

مقایسه اندازه بدن و هورمون های استروئیدی فیل ماهی (*Huso hus*) ماده بر اساس وضعیت اکوژنسیته گناد در سونوگرافی

رقیه بهره ور^۱، محمدرضا قمی^۲، مهدی سهراب نژاد^۳

۱- دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران. mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

۳- دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، مرکز پرورش ماهیان خاویاری آبی گستران ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: فیلم‌های از مهم‌ترین گونه‌های با ارزش ماهیان خاویاری می‌باشد. آگاهی از کیفیت گناد، لازمه موفقیت در امر پرورش و تکثیر این ماهی است. تحقیق حاضر با هدف بررسی اختلاف طول، وزن و هورمون‌های استروئیدی بر اساس اکوژنسیته مشاهده شده از گناد در سونوگرافی، بر روی ۲۰ قطعه فیل ماهی پرورشی ۴ ساله ماده انجام پذیرفت.

روش کار: ماهیان مورد زیست سنجی و آنالیز خونی قرار گرفتند. جهت سونوگرافی از دستگاه SonoAce R3 با فرکانس ۸-۹ مگا هرتز استفاده و سنجش هورمونی به روش رادیوایمنوواسی انجام شد.

یافته‌ها: میانگین وزن کل، طول کل و طول استاندارد به ترتیب ۹/۹۶ کیلوگرم، ۱۱۴/۴۵ سانتی متر، ۱۰۱/۶۵ سانتی متر و میانگین هورمون‌های ۱۷-بتا-استرادیول، تستوسترون، ۱۷-آلفا-۲۰-بتا-دی هیدروکسی پروژسترون، به ترتیب ۰/۴۹، ۰/۲۸ و ۴۱/۷ نانوگرم بر میلی لیتر به دست آمد. نتایج نشان داد که بین میانگین پارامترهای مورفومتری یک در رنگ‌های مختلف گناد در مشاهدات سونوگرافی، اختلاف معناداری وجود نداشت ($p > 0/05$) ولی بین میانگین آن‌ها با توجه به حجم‌های مختلف گناد در مشاهدات سونوگرافی، اختلاف معنادار بوده ($p < 0/05$) به طوری که ماهیان با میانگین بیشتری از پارامترهای مورفومتری یک، حجم گناد خوبی را در مشاهدات سونوگرافی نشان دادند. بین میانگین هورمون‌ها به تفکیک حجم و رنگ گناد، اختلاف معنادار نبوده است ($p > 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به این که ماهیان بزرگ‌تر از حجم گناد مطلوب در مشاهدات سونوگرافی برخوردار بودند، لذا جداسازی و نگهداری ماهیان درشت‌تر در سن پائین برای تبدیل به مولد جهت جلوگیری از اتلاف وقت و هزینه می‌تواند سودمند باشد. هم‌چنین سنجش هورمون در این سن، نمی‌تواند در بررسی وضعیت اکوژنسیته گناد موثر واقع گردد.

واژه‌های کلیدی: فیل ماهی پرورشی، اولتراسونوگرافی، اکوژنسیته گناد، اندازه بدن، هورمون‌های استروئیدی.

مقدمه

اما متأسفانه جمعیت این گونه ماهی همانند سایر گونه‌های ماهیان خاویاری به دلایل گوناگون نظیر صید بی‌رویه، آلودگی منابع زیستگاهی و آب‌ها، تخریب مناطق طبیعی تخم‌ریزی و فعالیت‌های انسانی در معرض انقراض قرار دارد. از این رو پرورش و تکثیر این ماهیان به صورت مصنوعی بسیار حائز اهمیت خواهد بود. هدف نهایی از پرورش ماهیان خاویاری از جمله فیل ماهی، استحصال خاویار است. اما از آنجایی که دوره پرورش تا تولید خاویار حدود ۸ تا ۱۰ سال طول می‌کشد، لذا جهت

فیل ماهی یا بلوگا بزرگ‌ترین ماهی آب شیرین (۲۱) شناخته شده است و هم‌چنین گران‌بها ترین نوع خاویار تاس ماهیان به این گونه تعلق دارد (۱). ضریب رشد فیل ماهی در مقایسه با سایر ماهیان خاویاری بالاتر و لارو آن با هزینه کمتری تولید می‌شود (۴). از لحاظ رشد غدد جنسی نیز، فیل ماهی از ازون برون‌پیشی می‌گیرد (۲). بنابراین، این ماهی، چه از نقطه نظر بازسازی ذخایر طبیعی و چه تولید خاویار، بسیار ارزشمند می‌باشد.

تستوسترون (T) نیز به عنوان یک آندروژن قوی، در رشد و نمو جنسی ماهیان حتی ماهیان ماده نقش به سزایی دارد (۳) و به عنوان پیش ساز E_2 مطرح می باشد (۱۱، ۱۸). تفاوت در غلظت استروئیدهای پلازما در مراحل مختلف بلوغ، مجالی ایجاد نموده تا از این استروئیدها در تعیین مراحل مختلف رشد گناده استفاده شود (۳۳). در این راستا، مطالعه حاضر به بررسی اختلاف اندازه بدن و هورمون های استروئیدی براساس اکوژنسیته (حجم و رنگ) مشاهده شده گناده در سونوگرافی پرداخته است. به بیان دیگر باید دانست که آیا اندازه و سطح هورمون های ماهی می تواند با مشاهدات سونوگرافی در ارتباط باشد یا خیر. آیا ماهی بزرگ تر و با سطح هورمونی بالاتر، گناده قوی تری را نیز داراست یا خیر. لذا دانش و آگاهی درباره اندازه ظاهری ماهی در کنار بررسی هورمونی و بررسی اکوژنسیته گناده و پی بردن به ارتباطشان با هم، که هدف اصلی از انجام این تحقیق است، می تواند باعث سهولت توسعه روش های کنترل تولید مثل فیلماهی در کارگاه های تکثیر و هم چنین پرورش مولدین کارآمدتر گردد.

مواد و روش ها

تهیه و آماده سازی نمونه ها

در این بررسی، تعداد ۲۰ قطعه فیلماهی ماده چهار ساله متعلق به مزرعه پرورش شرکت آبری گستران ساعی واقع در شهر ساری در نظر گرفته شد. تمامی نمونه ها متعلق به یک تکثیر بوده و از ۴ استخر مختلف بتنی هشت وجهی به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شدند. میانگین سالانه دما در این استخرها برابر 18 ± 3 درجه سانتی گراد، pH برابر 7.6 ± 0.2 و عمق استخرهای سیمانی $1/5$ متر ثبت گردید. ماهیان توسط ساچوک صید و در وان پلاستیکی قرار داده شدند و پودر گل میخک به میزان $0/8$ گرم بر لیتر جهت بیهوش کردن ماهیان، به آن اضافه شد. ماهیان در مدت زمان تقریبی ۱۰ دقیقه بیهوش شدند.

زیست سنجی

افزایش تولید در حداقل زمان و مکان ممکن، توجه به رشد ماهیان به خصوص ماهیان ماده در سنین پایین تر، ضروری است. چرا که خروج هرچه سریع تر نرها و هم-چنین ماده های با رشد کم از چرخه پرورش، برای مدیریت بهتر پرورش و انتخاب مولدین کارآمدتر و جلوگیری از اتلاف وقت و هزینه می تواند مفید باشد. محققین رشد را به دو دسته تقسیم می کنند: رشد سوماتیک که شامل رشد تمامی قسمت های بدن به جز اندام های جنسی است و رشد گناده که همان بلوغ جنسی می باشد که افزایش سایز بدن و حتی بلوغ جنسی در گرو رشد سوماتیک ماهیان می باشد (۷). در ماهیان سایز بدن عامل تعیین کننده بلوغ است. لذا توجه به این رشد در ماهیان، امری حیاتی است و سبب افزایش راندمان تولید گوشت و خاویار می گردد. یکی از روش های نوین بررسی وضعیت رشد گناده ماهیان، روش اولتراسونوگرافی است. روش سونوگرافی یک روش سریع و غیرتهاجمی می باشد. تصاویر حاصل از سونوگرافی می تواند در تعیین جنسیت، تشخیص مشکلات تغذیه ای، چربی در اطراف گناده، کیست ها، مرحله رسیدگی جنسی، سطح مقطع و کیفیت گناده موثر واقع شود (۵). از طرف دیگر شاخص های خونی و یا فعالیت های هورمونی گناده در ماهیان استخوانی، نقش مهمی در رشد و رسیدگی گناده ماهیان دارند (۳۰). یکی از حیاتی ترین بخش بدن جانداران خون است. آگاهی از وضعیت خونی ماهیان خاویاری می تواند متخصصان را در پیشبرد اهداف حفظ، تکثیر، نگهداری و پرورش این ماهیان یاری نماید (۷). مقدار شاخص های خون و یا هورمون های استروئیدی در مراحل مختلف رشد متفاوت خواهد بود. برای مثال افزایش سطوح پلاسمایی ۱۷بتا-استرادیول (E_2) و ۱۷آلفا-۲۰بتا-دی هیدروکسی پروژسترون ($17\alpha,20\beta\text{OH-P}$) در طی روند بلوغ در بسیاری از ماهیان استخوانی گزارش شده است (۲۹، ۳۲) و

اپندروف تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد) تا انجام آزمایش نگهداری شد (۲۴). ۰/۲ml از سرم نمونه های فراهم شده جهت انجام آزمایش مورد نیاز بوده است. برای سنجش هورمون های E_2 و $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ و T از روش رادیوایمنوواسی (R.I.A) (۳۶) و کیت مخصوص سنجش هورمون Hangzhou Estbiopharm co. (LTD; Hangzhou) ساخت کشور چین استفاده شده است. در روش RIA حداکثر پرتودهی در کمترین غلظت (غلظت استاندارد صفر) و کمترین پرتودهی در بیشترین غلظت (آخرین استاندارد تعریف شده) به دست می آید (۳).

روش آماری

جهت تجزیه و تحلیل نتایج، از نرم افزار SPSS 16 استفاده شد و از روش آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین ها و آزمون دانکن در سطح ($p < 0/05$) جهت انجام تجزیه و تحلیل و نتیجه گیری نهایی استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری طول، وزن و مقادیر هورمونی در جدول ۱ ارائه شده است. مطابق با این جدول، میانگین وزن کل، طول کل، طول استاندارد و فاکتور وضعیت ماهیان به ترتیب ۹/۹۶ کیلوگرم، ۱۱۴/۴۵ سانتی متر، ۱۰۱/۶۵ سانتی متر و ۰/۹۳ درصد بوده است. حداقل، حداکثر، میانگین مقدار E_2 به ترتیب ۰/۳۶، ۰/۶۸، ۰/۴۹ نانوگرم بر میلی لیتر و حداقل، حداکثر، و میانگین مقدار T به ترتیب ۰/۲۶، ۰/۳۲، ۰/۲۸ نانوگرم بر میلی لیتر و حداقل، حداکثر، و میانگین مقدار $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ به ترتیب ۳۴/۵، ۵۳/۷، ۴۱/۷ نانوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. ماهیان ماده ۴ ساله، در مرحله دوم رسیدگی جنسی قرار داشتند. این مرحله از طولانی ترین مراحل رسیدگی جنسی است که ممکن است از

ماهیان به صورت تک به تک، توسط ترازوی دیجیتال مارک AND مدل SK20KI با دقت ۰/۱ گرم در خارج از آب وزن کشتی شدند. طول کل (نوک پوزه تا انتهای بالایی باله دم) و طول استاندارد (نوک پوزه تا شکاف باله دم) از داخل توسط متر اندازه گیری شد. سپس برای هر ماهی فاکتور وضعیت (CF) طبق رابطه ۱ محاسبه شد (۹).

$$\text{رابطه ۱: } CF = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول ماهی (سانتی متر).

اولتراسونوگرافی

جهت سونوگرافی ماهیان از دستگاه سونوگرافی SonoAce R3 با ترانسفورماتور خطی و تنظیم فرکانس بین ۸-۹ مگا هرتز (MHz) استفاده شد (۸). در ماهیان کوچک تر، فرکانس ترانس دیوسر باید بیشتر باشد، زیرا گنادهای این ماهیان به مراتب کوچک تر از ماهیان بالغ یا در حال بلوغ است و همین امر وضوح بیشتر تصویر را ایجاد می کند (۸). در مطالعه حاضر، تصاویر سونوگرافی در دو نمای عرضی و طولی با قرار دادن ترانس دیوسر در دو سمت راست و چپ محوطه شکمی از خلف باله های سینه ای تهیه شدند. امواج دستگاه بعد از برخورد به بافت گنادهای و برگشت توسط دستگاه دریافت و بر روی مانیتور شکل بافت نشان داده شد. دستگاه سونوگرافی استفاده شده دارای حافظه داخلی بوده است. لذا تصاویر به صورت دیجیتالی ذخیره و سپس به فلش مموری منتقل شدند.

سنجش هورمون های استروئیدی

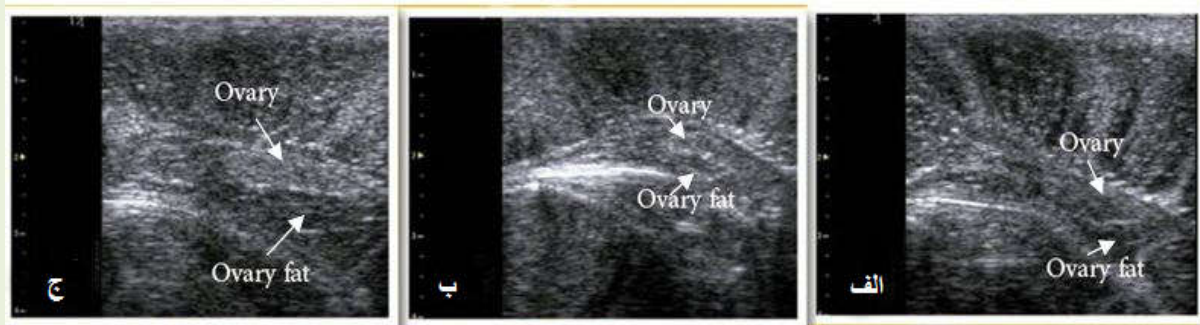
به منظور سنجش هورمون های استروئیدی، سطح بدن ماهیان به وسیله پارچه ای خشک شده و نمونه های خون به میزان ۵ سی سی از سیاهرگ وریدی از قسمت پشت باله مخرجی برداشته و جهت جداسازی سرم، داخل لوله های سرولوژی حاوی هیپارین شماره گذاری شده، ریخته شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در ظروف

۱۰ تا ۲۰ سال ادامه یابد (۸، ۱۰). تصاویر گرفته شده از این ماهیان در سونوگرافی نشان می دهد که تخمدان در سطح چربی تخمدانی قرار گرفته و دارای شکل نامنظم و بدون لبه واضح می باشد و ساختار آن ناهمگن است (شکل ۱). در مرحله II، بافت های چربی شروع به رشد کرده و به تدریج تخمدان را تشکیل می دهند. میزان بافت چربی غدد جنسی در این مرحله کم بوده اما در اواخر این مرحله بر میزان بافت چربی افزوده خواهد شد. در شکل ۱ تصویر سونوگرافی مربوط به تعدادی از نمونه های مورد آزمایش نشان داده شده است. در تصاویر مربوط به برخی از نمونه ها، حجم و رنگ گناده با هم رابطه مستقیم نداشتند. برای مثال گناده از حجم خوبی برخوردار بوده ولی شدت رنگ آن ضعیف بوده است (شکل ۱-الف) و در برخی دیگر کیفیت رنگ و حجم گناده مطلوب نبوده است (شکل ۱-ب). در برخی نمونه ها نیز، گناده از شدت رنگ و حجم خوبی برخوردار بوده است (شکل ۱-ج) نتایج آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین پارامترهای مورفومتریک (وزن کل، طول کل، طول استاندارد، فاکتور وضعیت) و هورمون های استروئیدی (E_2 ، T) را در جدول ۱-۱ نشان داده شده است. هرچند بر اساس این نمودار تفاوت مقدار هورمون $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ در حالت های مختلف اکوژنسیته گناده، بیشتر از دو هورمون دیگر است. $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ ، بیشترین مقدار خود را زمانی داراست که گناده در تصاویر سونوگرافی با کیفیت رنگ ضعیف و حجم متوسط دیده می شود.

۱۰ تا ۲۰ سال ادامه یابد (۸، ۱۰). تصاویر گرفته شده از این ماهیان در سونوگرافی نشان می دهد که تخمدان در سطح چربی تخمدانی قرار گرفته و دارای شکل نامنظم و بدون لبه واضح می باشد و ساختار آن ناهمگن است (شکل ۱). در مرحله II، بافت های چربی شروع به رشد کرده و به تدریج تخمدان را تشکیل می دهند. میزان بافت چربی غدد جنسی در این مرحله کم بوده اما در اواخر این مرحله بر میزان بافت چربی افزوده خواهد شد. در شکل ۱ تصویر سونوگرافی مربوط به تعدادی از نمونه های مورد آزمایش نشان داده شده است. در تصاویر مربوط به برخی از نمونه ها، حجم و رنگ گناده با هم رابطه مستقیم نداشتند. برای مثال گناده از حجم خوبی برخوردار بوده ولی شدت رنگ آن ضعیف بوده است (شکل ۱-الف) و در برخی دیگر کیفیت رنگ و حجم گناده مطلوب نبوده است (شکل ۱-ب). در برخی نمونه ها نیز، گناده از شدت رنگ و حجم خوبی برخوردار بوده است (شکل ۱-ج) نتایج آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین پارامترهای مورفومتریک (وزن کل، طول کل، طول استاندارد، فاکتور وضعیت) و هورمون های استروئیدی (E_2 ، T) را در جدول ۱-۱ نشان داده شده است. هرچند بر اساس این نمودار تفاوت مقدار هورمون $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ در حالت های مختلف اکوژنسیته گناده، بیشتر از دو هورمون دیگر است. $17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ ، بیشترین مقدار خود را زمانی داراست که گناده در تصاویر سونوگرافی با کیفیت رنگ ضعیف و حجم متوسط دیده می شود.

جدول ۱-۱ نتایج حاصل از اندازه گیری پارامترهای مورفومتریک و مقادیر هورمونی در فیله ماهیان ماده ۴ ساله

نام فاکتور	تعداد	دامنه	میانگین
وزن (Kg)	۲۰	۶/۱۶-۹/۸۰	$96/46 \pm 9/2$
طول کل (cm)	۲۰	۱۰۲/۱۳۱-۰۰/۰۰	$114/8 \pm 45/82$
طول استاندارد (cm)	۲۰	۹۱/۱۱۸-۰۰/۰۰	$101/7 \pm 65/92$
فاکتور وضعیت (%)	۲۰	۰/۱-۸۳/۲۳	$93/08 \pm 0/0$
E_2 (ng/ml)	۲۰	۰/۰-۳۶/۶۸	$49/08 \pm 0/0$
T (ng/ml)	۲۰	۰/۰-۲۶/۳۲	$28/01 \pm 0/0$
$17\alpha,20\beta\text{OH-P}$ (ng/ml)	۲۰	۳۴/۵۳-۵/۷	$41/4 \pm 7/64$



شکل ۱- الف: تصویر سونوگرافی مربوط به تخمدان نمونه ۳ که از حجم خوبی برخوردار است ولی شدت رنگ در آن ضعیف است. ب: تصویر سونوگرافی مربوط به تخمدان نمونه ۱۰ که حجم و رنگ آن ضعیف دیده میشود. ج: تصویر سونوگرافی مربوط به تخمدان نمونه ۱۲ که از حجم و رنگ خوبی برخوردار است.

جدول ۲- میانگین پارامترهای مورفومتریک و هورمون های استروئیدی در فیلمایان ماده ۴ساله براساس رنگ گناد*

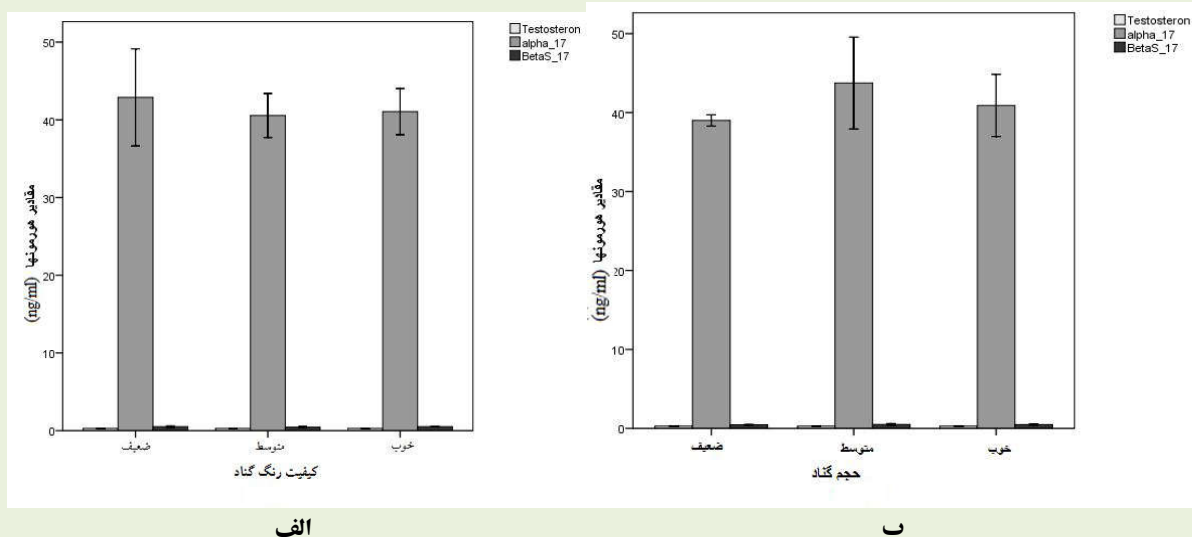
رنگ گناد	ضعیف	متوسط	خوب
فاکتور رشد			
میانگین وزن کل (kg)	۳۱/۲۶ ± ۹/۲ ^a	۳۷/۸۴ ± ۱۰/۲ ^a	۴۹/۵۷ ± ۱۰/۲ ^a
میانگین طول کل (cm)	۱۱۱/۹ ± ۷۷/۵۸ ^a	۱۱۶/۷ ± ۴۰/۳۷ ^a	۱۱۷/۹ ± ۷۵/۹۱ ^a
میانگین طول استاندارد (cm)	۹۹/۸ ± ۰/۳۹ ^a	۱۰۳/۷ ± ۵۷/۵۴ ^a	۱۰۴/۷ ± ۲۵/۵۸ ^a
میانگین فاکتور وضعیت (%)	۹۴/۱۱ ± ۰/۰ ^a	۹۳/۰۶ ± ۰/۰ ^a	۸۹/۰۴ ± ۰/۰ ^a
E ₂ (ng/ml)	۵۰/۱۰ ± ۰/۰ ^a	۴۵/۰۷ ± ۰/۰ ^a	۵۱/۰۴ ± ۰/۰ ^a
T (ng/ml)	۲۸/۰۱ ± ۰/۰ ^a	۲۹ ± ۰/۰ ^a	۲۸/۰۱ ± ۰/۰ ^a
17α,20βOH-P (ng/ml)	۸۸/۲۴ ± ۴۲/۶ ^a	۸۲/۵۵ ± ۴۰/۲ ^a	۹۶/۵ ± ۴۱/۲ ^a

*اعداد داخل جدول، به صورت انحراف استاندارد ± میانگین هستند. در هر سطر، تیمارهایی که با یک حرف مشخص شده‌اند در سطح ۰/۰۵ اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند.

جدول ۳- میانگین پارامترهای مورفومتریک و هورمون های استروئیدی در فیلمایان ماده ۴ ساله براساس حجم گناد

حجم گناد	ضعیف	متوسط	خوب
فاکتور رشد			
میانگین وزن کل (kg)	۷۶/۳۵ ± ۹/۱ ^b	۸۴/۵۶ ± ۸/۳ ^b	۳۶/۲۱ ± ۱۱/۱ ^a
میانگین طول کل (cm)	۱۱۳/۹ ± ۵۰/۱۹ ^b	۱۰۸/۸ ± ۸۵/۹۵ ^b	۱۲۱/۷ ± ۱۸/۳۵ ^a
میانگین طول استاندارد (cm)	۹۸/۴ ± ۲۴/۰ ^b	۹۶/۹ ± ۴۸/۷۱ ^b	۱۰۴/۵ ± ۹۰/۹۰ ^a
میانگین فاکتور وضعیت (%)	۵۰/۹۸ ± ۰/۰ ^b	۶۰/۹۰ ± ۰/۰ ^b	۱۰/۹۳ ± ۰/۰ ^a
E ₂ (ng/ml)	۴۵/۰۳ ± ۰/۰ ^a	۵۰/۱۱ ± ۰/۰ ^a	۴۹/۰۷ ± ۰/۰ ^a
T (ng/ml)	۲۹ ± ۰/۰ ^a	۲۸/۰۱ ± ۰/۰ ^a	۲۸/۰۱ ± ۰/۰ ^a
17α,20βOH-P (ng/ml)	۳۹/۶ ± ۰۰/۷۰ ^a	۴۳/۵ ± ۷۴/۸۱ ^a	۴۰/۳ ± ۹۰/۹۴ ^a

*اعداد داخل جدول، به صورت انحراف استاندارد ± میانگین هستند. در هر سطر، تیمارهایی که با یک حرف مشخص شده‌اند در سطح ۰/۰۵ اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند.



نمودار ۱- روند تغییرات هورمون های استروئیدی در حجم های مختلف

گناد (الف) و کیفیت رنگهای مختلف گناد (ب) در مشاهدات سونوگرافی

نحوه پرورش نیز بستگی دارد (۵). مقدار هر دو هورمون T و E₂ در نمونه های آزمایش ناچیز بود که علت آن را می توان قرار داشتن ماهیان در سن پائین و مراحل ابتدایی رسیدگی جنسی بیان کرد. چرا که تحقیقات نشان داده که در جنس ماده با پیشرفت مرحله رسیدگی جنسی مقدار تستوسترون افزایش می یابد. مثلاً در گزارشی مقدار آن در ماهیانی که تخمک های آن ها در مرحله IV رسیدگی جنسی بودند، اختلاف معنی داری با مقدار آن در ماهیانی که تخمک های آن ها در مراحل ما قبل بودند، داشت (۶). فیست و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که در جمعیت نر تاسماهیان سفید که در مرحله II قرار داشتند، میزان T بالاتر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر بوده است. در حالی که در ماهیان ماده ای که در سن مشابه و در کنار این ماهیان نر پرورش داده شده بودند، مشابه تحقیق حاضر، مقدار T کمتر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر بوده است (۲۲). اسمعیل نیا و همکاران (۲۰۱۹)، نیز سطوح مختلف هورمون های استروئیدی در بچه فیلماهیان را مورد بررسی قرار دادند که مشابه مطالعه حاضر، مقادیر هورمون T ناچیز بوده و بالاترین مقدار آن در ماهیان نر ماده، به ترتیب ۴/۷ و ۱/۲ نانوگرم در میلی لیتر به

بحث و نتیجه گیری

تصاویر گرفته شده از ماهیان نشان داد که شکل لایه لایه یا تاخورده تخمدان که در سونوگرافی ماهیان خاویاری بالغ وجود دارد (۸)، در فیلماهیان چهار ساله ماده که در مرحله دوم جنسی قرار داشتند، دیده نشد. تخمدان دارای شکل نامنظم و بدون لبه واضح با ساختار ناهمگن بوده است و نسبت به چربی اطراف آن روشن تر بوده و چربی با اکوژنسیته کم (هیپو اکوئیک) در اطراف توده تخمدان قرارداد. مشاهدات ما مطابق با بررسی های مقیم و همکاران (۲۰۰۲) بر روی گونه *Acipenser stellatus* بوده است (۲۸). به طور کلی نتایج مشاهدات در سونوگرافی گونه های مختلف ماهیان خاویاری تقریباً یکسان می باشد (۳۷، ۳۴، ۲۸، ۲۷، ۱۷، ۱۴). لازم به ذکر است، به عنوان یک استثنا، برخی از تخمدان ها، نمای هیپو اکوئیک (تیره) تر از خود نشان دادند که این مشاهدات نیز مطابق با مطالعات وجهی و همکاران (۱۳۹۰) می باشد که بیان نمودند گاهی تخمدان برخی از ماهیان تیره تر دیده می شود که حتی ممکن است در صورت عدم دقت با تصویر بیضه اشتباه گرفته شود (۸). البته باید توجه داشت که توانایی شناسایی تصویر به فاکتورهای دیگری مثل شرایط و

گونه های مختلف ماهیان خاویاری استفاده شده است (۱۶،۱۹،۲۳،۳۶). در مطالعه حاضر، اختلاف بین مقادیر هورمونی با اکوژنسیته گناد در مشاهدات سونوگرافی (حجم و رنگ گناد) معنادار نبوده است و می توان نتیجه گرفت که اگرچه سطح هورمون T که پایه بسیاری از هورمون های استروئیدی در سطوح بالاتر است و نیز سطح E_2 در هر دو جنس نر و ماده، می تواند به عنوان هورمون های شاخص در جداسازی جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی مورد استفاده قرار گیرند (۲۳،۲۵،۳۵،۳۸)، اما از آنجایی که در ماهیان ماده ۴ساله سطوح استروئیدهای جنسی بسیار پایین است و بلوغ جنسی با افزایش سطوح پلاسمایی این هورمون ها همراه می باشد، بنابراین نمی توان اختلاف معناداری را بین میزان هورمون های استروئیدی خون براساس اکوژنسیته مشاهده شده از گناد در تصاویر سونوگرافی یافت و سنجش هورمون در این سن، نمی تواند در بررسی وضعیت اکوژنسیته گناد موثر واقع گردد. مطالعات ملک زاده و پایه و همکاران (۲۰۰۰) بر روی فیلمهای نشان داده که که از شاخص های ریخت سنجی می توان برای تمایز جنسی و بررسی گنادی استفاده کرد (۲۶). بریگان و چبانو (۲۰۰۰) نیز مطالعات زیادی در مورد رابطه بین بلوغ گنادها با شاخص های رشد مثل ارتباط طول با سن بلوغ انجام دادند و ارتباط معنادار بین وضعیت گنادها و طول کل را تأیید نمودند (۱۲). در مطالعه حاضر، بین اندازه ماهیان در حجم های مختلف مشاهده شده از گناد در سونوگرافی، اختلاف معنادار وجود داشته است و براساس مشاهدات سونوگرافی، ماهیان با وزن و طول بیشتر، حجم گناد بیشتری را دارا بودند. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که جداسازی و نگهداری ماهیان درشت تر در سن پائین برای تبدیل به مولد جهت جلوگیری از اتلاف وقت و هزینه می تواند سودمند

دست آمد (۲۰). در مطالعات دیگر غلظت هورمون تستوسترون در مولدین بالغ نسبت به مولدین نابالغ و کوچک تر بیش تر گزارش شد یعنی غلظت این هورمون در هر دو جنس در طی فرآیند گامتوزنیز افزایش، اما پس از رسیدگی جنسی نهایی و تخم ریزی و اسپرم ریزی به شدت کاهش می یابد (۱۱،۲۳). گنادوتروپین در سلول های لایه تکا تولید یک نوع استروئید به نام ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون می کند. استروئید فوق در لایه فولیکولی گرانولوزا تحت تأثیر آنزیم 20β -hydroxysteroid-dehydrogenase قرار گرفته و تبدیل به هورمون ۱۷آلفا- ۲۰ بتا -دی هیدروکسی پروژسترون می گردد (۳۱). پروژستین ها از هورمون های اصلی جنسی در جنس ماده می باشند و مقدار این هورمون نسبت به دو هورمون دیگر به طور قابل ملاحظه ای بیشتر مشاهده شد که می تواند به دلیل وجود روند فعالیت های آنزیمی و استروئیدزایی باشد (۳). اسمعیل نیا و همکاران (۲۰۱۹) نیز مقدار این هورمون را در بچه فیلمهای ماهیان ماده بیشتر از نرها بیان کردند (۲۰). در مطالعه حاضر، این هورمون بیشترین مقدار خود را زمانی دارا بوده است که گناد در تصاویر سونوگرافی با کیفیت رنگ ضعیف و حجم متوسط دیده شد. اختلافات در مورد طول و وزن ماهیان نیز، می تواند نشان دهنده وضعیت متفاوت تغذیه ای در آنان باشد که به میزان غذای مصرفی هر یک بستگی داشته و یا عواملی چون محیط در آن دخالت دارند (۳). اختلاف بین هورمون های استروئیدی و اندازه ماهی براساس مشاهدات سونوگرافی موضوع تازه ای است که تاکنون به آن پرداخته نشده است. در اکثر مطالعات پیشین، اختلاف روش سونوگرافی و هورمون های استروئیدی، صرفاً در تعیین جنسیت مورد بررسی قرار گرفته است و از بررسی غلظت هورمون های استروئیدی یا شاخص های خونی در تعیین جنسیت

مولدین وحشی (۲۸) و انتخاب اولیه ماهیان خاویاری نابالغ که برای اهلی سازی مقدماتی در نظر گرفته می شوند، مفید باشد (۱۳).

تشخیص جنسیت و مرحله رسیدگی جنسی. چاپ اول. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۹۰، ۱۶۴ص.

9. AOAC. (2005). Official Methods of analysis of AOAC international. USA; 771P.

10. 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.

11. Barannikova, I., Bayunova, L., Semenkov, T. (2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and estradiol-17 β in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. Journal of Fish Biology, 64(5); 1330-1338.

12. Berrigan, D., Charnov, E.L. (2000). Reaction norms for age and size at maturity in response to temperature. A Puzzle for Life Historians, 70(1); 474-478.

13. Bilio, M. (2007). Controlled reproduction and domestication in aquaculture. Aquaculture Europe, 32(1); 5-14

14. Bryan, J.L., Wildhaber, M.L., Papoulias, D.M., DeLonay, A.J., Tillitt, D.E., Annis, M.L. (2007). Estimation of gonad volume, fecundity, and reproductive stage of shovelnose sturgeon using sonography and endoscopy with application to the endangered pallid sturgeon. Journal of Applied Ichthyology, 23; 411-419.

15. Chebanov, M.S., Galich, E.V. (2009). Ultrasound diagnostics in sturgeon brood stock management. 6th International symposium on sturgeon, Wuhan, China, Workshop on sturgeon sexing and gonad staging.

16. Craig, J.M., Papoulias, D.M., Thomas, M.V., Annis, M.L., Boase, J. (2009). Sex assignment of lake sturgeon (*Acipenser fluvescens*) based on plasma sex hormone and vitellogenin levels. Journal of Applied Ichthyology, 25; 60-67.

باشد. چبانوو و همکاران (۲۰۰۹)، نیز سونوگرافی را جهت ارزیابی اثر به گزینی در برنامه های تولیدمثلی برای نژاد های ماهیان خاویاری مفید تلقی نمودند (۱۵). استفاده از این روش سریع میتواند به خصوص برای

منابع

۱- آذری تاکامی، ق. ۱۳۹۷. تکثیر و پرورش تاسماهیان. چاپ چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۴۱۸ص.

۲- بهمنی، م.، کاظمی، ر. ۱۳۷۷. مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاسماهیان جوان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم. شماره ۱. ص ۱-۱۶

۳- سراجیان، ش.، زمینی، ع.، یوسفیان، م. ۱۳۸۶.

بررسی مقایسه ای سطوح برخی از هورمون های استروئیدی جنسی سرم خون در مولدین نارس و بالغ کفال طلایی (*Liza aurata*) دریای خزر. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر. سال اول. پیش شماره ۳. ص ۶۰-۵۱.

۴- طاعتی، ر.، سلطانی، م.، بهمنی، م. ۱۳۹۳. ارزیابی شاخص های رشد، بقا و ترکیب لاشه فیل ماهیان جوان پرورشی (*Huso huso*) تغذیه شده با پریبوتیک ایمنواستر. مجله پژوهش های جانوری، دوره بیست و هفتم. شماره ۱. ص ۷۹-۷۱.

۵- فلاحتکار، ب. ۱۳۹۵. دستورالعمل مراکز تکثیر ماهیان خاویاری. چاپ اول. تهران: انتشارات تحقیقات آموزش کشاورزی، ۱۳۹۵، ۳۳۱ص.

۶- قلیچی، ا.، جرجانی، س.، اکرمی، ر.، مخدومی، ن.، کاظمی، ر. ۱۳۹۱. نوسانات استروئیدهای جنسی سنین مختلف فیلماهیان پرورشی (*Huso huso*) کارگاه شهید مرجانی گرگان. مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و یکم. شماره دوم. ص ۷۷-۸۸.

۷- هدایتی، ع.، باقری، ط. ۱۳۸۹. بررسی شاخص های طول و وزن فیلماهیان پرورشی در شرایط آب لب شور. مجله پژوهش های علوم دامی ایران. جلد دوم. شماره ۱. ص ۱۱۳-۱۲۴.

۸- وجهی، ع.، مسعودی فرد، م.، مقیم، م.، وشکینی، ع.، زهتاب ور، ا. ۱۳۹۰. اولتراسونوگرافی ماهیان خاویاری برای

17. 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.
18. Dahle, R., Taranger, G.L., Karlsen, O., Kjesbu, O.S., Norberga, B. (2003). Gonadal development and associated changes in liver size and sexual steroids during the reproductive cycle of captive male and female Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 136; 641-653.
19. Esmaili Mola, A., Hovannisyan, H.G., Nazari, R.M., Ovissipour, M.R. (2011). Early sex identification in cultured beluga (*Huso huso*) using plasma steroid hormones. *African Journal of Biotechnology*, 10(10); 1959-1965.
20. Esmailnia, R., Ghomi, M.R., Sohrabnezhad, M. (2019). Early sex identification of 18-month cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) using ultrasonography, small surgery and plasma steroid hormones. *J Appl. Ichthyol*, 00; 1-7.
21. Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Tolouei Gilani, M.H., Abbasalizadeh, A. (2013). Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon (*Huso huso*) Through biopsy. *Iranian Journal of veterinarian Research*, Shiraz university, 14; 133-139.
22. Feist, G., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, b.S.I., Schrecke, C.B., Schneider, R.P., Fitzpatrick M.S. (2004). Early identification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. *Aquaculture*, 232; 581-590.
23. Kazemi, R., Yousefi Jourdehi, A., Pourdehghani, M., Dejhandian, S., Hallajian, A., Bahmani, M. (2014). Classification of sex and maturity stages of farmed Great sturgeon (*Huso huso*) using blood plasma steroid hormone and calcium ion levels. *Iran J Fish Sci*, 13(3); 597-607
24. Kopp, R., Mares, J., Palikova, M., Navratil, S., Kubicek, Z., Zikova, A. (2009). Biochemical parameters of blood plasma and content of microcystins in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) from a hypertrophic pond with cyanobacterial water bloom. *Aquat Research*, 40; 1683-1693.
25. Luo, G., Xu, J., Teng, Y., Ding, C., Yan, B. (2010). Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. *Aquaculture Research*, 41; 210-219.
26. Malekzadeh Viayeh, R., Hallajian, A., Kazemi, R., Pahlavan Yali, M. (2000). Biochemical and morphometric parameters as indicators of sex and gonadal stages in maturing Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22(2); 364-368.
27. 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 bluga sturgeon (*Huso huso*) using ultrasonography. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(1); 643-647.
28. Moghim, M., Vajhi, A.R., Veshkini, A., Masoudifard, M. (2002). Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography. *J Appl Ichthyol*, 18; 325-328.
29. Naddafi, R., Abdoli, A., Hassanzadeh Kiabi, B., Mojazi Amiri, B., Karami, M. (2005). Age, growth and reproduction of the Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in the Anzali and Gomishan wetlands, North Iran. *Journal of Applied Ichthyolog*, 21; 492-497.
30. Nagahama, Y. (2000). Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish. In: Norberg O, Kjesbu OS, Taranger GL, Andersson E, Stefansson SO (eds) *Proc 6th Int Symp Rep Phy Fish*. Bergen, Norway, 211-222.
31. Patino, R., Yoshizaki, G., Thomas, P., Kagawa, H. (2002). Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: The two-stage concept and its mechanisms. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 19; 427-439.
32. Rocha, A., Zanuy, S., Carrillo, M., Gómez, A. (2009). Seasonal changes in gonadal expression of gonadotropin receptors, steroidogenic acute regulatory protein and steroidogenic enzymes in the European sea bass. *General and Comparative Endocrinology*, 162; 265-275.
33. Vajhi, A.R., Moghim, M., Veshkini, A., Masoudifard, M. (2002). Sex and maturity determination by ultrasonography in Persian Sturgeon (*Acipenser guldenstaedti persicus*). 4th International Symposium on Sturgeon. Oshkosh, Wisconsin, USA, 72.
34. Vajhi, A.R., Veshkini, A., Masoudifard, M., Moghim, M., Molazem, M. (2009). ultrasonography finding of ovary and testis in

adult *Acipenser persicus* during artificial propagation (stage V of maturation). 6th international symposium on sturgeon. wuhan, china, 182-183.

35. Webb, M.A.H., Doroshov, S., Rasco, R., Cavinato, A., Sealey, W., Fornshell, G., Lemon, L., Ray, L. (2009). Determining ripeness in whitesturgeon females to maximize yield and quality of caviar. Annual Progress Report. Part II. Western Region Aquaculture Center, United States Department of Agriculture, 1-36.

36. Webb, M.A.H., Feist, G.W., Foster, E.P., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S. (2002). Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using

blood plasma indicators. Transaction of the American Fisheries Society, 131(1); 132-142.

37. Wildhaber, M.L., Papoulias, D.M., Deloney, A.J., Tillitt, J.L., Bryan, D.E., Annis, M.L., Allert J.A. (2005). Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic an endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. Journal of Fish Biology, 67(1); 114-132.

38. Zhang, Y., Doroshov, S., Famula, T., Conte, F., Kueltz, D., Linartes Casenave, J., et al. (2011). Egg quality and plasma testosterone and estradiol-17 β in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) farmed for caviar. J. Appl. Ichthyol, 27; 558-564.



Comparison of Body Size and Steroid Hormones of Female Beluga Sturgeon *Huso huso* Based on Gonad Echogenicity Status in Sonography

R. Bahrevar¹, **M. R. Ghomi**¹, M. Sohrabnezhad²

1. Department of Fisheries, Tonekabon branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

2. Saeed Sturgeons Aquaculture Co., Sari, Mazandaran, Iran.

Received: 2019.12. 9

Accepted: 2019.22.12

Abstract

Introduction & Objective: Beluga sturgeon (*Huso huso*) is one of the most valuable species of sturgeon for breeding and rearing in aquaculture farms. Understanding the quality of gonads, especially gonads in female, is essential to the success of breeding and reproducing. The purpose of this study was to investigate the differences in body size (length and weight) and steroid hormones based on the echogenicity (volume and color) observed from gonad in ultrasound on 4-year-old female beluga sturgeon (n=20)

Material and Method: For this purpose, the fish were bio-assayed and blood analyzed. The SonoAce R3 was used for ultrasound by adjusting the frequency between 8-9 Hz, hormonal assay was performed by radioimmunoassay (RIA).

Results: Mean total weight (TW), total length (TL), standard length (SL), condition factor (CF) of fish were 9.96 kg, 114.45 cm, 101.65 cm, 0.93 and mean of E2, T and 17 β ,20 α OH-P were 0.49, 0.28 and 41.7 ng/ml, respectively. The results of one-way ANOVA showed that there was no significant difference between the mean of morphometric parameters in different gonadal colors in sonographic observations ($p > 0.05$). However, there was a significant difference between their mean values with respect to different gonad volumes in the ultrasound observations ($p < 0.05$) whereas fish with a higher average of total weight, total length, standard length, and condition factor showed good gonad volume in the ultrasound observations. There was also no significant difference between mean values of steroid hormones in terms of volume and color of gonad ($p > 0.05$).

Conclusion: Since the larger fish had a favorable gonad volume in the ultrasound observations, thus, separation and maintenance of such stocks for reproduction is more desired and reduces costs. Also steroid hormones in 4-year-old female beluga are not associated with gonadal echogenicity characteristics and cannot be used as a determination method.

Keywords: Cultured Beluga Sturgeon, Ultrasonography, Gonad Echogenicity, Body Size, Steroid Hormones .