ بود، در حالی که سطوح کورتیزول در مولدین ماده با کیفیت تخمک پایین $31/8 \pm 6/96 \text{ ng/ml}$ یا اولیه نشده $24/5 \pm 14/99 \text{ ng/ml}$ اندازه‌گیری شد که با نتایج به دست

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

در تحقیقی که بر روی دو گروه مولدین ماده ازون برون، (دستکاری و شاهد) با تزریق هیپوفیز انجام دادند بالا رفتن سطوح کورتیزول را در هر دو گروه مشاهده کردند، با این تفاوت که بالا رفتن سطوح کورتیزول در گروه شاهد نسبت به دستکاری در میزان پایین تری بود (۱۶).

بهمنی و همکاران (۱۳۸۳) در بررسی تستوسترون و کورتیزول در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون وحشی پس از تزریق GnRH، یک سیر صعودی را از ساعت صفر تزریق تا ۱۸ ساعت پس از آن مشاهده نمودند، به طوری که در قبل از تزریق میزان تستوسترون و کورتیزول به ترتیب $45/5 \pm 7/1$ و $60/17 \pm 12/5$ ng/ml و ۱۸ ساعت پس از تزریق به ترتیب $113/67 \pm 9/5$ ng/ml و $202 \pm 45/21$ ng/ml به دست آمد. در حالی که چنین روندی در هورمون های استرادیول و پروژسترون مشاهده نشد. نتایج بدست آمده در ارتباط با کورتیزول و تستوسترون در ازون برون وحشی تقریباً نزدیک به ازون برون پرورشی بود، با این تفاوت که میزان کورتیزول در زمان قبل از تزریق بالاتر از مولدین پرورشی بود

نتایج نشان داد که در مولدین وحشی ازون برون پس از انتقال به تفریحگاه ماهیان خاویاری مقدار کورتیزول افزایش و تستوسترون کاهش می یابد (۱۴ و ۳۲).

Semenkova و همکاران (۲۰۰۲) در مولدین ازون برون وحشی پس از تزریق هیپوفیز دریافتند که مولدین اووله شده اختلاف معنی داری در سطوح T نسبت به اووله نشده نشان دادند که این تحقیق با نتایج به دست آمده در آزمایشات ما مطابقت دارد.

Barannikova و همکاران (۱۹۹۷) در بررسی سطوح کورتیزول سرم تاسماهی روسی، ازون برون و فیل ماهی در دوره مهاجرت تولید مثلی (آنادرموس) به ولگا مشاهده کردند که مقادیر این هورمون تا ۱۲۶/۱۵ نانوگرم بر میلی لیتر افزایش می یابد، بطوری که در تاسماهی

روسی ماده با شاخص قطبیت مناسب تکثیر، مقادیر کورتیزول $72/5$ ng/ml بوده و نتایج حاکی از آن بود که کورتیزول هورمون اصلی تاس ماهیان در دوره مهاجرت بلوغ جنسی است. همچنین مقادیر کورتیزول در مولدین ماده تاس ماهی روسی در آغاز مهاجرت آنادرموس به میزان $109/7$ ng/ml و در مولدین ماده ازون برون به میزان $170/2$ ng/ml و در مولدین ماده فیل ماهی به میزان $165/4$ ng/ml رسید (۹). از آنجایی که مولدین ازون برون در شرایط پرورشی به مرحله مولدسازی رسیدند و امکان تکثیر در آنها بوجود آمد، تغییرات کورتیزول در زمان شروع آزمایش پایین بود هورمون کورتیزول به عنوان یکی از هورمون های اصلی مهاجرت ماهی در زمان تولید مثلی در نظر گرفته می شود. بنابراین میزان این هورمون در زمان تولید مثلی به خاطر سازگاری و مهاجرت ماهی با شرایط جدید بالاست، در حالی که چنین تغییراتی در ازون برون پرورشی مشاهده نشد. علت این امر تطابق با شرایط پرورشی می باشد.

Bayunova و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی سطوح استروئیدهای جنسی و کورتیزول در خون ازون برون در جریان رسیدگی نهایی بوسیله تحریک با آنالوگ LH-RH-a دریافتند که پس از تزریق LH-RH-a مقدار سطوح استروئیدهای جنسی (T, P, E₂) و کورتیزول قبل از اوولاسیون افزایش می یابد و سطوح T و کورتیزول پس از اوولاسیون کاهش می یابد.

در ماهیانی که از هیپوفیز و GnRHa برای القاء بلوغ نهایی آنها استفاده شد، نسبت به گروه شاهد کورتیزول بالاتری را نشان دادند که نتایج به دست آمده با یافته های حاضر مطابقت دارد (۵، ۱۴ و ۳۰).

در مقایسه با دیگر گونه های ماهیان، پاسخ های اولیه و ثانویه استرس در تاسماهیان مقدار کمتری را نشان می دهد (۴ و ۲۴). کمترین میزان کورتیزول در ماهیان غضروفی - استخوانی گزارش شده است (13 ng/ml)، در حالی که بالاترین میزان کورتیزول در ماهیان استخوانی برای مثال

در باس منخطط و (۲۰۰۰-۱۵۰۰ ng/ml) گزارش شده است (۱۰).

بالاترین مقدار T ۷ ساعت پس از تزریق دوم LH-RH-a (۱۷ ساعت قبل از اوولاسیون) در مولدین ازون برون وحشی مشاهده شد و سطوح T پس از اوولاسیون به شدت کاهش یافت (۱۲). در بعضی ماهیان استخوانی T به عنوان تسریع کننده مراحل اولیه رسیدگی اووسیت ها و تکمیل کننده، مراحل پایانی محسوب می شود بنابراین سطوح T ممکن است بر روی زمان رسیدگی نهایی و اوولاسیون به طور همزمان تأثیر داشته باشد (۲۹). نقش اساسی در کامل شدن اووسیت ها دارد (۲۰). به طوری که 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 ازون برون های وحشی پس از تزریق LH-RH-a انجام گرفت متغیر بود (۱۲). در تاس ماهی سفید (*Acipenser transmontanns*) در شرایط *in vitro* پروژسترون ها از فولیکول های تخمدان تولید می شود و به عنوان تحریک کننده GVBD محسوب می شود (۳۳). حداکثر سطوح P4 در ماهیان ماده ازون برون در زمان اوولاسیون مشاهده شد (۱۲). با توجه به اینکه در شرایط کارگاه های ایران هنوز بهترین روش ارزیابی مولدین ماده بررسی شاخص قطبیت می باشد، تحقیق مذکور نشان داد

در شرایط برابر این شاخص مولدین عملکردهای مختلفی نشان می دهد که می توان 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 پایین تر از GnRH نقش ایفا می کند، دانست. با توجه به حساسیت ازون برون نسبت به گونه های 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 می باشد و از آنجایی که این ماهیان اولین گروه از ماهیان خاویاری هستند که در شرایط پرورشی به تکثیر با GnRH جواب مثبت دادند، لذا می تواند به عنوان الگویی برای گونه های پرورشی دیگر محسوب شود. از آنجایی که در تحقیقات به عمل آمده بر روی تکثیر ازون برون وحشی با استفاده از GnRH و موفقیت در این مسیر و با توجه به تحقیق حاضر بر روی ازون برون پرورشی، می توان GnRH را به عنوان یک هورمون کارآمد در این صنعت جایگزین هیپوفیز کرد (۱).

تشکر و قدردانی

از بخش فیزیولوژی و تکثیر مؤسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری که در انجام این پروژه همکاری داشته اند صمیمانه تشکر می نمایم.

منابع

- ۱- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، وهابی، ی.، حلاجیان، ع.، ملک زاده، ر.، محسنی، م.، و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۳. مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسایی ها در القای تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ۷۷ صفحه.
- ۲- بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محور HPG، HPI و سیستم ایمنی در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم تحقیقات، ۲۷۴ 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).

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. Steroid profiles in giant 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, Bergen 420p.
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 (*Acipenser gueldenstaedti* Brandt) with various gonad states at the 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 reference 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., Dyubin, V., Svordlova, D. and Trenkler, I., 2006. Sex steroids and cortisol 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. Sturgeon stress reactions in aquaculture. *J. Appl. Ichthyol.* 18, 397-404.
14. Bayanova, L.V., Barannikova, I.A., Dyubin, V.P. and Semenkova, T.B., 2000. Cortisol and sex steroid profiles in stellate sturgeon female during maturation under pituitary preparation treatment in aquaculture. In: *proceedings of the 6th Int. symp. On Repr. Physiol. of Fish.* Eds: B. Norberg, O.S. Kjesbi, G.I. Tarranger, E. Andersson, O. Steffanson. 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, *Acipenser gueldenstaedti* Brandt. *Fish Physiol. Biochem* 16, 345-353.
18. Dobson, H. and Smith, R.F., 1995. Stress and Reproduction in farm animals. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 49, 451-461.
19. Donaldson, E., 1981. The pituitary–interregal 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 *Acipenser 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 Endocrinology*. 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 responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture* 175, 351-363.

28. Raynert, R.D., Paepe, G. and Peeters, G., 1976. Influence of stress, age and sex on serum growth hormone and free fatty 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 cortisol 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.

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

***M. Yooneszadeh¹, H. Fiezbakhsh¹, M. Bahmani², R. Kazemi²,
M. Pourdehghani², R. Ghaysar Karimlo¹, T. Mohammadian¹ and S. Saeidi¹**

¹Marine Science and Technology Khoramshahr University,

²Dr. 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 ovulation while cortisol increased. The data indicates that sex steroids, especially T, in farmed female stellate sturgeon brood stock had important role in ovulation also T concentration 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.