

ارزیابی شاخص‌های لقاح و پاسخ استرس جنین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

در درجه حرارت‌های مختلف

محمد حسین خانجانی^{۱*}، غلامرضا قایدی^۲

۱- استادیار گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، پست الکترونیکی: m.h.khanjani@ujiroft.ac.ir

۲- دانش‌آموخته دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: ghaedighr@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱۷

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۲۷

چکیده

درجه حرارت از عوامل مهم تاثیر گذار بر رشد و تولید مثل جانوران آبزی می‌باشد. در مطالعه حاضر تاثیر درجه حرارت بر شاخص‌های لقاح و پاسخ استرس جنین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. دو تیمار درجه حرارت شامل ۱۴/۵ و ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد در سه تکرار در نظر گرفته شد. تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن $(81/30 \pm 1/91)$ میلی‌گرم) به تراکم ۵۰۰۰ عدد در هر سینی تراف ذخیره‌سازی و تا مرحله گشایی تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف قرار داده شدند. طبق نتایج بدست آمده مشخص گردید که مدت زمان چشم زدگی و تخم گشایی با افزایش دما، کوتاهتر شده و درصد تخم گشایی و لاروهای دارای شنای فعال نیز کاهش می‌یابد. بطوری‌که مقادیر ۳۲/۶۶٪ و ۳۰٪ به ترتیب برای تخم گشایی و لاروهای دارای شنای فعال در تیمار درجه حرارت ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد بدست آمد که با تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). در پاسخ به استرس محیطی درجه حرارت در مراحل اولیه تخم تغییرات محسوسی مشاهده نگردید، اما استرس وارد شده به جنین‌های پرورش یافته در درجه حرارت‌های مختلف باعث تفاوت‌هایی در پاسخ کورتیزول به استرس در مرحله تخم گشایی شد که منجر به افزایش کورتیزول در مرحله تخم گشایی نسبت به مرحله چشم‌زدگی شد. هنگامی که ماهیان در دوره جنینی در معرض استرس باشند زمان تأخیری پاسخ کورتیزول به استرس بلافاصله بعد از تخم گشایی ایجاد نمی‌شود. در نهایت نتایج نشان داد که محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بافت بین‌کلیوی در زمان تخم گشایی فعال می‌شود و به استرس‌های محیطی (از قبیل درجه حرارت) پاسخ می‌دهد.

کلمات کلیدی: شاخص‌های لقاح، کورتیزول، استرس، جنین، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

۱. مقدمه

امروزه تولید تخم و لاروهای با کیفیت و با راندمان رشد و بازماندگی بالا به عنوان یک ابزار مهم و کلیدی در صنعت ماهیان سردآبی به خصوص گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان (Walbaum, 1792) *Oncorhynchus mykiss* محسوب می‌شود. فاکتورهای مختلفی مانند ژنتیک، تغذیه، استرس، وضعیت سلامتی، دمای آب و دستکاری پس از رسیدگی از عوامل مهم و تاثیرگذار بر کیفیت تخم و لارو ماهی قزل‌آلا هستند (Schreck et al., 2001). دانستن مناسب‌ترین و بهینه‌ترین مقادیر پارامترهای محیطی در تمام مراحل زندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان امری بسیار مهم و ضروری است، در بین پارامترهای محیطی درجه حرارت مهمترین فاکتور اکولوژیک تاثیرگذار بر رشد و پراکنش قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد (Wehrly et al., 2007). درجه حرارت بر عوامل درونی کنترل کننده رشد تاثیر گذاشته و اثرات فیزیولوژیک مختلفی بر آبیاری وارد می‌کند (Quigley and Hinch, 2006). دما بر میزان سطح کورتیزول، گلوکز پلاسما، و بیان ژن‌های کنترل کننده پروتئین‌های شوک حرارتی تاثیر می‌گذارد (Wehrly et al., 2007; Vanlandeghem et al., 2010). کورتیزول به عنوان شاخص استرس در ماهی شناخته می‌شود (Barton, 2002). افزایش کورتیزول به عنوان عکس العمل اولیه به استرس در اثر فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین‌کلیوی (Hypothalamus-Pituitary-Interrenal (HPI)) ایجاد می‌شود (Iwama et al., 2005). این هورمون در تولیدمثل (Milla et al., 2009)، فعالیت‌های متابولیکی (Poursaeid et al., 2012)، تنظیم اسمزی و سازگاری با آب شور (Mommsen et al., 1999)، سازگاری با آب شیرین (McCormick, 2001; Kiilerich et al., 2007) تحت استرس (Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999) استرس‌های مزمن با افزایش مصرف انرژی و محدود کردن رشد (Jentoft et al., 2005)، استرس‌های موثر بر کاهش رشد گامت‌ها در جنس ماده (Mileva et al., 2011)، جذب غذا (Bernier and Peter, 2001; Øverli et al., 2006) نقش مهمی دارد. در ماهیان مولد حاوی سطح بالای کورتیزول منجر به کاهش اندازه بدن، شاخص گنادوسوماتیک و کیفیت و اندازه تخم می‌شود (Pourhosein Saramah et al., 2012). به طور کلی کورتیزول به عنوان یک هورمون ضد رشد شناخته می‌شود اما میزان ناچیز آن برای رشد و نمو نیاز است (Schreck et al., 2001).

(al., 2001). مقادیر نسبتاً پایین کورتیزول طی دوره تخم‌گذاری نقش افزایش دهنده رشد را بازی می‌کند (Feist and Schreck, 2002). پاسخ استرس با توجه به نوع فاکتور محیطی ایجاد کننده استرس (Wendelaar Bonga, 1997; Falahatkar et al., 2012)، گونه آبی و مرحله زندگی (McGeer et al., 1991; Pottinger et al., 1992) متغیر است. مقادیر قابل توجهی از کورتیزول در تخم‌های چشم زده، تازه لقاح یافته، جنین، لارو (Szisch et al., 2005; Simontacchi et al., 2008; Applebaum et al., 2010; Falahatkar et al., 2013) و آلودن‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Auperin and Geslin, 2008) گزارش شده است. موفقیت در پرورش آبیاری تا حد زیادی به شرایط محیطی و پرورشی آبی بستگی دارد. تراکم، دما، نور و دی‌آب به طور اساسی کیفیت محیط آبی و شرایط پرورش آبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. عوامل محیطی و فاکتورهای مرتبط با خوراک بر میزان فاکتورهای خونی (هماتولوژیکی و بیوشیمیایی) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرگذار هستند (عضدی و همکاران، ۱۳۹۳؛ غفاری فارسانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ داغستانی و همکاران، ۱۳۹۷). با توجه به نوع گونه، نژاد، شرایط محیطی و استرس حاد و مزمن پاسخ کورتیزول در زمان متفاوتی ممکن است رخ دهد (Barton, 2002). دانستن زمان شروع پاسخ استرس کورتیزول نسبت به تغییرات محیطی برای توسعه موفقیت آمیز پرورش ماهی حائز اهمیت است. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی مقادیر شاخص‌های لقاح (درصد چشم‌زدگی، تخم‌گذاری، شنای فعال) و میزان کورتیزول در تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف طراحی و انجام گردید.

۲. مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شش‌پیر سپیدان استان فارس به اجرا درآمد. ۳۰ هزار قطعه تخم لقاح یافته قزل‌آلای رنگین‌کمان (۳ ساعت بعد از لقاح) با میانگین ۱۲/۳ عدد در هر گرم ($1/91 \pm 81/30$ میلی‌گرم) انتخاب شد. تخم‌های لقاح یافته به صورت تصادفی در انکوباتورهای نوع کالیفرنایی با منبع آب چشمه (با دی‌آب هشت لیتر در دقیقه) در سینی‌های با سایز (۲۰×۴۰×۴۰ سانتیمتر) با تراکم ۵۰۰۰ تخم در هر سینی توزیع شدند. تخم‌ها در دو گروه آزمایشی با درجه حرارت‌های مختلف (۱۴/۵ و ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد) با سه

تخم‌ها با روش Wu و Hwang (۱۹۹۳) عصاره‌گیری شدند و سپس از عصاره برای اندازه‌گیری کورتیزول به روش RIA (Radio immuno assay) استفاده شد.

تعیین مقادیر کورتیزول به روش RIA با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک گاما کانتر (مدل L.K.B ساخت کشور استرالیا LKB, Mount Waverley, Australia) (Kubokawa et al., 1999) و با بکارگیری کیت هورمونی (Immunotech, Prague, Czech Republic IM 1841) انجام شد. بر اساس واکنش رقابتی بین آنتی‌ژن موجود در نمونه (کورتیزول) با آنتی‌ژن نشاندار شده با ید رادیواکتیو ۱۲۵ جهت اتصال به آنتی‌بادی موجود در فاز جامد طراحی شده که پرتودهی حاصل از این اتصال با گاماکانتر (LKB 1274, Mount Waverley, Australia) اندازه‌گیری و پردازش می‌شود برای کالیبره نمودن تست از استانداردهای مقاله (Irwin et al., 1999) استفاده شد.

آنالیز آماری کلیه داده‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در ابتدا برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد و سپس برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد و کلیه محاسبات با اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام گردید.

۳. نتایج و بحث

مدت زمان چشم زدگی و تخم‌گذاری تخم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تحت تاثیر دماهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است، که این میزان در دمای ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد کمتر بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0/05$). درصد چشم زدگی، تفریح و شنای فعال در جدول ۱ آورده شده است که مقادیر این پارامترها در تیمار دمایی ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد بالاتر بود و اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد نشان داد ($P < 0/05$).

جدول ۱: درجه روز چشم زدگی، تخم‌گذاری و درصد چشم زدگی، تخم‌گذاری و شنای فعال تحت تاثیر دمای‌های مختلف، (میانگین \pm انحراف از معیار).

درجه حرارت (سانتی‌گراد)	درجه روز چشم زدگی	درصد چشم زدگی	درجه روز تخم‌گذاری (بعد از چشم‌زدگی)	درصد تخم‌گذاری	درصد لاروهای دارای شنای فعال
۱۴/۵	$16 \pm 7/5$	$65/66 \pm 2/16$	$154/6 \pm 7/42$	$46/65 \pm 1/35$	$41/61 \pm 2/8$
۱۷/۲	$9 \pm 183/5$	$57/35 \pm 2/71$	$126/1 \pm 8/75$	$37/66 \pm 2/71$	$30 \pm 1/7$

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($P > 0/05$).

تکرار تقسیم بندی شدند. دمای اولیه نگهداری تخم‌ها در زمان لقاح ۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید.

بعد از استرس دمایی در زمان‌های مختلف (۱، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت بعد از ذخیره‌سازی) مقدار کورتیزول مورد سنجش قرار گرفت. در طول مدت انکوباسیون سینی‌های تخم برای جلوگیری از اثرات نور با یونولیت پوشانده شدند و از هرگونه استرس دیگر شامل دستکاری و جابجایی جلوگیری شد. در طول دوره آزمایش شاخص‌های کیفی آب شامل اکسیژن ($0/25 \pm 7/86$ میلی‌گرم در لیتر) و pH ($0/07 \pm 7/69$) به صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. هر روز به وسیله پوار دستی، تخم‌های مرده، فاسد، قارچ زده و آلودگی‌های مرده از داخل تراف‌ها خارج شده و ثبت گردیدند. در این مدت درصد چشم‌زدگی، تخم‌گذاری و شنای فعال در هر دو تیمار ثبت گردید.

با شمارش تخم‌های چشم زده و سفید و با استفاده از فرمول زیر درصد چشم‌زدگی محاسبه شد.

درصد چشم زدگی = (تعداد کل تخم / تعداد تخم‌های چشم زده) $\times 100$

تخم‌های چشم زده بعد از جدا کردن تلفات مرحله چشم‌زدگی تا مرحله شکفتن جهت محاسبه درصد تخم‌گذاری نگهداری شدند.

درصد تخم‌گذاری = (تعداد کل تخم / تعداد تخم‌های تخم‌گذاری شده) $\times 100$

درصد شنای فعال = (تعداد کل تخم / تعداد آلودگی‌های دارای شنای فعال) $\times 100$

جهت استخراج و سنجش کورتیزول، تعداد ۱۰ تخم از هر تکرار در زمان‌های ۱، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت بعد از ذخیره‌سازی و تاثیر درجه حرارت نمونه‌گیری شد، نمونه‌های تخم در ازت مایع فریز شدند و سپس برای اندازه‌گیری میزان کورتیزول، تخم‌ها هموژن و نمونه‌های آماده شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند (Auperin and Geslin, 2008).

در جدول ۲ ارائه شده است. غلظت کورتیزول در زمان‌های مختلف (برحسب ساعت) بعد از ذخیره سازی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تراف‌ها تحت تاثیر دماهای مختلف در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۲: غلظت کورتیزول در تخم و ۳ ساعت بعد از لقاح برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای اولیه نکه‌داری (۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد)، (میانگین \pm انحراف از معیار).

تخم	۳ ساعت بعد از لقاح
غلظت کورتیزول (نانوگرم بر گرم)	۴/۹۵ \pm ۰/۱
	۳/۶۱ \pm ۰/۱۳

جدول ۳: غلظت کورتیزول در زمان‌های مختلف (ساعت) بعد از ذخیره سازی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در داخل تراف تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف، (میانگین \pm انحراف از معیار).

درجه حرارت (سانتی‌گراد)	۱ ساعت	۴ ساعت	۸ ساعت	۲۴ ساعت
۱۴/۵	۲/۹۵ \pm ۰/۱۵	۲/۶۳ \pm ۰/۲۳	۲/۴۵ \pm ۰/۳۸	۲/۷۵ \pm ۰/۳۵
۱۷/۲	۳/۲۵ \pm ۰/۲۱	۲/۹۵ \pm ۰/۵	۲/۷۵ \pm ۰/۳	۲/۹۵ \pm ۰/۲۹

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($P > 0.05$).

میزان غلظت کورتیزول در دو تیمار ابتدا کاهش و در نهایت افزایش اندکی (در ۲۴ ساعت بعد از ذخیره سازی) نشان داد که این میزان در درجه حرارت ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد ۳/۲، ۲/۹۵، ۲/۷ و ۲/۹ نانوگرم بر گرم به ترتیب در ساعات ۱، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت بعد از استرس دمایی مشاهده گردید. سطح کورتیزول در مطالعه حاضر در یک‌ساعت بعد از استرس دمایی به ترتیب ۲/۹ و ۳/۲ نانوگرم در گرم در تیمار ۱۴/۵ و ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد بدست آمد، که حدود ۷ برابر کمتر از مقادیر ارائه شده توسط Barry و همکاران (۱۹۹۵) در قزل‌آلای رنگین‌کمان، ۲ برابر کمتر از غلظت ارائه شده توسط Feist and Schreck (۲۰۰۲) در ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) مشاهده شد. که این تفاوت می‌تواند بدلیل شرایط پرورش و منبع ایجاد کننده استرس باشد. به طور کلی تفاوت در نتایج تحقیقات به عوامل مختلفی بستگی دارد، هورمون کورتیزول و تغییرات وابسته به آن تحت تاثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند گونه، نژاد، درجه حرارت، چرخه تولیدمثلی، نرخ متابولیک، سن، نوع استرس، دوره‌های نوری، وضعیت تغذیه، قرار می‌گیرد. در مطالعه

مجموعه عوامل از جمله کیفیت اسپرم، تخمک، تغذیه، استرس، بهداشت و شرایط فیزیکی‌شیمیایی بویژه درجه حرارت در میزان تخم‌گشایی و بازماندگی لاروها موثر هستند (Schreck et al., 2001; Bozkurt et al., 2006). در مطالعه حاضر با افزایش درجه حرارت مدت زمان چشم‌زدگی، تخم‌گشایی، درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و شنای فعال کاهش یافت که احتمالاً بدلیل کاهش کیفیت تخم در مراحل اولیه پرورش تحت استرس دمایی ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد باشد که از دامنه مطلوب پرورش تخم خارج است. بر طبق تحقیقات دوره و سرعت تکامل جنینی به درجه حرارت بستگی دارد که با افزایش درجه حرارت این دوره کوتاه‌تر می‌شود، شوک حرارتی و افزایش درجه حرارت تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش بقای تخم و درصد تخم‌گشایی می‌شود (Catherine, 2004). در مطالعه Healey (۱۹۷۹) مشخص شد که افزایش دمای بالاتر از ۱۳/۹ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش مرگ و میر تا ۸۰ درصد در ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) می‌شود. مرگ و میر و تلفات از دمای ۱۱/۱ تا ۱۳/۳ درجه سانتی‌گراد تفاوت قابل ملاحظه‌ای در تخم ماهی آزاد چینوک نداشت، اما با افزایش دما تا ۱۷/۸ درجه سانتی‌گراد تلفات به شدت افزایش یافت (Healey, 1979). در مطالعه حاضر در درجه حرارت ۱۴/۵ و ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۴۱ و ۳۰ درصد از تخم‌ها به شنای فعال رسیدند که نشان دهنده این است که افزایش دما منجر به افزایش استرس و کاهش بقاء تخم می‌شود. در دامنه دمایی معمول زندگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان هر چه دمای آب پایین‌تر باشد، مدت زمانی که تخمک در طی آن دارای کیفیت مناسب بوده و بالاترین میزان چشم‌زدگی، و تخم‌گشایی را خواهد داشت، طولانی‌تر می‌گردد. بنابراین فرصت بیشتری وجود دارد تا تخمک‌ها بطور کامل نمو یافته تا دارای کیفیت مناسب شوند. طول دوره تکامل تخمک در دماهای پایین‌تر نیز محدودیت دارد. هر چه دمای محیط زندگی ماهی بالاتر رود، مدت زمانی که تخمک در طی آن دارای کیفیت مناسب می‌باشد محدودتر می‌شود (King and Pankhurst., 2004) با افزایش دما اندام‌های موجود در تخم فرصت محدودی برای شکل‌گیری کامل دارند و امکان ناقص و معیوب شدن لاروهای حاصل از تخم‌های که در دمای بالا نگهداری شده‌اند وجود دارد که تاثیر منفی بر میزان شاخص‌های لقاح می‌گذارد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Aegerter and Jalabert., 2004). میزان غلظت کورتیزول در تخم و سه ساعت بعد از لقاح

(1991)، ماهی آزاد چام (*Oncorhynchus Keta*; Hwang et al.)، تیلایپای موزامبیک (*Oreochromis massambicus*; (1992)، قول آلی رنگین کمان (Hwang and Wu, 1993)، کپور (*Oncorhynchus mykiss*; Pottinger and Mosuwe 1994)، معمولی (*Cyprinus carpio*; Stouthart et al., 1998)، ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*; Feist and Schreck, (2002) و سوف زرد (*Perca flavescens*; Jentoft et al., 2002) گزارش شده است. این کورتیزول منشأ مادری داشته و برای تنظیم رشد و نمو جنین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tagawa et al., 2000). محققان مقادیر متغیری از میزان کورتیزول در تخم تازه لقاح یافته قول آلی رنگین کمان برای مثال ۶ نانوگرم بر گرم (Barry et al., 2008) و ۱/۴ نانوگرم بر گرم (Auperin and Geslin, 1995) گزارش کرده‌اند که مقدار بدست آمده از تحقیق حاضر تقریباً در محدوده گزارش شده می‌باشد. تخم‌های تازه لقاح یافته قول آلی رنگین کمان حاوی میزان بالایی از کورتیزول می‌باشند که از لقاح تا ۱۰ روز پس از آن (تا مرحله ارگان‌زایی) کاهش می‌یابد، کاهش کورتیزول در این مرحله این فرضیه را تأیید می‌کند که این استروئید در چندین روز بعد از لقاح، شروع به متابولیزه شدن بوسیله آنزیم‌های جنین در حال نمو می‌کند (Auperin and Geslin, 2008). این مشاهدات تأیید می‌کند که کورتیزول با منشأ مادری در تخم ذخیره شده و طی نمو اولیه جنینی استفاده و یا متابولیزه می‌شود (De Jesus et al., 1991; Hwang et al., 1992; Sampath-Kumar et al., 1995; Barry et al., 1997). غلظت کورتیزول از مرحله لقاح تا تخم چشم زده در هر دو تیمار دمایی در مطالعه حاضر کاهش نشان داد که احتمالاً به دلیل متابولیز کورتیزول مادری در جنین‌ها و تخم‌های در حال توسعه باشد (Jentoft et al., 2002; Auperin and Geslin., 2008). غلظت کورتیزول در مطالعه حاضر افزایش اندکی بین مرحله چشم‌زدگی تا تخم گشایی در هر دو تیمار نشان داد که احتمالاً به دلیل تولیدات درونی تخم قبل از تخم گشایی باشد که در مطالعات دیگر محققین نیز گزارش شده است (Stouthart et al., 1998; Feist and Schreck, 2002; Jentoft et al., 2002). در تخم‌های چشم زده کورتیزول تولید می‌شود و قبل از تخم گشایی غلظت کورتیزول در تخم افزایش می‌یابد (Auperin and Geslin., 2008). استفاده از کورتیزول مادری توسط جنین در حال رشد از لقاح تا شکل‌گیری سلول‌های درونی تخم اتفاق می‌افتد

حاضر ۲۴ ساعت بعد از لقاح نیز افزایش محسوسی در مقادیر کورتیزول در هر دو تیمار مشاهده گردید که این ممکن است بدلیل فعالیت‌های درونی تخم و همچنین افزایش سلول‌های ایترنرال در غده فوق‌کلیوی باشد، که با مطالعه (Hwang et al., 1992) مطابقت داشت. غلظت کورتیزول در مراحل چشم زده و تخم گشایی شده تحت تاثیر تیمارهای مختلف برای تخم ماهی قول آلی رنگین کمان در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که این میزان تحت تاثیر درجه حرارت ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد بالاتر است. میزان ۱/۰۵ و ۱/۹۰ نانوگرم بر گرم به ترتیب در مرحله تخم چشم زده و تخم گشایی شده در تیمار ۱۷/۲ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که این میزان در درجه حرارت ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۰/۹۴ و ۱/۵ نانوگرم بر گرم بدست آمد که اختلاف معنی‌داری بین هر دو تیمار در مرحله تخم گشایی مشاهده گردید ($P < 0/05$). افزایش دما بالاتر از ۱۶ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش سطح کورتیزول پلاسما در ماهی قول آلی رنگین کمان می‌شود بطوری‌که بالاترین سطح کورتیزول در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود (Quigley and Hinch, 2006). در مطالعه حاضر غلظت کورتیزول بعد از لقاح به سرعت کاهش نشان داد که این کاهش در ماهی خاویاری سفید (*Acipenser transmontanus*) نیز توسط (Simontacchi et al., 2008) گزارش شده است.

جدول ۴: غلظت کورتیزول (نانوگرم بر گرم) در مراحل چشم‌زده و تخم‌گشایی تحت تاثیر تیمارهای مختلف برای تخم ماهی قول آلی رنگین کمان، (میانگین \pm انحراف از معیار).

درجه حرارت (سانتی‌گراد)	در مرحله چشم زده	در مرحله تخم گشایی
۱۴/۵	$0/15 \pm 0/94^a$	$0/11 \pm 0/17^a$
۱۷/۲	$0/18 \pm 0/10^a$	$0/21 \pm 0/19^b$

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($P > 0/05$).

این کاهش احتمالاً به علت انتشار کورتیزول از لایه کوریون تخم و جذب آب باشد، قبل از این که پوسته تخم سخت شود. این چنین تراوش‌هایی بلافاصله بعد از لقاح قبل از سفت شدن لایه کوریون گزارش شده است (Auperin and Geslin, 2008). وجود کورتیزول در تخم‌های لقاح یافته چندین گونه ماهی شامل فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*; De Jesus et al.,

بدست آمده از کورتیزول تحت شرایط استرس دمایی در محدود گزارش شده توسط دیگر محققین برای ماهیان استخوانی بود (Stratholt et al., 1997; Jentoft et al., 2002; Auperin and Geslin, 2008; Simontacchi et al., 2008; Applebaum et al., 2010). تولید کورتیزول در پاسخ به استرس دمایی در مرحله تخم‌گذاری به مقدار کم انجام شد که احتمالاً به دلیل توسعه یافتگی محور HPI باشد. کم بودن تفاوت‌ها در میزان کورتیزول در دو تیمار نشان می‌دهد که استرس دمایی اثری بر محور HPI و سنتز کورتیزول در جنین‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان ندارد. استرس فیزیولوژیک پیامدهای منفی شدیدی بر رشد، مقاومت به بیماری و عملکرد ماهی در پرورش متراکم دارد (Pickering, 1993). پاسخ کورتیزول به استرس در دو گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی با به‌گزینی قابل‌اصلاح است (Tanck et al., 2002; Fevolden et al., 2002) و در قزل‌آلای رنگین‌کمان، ماهیان انتخاب شده با میزان کم کورتیزول در پاسخ به استرس، رشد بهتری نشان داده‌اند (Fevolden et al., 2002). میزان کورتیزولی که قزل‌آلای رنگین‌کمان در واکنش به استرس تولید می‌کند نیز با تکثیر انتخابی قابل‌تغییر است (Pottinger and Carrick, 1999). شناخت زمانی که ماهی برای اولین بار توانایی تولید کورتیزول را کسب می‌کند و زمان‌هایی در نمو اولیه که به رویدادهای استرس‌زا حساس هستند می‌تواند منجر به بهبود مدیریت در آبی‌پروری و جمعیت‌های طبیعی شود. بنابراین، شناخت مراحل نمو واکنش فیزیولوژیک استرس در جنین قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند منجر به روش‌هایی برای تولید ماهیان مقاوم به استرس که رشد بهتر و خصوصیات تولیدی بهتری دارند، شود.

۴. نتیجه‌گیری

به طور کلی مطالعه حاضر نشان داد افزایش دما منجر به کوتاه‌تر شدن دوره چشم‌زدگی و تخم‌گشائی تخم‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان و کاهش درصد لاروهای دارای شنای فعال می‌گردد. در مراحل اولیه رشد تخم محور HPI به طور کامل توسعه نیافته و تغییر محسوسی در میزان کورتیزول تحت استرس درجه حرارت مشاهده نمی‌شود ولی با افزایش رشد و توسعه تخم‌محور HPI توسعه یافته و در مرحله تخم‌گشائی افزایش نسبی در میزان کورتیزول اتفاق می‌افتد.

(Stouthart et al., 1998). افزایش مشابهی در ماهی آزاد چینوک (De Jesus and Feist and Schreck, 2002) و ماهی آزاد چام (Hirano, 1992) در میزان کورتیزول قبل از تخم‌گشائی گزارش شده است. مطالعات انجام شده با استفاده از پیش‌سازهای سنتز کورتیزول نشان‌دار شده با رادیواکتیو نشان داده‌اند که نوزادان سی‌باس آسیایی توان تبدیل این پیش‌سازها را به کورتیزول دارند، همچنین وجود آنزیم‌های دخیل در سنتز استروئیدها در بافت بین‌کلیوی و آدرنوکورتیکوتروپین هورمون در غده هیپوفیز با استفاده از تکنیک‌های ایمنوسیتوشیمی اثبات شده است (Sampath-Kumar et al., 1997). در مطالعه Barry و همکاران (1995) نشان دادند که بافت بین‌کلیوی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیش از تخم‌گشائی توان پاسخ به آدرنوکورتیکوتروپین با تولید کورتیزول را دارد. این مطالعات نشان می‌دهند که محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بافت بین‌کلیوی در تخم‌گشائی یا قبل از آن، کامل است و افزایش استروئیدها در نزدیکی تخم‌گشائی در نتیجه سنتز آن رخ می‌دهد. در مطالعه Auperin و Geslin (2008) در سال (2008) مشخص شد که سلول‌های درونی رشد یافته در تخم چشم‌زده توانایی پاسخ در مقابل استرس‌های محیطی را ندارند، در مطالعه حاضر نیز میزان کورتیزول تحت تاثیر درجه حرارت‌های مختلف افزایش زیادی نشان نداد که احتمالاً بدلیل عدم تکامل سلول‌های عصبی و مرکزی مغز و هیپوفیز باشد. مطالعات بر روی تخم‌هچ شده ماهیان خانواده سالمونیده نشان می‌دهد که پاسخ اولیه کورتیزول به تغییر شرایط محیطی حداقل پنج روز بعد از تخم‌گشائی می‌باشد که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان این زمان حداقل ۹ روز بعد از تخم‌گشائی اتفاق می‌افتد (Feist and Schreck, 2002; Auperin and Geslin, 2008). در مطالعه حاضر سطح کورتیزول بالاتری بعد از مرحله چشم‌زدگی تا تخم‌گشائی در هر دو تیمار مشاهده گردید. افزایش ناچیز غلظت کورتیزول به استرس محیطی افزایش دما احتمالاً مربوط به عدم توسعه یافتگی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بین‌کلیوی باشد. همچنین با توجه به شرایط پرورش، نوع گونه پرورشی و نوع استرس محیطی پاسخ کورتیزول متفاوت است (Feist and Schreck, 2002). بیوسنتز کورتیزول و توسعه فرآیند محور HPI تحت تاثیر استرس‌های مختلف فعال می‌گردد که در مطالعه حاضر نیز در مرحله تخم‌گشائی مقادیر کورتیزول بالاتر نشان داد. سطح کورتیزول در مطالعه حاضر در مراحل اولیه تخم، تخم‌چشم‌زده و تخم‌گشائی قزل‌آلای رنگین‌کمان اندازه‌گیری شد که مقادیر

- rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 97: 57–65.
<https://doi.org/10.1006/gcen.1995.1006>
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 517–525.
<https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Bernier, N.J.; Peter, R.E., 2001. The hypothalamic–pituitary– internal axis and the control of food intake in teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 129B: 639–644.
[https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00360-8](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00360-8)
- Bozkurt, Y., 2006. The relationship between body condition, sperm quality parameters and fertilization success in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(4): 284–288.
- Catherine, A., 2004. The Effects of Nutrition on Reproduction in the Eastern Rainbow fish, *melanotaenia splendida splendid*. For the degree of Master of Science by research in the school of Marine Bioligy and Aquaculture James cook university, 119 p.
- De Jesus, E.G.; Hirano, T., 1992. Changes in whole body concentrations of cortisol, thyroid hormones and sex steroids during early development of the Chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and Comparative Endocrinology*, 85: 55–61.
[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(92\)90171-F](https://doi.org/10.1016/0016-6480(92)90171-F)
- De Jesus, E.G.; Hirano, T.; Inui, Y., 1991. Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *General and Comparative Endocrinology*, 82: 369–376.
[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(91\)90312-T](https://doi.org/10.1016/0016-6480(91)90312-T)
- Falahatkar, B.; Akhavan, S.R.; Efatpanah, I.; Meknatkhah, B., 2012. Primary and secondary responses of a غفاری فارسانی، ح؛ هدایتی، ع.ا؛ زارع ندیمی بین، ن؛ عزیزپور، س؛ شهبازی ناصر آباد، س.، ۱۳۹۵. بررسی تاثیر غلظت های تحت کشنده سم مالاتیون بر پارامترهای خون شناسی ماهی قزل آلی (*Oncorhynchus mykiss*) رنگین کمان، نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس شناسی. سال ۷. شماره ۲۷: صفحات ۹-۱.
- عضدی، م؛ ابراهیمی، ع؛ متقی، ا؛ مرشدی، و، ۱۳۹۳. بررسی برخی عوامل بیوشیمیایی پلاسمای خون ماهی انگشت قد قزل آلی رنگین کمان در طول دوره های گرسنگی کوتاه مدت، نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس شناسی. سال ۵. شماره ۱۹: صفحات ۵۹-۵۳.
- داغستانی، ب؛ ایمانی، ا؛ نوری، ف؛ فرزانه، م؛ سروی مغالو، ک، ۱۳۹۷. اثر ستهندگی سطوح مختلف آفلاتوکسین ب ۱ و زیرالنون جیره غذایی بر فعالیت آنزیم های گواری بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس شناسی. سال ۹. شماره ۳۶: صفحات ۲۱-۱۳.
- Aegerter, S.; Jalabert, B., 2004. Effects of post - ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 231: 59-71.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.019>
- Applebaum, S.L.; Wilson, C.A.; Holt, G.J.; Nunez, B.S., 2010. the onset of cortisol synthesis and the stress response is independent of changes in CYP11B or CYP21 mRNA levels in larval Red drum (*Sciaenops ocellatus*). *General and Comparative Endocrinology*, 165: 269– 276.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.07.003>
- Auperin, B.; Geslin, M., 2008. Plasma cortisol response to stress in juvenile rainbow trout is influenced by their life history during early development and by egg cortisol content. *General and Comparative Endocrinology*, 158: 234–239.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.07.002>
- Barry, T.P.; Malison, J.A.; Held, J.A.; Parrish, J.J., 1995. Ontogeny of the cortisol stress response in larval

- C, 124: 27-31.
[https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(99\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(99)00043-2)
- Iwama, G.K.; Afonso, L.O.B.; Vijayan, M.M., 2005. Stress in fish. In: Evans DH, Claiborne JB (eds) The physiology of fishes, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, FL, 319–342 PP.
- Jentoft, S, Aastveit, A.H.; Torjesen, P.A.; Andersen, Ø., 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 141A: 353–358.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.06.006>
- Jentoft, S, Held, J.A.; Malison, J.A.; Barry, T.P., 2002. Ontogeny of the cortisol stress response in yellow perch (*Perca flavescens*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 371–378.
<https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000009276.05161.8d>
- Kiilerich, P.; Kristiansen, K.; Madsen, S.S., 2007. Cortisol regulation of ion transporter mRNA in Atlantic salmon gill and the effect of salinity on the signaling pathway. *Journal of Endocrinology*, 194: 417–427.
<https://doi.org/10.1677/JOE-07-0185>
- King, H.R.; Pankhurst, N.W., 2004. Effect of maintenance at elevated temperature on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue responsiveness of female Atlantic salmon, *Salmo salar* in Tasmania. *Aquaculture*, 233: 583-597.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.049>
- Kubokawa, K.; Watanabe, T.; Yoshioka, M.; 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.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00504-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00504-3)
- McCormick, S.D., 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American Zoologist*, 41: teleostean, Pikeperch *Sander lucioperca*, and a chondrosteian, Persian sturgeon *Acipenser persicus* juveniles, to handling during transport. *North American Journal of Aquaculture*, 74: 241–250.
<https://doi.org/10.1080/15222055.2012.675988>
- Falahatkar, B.; Akhavan, S.R.; Ghaedi, G.R., 2013. Egg cortisol response to stress at early stages of development in Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquaculture International*, 21: 215–223.
<https://doi.org/10.1007/s10499-013-9669-y>
- Feist, G.; Schreck, C.B., 2002. Ontogeny of the stress response in Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 25: 31–40.
<https://doi.org/10.1023/A:1019709323520>
- Fevolden, S.E.; Røed, K.H.; Fjalestad, K.T., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture*, 205: 61–75.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00660-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00660-3)
- Healey, T.P., 1979. The effect of high temperature on the survival of Sacramento River Chinook (King) Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, eggs and fry. Sacramento: California Department of Fish and Game.
- Hwang, P.P.; Wu, S.M., 1993. Role of cortisol in hypo-osmoregulation in larvae of *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*). *General and Comparative Endocrinology*, 92: 318–324.
<https://doi.org/10.1006/gcen.1993.1168>
- Hwang, P.P.; Wu, S.M.; Lin, J.H.; Wu, L.S., 1992. Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *General and Comparative Endocrinology*, 186: 189–196.
[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(92\)90101-O](https://doi.org/10.1016/0016-6480(92)90101-O)
- Irwin, S.; Kenny, A.P.; O'Halloran, J.; FitzGerald, R.D.; Duggan, P.F., 1999. Adaptation and validation of a radioimmunoassay kit for measuring plasma cortisol in turbot. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part

- Pottinger, T.G.; Carrick, T.R., 1999. Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology*, 116: 122-132.
<https://doi.org/10.1006/gcen.1999.7355>
- Pottinger, T.G.; Mosuwe, E., 1994. The corticosteroidogenic response of brown and rainbow trout alevins and fry to environmental stress during a 'critical period'. *General and Comparative Endocrinology*, 95: 350-362.
<https://doi.org/10.1006/gcen.1994.1133>
- Pourhosein, S.; Saramah, S.; Falahatkar, B.; Azari Takami, G.; Efatpanah, I., 2012. Effects of different photoperiods and handling stress on spawning and reproductive performance of Pikeperch *Sander lucioperca*. *Animal Reproduction Science*, 132: 213-222.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.011>
- Poursaeid, S.; Falahatkar, B.; Mojazi Amiri, B.; Van Der Kraak, G., 2012. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured Great sturgeon *Huso huso*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 163A: 111-119.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.05.202>
- Quigley, J.T.; Hinch, S.G., 2006. Effects of rapid experimental temperature increases on acute physiological stress and behaviour of stream dwelling juvenile Chinook salmon. *Journal of Thermal Biology*, 31: 429-441.
<https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2006.02.003>
- Sampath-Kumar, R.; Byers, R.E.; Munro, A.D.; Lam, T.J., 1995. Profile of cortisol during ontogeny of the Asian sea bass, *Late calcarifer*. *Aquaculture*, 132: 349-359.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00364-T](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00364-T)
- Sampath-Kumar, R.; Lee, S.T.; Tan, C.H.; Munro, A.D.; Lam, T.J., 1997. Biosynthesis in vivo and excretion of 781-794.
<https://doi.org/10.1093/icb/41.4.781>
- McGeer, J.C.; Baranyi, L.; Iwama, G.K., 1991. Physiological responses to challenge tests in six stocks of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 1761-1771.
<https://doi.org/10.1139/f91-208>
- Mileva, V.R.; Gilmour, K.M.; Balshine, S., 2011. Effects of maternal stress on egg characteristics in a cooperatively breeding fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 158A: 22-29.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.08.017>
- Milla, S.; Wang, N.; Mandiki, S.N.M.; Kestemont, P., 2009. Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? *Comparative Biochemistry and Physiology*, 153A: 242-251.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.027>
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9: 211-268.
<https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>
- Øverli, Ø.; Sørensen, C.; Kiessling, A.; Pottinger, T.G.; Gjøen, H.M., 2006. Selection for improved stress tolerance in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. *Aquaculture*, 261: 776-781.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.049>
- Pickering, A.D., 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture*, 111: 51-63.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-81527-9.50010-5>
- Pottinger, A.D.; Pickering, T.G.; Hurley, M.A., 1992. Consistency in the stress response of individuals of two strains of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 103: 275-289.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90172-H](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90172-H)

- cortisol in the Gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *General and Comparative Endocrinology*, 142: 186–192.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2004.12.013>
- Tagawa, M.; Suzuki, K.; Specker, J.L., 2000. Incorporation and metabolism of cortisol in oocytes of *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Experimental Zoology*, 485–492.
[https://doi.org/10.1002/1097-010X\(20001201\)287:7<485::AID-JEZ4>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-010X(20001201)287:7<485::AID-JEZ4>3.0.CO;2-6)
- Tanck, M.W.T.; Claes, T.; Bovenhuis, H.; Komen, J., 2002. Exploring the genetic background of stress using isogenic progenies of common carp selected for high or low stress-related cortisol response. *Aquaculture*, 204: 419–434.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00828-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00828-6)
- Vanlandeghem, M.M.; Wahl, D.H.; Suski, C.D., 2010. Physiological responses of largemouth bass to acute temperature and oxygen stressors. *Fisheries Management and Ecology*, 17: 414-425.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2010.00740.x>
- Wehrly, K.E.; Wang, L.Z.; Mitro, M., 2007. Field-based estimates of thermal tolerance limits for trout: Incorporating exposure time and temperature fluctuation. *Transactions of the American Fisheries Society*, 136: 365-374.
<https://doi.org/10.1577/T06-163.1>
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591–625
<https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>
- cortisol by fish larvae. *Journal of Experimental Zoology*, 277: 337-344.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19970301\)277:4<337::AID-JEZ7>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19970301)277:4<337::AID-JEZ7>3.0.CO;2-Q)
- Schreck, C.B.; Contreras-Sanchez, W.; Fitzpatrick, M.S., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3–24.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00580-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00580-4)
- Simontacchi, C.; Negrato, E.; Pazzaglia, M.; Bertotto, D.; Poltronieri, C.; Radaelli, G., 2008. Whole-body concentrations of cortisol and sex steroids in White sturgeon (*Acipenser transmontanus*, Richardson 1836) during early development and stress response. *Aquaculture International*, 17: 7–14.
<https://doi.org/10.1007/s10499-008-9174-x>
- Stouthart, A.J.H.X.; Lucassen, E.C.H.E.T.; van Strien, F.J.C.; Balm, P.H.M.; Lock, R.A.C.; Wendelaar Bonga, S.E., 1998. Stress responsiveness of the pituitary-interrenal axis during early life stages of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Endocrinology*, 157: 127–137.
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1570127>
- Stratholt, M.L.; Donaldson, E.M.; Liley, N.R., 1997. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development. *Aquaculture*, 158: 141–153.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00165-8)
- Szisch, V.; Papandroulakis, N.; Fanouraki, E.; Pavlidis, M., 2005. Ontogeny of the thyroid hormones and