بررسی امکان تعیین جنسیت و مراحل رشد گنادی ماهیان خاویاری با استفاده از شاخصهای خونی و مورفومتریک

سید علی اکبر هدایتی*[1] ، وحید یاوری[2] ، عبدالعلی موحدی نیا[3]، حسین پاشا زانوسی[4]

1. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
2. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
3. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
4. گروه فیزیک دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ دریافت: 89/1/15 تاریخ پذیرش: 89/5/12

چکیده

در تحقیق حاضر به بررسی امکان استفاده از سطوح تستوسترون ، کورتیزل، استرادیول و پروژسترون پلاسما به همراه پارامترهای مورفومتریک (وزن و طول کل) به عنوان شاخص جنسیت و توسعه گنادی در فیل ماهیان نابالغ پرورشی در آب شور پرداخته می شود. در هر فصل ماهیان مورد زیست سنجی و خونگیری قرار گرفتند. هورمون ها به روش RIA با دستگاه گاماکانتر اندازه گیری شدند. مطالعات بافت شناسی نیز با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مقاطع گنادی صورت گرفت. در خصوص تعیین جنسیت مشخص شد که وزن و طول کل در جنس های مختلف تفاوت معنی داری نداشته لذا نمی توان از این فاکتورها در تعیین جنسیت استفاده نمود. از بین هورمون ها نیز تنها تستوسترون در دو جنس اختلاف معنی داری داشت، لذا از هورمون تستوسترون می توان جنسیت ماهیان را تشخیص داد. اما در رابطه با مراحل رسیدگی جنسی مشخص شد که وزن و طول کل در جنس نر با مرحله جنسیت ارتباط معنی داری داشته، لذا می توان تنها در تعیین مراحل رسیدگی جنس نر استفاده نمود. در جنسهای مختلف تستوسترون ارتباط معنی داری با مراحل رسیدگی جنسی داشته و مقادیر پروژسترون و استرادیول در جنس ماده فاقد ارتباط قوی بودند. کورتیزول نیز در جنس ماده دارای ارتباط معنی داری با مراحل رسیدگی بود، لذا می توان از تستوسترون در هر دو جنس (مخصوصاً جنس نر) و از کورتیزول در جنس ماده جهت تعیین مراحل مختلف گنادی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: تشخیص جنسیت، شاخص خونی، فیل ماهی، ماهیان خاویاری.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: hedayati@gua.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

1. مقدمه

ماهیان خاویاری ویژگی هایی تولید مثلی منحصر به فردی نظیر طولانی بودن اولین بلوغ جنسی، سیکل طولانی مدت رشد گنادی و عدم تخم ریزی متوالی (Doroshov *et al*., 1991) دارند. مدیریت موفق جمعیت ماهیان خاویاری نیاز به دانستن وضعیت ترکیب جیره با توجه به جنسیت و مراحل بلوغ دارد (Webb *et al*., 2002). ذخیره سازی ماهیان برای بازسازی و احیا ذخایر در صورتی افزایش می یابد که از جنسیت ماهیان پیش از رها سازی به محیط طبیعی آگاهی داشته باشیم (Vecsei *et al*., 2003). همچنین در تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری تشخیص جنسیت ماهیان در مراحل اولیه رشد بسیار مهم می باشد زیرا ماهیان نر برای تولید گوشت و ماهیان ماده برای تولید خاویار یا مولد سازی نگهداری می شوند (Feist *et al*., 2004).

از آنجایی که ماهیان خاویاری دو شکلی نیستند و جنس ماده و نر از نظر ظاهری تفاوت ندارند، تعیین جنسیت این ماهیان اغلب با درصد بالایی خطا همراه است. اگر چه تشخیص جنسیت ماهیانی که کشته شده باشند بسیار آسان است، در بسیاری از موارد لازم است که ماهی را زنده نگه داشته و حداقل استرس را به ماهیان القا نمود (Malekzadeh Viayeh *et al*., 2005). یک روش تجاری تعیین جنسیت بدون کشتن ماهی، بیوپسی است که می توان جنسیت را با مشاهده مستقیم و مراحل گنادی را به همراه مطالعات بافت شناسی به دست آورد. با این حال بیوپسی نیز پر هزینه و استرس زا می باشد (Feist *et al*., 2004). سایر روشهای تعیین جنسیت شامل اندوسکوپی (Moccia *et al*., 1984)، ویدئولاپراسکوپی و یا استفاده از بوروسکوپ (Kynard and Kieffer, 2002) می باشند. این روش ها نیاز به وارد کردن تجهیزات خاص به محوطه شکمی یامجرای اروجنیتال دارند، در نتیجه مشکل بوده و در تعیین دقیق مرحله گنادی نیز زیاد قابل اطمینان نیستند. در مقابل، اندازه گیری غلظت استروئیدهای جنسی جهت تشخیص جنسیت و مراحل گنادی روشی آسانتر و کم هزینه تر می باشد که تفاوت های نر و ماده را در سنین مختلف و مراحل متفاوت گنادی بلوغ نشان می دهد. (Cuisset *et al*., 1995).

تخمدان ها، استروژن و پروسترون را تولید می کنند و بیضه ها تستوسترون را می سازند. مطالعات نشان دهنده نوسانات سالانه هورمون ها در رابطه با سیکل های تولید مثلی و تغذیه ای و همچنین رشد در ماهیان می باشد (Fitzpatrick *et al*., 2004). افزایش سطوح پلاسمایی 17بتا استرادیول، پروژسترون و کورتیزول در طی روند بلوغ در بسیاری از ماهیان استخوانی گزارش شده است (Ebrahimi, 2005). از آنجا که ماهیان عمدتا دارای رفتارهای تولید مثلی زمان بندی شده می باشند، مطالعه روند بلوغ با بررسی های هیستولوژیک و مورفولوژیک گنادها قابل پیگیری است (Doroshov *et al*., 1991). تفاوت در غلظت استروئیدهای پلاسما در جنس های مختلف و مراحل مختلف بلوغ ، مجالی ایجاد نموده تا از این استروئیدها در تعیین مراحل توسعه گنادی در نر و ماده استفاده شود (Malekzadeh Viayeh *et al*., 2005) با توجه به اهمیت بالای پرورش فیل ماهیان، خصوصا در محیط های آب شور و ضرورت آگاهی از جنسیت ماهیان خاویاری جهت تفکیک به موقع جنس نر و ماده و همچنین شناخت مراحل گنادی جهت تعیین زمان مناسب تزریق هورمونی، در تحقیق حاضر به بررسی

Archive of SID

www.SID.ir

امکان استفاده از سطوح پلاسمایی تستوسترون ، کورتیزل، استرادیول و پروژسترون به همراه پارامترهای مورفومتریک (وزن و طول کل) به عنوان شاخص جنسیت و توسعه گنادی در فیل ماهیان نابالغ پرورشی در آب شور پرداخته شد.

2. مواد و روش کار

این تحقیق در طی یک سال بر روی فیل ماهیان پرورشی 4 تا 5 ساله صورت گرفت ماهیان مورد آزمایش در ایستگاه تحقیقات شیلاتی آبهای شور داخلی (بافق) نگهداری شده (ارتفاع 990 متر از سطح دریا) و کلیه مراحل نمونه برداری در آن ایستگاه صورت پذیرفت. نمونه های بافتی در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری رشت مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام کار از 74 قطعه فیل ماهی چهار ساله (شامل 42 قطعه ماهی نر و 32 قطعه ماهی ماده) که در 8 استخر بتنی گرد مجهز به سیستم های توزیع آب و هوا دهی (شوری 12-17 ppt و pH 7-8/5) استفاده شد. در هر فصل قبل از انجام سایر مطالعات، طول کل و وزن ماهیان ثبت گردید. به همین منظور از ترازوی دیجیتال با دقت 1/ کیلوگرم جهت وزن کردن و از متر پارچه ای با دقت 1 سانتی متر جهت اندازه گیری طول کل ماهیان استفاده شد. نمونه برداری از گناد به روش بیوپسی صورت گرفت و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین مراحل مختلف گنادی تعیین شد (بهمنی و کاظمی، 1377). پس از خونگیری از ساقه دمی ماهیان و جداسازی سرم توسط سانتریفوژ تا زمان سنجش هورمون ها در20- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تعیین مقادیر هورمون های کورتیزول تستوسترون، استرادیول و پروژسترون به روش RIA با استفاده از دستگاه گاماکانتر (با دقت نانوگرم هورمون در میلی لیتر سرم) و استفاده از کیت هورمونی کاوشیار به انجام رسید. جهت مطالعه و تجزیه و تحلیل داده های حاصل از انجام آزمایشات از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون دانکن در نرم افزار SPSS استفاده شد.

3. نتایج

نتایج زیست سنجی نشان دادکه در تمام فصول وزن و طول کل در جنس نر و ماده اختلاف معنی داری نداشتند ($P>0.05$) (جدول 1) (شکل 1 و 4).

نتایج مطالعات بافت شناسی نشان داد که در میان فیل ماهیان نر 6 درصد در مرحله یک، 11 درصد در مرحله یک به دو، 61 درصد در مرحله دو، 3 درصد در مرحله دو به سه، 11 درصد در مرحله سه به چهار و 8 درصد در مرحله چهار بودند. در مورد فیل ماهیان ماده 3 درصد وضعیت نامشخص، 3 درصد در مرحله یک، 11 درصد در مرحله یک به دو، 60 درصد در مرحله دو،14 درصددر مرحله دو به سه، 3 درصد در مرحله سه، 3 درصد در مرحله سه به چهار و 3 درصد در مرحله چهار قرار داشتند.

نتایج مطالعات آماری در جنس نر حاکی از معنی داری ارتباط وزن با مراحل رسیدگی جنسی ($sig=0/01$، $r=0/05$)(شکل 2) و ارتباط طول کل با مراحل رسیدگی جنسی بود ($sig=0/046$، $r=0/39$) (شکل 3)، اما در جنس ماده بین هیچکدام ارتباط معنی داری مشاهده نشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره 1. نتایج زیست سنجی فیل ماهیان 4 ساله پرورشی در آب شور

فصل	جنسیت	میانگین وزن (کیلوگرم)	**میانگین طول (متر)**
تابستان	نر	10/72 ± 2/03	1/24 ± /054
تابستان	ماده	11/15 ± 1/48	1/26 ± /072
پاییز	نر	12/98 ± 1/71	1/28 ± /049
پاییز	ماده	13/39 ± 1/59	1/31 ± /068
زمستان	نر	15/02 ± 2/19	1/35 ± /056
زمستان	ماده	14/72 ± 1/43	1/34 ± /045
بهار	نر	15/94 ± 2/37	1/38 ± /047
بهار	ماده	15/51 ± 1/98	1/36 ± /049

نتایج مطالعات خونی نیز نشان داد که بین میزان تستوسترون در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی داری وجود دارد (sig=0، F=127/34) و این میزان در جنس نر بیشتر می باشد، اما در فصول مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد (sig=0/94 ، F=0/062). بیشترین میزان تستوسترون در جنس نر در فصل پاییز (4/40 ±5/33) و کمترین آن در فصل زمستان (2/43 ±5/06) مشاهده شد. میانگین تستوسترون در جنس نر نیز 3/29 ± 14/ نانوگرم در میلی لیتر بود. میزان پروژسترون و استرادیول تنها در جنس ماده اندازه گیری شد و مطالعات آماری اختلاف معنی داری در فصول مختلف نشان ندادند. بین میزان کورتیزول در دو جنس اختلاف معنی داری وجود نداشته (sig=0/32 ، F =/99) و این میزان در جنس ماده بیشتر بود. در فصول مختلف اختلاف معنی داری مشاهده شد (sig =00 ,F=8/07). بیشترین میزان کورتیزول جنس نر مربوط به فصل بهار (µg/dl 5/22±9/87) و کمترین آن مربوط به فصول تابستان و زمستان (µg/dl 3/13±4/37) بود. میانگین در جنس نر mcg/dl 5/08±5/07 بود.در جنس ماده نیز بیشترین میزان کورتیزول در فصل بهار (µg/dl 8/97±12/25) و کمترین آن در تابستان و زمستان (µg/dl 3/42±2/59) مشاهده شد. میانگین در جنس ماده µg/dl 6/21 ±6/26 بود .

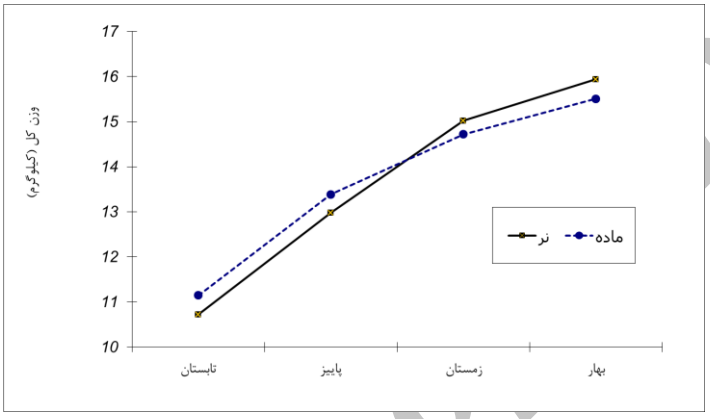
نتایج نشان داد که در جنس نر مراحل II، II-III، III و IV به ترتیب مقادیر تستوسترون سرم 5/5 و4/4 و6/3 و 2/6 ng/ml بود که بیانگر آن است که با افزایش مراحل رسیدگی تا مرحله سوم مقادیر تستوسترون افزایش یافته و پس از آن کاهش شدیدی در مرحله چهارم رسیدگی مشاهده می شود. در جنس ماده در مراحل II و II-III رسیدگی جنسی به ترتیب مقادیر تستوسترون 10/ و16/ (شکل شماره 5) و مقادیر E2 به ترتیب 1/455 و 810/ و مقادیر پروژسترون به ترتیب 0/12 و 0/13 ng/ml بود (شکل شماره 6).

در جنس نر مراحل II، II-III، III و IV به ترتیب مقادیر کورتیزول 15و8/5 و10/7 و 4 µg/dl بود که بیانگر آن است که رابطه خاصی با مراحل مختلف جنسی نداشته و مقادیر آن در مراحل

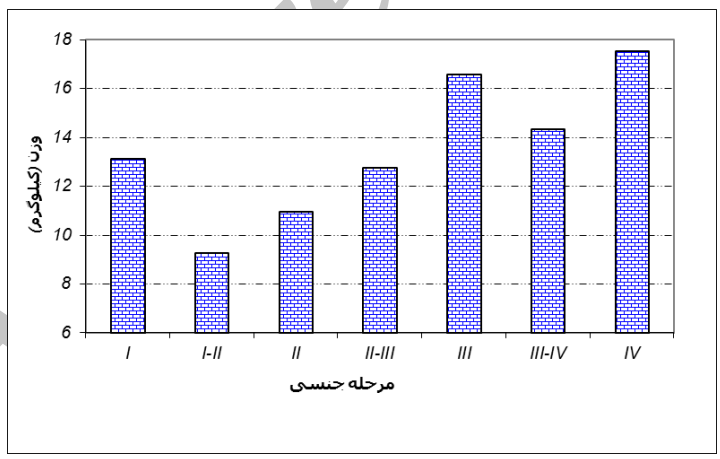
Archive of SID

www.SID.ir

مختلف گنادی متفاوت می باشد. در جنس ماده در مراحل II و II-III مقادیر کورتیزول به ترتیب 7و21 mcg/dl بود که بیانگر افزایش مقادیر هر دو با پیشرفت مراحل رشد گنادی می باشد (شکل شماره 7). اما نتایج مطالعات آماری حاکی از آن بود که در بین هورمون جنسی بررسی شده در این تحقیق (P، E2 و T) تنها تستوسترون تحت تاثیر جنس های مختلف و مراحل رشد گنادی قرار گرفت. کورتیزول نیز در هر دو جنس (به ویژه ماده) تحت تاثیر مراحل رشد گنادی قرار داشت، به طوری که با پیشرفت مراحل رسیدگی جنسی، مقادیر کورتیزول خون نیز افزایش می یابد.

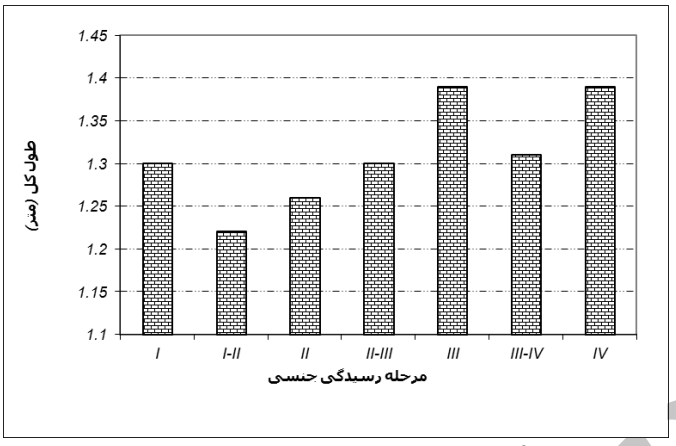


شکل شماره 1. تغییرات وزن کل در جنسهای مختلف

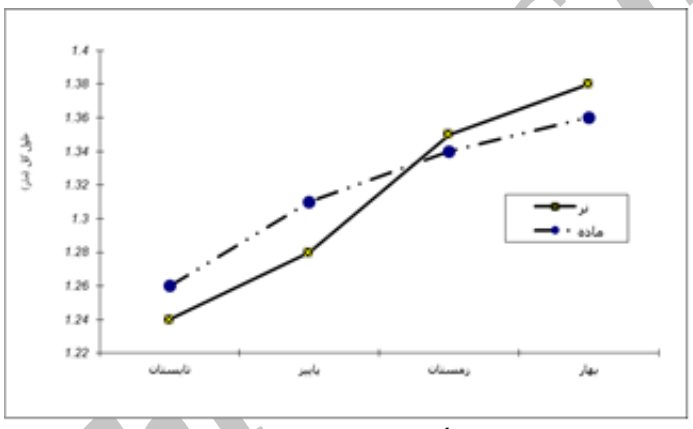


شکل شماره 2. تغییرات وزن در مراحل مختلف جنسی در جنس نر

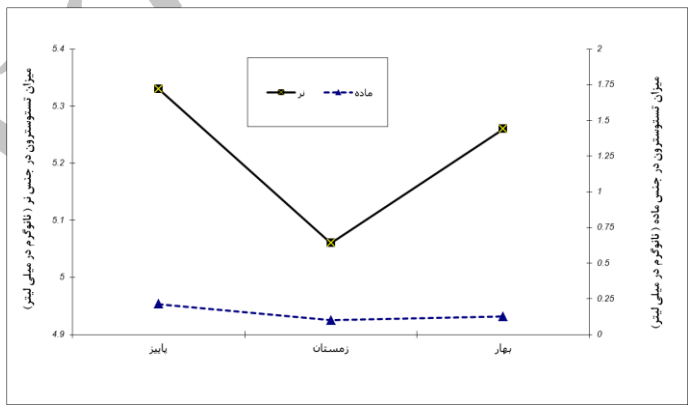
www.SID.ir



شکل شماره 3 . تغییرات طول کل در مراحل مختلف رسیدگی در جنس نر

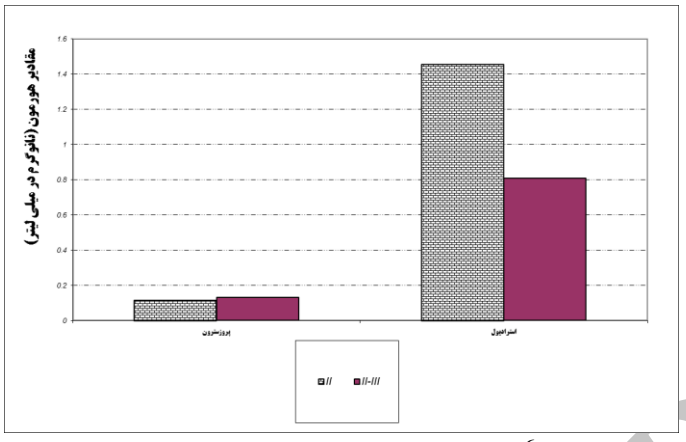


شکل شماره 4. تغییرات طول کل در جنسهای مختلف

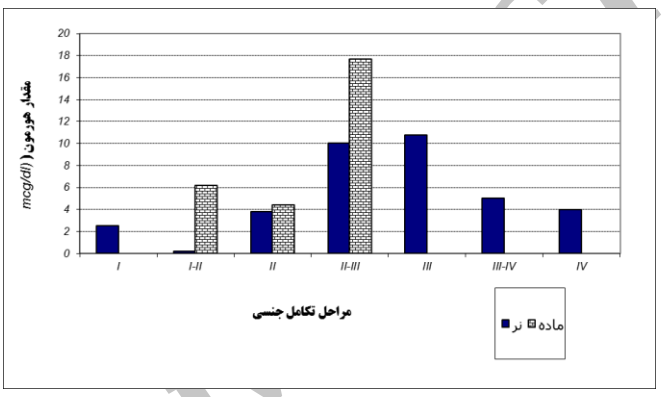


شکل شماره 5. تغییرات تستوسترون خون در فصول مختلف

www.SID.ir



شکل شماره 6. تغییرات پروژسترون و استرادیول در مراحل مختلف جنسی



شکل شماره 7. تغییرات هورمون کورتیزول در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

4. بحث و نتیجه گیری

در خصوص تعیین جنسیت مشخص شد که وزن و طول کل در جنس های مختلف تفاوت معنی داری نداشته لذا نمی توان از این فاکتورها در تعیین جنسیت استفاده نمود، و از بین هورمون ها نیز تنها تستوسترون در دو جنس اختلاف معنی داری داشت، لذا می توان بیان نمود که در فیل ماهیان نابالغ، از هورمون تستوسترون می توان جنسیت ماهیان را تشخیص داد.

اما در رابطه با مراحل رسیدگی جنسی مشخص شد که وزن و طول کل در جنس نر با مرحله جنسیت ارتباط معنی داری داشته، لذا از پارامترهای مورفومتریک می توان تنها در تعیین مراحل رسیدگی جنس نر استفاده نمود. در بین هورمون ها نیز مشخص شد که در جنسهای مختلف تستوسترون ارتباط معنی داری با مراحل رسیدگی جنسی داشته و مقادیر پروژسترون و استرادیول در جنس ماده فاقد ارتباط قوی بودند.

Archive of SID

www.SID.ir

کورتیزول نیز در جنس ماده ارتباط معنی داری با مراحل رسیدگی بود. بطور کلی رشد و نمو تخمدانها، پدیده بلوغ و تخمگذاری در ماهیان در ارتباط مستقیم با میزان بیوسنتز و تراکم پلاسمایی کورتیزول می باشند.کورتیکوستروئیدها و بویژه کورتیزول به عنوان القا کننده بلوغ تخمک و تخم ریزی شناخته شده اند (Lenhardt, 1992). افزایش معنی دار کورتیزول در جنس ماده از مرحله II جنسی به بعد را می توان به بلوغ محور هیپوتالاموس – هیپوفیز – گناد (HPG) و محور HPI در سطح مغز و اندامها نسبت داد (عریان و همکاران، 1377) لذا در جنس ماده با افزایش مراحل رسیدگی، سطوح کورتیزول نیز افزایش می یابد، لذا می توان از تستوسترون در هر دو جنس (مخصوصاً جنس نر) و از کورتیزول در جنس ماده جهت تخمین مراحل مختلف گنادی استفاده نمود.

در مطالعه ای مشابه امکان استفاده از E2، T و پارامترهای مورفومتریک را در تاس ماهی ایرانی بررسی شد که بین وزن، طول چنگالی ، E2، T با جنسیت و مراحل گنادی تفاوت معنی داری وجود داشت، اما بین سن و طول کل با مراحل بلوغ و جنسیت تفاوتی وجود نداشت و مشخص شد که استفاده از E2، T به تنهایی درصد خطا را افزایش داده و استفاده از پارامتر مورفومتریک طول چنگالی به همراه E2، T منجر به کاهش خطای طبقه بندی می شود. در نهایت مطالعات آماری E2 و T به همراه طول چنگالی را بهترین پیش بینی کننده بود (Malekzadeh Viayeh *et al*., 2005) .

محققین با اندازگیری تغییرات E2 و T در سنین مختلف فیل ماهیان پرورشی نا بالغ دریافت که با این روش تشخیص جنس ماده در سن 2 سالگی امکان پذیر می باشد و در سن 2/5 سالگی هر دو جنس قابل تفکیک بودند و نتیجه گرفت که تمایز جنسیت ابتدا در ماده و سپس در نر مشاهده و همزمان افزایش معنی داری در مقدار تستوسترون (با گذشت زمان) رخ می دهد که می توان از آن به عنوان نشانگر یا شاخص برای جدایی جنس ماده از نردر مراحل اولیه توسعه گنادی استفاده نمود . (Vecsei *et al.*, 2003) که این نتایج مشابه تحقیق حاضر بوده و در هر مورد تستوسترون به عنوان شاخص تمایز جنسیت معرفی شده است.

محققین امکان طبقه بندی جنسیت و مراحل مختلف بلوغ جنسی تاسماهی سفید وحشی را با استفاده از شاخصهای پلاسمای خون بررسی نمودند، این ماهیان جنسیت و بلوغ خاصی در سطوح کلسیم و استروئید نشان دادند. در طبقه بندی ماهیان صید شده به همراه ماهیان درشت E2 و T بهترین پیش بینی کننده جنسیت و مراحل بلوغ بودند. بیشترین خطای طبقه بندی در نرهای نابالغی بود که به صورت ماده نابالغ طبقه بندی شده بودند در آنالیز ماهیان نابالغ صید شد تنها T و طول چنگالی توانستند به طور صحیح 88٪ ماده ها و 86٪ نرها را طبقه بندی کنند. در آنالیز ماهیان درشت به تنهایی 100٪ ماده ها و 95٪ نرها به درستی با استفاده از T و E2 طبقه بندی شدند و در این آنالیز 93 و100و98 و100 درصد ماده های نابالغ ، نرهای نابالغ ، ماده های بالغ و نرهای بالغ نیز به درستی طبقه بندی شدند. در نهایت این محقق عنوان نمود در صورتیکه خطای طبقه بندی در مورد ماهیان نا بالغ قابل اغماض باشد، می توان از این روش به جای روش قدیمی و پر هزینه جراحی بیو پسی جنسیت و مراحل بلوغ استفاده نمود (Webb *et al*., 2002) که این نتایج تایید کننده یافته های تحقیق حاضر می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

هر چند تحقیقات بیشتر با استفاده از تعداد زیادتری ماهی نر و ماده در مراحل مختلف گنادی و در شرایط متفاوت محیطی نیاز است تا با گردآوری اطلاعات زیادی از پارامترها ی مور فومتریک و پلاسما، رابطه دقیقی بین سطوح هورمون ها و توسعه گنادی در سنین مختلف فیل ماهیان پرورش آب شور به دست آورد .

در نهایت مشخص شد که امکان تشخیص جنسیت و مراحل گنادی در ماهیان با اندازه گیری پلاسمای خون و پارامترهای مورفومتریک وجود داشته و این مسئله در مورد چندین گونه از ماهیان خاویاری به تایید رسیده که در مورد فیل ماهیان آب شور تحقیق حاضر اندازه گیری سطوح تستوسترون جهت تعیین جنسیت و اندازه گیری پارامترهای مورفومتریک، کورتیزول و تستوسترون جهت تعیین مراحل گنادی پیشنهاد می شود. البته جهت ابراز نظر دقیق تر بهتر است این شاخص ها تا رسیدن به سن بلوغ ماهیان مورد بررسی قرار گرفته و در نهایت مدل جامعی از شاخص های جنسیت و مراحل گنادی در فیل ماهیان پرورش آب شور ارائه شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکاران محترم در ایستگاه تحقیقات شیلات بافق بویژه آقایان مهندس بیطرف، مهندس سرسنگی ، مهندس محمدی و همچنین همکاران محترم در انیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری رشت بویژه آقایان دکتر ملک زاده و مهندس حلاجیان و همچنین مسئولین محترم آزمایشگاه مرکزی یزد تشکر می گردد.

منابع

بهمنی، م.، و کـاظمی، ر. 1377. مطالعـه بافـت شناسی غدد جنسی در تاسـماهیان جـوان پرورشـی. مجله علمی شیلات ایران، 1: 16-1.

عریان، ش.، پریور،ک.، یکرنگیان، ع و حسین زاده، ه. 1377. نوسانات هورمون های جنسی در سیکل تولید مثلی در جنس ماده ماهی یال اسبی (*Trichiurus lepturus*). مجله علمی شیلات ایران. 7: 67-49.

Cuisset, B., Pelissero, C. Nunez Rodriguez, J. and Le Man, F. 1995. Occurrence and in vitro biosynthesis of 11-ketotestosterone in Siberian sturgeon *Acipenser baeri* Brandt maturing females. Fish Physi. Biochem. 14: 313-322.

Doroshov, J. N., Van Eenennaam, J.P. Chapman, F.A. Dorochov, S.I. 1991. Histological study of the ovarian development in wild white sturgeon *Acipenser transmontanus.* Acipenser. Ed: P. Williot, CEMAGREF Pub. France. pp: 129-135.

Ebrahimi, M., 2005. Sex differentiation of sturgeon fish by Enzyme ImmunoSorbant Assay (ELISA) for 11-ketotestosterone hormone. 5th I.S.S. RAMSAR. Iran.

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

Fitzpatrick, M.S., Feist, G.W. Eenennaam, J.V. Doroshov, S.I. Schreck, C.B. 2004. Sex identification of White sturgeon at early stage of growth. Oregon State University, USA.

Kynard, B. and Kieffer, M. 2002. Use of a borescope to determine the sex and egg maturity stage of sturgeons and effect of borescope use on reproductive structure. J. of Appl Ichthyol. 18**:** 505-508.

Lenhardt, M., 1992. Seasonal changes in some blood chemistry parameters and in relative liver and gonad weights of pike (*Esox*

Archive of SID

www.SID.ir

noninvasive technique for determining sex of live adults North American sturgeons. J. of Env. Bio. Fish. 68: 333-338.

Webb, M.A.H., Feist, G.W. Foster, E.P. Schreck, C.B. and Fitzpatrick, M.S. 2002. Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators. Transactions of the Amer. Fish. Soci. 131: 132-142.

Yousefian, M., 2005. The sex differentiation by gonadogenesis and sex steroid hormones in cultured Grate sturgeon, *Huso huso*. 5th I.S.S. RAMSAR. Iran.

lucius L.) from the river Danube. J. of Fish Biol. 40: 709-718.

Malekzadeh Viayeh, R., Hallajian, A. Webb, M.A.H. Kazemi, R. 2005. Biochemical and morphometric parameters as indicators of sex and gonadal stage of maturity in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). 5th I.S.S. RAMSAR. Iran.

Moccia, R.D., Wilkie, E.J. Munkittrick, K.R. and Thompson, W.D. 1984. The use of fine needle fibre endoscopy in fish for *in vivo* examination of visceral organs, with special reference to ovarianevaluation. Aquaculture 40: 255-259.

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

Archive of SID

www.SID.ir