Archive of SID

بهینه سازی تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به منظور نر سازی و عقیم سازی در ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

دکتر فرهاد امینی[1*] مهندس مریم طلا[2]

دریافت مقاله: ۱۹ اسفند ماه ۱۳۸۰
پذیرش نهایی: ۳۰ تیر ماه ۱۳۸۲

هدف: یافتن کمترین و مؤثرترین مقدار هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون جهت نرسازی و عقیم سازی ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*.

حیوانات: ماهی قزل آلای رنگین کمان.

روش: تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در ۱۱ تیمار: A1، A2، A6 وA7 به ترتیب ۰/۵ ppm، ۱ ppm، ۲ ppm و ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز، A3 و A8 به ترتیب ۱ ppm و ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز، A4 و A9 به ترتیب ۱ ppm و ۳ ppm از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز، A5 و A10 به ترتیب ۱ ppm و ۳ ppm از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز و A11 به میزان ۳۰ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز، در مقایسه با گروه شاهد (بدون تجویز هورمون). سپس تهیه لامهای بافت شناسی از غدد جنسی ۲۰ عدد ماهی از هر گروه در سن ۱۱ ماهگی و تعیین نسبتهای جنسی (نر، ماده، جنسیت بینابینی و عقیمی) در گروههای تیمار و شاهد.

تجزیه و تحلیل آماری: بررسی آماری نسبتهای جنسی و مقایسه میانگین های میزان رشد ماهیان تیمارهای مختلف با گروه شاهد به ترتیب با استفاده از آزمون مربع کای و آنالیز واریانس و مقایسه میانگین های بازماندگی با آزمون "t".

نتایج: در نمونه تیمار A1، ۱۰۰ درصد ماهیها نر بودند. در نمونه های دو تیمار A2 و A6 به ترتیب ۹۰ درصد و ۹۵ درصد ماهی نر مشاهده گردید. در نمونه هر یک از دو تیمار A3 و A4، ۸۰ درصد ماهیها نر بودند. در نمونه های سه تیمار A9، A7 و A8 به ترتیب ۶۸، ۶۵ و ۵۰ درصد و در نمونه هر یک از دو تیمار A5 و A10، نسبت ۴۵ درصد ماهی نر مشاهده شد. در نمونه تیمار A11 هیچ ماهی نری مشاهده نگردید. آزمون مربع کای نشان داد که هشت تیمار از ۱۰ تیماری که برای نرسازی منظور شده بودند (به جز تیمارهای A5 و A10) نسبت جنسی ماهیان را به طور بسیار معنی داری ($P<0/001$) به سمت نر تغییر دادند. نمونه تیمار ۳۰ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز نیز که برای ایجاد عقیمی درنظر گرفته شده بود، شامل ۹۰ درصد ماهی عقیم بود که به طور بسیار معنی داری ($P<0/001$) با گروه شاهد اختلاف داشت.

نتیجه گیری: با توجه به مشاهدات بافت شناسی و نتایج آماری این مطالعه و نیز حداقل مصرف هورمون می توان اظهار داشت که در نرسازی با روش تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، تیمار ۰/۵ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز، تیمار بهینه برای نرسازی در قزل آلای رنگین کمان می باشد.

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۳، ۲۴۰-۲۳۵.

واژه های کلیدی : قزل آلای رنگین کمان، تغییر جنسیت، نرسازی، عقیم سازی، ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون.

Optimization of oral administration of 17α-methyltestosterone for masculinization and sterilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Amini, F.,[1] Tala, M.[2]

[1]*Department of Aquatic Animal Health and Diseases, University of Tehran, Tehran- Iran.* [2]*Graduated from Islamic Azad University, Tehran-Iran.*

Objective: To optimize the dose and rout of administration of 17α-methyltestosterone for masculinization and sterilization of rainbow trout.

Animals: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss.*

Procedure: Oral administration of 17α-methyltestosterone in11 treatments as follows: in A1, A2, A6 and A7 treatments 0.5, 1, 2 and 3 ppm, respectively, all starting from active feeding of larvae for 60 days; in A3 and A8 treatments 1and 3 ppm, respectively, both starting from active feeding of larvae for 90 days; in A4 and A9 treatments 1 and 3 ppm, respectively, starting two weeks after active feeding of larvae for 60 days; in A5 and A10 treatments 1 and 3 ppm, respectively, starting four weeks after active feeding of larvae for 60 days; and in A11 treatment 30 ppm starting from active feeding of larvae for 120 days as well as control group with no hormonal treatment. Twenty fish from each treatment and control groups were examined histologically at the age of 11 months to determine the sex ratio including female, male, intersex and sterile fish.

Statistical analysis: Sex ratios and growth rates were analyzed using chi square and ANOVA, respectively and the mean survival rates were comparal by student "t" test.

Results: In sample taken from A1 treatment 100% of fish were males. Other samples showed a variety of results (percentage of males is shown in brackets): A2 (90%), A6 (95%), A3 (80%), A4 (80%), A9 (68%), A7 (65%), A8 (50%), A5 (45%), A10 (45%). In A11 treatment no males were found. All treatments adopted for masculinization except for A5 and A10 changed the sex ratio highly significantly ($P<0.001$) in favor of males. In A11 treatment 90% of the examined fish were sterilized which was deviated from the control group significantly ($P<0.001$). No significant differences were detected in growth of fisch taken from the treatment groups compared to the control group.

Conclusion: According to histological evidence and statistical analysis of data as well as considering the minimum usage of hormone it can be concluded that the oral administration of 0.5 ppm 17α-methyltestosterone starting from active feeding of rainbow trout larvae for 60 days was determined as to be the optimum treatment. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 3: 235-240, 2003.***

Key words: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Sex reversal, Masculinization, Sterilization, 17α-Methyltestosterone.

Corresponding author email:famini@chamran.ut.ac.ir

در مزارع پرورش ماهی، کنترل جنسیت گونه های پرورشی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است، زیرا از نظر میزان رشد، نوع رفتار، طول دوره پرورش، رنگ بدن، شکل و یا اندازه، بین دو جنس نر و ماده در گونه های پرورشی مختلف، تفاوتهایی وجود دارد (۱۶،۱۸). همچنین تغییرات گوناگونی که در خلال تولید مثل در رشد ماهی، ضریب تبدیل غذایی، رنگ بدن و لاشه و همچنین حساسیت به بیماریها روی می دهد، کاهش تقاضای مصرف کنندگان را درپی دارد (۱۶). به همین جهت بسیاری از پرورش دهندگان ترجیح می دهند مانع از بلوغ ماهیان شده یا آن را به تأخیر بیندازند و یا با توجه به تقاضای بازار مصرف، تمایل بیشتری به پرورش ماهیان تک جنسی (Monosex) یا عقیم داشته و یا مایل به پرورش ماهیان نر و ماده به طور جداگانه می باشند (۱۶،۱۸).

۱) گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول famini@chamran.ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

گذشته از این موارد، با افزایش تقاضا برای ماهیان هم اندازه در مصارف خوراکی، نیاز به تولید ماهیان از یک جنس محسوس می باشد. ماهی قزل آلای رنگین کمان از ماهیان مهم پرورشی است که ارزش غذایی و اقتصادی زیادی دارد و در عین حال تولید آن با مشکلاتی همراه است که عمدتاً مربوط به جنس نر آن می باشد، زیرا ماهی نر دارای بلوغ زودرس بوده و حداقل یک سال زودتر از ماهی ماده بالغ می گردد (۴،۱۷).

در حال حاضر با استفاده از روشهای موجود برای کنترل جنسیت ماهیان، می توان مشکلات مربوط به جنس نر در ماهی قزل آلای رنگین کمان را کاهش داد و یا برطرف ساخت و نهایتاً توان تولید را بهبود بخشید. رایجترین روش برای انجام این کار، تغییر جنسیت ماهیان قزل آلای رنگین کمان ماده از طریق تجویز اندروژنهای ساختگی به منظور تولید ماهیان نر تغییر جنسیت یافته (XX) و سپس استفاده از ماهیان نر XX جهت تولید زاده های تماماً ماده می باشد (۸،۹). تولید ماهیان عقیم رواج کمتری دارد، اما یکی از راههای حصول آن، تجویز مقادیر زیاد استروئیدهای جنسی می باشد (۸).

اگرچه جنسیت ژنتیکی ماهیان در مورد بسیاری از گونه ها به هنگام لقاح تعیین می شود، اما تمایز جنسی فیزیولوژیک آنها، معمولاً در مراحل بعد و اکثراً بعد از خروج لارو از تخم صورت می گیرد. غدد جنسی اولیه در هر دو جنس ماهی قزل آلای رنگین کمان از عضوی به نام اووتستیس تشکیل شده که در هنگام تمایز جنسی فیزیولوژیک، تحت تأثیر استروئیدهای جنسی، قابلیت تبدیل شدن به بیضه یا تخمدان را دارد (۶،۱۶،۱۸). زیرا در طی دوره تمایز جنسی، استروئیدهای جنسی عمدتاً به عنوان عوامل مورفوژنیک عمل می نمایند (۱۴). لذا می توان با تجویز استروئیدهای جنسی ساختگی در مرحله حساس تمایز جنسی فیزیولوژیک و با استفاده از روشهای تجویز هورمون به منظور تغییر جنسیت (غوطه وری، تجویز خوراکی، تزریق، کاشتن و ...)، جنسیت ماهی را به سوی جنس مورد نظر تغییر داد (۳،۱۰،۱۳). در صورتی که اندروژن ساختگی ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون برای یک دوره صحیح به رژیم غذایی ماهیان جوان افزوده شود، بسته به مقدار هورمون مورد استفاده، می تواند موجب تغییر جنسیت و یا عقیمی در آزاد ماهیان شود (۱۱).

بررسی کاربرد هورمونها برای تغییر جنسیت در ماهیان در ایران از اوایل دهه ۷۰ آغاز و نرسازی در ماهی کپور معمولی با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون انجام گردید (۱،۲،۵،۶). در بررسی حاضر، به منظور نرسازی و عقیم سازی ماهی قزل آلای رنگین کمان، به تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و در عین حال بهینه نمودن رژیمهای تجویز خوراکی هورمون مذکور در ارتباط با زمان شروع استفاده از هورمون، مقدار هورمون و طول دوره تجویز هورمون و سرانجام ارزیابی اثرات این هورمون بر روی نسبتهای جنسی اقدام گردید.

مواد و روش کار

برای تغییر جنسیت و ایجاد عقیمی درماهی قزل آلای رنگین کمان، هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به صورت پودر خالص (کارخانه داروسازی ابوریحان) تهیه گردید. مراحل میدانی این آزمایش، در مرکز تکثیر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت و مراحل آزمایشگاهی آن، در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران طی سالهای ۸۰-۱۳۷۹ انجام شد.

برای انجام تیمارهای مورد نظر، هنگامی که لاروهای قزل آلای رنگین کمان در مرحله شنای آزاد قرار داشتند، برای هر تیمار و نیز برای گروه شاهد ۵۰۰ عدد لارو منظور گردید. لاروهای مربوط به هر تیمار به طور جداگانه درون سبدهای فایبرگلاس قرار داده شدند. لاروها تا رسیدن به وزن ۱/۲ گرم درون سبدها نگهداری شده و سپس به ترافهای مجزا انتقال یافتند. بچه ماهیها پس از رسیدن به وزن ۱۲ گرم به حوضچه های فایبرگلاس۰/۵ مترمکعبی انتقال یافته و تا وزن ۳۳ گرم در این حوضچه ها نگهداری شده و سپس به مخازن فایبرگلاس با حجم ۴ مترمکعب منتقل گردیدند.

برای نرسازی، تجویز هورمون با مقادیر ۰/۵ ppm، ۱ ppm، ۲ ppm و ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال،دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال و چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال آغاز شد و به مدت ۶۰ روز یا ۹۰ روز ادامه یافت. به منظور عقیم سازی نیز تجویز هورمون به مقدار ۳۰ ppm از زمان شروع تغذیه فعال آغاز و بمدت ۱۲۰ روز انجام گردید. به این ترتیب تیمارها بر مبنای سه متغیر مقدار هورمون، زمان شروع تجویز هورمون و طول دوره تجویز هورمون درنظر گرفته شدند (جدول ۱).

برای تجویز هورمون از روش خوراکی و برای تهیه غذای حاوی هورمون از روش تبخیر الکل استفاده گردید (۱۶). برای این منظور، مقدار هورمون موردنیاز با ترازوی آنالیتیکال توزین شده و در ۳۰۰ سی سی الکل اتیلیک حل می گردید. سپس محلول الکل و هورمون توسط اسپری دستی به دقت بر روی ۲ کیلوگرم غذای کنسانتره در اندازه SFT1 و SFT2 (شرکت چینه) اسپری می شد. این غذا بمدت ۳ ساعت در دمای آزمایشگاه خشک گردیده و سپس به مدت یکساعت در فور با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار می گرفت. پس از تبخیر الکل، غذای حاوی هورمون در ظروف درب دار ریخته شده و پس از برچسب گذاری تا زمان مصرف در یخچال نگهداری می گردید. مقدار غذای روزانه و نیز دفعات غذادهی ماهیان مورد آزمایش، بر اساس دمای آب، تعداد ماهی در کیلوگرم زیتوده و میانگین وزن انفرادی ماهیان محاسبه می شد.

پس از پایان دوره تجویز هورمون، ماهیان مربوط به هر تیمار تا زمانی که غدد جنسی آنها رشد یافته و به اندازه مناسب برای بررسی بافت شناسی برسد، با غذای فاقد هورمون تغذیه شدند. ۳۰۰ روز بعد از شروع تغذیه فعال (در سن ۱۱ ماهگی)، ۲۰ ماهی از هر تیمار به طور تصادفی صید گردید و غدد جنسی آنها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و جهت بررسی بافت شناسی به آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی ارسال شد.

برای مقایسه نسبت جنسی در نمونه های تیمارهای مختلف با نمونه گروه شاهد، آزمون مربع کای مورد استفاده قرار گرفت. میزان بازماندگی ماهیان مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد نیز به وسیله آزمون "t" بررسی گردیدو برای بررسی تأثیر هورمون در میزان رشد ماهیان مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد از آنالیز واریانس استفاده شد. روشهای آماری فوق با استفاده از نرم افزارهای Excel 2000 و SPSS 10 انجام گردیدند.

نتایج

نسبتهای جنسی حاصل از تأثیر هورمون در غدد جنسی ماهیان مورد آزمایش در بررسی حاضر، در تصویر۱ مشاهده می گردد. به طوری که ملاحظه می شود این تأثیرات، از ایجاد جنسیت بینابینی تا نرسازی و عقیمی متفاوت می باشند. نسبت جنسی در نمونه گروه شاهد، شامل ۴۵ درصد نر و ۵۵ درصد ماده بود.

در نمونه تیمار ۰/۵ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (تیمار A1)، ۱۰۰ درصد ماهیان مورد آزمایش، نر بودند. در نمونه های

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تیمارهای مورد آزمایش برای بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون.

ردیف	شماره تیمار	مقدار تجویز هورمون (ppm)	زمان شروع تجویز هورمون	مدت زمان تجویز هورمون (روز)
۱	A1	۰/۵	از زمان شروع تغذیه فعال	۶۰
۲	A2	۱	از زمان شروع تغذیه فعال	۶۰
۳	A3	۱	از زمان شروع تغذیه فعال	۹۰
۴	A4	۱	دوهفته بعد از شروع تغذیه فعال	۶۰
۵	A5	۱	چهارهفته بعد از شروع تغذیه فعال	۶۰
۶	A6	۲	از زمان شروع تغذیه فعال	۶۰
۷	A7	۳	از زمان شروع تغذیه فعال	۶۰
۸	A8	۳	از زمان شروع تغذیه فعال	۹۰
۹	A9	۳	دوهفته بعد از شروع تغذیه فعال	۶۰
۱۰	A10	۳	چهارهفته بعد از شروع تغذیه فعال	۶۰
۱۱	A11	۳۰	از زمان شروع تغذیه فعال	۱۲۰
۱۲	شاهد	—	—	—

تیمارهای ۶۰ روزه از زمان شروع تغذیه فعال با مقادیر ppm ۱ و ppm ۲ (تیمارهای A2 و A6)، به ترتیب ۹۰ و ۹۵ درصد جنس نر مشاهده گردید. نمونه های مربوط به تیمار ppm ۱ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز (تیمار A3) شامل ۸۰ درصد، ppm ۱ از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (تیمار A4) شامل ۸۰ درصد و ppm ۳ از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (تیمار A9) شامل ۶۸ درصد ماهیان نر بودند. اما در نمونه های تیمارهای ۶۰ روزه با مقدار ppm ۱ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال (تیمار A5)، ۶۰ روزه با مقدار ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال (تیمار A10)، ۹۰ روزه با مقدار ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال (تیمار A8) و ۶۰ روزه با مقدار ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال (تیمار A7)، درصد کمتری (۴۵ تا۶۵ درصد) جنس نر تولید گردید. در نمونه تیمار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز که به منظور عقیم سازی در نظر گرفته شده بود، ماهی نر مشاهده نگردید.

جنسیت ماده فقط در ماهیان نمونه مربوط به دو تیمار ppm ۱ و ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (تیمارهای A5 و A10)، به ترتیب به میزان ۲۵ درصد و ۴۰ درصد به دست آمد. در نمونه تیمار ppm۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز (تیمار A11) نیز ۵ درصد ماهی ماده مشاهده شد.

در نمونه های تیمار ۶۰ روزه با مقدار ppm ۱ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال و تیمار ۶۰ روزه با مقدار ppm ۲ از زمان شروع تغذیه فعال، هر کدام ۵ درصد جنسیت بینابینی ایجاد گردید. تجویز مقدار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال در یکدوره ۱۲۰ روزه نیز ۵ درصد جنسیت بینابینی ایجاد نمود. اما در نمونه های تیمارهای ppm ۰/۵ و ppm ۳، جنسیت بینابینی مشاهده نگردید.

در تیمارهایی که برای نرسازی درنظر گرفته شده بودند، تجویز مقادیر بیشتر هورمون، همچنین دوره های تجویز طولانیتر (ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز و ۹۰ روز) باعث ایجاد درصدهای بیشتری‌از عقیمی (به ترتیب ۳۵ درصد ۵۰ درصد) در نمونه های مربوطه گردید. در نمونه های تیمارهای ۶۰ روزه با مقدار ppm ۱ از زمان شروع تغذیه فعال (۱۰ درصد) و ۶۰ روزه با مقدار ppm ۱ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال (۱۵ درصد)، نمونه تیمار ۶۰ روزه با مقدار ppm ۱ از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال (۲۰ درصد)، نمونه تیمار ۹۰ روزه با مقدار ppm ۱ از زمان شروع تغذیه فعال (۲۰ درصد) و نمونه تیمار ۶۰ روزه با مقدار ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال (۲۵ درصد) و نیز نمونه تیمار ۶۰ روزه با مقدار ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال (۳۲ درصد)، درصد کمتری ماهی عقیم مشاهده گردید. در نمونه های مربوط به تیمارهای ۶۰ روزه با مقادیر ppm ۰/۵ و ppm ۲ از زمان شروع تغذیه فعال، عقیمی مشاهده نگردید. در نمونه تیمار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز، ۹۰ درصد ماهی عقیم مشاهده شد.

آزمون مربع کای نشان دادکه تفاوتهای مشاهده شده درمیزان تولید ماهی نر، بین نمونه های تمام تیمارهایی که برای نرسازی درنظرگرفته شده بودند و نمونه گروه شاهد، به استثنای نمونه های دوتیمار ppm ۱و ppm ۳ از چهار هفته بعداز شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز، بسیار معنی دار ($P < ۰/۰۰۱$) بود. همچنین تفاوت مشاهده شده درمیزان تولید ماهی عقیم بین نمونه تیمار A11 و نمونه گروه شاهد نیز بسیارمعنی دار بود ($P < ۰/۰۰۱$).

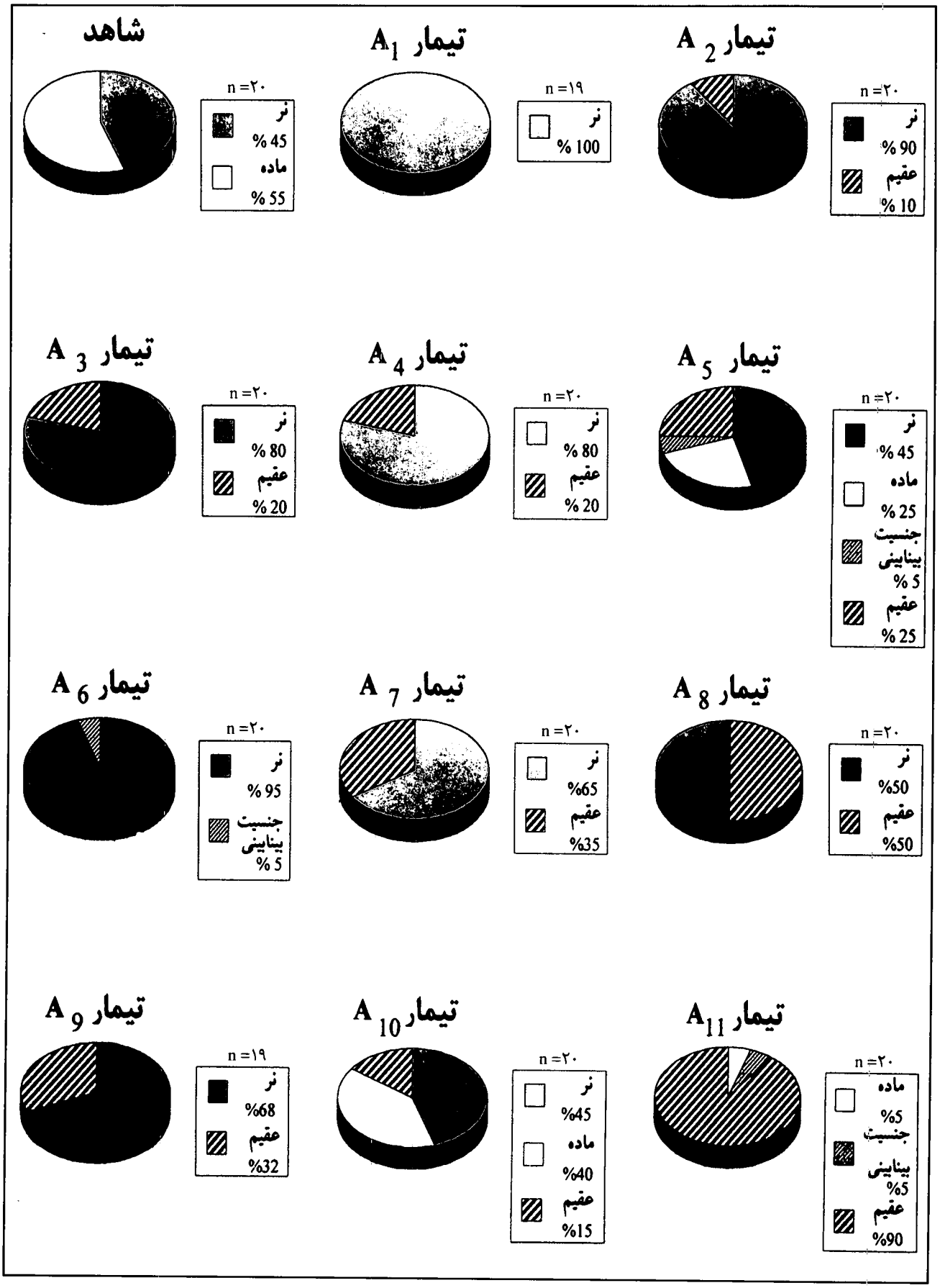
در این بررسی تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، باعث افزایش میزان بازماندگی ماهیان در تیمارهای مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد گردید و آزمون "t" نشان داد که ۱۲۰ روز بعد از شروع تغذیه فعال، تفاوت مشاهده شده در میانگین بازماندگی بین تیمارهای مورد آزمایش و گروه شاهد بسیار معنی دار بوده است ($P< ۰/۰۰۱$). در بررسی حاضر، آنالیز واریانس تفاوت معنی داری در میانگین میزان رشد نمونه های تیمارهای مورد آزمایش و نمونه گروه شاهد نشان نداد.

بحث

کاربرد ماهیان تک جنسی در مورد بسیاری از گونه های ماهیان در صنعت پرورش آبزیان مورد توجه می باشد. مزایای بالقوه استفاده از ماهیان تک جنسی شامل: افزایش میانگین رشد، حذف تولید مثل ناخواسته، کاهش رفتارهای تولید مثلی، کاهش تنوع اندازه ماهیان در زمان برداشت و کاهش مخاطرات زیست محیطی ناشی از فرار ماهیان پرورشی غیر بومی (وارداتی) می باشد (۷). نتایج به دست آمده از این بررسی، امکان تغییر نسبت جنسی در ماهی قزل آلای رنگین کمان با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را تأیید می نماید. با مقایسه نسبتهای جنسی‌در نمونه های تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد، می توان چنین نتیجه گرفت که هورمون مذکور توانسته با تغییر نسبت جنسی به نر و نیز تولید ماهیانی با جنسیت بینابینی یا عقیم، نسبت جنسی را تغییر دهد (نمودار ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- نسبتهای جنسی در نمونه های گروه شاهد و تیمارهای مورد آزمایش به تفکیک هر یک از تیمارها.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج این آزمایش نشان داد که تغییر نسبت جنسی به ۱۰۰ درصد نر در ماهی قزل آلای رنگین کمان را می توان با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به مقدار ۰/۵ ppm در طی دوره بحرانی تمایز جنسی ایجاد نمود. بیشترین درصد ماهی نر ایجاد شده بعد از تیمار فوق، در نمونه های دو تیمار ۶۰ روزه از زمان شروع تغذیه فعال با مقادیر ۱ ppm و ۲ ppm (به ترتیب ۹۰ و ۹۵ درصد) مشاهده گردید. تیمارهای ۱ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز و ۱ ppm از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز نیز هر کدام با تولید ۸۰ درصد ماهی نر در نمونه های مربوطه مؤثر واقع شدند، هرچند که با تجویز این مقادیر، بخشی از ماهیان دارای غدد جنسی عقیم یا غدد جنسی با جنسیت بینابینی گردیدند. درصد ماهیان نر در نمونه های سایر تیمارهایی که برای ایجاد نرسازی منظور شده بودند، از ۶۸ درصد به ۴۵ درصد کاهش داشت که عمدتاً به دلیل تولید ماهیان عقیم و بعضاً به دلیل تولید ماهیان ماده یا ماهیان دارای جنسیت بینابینی بود. اما به طور کلی تأثیر هورمون در تغییر نسبت جنسی ماهیان نمونه در مجموع تیمارهایی که برای نرسازی درنظر گرفته شده بودند، در مقایسه با نمونه گروه شاهد با ۴۵ درصد نر، قابل توجه بود.

در این بررسی مشاهده شد که با افزایش مقدار هورمون و نیز افزایش طول دوره تجویز هورمون، اثرات نرسازی کاهش می یابد. به نظر می رسد دور شدن از زمان شروع تغذیه فعال برای شروع تجویز هورمون نیز، موفقیت در نرسازی را کاهش می دهد. بر اساس نتایج به دست آمده از بررسی حاضر، مقدار بهینه هورمون برای ایجاد تغییر جنسیت به نر با روش خوراکی، ۰/۵ ppm و زمان مؤثر برای شروع تجویز آن، از زمان شروع تغذیه فعال و دوره تجویز مناسب، ۶۰ روز می باشد.

نتایج اعلام شده توسط Yamazaki در سال ۱۹۸۳ نیز با نتایج بررسی حاضر همسو می باشد. بنا بر نظر وی، تجویز خوراکی هورمون در قزل آلای رنگین کمان، زمانی که درست پس از شروع تغذیه فعال آغاز گردد، مؤثرتر است (۱۸). تغییر جنسیت ایجاد شده در بسیاری از گونه های ماهیان از جمله ماهی قزل آلای رنگین کمان دائمی است، زیرا اعتقاد بر این است که عمل ژنهای جنسی در گونه های تک جنسی تمایز یافته، محدود به یک دوره نسبتاً کوتاه در هنگام رشد اولیه غدد جنسی می باشد و بعد از آغاز تمایز جنسی گنادی، این ژنها پنهان یا غیر فعال می شوند (۱۴،۱۸).

همان طور که در تصویر۱ مشاهده می گردد، به استثنای دو تیمار ۱ ppm و ۳ ppm از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز که به ترتیب شامل ۲۵ درصد و ۴۵ درصد ماهی ماده بودند، در نمونه هیچ یک از تیمارهای مورد بررسی که برای نرسازی درنظر گرفته شده بودند، ماهی ماده مشاهده نگردید. عدم مشاهده ماهیان ماده در این تیمارها، نشان دهنده تأثیر شدید هورمون در تغییر نسبت جنسی به سوی جنس نر می باشد. وجود ماهی ماده در دو تیمار مذکور، احتمالاً به دلیل دریافت مقادیر کم هورمون بوده است. اما مشاهده ماهی ماده در تیمار عقیم سازی، احتمالاً مربوط به اثر معکوس ماده سازی است که ناشی از دریافت مقادیر زیاد هورمون می باشد (۱۴). Solar و Donaldson در سال ۱۹۸۴ نیز در ماهیان قزل آلای رنگین کمان تیمار شده با متیل تستوسترون، اثر معکوس ماده سازی در اثر تجویز مقادیر زیاد اندروژن را مشاهده کردند (۱۷). احتمالاً دلیل این امر، پدیده عطری شدن (Aromatization) حلقه A در مولکول تستوسترون است که باعث تبدیل شدن آن به استرادیول می گردد (۳).

در این بررسی، تعدادی از ماهیان با جنسیت بینابینی مشاهده شدند که احتمالاً به دلیل دریافت مقادیر ناکافی هورمون توسط ماهیان مورد آزمایش بوده است. این ماهیان احتمالا به دلیل عدم حضور مؤثر در رقابت غذایی و یا دریافت دانه های غذایی که به طور تصادفی حاوی مقادیر کمتری هورمون بوده اند و یا به دلیل تفاوتهای موجود بین ماهیان از نظر توانایی گیرنده های سلولی هورمون مذکور، تغییر جنسیت را به طور کامل نشان ندادند. Okada و همکاران در سال ۱۹۸۱ نیز غدد جنسی با هر دو نوع سلولهای زایگر نر و ماده را در تیمارهای ۶۰ روزه تجویز خوراکی متیل تستوسترون به مقدار ۰/۵ ppm (۸/۹ درصد)، ۱ ppm (۱۰/۹ درصد)، ۵ ppm (۱۶ درصد) و ۱۰ ppm (۱۲ درصد) در قزل آلای رنگین کمان مشاهده کردند. مشاهدات این محققین نشان می دهد که درصد ماهیان دارای جنسیت بینابینی با افزایش مقدار هورمون، کاهش یافته است (۱۸).

مقایسه نسبتهای جنسی در نمونه های تیمارهای مورد آزمایش در بررسی حاضر نشان داد که درصد تولید ماهیان عقیم، با افزایش مقدار هورمون و یا طول دوره تجویز هورمون، افزایش یافته است. به طوری که نمونه تیمار ۳۰ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز که برای عقیم سازی درنظر گرفته شده بود، به دلیل تجویز مقدار زیاد هورمون و نیز طولانی بودن دوره تجویز آن، شامل بیشترین درصد (۹۰ درصد) ماهیان عقیم بود. Solar و Donaldson در سال ۱۹۸۴ در آزمایشی که برای عقیم سازی در ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام دادند، بیشترین درصد عقیمی را در تیمار ۲۵ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز مشاهده نمودند (۱۷).

معنی دار بودن تفاوتهای مشاهده شده در نسبتهای جنسی ماهیان نمونه گروه شاهد و ماهیان نمونه های هشت تیمار از ده تیماری که برای نرسازی منظور شده بودند، نشان دهنده مؤثر واقع شدن تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در تغییر جنسیت ماهیان ماده می باشد. تفاوت معنی دار مشاهده شده در میزان تولید ماهیان عقیم در نمونه تیمار عقیم سازی نسبت به گروه شاهد نیز بیانگر تجویز مؤثر هورمون در ایجاد عقیمی است.

اگرچه در این بررسی تفاوت معنی داری در میزان رشد ماهیان در تیمارهای مورد آزمایش و گروه شاهد مشاهده نگردید، اما بعضی از گزارشهای منتشر شده، توانایی آنابولیک استروئیدها را به عنوان تسریع کننده های رشد در ماهیان پرورشی مطرح کرده اند (۱۲). ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون عملکردهای آنابولیک خود را تا اندازه ای از طریق افزایش رشد و کاهش کاتابولیسم پروتئین اعمال می نماید (۱۰). Yamazaki در سال ۱۹۷۶ تاثیر آنابولیک تجویز خوراکی مقدار ۱ ppm هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را در قزل آلای رنگین کمان گزارش نموده است (۱۸).

در این پژوهش نتایج حاصل از بررسی میزان بازماندگی ماهیان مورد آزمایش در ۱۲۰ روزگی در مقایسه با گروه شاهد و تفاوت معنی داری که به وسیله آزمون "t" نشان داده شد، می تواند نقش تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را در افزایش میزان بازماندگی بازگو نماید. Solar و Donaldson در سال ۱۹۸۴ نیز در پژوهشی که به منظور نرسازی در قزل آلای رنگین کمان از طریق تجویز خوراکی ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون انجام دادند، افزایش میزان بازماندگی در ماهیان مورد آزمایش را گزارش کردند (۱۷).

تشکر و قدردانی

این پژوهش با استفاده از امکانات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران و با همکاری مؤسسه تحقیقات شیلات ایران انجام گردیده است. از جناب آقای مهندس حسین عبدالحی (مدیر کل تکثیر ماهی و بازسازی

www.SID.ir

Archive of SID

ذخایر آبزیان شرکت سهامی شیلات ایران) و جناب آقای مهندس امیر سعید ویلکی (رئیس اداره تکثیر ماهیان آبهای داخلی معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شرکت سهامی شیلات ایران) که در اجرای این بررسی همکاری نمودند، سپاسگزاری می شود.

از سرکار خانم دکتر مریم رضاییان (دانشیار بخش بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)، جناب آقای دکتر سید محمد رضا فاطمی (استادیار گروه شیلات و بیولوژی دریا، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی) و جناب آقای فردوس ابراهیم پور (کارشناس آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، قدردانی به عمل می آید.

References

۱. آذری تاکامی، ق.، امینی، ف. و فرحمند، ح. (۱۳۷۵): بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linne) به وسیله هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، مجله منابع طبیعی ایران، انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۴۹، صفحه: ۱۵-۳.

۲. امینی، ف. (۱۳۷۰): جایگاه ژنتیک و اصلاح نژاد در پرورش ماهی، مجموعه مقالات دهمین کنگره دامپزشکی ایران، انتشارات جامعه دامپزشکان ایران، صفحه: ۴۳۰-۴۲۳.

۳. شهبازی، پ. و ملک نیا، ن. (۱۳۷۸): بیوشیمی عمومی، جلد ۲. انتشارات دانشگاه تهران.

۴. طلا، م. (۱۳۸۰): بهینه سازی تیمار هورمونی ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون برای ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی قزل آلای رنگین کمان، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.

۵. علیشاهی، م. (۱۳۷۷): القای تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی به وسیله هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون خوراکی در سطح صنعتی، پایان نامه دکتری عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۹۸ صفحه.

۶. فرحمند، ح. (۱۳۷۲): ایجاد تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس (نور)، ۱۰۱ صفحه.

7. Beardmore, J. A., Mair, G. C. and Lewis, R. I. (2001): Monosex male production in finfish as exemplified by Tilapia: application, problems and prospects. Aquaculture, 197: 283–301.
8. Bye, V. J. and Lincoln, R. F. (1986): Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) Aquaculture, 56: 299-309.
9. Feist, G., Yeoh, C. G., Fitzpatric, M. S. and Schreck, C. B. (1995): The production of functional sex-reversal male rainbow trout with 17α–methyltestosterone and 11β-hydroxyandrostenedione. Aquaculture, 131: 145-152.
10. Hunter, G. A. and Donaldson, E. M. (1983): Hormonal sex control and its application to fish culture. *In* : Fish Physiology. Vol. 9, Part B. Hoar, W. S., D. J. Randel and E. M. Donaldson (Eds)., Academic Press INC., PP: 223-291.
11. Johnston, R., Macintosh, D. J. and Wright, R. S. (1983): Elimination of orally administered 17α–methyltestosterone by *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) and *Salmo gairdneri* (Rainbow trout) juveniles. Aquaculture, 35: 249-257.
12. Matty, A. J. and Cheema, I. R. (1978): The effect of some steroid hormones on the growth and protein metabolism of rainbow trout. Aquaculture,14: 163-178.
13. Pandian, T. J. and Sheela, S. G. (1995): Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture,138:1-22.
14. Piferrer, F. (2001): Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture, 197: 229-281.
15. Santandreu, I. A. and Diaz, N. F. (1994): Effect of 17α–methyltestosterone on growth and nitrogen excretion in masu salmon (*Oncorhynchus masou* Brevoort). Aquaculture, 124: 321-333.
16. Shepherd, C. and Bromage, N. (1992): Intensive Fish Farming. Blackwell Scientific Publications, 404 PP.
17. Solar, I. and Donaldson, E. (1984): Optimization of treatment regimes for controlled sex differentiation and sterilization in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by oral administration of 17α–methyltestosterone. Aquaculture, 42: 129-139.
18. Yamazaki, F. (1983): Sex control and manipulation in fish. Aquaculture, 33: 329-354.

www.SID.ir