نوسانات استروئیدهای جنسی سنین مختلف فیل‌ماهیان پرورشی (*Huso huso*) کارگاه شهید مرجانی گرگان

افشین قلیچی[۱]*؛ سارا جرجانی[۲]؛ رضا اکرمی[۳] و نورمحمد مخدومی[٤] و رضوان کاظمی[٥]

afshin_ghelichi@yahoo.com

۱، ۲ و ۳ – گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزاد شهر صندوق پستی: ۳۰

٤ – مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی، گرگان صندوق پستی: ١٤٣-٤٩٣١٥

٥ – انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ٣٤٦٤-٤١٦٣٥

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۱

چکیده

برای بررسی نوسانات استروئیدی جنسی فیل‌ماهیان پرورشی، در اسفند ماه ۱۳۸۷ و فروردین ماه ۱۳۸۸ تعداد ۴۲ ماهی شامل: ۲۳ ماهی ماده و ۱۹ ماهی نر از گروه‌های سنی ۴، ۶، ۷ و ۸ سال از استخرهای پرورشی کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی بصورت تصادفی صید شد. این ماهیان به منظور مولدسازی در استخرهای جداگانه نگهداری شدند. از تمام ماهیان خونگیری شد و سرم از سلولهای خونی جدا شد. نمونه‌های سرم در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و پس از اتمام نمونه‌برداری، مقادیر تستوسترون، ۱۷بتا- استرادیول و ۱۷ آلفا- هیدروکسی‌پروژسترون با روش رادیوایمونواسی اندازه‌گیری شد. نمونه‌های گناد نیز با استفاده از روش هماتوکسیلین –ائوزین آماده و بررسی شد. مقادیر هورمون‌های فوق در ماهیان نر در مرحله V، با اختلاف معنی‌داری با مراحل قبل داشت. حداقل و حداکثر میانگین (± انحراف معیار) تستوسترون در جنس نر بترتیب ۰/۰۱±۰/۱۱ (۴ ساله) و ۱۲/۷۳±۲۲/۰۰ (۸ ساله) نانوگرم در میلی‌لیتر بود. ولی نوسانات هورمون ۱۷ بتا- استرادیول و ۱۷ آلفا – هیدروکسی پروژسترون نامنظم بود. مقادیر هورمونهای تستوسترون، ۱۷ بتا- استرادیول و ۱۷ آلفا – هیدروکسی پروژسترون در جنس ماده قبل از مرحله زرده‌سازی نسبتاً پایین بود. اما طی مرحله زرده‌سازی (مرحله IV) مقادیر هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول افزایش یافت. ولی نوسانات ۱۷ آلفا- هیدروکسی‌پروژسترون نامنظم بود. با توجه به نتایج، در سن هفت سالگی می‌توان جنسیت ماهیان را براساس میزان هورمون تستوسترون تعیین نمود.

لغات کلیدی: فیل‌ماهی، تستوسترون، ۱۷ بتا- استرادیول، ۱۷ آلفا- هیدروکسی‌پروژسترون، هورمون

*نویسنده مسئول

مقدمه

در بین ماهیان خاویاری، فیل‌ماهی (*Huso huso*) از جایگاه خاصی برخوردار است. این ماهی بدلیل رشد سریع، تراکم‌پذیری، مقاومت بالا در برابر تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب، تغذیه به روش همه‌چیزخواری و امکان تکثیر در شرایط پرورشی یکی از گونه‌های مهم با استعداد پرورش در مزارع می‌باشد (نظری و همکاران، ۱۳۸۰ب).

با وجود سابقه طولانی بهره‌برداری از فیل ماهی و تکثیر و پرورش مصنوعی آن، موضوعات مختلفی در زمینه مراحل تکامل جنسی این ماهیان و عوامل فیزیولوژیک موثر بر آن (استروئیدهای جنسی) در دوره پرورش قابل تحقیق هستند. مطالعه و شناخت سطوح هورمونی در ماهیان یکی از مهمترین عوامل تشخیص فرآیندهای درگیر و تنظیم کننده تولید مثل در آنها می‌باشد که دستیابی به سطوح این تغییرات در جمعیت ماهیان وحشی و پرورشی حائز اهمیت است. بررسی وضعیت رسیدگی جنسی و شرایط فیزیولوژیک ماهی در این دوره می‌تواند اطلاعات مفیدی را ارائه دهد.

مطالعات مختلفی در ارتباط با استروئیدهای جنسی ماهیان خاویاری در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است. Bayunova و همکاران (۲۰۰۸) اشکال آزاد و پیوسته آندروژن‌ها و پروژستین‌ها را در سرم و ادرار ازون‌برون نر (*Acipenser stellatus*) مورد بررسی قرار داده است. Barannikova (۱۹۹۹) مقادیر تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول را در سرم ازون‌برون و فیل ماهی اندازه‌گیری نمود. در مطالعه ایت محقق، تستوسترون و گیرنده‌های آن بعنوان استروئید القاء کننده مهاجرت در تاسماهیان تعیین شد. Bagheri و همکاران (۲۰۰۸) نوسانات فصلی استروئیدهای جنسی در فیل‌ماهیان پرورش یافته در آب لب‌شور را بررسی نمودند. آنها دریافتند با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی مقادیر تستوسترون و پروژسترون افزایش می‌یابد. ولی مقدار ۱۷ بتا-استرادیول کاهش می‌یابد. نظری و همکاران (۱۳۸۰الف) نیز نوسانات استروئیدهای جنسی و رابطه آن را با تکامل تخمک تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مطالعه نمودند. بهمنی و همکاران (۱۳۸۷) نوسانات فصلی هورمونهای تستوسترون، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون و ۱۷ بتا- استرادیول را در ازون‌برون پرورشی (*Acipenser stellatus*) مورد بررسی قرار دادند. این محققین دریافتند از طریق اندازه‌گیری هورمون‌های یاد شده می‌توان به زمان رسیدگی جنسی مولدین ازون‌برون پی برد. Webb و همکاران (۲۰۰۱)، در مطالعه اثرات رژیم دمایی بر رسیدگی تخمدان و استروئیدهای جنسی پلاسما در تاسماهیان سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*)، برای تعیین ماده‌هایی که تخمدان آنها رسیده باشد، از دو شاخص GV و رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در *in vitro* را معیار قرار دادند. Webb و همکاران (۲۰۰۲)، استروئیدزایی تخمدان در تاسماهی سفید در طول رسیدگی نهایی تخمک و تخمک‌گذاری القاء شده را بررسی نمودند. Feist و همکاران (۲۰۰۴) جنسیت تاسماهی سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*) را با استفاده از مقادیر استروئیدهای پلاسما تعیین نمودند. Linares-Casenave و همکاران (۲۰۰۳) اثر مراحل رسیدگی جنسی را بر میزان ویتلوژنین و کلسیم در تاسماهی سفید پرورشی (*Acipenser transmontanus*) مطالعه نمودند.آنها دریافتند می‌توان با بررسی میزان ویتلوژنین و کلسیم مولدین ماده‌ای که تخمک‌های آنها در مرحله زرده‌سازی است را از بقیه جدا نمود. Mojazi Amiri و همکاران (۱۹۹۶a و ۱۹۹۶b) تکامل تخمدان و میزان استروئیدهای جنسی و ویتلوژنین و تکامل بیضه و میزان استروئیدهای جنس نر در هیبرید تاسماهی پرورشی بستر را بررسی نمودند. همچنین Qu و همکاران (۲۰۱۰) تحقیقی در ارتباط با رابطه بین تکامل گناد و سطوح استروئیدهای جنسی سنین مختلف ماهی خاویاری *Acipenser schrenckii* انجام دادند.

آگاهی از فرآیند استروئید در تاسماهیان برای کنترل اندوکرینی بلوغ تخمک در ماهیان وحشی جهت برنامه‌های بازسازی ذخایر و در ماهیان پرورشی برای القاء رسیدگی جنسی ضروری می‌باشد. پیشرفت موثر در القاء مصنوعی بلوغ ماهیانی که ارزش تجاری بالایی دارند، نیاز به آگاهی از اطلاعات پایه‌ای در ارتباط با فیزیولوژی تولید مثل ضروری است. با توجه به اینکه در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاو.یاری شهید مرجانی گرگان سالانه تعدادی بچه فیل‌ماهی در استخرهای مجزا بعنوان گله مولدین آینده و با صرف هزینه زیاد، نگهداری می‌شوند. این تحقیق به منظور آگاهی از وضعیت تولید مثلی این ماهیان انجام شده است.

مواد و روش کار

این تحقیق در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق‌قلا واقع در ۴۵ کیلومتری شمال شرقی شهرستان گرگان (استان گلستان) انجام شده است. از سال ۱۳۷۹ برای تامین گله مولدین، هر ساله تعدادی از بچه ماهیان تکثیر شده در استخرهای خاکی بطور جداگانه پرورش داده می‌شوند. ماهیان پس از انتقال به استخرهای خاکی با جیره غذایی ساخته شده در کارگاه (شامل: ۳۹-۳۸ درصد پروتئین خام، ۱۲ درصد چربی خام، ۳ درصد فیبر، ۹-۷ درصد خاکستر، ۰/۸ درصد فسفر و ۱۱-۱۰ درصد رطوبت بود) تغذیه شده‌اند. نمونه‌های ماهی بطور تصادفی از این استخرهای پرورشی صید شدند. سن فیل ماهیان مورد مطالعه ۴ تا ۸ سال بود. نمونه‌برادری از خون و گناد ماهیان طی ۳ هفته (هفته آخر اسفند ۱۳۸۷ و دو هفته ابتدایی فروردین ۱۳۸۸) انجام شد. تعداد، وزن و طول ماهیان مورد بررسی در جدول ۱ آمده است.

میانگین دمای ۸ ساله استخرهای پرورشی در ماههای مختلف در جدول ۲ آورده شده است.

برای تهیه نمونه‌های خون، بعد از بیهوش کردن ماهی‌ها (با استفاده از پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰-۲۰۰ قسمت در میلیون)، سطح بدن آنها توسط پارچه‌ای خشک و توسط سرنگ ۵ سی‌سی، ۲سی‌سی خون از طریق ورید ساقه دمی برداشته شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده جهت جداسازی سرم داخل لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در ظروف اپندروف تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتیگراد) تا انجام آزمایش نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری مقادیر استروئیدهای جنسی از روش رادیوایمونواسی (RIA)(Webb *et al*., 2002) استفاده شد. دستگاه گاماکانتر مورد استفاده، LKB تمام اتوماتیک (ساخت کشور فنلاند) بود.

جدول ۱: میانگین طول و وزن فیل‌ماهی پرورشی به تفکیک سن و جنس

جنس و سن	نر ٤ ساله (n = ٥)	ماده ٤ ساله (n = ٥)	نر ٦ ساله (n = ٧)	ماده ٦ ساله (n = ٨)	نر ٧ساله (n = ٤)	ماده ٧ ساله (n = ٦)	نر ٨ ساله (n = ٣)	ماده ٨ ساله (n = ٤)
میانگین طول (سانتیمتر)	١٠١/٢٠±١١/٣٠^{a}	١٠٢/٢٠±٨/٩٠^{a}	١١١/١٤±١٨/٧٦^{a}	١١٤/٣٧±١٩/٩٩^{a}	١٣٩/٧٥±٨/١٠^{b}	١٤٠/٠٠±١/٤١^{b}	١٤٢/٠٠±٨/٠٠^{b}	١٤٥/٠٠±٧/٤٣^{b}
میانگین وزن (کیلوگرم)	٧/٦٠±١/١٤^{a}	٧/٨٠±٢/ ٣٩^{a}	١٢/٤٣±٦/ ٧٠^{ab}	١٣/١٢±٨/٠٣^{ab}	١٩/٠٠±٤/٢٤^{bc}	٢٣/٢٥±٣/٥٩^{c}	٢٥/٠٠±٣/٤١^{c}	٢٦/٥٠±٤/٣٦^{c}

جدول ۲: میانگین دمای ۸ ساله استخرهای پرورش فیل‌ماهی در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان

ماههای سال	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیز	مرداد	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند
میانگین دما	١٦/٥	٢٠/٧	٢٥/١	٢٧/٤	٣٠/٠	٢٧/٨	٢٥/٢	١٩/١	١٣/٦	٩/٦	١١/٢	١٢/٥
انحراف معیار	٣/٢٦	٢/٧٢	٣/١٢	٢/١٢	١/٩٣	٣/٣٧	٣/٨٥	٢/٦١	١/٣١	١/١١	٠/٩٧	١/٧٩

در این تحقیق از روش تکه‌برداری گناد جهت مطالعات بافت‌شناسی استفاده شد. به این صورت که ابتدا ماهیان بی‌هوش و سپس در ناحیه شکمی (بین سومین تا پنجمین پلاک استخوانی) شکافی بطول ۳ تا ۵ سانتیمتر ایجاد و تکه کوچکی از گناد از حفره شکمی خارج گردید. سپس نمونه‌ها با استفاده از محلول بوئن تثبیت شدند. پس از نمونه‌برداری محل شکاف بخیه زده شد. برای رنگ‌آمیزی بافت گناد از روش هماتوکسیلین – ائوزین استفاده شد (Lenhardt *et al*., 2005). در این تحقیق از کلید هفت مرحله‌ای جهت تشریح مراحل تکامل گناد دستگاه جنسی فیل‌ماهیان استفاده شد (Eenennaam & Dorohov, 1998). در بررسی بافت‌شناسی نمونه‌های تخمدان مشخص شد که تخمک‌های فیل ماهیان پرورشی در مراحل II (مرحله هستک‌های کناری، Periuncleolus stage)، III (مرحله رشد درون‌زا، Endogenous growth) یا IV (مرحله زرده سازی، Vitellogenesis stage) رسیدگی جنسی قرار داشتند. همچنین گناد فیل ماهیان پرورشی نر در مراحل I (مرحله تمایز بیضه، Differentiation of testis)، II (تکثیر سلولهای اسپرماتوگونی، Spermatogonial proliferation) و V (اسپرمیشن، Spermiation) رسیدگی جنسی قرار داشت.

آنالیز و تحلیل واریانس داده‌ها با استفاده از برنامه One way ANOVA انجام شد. مقایسه میانگین‌های وزن و طول ماهی و همچنین میانگین‌های مقادیر استروئیدها با استفاده از آزمون Duncan (P<۰/۰۵) و نرم‌افزار SPSS 12 انجام شد. نرم‌افزار Excell جهت رسم نمودارها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

میانگین طول و وزن ماهیان به تفکیک سن و جنس بترتیب در جداول ۴ و ۵ آمده است. طبق اطلاعات جدول ۱، با افزایش سن، طول ماهیان نیز افزایش یافته است. بطوریکه وزن ماهیان ۷ و ۸ ساله بطور معنی‌داری بیش از مولدین ۴ و ۶ ساله در هر دو جنس بود (P<۰/۰۵). همچنین با افزایش سن، وزن ماهیان نیز افزایش یافته است بطوریکه وزن ماهیان ماده ۷ و ۸ ساله بطور معنی‌داری بیش از مولدین ۴ و ۶ ساله بود (P<۰/۰۵). همچنین با افزایش سن، به وزن ماهیان نر نیز افزوده شد.

الف- تستوسترون (T)

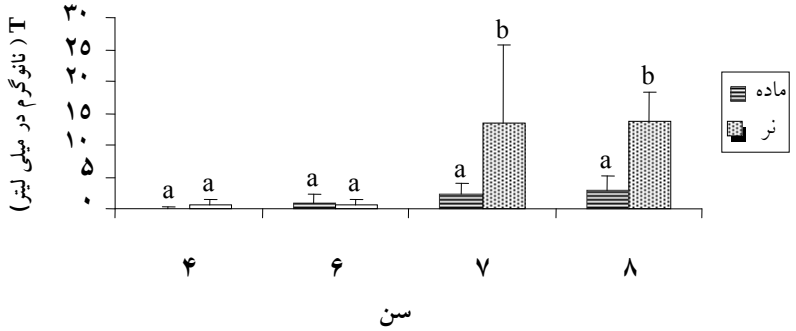
بررسی مقادیر تستوسترون در سنین مختلف در ماهیان ماده و نر نشان داد که در سن ۴ و ۶ سالگی اختلاف بین مقادیر این استروئید در دو جنس معنی‌دار نمی‌باشد، ولی در سنین ۷ و ۸ سالگی میزان این استروئید در جنس نر بیشتر از جنس ماده است، بطوریکه اختلاف آنها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)(نمودار ۱).

ب- ۱۷بتا ـ استرادیول (E2)

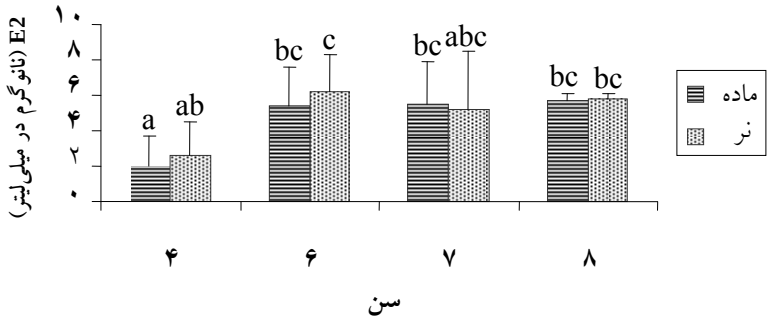
اختلاف بین مقادیر ۱۷بتا ـ استرادیول در ماهیان ماده سنین ۷ و ۸ بیش از ماهیان در سنین مشابه بود و اختلاف آنها در ماهیان ماده و نر معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (نمودار ۲).

ج- ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون (17-OHP)

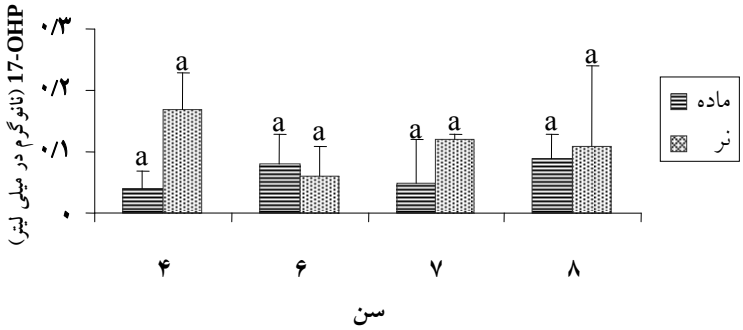
اختلاف بین میانگین مقادیر ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون در سنین مشابه ماهیان ماده و نر معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (نمودار ۳).



نمودار ۱: نوسانات تستوسترون در سنین مختلف فیل‌ماهیان پرورشی ماده و نر



نمودار ۲: نوسانات ۱۷ بتا-استرادیول در سنین مختلف فیل‌ماهیان پرورشی ماده و نر



نمودار ۳: نوسانات ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در سنین مختلف فیل‌ماهیان پرورشی ماده و نر

در بررسی بافت‌شناسی نمونه‌های تخمدان مشاهده شد که تخمک‌های فیل‌ماهیان پرورشی در مراحل I، III یا IV رسیدگی جنسی قرار دارند. نتایج حاصل از بررسی نوسانات استروئیدهای جنسی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی به شرح زیر است:

جنس ماده

– تستوسترون (T)

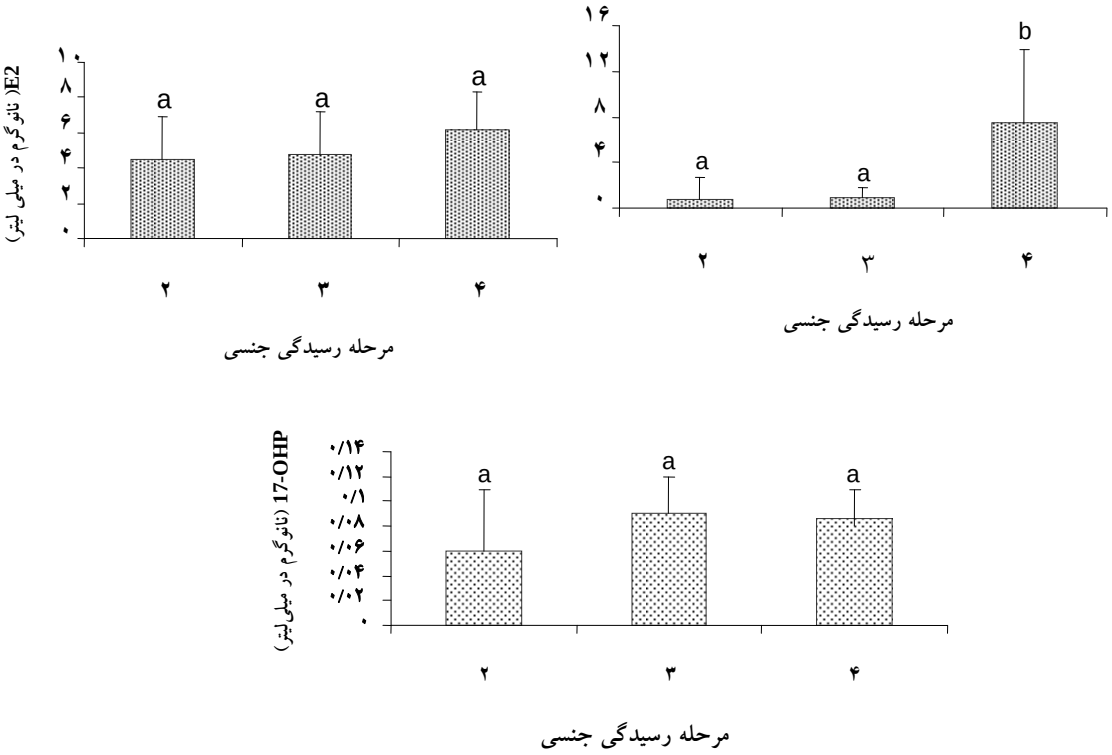
با پیشرفت مرحله رسیدگی جنسی مقدار تستوسترون روند افزایشی داشت، بطوریکه مقدار آن در ماهیانی که تخمک‌های آنها در مرحله IV رسیدگی جنسی بود (۷/۴۵ نانوگرم در میلی لیتر)، اختلاف معنی‌دار با مقدار آن در ماهیانی که تخمک‌های آنها در مرحله II (۰/۸۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) و III (۰/۹۳ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بود، داشت (P<۰/۰۵)(نمودار ۴).

– ۱۷بتا ـ استرادیول (E2)

الگوی نوسانات میانگین مقادیر ۱۷ بتا- استرادیول در سنین مختلف فیل‌ماهی مشابه تستوسترون بود، ولی اختلاف بین مقادیر این استروئید معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (نمودار ۴).

– ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون (17-OHP)

در بررسی میانگین مقادیر ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون در سنین مختلف فیل‌ماهی مشاهده شد که کمترین و بیشترین مقدار آن بترتیب در ماهیانی مشاهده شد که تخمک‌های آنها در مرحله II (۰/۰۶ نانوگرم در میلی‌لیتر) و IV (۰/۰۸ نانوگرم در میلی لیتر) رسیدگی جنسی بودند، ولی اختلاف بین میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (نمودار ۴).



نمودار ٤: نوسانات تستوسترون، ۱۷بتا ـ استرادیول و ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل‌ماهیان ماده پرورشی

جنس نر

در بررسی بافت‌شناسی نمونه‌های بیضه مشاهده شد که گناد فیل‌ماهیان پرورشی نر در مراحل I، III یا IV رسیدگی جنسی قرار داشتند. نتایج حاصل از بررسی نوسانات استروئیدهای جنسی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی به شرح زیر بود:

- تستوسترون (T)

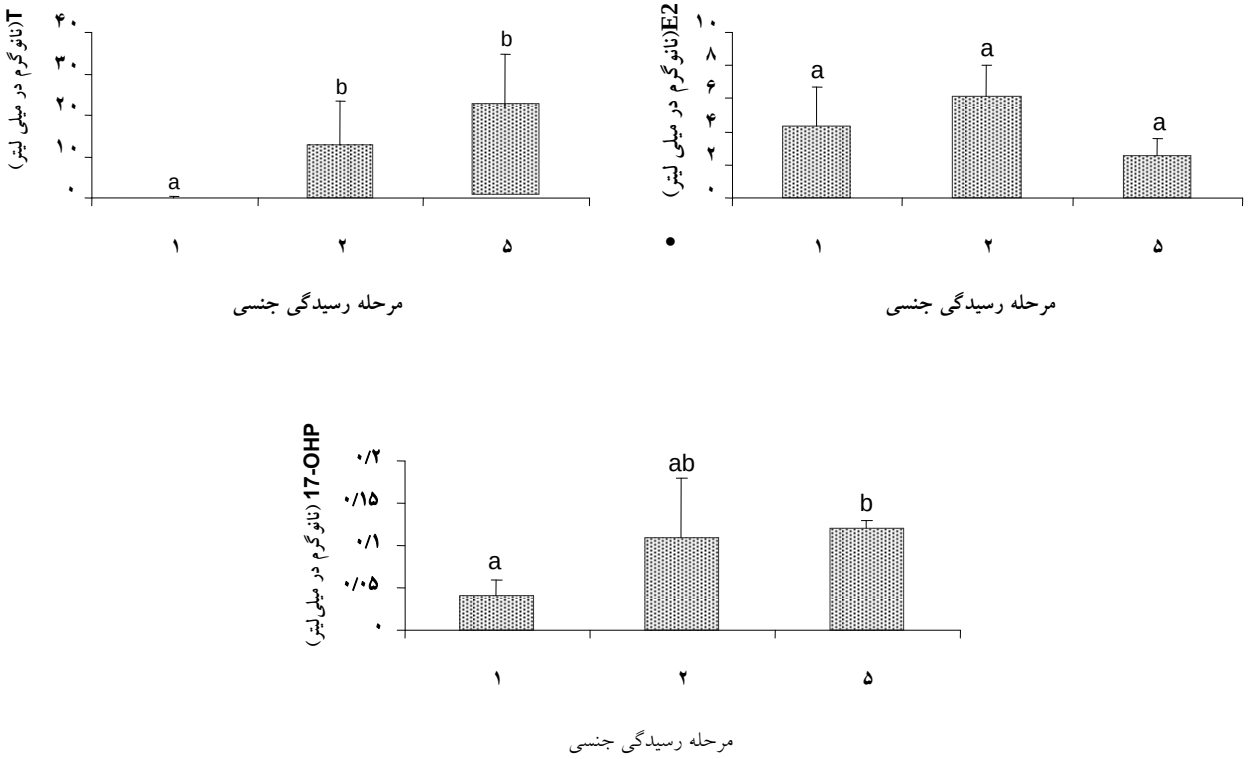
در جنس نر نیز با پیشرفت مرحله رسیدگی جنسی مقدار تستوسترون روند افزایشی داشت، بطوریکه مقدار آن در ماهیانی که در مرحله V (۲۷ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بودند، اختلاف معنی داری با مقدار آن در ماهیانی که در مرحله I (۰/۱۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بودند، داشت (P<۰/۰۵)(نمودار ۵).

- ۱۷بتا ـ استرادیول (E2)

کمترین مقدار ۱۷بتا ـ استرادیول در ماهیانی مشاهده شد که در مرحله V (۲/۵۵ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بودند، ولی اختلاف بین مقادیر آن معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) (نمودار ۵).

- ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون (17-OHP)

اختلاف بین میانگین مقادیر ۱۷ آلفا ـ هیدروکسی پروژسترون شده در ماهیانی که در مرحله V (۰/۱۲ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بودند، با میزان آن در ماهیانی که در مرحله I (۰/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر) رسیدگی جنسی بودند، معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)(شکل ۵).



نمودار ۵: نوسانات تستوسترون، ۱۷بتا ـ استرادیول و ۱۷ الفا ـ هیدروکسی پروژسترون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل‌ماهیان نر پرورشی

بحث

در این تحقیق نوسانات استروئیدهای جنسی فیل‌ماهیان پرورشی ماده و نر در اسفند ۱۳۸۷ و فروردین ۱۳۸۸ (هم‌زمان با فصل تولید مثل این ماهیان در طبیعت) در سنین مختلف و ارتباط آن با مراحل رسیدگی جنسی مورد بررسی قرار گرفت.

طول کل ماهیان نر در سن مشابه کمتر از مولدین ماده بود. هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود. شاید این اختلاف بدلیل زودتر شروع شدن بلوغ جنسی در نرها باشد (Hurvitz *et al*., 2007). وزن بدن فیل‌ماهیان با آنچه که توسط نظری و همکاران (۱۳۸۸) و محسنی (۱۳۸۶) گزارش نمودند، کمتر بود. این اختلاف احتمالاً بدلیل ضریب تبدیل غذایی بیشتر در تحقیق حاضر و شرایط متفاوت پرورشی می‌باشد. Hurvitz و همکاران (۲۰۰۷) نیز اختلاف وزن در سنین مختلف در تاسماهی روسی (*Acipenser guldenstaedtii*) را بدلیل اختلاف در شرایط پرورشی ذکر نمودند. همچنین وزن بدن ارتباط با مرحله تکامل تخمدان در تحقیق حاضر نداشت. زیرا مرحله رسیدگی جنسی برخی از ماهیان با وزن بیشتر پایین‌تر از ماهیان کم وزن‌تر بود. Hurvitz و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش نمودند که اختلاف معنی‌داری بین وزن و مراحل رسیدگی تخمدان تاسماهی روسی (*Acipenser guldenstaedtii*) وجود ندارد.

در جنس ماده با پیشرفت مرحله رسیدگی جنسی مقدار تستوسترون افزایش یافت و مقدار آن در ماهیانی که تخمکهای آنها در مرحله IV رسیدگی جنسی بود، اختلاف معنی‌داری با مقدار آن در ماهیانی که تخمکهای آنها در مراحل ماقبل بودند، داشت. تستوسترون در پلاسمای ماهیان استخوانی جنس ماده، پیش‌ساز ۷ بتا-استرادیول می‌باشد (Kagawa *et al*., 1982; Kagawa *et al*., 1984).

غلظت تستوسترون با شروع تقسیم میوز در ماهیان نر و رشد تخمک در ماهیان ماده افزایش می‌یابد (Cuisset *et al*., 1995; Doroshov *et al*., 1997) و در طول بلوغ گناد در حد بالا باقی می‌ماند (Cuisset *et al*., 1995; Mojazi Amiri *et al*., 1996a,b; Webb *et al*., 1999, 2001, 2002).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، میزان تستوسترون با افزایش سن در هر دو جنس افزایش یافت. به نظر می‌رسد دلیل این امر پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی با توجه به افزایش سن باشد. هر چند در برخی موارد تخمکهای ماهیانی با سنین پایین‌تر در مرحله رسیدگی جنسی بالاتری نسبت به ماهیان مسن‌تر بودند.

میزان تستوسترون در ماهیان نر در سن ۷ سالگی افزایش قابل‌توجهی (۱۳/۳۷ نانوگرم در میلی‌لیتر) نسبت به سنین ماقبل یا ماهیان ماده در سن مشابه داشت. Webbو Doroshov (۲۰۱۱) و Webb و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که در اکثر ماهیان نر نابالغ تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) میزان آندروژن‌ها نسبت به ماهیان ماده در سن مشابه بالاتر (بیش از ۳ نانوگرم در میلی‌لیتر) است. بنابراین می‌توان با درصد اطمینان بالایی مولدین نابالغ نر را از مولدین نابالغ ماده تشخیص داد. در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با استفاده از مقادیر تستوسترون و ۱۷ بتا – استرادیول به همراه اطلاعات مربوط به سن، طول و وزن جنسیت ماهیان با ضریب اطمینان بالایی تعیین شد (Malekzadeh *et al*., 2007). Feist و همکاران (۲۰۰۴) نیز دریافتند که در تاسماهی سفید که در مرحله II و بالاتر می‌باشند، تمام جمعیت ماهیان نر میزان تستوسترون بالاتر از ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر داشته‌اند. در حالیکه در ماهیان ماده‌ای که در سن مشابه و در کنار این ماهیان نر پرورش داده شده بودند،مقدار تستوسترون کمتر از ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصل می‌توان جنسیت فیل ماهی را در سنین پایین با اندازه‌گیری مقادیر تستوسترون و بدون نیاز به جراحی تعیین نمود. اگر تعداد نمونه‌های مورد بررسی افزایش یابد، شاید بتوان در سنین پایین‌تر هم مولدین نر را از ماده با ضریب اطمینان بالایی تشخیص داد. لازم به ذکر است که فیل ماهیان در کارگاه شهید مرجانی در استخرهای خاکی و در دمای طبیعت پرورش می‌یابند. احتمالاً اگر این ماهیان در شرایط معمول پرورش ماهیان خاویاری (حوضچه‌های هشت ضلعی) و در دمای ثابت در طول سال پرورش یابند، می‌توان جنسیت ماهیان را در سنین پایین‌تر هم با استفاده از مقادیر تستوسترون و ۱۷ بتا – استرادیول تعیین نمود. Feist و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیق تحت عنوان امکان شناسایی زود هنگام جنسی در تاسماهیان سفید پرورشی گزارش نمودند که ماهیانی که در مزرعه با دمای آب بالاتر (۱۸ درجه سانتیگراد) پرورش داده می‌شوند، زودتر از ماهیانی که در مزارع دارای آب خنک تر (۱۳ و ۱۵ درجه سانتیگراد) پرورش می یابند(با استفاده از سطوح تستوسترون و ۱۷ بتا – استرادیول)، تعیین جنسیت نمود.

مقادیر ۱۷ بتا- استرادیول با پیشرفت تکامل تخمک افزایش یافت. میزان آن بین ۰/۵ تا ۹/۲ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. میزان این استروئید تقریباً مشابه مقدار آن در هیبرید تاسماهی (بستر) (۱ تا ۱۴ نانوگرم در میلی‌لیتر) (Mojazi Amiri *et al*., 1996a)، تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) (۰/۵ تا ۴/۷ نانوگرم در میلی‌لیتر)(Webb *et al*., 2001) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)(۰/۵۵ تا ۴/۵۳ نانوگرم در میلی‌لیتر)(نظری و همکاران، ۱۳۸۰) بود. در ماهیان ماده ۱۷ بتا – استرادیول در طول فرآیند زرده‌سازی افزایش می‌یابد (Doroshov *et al*., 1997; Webb *et al*., 1999, 2001, 2002). چنین شرایطی در بسیاری از ماهیان استخوانی مشاهده شده است (Zohar, 1989). به هر حال افزایش این استروئید با پیشرفت رسیدگی جنسی و بخصوص در مرحله زرده‌سازی هم‌زمان بود. ۱۷ بتا- استرادیول تحت تأثیر گنادوتروپین تولید می‌شود. در تحقیق حاضر تغییرات تستوسترون دارای الگوی مشابهی با تغییرات ۱۷ بتا- استرادیول بود. در اکثر ماهی‌ها، سلول‌های تکا، تستوسترون تولید می‌نمایند که بوسیله سلول‌های گرانولوزا به ۱۷ بتا- استرادیول تبدیل می‌شود. بنابراین میزان ۱۷ بتا- استرادیول در طول مرحلهٔ زرده‌سازی افزایش می‌یابد.

حداکثر میانگین (± انحراف معیار) تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول در ماهی ازون‌برون پرورشی بترتیب ۱۶۲/۹±۱۷۱/۷ و ۸/۶±۳۱/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۷). علت اختلاف بین مقادیر یاد شده با مقادیر آن در تحقیق حاضر این است که با توجه به مطالعات بافت شناسی، نمونه‌های تخمک در تحقیق حاضر در مراحل ابتدایی زرده سازی بودند و احتمالاً با پیشرفت مرحله زرده سازی مقادیر این ایتروئیدها نیز افزایش خواهد یافت. Webb و Doroshov

(۲۰۱۱) و Webb و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که با اندازه‌گیری مقدار ۱۷ بتا – استرادیول می‌توان جنسیت ماهیان بالغ تاسماهی سفید را تشخیص داد. در تحقیق حاضر مقدار استروئید ۱۷ بتا – استرادیول در سن ۷ و ۸ سالگی در مولدین ماده بیش از مولدین نر بود. هر چند که تخمکهای مولدین ماده در مراحل ابتدایی زرده‌سازی بودند و احتمالاً با پیشرفت مرحله زرده‌سازی در مولدین ماده، اختلاف بین مقدار این استروئید بین دو جنس افزایش بیشتری خواهد یافت.

مقدار استروئید ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در جنس ماده نوسانات اندکی داشت، به‌طوری‌که مقدار آن در مراحل I، II و IVرسیدگی جنسی اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشت. یکی از مهمترین پروژستین‌ها در اکثر گونه‌های ماهی ۱۷ آلفا- هیدروکسی می‌باشد. ، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در سلول‌های تکا تولید شده و در سلول‌های گرانولوزا به ۱۷ آلفا- هیدروکسی، ۲۰ بتا- دی هیدروپروژسترون تبدیل می‌شود. افزایش ناگهانی میزان ۱۷ آلفا- هیدروکسی، ۲۰بتا- دی هیدروپروژسترون هم‌زمان با بلوغ تخمک‌ها و اوولاسیون رخ می‌دهد. بنابراین با توجه به اینکه هیچ‌کدام از ماهیان ماده در مرحله بلوغ یا نزدیک به این مرحله قرار نداشت، مقدار آن پایین بود.

مقدار ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون در مرحله ۵ رسیدگی جنسی در ماهیان نر بیشتر از مراحل قبل بود. پروژستین‌ها در جنس نر باعث القا عمل اسپرمیشن می‌شوند. تولید این استروئید تحت القاء گنادوتروپین بلوغ صورت می گیرد. با مقدار گنادوتروپین بلوغ مقدار این استروئید افزایش می یابد و به این صورت فرآیند اسپرمیشن فعال می شود. حداکثر میزان تولید استروئید اخیر در جنس نر قزل‌آلای رنگین کمان قبل از شروع اسپرمیشن مشاهده می شود (Zohar, 1989). بنابراین در فیل ماهی نیز احتمالاً این استروئید یا وابسته های آن در فرآیند اسپرمیشن نقش دارد.

در مزارع پرورش ماهیان خاویاری، ماهیان نر تا مرحله تولید گوشت پرورش داده می‌شوند، در صورتیکه ماهیان ماده برای تولید خاویار مدت زمان بیشتری پرورش می‌یابند. بنابراین توانایی تشخیص جمعیت در سنین پایین در مورد ماهیان خاویاری برای پرورش‌دهندگان از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در شرایط پرورش در استخرهای خاکی و در شرایط دمای طبیعی، می‌توان در سن ۷ سالگی، با توجه به مقدار تستوسترون ماهیان نر را از ماهیان ماده تشخیص داد. هر چند اگر این ماهیان در شرایط معمول پرورش ماهیان خاویاری (حوضچه های هشت ضلعی) و در دمای ثابت در طول سال پرورش یابند، می‌توان جنسیت ماهیان را در سنین پایین‌تر هم با استفاده از مقادیر تستوسترون و ۱۷ بتا – استرادیول تعیین نمود.

منابع

بهمنی، م.؛ یوسفی جوردهی، ا.؛ کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ حلاجیان، ع.؛ دژندیان، س. و جلیل‌پور، ج.، ۱۳۸۷. نوسانات فصلی هورمونهای تستوسترون (T)، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون (17α- OHP) و ۱۷ بتا- استرادیول (E_2) طی رسیدگی جنسی ماهی ازون‌برون پرورشی (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران، سال هفدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۷، صفحات ۷ تا ۱۶.

محسنی، م.، ۱۳۸۶. طرح پرورش ماهیان خاویاری با تاکید بر گونه فیل‌ماهی (*Huso huso*). انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۷ صفحه.

نظری، ر.م.؛ یوسفیان، م.؛ مجازی‌امیری، ب.، و سلطانی، م.، ۱۳۸۰الف. بررسی رابطه بین مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوعی در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). فصلنامه علمی پژوهش و سازندگی، جلد ۱۴، شماره ۵۱. صفحات ۵۰ تا ۵۷.

نظری، ر.م.؛ یوسفیان، م.؛ مجازی‌امیری، ب. و سلطانی، م.، ۱۳۸۰ب. مطالعه تغییرات استروئیدهای جنسی و رابطه آن با تکامل تخمک در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). فصلنامه علمی پژوهش و سازندگی، شماره ۵۳، صفحات ۸۹ تا ۹۴.

نظری، ر.م.؛ مختومی، چ. و تقوی، ع.ر.، ۱۳۸۸. اثر حرارت بر روی رشد و بلوغ فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*). شیلات ایران، سال سوم، شماره اول، بهار ۱۳۸۸، صفحات ۱ تا ۸.

Bagheri T., Hedayati A.A., Jaferian A., Hesni M.A. and Movahedinia A., 2008. The study of seasonal fluctuation of steroid hormones in great sturgeon (*Huso huso*) cultured in brackish water condition. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14(4):432-435.

Barannikova I.A., 1999. Sex steroids in the serum of Caspian sturgeons and specific cytosol binding in brain and gonads during the migratory cycle. Journal of Applied Ichthyology, 15:193-195.

Bayunova L., Canario A., Semenkova T., Couto E., Gerasimov A. and Barannikova I., 2008. Free androgens and progestins and their conjugated forms in serum and urine of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas). Cybium, 32(2):273-274.

Cuisset B., Fostier A., Williot P., Bennetau-Pelissero C. and Le Menn F., 1995. Occurrence and in vitro biosynthesis of 11-ketotestosterone in Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt maturing females. Fish Physiology Biochemistry, 14:313-322.

Doroshov S.I., Moberg G.P. and Van Eenennaam J.P., **1997.** Observations on the reproductive cycle of cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Environmental Biology of Fishes, 48:265-278.

Feist G., Van Eenennaam J.P., Doroshov S.I., Schreck C.B., Schneider R.P. and Fitzpatrick M.S., 2004. Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, using plasma steroid levels. Aquaculture, 232:581-590.

Hurvitz A., Jackson K., Degani G. and Levavi-Sivan B., 2007. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determination in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. Aquaculture, 270:158-166.

Kagawa H., Young G., Adachi S. and Naghama Y., 1982. Estradiol–17β production in amogo salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicle: Role of the thecal and granulosa cells. Journal of Genetic Comparision Endocrinol, 47:440-448.

Kagawa H., Young G. and Naghama Y., 1984. *In vitro* estradiol – 17β and testosterone producion by ovarian follicls of the gold fish (*Carassius carassius*). Journal of Genetic Comparision Endocrinol, 54:139-143.

Lenhardt M., Finn R.N., Cakie P., Kolarevic J., Krpo-Cetkovic J., Radovic I. and Fyhn H.J., 2005. Analysis of the post-vitellogentic oocytes of three species of Danubian Aciperseridae. Belgian Journal of Zoology, 135:205-207.

Linares-Casenave J., Kroll K.J., Van Eenennaam J.P. and Doroshov S.I., 2003. Effect of ovarian stage on plasma vitellogenin and calcium in cultured white sturgeon. Aquaculture, 221:645-656.

Malekzadeh Viayeh R., Webb M.A.H., Hallajian A. and Kazemi R., 2007. Biochemical and morphometric parameters as indicators of sex and gonadal stage of maturity in Persian sturgeon, Acipenser perscicus. Journal of Applied Ichthyology, 22:364-368.

Mojazi Amiri B., Maebayashi M., Hara A., Adachi S. and Yamauchi K., **1996a.** Ovarian development and serum sex steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. Journal of Fish Biology, 48:1164-1178.

Mojazi Amiri B., Maebayashi M., Adachi S. and Yamauchi K., 1996b. Testicular development and serum sex steroid profiles during the annual sexual cycle of the male sturgeon hybrid, the bester. Journal of Fish Biology, 48:1039-1050.

Qu Q.-Z., Sun D.-J, Wan B.-Q. and Ma G.-J. 2010. The relationships between gonad

development and sex steroid levels at different ages in *Acipenser schrenckii*. Journal of Applied Ichthyology, 26:1-5.

Schreck C.B. and Moyle P.B., 1993. Methods for fish biology. American Fisheries Society Publication, 684P.

Webb M.A.H., Van Eenennaam J.P., Doroshov S. I. and Moberg G.P., 1999. Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproduction performance of female white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. Aquaculture, 176:315-329.

Webb M.A.H., Van Eenennaam J.P., Feist G.W., Linares-Casenave J. and Doroshov S.I., 2001. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 201:137-151.

Webb M.A.H., Feist G.W., Trant J.M., Van Eenennaam J.P., Fitzpatrick M.S., Schreek C. B. and Serge I. Doroshov, **2002.** Ovarian steroidogenesis in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) during oocyte maturation and induced ovulation. General and Comparative Endocrinology, 129:27-38.

Webb M.A.H. and Doroshov S.I., 2011. Importance of environmental endocrinology in fisheries management and aquaculture of syurgeons. General and Comparative Endocrinology, 170:313-321.

Zohar Y., 1989. Fish reproduction: Its physiology and artificial manipulation. *In*: (M. Shilo & S. Sarig eds). Fish culture in warm water systems. CRC Press, Florida, USA. pp.65-119.