

اندسکوپي روشي نوين در تعيين جنسيت تاس ماهي سيبري (*Acipenser baerii*)نجمه عباسی^۱، احمد نوری^{۱*}، بی‌تا کلوانی نیتلی^۲، محمد حسین طلوعی گیلانی^۳^۱گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس^۲گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان^۳اداره کل شیلات گیلان، بندر انزلی

نوع مقاله:

چکیده

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۳/۰۶/۲۴

اصلاح: ۹۳/۰۸/۱۹

پذیرش: ۹۳/۰۸/۲۵

کلمات کلیدی:

اندسکوپي

بافت شناسی

تاس ماهی سیبری

گناد

در این پژوهش بررسی روند تکامل گنادی و رشد غدد جنسی و تعیین جنسیت تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با استفاده از روش نوین و کم‌خطر اندسکوپي صورت گرفت. وضعیت رشد و تکامل گنادی ۲۳ قطعه تاس‌ماهی سیبری پرورشی (۷ ساله) با استفاده از روش اندسکوپي و بافت‌شناسی به منظور تأیید یافته‌ها در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی گیلان مورد بررسی قرار گرفت. دستگاه اندسکوپي از یک صفحه سیتوسکوپ ۳۰ درجه، ۲۲ سانتی‌متر طول و ۷/۵ میلی‌متر قطر، به همراه یک فیبر انتقال نور متصل به یک منبع نوری هالوژنی و یک برنامه فیلم‌برداری نصب شده به رایانه دستی تشکیل شده است. در نتایج به دست آمده در این پژوهش با استفاده از اندسکوپي ۵۲٪ ماهیان ماده و ۴۸٪ نر تشخیص داده شدند که آزمایشات بافت‌شناسی نیز آن را تأیید نمود. از این‌رو صحت و دقت به دست آمده در تعیین جنسیت ۱۰۰٪ بوده است. نتایج نشان داد که اندسکوپي ابزاری مناسب برای تعیین جنسیت و روند تکامل گنادی در تاس‌ماهی سیبری می‌باشد. اجرای صحیح و کم‌خطر این روش در تعیین جنسیت و مرحله تکامل گنادی می‌تواند به حفظ ذخایر ماهیان پرورشی و سودآوری اقتصادی کشور کمک فراوان نماید.

مقدمه

تاس ماهیان از جمله ماهیان غضروفی- استخوانی بسیار قدیمی بوده که تحت عنوان فسیل زنده نیز نامیده می‌شوند (Baker *et al.*, 2005). امروزه به دلایل مختلفی همچون صید بی‌رویه، آلودگی، کاهش زیستگاه و احداث سدها، جمعیت این ماهیان در حال کاهش می‌باشد (Keyvanshokoo and Gharaei, 2010). ماهیان خانواده Acipenseridae دارای ارزش اقتصادی بسیاری بوده که از آن جمله می‌توان به تولید خاویار گران قیمت اشاره نمود. به همین دلیل از نقطه نظر آبی‌پروری، پرورش جمعیت تمام ماده این ماهیان بسیار سودآورتر از جمعیت مخلوط می‌باشد (Hassanzadeh Saber *et al.*, 2008; Keyvanshokoo and Gharaei, 2010). در این میان یکی از گونه‌های این خانواده، تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) بوده که علی‌رغم وارداتی بودن آن، می‌توان به مزیت‌هایی همچون سازگاری راحت با شرایط پرورشی، مقاوم بودن به تغییرات محیطی، سرعت رشد بالا، سن بلوغ کم و خاویاردهی سریع اشاره نمود و یکی از گونه‌هایی است که در آینده‌ای نزدیک در مناطق معتدله توسعه خواهد یافت (نجفی پور مقدم و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین برای رسیدن به مدیریت موفق، دانستن ویژگی‌های تولیدمثلی یکی از مؤلفه‌های مهم می‌باشد (Matsche *et al.*, 2011).

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Noori@hormozgan.ac.ir

دانستن چرخه تولیدمثلی تاس ماهیان برای مدیریت بهینه مولدین و توسعه روش‌های تشخیصی برای تعیین جنسیت در سنین پایین به منظور اهداف پرورشی ضروری است (Petochi *et al.*, 2011). یکی از کاربردهای مهم بررسی مراحل مختلف روند تکاملی گناد و گامت‌سازی، درک صحیح چگونگی تحولات چرخه گناد ماهیان نر و ماده و نیز دستیابی به دستورالعمل جامع برای پرورش ماهیان جوان جهت گزینش گله‌های مولد در شرایط پرورش مصنوعی می‌باشد (هدایتی و همکاران، ۱۳۸۶). تعیین وضعیت تولیدمثلی تاس ماهیان مشکل است چرا که این ماهیان از نظر جنسی یک شکل (uniformic) بوده و فاقد صفات دوریختی ظاهری می‌باشند و نیز دارای سن بلوغ دیر هنگام و چرخه تولیدمثلی دو یا چند سال هستند (Barannikova *et al.*, 2004).

از آنجایی که ارزیابی مطمئن، سریع و کم خطر وضعیت تولیدمثلی تاس ماهیان مشکل بوده و روش‌های کنونی نیازمند بافت‌شناسی می‌باشند، تحقیقات متعددی برای تعیین جنسیت با شیوه‌های گوناگون انجام شده است (Hurvitz *et al.*, 2007). به منظور تعیین جنسیت در تاس ماهیان، روش‌های مختلفی از جمله جراحی، اولتراسونوگرافی، اندسکوپیی و آنالیز سطوح هورمون‌های جنسی خون مورد استفاده قرار گرفته است (Matsche *et al.*, 2011). همچنین به منظور تأیید نتایج حاصل از روش‌های ذکر شده، آزمایشات بافت‌شناسی به عنوان روشی بسیار ارزنده جهت ارزیابی وضعیت گنادی در تاس ماهیان مدنظر می‌باشد. هر یک از این روش‌ها به نوبه خود دارای مزایا و معایبی هستند که کاربرد یک روش را در همه مراحل محدود می‌کند. نیاز به روش‌های بدون خطر برای گونه‌های با ارزش اقتصادی بالا یا در حال انقراض، سبب توسعه روش‌های هورمونی، اولتراسونیک و اندسکوپیی گردیده است (Craig *et al.*, 2009; Divers *et al.*, 2009). یکی از این روش‌ها، اندسکوپیی است که با استفاده از آن می‌توان گنادها را با ایجاد شکاف شکمی و مجرای ادراری-تناسلی مشاهده نمود. همچنین بهترین و مطمئن‌ترین ارزیابی از جنسیت ماهی و مراحل تکاملی گناد را می‌توان با استفاده از بافت‌شناسی به دست آورد. اندسکوپیی یک ابزار با ارزش در محیط و آزمایشگاه جهت تعیین جنسیت می‌باشد. با استفاده از این روش، رنگ تخمک‌ها به خوبی مورد ارزیابی قرار گرفته و در نتیجه برآورد بهتری از توسعه مراحل آنها به دست می‌آید. نتایج روش اندسکوپیی با دقت بیش از ۹۳٪ گزارش شده است (Divers *et al.*, 2009).

در این پژوهش، کارآمدی روش اندسکوپیی بر روی تاس ماهی سبیری جهت تعیین جنسیت و وضعیت تکامل گنادی مورد مطالعه قرار گرفت تا از این طریق بتوان روشی مناسب را برای تعیین جنسیت در کارگاه‌های پرورش ماهیان خاویاری ارائه نمود و در هزینه‌ها صرفه جویی کرد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورشی

برای این منظور در کارگاه شهید بهشتی گیلان ابتدا تعداد ۲۳ قطعه تاس ماهی سبیری هفت ساله به طور تصادفی انتخاب و به تانک‌های فایبرگلاس با ابعاد $1 \times 1/8 \times 1/8$ با عمق آب ۵۰ سانتی‌متر منتقل گردیدند. دمای آب ۱۶ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

اندسکوپیی

برای این کار، از دستگاه اندسکوپیی (21.00a, LUTGmbH, Denzlingen, Germany) استفاده گردید. این دستگاه از یک صفحه سیتوسکوپ ۳۰ درجه، ۲۲ سانتی‌متر طول و $7/5$ میلی‌متر قطر، به همراه یک فیبر انتقال نور متصل به یک منبع نوری هالوژنی (150 W, #30801, Gima, Gessate, MI, Italy) و یک برنامه فیلم‌برداری نصب شده بر روی رایانه دستی تشکیل شده است. در ابتدا ماهیان با پودر گل میخک به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در آب بیهوش شدند. سپس طول کل و وزن کل آنها با استفاده از متر با دقت یک میلی‌متر و ترازو با دقت ده گرم اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول و وزن در جدول ۱ قابل مشاهده است. برای دیدن گنادها، یک شکاف ۳ تا ۴ سانتی‌متری در قسمت شکمی بدن بالاتر از مخرج با استفاده از یک اسکالپل استریل ایجاد گردید و سیتوسکوپ به داخل حفره شکمی فرستاده شد. برای وضوح بیشتر عکس و فیلم‌ها اسکوپ مجهز به یک محلول سدیم کلراید ۰/۹٪ بود. پس از آزمایش، شکاف ایجاد شده با نخ استریل بخیه شد و ۱ میلی‌لیتر

اکسی تتراسیکلین ۱۰٪ برای ضد عفونی نمودن شکاف تزریق گردید. با استفاده از این دستگاه اندام‌های داخلی ماهی مشاهده و اطلاعات مربوطه ذخیره گردید (شکل ۱).

بافت شناسی

قبل از بخیه نمودن شکاف، با استفاده از روش بیوپسی از گناد ماهیان نر و ماده تکه برداری گردید و نمونه‌ها به طور جداگانه داخل شیشه‌های حاوی محلول بافر فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت و روی آنها برچسب جنسیت و شماره ماهی ثبت گردید. سپس شیشه‌ها جهت آماده‌سازی و تهیه اسلایدهای بافتی به آزمایشگاه منتقل شد. جهت تهیه اسلایدهای بافتی، پس از فیکس نمودن نمونه بافت‌ها، مراحل آبیگری، شفاف‌سازی، پارافینه شدن، قالب‌گیری، برش به ضخامت ۶-۵ میکرومتر، رنگ آمیزی و مونته کردن انجام شد. رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین بود. از اسلایدهای بافتی با کمک میکروسکوپ نوری (Germany 2KNLCD-120D) مجهز به مانیتور و دوربین، عکس‌برداری شد (شکل ۲).

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از آمار عمومی و نرم افزار Excel، میانگین وزن و طول کل و انحراف از معیار مورد پردازش قرار گرفت. همچنین با استفاده از آنالیز t-test مستقل در نرم افزار SPSS16 معنی دار بودن وزن و طول کل ماهیان نر و ماده در سطح معناداری ۰/۰۵٪ مورد آزمون قرار گرفت. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شد.

نتایج

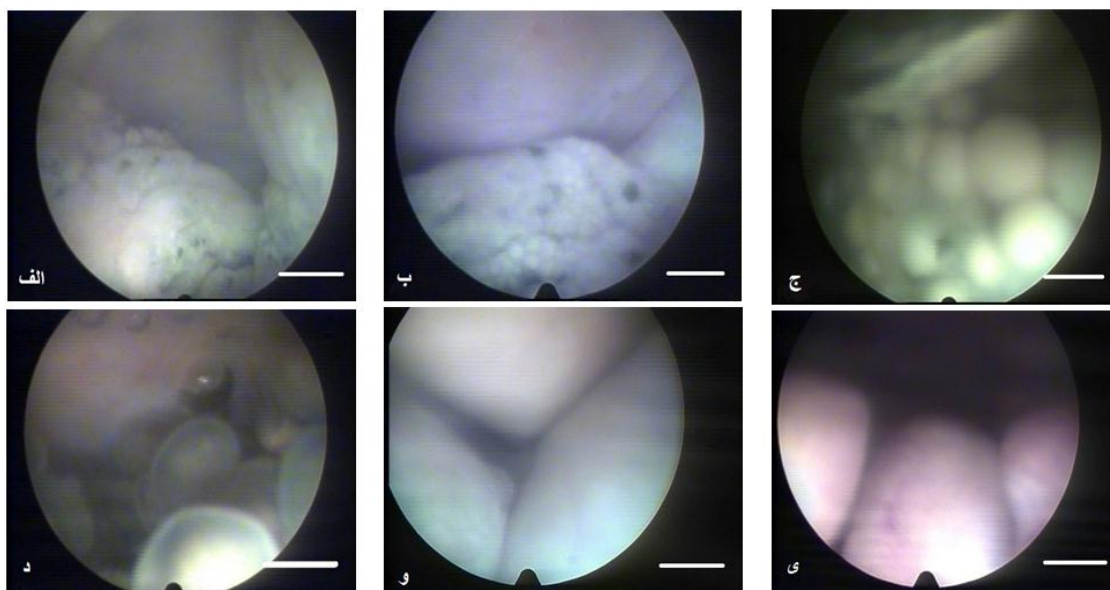
از ۲۳ قطعه تاس ماهی‌سیبری مورد آزمایش، ۱۲ قطعه ماده و ۱۱ قطعه نر بودند که جنسیت این گونه با دقت ۱۰۰٪ تشخیص داده شد. ماهیان ماده در مراحل پیش زرده‌سازی و زرده‌سازی و نرها در مراحل اسپرم‌زایی و تکامل اسپرم بودند (شکل ۲). آزمایش‌های بعد جراحی هیچ‌گونه عفونت یا خون‌ریزی را نشان ندادند. از نظر وزن و طول، تفاوت معنی‌داری بین دو جنس وجود نداشت ($P > 0/05$). در جدول ۱ وزن کل و طول کل به صورت میانگین \pm انحراف از معیار آورده شده است. بررسی‌های انجام شده توسط اندسکوپ (جدول ۲) و بافت‌شناسی (جدول ۳)، مراحل مختلفی از تخمدان و بیضه را مشخص نمود.

جدول ۱. میانگین وزن و طول کل بدن تاس ماهیان سیبری

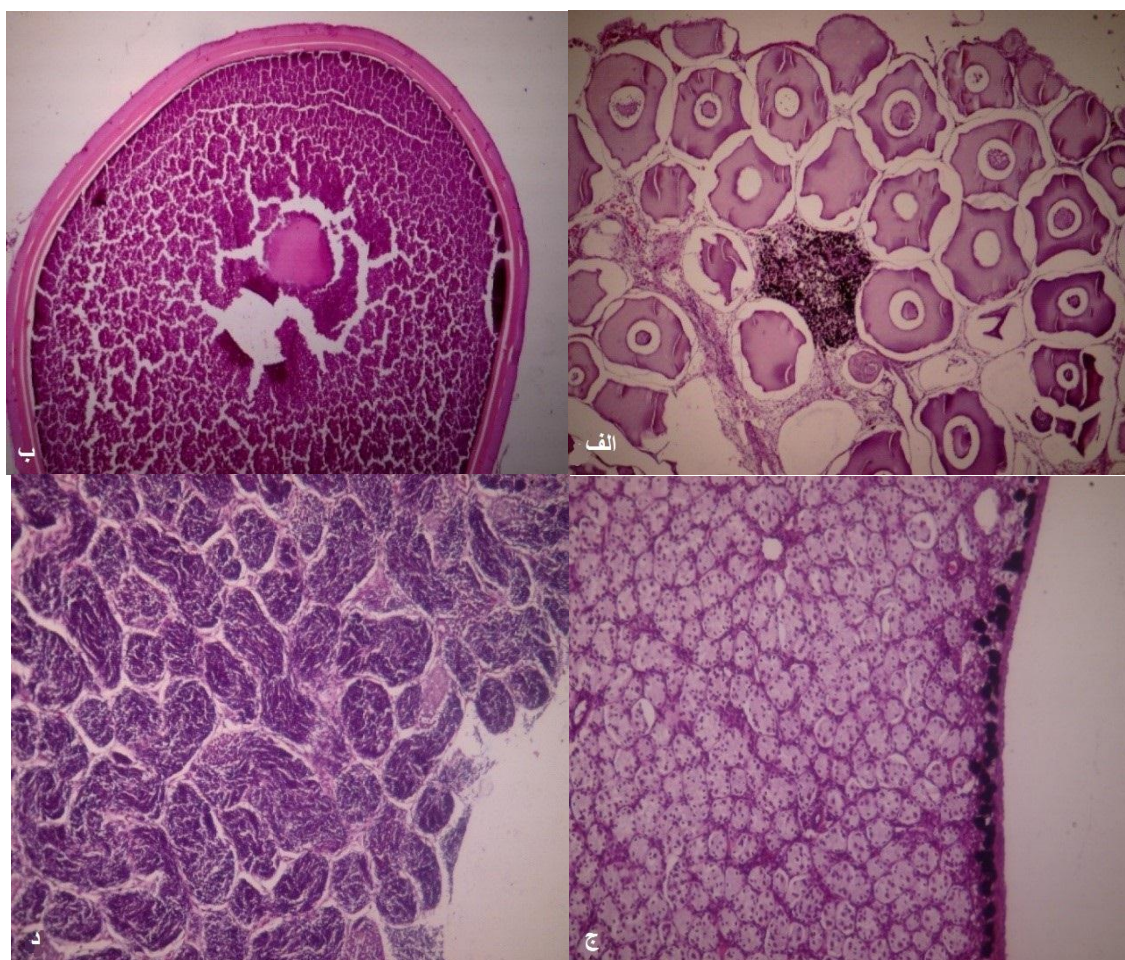
جنسیت ماهی	تعداد	وزن کل (کیلوگرم) انحراف معیار \pm میانگین وزن کل	طول کل (سانتی‌متر) انحراف معیار \pm میانگین طول کل
ماده	۱۲	۴/۱۳ \pm ۰/۶۵	۱۰۰/۵۷ \pm ۵/۶۳
نر	۱۱	۳/۱۲ \pm ۱/۱۴	۹۴ \pm ۸/۵۶

جدول ۲. دید لاپروسکوپی و مورفولوژی گنادی در تاس ماهیان سیبری

جنسیت	مورفولوژی گناد	مرحله تکاملی	رنگ
ماده	گناد روبان مانند (سطح صاف تا زبر) و با چربی صورتی تا نارنجی پوشیده شده	۱ و ۲	نیمه شفاف
	تخمدان صورتی با لاملای تخمدانی و تاخوردگی‌های مانند مغز	۲	صورتی تا سفید
	تخمدان با تخمک‌های سفید تا زرد روشن و چربی متوسط تا گسترده	۳	سفید تا زرد
	تخمدان با تخمک‌های زرد و چربی کم تا متوسط	۳ و ۴	زرد تا خاکستری
	تخمدان بزرگ با تخمک‌های خاکستری و چربی بسیار کم	۴	خاکستری تیره
نر	تخمک‌های خاکستری یا سیاه بزرگ و زیاد و بدون چربی	۵ و ۶	سیاه
	بیضه روبان مانند سفید و پوشیده شده با چربی زرد تا نارنجی	۱ و ۲	زرد تا نارنجی
	بیضه توبولار سفید با رگ‌های خونی و چربی کم تا متوسط	۳	سفید
	بیضه با لوب‌های کوچک و سفید و چربی کم تا متوسط و رنگ درخشان	۳ و ۴	سفید
	بیضه‌های سفید متوسط تا بزرگ	۴ و ۵	سفید



شکل ۱. تصاویر به دست آمده از اندسکوپیی تخمدان و بیضه تاس ماهی سیبری: الف، ب و ج: تخمک‌ها در مرحله پیش زرده‌سازی (به ترتیب در مراحل ۲، ۳ و ۴ تکاملی). د: تخمک‌ها در مرحله زرده‌سازی (مرحله ۴ تکاملی). بیضه: و: مرحله ۲ تکاملی (اوایل اسپرم‌زایی)، ی: مرحله ۴ تکاملی (مرحله اسپرم‌زایی). خط نشان برابر با ۱ میلی‌متر.



شکل ۲. بافت‌شناسی تخمدان و بیضه تاس ماهی سیبری با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین. الف: ماده. مرحله پیش زرده‌سازی. ب: ماده. مرحله زرده‌سازی. ج: نر. اوایل مرحله اسپرم‌زایی. د: نر. مرحله تکامل اسپرم.

جدول ۳. توصیف خصوصیات فیزیکی مراحل تکاملی گناد در تاس ماهی سبیری

مرحله تکاملی	ماده	نر
۱	اووگونیا کم در منفذ گنادی	لوبول‌ها با اسپرماتوگونویای اولیه کم
۲	اووگونیا بیشتر و بزرگتر	اسپرماتوگونویای غالب با اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدهای پراکنده
۳	رسوب زرده	رخداد اسپرم‌زایی با اسپرماتوگونویا و اسپرماتوسیت غالب
۴	تخمک‌های پر از زرده و بزرگ با هسته در مرکز	اسپرماتیدها و اسپرماتوزوا غالب و اسپرماتوگونویا کم
۵	هسته در قطب حیوانی با میکروپیل‌ها در غشای تخمک	اسپرماتوزوا غالب
۶	فولیکول‌های بزرگ خالی، برخی با رنگدانه‌های سیاه	اسپرماتوزوا ریخته نشده و اسپرماتوگونویا

بحث

طبق نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، اندسکوپیی ابزار مناسب برای تعیین جنسیت و وضعیت تکامل گنادی تاس‌ماهی سبیری بوده و نتایج بافت‌شناسی مؤید آن می‌باشد. از ۲۳ ماهی آزمایش شده، جنسیت همه آنها به درستی (با دقت ۱۰۰٪) تشخیص داده شد که با نتایج مطالعات قبلی که ۹۸٪ بوده مشابه می‌باشد (Hurvitz et al., 2005). همچنین در این پژوهش مراحل مختلفی از گنادهای نر و ماده وجود دارد که به شرایط اقلیمی، وضعیت پرورش و تغذیه بستگی دارد. کارآمدی این دستگاه در تعیین جنسیت تاس‌ماهیان مشابه پژوهش‌های دیگر (Wildhaber et al., 2005; Falahatkar et al., 2011) و همچنین در سایر گونه‌های ماهیان (Ortenburger et al., 1996) بوده است.

روش‌های متعددی برای تعیین جنسیت و مرحله تکامل گنادی در تاس‌ماهیان به کار برده شده است که از آن جمله می‌توان به اولتراسوند (Colombo et al., 2007; Wildhaber et al., 2007)، اندسکوپیی (Wildhaber et al., 2007; Divers et al., 2009; Matsche et al., 2011)، هورمون‌های استروئیدی خون (Feist et al., 2004; Craig et al., 2009)، شکل ساختاری منفذ ادراری تناسلی و باله‌های شکمی در برخی تاس‌ماهیان (Vecsei et al., 2003; Chebanov and Galich, 2013) و بافت‌شناسی (Webb et al., 2002; Barannikova et al., 2004) اشاره نمود. از جمله فواید اندسکوپیی می‌توان به حداقل خطر ممکن این روش، امکان به کارگیری این دستگاه در شرایط میدانی، مدت کوتاه آزمایش، سهولت در جداکردن ماهیان قادر به تخم‌ریزی از ماهیان نرسیده در طول فصل، کاربرد راحت آن (Chebanov and Galich, 2013) و مشاهده مستقیم رنگ، اندازه و پراکنش تخمک و بیضه (Hurvitz et al., 2007) اشاره نمود. باید به این نکته توجه داشت که این روش دارای نقایصی نیز می‌باشد. مهمترین آنها این است که تعیین جنسیت نیازمند ارزیابی ظاهر بافت ژرمینال بوده و بنابراین اغلب تمایز گنادهای نر از گنادهای ماده در اوایل مراحل تکاملی غیرممکن است. تشخیص دقیق قابلیت تخم‌ریزی و وضعیت رسیدگی تخمک‌ها با استفاده از اندسکوپیی تنها در ماده‌های رسیده، مفید و سودمند می‌باشد (Chebanov and Galich, 2013). بنابر نتایج تحقیقات دیگر، اندسکوپیی روشی بسیار کارآمد ولی پرخطر نسبت به اولتراسوند گزارش شده است (Wildhaber et al., 2005). از دلایل کارایی کمتر اولتراسوند می‌توان به نیازمندی به مهارت بالا در تحلیل تصاویر اشاره نمود و همچنین هرچه ماهی جوان‌تر باشد صحت و درستی آن نیز کاهش می‌یابد (Hurvitz et al., 2007). هرچه گنادها وارد مراحل بالاتر می‌شوند، شناسایی از طریق اندسکوپیی آسان‌تر بوده و میزان صحت و دقت در تعیین جنسیت افزایش می‌یابد و به دلیل اینکه گنادها حجم بالایی داشته، زمان کمتری برای آزمایش صرف می‌گردد و همچنین رنگ و اندازه تخمک شاخصی در تعیین مرحله تولیدمثلی می‌باشد که این مشابه نتایج به دست آمده در این پژوهش بوده است (Falahatkar et al., 2011).

در مرحله تکاملی ۱-۲، گناد تاس‌ماهیان به صورت بافت یکنواخت صورتی و نارنجی رنگ می‌باشد. در مراحل بعدی، تخمک‌های صورتی، نارنجی و تیره و همچنین تخمک‌های موجود در مراحل اولیه رشد به خوبی قابل تشخیص هستند. واژه «تخمک سفید» به دومین مرحله تکاملی به دلیل رنگ مشخص این تخمک‌ها از طریق اندسکوپ اطلاق می‌گردد (شکل ۱ الف). از نظر بافت‌شناسی، این تخمک‌ها در اوایل مرحله زرده‌سازی قرار دارند و با مرحله ۵ بیان شده برای ماهی بستر (Amiri et al., 1996)، مرحله ۳ تکاملی در تاس‌ماهی سفید (Linares-Casenave et al., 2003)، مرحله ۳ در کالوگا و تاس‌ماهی ژاپنی (Omoto et al., 2004) مشابه بود. واژه «تخمک زرد» به مرحله زرده‌سازی میانی گفته می‌شود (شکل ۱ ج). «تخمک خاکستری» مطابق با اواخر مرحله زرده‌سازی می‌باشد (شکل ۱ د). «تخمک‌های سیاه» در مرحله مهاجرت هسته

دارای حداقل قطر ۲/۸ میلی‌متر هستند که در این اندازه برای فعالیت‌های تولید خویار و تولیدمثل تاس‌ماهیان به کار می‌روند. در تاس‌ماهی سفید پرورشی تکامل‌گنادی غیرهمزمان در میان ماده‌ها با دوره‌های رشد ویتلوژنی در محدوده‌ای از ۱۶ یا ۱۸ ماه تا ۳ یا ۴ سال دیده می‌شود (Doroshov *et al.*, 1997).

بر اساس نتایج Divers و همکاران، مراحل تکاملی بیضه به صورت مراحل ۱، ۲ و ۵ و مراحل تکاملی تخمدان به صورت ۲، ۳ و ۴ شناسایی گردید. در این مطالعه علت عدم شناسایی برخی از مراحل تکاملی گنادها به فصل نمونه‌برداری نسبت داده شده بود (Divers *et al.*, 2009). تعیین مرحله ۱ با دستگاه اندسکوپي به دلیل آنکه گنادهای تاس‌ماهیان غیر رسیده عمدتاً از چربی تشکیل شده است، موفقیت کمتری داشته است. زمانیکه گناد تاس‌ماهیان وارد مراحل بعدی می‌گردد، مقدار نسبی چربی کاهش یافته و تعیین بافت گنادی آسان‌تر می‌گردد. میزان موفقیت تعیین جنسیت در تاس‌ماهی آتلانتیک و پوزه کوتاه تا ۱۰۰٪ و در تاس‌ماهی پاروینی رسیده بیش از ۹۰٪ بود (Wildhaber *et al.*, 2005). به طور کلی، گنادهای تاس‌ماهی از بافت تخمدانی و چربی تشکیل شده و اندازه آن در طی تکامل اولیه افزایش می‌یابد. زمانیکه گامت‌زایی توسعه می‌یابد، بافت بیضه یا تخمدان معمولاً از نظر اندازه افزایش یافته در حالیکه بافت چربی کاهش می‌یابد. بیضه نرم بوده و در طول تکامل لوبول‌ها شکل می‌گیرند؛ در حالیکه تخمدان دارای لاملار اولیه بوده و زمانیکه تعداد و اندازه تخمک افزایش می‌یابد آنها از دست می‌روند (Colombo *et al.*, 2007; Wildhaber *et al.*, 2007). رنگ تخمک در طول تکامل از شفاف به سفید (پیش زرده‌سازی)، زرد (زرده‌سازی اولیه)، خاکستری و سیاه (اواخر زرده‌سازی) تغییر می‌یابد، زیرا در تخمک‌ها ملانین تجمع می‌یابد. در گونه‌های مختلف تاس‌ماهیان، مقدار نسبی چربی گنادی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی گنادها متغیر می‌باشد. به منظور مشاهده اندام‌های داخلی با دستگاه اندسکوپي، ایجاد شکاف مخرجی بسیار رایج شده است (Matsche *et al.*, 2011). به علاوه اندسکوپي می‌تواند برای اهدافی به غیر از مشاهده اندام‌های جنسی مفید باشد. سایر اندام‌ها از جمله طحال، کبد و مجرای روده نیز از طریق اندسکوپي قابل مشاهده می‌باشند (Swenson *et al.*, 2007). در نتیجه، پژوهش حاضر نشان می‌دهد اندسکوپي روشی مناسب و کارآمد در تعیین جنسیت و مراحل تکامل گنادی تاس‌ماهیان نر و ماده می‌باشد. این روش حداقل آسیب و استرس را به ماهی وارد نموده که می‌تواند در تولید خویار و پرورش تجاری تاس‌ماهی سبیری در ایران کمک شایانی نماید.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از ریاست محترم کارگاه بازسازی ذخایر ماهیان خویاری شهید بهشتی، جناب آقای مهندس عباسعلی‌زاده که امکانات انجام این تحقیق را در اختیار ما قرار دادند و همچنین از کارکنان این مرکز به ویژه آقای مهندس حصیرباف که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند صمیمانه تشکر می‌نماییم.

منابع

نجفی پور مقدم، ا.، فلاحتکار، ب.، کلباسی، م. ۱۳۹۰. اثر لیستین جیره بر شاخص‌های رشد و ویژگی‌های خونی بچه تاس‌ماهی سبیری *Acipenser baerii* Brandt 1869. مجله علمی شیلات ایران. سال بیستم، شماره ۳، صفحات ۱۵۴-۱۴۳.

هدایتی، ع. ا.، یآوری، و.، بهمنی، م.، علیزاده، م.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع. ۱۳۸۶. مطالعه سالانه روند تکامل غدد جنسی فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال یازدهم، شماره ۴۲ (ب)، صفحات ۶۴۹-۶۴۱.

- 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. *Journal of Fish Biology*. 48(6): 1164-1178.
- Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K., Kieffer, J.D. 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*. 66(1): 208-221.
- Barannikova, I.A., Bayunova, L.V., Semenkov, T.B. 2004. Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-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.

- Chebanov, M.S., Galich, E.V. 2013. Sturgeon Hatchery Manual. Rome, Italy, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Colombo, R., Garvey, J., Wills, P. 2007. Gonadal development and sex-specific demographics of the shovelnose sturgeon in the Middle Mississippi River. *Journal of Applied Ichthyology*. 23(4): 420-427.
- Craig, J., Papoulias, D., Thomas, M., Annis, M., Boase, J. 2009. Sex assignment of lake sturgeon (*Acipenser fluvescens*) based on plasma sex hormone and vitellogenin levels. *Journal of Applied Ichthyology*. 25(s2): 60-67.
- Divers, S., Boone, S., Hoover, J., Boysen, K., Killgore, K., Murphy, C., George, S., Camus, A. 2009. Field endoscopy for identifying gender, reproductive stage and gonadal anomalies in free-ranging sturgeon (*Scaphirhynchus*) from the lower Mississippi River. *Journal of Applied Ichthyology*. 25(s2): 68-74.
- Doroshov, S.I., Moberg, G.P., Van Eenennaam, J.P. 1997. Observations on the reproductive cycle of cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Environmental Biology of Fishes*. 48(1-4): 265-278.
- Falahatkar, B., Tolouei Gilani, M.H., Falahatkar, S., Abbasalizadeh, A. 2011. Laparoscopy, a minimally-invasive technique for sex identification in cultured great sturgeon *Huso huso*. *Aquaculture*. 321(3): 273-279.
- Feist, G., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, 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(1-4): 581-590.
- Hassanzadeh Saber, M., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M., Yarmohammadi, M. 2008. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) and its verification using microsatellite markers. *Aquaculture Research*. 39(14): 1483-1487.
- Hurvitz, A., Degani, G., Goldberg, D., Din, S.Y., Jackson, K., Levavi-Sivan, B. 2005. Cloning of FSH β , LH β , and glycoprotein α subunits from the Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*), β -subunit mRNA expression, gonad development, and steroid levels in immature fish. *General and Comparative Endocrinology*. 140(1): 61-73.
- 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(1-4): 158-166.
- Keyvanshokoo, S., Gharaei, A. 2010. A review of sex determination and searches for sex-specific markers in sturgeon. *Aquaculture Research*. 41(9): e1-e7.
- Linares-Casenave, J., Kroll, K.J., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I. 2003. Effect of ovarian stage on plasma vitellogenin and calcium in cultured white sturgeon. *Aquaculture*. 221(1-4): 645-656.
- Matsche, M., Bakal, R., Rosemary, K. 2011. Use of laparoscopy to determine sex and reproductive status of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) and Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). *Journal of Applied Ichthyology*. 27(2): 627-636.
- Omoto, N., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S., Yamauchi, K. 2004. Gonadal maturity in wild sturgeons, *Huso dauricus*, *Acipenser mikadoi* and *A. schrenckii* caught near Hokkaido, Japan. *Environmental Biology of Fishes*. 70(4): 381-391.
- Ortenburger, A.I., Jansen, M.E., Whyte, S.K. 1996. Nonsurgical videolaparoscopy for determination of reproductive status of the Arctic charr. *The Canadian Veterinary Journal*. 37(2): 96-100.
- Petochi, B.T., Di Marco, P., Donadelli, V., Longobardi, A., Corsalini, I., Bertotto, D., Finoia, M., Marino, G. 2011. Sex and reproductive stage identification of sturgeon hybrids (*Acipenser naccarii* \times *Acipenser baerii*) using different tools: ultrasounds, histology and sex steroids. *Journal of Applied Ichthyology*. 27(2): 637-642.
- Swenson, E.A., Rosenberger, A.E., Howell, P.J. 2007. Validation of Endoscopy for Determination of Maturity in Small Salmonids and Sex of Mature Individuals. *Transactions of the American Fisheries Society*. 136(4): 994-998.
- Vecsei, P., Litvak, M.K., Noakes, D.L., Rien, T., Hochleithner, M. 2003. A noninvasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons. *Environmental Biology of Fishes*. 68(4): 333-338.
- Webb, M.A., 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. *Transactions of the American Fisheries Society*. 131(1): 132-142.

- Wildhaber, M.L., Papoulias, D.M., DeLonay, A.J., Tillitt, D.E., Bryan, J.L., Annis, M.L., Allert, J.A. 2005. Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic and endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. *Journal of Fish Biology*. 67(1): 114-132.
- Wildhaber, M.L., Papoulias, D.M., DeLonay, A.J., Tillitt, D.E., Bryan, J.L., Annis, M.L. 2007. Physical and hormonal examination of Missouri River shovelnose sturgeon reproductive stage: a reference guide. *Journal of Applied Ichthyology*. 23(4): 382-401.