



امکان سنجی ثبت فرکانس الکتریکی با هدف تعیین جنسیت در برخی از ماهیان آب شیرین

سهیل یوسفی، بهرام فلاحتکار

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰ اسفند ماه ۱۳۹۹، تاریخ پذیرش: ۵ خرداد ماه ۱۴۰۰



10.22059/jvr.2020.299569.3036



20.1001.1.20082525.1400.76.3.6.8

چکیده

زمینه مطالعه: تعیین جنسیت در برخی از گونه‌های ماهیان مانند تاس‌ماهیان امری ضروری تلقی می‌شود. در حین مدیریت پرورش مزارع تاس‌ماهیان، جداسازی ماهیان نر از ماده به منظور تولید گوشت و خاویار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

هدف: بررسی تولید و امکان سنجی ثبت فرکانس‌های تخلیه اندام الکتریکی (EOD) در سه گونه مختلف از ماهیان آب شیرین شامل ماهی شیخ سیاه (*Apteronotus albifrons*) از خانواده کاردماهیان، ماهی طلایی (*Carassius auratus*) از خانواده کپورماهیان و ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) از خانواده تاس‌ماهیان به منظور معرفی روشی نوین در تعیین جنسیت ماهیان غیرالکتریکی می‌باشد.

روش کار: بدین منظور، پس از تعیین جنسیت ماهیان توسط ویژگی‌های مورفولوژیک و یا بیوپسی، فرکانس EOD تولیدی ماهی توسط دستگاه اسیلوسکوپ ثبت گردید. همچنین، در مطالعه حاضر از ماهی شبه سیاه به عنوان نمونه مرجع که کارهای فراوانی روی آن انجام شده، به منظور بررسی صحت روش و کاربری دستگاه اسیلوسکوپ استفاده شد. علاوه بر این، برای اولین بار فرکانس EOD تولید شده توسط جنس‌های نر و ماده ماهی استرلیاد ثبت و گزارش گردید.

نتایج: مقادیر فرکانس ثبت شده در جنس‌های نر و ماده ماهی استرلیاد، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان داد و فرکانس EOD جنس نر به طور معنی‌داری بالاتر از فرکانس تولید شده جنس ماده بود ($P < 0.05$). از جنس‌های نر و ماده ماهی طلایی هیچ‌گونه فرکانسی مشاهده و ثبت نشد. فرکانس‌های EOD ثبت شده از جنس‌های نر و ماده ماهی شیخ سیاه در مقایسه با فرکانس‌های جنسی در مطالعات پیشین اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری نهایی: مطالعه حاضر نشان داد تمایزات جنسی یک عامل اثرگذار بر ایجاد اختلاف در مقادیر ثبت شده فرکانس EOD است و می‌توان از این روش غیرتهاجمی در تعیین جنسیت گونه‌های ارزشمندی مانند ماهی استرلیاد استفاده کرد. با این حال، ثبت دقیق فرکانس الکتریکی و شناسایی منشأ تولید آن مستلزم وجود تجهیزات پیشرفته و مطالعات بیشتر در رابطه با فیزیولوژی و بیولوژی تولیدمثل ماهیان می‌باشد.

کلمات کلیدی: EOD، تمایزات جنسی، تعیین جنسیت، اسیلوسکوپ، ماهی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: بهرام فلاحتکار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

پست الکترونیکی: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ماهی مورد شناسایی قرار گرفته است و ماهیان بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین گروه از مهره‌داران را تشکیل می‌دهند (۲۴). گسترش تنوع زیستی نه تنها در جنبه‌های ریخت‌شناختی، نوع زیستگاه، عادات غذایی و غیره نمایان است، بلکه بسیاری از ویژگی‌های تولیدمثلی از جمله مکانیسم‌های تعیین‌کننده جنسیت را نیز تحت تأثیر قرار داده است.

درک بسیاری از مفاهیم زیست‌فناوری آبزیان پرورشی مستلزم آشنایی با زیست‌شناسی تولیدمثل از جمله شناخت مکانیسم‌های تعیین‌کننده جنسیت است. مکانیسم‌های تعیین‌کننده جنسیت به مجموعه‌ای از فرآیندهای پیچیده بیوشیمیایی گفته می‌شود که در نهایت، جنسیت یک فرد را تعیین می‌نمایند (۲). در حال حاضر، بیش از ۲۸۰۰۰ گونه

غیرتهاجمی بودن، یکی از پیشرفته‌ترین روش‌ها به شمار می‌رود. درک الکتریکی در بسیاری از گونه‌های ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است. طی سال‌های متمادی، نگاه‌ها در زمینه ماهیان الکتریکی فقط بر موجوداتی مثل سپرماهیان الکتریکی (خانواده‌های Torpedinidae و Rajidae) یا مارماهی الکتریکی آفریقای جنوبی (*Electrophorus electricus*) که تخلیه‌های الکتریکی با ولتاژ بالا داشته‌اند، متمرکز بود (۴). از اواسط قرن بیستم با گسترش هرچه بیشتر علوم، انسان موفق به کشف سیگنال‌های ضعیفی شد که توسط سایر جانداران تولید می‌شدند. این کشف باعث افزایش استقبال محققین به منظور مطالعه و پژوهش در زمینه نقش سیستم مولد الکتریکی در حس الکتریکی و سایر حواس محیطی، مکان‌یابی، رفتار اجتماعی و جفت‌یابی شد (۲۶).

مطالعات روی سپرماهیان زهری (Myliobatiformes) این امر را به اثبات رساند که نرها از اندام آمپولی خود برای جفت‌یابی استفاده می‌کنند. همچنین در طول تولیدمثل و جفت‌گیری برای یافتن هم‌نوعان خود نیز از این اندام بهره می‌برند (۲۵). سیستم حس الکتریکی الاسموبرانش‌ها در زمینه‌های رفتاری مختلف مثل تشخیص شکار و شکارچی، جفت‌یابی و ارتباطات اجتماعی نقش دارد. اندام‌های بویایی و الکتریکی به صورت توأم می‌توانند در جستجو برای غذا تأثیرگذار باشند (۳، ۱۹). علاوه بر این، وجود آمپول‌های لورنزی در تاس‌ماهیان می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت حس الکتریکی در چرخه زندگی و ادامه حیات این گونه‌های قدیمی و ارزشمند باشد؛ البته، شواهد دقیق در ارتباط مستقیم با عملکرد این اندام موجود نیست (۳۲). اعضای خانواده کاردماهیان (Apteronotidae) متعلق به راسته Gymnotiformes نیز به دلیل دسترسی فراوان، به شکل گسترده‌ای در مطالعات آزمایشگاهی با هدف بررسی ارتباط تمایزات جنسی و فرکانس الکتریکی تولید شده از اندام‌های الکتریکی، مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۷، ۲۶، ۲۸).

با توجه به وجود تولیدات الکتریکی در گونه‌های مختلف ماهیان این انتظار می‌رود که بتوان با ثبت و تحلیل فرکانس این میدان‌های الکتریکی به نتایجی در زمینه جنسیت و مرحله رسیدگی ماهیان دست یافت. از مزایای این روش می‌توان به غیرتهاجمی بودن، سرعت و دقت بالا اشاره کرد. پیش‌بینی می‌شود همه ماهیان اعم از الکتریکی و غیرالکتریکی را بتوان از طریق ثبت

در برخی از ماهیان، جنس نر و ماده از یکدیگر قابل تفکیک بوده و در برخی از گونه‌ها که همافرودیت نامیده می‌شوند، جنسیت نر و ماده در یک فرد دیده می‌شود. گونه‌های تک‌جنسی نیز در میان ماهیان شناسایی شده است که در این نوع گونه‌ها، افرادی با جنسیت ماده تنها موجود ماده تولید می‌نمایند (۲).

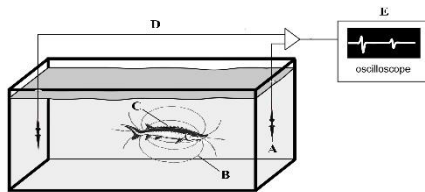
امروزه با گسترش صنعت آبی‌پروری و به کارگیری گونه‌های مختلف در این صنعت، همچنین نیاز به بازسازی ذخایر، تعیین جنسیت ماهیانی که فاقد علائم مورفولوژیک متفاوت در دو جنس نر و ماده می‌باشند، به یکی از محدودیت‌های جدی بدل گردیده است. لذا استفاده از روش‌هایی با دقت و سرعت بالا یکی از چالش‌های مهم این حوزه می‌باشد؛ روش‌هایی که علی‌رغم وارد ساختن کمترین فشار به ماهی بتواند بهترین تحلیل را از جنسیت آن ارائه دهند. بر اساس شرایط روش مورد نظر، می‌توان روش‌های تعیین جنسیت را به دو گروه تهاجمی و غیرتهاجمی تقسیم کرد.

تعیین جنسیت در برخی از گونه‌های ماهیان مانند تاس‌ماهیان امری ضروری تلقی می‌شود. در حین مدیریت پرورش مزارع تاس‌ماهیان، جداسازی ماهیان نر از ماده به منظور تولید گوشت و خاویار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و می‌تواند هزینه‌های پرورش از جمله تغذیه، نیروی کارگری و امکانات پرورشی دیگر را کاهش دهد (۹، ۱۴). اما تعیین جنسیت این ماهیان به راحتی قابل انجام نبوده و با چالش‌های فراوانی همراه است. دلیل این امر، عدم وجود نشانه‌ها و ویژگی‌های مورفولوژیک جنسی است (۵). روش‌های مختلفی در این زمینه ارائه شده است که مبتنی بر تهاجمی و غیرتهاجمی بودن قابل تفکیک هستند. برخی از تکنیک‌های شناسایی جنسیت و مرحله رسیدگی جنسی در تاس‌ماهیان عبارتند از آنالیز سطوح استروئید پلاسمای خون (۱۲)، تصاویر اولتراسونوگرافی (۲۲)، بیوپسی و روش‌های نوینی مانند اندوسکوپ و لاپاراسکوپ (۹، ۱۰، ۲۱). البته برخی روش‌های ذکر شده به دلیل این‌که تهاجمی بوده و موجب افزایش استرس می‌گردند، همچنین زمان‌بر و پرهزینه بودن توصیه نمی‌شوند (۳۰). بنابراین، باید از روش‌های دقیق، مطمئن و توأم با سرعت عمل بالا در زمینه تعیین جنسیت این گونه از ماهیان بهره برد. از میان روش‌های فوق، استفاده از سیگنال‌های الکتریکی تولید شده توسط اندام‌های تخصص یافته جنس‌های نر و ماده ماهیان، در عین

چرخانده شد تا بخش کوچکی از گناد وارد شیار سوند گردد. همچنین، به دلیل دشوار بودن تشخیص و تفکیک جنسیت دقیق ماهی شبیح سیاه پیش از رسیدگی جنسی (۸)، جنسیت این گونه ناشناخته باقی ماند.

طراحی آزمایش و ثبت فرکانس الکتریکی از ماهیان:

تمام ماهیان پس از اندازه‌گیری طول کل به صورت جداگانه در مخازن پلاستیکی مناسب توزیع گردید و پس از ۴۸ ساعت سازگاری با شرایط جدید، آزمایش‌های ثبت فرکانس انجام شد. به منظور ثبت فرکانس تولید شده، از دستگاه اسیلوسکوپ مدل 6022BE (Hantek, Qingdao, China) دارای پهنای باند ۲۰ مگاهرتز و نرخ نمونه‌برداری ۴۸ مگاسمپل بر ثانیه استفاده شد. پروب‌های استفاده شده در مطالعه حاضر نیز فلزی و متعلق به خود دستگاه بود. پس از ورود پروب‌ها به داخل آب تحت دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، دو پارامتر شکل موج و محدوده فرکانس (هرتز) مورد مشاهده قرار گرفت (تصویر ۱، ۲).



تصویر ۱. تصویری شماتیک از سیستم طراحی شده به منظور ثبت فرکانس EOD ماهیان مورد مطالعه (۲۷). A: پروب دستگاه؛ B: میدان الکتریکی تولید شده در اطراف ماهی؛ C: گونه مورد بررسی؛ D: سیم رابط دستگاه؛ E: دستگاه اسیلوسکوپ.



تصویر ۲. انجام فرآیند ثبت فرکانس در ماهی طلایی.

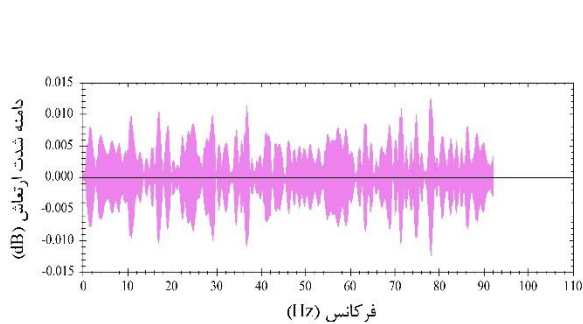
فرکانس تعیین جنسیت کرد زیرا زنش‌های آبشش و قلب نیز فرکانسی تولید می‌کنند که با دستگاه‌های دقیق قابل ثبت می‌باشد.

علی‌رغم اهمیت درک الکتریکی در بررسی‌های فیزیولوژیک و بیولوژیک، مطالعات متمرکز و جامعی در ارتباط با کاربرد شناسایی منشأ تولید فرکانس و ثبت آن از جنبه‌های مختلف شامل تولیدمثل، تغذیه و ارتباطات فیلوژنیک ماهیان به‌ویژه گونه‌های ارزشمند از قبیل تاس‌ماهیان، انجام نپذیرفته است. لذا، در مطالعه حاضر به ارزیابی امکان تولید و ثبت فرکانس الکتریکی جنس‌های نر و ماده گونه‌های مختلف ماهیان آب شیرین و نقش تمایزات جنسی در تعیین محدوده فرکانس EOD تولید شده این سه گونه از ماهیان آب شیرین شامل ماهی شبیح سیاه (*Aptronotus albifrons*) از خانواده کاردماهیان در دو اندازه مختلف به عنوان نماینده‌ای از ماهیان زینتی و با هدف مقایسه فرکانس در این دو سایز، ماهی طلایی (*Carassius auratus*) به عنوان یک ماهی مدل از خانواده کپورماهیان و ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) به عنوان ماهی مدل از خانواده تاس‌ماهیان پرداخته شده است.

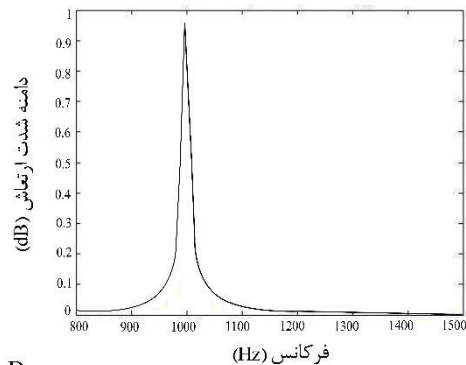
مواد و روش کار

نمونه‌برداری از ماهیان: به منظور انجام مطالعه، نمونه‌های مورد ارزیابی شامل شش قطعه ماهی شبیح سیاه به ترتیب با دو میانگین طولی $20/75 \pm 0/43$ سانتی‌متر (سه قطعه) و $8/65 \pm 0/20$ سانتی‌متر (سه قطعه) خریداری و شش قطعه ماهی طلایی ۱ ساله (سه قطعه نر / سه قطعه ماده) به ترتیب با میانگین طولی $26/12 \pm 0/12$ سانتی‌متر و $28/50 \pm 0/41$ سانتی‌متر از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در صومعه‌سرا و ۶ قطعه ماهی استرلیاد (سه قطعه نر / سه قطعه ماده) به ترتیب با میانگین طولی $40/23 \pm 0/06$ سانتی‌متر و $52/15 \pm 0/10$ سانتی‌متر نیز از مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل فراهم شدند.

تعیین جنسیت ماهیان طلایی در مرحله اول توسط شاخص‌های مورفولوژیک از قبیل تمایزات رنگ باله‌ها و فلس، اندازه بدن و ماهیان استرلیاد توسط سوندزنی انجام پذیرفت. در این راستا، سوند فلزی به قطر ۳-۴ میلی‌متر بین پلاک‌های دوم و سوم ردیف شکمی از انتها با زاویه حاده به محور بدن تا عمق ۵-۷ سانتی‌متر وارد گردید، سپس در داخل حفره شکمی



A



B

تصویر ۳. نمونه فرکانس الکتریکی ثبت شده از گونه‌های آزمایشی و پیک‌های بدست آمده و مؤثر در تعیین جنسیت. در هر دو تصویر بالا محور X بیانگر محدوده فرکانس تولید شده (هرتز) و محور Y بیانگر دامنه شدت ارتعاش (دسی‌بل) می‌باشد. تصویر A نشان‌دهنده فرکانس EOD اولیه بر اساس محدوده تقریبی دامنه موج وارد شده در نرم‌افزار بوده که پس از بررسی پیک ارتعاشات، محدوده تقریبی فرکانس EOD تشخیص و در نرم‌افزار تنظیم گردید و سپس مقدار دقیق فرکانس روی تصویر B مشاهده شد. بر این اساس بالاترین پیک ارتعاشات ایجاد شده نشان‌دهنده فرکانس EOD تولید شده توسط هر یک از گونه‌های مورد مطالعه بود.

و مقایسه فرکانس تولید شده از جنس نر و ماده ماهی استرلیاد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین مقادیر ثبت شده بود که از این بین، فرکانس تولید شده از جنس نر به‌طور معنی‌داری بالاتر از جنس ماده مشاهده گردید ($P < 0.05$). همچنین، در مطالعه حاضر برای اولین بار فرکانس تولید شده ماهی استرلیاد از خانواده تاس‌ماهیان ثبت و گزارش گردید. در تصویر ۳ نمونه‌ای از فرکانس‌های ثبت شده نشان داده شده است.

نتایج بررسی تولید فرکانس در میانگین‌های طولی مختلف ماهی شبح سیاه در جدول ۱ آمده است. بر اساس نتایج، بین فرکانس‌های تولید شده از دو میانگین طولی مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$) و فرکانس تولید شده در هر دو میانگین طولی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از محدوده استاندارد بود ($P < 0.05$).

بحث

به‌طور کلی، در بسیاری از گونه‌ها، اندازه تخلیه الکتریکی به اندازه ماهی و جایگاه اندام الکتریکی بستگی دارد. همچنین محدوده فرکانس الکتریکی تولید شده، بر اساس واحد زمانی و در پاسخ به عوامل محیطی، فیزیکی و ارتباطی متغیر است (۲۹). در مطالعه حاضر، جنسیت ماهیان شبح سیاه به دلیل عدم تفاوت‌های مورفولوژیک بارز قابل تفکیک و شناسایی نبود. در مطالعه‌ای

موج بدست آمده دارای نقطه‌های اوج متفاوتی بود که بیشترین و کمترین پیک آن‌ها بسیار مهم بوده و بالاترین پیک آن نشان‌دهنده فرکانس گونه مورد مطالعه خواهد بود (۲۳، ۱۷). پس از ثبت فرکانس EOD توسط ماهیان شبح سیاه، محدوده‌های مشاهده شده با محدوده فرکانس گزارش شده از جنس‌های نر و ماده در مطالعات پیشین (۸)، مورد مقایسه قرار گرفت.

آنالیزهای آماری: به منظور ارزیابی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای بررسی همگنی از آزمون Levene استفاده شد. برای ارزیابی مقایسه میانگین داده‌های حاصل از ثبت سیگنال الکتریکی تولید شده توسط جنس نر و ماده شبح سیاه با سیگنال‌های مفروض گزارش شده از مطالعه دیگر (۸) از آزمون آنالیز T-student تک نمونه‌ای و به منظور بررسی سطوح معنی‌داری داده‌های مربوط به سیگنال الکتریکی حاصل از جنس نر و ماده ماهیان طلایی و تاس‌ماهیان استرلیاد از آزمون T مستقل در سطح $P < 0.05$ استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) و رسم نمودار فرکانس EOD نیز از طریق نرم‌افزار Hantek6002BE (ver. 1.0.3) انجام شد.

نتایج

نتایج فرکانس تولید شده از ماهیان در جدول ۱ و ۲ آمده است. بر اساس نتایج، در بین ماهیان شبح سیاه با میانگین‌های طولی مختلف، تفاوت معنی‌دار در فرکانس EOD مشاهده گردید. ماهی طلایی قادر به تولید هیچ‌گونه فرکانس قابل ثبت نبود. بررسی

جدول ۱. بررسی و مقایسه فرکانس الکتریکی ثبت شده از ماهی شبح سیاه (میانگین \pm انحراف معیار).

گونه مورد مطالعه	میانگین طولی (سانتی متر)	فرکانس ثبت شده (هرتز)
شبح سیاه	$۸/۶۵ \pm ۰/۲۰$	$۷۱۵ \pm ۸/۶۶^b$
	$۲۰/۷۵ \pm ۰/۴۳$	$۸۲۰ \pm ۱۷/۳۲^a$

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین فرکانس تولید شده در دو میانگین طولی مختلف است.

جدول ۲. محدوده فرکانس تولید شده از جنس نر و ماده ماهیان مورد مطالعه توسط دستگاه اسیلوسکوپ بر حسب هرتز (میانگین \pm انحراف معیار).

گونه	جنس نر	جنس ماده
ماهی استرلیاد	$۸۴۹۰ \pm ۵/۷۷^a$	$۸۴۳۷ \pm ۱/۴۵^b$
ماهی طلائی	ND	ND

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین فرکانس تولید شده در دو جنس مختلف است. ND نشان‌دهنده عدم تشخیص فرکانس EOD است.

از ماهیان شبح‌سیاه در دو میانگین طولی نشان داد که فرکانس ثبت شده پایین‌تر از فرکانس الکتریکی ثبت شده در مطالعه پیشین بود (۸). با این حال با یکی از مطالعات قبلی مشابه بود (۲۰)؛ آن‌ها دریافتند که فرکانس EOD نرها در محدوده ۱۰۰۰-۸۵۰ هرتز و ماده‌ها ۱۱۵۰-۱۰۰۰ هرتز می‌باشد. همچنین نزدیکی فرکانس ثبت شده در این مطالعه با مطالعات پیشین دلیل محکمی بر طراحی صحیح دستگاه و روش مطالعه و اطمینان به آن در مطالعات تکمیلی آتی می‌باشد.

اعضای خانواده کاردماهیان قادر به تولید نوع موجی شکل EOD با فرکانس‌های بالایی حدود ۲۰۰۰-۵۰۰ هرتز هستند که در نوع خود یکی از سریع‌ترین و دقیق‌ترین نوسانات بیولوژیک شناخته شده است (۲۶). البته دامنه تولید فرکانس که تابعی از دو فاکتور دامنه ارتعاشات و جهت هدایت سیگنال است در جنس‌های نر و ماده گونه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. برای مثال در شبح قهوه‌ای، نرها فرکانس بالاتری نسبت به ماده‌ها تولید می‌کنند. نرهای بالغ شبح قهوه‌ای معمولاً محدوده فرکانسی بین ۱۱۰۰-۸۵۰ هرتز تولید کرده، در حالی که ماده‌ها فرکانسی برابر با ۸۰۰-۶۰۰ هرتز تولید می‌کنند. این در حالی است که در برخی گونه‌ها مانند شبح سیاه، فرکانس EOD متفاوت بوده و نرها فرکانس به مراتب پایین‌تری نسبت به ماده‌ها تولید می‌کنند (۳۱). در برخی از گونه‌های کاردماهیان مانند *Adontosternarchus* *devenanzii* و *Apteronotus bonapartii* فرکانس تولید شده در جنس نر و ماده تفاوتی را نشان نداده است (۱۶،۳۳). این فرکانس‌ها حاصل تولیدات اندام‌های الکتریکی این ماهی می‌باشند.

مشخص شد که برخی از جمعیت‌های گونه شبح سیاه تفاوت‌های بسیاری در محدوده فرکانس سیگنال تخلیه الکتریکی نر و ماده داشته اما از نظر مورفولوژیک تفاوت اندکی را نشان دادند که همسو با یافته مطالعه حاضر می‌باشد (۸). گونه‌های مختلف خانواده کاردماهیان از تنوع مورفولوژیک بالایی در رابطه با اشکال جنسی برخوردار هستند. در برخی از گونه‌ها نرها بزرگ‌تر از ماده‌ها بوده و سازگاری‌هایی به منظور رقابت و بروز رفتارهای تولیدمثلی دارند. انواع متعددی از اشکال مورفولوژیک جنسی در گونه *Parapteronotus hasemani* دیده می‌شود. در این گونه نرها دارای آرواره‌های به شدت کشیده هستند (۱۱). شکل بدن به عنوان یک ویژگی مورفولوژیک و تولید فرکانس شبح قهوه‌ای شدیداً با تمایزات جنسی در ارتباط است (۱۳). نرها دارای جثه‌ای بزرگ‌تر، بدن طولی، پوزه پهن و فرکانس بالاتری نسبت به ماده‌ها هستند. نرها همچنین قلمروطلب و ستیزه‌جو بوده و با افزایش اندازه بدن قادر به تولید فرکانس بالاتری هستند (۶،۱۵). رفتار اجتماعی ماده‌ها به خوبی قابل تشخیص نبوده و ارتباط واضحی بین فرکانس، اندازه و غالبیت آن‌ها وجود ندارد. در همین رابطه، گونه دیگری از خانواده کاردماهیان به نام *Adontosternarchus devenanzii* از نظر اندازه بدن و شکل آن در دو جنس نر و ماده، مونومورفیک می‌باشد و تمایزات جنسی مورفولوژیک با تفاوت در فرکانس EOD تولید شده همبستگی ضعیفی دارد (۳۳).

فرکانس‌های ثبت شده در اندازه بزرگ‌تر ماهی شبح سیاه بیشتر از ماهیان کوچک‌تر بود که به نظر می‌رسد نشان از تعدد بیشتر اندام‌های الکتریکی در ماهیان با اندازه بزرگ‌تر دارد. یافته‌های مطالعه حاضر در ارتباط با دامنه فرکانس‌های تولید شده

(۱۶،۳۱). از این رو، مطالعات بیشتری در گونه‌ها و مراحل مختلف رسیدگی جنسی آن مورد نیاز می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان از تمام ماهیان اعم از الکتریکی و غیر الکتریکی انتظار دریافت فرکانس الکتریکی را داشت اما ثبت محدوده دقیق فرکانس مستلزم تجهیزات حساس، دقیق و دربرگیرنده محدوده گسترده‌تری از فرکانس الکتریکی است. در مطالعه حاضر تولید فرکانس و تفاوت مقادیر ثبت شده EOD در جنسیت‌های مختلف را می‌توان دلیلی بر تمایزهای جنسی دانست به طوری که علاوه بر خصوصیات مورفولوژیک، وجود مولفه‌های دیگری از قبیل فرکانس الکتریکی می‌تواند یک روش نوین در جهت تعیین جنسیت در ماهیان، به ویژه گونه‌هایی که دارای طول مدت رسیدگی جنسی زیادی هستند در نظر گرفت. با این وجود، تنها می‌توان این روش را برای مطالعات تکمیلی در آینده پیشنهاد کرد و پس از بررسی‌های دقیق‌تر به عنوان روشی جدید در صنعت آبی‌پروری مورد استفاده قرار داد. همچنین این روش را می‌توان جایگزین مناسبی برای روش‌های تعیین جنسیت تهاجمی از قبیل بیوپسی به ویژه در گونه‌های ارزشمندی مانند تاس ماهیان قلمداد نمود. با این حال، نوع و ساختار فرکانس EOD، ویژگی‌های اندام تولیدکننده، مراحل رسیدگی جنسی، سنین و اندازه‌های مختلف و تعداد بیشتری از ماهیان و برخی از عوامل زیست‌محیطی و فیزیولوژیک دخیل در تولید میدان الکتریکی و دریافت آن توسط ماهیان از جمله اهدافی است که باید در آینده مورد مطالعه بیشتری قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای مهندس عفت‌پناه (ریاست وقت مرکز باسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل) و همه کارکنان آن مجموعه به دلیل همکاری نهایت تشکر را می‌نماییم.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Andersson, M. (1994). *Sexual Selection*. (vol. 72) Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA. p. 588.
2. Brusléa, S. (1987). Sex-inversion of the hermaphroditic, protogynous teleost *Coris julis* L. (Labridae). *J Fish Biol*, 30, 605-616. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05788.x>
3. Caputi, A.A., Carlson, B.A., Macadar, O. (2005). Electric organs and their control. In: *Electroreception*. Bullock. T.H., Hopkins, C.D., Popper, A.N., Fay, R.R. (eds.). Springer. New York, USA. p. 410-452.
4. Crampton, W.G. (2018). Electroreception, electrogenesis and electric signal evolution. *J Fish Biol*, 95, 92-134. <https://doi.org/10.1111/jfb.13922> PMID: 30729523
5. Doroshov, S.I., Clark, Jr, W.H., Lutes, P.B., Swallow, R.L., Beer, K.E., McGuire, A.B., Cochran, M.D. (1983). Artificial propagation of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از هیچ‌کدام از جنس‌های نر و ماده ماهی طلائی فرکانس الکتریکی ثبت نگردید که می‌تواند با عدم وجود اندام‌های مولد الکتریکی در این ماهی در ارتباط باشد. این موضوع ممکن است ناشی از عدم توانایی در ثبت فرکانس در ماهی طلائی به دلیل دقت پایین دستگاه در ثبت زنش‌های ضعیف اندام‌های داخلی این ماهی باشد. نتایج مطالعه‌ای حاکی از این بود که تمام گونه‌ها قادر به بروز تمایزات جنسی در ارتباطات تولیدمثلی هستند اما حتی در بین گونه‌های بسیار نزدیک از نظر فیلوژنی نیز، اندازه و هدایت فرکانس EOD می‌تواند متفاوت باشد (۱).

مطالعه حاضر نشان داد تفاوت معنی‌داری در فرکانس EOD ماهیان استرلیاد نر و ماده مشاهده می‌شود. نکته مهم در ماهی استرلیاد وجود فرکانس علی‌رغم عدم وجود اندام‌های اختصاصی مولد الکتریکی در این ماهی است (۱۸) که می‌توان منشأ آن را بافت‌های فرکانس‌دار بدن مانند قلب، مغز و آبشش دانست، اگرچه یافتن منشأ تولید فرکانس الکتریکی، نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر در این زمینه می‌باشد.

از جمله دلایل تفاوت فرکانس EOD در جنس‌های نر و ماده ماهیان، تفاوت در سطوح آندروژن‌ها از قبیل (11-KT) -11-Ketotestosterone و استروژن‌ها است. اثر هورمون‌های استروئیدی بر EOD در ماهیان شیح قهوه‌ای و شیح سیاه برخلاف یکدیگر است (۸). در شیح قهوه‌ای، هورمون 11-KT از طریق افزایش فرکانس، EOD موجود را منطبق بر محدوده EOD جنس نر تنظیم می‌کند. همچنین تستوسترون اثر معنی‌داری بر میزان فرکانس EOD ماهی شیح سیاه نداشت، با این وجود در این گونه، فرکانس تولیدی نرها اغلب پایین‌تر از ماده‌ها است (۷،۸،۳۱).

علی‌رغم این‌که مطالعاتی در ارتباطات با تمایزات جنسی و دامنه فرکانس EOD تاس ماهیان صورت نگرفته است، نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده اختلافات معنی‌دار فرکانس EOD در دو جنس نر و ماده می‌باشد. البته مواردی همچون وضعیت تولیدمثلی، مرحله رسیدگی جنسی، سطوح هورمون‌های استروئیدی، تغییر فصول و دقت دستگاه اندازه‌گیری کننده از جمله عواملی است که سبب اختلاف در فرکانس‌های الکتریکی تولید شده از ماهیان گونه‌های مختلف می‌گردد

- Richardson. *Aquaculture*, 32, 93-104. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90272-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90272-7)
6. Dunlap, K.D. (2002). Hormonal and body size correlates of electrocommunication behavior during dyadic interactions in a weakly electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Horm Behav*, 41, 187-194. <https://doi.org/10.1006/hbeh.2001.1744> PMID: 11855903
 7. Dunlap, K.D., Zakon, H.H. (1998). Behavioral actions of androgens and androgen receptor expression in the electrocommunication system of an electric fish, *Eigenmannia virescens*. *Horm Behav*, 34, 30-38. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1998.1460> PMID: 9735226
 8. Dunlap, K.D., Thomas, P., Zakon, H.H. (1998). Diversity of sexual dimorphism in electrocommunication signals and its androgen regulation in a genus of electric fish, *Apteronotus*. *J Comp Physiol*, 183A, 77-86. <https://doi.org/10.1007/s003590050236> PMID: 9691480
 9. Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Tolouei Gilani, M.H., Abbasalizadeh, A. (2013). Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon, *Huso huso* L. through biopsy. *Iran. J Vet Res*, 14, 133-139. <https://dx.doi.org/10.22099/ijvr.2013.1587>
 10. Falahatkar, B., Tolouei, M.H., Falahatkar, S., Abbasalizadeh, A. (2011). Laparoscopy, a minimally-invasive technique for sex identification in cultured great sturgeon *Huso huso*. *Aquaculture*, 321, 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.030>
 11. Fernandes, C.C., Lundberg, J.G., Riginos, C. (2002). Largest of all electricfish snouts: Hypermorphic facial growth in male *Apteronotus hasemani* and the identity of *Apteronotus anas* (Gymnotiformes: Apterontidae). *Copeia*, 1, 52-61. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2002\)002\[0052:LOAEFS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2002)002[0052:LOAEFS]2.0.CO;2)
 12. Fiest, G., Van Eenennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, C.B., Schneider, R.P., Fitzpatrick, M.S. (2004). Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, using plasma steroid levels. *Aquaculture*, 232, 581-590. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00486-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00486-1)
 13. Hagedorn, M., Heiligenberg, W. (1985). Court and spark: electric signals in the courtship and mating of gymnotoid fish. *Anim Behav*, 33, 254-265. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(85\)80139-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(85)80139-1)
 14. Hallajian, A., Kazemi, R., Yousefi, A., Pourdehghani, M. (2015). Application of some methods to detect and determine the sexual maturity stage of sturgeons. *J Fish Azadshahr*, 8, 19-28. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4532.7529>
 15. Heiligenberg, W.F. (1991). *Neural nets in electric fish*. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press, USA. p. 73-84.
 16. Ho, W.W., Fernandes, C.C., Alves-Gomes, J.A., Smith, G.T. (2010). Sex differences in the electrocommunication signals of the electric fish *Apteronotus bonapartii*. *Ethology*, 116, 1050-1064. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2010.01823.x> PMID: 20953311
 17. Hopkins, C.D. (1981). On the diversity of electric signals in a community of mormyrid electric fish in West Africa. *Am Zool*, 21, 211-222.
 18. Jørgensen, J.M. (1980). The morphology of the lorenzian ampullae of the sturgeon *Acipenser ruthenus* (Pisces: Chondrostei). *Acta Zool*, 61, 87-92. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1980.tb01294.x>
 19. Kalmijn, A.J. (1982). Electric and magnetic field detection in elasmobranch fishes. *Science*, 218, 1113-1124. <https://doi.org/10.1126/science.7134985> PMID: 7134985
 20. Kolodziejski, J.A., Nelson, B.S., Smith, G.T. (2005). Sex and species differences in neuromodulatory input to a premotor nucleus: a comparative study of substance P and communication behavior in weakly electric fish. *J Neurobiol*, 62, 299-315. <https://doi.org/10.1002/neu.20095> PMID: 15515000
 21. Matsche, M.A., Bakal, R.S., Rosemary, K.M. (2011). Use of laparoscopy to determine sex and reproductive status of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) and Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). *J Appl Ichthyol*, 27, 627-636. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01679.x>
 22. Moghim, M., Vajhi, A.R., Veshkini, A., Masoudifard, M. (2002). Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography. *J Appl Ichthyol*, 18, 325-328. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2002.00423.x>
 23. Neeley, B., Overholt, T., Artz, E., Kinsey, S.G., Marsat, G. (2018). Selective and context-dependent social and behavioral effects of $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol in weakly electric fish. *Brain Behav Evol*, 91, 214-227. <https://doi.org/10.1159/000490171> PMID: 30045017
 24. Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the World*. 4th edition, Wiley, Hoboken, New Jersey, USA. p. 457-500.
 25. Sisneros, J.A., Tricas, T.C. (2002). Neuroethology and life history adaptations of the elasmobranch electric sense. *J Physiol*, 96, 379-389. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(03\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(03)00016-0)
 26. Smith, G.T. (2013). Evolution and hormonal regulation of sex differences in the electrocommunication behavior of ghost knifefishes (Apterontidae). *J Exp Biol*, 216, 2421-2433. <https://doi.org/10.1242/jeb.082933> PMID: 23761467
 27. Stoddard, P.K. (1999). Predation enhances complexity in the evolution of electric fish signals. *Nature*, 400, 254-256. <https://doi.org/10.1038/22301> PMID: 10421365
 28. Stoddard, P.K. (2002). Electric signals: Predation, sex, and environmental constraints. *Adv Study Behav*, 31, 201-242. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(02\)80009-2](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(02)80009-2)
 29. Stoddard, P.K. (2006). Plasticity of the electric organ discharge waveform: contexts, mechanisms, and implications for electrocommunication. In: *Communication in Fishes*. (Vol. 2). Ladich, F., Collin, S.P., Moller, P., Kapoor, B.G. (eds). Enfield, NH: Science. New York, USA. p. 623-646.
 30. Vecsei, P., Litvak, M.K., Noakes, D.L., Rien, T., Hochleithner, M. (2003). A noninvasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons. *Environ Biol Fish*, 68, 333-338. <https://doi.org/10.1023/B:EBFI.0000005732.98047.f3>
 31. Zakon, H.H., Dunlap, K.D. (1999). Sex steroids and communication signals in electric fish: a tale of two species. *Brain Behav Evol*, 54, 61-69. <https://doi.org/10.1159/00006612> PMID: 10516405
 32. Zhang, X., Song, J., Fan, C., Guo, H., Wang, X., Bleckmann, H. (2012). Use of electrosense in the feeding behavior of sturgeons. *Integr Zool*, 7, 74-82. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2011.00272.x> PMID: 22405450
 33. Zhou, M., Smith, G.T. (2006). Structure and sexual dimorphism of the electrocommunication signals of the weakly electric fish, *Adontosternarchus devenanzii*. *J Exp Biol*, 209, 4809-4818. <https://doi.org/10.1242/jeb.02579> PMID: 17114413



The Feasibility of Recording the Electric Frequency Produced by Different Sexes in Some Freshwater Fishes with the Aim of Sex Determination

Soheil Yousefi, Bahram Falahatkar

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

doi [10.22059/jvr.2020.299569.3036](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.299569.3036)

Received: 10 March 2021, Accepted: 26 May 2021

Abstract

BACKGROUND: Sex determination is an essential issue in certain fish species, like sturgeons. During the rearing management, distinguishing between male and female fish is an important process for producing meat or caviar.

OBJECTIVES: The current study aimed to find the feasibility of electric organ discharge (EOD) frequency generating to introduce a novel method of sex determination in three freshwater species, namely the black ghost knife fish (*Apronotus albifrons*), goldfish (*Carassius auratus*), and the Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*), as non-electric fishes.

METHODS: In this regard, following sex detection, EOD frequency of fishes were recorded via an oscilloscope. In addition, knife fish was used as a reference sample on which a lot of work has been done to evaluate the accuracy of the method and the use of the oscilloscope. Furthermore, the EOD frequency of male and female Sterlet sturgeons was recorded and reported for the first time in this study.

RESULTS: The frequency magnitude was significantly different in genders of Sterlet ($P < 0.05$) with higher EOD frequency in males than in females. There was no recorded frequency in goldfish male and female. EOD frequencies, which were recorded in male and female of black ghost fish, represented significant differences compared with the other studies ($P < 0.05$).

CONCLUSIONS: The results achieved in this study revealed that sex differences are one of the effective parameters in terms of EOD frequency inequality; this non-invasive method can be utilized for sex identification of valuable species, like sturgeon. However, it is required to gather advanced equipment and conduct further research in physiology and biology of reproduction for accurate recording of electrical frequencies and detection of their origins.

Keywords: Electric organ discharge, Sex differentiation, Sex identification, Oscilloscope, Fish

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: falahatkar@guilan.ac.ir Tel/Fax: 013-44323599

How to cite this article:

Yousefi, S., Falahatkar, B. (2021). The Feasibility of Recording the Electric Frequency Produced by Different Sexes in Some Freshwater Fishes with the Aim of Sex Determination. J Vet Res, 76(3), 334-341. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.299569.3036>

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Examination and comparison of the recorded electrical frequencies in black ghost fish (mean \pm SD).

Table 2. Frequency range produced by the examined male and female fishes with an oscilloscope in Hz (mean \pm SD).

Figure 1. A schematic view of the designed system to record individuals' EOD frequency (27); A: probe; B: electric field of fish; C: studied species; D: patch cord of system; E: oscilloscope.

Figure 2. The process of frequency recording in goldfish.

Figure 3. A sample of recorded electrical frequency from individuals and its significant peaks in sex detection. X and Y axes illustrate the range of the produced frequency (Hz) and vibration intensity range (dB), respectively. Figure A shows the initial EOD frequency based on the approximate range of the amplitude of the wave entered in the software; the exact frequency value could be observed in Figure B. Accordingly, the highest peak of the generated vibrations indicated the frequency of EOD produced by each of the studied species.