

بررسی بافت شناسی گناد فیل ماهیان پرورشی یکساله و دوساله در استان قم

فرید امامی لنگرودی^۱، علیرضا میروافقی^{۲*}، حمید فرحمند^۳، باقر مجازی امیری^۳

۱. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۸/۱۵

چکیده

از آنجا که بیشتر تلاش‌ها برای تعیین جنسیت ماهیان خاوباری به ماهی‌های با سن بیشتر از سه سال معطوف بوده است، چنین به نظر می‌رسد که تعیین جنسیت این ماهی‌ها در سنین کمتر از سه سالگی به‌سادگی میسر نمی‌باشد. در این تحقیق به منظور بررسی امکان تعیین جنسیت فیل ماهی کوچکتر از سه سال، گناد ۱۲ قطعه فیل ماهی یکساله و ۱۲ قطعه فیل ماهی دوساله (در مجموع ۲۴ قطعه) پرورش یافته در استان قم مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از فیکس کردن نمونه‌ها در فرمالین، مراحل استاندارد بافت‌شناسی بر روی آن‌ها انجام و رنگ‌آمیزی بافت‌ها با استفاده از روش هماتوکسیلین-ئوزین صورت گرفت و لام‌های مربوطه با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. از لحاظ وضعیت جنسی، ۲۵ درصد از ماهیان یکساله، نر و ۴۱/۶۶ درصد ماده بودند و جنسیت ۳۳/۳۳ درصد از نمونه‌ها قابل تشخیص نبود. در ماهیان دوساله نیز ۴۱/۶۶ درصد نر، ۴۱/۶۶ درصد ماده و جنسیت ۱۶/۶۶ درصد از نمونه‌ها غیرقابل تشخیص بود. از لحاظ مرحله رسیدگی گناد، ماهیان ماده یکساله دارای اووسیت اولیه و اووسیت اولیه و اووگونی بوده و در مرحله I رسیدگی جنسی قرار داشتند. ماهیان ماده دوساله دارای اووگونی، اووسیت اولیه و اووسیت ثانویه بوده و در مرحله I به II رسیدگی جنسی قرار داشتند. ماهیان نر یکساله و دوساله دارای اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه بوده و در مرحله I رسیدگی جنسی قرار داشتند و تفاوت بارزی بین ساختار گناد و سلول‌های جنسی ماهی‌های نر یکساله و دوساله مشاهده نگردید. یافته‌های بافت‌شناسی حاصل از این بررسی نشان می‌دهند که تشخیص جنسیت از طریق بافت‌شناسی در فیل ماهیان یکساله و دوساله نیز امکان‌پذیر است.

واژگان کلیدی: فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*)، تعیین جنسیت، تکامل غدد جنسی، بافت شناسی.

۱. مقدمه

بیضه در فیلهای ماهی‌های پرورشی یکساله و دوساله مورد بررسی قرار گرفت تا ضمن بررسی میزان رشد نمونه‌های پرورشی این ماهی در شهرستان قم، امکان تشخیص جنسیت و تعیین مرحله رسیدگی گنادهای این سنین نیز آزمایش شود. به عبارت دیگر، امکان‌سنجی تعیین جنسیت فیلهای ماهی با استفاده از بافت‌شناسی در سنین دوسالگی و یکسالگی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روشها

ماهی‌های مورد بررسی در این تحقیق از استخرهای سیمانی پرورش ماهیان خاویاری بخش خصوصی شهرستان قم‌رود تهیه شدند. میانگین سالانه دما در این استخرها برابر ۲۱ درجه سانتی‌گراد، پی‌اچ برابر ۷/۲، هدایت الکتریکی ۱۰۰۰۰ و عمق استخرهای سیمانی ۱/۵ متر ثبت گردید. در مجموع ۲۴ عدد از فیلهای ماهیان پرورشی (۱۲ عدد ماهی یکساله و ۱۲ عدد ماهی دوساله)، بیهوش و مورد زیست‌سنجی (طول کل و وزن) قرار گرفتند. پس از کالبدگشایی، گنادوکتومی بر روی آنها صورت گرفت. به منظور افزایش دقت کار، سه مقطع از ابتدا، انتها و بخش میانی هر دو گنادهای هر فرد (در مجموع ۶ تکه) در نظر گرفته شد. قطعات برداشت شده از هر ماهی در ظروف پلاستیکی جداگانه‌ای محتوی فرمالین قرار گرفت. از آنجا که نمونه‌های گنادهای توسط بافت چربی احاطه شده بودند، از فرمالین ۱۵ درصد برای فیکس کردن نمونه‌ها استفاده شد. سپس ظروف مربوطه برای انجام سایر مراحل به آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شدند. به منظور تهیه اسلایدهای بافتی و رنگ‌آمیزی، از روش استاندارد (Pousty and Adibmoradi, 2006) استفاده گردید. مراحل کار به طور خلاصه بدین قرار است که پس از تثبیت نمونه‌های بافتی، آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه کردن، قالب‌گیری، برش، رنگ‌آمیزی و مونته کردن انجام گرفت. برش بافت‌ها به کمک میکروتوم ذوار مدل Leica RM2135 با اندازه برش ۵ میکرون و فاصله گام ۵۰ میکرون صورت گرفت. برای تشخیص راحت‌تر بخش‌های مختلف بافت و مراحل رسیدگی گنادهای رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E)

در دریای خزر ۶ گونه از مهم‌ترین ماهیان خاویاری جهان یعنی *Acipenser persicus*, *A. gueldenstadti*, *A. nudiiventris*, *A. stellatus*, *A. ruthenus* و *Huso huso* زیست می‌کنند (De Meulenaer and Raymakers, 1996) که همگی آنها در معرض خطر انقراض قرار دارند (IUCN, 2015). از این میان، فیلهای ماهی بلوگا (*Beluga*) دارای ویژگی‌های ممتازی است، مثلاً رکورد بزرگترین ماهی آب شیرین (Falahatkar and Poursaeid, 2013) و بزرگترین و گران‌بهارترین نوع خاویار تاس- ماهیان به این گونه تعلق دارد (Azari Takami, 2009). ضریب رشد فیلهای ماهی در مقایسه با سایر ماهیان خاویاری بالاتر و لارو آن با هزینه کمتری تولید می‌شود (Taati et al., 2014). از لحاظ رشد غدد جنسی نیز، فیلهای ماهی از ازون‌برون پیشی می‌گیرد (Bahmani et al., 1998). برخلاف بسیاری از ماهیان خاویاری، فیلهای ماهی گونه‌ای پلاژیک است و در بررسی‌های انجام شده در رابطه با تعداد کروموزوم‌ها در تاس‌ماهیان، با ۱۱۸ عدد کروموزوم (Havelka et al., 2011)، گونه مناسبی برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی تاس‌ماهیان و رابطه آن‌ها با سایر فرورده‌های ماهی‌ها به حساب می‌آید. با توجه به اهمیت ماهیان خاویاری، چه از نقطه نظر بازسازی ذخایر طبیعی و چه تولید خاویار، تلاش‌های متعددی به منظور تعیین جنسیت این ماهیان انجام پذیرفته است که شامل روش‌های مرسوم گنادوکتومی و بافت‌شناسی (Omoto et al., Hosseinzadeh et al., 2014) و بافت‌شناسی تکه‌های به دست آمده از ماهی به روش بیوپسی بدون نیاز به کشتن ماهی (Falahatkar et al., Hallajian et al., 2011) و استفاده از اولتراسونوگرافی (Moghimi et al., 2002) و آندوسکوپی (Colombo et al., 2004) و اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های استروئیدی (Nazeri et al., 2013) و حتی ویژگی‌های ریخت‌شناسی (Falahatkar and Poursaeid, 2013) می‌باشد. کم و بیش در تمامی موارد مذکور، تأکید پژوهشگران بر ماهیان با سن بیشتر از ۳ سال بوده است. در این پژوهش وضعیت تکاملی تخمدان و

توسط نرم‌افزار (SOFA 1.45) و جهت ترسیم نمودارها از نرم‌افزار (Microsoft Excel 2013) استفاده گردید.

۳. نتایج

میانگین طول کل، وزن و شاخص وضعیت فیل ماهیان یکساله و دوساله در جدول ۱ نشان داده شده است. از لحاظ وضعیت جنسی، ۲۵ درصد از ماهیان یکساله، نر و ۴۱/۶۶ درصد ماده بودند و جنسیت ۳۳/۳۳ درصد از نمونه‌ها قابل تشخیص نبود. در ماهیان دوساله نیز ۴۱/۶۶ درصد نر، ۴۱/۶۶ درصد ماده و جنسیت ۱۶/۶۶ درصد از نمونه‌ها غیرقابل تشخیص بود.

استفاده شد. لام‌های آماده شده توسط میکروسکوپ نوری مدل Nikon DXM 1200 مجهز به مانیتور و دوربین عکاسی مورد بررسی قرار گرفتند. در هر اسلاید، میدان‌های بافتی مختلف بررسی و عکس‌برداری با بزرگنمایی‌های مختلف انجام شد. سپس تشخیص جنسیت و مراحل مختلف رسیدگی گنادها بر اساس مطالعات انجام شده بر روی ماهیان خاویاری (Hallajian et al., 2009) و بررسی وضعیت سلول‌های جنسی بر اساس (Amiri et al. 1996) و (Agarwal, 2008) انجام گرفت.

شاخص وضعیت (Condition Factor) یا K-factor ماهیان یکساله و دوساله بر اساس معادله (K = $W/L^3 * 100$) محاسبه شد (Biswas, 1993). برای مقایسه شاخص‌های مورد مطالعه از آزمون t

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار طول، وزن و شاخص وضعیت در جنس‌های مختلف فیل ماهی پرورشی مورد مطالعه در این بررسی

سن	جنسیت	طول کل	وزن کل	شاخص وضعیت
یک ساله	ماده	۵۴/۳۱±۱/۲۴	۱۲۷۳/۰۲±۹۳/۸۱	۰/۷۹±۰/۰۲
	نر	۵۷/۶۰±۱/۸۲	۱۴۸۸/۹۰±۱۲۴/۵۰	۰/۷۸±۰/۰۲
	غ.ق. تشخیص	۵۵/۰۱±۳/۴۸	۱۲۹۹/۶۶±۲۶۵/۷۳	۰/۷۷±۰/۰۵
	مجموع	۵۵/۳۷±۲/۵۳	۱۳۳۵/۸۷±۱۸۴/۲۲	۰/۷۸±۰/۰۳
دو ساله	ماده	۸۹/۴۲±۵/۰۷	۵۲۱۷/۸۸±۹۶۲/۱۶	۰/۷۲±۰/۰۳
	نر	۸۷/۰۴±۶/۳۹	۴۷۵۶/۵۹±۹۶۴/۴۷	۰/۷۱±۰/۰۱
	غ.ق. تشخیص	۸۱/۲۲±۱/۰۱	۳۹۹۶/۹۵±۶۷۲/۵۲	۰/۷۵±۰/۱۵
	مجموع	۸۷/۰۴±۵/۷۵	۴۸۲۲/۱۹±۹۵۵/۴۹	۰/۷۲±۰/۰۵

مدیریت صید و پیشگیری از صید ماهیان نارس از دریا نقش داشته باشد. همچنین برآورد سن و طول در نخستین بلوغ نیازمند تعیین دقیق مراحل رسیدگی جنسی ماهی است. از سوی دیگر، از آنجا که نخستین زمانی که گنادها جنسیت خود را باز می‌یابند می‌تواند برای انجام مطالعات بیان ژن‌های اثرگذار در تعیین جنسیت، حائز اهمیت باشد و برخی پژوهش‌های انجام شده توسط نسل جدید فناوری‌های توالی‌یابی بر همین اساس انجام شده اند (Hagihara et al., 2014)، تعیین کمترین سنی که از طریق بافت‌شناسی بتوان جنسیت ماهی را تشخیص داد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با این‌همه به نظر می‌رسد که تلاش‌های انجام شده برای تعیین جنسیت گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری از جمله فیل ماهی عمدتاً به نمونه‌های

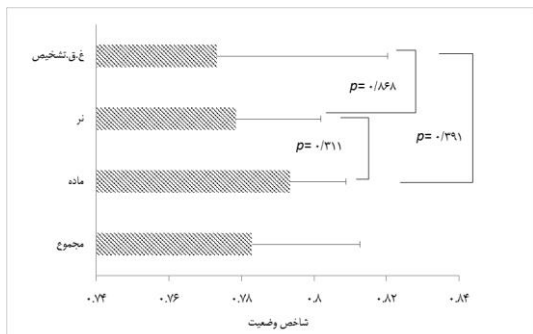
میانگین و انحراف معیار شاخص‌های زیست‌سنجی و شاخص وضعیت همراه با مقدار (p) آزمون آماری در اشکال ۱ تا ۶ نشان داده شده است. از لحاظ مراحل رسیدگی گناد، ماهیان ماده یکساله دارای اووسیت اولیه و اووگونی بوده و در مرحله I رسیدگی جنسی قرار داشتند. ماهیان ماده دوساله دارای اووگونی، اووسیت اولیه و ثانویه بوده و در مرحله I - II رسیدگی جنسی تشخیص داده شدند. ماهیان نر یکساله و دو ساله دارای اسپرماتوگونی بوده و از این لحاظ در مرحله I رسیدگی جنسی قرار داشتند.

۴. بحث و نتیجه گیری

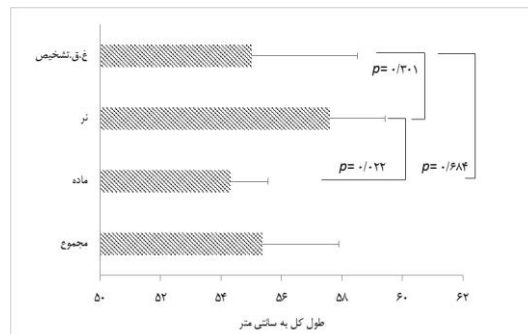
دانستن مراحل رسیدگی گنادها در ماهیان خاویاری و ارتباط آن با طول و سن ماهی می‌تواند در

stage قرار داشتند. در ماهیان دو ساله ماده، اووسیت‌های ثانویه به همراه سلول‌های اووگونی و اووسیت‌های اولیه در نمونه‌های بافت‌شناسی مشاهده شد که معرف مرحله pre-vitellogenic می‌باشد (شکل ۷ ب). اووسیت‌های این گروه از ماهیان را می‌توان در مرحله perinucleolus stage طبقه بندی کرد. با توجه به اینکه (Falahatkar et al., 2011) فیل ماهیان سه ساله ماده و نر را به ترتیب در مرحله pre-vitellogenic و early spermatogenesis گزارش کرده است (جدول ۲)، وضعیت گزارش شده از رسیدگی گنادها و سلول‌های جنسی ماهیان دو ساله و یک ساله در این بررسی می‌تواند درست باشد. همچنین تعداد و اندازه سلول‌های جنسی در ماهی‌های ماده یکساله و دو ساله دارای تفاوت بود، بدین صورت که فراوانی اووسیت‌ها در نمونه‌های بافت‌شناسی ماهیان یکساله کمتر و در ماهیان دوساله بیشتر بود. در ماهیان نر یکساله و دوساله، تفاوت بارزی در غدد جنسی مشاهده نگردید. نسبت جنسی در مطالعه حاضر برابر (۱:۱) به دست آمده که به نتایج (Bahmani et al., 2013) برای فیل ماهی پرورشی یکساله و نتایج (Falahatkar et al., 2013) نزدیک است. البته نسبت جنسی گزارش شده برای نمونه‌های دوساله در (Bahmani et al., 2013) با نسبت جنسی ۱:۱ اختلاف دارد. گفتنی است برخی منابع وجود نسبت جنسی ۱:۱ در گونه‌هایی از ماهیان را نشانه این واقعیت می‌دانند که جنسیت آنها توسط عوامل ژنتیکی (و نه عوامل محیطی) تعیین می‌شود (Chapman et al., 1996). میان پارامترهای طول کل، وزن کل و شاخص وضعیت (CF) جنس‌های نر و ماده فیل ماهی پرورشی در هر سن، همچون مطالعات (Falahatkar et al., 2013) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. شاخص زیست‌سنجی طول کل فیل ماهی پرورشی یک ساله و دوساله در رشت به ترتیب $(58/23 \pm 2/76)$ و $(80/40 \pm 11/15)$ گزارش شده است (Bahmani et al., 2013) که با مطالعه فعلی اختلاف زیادی ندارد ولی مقدار وزن کل فیل ماهی پرورشی یک ساله $(741 \pm 108/13)$ و دوساله $(2377 \pm 1149/61)$ در مقایسه با همین مطالعه متفاوت می‌باشد (جدول ۱). اختلاف موجود با توجه به

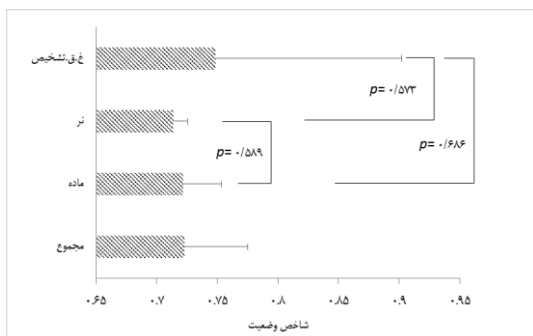
بزرگتر از ۳ یا ۴ سال معطوف بوده، که شاید علت آن را بتوان به تمرکز پژوهشگران در جداسازی جنس‌ها به منظور جهت‌دهی فعالیت‌های اقتصادی آبی‌پرورانه مرتبط دانست. به عنوان مثال (Falahatkar et al., 2013) تعیین سن فیل ماهیان زیر یکسال را دشوار اعلام نموده و در واقع کمترین سنی که از طریق بیوپسی گنادهای توانسته‌اند جنسیت فیل‌ماهی‌های پرورشی را تشخیص دهند، سه‌سالگی بوده است. در مطالعه‌ای دیگر نیز بیان شده که مرحله جنسی I در ماهیان خاویاری نر و ماده معمولاً با چشم و حتی با بافت‌شناسی قابل تشخیص نبوده و به کمک اولتراسونوگرافی نیز ممکن نیست (Vajhi et al., 2011). به همین دلیل بررسی امکان تعیین جنسیت فیل ماهی پرورشی در سنین دو سالگی و یک سالگی با استفاده از بافت‌شناسی گنادهای یکی از اهداف بررسی حاضر به شمار می‌رود. کلیدهای متعددی برای توصیف مراحل مختلف رسیدگی گنادهای وجود دارد که اختلاف‌هایی در تعداد و جزئیات مراحل آن‌ها به چشم می‌خورد. برخی از مطالعات مراحل رسیدگی گنادهای تاسماهیان را در ۶ مرحله طبقه‌بندی کرده‌اند (Vajhi et al., 2011; Azari Takami, 2009; Hallajian et al., 2009) که البته ضمن یکسان بودن تعداد مراحل، تفاوت‌هایی باهم دارند. مثلاً (Azari Takami, 2009) مرحله صفر را گزارش نموده است که بافت‌های گنادهای آن غیرقابل تشخیص می‌باشند و تقریباً همین عدم وجود سلول‌های جنسی تعیین کننده در مرحله ۱ طبقه‌بندی او نیز وجود دارد اما بر اساس یک گزارش دیگر، اووگونی و اووسیت‌ها را می‌توان در گنادهای مرحله ۱ مشاهده نمود (Hallajian et al., 2009). همچنین باید میان مشخصات ساختاری گنادهای ویژگی‌های رسیدگی سلول‌های جنسی تمایز قائل شد. برای مثال (Nunez and Duponchelle, 2009) تکامل گنادهای را واجد ۵ مرحله دانسته و ۴ مرحله برای تکامل سلول‌های جنسی در ماهیان قائل شده‌اند، حال آنکه در گزارش دیگری، ۸ مرحله برای تکامل اووسیت‌ها پیشنهاد شده است (Amiri et al., 1996). با توجه به این موارد، گنادها در نمونه‌های نر و ماده یکساله مورد بررسی در مرحله I قرار داشتند (شکل ۷ الف و شکل ۸ الف). اووسیت‌های موجود در ماهیان ماده یکساله در مرحله chromatin nucleolus



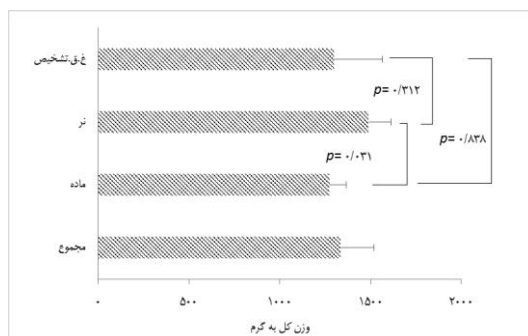
شکل ۵: میانگین و انحراف معیار شاخص وضعیت فیله ماهیان پرورشی یک ساله



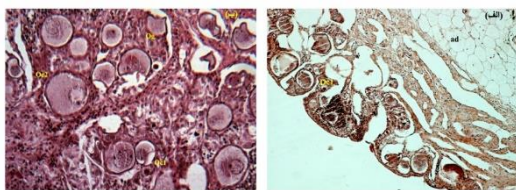
شکل ۱: میانگین و انحراف معیار اندازه طول کل فیله ماهیان پرورشی یک ساله



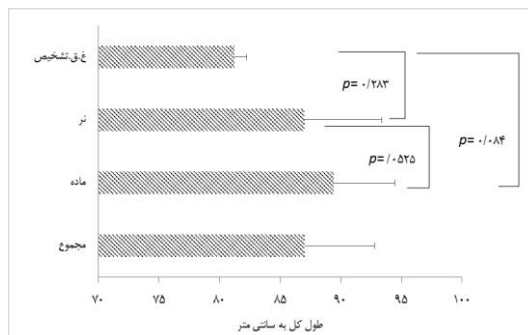
شکل ۶: میانگین و انحراف معیار شاخص وضعیت فیله ماهیان پرورشی دو ساله



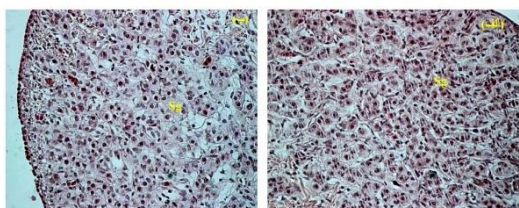
شکل ۲: میانگین و انحراف معیار مقدار وزن کل فیله ماهیان پرورشی یک ساله



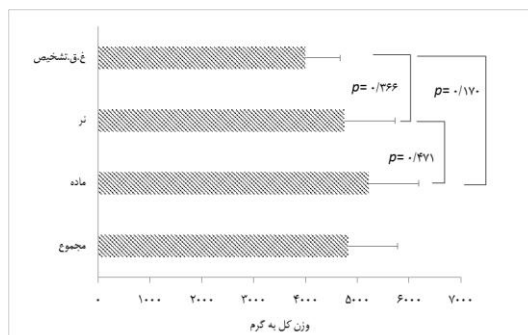
شکل ۷: برش بافتی از گنادهای ماهی ماده پرورشی (الف): ماهی یکساله، ب: ماهی دوساله. (اووگونی (Og)، اووسیت اولیه (Oc1)، اووسیت ثانویه (Oc2)، بافت چربی (ad)). رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی X400.



شکل ۳: میانگین و انحراف معیار اندازه طول کل فیله ماهیان پرورشی دوساله



شکل ۸: برش بافتی از گنادهای ماهی نر پرورشی (الف): ماهی یکساله، ب: ماهی دوساله. اسپرماتوگونی (Sg)). رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی X400.



شکل ۴: میانگین و انحراف معیار مقدار وزن کل فیله ماهیان پرورشی دو ساله

جدول ۲: رابطه سن و مرحله رسیدگی گنادهای جنسی در برخی گونه‌های ماهیان خاوباری

منبع	وزن (kg)	مرحله رسیدگی	سن (سال) / جنس	گونه
Moberg and Doroshov, 1992	۵ - ۶	spermatogenesis	۳-۴ / نر	<i>A. transmontanus</i>
	-	pre-vitellogenic	۳ / ماده	
	-	early vitellogenic	۵ / ماده	
Falahatkar et al., 2011	۷/۶±۲	pre-vitellogenic	۳ / ماده	<i>H. huso</i>
	۷/۹±۲/۱	early spermatogenesis	۳ / نر	
Falahatkar et al., 2013	۹/۹±۱/۷	pre-vitellogenic	۶ / ماده	
	۱۰/۶±۳/۲	mid spermatogenesis	۶ / نر	
	۱۱/۹±۳/۶	vitellogenic	۹ / ماده	
	۱۲/۵±۳/۷	spermatogenesis	۹ / نر	
	۱۸/۲±۴/۳	Post vitellogenic	۱۴ / ماده	
Hurvitz et al., 2007	۱۸/۵±۳/۲	Spermatogenesis	۱۴ / نر	<i>A. guldenstadti</i>
	۰/۲۷۰±۰/۰۸۴	Undifferentiated	۱ / ماده	
	۰/۲۷۰±۰/۰۸۴	Undifferentiated	۱ / نر	
	۳/۳۳±۰/۳۸	pre-vitellogenic	۲ / ماده	
	۳/۰۵±۰/۶۶	Early spermatogenesis	۲ / نر	
	۴/۶۳±۰/۵۹	pre-vitellogenic	۳ / ماده	
	۴/۲۱±۰/۸۵	spermatogenesis	۳ / نر	
	۶/۸۱±۱/۵۳	pre-vitellogenic	۴ / ماده	
	۵/۲۳±۱/۵	Maturation	۴ / نر	
	۱۰/۲۱۵±۲/۳	pre-vitellogenic	۵ / ماده	
۷/۳۴۵±۱/۸	Maturation	۵ / نر		
۱۱/۴±۳/۲	Early vitellogenesis	۶ / ماده		
۹/۸۷±۲/۱	Maturation	۶ / نر		

جدول ۳: مقادیر طول و وزن گونه‌های مختلف خانواده (Acipenseridae) در شرایط پرورشی

منبع	مکان	طول (cm)	وزن (g)	سن / جنس	گونه
Bahmani et al., 2013	رشت	۴۱/۸۶±۲/۲۲	۱۹۰±۴۰/۸۲	۱	<i>A. persicus</i>
		۷۱/۱۸±۲/۹۲	۱۱۹۶/۵±۱۰۸/۱۳	۲	
		۵۸/۲۳±۲/۷۶	۷۴۱±۱۰۸/۱۳	۱	
		۸۰/۴۰±۱۱/۱	۲۳۷۷±۱۱۴۹/۶۱	۲	
Falahatkar and Shahvari, 2014	تالش	-	۴۷۰۰±۱۰۰۰	۳	<i>H. huso</i>
Hosseininezhad et al., 2011	ساری	(۱۰۸-۱۱۲)	(۶۳۰۰-۶۹۰۰)	۳ / ماده	
	گرگان	(۱۱۷-۱۲۰)	(۹۴۰۰-۹۹۰۰)		
Falahatkar et al., 2013	رشت	۱۱۷/۷±۱۰/۲	۷۶۰۰±۲۰۰۰	۳ / نر	
		۱۱۸/۸±۱۱/۱	۷۹۰۰±۲۱۰۰		
Abedian Kenari et al., 2009	ساری	(۵۲-۶۵)	(۹۱۰-۱۵۰۰)	۱	
		(۸۴-۹۸)	(۴۲۵۰-۶۸۶۰)	۲	
		(۱۰۹-۱۱۷)	(۹۲۵۰-۱۲۵۰۰)	۳	
Masoudifard et al., 2009	ساری	(۷۴-۹۵)	(۳۱۲۰-۵۹۰۰)	۳ / ماده	
		(۷۹-۹۵)	(۴۰۰۰-۶۰۲۰)	۳ / نر	
Guseinova and Akhundov., 2011	آذربایجان	۸۷/۱±۵/۶۳	۸۸۲/۷±۶۴/۳۹	۱ / ماده	<i>A. guldenstadti</i>
		۸۸/۶±۵/۱۲	۸۵۷/۲±۶۱/۱۵	۱ / نر	

است و میتوان مراحل رسیدگی گناده و ویژگی‌های سلول‌های جنسی را نیز از این طریق بررسی نمود. البته نباید از نظر دور داشت که اثر شرایط محیطی در رشد و نمو ماهی (از جمله دما و تغذیه) می‌تواند با تاثیر در سرعت رشد گنادها، در نتایج به‌دست‌آمده تاثیرگذار باشد.

۵. تقدیر و تشکر

مدین‌وسيله از کمک‌های آقای مهندس سامانی مسئول محترم آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آقای علی حلاجیان به دلیل امانت دادن متن اصلی راهنمای "بافت‌شناسی گناده در تاسماهیان" سپاسگزاری می‌شود. آقای دکتر نجفی در بررسی مجدد لام‌های بافت‌شناسی و تایید صحت تشخیص آنها کمک شایان توجهی نمودند که از ایشان قدردانی می‌شود. از آقای مهندس برخوردار، مدیر محترم استخرهای پرورش ماهی برخوردار که اجازه استفاده از ماهیان خاویاری آن کارگاه را دادند تشکر می‌شود. همچنین انجام این کار بدون مشاوره و راهنمایی‌های ارزنده آقای مهندس رضا حکیمی مفرد ممکن نبود.

بالا بودن شاخص وضعیت، می‌تواند بیانگر سرعت وزن‌گیری بهتر فیل ماهیان پرورشی در شهرستان قم در مقایسه با رشت باشد که این شاخص خود تابعی از شرایط محیطی و پرورشی (تراکم، غذایی، دما و...) است. از سوی دیگر، چون هرچه مولدین فیل ماهی از کیفیت بهتری برخوردار باشند، مراحل بعدی پرورش بازدهی بالاتری خواهد داشت (Ghezeli, 1990)، ویژگی‌های مولدین نیز ممکن است در این اختلاف رشد موثر باشد.

دامنه طولی گزارش شده برای فیل ماهی پرورشی یک ساله بر اساس داده‌های مختلف (جدول ۳)، ۵۲ تا ۶۵ سانتی‌متر و دامنه وزنی آن ۹۱۰ تا ۱۵۰۰ گرم می‌باشد. برای نمونه‌های دوساله نیز دامنه طولی و وزنی به ترتیب ۸۰ تا ۹۸ سانتی‌متر و ۲۳۷۷ تا ۶۸۶۰ گرم گزارش شده است که با توجه به آن، مقادیر طول و وزن نمونه‌های بررسی شده در این مطالعه (جدول ۱) تقریباً در دامنه طولی و وزنی سایر مطالعات انجام شده قرار دارد.

آنچه مسلم است این است که تشخیص جنسیت فیل ماهی با استفاده از بافت‌شناسی و میکروسکوپ نوری، در ماهیان دوساله و حتی یک ساله قابل انجام

References

- Abedian Kenari, A., Regenstein, J.M., Hosseini, S.V., Rezaei, M., Tahergorabi, R., Nazari, R.M., Mogaddasi, M., Kaboli, S.A., 2009. Amino Acid and Fatty Acid Composition of Cultured Beluga (*Huso huso*) of Different Ages. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 18, 245-265.
- Agarwal, N. K., 2008. Fish Reproduction. APH Publishing Corporation. 157 P.
- Amiri, B.M., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S., Yamauchi, K., 1996. Ovarian development and serum sex steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. *Fish Biology* 48, 1164-1178.
- Azari Takami, Gh., 2009. Breeding and Cultivation of Sturgeon Caviarian Fish. University of Tehran Press, 401 P. (In Persian).
- Bahmani, M., Kazemi, R., 1998. Histological study on gonad in juvenile reared sturgeon. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 1, 1-16. (In Persian).
- Bahmani, M., Kazemi, R., Hallajian, A., Dejandian, S., Jourdehi, Y., Charmi, A., 2013. Gonad development in *Acipenser persicus* and *Huso huso* sturgeon fish. *Online Journal of Veterinary Research* 17, 630-638.
- Biswas, S.P., 1993. Manual of Methods in fish biology. South Asian Publishers, PVT Ltd, New Delhi, India. 157p.
- Chapman, F. A., Van Eenennaam J. P., Doroshov S. I., 1996. The reproductive condition of white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, in San Francisco Bay, California. *Fishery Bulletin* 94, 628-634.
- Colombo, R.E., Willis, P.S., Garvey, J.E., 2004. Use of ultrasound imaging to determine sex of shovelnose sturgeon. *North American Journal of Fisheries Management* 24, 322-326.
- De Meulenaer, T., Raymakers, C., 1996. Sturgeons of the Caspian Sea and the international trade in caviar. TRAFFIC Network Report, 71 pp.
- Falahatkar, B., Akhavan, S. R., Tolouei Gilani, M.H., Abbasalizadeh, A., 2011. Laparoscopy, a minimally-invasive technique for sex identification in cultured great sturgeon *Huso huso*. *Aquaculture* 321 (2011) 273-279
- Falahatkar, B., Akhavan, S. R., Tolouei Gilani, M.H., Abbasalizadeh, A., 2013. Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon, *Huso huso* L. through biopsy. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University* 14, 133-139.
- Falahatkar, B., Poursaeid, S., 2013. Gender

- Identification in Great Sturgeon (*Huso huso*) Using Morphology, Sex Steroids, Histology and Endoscopy. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 43, 81-89.
- Falahatkar, B., Shahvari, H., 2014. Use of an Otoloscope to Sex Identification of Cultured Great Sturgeon *Huso huso*. *Journal of Aquatic Biology* 67, 87-94.
- Ghezeli, A., 1990. Artificial spawning and culture of Beluga from wild brood stocks. National conference of Mazandaran Lake stock management. Babolsar. 525-543. (In Persian).
- Guseinova, G. G., Akhundov, M. M., 2011. Ecological Basis of Heterochrony in Early Ontogenesis Gonad Development in Different Races of Kura Sturgeon (*Acipenser guldenstadti persicus* Borodin). *Inland Water Biology* 4, 256-263.
- Hagihara, S., Yamashita, R., Yamamoto, S., Ishihara, M., Abe, T., Ijiri, S., Adachi, S., 2014. Identification of genes involved in gonadal sex differentiation and the dimorphic expression pattern in undifferentiated gonads of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833. *Applied Ichthyology*. (2014), 1-8
- Hallajian, A., Kazemi, R., Dejandian, S., Yousefi, A., 2009. Sturgeon Gonad Histology (Detection of sexual maturation stages). International Sturgeon Research Institute Publications, Rasht, Iran. 38 p. (In Persian).
- Hallajian, A., Kazemi, R., Mohseni, M., Dejandian, S., Yousefi Jourdehi, A., Bahmani, M., Pourdehghani, M., Yazdani, M. A., Yeganeh, H., 2011. Biopsy and Histological Study of Gonads from farmed *Acipenser persicus*. *Veterinary Research* 66, 229-233. (In Persian).
- Havelka, M., Kašpar, V., Hulák M., Flajšhans, M., 2011. Sturgeon genetics and cytogenetics: a review related to ploidy levels and interspecific hybridization. *Folia Zoologica* 60, 93-103.
- Hosseinezhad, M., Kazemi, R., Bahmani, M., Dazhandian, S., Halajian, A., 2011. Comparing the size of gonad cells during different stages of sexual maturation in farmed female *Huso huso*. *Journal of Fisheries* 5, 95-108. (In Persian).
- Hosseinzadeh, M., Imanpoor, M. R., Aghilinejad, M., Shabani, A., 2014. Determination of the Ovarian Stages in Wild Persian Sturgeon *Acipenser persicus*. *Walailak. Journal of Science and Technology* 11, 895-900.
- Hurvitz, A., Jackson, K., Degani, G., Levavi-Sivan, B., 2007. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. *Aquaculture* 270, 158-166.
- IUCN., 2015. IUCN red list of threatened species. Available at www.iucnredlist.org (accessed 20 July 2015).
- Jackson, K., Hurvitz, A., Din, S.Y., Goldberg, D., Pearlson, O., Degani, G., Levavi-Sivan, B., 2006. Anatomical, hormonal and histological descriptions of captive Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) with intersex gonads. *Gen. Comp. Endocrinol.* 148, 359-367.
- Masoudifard, M., Vajhi, A. R., Moghim, M., Nazari, R. M., Naghavi, A. R., Sohrabnejad, M., 2011. High validity sex determination of three years old cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) using ultrasonography. *Applied Ichthyology* 27, 643-647.
- Moberg, G. P., Doroshov, S.I. 1992. Reproduction in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. NOAA Technical Report, NMFS, 106: 99-104.
- Moghim, M., Vajhi, A.R., Veshkini, A., Masoudifard, M., 2002. Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography. *Applied Ichthyology* 18, 325-328.
- Nazeri, S., Mojazi Amiri, B., Nazeri, M.R., Mirvaghefi, A.R., 2013. Sexing of farmed immature beluga (*Huso huso*) using steroid hormone levels as indicators. *Comparative Clinical Pathology* 23, 631-635.
- Nunez, J., Duponchelle, F., 2009. Towards a universal scale to assess sexual maturation and related life history traits in oviparous teleost fishes. *Fish Physiology and Biochemistry* 35, 167-180.
- Omoto, N., Maebayashi, M., Mitsuhashi, E., Yoshitomi, K., Adachi, S., Yamauchi, K., 2001. Histological observations of gonadal sex differentiation in the F2 hybrid sturgeon, the bester. *Fisheries Science* 67, 1104-1110.
- Pousty, I and M. Adibmoradi. 2006. Histotechnique. University of Tehran Press. 296 P. (In Persian).
- Taati, R. and Soltani, M. and Bahmani, M. 2014. Evaluation of growth indices, survival and carcass composition of farmed great sturgeon juveniles (*Huso huso*) fed prebiotic Immunoster. *Animal Research* 27, 1-154. (In Persian).
- Vajhi, A. R., Masoudifard, M. Moghim, M. Veshkini, A. Zehtabvar, O. 2011. Ultrasonography of Sturgeons for Sex and Maturity Determination. University of Tehran Press. 164 P. (In Persian).
- Yousefian, M., 2006. Sex differentiation by gonadogenesis and sex steroid hormones in cultured great sturgeon (*Huso huso*). *Applied Ichthyology* 22, 369-372.

