

اثر دما بر رشد، اسکلت و تکوین سلول‌های زایای اولیه استرلیاد (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758)

نغمه جعفری پستکی^۱، بهرام فلاحتکار^{۱*}، روت سوفیا تاواریس مارتینز^۲ و آدلینو ویسنته مندونزا کاناریو^۳

^۱ ایران، گیلان، صومعه‌سرا، دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

^۲ ایران، گیلان، رشت، دانشگاه گیلان، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، گروه علوم دریایی

^۳ پرتغال، فارو، دانشگاه آلگارو، مرکز علوم دریایی (CCMAR)، گروه غدد درون ریز و بیولوژی تطبیقی

^۴ چین، شانگهای، دانشگاه اقیانوس‌شناسی، وزارت علوم و فناوری، مرکز تحقیقات بین‌المللی علوم زیستی دریایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱

چکیده

توانایی تاسماهیان در مقابله با دماهای بالا می‌تواند در ماندگاری آنها نقش داشته باشد. در این مطالعه، لاروهای تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) ۸ روز بعد از لقاح (۸ dpf) در سه گروه دمایی با سه تکرار شامل A (کنترل): ۶۴-۸ dpf در دمای محیط، ۱۹-۱۸ °C، B (۲۱ درجه سانتیگراد): تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۳۲-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و از ۶۴-۳۲ dpf در دمای محیط و C (۲۷ درجه سانتیگراد): تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۱۱-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۲-۱۴ dpf در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، از ۳۲-۱۵ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و از ۶۴-۳۲ dpf در دمای محیط قرار گرفتند و میزان رشد، تکوین اسکلتی و تکوین سلول‌های زایا مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای رشد شامل وزن به دست آمده، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در گروه C تحت تاثیر افزایش دما افزایش معناداری را نسبت به گروه A و B نشان داد. از طرف دیگر در پایان آزمایش، تفاوت معناداری در میزان تلفات لاروها در گروه‌های مختلف مشاهده نشد. بررسی‌های اسکلتی نشان داد که تعداد شعاع‌های باله سینه‌ای، شکمی و مخرجی در گروه C افزایش معناداری نسبت به گروه‌های دیگر داشت. همچنین فرآیند کلسیفیکاسیون تنها در لاروهایی که در یک دوره کوتاه، دمای ۲۷ درجه سانتیگراد را تجربه کردند، سرعت بیشتری داشت. دمای بالا توانست تکثیر سلول‌های زایای اولیه را تحت تاثیر قرار دهد به طوری که تکثیر این سلول‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد در ۲۴ dpf و در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد در ۳۲ dpf قابل مشاهده بود. نتایج نشان داد که افزایش دما به صورت کوتاه مدت اثر مثبتی روی سرعت رشد و تکوین اسکلتی لارو تاسماهی استرلیاد دارد. بالا رفتن سرعت تکثیر و تکوین سلول‌های زایای اولیه تحت تاثیر دست‌کاری‌های دمایی، از دیدگاه آبی‌پروری می‌تواند به صنعت پرورش ماهیان خاویاری کمک شایانی نماید.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، تغییرات مورفولوژی، درجه حرارت، کلسیفیکاسیون، لارو، ماهیان خاویاری

* نویسنده مسئول، تپست الکترونیکی: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

لارو به دلیل مرگ و میر در مراحل اولیه زندگی یکی از مهم‌ترین و بحرانی‌ترین دوره‌ها برای تولید متراکم ماهیان خاویاری است. مراحل اولیه زندگی بخش مهمی از تکوین

همان‌طور که تلاش‌ها برای تولید ماهیان خاویاری جهت کمک به صنعت و بازسازی ذخایر آنها رو به افزایش است، نیاز به پیشرفت تکنولوژی کارگاه‌ها برای تولید لاروهای با کیفیت، بیش از پیش احساس می‌شود. تولید

اولیه لاروها را تشکیل می‌دهد زیرا مهم‌ترین تغییرات در طی این دوره رخ می‌دهد (۶ و ۱۰ و ۱۶)

دما یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی در توسعه تخم ماهی، مراحل جنینی و تکوین لاروی می‌باشد و می‌تواند منجر به اثرات عمیق و برگشت‌ناپذیری روی رشد، فیزیولوژی و بقای ماهیان گردد (۶ و ۱۶). در مراحل تکوینی اولیه لاروی، رشد ممکن است در دماهای بالاتر به دلیل تغییرات در پاسخ‌های مولکولی و متابولیک مرتبط با رشد افزایش یابد اما با تغییرات دمایی در دامنه‌های بالاتر یا پایین‌تر از مقادیر قابل تحمل برای لارو، کاهش شدیدی در مقادیر رشد مشاهده می‌گردد و ممکن است منجر به مرگ و میر شود (۲۱). تأخیر در رشد موجب می‌گردد تا آبروی‌پرور مدت زمان بیشتری را برای دستیابی به وزن مورد نظر لارو صرف کند که این امر ممکن است قابلیت پایداری و مقاومت بچه ماهیان را کاهش دهد.

در بررسی عملکرد رشد در دماهای ۱۶، ۱۹ و ۲۲ درجه سانتیگراد، گزارش شد که دماهای مختلف تفاوت معناداری بر عملکرد رشد لارو تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) ایجاد نمی‌کنند (۶)، این در حالی است که در لارو فیل ماهی (*Huso huso*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) دماهای پایین (۱۹-۱۸ درجه سانتیگراد) رشد بالاتری را نسبت به دماهای بالا (۲۵-۲۴ درجه سانتیگراد) نشان داده‌اند (۱۹). در مطالعه‌ای دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، افزایش رشد معناداری را در مقایسه با دمای ۱۹ درجه سانتیگراد در لارو تاسماهی سبز (*Acipenser medirostris*) نشان داد (۷). گونه‌های مختلف ماهیان در هر کدام از مراحل جنینی، تخم‌گشایی، لاروی و بزرگسالی به شرایط دمایی مختلفی نیاز دارند و تغییرات دمایی می‌تواند اثرات متفاوتی بر هر کدام از این مراحل داشته باشد (۱۴ و ۲۶). بنابراین به نظر می‌رسد با توجه به گونه تاسماهی، عملکرد دما روی رشد لارو متفاوت است.

انعطاف‌پذیری محیطی، توانایی یک موجود زنده برای پاسخ به محرک‌های محیطی از طریق تغییر در مورفولوژی و تولید فنوتیپ‌های مختلف است (۳۰). تغییرات محیطی در طول دوره لاروی، ویژگی‌های فنوتیپی موجود زنده را تغییر می‌دهد و این تغییرات می‌تواند تا مراحل جوانی و بلوغ باقی بماند زیرا توانایی ژنوتیپ برای تولید فنوتیپ‌های مختلف در پاسخ به شرایط محیطی تغییر می‌کند. از این رو، شکل ظاهری بدن، علاوه بر انعکاس ویژگی‌های ژنتیکی، منعکس‌کننده وضعیت محیط زندگی و زیستگاه نیز می‌باشد (۲۹). مطالعات نشان داده است که دما تاثیر زیادی بر ویژگی‌های ظاهری، خصوصیات شمارشی و تکوین اندام‌های مختلف در طی دوره اوتوژنیک ماهیان دارد و با توجه به حساسیت دمایی، تغییرات وسیعی در ویژگی‌های فتوتیپی رخ می‌دهد (۳۲ و ۳۴). اگرچه مطالعات زیادی در رابطه با اثر دما بر ماهیان انجام شده اما تحقیقات کمی در مورد اثر این فاکتور محیطی بر خصوصیات ظاهری و شمارشی اسکلت ماهیان به خصوص در مراحل اوتوژنیک در تاسماهیان انجام شده است (۱۸). اسکلت در ماهیان شامل ترکیبات خارج سلولی و آپاتیت است اما در تاسماهیان این ساختار متفاوت است و اسکلت داخلی اساساً غضروفی است و بخش‌هایی از قسمت خارجی بدن از استخوان تشکیل شده است (۲۳). با رشد تاسماهیان، ساختارهای اسکلتی توسعه می‌یابند که می‌تواند به لارو برای شنا و دسترسی به غذا کمک کند. بنابراین آنالیز سیستم اسکلتی در مراحل اولیه تکوینی به عنوان ابزاری برای ارزیابی شرایط محیطی مطرح است.

سلول‌های زایای اولیه تنها سلول‌هایی موجود در جنین‌های در حال رشد هستند که پتانسیل انتقال اطلاعات ژنتیکی به نسل بعد را دارند و به گامت‌های عملکردی تمایز می‌یابند (۳۸). دیمورفیسم و تکثیر سلول‌های زایای اولیه نقش مهمی در تمایز جنسی و تکوین گنادی دارد. وقتی گنادها تمایز نیافته‌اند، نسبت به محرک‌های خارجی ناپایدار هستند

(۲). تزریق مولدین (۴ مولد ماده و ۲ مولد نر) با میانگین وزن $54/32 \pm 1566$ گرم با هورمون LHRHa2 (San Sheng, China, Ningbo) به میزان ۷ میکروگرم و ۳/۵ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن به ترتیب برای مولدین ماده و نر انجام شد. تخم‌های به دست آمده با محلول هیپوکلیت سدیم به مدت ۴ دقیقه شستشو داده شدند (۳) و در انتها به انکوباتورهای یوشچنکو منتقل شدند.

شرایط آزمایش: ۶ ساعت بعد از تلقیح که تقسیمات سلولی در تخم‌های موجود در انکوباتور مشاهده گردید، تخم‌ها به محل آزمایش منتقل گردیدند. آبیگری مخازن با آب چاه با دمای ۱۹-۱۸ درجه سانتیگراد انجام شد. بعد از تخم‌گشایی، لاروها در ۹ مخزن مربعی ۳۵ لیتری با تراکم ۱۸ عدد در لیتر توزیع شدند. رژیم نوری بر روی ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی برای همه گروه‌ها تنظیم گردید. طول دوره آزمایش ۶۴ روز در نظر گرفته شد. در طی مراحل که لارو دارای کیسه زرده بود غذادهی انجام نگرفت. ۱۰ روز بعد از لقاح (day post fertilization: dpf) غذادهی با ناپلی آرتمیا (*Artemia urmiana*, Artemia Village Tabriz Great Plain, Tabriz, Iran) به میزان ۶۰ درصد بیوماس در روز آغاز گردید و در ادامه تغذیه با کرم شیرونومید منجمد (Biogrant, Tehran, Iran) به میزان ۳۰ درصد بیوماس در روز در کنار ناپلی آرتمیا انجام شد (۳). در نهایت از غذای فرموله‌شده پودری (آتافید، قزوین، ایران، پروتئین ۴۶٪، چربی ۱۴٪، فیبر ۳٪ و خاکستر ۱۶/۵٪) در کنار شیرونومید استفاده شد. غذادهی به ماهیان تا زمانی انجام می‌گرفت که ماهی‌ها سیر شده و تقریباً دیگر هیچ غذایی نمی‌خوردند. برای حفظ کیفیت آب، سیفون کردن مخازن تا ۳۰ درصد به صورت روزانه انجام شد. میانگین اکسیژن محلول آب در طول دوره پرورشی $2/71 \pm 8/72$ میلی‌گرم بر لیتر بود.

طراحی آزمایش: برای این مطالعه از سه گروه دمایی در سه تکرار مطابق شکل ۱ استفاده شد. گروه‌های آزمایشی به شرح زیر بودند:

و دما می‌تواند با غلبه بر ژنتیک یا برهمکنش با آن، نسبت جنسی را تغییر دهد (۹). گزارش شده است که سلول‌های زایا، سلول‌های حساس به گرما هستند و تکوین آن‌ها توسط دما تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۳۳). مطالعات در مورد مشخصات و تکوین سلول‌های زایا در ماهیان نه تنها از اهمیت زیادی برای حفظ منابع ژنتیکی، کنترل باروری و آبی‌پروری برخوردار است بلکه راهنما و مدل‌های مکانیسمی برای دیگر موجودات فراهم می‌کند. تاکنون اثر دما بر تکوین سلول‌های زایای تاسماهیان بررسی نشده است، بنابراین بررسی اثر دما روی تکوین و تخریب سلول‌های زایای تاسماهیان با توجه به نقش ارزشمند این ماهیان در اکولوژی ذخایر، صنعت آبی‌پروری و همچنین احیای ذخایر آن‌ها بسیار با اهمیت است.

با توجه به صید بیش از حد تاسماهیان، چرخه زندگی طولانی و از بین رفتن زیستگاه، جمعیت آن‌ها رو به کاهش است. در نتیجه، تمایل به تکثیر و پرورش تاسماهیان رو به افزایش است. استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) به دلیل دسترسی بهتر در بین تاسماهیان و رسیدگی جنسی سریع‌تر به عنوان ماهی مدل در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵ و ۱۵). با توجه به عدم بررسی دما روی اسکلت و تکوین جنسی تاسماهیان، انجام مطالعات در طول دوره لاروی اطلاعات ارزشمندی برای پرورش بهتر این گونه‌ها با توجه به هدف پرورش‌دهنده فراهم می‌آورد. بنابراین هدف این مطالعه، بررسی اثر تغییرات دمایی بر عملکرد رشد و تکوین اسکلتی و تکوین سلول‌های زایای تاسماهی استرلیاد طی دوره لاروی می‌باشد.

مواد و روشها

القای تولید مثل: برای این مطالعه، تخم‌ها از مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور (سیاهکل، گیلان، ایران) تهیه شدند. وضعیت رسیدگی تخمک مولدین ماده با روش بیوپسی و بررسی شاخص قطبیت اووسیت‌ها انجام شد

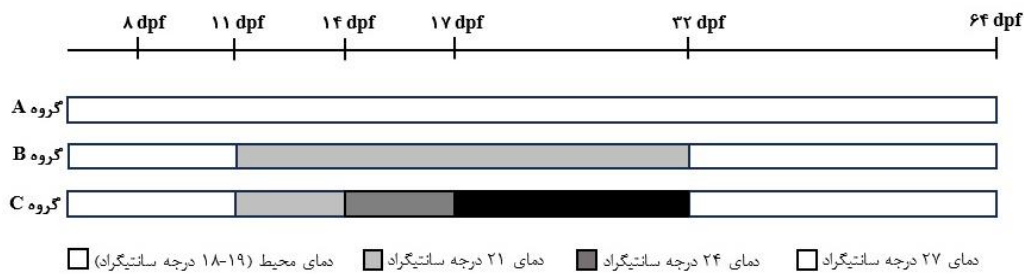
دمای ۲۴ درجه سانتیگراد و ۱۵-۳۲ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

برای جلوگیری از استرس و شوک حرارتی افزایش دما به صورت تدریجی و روزانه ۱ درجه سانتیگراد افزایش یافت. از ۳۲-۶۴ dpf تمامی تیمارها در دمای محیط نگهداری شدند.

گروه A (کنترل): در تمامی طول دوره آزمایش در دمای محیط (۱۹-۱۸ درجه سانتیگراد) قرار گرفت.

گروه B (۲۱ درجه سانتیگراد): تا ۸ dpf در دمای محیط و از ۸-۳۲ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

گروه C (۲۷ درجه سانتیگراد): تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۸-۱۱ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۲-۱۴ dpf در



شکل ۱- شمای کلی از اعمال استراتژی‌های دمایی مختلف طی ۶۴ روز دوره پرورش لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*).

فاکتور وضعیت، مقدار غذای مصرف‌شده، ضریب تبدیل غذایی و میزان تلفات مورد محاسبه قرار گرفت.

عملکرد رشد: عملیات زیست‌سنجی با ترازوی دیجیتال و کاغذ میلی‌متری انجام گرفت و شاخص‌های طول کل، وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ رشد روزانه، وزن کسب شده،

طول دوره پرورشی / (لگاریتم وزن اولیه - لگاریتم وزن نهایی) $\times 100 = \text{نرخ رشد ویژه} (\text{day}^{-1} \%)$

طول دوره پرورشی / (وزن اولیه - وزن نهایی) $= \text{نرخ رشد روزانه} (\text{mg day}^{-1})$

وزن اولیه - وزن نهایی $= \text{وزن کسب شده} (\text{mg})$

(طول نهایی^۳ / وزن نهایی) $\times 100 = \text{فاکتور وضعیت}$

وزن کسب شده / غذای مصرف شده = ضریب تبدیل غذایی

(تعداد لاروها در ابتدای دوره / مجموع تعداد لاروهای مرده) $\times 100 = \text{میزان تلفات}$

محلول سفید کننده (۱٪ H_2O_2 ، ۱٪ KOH) گرفتند. برای شفاف شدن نمونه‌ها از محلول شفاف‌سازی پتاسیم هیدروکسید (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) و گلیسرول (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) استفاده شد. نمونه‌ها ابتدا به مدت دو روز در محلول ۱ (۲۵٪ KOH، گلیسرول ۲۰٪)، دو روز در محلول ۲ (۲۵٪ KOH، گلیسرول ۵۰٪) و بعد از آن در

اسکلت شناسی: در ۳۲، ۱۰ لارو از هر گروه به طور تصادفی انتخاب شدند و به مدت ۱ روز در محلول پارافرمالدئید ۴٪ قرار گرفتند. نمونه‌ها در محلول آلسیان آبی ۰/۰۲٪ (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany)، کلرید منیزیم ۱۵۰ میلی مولار و اتانول ۷۰٪ و آلیزارین قرمز ۰/۵٪ (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) به مدت ۲ روز قرار گرفتند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در

($P < 0/05$). بیشترین و کمترین میانگین وزن کسب شده به ترتیب در گروه C و A ثبت شد ($P < 0/05$). هیچ اختلاف معناداری در فاکتور وضعیت بین گروه‌های مختلف آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$). مقدار غذای فرموله مصرف‌شده در پایان دوره تفاوت معناداری بین گروه‌ها نشان نداد ($P > 0/05$) اما ضریب تبدیل غذایی در ماهیان پرورش یافته در گروه C کاهش معناداری در مقایسه با گروه‌های A و B داشت ($P < 0/05$). اختلاف معناداری در میزان تلفات در ماهیان پرورش‌یافته در گروه‌های دمایی مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتایج مربوط به تکوین اسکلتی لارو تاسماهی استرلیاد بعد از ۳۲ روز پرورش در جدول ۲ نمایش داده شده است. تعداد شعاع‌های باله سینه‌ای، شکمی و مخرجی، افزایش معناداری در گروه C نشان داد ($P < 0/05$) اما در تعداد شعاع‌های باله دمی، پشتی و همچنین تعداد اسکوت‌های پشتی تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در ۳۲ dpf، اسکوت‌های جانبی فقط در گروه C تشکیل شد و فاصله بین دو چشم در لاروهای قرار گرفته در گروه C، افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0/05$).

در ۳۲ dpf، اسکوت‌های پشتی در لاروهای گروه C در مقایسه با گروه A و B، به طور کامل تشکیل و کلسیفه شدند. همچنین اسکوت‌های جانبی فقط در لاروهای گروه C کلسیفه و تشکیل شد (شکل ۲ الف). بعد از ۳۲ روز، خار باله سینه‌ای فقط در دمای بالا کلسیفه شد و کلسیفه شدن آن در گروه A و B مشاهده نشد (شکل ۲ ب). همچنین شعاع‌های ثانویه باله سینه‌ای در گروه C در حال کلسیفه شدن بود در حالی که در گروه B به صورت شعاع‌های نرم دیده شد. این در حالی است که در گروه A، کلسیفه شدن شعاع‌های ثانویه باله سینه‌ای دیده نشد (شکل ۱ ب). شکل پوزه در لاروهای قرار گرفته در گروه C، ظاهر مثلثی و تیزتری نسبت به گروه A و B نشان داد (شکل ۳).

محلول نگهدارنده (KOH ۱٪، گلیسرول ۵۰٪) قرار گرفتند (۳۵). تصویر برداری از لاروها با استفاده از استریوسکوپ (Olympus, Vancouver, Canada) انجام گرفت.

بافت‌شناسی: لاروها ($n = 8$) در ۲۴، ۳۲ و ۶۴ dpf نمونه‌برداری و در محلول پارافرمالدئید ۴٪ نگهداری شدند. به طور خلاصه، آب‌گیری، الکل‌گیری و شفاف‌سازی نمونه‌ها با استفاده از سری‌های افزایشی اتانول و زایلین انجام شد. در مرحله بعد، قالب‌گیری با پارافین و در انتها مقطع‌گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم (RM 2145, Leica Microsystems, Germany) با ضخامت ۶ میکرومتر صورت گرفت. نمونه‌ها با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ آمیزی و اسلایدهای آماده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon E600, Tokyo, Japan) عکس‌برداری شدند.

تحلیل آماری: کنترل نرمال بودن و همگنی داده‌ها به ترتیب با آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Levene با نرم افزار SPSS (version 28, IBM, USA) مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، میانگین داده‌های رشد و اسکلتی تاسماهی استرلیاد محاسبه و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنادار از One-way ANOVA و آزمون Tukey در سطح معناداری ۵٪ استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به عملکرد رشد لارو تاسماهی استرلیاد بعد از ۶۴ روز پرورش در جدول ۱ نشان داده شده است. تفاوت معناداری در طول کل بین گروه‌های مختلف دمایی وجود داشت به طوری که لاروها در گروه B و C افزایش معناداری را نشان دادند ($P < 0/05$). وزن نهایی در گروه C افزایش معناداری در مقایسه با گروه A و B نشان داد ($P < 0/05$). افزایش معناداری در نرخ رشد روزانه و نرخ رشد ویژه در گروه C نسبت به گروه A مشاهده شد

۳۲ قابل مشاهده بود در حالی که در گروه A مشاهده نشد (شکل ۳- B و E). در ۶۴ dpf، سلول‌های زایای اولیه در هر سه گروه در دیواره پشتی حفره صفاقی شکمی قابل مشاهده بودند که توسط سلول‌های سوماتیک احاطه شده بودند (شکل ۳- C, F و I). گنادهای تمایز نیافته حاوی سلول‌های زایای اولیه بودند اما تکوین سلول‌های زایای اولیه در گروه C بالاتر بود و در هر مقطع بافتی سلول زایا با هسته‌های مشخص، قابل مشاهده بود.

بررسی‌های بافت‌شناسی سلول‌های زایا تحت تاثیر دست‌کاری‌های دمایی در شکل ۳ نشان داده شده است. سلول‌های زایا به وسیله اندازه بزرگ، هسته مشخص که با سیتوپلاسم احاطه شده قابل شناسایی هستند. در ۲۴ dpf، سلول‌های زایای اولیه به اطراف مزنتری و کلیه‌ها مهاجرت کردند. تقسیم میتوز در گروه C مشاهده شد به طوری که در هر مقطع، توزیع پراکنده از سلول‌های زایای اولیه قابل مشاهده بود (شکل ۳- G). این فرآیند در گروه B در ۶۴ dpf

جدول ۱- عملکرد رشد در لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) ۶۴ روز بعد از دست‌کاری‌های دمایی شامل

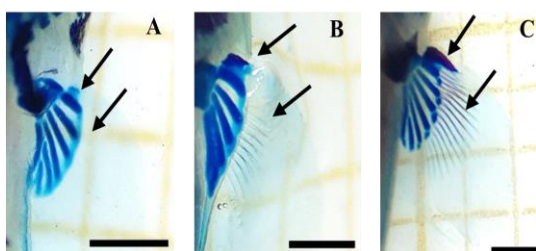
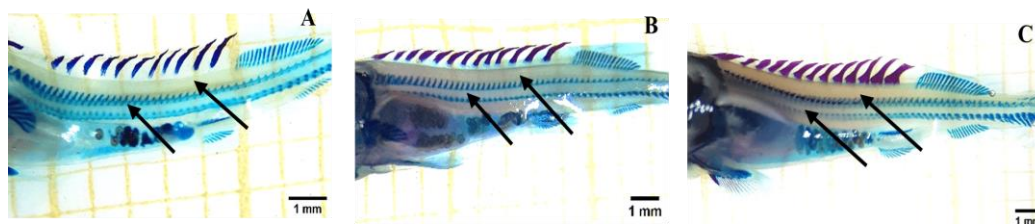
A: کنترل (از ۶۴-۸ dpf دمای محیط) B: ۲۱ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، ۳۲-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و از ۶۴-۳۲ در دمای محیط) ، C: ۲۷ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، ۱۱-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۴-۱۲ dpf در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، از ۳۲-۱۵ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و از ۶۴-۳۲ dpf در دمای محیط) (n= 30, mean ± SD). حروف غیر مشابه، نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف است .

C	B	A	
۵۵/۷۳ ± ۳/۵۳ ^a	۵۴/۱۳ ± ۲/۲۵ ^b	۴۸/۸۶ ± ۱/۶۶ ^b	طول کل (mm)
۱۵۲۸ ± ۸۹/۲۶ ^a	۱۰۸۲ ± ۸۹/۲۶ ^b	۷۶۰/۳۳ ± ۸۷/۲۲ ^c	وزن نهایی (mg)
۱۱/۴۲ ± ۰/۲۴ ^a	۱۱/۰۲ ± ۰/۲۲ ^{ab}	۱۰/۵۹ ± ۰/۰۸ ^b	نرخ رشد ویژه (% day ⁻¹)
۲۷/۲۴ ± ۱/۵۵ ^a	۱۹/۲۸ ± ۱/۵۹ ^b	۱۳/۵۳ ± ۰/۷۱ ^c	نرخ رشد روزانه (mg day ⁻¹)
۱۵۲۵/۷۰ ± ۸۷/۲۲ ^a	۱۰۸۰/۷۰ ± ۸۹/۲۶ ^{ab}	۷۵۸/۰۲ ± ۴۰/۱۵ ^b	وزن کسب شده (mg)
۰/۸۰ ± ۰/۰۹	۰/۷۰ ± ۰/۰۲	۰/۷۴ ± ۰/۰۵	فاکتور وضعیت
۲/۷۵ ± ۰/۵۳ ^a	۲/۰۴ ± ۰/۴۰ ^b	۲/۰۵ ± ۰/۱۸ ^b	فاصله بین دو چشم (mm)
۰/۱۷ ± ۰/۰۴	۰/۱۲ ± ۰/۱۳	۰/۰۸ ± ۰/۰۰	غذای مصرف شده (g larvae ⁻¹)
۱/۱۲ ± ۰/۰۹ ^a	۱/۵۷ ± ۰/۶۴ ^b	۲/۱۹ ± ۰/۶۳ ^c	ضریب تبدیل غذایی
۷۵/۸۷ ± ۴/۶۹	۷۱/۲۱ ± ۳/۵۷	۶۸/۸۴ ± ۸/۳۵	میزان تلفات (%)

جدول ۲- تکوین اسکلتی در لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) ۳۲ روز بعد از دست‌کاری‌های دمایی شامل A: کنترل (از ۶۴-۸ dpf در دمای محیط) B: ۲۱ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۳۲-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد) ، C: ۲۷ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، ۱۱-۸ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۴-۱۲ dpf در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، از ۳۲-۱۵ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد). (n= 10, mean ± SD). حروف غیر مشابه، نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف است .

C	B	A	
۷/۶۰ ± ۰/۵۰ ^a	۶/۸۰ ± ۰/۶۳ ^b	۷/۰۰ ± ۰/۴۷ ^{ab}	تعداد شعاع‌های باله سینه‌ای
۹/۷۰ ± ۰/۶۷ ^a	۷/۶۰ ± ۱/۱۳ ^b	۷/۳۰ ± ۱/۰۵ ^b	تعداد شعاع‌های باله شکمی
۱۲/۶۰ ± ۰/۸۴ ^a	۱۱/۱۰ ± ۰/۲۳ ^b	۱۰/۴۰ ± ۰/۶۹ ^b	تعداد شعاع‌های باله مخرجی
۲۰/۳۰ ± ۱/۱۵	۱۹/۸۰ ± ۱/۲۲	۱۹/۶۰ ± ۰/۸۴	تعداد شعاع‌های باله پشتی
۴۳/۴۰ ± ۹/۳۴	۳۹/۲۰ ± ۳/۳۵	۳۷/۸۰ ± ۴/۱۵	تعداد شعاع‌های باله دمی
۱۲/۹۰ ± ۰/۷۳	۱۳/۳۰ ± ۱/۴۹	۱۲/۶۰ ± ۱/۳۴	تعداد اسکوت‌های پشتی
۲۶/۰۰ ± ۵/۶۰	-	-	تعداد اسکوت‌های جانبی

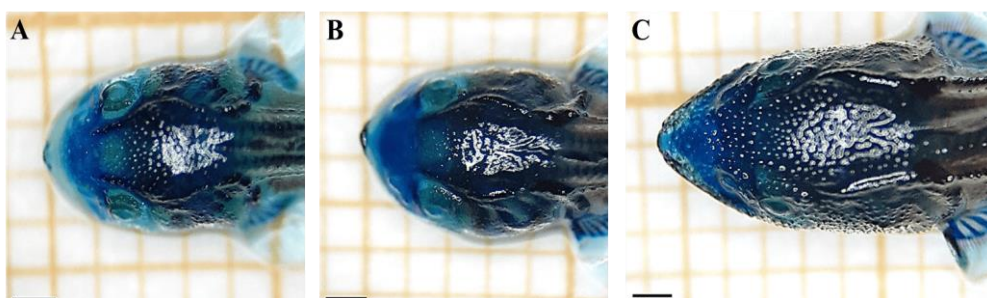
(الف)



شکل ۱- تکوین ساختارهای استخوانی در لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) ۳۲ روز بعد از دست‌کاری‌های دمایی. الف) تکوین

اسکوت‌های پشتی و جانبی ب) تکوین خار و شعاع‌های ثانویه باله سینه‌ای (مقیاس: ۱ میلی متر)

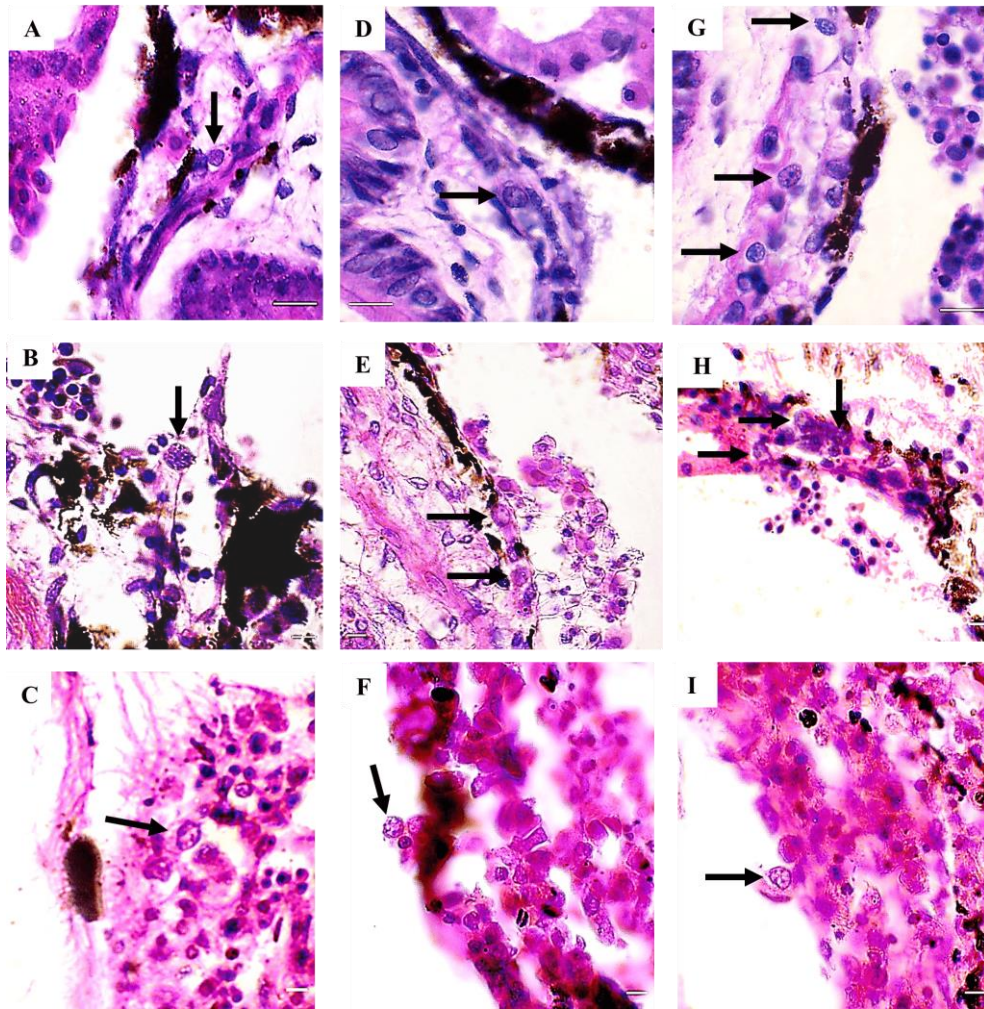
A: کنترل (۸-۶۴ dpf در دمای محیط) B: ۲۱ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۸-۳۲ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد)، C: ۲۷ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، ۸-۱۱ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۲-۱۴ dpf در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، از ۱۵-۳۲ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد).



شکل ۲- تفاوت در فرم پوزه و فاصله چشم‌ها در لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) ۳۲ روز بعد از دست‌کاری‌های دمایی (مقیاس: ۱

میلی متر)

A: کنترل (۸-۶۴ dpf در دمای محیط) B: ۲۱ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، از ۸-۳۲ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد)، C: ۲۷ درجه سانتیگراد (تا ۸ dpf در دمای محیط، ۸-۱۱ dpf در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، ۱۲-۱۴ dpf در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، از ۱۵-۳۲ dpf در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد) (n= 10, mean ± SD).



شکل ۳- فرآیند تکوین سلول‌های زایای اولیه لارو تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) طی ۶۴ روز بعد از دست‌کاری‌های دمایی. (مقیاس: ۱۰ میکرومتر).

A: کنترل (۱۸، ۲۴ dpf) درجه سانتیگراد، B: کنترل (۱۸، ۳۲ dpf) درجه سانتیگراد، C: کنترل (۱۸، ۶۴ dpf) درجه سانتیگراد، D: ۲۱ درجه سانتیگراد (۲۱، ۲۴ dpf) درجه سانتیگراد، E: ۲۱ درجه سانتیگراد (۲۱، ۳۲ dpf) درجه سانتیگراد، F: ۲۱ درجه سانتیگراد (۲۱، ۶۴ dpf) درجه سانتیگراد، G: ۲۷ درجه سانتیگراد (۲۷، ۲۴ dpf) درجه سانتیگراد، H: ۲۷ درجه سانتیگراد (۲۷، ۳۲ dpf) درجه سانتیگراد، I: ۲۷ درجه سانتیگراد (۲۷، ۶۴ dpf) درجه سانتیگراد (n=8).

اسکلتی و تکوین سلول‌های زایا در لارو تاسماهی استرلیاد تا ۶۴ dpf مورد بررسی قرار گرفت.

بعد از ۶۴ روز پرورش میزان رشد ماهیان قرار گرفته در معرض دمای بالاتر از دمای محیط (۲۱ و ۲۷ درجه سانتیگراد)، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. ماهیان تنها ۱۶ روز در معرض دمای ۲۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و رشد در آن‌ها به طور چشمگیری افزایش پیدا

بحث و نتیجه‌گیری

دما به عنوان یکی از پارامترهای مهم در زندگی موجودات آبی مطرح است و می‌تواند روی عملکرد تولیدمثلی، فیزیولوژی، متابولیسم، اوتوژنی، فنوتیپ و تکوین موجودات نقش بسیار مهمی را ایفا کند (۸). در این مطالعه، تاثیر تغییرات دمایی بر عملکرد رشد، تکوین

دمای محیط داشت که نشان‌دهنده تغییر پذیری بالای این باله‌ها نسبت به دیگر باله‌ها است که مرتبط با نقش مهم آن‌ها در حرکت و کمک به حفظ موقعیت لارو در ستون آب است (۳۱ و ۳۷). بهبود تکوین استخوانی مرتبط با افزایش نرخ رشد است (۱۳) و این موضوع را تایید می‌کند که تکوین استخوانی با اندازه ماهی ارتباط بیشتری دارد نه سن (۳۰ و ۳۱). بالا رفتن سرعت کلسیفه شدن غضروف‌ها منجر به افزایش و تقویت ساختار اسکلتی موجود می‌شود و به ماهیان اجازه می‌دهد که سریع‌تر شنا و انرژی را با بازدهی بالاتری منتقل کنند (۱۷ و ۲۴). در این مطالعه، تکوین ساختارهای استخوانی با ظهور اسکوت‌های جانبی و پشتی، کلسیفه شدن خار و شعاع‌های ثانویه باله سینه‌ای همراه بود که در لاروهای قرار گرفته در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد، شدت این تغییرات بیشتر بود. در نتیجه با افزایش دما به صورت کوتاه مدت در زمان مناسب، تکوین اسکلتی در مدت زمان کمتری انجام می‌گردد. شکل پوزه در ماهیان قرار گرفته در دمای بالا، نسبت به دمای محیط حالت تیزتری دارد. این ویژگی ریخت‌شناسی رشد نسبتاً سریعی را در ارتباط با فعالیت‌های حیاتی برای لارو ماهی از جمله تغذیه و شنا نشان می‌دهد. تکوین پوزه و فاصله چشم‌ها به وضوح نشان می‌دهد که تکوین و دگرذیسی در لاروهای قرار گرفته در دمای بالا سریع‌تر اتفاق افتاده است که مرتبط با اثر مستقیم دما روی تکوین فولیکول‌های تیروئیدی است (۱۲ و ۲۰). بنابراین در مطالعات بعدی بررسی اثرات دما روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید در لارو ماهیان خاویاری توصیه می‌شود.

مدت زمان تکوین سلول‌های زایا و تمایز جنسی در گونه‌های مختلف تاسماهیان متفاوت است. بنابراین انتظار می‌رود که دست‌کاری محیطی تغییراتی در ساختار جنسی این ماهیان ایجاد کند. بررسی‌های بافت‌شناسی نشان داد که با افزایش دما در یک دوره کوتاه، سرعت تکوین سلول‌های زایای اولیه افزایش می‌یابد، به طوری که در ۲۴ dpf، تکثیر و تعداد آن‌ها در لاروهای قرار گرفته در معرض دمای ۲۷

درجه، حتی افزایش دما به صورت جزئی (۲۱ درجه سانتیگراد) هم در یک بازه کنترل‌شده توانست عملکرد رشد را تغییر دهد. طی این مدت، افزایش دما با اثر مثبت بر متابولیسم و فیزیولوژی لاروها، توانست افزایش رشد را القا کند (۴). دما هضم و جذب مواد مغذی را بالا برده و لارو انرژی بیشتری را برای رشد دریافت می‌کند (۲۵) که مرتبط با افزایش میزان مصرف آرتمیا و شیرونومید در مراحل اولیه تغذیه است (۷). همچنین ضریب تبدیل غذایی در ماهیانی که دمای ۲۷ درجه سانتیگراد را تجربه کرده بودند، نسبت به گروه‌های دیگر پایین‌تر بود که این امر مرتبط با هضم و جذب بهتر غذا در این گروه است. در تاسماهی سبیری، بیشترین رشد در دمای ۱۸ درجه سانتیگراد مشاهده شد (۶) در حالی که در تاسماهی سبز، رشد بالا با افزایش دما تا ۲۵ درجه سانتیگراد مشاهده شد (۷). همچنین در مطالعه روی فیل ماهی و تاسماهی ایرانی دمای پایین، رشد بالاتری را نسبت به دماهای بالاتر نشان داد (۱۹). در این مطالعه دمای ۲۷ درجه سانتیگراد طی یک دوره کوتاه توانست عملکرد رشد را تا حد بالایی بهبود ببخشد. چون ماهیان خاویاری تحمل حرارتی مختلفی دارند و از طرفی چون زمان اعمال دست‌کاری‌های دمایی در مطالعات مختلف است، می‌تواند منجر به نتایج متفاوتی شود. از این رو، ماهیت تاثیر تغییرات دمایی به دوره، دامنه و مرحله‌ای از زندگی که ماهی با این تغییرات مواجه می‌شود، بستگی دارد (۲۸).

بر اساس گونه و مرحله تکاملی ماهی، دما اثرات متفاوتی را بر موجود زنده اعمال می‌کند (۱). نوسانات دمایی در طول مرحله تکوینی می‌تواند مورفولوژی خارجی بدن ماهی را با تغییراتی همراه کند (۲۲)، به همین دلیل درک انعطاف‌پذیری فنوتیپی، مستلزم مطالعه میزان تاثیر محرک خارجی در مراحل اولیه زندگی است. در مطالعه حاضر، تکوین اسکلتی در لاروهایی که دمای بالا را تجربه کردند، سریع‌تر رخ داد. در این مطالعه، تعداد شعاع‌های باله‌های سینه‌ای، شکمی، مخرجی افزایش معناداری نسبت به گروه

سرعت تکوین اسکلتی را در لارو افزایش داد، همچنین تکثیر سلول‌های زایای اولیه با افزایش دما، افزایش پیدا کرد. بنابراین کنترل مناسب دمایی در طی دو ماهه اول زندگی لارو تاسماهی استرلیاد می‌تواند رشد را تسریع و تکامل مورفولوژیک استخوانی را بهبود ببخشد. بررسی‌های بیشتری برای ارزیابی این که آیا میزان تغییرات در عملکرد رشد و تکامل اسکلت در مراحل بعدی رشد (برای مثال مرحله جوانی) با توجه به سازگاری دمایی متفاوت است یا خیر، مورد نیاز است. همچنین توصیه می‌شود در مطالعات بعدی اثرات دماهای مختلف و در دوره‌های طولانی‌تری مد نظر قرار گیرد تا جنبه‌های مختلف تکامل کلیه اندام‌ها بررسی گردد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری در قالب قرارداد شماره ۲۰۲۵ انجام گردید که لازم است از این مرکز تشکر گردد. همچنین از مسئولین محترم مرکز باسزازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور، پرسنل آزمایشگاهی مرکز علوم دریایی دانشگاه آگوارو پرتغال، دانشکده منابع طبیعی و همچنین مهندس حسینعلی زمانی به دلیل زحمات بی‌دریغ در انجام این تحقیق تشکر می‌گردد.

درجه سانتیگراد در مقایسه با دیگر گروه‌ها بالاتر بود، همچنین در لاروهای قرار گرفته در معرض دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، افزایش تعداد سلول‌های زایا در ۳۲ dpf مشاهده شد. اعلام شده است که در تاسماهیان، سرعت تکامل جنسی نه تنها به تفاوت‌های درون‌گونه‌ای، بلکه به سن، اندازه بدن و شرایط پرورشی بستگی دارد (۲۷). این امر نشان‌دهنده آن است که اندازه بدن نسبت به سن لارو، در تکوین سلول‌های زایای اولیه و به دنبال آن تمایز جنسیت، ارتباط بیشتری دارد (۱۱ و ۲۷)، زیرا در مطالعه حاضر تحت تاثیر افزایش دما، لاروها افزایش وزن قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند. گزارش شده است که تکثیر بالای سلول‌های زایا قبل از تمایز جنسیت می‌تواند به عنوان یکی از نشانه‌های ماده‌زایی مطرح باشد (۳۶)؛ به عبارات دیگر، صرف‌نظر از سیستم تعیین جنسیت کروموزومی، گنادها با تعداد سلول‌های زایای بیشتر به تخمدان و با تعداد سلول‌های زایای کمتر به بیضه تبدیل می‌شوند (۳۸) که در این مطالعه، این امر می‌تواند به عنوان یکی از نشانه‌ها برای تمایز جنسی به سمت ماهیان ماده دخالت داشته باشد. بنابراین در مطالعات بعدی، بررسی اثر دما روی بیان ژن‌های درگیر در تمایز جنسیت تاسماهیان جهت تایید این امر توصیه می‌شود.

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تاسماهی استرلیاد در دامنه دمایی ۲۷-۲۱ درجه سانتیگراد طی یک ماهه اول زندگی از رشد بهتری نسبت به دمای محیط (۱۸-۱۹ درجه سانتیگراد) برخوردار است. دمای بالا

منابع

- ایمانی، م.، فلاحتکار، ب.، ۱۳۹۶. تکامل مراحل لاروی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با تاکید بر تعیین زمان تغذیه فعال. مجله پژوهش‌های جانوری، دوره سی‌ام، شماره ۳، صفحات ۲۷۰-۲۵۷.
- چبانوف، م.، گالیچ، ا.، ۲۰۱۱. دستورالعمل مراکز تکثیر ماهیان خایاری. ترجمه فلاحتکار، ب. (۱۳۹۳). انتشارات سروا، ۳۳۴ صفحه.
- فلاحتکار، ب.، راهداری، ع.، محمدی پرشکوه، ح.، درویشی، ص.، ۱۳۹۷. مقایسه تاثیر هیپوکلیت سدیم و روش‌های متداول در رفع چسبندگی تخم لقاح‌یافته ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، دوره ششم، شماره ۱، صفحات ۱۳۰-۱۲۳.
- محمدی، م.، صوفیانی، فرهادیان، ا.، ملک‌پوری، پ.، ۱۳۹۷. تاثیر سازگاری‌های دمایی مختلف بر میزان متابولیسم ماهی نازک

سی و یک، شماره ۱، صفحات ۱۱۸-۱۰۶.

- 5- Abdollahpour, H., Falahatkar, B., Efatpanah, I., Meknatkhah, B., 2020. Short-term physiological role of thyroxine administration on plasma metabolites and growth performance of Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture Research*, 51(4), PP: 1372-1380. Doi: 10.1111/are.14482
- 6- Aidos, L., Cafiso, A., Bertotto, D., Bazzocchi, C., Radaelli, G., Di Giancamillo, A., 2020. How different rearing temperatures affect growth and stress status of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* larvae. *Journal of Fish Biology*, 96(4), PP: 913-924. Doi: 10.1111/jfb.14280
- 7- Allen, P.J., Nicholl, M., Cole, S., Vlazny, A., Cech Jr, J.J., 2006. Growth of larval to juvenile green sturgeon in elevated temperature regimes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 135(1), PP: 89-96. Doi: 10.1577/T05-020.1
- 8- Angilletta, M.J., 2009. *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*. Oxford University Press, New York. 302 P.
- 9- Baroiller, J.F., D'Cotta, H., Saillant, E., 2009. Environmental effects on fish sex determination and differentiation. *Sexual Development*, 3(2-3), PP: 118-135. Doi: <https://doi.org/10.1159/000223077>
- 10- Bisbal, G.A., Bengtson, D.A., 1995. Effects of delayed feeding on survival and growth of summer flounder *Paralichthys dentatus* larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 121, PP: 301-306. Doi: 10.3354/meps121301
- 11- Blázquez, M., Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M., Piferrer, F., 2001. Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass. *Journal of Fish Biology*, 58(2), PP: 342-358. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb02257.x>
- 12- Boiko, N.E., Vorob'eva, O.A., Grigor'yan, R.A., Kornienko, G.G., 2004. Dynamics of thyroid hormones at early stages of development of the sturgeon *Acipenser güeldenstaedtii*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 40, PP: 176-181. Doi: 10.1023/B:JOEY0000033809.53423.5a
- 13- Cheung, K., 2019. *The effects of embryonic incubation temperature on subsequent development, growth, and thermal tolerance through early ontogeny of White Sturgeon* Dissertation, University of British Columbia.
- 14- Coombs, S.H., Hiby, A.R., 1979. The development of the eggs and early larvae of blue whiting, *Micromesistius poutassou* and the effect of temperature on development. *Journal of Fish Biology*, 14(1), PP: 111-123. Doi: 10.1111/j.1095-8649.1979.tb03500x
- 15- Cristina, R.T., Baroga, M., Grozea, A., Mihailov, S.A., Sirb, N.M., Dumitrescu, E., Muselin, F., 2019. An early embryo model of sterlet (*Acipenser ruthenus*) for the assessment of lead effects. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(1), PP: 917-929. Doi: 10.15666/aeer/1701_917929
- 16- Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I., 1993. *Development of prelarvae*. T.A. Dettlaff, Editor, *Sturgeon fishes: developmental biology and aquaculture*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. PP: 155-195.
- 17- Di Santo, V., 2019. Ocean acidification and warming affect skeletal mineralization in a marine fish. *Proceedings of the Royal Society*, 286B(1894), PP: 20182187. Doi: 10.1098/rspb.2018.2187
- 18- Georgakopoulou, E., Sfakianakis, D.G., Kouttouki, S., Divanach, P., Kentouri, M., Koumoundouros, G., 2007. The influence of temperature during early life on phenotypic expression at later ontogenetic stages in sea bass. *Journal of Fish Biology*, 70(1), PP: 278-291. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01305x
- 19- Hashemi, S., Ghomi, M.R., Sohrabnezhad, M., 2018. Effect of water temperature on growth, survival and digestive enzyme activities of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae from hatching to yolk sac absorption stage. *Journal of Applied Ichthyology*, 34(6), PP: 1324-1330. Doi: 10.1111/jai.13807
- 20- Hotta, Y., Aritaki, M., Tagawa, M., Tanaka, M., 2001. Changes in tissue thyroid hormone levels of metamorphosing spotted halibut *Verasper variegatus* reared at different temperatures. *Fisheries Science*, 67(6), PP: 1119-1124.
- 21- Jobling, M., 1997. *Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change*. C.M. Wood, D.G. McDonald, Editors, *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish*. Cambridge University Press, Cambridge, PP: 225-253.
- 22- Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 1999. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. *Marine Biology*, 135, PP: 561-572. Doi: 10.1007/s002270050657

- 23- Leprévost, A., Azaïs, T., Trichet, M., Sire, J.Y., 2017. Vertebral development and ossification in the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), with new insights on bone histology and ultrastructure of vertebral elements and scutes. *The Anatomical Record*, 300(3), PP: 437-449. Doi: 10.1002/ar.23515
- 24- Ma, J., Zhuang, P., Kynard, B., Zhang, T., Zhang, L.Z., 2014. Morphological and osteological development during early ontogeny of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray, 1835). *Journal of Applied Ichthyology*, 30(6), PP: 1212-1215. Doi: 10.1111/jai.12585
- 25- Neubauer, P., Andersen K.H., 2019. Thermal performance of fish is explained by an interplay between physiology, behaviour and ecology. *Conservation Physiology*, 7(1), PP: 1-14. Doi: 10.1093/conphys/coz025
- 26- Nwosu, B.F., Holzlohner, S., 2000. Influence of temperature on egg hatching, growth and survival of larvae of *Heterobranchius longifilis* Val. 1840 (Teleostei: Clariidae). *Journal of Applied Ichthyology*, 16(1), PP: 20-23. Doi: 10.1046/j.1439-0426.2000.00144x
- 27- Okada, H., Hagihara, S., Yamashita, K., Ijiri, S., Adachi, S., 2017. Expression pattern of foxl2 and dmrt1 in gonad of Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* in relation to sex differentiation. *Aquaculture*, 479, PP: 712-720. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.020>
- 28- Pankhurst, N.W., King, H.R., Anderson, K., Elizur, A., Pankhurst, P.M., Ruff, N., 2011. Thermal impairment of reproduction is differentially expressed in maiden and repeat spawning Atlantic salmon. *Aquaculture*, 316 (1-4), PP: 77-87. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.03.009
- 29- Price, T.D., Qvarnstrom, A. Irwin, D.E., 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences*, 270B (1523), PP:1433-1440. Doi: 10.1098/rspb.2003.2372
- 30- Sæle, Ø., Pittman, K.A., 2010. Looking closer at the determining of a phenotype? Compare by stages or size, not age. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(2), PP: 294-297. Doi: 10.1111/j.1439-0426.2010.01424x
- 31- Sfakianakis, D.G., Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2004. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture*, 232(1-4), PP: 407-424. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.08.014
- 32- Silva, A., 2003. Morphometric variation among sardine (*Sardina pilchardus*) populations from the northeastern Atlantic and the western Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 60(6), PP: 13-52. Doi: 10.1016/S1054-3139(03)00141-3
- 33- Strüssmann, C.A., Saito, T., Takashima, F., 1998. Heat-induced germ cell deficiency in the teleosts *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 119(2), PP: 637-644. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(97\)00477-7](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(97)00477-7)
- 34- Turan, C., 2004. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *Journal of Marine Science*, 61(5); PP: 774-781. Doi: 10.1016/j.icesjms.2004.05.001
- 35- Walker, M.B., Kimmel, C.B., 2007. A two-color acid-free cartilage and bone stain for zebrafish larvae. *Biotechnic and Histochemistry*, 82(1), PP: 23-28. Doi: 10.1080/10520290701333558
- 36- Wang, X., Liu, Q., Xiao, Y., Yang, Y., Wang, Y., Song, Z., You, F., An, H., Li, J., 2017. High temperature causes masculinization of genetically female olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) accompanied by primordial germ cell proliferation detention. *Aquaculture*, 479, PP: 808-816. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.019>
- 37- Zhang, X., Shimoda, K., Ura, K., Adachi, S., Takagi, Y., 2012. Developmental structure of the vertebral column, fins, scutes and scales in bester sturgeon, a hybrid of beluga *Huso huso* and sterlet *Acipenser ruthenus*. *Journal of Fish Biology*, 81(6), PP: 1985-2004. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2012.03451x
- 38- Zhao, C., Xu, S., Liu, Y., Wang, Y., Liu, Q., Li, J., 2017. Gonadogenesis analysis and sex differentiation in cultured turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 43, PP: 265-278. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0284-5>

Effects of temperature on growth skeleton and development of primordial germ cells of sterlet (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758)

Jafari Pastaki N.¹, Falahatkar B.^{1,2}, Sofia Tavares Martins R.³ and Vicente Mendonça Canário A.^{3,4}

¹ Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, I.R. of Iran.

² Dept. of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Guilan, I.R. of Iran.

³ Comparative Endocrinology and Integrative Biology Group, Marin Science Center (CCMAR), Universidade do Algarve, Faro, Portugal.

⁴ International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai, China.

Abstract

The ability of sturgeons to cope with high temperatures can play an important role in their survival. In this study, 8 dpf (days post fertilization) sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) larvae in three groups were considered including A (control): 8-64 dpf at ambient temperature, 18-19 °C, B (21 °C): until 8 dpf at ambient temperature, 8-32 dpf at 21 °C and 32-64 dpf at ambient temperature, C (27 °C): until 8 dpf at ambient temperature, 8-11 dpf at 21 °C and 12-14 dpf in 24 °C, 15-32 dpf at 27 °C and 32-64 dpf in ambient temperature and growth development of the skeleton and development of primordial germ cells was investigated. The results indicated that growth parameters, including specific growth rate, daily growth rate, and weight gain, showed a significant increase in group C compared with groups A and B under temperature manipulation. On the other hand, at the end of the experiment, no significant difference was observed in mortality among different groups. Examining the skeleton showed that the number of pectoral, pelvic, and anal radials has a significant increase in group C compared to groups A and B. Moreover, the calcification process was accelerated in larvae that experienced 27 °C in a short period. High temperature could affect the proliferation of primordial germ cells, so that in 27 °C and 21 °C the proliferation of these cells was observed in 24 dpf and 32 dpf, respectively. The results showed that short-term temperature increase can accelerate growth and larvae skeletal development. Increasing the primordial germ cell proliferation and development under temperature manipulation can help the sturgeon culture industry from an aquaculture perspective.

Key words: Histology, Morphologic changes, Temperature, Calcification, Larvae, Sturgeon