

بررسی دفاع آنتی اکسیدانی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در مولدین

استرلیاد *Acipenser ruthenus* پرورشی

محمد یونس زاده فشالمی^۱، امیر پرویز سلاطی^{۱*}، سعید کیوان شکوه^۱

*salatia@gmail.com

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵

چکیده

یکی از مهمترین سیستم های دفاعی بدن جهت حفظ هومئوستاز بدن، دفاع آنتی اکسیدانی می باشد. در بررسی آنزیم های آنتی اکسیدانی در روند رسیدگی تخمدان در ماهی استرلیاد پرورشی، تعداد ۲۴ عدد ماهی ماده مولد استرلیاد پرورشی در مراحل قبل از زرده سازی، زرده سازی، پس از زرده سازی و آترزی (هر مرحله ۶ ماهی) جدا سازی و نمونه خون از آنها گرفته شد. تشخیص مرحله رسیدگی بر اساس بافت شناسی تخمدان انجام شد. فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسیداز دیسموتاز، گلوکاتایون پروکسیداز و محتوای مالون دی آلدئید در سرم خون ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم های کاتالاز و گلوکاتایون پروکسیداز در مرحله زرده سازی در مقایسه با قبل از آن کاهش یافت ($p < 0.05$)، ولی مجدداً تا مرحله آترزی روندی افزایشی نشان داد. فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$). غلظت مالون دی آلدئید نیز در گروه های مختلف تفاوت معنی داری نداشت ($p > 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد علیرغم افزایش متابولیسم در مراحل رسیدگی جنسی، دفاع آنتی اکسیدانی کفایت کافی جهت مقابله با این تغییرات را دارا می باشد.

کلمات کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدانی، تاس ماهی، خون، تولید مثل، لیپید پراکسیداسیون

* نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی‌ها ارگانسیم‌های هوازی هستند که برای زنده ماندن به اکسیژن نیاز دارند، اما مصرف اکسیژن به تشکیل گونه‌های واکنشگری (ROS) منجر می‌شود که می‌توانند به مولکول‌های زیستی صدمه بزنند و در نهایت باعث ایجاد شرایط پاتولوژیک شوند. اعتقاد بر این است که بیشترین اثرات مضر بالقوه اکسیژن در ارتباط با این گونه‌های واکنشگر است که به عنوان اکسیدان^۱ عمل می‌کنند. اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که تمایل دارند به مواد دیگر اکسیژن بدهند (Langseth, 1995). این واسطه‌ها با عمر کوتاه برای سلول‌ها و بافت‌ها مضر می‌باشند، در نتیجه حذف آن‌ها از طریق مواد داخلی یا خارجی حائز اهمیت می‌باشد. تولید و حذف این گونه‌ها در ارگانسیم‌های سالم کاملاً متعادل است، اما افزایش تولید آن‌ها یا مکانیسم‌های دفاعی نامناسب در فرآیندهای سلولی اختلال ایجاد می‌کند. بنابراین حذف گونه‌های واکنشگر اکسیژنی به منظور حفظ واکنش‌های فیزیولوژیک و جلوگیری از توسعه فرآیندهای پاتولوژیک اهمیت دارد (Skrha, 2012). عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها و افزایش اکسیدان‌ها را استرس اکسیداتیو می‌نامند (Betteridge, 2000).

سیستم دفاع آنتی اکسیدانی یک موجود هوازی می‌تواند مانع تولید رادیکال‌های آزاد، خنثی‌سازی آن‌ها و ترمیم آسیب‌های وارد شده از جانب آن‌ها شود (Diaz et al., 2010). مهره داران برای مقابله با تولید مداوم گونه‌های واکنشگر اکسیژن حاصل از متابولیسم هوازی سلول‌ها و بافت‌ها حاوی یک مجموعه از آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و عوامل غیر آنزیمی برای خنثی کردن ROS می‌باشند (محسنی و همکاران، ۱۳۹۶؛ Halliwell & Gutteridge, 1990).

در بین ماهیان خاویاری، تاس ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) به دلیل رسیدگی جنسی سریع‌تر در مقایسه با گونه‌های مهاجر خاویاری، اندازه کوچک و هزینه‌های پایین‌تر نگهداری به عنوان یک مدل مناسب برای مطالعه در زمینه فیزیولوژی تولید مثل ماهیان خاویاری محسوب می‌شود (هادیان و همکاران، ۱۳۹۶؛ Holcik, 1989).

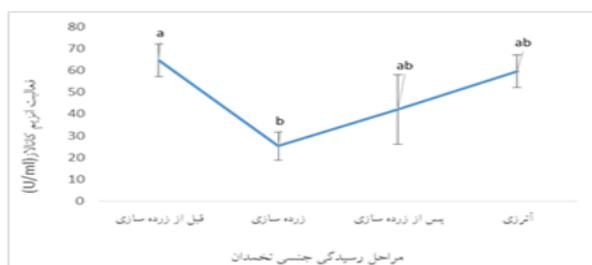
در طی روند رسیدگی جنسی، جانوران بطور معمول میزان بالاتری از سوخت و ساز دارند که بطور بالقوه می‌تواند باعث افزایش تولید ROS و در نتیجه استرس اکسیداتیو گردد (Speakman, 2008). افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی می‌تواند با افزایش تولید ROS مقابله کرده و از بروز آسیب جلوگیری کند (Valko et al., 2007). علیرغم اهمیت این موضوع و مطالعات انجام شده در جانوران مختلف، اطلاعاتی در ارتباط با فعالیت دفاع آنتی اکسیدانی در ماهیان خاویاری در مراحل مختلف رسیدگی جنسی وجود ندارد، لذا این تحقیق در ارتباط با تغییرات فعالیت بخش آنزیمی دفاع آنتی اکسیدانی در مرحله قبل از زرده سازی، زرده سازی و رسیدگی تخمک در ماهی استرلیاد پرورشی با هدف ارزیابی کفایت این سیستم جهت مقابله با افزایش متابولیسم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد مطالعه در تابستان ۱۳۹۴ در حین تعیین مولدین مناسب نر و ماده از طریق سوندزنی و تعیین مرحله رسیدگی جنسی تاس‌ماهیان استرلیاد در طول چرخه کاری برای انتخاب مولدین مناسب برای تکثیر، انتخاب شدند. سوندزنی مطابق شیوه Chebanov و Galich (۲۰۱۱) به اجرا در آمد. از هر گروه تعیین شده در مرحله قبل از زرده سازی، زرده سازی، پس از زرده سازی و آترزی، ۶ عدد ماهی ماده انتخاب گردید. برای تعیین دقیق مرحله رسیدگی جنسی ماهیان، ماهیان به صورت انفرادی به وسیله عصاره پودر گل میخک (۴۰۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش شدند (Ghiasi et al., 2014). سپس به میز جراحی انتقال پیدا نمودند. نمونه برداری از گناد ماهیان به شیوه تکه برداری بافت انجام شد.

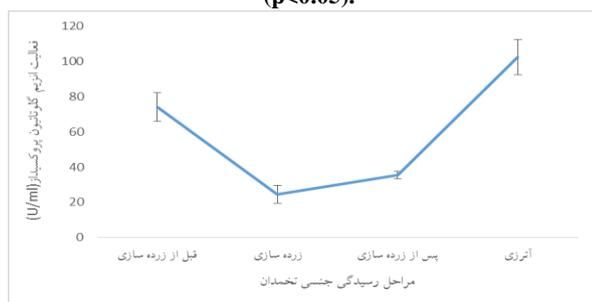
تفکیک مرحله رسیدگی جنسی در تاس ماهیان این مطالعه بر اساس خصوصیات ظاهری نمونه در زمان نمونه برداری، نمونه فیکس شده در محلول رینگر، مشاهدات بافت-شناسی و اندازه‌گیری‌های انجام گرفته بر روی نمونه‌های تخمک و اسلایدهای بافت شناسی و همچنین مقایسه خصوصیات ذکر شده در کلیدهای شناسایی انجام شد (Amiri et al., 1996). بر این اساس ماهیان به چهار دسته پیش زرده‌سازی، زرده‌سازی، پس از زرده‌سازی و تخمک‌های آترتیک تقسیم شدند.

فعالیت آنزیم به ترتیب در مرحله آترزی و مرحله زرده سازی مشاهده شد. اختلاف معنی داری در روند تغییرات فعالیت این آنزیم در مرحله زرده سازی و پس از زرده سازی با مرحله آترزی مشاهده شد ($p < 0.05$). اختلاف معنی داری در مرحله قبل از زرده سازی با مرحله زرده سازی مشاهده شد ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار آنزیم به ترتیب در مرحله قبل از زرده سازی و زرده سازی مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۱: روند تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در پلاسما تاس ماهی استرلیاد پرورشی طی روند رسیدگی جنسی. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در زمان‌های مختلف نمونه برداری می‌باشد ($p < 0.05$).

Figure 1: Changes in the plasma catalase activity in the various stages of sexual maturation in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). Different letter denotes significant changes in different times of samplings ($p < 0.05$).



شکل ۲: روند تغییرات فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پروکسیداز در پلاسما تاس ماهی استرلیاد پرورشی طی مراحل مختلف رسیدگی جنسی. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در زمان‌های مختلف نمونه برداری می‌باشد ($p < 0.05$).

Figure 2: Changes in the plasma glutathione peroxidase activity in the various stages of sexual maturation in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). Different letter denotes significant changes in different times of samplings ($p < 0.05$).

اخذ نمونه خون از سیاهرگ وریدی در قسمت انتهایی باله مخرجی، با استفاده از سرنگ هیپارینه ۲ میلی لیتری انجام شد. برای جدا سازی پلاسما از سانتریفوژ (Hettich, Tuttlingen, Germany) با دور ۱۶۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم CAT از روش Goth (۱۹۹۱) استفاده شد. براساس این روش بافر فسفات با سرم مخلوط و به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس فعالیت آنزیم با کاهش جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم GPX پلاسما با استفاده از کیت Ransel (RANDOX, Ireland) اندازه گیری شد. سنجش فعالیت SOD براساس روش McCord و Fridovich (۱۹۶۹) انجام گرفت. در این روش پس از مخلوط کردن بافر Tris-HCl ۵۰ میلی مولار با پلاسما، پیروگالول به آن اضافه می‌گردد و پس از آن اکسیداسیون پیروگالول در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. هر واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بصورت مقدار آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از اکسیداسیون پیروگالول تا ۵۰ درصد در یک دقیقه تعیین گردید. غلظت MDA با استفاده از تیوباربیتوریک اسید بصورت اسپکتروفتومتریک بر طبق روش Beuge & Aust (1978) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها در محیط نرم افزار SPSS 16 در سطح خطای ۵٪ انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مشخص گردید. با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) مقایسه سطوح کلیه فاکتورها در بین تیمارهای مختلف انجام شد و در صورت وجود اختلاف معنی دار به کمک پس آزمون Tukey مقایسات چندگانه‌ای صورت گرفت.

نتایج

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم CAT در مرحله قبل از زرده سازی، زرده سازی، پس از زرده سازی و آترزی به ترتیب $59/66 \pm 7/49$ و 42 ± 16 ، $25/25 \pm 6/52$ ، $64/66 \pm 7/44$ U/mL می‌باشد (شکل ۱). فعالیت آنزیم GPX پلاسما در شکل ۲ نشان داده شده است. فعالیت این آنزیم در مرحله قبل از زرده سازی، زرده سازی، پس از زرده سازی و آترزی به ترتیب $35/54 \pm 0/50$ ، $24/57 \pm 5/13$ ، $74 \pm 8/21$ و $102/66 \pm 13/34$ U/mL ثبت شد. بیشترین و کمترین

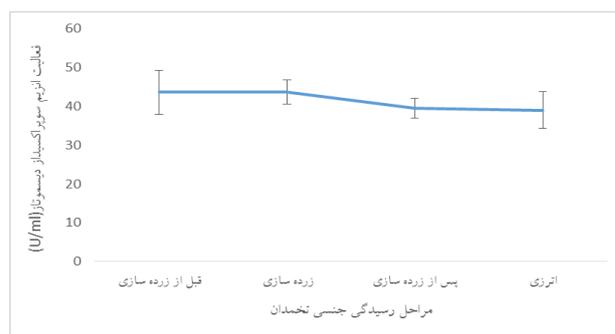
می تواند نقش داشته باشد، نیاز به شناسایی عملکرد آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی دارد. زمانی که یک ارگانسیم در معرض شرایطی قرار می‌گیرد که میزان تولید ROS افزایش یابد، به منظور مقابله با گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده، تولید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد. این پاسخ القاء آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نامیده می‌شود (An et al., 2008).

اگرچه SOD به صورت کارآمدی محتوای $O_2^{\cdot-}$ سلولی را کاهش می‌دهد، اما یکی از فراورده‌های تولیدی آن پراکسید هیدروژن است که می‌تواند زیان‌آور باشد. SOD آنیون سوپراکسید (O_2^-) را به آب و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تبدیل می‌کند. در نتیجه افزایش فعالیت SOD افزایش تولید H_2O_2 را به دنبال دارد که می‌تواند دلیلی برای افزایش فعالیت CAT و GPX باشد (Zhang et al., 2007; Bayir et al., 2011).

CAT یک آنزیم آنتی اکسیدانی کلیدی جهت حذف H_2O_2 و یک مکانیسم اساسی جهت محدود کردن تشکیل رادیکال‌های OH بسیار واکنش پذیر است (Regoli et al., 2001). CAT می‌تواند H_2O_2 ناشی از متابولیسم اسیدهای چرب بلند زنجیره در پراکسیزوم‌ها را پاکسازی کند (Huang et al., 2010). در حالیکه GPX هم کاهش H_2O_2 و هم احیای لیپید پراکسیدها را سرعت می‌بخشد، فعالیت بالای CAT و GPX جهت کاهش پراکسیداسیون لیپید در پستانداران و ماهی‌ها گزارش شده است (Rodriguez-Ariza et al., 1993; Regoli et al., 2005).

در این مطالعه افزایش فعالیت CAT و GPX عدم تغییر معنی دار در فعالیت SOD، می‌تواند بر این نکته دلالت داشته باشد که H_2O_2 اضافی در نتیجه انجام واکنش دیسموتاسیون تولید نشده است، بلکه به میزان زیادی در نتیجه متابولیسم اسیدهای چرب بلند زنجیره پراکسیزومی شکل گرفته است. استروئیدهای جنسی فعالیت تعدادی از آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را تنظیم می‌کنند (Azevedo et al., 2001). در بررسی اثرات استروئیدهای جنسی بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی در موش نشان داده شد که هورمون استرادیول باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تخمدان می‌شود (Pajovic et al., 2001).

فعالیت آنزیم SOD خون در مراحل مختلف نمونه برداری اختلاف معنی داری در گروه‌های مورد مطالعه نشان نداد ($p>0.05$). غلظت MDA خون در مرحله قبل از زرده سازی، زرده سازی، پس از زرده سازی و آنزوی به ترتیب به ترتیب $62 \pm 6/15$ ، $48/25 \pm 1/93$ ، 51 ± 13 و $76/33 \pm 20/99$ $\mu\text{mol/l}$ اندازه گیری شد (شکل ۴). بیشترین و کمترین میزان MDA به ترتیب در مرحله آنزوی و زرده سازی مشاهده شد. اختلاف معنی داری در گروه‌ها مشاهده نشد ($p>0.05$).



شکل ۳: روند تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در پلاسمای تاس ماهی استرلیاد پرورشی طی روند رسیدگی جنسی.

Figure 3: Changes in the plasma superoxide dismutase activity in the various stages of sexual maturation in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*).



شکل ۴: روند تغییرات غلظت مالون دی آلدئید در پلاسمای تاس ماهی استرلیاد پرورشی طی روند رسیدگی جنسی.

Figure 4: Changes in the plasma malonaldehyde content in the various stages of sexual maturation in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*).

بحث

درک این موضوع که چطور ROS بر روی عملکرد فیزیولوژیکی مثل رسیدگی اووسیت، اوولاسیون و زرده سازی

ساختار ژن متالوتیونین در تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) طی قرارگیری در معرض فلز مس. مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و ششم، شماره ۱. صفحات ۳۰-۲۵.

محسنی، م.، پورماظمی، م.، کاظمی، ر. و طاعتی، ر. ۱۳۹۶. اثر سطوح مختلف آل-کارنیتین جیره غذایی بر روند رشد و تنش اکسیداتیو فیل ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) و مقایسه آن با جیره وارداتی (بیومار). مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و ششم، شماره ۳. صفحات ۱۸۴-۱۷۱.

Amiri, B.M., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S. and Yamauchi, K., 1996. Ovarian development and serum sex steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. *Journal of Fish Biology*, 48: 1164-1178. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1996.tb01812.x

An, R., Li, Y., Niu, X. and Yu, H., 2008. Responses of antioxidant enzymes in catfish exposed to liquid crystals from E-Waste. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5: 99-103.

Azevedo, R.B., Lacava, Z.G.M., Miasaka, C.K., Chaves, S.B. and Curi, R., 2001. Regulation of antioxidant enzyme activities in male and female rat macrophages by sex steroids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 683-687. DOI: 10.1590/S0100-879X2001000500018

Barbacane M.A., Rami, J., Michele, J.B., Souhard, J.P., Philippe, M., Besombes, J.P., Bayard, F. and Aranal, J.F., 1999. Estradiol increases rat aorta endothelium-derived relaxing factor (EDRF) activity without changes in endothelial NO synthase gene expression: possible role of decreased endothelium-derived superoxide anion

(2003)، که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مرحله زرده سازی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی پایین تر از مرحله قبل از زرده سازی بود که علت را می توان در بالا بودن سطوح هورمون استرادیول دانست. خاصیت آنتی اکسیدانی استروژن در مطالعات دیگر هم مشخص شده است (Lacava & Luna, 1994; Gomez-Zubeldia et al., 2000). مکانیسم عمل را می توان در مهار آنیون سوپراکسید (O_2^-) دانست که یکی از مهم ترین رادیکال تولیدی زیان آور در بدن موجود می باشد. با مهار O_2^- توسط هورمونهای استروئیدی جنسی تولید آنزیم های آنتی اکسیدانی کاهش می یابد (Barbacanne et al., 1999). استروئیدهای جنسی فعالیت تعدادی از آنزیم های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را تنظیم می کنند (Pajović et al., 1999; Azevedo et al., 2001).

بافت های ماهی مستعد پراکسیداسیون لیپید است و در واقع مقادیر بالاتری از MDA در ماهی ها، در مقایسه با مقدار ثبت شده برای پستانداران گزارش شده است (Wilhelm Filho, 2007). عدم تغییر در محتوای MDA پلاسما در مطالعه حاضر نشان دهنده این است که علیرغم افزایش فعالیت آنزیم های CAT و GPX روند پراکسیداسیون چربی ها تغییر معنی داری نشان نداده است. فرآیند پراکسیداسیون چربی علاوه بر این می تواند بیومولکول های مرتبط با غشاء مانند پروتئین ها یا کلسترول های متصل به غشا را نیز تحت تاثیر قرار دهد. از این رو در ماهی ها اهمیت ویژه ای می یابد، زیرا که غشاء سلولی در آن ها نسبت به مهره داران دیگر دارای مقادیر بالاتری از PUFA است (Carney Almroth et al., 2010).

نتایج این مطالعه نشان داد که علیرغم افزایش متابولیسم در مراحل رسیدگی جنسی در ماهی استرلیاد پرورشی، دفاع آنتی اکسیدانی کفایت کافی جهت مقابله با این تغییرات را دارا می باشد و بخوبی می تواند با افزایش تولید ROS مقابله کند.

منابع

هادیان، آ.، جمیلی، ش.، پورکاظمی، م.، ماشین چیان مرادی، ع. و یارمحمدی، م.، ۱۳۹۶. بررسی مولکولی

- production. *Cardiovascular Research*, 41: 672-681. DOI: 10.1016/S0008-6363(98)00254-5
- Bayir, A., Sirkecioglu, A.N., Bayir, M., Aras, N.M., Haliloglu, H.I., Kocaman, E.M. and Aras, M.N., 2011.** Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: Oxidative stress and antioxidant defenses. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 159: 191-196. DOI: 10.1016/j.cbpb.2011.04.008
- Betteridge, D.J., 2000.** What is oxidative stress? *Metabolism*, 49: 3-8.
- Carney Almroth, B., Johansson, A., Förlin, L. and Sturve, J., 2010.** Early-age changes in oxidative stress in brown trout, *Salmo trutta*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 155: 442-448. DOI: 10.1016/j.cbpb.2010.01.012
- Chebanov, M. and Galich, E.V., 2011.** Sturgeon hatchery manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 558. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 297 p.
- Díaz, M.E., Furné, M., Trenzado, C.E., García-Gallego, M., Domezain, A. and Sanz, A., 2010.** Antioxidant defences in the first life phases of the sturgeon *Acipenser naccarii*. *Aquaculture*, 307: 123-129. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.06.026
- Friedrich, M. and Stepanowska, K., 2001.** Effects of starvation on nutritive value of carp (*Cyprinus carpio* L.) and selected biochemical components of its blood. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 31: 29-36. DOI: 10.3750/AIP2001.31.2.03
- Furne, M., Garsia-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Domezain, J. and Sanz, A., 2008.** Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 149: 420-425. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.02.002
- Furne, M., Garsia-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Morales, A. E., Domezain, A., Domezain, J. and Sanze, A., 2009.** Oxidative stress parameters during starvation and refeeding periods in Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 15: 587-595. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00626.x
- Ghiasi, S., Falahatkar, B., Dabrowski, K. and Arslan, M., 2014.** Effect of thiamine injection on growth performance, hematology and germinal vesicle migration in sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* L. *Aquaculture International*, 22: 1563-1576. DOI: 10.1007/s10499-014-9765-7
- Goth, L., 1991.** A Simple method for determination of serum catalas activity and revision of reference rang. *International Journal of Clinical Chemistry*, 196: 143-152.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999.** Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford, UK. 543 p.
- Holcik, J., 1989.** The freshwater fishes of Europe. Aula Verlag, Wiebelsheim, Germany.
- Gomez-Zubeldia, M.A., Hernandez, R., Viguera, J., Arbues, J.J., Aparicio, A. and Millan J.C., 2000.** Effect of bilateral ovariectomy and ovarian steroid hormones on the antioxidant systems and plasma

- malondialdehyde levels in Wistar rats. *Endocrine Research*, 26: 97-107. DOI: 10.1080/07435800009040149
- Lacava, Z.G.M. and Luna, H., 1994.** The anticlastogenic effect of tocopherol in peritoneal macrophages of benznidazole-treated and ovariectomized mice. *Mutation Research*, 305: 145-150. DOI: 10.1016/0027-5107(94)90233-X
- Huang, C.H., Chang, J., Huang, S.L. and Chen, W.L., 2003.** Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 134: 265-270. DOI: 10.1016/S1096-4959(02)00256-7
- Huang, W., Cao, L., Liu, J., Lin, L. and Dou, S., 2010.** Short-term mercury exposure affecting the development and antioxidant biomarkers of Japanese flounder embryos and larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1875-1883. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2010.08.012
- Langseth, L., 1995.** Oxidants, antioxidants and disease prevention. International Life Sciences Institute, Brussels, Belgium. 360 p.
- Liu, Y., Wang, W., Wang, A., Wang, J. and Sun, R., 2007.** Effect of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931) exposed to acute salinity changes. *Aquaculture*, 265: 351-358. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.010
- Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Cardenete, G., 2004.** Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139: 153-161. DOI: 10.1016/j.proenv.2011.10.074
- Navarro, I. and Gutiérrez, J., 1995.** Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W. and Mommsen, T.P., (eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands. pp: 393-434.
- Onivie, I.L.M., Olutimilehin, A.J., Sunday, O.J. and Titus, M.C., 2010.** The Influence of supplemental vitamins C and E in maternal diets on growth and survival of *Heterobranchus longifilis* fry outdoor. *Nature and Science*, 8: 75-80. DOI:
- Pajovic, S.B., Saicic, Z.S., Spasic, M.B. and Petrovic, V.M., 2003.** The effect of ovarian hormones on antioxidant enzyme activities in the brain of male rats. *Physiological Research*, 52: 189-194.
- Pajovic, S.B., Saicic, Z.S., Spasic, M.B., Petrovic, V.M. and Martinovic, J.V., 1999.** Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathione-dependent antioxidant enzyme activities in the brain of female rats. *General Physiology and Biophysics*, 18: 35-44.
- Pascual, P., Pedrajas, J.R., Toribio, F., López-Barea, J. and Peinado, J., 2003.** Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-Biological Interactions*, 145: 191-199.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E. and Oliva-Teles, A., 2007.** Metabolic response to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary Composition. *Aquaculture*, 265: 325-335. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.01.021

- Regoli, F., Nigro, M., Bompadre, S. and Winston, G.W., 2000.** Total oxidant scavenging capacity (TOSC) of microsomal and cytosolic fractions from Antarctic, Arctic and Mediterranean scallops: differentiation between three potent oxidants. *Aquatic Toxicology*, 49: 13-25. DOI: 10.1016/S0166-445X(99)00070-3
- Regoli, F., Nigro, M., Benedetti, M., Fattorini, D. and Gorbi, S., 2005.** Antioxidant efficiency in early life stages of the Antarctic silverfish, *Pleuragramma antarcticum*: Responsiveness to pro-oxidant conditions of platelet ice and chemical exposure. *Aquatic Toxicology*, 75: 43-72. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.07.003
- Ritola, O., Livingstone, D.R., Peters, L.D. and Lindstrom-Seppa, P., 2002.** Antioxidant processes are affected in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water. *Aquaculture*, 210: 1-19. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00823-7
- Rodriguez-Ariza, A., Peinado, J., Pueyo, C. and Lopez-Barea, J., 1993.** Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 2568-2572. DOI: 10.1139/f93-280
- Smith, J., Jones, M. and Houghton, L., 1999.** Future of health insurance. *The New England Journal of Medicine*, 965: 325-329.
- Speakman, J.R., 2008.** The physiological costs of reproduction in small mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 363: 375-398. DOI: 10.1098/rstb.2007.2145
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M. and Telser, J., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44-84. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Veliseck, J., Stara, A., Li, Z-H., Silovska, S. and Turek, J., 2011.** Comparison of the effects of four anesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture*, 310: 369-375. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.11.010
- Wilhelm Filho, D., 2007.** Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. *Frontiers in Bioscience*, 12:1229-1237. DOI: 10.2741/2141
- Zhang, X.D., Wu, T.X., Cai, L.S. and Zhu, Y.F., 2007.** Influence of fasting on muscle composition and antioxidant defenses of market-size *Sparus macrocephalus*. *Journal of Zhejiang University Science*, 8:906-911. DOI: 10.1631/jzus.2007.B0906

Evaluation of antioxidant defense in the various stages of sexual maturation in cultured Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*)

Younesazadeh Fashalami M.¹; Salati A.P.^{1*}; Keyvanshokoo S.¹

* salatia@gmail.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

Abstract

One of the most important defense systems in order to keep fish homeostasis is the antioxidant defense system. In order to assay antioxidant enzymes during ovarian maturation process in cultured female Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*), 24 fish were categorized in four groups including previtellogenic, vitellogenic, post-vitellogenic and atresia stage (6 fish in each group) and blood samples were collected from them. The stages of maturity were identified based on the histological criteria and direct observation. Activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) and the content of malondealdehyde (MDA) in the blood were investigated. The results showed that CAT and GPX activities were decreased in vitellogenic stage compared to those in previtellogenic stage ($p < 0.05$). However, CAT and GPX activities were increased again till atresia stage ($p < 0.05$). SOD activity was not significantly different among various stages ($p > 0.05$). MDA concentration did not show significant changes among different groups ($p > 0.05$). The results of this study showed that instead of increasing the metabolism in the process of sexual maturation, antioxidant defense was able to effectively protect fish against these changes.

Keywords: Antioxidant enzymes, Sturgeon fish, Blood, Reproduction, Lipid peroxidation

*Corresponding author