



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 1, 2025, pages: 19-35
DOI: 10.22124/janb.2025.29861.1279



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effect of slow-release 17β -estradiol injection on the growth performance of female Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* (Brandt 1869) broodstock at different sexual maturity stages

Hadiseh Alizadeh¹, Hossein Ouraji¹, Sylvain Milla², Bahram Falahatkar^{*3}

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Mazandaran, Iran

2- Biology Department, Faculty of Science and Technology, University of Lorraine, Nancy, France

3- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

Received 17 January 2025

Revised 10 March 2025

Accepted 15 March 2024

Published online 19 May 2025

KEYWORDS ABSTRACT

Growth
Steroid
hormone
Sexual
maturity stage
Sturgeon

Introduction: Sturgeon aquaculture is of great economic importance due to the high value of caviar and meat. However, challenges such as reproductive and growth limitations in female broodstock hinder productivity in controlled environments. Steroid hormones are among the key factors regulating growth and reproduction in fish. Among them, 17β -estradiol (E_2) plays a crucial role in sexual differentiation, gonadal development, and metabolic regulation. Slow-release hormone delivery methods have been proposed as a potential approach to enhance growth and maturation in fish species. The aim of the present study was to investigate the effect of slow-release E_2 injection on the growth performance of female Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* at different sexual maturity stages.

Materials and Methods: A total of 30 female Siberian sturgeon were selected and categorized into three groups based on their sexual maturity stage (II, III, and IV). Each stage was divided into two subgroups: 1) E_2 -treated group (received 2 mg E_2 /kg body weight); 2) Control group (received 0.2 mL coconut oil/kg body weight). The hormone was administered intraperitoneally every two months, and the experiment lasted four months. Biometric measurements and growth performance, including body weight, total length, weight gain (WG), specific growth rate (SGR), body weight increase (BWI), condition factor (CF) and average daily growth (ADG) were conducted at 30-day intervals. Statistical

analysis was performed using repeated measures analysis of variance to assess the effects of treatment, maturity stage, and time on growth indices.

Results and Discussion: The findings revealed a significant interaction ($P<0.05$) between treatment, sexual maturity stage, and time in all growth parameters except CF. The highest final body weight (7950 ± 320.93 g) and total length (120.60 ± 11.20 cm) were recorded in the E₂-treated fish at stage IV after 120 days, while the lowest body weight (4170 ± 137.47 g) and total length (94.50 ± 0.93 cm) were observed in control fish at stage II after 30 days ($P<0.05$). The highest WG (610 ± 18.70 g), SGR (0.42 ± 0.00 %/day), BWI (13.62 ± 2.33 %), and ADG (20.33 ± 3.30 g/day) were recorded in the E₂-treated fish at stage II after 90 days ($P<0.05$). The CF remained unchanged across all groups, and no mortality was observed throughout the experiment. These findings indicate that E₂ administration promotes somatic growth at early maturity stages (II), whereas at advanced stages (IV), it facilitates gonadal development. The hormonal influence on growth appears to be stage-dependent, with higher energy allocation towards reproductive tissues at later stages. Similar studies on other sturgeon species (e.g., *Huso huso*, and *Acipenser stellatus*) suggest that E₂ stimulates insulin-like growth factor-I production and enhances protein synthesis, ultimately improving growth. However, excessive doses may negatively impact somatic growth by favoring gonadal tissue development.

Conclusion: Slow-release E₂ injection significantly affects the growth performance of female Siberian sturgeon, with stage-dependent effects. At early maturity stages (II), it stimulates somatic growth, while at advanced maturity stages (IV), it promotes reproductive development. These findings suggest that timing and dosage optimization are crucial for maximizing the benefits of hormonal treatments in sturgeon aquaculture. Further research is needed to explore the molecular mechanisms underlying E₂'s role in growth regulation and to determine the long-term reproductive consequences of hormone administration.

*Corresponding author: falahatkar@guilan.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

اثر تزریق آهسته رهش هورمون ۱۷-بتا-استرادیول بر عملکرد رشد تاسماهیان سیری (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی

حدیثه علیزاده^۱، حسین اورجی^۱، سیلوان میلا^۲، بهرام فلاحتکار^{۳*}

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دام و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

۲- گروه بیولوژی، دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه لورین، نانسی، فرانسه

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹

کلمات کلیدی

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر تزریق آهسته رهش هورمون ۱۷-بتا-استرادیول (E_2) بر عملکرد رشد تاسماهیان سیری (*Acipenser baerii*) ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی انجام شد. بدین منظور، ماهی‌ها به سه دسته از نظر مرحله رسیدگی جنسی (II، III و IV) تقسیم و هر مرحله رسیدگی به دو گروه (۵ عدد ماهی به ازای هر گروه) در تیمار E_2 (دریافت کننده ۲ میلی گرم E_2 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی) و شاهد (دریافت کننده ۰/۲ میلی لیتر روغن نارگیل بدون هورمون E_2 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی) تقسیم شدند. میانگین وزن ماهیان در مراحل II، III و IV به ترتیب 60.7 ± 3920 ، $224/48 \pm 6160$ و $266/36 \pm 7285$ گرم بود و تزریق هر دو ماه یکبار به صورت داخل صفاقی انجام شد. دوره آزمایش ۴ ماه به درازا کشید و در ابتدای هر ماه زیست سنجی انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین وزن نهایی ($320/93 \pm 7950$ گرم) در تیمار E_2 مرحله IV و کمترین وزن نهایی ($137/47 \pm 4170$ گرم) در زمان ۳۰ روز و به ترتیب در گروه شاهد و تیمار E_2 مرحله II مشاهده شد که با دیگر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). بالاترین میزان دیگر شاخص‌های رشد شامل وزن به دست آمده، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و میانگین رشد روزانه در زمان ۹۰ روز و در گروه تیمار E_2 مرحله II مشاهده شد که با دیگر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). بر اساس نتایج، تزریق آهسته رهش E_2 بسته به مرحله رسیدگی جنسی ماهی می‌تواند بر عملکرد رشد تاسماهیان سیری مولد ماده تأثیر بگذارد. به نظر می‌رسد که در مراحل اولیه رسیدگی جنسی، E_2 با تحریک محور رشد، به رشد سریع‌تر بدنی کمک می‌کند، در حالی که در مراحل پیشرفته‌تر، E_2 با تأثیر بر سوخت‌وساز و توزیع انرژی، به رشد گنادها و آماده‌سازی برای تولیدمثل کمک می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که زمان و مرحله رسیدگی جنسی در پاسخ به تیمار E_2 نقش مهمی ایفا می‌کنند.

نویسنده مسئول: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

پرورش ماهیان خاویاری به دلیل ارزش اقتصادی بالای خاویار و گوشت این آبزیان در بسیاری از نقاط جهان مورد توجه قرار گرفته است. با وجود این، تولیدمثل و رشد مولدهای ماده در شرایط پرورشی، بخاطر عوامل مختلفی از جمله استرس، شرایط محیطی نامناسب و کمبود مواد مغذی، با چالش‌هایی روبرو است.

یکی از عوامل کلیدی در تنظیم فرآیندهای تولیدمثل و رشد در ماهیان، هورمون‌های استروئیدی هستند. هورمون‌ها مواد شیمیایی هستند که به عنوان پیام‌رسان در بدن عمل می‌کنند و برای هضم، سوخت و ساز، رشد و تولیدمثل مورد نیاز هستند. هورمون‌ها به دو دسته استروئیدی و غیر استروئیدی طبقه‌بندی می‌شوند (Donna et al. 2015). هورمون‌های استروئیدی دارای چهار حلقه سیکلوآلکانی هستند و به استروژن‌ها، پروژسترون‌ها، آندروژن‌ها، گلوکوکورتیکوئیدها و کورتیکوئیدهای معدنی طبقه‌بندی می‌شوند (Guede-Alonso et al. 2014). هورمون‌های استروئیدی نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف در مهره‌داران، از جمله ماهی‌ها، ایفا می‌کنند. این فرآیندها شامل رشد جنینی، تمایز جنسی، سوخت و ساز، پاسخ‌های ایمنی، ریتم‌های شبانه‌روزی، پاسخ به استرس و تولیدمثل هستند (Tokarz et al. 2015). تأثیر هورمون‌های استروئیدی جنسی بر سطح هورمون رشد (GH) در ماهیان برای درک نقش آن‌ها در تنظیم رشد بررسی شده است. برای مثال، مطالعات نشان داده‌اند که غلظت GH پلاسما در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نابالغ تحت تأثیر تزریق استروئیدهای جنسی مختلف قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که سطح GH پلاسما پس از تیمار با ۱۷-بتا-استرادیول (E2) در ماهیان تغذیه شده و تغذیه نشده و ماهیان تغذیه نشده تحت تیمار با تستوسترون (T) به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد (Holloway and Leatherland, 1997). این یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش سطح GH مرتبط با رسیدگی جنسی ممکن است بیش‌تر به افزایش سطح استروئیدهای گنادی نسبت به تغییرات وضعیت تغذیه‌ای مرتبط باشد (Pelissero et al. 1991; Melcangi et al. 2002).

در میان هورمون‌هایی که برای دستکاری وضعیت تولیدمثل ماهیان قبل از بلوغ استفاده می‌شوند، استروئیدهای جنسی

گزینه‌های مهمی هستند، زیرا با تأثیر بر فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) بسیاری از جنبه‌های تولیدمثلی را تنظیم می‌کنند. E2 یک استروژن طبیعی است که به‌عنوان یکی از مؤثرترین هورمون‌های استروژنیک شناخته شده و از لحاظ تاریخی به‌عنوان هورمون ماده‌ساز در نظر گرفته شده است (Wang et al. 2008). E2 نقش کلیدی در رشد و توسعه گنادی (Klinge, 2000; Nilsson et al. 2001; Martyniuk et al. 2006) ایفا می‌کند. این هورمون با القای سنتز کبدی و ترشح ویتلوجنین (VTG) برای جذب به درون تخمک‌های در حال رشد و همچنین با تنظیم سوخت و ساز کربوهیدرات، چربی و کلسیم، سبب افزایش زرده‌سازی در مهره‌داران تخم‌گذار می‌شود (Nagahama et al. 1993; Semenkova et al. 2002; Drummond, 2006). در بسیاری از گونه‌ها طی فرایند ویتلوجنز میزان استروژن و به‌خصوص E2، که با رشد اووسیت‌های در حال زرده‌گیری مرتبط است، افزایش می‌یابد (Katz and Eckstein, 1974). از سوی دیگر، E2 ممکن است با تحریک محور سوماتوتروپیک برای افزایش GH عمل کند (Degani, 2014). از نظر تئوری، افزایش رشد از طریق بهبود اشتها، هضم، جذب و تنظیم مجدد متابولیک منجر به آنابولیسم کلی می‌شود و اثر متقابل هر یک از این عوامل که تا حدودی در بین گونه‌ها و نوع استروئید مورد استفاده متفاوت است، رخ می‌دهد (Woo et al. 1993).

نرخ رشد و خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان خاویاری در مراحل مختلف رسیدگی جنسی متفاوت است. معمولاً با پیشرفت مراحل رسیدگی، وزن و درازا افزایش می‌یابد. این افزایش وزن و درازا ممکن است به دلیل افزایش رشد گنادها و همچنین، تغییرات در ترکیب بدن ماهی باشد (Kazemi et al. 2020). رشد تحت تأثیر تغییرات هورمونی مرتبط با رسیدگی جنسی قرار می‌گیرد. برای مثال، سطح T در اواسط بلوغ (مرحله III) به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد و باعث رشد بیش‌تر و توسعه اندام‌های تولیدمثلی می‌شود (Kazemi et al. 2014; Yarmohammadi et al. 2017).

در مراحل مختلف رسیدگی جنسی تغییراتی در سطوح هورمون‌های استروئیدی رخ می‌دهد. در مراحل اولیه رسیدگی جنسی از جمله مرحله پیش‌زرده‌سازی (مرحله

به نظر می‌رسد که کاشت E₂ باعث افزایش سطح VTG (پیش‌ساز پروتئین‌های زرده تخم) می‌شود که برای موفقیت در تولیدمثل ضروری است (Akhavan et al. 2015). اثرات این هورمون بر رشد در این مرحله کمتر بررسی شده است، اما احتمالاً تحت تأثیر تغییرات هورمونی مرتبط با رشد تخمدان قرار دارد.

برای سال‌ها، آبی‌پروران و اکوتوکسیکولوژیست‌ها در جست‌وجوی راه‌های مؤثر و کارآمد برای تجویز هورمون‌ها یا دیگر مواد شیمیایی به ماهی‌ها به شیوه‌ای پایدار و کنترل شده بودند. تجویز هورمون به ماهی با چندین هدف از جمله دستکاری تولیدمثل، القای رشد سریع و تولید جمعیت‌های تک‌جنسی انجام می‌شود (Pandian and Sheela, 2003; Shelton and Mims, 1995). در گذشته، هورمون‌های خارجی و مواد شیمیایی از طریق چند روش از جمله جیره غذایی (Madsen et al. 2003; Keen, 2005; et al. 2005), غوطه‌وری و در معرض قرارگیری در آب (Arslan and Phelps, 2004; Lahnsteiner et al. 2006), و تغذیه با لوله (Pizza and O'Connor, 1983) به ماهی داده می‌شد، اما هر کدام دارای معایبی شامل عدم کنترل دقیق دوز، استرس ناشی از دستکاری متعدد، آلودگی محیط و غیره بود.

امروزه روش‌های رهاسازی پایدار دارو رواج بسیاری یافته است. این فناوری در مقایسه با تجویز معمولی دارای مزایای قابل توجهی از جمله رهایش کنترل شده، سمیت کم و کارایی بهتر است (Lin et al. 2014). ترکیب مواد شیمیایی آزمایشی توسط محققان مختلف در یک حامل روغنی (مانند روغن زیتون، روغن ذرت، روغن بادام زمینی، روغن کنجد، روغن نارگیل یا کره کاکائو) برای کاشت داخل شکمی مواد شیمیایی در ماهی استفاده شده است (Sangiao-Alvarellos et al. 2005; Wang et al. 2005; Poursaeid et al. 2015; Abdollahpour et al. 2019). استفاده از ایمپلنت تزریقی نیز روشی کاربردی، ارزان‌قیمت و آسان است که علاوه بر تحویل دقیق مواد شیمیایی بر اساس وزن ماهی، کم‌ترین آسیب را به موجود وارد می‌کند (Zaroogian et al. 2013).

تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) یکی از انواع ماهیان خاویاری است که در بسیاری از نقاط جهان بیش‌تر برای مصرف خوراکی استفاده می‌شود (Hamlin et al.

II) سطح هورمون‌های استروئیدی جنسی پایین است. برای مثال، در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نابالغ، به دلیل فعالیت کم غده هیپوفیز، سطح استروئیدهای جنسی مانند E₂, T و پروژسترون (P) نسبت به مراحل بالاتر رسیدگی جنسی بسیار کمتر است (Nazari, 2010). در مرحله زرده‌سازی (مرحله III) بیشینه سطوح هورمونی مشاهده می‌شود که فرآیند رسیدگی نهایی را در غدد جنسی تسهیل می‌کند و سبب افزایش نرخ رشد می‌شود. هورمون‌هایی مانند T و E₂ به بالاترین غلظت خود می‌رسند که برای تخم‌ریزی در ماده‌ها و اسپرم‌ریزی در نرها بسیار مهم است (Nazari, 2010). در تاسماهی ایرانی در مرحله زرده‌سازی افزایش قابل توجهی در شاخص گنادوسوماتیک (GSI) همراه با افزایش سطح هورمون در این مرحله مشاهده شد (Nazari, 2010). در مرحله پس از زرده‌سازی (مرحله IV) پس از رسیدن به اوج سطوح هورمونی، استروئیدهای جنسی کاهش می‌یابند و ماهیان خاویاری از مرحله تولیدمثل خارج شده و این امر می‌تواند بر نرخ رشد تأثیر بگذارد، زیرا انرژی که قبلاً صرف رشد غدد جنسی می‌شد، اکنون برای رشد سوماتیک مصرف می‌شود (Ashouri et al. 2020).

مطالعات نشان داده‌اند که هورمون E₂ در مراحل مختلف رسیدگی جنسی دارای اثرهای متفاوتی است. این تأثیرات، بسته به مرحله رسیدگی جنسی ماهی، می‌توانند از تحریک رشد تا تغییر در سوخت و ساز و تخصیص انرژی را شامل شوند. در بچه‌ماهیان ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)، نشان داده شده است که تزریق داخل صفاقی E₂ به‌طور قابل توجهی بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک تأثیر می‌گذارد. به‌طور خاص، تیمار E₂ منجر به افزایش وزن و بهبود نرخ رشد در مقایسه با گروه شاهد شد (Falahatkar et al. 2013, 2014). با وجود این، نکته مهم در مورد استفاده از E₂، توجه به دوز مناسب است، چرا که دوزهای بالاتر ممکن است اثرات منفی بر عملکرد رشد داشته باشند، که این موضوع نشان‌دهنده رابطه پیچیده دوز-پاسخ است (Jackson and Klerks, 2019). در ماهیان خاویاری مانند فیل ماهی (*Huso huso*)، در مرحله پیش زرده‌سازی، کاشت E₂ با افزایش رشد تخمدان و تغییر سطوح استروئید جنسی مرتبط است. این مرحله، با آماده‌سازی برای ویتلوزنر شناخته می‌شود و تأثیر E₂ در رشد و بلوغ تخمدان در این مرحله بسیار حائز اهمیت است. این‌طور

کوچکی از گناد ماهیان ماده به روش بیوپسی برای تشخیص دقیق مرحله رسیدگی جنسی نمونه برداری شد (Falahatkar et al. 2013) و از بین آنها تعداد ۳۰ ماهی با بیشترین قرابت وزنی که در مرحله پیش زرده-سازی و زرده سازی بودند، انتخاب و با کاشت میکروچیپ (Wuxi Fofia Technology Co.)، جیانگسو، چین) در جلوی باله پشتی علامت گذاری شدند.

ماهی ها به ۳ دسته از نظر مرحله رسیدگی جنسی (مرحله II، III و IV) تقسیم شدند. نحوه تفکیک و تشخیص مراحل رسیدگی جنسی بر اساس روش Webb و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد، به طوری که در ماهیان مرحله II (پیش زرده سازی) چین های آشکار تخمدان یا اووسیت های کوچک شفاف مشاهده می شود. در ماهیان مرحله III (اوایل تا اواسط زرده سازی) چین های تخمدان حاوی اووسیت های سفید کوچک تا اووسیت های بزرگ تر به رنگ سفید، کرم یا مایل به زرد هستند و در ماهیان مرحله IV (اواخر زرده سازی) فولیکول های خاکستری تا سیاه تخمدان قابل مشاهده هستند. هر دسته به ۲ گروه در تیمار (E2) و کنترل (هر گروه ۵ عدد ماهی) تقسیم و درون حوضچه های زینکالیوم (قطر ۶ متر و حجم آبیگری ۳۰ مترمکعب) نگهداری شدند. میانگین وزن و درازای کل ماهیان در گروه های مختلف در جدول ۱ آورده شده است. طی انجام آزمایش، دبی آب ورودی به حوضچه ها ۲/۵ لیتر در ثانیه بود. آب ورودی از چاه تأمین و پس از هوادهی وارد حوضچه ها می شد. در طی دوره آزمایش روند تغییرات دمای آب و میزان اکسیژن محلول ثبت شد به طوری که میزان دمای آب 19 ± 0.75 درجه سانتی گراد و اکسیژن محلول 6.03 ± 0.99 میلی گرم در لیتر بود. تغذیه ماهیان به میزان ۱٪ وزن بدن و دو وعده در روز (ساعات ۹:۰۰ و ۲۱:۰۰) با خوراک مخصوص ماهیان خاویاری (گیلک دانه نوید، رشت، ایران) با پلت هایی با اندازه ۶ میلی متر (۹۲٪ ماده خشک، ۴۴-۴۶٪ پروتئین، ۱۶-۱۴٪ چربی، کم تر از ۱٪ فیبر و $3/5-19/19$ MJ/kg انرژی) انجام شد. شایان ذکر است که ماهیان طی انجام آزمایش در شرایط دوره نوری طبیعی و در یک مکان سرپوشیده قرار داشتند.

2011). این ماهی از گونه های با ارزش تجاری است که از استعداد قابل توجهی برای پرورش در شرایط محصور برخوردار است (Williot et al. 2002). سریع الرشد بودن، کوتاه بودن دوره رسیدگی جنسی در مقایسه با گونه های مانند فیل ماهی، گستردگی و تنوع رژیم غذایی باعث شده که این ماهی به عنوان یکی از گونه های اصلی در پرورش گوشتی ماهیان خاویاری آب شیرین معرفی شود و همچنین از آن به عنوان گونه مدل از خانواده تاسماهیان نام برده می شود (Falahatkar, 2018). تاسماهی سیبری نسبت به گونه هایی مانند قزل آلا قادر به تحمل محدوده وسیع تری از تغییرات فراسنجه های کیفی آب و اکسیژن محلول نسبتاً پایین، غلظت بالای آمونیاک و تراکم بالای ذخیره سازی است (Bronzi et al. 1999).

با توجه به کاهش ذخایر طبیعی ماهیان خاویاری و اهمیت پرورش این گونه های ارزشمند، انجام پژوهشی با هدف بهبود عملکرد رشد در شرایط پرورشی و تسریع در رسیدگی جنسی از اهمیت به سزایی برخوردار است. توسعه روش های نوین و کارآمد برای افزایش تولید، از جمله اهداف اصلی صنعت آبی پروری است. با توجه به نقش کلیدی هورمون E2 در تنظیم فرآیندهای رشد در ماهیان و چالش های موجود در پرورش ماهیان خاویاری، این پژوهش با بررسی تأثیر تزریق آهسته رهش E2 بر عملکرد رشد ماهیان ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، به درک بهتر مکانیسم های تنظیم رشد در این گونه ها و بهبود روش های پرورش کمک می کند. یافته های این مطالعه ممکن است به تعیین دوز مناسب و زمان بهینه تزریق هورمون، توسعه راهبردهای مدیریتی بهتر و افزایش بهره وری در صنعت آبی پروری ماهیان خاویاری منجر شود.

مواد و روش ها

انتخاب ماهی و شرایط نگهداری

تعدادی تاسماهی سیبری از مزرعه پرورش ماهیان خاویاری علوی (رشت، ایران) در فصل بهار تهیه شد. روش انتخاب ماهیان به این صورت بود که یک شکاف کوچک یک سانتی متری (به اندازه قطر سیستم اسکوپ دستگاه لاپاراسکوپ) به وسیله اسکالپل شماره ۲۲ در بدن ماهیان ایجاد شد. قطعات

جدول ۱ مشخصات تاسماهیان سیبری (*Acipenser baerii*) مورد استفاده در مطالعه حاضر در مراحل جنسی مختلف (میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

Table 1 Characteristics of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* used in the present study at different sexual maturity stages (mean $\pm$ S.E)

Group	Weight (g)	Total length (cm)
Control stage II	3990 $\pm$ 71.41	92.10 $\pm$ 2.52
E ₂ stage II	3850 $\pm$ 49.99	89.10 $\pm$ 2.21
Control stage III	6330 $\pm$ 255.72	109.84 $\pm$ 0.74
E ₂ stage III	5990 $\pm$ 193.25	103.54 $\pm$ 2.67
Control stage IV	7240 $\pm$ 211.18	108.52 $\pm$ 2.98
E ₂ stage IV	7330 $\pm$ 321.55	113.80 $\pm$ 4.66

تهیه ایمپلنت‌های آهسته‌رهش و تزریق آن‌ها

هورمون E₂ استفاده شده در این مطالعه از شرکت Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) تهیه شد. ایمپلنت‌های آهسته رهش از طریق حل کردن E₂ در روغن نارگیل تهیه شدند (McCallum et al. 2019). هر ایمپلنت به گونه‌ای آماده شد که حاوی ۲ میلی‌گرم E₂ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی باشد (Akhavan et al. 2020)، ولی ایمپلنت‌های شاهد بدون هورمون مذکور و فقط حاوی روغن نارگیل (۰/۲ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی) بودند. پس از اندازه‌گیری درازا و وزن ماهی‌ها، هر دو ماه یکبار (در مجموع ۲ بار، یکی در ابتدای دوره و دیگری پس از دو ماه) به گروه شاهد فقط ایمپلنت حاوی روغن نارگیل و به گروه‌های تیمار، ایمپلنت‌های حاوی E₂ به‌صورت درون صفاقی با سرنگ ۲ میلی‌لیتری (سوزن G-۲۰) تزریق شد. قبل از تزریق، ماهی‌ها با استفاده از محلول پودر گل میخک با دوز ppm ۴۰۰ بیهوش شدند (فلاح‌تکار و همکاران، ۱۳۸۵)، سپس به مخازن برگشته و به‌مدت ۴ ماه پرورش داده شدند.

تعیین شاخص‌های رشد

شاخص‌های رشد، مانند وزن به‌دست آمده (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، فاکتور وضعیت (CF)، میانگین رشد روزانه (ADG) و نیز درصد بقا (SR) در هر ماه زیست‌سنجی و محاسبه سنجش شد، به این ترتیب که ۲۴ ساعت قبل از زیست-سنجی غذادهی متوقف شد تا دستگاه گوارش ماهیان تخلیه شود. سپس، ماهیان موجود در هر مخزن با احتیاط صید و به منظور کاهش استرس با استفاده از محلول پودر گل میخک (دوز ppm ۴۰۰) بیهوش شده و زیست‌سنجی انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن و درازای کل هر ماهی، به‌ترتیب از ترازوی دیجیتالی با دقت ۱۰ گرم و تخته زیست‌سنجی با دقت یک میلی‌متر استفاده شد. شاخص-های رشد با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (فلاح‌تکار، ۱۳۹۳):

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = WG (g)

$100 \times \left[\frac{\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \right] = \text{SGR (\%/day)}$

$100 \times \left[\frac{\text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}} \right] = \text{BWI (\%)}$

$100 \times \left[\frac{\text{درازای کل (سانتی‌متر)}}{\text{وزن ماهی (گرم)}} \right] = \text{CF}$

$100 \times \left[\frac{\text{میانگین وزن اولیه (گرم)} - \text{میانگین وزن نهایی (گرم)}}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \right] = \text{ADG (\%/day)}$

$100 \times \left[\frac{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}} \right] = \text{SR (\%)}$

سنجش آماری

سنجش داده‌ها به کمک نرم‌افزار (SPSS, Inc., SPSS 19.0 (Chicago, IL, USA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون-Kolmogorov-

Smirnov و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون کرویت ماچولی (Mauchly's Test of Sphericity) بررسی شد. برای تعیین تغییرات شاخص‌های رشد در طی زمان در گروه‌ها (تیمار و شاهد) و مراحل رسیدگی مختلف (II, III

و IV) از روش آزمون واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measures ANOVA) استفاده شد که در آن، زمان به‌عنوان اثر درون گروهی (Within-Subject Effect)، و گروه‌ها و مراحل مختلف رسیدگی به‌عنوان اثر بین گروهی (Between-Subject Effect) در نظر گرفته شدند. مقایسه بین میانگین‌ها نیز با آزمون Bonferroni با درصد خطای ۵٪ ($P < 0.05$) انجام شد. کلیه داده‌های متن به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (mean $\pm$ S.E.) بیان شده‌اند.

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌های رشد نشان داد که تقابل تیمار (شاهد، تیمار E2)، مرحله رسیدگی جنسی (II، III و IV) و زمان (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز) اثر معنی‌داری بر وزن نهایی، درازای نهایی، WG، SGR، BWI و ADG داشت ($P < 0.05$ ؛ جدول ۲).

بیش‌ترین وزن نهایی بدن ($7950 \pm 320/93$ گرم) و درازای کل ($11/20 \pm 120/60$ سانتی‌متر) در زمان ۱۲۰ روز در گروه تیمار E2 مرحله IV و کم‌ترین وزن نهایی بدن ($4170 \pm 137/47$ گرم) و درازای کل ($94/50 \pm 0/93$ سانتی‌متر) در زمان ۳۰ روز و به‌ترتیب در گروه شاهد و تیمار E2 مرحله II مشاهده شد که با دیگر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$ ؛ جدول ۳). بیش‌ترین WG ($610 \pm 18/70$ گرم)، SGR ($0/42 \pm 0/00$ درصد در روز)، BWI ($2/33 \pm 13/62$) و ADG ($3/30 \pm 20/33$ روز/گرم) در زمان ۹۰ روز در گروه تیمار E2 و کمترین مقدار این شاخص‌ها در گروه شاهد مرحله II مشاهده شد که با دیگر گروه‌ها در مراحل مختلف رسیدگی اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$ ؛ جدول ۳).

در خصوص CF بین گروه‌های مختلف در تمام زمان‌ها و مراحل مختلف رسیدگی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$ ؛ جدول ۳). بقا در همه تیمارها ۱۰۰٪ بود و هیچ تلفاتی طی مطالعه مشاهده نشد.

جدول ۲ آزمون واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measures ANOVA) داده‌های رشد تاسماهیان سیبری ماده (*Acipenser baerii*) مورد مطالعهTable 2 Repeated measures ANOVA of growth data in studied female Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Generalized Linear Model (GLM) Regression							
Growth indices	Treatment	Maturity stage	Time	Treatment × Maturity stage	Treatment × Time	Maturity stage × Time	Treatment × Maturity stage × Time
Final weight (g)	df = 1 F = 0.04 P = 0.83	df = 2 F = 69.48 P = 0.00	df = 3 F = 68.78 P = 0.00	df = 2 F = 1.46 P = 0.25	df = 3 F = 5.95 P = 0.00	df = 6 F = 3.37 P = 0.00	df = 6 F = 4.31 P = 0.00
Final length (cm)	df = 1 F = 0.00 P = 0.97	df = 2 F = 13.99 P = 0.00	df = 3 F = 207.63 P = 0.00	df = 2 F = 1.79 P = 0.00	df = 3 F = 1.93 P = 0.13	df = 6 F = 6.99 P = 0.00	df = 6 F = 8.89 P = 0.00
Weight gain (g)	df = 1 F = 10.98 P = 0.00	df = 2 F = 25.60 P = 0.00	df = 3 F = 0.85 P = 0.46	df = 2 F = 10.71 P = 0.00	df = 3 F = 7.77 P = 0.00	df = 6 F = 3.81 P = 0.00	df = 6 F = 4.58 P = 0.00
Specific growth rate (%/day)	df = 1 F = 7.20 P = 0.013	df = 2 F = 33.76 P = 0.00	df = 3 F = 1.25 P = 0.29	df = 2 F = 6.68 P = 0.00	df = 3 F = 5.86 P = 0.10	df = 6 F = 3.16 P = 0.00	df = 6 F = 3.78 P = 0.00
Body weight increase (%)	df = 1 F = 7.07 P = 0.01	df = 2 F = 32.23 P = 0.00	df = 2 F = 6.58 P = 0.00	df = 3 F = 1.23 P = 0.30	df = 3 F = 5.41 P = 0.00	df = 6 F = 3.03 P = 0.01	df = 6 F = 3.56 P = 0.00
Condition factor	df = 1 F = 0.11 P = 0.74	df = 2 F = 1.08 P = 0.35	df = 3 F = 23.88 P = 0.00	df = 2 F = 2.85 P = 0.07	df = 3 F = 5.00 P = 0.00	df = 6 F = 0.30 P = 0.94	df = 6 F = 1.40 P = 0.22
Daily growth rate (g/day)	df = 1 F = 10.98 P = 0.00	df = 2 F = 25.60 P = 0.00	df = 3 F = 0.85 P = 0.46	df = 2 F = 10.71 P = 0.00	df = 3 F = 7.77 P = 0.00	df = 6 F = 3.81 P = 0.00	df = 6 F = 4.58 P = 0.00

جدول ۳ تغییرات شاخص‌های رشد تاسماهیان سیبری ماده (*Acipenser baerii*) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز پس از تزریق آهسته رهش هورمون ۱۷ بتا-استرادیول (E_2) (n = ۵ برای هر گروه؛ میانگین $\pm$ خطای استاندارد).

Table 3 Changes in growth indices of female Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) at different sexual maturity stages, 30, 60, 90, and 120 days after slow-release 17 β -estradiol (E_2) injection (n = 5 per group; mean $\pm$ S.E).

Time	Group	Final body weight (g)	Final total length (cm)	Weight gain (g)	Specific growth rate (%/day)	Body weight increase (%)	Condition factor	Daily growth rate (g/day)
After 30 Days	Control Stage II	4170 $\pm$ 137.47 ^f	95.60 $\pm$ 2.76 ^{gh}	180 $\pm$ 12.24 ^{bcd}	0.15 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	4.94 $\pm$ 1.32 ^{bcd}	0.47 $\pm$ 0.01	6.00 $\pm$ 1.23 ^{bcd}
	E2 Stage II	4180 $\pm$ 169.99 ^f	94.50 $\pm$ 0.93 ^h	330 $\pm$ 12.24 ^{bcd}	0.28 $\pm$ 0.00 ^{abc}	8.95 $\pm$ 2.61 ^{abc}	0.49 $\pm$ 0.01	11.00 $\pm$ 3.22 ^{bcd}
	Control Stage III	6590 $\pm$ 273.12 ^{a-d}	112.76 $\pm$ 3.17 ^{a-f}	260 $\pm$ 9.99 ^{bcd}	0.13 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	4.23 $\pm$ 0.50 ^{bcd}	0.45 $\pm$ 0.01	8.66 $\pm$ 0.62 ^{bcd}
	E2 Stage III	6200 $\pm$ 211.30 ^{cde}	106.72 $\pm$ 2.74 ^{a-h}	210 $\pm$ 9.99 ^{bcd}	0.11 $\pm$ 0.00 ^{cd}	3.54 $\pm$ 0.13 ^{cd}	0.50 $\pm$ 0.00	7.00 $\pm$ 0.33 ^{bcd}
	Control Stage IV	7330 $\pm$ 285.30 ^{abc}	110.94 $\pm$ 3.00 ^{a-h}	90 $\pm$ 9.99 ^{cd}	0.04 $\pm$ 0.00 ^d	1.29 $\pm$ 0.19 ^d	0.52 $\pm$ 0.03	3.00 $\pm$ 0.23 ^{cd}
	E2 Stage IV	7410 $\pm$ 318.74 ^{abc}	115.86 $\pm$ 5.00 ^{a-f}	80 $\pm$ 12.44 ^{cd}	0.03 $\pm$ 0.00 ^d	1.16 $\pm$ 0.23 ^d	0.47 $\pm$ 0.02	2.66 $\pm$ 0.40 ^{cd}
After 60 Days	Control Stage II	4350 $\pm$ 108.39 ^f	99.12 $\pm$ 3.38 ^{fgh}	420 $\pm$ 19.99 ^{ab}	0.32 $\pm$ 0.00 ^{ab}	10.35 $\pm$ 1.29 ^{ab}	0.44 $\pm$ 0.01	14.00 $\pm$ 1.35 ^{ab}
	E2 Stage II	4520 $\pm$ 148.82 ^f	101.00 $\pm$ 0.83 ^{d-h}	340 $\pm$ 9.99 ^{bc}	0.27 $\pm$ 0.00 ^{abc}	8.90 $\pm$ 0.38 ^{abc}	0.43 $\pm$ 0.01	11.33 $\pm$ 4.06 ^{bc}
	Control Stage III	6860 $\pm$ 285.21 ^{abc}	115.38 $\pm$ 2.99 ^{a-f}	270 $\pm$ 12.24 ^{bcd}	0.13 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	4.11 $\pm$ 0.51 ^{bcd}	0.44 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 1.24 ^{bcd}
	E2 Stage III	6410 $\pm$ 213.54 ^{b-d}	109.98 $\pm$ 2.72 ^{a-h}	210 $\pm$ 9.99 ^{bcd}	0.11 $\pm$ 0.00 ^{cd}	3.51 $\pm$ 0.63 ^{cd}	0.47 $\pm$ 0.00	7.00 $\pm$ 0.97 ^{bcd}
	Control Stage IV	7430 $\pm$ 288.78 ^{abc}	112.82 $\pm$ 2.96 ^{a-f}	100 $\pm$ 0.00 ^{cd}	0.04 $\pm$ 0.00 ^d	1.50 $\pm$ 0.32 ^d	0.51 $\pm$ 0.03	3.33 $\pm$ 0.52 ^{cd}
	E2 Stage IV	7480 $\pm$ 322.72 ^{abc}	117.46 $\pm$ 4.85 ^{a-d}	70 $\pm$ 12.44 ^d	0.03 $\pm$ 0.00 ^d	0.92 $\pm$ 0.10 ^d	0.46 $\pm$ 0.02	2.33 $\pm$ 0.40 ^d
After 90 Days	Control Stage II	4420 $\pm$ 196.59 ^f	99.84 $\pm$ 3.56 ^{c-h}	70 $\pm$ 12.44 ^d	0.04 $\pm$ 0.00 ^d	1.37 $\pm$ 0.69 ^d	0.43 $\pm$ 0.01	2.33 $\pm$ 1.24 ^d
	E2 Stage II	5130 $\pm$ 156.20 ^{ef}	103.52 $\pm$ 0.33 ^{b-h}	610 $\pm$ 18.70 ^a	0.42 $\pm$ 0.00 ^a	13.62 $\pm$ 2.33 ^a	0.46 $\pm$ 0.01	20.33 $\pm$ 3.30 ^a
	Control Stage III	7000 $\pm$ 307.81 ^{abc}	118.14 $\pm$ 2.68 ^{abc}	140 $\pm$ 9.99 ^{cd}	0.06 $\pm$ 0.00 ^d	2.11 $\pm$ 0.37 ^d	0.42 $\pm$ 0.00	4.66 $\pm$ 0.62 ^{cd}
	E2 Stage III	6610 $\pm$ 226.60 ^{a-d}	110.98 $\pm$ 2.75 ^{a-h}	200 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	0.10 $\pm$ 0.00 ^{cd}	3.24 $\pm$ 0.62 ^{cd}	0.48 $\pm$ 0.00	6.66 $\pm$ 1.05 ^{bcd}
	Control Stage IV	7510 $\pm$ 309.99 ^{abc}	114.16 $\pm$ 3.01 ^{a-f}	80 $\pm$ 12.44 ^{cd}	0.03 $\pm$ 0.00 ^d	1.19 $\pm$ 0.35 ^d	0.49 $\pm$ 0.03	2.66 $\pm$ 0.66 ^{cd}
	E2 Stage IV	7610 $\pm$ 326.49 ^{abc}	118.98 $\pm$ 4.93 ^{ab}	130 $\pm$ 12.44 ^{cd}	0.05 $\pm$ 0.00 ^d	1.78 $\pm$ 0.21 ^d	0.45 $\pm$ 0.02	4.33 $\pm$ 0.40 ^{cd}
After 120 Days	Control Stage II	4590 $\pm$ 178.46 ^f	101.30 $\pm$ 4.08 ^{c-h}	170 $\pm$ 10.00 ^{bcd}	0.11 $\pm$ 0.00 ^{cd}	3.39 $\pm$ 1.18 ^{cd}	0.43 $\pm$ 0.01	5.66 $\pm$ 2.14 ^{bcd}
	E2 Stage II	5430 $\pm$ 129.99 ^{def}	106.72 $\pm$ 0.70 ^{a-h}	300 $\pm$ 41.83 ^{bcd}	0.19 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	5.94 $\pm$ 0.96 ^{bcd}	0.44 $\pm$ 0.01	10.00 $\pm$ 1.39 ^{bcd}
	Control Stage III	7260 $\pm$ 313.60 ^{abc}	120.14 $\pm$ 2.55 ^{ab}	260 $\pm$ 12.24 ^{bcd}	0.12 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	3.91 $\pm$ 1.17 ^{bcd}	0.41 $\pm$ 0.00	8.66 $\pm$ 2.19 ^{bcd}
	E2 Stage III	6750 $\pm$ 502.73 ^{a-d}	111.78 $\pm$ 2.91 ^{a-g}	140 $\pm$ 29.15 ^{cd}	0.06 $\pm$ 0.00 ^d	2.11 $\pm$ 0.43 ^d	0.48 $\pm$ 0.00	4.66 $\pm$ 0.97 ^{cd}
	Control Stage IV	7630 $\pm$ 301.49 ^{ab}	116.58 $\pm$ 6.03 ^{a-e}	120 $\pm$ 12.24 ^{cd}	0.05 $\pm$ 0.00 ^d	1.73 $\pm$ 0.33 ^d	0.47 $\pm$ 0.03	4.00 $\pm$ 0.40 ^{cd}
	E2 Stage IV	7950 $\pm$ 320.93 ^a	120.60 $\pm$ 11.20 ^a	340 $\pm$ 9.83 ^{bc}	0.14 $\pm$ 0.00 ^{bcd}	4.55 $\pm$ 0.98 ^{bcd}	0.45 $\pm$ 0.02	11.33 $\pm$ 2.32 ^{bc}

حروف مختلف در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار می‌باشد ($P < 0.05$).

Different letters in each column indicate a significant difference ($P < 0.05$).

بحث

این مطالعه، با هدف بررسی اثر تزریق آهسته رهش هورمون E2 بر عملکرد رشد تاسماهیان سبیری ماده در مراحل مختلف رسیدگی جنسی انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که تعامل سه گانه تیمار، مرحله رسیدگی و زمان اثر معنی داری بر شاخص های رشد تاسماهی سبیری داشت. بالاترین میزان برخی شاخص های رشد (WG، SGR، BWI و ADG) در تیمار مرحله II و پس از ۹۰ روز مشاهده شد، اما بیشترین وزن نهایی و درازای کل در تیمار مرحله IV و در پایان دوره مشاهده شد.

پیرامون اثرات استروئیدهای جنسی بر عملکرد رشد ماهیان خاویاری مطالعات اندکی انجام شده است. در این راستا، Akhavan و همکاران (۲۰۱۵) اثر ایمپلنت E2 بر رشد فیل ماهیان در مرحله پیش زرده سازی را بررسی کردند. نتایج پس از ۶ ماه نشان داد که ماهیان گروه شاهد (که E2 دریافت نکرده بودند) وزن بالاتری نسبت به ماهیان تیمار داشتند. همچنین، در بررسی اثر کوتاه مدت (۴ هفته) کاشت هورمون کورتیزول در فیل ماهیان مرحله پیش زرده سازی هیچ تفاوت معنی داری بین شاخص های رشد گروه های آزمایشی مشاهده نشد (Poursaeid et al. 2015). در مطالعه ای دیگر، Falahatkar و همکاران (۲۰۱۳) اثر طولانی مدت تزریق داخل شکمی E2 را بر رشد تاسماهیان ازون برون بررسی و مشاهده کردند که پس از ۱۹۰ روز WG و SGR تحت تأثیر تزریق مکرر E2 قرار نگرفتند. Khara و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیان کردند که شاخص های رشد بچه ماهیان ازون برون در گروه های تغذیه شده با جیره حاوی E2 کم تر از ماهیان گروه شاهد بود. در مطالعه حاضر، برخلاف مطالعات اشاره شده، کاشت E2 باعث افزایش رشد شد. این اختلاف را می توان به تفاوت در گونه، شرایط محیطی، دوز مورد استفاده، فاصله زمانی تزریق، نوع حامل و مدت زمان رهایش هورمون نسبت داد (Kranthirekha et al. 2023). همچنین، استفاده از روش آهسته رهش در پژوهش حاضر، برخلاف تزریق های مکرر در مطالعات پیشین احتمالاً از اشباع مولکولی جلوگیری کرده و پاسخ فیزیولوژیک بهینه تری ایجاد کرده است. به عبارت ساده تر، با افزایش غلظت هورمون در بدن، گیرنده های یاخته ای که به این هورمون ها حساس هستند، اشباع شده و

به تدریج به آن پاسخ کمتری می دهند (Pelissero et al. 1991).

همسو با نتایج مطالعه حاضر، در بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان هورمون های استروئیدی T و E2 با اثر قابل توجه بر سطح GH پلازما سبب تسریع فرآیند رشد در این ماهی شدند (Holloway and Leatherland, 1997). Uchida و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که تیمار ۱۷ ألفا-متیل تستوسترون اثر مثبتی بر رشد مراحل اولیه تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) داشت. در مطالعه ای که اثر ایمپلنت استروئیدهای جنسی بر اسپرماتوژنز و رشد بیضه گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) بررسی شد، مشاهده شد که تیمار با استروئید جنسی ۱۱-کتوتستوسترون (11-KT) منجر به رشد قابل توجه بیضه شد که با افزایش اندازه و وزن کلی بدن، به خصوص در نرهای بالغ همراه بود. مطالعه روی کفشک چینی (*Cynoglossus emilaevis*) نشان داد که استفاده طولانی مدت از مکمل های خوراکی حاوی E2 و T، به خصوص در مراحل بالاتر رسیدگی جنسی، سبب افزایش وزن نهایی ماهیان نسبت به گروه شاهد شد (Zhang et al. 2022). چنین مطالعاتی همگی این نکته را تأکید می کنند که تیمار با استروئیدهای جنسی در مراحل پایانی رسیدگی جنسی می تواند سبب افزایش وزن نهایی در گونه های مختلف شود، که با یافته های حاضر در مورد تاسماهیان سبیری مولد همخوانی دارد.

علت افزایش رشد ماهی در مطالعه حاضر را می توان به سازوکار تأثیر E2 در بدن ماهی نسبت داد. E2 با هورمون های دیگر مانند GH و فاکتورهای شبه رشد انسولینی (IGF) تعامل دارد، به این ترتیب که E2 می تواند هورمون های رشد و سنتز پروتئین را تحریک کند و به این طریق موجب بهبود رشد شود (Weidner et al. 2020; Rodgers and Gomez Isaza, 2023). همچنین، در برخی گونه ها مانند سوف زرد (*Perca flavescens*) نشان داده شده است که E2 سبب افزایش اشتها و در نتیجه افزایش رشد می شود (Goetz et al. 2009). با وجود این، گزارش شده است که دوزهای بالاتر استروژن های خارجی می توانند رشد کلی سوماتیک را سرکوب کرده و در عین حال رشد اندام های تولیدمثلی را تقویت کنند (Razmi et al. 2010).

رسیدگی و تیمارهای مختلف نقش داشته باشند. از جمله این عوامل می‌توان به تغییرات در حساسیت گیرنده‌های هورمونی اشاره کرد. حساسیت این گیرنده‌ها، به‌خصوص گیرنده‌های استروژن، ممکن است در مراحل مختلف رسیدگی تغییر کند و بر پاسخ یاخته‌ها به E2 و در نتیجه، بر رشد تأثیر بگذارند. برای مثال، ممکن است در مراحل خاصی از رسیدگی، حساسیت گیرنده‌های استروژن در بافت‌هایی نظیر گنادها افزایش یابد و این امر منجر به افزایش رشد در این بافت‌ها شود. از دلایل احتمالی دیگر می‌توان تغییرات در بیان ژن‌های مختلف را نام برد. بیان ژن‌ها ممکن است در مراحل مختلف رسیدگی تغییر کند و باعث تفاوت در پاسخ به E2 و در نتیجه، رشد شود. تأثیرات عوامل محیطی و تغییرات فردی نیز در پاسخ به E2 نقش دارند که نباید نقش آنها را نادیده گرفت. مطالعه حاضر نشان داد که تزریق آهسته‌رهش E2 می‌تواند بر عملکرد رشد تاسماهیان سیبری مولد ماده تأثیر بگذارد، اما این تأثیر به مرحله رسیدگی جنسی ماهی بستگی دارد. به‌نظر می‌رسد که در مراحل اولیه رسیدگی جنسی، E2 با تحریک محور رشد و افزایش سنتز پروتئین، به رشد سریع‌تر سوماتیک کمک می‌کند، در حالی که در مراحل پیشرفته‌تر، E2 با تأثیر بر سوخت و ساز و توزیع انرژی، به رشد گنادها و آماده‌سازی برای تولیدمثل کمک می‌کند. با وجود این، برای درک کامل مکانیسم‌های مولکولی و فیزیولوژیک درگیر در این فرآیند، مطالعات بیش‌تری لازم است. انجام مطالعاتی با هدف بررسی تغییرات سطوح هورمونی، بیان ژن‌های مختلف و فعالیت مسیرهای پیام‌دهی در مراحل مختلف رسیدگی جنسی و در پاسخ به تیمارهای مختلف هورمونی می‌تواند به درک بهتری از نقش E2 در رشد و توسعه ماهیان خاویاری منجر شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئولان مزرعه خصوصی پرورش ماهیان خاویاری علوی به‌خصوص آقایان مهندس محمد حسین طلوعی، مقداد طلوعی و حسین دیان‌تی کمال تشکر را دارند. همچنین از آقایان دکتر عبدالعلی راهداری، دکتر بهمن مکن‌خواه و مهندس رضا فلاح به‌خاطر همکاری و همیاری در انجام مراحل مختلف این مطالعه تشکر و قدردانی می‌کنند.

این دوگانگی نشان می‌دهد که E2 ممکن است با افزایش تخصیص انرژی به‌سمت بافت‌های تولیدمثلی به‌جای توده عضلانی، سبب رشد گنادها شود.

در بسیاری از گونه‌ها، افزایش سطح استروئیدهای جنسی، سنتز پروتئین و تجمع چربی را افزایش می‌دهد، که می‌تواند وزن و درازای بیش‌تر مشاهده شده در ماهی‌های تحت تیمار مرحله IV را در تحقیق حاضر توضیح دهد. زیرا ماهیان احتمالاً در این مرحله به بالاترین سطح از E2 می‌رسند (Lv et al., 2022). همچنین، سطوح مختلف آمادگی فیزیولوژیک برای تولیدمثل در مراحل مختلف رسیدگی جنسی، متفاوت است. با رسیدن ماهیان خاویاری به مرحله IV، این ماهیان دچار تغییرات چشم‌گیری در ریخت‌شناسی (مورفولوژی) خود می‌شوند که به افزایش قابل توجه اندازه کلی بدن آنها می‌انجامد. معمولاً این مرحله شامل بیشینه رشد غدد جنسی و افزایش ذخایر انرژی لازم برای تولیدمثل است (Guo et al. 2022, Lv et al. 2022). بالاترین عملکرد رشد مشاهده شده در ماهیان مرحله II احتمالاً منعکس کننده اولویت رشد سوماتیک در طی مرحله پیش‌زرده سازی است، زیرا در این دوره حجم و وزن گناد کم بوده و کمینه انرژی صرف بافت‌های تولیدمثلی می‌شود (Webb et al. 2017). همچنین، در ماهیان استخوانی، E2 با تحریک نورون‌های هیپوتالاموسی که هورمون آزادکننده GH (GHRH) تولید می‌کنند، ترشح GH از غده هیپوفیز را افزایش می‌دهند (Holloway and Leatherland, 1997). افزایش GH به نوبه خود باعث افزایش تولید IGF-I در کبد شده که رشد عضلات و سنتز پروتئین را تقویت می‌کند (Rodgers and Gomez Isaza, 2023). در تاسماهیان سیبری موجود در مطالعه حاضر، شتاب رشد مشاهده شده در ماهیان تیمار E2 در مرحله II (روزهای ۳۰ تا ۹۰) احتمالاً به همین دلیل است. با وجود این، افزایش وزن نهایی در ماهی‌های مرحله IV ممکن است ناشی از مسیرهای مستقل از IGF-I مانند افزایش ذخیره چربی از طریق فعال-کردن گیرنده گاما پراکسیزوم پرولیفاتور (PPAR γ) باشد (Wu et al. 2021).

علاوه بر موارد ذکر شده، عوامل دیگری نیز ممکن است در تفاوت‌های مشاهده شده در رشد ماهیان در مراحل مختلف

منابع

این مطالعه با حمایت مادی بنیاد ملی علم ایران (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۱۴۹۱۳ انجام شده است.

- Abdollahpour, H., Falahatkar, B., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. 2019. Short-term physiological role of thyroxine administration on plasma metabolites and growth performance of Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture Research* 51: 1372-380. DOI: 10.1111/are.14482.
- Akhavan, S.R., Falahatkar, B., McCormick, P.A., Lokman, P. 2020. Changes in lipid biology during ovarian development in farmed beluga sturgeon, *Huso huso* L. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 319: 376-386. DOI: 10.1152/ajpregu.00364.2019.
- Akhavan, S.R., Falahatkar, B., Tolouei Gilani, M.H., Lokman, P.M. 2015. Effects of estradiol-17 β implantation on ovarian growth, sex steroid levels and vitellogenin proxies in previtellogenic sturgeon *Huso huso*. *Animal Reproduction Science* 157: 1-10. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.12.010.
- Arslan, T., Phelps, R.P. 2004. Directing gonadal differentiation in bluegill, *Lepomis macrochirus* (Rafinesque), and black crappie, *Pomoxis nigromaculatus* (Lesueur), by periodic estradiol-17 β immersions. *Aquaculture Research* 35: 397-402. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.01029.x.
- Ashouri, G., Mahboobi-Soofiani, N., Hoseinifar, S.H., Torfi-Mozanzadeh, M., Mani, A., Khosravi, A., Carneval, O. 2020. Compensatory growth, plasma hormones and metabolites in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) subjected to fasting and re-feeding. *Aquaculture Nutrition* 26: 400-409. DOI: 10.1111/anu.13002.
- Bronzi, P., Rosenthal, H., Arlati, G., Williot, P. 1999. A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. *Journal of Applied Ichthyology* 15: 224-227. DOI: 10.1111/j.1439-0426.1999.tb00239.x.
- Degani, G. 2014. Expression of the growth hormone and insulin-like growth factor 1 genes in male and female blue gourami (*Trichogaster trichopterus*) at different temperatures. *Journal of Asian Scientific Research* 4: 413-427.
- Donna, L.D., Benabdelkamel, H., Taverna, D., Indelicato, S., Aiello, D., Napoli, A., Sindona, G., Mazzotti, F. 2015. Determination of ketosteroid hormones in meat by liquid chromatography tandem mass spectrometry and derivatization chemistry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407: 5835-5842. DOI: 10.1007/s00216-015-8772-5.
- Drummond, A.E. 2006. The role of steroids in follicular growth. *Reproductive Biology and Endocrinology* 4: 4-16. DOI: 10.1186/1477-7827-4-16.
- Falahatkar, B. 2014. Feeding and Feed Formulation in Aquatic Organisms. Institute of Technical and Vocational Higher Education, Tehran, Iran, 334 p. (In Persian).
- Falahatkar, B. 2018. Nutritional Requirements of the Siberian Sturgeon: An Updated Synthesis. In: The Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). Volume 1 - Biology. Williot, P., Nonnotte, G., Vizziano-Cantonnet, D., Chebanov, M. (Eds.). Springer Cham, 207-228.
- Falahatkar, B., Poursaeid, S. 2013. Stress responses of great sturgeon *Huso huso* subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International* 21: 947-959. DOI: 10.1007/s10499-012-9566-9.

- Falahatkar, B., Poursaeid, S., Meknatkhah, B., Khara, H., Efatpanah, I. 2014. Long-term effects of intraperitoneal injection of estradiol-17 β on the growth and physiology of juvenile stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. Fish Physiology and Biochemistry 40: 365-373. DOI: 10.1007/s10695-013-9849-8.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbasi, M.R., Pourkazemi, M., Yasemi, M. 2006. Effects of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *Huso huso*. Pajouhesh va Sazandegi 72: 98-103. (In Persian).
- Goetz, F.W., Rise, M.L., Rise, M., Goetz, G.W., Binkowski, F., Shepherd, B.S. Stimulation of growth and changes in the hepatic transcriptome by 17beta-estradiol in the yellow perch (*Perca flavescens*). Physiological Genomics 38: 261-280. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00069.2009.
- Guedes-Alonso, R., Montesdeoca-Esponda, S., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodríguez, J.J. 2014. Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. Trends in Environmental Analytical Chemistry 3-4: 14-27. DOI: 10.1016/j.teac.2014.10.001.
- Guo, S., Zheng, J., Li, G. 2022. Effects of growth hormone on lipid metabolism and sexual development in pubertal obese male rats. Open Life Sciences 17: 1531-1540. DOI: 10.1515/biol-2022-0515.
- Hamlin, H.J., Milnes, M.R., Beaulaton, C.M., Albergotti, L.C., Guillette, L.J. 2011. Gonadal stage and sex steroid correlations in Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*, habituated to a semitropical environment. Journal of the World Aquaculture Society 42: 313-320. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2011.00469.x.
- Holloway, A.C., Leatherland, J.F. 1997. Effect of gonadal steroid hormones on plasma growth hormone concentrations in sexually immature rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. General and Comparative Endocrinology 105: 246-254. DOI: 10.1006/gcen.1996.6826.
- Jackson, L.M., Klerks, P.L. 2019. Impact of long-term exposure to 17 α -ethinylestradiol in the live-bearing fish *Heterandria formosa*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 77: 51-61. DOI: 10.1007/s00244-019-00600-5.
- Katz, Y., Eckstein, B. 1974. Changes in steroid concentration in blood of female *Tilapia aurea* (Teleostei, Cichlidae) during initiation of spawning. Endocrinology 95: 963-967. DOI: 10.1210/endo-95-4-963.
- Kazemi, R., Yarmohammadi, M., Hallajian, A., Tizkar, B. 2020. Determination of gender and sexual maturity stages of reared great sturgeon (*Huso huso*) using blood plasma sex steroid ratios. Iranian Journal of Fisheries Sciences 19: 2185-2198. DOI: 10.22092/ijfs.2020.122235.
- Kazemi, R., Yousefi Jourdehi, A., Pourdehghani, M., Dejhandian, S., Hallajian, A., Bahmani, M., Mohammadi Parashkoh, H., Yarmohammad, M. 2014. Classification of sex and maturity stages of farmed Great sturgeon (*Huso huso*) using blood plasma steroid hormone and calcium ion levels. Iranian Journal of Fisheries Sciences 13: 597-607. DOI: 10.22092/ijfs.2018.114382.
- Keen, P.L., Higgs, D.A., Hall, K.J., Ikonomou, M. 2005. Effects of dietary exposure of 4-nonylphenol on growth and smoltification of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Science of the Total Environment 349: 81-94. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.01.035.
- Khara, H., Meknatkhah, B., Falahatkar, B., Ahmadnezhad, M., Poursaeid, S. 2014. Effect of dietary estradiol-17 β on growth performance, body composition and blood

- indices in Stellate sturgeon, *Acipenser stellatus*. Caspian Journal of Environmental Sciences 12: 245-251.
- Klinge, C.M. 2000. Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. Steroids 65: 227-251. DOI: 10.1016/S0039-128X(99)00107-5.
- Kranthirekha, M., Narshivudu, A., Vinod Mayekar, A. 2023. Review on exogenous hormone administration in aquaculture. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 12: 148-157. DOI: 10.20546/ijemas.2023.1207.016.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Kletzl, M., Weismann, T. 2006. Effect of 17 β -estradiol on gamete quality and maturation in two salmonid species. Aquatic Toxicology 79: 124-131. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.05.011.
- Lin, Z., Gao, W., Hu, H., Ma, K., He, B., Dai, W., Wang, X., Wang, J., Zhang, X., Zhang, Q. 2014. Novel thermo-sensitive hydrogel system with paclitaxel nanocrystals: High drug-loading, sustained drug release and extended local retention guaranteeing better efficacy and lower toxicity. Journal of Controlled Release 174: 161-170. DOI: 10.1016/j.jconrel.2013.10.026.
- Lv, W., Jin, S., Cao, D., Wang, N., Jin, X., Zhang, Y. 2022. Effects of luteinizing hormone releasing hormone A2 on gonad development in juvenile Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*, revealed by transcriptome profiling analysis. Frontiers in Genetics 13: 859965. DOI: 10.3389/fgene.2022.859965.
- Madsen, L.L., Korsgaard, B., Bjerregaard, P. 2003. Estrogenic effects in flounder *Platichthys flesus* orally exposed to 4-tert-octylphenol. Aquatic Toxicology 64: 393-405. DOI: 10.1016/S0166-445X(03)00106-1.
- Martyniuk, C.J., Gallant, N.S., Marlatt, S.C., Woodhouse, A.J., Tredeau, V.L. 2006. Current Perspectives on 17 β -estradiol Action and Nuclear Estrogen Receptors in Teleost Fish. In: Fish Endocrinology. Reinecke, M., Zaccone, G., Kapoor, B.G (Eds.). Science Publishers, New Hampshire, 625-663.
- McCallum, E.S., Cervený, D., Fick, J., Brodin, T. 2019. Slow-release implants for manipulating contaminant exposures in aquatic wildlife: A new tool for field ecotoxicology. Environmental Science and Technology 53: 8282-8290. DOI: 10.1021/acs.est.9b01975.
- Melcangi, R.C., Martini, L., Galbiati, M. 2002. Growth factors and steroid hormones: a complex interplay in the hypothalamic control of reproductive functions. Progress in Neurobiology 67: 421-429. DOI: 10.1016/s0301-0082(02)00060-6.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Sakai, N., Tanaka, M. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. Fish Physiology and Biochemistry 11: 3-14. DOI: 10.1007/BF00004545.
- Nazari, R.M. 2010. Plasma sex steroid hormones of Persian sturgeon *Acipenser persicus* as influenced by gonad development stages and season. International Aquatic Research 2: 49-54.
- Nilsson, S., Mäkelä, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M., Gustafsson, J.Å. 2001. Mechanisms of estrogen action. Physiological Reviews 81: 1535-1565. DOI: 10.1152/physrev.2001.81.4.1535.
- Pandian, T.J., Sheela, S.G. 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture 138: 1-22. DOI: 10.1016/0044-8486(95)01075-0.
- Pelissero, C., Le Menn, F., Narbonne, J.F. 1991. Plasma kinetics of ingested tritiated estradiol and the influence on estradiol plasma levels in the cultured Siberian

- sturgeon *Acipenser baerii*. Fish Physiology and Biochemistry 9: 231-245. DOI: 10.1007/BF02265144.
- Pizza, J.C., O'Connor, J.M. 1983. PCB dynamics in Hudson River striped bass: II. accumulation from dietary sources. Aquatic Toxicology 3: 313-327. DOI: 10.1016/0166-445X(83)90013-9.
- Poursaeid, S., Falahatkar, B., Van Der Kraak, G. 2015. Short-term effects of cortisol implantation on blood biochemistry and thyroid hormones in previtellogenic great sturgeon *Huso huso*. Comparative Biochemistry and Physiology 179A: 197-203. DOI: 10.1016/j.cbpa.2014.09.039.
- Razmi, K., Naji, T., Alizadeh, M., Hoseinzadeh Sahafi, H. 2010. Hormonal sex reversal of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by ethynylestradiol-17 α (EE2). Iranian Journal of Fisheries Sciences 10: 304-315.
- Rodgers, E.M., Gomez Isaza, D.F. 2023. The growth-promoting effects of exercise in finfish: A systematic review and meta-analysis. Reviews in Aquaculture 16: 942-953. DOI: 10.1111/raq.12879.
- Sangiao-Alvarellos, S., Miguez, J.M., Soengas, J.L. 2005. Actions of growth hormone on carbohydrate metabolism and osmoregulation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and Comparative Endocrinology 141: 214-225. DOI: 10.1016/j.ygcen.2005.01.007.
- Semenkova, T., Barannikova, I., Kime, D.E., McAllister, B.G., Bayunova, L., Dyubin, V., Kolmakov, N. 2002. Sex steroid profiles in female and male stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during final maturation induced by hormonal treatment. Journal of Applied Ichthyology 18: 375. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00368.x.
- Shelton, W., Mims, S.D. 2003. Fabrication of silastic implants for in vivo steroid delivery in fish. North American Journal of Aquaculture 65: 158-161. DOI: 10.1577/1548-8454(2003)65<158:FOSIFI>2.0.CO;2.
- Tokarz, J., Möller, G., de Angelis, M.H., Adamski, J. 2015. Steroids in teleost fishes: A functional point of view. Steroids 103: 123-144. DOI: 10.1016/j.steroids.2015.06.011.
- Uchida, K., Kajimura, S., Riley, L.G., Hirano, T., Aida, K., Grau, E.G. 2003. Effects of fasting on growth hormone/insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comparative Biochemistry and Physiology 134A: 429-439. DOI: 10.1016/s1095-6433(02)00318-5.
- Wang, H.P., Gao, Z., Beres, B., Ottobre, J., Wallat, G., Tiu, L., Rapp, D., O'Bryant, P., Yao, H. 2008. Effects of estradiol-17 β on survival, growth performance, sex reversal and gonadal structure of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. Aquaculture 285: 216-223. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.08.041.
- Wang, W.B., Li, A.H., Cai, T.Z., Wang, J.G. 2005. Effects of intraperitoneal injection of cortisol on non-specific immune functions of *Ctenopharyngodon idella*. Journal of Fish Biology 67: 779-793. DOI: 10.1111/j.0022-1112.2005.00779.x.
- Webb, M.A.H., Van Eenennaam, J.P.J., Crossman, A., Chapman, F.A. 2017. A practical guide for assigning sex and stage of maturity in sturgeons and paddlefish. Journal of Applied Ichthyology 35: 169-186. DOI: 10.1111/jai.13582.
- Weidner, J., Håkonsrud Jensen, C., Giske, J., Eliassen, S., Jørgensen, C. 2020. Hormones as adaptive control systems in juvenile fish. Biology Open 9: 046144. DOI: 10.1242/bio.046144.
- Williot, P., Arlati, G., Chebanov, M., Gulyas, T., Kasimov, R., Kirschbaum, F., Patriche, N., Pavlovskaya, L.P., Poliakova, L., Pourkazemi, M. 2002. Status and management of Eurasian sturgeon: An overview. International Reviews of

- Hydrobiology 87: 483-506. DOI: 10.1002/1522-2632(200211)87:5/6<483::AID-IROH483>3.0.CO;2-K.
- Woo, N.Y.S., Chung, A.S.B., Ng, T.B. 1993. Influence of oral administration of estradiol-17 β and testosterone on growth, digestion, food conversion and metabolism in the under yearling red sea bream, *Chrysophrys major*. Fish Physiology and Biochemistry 10: 377-387. DOI: 10.1007/BF00004504.
- Wu, H.Y., Zhang, X.C., Jia, B.B., Cao, Y., Yan, K., Li, J.Y., Tao, L., Jie, Z.G., Liu, Q.W. 2021. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate acetaminophen-induced acute liver failure through activating ERK and IGF-1R/PI3K/AKT signaling pathway. Journal of Pharmacological Sciences 147: 143-155. DOI: 10.1016/j.jphs.2021.06.008.
- Yarmohammadi, M., Pourkazemi, M., Kazemi, R., Yazdani Sadati, M.A., Hallajian, A., Saber, M.H. 2017. Sex steroid level and sexual dimorphism expression of genes in gonads of the great sturgeon *Huso huso* Linnaeus, 1758 during maturity developmental stages. Aquaculture Research 48: 1413-1429. DOI: 10.1111/are.12977.
- Zarogian, G.E., Gutjahr-Gobell, R.E., Horowitz, D.B., Jayaraman, S., Cantwell, M.G., Chichester, C.O., Mills, L.J. 2013. An injectable, slow-release implantation method for exposing fish to chemicals over a period of weeks. North American Journal of Aquaculture 74: 512-521. DOI: 10.1080/15222055.2012.697097.
- Zhang, M., Yang, Q., Shi, R., Wang, J., Zhang, Z., Yang, Y., Li, W., Chen, S., Wang, N. 2022. Effects of long-term sex steroid hormones (estradiol and testosterone)-supplemented feeds on the growth performance of Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Fish Physiology and Biochemistry 48: 1365-1375. DOI: 10.1007/s10695-022-01125-w.