روند تغییرات استروئیدهای جنسی و شاخص‌های بیوشیمیایی خون استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*) طی مرحله جذب تخمک

بهرام فلاحتکار*، لاله خدابخشی و سمیرا فرامرزپور

صومعه‌سرا، دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

رشت، دانشگاه گیلان، پژوهشکده حوضه آبی خزر، گروه علوم دریایی

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۵

چکیده

تحقیق حاضر بر مبنای بروز پدیده فوق رسیدگی و ارتباط آن با سطوح استروئیدهای جنسی شامل تستوسترون (T)، پروژسترون (P)، ۱۷-بتا استرادیول (E_2) و آنزیم‌های مهم کبدی ازجمله آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، همچنین بررسی سطوح مختلف شاخص‌های استرس و بیوشیمی خون شامل کورتیزول، گلوکز، لاکتات، چربی کل، پروتئین و کلسیم در مولدین استرلیاد پرورشی انجام پذیرفت. برای انجام این مطالعه، تعداد ۱۸ ماهی با میانگین وزنی ۲۴۰/۴ ± ۱۱۲۰/۲ گرم در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری خون از سه گروه ۶ تایی از ماهیان در شرایط عدم فوق رسیده، ابتدای فوق رسیدگی و فوق رسیده کامل انجام پذیرفت. مقایسه این سه گروه، اختلاف معنی‌داری را در میزان T، E_2، AST، کورتیزول، گلوکز و لاکتات پلاسما نشان داد، به‌طوریکه بیشترین میزان AST، کورتیزول، لاکتات به ترتیب به میزان IU/l ۳۱/۱۶ ± ۵۲۱/۳۳، ۱۰/۹۳ng/ml ± ۶۸/۶۶، mg/dl ۵/۳۲ ± ۳۰/۶۶ در مرحله فوق رسیدگی کامل و کمترین آن‌ها در مرحله عدم فوق رسیدگی به ترتیب به میزان IU/L ۳۰/۸ ± ۳۸۹/۱۶، ng/ml ۲/۷۰ ± ۲۶/۸، mg/dl ۱/۳۸ ± ۱۱/۹۱ و بیشترین میزان گلوکز، T و E_2 در مرحله عدم فوق رسیدگی به میزان mg/dl ۵/۹۲ ± ۶۸/۸۳، ng/dl ۲/۶۶ ± ۱۴/۳۷ و ng/dl ۰/۳۶ ± ۱/۴۷ مشاهده شد (P<۰,۰۵). این در حالی بود که در شاخص‌های پروژسترون، فعالیت آنزیم ALT، کلسیم، پروتئین و چربی کل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (P >۰,۰۵). این مطالعه نشان داد هورمون‌های استروئیدی و شاخص‌های بیوشیمیایی می‌توانند نشانگر قابل‌اعتمادتری برای پیش‌بینی و ارزیابی مراحل رسیدگی ماهیان خاویاری باشند و امکان استفاده از این فاکتورها به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای کنترل زمان تولیدمثل و بروز فوق رسیدگی در مولدین ماده استرلیاد پرورشی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: ماهی خاویاری، فوق رسیدگی، جذب تخمک، هماتولوژی، شاخص‌های استرس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۳۴۴۳۲۳۵۹۹، پست الکترونیکی: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ماهیان خاویاری به دلیل قدرت سازگاری اکولوژیک زیاد، توانایی همزیستی با ماهیان استخوانی و ذخیره ژنتیکی (۱ و ۱۵)، رشد سریع، نیاز اکسیژنی پایین و قابلیت پرورش در سیستم‌های پرورشی مختلف مورد توجه آبزی پروران قرار گرفته‌اند و از لحاظ اقتصادی از نظر گوشت و خاویار بسیار قابل‌توجه هستند (۲). با این وجود، فاصله زمانی رسیدگی جنسی و فواصل بین تخمریزی‌های ادواری در این ماهیان در طبیعت زیاد بوده، اما در شرایط تکثیر و پرورش مصنوعی، می‌توان این زمان را در بسیاری از گونه‌ها کاهش داد (۱۲). ایران نیز باتوجه به وضعیت مناسب اقلیمی و برخورداری از وجود این ماهیان در دریای خزر از موقعیت بسیار مناسبی جهت پرورش ماهیان

گوشتی و خاویار پرورشی برخوردار است، به‌گونه‌ای که دریای خزر و حوزه آبریز آن مهمترین زیستگاه طبیعی ۶ گونه از تاسماهیان می‌باشد (۲). عدم اهمیت جدی به این گونه‌های با ارزش که بعنوان فسیل زنده تلقی می‌شوند باعث شده است که نه‌تنها میزان تولید خاویار ایران از دریای خزر به صفر برسد بلکه باعث شده که زمان انقراض و نابودی آن‌ها زودتر فرارسد (۲).

ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) یکی از گونه‌های با ارزش خانواده تاسماهیان و کوچکترین گونه این خانواده محسوب می‌گردد (۲۳) که معمولاً در آب شیرین رودخانه-ها زیست نموده و زودتر از سایر گونه‌ها به بلوغ می‌رسد. در سال‌های اخیر بدلیل آسیب دیدن محل‌های تخم‌ریزی مولدین در رودخانه، جمعیت و نسل این ماهیان رو به کاهش گذاشته است (۱۵ و ۴۱) و به همین دلیل امروزه به‌منظور اهداف آبزی پروری به تکثیر مصنوعی آن روی آورده شده است.

باقی ماندن تخمک‌ها پس از اوولاسیون در تخمدان یا حفره شکمی سبب ایجاد فوق رسیدگی در تخمک‌ها می‌شود بطوری که همواره موجب کاهش کیفیت آن‌ها خواهد شد. بنابراین شروع و بروز فوق رسیدگی یکی از فاکتورهای محدودکننده در تکثیر مصنوعی است. این فرایند می‌تواند در دوره‌های مختلف تخم‌ریزی رخ دهد. در طی فرایند باز جذب فولیکولی، تخمدان با اووسیت‌های کوچک دستخوش یک جذب ساده شده، دیواره‌های اووسیت تخریب می‌شوند، لایه فولیکولی انسجام خود را ازدست‌داده و فرومی‌ریزد و در نهایت تخریب بافت‌ها و مرگ سلولی پدیدار می‌گردد (۳۰، ۵۵ و ۵۶). این فرایند باعث تغییر در میزان استروئیدهای جنسی، میزان آنزیم‌های ترشح‌شده از اندام‌های درگیر و همچنین برخی شاخص‌های پلاسما در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در مولدین می‌شود. بیشترین تناوب باز جذب فولیکولی در دوران بلوغ و در اووسیت‌های بالغ توصیف شده است (۲۹، ۴۳و ۴۵)، ولی به‌طور کل، تعداد اووسیت‌های آترتیک در دوره پس از تخم‌ریزی به بیشترین میزان خود می‌رسد. آترشیای فولیکولی در زمان قبل از تخمک‌گذاری بر تمام فولیکول‌های زرده‌ساز تأثیر می‌گذارد. بنابراین تشخیص آترشیای تخمدان در گونه‌های مهم ماهیان بویژه ماهیان خاویاری که در معرض خطرند مهم تلقی شده و تشخیص این پدیده می‌تواند به بازسازی ذخایر کمک فراوانی کند (۱۳).

استروئیدهای جنسی نقش مهمی در کنترل تولیدمثل در تکثیر مصنوعی و طبیعی در ماهیان خاویاری دارند (۳). مطالعات نشان داده که نوسانات سالانه هورمون‌ها مرتبط با سیکل‌های تولیدمثلی، تغذیه‌ای و رشد در آنهاست (۱۹، ۲۰، ۳۲ و ۳۴). در مواجه با شرایط استرس‌زا امکان وقوع یا عدم وقوع تولیدمثل وجود دارد، بااین‌حال اگر در شرایط استرس‌زا تولیدمثل رخ دهد، کیفیت سلول‌های جنسی قابل تکثیر کاهش می‌یابد (۲۸ و ۵۱). در ماهیان خاویاری همانند دیگر گونه‌ها، رسیدگی نهایی تخمک و اوولاسیون از لحاظ زمانی پدیده‌های هماهنگ ولی نسبتاً مستقلی هستند، اما در شرایط نامناسب محیطی (دما، نور، استرس) این فرایندها غیرهماهنگ شده و یا یکی از سیکل‌های تولیدمثلی و رشد نهایی تخمدان و تخمک‌ها به‌صورت کامل اتفاق نمی‌افتد.

لینارس-کاسناوه و همکاران (۳۱) نشان دادند که استروئیدهای جنسی و شاخص‌های بیوشیمیایی مربوط به تخمک‌ها نشانگر قابل‌اعتمادتری برای پیش‌بینی و ارزیابی مراحل رسیدگی و آترشیا در ماهیان خاویاری است که این نتایج با مطالعات دیگری که در زمان آترشیا انجام‌گرفته است مطابقت دارد (۵۲، ۵۳ و ۵۴). تالبوت و همکاران (۴۹) بیان کردند غلظت استروئیدهای جنسی، شاخص‌های استرسی و بیوشیمیایی می‌توانند برای پیش‌بینی مرحله رسیدگی جنسی در ماهیان خاویاری مهم باشند و بازجذب فولیکولی می‌تواند باعث کاهش در میزان خاویار و از

دست‌دادن کیفیت تخمک‌ها در مرحله رسیدگی تخمدان شود. محققی ثمرین و همکاران (۳۸) با مطالعه روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* بیان نمودند که فوق رسیدگی تخمک‌ها در ماهیان میزان ناهنجاری لاروها را در مراحل بعدی رشد و نمو افزایش می‌دهد. دتلاف و همکاران (۱۷) در ماهی ازون‌برون *Acipencer stellatus* و کمپبل و همکاران (۱۴) در ماهی قزل‌آلا دریافتند استرس ناشی از نگهداری مولدین و شرایط تکثیر و پرورش مصنوعی، بقای فولیکولی و رسیدن زودهنگام به بلوغ را تحت تأثیر قرارداده و درنهایت موجب کاهش کیفیت تخمک می‌گردد. دستکاری می‌تواند عامل استرسی مهمی در تاسماهیان باشد، بطوریکه استرس ناشی از دستکاری در ماهی ازون‌برون می‌تواند حالت فیزیولوژیک اولیه فولیکول‌ها را تغییر داده و درنهایت باعث تخریب فولیکول‌ها شود. توماس در مطالعات خود بیان نمود که سطوح هورمون‌های تولیدمثلی خون معمولاً به‌عنوان علائم مناسبی برای شاخص‌های بیوشیمیایی ناشی از عملکرد غیرعادی سیستم تولیدمثلی در شرایط متفاوت تکثیر می‌باشد (۵۰).

باتوجه به نبود تحقیقات جامع در مورد پدیده فوق رسیدگی و بازجذب تخمک‌ها در ماهیان خاویاری، مطالعه حاضر به‌منظور دستیابی به اطلاعات بیشتر در مورد بروز پدیده فوق رسیدگی تخمک و تأثیر بر مقدار استروئیدهای جنسی، مهمترین آنزیم‌های گروه کبدی (آمینوترانسفرازها) و همچنین برخی شاخص‌های پلاسما (کورتیزول، گلوکز، چربی کل، لاکتات و کلسیم) که متأثر از استرس است، بعنوان نشانگرهای زیستی برای کنترل زمان تولیدمثل و بروز پدیده فوق رسیدگی در مولدین ماده استرلیاد پرورشی انجام شد.

مواد و روشها

ماهی و شرایط نگهداری: این تحقیق در فروردین سال ۱۳۹۲ در مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در سد سنگر انجام شد. ماهیان مورد مطالعه حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین سال ۱۳۸۳ در کشور مجارستان بوده که به‌صورت لارو وارد ایران شدند، در مجتمع مذکور رشد و پرورش‌یافته و یک سال قبل از تکثیر به حوضچه‌های فایبرگلاس مربع شکل با ابعاد طول و عرض ۲ متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، حجم آبگیری ۳۴/۶ ± ۱۰۶۳/۳ لیتر، دبی آب ۰/۵ ± ۱۶/۳ لیتر در دقیقه، دمای آب ۰/۵ ± ۱۵/۸ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ۰/۶ ± ۸ میلی‌گرم در لیتر منتقل‌شده و با غذای فرموله شده تغذیه گردیدند.

طراحی آزمایش و نمونه‌برداری: در این مطالعه ۱۸ عدد ماهی مولد استرلیاد پرورشی ۸ ساله با میانگین وزن ۲۴۰/۴ ± ۱۱۲۰/۲ گرم و طول کل ۴/۱ ± ۶۳/۱ سانتی‌متر که در مراحل رسیدگی و فوق رسیدگی قرارداشتند انتخاب شدند و پس از سوند زنی و بررسی شاخص قطبیت هسته به سه گروه عدم فوق رسیدگی (در این مرحله تخم‌ها کاملاً سالم بوده و قابلیت باروری با تشخیص شاخص قطبیت را داشتند)، ابتدای فوق رسیدگی (مراحل اولیه تخریب بافت و پخش رنگدانه‌ها) و فوق رسیدگی کامل (در این مرحله تخمک‌ها کاملاً منهدم شده و تخریب بافت‌ها با چشم غیرمسلح قابل‌تشخیص بود) تقسیم گردیدند (۱۷). در مرحله بعد ماهیان با عصاره پودر گل‌میخک با دوز ppm ۴۰۰ بیهوش شده و سپس خونگیری با سرنگ ۵ ml آغشته به هپارین از قاعده باله مخرجی انجام شد. درنهایت پلاسمای خون با استفاده از سانتریفوژ (مدل ۲۰۰ Labofuge ساخت شرکت Heraeussepatech) با دور ۱۵۰۰ g در ۱۰ دقیقه جدا گردید. نمونه‌ها تا زمان آنالیز در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز نمونه‌ها: تعیین مقادیر هورمون‌های تستوسترون، استرادیول، پروژسترون و کورتیزول به روش رادیوایمیونواسی با استفاده از دستگاه گاماکانتر (LKB, Finland) و با به‌کارگیری کیت Immunotech (Marseille,

France) انجام شد (۲۷). تعیین مقدار آنزیم‌های گروه آمینوترانسفراز شامل آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز نیز به روش IFCC (فدراسیون بین المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) اندازه‌گیری و درنهایت با روش اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۳۴۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام پذیرفت (۴۶).

جهت تعیین مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی پلاسما از دستگاه Auto analyzer (Technicon RA-1000, USA) استفاده گردید. در این مطالعه اندازه‌گیری گلوکز با استفاده از کیت پارس آزمون (کرج، ایران) با روش آنزیمی رنگ‌سنجی با دستگاه اتوآنالایزر انجام و با طول‌موج ۵۴۶ نانومتر و درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. اندازه‌گیری لاکتات با روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت آزمایشی شرکت Greiner ساخت آلمان و با دستگاه اتوآنالایزر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر انجام شد (۷). اندازه‌گیری کلسیم نیز به‌روش کلرومتریک بااستفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول‌موج ۶۰۰ نانومتر انجام گردید (۴۶). در تعیین میزان چربی کل نیز ۵۰ میلی‌لیتر پلاسما با۵۰ میکرولیتر استاندارد چربی و ۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک مخلوط جوشانده و در طول‌موج ۵۴۶ نانومتر خوانده و سپس با معرف فسفو رانیلیک مجاور نموده و در واکنش سولفوفسفووانیلین با استاندارد مقایسه شد (۵۱).

جهت اندازه‌گیری پروتئین کل بااستفاده از کیت پارس آزمون (کرج، ایران) و روش آنزیمی رنگ‌سنجی انجام شد، به‌طوری‌که در این آزمایش پروتئین در محیط قلیایی با یون‌های مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی‌رنگ داد که شدت رنگ ایجادشده متناسب با مقدار پروتئین نمونه در طول‌موج ۵۴۶ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد (۲۴).

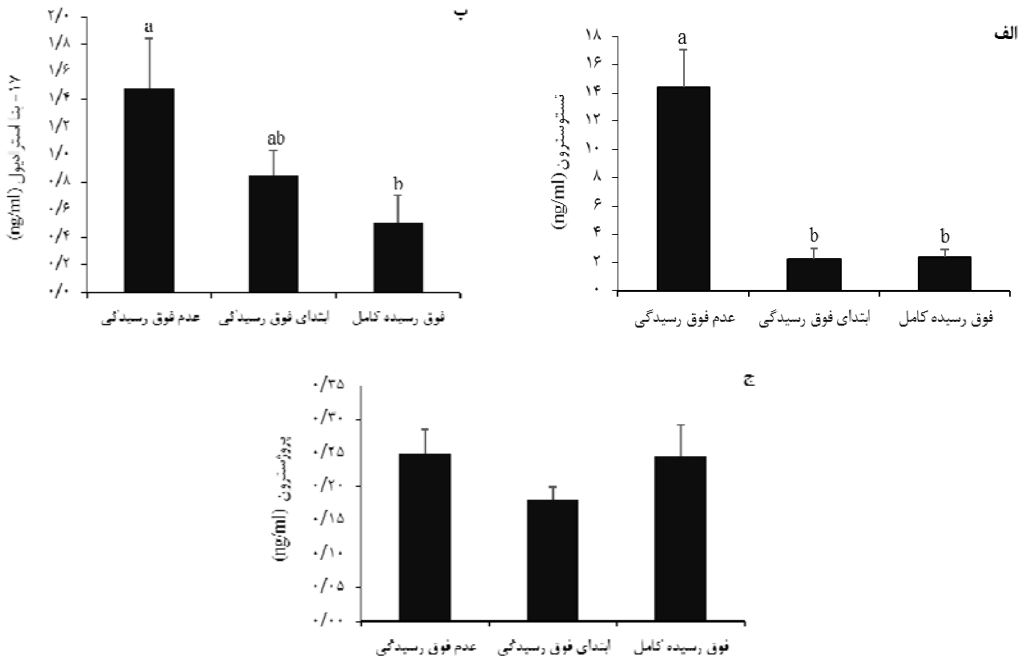
تجزیه و تحلیل آماری: جهت بررسی همگن بودن واریانس‌ها و نرمال بودن داده‌ها در مراحل مختلف فوق رسیدگی ماهیان به ترتیب از تست‌های Levene و Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. سپس مقایسه بین میانگین‌های گروه‌های مختلف از طریق آزمون One-way ANOVA انجام و با مشاهده اختلاف بین میانگین‌ها، از آزمون Duncan به‌عنوان تست Post-hoc با درجه اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. کلیه عملیات آماری این تحقیق از طریق نرم‌افزار (SPSS 13.0; Chicago, IL, USA) انجام شد. داده‌های درون‌متن به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه‌شده است.

نتایج

هورمون‌های جنسی: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در مراحل مختلف فوق‌رسیدگی، اختلاف معنی‌داری در میزان تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول وجود داشت به‌طوریکه بیشترین مقدار تستوسترون به میزان ۲/۶۶ ng/dl ± ۱۴/۳۸ و ۱۷-بتااستردیول به میزان ۰/ ۳۶ ng/dl ± ۱/۴۷ در مرحله عدم فوق‌رسیدگی و کمترین مقدار آن‌ها به ترتیب به میزان ۰/۷۰ ng/dl ± ۲/۲۸ و ۰/۲۰ng/dl ± ۰/۵ در مرحله ابتدای فوق‌رسیدگی و فوق‌رسیدگی کامل مشاهده گردید (شکل ۱ الف و ب، P <۰,۰۵). این درحالی است که پروژسترون فاقد اختلاف معنی‌دار در مراحل مختلف رسیدگی بود. بیشترین مقدار پروژسترون به میزان ۰/۰۳ ng/dl ± ۰/۲۵ در مرحله عدم فوق‌رسیدگی و کمترین مقدار آن به میزان ۰/۰۲ ng/dl ± ۰/۱۸ در مرحله ابتدای فوق‌رسیدگی مشاهده شد (شکل ۱ ج).

شاخص‌های استرس: درمراحل مختلف فوق‌رسیدگی، اختلاف معنی‌داری در میزان کورتیزول، گلوکز و لاکتات در گروه‌های آزمایشی مشاهده شد. بیشترین میزان کورتیزول و لاکتات در مرحله فوق‌رسیده کامل به‌ترتیب به میزان ۱۰/۹۳ ng/ml ± ۶۸/۶۶ و ۵/۳۲ mg/dl ± ۳۰/۶۶ و کمترین میزان آن‌ها در مرحله عدم فوق‌رسیدگی به میزان ۲/۷۰ ng/ml ± ۲۶/۸ و ۱/۳۸ mg/dl ± ۱۱/۹۱ مشاهده گردید (شکل ۲ الف و ب). این درحالی است که

بیشترین مقدار گلوکز در مرحله عدم فوق‌رسیدگی به میزان ۵/۹۲ mg/dl ± ۶۸/۸۳ و کمترین آن در مرحله ابتدای فوق رسیدگی به میزان ۵/۸۰mg/dl ± ۴۶ مشاهده شد (شکل ۲ ج).



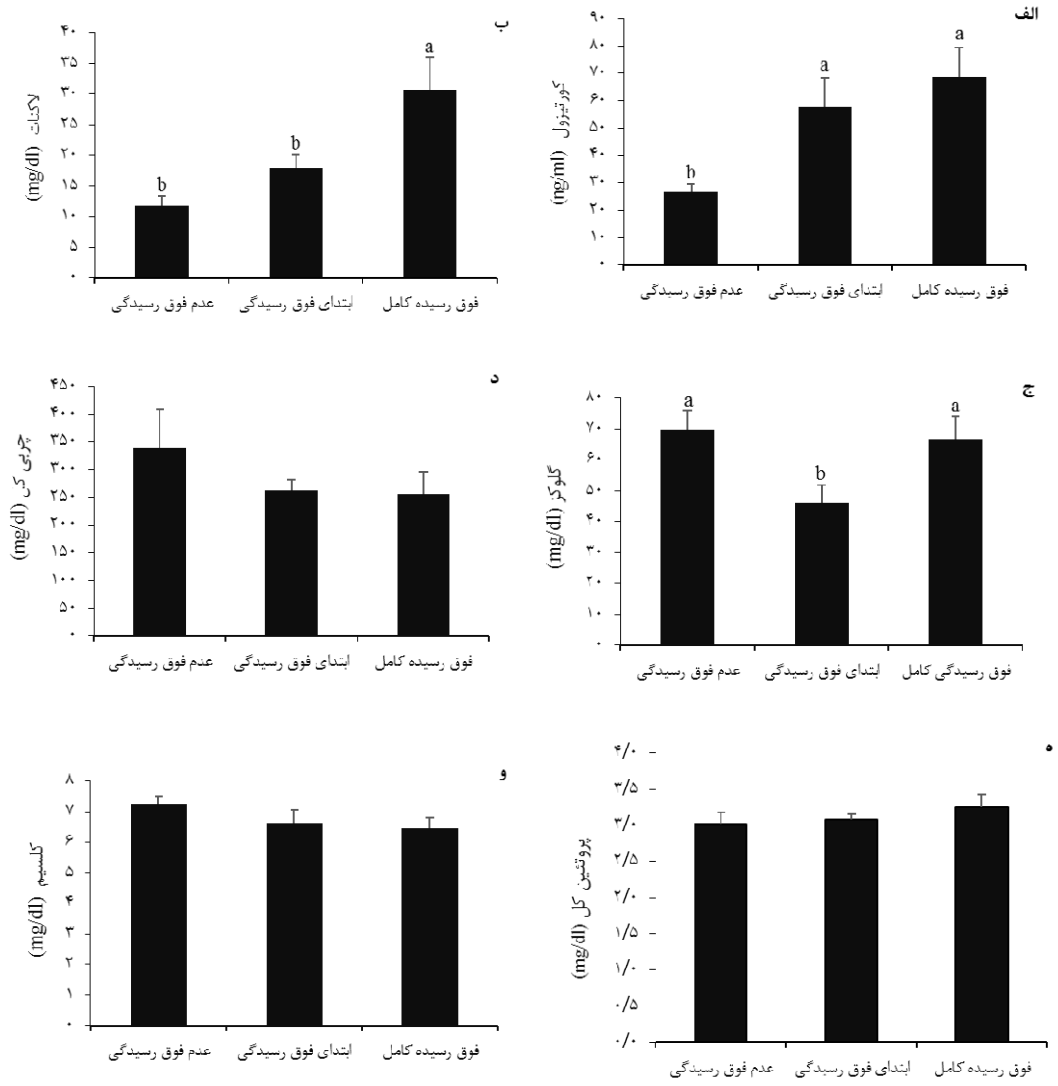
شکل ۱- روند تغییرات تستوسترون (الف)، ۱۷- بتا استرادیول (ب) و پروژسترون (ج) در مراحل مختلف فوق رسیدگی مولدین استرلیاد پرورشی (n=۶ برای هر مرحله). حروف a و b بیانگر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند.

شاخص‌های بیوشیمیایی: بیشترین مقدار پروتئین کل بدست آمده در مرحله فوق‌رسیده کامل به میزان ۰/۱۶ g/dl ± ۳/۲۵ و کمترین میزان در مرحله ابتدای فوق‌رسیدگی به میزان ۰/۱۸ g/dl ± ۳/۰۷ مشاهده شد، بااین‌حال اختلاف معنی‌داری در مقادیر پروتئین کل در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (شکل ۲ ذ، P >۰,۰۵). نتایج حاصل از سنجش میزان چربی کل و کلسیم نیز بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در گروه‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف فوق‌رسیدگی بود (شکل ۲ د و ه).

آنزیم‌های کبدی: نتایج حاصل از سنجش میزان آسپارتات آمینوترانسفراز نشان داد که در مراحل مختلف فوق-رسیدگی در گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین مقدار آسپارتات آمینوترانسفراز به میزان IU/l ۳۱/۱۶ ± ۵۲۱ /۳۳ در مرحله فوق‌رسیدگی کامل و کمترین مقدار آن به میزان IU/l ۳۰/۸ ± ۳۸۹/۱۶ در مرحله عدم فوق‌رسیدگی مشاهده گردید (شکل ۳ الف، P <۰,۰۵). این درحالی است که اختلاف معنی‌داری در میزان آنزیم آلانین آمینوترانسفراز وجود نداشت (شکل ۳ ب، P >۰,۰۵).

بحث

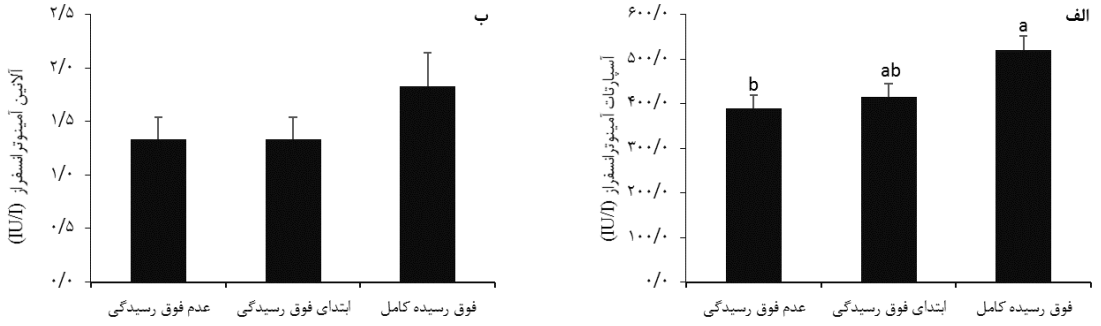
نتایج حاصل ازاین تحقیق نشان داد که میزان غلظت تستوسترون در مراحل مختلف بروز پدیده آترشیا در مقایسه با قبل از مرحله فوق‌رسیدگی کاهش شدیدی یافت که علت آن را می‌توان به جذب تخمک در دوره‌های فوق-رسیدگی نسبت داد.



شکل ۲- روند تغییرات کورتیزول (الف)، لاکتات (ب)، گلوکز (ج)، چربی کل (د)، پروتئین کل (ه) و کلسیم (و) پلاسما در مراحل مختلف فوق-رسیدگی مولدین استرلیاد پرورشی (n= ۶ برای هر مرحله). حروف a و b بیانگر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه‌شده‌اند.

همچنین کاهش میزان استرادیول پلاسما در دوره فوق-رسیدگی مشهود بود بطوری که بیشترین میزان استرادیول پلاسما در قبل از مرحله فوق‌رسیدگی مشاهده شد. البته افزایش این هورمون در زمان زرده سازی نیز یکی از شاخص‌های اساسی در تولیدمثل محسوب می‌شود. اطلاعات اندکی در خصوص بروز پدیده آترشیا و تأثیر بر میزان پروژسترون پلاسما درگیر دراین زمان صورت گرفته است، بااین‌حال نوسانات سطوح پروژسترون پلاسما اختلاف معناداری را نشان نداد و مقدار هورمون پروژسترون در پلاسمای استرلیاد در سه دوره فوق‌رسیدگی در حد پایین (کمتر از یک نانوگرم در میلی‌لیتر) بوده است. علت عدم وجود اختلاف معنی‌دار در پروژسترون در بین

گروه‌های آزمایشی در دوره فوق‌رسیدگی را می‌توان به روند تولیدمثلی ماهیان خاویاری نسبت داد که نتایج این تحقیق تأییدی بر مطالعات انجام‌شده در زمینه فوق رسیدگی می‌باشد (۳۹، ۴۴ و ۴۶).



شکل ۳- روند تغییرات آسپارتات آمینوترانسفراز (الف) و آلانین آمینوترانسفراز (ب) در مراحل مختلف فوق رسیدگی مولدین استرلیاد پرورشی (n= ۶ برای هر مرحله). حروف a و b بیانگر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه‌شده‌اند.

تالبوت و همکاران (۴۸) در بررسی‌های خود روی تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*)، غلظت تستوسترون پلاسما را نسبت به غلظت استرادیول بالاتر گزارش کردند. نتایج آن‌ها بیانگر این بود که در زمان اولیه آترشیای تخمدانی غلظت تستوسترون بالا است ولی زمانی که چند فولیکول شروع به باز جذب می‌کنند، غلظت تستوسترون تغییر می‌نماید که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. بایونووا و همکاران (۱۰) در مطالعه خود بر روی ازون‌برون بیان کردند که سطح پروژسترون در طی اوولاسیون افزایش پیداکرده و حداکثر آن در زمان اوولاسیون مشاهده شد اما در نتایج آن‌ها نیز این میزان به بالاتر از یک نانوگرم در میلی‌لیتر نرسیده است که با نتایج این مطالعه در دوره عدم فوق‌رسیدگی یا شرایط اوولاسیون تخمک‌ها مطابقت دارد. مطالعه دیگری توسط ماکسیم و همکاران (۳۷) روی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) نشان داد که میزان استروئیدهای جنسی در زمان باز جذب فولیکولی کاهش می‌یابد که این نتایج با مطالعات دیگری که در زمان آترشیا انجام‌گرفته است مطابقت دارد (۳۰، ۵۲ و ۵۳). همچنین بررسی انجام‌شده روی ماهی *Tilapia zillii* نشان داد زمانی که ماهی وارد مرحلـه تخم‌ریزی می شود میزان استرادیول و تستوسترون افزایش‌یافته، این افزایش تا ۴-۶ روز بعد از تخم‌ریزی ادامه داشته و بعدازآن زمانی که ماهی وارد مرحله پس از تخم‌ریزی می‌شود غلظت این دو هورمون کاهش پیدا می‌کند (۱۶). در این مطالعه نسبت ۱۷-بتا استرادیول به تستوسترون در روزهای اول تخم‌ریزی در بالاترین حد بوده است که علت این امر را تبدیل تستوسترون به ۱۷-بتا استرادیول در آن دوره دانستند. نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه کوبایاشی و همکاران (۲۶) بر روی ماهی طلایی *Carassius auratus* و ماتسویاما و همکاران (۳۶) بر روی ماهی *Sardinops melanostictus* تأییدی بر نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه می‌باشد.

بررسی میزان کورتیزول، گلوکز و لاکتات در مراحل مختلف فوق‌رسیدگی تخمک مولدین استرلیاد نمایانگر تغییرات معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی بود. تقریباً اکثر عوامل استرس‌زای محیطی قادر به تحریـک محور هیپوتالامـوس- هیپوفیـز- آدرنال می‌باشند. تحت شرایط استرس، هورمون Adrenocorticotropic مترشحه از هیپوتالاموس به قسمت قدامی کلیه وارد و با تحریک بافت اینترنال سبب ترشح کورتیزول شده و درنهایت سبـب افزایش کورتـیزول موجـود در خون می‌شود. از طرفی، رهاسازی سریع کتکول آمین‌ها در طول استرس باعث

تبدیل گلیکوژن ذخیره‌شده به گلوکز از طریق تحریک فرایند گلیکوژنولیز می‌شود و درنتیجه غلظت گلوکز در گردش افزایش می‌یابد (۸، ۴۰ و ۴۷). مطالعه انجام‌شده توسط ویجایان و همکاران (۵۰) روی هپاتوسیت‌های قزل-آلای رنگین‌کمان، بیانگر اثر مستقیم کورتیزول روی افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکونئوژنز در کبد این ماهیان است. آن‌ها در مطالعه خود نشان دادند که اثر کتکول آمین‌ها بر روی تولید گلوکز بعد از استرس به‌صورت سریع بوده، در حالیکه کورتیزول به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم به کمک سایر هورمون‌ها در تنظیم طولانی‌مدت گلوکز در ماهیان نقش مهمی را ایفا می‌کند. علاوه برآن، لایه اپیتلیال تخمدانی در تخلیه گلوکز به مایع تخمدان در ماهی *Alburunu alburunus* نقش مهمی دارد که باعث ایجاد یک شیب یونی در این مایع می‌شود (۲۸). مایع تخمدانی در آزادماهیان شامل یون‌های کلسیم و گلوکز می‌باشد، درنتیجه آترشیا می‌توان افزایش یون‌های کلسیم و گلوکز پلاسما را توجیه کرد (۲۸ و ۴۶). افزایش گلوکز خون پس از مرحله ابتدای فوق‌رسیدگی در این مطالعه می‌تواند ناشی از فرایند جذب تخمک‌ها، عوامل استرس‌زا و تأمین انرژی موردنیاز از طریق بافت‌های مختلف بدن به‌ویژه کبد باشد. هنگام ایجاد پدیده فوق‌رسیدگی، سطوح بالای لاکتات خون تحت شرایط بی‌هوازی، باعث تخلیه گلیکوژن بافت‌ها توسط گلیکولیز شده و لاکتات در بافت-های عضلانی سفید به‌منظور تولید انرژی تجمع می‌یابد (۷، ۹ و ۲۵). در مطالعه حاضر، غلظت لاکتات دارای یک روند افزایشی در مراحل فوق‌رسیدگی بود. این درحالی است که درجه و شدت فوق‌رسیدگی و باز جذب سریع تخمک‌ها بر میزان لاکتات اثر گذاشت. بنابراین با توجه به نتایج کسب‌شده به نظر می‌رسد با افزایش شدت پدیده آترشیا و جذب تخمک‌ها، شدت استرس و شاخص‌های مربوط به آن در ماهی افزایش‌یافته که این امر نشان‌دهنده تغییرات فیزیولوژیک وسیع ماهی در طی این مرحله می‌باشد.

نتایج نشان داد سطح پروتئین پلاسما در طول دوره فوق‌رسیدگی فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشد، بااین‌حال افزایش میزان پروتئین در ماهیان فوق‌رسیده کامل مشاهده شد. تخمک ماهیان خاویاری دارای سطح بالایی از پروتئین (۱۶ تا ۳۰ درصد) می‌باشد که غالباً در داخل تخمک بیشتر از سطح آن می‌باشد. باتوجه به اینکه ویتلوژنین شامل فسفوگلیکولیپوپروتئین می‌باشد بنابراین پروتئین‌ها از جمله محصولات اولیه تخریب تخمک در ماهیان می‌باشند (۷). گزارش‌های بسیاری در خصوص تغییرات مشاهده‌شده در میزان پروتئین پلاسما در ماهیان خاویاری بالغ وجود دارد (۴، ۳۱، ۵۳ و ۵۴)، به‌طوری‌که همزمان با شروع آترشیای فولیکولی تخمدان، زرده تخمک تحلیل می‌یابد و در خون جذب می‌شود (۵، ۵۲، ۵۳ و ۵۴). براساس مطالعات لوو و همکاران (۳۳) تغییرات پروتئین و استروئیدهای جنسی به‌عنوان مؤلفه‌های مهم در تعیین مرحله رسیدگی جنسی ماهیان خاویاری نقش مهمی را دارا می‌باشد، به‌طوری‌که افزایش پروتئین کل در تاسماهی سفید در زمان آترشیای فولیکولی تخمدان مشاهده شد. افزایش میزان پروتئین می‌تواند به دلیل تغییر در شرایط زیستی باشد (۴۲)، بنابراین تخریب تخمک و جذب مواد حاصل از این پدیده در خون می‌تواند منجر به افزایش پروتئین در پلاسما شود. بااین‌حال عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای آزمایشی می‌تواند به علت ارتباط نزدیک بین پروتئین پلاسما و سطح استرادیول پلاسما باشد، به‌طوری‌که برخی از این پروتئین‌ها ممکن است در اتصالات استروئیدی دخیل باشند (۳۵).

در مطالعه حاضر، مقدار کلسیم پلاسمای گروه‌های آزمایشی در طول دوره فوق‌رسیدگی بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در طول این دوره بود. در ماهیان استخوانی ثابت‌شده است که پس از رسیدگی نهایی تخمک‌ها، برای فعال‌سازی و شروع عمل لقاح، غلظت یون کلسیم درون‌سلولی (درون تخمک) افزایش می‌یابد. این افزایش علاوه بر فعال‌سازی تخمک، نقش مهمی در رشدونمو

جنینی دارد. بنابراین باتوجه به مطالعات اندکی که در زمینه تغییرات سطوح مختلف کلسیم در هنگام پدیده فوق‌رسیدگی صورت گرفته، به نظر می‌رسد دلیل کاهش اندک سطوح این یون در فصول تولیدمثلی می‌تواند ناشی از جذب سریع تخمک‌ها و استرس ناشی از آن در مولدین ماده در دوره فوق‌رسیدگی باشد. در این مطالعه بیشترین میزان چربی پلاسمای خون ماهیان استرلیاد در مرحله عدم فوق‌رسیدگی و کمترین در زمان ابتدای فوق‌رسیدگی مشاهده شد اما این اختلاف معنی‌داری نبود. برطبق نظریه اونز و همکاران (۲۱)، چربی بیشتر در تخم‌ها باعث موفقیت در لقاح و زنده ماندن تخم می‌شود، به‌طوری‌که در مولدین تخمریزی کننده بالاترین میزان چربی کل به علت نیاز به تری اسیل گلیسرول و استرول و همچنین چربی در رشد و توسعه تخم ماهی مشاهده می‌شود. این روند با نتایج منتشر شده توسط دی وچله و همکاران (۱۸) در تضاد است به‌طوری‌که در ماهی توربوت *Scophthalmus maximus* نشان داده شد اکثر تخم‌های قابل زنده ماندن به مقدار کمتری نسبت به تخم‌های فوق‌رسیده دارای چربی کل هستند که این امر به ساختار تخم و رفتار تخمریزی هرگونه می‌تواند بستگی داشته باشد. اونز و همکاران این تضاد را به علت استفاده از روش‌های متفاوت در جدا کردن تخم‌های فوق رسیده و سالم بیان کرده‌اند، به‌طوری‌که منظور آنها از بیان تخم‌های فوق رسیده تخم‌هایی بود که قدرت باروری نداشتند (۲۱). فالک-پترسون و همکاران، نتایج مشابهی نسبت به درصد چربی کل در تخم‌های لقاح نیافته ماهی توربوت بدست آوردند (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر، روند افزایشی میزان آسپارتات آمینوترانسفراز پلاسمای خون ماهیان را در طول دوره آزمایش متناسب با تغییرات مقادیر هورمون‌های درگیر و شاخص‌های استرس در پدیده فوق‌رسیدگی و مراحل بعدی آن نشان داد، به‌طوریکه با پیشرفت جذب تخمک و وارد شدن به مرحله فوق‌رسیدگی کامل، میزان غلظت این آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. علاوه برآن، در این مطالعه روند افزایشی میزان غلظت آلانین آمینوترانسفراز نیز مشاهده شد اما این روند در مقایسه با آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز معنادار نبود. اختلاف در میزان غلظت این دو آنزیم مهم کبدی را می‌توان در تخریب دیواره تخمدانی، جذب تخمک و فعالیت فیزیولوژیک اندام درگیر نظیر کبد دانست. بحرکاظمی و همکاران (۶) در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) وآگرته و ژالابرت (۳) در بررسی‌های خود بر روی قزل آلای‌رنگین‌کمان دریافتند که کاهش شدید pH تخمدانی در زمان فوق رسیدگی باعث افزایش میزان آسپارتات آمینوترانسفراز می‌شود. بااین‌حال به نظر می‌رسد نقش این دو آنزیم درروند پدیده آترشیا مهم بوده و نیاز به مطالعات تکمیلی دارد.

باتوجه به اینکه بررسی‌های انجام‌شده درباره پدیده فوق‌رسیدگی ماهیان به‌خصوص ماهیان خاویاری، بسیار اندک است، در این مطالعه مشاهده شد هرچه جذب تخمک (پدیده آترشیا) بیشتر می‌شود، تغییر در پارامترهای مربوط به استرس و شاخص‌های بیوشمیایی مشهودتر است، بگونه‌ای که با وارد شدن به این مرحله شاهد اختلاف معنی‌دار در روند آسپارتات آمینوترانسفراز، کورتیزول، ۱۷-بتا استرادیول، تستوسترون، گلوکز و لاکتات بودیم، این درحالی است که چربی کل، کلسیم، پروژسترون و آلانین آمینوترانسفراز فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. درنتیجه می‌توان اظهار داشت افزایش جذب تخمک بر میزان ترشح کورتیزول در خون تأثیر گذاشته و بنابراین سبب تغییر در میزان استروئیدهای جنسی، فاکتورهای استرسی و بیوشیمیایی می‌شود. این مطالعه با استناد به نتایج کسب‌شده و سایر مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که هورمون‌های استروئیدی و شاخص‌های بیوشیمیایی و استرسی می‌توانند معیار مناسبی برای ارزیابی ماهی در زمان ورود به مرحله آترشیا تخمدانی باشد. این درحالی است که استرس در دوره فوق‌رسیدگی می‌تواند سبب تأثیر بر سیستم هورمونی، درنتیجه تغییر در پارامترهای مرتبط گردد

و درنهایت آسیب‌دیدگی و جذب تخمک‌ها را در هر سه مرحله قبل از رسیدگی، در زمان رسیدگی و بعدازآن تسریع نماید و درنهـایت کیفیت گامت و کارایی تکثیر کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه پرسنل مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی، همچنین خانم سمانه پورسعید و آقایان حسین بذرافشان و مهرزاد اسدی نهایت تشکر را داریم.

منابع

۱. افرانی بندپی، م. ع.، طالشیان، ح.، بهروز خوش‌قلب، م. ر.، پورغلام، ر.، کیمرام، ف.، پرافکنده، ف.، فضلی، ح.، و اسدالهی، م.، ۱۳۹۳. برخی از خصوصیات زیستی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) سواحل جنوبی دریای خزر (آبهای مازندران)، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۷، شماره ۴، صفحات ۴۵۳-۴۳۸.

۲. حلاجیان، ع.، کاظمی، ر.، بهمنی، م.، دژندیان، سهراب.، یوسفی جوردهی، ا.، و توکلی، م.، ۱۳۹۳. بررسی وضعیت جنسیتی تاس ماهیان نابالغ صیدشده از آبهای ایرانی حوضه جنوبی دریای خزر طی سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۳، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۷، شماره ۱، صفحات ۵۸-۴۹.

3. Aegerter, S., and Jalabert, B., 2004. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 231, PP: 59-71.

4. Amiri, B. M., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S., and Yamauchi, K., 1996. Ovarian development and serum sex steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. Journal of Fish Biology, 48, PP: 1164-1178.

5. Babin, P. J., 1987. Apolipoproteins and the association of egg yolk proteins with plasma high density lipoproteins after ovulation and follicular atresia in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Biological Chemistry, 262, PP: 4290-4296.

6. Bahre Kazemi, M., Soltani, M., Matinfar, A., Abtahi, B., Pusti, I., and Mohagheghi Samarin, A., 2010. Biochemical and histological studies of over-ripend oocyte in the Caspian brown trout *Salmo trutta caspius* to determine biomarkers for egg quality. Fisheries Science, 9, PP: 33-48.

7. Barton, B. A., Rahn, A. B., Feist, G., Bollig, H., and Schreck, C. B., 1998. Physiological stress responses of the freshwater chondrostean paddlefish *Polyodon spathula* to acute physical disturbances. Comparative Biochemistry and Physiology. 120A, PP: 355-363.

8. Barton, B. A., 2000. Stress. Encyclopedia of aquaculture. Stickney, R. R. (ed.), New York, NY: John Wiley and Sons, PP: 892-898.

9. Barton, B. A., Bolling, H., Hauskins, B. L., and Jansen, R., 2001. Juvenile pallid *Scaphirhynchus albus* and hybrid pallid × shovelnose (*S. albus* × *platorynchus*) sturgeon exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. Comparative Biochemistry and Physiology, 126A, PP: 120-134.

10. 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. Journal of Applied Ichthyology 22, PP: 334-339.

11. Birstein, V., 1993. Sturgeons and paddlefishes: Threatened fishes in need of conservation. Conservation Biology, 7, PP: 773-787.

12. Bledsoe, G. E., Bledsoe, C. D., and Rasco, B., 2003. Caviars and fish roe products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 43, PP: 317-356.

13. 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. Journal of Applied Ichthyology, 15, PP: 308-309.

14. Campbell, P., Pottinger, T., and Sumpter, J., 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduce the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture, 120, PP: 151-169.

15. Chebanov, M., and Billard, R., 2001. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources, 14, PP: 375-381.

16. Coward, K., and Bromage, N. R., 1998. Histological classification of oocyte growth and the dynamics of ovarian recrudescence in *Tilapia zillii*. Journal of Fish Biology, 53, PP: 285-302.

17. Dettlaff, T. A., Ginsburg, A. S., and Schmalhausen, O. I., 1993. Sturgeon fishes. Developmental biology and aquaculture. Springer-Verlag, Berlin, 300 p.

18. Devauchelle, N., Alexandre, J. C., le Corre, N., and Letty, Y., 1988. Spawning of turbot *Scophfhalmus maximus* in captivity. Aquaculture, 69, PP: 159-184.

19. Devlin, R. H., and Nagahama, Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish. Aquaculture, 208, PP: 191-366.

20. Drummond, C. D., Bazzoli, N., Rizzo, E., and Sato, Y., 2000. Postovulatory follicle: a model for experimental studies of programmed cell death or apoptosis in teleosts. Journal of Experimental Zoology 287, PP: 176-182.

21. Evans, R. P., Parrish, J. A., Brwon, J. A., and Davis, P. J., 1996. Biochemical composition of eggs from repeat and first-time spawning captive Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture, 139, PP: 139-149.

22. Falk Peterson, S., Falk Peterson, I. B., Sargent, J. R., and Haug, T., 1986. Lipid class and fatty acid composition of eggs from the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture 52, PP: 207-211.

23. Holčik, J., 1989. The Freshwater Fishes of Europe, Vol. I. General Introduction to Fishes: Acipenserforms. AULA Verlag GmbH, Wiesbaden.

24. Johnson, A. M., Rohlfs, E. M., and Silverman, L. M., 1999. Proteins, In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis, C. A., Ashwood, M. D., (eds.), 3rd ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company, PP: 477-540.

25. Kieffer, J. D., Currie, S., and Tufts, B. L., 1994. Effects of environmental temperature on the metabolic and acid–base responses of rainbow trout to exhaustive exercise. Journal of Experimental Biology, 194, PP: 299-317.

26. Kobayashi, M., Aida, K., and Hanyu, I., 1988. Hormone changes during the ovulatory cycle in goldfish. General and Comparative Endocrinology, 69, PP: 301-307.

27. 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, 172, PP: 335-349.

28. Lahnsteiner, F., Weismann, T., and Patzner, R. A., 1997. Structure and function of the ovarian cavity and oviduct and composition of the ovarian fluid in the bleak (*Alburnus alburnus*) Teleostei, Cyprinidae. Journal of Tissue and Cell 29, PP: 305-314.

29. Lahnsteiner, F., Weismann, T., and Patzner, R. A., 1999. Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout *Salmo trutta lacustris*. Fish Physiology and Biochemistry, 20, PP: 375-388.

30. Lahnsteiner, F., 2000. Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. Fish Physiology and Biochemistry, 23, PP: 107-118.

31. Linares Casenave, J., Van Eenennaam, J. P., and Doroshov, S. I., 2002. Ultrastructural and histological observations on temperature-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. Journal of Applied Ichthyology, 18, PP: 382–390.

32. Lorenzi, V., Earley, R. L., Rodgers, E. W., Pepper, D. R., and Grober, M. S., 2008. Diurnals patterns and sex differences in cortisol, 11-ketotestestrone, testosterone and 17β-estradiol in the bluebanded goby. General and Comparative Endocrinology, 155, PP: 438-446.

33. Lu, X., Webb, M. A., Talbott, M. J., Van Eenennaam, J. P., Doroshov, S. I., and Rasco, B. A., 2011. A study of biochemical parameters associated with ovarian atresia and quality of caviar in farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier Transform Infrared (FT-IR), spectroscopy. Aquaculture, 315, PP: 298-305.

34. Martin, B., 1980. Steroid-protein interactions in non-mammalian vertebrates: Distribution, origin, regulation, and physiological significance of plasma steroid bindings proteins. In: Steroids and Their Mechanism of Action in Non-mammalian Vertebrates. Delrio, G.,

Braehet, I. (eds.), Raven Press, New York, PP: 63-83.

35. Matty, A. L., 1985. Fish Endocrinology. Croom Helm London, 18, PP: 382-390.

36. Matsuyama, M., Adachi, S., Nagahama, Y., and Matsuura, S., 1994. Spawning characteristics and steroid hormone profile in the wild female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. Fisheries Science 60, PP:703-706.

37. Maxime, V., Nonnotte, C., Peyraud, C., Williot, P., and Truchot, J. P., 1995. Circulatory and respiratory effects of a hypoxic stress in Siberian sturgeon. Fish Physiology, 100, PP: 203-212.

38. Mohagheghi Samarin, A., Ahmadi, M. R., Azuma, T., Rafiee, G. h. R., Mojazi Amiri, B., and Naghavi, M. R., 2008. Influence of the time to egg stripping on eyeing and hatching rates in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* under cold temperatures. Aquaculture, 278, PP: 195-198.

39. Nagahama, Y., Yoshikoni, M., Yamashita, M., Sakai, N., and Tanaka, M., 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. Fish Physiology and Biochemistry, 11, PP: 3-14.

40. Pankhurst, N. W., and Van Der Kraak, G., 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Fish Stress and Health in Aquaculture. Iwama, G. K., Pickering, A. D., Sumpter, J. P., Schreck, C. B. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, PP: 73-95.

41. Peterson, D., Vecsei, P., and Hochleithner, M., 2006. Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 Acipenseridae. Environmental Biology of Fishes, 78, PP: 211-212.

42. Petibois, C., and Deleris, G., 2003. Stress-induced plasma volume change determined using plasma FT-IR spectra. Journal of Applied Spectroscopy, 57, PP: 396-399.

43. Pickering, A. D., and Pottinger, T. G., 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiology and Biochemistry, 7, PP: 253-258.

44. Rankin, J. C., Pitcher, T. J., and Duggan, R. T., 1983. Control prosses in fish physiology. Croom Helm Publication.

45. Rastogi, R. K., 1969. The occurance and significance of ovular atresia in the fresh water mud-eel *Amphipnous cuchia* (Ham.). Acta Anatomica, 73, PP: 148-160.

46. Salazar, A. J., and Young, C. T., 1984. An automated methylthymol blue method for calcium determination in peanuts. Journal of Food Science, 49, PP: 209-211.

47. Satia, B. P., Donalson, L. R., Smith, L. S., and Nightingale, J. N., 1974. Composition of ovarian fluid and eggs of the university of Washington strain of rainbow trout *Salmo gairdneri*. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 31, PP: 1796-1799.

48. Scott, S. G., and Pankhurst, N. W., 1992. Interannual variation in the reproductive cycle of the New Zealand snapper *Pagrus auratus*. Journal of Fish Biology, 41, PP: 128-134.

49. Talbott, M. J., Van Enennaam, J. O., Linares Casenave, J., Doroshov, S. I., Guy, C. S., Struffenegger, P., and Webb, M. A., 2011. Investigating the use of plasma testosterone and estradiol-17β to detect ovarian follicular atresia in farmed white sturgeon *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 315, PP: 283-289.

50. Thomas, S., 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. American Fisheries Society, 8, PP: 9-28.

51. Vijayan, M. M., and Moon, T. W., 1994. The stress response and the plasma disappearance of corticosteroid and glucose in a marine teleost, the sea raven. Canadian Journal of Zoology, 72, PP: 379-386.

52. Wallaert, C., and Babin, P. J., 1994. Effects of temperature variation on dietary lipid absorption and plasma lipoprotein concentrations in trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology, 109, PP: 473-487.

53. Webb, M. A. H., Van Eenennaam, J. P., Feist, G. W., Linares Casenave, J., Fitzpatrick, M. S., Schreck, C. B., and Doroshov, S. I., 2001. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 201, PP: 137-151.

54. 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. General and Comparative Endocrinology, 129, PP: 27-38.

55. Webb, M. A. H., Feist, G. W., Schreck, C. B., and Fitzpatrick, M. S., 2005. Developing methods to determine sex and distinguish between maturational stages of white sturgeon in the Columbia River using plasma sex steroid and calcium concentration. White Sturgeon Mitigation and Restoration in the Columbia and Snake Rivers Upstream from Bonneville Dam. Annual Progress Report to Bonneville Power Administration, Portland, Oregon.

56. Young, A. J., Carlson, A. A., Monfort, S. L., Russell, A. F., Bennett, N. C., and Clutton-Brock, T., 2005. Stress and suppression of subordinate reproduction in cooperatively breeding meerkats. Proceedings of the National Academy of Science of United States of America, 103, PP: 12005-12010.

Changes of sex steroids and blood biochemical indices in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) during overriping period

Falahatkar B., Khodabakhshi L. and Faramarzpour S.

Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, I.R. of Iran

Dept. of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

This investigation was carried out to assess the over-ripening phenomenon and its relationships with sex steroids levels including testosterone (T), progesterone (P), 17-β estradiol (E2) and some important liver enzymes such as alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), as well as to determine the levels of stress indices and blood biochemical parameters including cortisol, glucose, lactate, total fat, total protein and calcium in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) broodstocks. For this study, 18 fish with an average weight of 1120.2 ± 240.4 g were selected. Blood samples were taken from three groups (each group with six fish) in three stages including non-overriped, beginning the overriping, and completely–overriped. Comparing the three groups showed significant differences in plasma levels of T, E2, AST, cortisol, glucose and lactate, with the highest levels of AST, cortisol, and lactate in completely-overriped stage, and the lowest levels in non-overriped stage. The highest levels of glucose, T, and E2 were found in non-overriped stage ($P<0.05$), while no significant differences were found in P, ALT activity, calcium, total fat and total protein ($P>0.05$). This study showed that steroid hormones and biochemical indices could be more reliable indicators for forecasting and assessment of ripening stage of sturgeon and these factors can be used as biomarkers to control reproduction and ripening times in cultured Sterlet sturgeon broodstock.

Key words: Sturgeon, Over-ripening, Oocyte absorption, Hematology, Stress indices