فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هفتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

تعیین جنسیت و رابطه‌سنجی آن با شاخص‌های ریخت‌سنجی فیل‌ماهی (*Huso huso*) ۱۸ ماهه پرورشی با استفاده از روش‌های اولتراسونوگرافی و جراحی کوچک

راحله اسمعیل‌نیا[۱]، محمدرضا قمی[۲]*، مهدی سهراب‌نژاد[۳]

تاریخ دریافت: تیر ۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۹۷

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین جنسیت زود هنگام ۲۱ قطعه فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه با استفاده از روش‌های اولتراسونوگرافی به عنوان یک روش نوین تعیین جنسیت و جراحی کوچک صورت گرفت. برای این منظور از دستگاه اولتراسونوگرافی با ترانسفورماتور خطی، با فرکانس ۱۳-۹ مگاهرتز استفاده شد. سپس برای تایید تشخیص جنسیت ماهی‌ها، شکافی به اندازه ۲۰ تا ۲۵ میلی‌متر در قسمت شکمی بین پلاک‌های ۲ و ۳ ایجاد و گنادها مورد بررسی مستقیم چشمی قرار گرفتند. کارایی تعیین جنسیت با استفاده از روش جراحی کوچک ۱۰۰ درصد (۹ نر و ۱۲ ماده) و اولتراسونوگرافی ۸۰/۹۵ درصد (۷ نر، ۱۰ ماده و ۴ تشخیص نادرست) تشخیص داده شد. هر چند روش جراحی کوچک، روشی تهاجمی است ولی مطمئن‌ترین روش محسوب می‌شود و هیچ گونه تلفاتی در این روش مشاهده نشده است. داده‌های ریخت‌سنجی ماهی شامل طول کل، طول استاندار، وزن و فاکتور وضعیت در رابطه با تعیین جنسیت با هر دو روش مذکور با استفاده از آزمون رگرسیون لوجستیک، ارتباط معناداری را با جنسیت فیل‌ماهی نشان ندادند ($P>0/05$) و از این رو نمی‌توانند به عنوان شاخصی در تعیین جنسیت در این سن، مورد استفاده واقع شود.

واژگان کلیدی: *فیل‌ماهی پرورشی، تعیین جنسیت زود هنگام، اولتراسونوگرافی، جراحی کوچک، شاخص‌های ریخت‌سنجی.*

۱- دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، واحد تنکابن، دانشگاه آزاداسلامی، تنکابن، ایران.
۲- دانشیارگروه شیلات، واحد تنکابن، دانشگاه آزاداسلامی، تنکابن، ایران.
۳- دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، مرکز پرورش ماهیان خاویاری آبزی گستران ساعی، ساری، ایران.
* نویسنده مسئول: mghomi@tonekabon.iau.ac.ir

مقدمه

به دلیل فقدان نشانه‌های ظاهری، تشخیص جنسیت تاس‌ماهیان قبل از رسیدن به سن باروری از طریق ریخت‌شناسی ناممکن است، تعیین جنسیت بر اساس ظاهر و نیز ارزیابی مطمئن، سریع و کم‌خطر آن در سنین قبل از تخم‌ریزی دشوار است، از این رو به کارگیری روش‌های مختلف تشخیص جنسیت ضروری به نظر می‌رسد (Doroshov et al., 1997). بلوغ جنسی تاس‌ماهیان دیرهنگام است و پرورش آن‌ها که با هدف استحصال خاویار دنبال می‌شود، بر پرورش ماهیان ماده مبتنی است. بنابراین شناسایی هرچه سریع‌تر ماهیان نر و خارج کردن آن‌ها از چرخه پرورش، مزایای بیشتری برای سرمایه‌گذار و پرورش دهنده به همراه خواهد داشت (حلاجیان و همکاران، ۱۳۹۶). سن بلوغ تاس‌ماهیان در شرایط طبیعی بر حسب گونه در نرها بین ۸ تا ۱۳ سال و در ماده‌ها بین ۱۰ تا ۱۶ سال است (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۵). حداقل سن رسیدگی جنسی در تاس‌ماهیان دریای خزر ۶ سال (در گونه ازون‌برون) و حداکثر آن در سن ۱۶ سال (در گونه فیل‌ماهی) است. با این حال، در شرایط پرورشی، بلوغ ماهیان خاویاری معمولا زودتر از شرایط طبیعی رخ می‌دهد (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۵).

دستگاه اولتراسوند (Ultrasound) همان دستگاه سونوگرافی است که برای تصویرگیری از بدن انسان و جانوران به کار می‌رود. دستگاه‌هایی که برای تصویرگیری از جانوران استفاده می‌شوند، تفاوتی با دستگاه‌های پزشکی ندارند. گاهی این دستگاه‌ها پراب و نرم‌افزارهای اختصاصی جانوران را بیشتر از دستگاه‌های پزشکی دارند مانند پراب رکتال دامی و نرم‌افزار اختصاصی تعیین سن جنین در جانوران (وجهی و همکاران، ۱۳۹۰). در روش اولتراسونوگرافی بر اساس امواج صوتی ارسالی از دستگاه و بازگشت آن، نسبت به تعیین جنسیت ماهیان اقدام می‌شود. در این روش امواج صوتی و فراصوتی از طریق ترانسدیوسر دستگاه (پراب یا کاوشگر) و از روی سطح پوست به داخل حفره شکمی ارسال می‌شود. کاوشگر معمولا در ناحیه پلاک‌های استخوانی سوم و چهارم شکمی قرار می‌گیرد. امواج بعد از برخورد به بافت‌های مختلف بدن بازتابیده می‌شود و امواج بازتابش شده مجددا توسط

همان دستگاه دریافت می‌شود. سپس با بررسی امواج دریافتی به جنسیت ماهی پی برده می‌شود، به این ترتیب که بازتاب امواج در گناد نر یکنواخت و در گناد ماده غیریکنواخت است (Bryan et al., 2007; Hurvitz et al., 2007; Divers et al., 2009). همچنین روش اولتراسونوگرافی یک روش غیرتهاجمی است و هیچ گونه خطری برای ماهی و مصرف‌کنندگان محصولات آن ندارد. پیدایش این روش بدون درد با کاربرد وسیع در علوم دامپزشکی و شیلات که اندام‌های داخلی را اسکن می‌کند، نظر پژوهشگران زیست‌شناسی را به خود جلب کرده است. اولتراسونوگرافی اگرچه روشی غیرتهاجمی با سرعت تشخیص بالا و کاربرد وسیع است ولی استفاده از آن به علت نمایش غیرمشخص از ساختار گناد، وابستگی به میزان مهارت فرد پژوهشگر و هزینه بالا، چالش برانگیز است. دقت تعیین جنسیت با روش اولتراسونوگرافی بسته به مرحله رسیدگی جنسی گناد و مهارت اپراتور بین ۹۰-۸۰ درصد متغیر است (Billard, 2002; Williot,2002;Munhofen, 2012).

اکثر روش‌های تعیین جنسیت زمان بر است و در مراکز پرورش ماهیان که هزاران ماهی در آن‌ها پرورش داده می‌شود، قابل استفاده نیست. در حالی که با استفاده از سونوگرافی به طور متوسط مدت زمان تعیین جنسیت هر ماهی حدود ۳۰ ثانیه است (Moghim et al., 2001). از نقطه نظر تعیین جنسیت نیز روش سونوگرافی مقرون به صرفه‌تر است. چرا که با یک بار خرید دستگاه سونوگرافی می‌توان سال‌های متمادی از آن بهره برد.

جراحی کوچک با ایجاد برشی کوچک در دیواره شکم و ورود به حفره شکمی به منظور تشخیص جنسیت در ماهی انجام می‌شود. از سِت کامل جراحی در این روش استفاده می‌شود. جراحی کوچک از روش‌های تهاجمی و سنتی و رایج‌ترین روش تعیین جنسیت ماهیان است (Romanov and Shevelva, 1993; Chapman and Park, 2005). در این روش ابتدا ماهی را بیهوش و سپس در سطح شکمی ماهی با تیغ تیز برشی ایجاد می‌کنند. با توجه به سن و اندازه ماهی، در ماهیان بزرگ‌تر از سه سال برش کوچکی به اندازه ۱-۰/۶ سانتی‌متر در قسمت شکمی و بین پلاک‌های ۲ و ۳ (پلاک‌های شکمی از قسمت دم به سر ماهی) به وسیله اسکالپل تیز ایجاد می‌شود. در ماهیان کمتر از سه

سال، اندازه برش باید بین ۳ تا ۵ سانتی‌متر باشد. پس از تعیین جنسیت، محل شکاف، بخیه و ضدعفونی می‌شود (Chapman, 1989; Hallajian et al., 2007). برای افزایش دقت و درستی تشخیص جنسیت ماهیان خاویاری زیر سه سال، استفاده از این روش توصیه می‌شود. پس از ایجاد شکاف، با چشم غیرمسلح یا به کمک اتوسکوپی اقدام به تشخیص جنسیت می‌شود (Falahatkar et al., 2013). در این حالت تخمدان‌ها به شکل گسترده‌ای (البته با توجه به مرحله گنادی) در ناحیه شکمی قرار گرفته‌اند و حجم آن‌ها کمتر از چربی احاطه کننده تخمدان است و در جنس نر کاملا بر عکس، بیضه‌ها به صورت لوله‌ای شکل در محوطه شکمی قرار گرفته‌اند و حجم بیشتری را نسبت به چربی احاطه کننده بیضه دارند (Masoudifard et al., 2011).

هدف اصلی از این مطالعه معرفی و به کارگیری روشی متناسب با سن فیل‌ماهیان پرورشی به منظور جداسازی ماهیان ماده از نر در مراحل قبل از بلوغ جنسی ماهیان و در واقع تعیین جنسیت زودهنگام فیل‌ماهیان در سالن‌های پرورشی، برای تولید خاویار در کارگاه‌های پرورش ماهیان خاویاری بوده است. تکنیک‌های اولتراسونوگرافی، جراحی کوچک و اندازه‌گیری شاخص‌های ریخت‌سنجی (مورفومتریک)، روش‌هایی مطمئن و در عین حال با سرعت بالا با کمترین تلفات و آلودگی هستند که در مدیریت تکثیر و پرورش و حفاظت منابع گونه‌های مهم ماهیان خاویاری از جمله فیل‌ماهی، مفید و موثر واقع خواهند شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی ماهی

فیل‌ماهی‌های (*Huso huso*) مورد بررسی در این پژوهش (تکثیر شده در اوایل اردیبهشت ماه ۱۳۹۵) از استخرهای سیمانی مزرعه پرورش ماهیان خاویاری ساعی شهرستان ساری (بخش خصوصی) در ماه‌های آذر و دی ۱۳۹۶ تهیه شدند. عمق این استخرها ۱/۵ متر بود. دما در استخرها ۲۲-۱۶ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۶ بود. در مجموع ۲۱ عدد از فیل‌ماهیان پرورشی که دارای تاریخ تفریخ مشخص بودند، به وسیله ساچوک به صورت تصادفی صید و درون وان‌های فایبر گلاس قرار داده شدند.

برای انجام آزمایش‌های مربوط به تعیین جنسیت ماهی‌ها با استفاده از عصاره پودر گل

میخک با غلظت ۲۰۰ppm بیهوشی شدند. سپس ماهی‌ها به صورت مجزا با برانکارد مخصوص به صورتی که کل بدن ماهی بر روی برانکارد قرار گرفته باشد تا صدمه نبیند، به روی میز کار حمل شدند. قبل از تعیین جنسیت، ماهی‌ها مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند و طول کل (نوک پوزه تا انتهای بالایی باله دمی)، طول استاندارد (نوک پوزه تا شکاف باله دمی از داخل) و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برای هر ماهی فاکتور وضعیت (CF) طبق رابطه ۱ محاسبه شد (AOAC, 2005).

رابطه ۱:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول ماهی (سانتی‌متر).

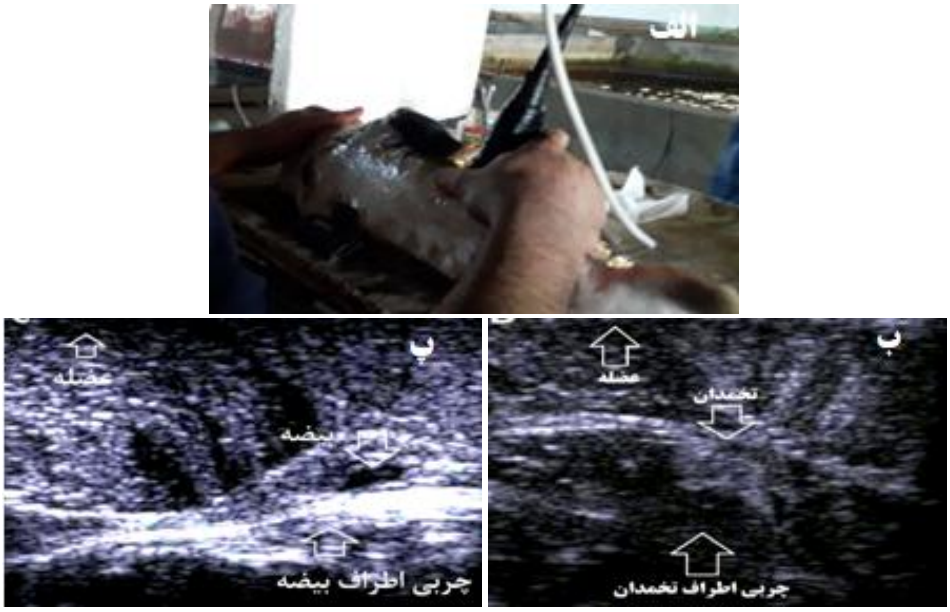
تعیین جنسیت با روش اولتراسونوگرافی

برای تعیین جنسیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه پرورشی با روش اولتراسونوگرافی از دستگاه اولتراسوند (Medison، آمریکا) با ترانسفورماتور خطی (MicroMaxx HFL38, Sonosite Inc., Bothel, WA 98021)، با فرکانس ۱۳-۹ مگاهرتز (MHz) استفاده شد. قبل از قرار دادن ترانسدیوسر به روی ماهی از ژل مخصوص سونوگرافی بین ترانسدیوسر و پوست ماهی استفاده شد تا مانع قرار گرفتن هوا بین آن‌ها شود (Robert et al., 2004). سپس ترانسدیوسر دستگاه سونوگرافی به روی قسمت‌های چپ و راست بدن ماهی (Transverse) قرار داده شد و تصاویر محدوده‌ای که گناد ماهی یا همان تخمدان و بیضه قرار دارد، به روی صفحه مانیتور دستگاه ایجاد شد (شکل ۱). با توجه به تفاوت‌هایی که از لحاظ شکل و روشنایی تصویر بافتی بین تخمدان و بیضه وجود دارد می‌توان نر یا ماده بودن ماهی را مشخص کرد (Wildhaber et al., 2005; Masoudifard et al., 2011)، به صورتی که در تصویرهای تهیه شده از ناحیه عرضی چپ یا راست بدن در جنس ماده تخمدان به صورت نامنظم و روشن‌تر از چربی احاطه کننده تخمدان است و در تصاویر عرضی تهیه شده از جنس نر فیل‌ماهی توسط اولتروسونوگرافی بافت بیضه لوله‌ای شکل و تیره‌تر از چربی احاطه کننده آن است (Masoudifard et al., 2011) (شکل ۱).

تعیین جنسیت با روش جراحی کوچک

تعیین جنسیت به روش جراحی کوچک طبق روش Chapman (۱۹۸۹) انجام شد. به این صورت که محل جراحی با بتادین

ضدعفونی و سپس شکاف کوچکی بین ۲۰ تا ۲۵ میلی‌متر در قسمت شکمی و بین پلاک‌های ۲ و ۳ (پلاک‌های شکمی از قسمت دم به سر ماهی) به وسیله اسکالپل تیز صورت گرفت (Falahatkar et al., 2013).



شکل ۱: تصاویر مربوط به سونوگرافی از فیل‌ماهی (*Huso huso*) ۱۸ ماهه پرورشی. الف) نحوه قرارگیری ترانسدیوسر به روی سمت چپ شکم ماهی، در پشت باله سینه‌ای به صورت عرضی (Transverse). ب) اولتراسونوگرافی مقطع عرضی تخمدان و چربی اطراف آن در محل کیسه شنا. تخمدان پهن است و شکل نامنظمی دارد و روی سطح چربی اطراف قرار دارد. پ) اولتراسونوگرافی مقطع عرضی بیضه و چربی اطراف آن. بیضه نسبت به چربی احاطه کننده آن تیره‌تر است و حاشیه بیضوی و منظمی دارد.

وسایل مورد استفاده شامل ابزار جراحی (تیغ و دسته اسکالپل، قیچی، پنس، نخ و سوزن جراحی) و سرنگ برای تزریق آنتی‌بیوتیک بود. پس از ایجاد شکاف، با چشم غیرمسلح اقدام به تشخیص جنسیت شد. در این حالت تخمدان‌ها به شکل گسترده (البته با توجه به مرحله گنادی) در ناحیه شکمی قرار گرفته‌اند و مقدار آن کمتر از چربی احاطه کننده آن است (شکل ۲) و در جنس نر کاملا بر عکس، بیضه‌ها به صورت نواری شکل در محوطه شکمی قرار گرفته‌اند و حجم آن نسبت به چربی احاطه کننده بیضه

بیشتر است (شکل۲). پس از تعیین جنسیت، محل شکاف بخیه و به وسیله اسپری اکسی تتراسایکیلین ضدعفونی شد (Falahatkar et al., 2013) و به هر ماهی ۲-۱ میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ۵ درصد تزریق شد.

شکل ۲: تصاویر مربوط به جراحی کوچک فیل‌ماهی (*Huso huso*) ۱۸ ماهه پرورشی. الف) تصویری از بیضه لوله‌ای شکل فیل‌ماهی نر. ب) تصویری از تخمدان فیل‌ماهی ماده.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

با استفاده از نرم افزار SPSS 16 داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری طول استاندارد، طول کل و وزن ماهی و محاسبه فاکتور وضعیت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. بدین منظور از آزمون رگرسیون لجستیک (Logistic Regression) برای بررسی ارتباط بین شاخص‌های زیست‌سنجی با جنسیت در سطح خطای ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های ریخت‌سنجی، فاکتور وضعیت و تعیین جنسیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه با روش‌های اولتراسونوگرافی و جراحی کوچک در جدول ۱ و میانگین این شاخص‌ها به تفکیک جنسیت (بر اساس روش جراحی کوچک) در جدول ۲ آمده است. از لحاظ وضعیت جنسی در روش اولتراسونوگرافی، ۳۳/۳۳ درصد ماهی‌ها جنس نر (n=۷) و ۴۷/۶۱ درصد ماهی‌ها جنس ماده (n=۱۰) داشتند و جنسیت ۱۹/۰۴ درصد (n=۴) از ماهی‌ها درست تشخیص داده نشد. در تعیین وضعیت جنسی ماهی‌ها در روش جراحی کوچک، ۹ قطعه جنس نر و ۱۲ قطعه

ماده تشخیص داده شدند. در این پژوهش نسبت جنسی (ماده:نر) بر اساس روش جراحی کوچک ۰/۷۵:۱ بود.

نتایج به دست آمده از بررسی ارتباط بین شاخص‌های ریخت‌سنجی با جنسیت در روش‌های جراحی کوچک و اولتراسونوگرافی به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ آمده است.

جدول ۱: شاخص‌های ریخت‌سنجی و جنسیت فیل‌ماهی ۱۸ ماهه پرورشی

شماره ماهی	طول کل (cm)	طول استاندارد (cm)	وزن (g)	فاکتور وضعیت	جنسیت	
					اولتراسونوگرافی	جراحی کوچک
۱	۹۶	۸۴	۵۲۰۰	۰/۸۷	نر	نر
۲	۹۶	۸۴	۴۴۰۰	۰/۷۴	ماده	ماده
۳	۱۱۱	۹۱	۵۹۰۰	۰/۷۸	نر	ماده
۴	۹۹	۸۹	۶۱۰۰	۰/۸۶	نر	نر
۵	۱۰۴	۹۹	۶۲۰۰	۰/۶۳	نر	نر
۶	۹۴	۸۲	۴۶۰۰	۰/۸۳	ماده	ماده
۷	۹۰	۸۱	۴۰۰۰	۰/۷۵	ماده	ماده
۸	۹۹	۸۴	۵۲۰۰	۰/۸۷	نر	نر
۹	۹۸	۸۸	۵۲۰۰	۰/۷۶	ماده	نر
۱۰	۹۵	۸۵	۵۵۰۰	۰/۸۹	ماده	ماده
۱۱	۹۹	۸۵	۵۲۰۰	۰/۸۴	نر	نر
۱۲	۹۸	۸۵	۴۹۰۰	۰/۷۹	نر	نر
۱۳	۹۰	۸۳	۵۲۰۰	۰/۹۰	ماده	ماده
۱۴	۱۰۷	۸۸	۵۴۰۰	۰/۷۹	ماده	ماده
۱۵	۱۰۳	۹۱	۶۰۰۰	۰/۷۹	ماده	ماده
۱۶	۱۰۴	۹۱	۵۶۰۰	۰/۷۴	ماده	ماده
۱۷	۱۰۳	۸۸	۵۲۰۰	۰/۷۶	ماده	نر
۱۸	۱۰۲	۹۰	۵۶۰۰	۰/۷۶	ماده	ماده
۱۹	۹۸	۸۶	۴۸۰۰	۰/۷۵	نر	ماده
۲۰	۹۸	۸۵	۵۴۰۰	۰/۸۷	ماده	ماده

۲۱	۹۷	۸۶	۵۴۰۰	۰/۸۴	نر	نر

جدول ۲: شاخص‌های ریخت‌سنجی به تفکیک جنسیت (جراحی کوچک) در فیل‌ماهی ۱۸ ماهه پرورشی (میانگین ± انحراف معیار)

جنسیت	تعداد	وزن (g)	طول کل (cm)	طول استاندارد (cm)	فاکتور وضعیت
نر	۹	۵۴۰۰/۰۰±۴۴۴/۴۱	۹۹/۲۲±۲/۶۳	۸۷/۵۶±۴/۶۶	۰/۸۰۸±۰/۰۷
ماده	۱۲	۵۲۷۵/۰۰±۷۱۸/۷۴	۹۹/۰۰±۶/۵۵	۸۶/۴۲±۳/۶۷	۰/۸۱۴±۰/۰۶

جدول ۳: رگرسیون لجستیک برای تعیین ارتباط بین شاخص‌های ریخت‌سنجی با جنسیت در روش جراحی کوچک

متغیرها	P	R^2	a	b
طول کل	۰/۹۲۰	۰/۰۰۱	۱/۱۶۴	-۰/۰۰۹
طول استاندارد	۰/۵۱۵	۰/۰۲۷	۶/۶۴۷	-۰/۰۷۳
وزن	۰/۶۳۱	۰/۰۱۵	۲/۲۲۰	۰/۰۰۰
فاکتور وضعیت	۰/۸۴۴	۰/۰۰۲	-۰/۷۵۸	۱/۲۸۸

P: سطح معنی‌داری؛ R^2: ضریب تعیین؛ a و b: اجزای فرمول مربوطه در مدل لجستیک.

جدول ۴: رگرسیون لجستیک برای تعیین ارتباط بین شاخص‌های ریخت‌سنجی با جنسیت در روش اولتراسونوگرافی

متغیرها	P	R^2	a	b
طول کل	۰/۴۱۹	۰/۰۴۱	۷/۴۸۰	-۰/۰۷۲
طول استاندارد	۰/۴۵۵	۰/۰۳۷	۷/۷۹۴	-۰/۰۸۶
وزن	۰/۴۷۹	۰/۰۳۲	۳/۱۶۲	۰/۰۰۰
فاکتور وضعیت	۰/۹۰۴	۰/۰۰۱	-۰/۳۵۶	۰/۷۹۳

P: سطح معنی‌داری؛ R^2: ضریب تعیین؛ a و b: اجزای فرمول مربوطه در مدل لجستیک.

با توجه به جدول‌های ۳ و ۴ می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط بین طول استاندارد (P=۰/۵۱۵)، طول کل (P= ۰/۹۲۰)، وزن (P= ۰/۶۳۱) و فاکتور وضعیت (P=۰/۸۴۴) با

جنسیت در روش جراحی کوچک و همچنین ارتباط بین طول استاندارد (P=۰/۴۵۵)، طول کل (P= ۰/۴۱۹)، وزن (P=۰/۴۷۹) و فاکتور وضعیت (P=۰/۹۰۴) با جنسیت در روش اولتراسونوگرافی فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه معنادار نبود (P≥۰/۰۵).

بحث

در این پژوهش جنسیت ۲۱ عدد فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه به وسیله اولتراسونوگرافی با کارایی ۸۰/۹۵ درصد تعیین شد، این در حالی است که Masoudifard و همکاران (۲۰۱۱) از بین ۸۰ عدد فیل‌ماهی پرورشی از طریق اولتراسونوگرافی عرضی و جلویی در ناحیه کیسه شنا جنسیت فیل‌ماهیان پرورشی را با دقت ۹۷/۵ درصد مشخص کردند. در ضمن اعلام داشتند که این روش برای تعیین جنسیت فیل‌ماهی ۳ ساله پرورشی یک روش مطمئن با کمترین اتلاف در زمان و هزینه و بالاترین کارایی امکان‌پذیر است که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر برای تعیین جنسیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه مطابقت دارد. در مطالعه دیگری که توسط Colombo و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد، کارایی تعیین جنسیت پاروبینی (*Scaphirhynchus platorynchu*) به وسیله اولتراسونوگرافی ۸۶ درصد گزارش شد.

در پژوهش حاضر به وسیله جراحی کوچک جنسیت فیل‌ماهی پرورشی با سن ۱۸ ماه و حداقل وزن ۴ کیلوگرم و طول استاندارد ۸۱ سانتی‌متر و طول کل ۹۰ سانتی‌متر با کارایی ۱۰۰ درصد تعیین شد. Chmyr و Chebanov (۲۰۰۵) حداقل وزن و سن فیل‌ماهی پرورشی آب‌های گرم را برای تعیین جنسیت به ترتیب ۱۲-۸ کیلوگرم و ۵-۴ سال تخمین زدند. Falahatkar و همکاران (۲۰۱۳) اعلام داشتند که دقت در تعیین جنسیت توسط بیوپسی (جراحی و مشاهده مستقیم گنادها که گاها به همراه نمونه‌برداری از گنادها همراه است) به اندازه و سن ماهی‌ها بستگی دارد. حلاجیان و همکاران در سال ۱۳۹۳ روش بیوپسی را یک روش تعیین جنسیت مطمئن برای ماهیان زیر ۳ سال معرفی کرد. در صورتی که Falahatkar و همکاران (۲۰۱۳) تعیین جنسیت فیل‌ماهیان پرورشی را در سنین ۳ سال و بیشتر از طریق روش بیوپسی امکان‌پذیر دانستند. در حالی که Moghim و همکاران (۲۰۰۲) موفق به تعیین جنسیت ۲۴۹ عدد اوزون‌برون (*Acipenserstellatus*) صید شده با طول کل بزرگ‌تر از ۹۵ سانتی‌متر به وسیله

اولتراسونوگرافی شدند و تعداد ۵۰ قطعه ماهی را جنس نر و ۱۹۹ قطعه را جنس ماده تشخیص دادند. Hallajian و همکاران (۲۰۱۴) ۳۰ قطعه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و ۶۰ قطعه فیل‌ماهی پرورشی زیر ۳ سال را با استفاده از روش جراحی مورد تعیین جنسیت قرار داد که ۱۶ قطعه تاس‌ماهی ایرانی ماده و ۱۴ قطعه از آن‌ها نر و ۳۱ قطعه فیل‌ماهی ماده و ۲۹ قطعه از آن‌ها نر تشخیص داده شدند. Falahatkar و همکاران (۲۰۱۳) با ایجاد یک برش ۲۵-۲۰ میلی‌متری در ناحیه‌ای بین باله سینه‌ای و شکمی فیل‌ماهی ۳ ساله، رویت گنادها، تعیین جنسیت و تعیین مرحله جنسی را انجام دادند و هیچ گونه تلفات و عفونتی بعد از جراحی در ماهی‌ها مشاهده نشد.

Kucharczyk و همکاران (۲۰۱۶) بر اساس مطالعه‌ای که بر روی ماهی مهاجر اروپایی (*Anguilla anguilla*) انجام دادند توانستند تعیین جنسیت و تعیین مرحله جنسی این ماهی را با استفاده از سونوگرافی و بیوپسی با کارایی بالا انجام دهند و این طور نتیجه‌گیری کردند که این روش‌های تعیین جنسیت می‌تواند یک روش کم تهاجم با حداقل استرس و تلفات برای تشخیص جنسیت ماهی مهاجر اروپایی با سرعت بالا باشد.

در مطالعه حاضر نسبت جنسی ۰/۷۵:۱ (ماده : نر) با تعداد کل ۲۱ قطعه ماهی به دست آمد. در حالی که Falahatkar و همکارانش (۲۰۱۳) در بین ۲۲۶ فیل‌ماهی پرورشی این نسبت را با روش بیوپسی ۰/۸۴:۱ (ماده : نر) بیان کردند. Flynn و همکاران (۲۰۰۶) این نسبت را در ماهی خاویاری کوتاه پوزه (*Acipenser brevirostrum*) ۰/۷۹:۱ و Doroshov و همکاران (۱۹۹۷) این نسبت را ۱:۱ بیان کردند.

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر مشخص شد که تعیین جنسیت به وسیله جراحی کوچک بسیار کارآمدتر و موثرتر از روش‌های تعیین جنسیت از طریق مولفه‌های هورمونی (Webb et al., 2002; Feist et al., 2004)، روش لاپاراسکوپی (Falahatkar et al., 2009) و روش‌های ترکیبی (Petochi et al., 2011) است، چرا که ماهی‌هایی که بعد از ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند، هیچ گونه آثار عفونت، بیماری و تلفات در آن‌ها مشاهده نشد و روش جراحی کوچک در سنین قبل از بلوغ جنسی برای تشخیص نر و ماده و جداسازی جنس‌ها کاربرد دارد.

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین طول، وزن و فاکتور وضعیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه با جنسیت مشخص شده از هر دو روش اولتراسونوگرافی و جراحی کوچک وجود نداشت (جدول‌های ۳ و ۴). هدایتی و یاوری (۱۳۸۹) نیز در باره تعیین جنسیت گزارش دادند که وزن و طول در جنس‌های مختلف ماهیان خاویاری تفاوت معنی‌داری نداشت. از این رو، نمی‌توان از این شاخص‌ها در تعیین جنسیت استفاده کرد. اما در رابطه با مراحل رسیدگی جنسی مشخص شد که وزن و طول کل در جنس نر با مرحله جنسیت ارتباط معنی‌داری داشت (هدایتی و یاوری، ۱۳۸۹). بنابراین، تنها می‌توان از این شاخص‌ها در تعیین مراحل رسیدگی جنس نر استفاده کرد.

همچنین در مطالعات Malekzadeh Viayeh و همکاران (۲۰۰۰) تحت عنوان کاربرد شاخص‌های ریخت‌سنجی به عنوان نشانگرهایی برای تعیین مرحله جنسی و گنادی فیل‌ماهی ایرانی بالغ، چند شاخص ریخت‌سنجی مانند طول کل (TL)، طول چنگالی (FL)، وزن بدن (W) و سن برای تمایز جنس و مراحل رشد گناد در این ماهی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۵۷ قطعه ماهی مورد سنجش و اندازه‌گیری مولفه‌های ریخت‌سنجی قرار گرفتند که جنس‌های ماده مراحل II و IV و نرهای مراحل III و IV شناسایی شدند. وزن، طول کل، طول چنگالی و سن در آن‌ها تفاوت معناداری را نشان دادند. در نتیجه، اعلام داشتند که از شاخص‌های ریخت‌سنجی می‌توان برای تمایز مرحله جنسی و گنادی استفاده کرد (Malekzadeh Viayeh et al., 2000). این در حالی است که اکثر پژوهشگران معتقد هستند که شاخص‌های ریخت‌شناختی به عنوان نشانگرهایی برای تعین جنسیت ماهیان خاویاری، قابل اعتماد نیستند و خطاهایی را نشان می‌دهند (Vecsei et al., 2003) که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مطابقت دارد، زیرا در این مطالعه نیز روابط معناداری بین طول کل، طول استاندارد و وزن با جنسیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه مشاهده نشد ($P>0/05$). شاید بتوان از شاخص‌های ریخت‌شناسی به عنوان نشانگری در تعیین مرحله گنادی استفاده کرد ولی برای تعیین جنسیت قابل استفاده نخواهند بود (هدایتی و یاوری، ۱۳۸۹).

Jensen (۱۹۸۵) و Berrigan و Charnov (۲۰۰۰) مطالعات زیادی در مورد

رابطه بین سن بلوغ با شاخص‌های رشد مثل ارتباط طول با سن بلوغ انجام دادند. در این مطالعات سن بلوغ نزدیک و مطابق با منحنی رشد اتفاق افتاد و ارتباط معناداری بین سن بلوغ و طول کل وجود داشت (Jensen, 1985; Berrigan andCharnov, 2000).

در مطالعه حاضر کارایی جراحی کوچک برای تعیین جنسیت ۱۰۰ درصد و کارایی اولتراسونوگرافی ۸۰/۹۵ درصد مشخص شد. به طور کل می‌توان با مقایسه روش‌های مختلف نتیجه گرفت هر روش برای نوع اختصاصی از یک گونه و همچنین رده سنی خاصی می‌تواند کارآمد باشد. بنابراین در این مطالعه، با ادغام سه روش مهم و اساسی جراحی کوچک، اولتراسونوگرافی و سنجش شاخص‌های ریخت‌سنجی میزان معایب و خطای هر روش با روشی دیگر به حداقل رسانده شد. با توجه به جدول‌های ۳ و ۴ می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ارتباط بین طول استاندارد، طول کل، وزن و فاکتور وضعیت با جنسیت فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه از هر دو روش جراحی کوچک و اولتراسونوگرافی معنادار نبود ($P>0/05$)، بنابراین نمی‌توان از این شاخص‌ها برای تعیین جنسیت فیل‌ماهی پرورشی استفاده کرد. به طور کل می‌توان نتیجه گرفت که روش اولتراسونوگرافی و جراحی کوچک یک روش کم‌تهاجم با حداقل استرس به فیل‌ماهی پرورشی ۱۸ ماهه است که کمک بزرگی به تعیین جنسیت این ماهی در سنین پایین برای جداسازی جنسی به منظور کاهش هزینه‌های پرورشی می‌کند.

منابع

حلاجیان ع.، کاظمی ر.، محسنی م.، بهمنی م.، دژندیان س.، یوسفی ا. و توکلی م. ۱۳۹۳. بررسی وضعیت جنسیتی تاس‌ماهیان نابالغ صید شده از آب‌های ایرانی حوضه جنوبی دریای خزر طی سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۳. مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۷(۱): ۵۹-۳۸.

حلاجیان ع.، کاظمی ر.، یزدانی ساداتی م.، یوسفی جوردهی ا. و یارمحمدی م. ۱۳۹۶. تعیین جنسیت کاربردی در ماهیان خاویاری. انتشارات موسسه تحقیقات بین المللی تاس‌ماهیان دریای خزر. ۲۹ص.

کاظمی ر.، یارمحمدی م. و حلاجیان ش. ۱۳۹۵. مروری بر روش‌های متداول تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی تاس‌ماهیان (Acipenseridae) مزایا و معایب. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۴(۲): ۱۲۸-۱۰۷.

هدایتی ع. و یاوری ا. ۱۳۸۹. بررسی امکان تعیین جنسیت و مراحل رشد گنادی ماهیان خاویاری با استفاده از شاخص‌های خونی و مورفومتریک. مجله علوم و فنون دریایی، ۱۰(۱): ۵۴-۴۵.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. USA. 771P.

Berrigan D. and Charnov E.L. 2000. Reaction norms for age and size at maturity in response to temperature: A puzzle for life historians. Oikos, 70(1): 474–478.

Billard R. 2002. Esturgeons et Caviar. Tec and Doc Lavoisier, Paris. 298P.

Bryan J.L., Wildhaber M.L., Papoulias D.M., DeLonay A.J., Tillitt D.E. and 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.

Chapman F.A. 1989. Sexual maturation and reproductive parameters of wild and domestic stocks of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Ph.D. Thesis, University of California, USA. 200P.

Chapman F.A. and Park C. 2005. Comparison of sutures used for wound closure in sturgeon following a gonad biopsy. North American Journal of Aquaculture, 67: 98–101.

Chebanov M.S. and Chmyr Y.N. 2005. Early sexing and staging of farmed and wild sturgeon juveniles by using ultrasound technique. 5th International Symposium on Sturgeon, Ramsar,

Iran, Extended Abstracts Aquaculture, P: 33–35.

Colombo R.E. Wills P.S. and Garvey J.E. 2004. Use of ultrasound imaging to determine sex of shovelnose sturgeon. Journal of Fisheries Management, 24(2): 322–326.

Divers S.J., Boone S.S., Hoover J.J., Boysen K.A., killgore K.J., Murphy C.E., George S.G. and Camus A.C. 2009. Field endoscopy for identifying gender, reproductive stage and gonadal anomalies in free ranging sturgeon (*Scaphirhynchus* sp.) from the lower Mississippi River. Journal of Applied Ichthyology, 25(2): 68–74.

Doroshov S.I., Moberg G.P. and Van Eenennaam J.P. 1997. Observation on the reproductive cycle of cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Environmental Biology of Fishes, 48(1): 265–278.

Falahatkar B., Akhavan S.R., Tolouei Gilani M.H. and Abbasalizadeh A. 2013. Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon (*Huso huso*) through biopsy. Iranian Journal of Veterinary Research, 14(2): 133–139.

Falahatkar B., Toiouei M.H. and Abbasalizadeh A. 2009. Laprascopy, aminimaly-invasive techique for sex identification in cultured great sturgeon (*Huso huso*). Aquaculture, 32(1): 273–279.

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(2): 581–590.

Flynn S.R., Matsuoka M., Reith M., Martin-Robichaud D.J. and Benfey T.J. 2006. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuere. Aquaculture, 253: 721–727.

Hallajian A., Kazemi R., Mohseni M., Bahmani M. and Yousefi A. 2007. Determination of sex and sexual maturation stages in cultured *Acipenser nudiventris* using biopsy method. Iranian Journal of Fish Science, 16(3): 65–72.

Hallajian A., Kazemi R., Yousefi Jourdehi A. and Pourdehghani M. 2014. Applied of some methods for sex staging in sturgeon. Journal of Fisheries, 8(1): 19–28.

Hurvitz A., Jackson K., Degani G. and Levavi-sivan B. 2007. Use of endoscopy for gender and ovary stage determination in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in

aquaculture. Aquaculture, 270: 158–166.

Jensen A.L. 1985. Relations among net reproductive rate and life history parameters for lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 42(2): 164–168.

Kucharczyk D., Zareski D., Krejseveff S., Nowosad J., Bilsa M., Katarzyna-Targonoska K. and Palineska K. 2016. Use of an ultrasound device to determine sex and to perform gonad biopsy in the European eel *Anguilla anguilla*. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 2(1): 199–206.

Malekzadeh Viayeh R., Hallajian A., Kazemi R. and 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.

Masoudifard M., Vajhi A.R., Moghim M., Nazari R.M., Naghavi A.R. and 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.

Moghim M., Vajhi A.R., Veshkini A. and Masoudifard M. 2002. Sex and maturity determination of Persian Sturgeon by using ultrasonography method. Iranian Journal of Fish Science, 10(1): 71–88.

Munhofen J.L. 2012. Compariang ultrasonography and endoscopy for the identification of gender in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). M.Sc. Thesis, University of Georgia, Georgia. 66P.

Petochi T., Di Marco P., Donadelli A., Langobardi I., Corsalini I., Bertotto D., Finoia M.G. and Marino G. 2011. Sex and reproductive stage identification of sturgeon hybrids (*Acipenser naccari* × *Acipenser baerri*) using different tools; ultrasounds, histology and sex steroids. Journal of Applied Ichthyology, 27(1): 637–642.

Robert E., Paul S. and James E. 2004. Use of ultrasound imaging to determine sex of shovelnose sturgeon. Journal of Fish Management, 24(1): 322–326.

Romanov A.A. and Shevelva N.N. 1993. Disruption of gonadogenesis in the Caspian sturgeon (Acipenseridae). Journal of Ichthyology, 33(3): 127–133.

Vecsei P., Litvak M.K., Noakes D.L.G., Rien T. and Hochleithner M. 2003. A non-

invasive technique for determining sex of live adults North American sturgeons. Journal Environmental of Fish Biology, 68(2): 333–338.

Webb M.A.H., Feist G.W., Foster E.P., Schreck C.B. and 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.

Wildhaber M.L., Papoulias D.M., Deloney A.J., Tillitt J.L., Bryan D.E., Annis M.L. and 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.

Williot P. 2002. Reproduction des esturgeons. P: 63–90. In: Billard R. (Ed.). Esturgeons et Caviar. Tec and Doc Lavoisier, Paris.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 7, No. 2, Summer 2019

Research Paper

Determination of sex and relationship with morphometric parameters in 18-months old cultured beluga sturgeon (*Huso huso*) using ultrasonography and small surgery

Raheleh Eamailnia[1], Mohammad Reza Ghomi[2]*, Mehdi Sohrabnezhad[3]

Received: July 2018 Accepted: February 2019

Abstract

The aim of this study was to determine the early sex of 21 pieces of 18-month-old farmed fish using ultrasonography as a new method of sex determination and small surgery. For this purpose, a linear array transducer ultrasonography with the frequency of 9-13 MHz was used. The overall accuracy of sex determination using ultrasonography (7 males, 10 females and 4 not correct determined) and small surgery (9 males and 12 females) were 80.95% and 100%, respectively. There was no correlated to morphometric parameters including TL, SL, W and CF in 18 months beluga sturgeon with sex ($P>0.05$). Although a small surgical procedure is an invasive procedure, it is the safest method and no casualties have been reported. Fish morphometric parameters including TL, SL, W and CF related to sex determination by both methods using logistic regression test showed no significant relationship with fish sex ($P<0.05$), then cannot be used as an indicator of sex determination at this age.

Key words: *Cultured Beluga Sturgeon, Early Sex Identification, Ultrasonography, Biopsy, Morphometric Parameters*.

1- Ph.D. Student in Aquaculture, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
2- Associate Professor in Department of Fisheries, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
3- Ph.D. in Aquaculture, Saee Sturgeon Aquaculture CO., Sari, Iran.
*Corresponding Author: mghomi@tonekabon.iau.ac.ir