شماره ۸۴، پاییز ۱۳۸۸

نشریه دامپزشکی

(پژوهش و سازندگی)

تغییرات سرمی فاکتور رشد شبه انسولین–یک، تیروکسین و کورتیزول در دو گروه از مولدین تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در طی مراحل انتهایی رسیدگی جنسی

• **برزان بهرامی کمانگر**

گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کردستان، سنندج (نویسنده مسئول)

• **باقر مجازی امیری**

گروه شیلات و محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

• **محمدجواد رسایی**

گروه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

• **بهروز ابطحی**

گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

• **محمود بهمنی**

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت

تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۸

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۸۷۰۵۴۰۹

Email: bbkamangar@yahoo.com

چکیده

فاکتور رشد شبه انسولین-یک (IGF-I) در ماهیان استخوانی دارای نقش مهمی در تنظیم رشد و تولید مثل از طریق تاثیر در متابولیسم, تقسیم سلولی، تخمک‌سازی، رسیدگی نهایی اووسیت‌ها و فعالیت‌های ترشحی است. این سیستم توسط چندین هورمون و شرایط متابولیکی تنظیم می‌گردد. در این مطالعه مقادیر سرمی IGF-I تیروکسین و کورتیزول در دو گروه از مولدین صید شده از دریا و رودخانه در طی مراحل انتهایی رسیدگی جنسی آنها و در سه مرحله رسیدگی جنسی (زمان صید, تزریق هیپوفیز و تکثیر مصنوعی) مورد بررسی قرار گرفت. از یک سیستم رادیوایمونوآسی نامتجانس با استفاده از پادتن پلی‌کلنال تهیه شده بر علیه IGF-I انسانی و IGF-I انسانی به عنوان پادگن، مقادیر سرمی IGF-I اندازه‌گیری شد. غلظت هورمون‌های تیروکسین و کورتیزول نیز با استفاده از روش رادیوایمونوآسی تعیین گردیدند. نتایج آزمایش تفاوت‌های معنی‌داری را در مقادیر سرمی هورمون‌های مورد بررسی بین دو گروه از مولدین، نشان نداد (P> ۰/۰۵). در هر دو گروه از مولدین، میانگین غلظت سرمی IGF-I در مراحل تزریق هیپوفیز و تکثیر مصنوعی بطور معنی‌دار بیش از مرحله صید بود (P< ۰/۰۵). در مولدین رودخانه‌ای مقادیر سرمی تیروکسین در زمان تکثیر مصنوعی بیش از دو مرحله قبل بود ولی این تفاوت در مولدین دریایی مشاهده نشد(P< ۰/۰۵). مقادیر کورتیزول سرم در مراحل نمونه‌برداری بجز مرحله تزریق هیپوفیز در مولدین دریایی تفاوت معنی داری را نشان نداد(P> ۰/۰۵). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که IGF-I سرمی دارای نقشی در طی مراحل انتهایی رسیدگی جنسی تاس‌ماهی ایرانی است، به علاوه ارتباطی بین مقادیر سرمی IGF-I با هورمون‌های تیروکسین و کورتیزول در هر دو گروه از مولدین وجود ندارد.

کلمات کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی، فاکتور رشد شبه انسولین-یک، تیروکسین، کورتیزول، رسیدگی جنسی

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 84 pp: 48-54

Changes in serum insulin-like growth factor-I (IGF-I), thyroxine and cortisol hormone levels during reproductive migration of female brood stocks of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*

By: B. Bahrami Kamangar, Department of Fisheries Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj,(Corresponding Author; Tel: +989188705409). B. Mojazi Amirim, Department of Fisheries Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Mohammad Javad Rasaee,Department of Medical Biotechnology, School of Medical Sciences, University of Tarbiat Modares, Tehran, B. Abtahi,Department of Marine Biology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, G.C., Tehran, M. Bahmani,Department of Physiology, International Sturgeon Research Institute, Rasht

In teleosts the insulin-like growth factor-I, a member of IGF system, play an important role in the control of growth and reproduction including metabolism, cell division, oogenesis, final oocyte maturation and secretory activity. This system is controlled by several hormones and metabolic status. Serum IGF-I, thyroxine (T4) and cortisol levels were studied in two female brood stocks (caught from sea and from river during their up stream migration) during their late stage of sex maturation. Blood samples were taken from 6 individual in each brood stocks, and at three ovarian developmental stages (brood stock capture, pituitary injection and artificial propagation) based on their polarization index (IP). A heterologous radioimmunoassay system which used polyclonal anti-human IGF-I and human IGF-I as antigen, was used for IGF-I serum measurements. T4 and cortisol concentrations were also measured by radioimmunoassay. Our results did not show significantly differences in IGF-I, T4 and cortisol levels between two brood stocks. However, in both brood stocks the mean IGF-I serum concentrations were higher in the second and third sampling stages than the first one ($p<0.05$). In the river brood stock, T4 serum level was significantly higher during ovulation than the second stage, but it was not observed in sea brood stock ($p< 0.05$). Cortisol serum levels had not showed significantly differences between three sampling stages in both brood stocks, except at second sampling in sea water brood. These results could provide evidence for a possible role of IGF-I during final oocyte maturation of Persian sturgeon. The up regulation of serum IGF-I may have a role in the resumption of meiotic arrest during late stage of sex maturation. However, we could not found any relationship between IGF-I, T4 and cortisol serum levels in both brood stocks.

Key words: Persian sturgeon, Insulin-Like Growth Factor-I, Thyroxin, Cortisol, Sex maturation.

مقدمه

فعالیت تخمدان و بیضه در ماهیان استخوانی و سایر ماهیان نه‌تنها توسط گنادوتروپین‌ها، بلکه توسط چندین هورمون و فاکتورهای رشد به شکل اندوکرین، اتوکرین و پاراکرین کنترل می‌شوند (۴۳,۲۴). تداخل هورمونی بین محور گنادوتروپیک و محور سوماتوتروپیک از نقش مهم هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین-یک[1] در این دو محور حکایت دارد (۲۳). IGF-I پپتیدی است متشکل از ۷۰ اسید آمینه با وزن مولکولی ۷ کیلودالتون که از نظر ساختمانی کاملاً مرتبط با پروانسولین است (۱۱, ۲۸). این پپتید در فرایند تولید مثل ماهیان نسبت به هورمون رشد دارای پتانسیل تأثیرگذاری بیشتری است (۲۳). برخی شواهد دلالت بر وجود احتمال تاثیرگذاری IGF-I در فرایندهای رسیدگی جنسی ماهیان دارد. وجود تغییرات IGF-I موجود در گردش خون در زمان رسیدگی جنسی ماهیان (۲۸,۲۷)، وجود گیرنده‌های IGF-I در تخمدان در طی مراحل مختلف تولیدمثل (۳۰,۲۴,۱۸)، توانایی تخمدان ماهیان در تولید IGF-I موضعی (۳۸,۳۵,۲۱,۱۵,۱۴,۸) از جمله شواهد مطرح می‌باشند.

محل اصلی تولید این عامل کبد بوده که سنتز و رهاسازی آن تحت تأثیر هورمون رشد می‌باشد، به عبارتی IGF-I در گردش پلاسمایی منشای کبدی داشته و تحت تأثیر هورمون رشد ساخته می‌شود (۲۶,۲۰,۱۱,۹). به‌جز منشای کبدی، IGF-I در بسیاری از بافت‌های ماهیان بر حسب نوع بافت و برای گیرنده‌های ویژه در بافت نیز به طور موضعی تحت اثر مکانیسم اتوکرین- پاراکرین، ساخته و رهاسازی می‌گردد (۳۵,۲۶,۱۱). مطالعات اخیر در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده است که در بسیاری از بافت‌ها، از جمله در تخمدان ماهیان، بیان ژن IGF-I در پاسخ به تزریق هورمون رشد افزایش می‌یابد (۸). بجز هورمون رشد، عوامل هورمونی دیگری نیز در میزان بیان IGF-I نقش دارند. هورمون T۳ در ماهی تیلاپیا (۳۷)، هورمون‌های T۴ و انسولین در ماهی آزاد کوهو (۳۲،۱۵،۱۳) و پستانداران (۳۶)، کورتیزول در گربه ماهی روگاهی

(۳۱) و باس دریایی (۱۹) از جمله هورمون‌های موثر می‌باشند. هم‌چنین شـرایط تغذیه‌ای در انسان (۳۹، ۴۱) و ماهیان (۴۰،۲۶،۲۵،۱۲) می‌تواند در بیان IGF-I موثر باشد.

تاس ماهـی ایرانی، گونه‌ای از ماهیان غضروفی اسـتخوانی، با ارزش تجـاری و حفاظتی بالا می‌باشـد که به دلیل صیـد بی‌رویه جمعیت آن در حـال کاهش می‌باشـد. مطالعات قبلی در تاس‌ماهی ایرانی نشـان‌داد که IGF-I در محیط کشـت قادر به القای رسـیدگی نهایی اووسیت‌ها[۲] که همراه با پدیده شکسـتن و ناپدید[۳] شدن هسـته است، می‌باشد (۱). هم‌چنین همبستگی مثبتی بین مقادیر سرمی IGF-I و میزان موفقیت لقاح در این گونه نشـان داده شده اسـت (۵). هدف از انجام این مطالعه بررسی تغییرات مقادیر سـرمی IGF-I و چگونگی تغییرات دو هورمون تیروکسـین و کورتیزول به عنوان هورمون‌های موثر در سیستم IGF-I در دو گروه از مولدین صید شـده از دریا و رودخانه، طی مراحل انتهایی رسیدگی جنسی آنها می‌باشد.

روش کار

مولدین

تعداد شش قطعه مولد ماده صید شده از دریا و شش قطعه مولد صید شده از رودخانه سفید رود در فاصله‌ای حدود ۱ کیلومتر از دهانه رودخانه برای انجام این بررسـی مورد اسـتفاده قرار گرفـت. مولدین پس از صید پلاک‌گذاری شده و تا زمان تکثیر در استخر کورانسکی با جریان آب ثابت و دمای ۱ ± ۱۵ سانتی‌گراد، بدون تغذیه نگهداری شدند. نمونه‌های خون از هر مولد در سه مرحله، زمان صید و انتقال مولدین به مرکز تکثیر، زمان تزریق هیپوفیز و زمان تکثیر، از ورید دمی ناحیه سـاقه دمی با اسـتفاده از سـرنگ cc ۵ و بدون بیهوشـی تهیه گردیدند. پس از جداسازی سرم در g×۸۰۰ ، نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری هورمون‌ها در ۲۰- سـانتی‌گراد نگهداری شـدند. همچنین در هر مرحله نمونه‌برداری تعدادی اووسیت با اسـتفاده از سـوند فلزی از تخمدان مولدین اخذ و شـاخص قطبی شدن هسته در آنها تعیین گردید (۱۰).

اندازه‌گیری غلظت هورمون‌ها در نمونه‌های سرمی

با توجه به عدم وجود IGF-I خالص‌سـازی شـده تاس‌ماهی ایرانی و همچنیـن آنتی بادی اختصاصی بر علیـه آن، در این آزمایش از روش رادیوایمونواسی نامتجانس برای تعیین غلظت IGF-I در نمونه‌ها استفاده شـد. برای انجـام این کار از پادتن تهیه شـده بر علیه IGF-I انسـانی و پادگـن آن (Biosource Europe S.A. Belgium) بـرای تهیـه منحنی اسـتاندارد و اندازه‌گیری غلظت IGF-I در نمونه‌ها استفاده شد. همچنین غلظت هورمون‌های تیروکسین (T۴) و کورتیزول در نمونه‌ها بر اساس روش رادیوایمونواسی و استفاده از پادتن‌های و پادگن‌های مربوطه (Spectria, Drion Diagnostica, Finland) تعییـن گردیدنـد. اعتباردهی این روش‌ها قبلاً در تاس‌ماهی ایرانی (۵) و بر اسـاس مقایسه معادلات منحنی‌های استاندارد و سری رقت‌های سرمی برای هر هورمون انجام شـد (۶). به طور خلاصه، بـرای اعتبار دهی روش‌های اندازه‌گیری، از نمونه‌های سـرمی تاس ماهی ایرانی که دارای غلظت بالایی از هورمون مورد نظر بودند، سـری رقت‌هایی تهیه و غلظت سـری رقت‌ها با استفاده از منحنی اسـتاندارد، محاسبه گردید. سپس ضمن خطی نمودن منحنی اسـتاندارد در دامنه قرائت نمونه سـرمی و خطی نمودن منحنی سـری رقت‌هـای نمونـه، معادلات خطی بدسـت آمده برای هـر جفت منحنی اسـتاندارد خطی شـده و سـری رقت نمونه محاسـبه و دو معادله مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌های آماری

ارزیابی مشـابهت بین منحنی‌های تهیه شـده از سـری رقت‌های سـرمی تاس‌ماهی ایرانی و منحنی‌های اسـتاندارد IGF-I، تیروکسـین و کورتیـزول، بـا آزمون چهـار پارامتری مـدل منطقی توسـط نرم‌افزار PLA ۰/۲ (Stegmann systems Germany) انجـام گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها با اسـتفاده از آزمـون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه‌های انجام شده برای هر هورمون درقالب طرح آزمایشـی اسـپلیت پلات در زمان، طرح پایه کاملاً تصادفی صورت گرفـت. که در ایـن طرح عامل اصلـی محل صید در دو سـطح (دریا و رودخانـه) و عامل فرعی زمان نمونه‌برداری در سـه سـطح (صید، تزریق هورمون و تکثیر) بود. مقایسـه میانگین‌ها نیز با اسـتفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج بدسـت آمده نشـان‌داد که معادله‌های خطی شده منحنی‌های اسـتاندارد IGF-I، تیروکسـین و کورتیزول با معادله‌های خطی سـری رقت‌های سرمی تاس‌ماهی ایرانی برای هر هورمون، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد برای ضرایب توازی، رگرسیون و خطی بودن ندارند.

نتایـج تجزیـه واریانس غلظت‌های سـرمی IGF-I، تیروکسـین و کورتیـزول نشـان می‌دهد که بین دو گـروه مولدین صید شـده از دریا و رودخانـه، تفـاوت معنی‌داری از نظـر مقادیر این عوامـل وجود ندارد، درحالی‌که بین مراحل نمونه‌برداری صید، تزریق هیپوفیز و تکثیر، مقادیر هورمون‌ها دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است. همچنین تفاوت معنی‌داری بین شاخص قطبی شدن هسته در هر مرحله نمونه‌برداری بین دو گروه از مولدین مشاهده نشد. مقایسه میانگین غلظت سرمی IGF-I در هر دو گروه مولدین طی مراحل نمونه‌برداری، دارای روند افزایشی است (شکل ۱). بطوری‌که میانگین غلظت سرمی IGF-I در زمان تکثیر مولدین در هر دو گروه، به طور معنی‌دار از مرحله صید بیشتر است ($P> ۰/۰۵$). ولـی در هر مرحله نمونه‌برداری تفـاوت معنی‌داری بین دو گروه مولدین از نظر میانگین غلظت سـرمی IGF-I دیده نمی‌شـود. میانگین غلظت تیروکسـین در نمونه‌های سـرمی هر دو گروه مولدین در مراحل صید و تزریق هیپوفیز بسیار پائین بود. در مرحله تکثیر غلظت تیروکسین در هر دو گروه مولدین دارای روند افزایشی بود، ولی تنها در مورد مولدین صید شده از رودخانه، غلظت سرمی تیروکسین در زمان تکثیر به‌طور معنی‌دار بیشـتر از مرحله تزریق هیپوفیز بود. همچنین در هر مرحله نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری در سـطوح آماری مورد قبول بین غلظت تیروکسـین در دو گروه مولدین مشـاهده نشد (شکل ۲). میزان غلظت کورتیزول در زمان صید در دو گروه مولدین به نسـبت مراحل تزریق هیپوفیز و تکثیر بالاتر بود. هم‌چنین در مرحله تزریق هیپوفیز غلظت سـرمی این هورمون

در پایین‌تریـــن مقدار طی مراحل نمونه‌بـــرداری بود. با این وجود تنها در مولدین دریایی و زمان صید، غلظت کورتیزول به طور معنی‌دار در سطح ۵ درصد بیشتر از مرحله تزریق هیپوفیز بود. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مولدین در هر مرحله نمونه‌برداری مشاهده نشد (شکل ۳).

بحث

مـــوازی بـــودن معادلات خطی شـــده منحنی‌هـــای اســـتاندارد برای هورمون‌های تیروکسین، کورتیزول و IGF-I و معادلات خطی‌شده سری رقت‌های مقادیـــر غلظت‌های این هورمون‌ها در ســـرم تاس‌ماهی ایرانی، نشان دهنده اعتبار مناسب روش‌های اندازه‌گیری این هورمون‌ها می‌باشد. روش رادیوایمونواســـی نامتجانـــس برای اندازه‌گیـــری غلظت IGF-I در چندین گونه ماهی با موفقیت اســـتفاده شـــده اســـت (۲۹،۶،۳). مقایسه توالی اسید آمینه‌ای IGF-I در ماهیان و پستانداران نشان دهنده، میزان بالای حفظ شدگی آن در میان این دو گروه جانوری است (۴۲،۱۱،۶).

نتایج بدســـت آمده از بررسی مقادیر ســـرمی IGF-I در دو گروه از مولدین نشان‌داد که میانگین غلظت IGF-I در هر دو گروه مولدین صید شـــده از دریا و رودخانه، طی مراحـــل نمونه برداری صید، تزریق هیپوفیز و تکثیر، دارای روند افزایشـــی بوده، به طوری‌که میانگین غلظت ســـرمی در هر دو گروه مولدین در زمان تزریق هیپوفیز نســـبت به زمان صید به طور معنی‌دار بیشـــتر بوده است، ولی تفاوت معنی‌دار بین مرحله تکثیر و تزریق هیپوفیز مشـــاهده نشـــد. تاکنون مطالعات محدودی در ماهیان در ارتبـــاط با تأثیـــر IGF-I درگردش و یا موضعی در شـــرایط *in vivo* بر رســـیدگی جنس ماهیان انجام گرفته است. در ماده‌های پیش‌رس ماهی آزاد *Oncorhychus masou*، مقـــدار پلاســـمایی IGF-I در مرحله پیش‌زرده ســـازی دارای روند افزایشـــی بوده، ســـپس مقـــدار آن تا زمان تخمریزی کاهش یافته اســـت (۲۷). مقایسه تغییرات سرمی IGF-I در تاس ماهی ایرانی در طی سه مرحله نمونه برداری که دارای روند افزایشی بوده است، مربوط به مراحل پس از زرده سازی می‌باشد. بنابراین، تفاوت نتایـــج بدســـت آمده با ماهـــی آزاد می‌تواند ناشـــی از تفـــاوت در مراحل رســـیدگی جنسی و نمونه‌برداری باشـــد. این در حالی است که در ماهی اســـترلیاد *Acipenser ruthenus* بیان ژن IGF-I در بافت تخمدان دارای روند افزایشی طی مرحله زرده‌سازی بوده و حداکثر مقدار بیان آن در نزدیک به مرحله رسیدگی نهایی گزارش شده‌است(۴۴). همچنین در تاس ماهی ایرانـــی بیان موضعی پپتید IGF-I در بافت تخمدان در طی مرحله رســـیدگی نهایی دارای روند افزایشـــی بوده اســـت (۲). این نتایج می‌توانـــد بیانگر این نکته باشـــد که IGF-I نه تنهـــا به صورت موضعی، بلکه به صورت سیستمیک و در گردش خون می‌تواند در فرایند رسیدگی نهایی نقش داشته باشد.

مقایســـه مقادیر ســـرمی تیروکسین با ســـایر ماهیان استخوانی(۱۶) نشان‌دهنده پائین‌تر بودن مقادیر این هورمون در تاس ماهی ایرانی، بویژه در مراحل صید و تزریق هیپوفیز، نسبت به ماهیان استخوانی دارد. چنین تفاوتی در تاس‌ماهی دریاچه‌ای *A. fulvescens* نیز گزارش شـــده است (۳۳). مقادیر ســـرمی تیروکســـین در دو مرحله صیـــد و تزریق هیپوفیز در هـــر دو گـــروه از مولدین در مقایســـه با مرحله تکثیر بســـیار پایین‌تر بودنـــد، ولی در مرحله تکثیر غلظت ســـرمی تیروکســـین در هر دو گروه دارای افزایـــش قابل ملاحظـــه‌ای بود. اگر چه تفـــاوت معنی‌داری در این مرحله بین دو گروه مولدین مشـــاهده نگردید، ولی میزان تیروکسین در مرحله تکثیر به طورمعنی دار نسبت به مرحله تزریق هیپوفیز در مولدین رودخانه‌ای بالاتر اســـت. بعلاوه این مقدار در زمان تکثیر به نسبت بیشتر از مقدار تعیین شـــده در مولدین دریایی بود. افزایش قابل ملاحظه میزان سرمی تیروکسین درمرحله تکثیر می‌تواند ناشی از رسیدگی تخمک‌ها در مولدین باشد. در ماهی ازون برون *A. stelatus* ، هورمون‌های تیروییدی برای رســـیدگی تخمک‌ها لازم تشخیص داده شده‌اند (۱۰). این در حالی اســـت که در برخی گونه‌های دیگر مانند ماهی آزاد اقیانوس اطلس (۴۵) و تاس‌ماهـــی دریاچه‌ای (۳۳)، به ترتیـــب در زمان قبل از تخم‌ریزی و در تعدادی از مولدین رســـیده، میزان هورمون‌های تیروییدی بالاتر از ســـایر مراحل گزارش شده است. از طرف دیگر شنا در خلاف حرکت آب در طی مهاجرت رود رو (۴۵) بویژه در مولدین رودخانه‌ای و استرس (۳۳)، در هر دو گروه از مولدین، می‌توانند در افزایش غلظت تیروکســـین نقش داشته باشـــند. بالا بودن غلظت کورتیزول در طی مراحل نمونه برداری ناشی از وجود شـــرایط استرس‌زا در اثر صید، حمل و نقل و دست‌کاری‌های انجام شـــده طی مراحل آماده سازی مولدین، نشـــان‌دهنده شرایط استرسی در مولدین می‌باشـــد. با این وجود به نظر می‌رســـد مهم‌ترین عامل موثر در افزایـــش غلظت تیروکســـین در زمان تکثیر و در هـــر دو گروه از مولدین در نتیجه اســـتفاده از هیپوفیز برای القای تکثیر مصنوعی مولدین باشـــد. پـــودر هیپوفیز دارای ترکیبات مختلف از جملـــه هورمون تحریک کننده تیروئید (TSH) است، که به طور مستقیم می‌تواند موجب افزایش تولید و رهاســـازی هورمون‌های تیروییدی در تیروئید گردد. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که در مرحله انتهایی رسیدگی جنسی در تاس ماهی ایرانی، هورمون تیروکسین نقشی در تنظیم IGF-I در گردش ندارد. به عبارتی تأثیر هر یک از این عوامل در این دوره احتمالاً مستقل از هم می‌باشد.

مقایســـه میانگیـــن مقادیـــر ســـرمی کورتیـــزول در طـــی مراحـــل نمونه‌برداری در مولدین، با مقادیر گزارش شـــده این هورمون در شـــرایط غیر استرســـی در تاس ماهـــی ایرانـــی (۲۵/۲ ng/ml) (۴)، آزاد ماهیان (۱۰-۱ ng/ml) (۳۴)، تاس ماهی سفید A.transmontanus (ng/ml ۱۲/۸-۵/۸) (۷) نشان دهنده وجود شرایط استرسی شدید در مولدین می‌باشد. عوامل متعددی از جمله روش صید، حمل و نقل، دست‌کاری‌ها و معاینه‌های قبل از تکثیر مصنوعی می‌توانند از جمله عوامل تاثیرگذار در افزایش میزان کورتیزول در این مولدین باشند. به طوری‌که در زمان تزریق هیپوفیز که میزان دســـت‌کاری‌های مولدین به نســـبت کمتر بوده، مقدار ســـرمی کورتیزول نیز در هر دو گروه مولدین پایین‌تر از مراحل صید و یا تکثیر می‌باشـــد. چنین افزایشی در میزان کورتیزول در تاس ماهی ایرانی (۴)، تـــاس ماهی ســـفید (۱۷،۷) و تاس ماهی ســـبز *A.medirostris* (۲۲)، نیز در پاسخ به استرس گزارش شده است.

نتایـــج این تحقیـــق برای اولین بـــار در یک گونه ماهـــی غضروفی- استخوانی نشان داد که IGF-I به صورت سیستمیک در گردش عمومی در مراحل انتهایی رسیدگی جنسی وجود دارد. روند افزایشی IGF-I در گـــردش طی مراحل نمونه‌برداری، حاکی از این اســـت که IGF-I دارای نقش مهم در رســـیدگی نهایی اووسیت‌ها در مراحل انتهایی چرخه تولید مثل تاس ماهی ایرانی می‌باشـــد. بعلاوه نتایج این تحقیق نشـــان داد که

در مراحل انتهایی رسیدگی جنسی هورمون تیروکسین نقشی در تنظیم بیان IGF-I در گردش ندارد. با این وجود به نظر می‌رسد که بایستی عوامل هورمونی دیگری نیز از جمله گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروییدی جنسی در مراحل انتهایی رسیدگی جنسی در تنظیم فعالیت IGF-I نقش داشته باشند. از طرف دیگر نتایج این تحقیق تاثیر معنی‌دار کورتیزول بر IGF-I سیستمیک در مولدین را نشان‌نداد.

تشکر و قدردانی

کلیه هزینه‌های پژوهش از محل اعتبارات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس در قالب پایان نامه دکترا با عنوان «بررسی تاثیر فاکتور رشد شبه انسولین-یک در رسیدگی جنسی مولدین ماده تاس ماهی ایرانی» تامین شده است. هم‌چنین انجام پژوهش در بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری و بخش بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده‌است، که بدینوسیله از مسولین محترم آن بخش‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

پاورقی‌ها

1- Insulin-Like Growth Factor -1 (IGF) -1
2- Final Oocyte Maturation (FOM)
3- Germinal Vesicke Break Down (GVBD)

منابع مورد استفاده

۱) بهرامی کمانگر، ب، مجازی امیری،ب، رسایی،م، ابطحی،ب، و بهمنی،م. (۱۳۸۵) القای رسیدگی اووسیت‌های تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با استفاده از فاکتور رشد شبه‌انسولین-یک (IGF-I) در شرایط *in vitro*، مجله منابع طبیعی ایران، شماره ۵۹، جلد۱: ص ۱۶۶-۱۵۱ .

۲) بهرامی کمانگر، ب، مجازی امیری،ب، رسایی،م، ابطحی،ب، و بهمنی،م. (۱۳۸۸) مکان یابی و بررسی شدت واکنش ایمنی فاکتور رشد شبه انسولین یک در بافت تخمدان مولدین تاس ماهی ایرانی و تاثیر هورمون‌های رشد و تیروکسین بر بیان آن در شرایط *in vitro*، فصل‌نامه پزشکی یاخته، در حال چاپ.

3) Anderson, T.A., Bennette, L.R., Conlon, M.A., and Owens, P.C., (1993) Immunoreative and receptor-active insulin-like growth factor-I and IGF-binding protein in blood plasma from the fresh water fish, Macquaria ambigua. *J. Endocrinal*. 136, 191-198.

4) Bahmani, M., Oryan, S., Pourkazemi, M., and Vosoughi, G., (2000) Ecophysiological indicators of stress in female Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2 (1), 37-54.

5) Bahrami Kamangar, B., Rasaee, M.J., Mojazi Amiri, B., Abtahi, B., and Bahmani, M., (2007) Correlations between circulating insulin-like growth factor-I and thyroxine and cortisol hormone levels, and some biometrical traits in female brood stocks during the late stages of sex maturation and in juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Fish Physiol. Biochem*., 33,249–257.

6) Banos, N., Planas, J.V., Gutierrez, J., and Navarro, I., (1999) Regulation of plasma insulin-like growth factor-I levels in brown trout, *Salmo trutta. Comp. Biochem. Physiol. Part* c. 124, 33-40.

7) Belanger, J. M., Son, J.H., Laugero, K.D., Moberg, G.P., Doroshov, S.I., Lankford, S.E., and Cech Jr, J.J., (2001) Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortiol levels in cultured White sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*. 203, 165-176.

8) Biga, P.R., Schelling, G.T., Hardy, R.W., Cain, K.D., Overturf, K.O., and Ott, T.L. (2004) The effects of recombinant bovine somatotropin (rbST) on tissue IGF-I, IGF-I receptor, and GH mRNA levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss,* Gen. Comp. *Endocrinol*. 135, 324-333.

9) Björnsson, B.T., (1997) The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance, *Fish Physiol. Biochem*. 17, 9-24.

10) Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., and Schmalhausen, O.I.,(1993) *Sturgeon fishes: developmental biology and aquaculture*. Springer- Verlag, New York. 299pp.

11) Duan, C., (1997) The insulin-like growth factor system and its biological actions in fish. *Amer.Zool*., 37,491-503.

12) Duan, C., (1998) Nutritional developmental regulation of insulin like growth factors in fish. *The Journal of Nutrition*. 128, 306-314.

13) Duan, C., Duguay, S.J., and Plisetskaya, E.M., (1992) Hormonal regulation of insulin-like growth factor I (IGF-I) mRNA expression in coho salmon. *Am. Zool*. 32, 13.

14) Duan, C., Duguay, S.J., and Plisetskaya, E.M., (1993) Insulin-like growth factor-I (IGF-I) mRNA expression in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: Tissue distribution and effects of growth hormone/prolactin family protein. *Fish Physiol. Biochem*. 11, 371-399.

15) Duguay, S.J., Swanson, P., and Dickhoff, W.W., (1994) Differential expression and hormonal regulation of alternatively spliced IGF-I mRNA transcript in salmon. *J. Mol. Endocrinol*. 12, 25-37.

16) Eales, J.G., and Brown, S.B., (1993) Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. Rev. *Fish Biol. Fisheries*. 3, 299-347.

17) Faulkner, I.N., and Moberg, G.P., (1997) Effects of short term management stress on the ability of GnRHa to induce

96:149-161.
29) Ng, T.B., Leung, T.C. and Woo, N.Y.S., (1991) Insulin-like growth factor-I like immunoreactivity in the serum and tissues of tilapia, *Oreochromis mossambicus. Biochem*. Int. 24, 356-368.
30) Perrot, V., Moiseeva, E.B., Gozes, Y., Chan, S.J., and Funken Stein, B., (2000) Insulin- like growth factor receptors and their ligands in gonds of a hermaphroditic species, the gilthead seabream, Sparus aurata: expression and cellular localization. *Biol. Reprod*., 63. 229-241.
31) Peterson, B.C. and Small, B.C., (2005) Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. *Domestic Animal Endocrinology*. 28,391-404.
32) Plisetskaya, E.M., and Duan, C., (1994) Insulin and insulin-like growth factor I in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, injected with streptozotocin. *Am. J. Physiol*. 267, 1408-1412.
33) Plohman, J.C., Dick, T.A., and Eales, G., (2002) Thyroid of lake sturgeon, Acipenser fulvescens, I. Hormon levels in blood and tissues. *Gen. Comp. Endocrinol*. 125, 47-55.
34) Pottinger, T.G., and Moran, T.A., (1993) Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strain of rainbow trout. *J. Fish Biol*. 42, 121-130.
35) Reinecke M., Schmid, A., Ermatinger, R., and Loffing-Cueni, D., (1997) Insulin-like growth factor I in the teleost, *Oreochromis mossambicus*, the Tilapia: Gene sequnence, tissue expression and cellular localization. *Endocrinology*. 138, 3613-3619.
36) Rotwein, P., (1991) Structure, evolution, expression and regulation of insulin-like growth factor I and II. *Growth Factors*. 5, 3-18.
37) Schmid, A.C., Lutz, I., Kloas, W., and Reinecke, M., (2003) Thyroid hormone stimulates hepatic IGF-I mRNA expression in a bony fish, the tilapia, *Oreochromis mossambicus, in vitro* and *in vivo. Gen. Comp. Endocrinal*. 130, 129-134.
38) Schmid, A.C., Naf, E., Kloas, W., and Reinecke, M., (1999) Insulin-like growth factor-I and II in the ovary of a bony fish, *Oreochromis mossambicus*, the tilapia: *in situ* hybridization, immunohistochemical localization, northen blot and cDNA sequences. *Mol. Cellul. Endocrinol*. 156, 141-149.
39) Thissen J-P, Ketelslegers, J-M, and Underwood, L.E., (1994) Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Reviews*. 15, 80-101.
40) Uchida, K., Kajimura, S., Riley, L.G., Hirano, T., Aida, K., and Grau, E.G., (2003) Effects of fasting on growth hormone/ insulin-like growth factor-I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comp. Biochem. *Physiol. Part A*. 134, 429-436.
41) Underwood, L.E., and Van Wyk, J.J., (1992) *Normal and* gonadotropin secretion in male White sturgeon, *Acipenser transmontanus. Aquaculture*. 159, 159-168.
18) Guitterez, J., Parrizas, M., Carneiro, N., Maestro, J.L., Maestro, M.A., and Planas, J., (1993) Insulin and IGF-receptors and tyrosine kinase activity in carp ovaries: Changes with reproductive cycle. *Fish Physiol. Biochem*. 11,247-254.
19) Hiney, J.K., Ojeda, S.R., and Dees, W.L., (1991) Insulin-like growth factor-I: A possible metabolic signal involved in the regulation of female puberty. *Neuroendocrinology*. 54, 267-271.
20) Holloway, A. C. , Sheridan, M. A., Van Der Kraak, G., and Leatherland, J. F., (1999) Correlations of plasma growth hormone with somatostatin, gonadal steroid hormones and thyroid hormones in rainbow trout during sexual recrudescence. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*. 123, 251–260.
21) Kagawa, H., Moriyama, S., and Kawauchi, H., (1995) Immunocytochemical localization of IGF-I in the ovary of red sea bream, *Pagrus major*. *Gen. Comp. Endocrinol*. 99, 307-315.
22) Lankford, S.E., Adams, T.E., and Cech Jr, J.J., (2003) Time of day and water temperature modify the physiological stress response in Green sturgeon, *Acipenser medirostris. Comp. Biochem. Physiol*. *PartA*. 135, 291-302.
23) Le Gac, F., Blaise, O., Fostier, A., Le Bail, P.-Y., Loir, M., Mourat, B., Weil, C., (1993) Growth hormone (GH) and reproduction: A review. *Fish physiol. Biochem*.11, 219-232.
24) Maestro M.A., Planas, J.V., Moriyama, S., Gutierrez, J., Planas, J. and Swanson, P., (1997) Ovarian receptors insulin and insulin-like growth factor I (IGF-I) and effects of IGF-I on steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen. Comp. Endocrinol*. 106, 189-201.
25) Meton, I., Caseras, A., Canto, E., Fernandez, F., and Baanante, I.V., (2000) Liver insulin-like growth factor-I mRNA is not affected by diet composition or ration size but shows diurnal variations in regularly-fed Gilthead sea bream, *Sparus aurata. J. Nutrition*. 130, 757-760.
26) Mommsen, T.P., (1998) *Growth and metabolism. In: The physiology of fishes*, Edited by D. H. Evans, 2nd ed., CRC press, 65-97.
27) Moriyama S., Shimma, H., Tagawa, M., and Kagawa, H., (1997) Changes in plasma insulin-like growth factor-I levels in the precociously maturing amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawai. Fish Physiol. Biochm*. 17, 253-295.
28) Moriyama S., Swanson, P., Nishii, M., Takahashi, A., Kawaughi, H., Dickhoff, W. and Plisetskaya, E., (1994) Development of a homologous radioimmunoassay for coho salmon insulin-like growth factor-I. *Gen. Comp. Endocrinol*.,

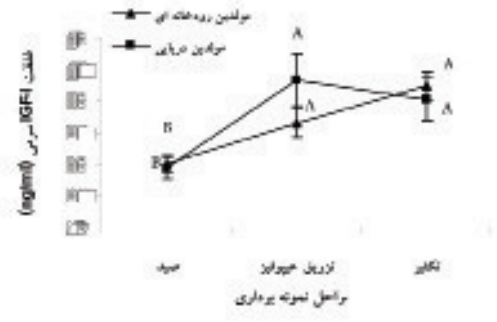
aberrant growth. In Williams, text book of endocrinology, P.P. 1096-1099. Edited by J.D. Wilson and D.W. Foster, 8th edition, W.B. Saunders Company.

42) Upton, Z., Yandell, C.A., Degger, B.G., Chan, S.J., Moriyama, S., Francis, G.L., and Ballard, F.J., (1998) Evolution of insulin-like growth factor-I (IGF-I) action: in vitro characterization of vertebrate IGF-I proteins. *Comp.Biochem.Physiol. Part B*. 121, 35-41.

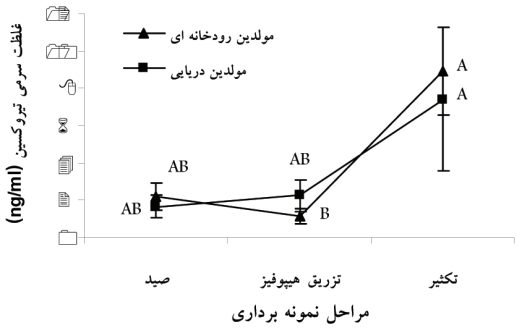
43) Van Der Kraak, G., Chang, J.P., and Lanz, D.M., (1998) *Reproduction. In: The physiology of fishes*, D.H. Evan, Ed., 2th ed., CRC Press, 465-488.

44) Wuertz, S.,Gessner, J.,Kirschbaum, F., and Kloas, W., (2007) Expression of IGF-I and IGF-I receptor in male and female sterlet, *Acipenser ruthenus* Evidence for an important role in gonad maturation. *Comp. Biochem. Physiol.Part A*. 147, 223-230.

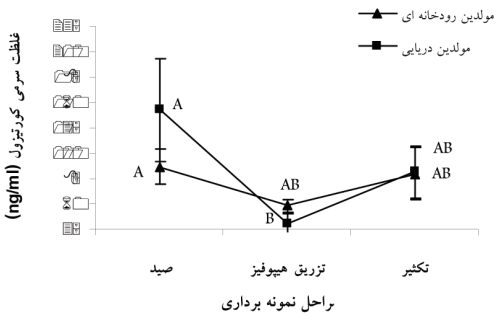
45) Youngson, A.F., and Webb, J.H.,1993. Thyroid hormone levels in Atlantic salmon, Salmo salar during the return migration from the ocean to spawn. *J. Fish.Biol*. 42, 293-300.



شـکل ۱- میانگین غلظت سرمی IGF-I در مراحل صید، تزریق هیپوفیز و تکثیر در دو گروه از مولدین. میانگین‌هایی (±SEM) که دارای حروف متفاوت هسـتند، در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.



شـکل ۲- میانگین غلظت سرمی تیروکسـین طی مراحل صید، تزریق هیپوفیز و تکثیـر در دو گروه از مولدیـن. میانگین‌هایی (±SEM) کـه دارای حروف متفاوت هستند، در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.



شـکل ۳- میانگین غلظت سـرمی کورتیزول در طی مراحل صید، تزریق هیپوفیز و تکثیـر در دو گروه از مولدیـن. میانگین‌هایی (±SEM) که دارای حروف متفاوت هستند، در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.