

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

عنوان:

امکان تکثیر مصنوعی فیله‌های از
طریق هورمون GnRH
سنتتیک به منظور تولید بچه فیله‌های

مجری:

رضوان اله کاظمی

شماره ثبت

۴۱۵۹۱

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

عنوان پروژه: امکان تکثیر مصنوعی فیلماهی از طریق هورمون GnRH سنتتیک بمنظور تولید بچه فیلماهی

شماره مصوب: ۸۶۰۵۸-۱۲-۸۶-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان: رضوان اله کاظمی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد):

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان: رضوان اله کاظمی

نام و نام خانوادگی همکاران: محمد پور دهقانی، سهراب دژندیان، علی حلاجیان، ایوب یوسفی جوردهی، مهتاب

یارمحمدی، محمد علی یزدانی، محمود محسنی، حسین محمدی پرشکوه، هوشنگ یگانه راسته، محمود بهمنی

نام و نام خانوادگی مشاوران: -

نام و نام خانوادگی ناظر: -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۸۶/۱۰/۱

مدت اجرا: ۳ سال و ۹ ماه

ناشر: مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

شمارگان (تیراژ): ۲۰ نسخه

تاریخ انتشار: سال ۱۳۹۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری»

پروژه : امکان تکثیر مصنوعی فیلمهای از طریق هورمون GnRH سنتتیک بمنظور تولید

بچه فیلمهای

کد مصوب : ۸۶۰۵۸-۱۲-۸۶-۲

تاریخ : ۹۱/۷/۱۷

شماره ثبت (فروست) : ۴۱۵۹۱

با مسئولیت اجرایی جناب آقای رضوان اله کاظمی دارای مدرک تحصیلی کارشناسی

ارشد در رشته شیلات می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش در تاریخ

۹۰/۱۱/۱۹ مورد ارزیابی و با نمره ۱۸ و رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت مدیر بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

دکتر دادمان مشغول بوده است.

به نام خدا

صفحه	عنوان	«فهرست مندرجات»
۱	چکیده
۴	۱- مقدمه
۷	۲- مواد و روشها
۲۵	۳- نتایج
۷۷	۴- بحث و نتیجه گیری
۷۷	۵- نتیجه گیری
۹۱	پیشنهادها
۹۴	منابع
۱۰۳	چکیده انگلیسی

چکیده

مراحل اجرایی این پژوهش از دی ماه ۱۳۸۶ در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان آغاز و تا پایان اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ ادامه یافت. پس از بررسی ظاهری، بیوپسی و تعیین جنسیت بر اساس روش های مرسوم بافت شناسی، از بین ۱۰۰ قطعه فیل ماهی پرورشی تولید سال ۱۳۸۱-۱۳۸۰، تعداد ۲۴ قطعه (۸ نر و ۱۶ ماده) گزینش و پلاک گذاری شدند. سپس ماهیان نر و ماده بطور جداگانه در ۳ حوضچه بتنی گرد به قطر ۴ متر و عمق ۱/۵ متر (در هر حوضچه ۸ قطعه) نگهداری شده، با استفاده از جیره غذایی ساخت انستیتو با ترکیب ۴۰-۳۸ درصد پروتئین، ۱۵-۱۳ درصد چربی، ۲۰-۱۹/۵ مگاژول بر کیلوگرم انرژی و انواع ترکیبات ویتامینه و معدنی به میزان ۲ تا ۳ درصد وزن بدن با توجه به درجه دمای آب مورد تغذیه قرار گرفتند. همزمان با بیوپسی و لاپاراسکوپي از ماهیان گزینش شده زیست سنجی نیز به عمل آمد. برای مطالعه فاکتورهای بیوشیمیایی و هورمونی از ماهیان مورد نظر خونگیری و پس از جداسازی سرم خون، شاخص های هورمونی و بیوشیمیایی مورد مطالعه قرار گرفتند.

پس از تعیین موقعیت هسته زایشی و بررسی سطوح هورمون های جنسی و دمای آب، نسبت به تزریق هورمون اقدام گردید. هورمون تراپی بوسیله GnRH طی دو مرحله و به فاصله ۱۲ ساعت از یکدیگر صورت گرفت. همه مولدین ماده در دو مرحله با فاصله ۶ ساعت و به نسبت ۲۰٪ به ۸۰٪ و دوز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن ماهی مورد تزریق هورمون GnRH قرار گرفتند. مولدین نر نیز در یک مرحله و همزمان با تزریق مرحله دوم هورمون تراپی بوسیله هورمون مولدین ماده با دوز ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی مورد تزریق هورمون GnRH قرار گرفتند.

همچنین از هورمون LHRHA2 جهت هورمون تراپی فیل ماهیان مولد پرورشی استفاده شد. هورمون تراپی بوسیله این هورمون نیز طی دو مرحله و به فاصله ۱۲ ساعت از یکدیگر صورت گرفت. غلظت هورمون تزریقی به میزان ۴ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی ماده بود. نسبت تزریق اول هورمون به ماهی ماده ۱۰٪ و نسبت تزریق دوم ۹۰٪ بود. ماهی نر در یک مرحله و همزمان با مرحله دوم تزریق هورمون به ماهی ماده با غلظت ۲/۵

میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن، هورمون تراپی شد. عملیات تکثیر از طریق ریز برش مجرای تخم بر و بدون کشتن ماهی صورت گرفت.

میانگین غلظت گلوکز در سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنی دار، اما در مرحله چهارم رسیدگی جنسی در سطح ۹۵ درصد اعتماد دارای اختلاف معنی دار بودند. غلظت کلسترول، تری گلیسرید و چربی کل سرم خون در هر دو جنس نر و ماده از مرحله دوم بسمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی افزایش یافت و در سطح ۹۵ درصد بین دو جنس نر و ماده اختلاف بین غلظت آنها (بجز کلسترول در مرحله سوم رسیدگی جنسی) معنی دار بود. همچنین پارامترهای فوق در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در فصول مختلف از غلظت های متفاوتی برخوردار بودند.

غلظت کلسیم سرم خون در هر دو جنس فیل ماهیان پرورشی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی متفاوت بوده، در یک مرحله مشخص جنسی، مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان پرورشی ماده همواره بالاتر از نر بود. ضمناً در مرحله سوم این اختلاف بین دو جنس معنادار بود. مقدار یون سدیم فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در هیچ شرایطی دارای اختلاف معنی دار نبود.

میانگین غلظت هورمون جنسی تستوسترون سرم خون فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی بترتیب $10/86 \pm 1/63$ و $0/84 \pm 0/12$ ، $54/14 \pm 3/10$ و $15/66 \pm 2/18$ و $112/41 \pm 7/40$ و $50/75 \pm 3/63$ نانوگرم در میلی لیتر بود که با یکدیگر و نیز در درون خود در مراحل مختلف رسیدگی جنسی دارای اختلاف معنی دار بودند. غلظت تستوسترون سرم خون ماهیان نر در مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی و در فصل پاییز بیش از سایر فصول بود. اما در سرم خون فیل ماهیان ماده در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی فصول زمستان دارای بیشترین غلظت تستوسترون بود، ولی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی همگام با ماهیان نر، غلظت این هورمون جنسی در فصل پاییز بیش از سایر فصول بود. همچنین در هر مرحله از رسیدگی جنسی غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر به مراتب بیشتر از فیل ماهیان ماده بود.

میانگین غلظت هورمون پروژسترون فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی بترتیب $0/50 \pm 0/01$ و $0/50 \pm 0/08$ و $0/50 \pm 0/08$ و $0/11 \pm 0/02$ و $0/36 \pm 0/04$ و $0/19 \pm 0/03$ نانوگرم در میلی لیتر بود که فقط در مرحله سوم رسیدگی جنسی با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند. همچنین غلظت این هورمون در

مراحل مختلف رسیدگی جنسی در ارتباط با فصول مختلف سال، در جنس های نر و ماده دارای نوسان ولی همسو با یکدیگر بودند.

غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی بترتیب $9 \pm 1/39$ و $5/45 \pm 0/29$ ، $6/51 \pm 0/64$ و $9/47 \pm 0/97$ و $2/95 \pm 2/29$ و $4/15 \pm 0/70$ نانوگرم در میلی لیتر بود که در هر دو جنس در فصول و در مراحل مختلف جنسی با یکدیگر اختلاف داشتند.

نتایج نشان داد که با مدیریت مناسب و از طریق دانش اندوکرینولوژی (برخی پروفیل های بیوشیمیایی و هورمونی) می توان ضمن ایجاد گله های مولد نسبت به جداسازی و تعیین مراحل رسیدگی ماهیان نر از ماده، استحصال تخمک و اسپرم زایا، تکثیر مصنوعی با روش نوین ریزبرش مجرای تخم بر بمنظور زنده نگهداشتن مولدین (جهت تخمک گیری و اسپرم گیری چند باره) و نیز تولید بچه فیل ماهیان پرورشی از مولدین پرورشی با سن بسیار پایین تر از شرایط طبیعی و نیز استحصال خاویار اقدام نمود. همچنین نتایج حاصل از این پروژه نشان داد که هورمون های جنسی تستوسترون و استرادیول و یون کلسیم از مهمترین فاکتورهای تعیین کننده زمان رسیدگی جنسی و زمان دقیق تزریق هورمون های سنتتیک جنسی بمنظور تکثیر مصنوعی می باشند. نتایج چهار ساله یا ۱۲ فصل ما نشان داد که فیل ماهی پرورشی نر و ماده زمانی می توانند به تکثیر مصنوعی پاسخ مثبت بدهند که غلظت تستوسترون سرم خون آنها بترتیب در محدوده ۹۰-۱۲۰ نانوگرم در میلی لیتر و در محدوده ۴۰-۶۰ نانوگرم در میلی لیتر باشد.

با اجرایی نمودن دستاوردهای پروژه حاضر می توان ضمن کاهش هزینه های پرورش به دلیل کاهش زمان بلوغ، افزایش راندمان تکثیر و کاهش تهاجم به منابع طبیعی و بازسازی ذخایر این گونه و تجاری سازی آن را در راستای توسعه صنعت تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری بمنظور تولید خاویار و بچه ماهی خاویاری در کشور امکان پذیر نمود.

واژه های کلیدی: مولدسازی، فیل ماهی پرورشی *Huso huso*، تکثیر مصنوعی، فاکتورهای بیوشیمیایی، هورمون های استروئیدی جنسی، تولید بچه فیل ماهی

۱- مقدمه

افزایش فزاینده جمعیت انسانی کره زمین از یک سو سبب برداشت بیش از حد، تخریب و تصرف زیستگاه های طبیعی بویژه مکان های زادآوری جوامع گیاهی و جانوری و در نتیجه کاهش شدید تولید طبیعی و از سوی دیگر سبب افزایش

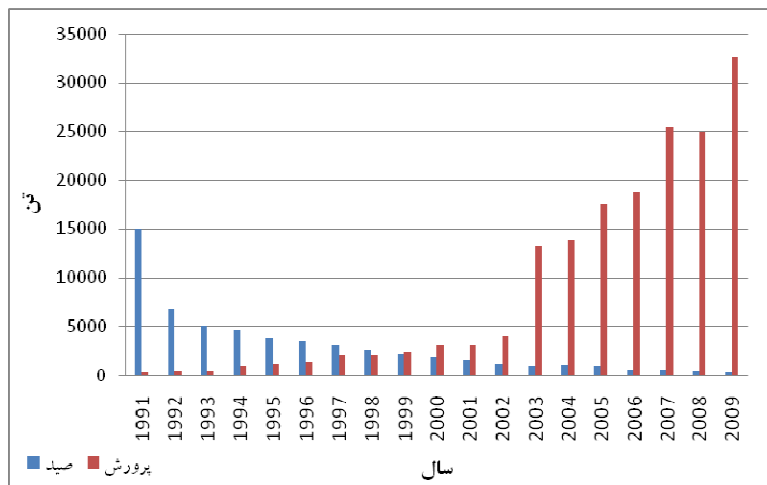
تقاضا بویژه پروتئین و بطور خاص پروتئین سفید شده است. جمعیت های طبیعی تاسماهیان که از کهن ترین و مهمترین ماهیان تجاری و بوم شناختی جهان محسوب می شوند، نیز از این قاعده مستثنا نبوده، شدت در معرض نابودی و انقراض قرار دارند. بر اساس آمارهای جهانی در حالی که در سال های پایانی دهه ۱۹۷۰ میلادی، برداشت یا صید تاسماهیان از محیط های طبیعی بیش از ۳۳۰۰۰ تن و در سال ۱۹۹۱ میلادی حدود ۱۵۰۰۰ تن در سال بود، به کمتر از ۵۰۰ تن (نمودار ۱-۱) در سال ۲۰۰۶ و ۳۸۵ تن در سال ۲۰۰۹ میلادی رسید (FAO, 2010). کاهش شدید جمعیت های طبیعی تاسماهیان شوک بزرگی را بر جوامع علمی بویژه دانشمندان شیلاتی و نیز مقامات اجرایی کشورهای تولید کننده ماهیان خاویاری وارد نمود. کاهش شدید صید ماهیان خاویاری با ارزش اقتصادی بالا که از اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی هم زمان با فروپاشی شوروی سابق آغاز شد، دانشمندان را بر آن داشت که با شتاب بیشتری به آبروی پروری تاسماهیان بپردازند. زیرا کاهش جمعیت ماهیان خاویاری در زیستگاه های طبیعی که به دلایل صید بی رویه برای استحصال گوشت و خاویار، صید غیر قانونی، ویژگی های زیستی (زادآوری کند و سن بلوغ دیر هنگام) تخریب مکان های تخم ریزی، آلودگی آب و عدم مدیریت علمی موثر صیادی رخ داده است، زمینه آبروی پروری آنها را در مناطقی که شرایط پرورش مناسب باشد، آماده نمود. بر اساس گزارش سازمان بین المللی خوار و بار جهانی یا فائو (۲۰۰۹) تولید گوشت تاسماهیان پرورشی که در اواسط دهه ۱۹۸۰ کمتر از ۴۰۰ تن در سال بود به حدود ۲۵۰۰۰ تن در سال ۲۰۰۶ و ۳۲۵۷۶ تن در سال ۲۰۰۹ میلادی رسید.

پس از تحقیقات کاربردی اولیه در خصوص تکثیر و پرورش مصنوعی ماهیان خاویاری در چهار دهه (اواخر دهه ۱۸۶۰ تا اوایل ۱۹۰۰ میلادی) (Milshtein, 1969; Borodin, 1898; Conte et al., 1988) توسط دانشمندان روسی و آمریکایی، تا اواخر دهه ۱۹۶۰ تحقیقات پراکنده جهت دستیابی به بیوتکنیک تکثیر مصنوعی این گروه از ماهیان ادامه داشت. اما از آغاز دهه ۱۹۷۰، پژوهش های کاربردی و پیشرفته پرورش تاسماهیان آغاز گردید Chebanov

(and Billard, 2001). پس از فروپاشی اتحاد جماهیر شوروی، پژوهش‌های گسترده‌ای در این زمینه توسط دانشمندان مختلف به انجام رسید که منجر به ارائه الگوهای اجرایی تکثیر و پرورش تاسماهیان در شرایط پرورشی شد.

در ایران نیز از سال ۱۳۴۴ خورشیدی تکثیر مصنوعی تاسماهیان بر اساس روش‌های ارائه شده توسط روس‌ها به انجام رسید (آذری تاکامی، ۱۳۴۴). از سال ۱۳۷۴ خورشیدی پس از تأسیس انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و ایجاد بخش تخصصی فیزیولوژی و بیوشیمی و نیز همکاری دو جانبه کارشناسان خاویاری ایران و روسیه در سال‌های ۱۳۷۶ و ۱۳۷۷ و با سایر کشورها در سال‌های بعد و گسترش دانشکده‌ها و گروه‌های تخصصی شیلات و تحصیلات تکمیلی در دانشگاه‌های مختلف ایران، انقلاب نوین و بزرگی در تحقیقات علوم مختلف تاسماهیان بویژه تولید مثل و پرورش (تکثیر مصنوعی و طبیعی، پرورش در مراحل اولیه و تاسماهی پروری بمنظور تولید گوشت و خاویار و نیز مولد سازی تاسماهیان و مباحث مربوط به آن چون اندوکرینولوژی، بیوتکنیک تولید مثل و پرورش و ...) بوجود آمد بطوری که اکنون در ایران علاوه بر حل بسیاری از مشکلات تکثیر و پرورش مصنوعی گونه‌های مختلف، ده‌ها مزرعه پرورش ماهیان خاویاری نیز احداث شد که در حال پرورش گوشت و تولید خاویار از تاسماهیان می‌باشند. افزایش راندمان و حل مشکل تکثیر مصنوعی تاسماهیان در ایران با جایگزینی هورمون سنتتیک GnRH با هورمون‌های هیپوفیز و دیگر هورمون‌های مشابه با تحقیقات کاربردی بهمنی و همکاران (۱۳۸۴a و ۱۳۸۴b) روی گونه‌های *Acipenser stellatus* در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت، آغاز و با کار روی گونه‌های شیپ (*Acipenser nudiventris*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ادامه یافت. پروژه "امکان تکثیر مصنوعی فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) با استفاده از هورمون سنتتیک GnRH بمنظور تولید بچه فیل ماهی" با هدف تکمیل مطالعات قبلی و دستیابی به بیوتکنیک تکثیر مصنوعی بر اساس سطوح غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی و هورمون‌های استروئیدی جنسی سرم خون و نیز بر اساس بندهای مختلف طرح جامع "مطالعات فیزیولوژی تولید مثل و تکثیر مصنوعی تاسماهیان" در برنامه ششم (ارتقای بهره‌وری و افزایش راندمان تولید بچه ماهیان خاویاری) طرح محوری دوم (حفظ و بازسازی ذخایر تاسماهیان) از برنامه راهبردی تحقیقات محصولی ماهیان

خاویاری (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۷) بمنظور گشایش گره تکثیر مصنوعی این گونه در سنین پایین تر از شرایط طبیعی به انجام رسید. زیرا اگرچه در دو سال اخیر (دو سال پس آغاز اجرایی پروژه حاضر)، این گونه در شرایط اسارت با موفقیت تکثیر شد، اما در سنین بسیار بالا و بالاتر از شرایط طبیعی (۲۰ سال) و با کمیت و کیفیت پایین، این مهم به وقوع پیوست. در حالی که یکی از بزرگترین دلایل اجرای این طرح، کاهش سن زادآوری و نیز تکثیر آن از طریق دستیابی به پروفیل های هورمونی و بیوشیمیایی بود. بر همین اساس و به دلیل بالا بردن ضریب اطمینان یافته ها، مدت اجرای پروژه ۴ سال و ماهیان مورد مطالعه از مرحله دوم جنسی در سنین مثبت ۶ سال انتخاب شدند. همچنین علل انتخاب این گونه همانطور که پیشتر ذکر شد علاوه بر تکمیل مطالعاتی بیوتکنیک گونه های ماهیان خاویاری دریای کاسپی، به خاطر عادت پذیری و رشد سریع و آسان، مقاومت در برابر عوامل نامساعد محیطی و کیفیت بسیار ممتاز خاویار که هنوز هم به عنوان مهمترین گونه تجاری مناسب برای آبی پروری در ایران مورد توجه می باشد، بود.



نمودار ۱-۱: مقایسه تولید و صید جهانی گوشت تاسماهیان (۱۹۹۱-۲۰۰۹) بر حسب تن (فانو ۲۰۱۰)

۲- مواد و روش کار

۲-۱- زمان اجرای پروژه

مراحل اجرایی این پروژه از دی ماه سال ۱۳۸۶ آغاز و تا پایان فروردین ماه ۱۳۹۰ بصورت فصلی ادامه یافت. آنالیز داده ها و یافته ها و نگارش نهایی پروژه از آغاز اردیبهشت تا پایان شهریور ماه ۱۳۹۰ انجام گرفت.

۲-۲- مکان اجرای پروژه

کلیه عملیات اجرایی پروژه در بخش های تکثیر و پرورش و فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان به انجام رسید. شایان ذکر است که دوره های انکوباسیون و جذب کیسه زرده و تغذیه فعال تا پایان آدابتاسیون غذایی لاروهای حاصل از تکثیر مصنوعی در بخش های تکثیر و نیروی مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری دکتر بهشتی سد سنگر (در مجاورت انستیتو) صورت پذیرفت.

۲-۳- فیل ماهیان مورد مطالعه و محل پرورش آنها

تعداد ۱۰۰ قطعه از فیل ماهیان پرورشی ماده و تکثیری سال ۸۱-۱۳۸۰ خورشیدی (6^+ ساله) پرورش یافته در استخرهای خاکی ۱۸۰۰ متر مربعی انستیتو (طول ۶۰ متر، عرض ۳۰ متر و ارتفاع آب ۲/۵ متر)، پس از بررسی ظاهری و تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی از طریق بیوپسی، تعداد ۲۴ قطعه از آنها که مناسب تر بودند، زیست سنجی، پلاک گذاری و به حوضچه های بتونی دوار سر پوشیده به قطر ۴ متر و ارتفاع ۱/۵ متر (شکل ۱-۲) بخش تکثیر و پرورش انستیتو که مجهز به سیستم هوادهی مستمر و برخوردار از آب رودخانه سفید رود و آب چاه بودند، انتقال یافتند. از ۲۴ قطعه فیل ماهی انتخاب شده، ۱۶ قطعه ماده (با میانگین وزن کل اولیه $16/42 \pm 7/2$ کیلوگرم، میانگین طول کل اولیه $149/78 \pm 8/7$ و میانگین طول چنگالی اولیه $134/35 \pm 8/2$ سانتی متر) و ۸ قطعه نر (با میانگین وزن کل اولیه $20/26 \pm 5/10$ کیلوگرم، میانگین طول کل اولیه $154/56 \pm 14/3$ و میانگین طول چنگالی اولیه $138/10 \pm 12/1$ سانتی متر) بودند. همه ماهیان نر و ماده در مرحله دوم رسیدگی

جنسی بودند. کلیه ماهیان در یک محدوده وزنی و طولی یکسان انتخاب شدند و کلیه شرایط زیستی در طول دوره مطالعه برای آنها برابر بود. به هر حوضچه گرد، ۸ قطعه فیل ماهی معرفی شد.

در اواسط سال دوم با توجه به رشد فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه، ماهیان ماده به یک حوضچه بیضی شکل (به قطر ۱۰×۱۶ متر، عمق ۲ متر و مساحت ۷۵ متر مربع) و ماهیان نر به یک حوضچه گرد (قطر ۶ متر، عمق ۲ متر و مساحت ۳۰ متر مربع) با وضعیت منبع آب و سیستم هوادهی مشابه حوضچه های گرد قبلی، انتقال یافتند (اشکال ۲-۲ و ۲-۳). همچنین از آبان ماه تا اسفند ماه ۱۳۸۹ با توجه به مرحله رسیدگی جنسی، ۳ قطعه از فیل ماهیان ماده (بمنظور برقراری شرایط مناسب جهت طی مراحل نهایی رسیدگی جنسی و کاهش استرس و استحصال تخمک) به یک حوضچه بیضی بزرگ منتقل شدند.

در فصول سرد سال، در هنگام کاهش دمای آب، به حوضچه های نگهداری ماهیان، آب چاه اضافه شد تا نوسانات دمایی آب به حداقل برسد (بجز سال ۱۳۸۹ بمنظور گذراندن دوره سرمایی جهت تکثیر). فاکتورهای اکسیژن محلول، pH و دمای آب بصورت دو بار در روز (۶ بامداد و ۱۵ عصر) با دستگاه دیجیتال و پرتابل (اکسی - پی اچ متر Oxi-pHmeter40i شرکت WTW ساخت کشور آلمان) اندازه گیری شد.

میزان غذا دهی در طول دوره آزمایش بین ۲ الی ۳ درصد زیتوده تر هر وان (با توجه به وضعیت دمایی آب) تعیین، محاسبه و در طی ۲۴ ساعت در دو نوبت (۶ بامداد و ۱۹ عصر) بصورت دستی به ماهیان داده شد. محاسبه زیتوده تر هر حوضچه بصورت فصلی و همزمان با انجام آزمون های زیستی و بیوشیمیایی انجام گردید. ۲۴ ساعت قبل و بعد از انجام آزمون های فصلی، غذادهی بطور کامل قطع شد. ضمناً در طول دوره آزمون، کلیه حوضچه های پرورش بطور کامل تمیز شدند.

۴-۲- جیره غذایی

ترکیب شیمیایی غذا شامل: ۴۰ - ۳۸ درصد پروتئین، ۱۵ - ۱۳ درصد چربی، ۲۰-۱۹/۵ مگاژول بر کیلوگرم انرژی بود.

۵-۲- زیست‌سنجی

ثبت شاخص‌های زیستی مولدین با استفاده از روش‌های معمول زیست‌سنجی و از طریق اندازه‌گیری طول کل و فورک، با استفاده از متر نواری با دقت ۱ cm و وزن بدن با استفاده از ترازوی دیجیتالی آویزی با دقت ۱۰۰ گرم و تعیین سن با استفاده از روش اولین شعاع سخت باله سینه‌ای به انجام رسید. زیست‌سنجی همزمان با عملیات خون‌گیری در هر فصل (در میانه ماه میانی هر فصل) و در ۱۲ فصل به انجام رسید.



شکل ۱-۲: مکان نگهداری فیل ماهیان پرورشی مورد آزمون



شکل ۲-۲: مکان نگهداری پیش مولدین فیل ماهی ماده پرورشی



شکل ۳-۲: مکان نگهداری پیش مولدین فیل ماهی نر پرورشی

۲-۶- روش های تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی

در آغاز مطالعه و در طی دوره آزمون هر شش ماه یکبار، مراحل رسیدگی جنسی فیل ماهیان پرورشی از طریق بیوپسی و یا لاپاراسکوپي مورد بررسی قرار گرفتند. در اولین و آخرین مرحله آزمون همه ماهیان به روش بیوپسی تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی شدند.

روش بیوپسی

برای تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی به روش بیوپسی، فیل ماهیان نخست با استفاده از پودر گل میخک با غلظت ۳۰۰ ppm و به مدت ۱۰-۷ دقیقه بیهوش گردیدند. پس از بیهوشی، ماهی به روی میز ویژه جراحی انتقال یافت. برای جلوگیری از حرکت و آسیب احتمالی در حین جراحی، ماهی با استفاده از تسمه های ویژه به میز بسته شد. سر ماهی جهت جلوگیری از خشک شدن برانشی و چشم بوسیله پارچه خیس پوشانده شد. سپس در ناحیه بین چهارمین و پنجمین صفحه استخوانی شکمی از سمت دم بطرف سر، شکافی بطول ۳ تا ۴ سانتی متر ایجاد و قطعه کوچکی از بافت گناد (به ضخامت چند میلی متر و به وسعت کمتر از یک سانتی متر) از حفره شکمی خارج شد. پس از تکه برداری از گناد، محل شکاف بخیه و با محلول بتادین و اسپری آنتی بیوتیک کلرامفنیکل ۵ درصد ضد عفونی گردید. برای جلوگیری از هر گونه عفونت داخلی ماهیان جراحی شده، ۳ سی سی از محلول تتراسایکلین ۵ درصد دامی در عضله پشتی تزریق شد.

۲-۷- روش لاپاراسکوپی

در این روش با استفاده از دستگاه لاپاراسکوپ کمپانی STEMA، DIGITAL VIDEO CAMERA مدل M-CAM1700 و تلسکوپ ۳۰ درجه، ۴ میلی متری، بطول ۱۷/۵ سانتی متر، منبع تولید نور سرد هالوژن 250 W و مانیاتور ۲۰ اینچ ساخت آلمان نسبت به تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی ماهیان مورد مطالعه اقدام گردید. در این روش نیز همانند روش بیوپسی، نخست ماهیان مورد بررسی در وان حاوی محلول ۳۰۰ ppm پودر گل میخک بیهوش و سپس از پهلو روی میز جراحی با تسمه های ویژه بسته شدند. پس از ضد عفونی ناحیه بین پلاک استخوانی دوم و سوم از طرف باله شکمی با محلول بتادین، بوسیله تیغ جراحی نوک تیز محل مورد نظر به اندازه حدود نیم سانتی متر سوراخ گردید. از طریق سوراخ ایجاد شده نوک تلسکوپ به سمت داخلی و کناری محوطه شکمی هدایت شد و همزمان تزریق سرم فیزیولوژی با سرنگ نیز جهت ایجاد میدان دید کافی، انجام گردید. با مشاهده مانیاتور و حرکت آرام نوک تلسکوپ به سمت کناری محوطه شکمی، گناد مشاهده گردید. بزرگ نمایی دستگاه روی مانیاتور ۲۰ اینچ، ۱۰۰ برابر بود. در ماهیانی که مرحله رسیدگی جنسی نامشخص بود، با استفاده از پنس ویژه، نسبت به برداشت قطعه کوچک از بافت گناد جهت مطالعات بافت شناسی اقدام شد. پس از بررسی، تلسکوپ از محوطه شکمی خارج و محل جراحی مجدداً با محلول بتادین ضد عفونی و تزریق محلول آنتی بیوتیک اکسی تتراسایکلین به کمک سرنگ در عضله پشتی انجام گردید.

۲-۸- مطالعات بافت شناسی

بمنظور تعیین دقیق جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی نمونه های گناد فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه از روش های مرسوم بافت شناسی استفاده گردید. پس از تثبیت نمونه ها در محلول بوئن (با نسبت یک سی سی اسیداستیک گلاسیال + ۱۵ سی سی محلول اسید پیکریک + ۵ سی سی فرمالین ۳۷ درصد تجاری)، مراحل آبیگری، شفاف سازی، پارافینه، قالب گیری، برش های سریالی و رنگ آمیزی بشرح ذیل انجام پذیرفت (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷).

۱- مرحله آبیگری (جایگزینی الکل بجای آب در بافت)

پس از شستشوی بافت تثبیت شده، نمونه بافت ها بترتیب و به شرح ذیل جهت آبیگری در دستگاه عمل آوری بافت آبیگری شدند. عبور نمونه بافت از الکل ۵۰ درجه به مدت نیم ساعت، عبور نمونه بافت از الکل ۷۰ درجه به مدت نیم ساعت، عبور نمونه بافت از الکل ۸۰ درجه به مدت نیم ساعت، عبور نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت نیم ساعت، عبور مجدد نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت نیم ساعت، عبور نمونه بافت از الکل ۱ - بوتانل به مدت یک ساعت و عبور مجدد نمونه بافت از الکل ۱ - بوتانل به مدت یک ساعت.

۲ - مرحله شفاف سازی

عبور نمونه بافت از دو مرحله کلروفرم بصورت جداگانه هر یک به مدت نیم ساعت.

۳ - مرحله پارافینه کردن بافت (جهت نرم شدن بافت)

عبور نمونه بافت ها از مخلوط کلروفرم و پارافین خالص نرم به نسبت یک به یک در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت و عبور نمونه بافت ها در پارافین خالص نرم و تمیز در انکوباتور ۵۶ درجه سانتی گراد در دو مرحله و هر مرحله به مدت یک ساعت.

۴ - مرحله قالب گیری

در این مرحله نمونه بافت ها در داخل قالب های ویژه قرار گرفتند و توسط پارافین مذاب پوشانده شدند.

۵ - مرحله تهیه برش

در این مرحله با استفاده از میکروتوم دوار (Leitz مدل ۱۵۱۲ ساخت آلمان) نمونه بافت ها به ضخامت ۵ میکرون برش یافتند. سریال های بافتی پس از رفع چین و چروک ایجاد شده با استفاده از آب گرم ۳۷ درجه سانتی گراد، روی لام های آزمایشگاهی قرار گرفتند. از هر نمونه بافت ۵ اسلاید بافتی تهیه گردید.

۶ - مرحله رنگ آمیزی (به روش هماتوکسیلین - ائوزین، H&E)

در این مرحله لام حاوی بافت بترتیب از مراحل و مواد زیر با زمان مشخص عبور کرد. عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیرلول در دو مرحله و هر مرحله به مدت ۳-۵ دقیقه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت ۳-۵ دقیقه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۸۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب جاری به مدت ۱-۲ دقیقه،

عبور لام حاوی نمونه بافت از رنگ هماتوکسیلین به مدت ۷-۵ دقیقه، شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب جاری به مدت ۲-۱ دقیقه، عبور لام حاوی نمونه بافت از اسید کلریدریک ۱٪ به مدت ۱ ثانیه، شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب جاری به مدت ۲-۱ دقیقه، عبور لام حاوی نمونه بافت از کربنات لیتیم به مدت ۴-۳ ثانیه، شستشوی لام حاوی نمونه بافت با آب جاری به مدت ۲-۱ دقیقه، عبور لام حاوی نمونه بافت از رنگ اتوزین به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۸۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۹۶ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از الکل ۱۰۰ درجه به مدت ۱۰ ثانیه، عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیرلول به مدت ۱ دقیقه و عبور لام حاوی نمونه بافت از گزیرلول به مدت ۵ دقیقه. پس از عبور لام حاوی نمونه بافت از مراحل فوق و خشک شدن در هوای آزاد، کاملاً تمیز و سپس با چسب کانادا بالزام، لامل روی لام چسبانده شد.

۷-عکس برداری

پس از رنگ آمیزی لام های حاوی نمونه بافت، اسلایدهای بافتی به کمک میکروسکوپ نوری نیکون مدل E600 مجهز به مانیتور و دوربین عکاسی- فیلم برداری مورد مطالعه قرار گرفت. از هر اسلاید ۱۰ میدان بافتی مطالعه شد و از یاخته های جنسی گناد در مراحل مختلف رسیدگی جنسی با بزرگنمایی های مختلف عکس برداری گردید.

۹-۲- مراحل مختلف رسیدگی جنسی

تخمندان مرحله II رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

تخمک ها بصورت چند وجهی مشاهده می شوند. بخش بزرگی از اووسیت را هسته سلول تشکیل داده، رشد پروتوپلاسمی و افزایش قطر تخمک به روشنی محسوس است. هستک ها کاملاً به غشاء هسته چسبیده، در مرکز هسته شبکه کروماتینی وجود دارد. تعداد هستک ها در مجاورت غشاء هسته افزایش یافته و ظهور واکوئل ها به دور هسته در سیتوپلاسم دیده می شود. وجود هسته زرده کروی شکل ابتدا در قسمت داخلی غشاء و سپس در

سیتوپلاسم از مشخصات نهایی این مرحله است. در این مرحله قطب حیوانی از قطب گیاهی متمایز نبوده، اندازه تخمک بین ۰/۵ تا ۱ میلی متر متغیر می باشد.

بیضه مرحله II رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

در این مرحله حفره غدد جنسی نر فاقد شیار بوده، حاوی سلول های اسپرماتوگونی غیرفعال می باشد و سلول های جنسی تنها بصورت اسپرماتوگونی به شکل تک ردیفی در دیواره کانال های غدد جنسی قرار می گیرند. همچنین در این مرحله کپسول ها سخت بوده و بوسیله بافت های پیوندی به یکدیگر اتصال دارند. قطر سلول های اسپرماتوگونی گونه های مختلف تاسماهیان در مرحله دوم رسیدگی جنسی متفاوت و بین ۱۰ تا ۱۷ میکرون در نوسان است. هسته و هستک ها به کمک ماده رنگی هماتوکسین بخوبی رنگ آمیزی می شوند اما سیتوپلاسم سلول های اسپرماتوگونی تقریباً رنگ نمی پذیرند. در این مرحله سلول های اسپرماتوگونی و آغاز روند مراحل اسپرم زایی در بخش مرکزی کانال های غدد جنسی قابل مشاهده است. در بعضی از این کانال ها نه تنها سلول های اسپرماتوگونی بلکه اسپرماتوسیت های اولیه را نیز می توان دید.

تخمدان مرحله III رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

تخمک ها دارای رنگدانه شده و به رنگ خاکستری در می آیند و لایه نازکی به نام فولیکول دور آنها را می پوشاند. فرآیند تولید واکوئل و زرده سازی اولیه و وجود واکوئل های بیشتر به دور هسته از مشخصات این مرحله است. واکوئل های کوچک دور هسته یکی شده و واکوئل های بزرگتری را ایجاد می کنند و واکوئل های کوچکتر نزدیک حاشیه غشاء سلولی قرار می گیرند. در این مرحله قطب های حیوانی و گیاهی تخمک ها هنوز غیرقابل تشخیص اند اما زرده های دانه ریز و مقدار کمی قطرات چربی قابل مشاهده می باشند، همچنین میکروپیل را می توان در تخمک دید. زرده تخمک در حال تشکیل شدن می باشد. هسته ها معمولاً در مرکز و بندرت در حاشیه تخمک ها قرار می گیرند و هسته ها از نظر شکل سلول شبیه تخمک یا نامنظم هستند در

حاشیه هسته، هستک های کوچک به فراوانی یافت می شوند و قسمت کوچکی از هستک ها در مرکز هسته پراکنده شده اند.

بیضه مرحله III رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

در این مرحله کانال های غدد جنسی از اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه انباشته می شوند، بطوریکه ممکن است تعداد اسپرماتوسیت ها بسیار زیاد باشد. از شاخص های ظاهری این مرحله می توان به تقسیم توده های اسپرماتوگونی، تشکیل اسپرماتوسیت های اولیه، ثانویه و تقسیمات آنها اشاره نمود. در سطح برش غدد جنسی نر و کانال های خروجی اسپرمی مشاهده نمی شود و غالباً روی سطح بریده شده قطرات خون ظاهر می گردد. در کانال های جنسی نر، سلول های اسپرماتوگونی فعال شده، سلول های بزرگ اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت ها را پدید می آورند. در این مرحله رشد حفره های غدد جنسی نرها تا تشکیل اسپرماتوزوئیدها ادامه می یابد و تمام مراحل چرخه اسپرم زایی قابل تشخیص است. چرخه اسپرم زایی شروع به فعالیت می کند که به دنبال خود اسپرماتوزوئیدها را تشکیل می دهند. در این مرحله خونریزی در تمام سطح غدد جنسی شدت می یابد. در انتهای حفره جنسی و در برخی از قسمت های دیگر نیز، مقداری ذخایر غذایی تجمع می یابد.

تخمدان مرحله IV رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

گرانول های زرده تخمک تقریباً تمام فضای خارج هسته را پر کرده و فقط مقدار کمی سیتوپلاسم در جوار غشاء هسته و دیواره تخمک پراکنده می باشد، بطوریکه زرده های دانه ریز و هسته در قطب حیوانی و زرده های دانه درشت به همراه قطرات چربی در قطب گیاهی متمرکز می شوند. هسته از مرکز سلول بسوی قطب حیوانی و به سمت میکروپیل تغییر وضعیت می دهد. هستک ها به تعداد کمتر در مناطق مختلف هسته مشاهده می شوند و بیشتر هستک ها به سمت مرکز هسته حرکت می نمایند.

در مرحله چهارم رسیدگی جنسی کامل، قطب های جانوری و گیاهی تخمک ها به راحتی و بوضوح قابل مشاهده می باشند و زرده های دانه ریز از زرده های دانه درشت بخوبی تمیز داده می شوند. در این مرحله هسته ها در ناحیه زرده های

دانه ریز قطب جانوری، نزدیک به پوسته تخمک ها قرار می گیرند. هستک ها در بخش مرکزی هسته قرار داشته و تعداد آنها بسیار کم می باشد.

در مرحله چهارم رسیدگی، وجود ۹ لایه اصلی و قابل تفکیک از خارج به داخل: ۱- لایه اپی تلیال فولیکول (Follicle) ۲- لایه ژله ای (Jelly Coat)، ۳- منطقه شعاعی خارجی (External Zona Radiata)، ۴- منطقه شعاعی داخلی (Internal Zona Radiata)، ۵- لایه چربی (Fat Layer)، ۶- رنگدانه ها (Pigments)، ۷- سیتوپلاسم (Cytoplasm)، ۸- هسته (Nucleus) و ۹- هستک ها (Nucleoli) قابل مشاهده می باشند.

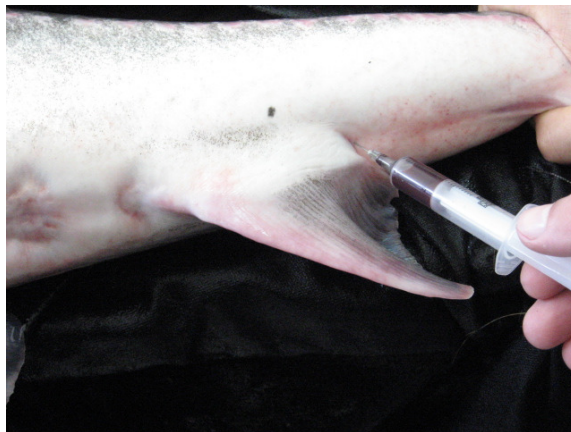
بیضه مرحله IV رسیدگی جنسی

مشاهدات میکروسکوپی (بافت شناسی)

مشاهده روند فعال چرخه اسپرم زایی بیانگر آغاز مرحله چهارم رسیدگی ناقص و کامل غدد جنسی نر می باشد. در ماهیان مختلف مقدار چربی متفاوت است و این چربی بیشتر در بخش میانی غدد جنسی وجود دارد، اگر چه حفره غدد جنسی نر در مرحله چهارم رسیدگی جنسی ناقص از اسپرماتوزوئیدها انباشته شده است اما مراحل مختلف چرخه اسپرم زایی مانند اسپرماتوسیت های اولیه و ثانویه و اسپرماتیدها نیز در آن دیده می شوند. در مرحله چهارم رسیدگی جنسی کامل علاوه بر انباشته شدن اسپرماتوزوئیدها در حفره جنسی، بیضه ها از شکل عادی خود خارج می شوند. در تصاویر بافت شناسی دیواره تخریب شده حفره جنسی و فراوانی اسپرم ها در کانال های اسپرم ساز از ویژگی های بارز این مرحله می باشد، اما مراحل چرخه اسپرم زایی هنوز کامل نمی باشد.

۱۰-۲- نحوه خونگیری

عملیات خون گیری و مطالعات سرولوژی فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه بصورت فصلی (در میانه ماه میانی هر فصل) و در ۱۲ فصل پیاپی انجام گرفت. خون گیری با استفاده از سرنگ های 5°C ، از طریق سیاهرگ دمی (caudal vein) و از پشت باله مخرجی (شکل ۴-۲) انجام شد. در هر مرحله مقدار 3cc خون از ماهیان دریافت و جهت انجام مطالعات سرولوژی به آزمایشگاه خون شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو منتقل گردید. پس از انتقال لوله های آزمایش دردار حاوی 3cc خون به آزمایشگاه، جدا سازی سرم از سلول های خونی توسط سانتریفوژ (مدل ۲۰۰ Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatech، ساخت کشور آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه در 3000 دور انجام گرفت. سپس با استفاده از پیت پاستور، سرم به ظروف اپندورف های شماره گذاری شده و با مشخصات کامل منتقل و تا زمان سنجش پارامترهای مورد نظر در دمای 20°C - نگهداری شدند (Pottinger & Carrick, 2001).



شکل ۴-۲: نحوه خونگیری

۱۱-۲- آزمون های بیوشیمیایی خون

تعیین غلظت چربی کل سرم خون

جهت تعیین چربی کل سرم خون از روش کالریمتریک و صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) در دمای 25 درجه سانتی گراد در طول موج 540 نانومتر استفاده شد. مقدار چربی کل سرم خون بر حسب گرم بر دسی لیتر محاسبه گردید.

تعیین غلظت گلوکز سرم خون

تعیین مقادیر گلوکز به صورت آنزیمی و کالریمتریک با روش فتومتریک صورت پذیرفت. در این آزمون آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز با فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین در مجاورت پراکسیداز تشکیل کینونیمین داد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد که با مقدار گلوکز بر حسب میلی گرم در دسی لیتر رابطه مستقیم داشت.

تعیین غلظت کلسترول سرم خون

تعیین مقادیر کلسترول به صورت آنزیمی و کالریمتری با روش فتومتریک صورت پذیرفت. در این آزمون پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین در مجاورت پراکسیداز تشکیل کینونیمین داد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد و مقدار کلسترول بر حسب میلی گرم در دسی لیتر رابطه مستقیم داشت.

تعیین غلظت تری گلیسرید

تعیین مقادیر تری گلیسرید به صورت آنزیمی و کالریمتری با روش فتومتریک انجام شد. در این آزمایش ابتدا گلیسرول توسط آنزیم لیپوپروتئین لیپاز از اسیدهای چرب جدا شده، پراکسید هیدروژن از گلیسرول با ۴-آمینو آنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تولید شده که به صورت فتومتریک با دستگاه اسپکتروفومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد، مقدار تری گلیسرید بر حسب میلی گرم در دسی لیتر رابطه مستقیم دارد.

تعیین مقادیر کلسیم سرم خون

تعیین مقادیر کلسیم به روش فتومتریک با استفاده از cresolphthalein complexone انجام شد. در این آزمون کلسیم در محیط قلیایی با cresolphthalein complexone تشکیل یک کمپلکس ارغوانی رنگ داد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار کلسیم در نمونه سرم خون بود. کلسیم تولید شده به صورت فتومتریک و با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV/VIS - ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و بکارگیری کیت پارس آزمون (ساخت ایران) در طول موج ۵۷۰ نانومتر و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

تعیین سطوح هورمون های جنسی استروئیدی خون

سنجش سطوح هورمون های استروئیدی جنسی شامل تستوسترون، پروژسترون و ۱۷-بتا استرادیول با استفاده از کیت های Immunotech ساخت کشور فرانسه و ردیاب I125 به روش رادیو ایمنواسی (RIA)، با دستگاه گاما کانتور LKB ساخت کشور فنلاند بر حسب نانوگرم در میلی لیتر (ng/ml) در آزمایشگاه دکتر فدایی رشت انجام گرفت. مبنای اندازه گیری بر اساس واکنش رقابتی بین این هورمون ها به عنوان آنتی ژن در نمونه پلاسما با آنتی ژنی که باید رادیواکتیو ۱۲۵ نشان دار شده، بود. بین این هورمون ها در نمونه پلاسما با هورمونی که نشان دار شده بود، بر سر اتصال به آنتی بادی ضد آن که در فاز جامد قرار داشت، رقابت به وجود آمد. پرتو دهی حاصل از اتصال آنتی ژن رادیواکتیو نشان دار با آنتی بادی توسط دستگاه گاما کانتور LKB اندازه گیری و سنجش گردید. برای کالیبراسیون کنترل این آزمون ها از کالیبراتور و کنترل Immunotech استفاده گردید.

برای انجام آزمایش ها ابتدا به تعداد نمونه ها لوله آزمایش حاوی آنتی بادی انتخاب و در هر لوله ۵۰ میکرولیتر از نمونه مورد نظر ریخته و لوله ها بر حسب نمونه های پلاسما، شماره گذاری گردید. حجم هر لوله به کمک محلول معرف به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد. از محلول استاندارد و کنترل نیز ۵۰ میکرولیتر در دو لوله به ترتیب ریخته و حجم لوله ها با محلول معرف به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد. پس از پوشانده شدن لوله ها، آنها به مدت یک ساعت در دمای اتاق (۲۵°C) همراه لرزاننده (۴۰۰ rpm)، قرار گرفتند.

۱۲-۲- آزمون های تکثیر مصنوعی فیل ماهی پرورشی

تعیین موقعیت هسته زایشی تخمک

بمنظور تعیین زمان دقیق تزریق هورمون سنتتیک جهت تکثیر مصنوعی، وضعیت و موقعیت هسته زایشی یا GV تخمک ها در ماهیان ماده بررسی شد. برای این منظور تعداد ۳۰ عدد تخمک با استفاده از سوک از تخمدان استحصال و به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در آب جوشانده شد. سپس با استفاده از تیغ اصلاح، تخمک ها در امتداد محور قطب جانوری-گیاهی برش داده شدند. وضعیت هسته زایشی یا GV در زیر استریومیکروسکوپ تعیین و از رابطه زیر $PI = \frac{a}{b} \cdot 100$ موقعیت آن محاسبه گردید. در این رابطه PI شاخص قطبیت (Polarization Index)، a فاصله بین GV و غشای سلولی (اووسیت) و b بعنوان قطر تخمک در محور جانوری-گیاهی در نظر گرفته شد.

تزریق هورمون های GnRH

پس از تعیین موقعیت هسته زایشی و مناسب بودن وضعیت آن و بررسی سطوح هورمون های جنسی و دمای آب، نسبت به تزریق هورمون اقدام شد. هورمون تراپی بوسیله GnRH سنتتیک (ova-factIII آنالوگ ویژه تاسماهیان، ماده مؤثره GnRH مصرف شده تولیدی مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی که در شرکت داروسازی ثامن مشهد در خط تولید قرار گرفت) طی دو مرحله به فاصله ۱۲ ساعت از یکدیگر صورت گرفت. همه مولدین ماده در دو مرحله با فاصله ۶ ساعت و به نسبت ۲۰٪ به ۸۰٪ و دوز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن ماهی مورد تزریق هورمون GnRH قرار گرفتند. مولدین نر نیز در یک مرحله و همزمان با تزریق مرحله دوم هورمون تراپی بوسیله هورمون مولدین ماده با دوز ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی مورد تزریق هورمون GnRH قرار گرفتند.

ریز برش مجرای تخم بر

پس از آماده شدن مولدین جهت تکثیر، با دقت و احتیاط بدون وارد بیهوشی، با برانکارد از حوضچه های کورانسکی به روی میز جراحی مخصوص شیب دار منتقل و با استفاده از روش ریز برش و بدون کشتن ماهی، تخمک گیری شدند. برای این منظور با استفاده از تیغ اسکالپل برشی به میزان ۳ - ۱/۵ سانتی متر در ناحیه مجرای لوله تخم بر ایجاد شد. سپس با مالش نرم شکم (از ناحیه سر ماهی به دم) عملیات استحصال تخمک صورت پذیرفت (شکل ۵-۲).

اسپریم گیری به روش سوند

در این روش پس از کنترل مولدین نر آماده به اسپریم دهی، ناحیه تناسلی ماهی با استفاده از یک پارچه نرم و تمیز خشک شد. سپس با استفاده از شیلنگ پلاستیکی نرم به طول تقریبی ۵۰ سانتی متر و به قطر ۰/۵ میلی متری خشک و استریل متصل به یک سرنگ ۵۰ سی سی از ناحیه تناسلی وارد مجرای اسپریم بر شد. با ایجاد مکش و فشار منفی اسپریم ها وارد سرنگ شدند (شکل ۶-۲). پس از جدا نمودن شیلنگ، اسپریم ها به درون ظرفی تمیز و خشک مخصوص ریخته شد. قبل از لقاح تخمک و اسپریم، اسپریم ها جهت بررسی کمی و کیفی به آزمایشگاه انجماد اسپریم انستیتو منتقل شدند.

بررسی کمیت و کیفیت اسپریم

کلیه فاکتورهای زیستی و بیوشیمیایی اسپریم قبل از لقاح اندازه گیری و بررسی شدند. اسمولاریته اسپریم و پلاسمای اسپریم با استفاده از اسمومتر انجمادی دیجیتالی (مدل ۱۳ - Type - Nr.9610003 شرکت Rebling، ساخت کشور آلمان) و بر حسب میلی اسمول بر لیتر، مدت زمان تحرک (ثانیه)، درصد تحرک، کیفیت تحرک (سرعت چرخش اسپریم) و تراکم اسپریم (در میلی متر مکعب) با لام توما و عدسی ۴۰ میکروسکوپ نوری نیکون و رقت ۱۰ درصد، pH مایع اسپریمی با استفاده از دستگاه اکسی-پی اچ متر دیجیتال و درصد اسپریماتوکریت با استفاده از میکروهماتوکریت (با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه) اندازه گیری شدند و پس از آنالیز آنها و در صورت مناسب بودن برای عمل لقاح، مورد استفاده قرار گرفتند.

لقاح و رفع چسبندگی تخم ها

پس از استحصال تخمک و اسپریم از مولدین فیل ماهی پرورشی، به ازای هر کیلو تخمک، ۱۰ سی سی اسپریم اضافه شد. پس از اختلاط کامل تخمک با اسپریم به مدت ۵ دقیقه و انجام عمل لقاح به روش نیمه خشک، بمنظور زدودن چسبندگی تخم های لقاح یافته، از مخلوط گل رس و آب (با غلظت ۱۰ درصد) با همزدن مداوم به مدت ۴۵ دقیقه استفاده شد. پس از رفع چسبندگی، تخم های آب کشیده به جعبه های انکوباتور انتقال یافتند.

انکوباسیون و تفریح تخم ها

تخم های لقاح یافته (با تراکم ۷۵۰ گرم به ازای هر پاکت انکوباتور یوشچنکو) با حجم آب مفید ۱۵ لیتر و عمق آب ۱۰ سانتی متر و دبی مستمر ۰/۵-۰/۴ لیتر در ثانیه به انکوباتور یوشچنکو مستقر در سالن انکوباسیون بخش تکثیر مجتمع، معرفی شدند. منبع تأمین آب مورد نیاز انکوباتورها (که پس از ته نشست در استخر مادر و فیلتراسیون با فیلترهای شنی وارد انکوباتورها شد) نیز آب رودخانه سفیدرود بود. دمای آب در طول دوره انکوباسیون بطور میانگین ۱۲ درجه سانتی گراد ثابت بود.

برای تعیین درصد لقاح، در دومین تقسیم گاسترولایی (حدود ۳:۳۰ ساعت پس از لقاح) تعداد ۱۰۰ عدد تخم بصورت کاملاً تصادفی از پاکت های مختلف انکوباتور برداشته شد و در فرمالین ۵٪ فیکس گردید. درصد لقاح تخم ها با استفاده از لوپ مدرج نیکون مدل MST800، محاسبه گردید.

پس از تفریح تخم ها، برای محاسبه دقیق تعداد لارو و میانگین وزن یک لارو از ترازوی دیجیتالی (شرکت A&D مدل D0006 ژاپن) با دقت ۰/۱ گرم و به روش وزنی (تعداد در گرم) استفاده شد. برآورد وزن لاروها در اوج تفریح تخم ها صورت پذیرفت (شکل ۷-۲).

پرورش اولیه لاروها و آدابتاسیون غذایی آنها

پس از تفریح تخم ها، لاروهای حاوی کیسه زرده به حوضچه های ونیرو با حجم ۱۰۰۰ لیتر و دبی ۰/۵ لیتر در ثانیه بخش ونیروی مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری دکتر بهشتی سد سنگر در مجاورت انستیتو منتقل شدند (شکل ۸-۲). لاروها پس از جذب کیسه زرده و با آغاز تغذیه فعال (از ۳۰ تا ۵۰ میلی گرم)، روزانه در ۴ مرحله با آرتیمیا به میزان ۱۰ درصد وزن بدن تغذیه شدند. از وزن ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرمی روزانه در ۴ مرحله به میزان ۹ درصد وزن بدن با آرتیمیا (۳٪) و دافنی (۶٪) مورد تغذیه قرار گرفتند. پس از تغذیه با غذای زنده، بمنظور آدابتاسیون غذایی، لاروها از وزن ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرمی به میزان ۶ درصد وزن بدن (۳٪ دافنی و ۳٪ غذای کنسانتره بیومار به قطر ۰/۲ و ۰/۵ میلی متر) و ۳ بار در روز تغذیه شدند. از وزن ۱ گرم به بالا با غذای کنسانتره بیومار با قطرهای بیشتر (۰/۸، ۱، ۱/۵ و ۱/۹) غذادهی شدند.

۱۳-۲- روش آماری مورد استفاده

از آمار عمومی و توصیفی برای بیان حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار، واریانس و خطای استاندارد مربوط به شاخص‌های بیوشیمیایی و هورمونی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین بمنظور مقایسه دو گروه با یکدیگر از آزمون‌های تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) و جهت آزمون تفکیکی از آزمون جدا ساز دانکن و برای تعیین یکنواختی واریانس از آزمون Levene و برای تعیین اختلاف بین شاخص‌های هورمونی و بیوشیمیایی جنس‌های نر و ماده از آزمون Independent-Sample T-Test استفاده گردید.

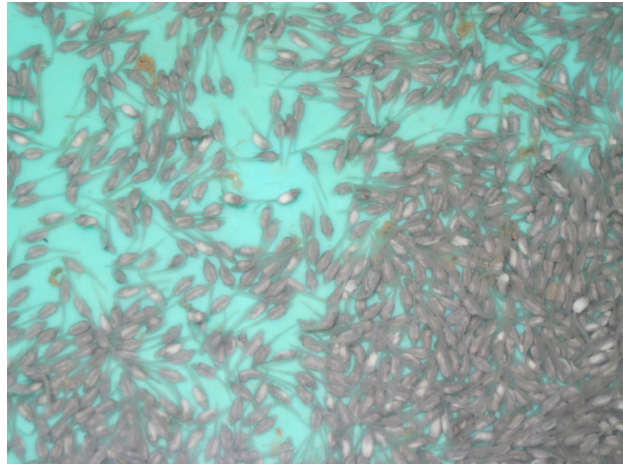
برای تعیین همبستگی بین فاکتورهای مختلف خونی و بیوشیمیایی از رگرسیون و از نرم افزارهای Excel 2003 و SPSS17 جهت آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها استفاده شد. داده‌ها بصورت $Mean \pm SE$ (میانگین \pm خطای استاندارد) ارائه شدند.



شکل ۵-۲: روش ریز برش مجرای تخم بر



شکل ۶-۲: نحوه اسپرم گیری از مولدین نر



شکل ۷-۲: تخم های تازه تفریخ شده



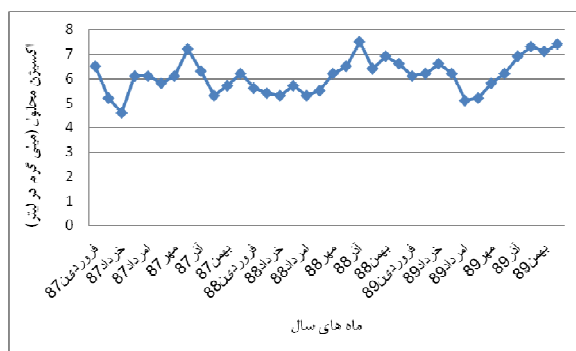
شکل ۸-۲: معرفی لاروهای تفریخ شده به حوضچه های ونیرو

۳- نتایج

۳-۱- فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب در طول دوره پرورش

اکسیژن محلول آب پرورش

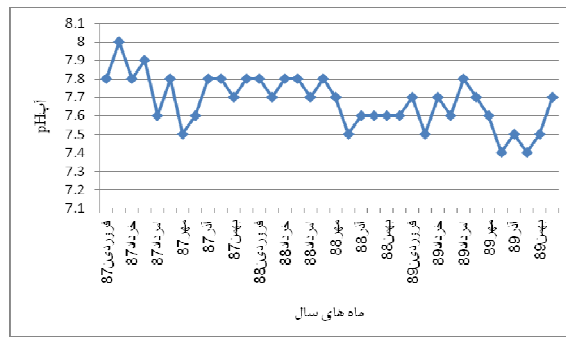
میانگین، بیشینه و کمینه اکسیژن محلول آب پرورش فیل ماهیان مورد مطالعه در سال های ۱۳۸۷، ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ بترتیب $5/93 \pm 0/19$ ، $7/20$ و $4/60$ میلی گرم در لیتر، $6/08 \pm 0/21$ ، $7/50$ و $5/30$ میلی گرم در لیتر و $6/34 \pm 0/75$ ، $7/40$ و $5/10$ میلی گرم در لیتر بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، اختلاف بین میانگین اکسیژن محلول آب پرورش در سال های مختلف، معنادار نبود ($p > 0/05$) (نمودار ۱-۳).



نمودار ۱-۳: تغییرات غلظت اکسیژن محلول در آب در طول دوره مطالعه

pH آب پرورش

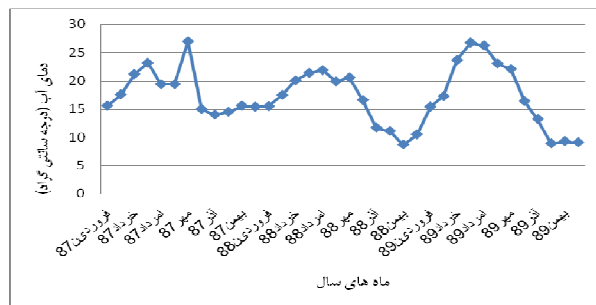
میانگین، بیشینه و کمینه پی-اچ آب پرورش فیل ماهیان مورد مطالعه در سال های ۱۳۸۷، ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ بترتیب $7/76 \pm 0/04$ ، 8 و $7/50$ ، $7/68 \pm 0/03$ ، $7/80$ و $7/50$ ، $7/59 \pm 0/04$ ، $7/80$ و $7/40$ بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن؛ اختلاف بین پی-اچ آب پرورش در سال های مختلف، معنادار نبود ($p > 0/05$) (نمودار ۲-۳).



نمودار ۲-۳: تغییرات pH آب در طول دوره مطالعه

دمای آب پرورش

میانگین، بیشینه و کمینه دمای آب پرورش فیل ماهیان مورد مطالعه در سال های ۱۳۸۷، ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ به ترتیب ۱۸/۱۶±۱/۱۶، ۲۷ و ۱۴ درجه سانتی گراد، ۱۶/۲۹±۱/۳۶، ۲۱/۹۰ و ۸/۷۰ درجه سانتی گراد و ۱۷/۶۳±۱/۹۳، ۲۶/۸۰ و ۸/۹۰ درجه سانتی گراد بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، اختلاف بین میانگین دمای آب پرورش در سال های مختلف، معنادار نبود ($p>0/05$) (نمودار ۳-۳).



نمودار ۳-۳: تغییرات دمای آب در طول دوره مطالعه

طول فورک و وزن کل فیل ماهیان ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در طول دوره

میانگین، بیشینه و کمینه طول چنگالی فیل ماهیان ماده پرورشی در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی و مجموع در طول دوره مطالعه به ترتیب ۱۵۱/۱۱±۱/۲۸، ۱۸۱/۰۰ و ۱۲۲/۰۰ سانتی متر، ۱۵۷/۲۴±۲/۱۸، ۱۷۷/۰۰ و ۱۳۶/۵۰ سانتی متر، ۱۵۶/۸۱±۲/۹۱، ۱۶۸/۵۰ و ۱۴۳/۰۰ سانتی متر و ۱۵۲/۴۴±۱/۰۸، ۱۸۱/۰۰ و ۱۲۲/۰۰ سانتی متر بود.

در این مدت میانگین، بیشینه و کمینه وزن کل فیل ماهیان ماده پرورشی در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی و مجموع بترتیب $۳۶/۴۲ \pm ۱/۱۲$ ، $۶۱/۲۰$ و $۱۲/۷۰$ کیلوگرم، $۴۴/۰۵ \pm ۱/۸۶$ ، $۶۱/۵۰$ و $۲۲/۵۰$ کیلوگرم، $۴۷/۲۷ \pm ۱/۳۶$ ، $۵۳/۰۰$ و $۴۲/۳۰$ کیلوگرم و $۳۸/۲۵ \pm ۰/۹۷$ ، $۶۱/۵۰$ و $۱۲/۷۰$ کیلوگرم بود.

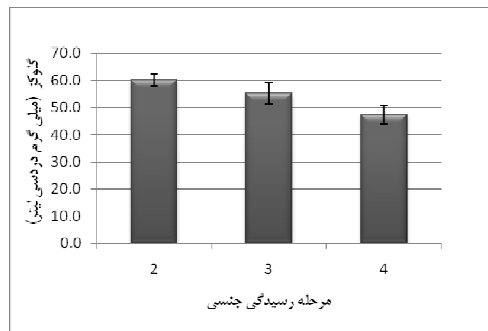
طول فورک و وزن کل فیل ماهیان نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در طول دوره

میانگین، بیشینه و کمینه طول چنگالی فیل ماهیان نر پرورشی در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی و مجموع در طول دوره مطالعه بترتیب $۱۴۱/۲۵ \pm ۲/۳۶$ ، $۱۶۸/۰۰$ و $۱۲۵/۰۰$ سانتی متر، $۱۴۶/۱۲ \pm ۱/۷۶$ ، $۱۷۷/۰۰$ و $۱۳۱/۰۰$ سانتی متر، $۱۵۲/۶۲ \pm ۲/۴۰$ ، $۱۷۰/۰۰$ و $۱۳۷/۵۰$ سانتی متر و $۱۴۵/۹۴ \pm ۱/۳۰$ ، $۱۷۷/۰۰$ و $۱۲۵/۰۰$ سانتی متر بود. در این مدت میانگین، بیشینه و کمینه وزن کل فیل ماهیان ماده پرورشی در مراحل II، III، IV رسیدگی جنسی و مجموع بترتیب $۲۶/۹۲ \pm ۱/۷۲$ ، $۴۶/۶۵$ و $۱۵/۵۰$ کیلوگرم، $۳۴/۳۱ \pm ۱/۲۷$ ، $۵۴/۵۰$ و $۲۰/۰۰$ کیلوگرم، $۳۷/۰۵ \pm ۲/۰۴$ ، $۵۰/۶۰$ و $۲۷/۹۰$ کیلوگرم و $۳۲/۶۵ \pm ۰/۹۹$ ، $۵۴/۵۰$ و $۱۵/۵۰$ کیلوگرم بود.

۲-۳- شاخص های بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

گلوکز

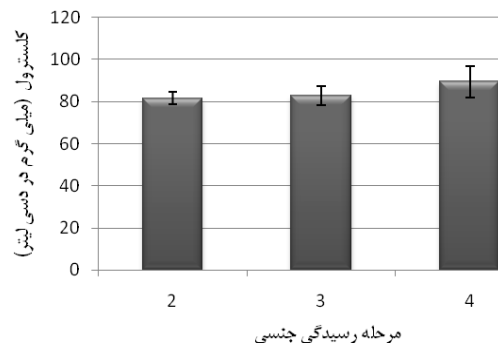
میانگین، بیشینه و کمینه گلوکز سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $۶۰/۲۰ \pm ۲/۳۰$ ، ۱۴۲ و ۴ میلی گرم در دسی لیتر، $۵۵/۰۳ \pm ۴/۰۵$ ، ۱۰۷ و ۷ میلی گرم در دسی لیتر و $۴۷/۴۰ \pm ۳/۵۰$ ، ۶۷ و ۳۵ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن بین مراحل دوم، سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$). اما میانگین گلوکز از مرحله دوم به سمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی کاهش یافت.



نمودار ۴-۳: غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

کلسترول

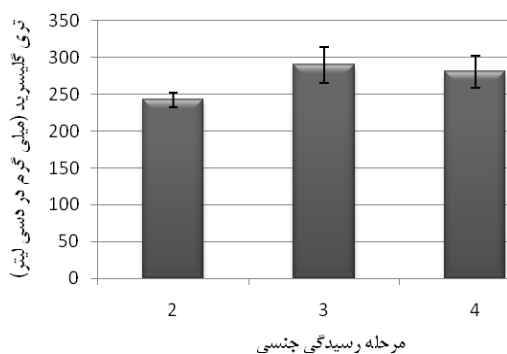
میانگین، بیشینه و کمینه کلسترول سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $81/64 \pm 3/07$ ، ۲۱۱ و $6/5$ میلی گرم در دسی لیتر، $82/83 \pm 4/44$ و ۱۲۸ و ۳۳ میلی گرم در دسی لیتر و $89/50 \pm 7/50$ و ۱۱۹ و ۵۵ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۵-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن بین مراحل دوم، سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار وجود نداشت ($p > 0/05$). اما میانگین کلسترول از مرحله دوم به سمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی افزایش یافت.



نمودار ۵-۳: غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

تری گلیسرید

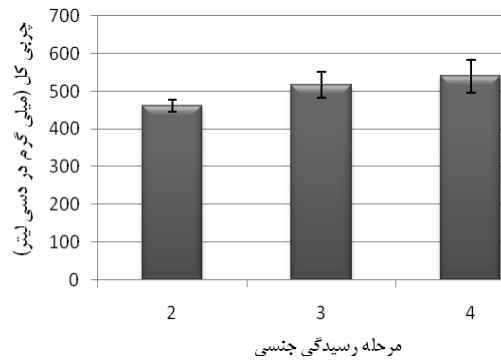
میانگین، بیشینه و کمینه تری گلیسرید سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $242/40 \pm 10/46$ ، ۶۷۲ و ۲۶ میلی گرم در دسی لیتر، $289/80 \pm 24/60$ ، ۶۱۶ و ۱۰۱ میلی گرم در دسی لیتر و $280/62 \pm 22/30$ ، ۳۶۴ و ۱۸۸ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۶-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم، سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$).



نمودار ۶-۳: غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

چربی کل

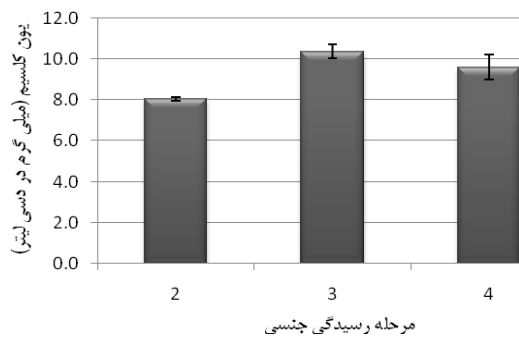
میانگین، بیشینه و کمینه چربی کل سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $462/02 \pm 15/20$ ، ۱۲۷۰ و ۱۰۸ میلی گرم در دسی لیتر، $516/87 \pm 34/46$ ، ۹۹۵ و ۲۷۸ میلی گرم در دسی لیتر و $540/50 \pm 43/80$ ، ۷۶۵ و ۴۰۲ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۷-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم، سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$). اما میانگین چربی کل سرم خون از مرحله دوم به سمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی افزایش یافت.



نمودار ۷-۳: غلظت چربی کل سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

یون کلسیم

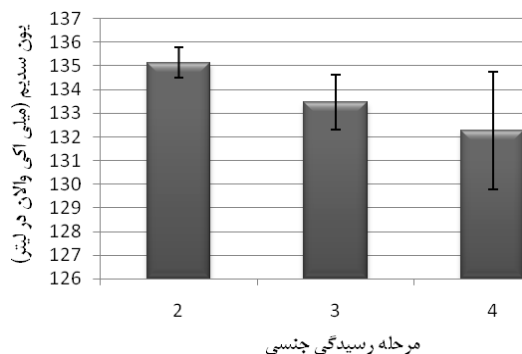
میانگین، بیشینه و کمینه یون کلسیم سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $10/10$ و $4/70$ میلی گرم در دسی لیتر، $10/40 \pm 0/34$ ، $14/85$ و $7/6$ میلی گرم در دسی لیتر و $9/60 \pm 0/60$ ، $12/5$ و $7/9$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۸-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی در سطح ۹۵ درصد اعتماد اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) ولی بین مراحل دوم -چهارم و سوم -چهارم رسیدگی جنسی، فاقد اختلاف معنادار بود ($p > 0/05$).



نمودار ۸-۳: غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

یون سدیم

میانگین $\pm SE$ ، بیشینه و کمینه یون سدیم سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $131 \pm 0/90$ ، ۱۸۸ و ۱۱۲ میلی اکی والان در لیتر، $133/45 \pm 1/20$ ، ۱۴۳ و ۱۱۸ میلی اکی والان در لیتر و $132/30 \pm 2/50$ ، ۱۳۸ و ۱۱۸ میلی اکی والان در لیتر بود (شکل ۹-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم- سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$).

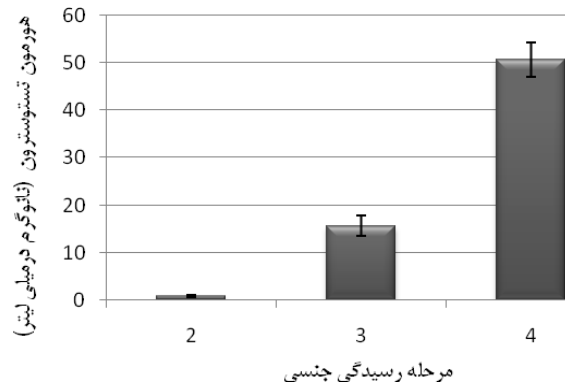


نمودار ۹-۳: غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

۳-۳- شاخص های هورمونی سرم خون فیل ماهیان ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون تستوسترون

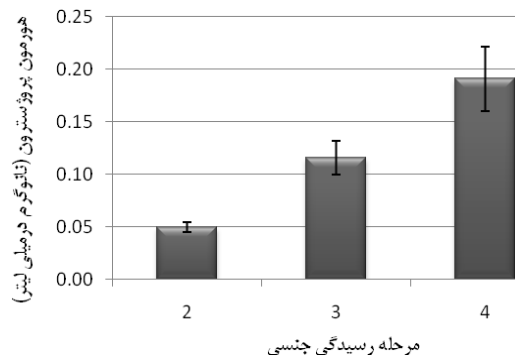
میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $0/80 \pm 0/10$ ، $9/40$ و $0/1$ نانوگرم در میلی لیتر، $15/65 \pm 2/20$ ، ۳۹ و $0/3$ نانوگرم در میلی لیتر و $50/75 \pm 3/60$ و ۶۸ و ۴۰ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۱۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم و سوم، دوم و چهارم و سوم و چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$).



نمودار ۱۰-۳: غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون پروژسترون

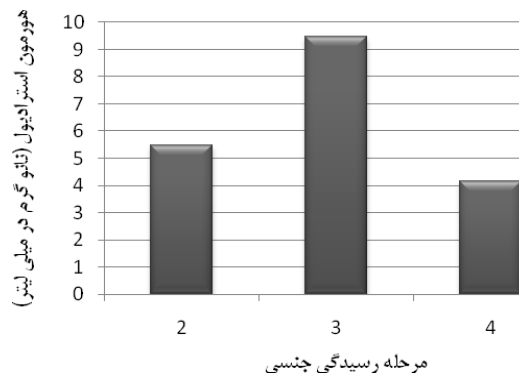
میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون پروژسترون سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب 0.05 ± 0.01 ، 0.30 و صفر نانوگرم در میلی لیتر، 0.10 ± 0.02 ، 0.40 و صفر نانوگرم در میلی لیتر و 0.2 ± 0.03 ، 0.34 و 0.10 نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۱۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن بین مراحل دوم و سوم، دوم و چهارم و سوم و چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار بود ($p < 0.05$).



نمودار ۱۱-۳: غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون استرادیول

میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون استرادیول سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده پرورشی مورد مطالعه بترتیب $۵/۵۰ \pm ۰/۳۰$ ، $۱۶/۵۰$ و $۰/۶۰$ نانوگرم در میلی لیتر، $۹/۵۰ \pm ۰/۹۷$ ، ۲۳ و $۲/۷$ نانوگرم در میلی لیتر و $۴/۱۰ \pm ۰/۷۰$ ، $۷/۴۰$ و $۱/۷۰$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۱۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن بین مراحل دوم و چهارم اختلافی مشاهده نشد ($p > 0/05$) ولی بین مراحل دوم با سوم و سوم با چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$).

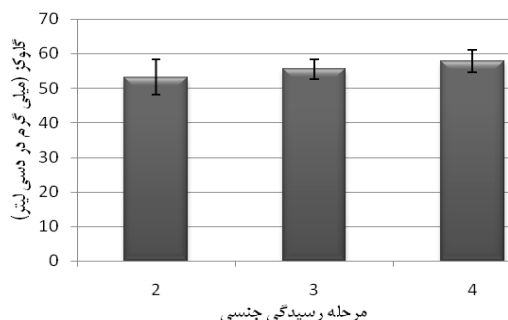


نمودار ۱۲-۳: غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهی ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

۴-۳- شاخص های بیوشیمیایی و یونی خون فیل ماهیان نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

گلوکز

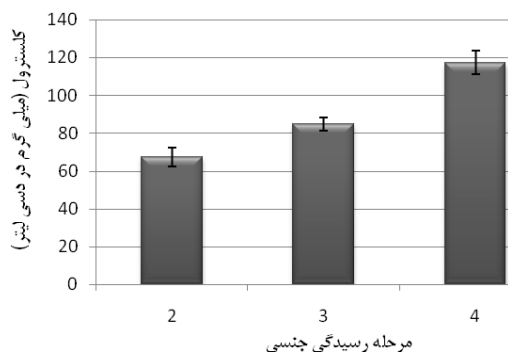
میانگین، بیشینه و کمینه گلوکز سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی بترتیب $۵۳/۱۵ \pm ۵/۰۵$ ، ۹۰ و ۳۱ میلی گرم در دسی لیتر، $۵۵/۵۵ \pm ۲/۸۶$ ، ۸۹ و ۳۶ میلی گرم در دسی لیتر و $۵۷/۸۲ \pm ۳/۱۹$ ، ۹۳ و ۲۲ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۱۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز از دانکن بین مراحل دوم- سوم و چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$). اما میانگین گلوکز از مرحله دوم به سمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی افزایش یافت.



نمودار ۱۳-۳: غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

کلسترول

میانگین، بیشینه و کمینه کلسترول سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب $67/50 \pm 4/89$ ، ۱۱۷ و $7/90$ میلی گرم در دسی لیتر، $84/68 \pm 3/36$ ، ۱۲۶ و ۴۴ میلی گرم در دسی لیتر و $117/350 \pm 6/24$ ، ۱۷۱ و ۸۴ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۱۴-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم-سوم و چهارم رسیدگی جنسی در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$).

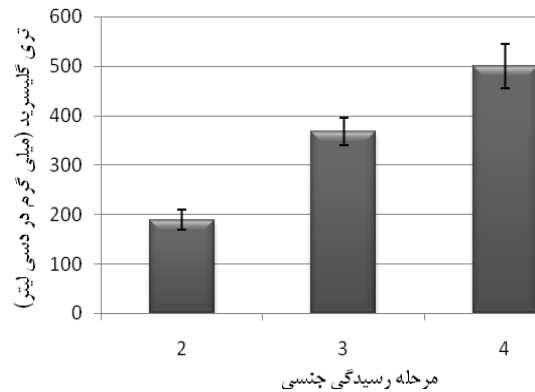


نمودار ۱۴-۳: غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

تری گلیسرید

میانگین، بیشینه و کمینه تری گلیسرید سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب $1189 \pm 20/08$ ، ۴۸۵ و ۸۲ میلی گرم در دسی لیتر، $367/84 \pm 27/50$ ، ۸۵۳ و ۱۱۸ میلی گرم در دسی لیتر و $499/29 \pm 44/63$ ، ۹۹۲ و ۲۳۴ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۱۵-۳). بر اساس آزمون تجزیه

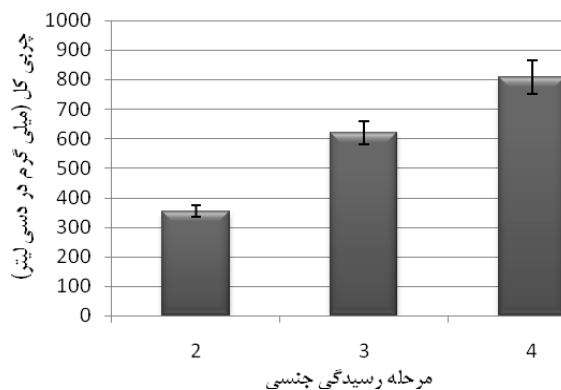
واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم، سوم و چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار بود (p<0/05).



نمودار ۱۵-۳: غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

چربی کل

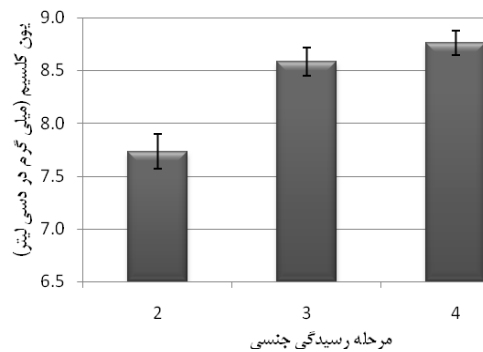
میانگین، بیشینه و کمینه چربی کل سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه به ترتیب $354/88 \pm 19/71$ ، ۵۹۴ و ۲۱۴ میلی گرم در دسی لیتر، $619/13 \pm 38/51$ ، ۱۴۵۰ و ۲۶۷ میلی گرم در دسی لیتر و $808/05 \pm 58/42$ ، ۱۵۲۰ و ۴۵۸ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۱۶-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم-سوم و چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار بود (p<0/05).



نمودار ۱۶-۳: غلظت چربی کل سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

یون کلسیم

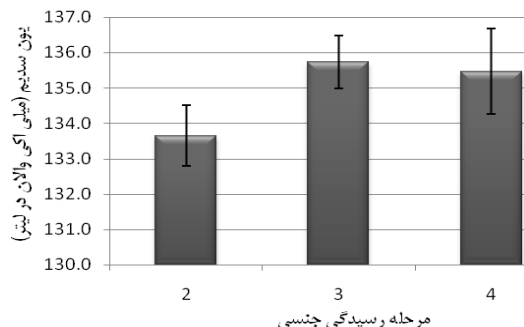
میانگین، بیشینه و کمینه یون کلسیم سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب ۷/۷۳±۰/۱۶، ۹/۹۰ و ۶/۵۰ میلی گرم در دسی لیتر، ۸/۵۸±۰/۱۳، ۱۱/۲۰ و ۶/۵۰ میلی گرم در دسی لیتر و ۸/۷۶±۰/۱۱، ۹/۵۳ و ۷/۷۰ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۱۷-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مرحله دوم با مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی در سطح ۹۵ درصد اعتماد اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) ولی بین مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنادار بود ($p > 0/05$).



نمودار ۱۷-۳: غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

یون سدیم

میانگین، بیشینه و کمینه یون سدیم سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب ۱۳۳/۶۵±۰/۸۵، ۱۴۰ و ۱۲۱ میلی اکی والان در لیتر، ۱۳۵/۷۳±۰/۳۰، ۱۴۷ و ۱۲۷ میلی اکی والان در لیتر و ۱۳۵/۴۷±۱/۱۹، ۱۴۴ و ۱۲۸ میلی اکی والان در لیتر بود (نمودار ۱۸-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم- سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$).

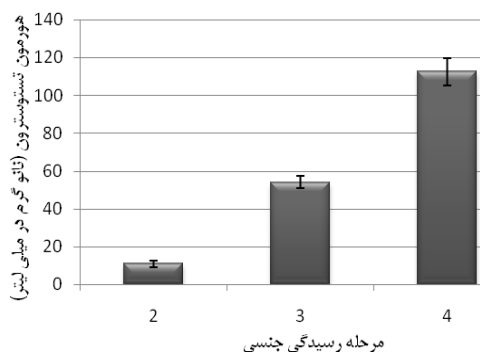


نمودار ۱۸-۳: غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

۳-۵- شاخص های هورمونی سرم خون فیل ماهیان نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون تستوسترون

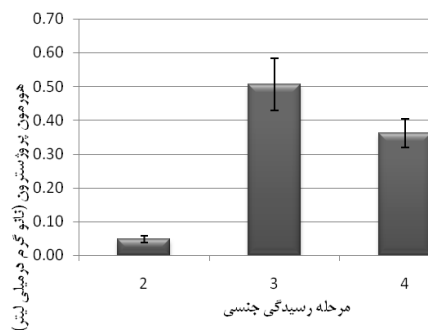
میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب $10/86 \pm 1/63$ ، ۲۸ و $0/1$ نانوگرم در میلی لیتر، $54/14 \pm 3/11$ ، ۹۵ و ۱۸ نانوگرم در میلی لیتر و $112/41 \pm 7/37$ ، ۱۸۰ و ۷۶ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۱۹-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم و سوم-دوم و چهارم و سوم-چهارم رسیدگی جنسی، اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$).



نمودار ۱۹-۳: غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون پروژسترون

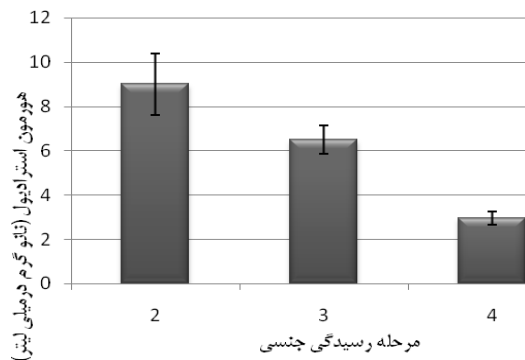
میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون پروژسترون سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب 0.1 ± 0.05 ، $1/7$ و صفر نانوگرم در میلی لیتر، 0.7 ± 0.05 ، $1/9$ و 0.03 نانوگرم در میلی لیتر و 0.4 ± 0.036 ، 0.62 و 0.09 نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن، بین مراحل دوم با مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$). اما بین مراحل چهارم و سوم اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$).



نمودار ۲۰-۳: غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

هورمون استرادیول

میانگین، بیشینه و کمینه غلظت هورمون استرادیول سرم خون در مراحل II، III و IV رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه بترتیب 1.39 ± 0.09 ، 35 و $1/90$ نانوگرم در میلی لیتر، 0.64 ± 0.056 ، $16/3$ و 1 نانوگرم در میلی لیتر و 0.29 ± 0.0296 ، 5 و 1 نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن بین مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار نبود ($p > 0/05$) ولی بین مرحله چهارم با مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی اختلاف معنادار بود ($p < 0/05$).



نمودار ۲۱-۳: غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیله ماهی نر در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

۳-۶- مقایسه شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی فیله ماهیان نر و ماده مرحله II رسیدگی

جنسی در طول دوره

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیله ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $10/86 \pm 1/63$ و $0/84 \pm 0/12$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۲-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیله ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیله ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $0/50 \pm 0/01$ و $0/50 \pm 0/00$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۳-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیله ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیله ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $9 \pm 1/39$ و $5/45 \pm 0/29$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۴-۳). بر اساس آزمون T-Test در

سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۵۳/۱۵ \pm ۵/۰۵$ و $۶۰/۱۷ \pm ۲/۲۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۵-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۶۷/۵۰ \pm ۴/۸۹$ و $۸۱/۶۴ \pm ۳/۰۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۶-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۱۸۹ \pm ۲۰/۰۸$ و $۲۴۲/۳۵ \pm ۱۰/۴۵$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۷-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۳۵۴/۸۸ \pm ۱۹/۷۱$ و $۴۶۲/۰۲ \pm ۱۵/۱۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۸-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $7/73 \pm 0/16$ و $8/04 \pm 0/08$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۹-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

یون سدیم

میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله II رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $133/65 \pm 0/85$ و $135/14 \pm 0/62$ میلی اکی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

۳-۷- مقایسه شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی فیل ماهیان نر و ماده مرحله III رسیدگی

جنسی در طول دوره

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $54/14 \pm 3/11$ و $15/66 \pm 2/18$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۲-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $0/50 \pm 0/08$ و $0/11 \pm 0/02$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۳-۳). بر اساس آزمون T-Test

در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $6/51 \pm 0/64$ و $9/47 \pm 0/97$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۴-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $55/55 \pm 2/86$ و $55/29 \pm 4/05$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۵-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $84/68 \pm 3/36$ و $82/83 \pm 4/44$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۶-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $367/84 \pm 27/50$ و $289/83 \pm 24/60$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۷-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $619/13 \pm 38/51$ و $516/86 \pm 34/45$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۸-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

میانگین $SE \pm$ مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $8/58 \pm 0/13$ و $10/38 \pm 0/34$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۹-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون سدیم

میانگین $SE \pm$ مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله III رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $135/73 \pm 0/74$ و $133/45 \pm 1/16$ میلی اکی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله سوم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

۳-۸- مقایسه شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی فیل ماهیان نر و ماده مرحله IV رسیدگی

جنسی در طول دوره

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $112/41 \pm 7/40$ و $50/75 \pm 3/63$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۲-۳). بر اساس آزمون T-

Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $0/36 \pm 0/04$ و $0/19 \pm 0/03$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۳-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $2/95 \pm 0/29$ و $4/15 \pm 0/70$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۲۴-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $57/82 \pm 3/19$ و $47/38 \pm 3/49$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۵-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $117/35 \pm 6/24$ و $89/50 \pm 7/50$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۶-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۴۹۹/۲۹ \pm ۴۴/۶۴$ و $۲۸۰/۶۲ \pm ۲۲/۲۸$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۷-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

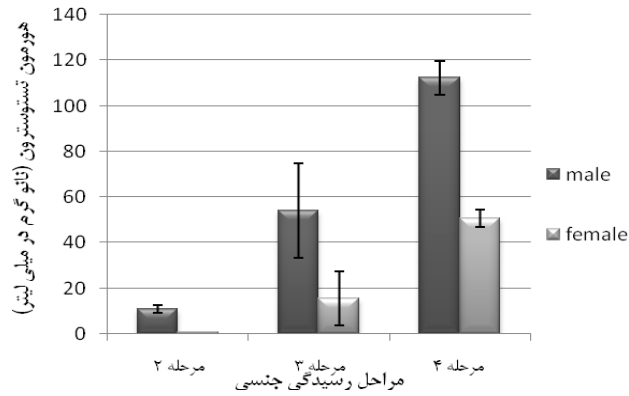
میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۸۰۸/۰۶ \pm ۵۸/۴۳$ و $۵۴۰/۵۰ \pm ۴۳/۷۹$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۸-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

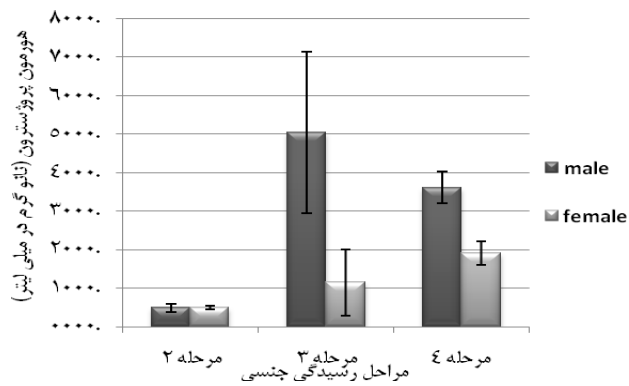
میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۸/۷۶ \pm ۰/۱۱$ و $۹/۶۰ \pm ۰/۵۹$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۲۹-۳). بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).

یون سدیم

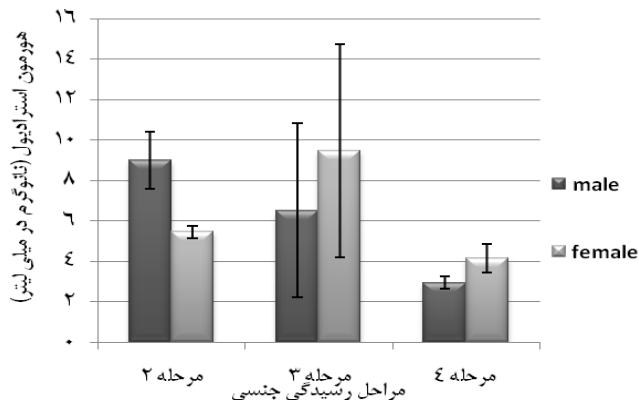
میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی مرحله IV رسیدگی جنسی در طول دوره مطالعه بترتیب $۱۳۵/۴۷ \pm ۱/۱۹$ و $۱۳۲/۲۵ \pm ۲/۴۸$ میلی اکی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون T-Test در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر و ماده پرورشی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، معنادار نبود ($p > 0/05$).



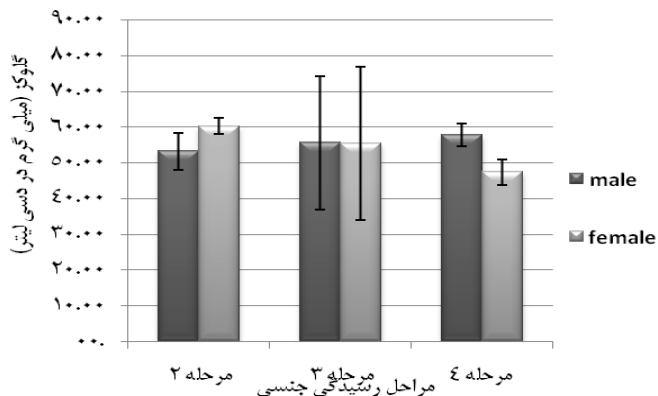
نمودار ۲۲-۳: مقایسه هورمون تستوسترون خون فیل ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



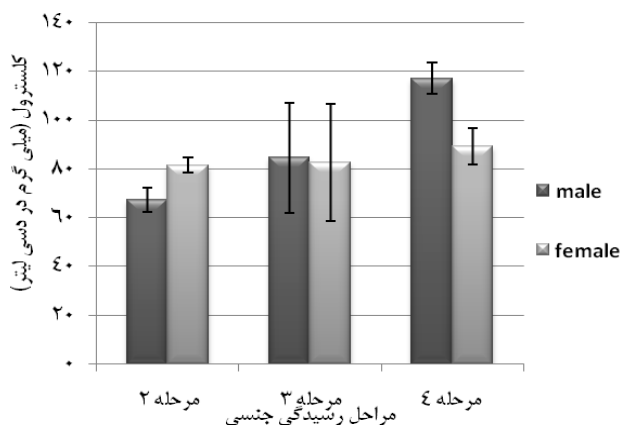
نمودار ۲۳-۳: مقایسه هورمون پروژسترون خون فیل ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



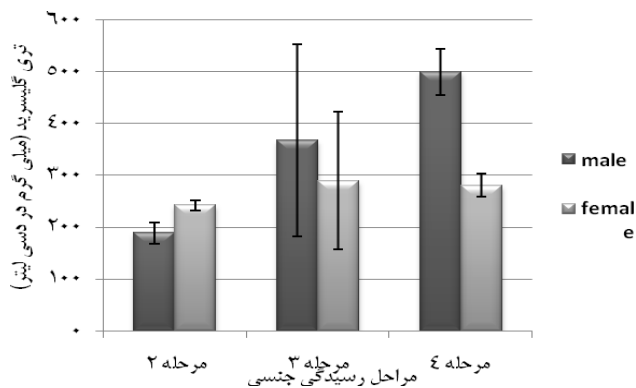
نمودار ۲۴-۳: مقایسه هورمون استرادیول خون فیل ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



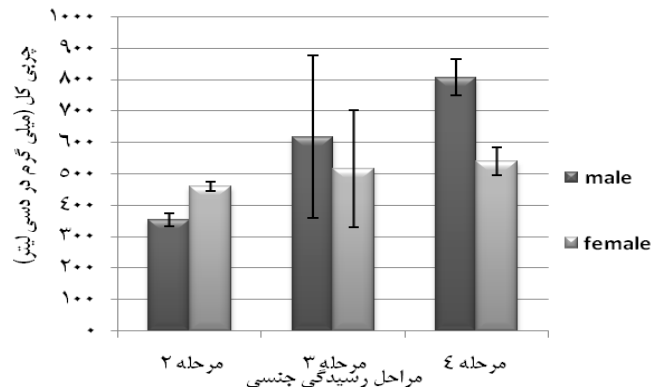
نمودار ۲۵-۳: مقایسه گلوکز خون فیلهای ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



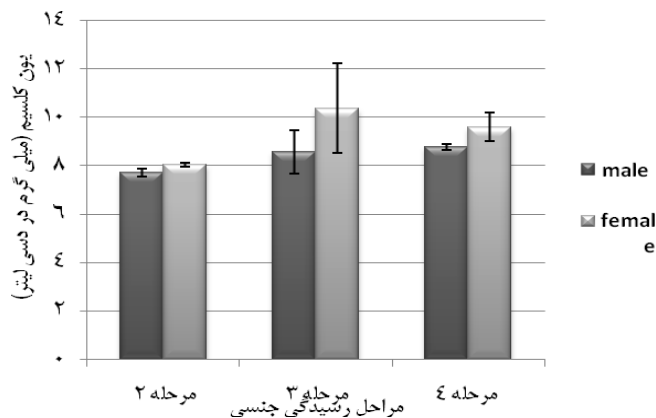
نمودار ۲۶-۳: مقایسه کلسترول خون فیلهای ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



نمودار ۲۷-۳: مقایسه تری گلیسرید خون فیلهای ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



نمودار ۲۸-۳: مقایسه چربی کل خون فیل ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی



نمودار ۲۹-۳: مقایسه یون کلسیم خون فیل ماهیان نر و ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

۳-۹- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان ماده مرحله دوم رسیدگی

در فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب ۰/۵۷±۰/۲۲، ۰/۴۳±۰/۹۰، ۰/۹۱±۰/۲۳ و ۰/۴۶±۰/۳۳ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در فصول بهار- تابستان- پاییز و

پاییز- زمستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصول بهار و تابستان معنادار بود ($p<0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $0/04 \pm 0/01$ ، $0/03 \pm 0/01$ ، $0/06 \pm 0/01$ و $0/05 \pm 0/00$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون در فصول بهار-تابستان-زمستان و پاییز-زمستان-بهار معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان با پاییز معنادار بود ($p<0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $4/43 \pm 0/36$ ، $8/05 \pm 0/86$ ، $5/98 \pm 0/46$ و $3/68 \pm 0/23$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون در فصول بهار-زمستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان با سایر فصول و فصل پاییز با بهار و زمستان معنادار بود ($p<0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $53/65 \pm 3/66$ ، $69/83 \pm 3/66$ ، $51/03 \pm 4/44$ و $67/76 \pm 4/34$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون در فصول بهار- پاییز و تابستان-زمستان معنادار نبود.

($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول تابستان و زمستان با فصول پاییز و بهار معنادار بود ($p<0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۶۸/۹۷ \pm ۳/۲۵$ ، $۶۶/۵۸ \pm ۶/۶۶$ ، $۸۴/۹۳ \pm ۵/۸۲$ و $۱۰۷ \pm ۶/۲۴$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۴). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون در فصول بهار- تابستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با سایر فصول و پاییز با فصول تابستان و بهار معنادار بود ($p<0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۹۸/۱۶ \pm ۲۱/۰۸$ ، $۱۹۵/۶۸ \pm ۱۳/۱۳$ ، $۲۷۳/۴۰ \pm ۱۷/۳۳$ و $۳۰۷/۵۱ \pm ۲۲/۶۱$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۵). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون در فصول بهار- تابستان و پاییز- زمستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان با فصول بهار و تابستان معنادار بود ($p<0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۴۱۲ \pm ۲۶/۶۹$ ، $۴۱۰/۰۶ \pm ۱۹/۶۸$ ، $۴۸۳/۰۷ \pm ۲۱/۹۳$ و $۵۴۷/۷۹ \pm ۴۰/۷۷$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۶). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون در فصول بهار- تابستان- پاییز و پاییز- زمستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصول بهار و تابستان معنادار بود ($p<0/05$).

یون کلسیم

میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۷/۴۸ \pm ۰/۱۷$ ، $۸/۱۶ \pm ۰/۱۸$ ، $۸/۵۵ \pm ۰/۱۰$ و $۸/۱۳ \pm ۰/۱۷$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳۷-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون کلسیم سرم خون در فصول تابستان- پاییز- زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل بهار با سایر فصول معنادار بود ($p < 0/05$).

یون سدیم

میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۳۳/۲۷ \pm ۰/۸۸$ ، $۱۳۳/۵۱ \pm ۰/۹۷$ ، $۱۳۵/۲۳ \pm ۲/۰۲$ و $۱۳۸/۷۰ \pm ۰/۷۵$ میلی اکی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون در فصول بهار- تابستان- پاییز معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با سایر فصول معنادار بود ($p < 0/05$).

۹-۳- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان ماده مرحله سوم رسیدگی

در فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۲۴/۵۰ \pm ۶/۶۵$ ، $۱۴/۹۲ \pm ۴/۴۴$ ، $۱۴/۴۶ \pm ۳/۶۱$ و $۱۲/۷۸ \pm ۲/۸۸$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در

سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p>0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $0/10 \pm 0/06$ ، $0/15 \pm 0/03$ ، $0/09 \pm 0/02$ و $0/11 \pm 0/03$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p>0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $10/70 \pm 2/84$ ، $13/57 \pm 1/40$ ، $6/62 \pm 1/52$ و $6/12 \pm 0/92$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون در فصول بهار- پاییز- زمستان و بهار- تابستان معنادار نبود ($p>0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان با فصول پاییز و زمستان معنادار بود ($p<0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $58 \pm 5/21$ ، $50/44 \pm 7/08$ ، $49/78 \pm 7/20$ و $69 \pm 10/14$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p>0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۹۶/۲۵ \pm ۱۰/۳۹$ ، $۷۰/۱۰ \pm ۵/۴۰$ ، $۷۰/۶۷ \pm ۵/۶۰$ و $۱۱۳/۳۳ \pm ۴/۴۱$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۴). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون در فصول پاییز-تابستان و بهار-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول زمستان و بهار با فصول تابستان و پاییز معنادار بود ($p < 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۳۹۰/۲۵ \pm ۶۲/۰۵$ ، $۱۹۰ \pm ۲۰/۷۲$ ، $۲۸۰ \pm ۳۹/۷۰$ و $۴۰۴ \pm ۴۹/۶۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۵). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون در فصول بهار-پاییز-زمستان و تابستان-پاییز معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان با فصول بهار و زمستان معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

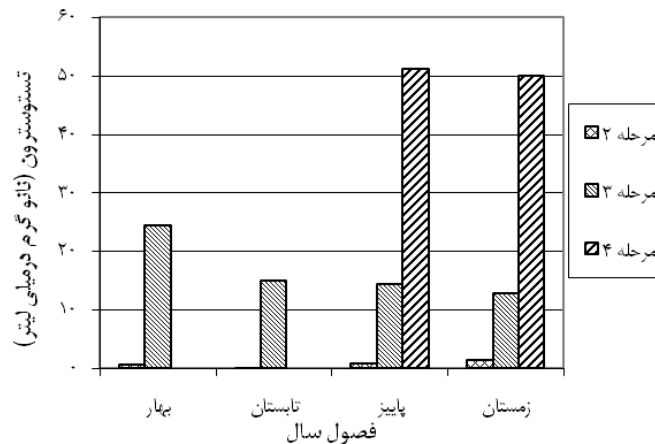
میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۶۴۱ \pm ۱۱۵/۳۳$ ، $۴۰۱/۷۰ \pm ۲۶/۸۱$ ، $۴۷۱/۴۴ \pm ۴۳/۱۱$ و $۶۹۴/۱۷ \pm ۸۲/۵۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۶). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون در فصول تابستان-پاییز، پاییز-بهار و بهار-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصول تابستان و پاییز و فصل بهار با تابستان معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

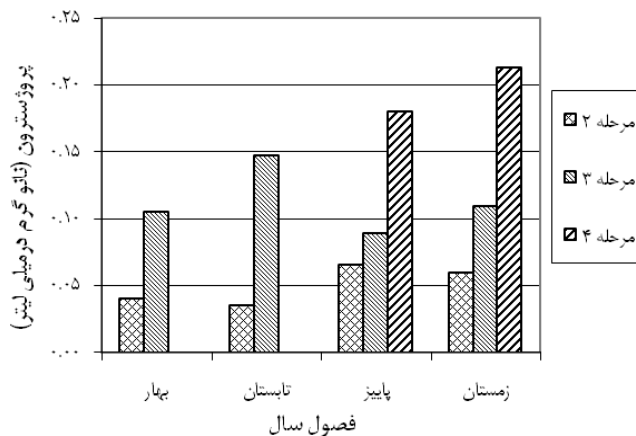
میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $10/45 \pm 0/78$ ، $9/86 \pm 0/52$ ، $10/09 \pm 0/67$ و $11/64 \pm 0/76$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳۷-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p>0/05$).

یون سدیم

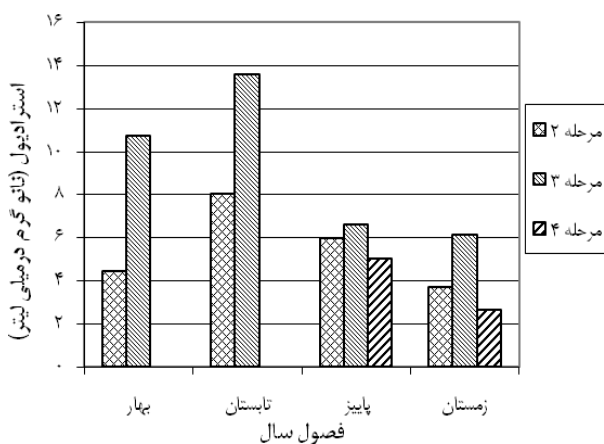
میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $137/75 \pm 0/85$ ، $132/50 \pm 1/53$ ، $134/55 \pm 1/30$ و $130/50 \pm 4/51$ میلی اکی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p>0/05$).



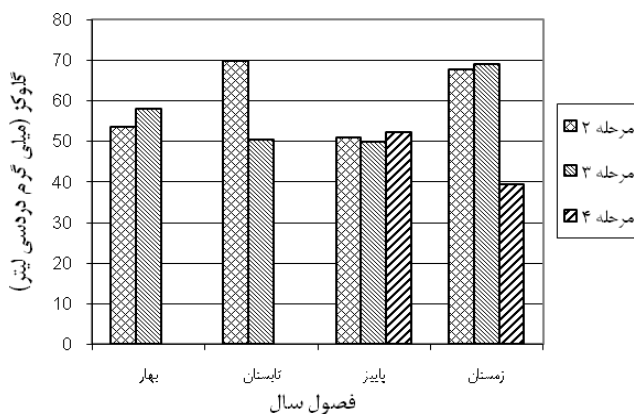
نمودار ۳۰-۳: تستوسترون سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



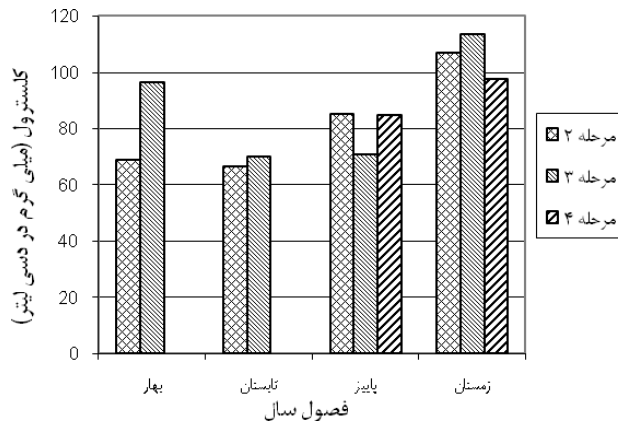
نمودار ۳۱-۳: پروژسترون سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



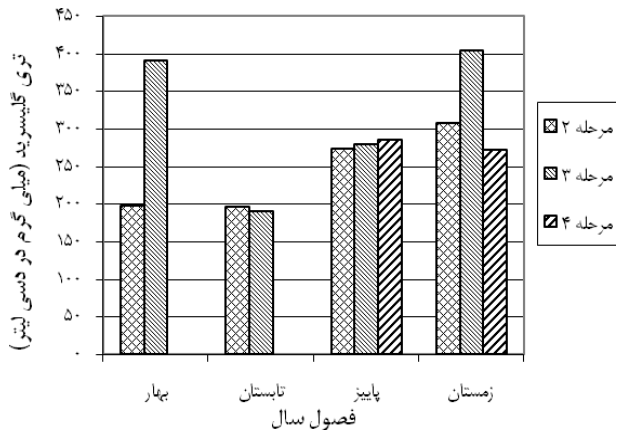
نمودار ۳۲-۳: استرادیول سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



نمودار ۳۳-۳: گلوکز سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



نمودار ۳۴-۳: کلسترول سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



نمودار ۳۵-۳: تری گلیسرید سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف

۳-۱۱- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان ماده مرحله چهارم رسیدگی در

فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال به ترتیب $51/20 \pm 4/40$ و $50 \pm 7/64$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت

هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $0/18 \pm 0/04$ و $0/21 \pm 0/04$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $5/04 \pm 0/81$ و $2/67 \pm 0/77$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $52/20 \pm 4/28$ و $39/33 \pm 0/90$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۱/۹۳ \pm ۸۴/۸۰$ و $۹۷/۳۳ \pm ۱/۴۵$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۴). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۲۴/۹۹ \pm ۲۸۵/۶۰$ و $۲۷۲/۳۳ \pm ۴۹/۹۷$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۵). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۴۱/۷۱ \pm ۵۳۴/۸۰$ و $۵۵۰ \pm ۱۰۹/۶۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۶). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

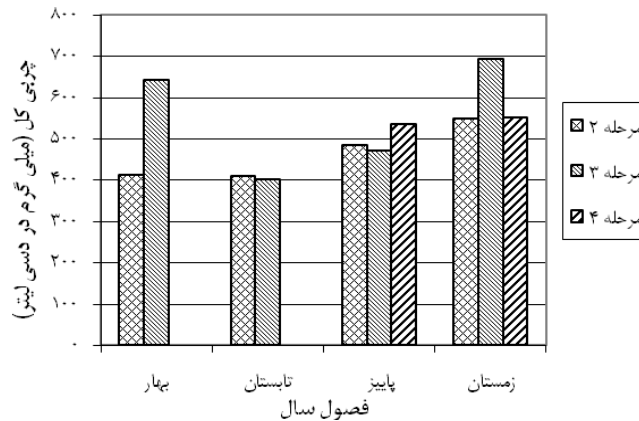
یون کلسیم

میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۰/۹۳ \pm ۱۰/۰۳$ و $۸/۹۰ \pm ۰/۱۶$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۳۷). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون

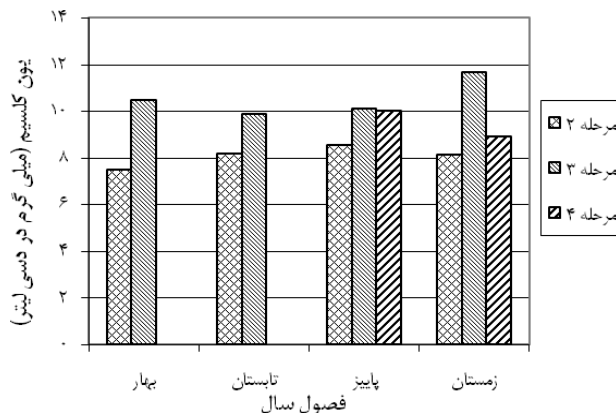
کلسیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

یون سدیم

میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۳۰/۲۰ \pm ۳/۶۷$ و $۱۳۵/۶۷ \pm ۱/۸۵$ میلی اکلی والان در لیتر بود. بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهیان ماده پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).



نمودار ۳۶-۳: چربی کل سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف



نمودار ۳۷-۳: یون کلسیم سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان ماده در فصول مختلف

۱۱-۳- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان نر مرحله دوم رسیدگی در

فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $7/30 \pm 2/44$ ، $10/27 \pm 2/04$ ، $17/20 \pm 1/07$ و $20 \pm 8/00$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۸-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در فصول بهار-تابستان-پاییز و تابستان-پاییز-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با بهار، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $0/60 \pm 0/02$ ، $0/02 \pm 0/01$ ، $0/07 \pm 0/02$ و $0/01 \pm 0/00$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۹-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $4/90 \pm 0/71$ ، $11/60 \pm 1/10$ ، $18/60 \pm 4/34$ و $3/90 \pm 0/60$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۴۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون در فصول بهار-زمستان و بهار-تابستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل پاییز با سایر فصول و تابستان با زمستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۵۳/۲۰ \pm ۹/۰۶$ ، $۴۷/۴۰ \pm ۳/۶۷$ و $۷۷/۵۰ \pm ۱۲/۵۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون در فصول پاییز-بهار و زمستان-پاییز معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با پاییز، معنادار بود ($p < 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۶۸/۴۵ \pm ۷/۷۶$ ، $۶۵/۸۳ \pm ۷/۹۰$ ، $۶۸/۲۲ \pm ۱۳/۸۸$ و $۶۴/۵۰ \pm ۱۳/۵۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۶۱/۷۷ \pm ۱۶/۵۷$ ، $۱۴۴/۱۶ \pm ۲۳/۷۸$ ، $۲۲۶/۶۰ \pm ۵۷/۷۶$ و $۴۰۶/۵۰ \pm ۷۸/۵۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون در فصول بهار-تابستان-پاییز معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با سایر فصول، معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۳۴۳/۸۵ \pm ۲۵/۰۳$ ، $۳۰۹ \pm ۲۷/۵۰$ ، $۳۸۷/۸۰ \pm ۵۷/۲۶$ و $۴۸۲ \pm ۸۶/۰۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۴-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون در فصول بهار-تابستان-پاییز و بهار-پاییز-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصل تابستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۷/۴۵ \pm ۰/۲۱$ ، $۸/۲۳ \pm ۰/۴۳$ ، $۸/۱۴ \pm ۰/۱۳$ و $۷ \pm ۰/۲۰$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۵-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

یون سدیم

میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۳۳/۴۶ \pm ۱/۳۷$ ، $۱۳۴/۳۳ \pm ۰/۶۷$ ، $۱۳۱/۲۰ \pm ۱/۹۶$ و $۱۳۹ \pm ۱/۰۰$ میلی اکی والان در لیتر بود (نمودار ۴۶-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله دوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

۱۲-۳- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان در مرحله سوم رسیدگی در

فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان در پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۳۵/۳۹ \pm ۴/۴۸$ ، $۵۴/۶۸ \pm ۳/۵۳$ ، $۶۶ \pm ۵/۶۳$ و $۶۰/۰۷ \pm ۷/۵۱$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۸-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در فصول بهار-تابستان-پاییز معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان در پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل بهار با سایر فصول، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان در پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۰/۲۱ \pm ۰/۰۵$ ، $۰/۸۵ \pm ۰/۱۸$ ، $۰/۳۸ \pm ۰/۰۸$ و $۰/۳۶ \pm ۰/۰۵$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۹-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون در فصول بهار-پاییز-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان در پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان با سایر فصول، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان در پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۷/۲۳ \pm ۱/۱۰$ ، $۱۰/۱۷ \pm ۰/۸۸$ ، $۵/۲۴ \pm ۱/۱۲$ و $۲/۲۰ \pm ۰/۳۴$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۴۰-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون در فصول پاییز-بهار معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی

اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل تابستان و بهار با سایر فصول، معنادار بود ($p < 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۵۹/۱۱ \pm ۸/۲۹$ ، $۴۶/۹۲ \pm ۴/۶۱$ و $۶۰/۷۱ \pm ۳/۹۵$ و $۵۸/۹۲ \pm ۴/۹۳$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۱-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۸۳/۸۸ \pm ۷/۵۳$ ، $۷۶ \pm ۶/۲۷$ ، $۹۷/۵۷ \pm ۷/۱۰$ و $۸۹ \pm ۵/۱۵$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۲-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون در فصول بهار-تابستان-زمستان و بهار-پاییز-زمستان معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل پاییز با تابستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۲۲۹/۷۷ \pm ۲۸/۳۰$ ، $۲۹۵/۸۱ \pm ۲۸/۲۰$ ، $۴۶۵/۸۶ \pm ۴۵/۹۹$ و $۴۹۹/۳۱ \pm ۶۲/۷۳$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون در فصول بهار-تابستان و پاییز-زمستان، معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار و تابستان با پاییز و زمستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

چربی کل

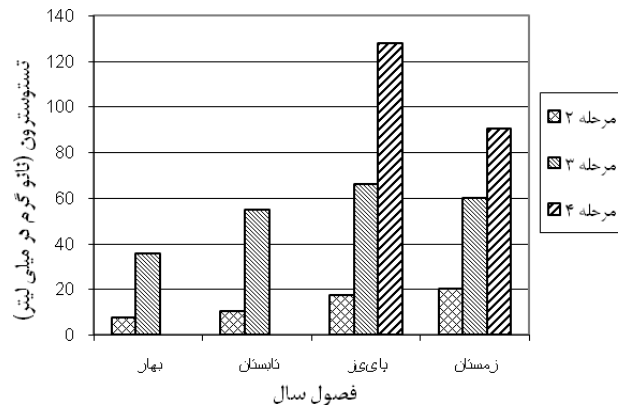
میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۵۲۰/۱۱ \pm ۴۴/۶۸$ ، $۵۲۳/۶۹ \pm ۴۵/۱۳$ ، $۶۷۹/۲۸ \pm ۶۳/۲۴$ و $۷۷۲/۷۷ \pm ۱۰۰/۳۲$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۴-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون در فصول بهار-تابستان- پاییز و پاییز-زمستان، معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصول بهار و تابستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

یون کلسیم

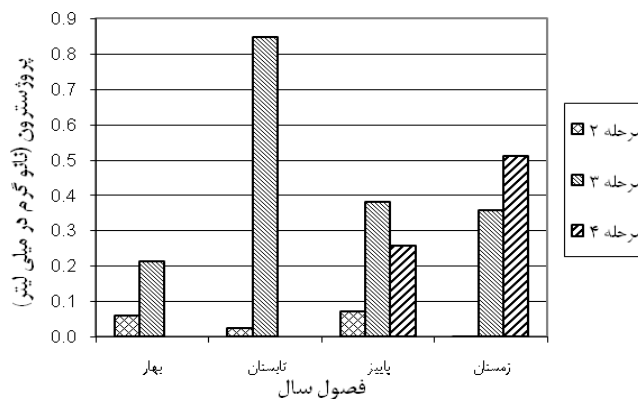
میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۸/۵۳ \pm ۰/۱۳$ ، $۸/۵۷ \pm ۰/۲۲۳$ ، $۹/۱۱ \pm ۰/۴۴$ و $۸/۳۴ \pm ۰/۲۷$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۵-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول مختلف سال، معنادار نبود ($p > 0/05$).

یون سدیم

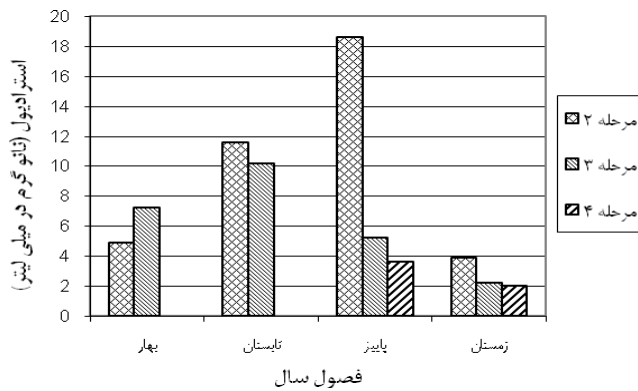
میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۳۳/۵۵ \pm ۱/۳۲$ ، $۱۳۵/۸۷ \pm ۱/۰۴$ ، $۱۳۲/۵۷ \pm ۱/۵۷$ و $۱۳۸/۷۷ \pm ۱/۵۱$ میلی اکی والان در لیتر بود (نمودار ۴۶-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین یون سدیم سرم خون در فصول بهار-تابستان- پاییز و تابستان-زمستان، معنادار نبود ($p > 0/05$)؛ ولی اختلاف بین غلظت یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله سوم رسیدگی جنسی در فصل زمستان با فصول بهار و پاییز، معنادار بود ($p < 0/05$).



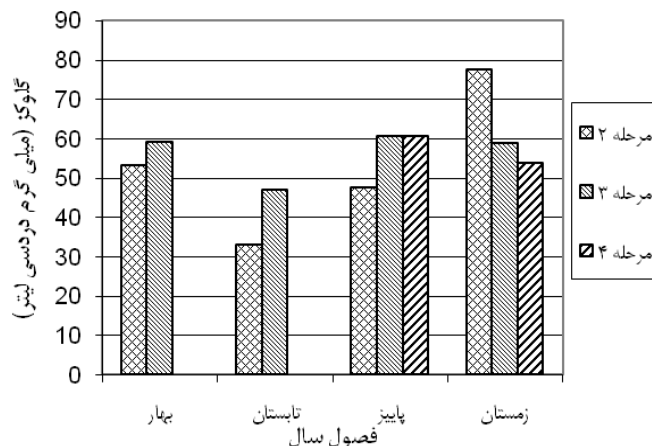
نمودار ۳۸-۳: تستوسترون سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



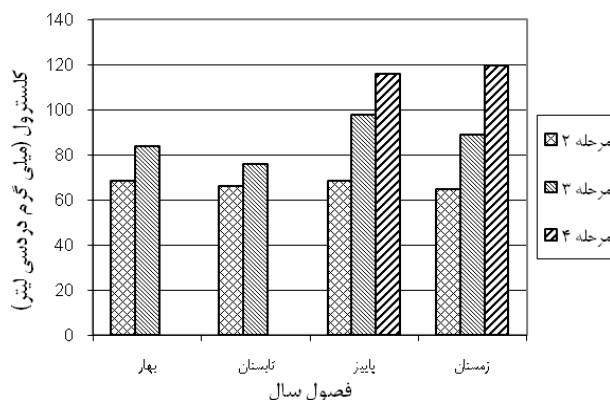
نمودار ۳۹-۳: پروژسترون سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



نمودار ۴۰-۳: استرادیول سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



نمودار ۴۱-۳: گلوکز سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



نمودار ۴۲-۳: کلسترول سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف

۱۴-۳- شاخص های هورمونی، بیوشیمیایی و یونی سرم خون فیل ماهیان نر مرحله چهارم رسیدگی

در فصول مختلف

هورمون تستوسترون

میانگین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال به ترتیب $128 \pm 8/96$ و $90/14 \pm 6/36$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳۸-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان،

معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون پروژسترون

میانگین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۰/۲۶ \pm ۰/۴۸$ و $۰/۵۱ \pm ۰/۰۱$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳-۳۹). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون پروژسترون سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

هورمون استرادیول

میانگین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۳/۶۳ \pm ۰/۳۱$ و $۲ \pm ۰/۲۸$ نانوگرم در میلی لیتر بود (نمودار ۳-۴۰). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار بود ($p < 0/05$).

گلوکز

میانگین مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۶۰/۷۰ \pm ۴/۶۰$ و $۵۳/۷۱ \pm ۴/۰۲$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۴۱). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت گلوکز سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p > 0/05$).

کلسترول

میانگین مقدار کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $۱۱۵/۸۰ \pm ۷/۱۶$ و $۱۱۹/۵۷ \pm ۱۱/۸۹$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۳-۴۲). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت کلسترول سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p > 0/05$).

تری گلیسرید

میانگین مقدار تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $526/60 \pm 31/76$ و $460/28 \pm 101/55$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۳-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت تری گلیسرید سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

چربی کل

میانگین مقدار چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $787/30 \pm 41/31$ و $837/71 \pm 134/92$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۴-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت چربی کل سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

یون کلسیم

میانگین مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $8/68 \pm 0/17$ و $8/90 \pm 0/12$ میلی گرم در دسی لیتر بود (نمودار ۴۵-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

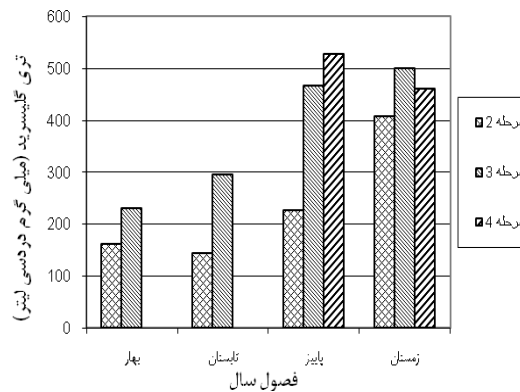
یون سدیم

میانگین مقدار یون سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی در فصول پاییز و زمستان در طی ۳ سال بترتیب $134/40 \pm 1/26$ و $137 \pm 2/30$ میلی اکی والان در لیتر بود (نمودار ۴۶-۳). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون جداساز دانکن در سطح ۹۵ درصد اعتماد، اختلاف بین غلظت یون

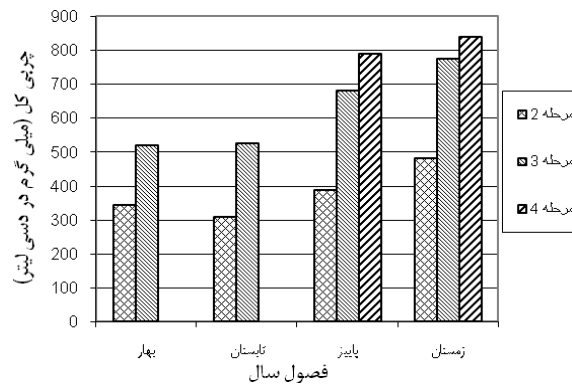
سدیم سرم خون فیل ماهیان نر پرورشی مرحله چهارم رسیدگی جنسی فصول پاییز و زمستان، معنادار نبود ($p>0/05$).

۱۵-۳- ضریب همبستگی بین طول و وزن فیل ماهیان نر در طول دوره مطالعه

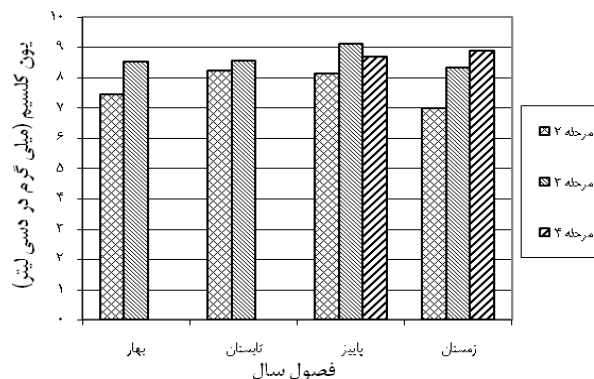
همبستگی بین وزن و طول فیل ماهیان پرورشی ماده و نر بترتیب $r^2 = 0/79$ و $r^2 = 0/76$ بود که از نظر آماری در هر دو جنس این همبستگی در مرتبه قوی قرار داشت (نمودار ۳-۴۷ و نمودار ۳-۴۸).



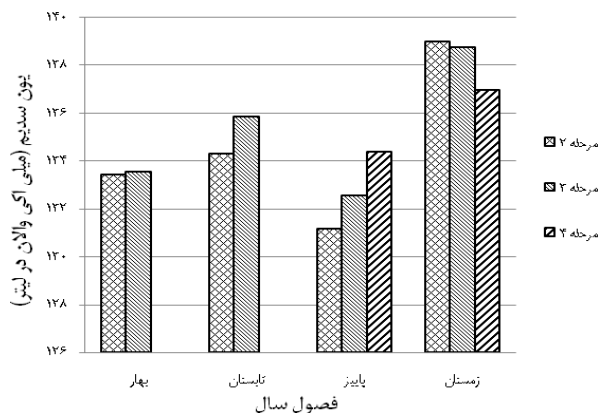
نمودار ۳-۴۳: تری گلیسرید سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



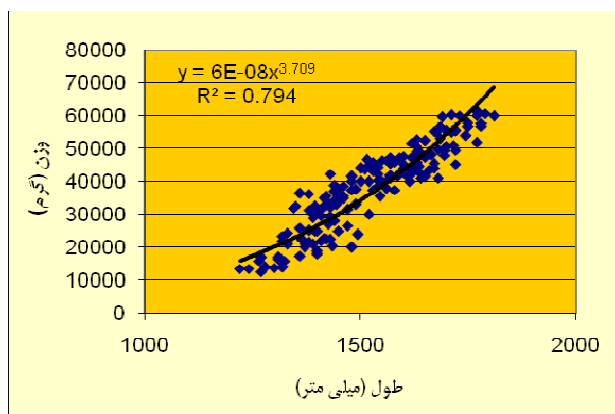
نمودار ۳-۴۴: چربی کل سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



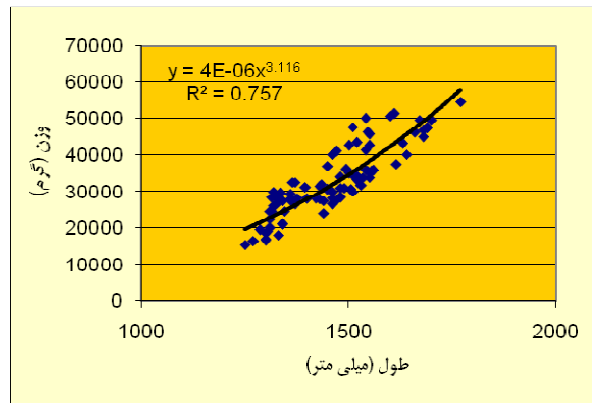
نمودار ۳-۴۵: یون کلسیم سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



نمودار ۳-۴۶: یون سدیم سرم خون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی فیل ماهیان نر در فصول مختلف



نمودار ۳-۴۷: ضریب همبستگی بین وزن و طول فیل ماهیان ماده پرورشی در طول دوره مطالعه



نمودار ۴۸-۳: ضریب همبستگی بین وزن و طول فیل ماهیان نر پرورشی در طول دوره مطالعه

۱۶-۳- بافت شناسی غدد جنسی فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه

نتایج بافت شناسی گناد فیل ماهیان مورد آزمون نشان داد که در آغاز دوره، گناد هر دو جنس فیل ماهی پرورشی در مرحله دوم رسیدگی جنسی بود (اشکال ۱-۳ و ۴-۳). در ادامه آزمون، برخی از فیل ماهیان در هر دو جنس به مرحله سوم رسیدگی جنسی (اشکال ۲-۳ و ۵-۳) رسیدند. در پایان دوره مطالعه همه فیل ماهیان نر و ۴ قطعه از فیل ماهیان ماده به مرحله چهارم و پنجم رسیدگی جنسی رسیدند (اشکال ۳-۳ و ۶-۳). بر پایه نتایج بدست آمده فیل ماهیان نر در سنین پایین تر از فیل ماهیان ماده و هر دو جنس بسیار زودتر از فیل ماهیان وحشی به مرحله بلوغ جنسی رسیدند.

همچنین نتایج بیانگر این موضوع بود که برخلاف مولدین فیل ماهی وحشی که از اواخر بهمن ماه و بطور ویژه در اسفند ماه با توجه به دمای طبیعی به تخم ریزی و اسپرم ریزی می رسند، مولدین فیل ماهی پرورشی در هر دو جنس، آبان ماه به بهینه مرحله زادآوری خود رسیدند.

ویژگی های اسپرم فیلماهیان نر پرورشی ۹ ساله

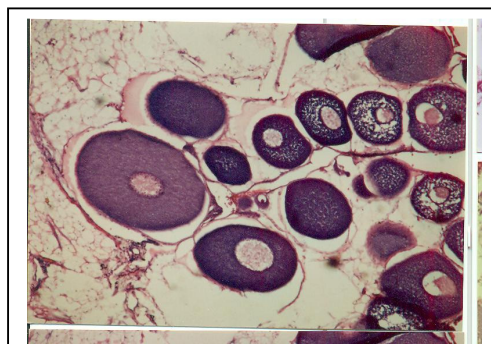
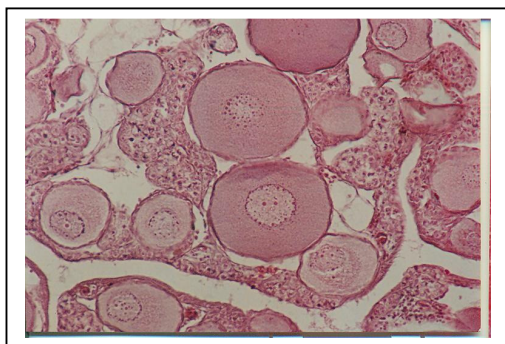
بر اساس بررسی های کیفی و کمی اسپرم های استحصالی از فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه، درصد بالایی از آنها دارای اسپرم مناسب بودند (شکل ۷-۳)، بطوری که از چهار فیل ماهی نر بیش از ۵/۵۰ لیتر اسپرم استحصال گردید.

شماره پلاک و نمونه	اسمولیته میلی اسمول در لیتر	مدت زمان تحرک (ثانیه)	درصد تحرک	کیفیت تحرک سرعت چرخش	تراکم ۰/۱ سانتی متر مکعب	اسپرماتوکریت rpm5000*5 درصد	pH
۹۶۱۶ نر شماره ۲	۱۸۶	۱/۴۵	۳۰	ضعیف	۱۴۷۰۰۰۰ ۱۶۰۰۰۰۰	۰/۵-۲	۷/۳۸
۹۶۹۵ نر شماره ۳	۱۸۵	۲/۴۵	۶۰-۷۰	خوب	۱۸۹۰۰۰۰ ۲۰۰۰۰۰۰	۳	۷/۲۲
۹۶۹۰ نر شماره ۸	۱۶۵	۱/۲۰	۶۰	خوب	۱۶۶۵۰۰۰ ۱۸۰۰۰۰۰	۲	۷/۰۲
۶۸۹۶	۱۹۹	۲/۳۶	۶۰	خوب	۲۶۲۵۰۰۰	۵	۷/۷۱

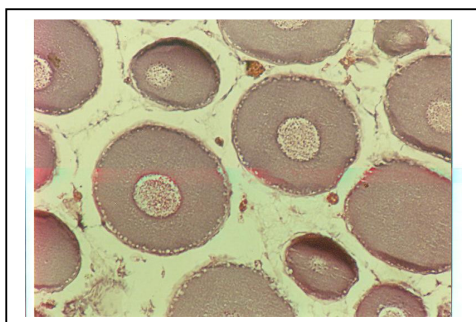
جدول ۱-۳: ویژگی های کمی و کیفی اسپرم استحصالی از فیل ماهیان نر پرورشی مورد مطالعه

تکثیر مصنوعی و تولید لارو و بچه فیل ماهی

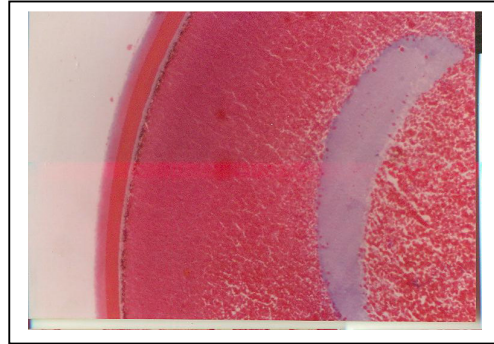
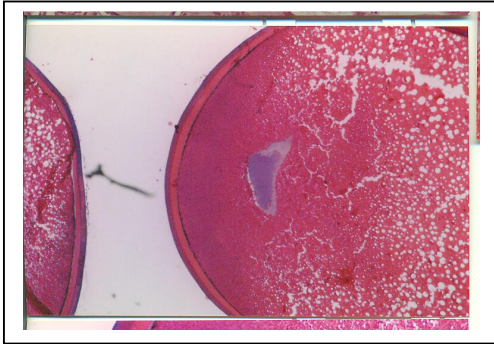
نتایج نشان داد که لارو و بچه فیل ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی مولدین پرورشی، از کمیت، کیفیت و رشد و نمو مناسبی برخوردار بودند (اشکال ۸-۳ الی ۱۰-۳).



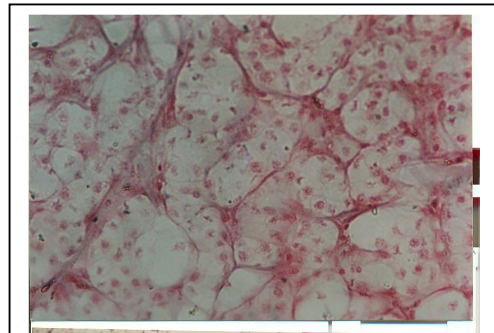
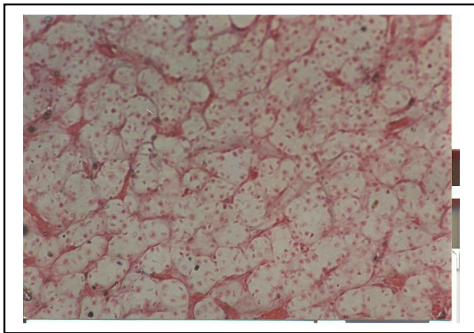
شکل ۱-۳: اسلایدهای بافتی تخمدان فیل ماهیان پرورشی ماده مورد مطالعه در مرحله دوم رسیدگی جنسی



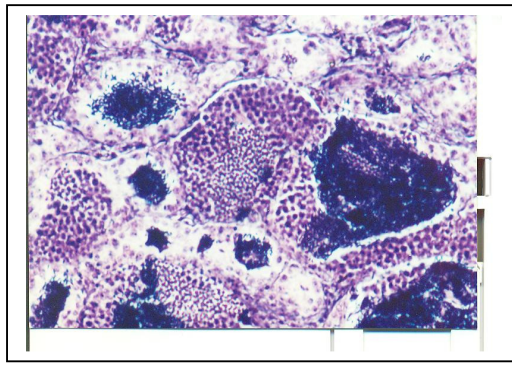
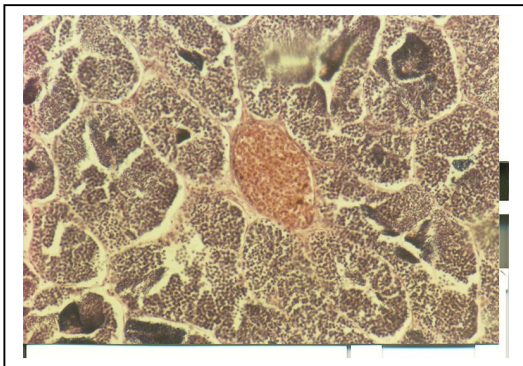
شکل ۲-۳: اسلایدهای بافتی تخمدان فیل ماهیان پرورشی ماده مورد مطالعه در مرحله سوم رسیدگی جنسی



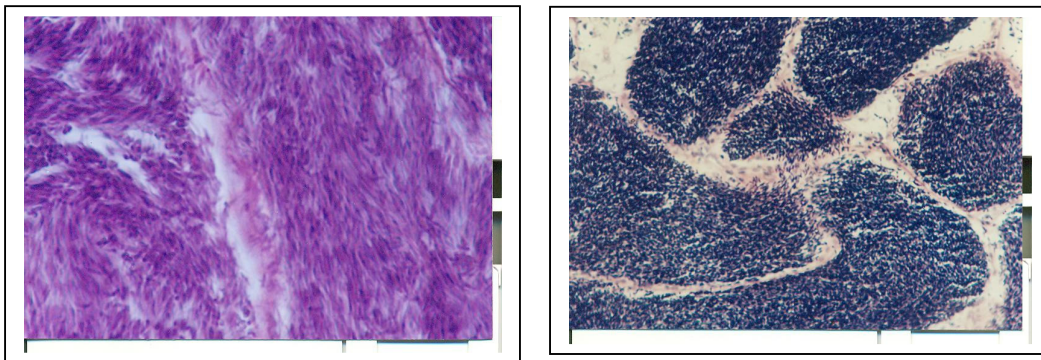
شکل ۳-۳: اسلایدهای بافتی تخمدان فیل ماهیان پرورشی
ماده مورد مطالعه در مرحله چهارم رسیدگی جنسی



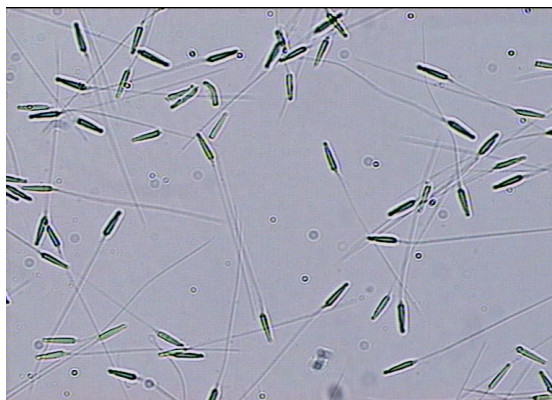
شکل ۳-۴: اسلایدهای بافتی بیضه فیل ماهیان پرورشی نر
مورد مطالعه در مرحله دوم رسیدگی جنسی



شکل ۳-۵: اسلایدهای بافتی بیضه فیل ماهیان پرورشی
نر مورد مطالعه در مرحله سوم رسیدگی جنسی



شکل ۶-۳: اسلایدهای بافتی بیضه فیلم ماهیان پرورشی نو
مورد مطالعه در مرحله چهارم رسیدگی جنسی



شکل ۷-۳: اسپرم فیلم ماهیان پرورشی نو (مرحله پنجم رسیدگی جنسی)



شکل ۸-۳: بچه ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی فیلم ماهیان
پرورشی پس از سازگاری غذایی



شکل ۹-۳: بچه ماهیان سه ماهه حاصل از تکثیر مصنوعی فیل ماهیان پرورشی



شکل ۱۰-۳: بچه ماهیان پنج ماهه حاصل از تکثیر مصنوعی فیل ماهیان پرورشی

۴- بحث

۴-۱- شاخص های بیوشیمیایی خون

گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید و چربی کل خون

مقدار گلوکز سرم خون شاخص مناسبی برای پاسخ های ثانویه استرسی ماهی به شرایط نامناسب محیطی Zhou et al., 2011). گلوکز اصلی ترین ماده حاصل از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می باشد. (2009) که تغییرات روزانه آن با تغییرات هورمون های کورتیزول و تیروئید در ارتباط است. مقدار گلوکز خون بسته به گونه ماهی در محدوده ۳۵-۳۵۰ میلی گرم در دسی لیتر (Ahmadifar et al., 2010) متغیر می باشد. میانگین غلظت گلوکز خون در فیل ماهیان پرورشی نر و ماده پرورشی در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنادار اما در مرحله چهارم رسیدگی جنسی در سطح ۹۵ درصد اعتماد دارای اختلاف معنادار بودند. غلظت کلسترول، تری گلیسرید و چربی کل سرم خون در هر دو جنس نر و ماده از مرحله دوم بسمت مرحله چهارم رسیدگی جنسی افزایش یافت و در سطح ۹۵ درصد بین دو جنس نر و ماده، اختلاف بین غلظت آنها (بجز کلسترول در مرحله سوم رسیدگی جنسی) معنادار بود. همچنین پارامترهای فوق در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در فصول مختلف از غلظت های متفاوتی برخوردار بودند. نتایج مطالعات ما با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت.

Mohammadi Zarejabad و همکاران (۲۰۱۰) بدون ارایه دلیل خاص اعلام داشتند که سطوح گلوکز خون فیل ماهیان جوان با افزایش دما کاهش یافت. بنابراین غلظت گلوکز خون با تغییر دمای آب و تغییر فصل سال (مشابه نتایج ما)، ممکن است تغییر نماید (Satheeshkumar et al., 2010). البته دما تنها عامل مؤثر در تغییر غلظت گلوکز خون نیست زیرا این پارامتر می تواند با اندازه، سن و مراحل تولید مثلی و غذا (Bani and Haghi Vayghan, 2009) متغیر باشد. زیرا از یک طرف در شرایط اعلام شده فوق به دلیل وضعیت متفاوت، ماهی از میزان سوخت و ساز متفاوتی برخوردار بوده، به همین دلیل سطح گلوکز خون در مراحل و وضعیت های مختلف زندگی، متفاوت خواهد بود و از طرف دیگر به دلیل جایگزینی برخی از منابع بجای گلوکز، سطح آن در خون تغییر نخواهد کرد. بر اساس دلایل بخش نخست، سطح غلظت گلوکز خون ماهیان پرورشی یک گونه نسبت به ماهیان وحشی

همان گونه بالاتر است (Satheeshkumar et al., 2010; Gul et al., 2011; Zhou et al., 2009). چون بخشی از غلظت بالای گلوکز مشاهده شده در ماهیان پرورشی به مقادیر بالای گلیکوژن ذخیره در ماهیان پرورشی نسبت به ماهیان وحشی نسبت داده می شود (Zhou et al., 2009). اما بر اساس بخش دوم، Beyea و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که عدم اختلاف در غلظت گلوکز خون در شرایط استرس زا در تاسماهی پوزه کوتاه، *Acipenser brevirostrum* می تواند به دلیل جایگزینی برخی از منابع انرژی (مانند اسیدهای چرب) بجای گلوکز توسط ماهی باشد و یا اصولاً در این شرایط خاص ماهی نیاز فوری به منبع انرژی جهت گریز از سازگاری با عامل استرس زا نداشته باشد. زیرا بررسی روی خون تاسماهی آدریاتیک، *Acipenser naccarii* نشان داد که گلوکز پلاسما خون پس از دستکاری مزمن و استرس ناشی از محبوس بودن آنها در یک تانک، افزایش نیافت (Cataldi et al., 1998). بنابراین در تاسماهیان نیازی به بسیج گلوکز برای تسهیل تقاضای سوخت و ساز در طول دوره برگشت از استرس نیست. همچنین تحقیقات نشان داد که مقدار گلوکز خون در ماهیان تنبل و کف زی کمتر از ماهیان فعال و پلاژیک است. به همین دلیل می توان گفت غلظت گلوکز خون تاسماهیان نسبت به برخی از ماهیان استخوانی عالی پایین تر است. در واقع حساسیت تاسماهیان به شرایط استرس زا نسبت به برخی از ماهیان استخوانی کمتر است (Baker et al., 2005). همچنین Kieffer و همکاران (۲۰۱۱) با اعلام افزایش اندک غلظت گلوکز خون در تاسماهی آتلانتیک در برابر عوامل استرس زا (دما) بیان داشتند که این موضوع به دلیل پایین بودن نرخ سوخت و ساز در این گروه از ماهیان می باشد. نتایج فوق از یک نقطه نظر مشابه نتایج ما بود. زیرا مقدار گلوکز سرم خون فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه اگرچه در جنس ماده از مرحله دوم رسیدگی جنسی بطرف مراحل بالاتر افزایش یافت، ولی در جنس نر عکس حالت فوق رخ داد و در هر دو جنس در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در فصول مختلف سال و نیز بین جنسیت اگرچه تفاوت داشت ولی اختلاف معنادار نبود. در واقع نتایج متفاوت سایر محققین هر یک به نوعی می تواند در جایگاه خود (سن، فصل، مراحل رسیدگی جنسی، استرس و ...) درست باشد. با توجه به آنچه که بیان شد بنظر می رسد که نظریه Cataldi و همکاران (۱۹۹۸) در این خصوص منطقی باشد.

Asadi و همکاران (۲۰۰۶) سطح غلظت گلوکز خون فیل ماهیان جوان ۳-۴ ساله را مشابه تاسماهی آتلانتیک و تاسماهی پوزه کوتاه و بیشتر از تاسماهی ایتالیایی یا آدریاتیک اعلام کردند. همچنین آنها غلظت گلوکز سرم

خون فیل ماهیان جوان پرورشی نر را بسیار بالاتر از ماهیان ماده عنوان کرده، نتیجه گرفتند که نوع زیستگاه و جنسیت در مقدار گلوکز خون مؤثر می باشد. اما نتایج مطالعات حاضر سطح غلظت گلوکز خون را در نه تنها وابسته به جنسیت می داند بلکه آن را وابسته به مراحل رسیدگی جنسی و زمان (فصل سال) هم می داند. زیرا در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در یک زیستگاه و شرایط تغذیه ای یکسان و در فصول مختلف سال مقادیر سطح غلظت گلوکز خون در شرایط اعلام شده فوق متفاوت بود.

همچنین Asadi و همکاران (۲۰۰۹) سطح غلظت گلوکز خون تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* و ازون برون *Acipenser stellatus*، جوان سواحل جنوبی دریای خزر را بالاتر از تاسماهی آتلانتیک *Acipenser oxyrinchus* تاسماهی پوزه کوتاه (Baker et al., 2005) و تاسماهی آدریاتیک (Cataldi et al., 1998) اعلام و بیان کردند که بالاتر بودن سطح گلوکز خون تاسماهی ایرانی و ازون برون به دلیل بالاتر بودن نرخ رشد و ضریب تبدیل غذایی در این گونه ها می باشد. اما از دیدگاه مطالعه حاضر، این عامل نمی تواند تنها عامل اختلاف در میزان غلظت گلوکز خون باشد. زیرا ماهیان مورد استفاده در سه پژوهش مورد اشاره از نظر زیستگاه، سن، نوع ماده غذایی و ... بسیار متفاوت بودند. بنابراین بر اساس نتایج پژوهش حاضر همان طور که پیش تر بیان شد، می توان گفت سن، گونه، پرورشی یا وحشی بودن گونه، فصل صید، جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در میزان غلظت سطح گلوکز خون مؤثر خواهند بود. از طرف دیگر Xiaotao و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی مقادیر گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید در دو گونه تاسماهی چینی *Acipenser sinensis* و تاسماهی آمور *Acipenser schrenckii* بیان داشتند که غلظت این پارامترهای بیوشیمیایی در دو گونه با یکدیگر دارای اختلاف معنادار بود. آنها بر اساس نتایج خود اعلام کردند که این اختلاف به تکامل این دو گونه در محیط های مختلف برمی گردد. زیرا تاسماهی چینی گونه ای آنادروموس و تاسماهی آمور، گونه ای رود زیست می باشد. بنابراین مشاهده تفاوت در مقدار پارامترهای خونی ممکن است به نوع پاسخ ماهی به تغییرات محیط خود برگردد. مقادیر پایه هر پارامتر بیوشیمیایی خون به سازگاری موجود با محیط زیست خود در تکامل وابسته است.

افزایش غلظت گلوکز خون از طریق مکانیزمی رخ می دهد که در آن واکنش بیوشیمیایی گلیکوژن و تغییر بافت گلیکوژن به گلوکز رخ می دهد و گلوکز در داخل خون تجمع می یابد (Ahmadifar et al., 2010).

(Bani and Haghi Vayghan, 2009) در خصوص ماهی سفید مولد اعلام داشتند که در فصل زمستان (پیش از تخم ریزی)، غلظت گلوکز پلاسما خون در پایین ترین سطح خود قرار داشت. این کاهش می تواند بازتاب کاهش دریافت غذا و افزایش آن در بافت ها توسط هورمون پانکراتیک باشد. همچنین کاهش گلوکز در پیش از تخم ریزی می تواند با نیاز شدید به انرژی جهت توسعه گنادی و اثرات تولید مثلی یا غالبیت فقر غذایی مشاهده شده در زمستان در ارتباط باشد. این در حالی است که نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نه تنها فصل بلکه جنسیت و مرحله جنسی نیز می تواند غلظت گلوکز سرم خون را تعیین نماید. زیرا از دیدگاه ما و بر اساس نتایج بدست آمده، نیازهای متفاوت فیزیولوژیک گنادهای مختلف رسیدگی جنسی و نیز دمای محیط یا فصل سال، نوع جنسیت، گونه، شرایط منطقه زیست و نوع غذایی مصرفی می تواند غلظت گلوکز سرم خون را تحت تأثیر قرار دهند و تکیه بر یک عامل به تنهایی نمی تواند پاسخ مناسب و منطقی برای تفسیر یافته های ما باشد.

غلظت کلسترول خون ماهیان در بین و درون گونه ها بسته به نوع تغذیه، شدت فعالیت و مرحله رشد و نمو جنسی می تواند متفاوت و متغیر باشد. کلسترول پیش ماده ساخت هورمون های استروئیدی است (Bolasina, 2006) که تحت شرایط استرس، غلظت آن در خون افزایش می یابد و ممکن است تهیه کننده افزایش ساخت هورمون کورتیزول باشد (Hoseini *et al.*, 2010).

غلظت کلسترول و تری گلیسرید سرم خون ماهی سفید مولد از پاییز تا بهار یعنی زمانی که تخمدان ماهیان ماده در حال رشد و توسعه است کاهش یافت. علت این امر استفاده از ذخایر چربی در مرحله زرده زایی و نیز در طول مدت مهاجرت تولید مثلی بیان شده است (Bani and Haghi Vayghan, 2011). اما بر اساس نتایج حاضر با افزایش رسیدگی جنسی سطح تری گلیسرید، کلسترول و چربی کل خون بطور معناداری در هر دو جنس افزایش یافت که این افزایش در ماهیان نر با شدت بیشتری همراه بود. زیرا جهت توسعه گنادی ماهیان و نیز آماده سازی فیزیولوژیک ماهی جهت عمل تولید مثل و افزایش هورمون های جنسی افزایش این پارامترها ضروری و منطقی بنظر می رسد. همچنین در برخی از ماهیان مانند کاد انرژی مورد نیاز برای رشد و نمو گنادی فقط از کلسترول تأمین می گردد. نقش کلسترول در توسعه و رشد تخمک ها در زمان تولید مثل ماهیان به اثبات رسیده است. همچنین در فصل تخم ریزی میزان کلسترول خون به اندازه ماهی، وضعیت چرخه تولید مثلی و تغییرات فصلی بستگی دارد.

سطوح غلظت تری گلیسرید، کلسترول به عنوان شاخص های اصلی وضعیت سلامت ماهیان استخوانی عالی مطرح می باشد (Gul et al., 2011; Zhou et al., 2009)؛ بطوری که تغییر در غلظت کلسترول بازگو کننده سوخت و ساز در کبد است.

مقدار کلسترول در ماهیان پرورشی نسبت به ماهیان وحشی همان گونه بالاتر است. اما افزایش بیش از حد غلظت کلسترول در یک گروه از ماهیان بیانگر بی نظمی سوخت و ساز چربی و لیپوپروتئین بویژه تخریب کارایی فیزیولوژیک کبد است (Gul et al., 2011; Zhou et al., 2009). غلظت کلسترول با افزایش چربی در جیره غذایی و اندازه ماهی افزایش می یابد (Satheeshkumar et al., 2010) که در این مطالعه نیز اتفاق افتاد.

یون کلسیم

مقدار یون کلسیم در ماهیان توسط کلیه ها تنظیم می شود. مقدار این یون در ماهیان آب شیرین بین ۸-۱۲ میلی گرم در دسی لیتر می باشد و عوامل استرس زا و تغییرات دمایی شبانه روزی اثر ناچیزی روی کلسیم خون دارند. افزایش کلسیم می تواند با افزایش غلظت پروتئین خون، تغییرات ارتعاشی و استرس مزمن همراه باشد.

نتایج این بررسی نشان داد که غلظت کلسیم سرم خون در هر دو جنس فیل ماهیان پرورشی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی متفاوت بوده، در یک مرحله مشخص جنسی مقدار یون کلسیم خون فیل ماهیان پرورشی ماده همواره بالاتر از نر بود. ضمناً در مرحله سوم این اختلاف بین دو جنس معنادار بود.

Mohammadi Zarejabad و همکاران (۲۰۱۰b) بدون ارایه دلیل خاص اعلام داشتند که مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان جوان با افزایش دما افزایش یافت.

Asadi و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی میزان یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی ۳-۴ ساله بیان کردند که غلظت یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان جوان پرورشی مشابه غلظت یون کلسیم سرم خون ماهیان استخوانی آب شیرین بوده، در جنس های نر و ماده نیز یکسان است. یعنی یون کلسیم فاکتور وابسته به جنس نیست. اما نتایج ما عکس این فرضیه را بیان می کند. بنظر می رسد در سن نابالغ این نظر درست باشد ولی با افزایش سن و پیشرفت گناد به سمت بلوغ، یون کلسیم پارامتری وابسته به مرحله جنسی و جنسیت می گردد. Shahsavani و

همکاران (۲۰۱۰) با بررسی یون کلسیم سرم خون ازون برون های بالغ طبیعی سواحل جنوبی دریای خزر بدون ذکر دلیل، اعلام داشتند که مقدار این یون در سرم خون ازون برون بیش از گونه های تاسماهی سبز، *medirostris* *Acipenser* تاسماهی آتلانتیک و تاسماهی روسی بود. نتایج ما نیز نشان داد که مقدار یون کلسیم سرم خون فیل ماهیان پرورشی مطالعه حاضر بیش از ازون برون های طبیعی (Shahsavani et al., 2010) و فیل ماهیان پرورشی جوان (Asadi et al., 2006) و بچه فیل ماهیان (Hoseini et al., 2010) و کمتر از ماهیان استخوانی (Borges et al., 2004) بود. زیرا تمامی فیل ماهیان مورد مطالعه در مسیر توسعه گنادی و بلوغ قرار داشتند. از طرف دیگر مولدین پرورشی از پارامترهای بیوشیمیایی خون بالاتری نسبت به مولدین طبیعی همان گونه برخوردارند.

مطالعات نشان داد که سطوح کلسیم با چرخه تولید مثلی و رسیدگی گناد ارتباط دارد. یعنی برای تشکیل دانه ها و مولکول های زرده، وجود یون کلسیم امری ضروری است (Tsai and Wang 2000). نتایج تحقیقات حاضر نیز ارتباط بین یون کلسیم و چرخه تولید مثلی را نشان داد.

همچنین مطالعات نشان داد که کلسیم کل پلاسما ی خون بطور قابل ملاحظه ای تا زمان تخم ریزی افزایش می یابد. زیرا اجسام استانیوس در ماهی ماده طی چرخه تخمدانی متناسب با رشد تخمدان ها افزایش می یابند. این افزایش اصولاً به واسطه اتصال یون کلسیم به پروتئین ها (ذرات زرده) می باشد. در این بررسی، برداشت اجسام استانیوس در نر بی تاثیر بود در حالی که در ماده ها باعث کاهش سطح کلسیم خون شد (Ursa and Wandelaar, 1985). نتایج پژوهش حاضر نیز افزایش یون کلسیم را در ماده های در حال ساخت زرده نشان داد بطوری که اختلاف سطوح کلسیم در دو جنس معنادار بود. همچنین مطالعات نشان داد که در زمان زرده سازی با افزایش هورمون استرادیول، یون کلسیم خون نیز افزایش می یابد (Stahl, et al., 2009). بنابراین می توان بجای تعیین و تیلوژن سرم خون از سطوح کلسیم برای تعیین مرحله زرده سازی ماهیان ماده استفاده کرد.

یون سدیم

مقدار یون سدیم فیل ماهیان پرورشی نر و ماده در هیچ شرایطی دارای اختلاف معنادار نبود و مقدار آن از مقدار غلظت یون سدیم سرم خون ماهیان استخوانی آب شیرین پایین تر بود. یون سدیم مهمترین یون تنظیم کننده فشار اسمزی ماهیان استخوانی در آب شیرین است (Kazemi et al., 2006) و چون محیط زیست و گونه همه ماهیان مورد آزمون یکسان بود، بنابراین نتایج بدست آمده در این بررسی در خصوص یون سدیم در شرایط مختلف

آزمون، منطقی بود. از طرف دیگر مطالعه Kazemi و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که بین جنسیت نر و ماده تاسماهی ایرانی از نظر مقدار یون سدیم خون اختلافی وجود نداشت. زیرا آنها معتقد بودند که یون سدیم سرم خون، پارامتر وابسته به جنس نیست. مطالعه حاضر نیز به چنین نتایج مشابهی دست یافت.

۲-۴- هورمون های استروئیدی

هورمون های استروئیدی (تستوسترون، پروژسترون و استرادیول)

نتایج پژوهش ما نشان داد که غلظت هورمون جنسی تستوسترون سرم خون فیل ماهیان پرورشی در جنس های نر و ماده با یکدیگر و نیز در درون خود در مراحل مختلف رسیدگی جنسی اختلاف معنادار داشتند. در ماهیان نر در مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی، غلظت تستوسترون در فصل پاییز بیش از سایر فصول بود. اما اگرچه در سرم خون فیل ماهیان ماده در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی فصول زمستان دارای بیشترین غلظت تستوسترون بود، ولی در مرحله چهارم رسیدگی جنسی همگام با ماهیان نر، غلظت این هورمون جنسی در فصل پاییز بیش از سایر فصول بود. همچنین در هر مرحله از رسیدگی جنسی غلظت هورمون تستوسترون سرم خون فیل ماهیان نر به مراتب بیشتر از فیل ماهیان ماده بود.

غلظت هورمون پروژسترون فیل ماهیان پرورشی نر و ماده فقط در مرحله سوم رسیدگی جنسی با یکدیگر دارای اختلاف معنادار بودند. همچنین غلظت این هورمون در مراحل مختلف رسیدگی جنسی در ارتباط با فصول مختلف سال، دارای نوسانات مختلفی در جنس های نر و ماده ولی همسو با یکدیگر بود.

غلظت هورمون استرادیول سرم خون فیل ماهیان در هر دو جنس در فصول مختلف و در مراحل مختلف جنسی با یکدیگر اختلاف داشتند. نتایج ما با نتایج بهمنی و همکاران (۱۳۸۷) در خصوص زمان بیشینه مقدار تستوسترون مغایرت داشت. آنها اعلام داشتند که بیشترین غلظت تستوسترون مولدین ازون برون پرورشی در فصل بهار رخ داده است در حالی که در پژوهش ما همانگونه که ذکر شد این افزایش بیشینه در فصل پاییز رخ داده است. اگرچه دلایل افزایش تستوسترون در هر دو گونه ماهی خاویاری مورد بحث کاهش فعالیت آنزیم آروماتاز و کاهش نیاز به هورمون استرادیول و در نتیجه عدم مصرف تستوسترون بود (Frederieke et al., 2007)، ولی تفاوت

گونه ای سبب شد که این تغییرات در دو گونه در دو فصل جداگانه رخ دهد. بنابراین بیوتکنیک هورمونی تکثیر مصنوعی در گونه های مختلف می تواند متفاوت از هم باشد.

در یک بررسی دیگر مشخص شد که میزان هورمون تستوسترون تاسماهیان طبیعی مهاجرت کرده به رودخانه ولگا جهت تولید مثل نسبت به قبل از مهاجرت دو برابر بود (Barannikova, 1997). بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) غلظت هورمون تستوسترون در مولدین تاسماهی شپ نر اسپرم گیری شده را نسبت به ماهیان نر فاقد اسپرم بیشتر اعلام نمودند. همچنین در سرم خون ماده ها نیز همزمان با تکامل رسیدگی جنسی، میزان هورمون تستوسترون افزایش یافت و افزایش در مولدین تکثیری بیشتر از ماهیان نابالغ بود. آنها میانگین میزان این هورمون را در نرها در مقایسه با ماده ها بیشتر، ولی میزان هورمون پروژسترون را در نرها کمتر اعلام نمودند. این یافته ها با یافته های ما در این پژوهش هماهنگ بود. آنها همچنین میانگین میزان هورمون تستوسترون در مولدین تاسماهی ایرانی پرورشی نر و ماده مرحله IV را معنادار و بیشتر از ماهیان مرحله III اعلام کرده، میزان این هورمون را در مرحله III علی رغم بیشتر بودن نسبت به مرحله II فاقد اختلاف معنا دار دانستند. یافته اخیر برخلاف یافته های ما در این پژوهش بود. با توجه به زرده سازی مرحله سوم و نیز تقسیمات شدید جهت تولید اسپرماتید از اسپرماتوسیت های ثانویه، میزان غلظت هورمون تستوسترون به عنوان پیش نیاز هورمون استرادیول در مولدین ماده و واکنش های بیوشیمیایی در مولدین نر، در مرحله سوم می تواند بسیار بیشتر از مرحله دوم باشد. نقش عملکردی تستوسترون در ماهیان ماده و تحریک ساخت هورمون استرادیول بوسیله آنزیم آروماتاز در یاخته های گرانولوزی لایه فولیکولار و نیز تحریک ترشح گنادوتروپین ها در طول دوره بلوغ تخمک ها (Pankhurst, 1997)، افزایش معنادار تستوسترون جهت تبدیل مداوم به هورمون استرادیول در مرحله سوم رسیدگی جنسی توجیه پذیر خواهد بود. همچنین استروئیدهای سلول های تکای تخمدان (مانند تستوسترون) قادرند به درون سلول های گرانولوزا نفوذ کرده و موجب بیان ژن آنزیم آروماتاز (P450 aro) شده و سرانجام تستوسترون به استرادیول تبدیل گردد، سپس استروئید مورد نیاز برای رشد اووسیت فراهم شود (نجفی پور، ۱۳۸۴). احتمالاً تشخیص نادرست در تعیین مراحل رسیدگی جنسی و نیز تعداد کم ماهیان بالغ مورد مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) سبب دستیابی به چنین نتیجه ای شده است.

Bukovskaya and Bayunova (۱۹۸۹) بیان داشتند که میزان غلظت تستوسترون و استرادیول تاسماهی روسی ماده و نر نواحی رودخانه ای و مصبی جنوب دریای کاسپی در مرحله دوم رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنادار و در آغاز مرحله سوم رسیدگی جنسی دارای اختلاف معنادار بود. مطالعه روی گونه های ازون برون و فیل ماهی طبیعی توسط محققین فوق نیز چنین نتایجی را در برداشت. ملک زاده ویایه و همکاران (۱۳۸۵) نیز تفاوت قابل ملاحظه و معناداری را بین غلظت هورمون های تستوسترون و استرادیول تاسماهی ایرانی ماده رسیده و نابالغ و نیز بین ماهیان بالغ نر و بالغ ماده مشاهده کردند.

Barannikova و همکاران (۱۹۹۷)، در بررسی دینامیک استروئید های جنسی در فیل ماهی با خصوصیات گنادی در شروع مهاجرت به ولگا به این نتیجه رسیدند که در ماهیان مهاجر بهاره در اوایل بهار (اردیبهشت ماه)، سطح تستوسترون در نر و ماده و سطح پروژسترون فقط در نرها بالاتر می شود. در حالی که در ماهیان پاییزه که در زمان مشابه مهاجرت کردند، سطوح هورمون های تستوسترون و پروژسترون سرم خون در مقایسه با ماهیان مهاجر بهاری کمتر بود. نرهای مهاجر زمستانی نیز سطح تستوسترون پایین تری داشتند. علت این امر را پایین تر بودن مرحله جنسی در مولدین مهاجر زمستانه در مقایسه با ماهیان مولد بهاره دانستند. آنها همچنین دریافتند که غلظت تستوسترون و استرادیول در ماده ها و پروژسترون در نرها بالاتر بود. البته با توجه به توضیحات قبلی، برخی از مغایرت های پژوهش حاضر با نتایج محققین که روی ماهیان خاویاری وحشی مطالعه کرده اند را می توان به تغییر ساختار فیزیولوژی این ماهیان در شرایط پرورشی و طبیعی ارتباط داد.

همچنین در مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۸۹)، میانگین میزان هورمون ۱۷آلفا - هیدروکسی پروژسترون و ۱۷بتا- استرادیول در مولدین شیپ اسپرم گیری شده بیشتر از ماهیان فاقد اسپرم ولی فاقد اختلاف معنا دار و میانگین میزان این هورمون ها در مولدین ماده تکثیر شده در مقایسه با ماهیان نابالغ بیشتر و دارای اختلاف معنا دار بود. آنها بیان نمودند که این اختلاف را می توان در ارتباط با نقش مهم و کلیدی این دو هورمون در فرایند زرده سازی و بلوغ نهایی در ماهیان ماده و قابلیت تبدیل آنها به یکدیگر از طریق آروماتیزه شدن دانست که به تناسب نیاز صورت می پذیرد. آنها همچنین میانگین غلظت این هورمون ها را در ماده ها بسیار بیشتر از نرها اعلام کردند. نتایج پژوهش حاضر در خصوص دو هورمون اخیر تقریباً مغایر نتایج بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) بود.

اگرچه در مطالعه ما غلظت هورمون پروژسترون در ماهیان ماده از مرحله سوم بطرف چهارم رسیدگی افزایش و در ماهیان نر کاهش نشان داد، ولی میانگین غلظت این هورمون در سرم خون ماهیان نر همواره بیشتر از ماهیان ماده بود. اما میانگین غلظت هورمون استرادیول مطالعه ما با نتایج فوق و نیز با بسیاری از یافته های مطرح شده در ذیل نیز مطابقت داشت.

Barannikova و همکاران (۲۰۰۶) و Ceapa و همکاران (۲۰۰۲)، در بررسی میزان زرده و استروئیدهای جنسی ازون برون در خلال مهاجرت تخم ریزی در رودخانه دانوب، میانگین هورمون های تستوسترون و استرادیول را برای مولدین ماده به ترتیب ۴/۲۲ و ۳۵۹/۶ نانوگرم در میلی گرم گزارش و اعلام کردند که با استفاده از غلظت این دو هورمون در سرم خون می توان جنسیت ماهیان ازون برون را در طی دوره مهاجرت تعیین نمود. نتایج پژوهش فوق با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد. در واقع در مراحل سوم و چهارم رسیدگی جنسی با اندازه گیری هورمون های تستوسترون و استرادیول می توان براحتی جنسیت و حتی مرحله جنسی را تعیین نمود.

Barannikova و همکاران (۲۰۰۳)، در بررسی نقش استروئیدها در تنظیم مهاجرت تاسماهیان نشان دادند که میزان تستوسترون در ماهیان ماده و نر فرم بهاره افزایش یافته و در مرحله IV رسیدگی جنسی به حداکثر میزان خود ($184/8 \pm 11/8$) در نرها و $105/2 \pm 30/35$ نانوگرم در میلی لیتر در ماده ها) رسید، در حالی که در ماهیان ماده و نر فرم زمستانه (مرحله III رسیدگی جنسی) میزان آن کاهش یافت و به میزان $40/9 \pm 11/8$ در ماده ها و $69 \pm 26/71$ نانوگرم در میلی لیتر در نرها رسید.

در رودخانه کلمبیا اثرات آلودگی محیطی روی نوسانات سطوح هورمونهای E2، T و همچنین سطوح کلسیم پلاسمای خون در دو جنس نر و ماده تاسماهی سفید مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج حاکی از بالا بودن سطوح هورمون T در نرها نسبت به ماده ها بود و در جنس ماده سطوح هورمون E2 بسیار پایین مشاهده شد (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۹).

Zhang و همکاران (۲۰۱۱) شرایط دمایی و تغذیه ای را عامل اختلاف در سطوح تستوسترون سرم خون تاسماهی سفید بیان کردند. آنها کاهش میزان تستوسترون و افزایش هورمون استرادیول در طی دوره پرورش را نتیجه افزایش فعالیت آروماتاز تخمدان بر اثر تغییرات دمایی محیط دانسته، تبدیل تستوسترون به استرادیول را وابسته به

تغییرات دمایی اعلام کردند که البته با نتایج مطالعات حاضر مطابقت نداشت. زیرا در این مطالعه کلیه شرایط از جمله دما برای ماهیان مورد مطالعه یکسان بود اما تغییرات این دو هورمون متفاوت از دیگری بود. بنظر می رسد روابط فیزیولوژیک حاکم بر رسیدگی جنسی و عوامل محیطی از جمله دما سبب تغییرات هماهنگ در میزان سطوح هورمون های استروئیدی جنسی می گردد. مطالعه دیگری نشان داد که مقادیر بیشتر از ۳۰ نانوگرم در میلی لیتر هورمون تستوسترون برای نگهداری وضعیت طبیعی رشد و نمو تخمدانی در آخرین مرحله اووژنیز تاسماهیان مناسب است (Webb et al, 1999; Linares-Casenave et al., 2002). نتایج محققین فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. در مطالعه ما مشخص شد که ماهیان ماده با سطح تستوسترون بالاتر (بیش از ۵۰ نانوگرم در میلی لیتر) از وضعیت رسیدگی جنسی موفق تری در آخرین مرحله اووژنیز برخوردار بودند. بنابراین برخلاف تصورات گذشته، هورمون تستوسترون حتی در مراحل پایانی رسیدگی جنسی ماهیان ماده نیز از اهمیت بالایی برخوردار است و یکی از مهمترین هورمون های جنسی در اوولاسیون تخمک می باشد.

Yousefian (۲۰۰۶) سطح هورمون استرادیول و غلظت ویتلوژن خون فیل ماهی پرورشی بالای ۲/۵ سال را شاخص مناسبی برای رشد و نمو و توسعه تخمدان و فاکتور مهمی برای گزینش ماهیان جهت مولد سازی و تکثیر مصنوعی و نیز تولید خاویار اعلام کرد. این نتایج برخلاف نتایج مطالعه ما بود. البته نتیجه فوق نمی تواند با ساختار فیزیولوژیک فیل ماهی ۲/۵ ساله پرورشی مطابقت داشته باشد. در مطالعات صورت گرفته در این گونه و در شرایط پرورشی (کاظمی و همکاران ۱۳۸۱ و ۱۳۸۳) و نیز در مطالعه حاضر، هر دو روش مطالعاتی بافتی و هورمونی نشان دادند که در سن یاد شده تخمدان و بیضه نمی تواند در وضعیت رسیدگی جنسی ای قرار داشته باشد که سطح هورمون استرادیول که خود ناشی از فعالیت خاص هورمون تستوسترون و در شرایط فیزیولوژیک خاص است، بتواند شاخص مناسبی برای گزینش ماهیان جهت مولد سازی و تکثیر مصنوعی باشد. زیرا نوسان این هورمون استروئیدی در دو جنس نر و ماده در مراحل مختلف جنسی یکسان و همسو نبود. مطالعه دیگری مشخص نمود که غلظت هورمون تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون بین تاسماهی روسی نر و ماده مرحله دوم رسیدگی جنسی فاقد اختلاف معنادار آماری بود، اما در طی دوره گامتوژنیز بشدت این هورمون ها افزایش یافت. این بررسی نشان داد که غلظت تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون در طول چرخه اووژنیز ماهیان ماده

افزایش یافت و به حداکثر مقدار خود رسید و پس از رسیدگی جنسی نهایی بشدت افت کرد. بنابراین تستوسترون در چرخه تولید هورمون های جنسی تاسماهیان ماده نقش دارد و مانند یک لایه آروماتاز در ساخت استرادیول شرکت می کند. در واقع تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون درگیر کنترل تولید مثل هستند (Barannikova, et al., 2004). همچنین Fontanin و همکاران (۱۹۸۸)، در مطالعه چرخه تولید مثلی و استروئید های جنسی ماهی سوف ماده اروپایی دریافتند که سطح هورمون تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در دوره استراحت جنسی (مرحله دوم رسیدگی جنسی) پایین بود. اما سطح هورمون های استرادیول و تستوسترون بطور معناداری پس از شروع اووژنز و در مرحله سوم رسیدگی جنسی (۴-۳ نانوگرم در میلی متر) مطابق با مطالعه ما افزایش یافت.

با توجه به آنچه که بیان شد و نیز با توجه به همبستگی نسبتاً خوبی که بین غلظت هورمون تستوسترون و غلظت استرادیول سرم خون در مرحله سوم (زرده سازی) رسیدگی جنسی به عنوان ماده پیش مصرف کننده ساخت استرادیول در فولیکول های تخمدانی وجود دارد (Nazari and Ghomi, 2010) و نیز با توجه به این که هورمون تستوسترون اصلی ترین و کلیدی ترین هورمون تولیدی گنادهای تاسماهیان است (Bukovskaya, et al., 1997) می توان نتایج مطالعه حاضر در این خصوص را درست و منطقی پنداشت.

همانند نتایج بدست آمده از بررسی حاضر، سطح هورمون تستوسترون در بسیاری از گونه های ماهیان استخوانی، بیانگر حداکثر غلظت سطح این هورمون قبل از تخم ریزی و هنگام رسیدگی نهایی تخمک ها در مولدین ماده می باشد. اما بلافاصله پس از تخم ریزی سطح هورمون تستوسترون به حداقل میزان خود می رسد. مطالعات Truscott و همکاران (۱۹۸۶)، روی گونه *Sockeye salmon*، Erdogan و همکاران (۲۰۰۱) روی جنس ماده گونه *Capoeta capoeta umbbla*، Unal و همکاران (۲۰۰۵)، در جنس ماده گونه *Chalcalburnus tarichi* و Johnson و همکاران (۱۹۹۸) در جنس های نر و ماده گونه *Epinephelus morio* مؤید کاهش سطح هورمون تستوسترون پس از تخم ریزی بود (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۹). هورمون تستوسترون در ماهیان استخوانی ممکن است در مقادیر بالا نقش ویتلوژنی (Fosteir, et al., 1993) و یا نقش حفاظت از اووسیت ها و تکمیل فرآیند ویتلوژنز در تخمک را بر عهده داشته باشد (Kime, 1993).

در واقع تغییرات فصلی در هورمون های استروئیدی مرتبط با چرخه تولید مثلی سرانجام در رفتار تولید مثلی مؤثر بوده، برای موفقیت در امر تولید مثل در همه مهره داران لازم و ضروری می باشد (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۹). در

ماهان ماده با تحریک هورمون های تستوسترون و ۱۷- بتا استرادیول در طی دوران رشد تخمدان که مقدار آنها در پلاسمای خون افزایش می یابد، با نتایج حاصل از افزایش فصلی سطح هورمون های تستوسترون و استرادیول در این بررسی، سازگار بود. هر چند نقش تستوسترون در ماهیان استخوانی ماده هنوز ناشناخته مانده است. ولی این هورمون ممکن است دارای فعالیت و تیلوژنی در غلظت های بالای خود باشد (Fostier et al., 1983) و ممکن است در نگهداری اووسیت ها در هنگام تکامل و تیلوژنیز نقش بازی کند (Kime, 1993). همچنین مطابق نتایج مطالعه حاضر، نجفی پور (۱۳۸۴) نیز با مقایسه سطوح هورمون های استرادیول، تستوسترون، ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون و یون کلسیم پلاسمای خون مولدین ماده با مقاطع بافت تخمدانی مولدین ماده ماهی سفید صید شده از دریا و رودخانه دریافت که بین نوسانات هورمون های یاد شده و یون کلسیم پلاسمای خون و میزان رسیدگی جنسی تخمدان ها در مولدین ماده ارتباط وجود داشت.

۵- نتیجه گیری

در طی این تحقیق شاخص های مورد اشاره در روش کار جهت فیل ماهیان پرورشی مورد مطالعه طی ۱۲ فصل بطور جداگانه در جنس های نر و ماده مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی بافت شناسی گناد در فیل ماهیان نر و ماده نشان داد که همه نرها از مرحله دوم به مرحله چهارم و پنجم رسیدگی جنسی رسیدند و از همه آنها اسپرم استحصال گردید. اما ماهیان ماده مورد آزمون فقط ۴ قطعه به مرحله ۴ رسیدگی جنسی و تکثیر رسیدند. مابقی ماهیان ماده نیز در مراحل دوم و سوم رسیدگی جنسی باقی ماندند. نتایج این پروژه نشان داد که می توان بر اساس شاخص هورمون های جنسی (هورمون های تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول) و بیوشیمیایی (کلسیم) سرم خون فیل ماهیان پرورشی در فصول مختلف جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی را در هر دو جنس این گونه تعیین نمود. همچنین با استفاده از شاخص های یاد شده می توان مولد سازی این گونه را بهبود بخشید.

نتایج چهار ساله یا ۱۲ فصل ما نشان داد که فیل ماهی پرورشی نر و ماده زمانی می توانند به تکثیر مصنوعی پاسخ مثبت بدهند که غلظت تستوسترون سرم خون آنها بترتیب در محدوده ۹۰-۱۲۰ نانوگرم در میلی لیتر و در محدوده ۴۰-۶۰ نانوگرم در میلی لیتر باشد.

نتایج ما همچنین بیانگر دستیابی به بیوتکنیک مولد سازی بر اساس شرایط زیستی تکرر شناختی رشد گناد و افزایش هورمون های جنسی در فیل ماهیان پرورشی و امکان فراهم سازی شرایط بلوغ، استحصال مواد تناسلی و نیز تکثیر مصنوعی آنها در شرایط پرورشی بود. تولید بچه فیل ماهی و رشد و نمو طبیعی آنها در طی پنج ماه به میانگین وزن ۱۵۰ گرم حاکی از موفقیت در تولید لارو و بچه ماهی با کیفیت و رشد مناسب از مولدین پرورشی در زمانی بسیار کوتاه تر از شرایط طبیعی بود.

کاهش سن زادآوری و نیز استحصال تخمک به روش ریزبرش مجرای تخم بر بدون کشتن مولد از دیگر نتایج این پژوهش بود. ضمناً بر اساس یافته های چهار ساله، بیشینه غلظت هورمون های جنسی سرم خون موثر در تکثیر، در فصل پاییز و در هر دو جنس رخ داد. در واقع اواخر پاییز بهترین زمان تکثیر مصنوعی مولدین فیل ماهی پرورشی می باشد. ضمناً نتایج نشان داد که دوره بلوغ جنسی فیل ماهیان پرورشی و شرایط مولد سازی با تثبیت دما، اکسیژن محلول و پی اچ آب تا مرحله پیش مولد و سپس کاهش دمای آب در مرحله چهارم رسیدگی جنسی تا زمان تکثیر، بهبود یافت.

پیشنهادها

با توجه به نتایج بدست آمده از پروژه حاضر و نیز بمنظور افزایش راندمان تولید، کاهش هزینه ها و حفاظت از گله های طبیعی، پیشنهادهای ذیل ارائه می گردد.

۱- با توجه به نتایج حاصل، هورمون های تستوسترون، استرادیول و یون کلسیم شاخص ترین پارامترهای رسیدگی جنسی در مولدین نر و ماده فیل ماهی پرورشی در نظر گرفته شود و بر پایه آنها جنسیت، مراحل رسیدگی جنسی و وضعیت کیفی جنسی آنها تعیین گردد.

۲- مناسب ترین مولدین نر و ماده فیل ماهی پرورشی برای تکثیر مصنوعی، فیل ماهیانی هستند که غلظت تستوسترون سرم خون آنها بترتیب دست کم در محدوده ۹۰-۱۲۰ و ۶۰-۴۰ نانوگرم در میلی گرم باشد.

۲- بهترین و بهینه زمان تکثیر مصنوعی فیل ماهیان پرورشی، فصل پاییز می باشد.

۳- برای کاهش سن زادآوری و ارتقای راندمان تولید، لازم است شرایط دمایی و اکسیژنی با طراحی، ساخت و تجهیز مکان های پرورش فیل ماهیان پرورشی از مرحله لاروی تا مرحله بلوغ، تثبیت گردد.

۴- در هر شرایطی جهت بهره مندی چند باره از مولدین فیل ماهی پرورشی و نیز ارتقای بازسازی ذخایر طبیعی، از روش ریز برش مجرای تخم بر و بدون کشتن مولد، تکثیر مصنوعی انجام گردد.

تشکر و قدردانی

نخست سپاس یزدان را که تنها او را شایسته ستایش است. پس از ایزد یکتا از همه همکاران پروژه بویژه آقایان مهندسین محمد پور دهقانی، علی حلاجیان، سهراب دژندیان، ایوب یوسفی جور دهی، حسین محمدی پرشکوه و مهتاب یارمحمدی که بدون شک مراحل اجرایی و میدانی این پژوهش بدون تلاش های شبانه روزی و همکاری دلسوزانه آنان امکان پذیر نبود، بی نهایت سپاسگزارم. در گام بعدی از همیاری دیگر همکاران انستیتو که با مدیریت و برنامه ریزی خود مرا همراهی نمودند نیز مراتب سپاس خود را اعلام می نمایم:

- جناب آقای دکتر محمد پور کاظمی رئیس محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان
- جناب آقای دکتر کریم مهدی نژاد معاون محترم پژوهشی انستیتو
- جناب آقای دکتر محمود بهمنی به عنوان مشاور علمی پروژه و معاونت پژوهشی وقت انستیتو
- جناب آقای دکتر محمدعلی یزدانی مدیر محترم بخش تکثیر و پرورش انستیتو
- جناب آقای مهندس محمود محسنی مدیر محترم وقت تکثیر و پرورش انستیتو
- جناب آقای مهندس شهرام محمدی مدیر محترم اداره بودجه و برنامه ریزی انستیتو
- همچنین جا دارد از همراهی همکاران تحقیقاتی در موسسه تحقیقات شیلات ایران که با حمایت های مالی و پشتیبانی مرا در انجام و به پایان رساندن این پروژه همراهی نمودند نیز تشکر و قدردانی نمایم:
- جناب آقای دکتر مطلبی رئیس محترم موسسه تحقیقات شیلات ایران
- جناب آقای دکتر شریف روحانی معاون محترم تحقیقاتی موسسه تحقیقات شیلات ایران
- جناب آقای دکتر حسین زاده مدیر محترم وقت بخش آبی پروری موسسه تحقیقات شیلات ایران
- مدیریت و همکاران محترم بخش آبی پروری و واحد امور پژوهشی موسسه تحقیقات شیلات ایران
- از دیگر همراهان اجرای این طرح که همکاری آنها سبب بهینه شدن اجرای آزمون گردید بویژه همکاران ذیل نهایت سپاس را دارم:
- مدیر محترم مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی جناب آقای مهندس علیرضا عیاسعلیزاده

- رؤسا و همکاران گرامی بخش های تکثیر، نیرو و پشتیبانی مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی

- همکاران بسیار ارجمندم در بخش های فیزیولوژی و بیوشیمی، تکثیر و پرورش (بویژه از آقایان هوشنگ یگانه و احمد نظامی و نیروهای کارگری بخش تکثیر و پرورش) واحد های مرتبط پشتیبانی (بویژه آقای صفر شفیع و سرکار خانم فهیمه عظیمی) در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

- جناب آقای دکتر علی فدایی و بویژه جناب آقای مهندس مهدی ملکی جهت انجام آزمون های هورمونی و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی پروژه

- جناب آقای مهندس تیزکار جهت انجام آنالیز آماری و پردازش داده های پروژه

- و کلیه دانشجویانی که در طول اجرای پروژه در بخش فیزیولوژی و بیوشیمی حضور داشتند

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق. (۱۳۴۴). تکثیر مصنوعی و پرورش تاسماهیان. پایان نامه دکتری دامپزشکی دانشگاه تهران.
- ۲- آذری تاکامی، ق.؛ پستی، ا. و ابراهیمی، ع. (۱۳۷۶). بررسی تشخیص استعداد تولید مثل در مولدین تاسماهی ایرانی. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۱، شماره ۳ و ۴، صفحات ۹۸-۱۱۱.
- ۳- امینی، ک. (۱۳۷۴). بررسی امکان استفاده از هورمون GnRH در حالت تلفیق با یک ماده آنتاگونیست دوپامین در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون. مرکز تحقیقات شیلاتی استان مازندران. ۶۰ صفحه
- ۴- امینی، ک. (۱۳۷۷). ارزیابی بیولوژیکی و فیزیولوژیکی کیفیت تاسماهیان مولد. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. ۸ صفحه.
- ۵- بهمنش، ش. (۱۳۸۱). مقایسه کاربرد هورمون های مصنوعی در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون (*A. stellatus*) مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم، شماره ۱. صفحات ۹ تا ۲۴.
- ۶- بهمنی، م. (۱۳۷۷). بررسی فیلوژنیک و سیستماتیک تاسماهیان. مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم. شماره ۲. صفحات ۹-۳۰.
- ۷- بهمنی، م. و کاظمی، ر. (۱۳۷۷). مطالعه بافت شناسی غدد جنسی در تاسماهیان جوان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۱۶.
- ۸- بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ وهابی، ی.؛ حلاجیان، ع.؛ پوردهقانی، م.؛ دژندیان، س.؛ ملکزاده ویایه، ر.؛ محسنی، م. و مجازی امیری، ب. (۱۳۸۴a). گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسایی ها در القای تکثیر مصنوعی ازون برون. موسسه تحقیقات شیلات ایران.
- ۹- بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ حلاجیان، ع.؛ وهابی، ی.؛ محسنی، م.؛ ملکزاده، ر.؛ دژندیان، س. و محمدی پرشکوه، ح. (۱۳۸۴b). بیوتکنیک نوین تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) در ایران. مجله علمی شیلات ایران. سال چهاردهم. شماره ۴. زمستان ۱۳۸۴. صفحات ۳۱-۴۸.
- ۱۰- بهمنی، م.؛ یوسفی جوردهی، ا.؛ کاظمی، ا.؛ پوردهقانی، م.؛ حلاجیان، ع.؛ دژندیان، س. و جلیل پور، ج. (۱۳۸۷). نوسانات فصلی هورمون های تستوسترون (T)، ۱۷آلفاهیدروکسی پروژسترون

- (17a-OHP) و ۱۷-بتا استرادیول (E2) طی رسیدگی جنسی ماهی ازون برون پرورشی (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران. سال هفدهم. شماره ۴. صفحات. ۱۶-۷.
- ۱۱- بهمنی، م؛ کاظمی، ر؛ یوسفی جوردهی، ا. یزدانی ساداتی، م.ع. پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع؛ دژندیان، س. و محسنی، م. (۱۳۸۹). گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی "بررسی امکان تکثیر مصنوعی شیپ و تاسماهی ایرانی پرورشی". موسسه تحقیقات شیلات ایران.
- ۱۲- پورکاظمی، م؛ بهمنی، م؛ پرندآور، ح؛ مهدی نژاد، ک؛ توکلی، م؛ محسنی، م؛ کاظمی، ر؛ شناور ماسوله، ع.ر؛ نوروز فشخامی، م.ر. و زارع گشتی، ق. (۱۳۸۷). برنامه راهبردی تحقیقات محصولی ماهیان خاویاری. سازمان تات وزارت جهاد کشاورزی.
- ۱۳- حاجی زاده کپته، ع. (۱۳۷۵). اندازه گیری هورمونهای FSH، LH، استروژن و پروژسترون در ماهی ازون برون *Acipenser stellatus* جهت بدست آوردن بهترین زمان تزریق. پایاننامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۱۸ص.
- ۱۴- حلاجیان، ع؛ کاظمی، ر؛ محسنی، م؛ بهمنی، م. و یوسفی، ا. (۱۳۸۶). تعیین جنسیت و مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) با استفاده از روش تکه برداری گناد. مجله شیلات ایران، سال ۱۶، شماره ۳. صفحات ۷۲-۶۵.
- ۱۵- رضوانی گیل کلایی، س. (۱۳۶۹). تکثیر مصنوعی فیلماهی. طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات شیلاتی مازندران.
- ۱۶- رضوانی گیل کلایی، س. (۱۳۸۰). منابع زنده دریای خزر. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۳۰ص.
- ۱۷- شفیع زاده، ش. و وهابی، ی. (۱۳۷۵). کاربرد هورمون LHRH در تکثیر ماهیان خاویاری. مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت. ۴۶ صفحه.
- ۱۸- صافی، ش. ۱۳۷۷. اندازه گیری هورمونهای مشابه LH ; FSH، پروژسترون، استرادیول و تستوسترون در ماهی قره برون جهت تفکیک مولدین بارورو نابارور. رساله دکتری، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۸۶ صفحه.

- ۱۹- کاظمی، ر؛ حلاجیان، ع؛ بهمنی، م؛ پرندآور، ح؛ دژندیان، س؛ پوردهقانی، م. و ملکزاده ویایه، ر. (۱۳۸۱). تعیین جنسیت فیل ماهیان پرورشی ۱۲ ساله مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان. ۲۳ صفحه.
- ۲۰- کاظمی، ر؛ بهمنی، م. و رومانوف، آ. (۱۳۸۲). بافت شناسی لایه های مختلف تخمک ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله علمی شیلات ایران سال دوازدهم. شماره ۱. ص. ۹۳-۱۰۲.
- ۲۱- کاظمی، ر؛ حلاجیان، ع؛ بهمنی، م؛ پرندآور، ح؛ دژندیان، س؛ پوردهقانی، م.؛ دژندیان، س؛ یوسفی، ا. (۱۳۸۳). گزارش نهایی تعیین جنسیت فیل ماهیان پرورشی کارگاه ای تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از طریق بیوپسی. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. رشت، ۷۸ ص.
- ۲۲- کریم آبادی، ع؛ اکرمی، ر؛ حسینی، ع؛ سلطانی، غ. ح؛ واحدی، ا. ح؛ آقایی مقدم، ع. ع. و قاسمی، م. (۱۳۸۱). بررسی تاثیر هورمون LRHA2 بر کیفیت تولید مثلی مولدین و رشد و بقاء لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). دومین همایش ملی - منطقه ای ماهیان خاویاری. ۲۶۰ صفحه.
- ۲۳- کیوان، ا. (۱۳۸۱). ماهیان خاویاری ایران. انتشارات نقش مهر- تهران. ص ۱۲۸-۲.
- ۲۴- گل آقایی، م.، یوسفیان، م.، کلباسی، م. ر.، محمدنظری، ر.، اسدالهی، م. و لطفی نژاد، ح.، (۱۳۷۷). بررسی و مقایسه برخی خصوصیات بیوشیمیایی مولدین قره برون و چالباش در تکثیر مصنوعی. اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری رشت.
- ۲۵- مجازی امیری، ب؛ آداجی، ش. و یامااوجی، ک. (۱۳۷۷). فیزیولوژی رسیدگی کامل تخمک و اسپرم در ماهی خاویاری بستر (هیبرید فیلماهی ماده و استرلیاد نر). اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری رشت.
- ۲۶- نجفی پور، ش. (۱۳۸۴). تعیین سطوح هورمونهای استروئیدی جنسی و ارتباط آنها با رسیدگی جنسی و برخی شاخصهای تولیدمثلی در مولدین ماده ماهی سفید غرب گیلان، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. ۱۷۷ ص.
- ۲۷- نظری، ر. م. (۱۳۸۰). مطالعه تغییرات استروئیدهای جنسی و رابطه آن با تکامل تخمک در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). پژوهش و سازندگی، شماره ۵۳، ص. ۸۹-۹۴.

- ۲۸- نظری، ر.؛ یوسفیان، م.؛ مجازی امیری، ب. و سلطانی، م. (۱۳۸۰). بررسی رابطه بیم مقادیر هورمونهای استروئیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوعی در تاس مای ایرانی (قره برون). پژوهش و سازندگی. شماره ۵۱.
- ۲۹- نوروزی، م.؛ عریان، ش. و بهمنی، م. (۱۳۸۴). بررسی تأثیر هیپوفیز گلیسرینه بر نوسانات هورمون های استروئیدی در مولدین ماده تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* مجله علمی شیلات ایران. سال چهاردهم، شماره ۴. ۱۷ ص.
- ۳۰- هدایتی فرد، م.؛ یوسفیان، م.؛ احمدی، م. ر. و لطفی نژاد، ح. (۱۳۷۷). بررسی شکل و بافت شناسی تخمدان در تاسماهی روسی (چالباش). اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. رشت.
- ۳۱- هدایتی، س.ع.؛ یآوری، و.؛ بهمنی، م.؛ علیزاده، م.؛ کاظمی، ر. و 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 ۱۱، شماره ۴۲ ب. صفحات ۶۴۲-۶۵۰.
- ۳۲- یلقی، س. (۱۳۸۵). بررسی روند رسیدگی جنسی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر (ایران). رساله دکترای تخصصی (PhD). ۹۱ ص.
- ۳۳- یوسفی جوردهی، ا.؛ بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ حلاجیان، ع.؛ پوردهقانی، م.، یزدانی، م.ع.؛ دژندیان، س. و مرادی، غ. (۱۳۹۰). مقایسه افتراقی لکوسیت های مولدین ازون برون *Acipenser stellatus* پرورشی. دومین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان. دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان-ایران. صفحات ۴۳۸-۴۳۲.
- ۳۴- یونس زاده، م.؛ بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.؛ یآوری، و.؛ پوردهقانی، م.؛ فیض بخش، ح.؛ یوسفی، ا.؛ حلاجیان، ع.؛ دژندیان، س.؛ زارع، ر. و ناطقی، س.ا. (۱۳۸۶). تاثیر بکارگیری GnRH بر روند رسیدگی جنسی ماهیان مولد ازون برون *Acipenser stellatus* پرورشی. مجله شیلات، سال اول، شماره ۱. صفحات ۱۶-۹.
- ۳۵- یونس زاده، م.؛ بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.، پوردهقانی، م. و فیض بخش، ح. (۱۳۸۶). مطالعه سطوح کورتیزول و پارامترهای خونی در مولدین ازون برون *Acipenser stellatus* پرورشی در شرایط تکثیر مصنوعی با استفاده از GnRH. مجله علوم و فنون دریایی، سال ۶، شماره های ۳ و ۴. صفحات ۹۴-۸۳.

۳۶- یونس زاده فشالمی، م.؛ بهمنی، م.؛ کاظمی، ر.، پوردهقانی م. و فیض بخش، ح. (۱۳۸۷). تغییرات

فصلی کورتیزول، گلوکز و یون ها در ماهیان ماده ازون برون *Acipenser stellatus* پرورشی. مجله شیلات،

سال دوم، شماره ۴. صفحات ۳۷-۴۶.

- 37- Ahmdifar, A.; Akrami, R.; Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A. (2010). Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. Springer
- 38- Akimova N.V. and Ruban, G. I. (2009). Anomalies in the Development and Functioning of the Reproductive System in Siberian Sturgeon, *Acipenser baerii* Brandt (Acipenseridae), from the Yenisei River. *Biology Bulletin*, Vol. 36, No. 5, pp. 532-536.
- 39- Allen, P.J.; Webb, M.A.H.; Cureton, E.; Bruch, R.M.; Barth, C.C.; Peake, S.J. and Anderson, W.G. (2009). Calcium regulation in wild populations of a freshwater cartilaginous fish, the lake sturgeon *Acipenser fulvescens*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 154, 437-450.
- 40- Asadi, F.; & Halajian, A.; Pourkabir, M.; Asadian, P. & Jadidzadeh, F. (2006). Serum biochemical parameters of *Huso huso*. *Comparative Clinical Pathology*. 15:245-248.
- 41- Asadi, F.; Hallajian, A.; Asadian, P.; Shahriari, A. & Pourkabir, M. (2009). Serum lipid, free fatty acid, and proteins in juvenile sturgeons: *Acipenser persicus* and *Acipenser stellatus*. *Comparative Clinical Pathology*. 18:287-289.
- 42- Auer, N.A. & E.A. 2009. Streamside lake sturgeon culture for the Ontonagon River, Michigan. Research and results under grant number NA04NMF4050265 from October 2006 through October 2008, on the Ontonagon River, Michigan. Pp. 105.
- 43- Bahmani, M.; Oryan, S.; Pourkzemi, M and Vosoughi, G. (2000). Ecophysiological indicators of stress in female Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2(1). 37-45.
- 44- Bahrami Kamangar, B.; Rasaei, M.J.; Mojazi Amiri, B.; Abtahi, B. and Bahmani, M. (2007). Correlations between circulating insulin-like growth factor-I and thyroxine and cortisol hormone levels, and some biometrical traits in female brood stocks during the late stages of sex maturation and in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 33:249-257.
- 45- Baker, D.W.; Wood, A.M.; Litvak, M.K. and Kieffer, J.D. (2005). Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*. 66: 208-221.
- 46- Bani, A. and Haghi Vayghan, A. (2011). Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyology Research*. Springer
- 47- Barannikova, I.A. (1997). Sex steroid concentration in blood serum of sturgeons and its specific cytosol binding in brain in different stages of migratory cycle. 3th Int. Symposium of sturgeon, Italy.
- 48- Barannikova, I.A.; Baunova, L.V.; Gruslova, A.B. and Semenkova, T.B. (2003). Steroids in sturgeon, migration regulation. *Fish physiology and Biochemistry*. 28: 263 - 264.
- 49- Barannikova, I.A.; Bayounova, L.V.; Semenkova, T.B. (2004). Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and estradiol - 17 in three species of sturgeon during gonadal Development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Fish Biology*. Vol. 64: Issues 5. 1330-1338.
- 50- Barannikova, I.A.; Bayounova, L.V.; Semenkova, T.B. (2006). Serum sex steroids and their specific cytosol binding in the pituitary and gonads of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt) during final maturation. *Journal Applied Ichthyology*. 22: (331-333).
- 51- Bayunova, L.V.; Barannikova, I.A.; Dyubin, V.P.; Gruslova, A.B.; Semenkova, T.B. and Trenkler, I.V. (2003). Sex steroids concentrations in Russian sturgeon (*Acipenser guel denstaedti* Br.) serum and coelomic fluid at final oocyte maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*. 28: 325-326.
- 52- Bayunova, L.V.; Canario, A.M.; Semenkova, T.; Dyubin, V.P.; Svordlova, D. and Trenkler, I.V. (2006). (Sex steroids and cortisol levels in the blood of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus pallas*) during final maturation by LH-RH analogue. *Journal of Applied Ichthyology*; 22: 334-339.
- 53- Berg, L.S. (1948). *The freshwater fishes of the USSR and adjacent countries*, Vol. 1

- 54- Beyea, M.M.; Benfey, T.J. and Kieffer, J.D. (2005). Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 31: 303-313.
- 55- Billard, R. & Lecointre, G. (2001). Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries Netherlands*. 10: 355–392, pp. 355-392.
- 56- Borges, A.; Scoti, L.V.; Siqueira, D.R.; Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F. (2004). Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia aqelen*). *Fish physiology and Biochemistry*. 30: 21-25.
- 57- Borodin, N.A. (1898). Experiments on artificial insemination of sturgeon eggs and other biological observations conducted on the Ural River in spring 1987. *vestnik Rybopromyschlennost. St. Petersburg*. Vol. 1 6-7.
- 58- Bronzi, P. (2000). Beluga, Giant Sturgeon. *Doc. IUCN/SSC Wildlife Trade Programmed, AC.16.7.2*, pp. 88-103.
- 59- Bukovskaya, O.S. and Bayunova, L.V. (1989). Sex steroids concentration in blood serum of Russian sturgeon during anadromous and diadromous life cycle. *Astrakhan Technical University*. Pp. 37-38.
- 60- Bukovskaya, O.S.; Lambert, J.G.D. and Kime, D.E. (1997). In vitro steroidogenesis by gonads of the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedti* Brandt. *Fish Physiology and Biochemistry* 16: 345-353.
- 61- Ceapa, C.; Williot, P.; LeMenn, F; and Davail-Cuisset, B. (2002). Plasma sex steroids and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Palas) during spawning migration in the Danube River. *Journal of Applied Ichthyology*. 18: 391-396.
- 62- Chebanov, M. and Billard, R. (2001). The culture of sturgeons in Russia: Production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resource* 14, 375-381.
- 63- Conte, F.S.; Doroshov, S.I.; Lutes, P.B. and Strange, E.M. (1988). *Hatchery Manual for the white sturgeon, Acipenser transmontanus with Application to other North American. Acipenseridae. U.S. Fish and Wildlife Service Regions*.
- 64- Coppens. (2009). *Manual on sturgeon reproduction. International bv. Helmond, Netherland. www.coppens.eu. 40p.*
- 65- Dapràl, F.; Gai, F.; Palmegiano, G.B. Sicuro, B.; Falzone, M.; Cabiale, K. and Galloni, M. (2009). Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt JF 1869) gut: anatomic description. *International aquatic Research*. 1: 45-60.
- 66- Dettlaff, T.A.; Ginsburg, A.S.; Schmalhausen, O.I. 1993. *Sturgeon Fishes, Development biology and aquaculture. Translate from Russian by Gause and Vessetzky. Springer-Velag. 300 pp.*
- 67- DiLauro, M.N.; Kaboord, W.S. and Walsh, R.A. (2000). Sperm-cell ultrastructure of North American sturgeons. III. The lake sturgeon (*Acipenser fulvescens* Rafinesque, 1817). *Canadian Journal of Zoology*. 78: 438–447.
- 68- Doroshov, S.I. (1985). Biology and cultured of sturgeon Acipenseriformes. In *Recent advance in aquaculture. Vol. 2*.
- 69- 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: 265–278.
- 70- Esmaeili Mola, A.; Hovannisyan, H.G.; Nazari, R.M. and Ovissipour, M.R. (2011). Early sex identification in cultured beluga (*Huso huso*) using plasma steroid hormones. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10 (10), pp. 1959-1965.
- 71- F.A.O. (2006). *FishStat Plus statistical database*.
- 72- F.A.O. (2009). *FishStat Plus statistical database*.
- 73- Fontain, P.; Sulistyio, I.; Richard, Jgardeur, J.N.; Capdeville, B. and Kestemont, P. (1998). Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquat. Living Resource*. 11, (2): 101 – 110.
- 74- Fostier, A.; Jalabert, B.; Billard, R. and Breton, B. (1983). The gonadal steroids. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.), *Fish physiology, Vol. IXA. Academic Press, New York, PP. 277 – 372*.
- 75- Frederiek, J.; Munday, L.; Westcott, A.; Hobbs, V. and Robin Liley, N. (2007). Aromatase pathway mediates sex change in each direction. *Biology Science, Vol. 272*, pp. 1399-1405.
- 76- Gilbert, C.R. 1989. Atlantic and shortnose sturgeons. *U.S. Fish Wild. Serv. Biol. Rep.* 82 (11.122). U.S. Army Corps of Engineers TR EL82-4. 28 pp.
- 77- Graham, L.J. and Murphy, B.R. (2007). The Decline of the Beluga Sturgeon: A Case Study about Fisheries Management. *Journal of natural resources & Life science education* Vol. 36, pp. 66-75.
- 78- Gul, Y. Gao, Z.X. Qian, X.Q. and Wang, W.M. (2011). Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). *Journal Applied Ichthyology*. 27: 122 - 128.

- 79- Hajirezaee, S.; Rafiee, G.R.; Hushangi, R.; Rahimi, R.; Niksirat, H. and Kazemi, R. 2010. Germinal vesicle breakdown rates in oocytes and steroid levels in blood and ovarian fluid of the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. International Aquatic Research, 2: 71-75.
- 80- Hajirezaee, S.; Rafiee, G.R. & Hushangi, R. (2011). Comparative analysis of milt quality and steroid levels in blood and seminal fluid of Persian sturgeon males, *Acipenser persicus* during final maturation induced by hormonal treatments. Biologia 66/1: 160-169, Section Zoology.
- 81- Hedayati, S.A.A.; Yavari, V.; Bahmani, M. Alizadeh, M. and Bagheri, T. (2008). Study of some gonadic growth index of Great sturgeon (*Huso huso*) cultured in brackish water condition. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14 (No. 1), 93-99.
- 82- Heise, R.J.; Bringolf, R.B.; Patterson, H.; Cope, W.G. and Ross, S.T. (2009). Plasma Vitellogenin and Estradiol Concentrations in Adult Gulf Sturgeon from the Pascagoula River Drainage, Mississippi. Transactions of the American Fisheries Society. 138: 1028-1035.
- 83- Hochleithner, M. & Gessner, J. (2001). The sturgeons and paddlefishes of the world. Aquatech Publications. 202 pp.
- 84- Hoseini, S.M., Hosseini, S.A. and Nodeh, A.J. (2010). Serum biochemical characteristics of Beluga, *Huso huso* (L.), in response to blood sampling after clove powder solution exposure. Fish Physiology and Biochemistry. Springer
- 85- Hurvitz, A.; Jackson, K.; Degani, G. and Levavi-Sivan, B. (2007). Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture. Aquaculture, 270: 158-166.
- 86- Jackson, K.; Hurvitz, A. Yom, Din S.; Goldberg D. ; Pearlson, O.; Degani, G. and Levavi-Sivan, B. (2006). Anatomical, hormonal and histological descriptions of captive Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) with intersex gonads. General and Comparative Endocrinology 148 359-367.
- 87- Kazemi, R.; Bahmani, M.; Hallajian, A.; Pourkazemi, M. and Dezhandian, S. (2006). Investigation of blood serum osmo- and ion-regulation of mature and reared juvenile *Acipenser persicus*. Journal of Applied Ichthyology. 22 (2006), 188-192
- 88- Kieffer, J.D.; Baker, D.W.; Wood, A.M. and Papadopoulos, C.N. (2011). The effects of temperature on the physiological response to low oxygen in Atlantic sturgeon. Fish Physiology and Biochemistry. Springer
- 89- Kime, D.E. (1993). Classical and non-classical reproductive steroids in fish. Review Biology and Fisheries. 3: 160-180
- 90- Knowles, S.; Hrubec, T.C.; Smith, S.A. & Bakal, R.C. (2006). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). American Society for Veterinary Clinical Pathology. 35: 434-440.
- 91- Lenhardt, M.; Finn, R.N.; Cacic, P.; Kolarevic, J.; Krpo-Cetkovic, J.; Radovic, I. and Fyhn, H.J. (2005). Analysis of the post-vitellogenic oocytes of three species of Danubian Acipenseridae. Belgium of Journal Zoology, 135 (2): 205-207.
- 92- Linares-Casenave, K.J.; Van Eenennaam, J.P. and Doroshov, S.I. (2002). Ultrastructure and histological observation on temperature induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. Journal of Applied Ichthyology. 18: 382-390.
- 93- 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.
- 94- Malekzadeh Viayeh, R.; Webb, M.A.H.; Hallajian, A.; Kazemi, R. and Pahlavan Yali, M. (2006). Biochemical and morphometric parameters as Indicators of sex and gonadal stages in maturing Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*. Journal of Applied Ichthyology. 22 1, 364-368.
- 95- Milshtein, V.V. (1969). 100th anniversary of sturgeon farming. Journal of Ichthyology. 9, 271-273.
- 96- Mims, S.D.; Lazur, A.; Shelton, W.L. Gomelsky B. and Chapman, F. (2002). Production of Sturgeon Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 7200. Pp. 1-8.
- 97- Moberg, G.P. and Doroshov, S.I. 1992. Reproduction in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Department of animal and aquaculture and fisheries program university of California, Davies. CA. 95616. 99-104.
- 98- Moberg, G. P.; Watson, J. G.; Doroshov, S.; Papkoff, H.; Pavlick, R. J. (1995). Physiological evidence for two sturgeon gonadotropins in *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. 135 (27-39).
- 99- Mohammadi Zarejabad, A.; Sudagar, S.; Pouralimotlagh, S. & Darvish Bastami, K. (2010). Effects of rearing temperature on hematological and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile. Comparative Clinical Pathology. 19: 367-371.
- 100- Mohler, J.W. (2003). Culture Manual for the Atlantic sturgeon, *Acipenser oxirinchus*. A Region 5 U.S. Fish & Wildlife Service publication 300 Westgate Center Drive Hadley, Massachusetts. Pp. 73.

- 101- Nazari, R.M.; Modanloo, M.; Ghomi, M.R. and Ovissipor, M.R. (2010). Application of synthetic hormone LHRH-A2 on the artificial propagation of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquaculture International*. 18:837–841.
- 102- Nazari, R.M. and Ghomi, M.R. (2010). Relationship between steroid hormones and maternal characteristics and larvae in Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Italian Journal of Zoology*, December. 77(4): 492–494.
- 103- Novikova, A.S. (1994). Current status of natural reproduction of beluga, *Huso huso*, in the lower Volga River. *J. Ichthyology*. 34(1), 68–75.
- 104- Omotoa, N.; Maebayashia, M.; Harab, A.; Adachib, 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: 381–391.
- 105- Pankhurst, N.W. (1997). In vitro steroid production by isolated ovarian follicle of the striped trumpeter. *Journal of Fish Biology*. Vol. 51, pp. 685-669.
- 106- Patterson, C. (1982b). Morphology and interrelationships of primitive actinopterygian fishes. *American Zoology*. 22, 241–259.
- 107- Pavlick, R.J. and Moberg, G.P. (1997). Dopaminergic influence on gonadotropin secretion in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Fish Physiology and Biochemistry* vol. 16, pp 35-43.
- 108- Pirogovskii, M.I.; Sokolov, L.I. & Vasil'ev, V.P. (1989). *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *The Freshwater Fishes of Europe*, Vol. I/II: pp. 295–344.
- 109- Pottinger, T.G & Carrick, T.R. 2001. ACTH does not mediate divergent stress responsiveness in rainbow trout. *Comparative biochemistry & physiology* 129, A. Pp 399-404.
- 110- Reeb, S.G. (2010). Records in the fish world. University of Moncton, Canada. Pp. 17. <http://www.genomesize.com/statistics.php>.
- 111- Satheeshkumar, P.; Ananthan, G.; Senthilkumar, D.; Basheer Khan, A. & Jeevanantham, K. (2010). Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comparative Clinical Pathology*. Springer.
- 112- Shahsavani, D.; Kazerani, H.R.; Kaveh, S. & Gholipour-Kanani, H. (2010). Determination of some normal serum parameters in starry sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) during spring season. *Comparative Clinical Pathology*. 19: 57–61.
- 113- Smith, T.I.J.; Dingley, E.K. and Marchette, D.E. (1980). Induced spawning and culture of Atlantic sturgeon. *Program of Fish culture*. 42. 147-151.
- 114- Speer, L.; Lauck, L.; Pikitch, E.; Boa, S.; Dropkin, L. and Spruill, V. (2000). The Decline of Sturgeon in the Caspian Sea and the Road to Recovery . *Wildlife conservation society and Sea Web*. Pp. 33.
- 115- Stahl, M.T.; Whitley, G.W. and Kelly, A.M. (2009). Reproductive biology of middle Mississippi River shovelnose sturgeon: insights from seasonal and age variation in plasma sex steroid and calcium concentrations. *J. Appl. Ichthyol*. 25: 75–82.
- 116- Tsai, Ch.Li and Wang, Li-H. (2000). Sex Differences in the Responses of Serum Calcium Concentrations to Temperature and Estrogen in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Zoological Studies*. 39(1): 55-60.
- 117- United Nations Environment Programmed and World Conservation Monitoring Centre. (2010). Review of four sturgeon species from the Caspian Sea basin. A report to the European Commission Directorate general E–Environment ENV.E.2. Environmental Agreements and Trade. <http://fa.wikipedia.org>.
- 118- Urasa, F.M. and Wendelaar Bonga, S.E. (1985). Stannius corpuscles and plasma calcium levels during the reproductive cycle in the cichlid teleost fish, *Oreochromis mossambicus*. *Cell Tissue Research*. 241:219-227.
- 119- Van Eenennaam, J.P.; Chapman, F.A. & Jarvis, P.L. 2004. *Aquaculture. Sturgeons and Paddlefish of North America*. Kluwer Academic Publishers. Chapter 13, Printed in the Netherlands. 277–311.
- 120- Vecsei, P.; Sucui, R. & Peterson, D. (2002). Threatened fishes of the world: *Huso huso* (Linnaeus, 1758) (Acipenseridae). *Environmental Biology of Fishes* 65: 363–365.
- 121- Vecsei, P.; Litvakb, M.K.; Noakesa, D.L.G.; Rienc, T. & Hochleithnerd, M. (2003). A noninvasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons. *Environmental Biology of Fishes*. 68: 333–338.
- 122- Veshchev, P.V. (2009). The State of Natural Reproduction of Stellate Sturgeon *Acipenser Stellatus* in the Lower Volga. *Journal of Ichthyology*, Vol. 49, No. 8, pp. 662–667.
- 123- Webb, M.A.H.; Van Eenennaam, J.P. and Doroshov, S.I. (2000). Effects of steroid hormones on in vitro oocyte maturation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 23: 317–325.

- 124- Webb, M.A.H.; Van Eenennaam, J.P.; Feist G.W.; Linares-Casenave, J.; Fitzpatrick, M.S.; Schreck, C.B. and Doroshov, S.I. (2001). Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* 201 Ž. 137–151.
- 125- Webb, M.A.H. and Feist, G.W. (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: 132–142.
- 126- Webb, M.A.H.; Feist G.W.; Trant, J.M.; Van Eenennaam, J.P.; Fitzpatrick, M.S.; Schreck, C.B. and Doroshov, S.I. (2002). Ovarian steroidogenesis in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) during oocyte maturation and induced ovulation. *General and Comparative Endocrinology*, 129: 27–38.
- 127- Webb, M.A.H. and Erickson, D.L. (2007). Reproductive structure of the adult green sturgeon, *Acipenser medirostris*, population in the Rogue River, Oregon. *Environmental Biology of Fish*. 79: 305–314.
- 128- Williot, P. (1997). Effects in incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) induced by sturgeon gonadotropin preparation of 17 α , 20 β -Dihydroxy progesterone. *Comparative of Biochemical Physiology* Vol. 118c, No. 3, pp. 285-293.
- 129- Yousefi, M. Abtahi, B. and Abdian Kenari, A. (2011). Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clinhcal Pathology*. Springer
- 130- Yousefian, M. (2006). Sex differentiation by gonadogenesis and sex steroid hormones in cultured great sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*. 22:, 369-372.
- 131- Zhou, X. Li, M. Abbas, Kh. and Wang, W. (2009). Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish Physiology Biochemistry*. 35:435–441.

Abstract

This study was carried out in the International Sturgeon Research Institute of Dr. Dadman during 2007 – 2011. A total of 24 beluga 7- year – old (*Huso huso*) including 8 males and 16 females were selected after morphological assay, biopsy and sexing based on histological routine methods and then stocked separately based on sex in 3 concrete circled ponds (with 4m diameter, 1.5 depth) and were fed by diet include 38 – 40 % protein, 13 – 15 % fat, 19.5 – 20 Mg/kg energy and 2-3 % different kind of vitamins and minerals produced by mentioned institute. Bleeding was carried out in order to separating serum for study on biochemical and hormonal parameters.

The GnRH hormone was injected to fishes at two stages each 12 hours after GV detection, evaluation of sexual hormone levels and water temperature. Females were injected at two stages each 6 hours with ration 20% to 80 % and concentration of 10 µg/kg of fish body weight. Males were injected by GnRH for one time according with the second injection in females with concentration 20 µg/kg of fish body weight. Obtaining of eggs was carried out by micro incision of oviduct without killing fish.

Mean concentration of Glucose showed no significance different at stages II and III, but showed significance different at stage IV of sexual maturation stages ($P < 0.05$).

Cholesterol, triglycerides and total lipid levels of males and females blood serum were changed significantly from stage II to stage IV and in different seasons ($P < 0.05$). Calcium level of blood serum was different at various sexual maturity stages in males and females and was more in females than males at each stage. So that showed significant difference at stage III between them.

Sodium ion showed no significant difference in males and females at each condition. Mean concentration of testosterone (T) in males and females at stages II, III and IV was 10.86 ± 1.63 , 0.84 ± 0.12 , 54.14 ± 3.1 , 15.66 ± 2.18 , 112.41 ± 7.4 and 50.75 ± 3.63 ng/ml respectively, that showed significant difference with each other and at different sexual maturity stages ($P < 0.05$), that reached to a maxim in males at stage III and IV in Autumn and in females at stages II and III in Winter. But, at stage IV, it was similar to males. Testosterone levels at all stages in males was more than females.

Mean concentration of progesterone level in males and females at stages II, III and IV was 0.5 ± 0.01 , 0.5 ± 0.00 , 0.5 ± 0.08 , 0.11 ± 0.02 , 0.36 ± 0.04 and 0.19 ± 0.03 ng/ml respectively, that showed significant difference at stage III. But showed similar results in males and females seasonally.

Estradiol (E_2) level in males and females at stages II, III and IV was 9 ± 1.39 , 5.45 ± 0.29 , 6.51 ± 0.64 , 9.47 ± 0.97 , 2.95 ± 2.29 and 4.15 ± 0.7 ng/ml, respectively that showed significant difference in males and females at different stages ($P < 0.05$).

Results showed that by good management and using endocrinology sciences (such as biochemical and hormonal indices), we can produce breeders with having good quality eggs and sperms for artificial propagation by using micro incision of oviduct method in order to without killing them (for several time breeding), caviar and farmed larvae and fry.

Results also showed that Testosterone (T), Estradiol and Calcium were the most important detective indices for sexual maturity and the accurate time of synthetic hormone injection for artificial breeding. Testosterone (T) level limit in males and females for positive reply to artificial propagation was 90 – 120 and 40 – 60 ng/ml, respectively. By using the obtained results, we can reduce rearing cost of *Huso huso*, because the decrease of sexual maturity duration, increase of propagation recruitment, decrease of pressure to natural sources and help to restocking, commercializing of it for improvement of sturgeon rearing and propagation in order to caviar and fry production.

Key words: Breeding, farmed *Huso huso* fry, artificial propagation, biochemical factors, sex steroid hormones and.

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – International Sturgeon Research Institute

Title : Study on the propagation possibility in reared Great Sturgeon, *Huso huso* by GnRH synthetic hormone for production of fingerling

Apprpved Number: 2-86-12-86058

Author: Rezvanollah Kazemi

Executor : Rezvanollah Kazemi

Collaborator : M. Pourdehghani, S.Dezhandian, A.Hallajian, A.Yousefi Jourdehi,
M.Yarmohammadi, , M.A.Yazdani, M.mohseni, h.mohammadi pareshkoh,
h.yeganeh,M.Bahmani

Advisor(s): -

Supervisor: -

Location of execution :Guilan Province

Date of Beginning : 2008

Period of execution : 3 Years & 9 Months

Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*

Circulation : 20

Date of publishing : 2013

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION - International Sturgeon Research
Institute

Title:

Study on the propagation possibility in reared Great Sturgeon, *Huso huso* by GnRH synthetic hormone for production of fingerling

Executor :

Rezvanollah Kazemi

Registration Number

41591