مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG) و عصاره هیپوفیز کپور بر سطوح هورمون‌های جنسی، شاخص‌های استرس و کیفیت اسپرماتوزوآ در مولدین نر ماهی سوف سفید *Sander lucioperca*

*اسما گلمرادی‌زاده[۱]، میرمسعود سجادی[۲]، بهرام فلاحتکار[۳]، ایرج عفت‌پناه‌کمایی[۴] و مرتضی حمزه‌نژادبانگودی[۵]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه هرمزگان، [۲]دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه هرمزگان، [۳]گروه شیلات، دانشگاه گیلان، [۴]کارگاه تکثیر و بازسازی ذخائر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور، سیاهکل، گیلان، [۵]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۱

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG) و عصاره هیپوفیز کپور بر سطح استروئیدهای جنسی (تستوسترون، استرادیول و پروژسترون) و شاخص‌های استرس (کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در پلاسمای خون مولدین نر ماهی سوف معمولی انجام شد، علاوه‌بر این، تراکم، تحرک، مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ، درصد اسپرماتوکریت نیز در این مولدین مورد بررسی قرار گرفت. طی آزمایش تأثیر چهار تیمار به همراه تیمار شاهد (اول (شاهد): سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد، دوم: عصاره هیپوفیز به میزان ۳mg/kg BW، سوم: عصاره هیپوفیز به‌میزان ۲mg/kg BW، چهارم: گنادوتروپین به‌میزان ۲۰۰IU/kg BW و پنجم: گنادوتروپین به‌میزان ۳۵۰IU/kg BW) و در هر تیمار ۶ مولد با وزن ۱۲۷۹/۳۳±۰/۲۶g بر پارامترهای یاد شده مورد بررسی قرار گرفت. ۴۸ ساعت پس از تزریق از مولدین اسپرم استحصال شد و جهت سنجش درصد تحرک، مدت زمان تحرک، تراکم اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت به آزمایشگاه منتقل گردید، هم‌چنین سنجش سطوح هورمون‌های

*مسئول مکاتبه: golmoradi2008@gmail.com

جنسی و کورتیزول در پلاسما توسط روش RIA[1](واکنش رقابتی) و گلوکز به روش آنزیماتیک GOD-POD[2]انجام گرفت. اختلاف معنی‌داری در سطوح استروئیدهای جنسی، کورتیزول، گلوکز و لاکتات بین تیمارهای آزمایش وجود نداشت (P>۰/۰۵). کلوگز و کورتیزول در مولدین القا شده توسط سطوح بالای عصاره هیپوفیز کپور (تیمار دوم) در مقایسه با سایر تیمارها میزان بیشتری را در پلاسما نشان دادند (P<۰/۰۵). علاوه بر این تیمارهای آزمایش از نظر تراکم اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت پلاسما تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). هم‌چنین بین تیمارهای آزمایش از نظر درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵) که تیمار پنجم از لحاظ مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ نسبت به سایر تیمارها وضعیت بهتری نشان داد (P<۰/۰۵). این پژوهش نشان داد به‌طور احتمال هورمون گنادوتروپین انسانی (میزان ۳۵۰IU/kg BW) هورمون مناسب‌تری نسبت به عصاره هیپوفیز جهت القا مولدین نر و تولید اسپرم با کیفیت بالاتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ماهی سوف سفید، القای هورمونی، استروئیدهای جنسی، اسپرماتوزوآ

مقدمه

تولید مثل کنترل شده موضوعی مهم و کلیدی در آبزی‌پروری است و یکی از عوامل محدودکننده تولیدمثل، کیفیت گامت‌ها در مولدین نر و ماده می‌باشد. استفاده از گامت‌های با کیفیت بالا در شرایط پرورشی برای اطمینان از تخم‌ریزی با کیفیت و تولید لارو مناسب، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است دمسکا-زاکس و زاکس، ۲۰۰۲؛ زاکس و دمسکا-زاکس، ۲۰۰۵؛ زاکس و زکزپ کووسکی، ۲۰۰۴؛ کوچارکزیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ روناپی، ۲۰۰۷؛ کوربولی و همکاران، ۲۰۰۹؛ میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات روی تأثیر القا هورمونی بر مولدین نر نشان داده است که استفاده از هورمون در مولدین نر باعث افزایش حجم اسپرم تولید شده و تغییرات سطوح استروئیدهای جنسی در پلاسمای این ماهیان می‌شود (پانخورست و کیم، ۱۹۹۱؛ لینهارت و همکاران، ۱۹۹۵؛ کلی واترو کریم، ۱۹۹۸؛ پانخورست و پورتنار، ۲۰۰۰؛ چیاون و همکاران، ۲۰۰۶).

1- Radio Immunoassay
2- Glucose Oxidase–Peroxidase

هورمون‌های تستوسترون و ۱۱- کتوتستوسترون در ماهیان نر با تأثیر بر سلول‌های لایدیک موجب افزایش تولید اسپرماتید می‌شوند، هم‌چنین هورمون پروژسترون نیز با تغییر pH پلاسما در مجرای اسپرم بر موجب افزایش تحرک و تولید اسپرماتوزوآ در این مجرا می‌گردد (کمبل و همکاران، ۱۹۸۰؛ ماتئوز و همکاران، ۲۰۰۳؛ پانخورست و کیم، ۱۹۹۱؛ پانخورست و پورتنار، ۲۰۰۰؛ فلاحتکار و همکاران، ۲۰۱۰). میلوناز و همکاران در سال ۲۰۱۰ عنوان کردند که القای هورمونی در ماهی سوف سفید تأثیر معنی‌داری بر روی سطوح استروئیدهای جنسی (پروژسترون، استرادیول و تستوستزون) ندارد در حالی که مولدین تولید اسپرم می‌نمایند. یارون (۱۹۹۵) و میلوناز و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که هورمون‌های پروژسترون در جنس نر ماهیان در تحرک اسپرماتوزوآ نقش دارد. هورمون‌های کورتیکواستروئیدها هورمون‌هایی هستند از لایه قشری کلیه و از کلسترول به‌وجود می‌آیند. یکی از انواع آنها گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشند که در ماهیان استخوانی کورتیزول می‌باشد و در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین، چربی و تنظیم واکنش‌های سیستم ایمنی نقش دارد (میلا و همکاران، ۲۰۰۹). حضور گیرنده‌های این هورمون‌ها در بافت‌های تولیدمثلی (تخمدان و بیضه) نشان‌دهنده تأثیرات محرک یا بازدارنده کورتیکواستروئیدها در تنظیم عملکردهای تولیدمثلی ماهیان می‌باشد. زمان تولیدمثل تحت کنترل هورمون‌های محرک جنسی بوده در حالی‌که هنوز مکانیسم اثر استرس و شاخص‌های آن بر عملکرد و میزان این هورمون‌ها شناخته نشده است. هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌ها بیان‌گر آن است که تأثیرات استرس بر گونه‌ها و افراد یک گونه نیز متفاوت می‌باشد (وینگ فیلد و گریم، ۱۹۷۷؛ پیکرینگ و کریستی، ۱۹۸۱؛ پانخورست، ۱۹۹۴؛ کوساکاب و همکاران، ۲۰۰۳؛ میلا و همکاران، ۲۰۰۹). در ماهیان میزان کورتیزول پلاسما بسیار متغیر می‌باشد، این هورمون اغلب در فصل تولید مثل و بلافاصله پس از تخم‌ریزی یا خروج اسپرم افزایش می‌یابد (وینگ فیلد و گریم، ۱۹۷۷؛ کوک و همکاران، ۱۹۸۰؛ پیکرینگ و کریستی، ۱۹۸۱؛ برای، ۱۹۸۵؛ کیم و دولبن، ۱۹۸۵؛ کوساکاب و همکاران، ۲۰۰۳).

بلوغ گنادها همراه با تغییرات شاخص‌های سوخت‌وسازی کنترل شده توسط کورتیزول از جمله افزایش تجزیه آمینو اسیدهای کبد و تجزیه گلیکوژن همراه می‌باشد که در نتیجه باعث افزایش تولید کلوگز در واکنش به استرس می‌گردد (پیکرینگ، ۱۹۸۱؛ هو و همکاران، ۲۰۰۱) اگر چه کیفیت گامت‌ها (اسپرم و تخمک) ممکن است بر روی موفقیت لقاح و بقا لارو تأثیر بگذارند، اما صنعت آبزی‌پروری بیشتر بر روی کیفیت تخمک، سلول تخم و لارو متمرکز می‌باشد و به‌ندرت به کیفیت اسپرم

توجه شده است. در بیشتر گونه‌ها کیفیت ضعیف اسپرم می‌تواند یک فاکتور محدودکننده در پرورش آن گونه محسوب شود (بیلارد، ۱۹۸۸؛ باب و لاب،۲۰۱۰؛ میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰؛ ترانجر و همکاران، ۲۰۱۰). آزمایش‌های متعدد نشان داده‌اند که القای هورمونی به‌ویژه استفاده از هورمون‌های محرک جنسی راه‌حل مناسبی جهت بهینه نمودن فرایند تولید اسپرم می‌باشد، علاوه‌بر این در ماهیان موجب تولید اسپرم با حجم و کیفیت بالاتر می‌گردد (ویل و کریم، ۱۹۸۳؛ تاکاشیما و همکاران، ۱۹۸۴؛ رینز و همکاران، ۲۰۰۳؛ دمسکا- زاکس و زاکس، ۲۰۰۶؛ روناى، ۲۰۰۷؛ کوربولی همکاران، ۲۰۰۹؛ میولانز و همکاران، ۲۰۱۰).

یکی از هورمون‌هایی که در پژوهش‌های تخم‌ریزی القایی مورد استفاده قرار می‌گیرد مشتقات تأثیر هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG)[1] است (دمسکا-زاکس و زاکس، ۲۰۰۶؛ روناى، ۲۰۰۷؛ کوربولی و همکاران، ۲۰۰۹؛ میولانز و همکاران، ۲۰۱۰).

ماهی سوف سفید از جمله ماهیان با ارزش دریای خزر می‌باشد که به‌دلیل سرعت رشد بالا و گوشت با کیفیت گزینه‌ای مناسب جهت پرورش می‌باشد. در شرایط محصور ماهی سوف معمولی برای تخم‌ریزی نیازمند آشیان‌گذاری می‌باشد (لانه‌ها عموما از ریشه بید یا مواد مصنوعی تهیه می‌شوند) (کوربولی و همکاران، ۲۰۰۹).

فرآیند تهیه لانه، کنترل آشیان‌ها پس از قرار دادن در استخر و پس از تخم‌ریزی مولدین با مشکلات بسیاری همراه است (کوربولی و همکاران، ۲۰۰۹). این عمل موجب شده که زمان، هزینه و نیروی انسانی زیادی صرف تکثیر ماهی سوف گردد. در حالی که تکثیر مصنوعی فرایند لانه‌گذاری را از چرخه تکثیر ماهی سوف در شرایط محصور حذف نموده و هم‌چنین شرایط تزریق، لقاح مصنوعی و انکوباسیون را می‌توان تحت کنترل در آورد (دمسکا- زاکس و زاکس، ۲۰۰۶). با مدیریت و کنترل شرایط می‌توان تعداد بیشتری لارو ماهی سوف در اختیار داشت. این پژوهش به‌منظور تعیین مقادیر مناسب هورمون‌های گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور جهت القای ماهی سوف سفید و بررسی تأثیر این هورمون‌ها بر تراکم، تحرک، مدت زمان تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت، استروئیدهای جنسی و شاخص‌های استرس در مولدین نر ماهی سوف معمولی انجام شد.

1- Human Chorionic Gonadotropin

مواد و روش کار

مطالعات میدانی این پژوهش از اسفندماه ۱۳۸۸ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۹ در کارگاه تکثیر و بازسازی ذخائر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور در منطقه سیاهکل، واقع در استان گیلان انجام شد. ماهیان مورد استفاده در این پژوهش در فصل پائیز از ذخیره‌گاه طبیعی خود (سد دریاچه ارس) صید و به کارگاه منتقل گردیدند. مولدین در استخرهای دو هکتاری زمستان گذرانی نگهداری و طی این دوره از ماهیانی نظیر بچه ماهیان کپور، کاراس و... تغذیه شدند. در اوایل اسفند ماه، مولدین به حوضچه‌های مدور منتقل گردیدند. سپس در اوایل فروردین ماه ۳۶ مولد نر از مولدین ماده تفکیک شده و جهت توزین و تعیین طول کل زیست‌سنجی شدند. وزن مولدها توسط ترازوی دیجیتال با دقت گرم و طول آنها با تخته زیست‌سنجی و دقت میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. پس از زیست‌سنجی و تفکیک جنس نر از ماده، مولدین ده روز قبل از تزریق تا رسیدن به دمای مناسب آب جهت تزریق در ۵ حوضچه (۱/۹۵ متر قطر، ۰/۴ متر عمق) و در هر حوضچه ۶ مولد به‌منظور سازگاری با شرایط جدید، قرار داده شدند. علاوه‌بر این، ۶ مولد دیگر به حوضچه‌ای جداگانه به‌عنوان ذخیره انتقال یافتند. منبع آب ورودی حوضچه‌ها دارای دبی ۰/۸۸±۲۰ (میانگین± انحراف از معیار) لیتر در دقیقه و حجم آب ۱۱۰۰ لیتر بود. شاخص‌های کیفیت آب به‌طور روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید. در طی دوره آزمایش دمای آب ۰/۴۲±۱۳/۸۳ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول ۰/۰۳±۸/۰۶ میلی‌گرم در لیتر، درجه اشباعیت اکسیژن ۰/۵۶±۹۱/۰۱ درصد و pH آب ۰/۰۴±۸/۱۴ بود.

در طی انجام آزمایش تأثیر پنج تیمار متفاوت بر هورمون‌های جنسی، شاخص‌های استرس و کیفیت اسپرم، مورد بررسی قرار گرفت.

تیمار اول (شاهد): سرم فیزیولوژی ۰/۹٪

تیمار دوم: عصاره هیپوفیز کپور به میزان ۳ mg/kg BW

تیمار سوم: عصاره هیپوفیز کپور به میزان ۲ mg/kg BW

تیمار چهارم: هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG) به‌میزان ۲۰۰ IU/ kg BW

تیمار پنجم: گنادوتروپین انسانی (HCG) به‌میزان ۳۵۰IU/ kg BW

مولدین توسط پودر گل میخک با غلظت ۲۰۰ppm به‌مدت ۲ تا ۳ دقیقه بی‌هوش گردیدند. سپس هورمون‌های آزمایش در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل شده و پس از رساندن به غلظت مورد نظر، مولدین کل میزان هورمون را در یک مرحله و دمای آب ۱۴/۷ درجه سانتی‌گراد دریافت کردند (دمسکا-

زاکس و زاکس، ۲۰۰۶ ؛ کوچارکزیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ کوربولی و همکاران، ۲۰۰۹). تزریق در عضلات پشتی انجام شد (فلاحتکار و همکاران، ۲۰۰۹). پس از تزریق مولدین به حوضچه منتقل و از زمان تزریق مولدین هر دو ساعت یک‌بار به‌منظور تولید اسپرم کنترل گردیدند. به‌طور میانگین ۴۸ ساعت پس از زمان تزریق تیمارهای آزمایش به هورمون پاسخ مثبت دادند. پس از آمادگی مولدین توسط حوله خشک شده و با فشار دست به ناحیه شکمی از آن‌ها اسپرم استحصال شد. خون‌گیری از ناحیه سیاهرگ دمی مولدین و از قسمت انتهایی باله مخرجی آنها صورت گرفت. طی آزمایش دو مرحله خون‌گیری به‌منظور سنجش شاخص‌های مورد نظر قبل از تزریق و پس از استحصال اسپرم انجام شد. با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی لیتر آغشته به هپارین، میزان ۳ میلی لیتر خون از مولدین هر تیمار اخذ و بلافاصله به لوله آزمایش شیشه‌ای انتقال یافت و برای جداسازی پلاسما از سلول‌های خونی توسط سانتریفوژ مدل (Labofuge 2000) شرکت (Heraeus Spatech) ساخت آلمان با ۱۵۰۰ دور و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس با استفاده از پیپت پاستور پلاسما به لوله اپندورف درب‌دار شماره‌گذاری شده منتقل و تا زمان سنجش شاخص‌های مورد نظر درون فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (کوبوکاوا و همکاران، ۱۹۹۹؛ لیستر و همکاران، ۲۰۰۸).

میزان هورمون‌های تستسترون، پروژسترون و استرادیول در پلاسما توسط روش RIA (واکنش رقابتی) با استفاده از دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند و به‌کارگیری کیت Immunothech (کمپانی ایمنوتک مارسل فرانسه) اندازه‌گیری شد. مقادیر کورتیزول به‌روش RIA، واکنش رقابتی بین آنتی‌ژن نشان‌دار شده با ید ۱۲۵ با آنتی‌ژن موجود در نمونه پلاسما جهت اتصال به آنتی‌بادی موجود در فاز جامد با استفاده از دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند و به‌کارگیری کیت Immunothech (کمپانی ایمنوتک شهر مارسل فرانسه) به انجام رسید (کوبوکاوا و همکاران، ۱۹۹۹؛ لیستر و همکاران، ۲۰۰۸).

هم‌چنین مقدار گلوکز پلاسما از روش آنزیماتیک GOD-POD[1] رنگ‌سنجی با کیت Diagnostic Greiner GmbH شرکت گرینر باهلینگن آلمان و به‌صورت اتوماسیون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر شرکت تکنیکون آمریکا سنجش گردید. مقادیر لاکتات از روش آنزیماتیک رنگ‌سنجی با کیت Chemenzyme ساخت ایران و به‌صورت اتوماسیون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر شرکت تکنیکون آمریکا اندازه‌گیری شد (کوبوکاوا و همکاران، ۱۹۹۹؛ لیستر و همکاران، ۲۰۰۸).

1- Glucose Oxidase–Peroxidase

پس از استحصال اسپرم از هر تیمار به‌طور تصادفی سه نمونه اسپرم تهیه و یک قطره از مایع اسپرم بر روی لام قرار داده سپس با یک قطره آب کارگاه رقیق؛ لامل بر روی آن گذاشته شد، درصد تحرک اسپرماتوزوآ زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴ و ۱۰ مشاهده و محاسبه گردید. هم‌چنین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ بلافاصله پس از فعال‌سازی تا متوقف شدن حرکت آن، با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ مشاهده و توسط کرنومتر ثبت شد. به‌منظور سنجش غلظت اسپرماتوزوآ از هر تیمار به‌صورت تصادفی سه نمونه اسپرم استحصال و به لوله‌های آزمایش شیشه‌ای منتقل گردید. نمونه‌ها درون یخ (صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد) قرار داده و به‌منظور تعیین تراکم بلافاصله به انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انتقال داده شد (علوی و همکاران، ۲۰۰۷). به‌منظور تعیین تراکم اسپرماتوزوآ ۱ میلی‌لیتر از مایع اسپرم با ۸ میلی‌لیتر آب رقیق‌سازی گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر از اسپرم رقیق شده روی لام هموسیتومتر با دقت ۰/۰۰۲۵± میلی‌متر مربع گذاشته و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ مشاهده و تعداد اسپرماتوزوآ در چهار خانه از لام به‌طور تصادفی شمارش شد. علاوه‌بر این، درصد اسپرماتوکریت از روش سانتریفوژ کردن مایع سمینال محاسبه شد. به این منظور لوله‌های موئینه میکروهماتوکریت از مایع اسپرم پر شد سپس یک طرف آن توسط خمیر مخصوص مسدود و با دور ۸۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ گردید (علوی و همکاران، ۲۰۰۷).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش از نظر پارامترهای مربوط به کیفیت اسپرماتوزوآ با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و شاخص‌های استرس و سطوح استروئیدهای جنسی توسط آزمون Independent samples t-test مقایسه گردیدند. جداول و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنف مشخص گردید. سپس جهت تعیین همبستگی و ارتباط بین افزایش سطح کورتیزول با گلوکز خون از آزمون همبستگی پیرسون، و جهت مقایسه اختلاف میانگین پارامترهای به‌دست آمده از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از زیست‌سنجی مولدین در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- زیست‌سنجی مولدین نر ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) در تیمارهای مختلف آزمایش (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار / شاخص	سرم فیزیولوژی	عصاره هیپوفیز کپور		گنادوتروپین انسانی	
	٪۰/۹	۳mg/ kg BW	۲mg/ kg BW	۲۰۰IU/kg BW	۳۵۰IU/kg BW
	شاهد (تیمار۱)	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵
وزن بدن (گرم)	۱۲۶۵/۰۰±۰/۱۲	۱۲۱۸/۰۱±۰/۲۲	۱۲۴۸/۳۳±۰/۲۶	۱۲۶۰/۰۰±۰/۲۳	۱۲۳۵/۰۱±۰/۳۱
طول‌کل‌بدن(سانتی‌متر)	۲۸/۱±۰/۰۵	۲۹/۱±/۰۹	۲۵/۱±۰/۱۲	۲۲/۱±۰/۱۳	۲۳/۱±۰/۱۵

نتایج مربوط به سنجش سطوح استروئیدهای جنسی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که سطوح تستوسترون قبل و پس از تزریق در تیمارهای اول، سوم، چهارم و پنجم اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). تیمار دوم پس از استحصال اسپرم از نظر سطح تستوسترون با زمان شروع آزمایش اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که از نظر سطوح پروژسترون پلاسمای خون مولدین نر سوف معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش در زمان‌های مختلف قبل از تزریق و پس از استحصال اسپرم از مولدین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان داد که سطح استرادیول در تیمارهای مختلف آزمایش متناسب با زمان‌های مختلف قبل از تزریق و پس از استحصال اسپرم از مولدین با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲- نتایج به‌دست آمده از مقادیر استروئیدهای جنسی (تستسترون، پروژسترون و استرادیول) در تیمارهای مختلف در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*)

زمان خون‌گیری	شروع آزمایش	پس از تزریق و استحصال اسپرم				
تیمار / شاخص	قبل از تزریق	سرم‌فیزیولوژی	عصاره هیپوفیز کپور		گنادوتروپین انسانی	
		٪۰/۹	۳ mg/ kg BW	۲ mg/kg BW	۲۰۰ IU/kg BW	۳۵۰ IU/kg BW
		شاهد(تیمار۱)	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵
تستوسترون (ng/ml)	۰/۲۴±۰/۰۹	۰/۰۹±۰/۰۴	۲۱/۳۷±۱/۷۷*	۱۳/۲۳±۰/۴۰	۴/۸۷±۰/۰۹	۱۲/۴۷±۰/۵۵
پروژسترون (ng/ml)	۰/۲۲±۰/۰۵	۰/۲۱±۰/۰۱	۰/۴۴±۰/۰۳	۰/۴۴±۰/۰۲	۰/۵۴±۰/۰۳	۰/۴۷±۰/۰۲
استرادیول (ng/ml)	۲۰/۳۳±۲/۳۳	۲۱/۶۷±۲/۳۳	۲۲/۴۷±۱/۹۲	۲۴/۱۳±۰/۵۵	۱۹/۰±۴/۰۴	۲۰/۳۷±۱/۴۳

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش در آزمون t-test می‌باشد (P<۰/۰۵).

* داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

نتایج مربوط به سنجش شاخص‌های استرس در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان کورتیزول با توجه به نتایج در تیمارهای مختلف مورد استفاده در القای مولدین نر ماهی سوف معمولی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). میزان کورتیزول و کلوگز در پلاسمای مولدین تیمارهای آزمایش به غیر از تیمار شاهد نسبت به زمان قبل از تزریق افزایش یافت. نتایج نشان داد که از لحاظ مقدار گلوکز پلاسمای خون در تیمارهای آزمایش قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده از آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین افزایش کورتیزول با افزایش گلوکز در خون ماهی سوف معمولی وجود داشت (r=۰/۶۵۷، P<۰/۰۵). با توجه به نتایج، میزان لاکتات در پلاسمای خون ماهیان نر سوف معمولی در تیمارهای مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که؛ بین تیمارهای آزمایش از لحاظ شاخص تراکم اسپرماتوزوآ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>۰/۰۵) (جدول ۴). تراکم اسپرماتوزوآ در تیمارهای دوم، سوم، چهارم و پنجم با یکدیگر و نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۳- نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های استرس (کورتیزول، گلوکز ولاکتات) در تیمارهای مختلف در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*)

زمان خون‌گیری	شروع آزمایش	پس از تزریق و استحصال اسپرم				
تیمار	قبل از تزریق	سرم‌فیزیولوژی	عصاره هیپوفیز کپور		گنادوتروپین انسانی	
		٪۰/۹	۳mg/kg BW	۲ mg/kg BW	۲۰۰IU/kg BW	۳۵۰IU/kg BW
شاخص		شاهد (تیمار۱)	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵
کورتیزول (ng/ml)	۵۲/۳۲±۳/۳۹	۷۸/۳۳±۱۲/۸۷	۳۰۶/۰±۱۱/۷۰	۲۵۵/۳۳±۱۱/۸۹	۲۱۴/۶۷±۹/۵۷	۶۰۸/۰±۱۲/۲۸
گلوکز (mg/dl)	۱۸۴/۰±۲/۲۱	۱۲۰/۰±۶/۴۳	۲۱۸/۰±۱۳/۱۱	۲۹۸/۳۳±۶/۰۹	۲۸۸/۰۹±۹/۷۱	۳۲۶/۳۳±۱۴/۸۴
لاکتات (mg/dl)	۴۴/۶۷±۲/۷۲	۲۰/۶۷±۸/۰۹	۲۲/۶۷±۲/۳۳	۶۲/۰±۱/۷۳	۳۳/۰±۲/۶۵	۳۶/۰±۲/۶۴

*نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش در آزمون t-test می‌باشد (P<۰/۰۵)

*داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

میزان درصد اسپرماتوکریت با توجه به نتایج در تیمارهای مورد استفاده در القای مولدین نر ماهی سوف معمولی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) (جدول ۴). در بین تیمارهای دوم، سوم، چهارم و پنجم با یکدیگر و نسبت به گروه شاهد از نظر درصد اسپرماتوکریت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج آزمایش نشان داد که مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ در تیمارهای مختلف آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۴). در این آزمایش تیمار پنجم از لحاظ مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ بالاتر بود و نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). بین تیمارهای دوم، سوم، چهارم و شاهد از نظر مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که درصد تحرک اسپرماتوزوآ در بین تیمارهای مختلف آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) (جدول ۴). هم‌چنین تیمارهای دوم، سوم، چهارم و شاهد درصد تحرک اسپرماتوزوآ متفاوتی را نسبت به یکدیگر نشان ندادند (P>۰/۰۵)، درصد تحرک اسپرماتوزوآ در سطح بالای هورمون گنادوتروپین انسانی (تیمار پنجم) نسبت به تیمارهای سوم و شاهد آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵) اما با تیمارهای دوم و چهارم تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۴- نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های تراکم، درصد اسپرماتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ در تیمارهای مختلف در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca*) (میانگین ± انحراف از معیار)

تیمار / شاخص	سرم فیزیولوژی	عصاره هیپوفیز کپور		گنادوتروپین انسانی	
	٪۰/۹	۲ mg/kg BW	۳ mg/kg BW	۲۰۰IU/kg BW	۳۵۰ IU/kg BW
	شاهد (تیمار۱)	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵
تراکم اسپرماتوزوآ (میلیارد در میلی‌لیتر)	۲/۲۷±۰/۵۲	۳/۰۸±۰/۷۹	۴/۳۳±۰/۵۴	۲/۲۲±۰/۱۹	۳/۶۷±۰/۷۷
اسپرماتوکریت (درصد)	۴۰/۶۶±۶/۱۷	۳۵/۳/۴۸	۶۴/۶۶±۱۰/۷۳	۳۲/۶۶±۴/۸۱	۶۶/۶۶±۳/۵۲
مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ (دقیقه)	۱/۶۷±۰/۲۶[a]	۲/۲۹±۰/۱۱[a]	۲/۲۲±۰/۱۹[a]	۱/۵۷±۰/۱۲[a]	۳/۳۲±۰/۲۳[b]
تحرک اسپرماتوزوآ (درصد)	۵۱/۶۶±۴/۴۰[ab]	۴۶/۶۶±۵/۲۳[a]	۶۶/۶۷±۲/۷۳[ab]	۶۹/۰۰±۷/۵۰[b]	۹۳/۳۳±۲/۶۷[c]

حروف انگلیسی غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در آزمون توکی می‌باشد(P<۰/۰۵).

* داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که سطوح استروئیدهای جنسی در مولدین نر ماهی سوف معمولی پس از القای هورمونی نسبت به زمان شروع آزمایش تفاوت معنی‌دار نداشت. مولدینی که به‌میزان ۳mg/kg BW هیپوفیز تزریق شده بودند میزان تستوسترون بالاتری را نشان دادند. اکستین و همکاران (۱۹۷۸) بیان کردند که استفاده از میزان ۴۰۰ IU/kg BW از هورمون HCG به‌صورت یک مرحله‌ای در ماهی تیلاپیا *T. leucostica* باعث افزایش سطح ۱۱- کتوتستسترون در پلاسما در مراحل اولیه تولید اسپرم در این ماهی می‌شود. فلاحتکار و همکاران (۲۰۱۰) عنوان کردند که استفاده از هورمون‌های HCG، CPE، $LHRH_{a2}$ در مولدین نر ماهی سوف سفید تأثیری بر سطوح استروئیدهای جنسی ندارد به‌رغم آن باعث تولید اسپرم در این مولدین می‌شود. در این مطالعه نیز همانند سایر مطالعات سطوح استروئیدهای جنسی در تمامی تیمارها پس از تزریق هورمون نسبت به تیمار شاهد و زمان آغاز آزمایش افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار نبود. به‌طور کلی می‌توان گفت که، استفاده از هورمون‌های محرک جنسی در تحریک اسپرم‌زایی به‌دلیل تأثیر آنها بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد باعث تغییر سطوح هورمون‌های جنسی در ماهیان می‌شود (میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰).

میزان تغییرات هورمون‌های جنسی در ماهیان به نوع و میزان هورمون، روش استفاده از هورمون، نوع گونه، شرایط محیط نگهداری مولدین و مرحله تکامل تولید مثلی مولدین بستگی دارد (میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰). این مطالعه نشان داد که میزان استرادیول در تیمارهای آزمایش پس از تزریق و استحصال اسپرم نسبت به تیمار شاهد و زمان شروع آزمایش اختلاف معنی‌دار نداشت. میلوناز و همکاران (۲۰۱۰) عنوان کردند که؛ فعالیت استرادیول در مراحل ابتدایی چرخه تولید اسپرم (تولید اسپرماتوسیت ثانویه) می‌باشد و پس از آن سطح استرادیول کاهش می‌یابد؛ با افزایش سطوح تستسترون و کتوتستسترون تولید اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در ماهیان تحریک می‌گردد. در تمامی تیمارها میزان هورمون استرادیول در پایان آزمایش نسبت به شروع آزمایش تفاوت معنی‌دار نداشته است. به‌طور احتمال تغییرنکردن سطح استرادیول پلاسمای خون در مولدین نر ماهی سوف معمولی به این دلیل می‌باشد که این مولدین در زمان شروع آزمایش ذخیره‌سازی اسپرم و مراحل اولیه اسپرم‌زایی را طی کرده بودند (میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰).

نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که در بین تیمارهای آزمایش میزان کورتیزول و گلوکز پس از تزریق و استحصال اسپرم افزایش یافت. فلاحتکار و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که در ماهی سوف سفید تیمارهایی که با هورمون‌های گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور تزریق شده بودند

میزان کورتیزول و گلوکز افزایش یافت. آزمایشات نشان داده اند که میزان کورتیزول در پلاسمای خون ماهیان در زمان تخم‌ریزی افزایش می‌یابد (وینگفیلد و گریم، ۱۹۷۷؛ پیکرینگ و کریستی، ۱۹۸۱؛ کوساکابه و همکاران، ۲۰۰۳).

صید، حمل و نقل و گرفتن خون از ماهیان ممکن است باعث ایجاد استرس در آنها شده و بر گردش هورمون‌ها تأثیر بگذارد (گرینبرج و وینگفیلد، ۱۹۸۷؛ کاراقر و سامپتر، ۱۹۹۰)، هم‌چنین کنترل مولدین به‌منظور تعیین زمان رسیدگی و استحصال اسپرم توسط دست نیز می‌تواند بر استرس مولد افزوده و موجب افزایش سطح کورتیزول پس از تکثیر مصنوعی گردد. نتایج نشان‌دهنده سطوح بالای شاخص‌های استرس در پلاسما پس از گذشت ۴۸ ساعت را می‌توان ناشی از دست‌کاری و تزریق هورمون دانست. در این مطالعه میزان گلوکز پلاسما در مولدین نر ماهی سوف معمولی پس از استحصال اسپرم نسبت به زمان قبل از تزریق افزایش یافت، هم‌چنین اطلاعات به‌دست آمده از پژوهش کنونی نیز نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین میزان گلوکز پلاسما با کورتیزول در مولدین نر ماهی سوف معمولی وجود دارد. افزایش سطح کورتیزول به‌عنوان یک محرک برای شروع دومین عکس‌العمل بدن ماهی به عامل استرس‌زا می‌باشد، تولید کورتیکواستروئیدها باعث تجزیه ذخیره انرژی و گلیکوژن در کبد می‌گردد که به دنبال تجزیه گلیکوژن میزان گلوکز در پلاسمای خون ماهیان افزایش می‌یابد (توماس و نف، ۱۹۸۵؛ ویجایان و همکاران، ۱۹۹۷). در این پژوهش نیز همانند سایر مطالعات با افزایش میزان کورتیزول، گلوکز پلاسما در مولدین نر سوف معمولی افزایش یافت. به‌طور کلی می‌توان گفت که؛ بلوغ گنادها همراه با تغییرات شاخص‌های سوخت‌وسازی کنترل شده توسط کورتیزول از جمله افزایش تجزیه آمینواسیدهای کبد و تجزیه گلیکوژن همراه می‌باشد که در نتیجه باعث افزایش تولید کلوگز در واکنش به استرس می‌گردد (کوزاکابه و همکاران، ۲۰۰۳).

نتایج به‌دست آمده نشان داد که بین تیمارهای آزمایش از لحاظ شاخص تراکم اسپرماتوزوآ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. آزمایشات نشان داده‌اند که استفاده هورمون‌هایی مانند GnRHa و گنادوتروپین انسانی بر تراکم، تحرک، مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت تأثیر نداشته‌اند و بیشتر حجم اسپرم تولید شده در اثر تغییر سطوح هورمون‌های جنسی و جذب آب توسط اسپرم بیشتر شده است (کلمنس و گرانت، ۱۹۶۵؛ پانخورست و کیم، ۱۹۹۱؛ لینهارت و همکاران، ۱۹۹۵؛ کلیواتر و کریم، ۱۹۹۸؛ پانخورست و پورتنار، ۲۰۰۰؛ چیاون و همکاران، ۲۰۰۶). به‌طور کلی می‌توان گفت که استفاده از هورمون بیشترین تأثیر را بر روی حجم اسپرم تولید شده می‌گذارد و کیفیت اسپرم از جمله

تراکم اسپرماتوزوا به عواملی مانند: کنش‌های متقابل بین عوامل ژنتیکی، فیزیولوژی و شاخص‌های محیطی، دمای آب و محیط نگه‌داری مولد، دوره نوری، شوری، سن، تغذیه مولدین، فصل تولید مثل، استرس، عوامل بیماری‌زا (ویروس، باکتری، قارچ)، آلاینده‌های محیطی و تغذیه‌ای بستگی دارد (میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات بر روی تأثیر القا هورمونی مولدین نر نشان داده است که استفاده از هورمون در مولدین نر باعث افزایش حجم اسپرم تولید شده و تغییرات سطوح استروئیدهای جنسی در پلاسمای این ماهیان می‌شود و بر روی دیگر ویژگی‌های اسپرم مانند تراکم، درصد تحرک اسپرماتوزوا و درصد اسپرماتوکریت تأثیری ندارد (پانخورست و کیم،۱۹۹۱؛ لینهارت و همکاران، ۱۹۹۵؛ کلیواتر و کریم، ۱۹۹۸؛ پانخورست و پورتنار، ۲۰۰۰؛ چیاون و همکاران، ۲۰۰۶).

نتایج به‌دست آمده از پژوهش کنونی نشان داد که از لحاظ درصد تحرک اسپرماتوزوآ بین تیمارهای مختلف آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود داشت. مولدین تیمارهای گنادوتروپین انسانی و میزان بالای عصاره هیپوفیز کپور (۳mg/kg BW)، بالاترین میزان تحرک را نسبت به سایر تیمارهای آزمایش نشان دادند.

از آن‌جایی‌که منابع تولید انرژی در اسپرماتوزوآ ماهیان محدود می‌باشند، اسپرماتوزوآ در آنها برخلاف پستانداران و خزندگان در بیضه و مجرای اسپرم بر غیرفعال و غیرمتحرک بوده، هم‌چنین میزان اسمولاریته و ترکیبات پلاسمای مایع سمینال به‌طور معمول از تحرک اسپرماتوزوآ در مجرای اسپرم بر و بیضه جلوگیری می‌نماید. پس از رها شدن اسپرماتوزوآ به محیط‌های آبی یا استحصال آن در لقاح مصنوعی غلظت یونی، فشار اسمزی و pH از عوامل حیاتی و مؤثر بر تحرک اسپرماتوزوآ می‌باشند. به‌طوری‌که این عوامل ممکن است ظرفیت تاژک اسپرماتوزوآرا برای تحرک تحت‌تأثیر قرار داده و موجب تحریک حرکت تاژک اسپرماتوزوآ گردند (بیلارد، ۱۹۸۶؛ رانگ وا و همکاران، ۲۰۰۴؛ علوی و کازون، ۲۰۰۶). میلوناز و همکاران (۱۹۹۷) عنوان کردند که به‌کار بردن GnRHa به روش کاشت در ماهی باس سفید (*Morone chrysops*) هیچ‌گونه تأثیری بر روی تحرک اسپرماتوزوآ نداشت. مطالعات نشان داده‌اند که هورمون پروژسترون باعث افزایش pH مایع سمینال در مجرای اسپرم بر می‌شود که از طریق این تغییر در pH موجب افزایش درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ می‌گردد (یارون، ۱۹۹۵؛ ورمیرسن و همکاران، ۲۰۰۴). در این پژوهش مولدین تیمار پنجم (kg BW

IU/ ۳۵۰)، بالاترین میزان تحرک را نسبت به سایر تیمارهای آزمایش نشان دادند. آزمایشات نشان داده‌اند درصد تحرک اسپرماتوزوآ با توجه به نوع هورمون، میزان هورمون و روش مورد استفاده، گونه ماهی و زمان استفاده می‌تواند متغیر باشد. علاوه‌بر این میزان اسمولاریته، pH و ترکیبات پلاسمای مایع سمینال نقش اساسی در تحرک اسپرماتوزوآ به عهده دارد و با توجه به این‌که هورمون پروژسترون باعث افزایش pH مایع سمینال در مجرای اسپرم‌بر می‌شود که از طریق این تغییر در pH موجب افزایش درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ می‌گردد (میلوناز و همکاران، ۲۰۱۰).

به‌طور احتمال اسپرماتوزوآ تولید شده توسط مولدین تیمارهای گنادوتروپین انسانی به دلایل یاد شده درصد تحرک بالاتری را نشان داده است. هم‌چنین در این آزمایش با افزایش میزان عصاره هیپوفیز کپور (تیمار دوم) درصد تحرک نیز افزایش یافت، به‌طور احتمال مقدار هورمون مورد استفاده نیز نقش مهمی در درصد تحرک اسپرماتوزوآ به عهده دارد. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ در ماهیان نر سوف معمولی در بین تیمارهای مختلف آزمایش با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت. مولدینی که تحت‌تأثیر هورمون گنادوتروپین انسانی قرار داشتند، بالاترین مدت زمان تحرک را نسبت به سایر تیمارهای آزمایش نشان دادند. کلیواتر و کریم در سال ۱۹۹۸ بیان کردند که، به‌کار بردن GnRHa در ماهی *Pleuronectes ferrugineus* بر روی مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ مؤثر بود. میزان تحرک و مدت زمان تحرک به میزان انرژی اسپرماتوزوآ نیز بستگی دارد. به‌طور احتمال تأثیر ضعیف و گاهی منفی هورمون‌ها را بر روی تحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ با عواملی مانند دمای محیط، pH، میزان انرژی اسپرماتوزوآ مرتبط می‌باشد. اما در این پژوهش تیمار چهارم (۳۵۰IU/kg BW) به‌طور احتمال به دلیل سطح بالا پروژسترون و تأثیر بر pH مایع سمینال مدت زمان تحرک بیشتری را نشان داده است.

آزمایش‌ها نشان داده‌اند که استفاده از هورمون گنادوتروپین انسانی در تحریک مولدین و تولید اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان موفقیت‌آمیز بوده است (استیسی و پتر، ۱۹۷۹؛ دونالدسون و هانتر، ۱۹۸۳؛ اوهتا و تاناکا، ۱۹۹۷؛ پانخورست، ۱۹۹۴؛ کاکوت و همکاران، ۲۰۰۳؛ فلاحتکار و همکاران، ۲۰۱۰، ۲۰۰۹).

نتایج به‌دست آمده از میزان پاسخ مولدین به هورمون، شاخص‌های استرس و استروئیدهای جنسی در مولدین سوف نشان داد هورمون گنادوتروپین به‌منظور القای هورمونی این گونه و علاوه‌بر این به‌دلیل ارزان و قابل دسترس بودن هورمون گنادوتروپین نسبت به عصاره هیپوفیز مناسب‌تر می‌باشد.

هم‌چنین با استناد به نتایج به‌دست آمده از سنجش کیفیت اسپرماتوزوآ در مولدین نر سوف معمولی در پژوهش نشان داد که به‌طور احتمال میزان ۳۵۰IU/kg BW هورمون گنادوتروپین انسانی جهت القا مولدین نر ماهی سوف سفید و تولید گامت با کیفیت بالاتر مناسب می‌باشد.

سپاسگزاری

به این وسیله لازم است از مساعدت آقای مهندس مرتضی حمزه‌نژاد، هم‌چنین زحمات پرسنل محترم کارگاه تکثیر و بازسازی ذخائر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور- سیاهکل که در مراحل مطالعات میدانی صمیمانه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمائیم. هم‌چنین از آقای مهدی ملکی و مهندس نویری به‌منظور همکاری در مراحل آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌نمائیم.

منابع

1.Alavi, H.S.M. and Cosson, J. 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: a review. Cell Biology International. 30: 1-14.
2.Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M. and Linhart, O. 2007. Semen of (*Perca fluviatilis*): Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. Theriogenology. 68: 276-283.
3.Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Reproduction Nutrition and Development. 26: 877-920.
4.Billard, R. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology14: 3-21.
5.Bobe, J. and Labbe, C 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology. 165: 535-548.
6.Bry, C. 1985. Plasma cortisol levels of female rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at the end of the reproductive cycle: relationship with oocyte stages. General and Comparative Endocrinology. 57: 47-52.
7.Campbell, C.M., Fosteir, A., Jalabert, B. and Truscott, B. 1980. Identification and quantification of steroids in the serum of rainbow trout during spermiation and oocyte maturation. Journal of Endocrinology. 85:171-195.
8.Carragher, J.F. and Sumpter, J.P. 1990. The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. General and Comparative Endocrinology. 77: 403-407.
9.Cacot, P., Eeckhoutte, P., Muon, D.T., Trieu, N.V., Legendre, M., Mariojouls, C. and Lazard, J. 2003. Induced spermiation and milt management in (*Pangasius bocourti*). Aquaculture. 215: 67-77.

10. Clearwater, S.J. and Crim, L.W. 1998. Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). Fish Physiology and Biochemistry. 19: 349-357.
11. Clemens, H.P. and Grant, F.B. 1965. The seminal thinning response in carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) after injections of pituitary extracts. Copie. 174-177.
12. Cook, A.F., Stacey, N.E. and Peter, R.E. 1980. Periovulatory changes in serum cortisol levels in the goldfish (*Carassius auratus*). General and Comparative Endocrinology. 40: 507-510.
13. Demska-Zakes, K. and Zakes, Z. 2002. Controlled spawning of pikeperch (*Sti-zostedion lucioperca*) in lake cages. Czech Journal of Animal Science. 47: 230-238.
14. Demska-Zakes, K. and Zakes, Z. 2006. Induction of testis-ova in pikeperch (*Sander lucioperca*). Exposed to 4-nonylphenol. Archive of Publish Fishery. 14: 29-39.
15. Donaldson, E.M. and Hunter, G.A. 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.), Fish Physiology. Academic Press, New York, USA, Pp: 351-403.
16. Eckstein, B., Abraham, M. and Zohar, Y. 1978. Production of striod hormones by male and female gonads of (*Sparus aurata*) (Teleostei: Sparidae). Comprative Biochemistry and Physiology. 60: 93-97.
17. Falahatkar, B., Poursaeid, S., Efatpanah, I., Ranaye Akhavan, S., Meknatkhah, B. and Arzboo, Z. 2009. Induction of spawning pikeperch (*Sander lucioperca*) in response to various hormones. Aquaculture Europe 2009. 15-18 August, Trondheim, Norway.
18. Falahatkar, B., Poursaeid, S., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. and Ershad Langroudi, H. 2010. Effect of hormonal treatment on induced spermation, ovulation and striods changes in Eurasian pikeprck (*Sander lucioperca*). Aquaculture Europe 2010. 5-8 October.
19. Greenberg, N. and Wingfield, J.C. 1987. Stress and reproduction: reciprocal relationships. In: Norris, D.O. and Jones, R.E. (Eds.), Hormones and Reproduction in fishes, Amphibians and Reptiles. Plenum, New York.1: 451-505.
20. Hou, Y.Y., Han, X.D. and Yuzuri, S. 2001. Annual changes in plasma levels of cortisol and sex steroid hormones in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Chinese Journal of Oceanography and Limnology. 19: 217-221.
21. Kime, D.E. and Dolben, I.P. 1985. Hormonal changes during induces ovulation of the carp (*Cyprinus carpio*). General and Comparative Endocrinology. 58: 137-149.

22.Korbuly, B., Grozea, A., Ada Cean, I., Banatean-Dunea, N. and Pacala, P. 2009. Preliminary study on the efficiency of several ovulation inducing hormones of pikeperch (*Sander lucioperca*). Zootehnie Ši Biotehnologii. 42(2): 59-64.
23.Kucharczyk, D., Kestemont, P. and Mamcarz, A. 2007. Artificial Reproduction of pikeperch. Olsztyn. 80p.
24.Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A. and Wyszomirska, E. 1998. Induced spawning in perch (*Perca fluviatilis*) using FSH+LH with pimozide or metoclopramide. Aquaculture Research. 29: 131-136.
25.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: 335-349.
26.Kusakabe, M., Nakamura, I. and Young, G. 2003. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase complementary deoxyribonucleic acid in rainbow trout: cloning, sites of expression, and seasonal changes in gonads. Endocrinology. 144: 2534-2545.
27.Linhart, O., Peter, R.E., Rothbard, S., Zohar, Y. and Kvasnicka, P. 1995. Spermiation of common tench (*Tinca tinca*) stimulated with injection or implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. Aquaculture. 129: 119-121.
28.Lister, A., Nero, V., Farwell, A., Dioxn, D.G. and Van Der Kraak, G. 2008. Reproductive and stress hormone levels in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. Aquaculture Toxicology. 87: 170-177.
29.Mateos, J., Mananos., E., Martinez-Rodriguez, G., Carillo, M., Querat, B. and Zanuy, S. 2003. Molecular characterization of sea bass gonadotropin sub units (α, FSHβ and LHβ) and their expression during the reproductive cycle. General Comparative Endocrinology. 133: 216-232.
30.Milla, S., Wang, N.S., Mandiki, N.M. and Kestemont P. 2009. Corticosteroids: Friends or foes of teleost fish reproduction; A review. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 153: 242-251.
31.Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y. and Zohar, Y. 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHa delivery system. Aquaculture. 153: 301-311.
32.Mylonas, C.C., Fostier, A. and Zanuy, S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulation of reproduction. Aquaculture. 165: 516-534.
33.Ohta, H. and Tanaka, H. 1997. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin (HCG) and 11-ketotestosterone after a single injection of hCG and induced maturity in the male Japanese eel (*Anguilla japonica)*. Aquaculture. 153: 123-134.
34.Pankhurst, N.W. and Kime, D.E. 1991. Plasma sex steroid levels in male blue cod (*Parapercis colias)* (Pinguipedidae) sampled underwater during the

spawning season. Australian Journal of Marine and Freshwater Research. 42:129-137.
35. Pankhurst, N.W. 1994. Effects of gonadotropin releasing hormone analogue, human chorionic gonadotropin and gonadal steroids on milt volume in the New Zealand snapper (*Pagrus auratus)*. Aquaculture. 125:185-197.
36. Pankhurst, N.W. and Poortenaar, C.W. 2000. Milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*) following treatment with exogenous hormones. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 33:141-159.
37. Pickering, A.D. 1981. Introduction on concept of biological stress. In: Pickering, A.D. (Eds), stress and Fish. Academic Press. London, Pp: 1-9.
38. Pickering, A.D. and Christie, P. 1981. Changes in the concentrations of plasma cortisol and thyroxine during sexual maturation of the hatchery-reared brown trout (*Salmo trutta)*. General Comparative Endocrinology. 44: 488-496.
39. Rains, S., Mylonas, C.C., Kyriakou, Y. and Divanch, P. 2003. Enhancement of spermiation in European sea bass (*Dicentrachus labrax*) at the end of reproductive season using GnRha implants. Aquaculture. 219: 873-890.
40. Ronyai, A. 2007. Induced out-off-season and seasonal tank spawning and stripping of pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research. 38: 1144-1158.
42. Rurangwa, E., Kime, D.E., Olliver, F. and Nash, J.P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture. 324:1-28.
43. Stacey, N.E. and Peter, R.E. 1979. Central action of prostaglandins in spawning behavior of female gold fish. Physiology and Behavior. 22: 1191-1196.
44. Schiavone, R., Zilli, L., Villela, S. and Fauvel, C. 2006. Human chorionic gonadotropin induces spermatogenesis and spermiation in 1-year-old European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Assessment of sperm quality. Aquaculture. 255: 522-531.
45. Takashima, F., Weil, C., Billard, R., Crim, L.W. and Fosteir, A. 1984. Stimulation of spermiation by LHRH analoguein Carp. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 50: 1323-1329.
46. Thomas, P. and Neff, J.M. 1985. Plasma corticosteroid and glucose responses of pollutants in striped mullet: different effects of naphthalene, benzo_*a*.pyrene and cadmium exposure. In: Thurberg, F.P., Calabrese, A., Vernberg, F.J., Vernberg, W.B._Eds.., Marine Pollution and Physiology: Recent Advances. University of South Carolina Press, Colombia. Pp: 63–82.
47. Tranger, G.L., Carillo, M., Schulz, R.W., Fontanine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltezien, F.A., Daufor, S., Karelson, Ø., Norberg, B., andersson, E. and Hansen, T. 2010. Control of puberty in farmed fish. Aquaculture. 165: 483-515.
48. Vermeirssen, E.L.M., Mazorra de Quero, C., Shields, R.J., Norberg, B., Kime, D.E. and Scott, A.P. 2004. Fertility and motility of sperm from Atlantic halibut

(*Hippoglossus hippoglossus*) in relation to dose and timing of gonadotrophin-releasing hormone agonist implant. Aquaculture. 230: 547-567.
50. Vijayan, M.M., Pereira, C., Grau, E.G. and Iwama, G.K. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. Comparative Biochemistry and Physiology. 116: 89-95.
51. Weil, C. and Crim, L.W. 1983. Administration of LHRH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in prespawning landlocked salmon (*Salmo salar).* Aquaculture. 35:103-115.
52. Wingfield, J.C. and Grimm, A.S. 1977. Seasonal changes in plasma cortisol, testosterone and 17β- estradiol in the plaice (*Pleuronectes platessa*) General Comparative Endocrinology. 31:1-10.
53. Yaron, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. Aquaculture. 129: 49-73.
54. Zakes, Z. and Demska-Zakes K. 2005. Artificial spawning of pikeperch (*Sander lucioperca*) stimulated with human chorionic gonadotropin (HCG) and mammalian GnRH analogue with a dopamine inhibitor. Archives of Polish Fisheries. 13: 63-75.
55. Zakes, Z. and Szczepkowski M. 2004. Induction of out-of-season spawning of pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture International. 12:11-18.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(3), 2012
http://japu.gau.ac.ir

Effect of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Carp Pituitary Extract (CPE) on plasma sex steroid hormones, stress parameters levels and spermatozoa quality in *Sander lucioperca* (pikeperch)

*** A. Golmoradizadeh[1], M.M. Sajjadi[2], B. Falahatkar[3], I. Efatpanah[4] and M. Hamzehnezhad Bangoudi[5]**

[1]M.Sc Graduated, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Hormozgan, [2]Associate Prof., Dept. of Biology, Faculty of Basic Science, University of Hormozgan, [3]Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, [4]M.Sc Graduated of Dr. Yousefpour Fish Hatchery Center, Siahkal, Guilan, [5]Islamic Azad University, Kerman Branch

Received: 2012-2-2 ; Accepted: 2012-5-10

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Carp Pituitary Extract (CPE) on plasma sex steroid hormones (testosterone, estradiol, and progesterone), stress parameters levels (cortisol, glucose, and lactate) in *Sander lucioperca*. Further, the density, motility, motility duration of spermatozoa and spermatocrit were estimated, too. The effects of five treatments (1279.33±0.26g, n=30) (1 (control): physiological saline %0.9, 2: 3mg/kg BW CPE, 3: 2 mg/kg BW CPE, 4: 200IU/kg BW HCG and 5: 350 IU/kg BW HCG,) on plasma sex steroid hormones, stress parameters and sperm quality were surveyed. The males spawned 48 h after injection, and then samples were transferred to laboratory for analysis. The results showed that, there were not significant differences among treatments in sex steroid, cortisol, glucose and lactate levels ($P>0.05$). Cortisol and glucose in treatment 2 were higher than other treatments ($P<0.05$). There were not significant differences in the spermatozoa density and spermatocrit between treatments ($P>0.05$), but there were significant differences between treatments in motility and motility duration of spermatozoa ($P<0.05$). In this study, treatment 5 showed the best motility duration of spermatozoa between treatments ($P<0.05$). The results of the present study showed that HCG is more effective than CPE for induction of pikeperch.

***Keywords**: Sander lucioperca* (pikeperch); Induced breeding; Sex steriods; Spermatozoa

---

* Corresponding Author; Email: golmoradi2008@gmail.com