Archive of SID

بررسی تاثیر تزریق هیپوفیز گلیسرینه بر نوسانات هورمونهای استروئیدی در مولدین ماده تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus*

مهرنوش نوروزی[۱]؛ شهربانو عریان[۲] و محمود بهمنی[۳]

nmrhrnoosh@gmail.com

۱- گروه شیلات و بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن

۲ - گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران

۳- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

صندوق پستی ۳٤٦٤-٤١٦٣٥

تاریخ ورود: فروردین ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۴

چکیده

استفاده از گلیسرین بعنوان حلال پودر هیپوفیز برای القای تخمریزی در ۲۰ عدد از مولدین ماده تاسماهی ایران *Acipencer persicus* در مجتمع تکثیر و پرورش شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ٤ تیمار با ۵ بار تکرار مورد مطالعه واقع گردید: مولدین با یک تزریق گلیسرینه، مولدین با یک تزریق سرم فیزیولوژی، مولدین با دو تزریق گلیسرینه، مولدین با دو تزریق سرم فیزیولوژی (فاصله دو تزریق ۱۲ ساعت). از ماهیان مزبور هر ٦ ساعت یکبار خون گیری بعمل آمد. عوامل مورد سنجش در سرم خون شامل: هورمونهای ۱۷- بتااستراديول و ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون بودند. همچنین عوامل زیست‌سنجی ثبت شدند. در تیمار یک تزریقه گلیسرینه فراوانی درصد لقاح و میزان هورمونهای استرادیول و پروژسترون از بقیه تیمارها بیشتر بود و تیمار یک تزریقه سرم فیزیولوژی کمترین مقدار را دارا بود. سیالیت تخمکها در تیمارهای گلیسرینه بیشتر از تیمارهای سرم فیزیولوژی و زمان اوولاسیون در تیمار اول کمترین میزان را دارا بود. افزایش ناگهانی سطوح پروژسترون پس از تزریق هیپوفیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۰$). همبستگی بالایی بین درجه حرارت و مدت زمان رسیدگی ($P=۰/۰۰۰۱$) و درجه حرارت با افزایش سطوح پروژسترون ($P=۰/۰۰۵$) مشاهده گردید. نتایج حاصل حاکی از آن بود که استفاده از هیپوفیز گلیسرینه مناسب‌تر از سرم فیزیولوژی است.

لغات کلیدی: تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus*، استرادیول، پروژسترون، هیپوفیز گلیسرینه،

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مطالعات فیزیولوژی و ارتقاء شیوه های متداول تکثیر در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری گامی در جهت بهبود شرایط تکثیرمصنوعی ماهیان خاویاری است (کریم آبادی، ۱۳۷۹) و مطالعه هر چه بیشتر مکانیزمهای کنترل فعالیت تولید مثلی در تاسماهیان که امکان تنظیم دوره‌های جنسی را مطرح می‌سازد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (گلوباکووا، ۱۹۹۳) .

مطالعات Webb و همکاران (۱۹۹۹) بر روی اثرات درجه حرارت پیش از تخمریزی بر روی حرکت GV در هنگام بلوغ در شرایط آزمایشگاهی و غلظت هورمون های جنسی در پلاسما و هورمون های موثر در اوولاسیون تاس ماهی سفید نشان داد که رژیم دمایی پیش از تخمریزی یک عامل مهم برای رشد و نمو طبیعی تخمدان است (بهمنی، ۱۳۷۸ب). استروژن‌ها کبد را وادار به سنتز پروتئین‌های زرده می‌کنند (عریان، ۱۳۷۹). در سالهای اخیر یکی از جمله موادی که به عنوان حلال پودر هیپوفیز برای تزریق به مولدین استفاده می‌شود، گلیسرین می‌باشد (کریم آبادی، ۱۳۷۹) و از آنجایی که لیپیدها بنای ساختمانی غشاء سلول را پایه‌گذاری می‌کنند، مواد محلول در لیپید می‌توانند به داخل سلول راه یابند. بنابراین گلیسرین براحتی پودر هیپوفیز را در خود حل کرده و از غشاء سلول عبور می‌نماید. لذا جای این سؤال وجود دارد که آیا گلیسرین می‌تواند جایگزین مناسبی برای سرم فیزیولوژی در انحلال پودر هیپوفیز باشد ؟

با توجه به تغییرات معنی‌دار در اکوسیستم دریای خزر که موجب کاهش ذخایر ماهیان خاویاری و ایجاد اختلال در حالات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثل است، اهمیت مطالعه سطوح استروئیدهای جنسی در خون و عملکرد هورمونهایی که در دستگاه تولید مثل نقش دارند، مهم است (Barannikova *et al*., 1990 ; Romanov & Sheveleva , 1992 ; Barnanikova *et al* ., 1995).

امروزه نقش هورمونها بوضوح در کنترل تولید مثل آبزیان شناخته شده است (Matty, 1985 بر گرفته از: بهمنی، ۱۳۷۸الف). در گزارشی در القای نهایی رسیدگی تخمک در ماهی قره برون با استفاده از هیپوفیز گلیسرینه کاهش مقدار مصرف هیپوفیز در گروه گلیسرینه به نصف و درصد لقاح بالاتر اشاره شده است (کریم آبادی، ۱۳۷۸) .

همچنین اندازه‌گیری هورمونهای پروژسترون و استرادیول در ماهی قره برون جهت تفکیک ماهیان مولد بارور و نابارور و استفاده از چند نوبت تزریق هورمون بجای یک تزریق برای کاهش استرس ناشی از نگهداری مولدین در استخر ها پیشنهاد شده است (صافی، ۱۳۷۷). در تاسماهی ایران، اثر استرس در کاهش استرادیول در هنگام صید بر مولدین گزارش شده است (بهمنی، ۱۳۷۸الف). بنابراین استرس‌های ناشی از دستکاری موجب بی‌اثر کردن هورمونهای بکار رفته برای تزریق می‌شود. از این جهت در امر تزریق هورمون باید روشهایی بکار برد که میزان استرس وارده را به حداقل برساند.

همچنین در ماهی بستر به همبستگی بالای استرادیول با رشد و نمو غدد جنسی اشاره می‌شود (Mojazi Amiri *et al*., 1995).

www.SID.ir

Archive of SID

Kazanski (۱۹۷۹) در مولدینی که در شرایط نامساعد به تزریق یک مرحله‌ای پاسخ مناسب نمی‌دهند، تزریق در دو مرحله را پیشنهاد کرده است. در تجربه‌ای توسط Barannikova (۱۹۷۸) هیپوفیز گلیسرینه بر روی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) در دو مرحله تزریق شد که نتایج حاصله درصد بالایی از توان باروری را نشان داد (گلوباکووا، ۱۹۹۳). در مورد اندازه‌گیری هورمونهای استروئیدی اثر استرادیول در افزایش ویتلوژنز در تاسماهی سفید گزارش گردید (Moberg *et al.*, 1991). مطالعات بر روی تاسماهی سیبری *Acipenser baeri* Brandt تا ثیر گنادوتروپین و پروژسترون را روی بلوغ اووسیت‌ها نشان می‌دهد (Williot, 1997). شکسته شدن هسته زایشی بر روی تاسماهی سفید پرورشی را پاسخ تخمکها به هورمون پروژسترون بیان شده است (Dettlaff *et al.*,1993).

مواد و روش کار

در این مطالعه در مجموع از ۲۰ مولد ماده در بهار ۱۳۸۰ در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنگر نمونه‌گیری بعمل آمد. عملیات آزمایشگاهی در بخشهای فیزیولوژی-بیوشیمی و بیولوژی موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام پذیرفت.

در این تحقیق عوامل مختلفی از جمله: طول کل، طول چنگالی، وزن شکم پر، وزن شکم خالی، وزن گناد، وزن کبد، قطر تخمک، تعداد تخمک در گرم، وزن هر تخمک، هماوری، موقعیت هسته زایشی (GV یا Germinal Vesicul)، مدت زمان پاسخگویی، شاخص رسیدگی جنسی (GSI یا Gonado Somatic Index)، درصد لقاح، شاخص رسیدگی کبدی (HSI یا Hepato Somatic Index)، وضعیت تکثیر، درصد وزن بدن، سن، درجه حرارت در زمان خونگیری و تزریق و تکثیر و هورمونهای ۱۷- بتا استرادیول و هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور تعیین و انتخاب مولدینی که قابلیت تزریق را داشته باشند از طریق نمونه‌برداری تخمک، با استفاده از سوند شیاردار نسبت به تعیین موقیت هسته آنها اقدام گردید. مولدین به ۴ تیمار با ۵ بار تکرار تفکیک شدند.

مقدار هیپوفیز طبق روش مرسوم کارگاههای تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری (جدول ۱) با توجه به درجه حرارت آب و وزن کل ماهی تعیین می شود. پس از بدست آوردن نسبتها و تعیین میانگین آنها، مولدینی که قابلیت تزریق و تکثیر مصنوعی را داشتند، انتخاب گردیدند. جهت تزریق از غده‌های هیپوفیز ماهیان خاویاری که قبلاً در صیدگاهها تهیه و در آستون نگهداری و سپس خشک گردیده بودند، استفاده شد. به هنگام تزریق مقدار هیپوفیز مورد نیاز توسط ترازوهای دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در مقدار مشخصی سرم فیزیولوژی یا گلیسرین حل گردیدند. میزان تزریق برای هر مولد ماده از ۴۰ الی ۸۵ میلی‌گرم متغیر بوده و به درجه حرارت آب بستگی داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مقدار هیپوفیز لازم در شرایط مختلف برای تکثیر مولدین ماده تاس ماهی ایرانی در مراکز تکثیر و پرورش

درجه حرارت آب (درجه سانتیگراد)	وزن مولد (کیلوگرم)	میزان هیپوفیز (میلی‌گرم)
۱۴-۱۹	۲۰-۳۰	۸۰-۸۵
۱۴-۲۰	۲۰-۳۰	۴۰-۴۵

سپس ۲ میلی‌لیترمکعب از مخلوط عصاره هیپوفیز و سرم فیزیولوژی و گلیسرینه ناحیه عضله پشتی مولدین به شرح زیر تزریق گردید.

مولدین یک تزریقی به دو گروه بشرح زیر تقسیم شدند:

۱- مولدین یک تزریق با : یک میلی لیترسرم فیزیولوژی + یک میلی لیترگلیسرین+ عصاره پودر هیپوفیز

۲- مولدین یک تزریق با : دو میلی لیترسرم فیزیولوژی + عصاره پودر هیپوفیز (گروه شاهد)

مولدین دو تزریقی که به دو گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- مرحله اول : ۰/۵ میلی لیترسرم فیزیولوژی + ۰/۵ میلی لیترگلیسرین+ عصاره پودر هیپوفیز

مرحله دوم : ۱ میلی لیترسرم فیزیولوژی +۱ میلی لیترگلیسرین+ عصاره پودر هیپوفیز

۲- مرحله اول : ۱ میلی لیترسرم فیزیولوژی + عصاره پودر هیپوفیز(گروه شاهد)

مرحله دوم : ۲ میلی لیترسرم فیزیولوژی + عصاره پودر هیپوفیز

قابل ذکر است مرحله اول شامل ۱۰ درصد تزریق و مرحله دوم ۹۰ درصد باقیمانده بود و فاصله مرحله اول با مرحله دوم تزریق ۱۲ ساعت بود. برای تهیه هورمون به علت تفاوت جرم حجمی گلیسرین با سرم فیزیولوژی، ابتدا پودر هیپوفیز را با سرم فیزیولوژی مخلوط کرده و بعد گلیسرین به آن اضافه گردید.

فاصله دو تزریق در گروه دو تزریقه ۱۲ ساعت بود. قبل از تزریق پودر هیپوفیز اولین خونگیری انجام شد و خونگیری‌های بعدی به فاصله هر ۶ ساعت در ۳ مرحله در گروههای یک تزریقه و در چهار مرحله در گروههای دو تزریقه انجام شد. سرم تهیه شده در ۳۰- درجه سانتیگراد نگهداری و سپس اندازه‌گیری هورمون ۱۷- بتا استرادیول بوسیله کیت هورمونی Biomedica و هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون بوسیله کیت هورمونی Kavoshyar توسط دستگاه گاما کانتر به روش رادیوایمونواسی (RIA) صورت گرفت. نتایج حاصله با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با سطح خطای ۰/۰۵ و t-test ، همبستگی پیرسون و رگرسیون خطی با استفاده از نرم افزار SPSS ارزیابی شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

در بررسی هورمونی ۲۰ مولد ماده تاسماهی ایرانی، هورمونهای استروئیدی شامل ۱۷- بتا استرادیول و ۱۷- آلفا پروژسترون و همچنین عوامل زیست سنجی اندازه‌گیری شد.

نتایج حاصل از تزریقهای مختلف انجام شده بر روی مولدین ماده تاسماهی ایرانی در جداول ۲ و ۳ آورده شده‌اند.

جدول ۲: بررسی‌های زیست سنجی مولدین ماده تاسماهی ایرانی

گروه	تزریق	طول کل (سانتیمتر)	وزن (کیلوگرم)	سن (سال)
۱	یک تزریقه گلیسرینه	۱۷۲	۲۶/۰۰	۱۷/۴۰
۲	یک تزریقه سرم فیزیولوژی	۱۷۵	۲۸/۸۰	۱۸/۸۰
۳	دو تزریقه گلیسرینه	۱۷۷/۷	۲۹/۴۰	۱۸/۸۰
٤	دو تزریقه سرم فیزیولوژی	۱۷۳/۳	۲۸/۷۰	۱۷/۲۰
	مجموع	۱۷٤/۵	۲۸/۲۲	۱۸/۰۵

جدول۳: رسیدگی نهایی مولدین ماده تاسماهی ایرانی و کیفیت تخم ها در گروههای گلیسرینه و سرم

گروه	تزریق	میانگین مدت زمان تخمریزی (ساعت)	میانگین درجه حرارت آب (درجه سانتیگراد)	میانگین درصد لقاح	GV	HSI	GSI
۱	یک تزریقه گلیسرینه	۳۱	۱٤/٤	۷۸/۸	٦/۸	۳/۳٦ ± ۰/۱۲	۱۷/۸ ±۱/۲٤
۲	یک تزریقه سرم فیزیولوژی	۳۳/۳۰	۱٤/۳	۸۱	۸/۱	۱/۰٤ ±۰/۰۵۱	۱۷/۷۲± ۲/۲
۳	دو تزریقه گلیسرینه	۲۱/۵۸	۱۷/۸	۸۲/۸۸	۸/٤	۰/۹٦ ±۰/۱۰۳	۱۹/٦٤ ±۰/۸۳
٤	دو تزریقه سرم فیزیولوژی	۲۰/۳۰	۱۷	۸۳/۵۰	۷/٤	۲/۸۷٦±۰/۱۲۱	۱۹/۳±۱/۹۵
	مجموع	۲٦/٤٤	۱۵/۸۷	۸۳/۷۹	۷/۷	۱/٦۵ ±۰/۰٦۱	۱۸/٦۱ ± ۰/۷۸

www.SID.ir

Archive of SID

در نمودارهای ۱ تا ۸ تغییرات E2 و P در ساعات مختلف خونگیری آورده شده است. نتایج حاصله بیانگر آن است که :

در گروه اول که مولدین یک تزریقه گلیسرینه هستند طبق نمودار ۱ پس از تزریق پودر هیپوفیز هورمون استرادیول به سرعت افزایش یافته و به آرامی کاهش می‌یابد ولی در مورد هورمون پروژسترون پس از تزریق افزایش آن خیلی شدید است و تقریباً مقدار آن در سومین خونگیری پنج برابر می‌شود (نمودار۵) و در گروه دوم که مولدین یک تزریقه سرم فیزیولوژی هستند پس از تزریق هورمون استرادیول به آرامی افزایش یافته و این افزایش همچنان در سومین خونگیری مشاهده می‌شود و در مورد هورمون پروژسترون نیز به آرامی افزایش یافته و تا آخرین خونگیری این افزایش دیده می‌شود (نمودار ۲) ولی میزان این افزایش نسبت به تیمار اول کمتر است به طوری که تقریباً به نصف آن می‌رسد (نمودار ۶).

در گروه سوم یعنی مولدین دو تزریقه گلیسرینه پس از اولین تزریق هورمون استرادیول افزایش یافته و بعد سرعت این افزایش، کم می‌شود و پس از تزریق مرحله دوم مجدداً مقدار آن افزایش می‌یابد (نمودار۳). در مورد هورمون پروژسترون پس از تزریق مرحله اول در ابتدا تغییرات چندانی مشاهده نمی‌شود ولی بعد به سرعت مقدار آن افزایش می‌یابد و پس از تزریق مرحله دوم این افزایش همچنان ادامه دارد به طوری که مقدار آن به ۶ برابر می‌رسد (نمودار ۷).

در گروه چهارم یعنی مولدین دو تزریقه سرم فیزیولوژی پس از تزریق اول هورمون استرادیول افزایش یافته و بتدریج سرعت این افزایش کم می‌شود، به طوری که پس از تزریق دوم رو به کاهش می‌گذارد (نمودار۴) و در مورد هورمون پروژسترون پس از تزریق مرحله اول مقدار آن کاهش داشته و بعد به آرامی افزایش می‌یابد و پس از تزریق مرحله دوم سرعت این افزایش بیشتر می‌شود (نمودار ۸).

در تیمار دو تزریقه سرم فیزیولوژی ابتدا کاهش پروژسترون و سپس افزایش آن مشاهده می‌شود. بطوریکه طبق آزمون t-test این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ($P > ۰/۱۹$). در مقدار پروژسترون بین تیمارهای یک تزریقه و دو تزریقه گلیسرینی طبق آزمون t اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P > ۰/۰۴$). این اختلاف بین تیمارهای دوم و سوم طبق آزمون t مشاهده می‌شود ($P > ۰/۰۱۶$).

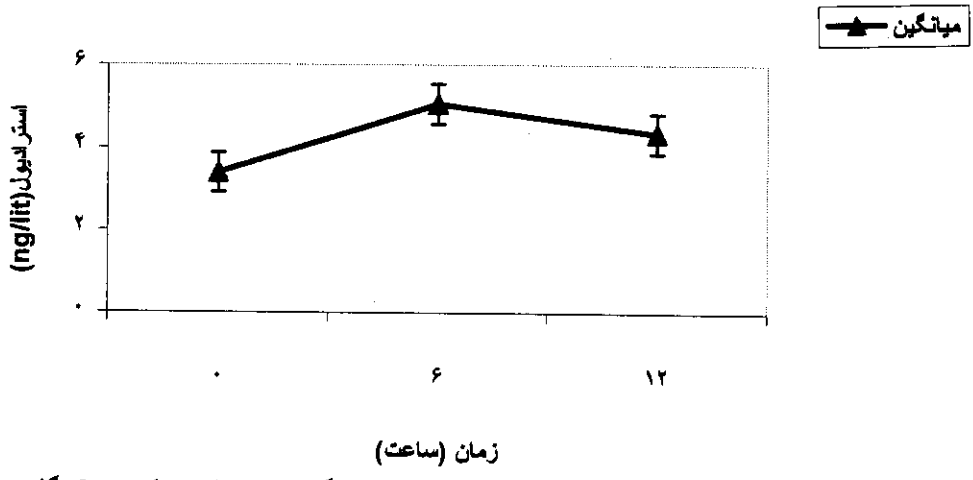
با فرض اینکه رابطه بین زمان اوولاسیون و درجه حرارت یک رابطه خطی به صورت y=a+bx باشد آنگاه این رابطه به صورت درجه حرارت T ۳/۹۶۷ − t = ۸۷/۴۴۲ مدت زمان اوولاسیون تخمین زده می‌شود. (P =۰/۸۲۶) : مقدار آماری آزمون F=۳۸/۷۱۵ و معنی‌دار بودن آن P = ۰/۰۰۰۱.

با فرض بالا رابطه بین زمان اوولاسیون و درجه حرارت دومین تزریق، این رابطه به صورت t=۷۰/۸۴۶ −۲/۷۶۶T تخمین زده می‌شود. (P= ۰/۸۸۲) مقدار آماری آزمون F = ۶۲/۸۷۴ و معنی‌دار بودن آن P = ۰/۰۰۰۱ و این امر نشان دهنده همبستگی شدید درجه حرارت با مدت زمان اوولاسیون می‌باشد (P =۰/۰۰۰۱).

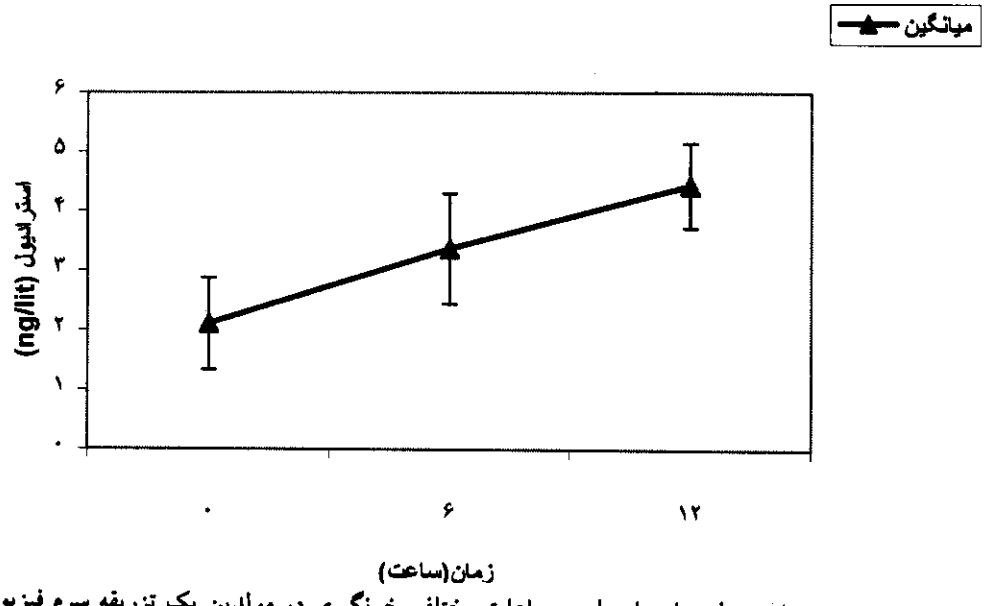
www.SID.ir

Archive of SID

در مورد افزایش معنی‌دار پروژسترون ۶ ساعت پس از تزریق هیپوفیز و ارتباط آن با درجه حرارت ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری بدست آمد: با فرض اینکه رابطه بین پروژسترون و درجه حرارت یک رابطه خطی به صورت y=a+bx باشد آنگاه این رابطه به صورت زیر تخمین زده می‌شود (P=۰/۶۱۵):T۰/۰۱۲۶۹ −۰/۲۶۹ = P در ساعت ۶ مقدار آماری آزمون F = ۱۰/۳۳۱ معنی‌دار بودن آن P =۰/۰۰۵ ولی در مورد استرادیول این ارتباط خطی مشاهده نشد.



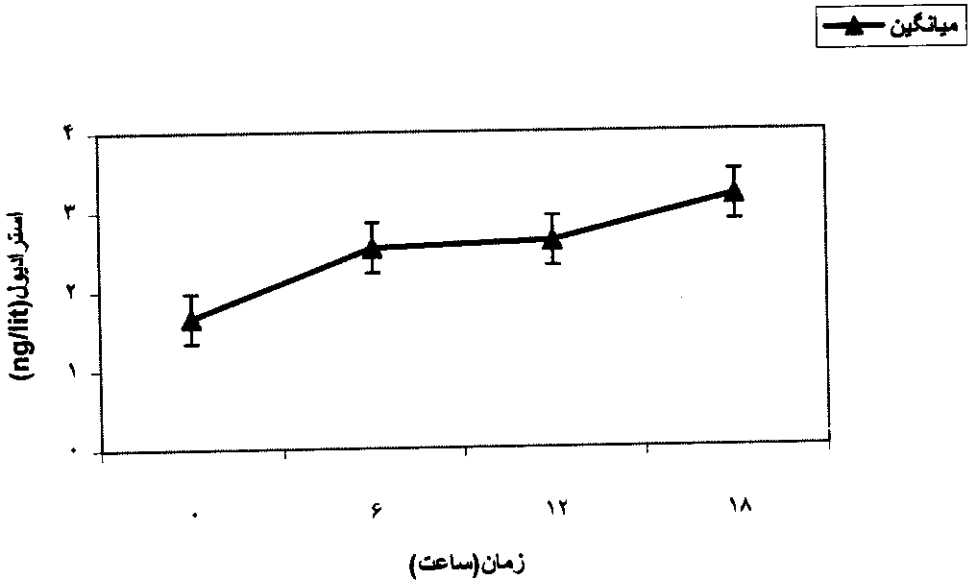
نمودار ۱: تغییرات سطوح استرادیول در ساعات مختلف خونگیری در مولدین یک تزریقه گلیسیرینه



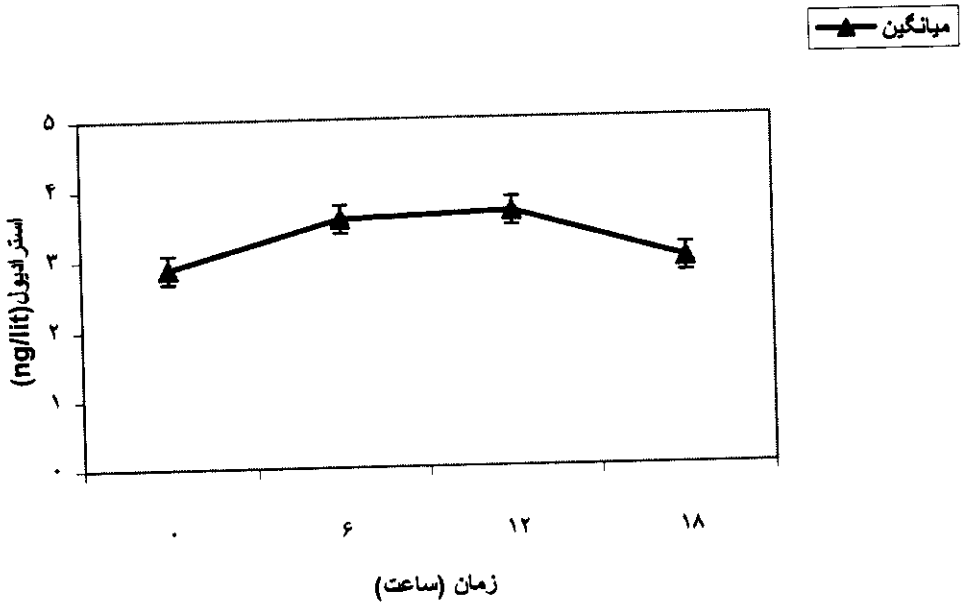
نمودار ۲: تغییرات سطوح استرادیول در ساعات مختلف خونگیری در مولدین یک تزریقه سرم فیزیولوژی

www.SID.ir

Archive of SID



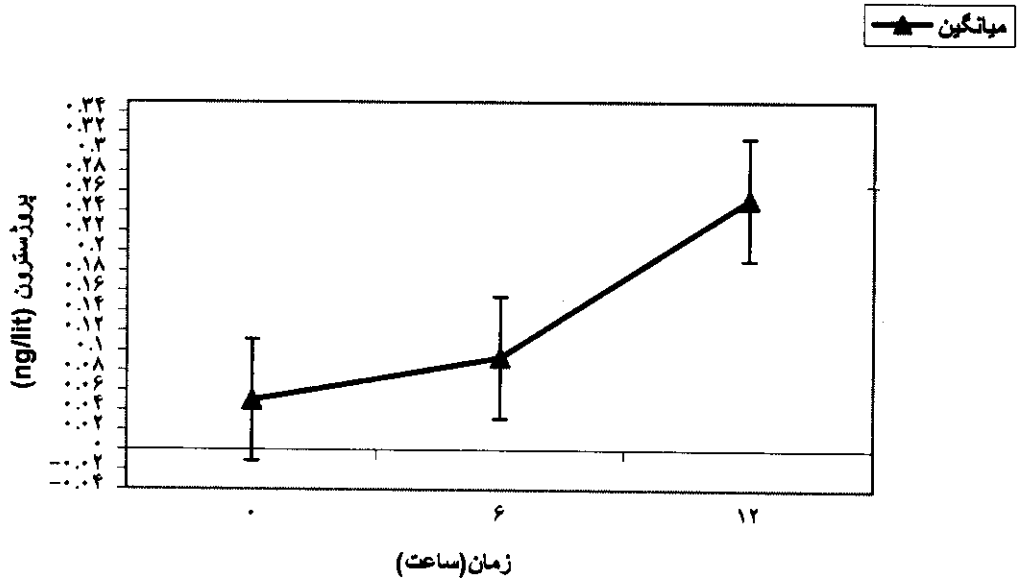
نمودار ۳: تغییرات سطوح استرادیول در ساعات مختلف خونگیری در مولدین دو تزریقه گلیسیرینه



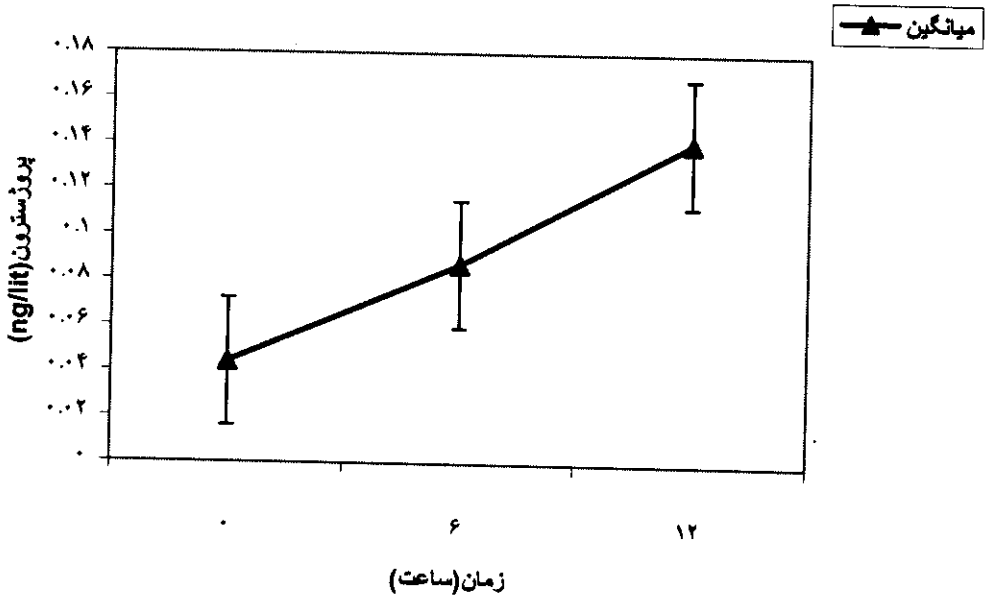
نمودار ۴: تغییرات سطوح استرادیول در ساعات مختلف خونگیری در مولدین دو تزریقه سرم فیزیولوژی

www.SID.ir

Archive of SID



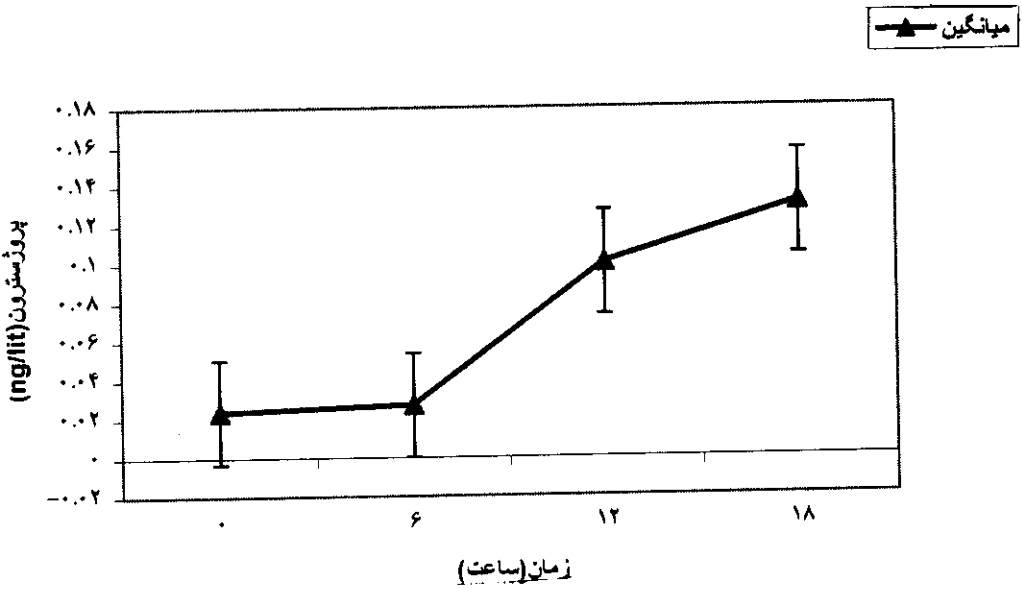
نمودار ۵: تغییرات سطوح پروژسترون در ساعات مختلف خونگیری در مولدین یک تزریقه گلیسیرینه



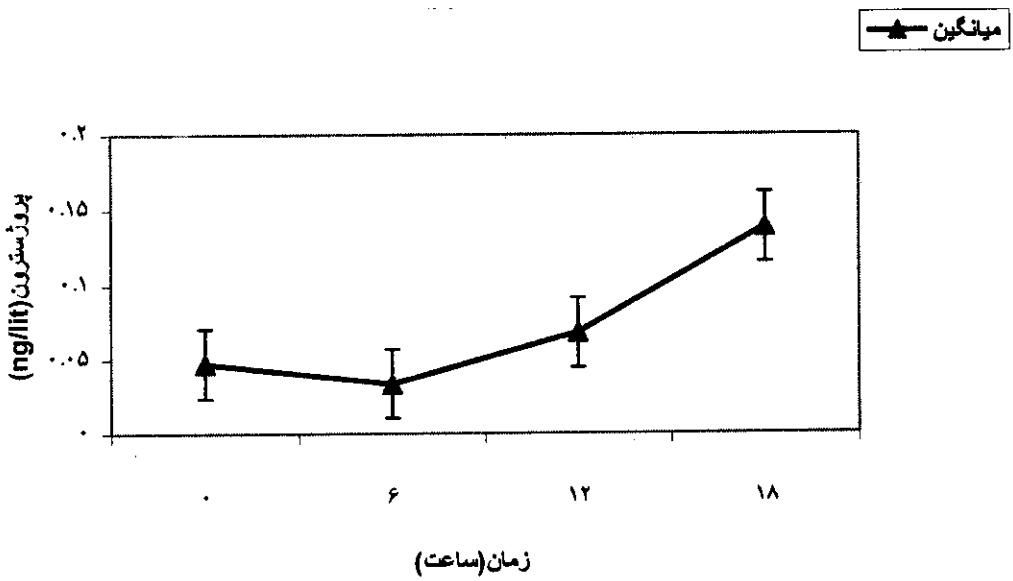
نمودار ۶: تغییرات سطوح پروژسترون در ساعات مختلف خونگیری در مولدین یک تزریقه سرم فیزیولوژی

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۷: تغییرات سطوح پروژسترون در ساعات مختلف خونگیری در مولدین دو تزریقه گلیسیرینه.



نمودار ۸: تغییرات سطوح پروژسترون در ساعات مختلف خونگیری در مولدین دو تزریقه سرم فیزیولوژی

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این پژوهش به منظور ارزیابی مقایسه‌ای کاربرد عملی، اثر تزریق هیپوفیز گلیسرینه و هیپوفیز با سرم فیزیولوژی بر نوسانات هورمونهای استروئیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوعی مولدین تاسماهی ایران مورد بررسی قرار گرفت. از اینرو از گلیسیرین به همراه سرم فیزیولوژی بعنوان حلال ۱ودر هیپوفیز استفاده شد. زیرا گلیسیرین به علت جذب آهسته‌تر نسبت به سرم فیزیولوژی موجب کند شدن اثر هیپوفیز می‌شود.

امروزه روشهای مختلف مداخله هورمونی جهت تاثیر در بلوغ و تخمریزی ماهیان به منظور تکثیر مصنوعی بکار گرفته می‌شود که از آن جمله استفاده از عصاره هیپوفیز است. البته تاثیر محلول آن همیشه در تاثیر رسیدگی جنسی ماهی کافی نیست و تزریق در چند نوبت موجب استرس ناشی از دستکاری می‌شود که بی اثر کردن هورمون بکار رفته را در پی دارد. بنابراین در امر تزریق هورمون باید امولسیون مناسبی را بکار برد که میزان استرس ناشی از دستکاری را به حداقل برساند (Duan & Hirano, 1991).

تحقیقات Duan & Hirano (1991) بر روی آزاد ماهیان نشان داده است که تزریق هورمون همراه با سرم فیزیولوژی سطوح GtHII پلاسما را به سرعت تغییر داده و سپس آن را کاهش می‌دهد، مشابه این اثر در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) و مار ماهی (*Anguilla japonica*) نیز دیده شده است، ولی در ماهیانی که هورمون همراه گلیسرین القا شده بود سطوح GTHII پلاسما افزایش تدریجی را نشان داده و به آرامی نیز کاهش یافت که این افزایش به طور معنی‌داری نسبت به گروه سرم فیزیولوژی بود. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از گلیسرین نسبت به سرم فیزیولوژی تغییرات کلی و اساسی را موجب نمی‌شود اما از نظر کیفی روی رهاسازی هورمونها اثر می‌گذارد. در مورد نحوه ورود گلیسرین به داخل سلول باید ذکر کرد که چربی‌ها پایه‌گذار غشای سلول هستند بنابراین مواد محلول در چربی می‌توانند با حل شدن در عناصر لیپیدی ساختمان غشا به داخل سلول راه یابند. از این رو انتظار می‌رود که استفاده از امولسیون کنترل‌کننده نظیر گلیسرین روشی موثر و کاربردی‌تر برای آزادسازی هورمونها باشد (Sato *et al.*, 1995).

صافی (۱۳۷۷) میزان افزایش هورمون ۱۷- بتا استرادیول را در مولدین ماده قره‌برون با تزریق عصاره هیپوفیز گزارش کرده‌اند و بهمنی (۱۳۷۸الف) میزان کاهش این هورمون را پس از صید و در مرحله حمل و نقل به علت وجود استرس و افزایش سطوح کورتیزول پلاسما و اثر مهاری آن بر سیستم تولید مثلی ماهیان از طریق مهار سنتز و ترشح گنادوتروپین‌ها را بیان نموده است. سطوح هورمون E2 در مولدین ماده تاسماهی ایران در محدوده سطوح هورمون E2 در مولدین ماده تاسماهی روس صید شده در حوضه شمالی دریای خزر در شرایط مهاجرت و تغذیه می‌باشد (Barannikova, 1997,1998). مطالعات بعدی Barannikova (۱۹۹۸) مقادیر E2 را در مولدین ماده تاسماهی روس در مرحله ویتلوژنزیز در دریا ۱۵۰pg/ml در حوضه شمالی دریای خزر نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

در پژوهش حاضر در مورد هورمون استرادیول بیشترین افزایش آن در تیمار یک تزریقه گلیسرینه مشاهده شد. در تیمار یک تزریقه سرم فیزیولوژی افزایش استرادیول به شدت تیمار اول مشاهده نمی شود در تیمار دو تزریقه گلیسرینه افزایش مقدار استرادیول بیش از تیمار دو تزریقه سرم فیزیولوژی بود. از نتایج مشاهده می‌شود که در تیمارهای گلیسرینه افزایش هورمون استرادیول بیشتر از تیمارهای سرم فیزیولوژی و این افزایش در گروه یک تزریقه بیشتر از گروه دو تزریقه مشاهده می‌شود.

مشاهدات Mojazi Amiri و همکاران (۱۹۹۹) در تاسماهی سیبری تغییرات معنی‌داری در میزان E2 پلاسمای ماده‌ها در مراحل مختلف رشد گنادی نشان نداد که با بررسی حاضر مطابقت دارد. قابل ذکر است که HSI ارتباط مستقیمی با میزان E2 دارد، به طوریکه در تیمار اول که دارای بیشترین مقدار HIS می‌باشد، بیشترین مقدار E2 نیز نشان داده می‌شود و در تیمار سوم که کمترین HSI را دارد کمترین میزان E2 مشاهده می‌شود .

از نتایج چنین برمی‌آید که استفاده از گلیسرین به همراه سرم فیزیولوژی در تزریق مولدین ماده تاسماهی ایران موجب افزایش بیشتر ترشح هورمون استرادیول نسبت به مولدینی که بوسیله سرم فیزیولوژی تزریق شده‌اند، می‌شود و عدم وجود تغییرات معنی‌دار بین گروهها احتمالاً به خاطر اثر بیشتر این هورمون در هنگام زرده سازی است، البته شرایط فیزیولوژیک مولدین نیز باید در نظر گرفته شود.

تحقیقات Scott و همکاران (۱۹۸۳) نشان داد که ترشح گناد و تروپین توسط هیپوفیز شرط لازم برای بلوغ اووسیت‌ها و اوولاسیون می باشد و این عمل گناد و تروپین‌ها به کمک هورمونهای استروئیدی مانند ۱۷- آلفاهیدروکسی، ۲۰ - بتادی هیدروکسی پروژسترون و ۱۷ -آلفادی هیدروکسی پروژسترون صورت می‌گیرد.

مطالعات Williot (۱۹۹۷) بر روی تاسماهی بیشتر تاثیر گناد و تروپین‌ها و پروژسترون در بلوغ اووستها را نشان می‌دهد در ماهیان مناطق معتدله، فتوپریود و درجه حرارت از عوامل مهم و تاثیر گذار در گامتوژنز و تخمریزی می‌باشند (Lam,1983). مطالعات Lutes و همکاران (۱۹۸۷) بر روی تاسماهی سفید نشان می‌دهد که سطوح پروژسترون سرم خون در ماهیان ماده‌ای که گنادوتروپین به تخمدان تزریق شده بالاتر از ماده‌هایی بود که تزریق در آنها انجام نشده بود. مطالعه بر روی ماده‌های تاسماهی آتلانتیک نیز نتایج مشابهی داشتند.

هورمون پروژسترون در ماهی قره برون توسط محققین مختلفی اندازه‌گیری شده است. صافی (۱۳۷۷) میزان آنرا پیش از تزریق عصاره هیپوفیز ۰/۵۰ ng/ml (SEM = ۰/۰۶) و پس از تزریق ۰/۴۳ng/ml (SEM =۰/۰۳) گزارش کرده است. بهمنی (۱۳۷۸) میزان آنرا در مرحله صید ۳۳۸/۴ Pg/ml (SEM = ۴۸/۸۵) و در مرحله نگهداری ۱۳۱/ ۹۵ pg/ml (SEM = ۲۱/۵) ذکر کرده است.

www.SID.ir

Archive of SID

در پژوهش حاضر نیز میزان پروژسترون پس از تزریق عصاره هیپوفیز افزایش داشته که این تغییر از لحاظ آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۱۷). در بین چهار تیمار در گروه یک تزریقه گلیسرینه بیشترین افزایش هورمون پروژسترون مشاهده گردید یعنی مقدار آن پنج برابر می‌شود. به طوریکه افزایش هورمون پروژسترون در گروه یک تزریقه گلیسرینه تقریباً دو برابر گروه یک تزریقه سرم فیزیولوژی می‌باشد.

در تیمار دو تزریقه گلیسرینه مقدار آن تقریباً ۶ برابر می‌شود. در حالیکه در تیمار دو تزریقه سرم فیزیولوژی مقدار آن حداکثر سه برابر می‌شود. نتایج حاصله حاکی از آن است که هورمون پروژسترون در تیمارهای گلیسرینه به مقدار بیشتری نسبت به تیمارهای سرم فیزیولوژی افزایش می‌یابد و در تیمارهای گلیسرینه در گروه یک تزریقه این افزایش بیشتر است و اختلاف این دو گروه معنادار می‌باشد (P<۰/۰۴) .

Bukovskaya و Bauunova (۱۹۸۹) در تاسماهی روس ماده در ماه آوریل در محدوده خزر شمالی با غدد جنسی مرحله II رسیدگی میزان پروژسترون را ۴/۷ ng/ml (SEM =۰/۵) گزارش کردند.در حالیکه در تاسماهیان ماده خزر ماهیانی و جنوبی با مرحله II رسیدگی جنسی، میزان پروژسترون کمتر از ۰/۰۵ ng/ml بود. Semenove (۱۹۹۵) بیان می‌کند که اووگونیا و سلولهای مترشحه استروئیدها ۴ ماه پس از تخمریزی شروع به شکل‌گیری در لایه ژرمینال اپیتلیوم می‌کنند. سطوح هورمون پروژسترون در آزاد ماهیان در شروع مهاجرت پایین بوده اما بلافاصله در هنگام تخمریزی بالا می رود. (Kagawa *et al*., 1983 ; Ueda *et al*., 1984 ; Barannikova *et al*., 1989) و پس از تخمریزی مجدداً پایین می‌آید (Mckinley *et al*., 1998).

مشابه به این آزمایش در ماهی ازون‌برون نشان می‌دهد که غلظت گنادوتروپین‌ها و استروئیدهای جنسی در سرم خون طی دوره تخمریزی افزایش یافته و بلافاصله پس از تخمریزی کاهش داشته است (Barannikova *et al*., 1982 ; Barannikova *et al* ., 1984). در تاسماهی روسی ماده هم چنین روندی دیده شده است (Barannikova & Bukovskaya , 1991).

Bukovskaya (۱۹۹۷) به این نتیجه رسید که به دنبال مهاجرت تاسماهیان مولد (تاسماهی روس و ازون‌برون) به داخل رودخانه ولگا در شرایط تولید مثلی و به منظور تولید مثلی سطوح استروئیدهای پلاسما بالا می‌رود به طوری که افزایش هورمونهای گنادوتروپین (GTH) مشاهده می‌شود. یکی از دلایل اساسی در بالا نبودن سطوح E2 و پروژسترون و عدم کسب وضعیت کامل رسیدگی مولدین در شرایط تکثیر مصنوعی، ناکافی بودن شرایط رسیدگی نهایی جنسی تخمک در مولدین ماده است. زیرا بلوغ نهایی تخمک قبل از اوولاسیون بوقوع می‌پیوندد و ناکافی بودن سطوح هورمونها و اثر مضاعف استرس (در هنگام صید و حمل و نقل) منجر به غیرفعال کردن هسته فیزیولوژیک مولدین ماده تاسماهی ایران می‌شود. این در حالی است که عمده مولدین صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر که به منظور بازسازی ذخایر در امر تکثیر مصنوعی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد، مولدین دریایی

www.SID.ir

Archive of SID

محسوب می‌شوند، حتی مولدین صید شده از داخل رودخانه سفیدرود نیز بلافاصله پس از مهاجرت به داخل رودخانه در ابتدای مسیر مهاجرت تولید مثلی صید می‌شوند (بهمنی، ۱۳۷۸الف). از نتایج فوق چنین برمی‌آید که استفاده از گلیسرین به همراه سرم فیزیولوژی در تزریق مولدین ماده تاسماهی ایران موجب افزایش بیشتر ترشح هورمون استرادیول و هورمون ۱۷- آلفادی هیدروکسی پروژسترون نسبت به مولدینی که بوسیله سرم فیزیولوژی تزریق شده‌اند، می‌شود. بخصوص این افزایش در مورد گروههای گلیسرینه کاملاً معنی‌دار است و بالا بودن درصد لقاح (با توجه به شرایط فیزیولوژیک ماهیان) در این گروهها نشاندهندهٔ تاثیر مثبت گلیسرین در امر تکثیر مصنوعی می‌باشد.

تشکر و قدر دانی

با تشکر فراوان از زحمات آقای مهندس یعقوب وهابی معاونت محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و مسئول بخش تکثیر و همچنین کلیه کارکنان این مجتمع و انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در انجام این پژوهش مساعدتهای لازم را نمودند.

منابع

بهمنی، م. ، ۱۳۷۸الف. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPG و HIP سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهیان ایران. رساله دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات . ۲۸۰ صفحه.

بهمنی، م. ، ۱۳۷۸ب. کاربرد ویژگیهای زیستی ماهیان در آبزی پروری از نظر فیزیولوژی تولید مثل. ارائه شده در هشتمین کنفرانس زیست شناسی ایران. دانشگاه رازی کرمانشاه. ۶ صفحه.

صافی. ش. ، ۱۳۷۷. اندازه‌گیری هورمونهای مشابه FSH;LH پروژسترون، استرادپول، تستوسترون در ماهی قره‌برون جهت تفکیک مولدین بارور و نابارور. رساله دکتری، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۸۶ صفحه.

عریان، .ش. ، ۱۳۷۹. جزوه فیزیولوژی ماهی. دوره کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. ۱۰۰ صفحه.

کریم‌آبادی، ع. ، ۱۳۷۹. القاء نهایی رسیدگی تخمک در ماهی قره برون با استفاده از هیپوفیز گلیسرینی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. ۶۰ صفحه.

گلوباکووا، آ.ای. ، ۱۹۹۳. کاربرد فیزیولوژی ماهی در آبزی پروری. ترجمه: ف. حیدرپور و م. بهمنی ، ۱۳۸۰. انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۷۲ صفحه.

www.SID.ir

Archive of SID

Barannikova, I.A. , 1978. Histological foudations on application of repeated and single pituitary injection in sturgeon culture. Tr. VNIRO. Vol. 130, pp.85-22.

Barannikova, I.A. ; Bukovskaya, O.S. ; Efimova, N.A. , 1982. Hormonal control of the reproductive function of sturgeons (Chondrostei). Int. Symp. on the Reproductive Physiology of fish, wageningen, the Netherlands, 2-6 August, 49P..

Barannikova, I.A. ; Bukovskaya, O.S. ; Efimova, N.A. , 1984. Gonadotropin dynamics and conditions of the pituitary gonadotropocytes of sturgeon , *Acipenser guldenstaedti*, with different conditions of the sex glands during the riverine period of life L. Lchthy. Vol. 6, pp.59-66.

Barannikova, I.A. ; Dyubin, V.P. ; Bukovskaya, O.S. , 1989. The gonadotropic function of the hypophysis and the dynamics of gonadotropin and the sex steroid hormones in the blood of fall chum salmon *Oncorhynchus keta* of the Amur River at the completion of the sexual cycle. Voprosy ikhitiologii, Vol. 25, No. 5, pp.823–830.

Barannikova, I.A. ; Bukovskuya, O.S. , 1991. Hormonal control of sturgeon (Acipenseridae) reproduction. Proceedings of the fourth Int. Symp. on the Reproductive Physiology of fish, held at the Uneversity of East Anglia , Norwich , U.K. , 7-12 July, 1991 pp.22-24.

Barannikova , I.A. , 1997. Sex steroids consentration in blood serum of sturgeons and its specific cytosol binding in brain in different stages of migratory cycle . 3th Int . Symp . of Sturgeons , Italy.

Barannikova, I.A. ; Bukovskaya, O.S. ; Boer, A.A. ; Dyubin, V.P. , 1990. Hormonal characteristics of *Acipenser guldenstuealti* at the present srate of the ecosystem of the volgo–Caspian Basin, Fiziologo- Biokhimicheskii status volgo – kaspiiskikh Osetrovuhk v Norme ipri Rassloenii Myshechnoi Thani (The Physiological – Biochemical status of valgo– Caspian Acipenseridae in the norm and at the strafication of the muscular Tissuel, Rybink, pp.100-109.

Barannikova, I.A ; Burstev, I.A ; Alasenko. A.D. , 1995. Sturgeon fisheries in Russia, proc. Intern. Symp. Sturgeons. Moscow: VNIRO. Pp.124-131.

Barannikova, I.A. , 1998. The physiology and biochemistry of sturgeon's course. Int. Stur. Res. Inst. 5-23 Nov. 1998. Rasht, Iran. 78P.

www.SID.ir

Archive of SID

Bukovskaya, O.S. 1997. Endocrine requlation of reprodaction in the Russian and stemate . Stargeons from the Volga. Caspian vegion during natural cycle and ortifical propagation. 3th int. Symp of stargeon Italy.

Bukovskaya, O.S. ; Bayunova, L.V. , 1989. Sex steroids concentration in blood serum of Russian sturgeon during anadromous and diadromous life cycle. Astrakhan: pp.37-38 (In Russian).

Dauan, C. ; Hirano, T. , 1991. Plasma kinetics of growth hormone in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture. Vol. 95, pp.179-188.

Dettlaff, T.A. ; Ginsburg, A..S. ; Schmalhausem, O.I. , 1993. Sturgeon fishes, development biology and aquaculture. Translated from Russian by Gause and Ressetzky. Springer – Verlag. 300P.

Kagawa, H. ; Young, G. and Nagahama, Y. , 1983. Relationship between seasonal plasma estradiol 17-b and testosterone levels and in victro production by ovarian fomides of amago salmon *(oncorhynchus rhodorus)*. Biol Reprod. Vol. 22, pp.301–309.

Kazanskii, B.N. , 1979. Ecological – evoluonary principles of the sturgeon culture organization in the south sea basin of the USSR. *In*: Berdicherskii L.S. (ed), Biological foundtions sturgeon culture development in water bodies of the USSR. Nauka, Moscow. pp.22-23 (in Russian).

Lam, T.L. , 1983. Enrironmental influences on gonadal activity in fish. *In*: Fish physiology, (eds. Hoar *et al.*,). Academic Press. Vol. 9B, pp.65-115.

Lutes, P.B. ; Doroshov, S.I. ; Chapman, F. ; Harrah, J. ; Fitzgerald, R. ; Fitzapatrick, M. , 1987. Morpho-physiological predictors of ovulatory success in white sturgeon *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 66, pp.43 - 52.

Mckinley, S. ; Kraak, G. Van. Der, ; Power, G. , 1998. Seasonal migrations and reproductive patterns in the lake sturgeon, *Acipenser falvescens*, in the ricinity of hydroelectiv stations in northern Ontario. Envirinmental – Biology – of – fishes, Vol. 51, No. 3, pp.245-256.

Moberg, G.P. ; Dorshov, S.I. ; Chapmon, F.A. and Kroll, K.S. , 1991. Efect of various hormone implants on vitellogenin synthesis and ovarian development in culture white

www.SID.ir

Archive of SID

sturgeon (*Acipenser transmontanus*). (Ed. P. Williot), Acioenser, Cemagraf Pub., pp.389-399.

Mojazi Amiri, B. ; Maebayashi, M. and Adachi, Sh. , 1995. Relationship between serum steroid levels and in vitro steroidogenesis by gonads of a hybrid sturgeon, bester, at different developmental stages, Aquaculture, Vol. 135, pp.127-129.

Mojazi Amiri, B. ; Maebagashi, M. ; Adachi. , S. ; Moberg, G.P. ; Doroshov, S.I. ; Yamauchi, K. , 1999. Invitro steroidogenesis by testicular fargments and ovarian follicles in a hybrid sturgeon, bester. Fish - Phisiol. Biochem. Vol. 1, pp.1-14.

Romanov, A.A. ; Shereleva, N.N. , 1992. Disturbances of gonadoyenesis in caspian sturgeons (Acipenseridae), Vopr Lkhtiol., Vol. 32, No. 5, pp.176 –180.

Sato, N. ; Kawazoe, I. ; Shiina, Y. ; Furukawa, K. ; Suzuki, Y. ; Aida, K. , 1995. A novel method of hormone administration for iducing gonadal maturation in fish. Aquaculture. Vol. 135, pp.51-58.

Scott, A.P. ; Sumpter, S.P. ; Hardiman, P.A. , 1983. Hormone changes during ovalotion in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. General and Comparatir Endocrin. Vol. 49, pp.128-134.

Semenov, V.V. , 1995. Recruitment of germ and secretony cells in mature ovaries of the Russian sturgeon, *Acipenser guldenstaediti,* Journal of Ichthy. Vol. 35, No. 8, pp.123-136.

Ueda, H. ; Hiroi, O.S. ; Hara, A. , 1984. Changes in serum concentration of steroid hormones, thyroxine and vitellogenin during spawning migration, of the chum salmon *oncorhynchus keta*. Gen. Comp. Endocrinal. Vol. 53, pp.203-211.

Webb, M.A.H. ; Encennaam, L.P. Van ; Doroshov, S.I. ; Moberg, G.P. , 1999. Preliminary observations on the effects of halding tempruture on reproductive performance of female white sturgeon ,*Acioenser transmontanus*. Richardson Aquaculture, 3-4, pp.315-329.

Williot, P. , 1997. Effect of incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Sibrerian sturgeon (*Acioenser baeri* Brandt) induced by sturgeon gonadotropic preparation or17a, 20B – dihydroxyprogesterone, comp. Iochem. Physiol. Pharmac. Toxic. Endocrin. Vol. 18, No. 3, pp.285-293.

www.SID.ir

Archive of SID
Iranian Scientific Fisheries Journal Vol. 14, Winter 2006

The effects of Glycerinate Hypophysis injection on the fluctuation of steroid hormones on Persian sturgeon (*Acipenser persicus*)

Noroozi M.[1] ; Oryan Sh. [2] and Bahmani M. [3]

nmrhrnoosh@gmail.com

1- Azad University, Tonekabon Branch, P.O.Box: 46817 Tonekabon, Iran

2- Department of Biology, Teacher Training University, Tehran

3- Dr. Dadman International Sturgeon Research Institute, P.O.Box: 41635-3464 Rasht, Iran

Received: May 2003 Accepted: August 2005

Keywords: *Acipenser persicus,* Estroid hormones, Glycerinated Hypophysis

Abstract

Using glycerin as a solvent of hypophysis powder for inducing ovulation in *Acipencer persicus* was studied at Shahid Beheshti Sturgeon Fish Reproduction Complex and Internatinal Sturgeon Research Institue. The experiment was done using four treatments in five replications. In treatment one, the female fish were injected with glycerin, whereas in treatment two, physiologic serum was used for injection. The females in treatment three were given two injections of glycerin, while those of the treatment four received two injections of physiologic serum.

The evaluated factors in the blood serum included 17- β estradiol and 17- α hydroxy progesterone. The biometry factors were measured as well. The fish in treatment one showed higher frequency of fertilization, more concentration of estradiol and progesterone hormones compared to other treatments, although insignificantly. Treatment with one injection of physiologic serum caused the lowest amount of these factors.

The fluidity of ovules in the glycerin treatments were more than physiologic-serum treatments. The ovulation time in the first treatment was shortest. A statistically significant sudden increase in progesterone was detected after hypophysis injection ($P<0.000$). A high correlation between the temperature and the maturation time was observed ($P=0.0001$). The temperature showed a significant correlation with increase in progesterone level ($P=0.005$). The results indicated that glycerinated hypophsis is a more suitable substance for inducing ovulation than physiologic serum

www.SID.ir