وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

بررسی امکان تولید ماهیان تک جنس ماده و عقیم در ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

مجری :
مریم طلا

شماره ثبت
۸۶/۳۱۰

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

عنوان پروژه / طرح : بررسی امکان تولید ماهیان تک جنس ماده و عقیم در ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

شماره مصوب : ۰۳-۰۰۰۱۳۶۰۷۱۰-۷۸

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارنده گان : مریم طلا

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : مریم طلا

نام و نام خانوادگی همکاران : امیر ویلکی – منصور شریفیان

نام و نام خانوادگی مشاور (ان) : حسین علی عبدالحی

محل اجرا : استان تهران

تاریخ شروع : ۱۳۷۸

مدت اجرا : ۳ سال

ناشر : مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

شمارگان (تیتراژ) : ۱۵ نسخه

تاریخ انتشار : سال ۱۳۸۶

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

به نام خدا

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱- ۱- روشهای کنترل جنسیت در ماهیان و جایگاه موضوع تحقیق ۳
۱- ۱-۱- تغییر جنسیت در ماهیان از طریق تجویز هورمونهای استرویيدی جنسی ۴
۱-۱-۱- ۱- نرسازی یا تغییر جنسیت به نر ۵
۱-۱-۱- ۱- ماده‌سازی یا تغییر جنسیت به ماده ۵
۱-۱-۱- ۱- روشهای تجویز هورمون برای ایجاد تغییر جنسیت در ماهیان ۵
۱-۲- تولید جمعیتهای تک‌جنسی در ماهیان ۶
۱-۲-۱- تولید نتاج تک‌جنسی از طریق آمیزش ماهیان تغییرجنسیت یافتهٔ بالغ بامولدین معمولی ۶
۱-۲-۲- ماده‌زایی ۷
۱-۲-۳- نرزایی ۷
۱-۳- دورگه‌گیری ۸
۱-۴- عقیم‌سازی در ماهیان ۸
۱-۴-۱- عقیم‌سازی از طریق تجویز هورمون ۸
۱-۴-۲- القای تریپلوییدی ۸
۱-۴-۳ - پرتوافشانی ۹
۱-۴-۴ - جراحی ۹
۱-۵- تاثیر تجویز هورمونهای استرویيدی در بهداشت عمومی ۹
۱-۶- تاریخچهٔ ایجاد تغییر جنسیت، عقیمی و تولید جمعیتهای تک‌جنس ماده در جهان و ایران ۱۰
۲- مواد و روشها ۱۱
۳- نتایج ۱۸
۴- بحث ۳۱
۵- نتیجه گیری ۴۶
پیشنهادها ۴۷
منابع ٤۹
چکیده انگلیسی ۵۱

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURE RESEARCH AND EDUCATION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION

Investigation of production possibility of monosex female and sterile fish in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

Executor :
Maryam Tala

86.310

Ministry of Jihad – e – Agriculture
Agriculture Research and Education Organization
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION

Title : Investigation of production possibility of monosex female and sterile fish in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

Approved Number :*78-0710136000-03*

Author: *Maryam Tala*
Executor *:* *Maryam Tala*
Collaborator *:* A. Vilaki; M. Sharifian
Advisor : H. A. Abdolhay
Location of execution : Tehran
Date of Beginning : 1999
Period of execution : *3 years*
Publisher : *Iranian Fisheries Research Organization*
Circulation : *15*
Date of publishing : *2007*

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

بسمه تعالی

طرح **بررسی امکان تولید ماهیان تک جنس ماده و عقیم در ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*** با مسئولیت اجرایی **خانم مریم طلا** [1] در تاریخ **۱۳۸۵/۱۱/۱۷** در **کمیته تخصصی شیلات** با رتبه **متوسط** تأیید شد.

موسسه تحقیقات شیلات ایران

۱- خانم مریم طلا متولد سال ۱۳۵۲ در شهرستان تهران دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته مهندسی منابع طبیعی – شیلات بوده و در حال حاضر به عنوان عضو هیأت علمی در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان مشغول به فعالیت می‌باشد.

چکیده

این طرح با هدف تولید جمعیت تک‌جنسی ماده در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و نیز ایجاد عقیمی در این ماهی برای اولین بار در کشور انجام گردید. در این پژوهش، تولید جمعیت تک جنسی ماده، از طریق آمیزش ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با ماهیان مادهٔ معمولی و تولید ماهیان عقیم فقط از طریق تجویز خوراکی هورمون مذکور به انجام رسید. برای تولید ماهیان نر تغییر جنسیت یافته[1]، هورمون ۱۷- آلفا متیل تستوسترون[2] با دو روش غوطه‌وری و خوراکی به ترتیب در مرحلهٔ جنینی و از زمان شروع تغذیه فعال، به تخم و لارو ماهیان تجویز گردید. به منظور تغییر جنسیت ماهیان به نر، در مجموع ۱۳ تیمار لحاظ گردید که بیشترین نسبت ماهی نر (۱۰۰ درصد)، در تیمار تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۰/۵ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز مشاهده شد ($P<0/001$). در سایر تیمارها درصدهای مختلفی از نسبتهای جنسی شامل نر، ماده، جنسیت بینابینی و عقیمی ملاحظه گردید. نتاج حاصل از آمیزش ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با ماهیان مادهٔ تیمار نشده نیز ۱۰۰ درصد ماده بودند. آزمون مربع کای نشان داد که تیمار تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز که برای ایجاد عقیمی در نظر گرفته شده بود با تولید ۹۰ درصد ماهی عقیم، نسبت جنسی را به طور بسیار معنی‌داری به سمت عقیمی تغییر داد ($P<0/001$). تغییرات مورفولوژی غدد جنسی و مجاری اسپرم بر ماهیان بالغی که تحت تجویز هورمون قرارگرفته بودند، همچنین تغییرات بافت شناسی غدد جنسی ناشی از تجویز این هورمون، قابل ملاحظه بود.

کلمات کلیدی : قزل آلای رنگین کمان، تغییر جنسیت، جمعیت تک جنسی، ۱۷- آلفا متیل تستوسترون، غوطه‌وری، تجویز خوراکی، جنسیت بینابینی، عقیمی.

1- Neomail

2- 17α–methyltestosterone

۱- مقدمه

فرآیند بلوغ جنسی در ماهی قزل آلای رنگین کمان که ماهی پرورشی غالب در مناطق معتدل دنیا می‌باشد، به دلیل صرف انرژی جهت تولید مواد تناسلی و در نتیجه استفاده نکردن از انرژی برای تولید گوشت ماهی، موجب کاهش میزان رشد بویژه در جنس نر می‌گردد. بلوغ جنسی این ماهی، سبب کاهش کیفیت گوشت و بروز آثار نامطلوب در بافت و رنگ آن می‌گردد. به علاوه به هنگام بلوغ جنسی، حساسیت ماهی نسبت به عوامل بیماریزا افزایش می‌یابد (Bromage and Cumaranatunga,1988). این تغییرات در جنس نر قزل آلای رنگین کمان بارزتر بوده و زودتر آشکار می‌شود، زیرا جنس نر حداقل یک سال زودتر از جنس ماده بالغ می‌گردد (Simpson *et al.*, 1979, in: Solar *et al.*, 1984) (جنس نر در سن ۲ سالگی و جنس ماده در سن۳ سالگی). بنابراین درصد قابل توجهی از ماهیان نر، قبل از رسیدن به اندازهٔ بازاری، بالغ می‌گردند و علاوه بر رشد کمی که دارند، به دلیل کیفیت نامطلوب گوشت، بازارپسندی آنها نیز کاهش می‌یابد (Solar and Donaldson., 1984; Bye and Lincoln, 1986). حال آن که پرورش دهندگان قزل‌آلا ترجیح می‌دهند، ماهیانی با اندازهٔ بزرگتر تولید کنند تا بتوانند آنها را با قیمت بیشتری بفروشند. لذا این طرح به منظور برطرف نمودن مشکلات مربوط به جنس نر و بهبود توان تولید مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا، از طریق تولید جمعیتهای تماما ماده و نیز عقیم طراحی گردید. برای درک بهتر روش مورد استفاده در اجرای این طرح، مکانیسم تعیین جنسیت در ماهی قزل آلای رنگین کمان توضیح داده می‌شود.

به طور کلی جنسیت در ماهیان، طی دو مرحلهٔ منظم و متوالی، معین می‌گردد. مرحلهٔ تعیین جنسیت ماهی از نظر ژنتیکی[1] و مرحلهٔ تمایز جنسی فیزیولوژیک[2] که بلافاصله پس از تعیین جنسیت ژنتیکی انجام شده و سرانجام جنسیت ماهی را مشخص می‌نماید (فرحمند، ۱۳۷۲). جنسیت در قزل آلای رنگین‌کمان توسط کروموزومهای جنسی تعیین می‌گردد. به این ترتیب که وجود یک جفت کروموزوم جنسی X (ژنوتیپ XX)، تعیین کنندهٔ جنس ماده و یک جفت کروموزوم جنسی X و Y (ژنوتیپ XY)، جنس نر را تعیین می‌نماید. اما سلولهای جنسی[3] یعنی اسپرمها و تخمکها قبل از لقاح، حاوی نیمی از کروموزومهای موجود در سلول تخم لقاح

---

[1] - Sex determination

[2] - Sex differentiation

[3] - Gamets

یافته و نیز سایر سلولهای بدن ماهی می‌باشند. بنابراین هر تخمک فقط دارای یک کروموزوم جنسی X و هر اسپرم دارای یک کروموزوم X یا Y است که پس از لقاح، به دلیل ترکیب هستهٔ سلولهای اسپرم و تخمک، سلول تخم با آرایش کروموزومی XY یا XX ایجاد می‌گردد و به این ترتیب جنسیت ژنتیکی ماهی در هنگام لقاح معین می‌گردد (Shepherd and Bromage, 1992). اما تمایز جنسی فیزیولوژیک، در اوایل دورهٔ زندگی و معمولا بعد از خروج لارو از تخم و طی دو مرحلهٔ مشخص پیدایش اندامهای جنسی[1] و پیدایش سلولهای جنسی[2] صورت می‌گیرد (Billard, 1992). به دنبال تمایز جنسی و انجام تقسیمات پیش میوزی، سلولهای زایگر اولیه که هنوز تمایز نیافته‌اند، در پاسخ به هورمونهای جنسی نر در اندام جنسی ماهی نر (بیضه)، به اسپرماتوگونیومها[3] تمایز می‌یابند. در حالی که همان سلولهای زایگر در حضور هورمونهای جنسی ماده در تخمدان، به اواوگونیوم[4] تبدیل می‌شوند (تاکاشیما و هایبیا، ترجمهٔ پوستی و صدیق مروستی، ۱۳۷۸). بنابراین در صورتی که تجویز هورمون جنسی نر هنگام تمایز جنسی انجام گردد، جنسیت فیزیولویک ماهی، صرفنظر از جنسیت ژنتیکی آن، که ممکن است XX یا XY باشد، به سوی ایجاد اندام جنسی نر (بیضه) و سلولهای جنسی نر (اسپرم)، پیش خواهد رفت. این بدان معنی است که چنانچه هورمون جنسی نر در زمان مناسب به ماهیانی که جنسیت ژنتیکی ماده (XX) دارند، تجویز گردد، در ماهیان تحت تیمار به جای تخمدان، بیضه تشکیل خواهد شد و این ماهیان پس از رسیدن به بلوغ جنسی اسپرمهایی با کروموزوم X تولید خواهند کرد. بدیهی است که حاصل آمیزش این ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با ماهیان مادهٔ تیمار نشده، تولید جمعیتی تماما ماده خواهد بود، زیرا اسپرمهای مورد استفاده، حاوی هیچ کروموزوم Y نمی‌باشند (Shepherd and Bromage, 1992).

۱-۱- روشهای کنترل جنسیت در ماهیان و جایگاه موضوع تحقیق

در حال حاضر با افزایش تقاضا برای ماهیان بزرگ و هم‌اندازه جهت مصارف خوراکی، نیاز به کنترل بلوغ جنسی در ماهیان محسوس می‌باشد (Bye and Lincoln, 1986). روشهای کنترل جنسیت در آزاد

---

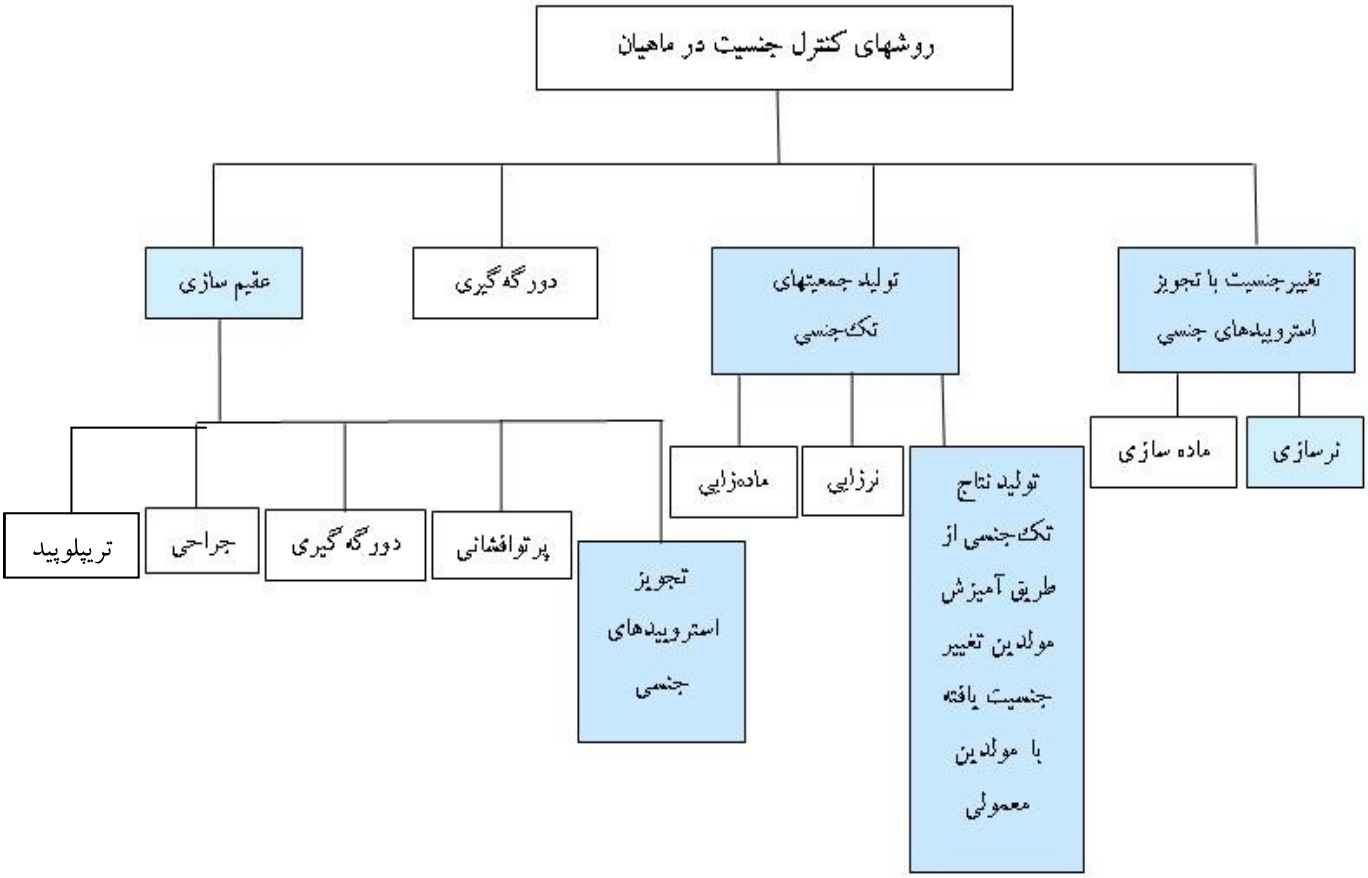
[1] - Gonadogenesis

[2] - Gametogensis

[3] - Spermatogonia

[4] - Oogonia

ماهیان، به عنوان یک ابزار مهم مدیریتی در صنعت پرورش آبزیان دارای اهمیت است و استفاده از این روشها در مزارع پرورش ماهی بسیاری از کشورها از جمله انگلیس و ژاپن در سطح صنعتی متداول می‌باشد (Baker and Solar., 1988; Bye and Lincoln, 1986). چندین روش برای کنترل جنسیت موجود است که بعضی از آنها به طور



شکل۱- روشهای کنترل جنسیت در ماهیان و جایگاه موضوع تحقیق (کادرهای آبی رنگ) درآن (اقتباس از طلا، ۱۳۸۰)

متداول در مزارع استفاده می‌شوند و بعضی هنوز در جایگاه تحقیق قرار دارند. شکل ۱، روشهای کنترل جنسیت در ماهیان و جایگاه موضوع تحقیق در آن را نشان می‌دهد.

۱-۱-۱- تغییر جنسیت در ماهیان از طریق تجویز هورمونهای استرویدی جنسی

تغییر جنسیت یکی از متداولترین روشهای کنترل جنسیت در ماهیان می‌باشد که معمولا با هدف نرسازی یا ماده‌سازی انجام می‌شود.

۱-۱-۱-۱- نرسازی یا تغییر جنسیت به نر

در صورتی که نوزادان از زمان شروع تمایز جنسی تحت تجویز اندروژنها قرار گیرند، بیضه‌ها در آنها رشد نموده و هنگام بلوغ، خصوصیات جنسی نر را نشان می‌دهند (Shepherd and Bromage, 1992). نرسازی از طریق تجویز هورمون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که دارای جنس مادهٔ هوموگامتیک (XX) می‌باشد، باعث تغییر جنسیت فنوتیپی ماهیان مادهٔ هوموگامتیک به ماهیان نر هوموگامتیک (XX) می‌گردد. این ماهیان نر هوموگامتیک در هنگام بلوغ، اسپرمی با ژنوتیپ X تولید خواهند نمود و اگر تغییر جنسیت موفقیت‌آمیز باشد، تمام ماهیان ماده به نرهای تغییر جنسیت یافته و دارای اسپرمهای با کروموزوم X تبدیل می‌شوند. ماهیان نر تغییر جنسیت یافتهٔ قزل آلای رنگین کمان، دارای مجاری اسپرم‌بر مسدود یا ناقص بوده و قادر به اسپرم‌ریزی نمی‌باشند، لذا برای اسپرم‌گیری از آنها، لازم است ماهیان را کشته، بیضهٔ آنها را خارج کرده و سپس اسپرم آنها را بدست آورد. مشخصهٔ ماهیان نر تغییر جنسیت یافته، غیر طبیعی بودن مورفولوژی بیضه و حالت غده‌ای[1] آن است (Garcia-abiado and Dabrowski, 1998 ; Hunter and Donaldson, 1983).

۲-۱-۱-۱- ماده سازی یا تغییر جنسیت به ماده

تجویز استروژنها (۱۷ بتا- استرادیول) به نوزادان از زمان شروع تمایز جنسی، سبب رشد تخمدان و ظهور خصوصیات جنس ماده می‌گردد (Shepherd and Bromage, 1992). به طور کلی ماده‌سازی مشکلتر از نرسازی و درصد ماده‌سازی کم و معمولا با مرگ و میر همراه می‌باشد (Bye and Lincoln, 1986).

۳-۱-۱-۱- روشهای تجویز هورمون برای ایجاد تغییر جنسیت در ماهیان

روشهایی که برای تجویز هورمون به ماهیان وجود دارد عبارت از روش تجویز خوراکی هورمون همراه با غذا، غوطه‌وری در حمام هورمون، کاشت کپسولهای حاوی استرویید، استفاده از غذای زندهٔ غنی از هورمون، تزریق داخل صفاقی و تزریق به تخمها می‌باشند. استفاده از دو روش اول متداول است، اما دو روش اخیر فقط برای مقاصد آزمایشی استفاده می‌شوند. سایر روشها نیز به طور محدود مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hunter and Donaldson, 1983). تجویز خوراکی هورمون، قابل قبولترین روش برای تجویز استرویدهای جنسی معرفی شده است(Pandian and Sheela, 1995). این روش در ماهیانی مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان که به جیرهٔ غذایی دستی

1- Nodular

عـادت دارنـد و تمـایز جنـسی درآنهـا بـه هنگـام شـروع تغذیـه فعـال انجـام مـی‌شود،بـسیار مناسـب اسـت (Yamazaki, 1983).

۲-۱- تولید جمعیتهای تک‌جنسی در ماهیان

به دلیل آن که بین جنس نـر و مـادهٔ هـر یـک از گونـه‌هـای پرورشـی، تفاوتهـایی از نظـر میـزان رشـد، زمان پرورش، رنگ بدن، شـکل و انـدازه، وجـود دارد، لـذا جنـسیت مـاهی، اهمیـت زیـادی در پـرورش مـاهی دارد، به طوری که ممکن است پرورش دهندگان بخواهند، ماهیان نر و ماده را به طور جداگانه پـرورش دهنـد و بسته به ویژگیهای اقتصادی و بیولوژیک، به یک پـرورش تـک‌جنـسی دسـت یابنـد (Yamazaki, 1983 ; Bye and Lincoln, 1986). روش تغییر جنسیت در ماهیان از طریق تجویز هورمون، اگرچـه ایـن مزیـت را دارد کـه ماهیـان تغییر جنسیت یافتهٔ بالغ مورد نظر، در همان نسل تحت تیمار تولید می‌شوند. اما عیب اصلی این روش، نیاز مـزارع به استفاده از مقادیر زیاد هورمون جهت تجویز به تمـام ماهیـان و نیـز تغییرپـذیری میـزان موفقیـت تیمـار اسـت و اشکال دیگر، مربوط به بازاریابی ماهیانی است که تحت تجویز استرویید قرار داشته‌اند. هرچنـد مقـادیر هورمـون مورد استفاده برای ایجاد تغییر جنسیت بویژه در آزاد ماهیان، خیلـی کـم اسـت و سـطوح هورمـون تجـویز شـده، مـدتها قبـل از برداشـت محـصول، بـه مقـادیر غیـر قابـل انـدازه‌گیـری کـاهش مـی‌یابـد، امـا ملاحظـات بـازار یـا محدودیتهای قانونگذاری، استفاده از روشهای غیر مستقیم را ایجاب می‌نماید (Hunter and Donaldson, 1983; Bye and Lincoln, 1986). تولید جمعیت تک جنسی در ماهیان به سـه روش، شـامل تولیـد نتـاج تـک‌جنـسی از طریـق آمیزش ماهیان تغییر جنسیت یافتهٔ بالغ با مولدین تیمار نشده، نرزایی و ماده‌زایی انجام می‌گردد.

۱-۲-۱- تولید نتاج تک‌جنسی از طریق آمیزش ماهیان تغییر جنسیت یافتهٔ بالغ با مولدین طبیعی

مفیدترین روش برای کنترل جنسیت در ماهیان پرورشی که دستگاه تعیین جنسیت در آنهاXY می‌باشـد، تولید نتاج تک‌جنسی از طریق آمیزش ماهیان تغییر جنسیت یافتهٔ بالغ با مولدین مادهٔ طبیعی مـی‌باشـد (Yamazaki, 1983). اولین مرحله در این روش، تغییر جنسیت یک جمعیت مخلوط از ماهیان نر و ماده به نـر اسـت، زیـرا هـیچ راهی برای تشخیص جنسیت نوزادان در مرحلهٔ تغذیه فعال وجود ندارد. در مرحلهٔ دوم، لقاح اسپرم مولدین تغییـر جنسیت یافتهٔ نر با تخمک مولدین مادهٔ تیمار نشده، منجر به تولید جمعیت تک‌جنسی ماده در نسل دوم می‌گردد. بعد از تولید اولین جمعیت تماما ماده، این روند آسانتر می‌شود، زیرا همهٔ نوزادان در مرحلهٔ تغذیه فعال، ماده بوده

و در نتیجه پس از تجویز اندروژن هنگامی که به سن بلوغ می‌رسند، همگی ماهیان نری هستند که زاده‌های حاصل از آمیزش آنها با ماده‌های تیمار نشده، به طور قطع تمامـــا ماده خواهد شـــد (Shepherd and Bromage, 1992). اشکال این روش آن است که چنانچه ماهیان ماده، هوموگامتیک و ماهیان نر، هتروگامتیک باشند، نمی‌توان با تجویز استروژنها و انجام ماده‌سازی، نهایتا نتاج تمام نر تولید نمود (Baker and Solar., 1988).

۲-۲-۱- ماده‌زایی

اعمال این روش در مورد ماهیانی که مادهٔ هوموگامتیک دارند، این امکان را فراهم می‌کند که زاده‌ها تمام مواد ژنتیکی را از والد ماده دریافت نموده و از والد پدری، هیچ خصوصیتی را به ارث نبرند (Purdom,1993). برای ماده‌زایی، ابتدا DNA اسپرم، در معرض تابش پرتوی فرابنفش یا گاما تخریب می‌گردد. این اسپرم غیرفعال از نظر ژنتیکی، تحرک و قابلیت بارورسازی خود را حفظ می‌کند و لذا برای فعال نمودن تخمکهای معمولی استفاده می‌شود. بدیهی است اسپرم مذکور، در ساختار ژنتیکی تخم فعال شده شرکت نمی‌نماید، بنابراین جنینهای هاپلویید تولید خواهد شد که اغلب زنده نمی‌ماند. اما اعمال شوکهای گرمایی، سرمایی یا شیمیایی به تخمها در مرحلهٔ متافاز میوز II یا متافاز میتوز جنینی، به ترتیب مانع از خروج دومین گویچهٔ قطبی یا سرکوب اولین تقسیم جنینی می‌شود و در نتیجه، تعداد طبیعی کروموزومها برای ایجاد جنین دیپلویید حفظ می‌گردد. به این ترتیب ساختار ژنتیکی این جنینها فقط از ماهی ماده دریافت می‌شود و لذا تمام زاده‌ها الگوی کروموزومی XX داشته و همگی ماده خواهند بود (Garcia-abiado and Dabrowski, 1998; Baker and Solar, 1988).

۲-۲-۱- نرزایی

اگر تخمکی که ژنوم آن توسط پرتوافشانی تخریب شده، توسط اسپرم معمولی فعال شود، جنینهای هاپلویید نرزاد با وراثت کاملا پدری ایجاد خواهد شد. اعمال شوک در مرحلهٔ متافاز میتوز جنینی، مانع از اولین تقسیم جنینی شده و درنتیجه، ۵۰ درصد جنینهای دیپلویید با الگوی کروموزومی YY حاصل می‌گردد که ابرنر[1] نامیده می‌شوند. علت نامگذاری ابرنر آن است که آمیزش ماهیان نر YY با ماهیان مادهٔ XX موجب تولید نتاج تماما نر خواهد شد (Yamazaki, 1983).

1- Supermale

۳-۱- دورگه‌گیری

آمیزش گونه‌ها و گاهی جنسهای مختلف با یکدیگر، دورگه‌گیری نامیده می‌شود. این روش ممکن است منجر به تولید زاده‌هایی گردد که از نظر میزان رشد و مقاومت نسبت به عوامل بیماریزا، بهتر از والدین خود باشند (Shepherd and Bromage, 1992). در پرورش ماهیان تیلاپیا به دلیل آن که پرورش هیچ یک از سه گونهٔ مهم پرورشی شامل *Oreochromis niloticus* ، *O. aureus* و *O. mossambicus* در حالت خالص، قابل رقابت با دورگه های آنها (در صورتی که آمیزش والدین به درستی انجام شده باشد) نمی باشد، لذا تولید دورگهٔ تماما نر این گونه ها مورد توجه قرار دارد(Chen, 1990). در پرورش تجاری تیلاپیا، اغلب دورگهٔ حاصل از آمیزش مادهٔ *O. mossambicus* و نر *O. niloticus* یا مادهٔ *O. aureus* و نر *O. niloticus* مورد استفاده قرار می گیرد. دورگهٔ حاصل از آمیزش مادهٔ *O. aureus* و نر *O. niloticus* تقریبا همگی نر می باشد (Pillay, 1985).

٤-۱- عقیم‌سازی در ماهیان

تولید ماهیان عقیم در مقایسه با تولید جمعیتهای تک‌جنسی، رواج کمتری دارد. اگرچه تولید جمعیتهای تک‌جنسی از بروز مشکلات ناشی از بلوغ تا اندازهٔ زیادی می‌کاهد، لیکن اگر جمعیتهای همگی ماده یا همگی نر، قبل از بلوغ وارد بازار نشوند، کاهش تولید ناشی از بلوغ همچنان ادامه خواهد داشت. حال آن که تولید ماهیان عقیم، مشکل بلوغ جنسی را به طور کامل برطرف نموده و امکان تولید ماهی بازاری در اندازهٔ بزرگ و با کیفیت بالای گوشت را طی سال میسر می‌نماید. عقیم‌سازی در ماهیان به چهار روش به شرح ذیل انجام می‌شود (Hunter and Donaldson, 1983; Bye and Lincoln, 1986).

۱-٤-۱- عقیم‌سازی از طریق تجویز هورمون

مؤثرترین روش برای عقیم‌سازی در ماهیان، تجویز استرویید‌های جنسی در مرحلهٔ تمایز جنسی با مقادیر بیشتر و دوره‌های طولانی‌تر از آن مقادیر و دورهٔ زمانی است که برای نرسازی لازم است. اشکال این روش، طولانی بودن دورهٔ تجویز هورمون و نیز تجویز هورمون به ماهیانی است که سرانجام برای مصارف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hunter and Donaldson, 1983).

۲-٤-۱- القای تریپلوییدی

در این روش، تخمها را مدت کوتاهی بعد از لقاح، در معرض شوک گرمایی، سرمایی،

فشار یا شوک شیمیایی قرار می‌دهند تا به این ترتیب از خروج دومین گویچهٔ قطبی ممانعت گردد و ضمن حضور کروموزوم اسپرم، سلول تخمی ایجاد گردد که دارای سه دسته کروموزوم است و در اصطلاح تریپلویید نامیده می‌شود. ژنوتیپ ماهیان ماده و نر تریپلویید، به ترتیب XXX و XXY می‌باشد (Yamazaki, 1983).

۳-٤-۱- پرتوافشانی

پرتوافشانی دقیق گاما می‌تواند ماهیان را عقیم نماید (Shepherd and Bromage, 1992).

٤-٤-۱- جراحی

این روش، شامل جراحی و برداشتن غدد جنسی است و انجام آن مقرون به صرفه نمی‌باشد.

۵-۱- تاثیر تجویز هورمونهای استروییدی در بهداشت عمومی

استفاده از هورمونهای استروییدی جنسی در پرورش ماهی، ممکن است این نگرانی را به همراه داشته باشد که بقایای هورمون تجویز شده به ماهیان، به مصرف کنندگان منتقل شود.Johnstone و همکاران (۱۹۸۳)، گزارش کردند که بیش از ۹۹ درصد هورمونی که از طریق غذا به ماهیان تیلاپیا *Oreochromis mossambicus* و قزل آلای رنگین کمان تجویز شده بود، در مدت کمتر از ۲۴ ساعت، از بدن آنها دفع گردید (نوشته شده در : Pandian and Sheela, 1995). بنا به گزارش Shepherd و Bromage (۱۹۹۲)، مقادیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون که رایجترین هورمون مورد استفاده برای تغییر جنسیت در ماهیان می‌باشد، فقط ۵ روز پس از پایان دورهٔ تجویز خوراکی هورمون، به حدی کاهش می‌یابد که مقدار آن قابل اندازه‌گیری نمی‌باشد. به علاوه مقادیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون تجویز شده، کم و نیمه عمرش نیز کوتاه و۳-۲/۵ ساعت گزارش شده است (رهنما، نوشته شده در فرحمند، ۱۳۷۲). مقایسهٔ مقادیر ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون موجود در داروهای انسانی به میزان ۵۰-۱۰ میلی‌گرم در روز (British Pharmacopeia, 1980 ; in : Johnstone *et al.*, 1983) با مقادیر مصرفی جهت تغییر جنسیت ماهیان، نشان دهندهٔ آن است که حتی مصرف مستقیم ماهیان بالغی که در دورهٔ جوانی و جنینی تحت تجویز این هورمون قرار داشته‌اند بی‌خطر باشد، اگرچه در تولید ماهیان تک جنسی ماده با روش آمیزش مولدین نر تغییر جنسیت یافته و مولدین مادهٔ تیمار نشده که در این طرح مورد استفاده واقع شد، ماهیان نسل دوم روانهٔ بازار مصرف شدند که هیچ تیمار هورمونی دریافت ننموده بودند. البته به طور کلی اصلح آن است که تجویز مواد به حیواناتی که به مصرف انسان می‌رسند، با نظارت قانون انجام شود. در انگلیس

افزودن هورمون به غذا، تحت قانون داروها[1] می‌باشد.

٦-١- تاریخچهٔ ایجاد تغییر جنسیت، عقیمی و تولید جمعیتهای تک‌جنسی ماده در جهان و ایران

Padao (۱۹۳۷) شاید نخستین کسی باشد که هورمونهای ساختگی را جهت ایجاد تغییر جنسیت در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد استفاده قرار داده است (Pandian and Sheela, 1995). اولین اطلاعات در مورد نرسازی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط Jalabert و همکاران (۱۹۷۵) تهیه گردید (Cousin-Gerber *et al.*, 1989). Devlin و همکاران (۱۹۹۴) از DNA Y Prob برای تشخیص جنسیت ژنتیکی ماهیان نر تغییر جنسیت یافته استفاده نمودند (Pandian and Sheela, 1995).

مطالعهٔ استفاده از هورمونها برای تغییر جنسیت در ماهیان در ایران، از دههٔ ۱۳۷۰ آغاز گردید (امینی، ۱۳۷۰) و در سال ۱۳۷۲ برای اولین بار، تغییر جنسیت به نر در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* انجام و حداکثر ۶۶/۶۴ درصد ماهی نر تولید گردید (فرحمند، ۱۳۷۲; آذری و همکاران، ۱۳۷۵). حسینی (۱۳۷۳)، نرسازی و ماده‌سازی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را به ترتیب با تجویز هورمونهای ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول انجام داد و حداکثر ۵۷ درصد نر و ۶۵/۲ درصد ماده تولید نمود. علیشاهی (۱۳۷۸) نیز نرسازی در ماهی کپور معمولی در سطح تجاری را به انجام رسانید. در هیچ یک از مطالعات فوق، ماهیان تحت تیمار تا مرحلهٔ بلوغ پرورش داده نشدند و در نتیجه، غدد جنسی ماهیان از نظر مورفولوژی مورد بررسی قرار نگرفت.

Yamamoto (۱۹۵۸) ایجاد عقیمی در ماهی مداکا را گزارش نموده است (Pandian and Sheela,1995). در این بررسی، تولید ماهیان عقیم برای اولین بار در کشور انجام گردید. Johnston و همکاران (۱۹۸۳) برای اولین بار موفق به تولید جمعیت تک جنسی مادهٔ قزل آلای رنگین‌کمان با استفاده از مولدین نر تغییر جنسیت یافته گردیدند. تولید ذخایر تک جنسی ماده از طریق روش دو مرحله‌ای مورد استفاده در این طرح، توسط محققین متعددی (Hunter and Donaldson, 1983 ; Geffen and Evans, 2000 ; Yamazaki, 1983) انجام شده است.

در این پژوهش، در نظر است با هدف افزایش ظرفیت تولید ماهی قزل آلای رنگین کمان در کشور، از طریق جایگزین نمودن پرورش جمعیتهای تک جنسی ماده به جای جمعیتهای مخلوط نر و ماده در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان، برای اولین بار به تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته و سرانجام تولید جمعیت تک جنسی مادهٔ قزل آلای رنگین کمان مبادرت گردد.

1- Medicines Act

۲- مواد و روشها

مراحل میدانی طرح بررسی امکان تولید ماهیان تک‌جنسی ماده و عقیم در ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* در مرکز تکثیر آزادماهیان شهید باهنر کلاردشت و در سه فصل کاری (زمستان ۱۳۷۸، بهار ۱۳۷۹ و بهار ۱۳۸۱) و مراحل آزمایشگاهی آن، در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گردید.

تخمهای چشم‌زده و لاروهای مورد نیاز برای انجام این پژوهش، از ماهیان مولد نر و مادهٔ قزل آلای رنگین کمان موجود در مرکز تامین گردید. هورمون ۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون به صورت پودر خالص از شرکت داروسازی ابوریحان تهیه شد. غذای مورد نیاز برای تغذیهٔ لاروها تا هنگام بلوغ، از نوع کنسانتره و در اندازه‌های SFT، FFT و GFT، از کارخانهٔ چینه تهیه گردید.

در این طرح به منظور تولید ماهیان تک‌جنسی ماده، از روش آمیزش ماهیان مولد نر تغییر جنسیت یافته با ماهیان مولد معمولی استفاده شد و در نتیجه جمعیت تک جنسی مادهٔ قزل آلای رنگین‌کمان در نسل دوم تولید گردید (Bye and Lincoln, 1986). به منظور تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته، از روش تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون (Cousin-Gerber *et al.*, 1989) و نیز غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون(Feist *et al.*, 1995) استفاده گردید. برای ایجاد عقیمی در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان نیز روش تجویز خوراکی هورمون مذکور مورد استفاده قرار گرفت (Bye and Lincoln, 1986). به این ترتیب که به منظور تغییر جنسیت یک جمعیت مخلوط نر و ماده از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته، ۱۳ تیمار شامل دو تیمار غوطه‌وری در حمام هورمون (A_1 , A_2)، یک تیمار غوطه‌وری به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون (A_3) در فصل اول و ۱۰ تیمار تجویز خوراکی هورمون (A_4 تا A_{13}) در فصل دوم منظور گردید. برای ایجاد عقیمی نیز یک تیمار تجویز خوراکی هورمون لحاظ شد که در دو فصل زمستان ۷۸ و بهار ۷۹ تکرار گردید (A_{14} و A''_{14}). یک گروه نیز به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد که تغذیه لاروها در این گروه، با غذای فاقد هورمون و از زمان شروع تغذیه فعال انجام گردید (جدول ۱). لقاح تخمهای طبیعی با اسپرم ماهیان نر تغییر جنسیت یافته و تولید جمعیت تک جنسی ماده در بهار ۸۱ به انجام رسید.

این طرح در شرایط دمایی سالن تکثیر مرکز تکثیر شهید باهنر کلاردشت انجام گردید. منبع تامین آب این سالن چشمه می‌باشد که متوسط دمای آن معمولا بین ۸ تا ۹ درجه سانتیگراد است.

در این طرح، با توجه به نوع بررسی، هر ۵۰۰ ماهی مربوط به هر تیمار، بـه عنـوان تکـرار در نظـر گرفتـه شده‌اند (هر یک از ماهیها در هر تیمار به عنوان تکرار آن تیمار منظور شده است).

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، در دو تیمار A_1 و A_2 ، از روش غوطـه‌وری تخمهـای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده به ترتیب در دو و سه نوبت با فاصله زمانی ۸ روز و ۴ روز و هـر نوبـت بـه مدت دو ساعت در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر استفاده گردیـد. در تیمـار A_3، ابتـدا تخمهـای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده دو نوبت با فاصلهٔ ۸ روز در حمام هورمـون بـه مقـدار ۲۵۰ میکروگـرم در لیتر غوطه‌ور شده و سپس از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز تحـت تجـویز خـوراکی هورمـون بـه مقـدار ۳ppm قرار گرفتند. برای انجام ۱۰ تیمار تجویز خـوراکی هورمـون جهـت تغییـر جنـسیت ماهیـان بـه نـر، تجـویز هورمون با مقادیر ۰/۵ ppm ، ۱ ppm، ۲ ppm و۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال، دو هفته بعد از شروع تغذیه فعـال 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 به مدت ۱۲۰ روز انجام گردیـد (A_{14} و A''_{14}) (Shepherd and Bromage,1992).

بـه ایـن ترتیـب تیمارهـا بـر مبنـای سـه متغیـر مقـدار هورمـون، زمـان شـروع تجـویز هورمـون و طول دورهٔ تجویز هورمون درنظر گرفته شدند.

گروه شاهـــد با غذایی که فقط اسپری الکل بر روی آن صورت گرفته بود، تغذیه گردید (جدول شماره ۱).

در این بررسی، برای تهیهٔ غذای حاوی هورمون از روش تبخیر الکل[1] استفاده شد(Shepherd and Bromage,1992). برای این منظور، مقدار هورمون مورد نیاز با ترازوی آنالیتیکال (دقت : یک ده هزارم گرم) توزین شده و در ۳۰۰ سی سی الکل اتیلیک حـل گردیـد. سـپس محلـول الکـل و هورمـون توسـط اسـپری دسـتی بـه دقـت بـر روی ۲ کیلوگرم غذای کنسانتره اسپری شد (شکل ۲). این غذا به مدت ۳ ساعت در دمای آزمایشگاه خشک گردیـده و سپس به مدت ۱ ساعت در فور با دمای ۵۰ درجه سانتی گـراد قـرار گرفـت. پـس از تبخیـر الکـل، غـذای حـاوی هورمون در ظروف درب‌دار ریخته شده و پـس از بـرچسـب گـذاری تـا زمان مصرف در یخچال نگهداری

1- Alcohl evaporation method

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

ردیف	شماره تیمار	نوع تیمار	مقدار تجویز هورمون
۱	A_1 (فصل اول)	دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت	۲۵۰ میکروگرم در لیتر
۲	A_2 (فصل اول)	دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۴ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت	۲۵۰ میکروگرم در لیتر
۳	A_3 (فصل اول)	دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت + تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز	۲۵۰ میکروگرم در لیتر + ۳ ppm
۴	A_4 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۰/۵ ppm
۵	A_5 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۱ ppm
۶	A_6 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز	۱ ppm
۷	A_7 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۱ ppm
۸	A_8 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۱ ppm
۹	A_9 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۲ ppm
۱۰	A_{10} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۳ ppm
۱۱	A_{11} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز	۳ ppm
۱۲	A_{12} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۳ ppm
۱۳	A_{13} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۳ ppm
۱۴	A_{14} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰روز	۳۰ ppm
۱۵	A''_{14} (فصل اول)	تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰روز	۳۰ ppm
۱۶	شاهد	ــــــ	ــــ

می‌گردید. مقدار غذای روزانه و نیز دفعات غذادهی ماهیان مورد آزمایش، بر اساس دمای آب، تعداد ماهی در کیلوگرم زیتوده و میانگین وزن انفرادی ماهیان و با استفاده از جدول « مقدار غذای خشک لازم برای تغذیهٔ روزانهٔ ماهی قزل آلا نسبت به درصد وزن بدن برای ماهیها با اندازه های مختلف در درجه حرارتهای مختلف » محاسبه می‌شد (لیت ریتز؛ ترجمه عمادی، ۱۳۷۴).

شکل ۲- روش اسپری نمودن محلول الکل و هورمون بر روی غذای کنسانتره

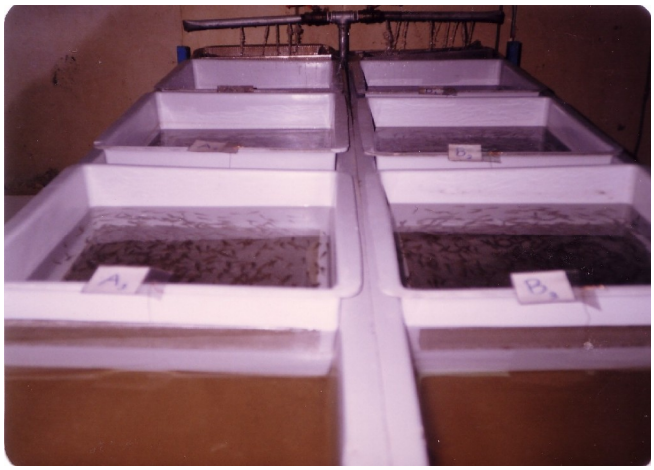
برای انجام تیمارهای غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه زرده درحمام هورمون ۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر، یک حوضچهٔ فایبرگلاس به حجم ۲ مترمکعب، به میزان ۰/۵ متر مکعب آبگیری گردید و مقدار ۱۲۵ میلی‌گرم هورمون برای ۰/۵ متر مکعب آب در نظر گرفته شد. برای توزین هورمون، از ترازوی آنالیتیکال (دقت: یک ده هزارم گرم) استفاده گردید. مقدار هورمون توزین شده در ۱۲۵ سی‌سی الکل ۹۶ درجه حل شده، سپس محلول الکل و هورمون با آب موجود در حوضچه، به خوبی مخلوط گردید. برای اطمینان از پخش شدن یکنواخت هورمون در آب، مقداری مالاشیت گرین نیز به عنوان شاخص رنگی به ظرف محتوی آب و الکل افزوده شد. آنگاه سه سبد حاوی تخمهای چشم‌زده یا لاروهای دارای کیسه‌زرده‌مربوط‌به سه تیمار A_1, A_2, A_3، به مدت دو ساعت درون حمام هورمون شناور گردیدند.

در بررسی حاضر، برای انجام تیمارهای تجویز خوراکی هورمون، هنگامی که لاروها در مرحلهٔ شنای آزاد قرار داشتند، برای هر تیمار و نیز برای گروه شاهد ۵۰۰ عدد لارو منظور گردید. برای انجام تیمارهای

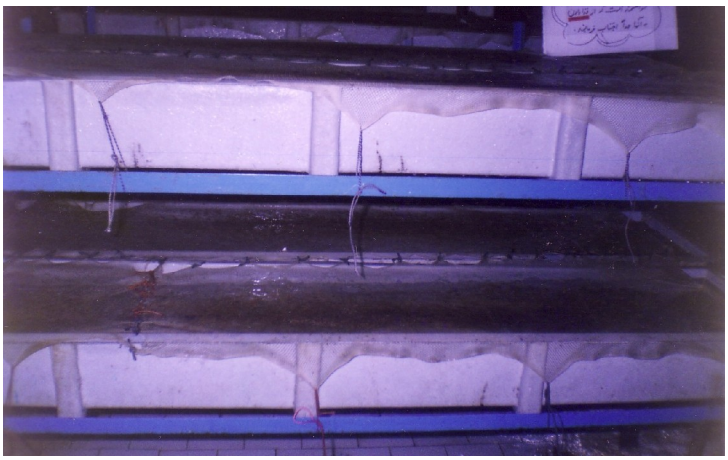
غوطه‌وری نیز ۸۰۰ عدد تخم چشم زده برای هر تیمار لحاظ گردید. تخمهای چشم‌زده و لاروهای مربوط به هر تیمار به طور جداگانه درون سبدهای فایبرگلاسقرار داده شدند. لاروها تا رسیدن به وزن ۱/۲ گرم درون سبدها نگهداری شده و سپس به ترافهای مجزا انتقال یافتند (شکل ۳ و۴). بچه ماهیها پس از رسیدن به وزن ۱۲ گرم به حوضچه 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. زیست سنجی ماهیان به صورت ماهانه انجام می‌گردید و طول کل (دقت : نیم سانتیمتر) و وزن (دقت : دهم گرم) هر ماهی ثبت می‌شد.

پس از پایان دورهٔ تجویز هورمون، ماهیان مربوط به هر تیمار تا زمانی که غدد جنسی آنها رشد یافته و به اندازهٔ مناسب برای بررسی بافت شناسی برسد، با غذای فاقد هورمون تغذیه شدند. به منظور بررسی تاثیرات هورمون در غدد جنسی ماهیان تحت تیمار، شامل تغییر نسبتهای جنسی ماهیان مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد، بروز تغییرات مورفولوژی در غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر و نیز ایجاد تغییرات بافت‌شناسی در غدد جنسی ماهیان، تعداد ۲۰ ماهی از چهار تیمار A_1 , A_2 , A_3 و A''_{14} در سن ۲۴ ماهگی و ۲۰ ماهی نیز از ۱۱ تیمار دیگر(A_4 تا A_{14}) و نیز گروه شاهد در سن۱۱ ماهگی به طور تصادفی صید گردید. بررسی تاثیر هورمون در مورفولوژی غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر، فقط در مورد ماهیان تیمارهای فصل اول انجام گردید، زیرا این ماهیان به بلوغ جنسی رسیده بودند. ماهیان پس از صید، ابتدا توسط داروی بیهوشی (MS_{222}) به مقدار ۱ گرم در ۱۰ لیتر بیهوش شده،سپس طول کل و وزن هر ماهی اندازه‌گیری و ثبت گردید. برای بررسی تاثیر هورمون در مجاری اسپرم‌بر ماهیان تیمارهای فصل اول که دارای بیضه‌های رسیده بوده و توانایی تولید اسپرم را داشتند(ماهیان نر کاری[1])، ابتدا احتمال خروج طبیعی اسپرم از مجرای تناسلی این ماهیان، بر اثر وارد آوردن فشار به ناحیهٔ شکمی آنها مورد بررسی قرار گرفته و پس از تعیین تعداد ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز، برای بررسی تاثیر هورمون در مورفولوژی غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر و تولید ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر مسدود که تشخیص آنها از روی ویژگیهای ظاهری ماهیان میسر نبود، شکم هر یک از ماهیان برش داده شده و مورفولوژی غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر بررسی گردید. برای بررسی تاثیر هورمون در ایجاد تغییرات بافت‌شناسی در غدد جنسی و نیز تعیین نسبتهای جنسی ماهیان، غدد جنسی ماهیان نمونه مربوط

1- Functional male



شکل ۳- نگهداری و تغذیهٔ لاروهای تحت تیمار، درون سبدهای انکوباتور



شکل ٤- نگهداری و تغذیهٔ بچه ماهیان تحت تیمار، درون ترافها، به منظور اجتناب از پریدن بچه ماهیها به خارج از ترافها، روی هر تراف توسط تور پوشانده شده است.

به تمام تیمارها و نیز گروه شاهد، از بدن آنها خارج گردیده و به طور جداگانه در ظروف شیشه‌ای درب‌دار حاوی فرمالین مرک (Merk) ۱۰ درصد قرار گرفت و پس از برچسب‌گذاری به آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی ارسال گردید. شکل ۵، دستگاه میکروتوم و نحوهٔ برش بافت غدد جنسی را نشان می‌دهد.

پس از تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته، به منظور تولید جمعیت تک جنسی قزل آلای رنگین‌کمان، ابتدا با توجه به ویژگیهای ظاهری ماهیان مولد بالغی که تحت تجویز هورمون قرار گرفته بودند، ماهیانی که جنسیت آنها نر تشخیص داده می‌شد و در عین حال تحت فشار ناحیهٔ شکمی، اسپرم آنها خارج نمی‌گردید، انتخاب شده و پس از بیهوشی، شکم آنها به دقت توسط اسکالپل برش داده می‌شد. سپس بیضه‌های آنها که حالت غده‌ای داشتند از بدن ماهی خارج شده و درون ظرف خشکی قرار می‌گرفت. آنگاه به منظور خارج

نمودن اسپرم از بیضهٔ کروی شکل، ابتدا رگهای خونی توسط اسکالپل از بیضه جدا شده، سپس بیضهٔ مذکور به قطعات متعددی برش داده می‌شد و جهت خروج هر چه بیشتر اسپرم، قطعات برش داده شده، توسط دست قدری فشرده می‌شدند. آنگاه بافتهای اضافی، جدا شده و اسپرم استحصالی به تخمکهای مولد ماده‌ای که تخم‌گیری شده بود، اضافه شده و لقاح انجام می‌گردید. به منظور افزایش میزان بازده، اسپرم استحصال شده از هر سه مولد نر تغییر جنسیت یافته با تخمکهای یک مولد ماده آمیزش داده می‌شد. هر سه مولد نر از یک تیمار انتخاب می‌گردید و تخمهای لقاح یافته با اسپرم مولدین هر تیمار درون یک سبد انکوباتور ریخته شده و سبد مذکور با نام همان تیمار، لیکن با حرف کوچک برچسب‌گذاری می‌شد. از آنجائیکه فقط ماهیان سه تیمار نرسازی فصل اول به سن بلوغ رسیده بودند، لذا مولدین نر تغییر جنسیت یافته، از سه تیمار مذکور انتخاب گردیدند. یک سبد نیز جهت گروه شاهد منظور گردید و در آن تخمهایی ریخته شد که با اسپرم ماهیان مولد نر معمولی لقاح یافته بودند.

برای مقایسهٔ نسبت جنسی در نمونه های تیمارهای مختلف با گروه شاهد، آزمون مربع کای مورد استفاده قرار گرفت. روش آماری فوق با استفاده از نرم افزار SPSS 10 انجام گردید.

شکل ۵- نحوهٔ برش بافت غدد جنسی توسط دستگاه میکروتوم

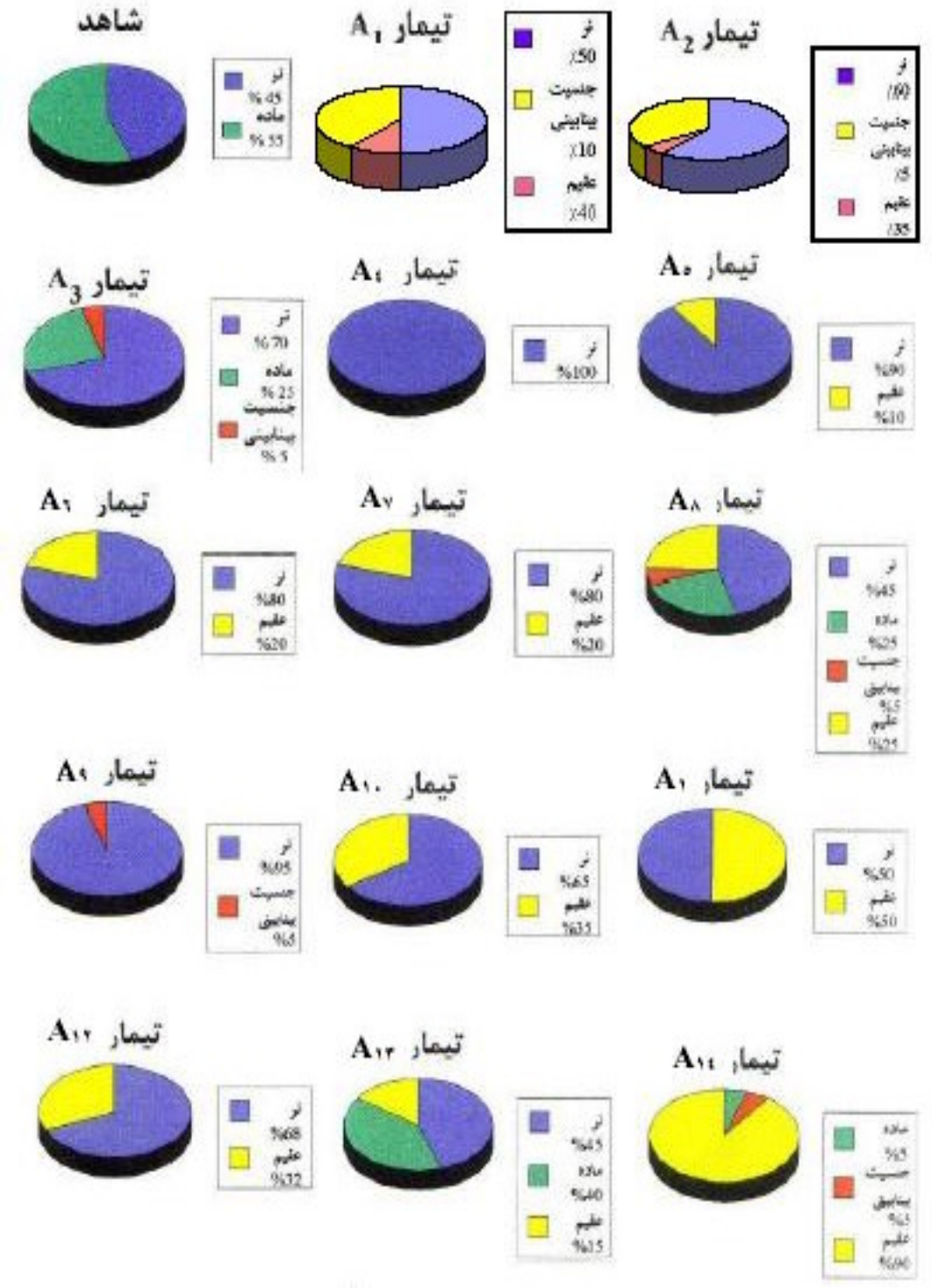
۳- نتایج

جدول شماره ۲ و شکل ۶، نسبتهای جنسی در تیمارهای مورد آزمایش و گروه شاهد را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون سبب ایجاد درجات مختلفی از نرسازی در تیمارهای مختلف گردیده است. همچنین درصدهای متفاوتی از نسبتهای جنسی مختلف شامل نر، ماده، جنسیت بینابینی و عقیمی ملاحظه می گردد.

بیشترین میزان تولید ماهی نر (۱۰۰ درصد) در تیمار تجویز خوراکی هورمون به مقدار ۰/۵ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (A_4) حاصل گردید. سپس دو تیمار تجویز خوراکی ۱ ppm و ۲ ppm هورمون از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (A_5 و A_9) به ترتیب منجر به تولید ۹۰ درصد و ۹۵ درصد ماهی نر گردید. در هر یک از دو تیمار 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 (A_6 و A_7) نیز ۸۰ درصد ماهیها نر بودند. تیمار دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز (A_3) شامل ۷۰ درصد ماهی نر بود. در دو تیمار ۳ ppm از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز و ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (A_{12} و A_{10}) نیز به ترتیب ۶۸، ۶۵ درصد ماهی نر مشاهده شد. همچنین تیمار دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۴ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت (A_2) شامل ۶۰ درصد ماهی نر بود. هر یک از دوتیمار دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت و تیمار ۳ ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز (A_1 و A_{11}) شامل ۵۰ درصد ماهی نر بودند و کمترین میزان تولید ماهی نر (۴۵ درصد)، در دو تیمار ۱ ppm و ۳ ppm از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (A_8 و A_{13}) مشاهده گردید. گروه شاهد نیز شامل ۴۵ درصد ماهی نر بود. آزمون مربع کای نشان داد که بجز سه تیمار A_3 (تیمار دو نوبت غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت دو ساعت به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون به لاروها از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز)، A_8 و A_{13} (به ترتیب دو تیمار ۱ ppm و ۳ ppm از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز)،

جدول ۲- نسبتهای جنسی در ماهیان مورد آزمایش

ردیف	شماره تیمار	نوع تیمار	تعداد ماهیان (n)	نر		ماده		جنسیت بینابینی		عقیم	
				تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱	A_1 (فصل اول)	دو نوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصلهٔ ۸ روز	۲۰	۱۰	۵۰	۰	۰	۲	۱۰	۸	۴۰
۲	A_2 (فصل اول)	سه نوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده ولاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصلهٔ ۴ روز	۲۰	۱۲	۶۰	۰	۰	۱	۵	۷	۳۵
۳	A_3 (فصل اول)	دونوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده و لاروهای‌دارای کیسه‌زرده درحمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصلهٔ ۸ روز + تجویز خوراکی ۹۰ روزهٔ هورمون‌به‌مقدار ppm ۳ اززمان‌شروع تغذیه فعال	۲۰	۱۴	۷۰	۵	۲۵	۱	۵	۰	۰
۴	A_4 (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۵/. از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۱۹	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	A_5 (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۱ از زمان شروع تغذیه فعال	۱۹	۱۸	۹۰	۰	۰	۰	۰	۲	۱۰
۶	A_6 (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۹۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۱ از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۱۶	۸۰	۰	۰	۰	۰	۴	۲۰
۷	A_7 (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۱ از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال	۲۰	۱۶	۸۰	۰	۰	۰	۰	۴	۲۰
۸	A_8 (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۱ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال	۲۰	۹	۴۵	۵	۲۵	۱	۳	۵	۲۵
۹	A_9 (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۲ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۲۰	۱۹	۹۵	۰	۰	۱	۵	۰	۰
۱۰	A_{10} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز	۲۰	۱۳	۶۵	۰	۰	۰	۰	۷	۳۵
۱۱	A_{11} (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۹۰ روزهٔ هورمون ببه مقدار ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۱۰	۵۰	۰	۰	۰	۰	۱۰	۵۰
۱۲	A_{12} (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۳ از دو هفته بعد از شروع تغذیه فعال	۱۹	۱۳	۶۸	۰	۰	۰	۰	۶	۳۲
۱۳	A_{13} (فصل دوم)	تجویز خوراکی ۶۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال	۲۰	۹	۴۵	۸	۴۰	۰	۰	۳	۱۵
۱۴	A_{14} (فصل دوم)	تجویز خوراکی هورمون ۱۲۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۰	۰	۱	۵	۱	۵	۱۸	۹۰
۱۵	A''_{14} (فصل اول)	تجویز خوراکی هورمون ۱۲۰ روزهٔ هورمون به مقدار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۲	۱۰	۷	۳۵	۱	۵	۱۰	۵۰
۱۵	شاهد	ــــــــ	۲۰	۹	۴۵	۱۱	۵۵	۰	۰	۰	۰



شکل ٦- نسبتهای جنسی در ماهیان مورد آزمایش

مابقی تیمارهایی که برای نرسازی منظور شده بودند (شامل ۱۱ تیمار)، در مقایسه با گروه شاهد، نسبت جنسی ماهیان را به طور معنی داری ($P< 0/001$) به سمت نر تغییر دادند (جدول ۲).

تیمار ۳۰ppm از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز که برای ایجاد عقیمی در نظر گرفته

شده بود در فصل اول (A''_{14}) شامل ۵۰ درصد و در فصل دوم (A_{14}) شامل ۹۰ درصد ($P< 0/001$) ماهی عقیم بود که حالت عقیمی در تمام تیمارها به استثنای سه تیمار A_3، A_4 و A_9 موجود بود، به طوری که در تیمار A_1 به میزان ۴۰ درصد، در تیمار A_2 معادل ۳۵ درصد، در تیمار A_5 معادل ۱۰ درصد، در هر یک از دو تیمار A_6 و A_7 به میزان ۲۰ درصد، در تیمار A_8 به میزان ۲۵ درصد، در تیمار A_{10} معادل ۳۵ درصد، در دو تیمار A_{11} و A_{12} به ترتیب معادل ۵۰ درصد و ۳۲ درصد و در تیمار A_{13} ، معادل ۱۵ درصد، مشاهده گردید (جدول ۲).

جنسیت بینابینی نیز در تیمارهای A_1، A_2، A_3، A_8، A_9، A_{14} و A''_{14} ایجاد گردید. به این ترتیب که تیمار A_1 شامل ۱۰ درصد و تیمارهای A_2، A_3، A_8، A_9، A_{14} و A''_{14} هر کدام شامل ۵ درصد جنسیت بینابینی بودند (جدول ۲).

در این بررسی، جنسیت ماده فقط در تیمارهای A_3 و A_8 (هر کدام شامل ۲۵ درصد)، A_{13} (۴۰ درصد)، A_{14} (۵ درصد) و A''_{14} (۳۵ درصد) مشاهده گردید.

در پژوهش حاضر که برای اولین بار در کشور، تغییرات ناشی از تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در غدد جنسی و مجاری اسپرم بر ماهیان نر تغییر جنیست یافته را مورد بررسی قرار داد، تنوع جالبی در شکل غدد جنسی ماهیان بالغ مشاهده شد که به چهار گروه تقسیم گردید :

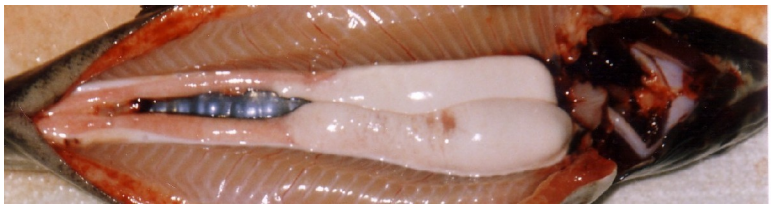
۱- ماهیان نر کاری که بیضه‌هایی با ساختار مشخص داشتند و همگی حاوی اسپرم سیال بودند. بیضه‌هایی که در این گروه یافت گردیدند، خود به دو گروه اصلی تقسیم شدند :

۱-۱- بیضه‌هایی که شکل طبیعی داشتند (شکل۷).

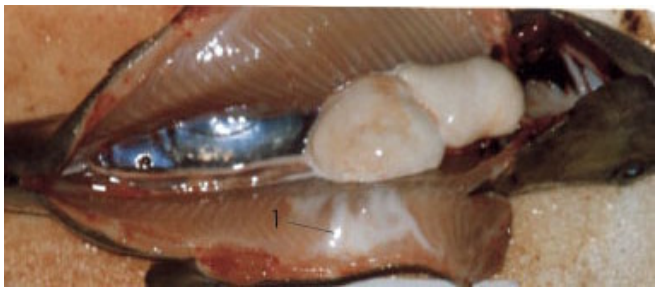
۱-۲- بیضه‌هایی که شکلهای غیرطبیعی داشتند. این بیضه‌ها که غالبا حالت غده‌ای داشته و متورم بودند، در هر سه تیمار A_1، A_2 و A_3 یافت شدند (شکل۸). اندازهٔ بیضه‌های غیرطبیعی در بعضی از ماهیانی که هر دو بیضه در آنها تشکیل شده بود، برابر (شکل۹) و در تعدادی نیز نابرابر بود (شکل ۱۰) و در بعضی موارد نیز، یکی از دو بیضه و یا هر دو بیضه، متشکل از دو تا سه لوب در اندازه‌های نامساوی بودند (شکل ۱۱). این بیضه‌های کروی شکل ، در موارد معدودی فقط در یک پهلوی ماهی تشکیل شده و در پهلوی دیگر، فقط یک رشتهٔ طویل مشاهده می‌گردید (شکل ۱۲).

۲- ماهیانی که واجد تخمدان با ساختار مشخص بودند. این تخمدانها نیز به دو گروه تقسیم شدند:

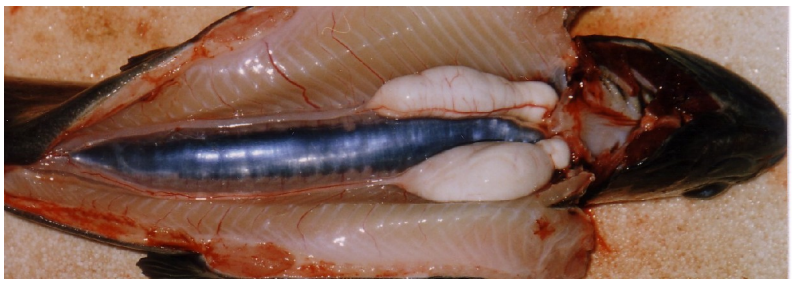
۲-۱- تخمدانهای توسعه یافته که اندازهٔ آنها نسبت به اندازه و سن ماهی، طبیعی بود (شکل ۱۳).



شکل ۷- غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر طبیعی



شکل ۸- بیضه های کروی شکل و فاقد مجاری اسپرم‌بر



شکل ۹- بیضه های کروی شکل با اندازهٔ برابر

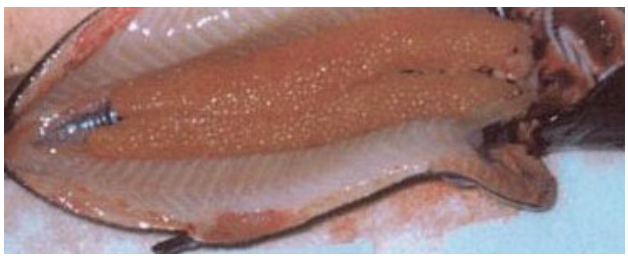
شکل ۱۰- بیضه های کروی شکل با اندازهٔ نابرابر

شکل ۱۱- بیضه های کروی شکل با اندازهٔ نابرابر بیضهٔ پایینی شامل دو لوب نابرابر است

شکل۱۲- یک بیضهٔ متورم وکروی شکل فاقد مجرای اسپرم‌بر که فقط در یک پهلوی ماهی تشکیل شده است.

این تخمدانها فقط در دو ماهی که هر دو متعلق به تیمار A_3 بود، مشاهده شدند.

۲-۲- تخمدانهای توسعه نیافته که اندازهٔ آنها نسبت به اندازه و سن ماهی، کوچک بود. این تخمدانها نیز در ۳ ماهی از تیمار A_3 و نیز تمام ماهیان مادهٔ تیمار A''_{14} که جمعا شامل ۷ ماهی ماده بود، یافت گردیدند (شکل ۱۴).



شکل ۱۳- تخمدان توسعه یافته در ماهی ماده

شکل ١٤- تخمدان توسعه نیافته در ماهی ماده

۳- ماهیانی که دارای غدد جنسی تحلیل رفته و نخی شکل (عقیم) بودند (شکل ۱۵). غدد جنسی نخی شکل، در تمام تیمارها به استثنای تیمار A_3 مشاهده شدند.

۴- ماهیان با جنسیت بینابینی که تشخیص جنسیت بینابینی در آنها بدون نیاز به تشخیص میکروسکوپی

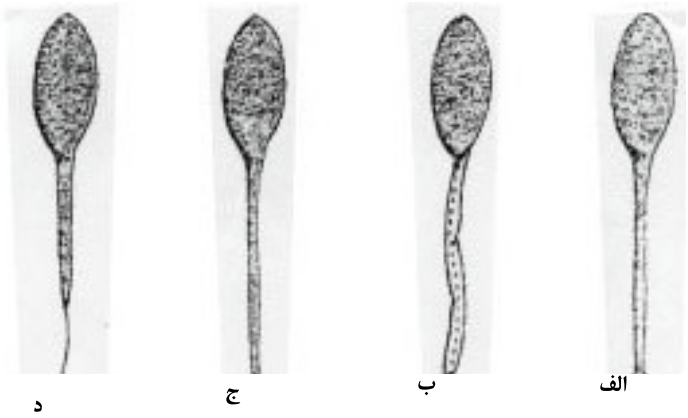
و به طور ماکروسکوپی میسر بود (شکل۱۶). در این ماهیان، تخمدان و بیضه به صورت توام در مجاورت یکدیگر مشاهده می‌شدند. این حالت فقط در یک ماهی از هر یک از دو تیمار A_1 و A_3 مشاهده گردید.

شکل ۱۵- غدد جنسی نخی شکل در ماهی عقیم

شکل ١٦- غدد جنسی با جنسیت بینابینی. بافت نر (۱) در بخش خلفی غدهٔ جنسی پایینی مشاهده می‌گردد

به طور کلی در این پژوهش، سه نوع مجرای اسپرم‌بر غیرطبیعی در ماهیان نر کاری مشاهده گردید. شکل ۱۷، نمای شماتیک از مجاری اسپرم‌بر طبیعی و غیرطبیعی را نشان می‌دهد. در شکل ۱۷- الف، یک مجرای اسپرم‌بر طبیعی مشاهده می‌شود که انتهای آن، باز و داخل مجرا حاوی اسپرم است. شکل ۱۷- ب، مربوط به یک مجرای اسپرم‌بر غیرطبیعی است که انتهای آن، مسدود و داخل مجرا فاقد اسپرم می‌باشد. شکل ۱۷- ج، یک مجرای اسپرم‌بر غیرطبیعی را نشان می‌دهد که انتهای آن، مسدود و داخل مجرا حاوی اسپرم است. در شکل ۱۷- د نیز، نمای شماتیک از یک مجرای اسپرم بر غیرطبیعی مشاهده می‌شود که در آن، مجاری اسپرم‌بر قبل از رسیدن به منفذ تناسلی مسدود شده است.

شکل ۱۸، نمونه‌ای از مجاری اسپرم‌بر طبیعی در یک ماهی از گروه شاهد که تحت تجویز هورمون واقع نشده است را نشان می‌دهد. انتهای این مجاری، باز و داخل آنها حاوی اسپرم می‌باشد. شکل ۱۹، مجاری اسپرم‌بر غیرطبیعی را نشان می‌دهد که انتهای مجاری، مسدود و داخل مجاری، حاوی اسپرم است. شکل ۲۰ نیز دو مجرای اسپرم‌بر غیرطبیعی را نشان می‌دهد که انتهای مجرای اسپرم‌بر بالایی، مسدود و داخل آن حاوی اسپرم می‌باشد و مجرای اسپرم‌بر پایینی، قبل از رسیدن به منفذ تناسلی مسدود شده است.



شکل ۱۷- نمای شماتیک از مجاری اسپرم‌بر طبیعی و غیرطبیعی. الف- مجرای اسپرم‌بر طبیعی که در آن، انتهای مجرا، باز و داخل مجرا حاوی اسپرم است. ب- انتهای مجرای اسپرم‌بر، مسدود و داخل مجرا فاقد اسپرم است. ج- انتهای مجرای اسپرم‌بر، مسدود و داخل مجرا حاوی اسپرم است. د- مجرای اسپرم‌بر قبل از رسیدن به منفذ تناسلی مسدود شده است.

شکل ۱۸- مجاری اسپرم‌بر طبیعی. انتهای این مجاری باز و داخل آنها حاوی اسپرم است.

شکل ۱۹- مجاری اسپرم‌بر غیرطبیعی. انتهای مجاری اسپرم‌بر، مسدود و داخل مجاری حاوی اسپرم است.

شکل ۲۰- مجاری اسپرم‌بر غیرطبیعی، بیضهٔ بالایی، دارای مجاری اسپرم‌بر با انتهای مسدود می‌باشد که داخل آن،حاوی اسپرم استو مجرای اسپرم‌بر مربوط به بیضهٔ پایینی قبل از رسیدن به منفذتناسلی مسدود شده است.

جدول شماره ۳، تعداد ماهی نر کاری شامل ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز و تعداد ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر مسدود را از کل ماهیان نر موجود در هر تیمار نشان می‌دهد. همان طور که در جدول فوق مشاهده می‌شود، تمام تیمارهای فصل اول، واجد ماهی نر کاری بودند. همچنین در تمام تیمارها، ماهی نر کاری با مجرای اسپرم‌بر مسدود مشاهده شد. درحالی که ماهی نر کاری با مجرای اسپرم بر باز، فقط در دو تیمار A_1 و A_3 یافت گردید.

غدد جنسی ماهیان گروه شاهد که در هنگام بررسی ۱۱ ماهه بودند، کاملا تمایز یافته بوده و به طور مشخص دارای ساختار بیضه (در ماهیان نر) و تخمدان (در ماهیان ماده) بودند.

مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان نر در گروه شاهد شامل اسپرماتوگونیوم‌ها، اسپرماتوسیتهای اولیه و ثانویه، اسپرماتید و اسپرماتوزوئیدها، سلولهای سرتولی و بافت همبند بودند (شکل ۲۱) و در مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان ماده در این گروه غالبا تخمکهای رسیده مشاهده گردید. بررسی مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان مادهٔ گروه شاهد نشان داد که تخمدان این ماهیان به طور مشخص ساختار تیغه‌ای داشتند (شکل ۲۲). بررسی بافت شناسی غدد جنسی ماهیان مورد آزمایش در تیمارهای مختلفنشان داد که این غدد در ماهیانی که هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون دریافت نموده بودند، در مقایسه با گروههای شاهد تغییرات چشمگیری داشتند که مهمترین آنها شامل نرسازی، جنسیت بینابینی و عقیمی بود. مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان نر۲۴ ماهه در سه تیمار A_1، A_2 و A_3 که مشخصا ساختار بیضه داشتند، مانند بیضهٔ ماهیان نر طبیعی در گروه شاهد، شامل اسپرماتوگونیوم‌ها، اسپرماتوسیتهای اولیه و ثانویه، اسپرماتوزوئیدها، سلولهای سرتولی و بافت همبند بودند. در حالی که غدد جنسی تمام ماهیان نر ۱۱ ماهه مربوط به سایر تیمارها، تمایز نیافته بوده و غالبا متشکل از اسپرماتوگونیومها و اسپرماتوسیتها بودند. در مقاطع بافت شناسی بیضهٔ تعدادی از ماهیان مربوط به سه تیمار A_1، A_2 و A_3، در حالی که مملو از اسپرماتوزوئید بودند، چند عدد فولیکول نیز مشاهده گردید (شکل ۲۳).

جدول۳-تعداد ماهی نرکاری شامل ماهی نرکاری بامجرای‌اسپرم‌بر بازوماهی‌نرکاری بامجرای‌اسپرم‌بر مسدود

ردیف	شماره تیمار	نوع تیمار	تعداد ماهیان (n)	ماهی نر کاری با مجرای اسپرم‌برمسدود		ماهی نر کاری با مجرای اسپرم‌بر باز	
				تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱	A_1	دو نوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصلهٔ ۸ روز	۲۰	۹	۴۵	۱	۵
۲	A_2	سه نوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده ولاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با هورمون فاصلهٔ ۴ روز	۲۰	۱۲	۶۰	۰	۰
۳	A_3	دونوبت غوطه‌وری دو ساعتهٔ تخمهای چشم‌زده و لاروهای‌دارای کیسه‌زرده درحمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر با فاصلهٔ ۸ روز + تجویز خوراکی ۹۰ روزهٔ هورمون به مقدار ۳ ppm اززمان‌شروع تغذیه فعال	۲۰	۵	۲۵	۹	۴۵
۴	A''_{14}	تجویز خوراکی هورمون ۱۲۰ روزهٔ هورمون به مقدار۳۰ppm از زمان شروع تغذیه فعال	۲۰	۲	۱۰	۰	۰

مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان با جنسیت بینابینی در ماهیان تیمارهای مختلف مشاهده شد. غدد جنسی در این حالت به طور همزمان شامل سلولهای جنسی نر و ماده بودند (شکل ۲۴).

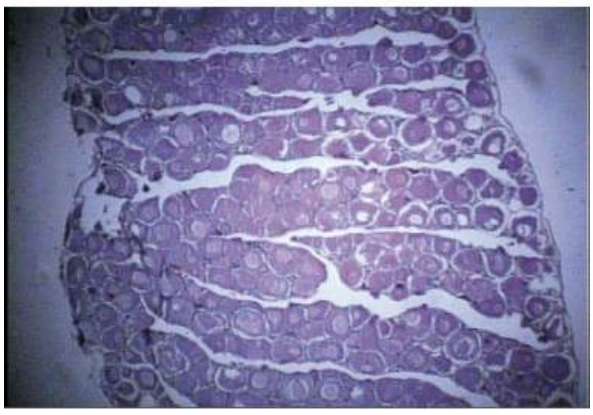
در مجموع ۳۰۰ ماهی نمونه برداری شده مربوط به تمام تیمارهای هر دو فصل، ۸ ماهی با جنسیت بینابینی مشاهده گردید (جدول ۱) که از این تعداد، فقط در یک ماهی، تشخیص جنسیت بینابینی به صورت ماکروسکوپی و بدون نیاز به تهیهٔ مقاطع بافت شناسی میسر گردید. در این ماهی، بخش خلفی غدهٔ جنسی شامل بافت بیضه و بخش قدامی آن به طور مشخص شامل بافت تخمدان بود.

در حالت عقیمی، مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان، غالبا شامل بافت همبند بوده و سلولهای جنسی به طور کامل از بین رفته و یا فقط به تعداد کمی باقی مانده بودند (شکل ۲۵).

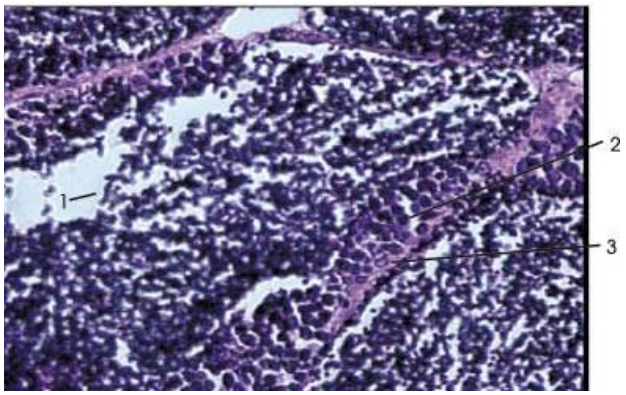
پدیدهٔ جالبی که در مقاطع بافت غدد جنسی تعدادی از ماهیان عقیم و بعضی از ماهیان با جنسیت بینابینی در تیمارهای A_1، A_2 و A_3 و بعضی از ماهیان نر ۱۱ ماهه مشاهده گردید، ایجاد سیستهایی از سلولهای جنسی نر تکامل یافته بود که اغلب شامل اسپرماتوزوئید بودند (شکل ۲۶).

غدد جنسی ماهیان مادهٔ سه تیمار A_1، A_2 و A_3 به طور مشخص دارای ساختار تخمدان بوده و در مرحلهٔ ۳ یا ۵ رسیدگی جنسی قرار داشتند. در حالی که تمام مقاطع بافت شناسی غدد جنسیماهیان ماده در سایر تیمارها، شامل سلولهای جنسی تمایز نیافته و اغلب اواوگونیوم‌ها و اواوسیتها بودندو در غدد جنسی آنها، برخلاف ماهیان ماده در گروه شاهد، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده نگردید. شایان ذکر است که از مجموع ۳۰۰ ماهی نمونه برداری شده، فقط ۲۶ ماهی ماده یافت گردید.

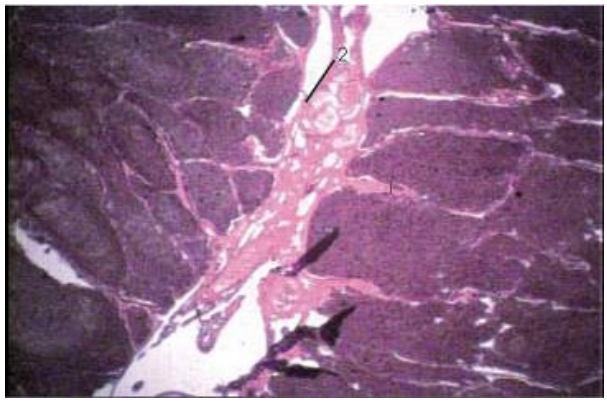
در پژوهش حاضر، نتاج حاصل از آمیزش ماهیان مولد نر تغییر جنسیت یافته مربوط به هر سه تیمار فصل اول (دو تیمار غوطه‌وری در حمام هورمون و یک تیمار غوطه‌وری در حمام هورمون به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون) با ماهیان مولد مادهٔ معمولی، تماما ماده بودند. در حالی که زاده‌های حاصل از لقاح اسپرم ماهیان مولد نر معمولی با ماهیان مولد مادهٔ معمولی، بخشی نر و بخشی ماده بودند. به این ترتیب جمعیت تک جنسی مادهٔ قزل آلای رنگین کمان در نسل دوم حاصل گردید.



شکل ۲۱- مقطعی از بافت یک غده جنسی در ماهی ماده ۱۱ ماهه. ساختار تیغهٔای تخمدان به وضوح مشاهده می‌گردد. بزرگنمایی X ۳۲



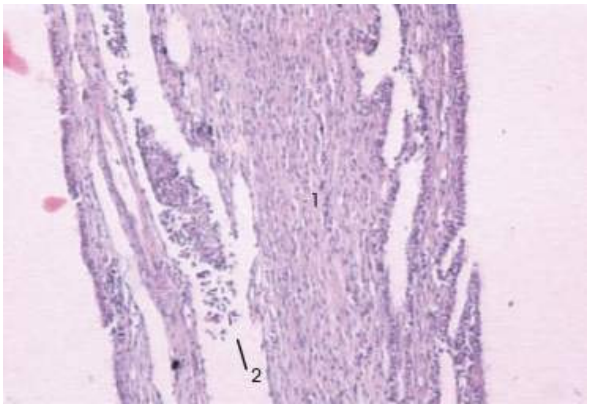
شکل ۲۲- مقطعی از بافت یک بیضهٔ کروی شکل که اسپرماتوزوئیدها (۱)، اسپرماتوسیتها(۲) و سلولهای سرتولی(۳) در آن مشاهده می‌شوند. بزرگنمایی ٤۰۰ *



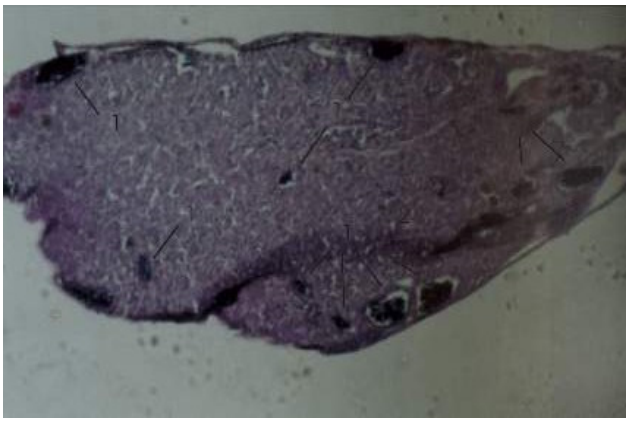
شکل ۲۳- مقطعی از بافت یک بیضهٔ کروی شکل که متشکل از دو لوب نابرابر می‌باشد که مملو از اسپرماتوزوئید هستند(۱) و در محل اتصال دو لوب به یکدیگر، تعدادی فولیکول(۲)مشاهده می‌گردد.

32xبزرگنمایی

شکل ۲٤- مقطعی از بافت یک غده جنسی توسعه نیافته با جنسیت بینابینی. سلولهای جنسی نر به صورت یک لوب مشخص(۱) در حاشیهٔ غده جنسی مشاهده می‌شوند و سایر نواحی شامل سلولهای جنسی ماده (۲) می‌باشند. بزرگنمایی 32x



شکل ۲۵- مقطعی از بافت یک بیضهٔ نر عقیم که بیشتر متشکل از بافت پیوندی(۱) با چند منطقهٔ کوچک شامل تعدادی سلولهای جنسی نر(۲) می‌باشد. بزرگنمایی 32X



شکل ۲٦- مقطعی از بافت یک بیضه شامل چندین سیست (۱) حاوی سلولهای جنسی در مراحل پیشرفته. بزرگنمایی 32X

٤- بحث

کاربرد ماهیان تک جنسی در مورد بسیاری از گونه‌های ماهیان در صنعت پرورش آبزیان مورد توجه می باشد. مزایای بالقوهٔ استفاده از ماهیان تک جنسی شامل افزایش میانگین رشد، حذف تولید مثل، کاهش رفتارهای تولید مثلی، کاهش تنوع اندازهٔ ماهیان در زمان برداشت و کاهش مخاطرات محیط زیستی ناشی از فرار ماهیان پرورشی غیر بومی (وارداتی) می باشد (Beardmore *et al.*, 2001).

نتایج بدست آمده از این بررسی، امکان تغییر نسبت جنسی در ماهی قزل آلای رنگین کمان با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را تایید می‌نماید. با مقایسهٔ نسبتهای جنسی در تیمارها و گروه شاهد، می‌توان چنین نتیجه گرفت که هورمون مذکور توانسته با افزایش درصد ماهیان نر و نیز تولید ماهیانی با جنسیت بینابینی یا عقیم، نسبت جنسی را تغییر دهد. نتایج این آزمایش نشان داد که تغییر نسبت جنسی به ۱۰۰ درصد نر در ماهی قزل آلای رنگین کمان را می‌توان با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به مقدار ۰/۵ ppm در طی دورهٔ 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 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 نمونه‌های سایر تیمارهایی که برای ایجاد نرسازی منظور شده بودند، از ۶۸ درصد به ۴۵ درصد کاهش داشت که عمدتا به دلیل تولید ماهیان عقیم و بعضا به دلیل تولید ماهیان ماده یا ماهیان با جنسیت بینابینی بود. اما به طور کلی تاثیر هورمون در تغییر نسبت جنسی ماهیان، در مجموع تیمارهایی که برای نرسازی درنظر گرفته شده بودند، در مقایسه با گروه شاهد با ۴۵ درصد نر، قابل توجه بود (شکل۶).

بررسی تیمارهای تجویز خوراکی هورمون نشان داد که با افزایش مقدار هورمون و نیز افزایش طول دورهٔ تجویز هورمون، اثرات نرسازی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد دور شدن از زمان شروع تغذیه فعال برای شروع تجویز هورمون نیز، میزان مؤفقیت در نرسازی را کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج بدست آمده از بررسی حاضر، مقدار بهینهٔ هورمون برای ایجاد تغییر جنسیت به نر با روش خوراکی، ppm

۰/۵ و زمان مؤثر برای شروع تجویز آن، از زمان شروع تغذیه فعال و دورهٔ تجویز مناسب، ۶۰ روز می باشد. نتایج بدست آمده توسط Yamazaki (۱۹۸۳) نیز با نتایج بررسی حاضر همسو می‌باشد. به نظر وی، تجویز خوراکی هورمون در قزل آلای رنگین کمان، زمانی که درست پس از شروع تغذیه فعال آغاز گردد، مؤثرتر است (Yamazaki, 1983). تغییر جنسیت ایجاد شده در بسیاری از گونه‌های ماهیان از جمله ماهی قزل آلای رنگین کمان دایمی است، زیرا اعتقاد بر این است که عمل ژنهای جنسی در گونه های تک جنسی تمایز یافته[1]، محدود به یک دورهٔ نسبتا کوتاه هنگام رشد اولیهٔ غدد جنسی می باشد و بعد از آغاز تمایز جنسی گنادی، این ژنها پنهان یا غیر فعال می‌شوند (Piferrer, 2001; Yamazaki, 1983).

در این بررسی، در تیمار دو نوبت غوطه‌وری به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون (A3)، ۷۰ درصد ماهی نر مشاهده گردید. اما Feist و همکاران (۱۹۹۵) در تیمار غوطه‌وری در حمام هورمون به مقدار ۴۰۰ میکروگرم در لیتر به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳ به مدت ۶۰ روز، تقریبا ۱۰۰ درصد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نر تولید نمودند. میزان تولید ماهی نر (۶۰ درصد)، در تیمار A_2 با سه نوبت غوطه‌وری بیش از تیمار دو نوبت غوطه‌وری (۵۰ درصد) بود. بنابراین افزایش دفعات غوطه‌وری، منجر به افزایش آثار نرسازی گردید. Baker و Solar (۱۹۸۸) نیز در مطالعه‌ای که پیرامون ماهی آزاد چینوک انجام دادند، دریافتند که تیمار غوطه‌وری مضاعف در حمام هورمون به مقدار ۲۰۰ میکروگرم در لیتر، نسبت به تیمار غوطه‌وری منفرد، درصد ماهیان نر تولید شده را افزایش داد (Beardmore *et al.*, 2001). اما Feist و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده کردند که غوطه‌وریهای متعدد در متیل تستوسترون، موجب کاهش آثار نرسازی در ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌گردد.

در بین ۱۳ تیماری که برای نرسازی منظور شده بودند، ماهی ماده فقط در تیمار غوطه‌وری به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون (A_3) به میزان ۲۵ درصد و در دو تیمار ppm ۱ و ppm ۳ از چهار هفته بعد از شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز (A_8 و A_{13})، به ترتیب به میزان ۲۵ درصد و ۴۵ درصد مشاهده گردید. در تیمار ppm ۳۰ به مدت ۱۲۰ روز (تیمار عقیم‌سازی، A_{14} و A''_{14})، نیز به ترتیب ۹۰ درصد و ۳۵ درصد ماهی ماده مشاهده شد. مشاهدهٔ نشدن ماهیان ماده در ۱۰ تیمار نرسازی، نشان دهندهٔ تاثیر شدید هورمون در تغییر نسبت

1- Differentiated gonochorism

جنسی به سوی جنس نر می باشد. وجود ماهی ماده در سه تیمار نرسازی A_3، A_8 و A_{13} ، احتمالا بـه دلیـل دریافـت مقادیر کم هورمون بوده است. اما مشاهدهٔ ماهی ماده در تیمار عقیم سازی، احتمالا مربوط به اثـر معکـوس مـاده سازی است که ناشی از دریافت مقادیر زیاد هورمون می‌باشد (Piferrer, 2001). Solar and Donaldson (۱۹۸۴) نیز در ماهیان قزل آلای رنگین کمان تیمار شده با متیل تستوسترون، اثر معکوس ماده سازی بر اثر تجویز مقادیر زیاد اندروژن را مشاهده کردند (Yamazaki, 1983). احتمالا دلیل ایـن امـر، پدیـدهٔ عطـری شـدن[1] حلقـهٔ A در مولکـول تستوسترون است که موجب تبدیل شدن آن به استرادیول می گردد (شهبازی و ملک‌نیـا، ۱۳۷۸). دلیـل افـزایش درصد ماهی ماده در تیمار $A"_{14}$ نسبت به تیمـار A_{14}، احتمـالا بیـشتر بـودن سـن ماهیـان تیمـار $A"_{14}$ (۲۴ ماهـه) در مقایسه با ماهیان تیمار A_{14} (۱۱ ماهه) می‌باشد که زمان کافی را برای بروز تاثیر ماده‌سازی مقـادیر زیـاد هورمـون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را در اختیار داشته اند. ایـن واقعیـت کـه ماهیـان غیـرعقیم در تیمارهـایی کـه بیـشترین مقادیر هورمون را داشته‌اند، ماده بودند می‌تواند یک امتیاز برای پرورش باشد. برعکس تجویز مقادیر متفـاوتی از استروژنها (استرون یا استرادیول) منجر به ایجاد ماده‌سازی، نرسازی یا جنسیت بینابینی در قورباغه *Rana esculento* (Padao, 1936; in : Solar and Donaldson, 1984) و سایر قورباغه‌سانان گردیـده اسـت (Gallien, 1941 ; in : Solar and Donaldson, 1984). این نتایج نشان می‌دهد که هورمونهای نر و ماده که معمولا در پستانداران، نوعا مخـتص به یک جنس هستند، می‌توانند در گونه‌هایی از مهره‌داران پست‌تر که ثبات جنسی ندارند، تمایز جنسی متـضادی را در مقایسه با نسبت جنسی مورد انتظار ایجاد نمایند (Solar and Donaldson, 1984).

جنسیت بینـابینی در هـر سـه تیمـار غوطـه‌وری (بـه ترتیـب بـه میـزان ۱۰ درصـد، ۵ درصـد و ۵ درصـد) و در دو تیمـار نرسـازی (A_8، A_9) و نیـز در تیمـار عقـیم‌سـازی (A_{14} و $A"_{14}$) هـر کـدام بـه میـزان ۵ درصـد مشاهده گردید. این ماهیان احتمالا به دلیل فقدان حضور مؤثر در رقابت غذایی یا دریافت دانه‌های غذایی که بـه طور تصادفی حاوی مقادیر کمتری هورمون بوده‌انـد یـا بـه دلیـل تفاوتهـای موجـود بـین ماهیـان از نظـر توانـایی گیرنده‌های سلولی هورمون مذکور، تغییر جنسیت را به طور کامل نـشان ندادنـد. Okada و همکـاران (۱۹۸۱) نیـز غدد جنسی با هر دو نوع سلولهای زایگر نر و ماده را در تیمارهای ۶۰ روزهٔ تجویز خوراکی متیـل تـستوسترون بـه مقدار ppm ۰/۵ (۸/۹ درصد)، ppm ۱ (۱۰/۹ درصـد)، ppm ۵ (۱۶ درصـد) و ppm ۱۰ (۱۲ درصـد) در قـزل آلای

1- Aromatization

رنگین کمان مشاهده کردند. مشاهدات این محققین نشان می دهد که درصد ماهیان دارای جنسیت بینابینی با افزایش مقدار هورمون، کاهش یافته است (Yamazaki, 1983).

همان طور که گفته شد در بررسی حاضر، درصدهای مختلفی از ماهیان عقیم در تیمارهای A_1 (۴۰ درصد)، A_2(۳۵ درصد)، A_5 (۱۰ درصد)، A_6 و A_7 (هر کدام به میزان ۲۰ درصد)، A_8 (۲۵ درصد)، A_{10} (۳۵ درصد)، A_{11} (۵۰ درصد)، A_{12} (۳۲ درصد)، A_{13} (۱۵ درصد) و تیمار عقیم سازی (A_{14} و A''_{14}) (به ترتیب ۹۰ درصد و ۵۰ درصد) مشاهده گردید. همان طور که مشاهده می‌شود، در تیمار دو نوبت غوطه‌وری (A_1) با تولید ۴۰ درصد ماهی عقیم، در مقایسه با تیمار سه نوبت غوطه‌وری (A_2) با تولید ۳۵ درصد ماهی عقیم، درصد بیشتری ماهی عقیم مشاهده گردید. احتمالا تعدد دفعات غوطه‌ور نمودن تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در تیمار سه نوبت غوطه‌وری، در افزایش میزان عقیمی بی‌تاثیر بوده است. در پژوهشی که توسط Baker و Solar (۱۹۸۸) در مورد ماهی آزاد چینوک انجام گردید، هیچ یک از تیمارهای غوطه‌وری در حمام هورمون به مقدار ۲۰۰ میکروگرم در لیتر، سبب تولید ماهی عقیم نگردید. اما در بررسی انجام شده توسط Feist و همکاران (۱۹۹۵)، غوطه‌وری تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زردهٔ ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در حمام هورمون به مقدار ۴۰۰ میکروگرم در لیتر، سبب ایجاد ۸۰-۰ درصد عقیمی گردید. مقایسهٔ نسبتهای جنسی در تیمارهای تجویز خوراکی هورمون نشان داد که درصد تولید ماهیان عقیم، با افزایش مقدار هورمون و یا طول دورهٔ تجویز هورمون، افزایش یافته است. به طوری که تیمار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز که برای عقیم سازی درنظر گرفته شده بود (A_{14})، به دلیل تجویز مقدار زیاد هورمون و نیز طولانی بودن دورهٔ تجویز آن، شامل بیشترین درصد (۹۰ درصد) ماهیان عقیم بود ($P<0/001$). Solar and Donaldson (۱۹۸۴) در آزمایشی که برای عقیم سازی در ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام دادند، بیشترین درصد عقیمی را در تیمار ppm ۲۵ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز مشاهده نمودند. تفاوت معنی‌دار مشاهده شده در میزان تولید ماهیان عقیم در تیمار A_{14} نسبت به گروه شاهد، بیانگر اثر تجویز هورمون بر ایجاد عقیمی است. اما دلیل کاهش درصد ماهیان عقیم (۵۰ درصد) در تیمار A''_{14} را ممکن است بتوان بیشتر بودن سن ماهیان تیمار A''_{14} (۲۴ ماهه)، در مقایسه با ماهیان تیمار A_{14} (۱۱ ماهه) دانست. با توجه به مطالب گفته شده، چنانچه عقیم‌سازی

با روش خوراکی، فقط موجب کاهش رشد غدد جنسی گردد نه توقف آن یا در صورتی که تاثیر روش خوراکی هورمون در ایجاد عقیمی در ماهی قزل آلای رنگین کمان موقتی باشد، ماهیان ۲۴ ماههٔ تیمار A''_{14}، زمان بیشتری برای بروز موارد غیر عقیمی داشته‌اند. احتمال دیگری که می توان برای افزایش درصد ماهیان عقیم در تیمار عقیم‌سازی فصل دوم (A_{14}) نسبت به تیمار عقیم‌سازی فصل اول (A''_{14}) در نظر گرفت، پیشرفت تکنیکی آزمایش فصل دوم می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی تاثیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون روی شکل غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر در ماهی قزل آلای رنگین کمان، نشان داد که تمام تیمارها در مورفولوژی غدد جنسی و مجاری اسپرم‌بر تاثیر گذاشته بودند. مشاهدهٔ تعداد زیادی ماهی دارای غدد جنسی با شکلهای غیر طبیعی که در تمام تیمارها وجود داشتند، در مقابل تعداد اندکی ماهی دارای غدد جنسی طبیعی (بیضه یا تخمدان)، مؤید این موضوع می‌باشد. مشاهدهٔ شکلهای غیرطبیعی بیضه در ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغییرجنسیت یافته، توسط Bye و Lincoln، ۱۹۸۱ نیز تایید شده است. Bye گزارش کرد که تجویز خوراکی متیل‌تستوسترون به مقدار ppm ۳ به مدت ۹۰ روز، باعث تولید ۹۴ درصد ماهی نر گردید که ۵۵ درصد از این ماهیها دارای بیضه‌های غیرطبیعی بودند (Hunter and Donaldson, 1983). Tsumara و همکاران (۱۹۹۱) نیز در آزمایشی که به منظور نرسازی در ماهیان ماده‌زاد قزل آلای رنگین کمان انجام دادند، وجود بیضه‌های غیرطبیعی و کروی شکل را گزارش نمودند.

در این بررسی مشاهدهٔ تخمدان در گروهی از ماهیان تیمارهای A_3 (دو نوبت غوطه‌وری با فاصلهٔ ۸ روز به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۹۰ روز)، A_{14} و A''_{14} (تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳۰ از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز)، همان طور که گفته شد، می‌تواند دلیل بر تاثیر معکوس ماده‌سازی ناشی از تجویز مقدار زیاد هورمون و دورهٔ تجویز طولانی آن باشد (شهبازی و ملک‌نیا، ۱۳۷۸).

در بررسی حاضر، دو ماهی با جنسیت بینابینی مشاهده گردید که در غدد جنسی آنها بافت بیضه و تخمدان به طور مشخص در مجاورت یکدیگر قرار داشتند. در یکی از این دو ماهی که دارای تخمدانی تقریبا طبیعی بود، مقدار کمی از بافت بیضه در بخش خلفی غده جنسی ایجاد شده بود (شکل ۱۶) و در دیگری که بافت بیضه در نزدیکی بخش قدامی غده جنسی مشاهده گردید، غده جنسی تقریبا نخی شکل بود، به طوری که

برای تایید جنسیت بینابینی غدهٔ مذکور، مقاطع بافت شناسی تهیه گردید. بر مبنای فرضیه‌ای که Yamamoto (1962, 1959a) و Matsuda (1963) مطرح کردند، فرآیند تمایز جنسی در ماهی مداکا از بخش قدامی به سمت بخش خلفی غده جنسی پیش می‌رود. Yamamoto (۱۹۶۲) پیشنهاد کرد که این نحوهٔ پیشرفت تمایز جنسی می‌تواند پدید آمدن غدد با جنسیت بینابینی در ماهیانی که تحت تجویز مقادیر ناکافی استروژن یا دوره‌های ناکافی تجویز هورمون قرار گرفته‌اند را توجیه کند. بر اساس این فرضیه، احتمالا بخش قدامی غده جنسی، تمایز بیضه ای را تحت تاثیر القا کننده‌های طبیعی جنسیت طی می‌کند. اما بخش خلفی آن، تحت تاثیر استروژنهای با منشاء خارجی قرار گرفته و تمایز تخمدانی می‌یابد (Hunter and Donaldson, 1983). در صورتی که فرضیهٔ فوق صحیح باشد، شاید بتوان دلیل تشکیل بافت بیضه در قسمت خلفی غدهٔ جنسی در نمونهٔ فوق‌الذکر را این طور توضیح داد که بخش قدامی غده جنسی تحت تاثیر محرکهای طبیعی جنسیت، تمایز تخمدانی یافته، در حالی که در بخش خلفی، تحت تاثیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون تمایز بیضه‌ای ایجاد شده است. Witschi (۱۹۶۷) به طور مشابه پیشرفت تمایز جنسی از بخش قدامی به خلفی را در دوزیست(*Xenopus laevis*) شرح داده است. اما آزمایشی که توسط Yoshikawa و Oguri (۱۹۷۹ و ۱۹۸۱) بر روی ماهی مداکا *Oryzias latipes* انجام شد، فرضیهٔ Yamamoto را حمایت نکرد. آنها یک توزیع تصادفی از پیشرفت عناصر زایگر و بینابینی را در *Oryzias latipes* گزارش کردند. Johnstone و همکاران (۱۹۷۸) نیز، در پی تجویز استرادیول یا متیل‌تستوسترون به ماهی قزل آلای رنگین کمان، هیچ الگوی مشخصی را در غدد جنسی با جنسیت بینابینی مشاهده نکردند (Hunter and Donaldson, 1983). به علاوه در بررسی حاضر، وجود یک مورد جنسیت بینابینی در ماهیان نمونه که در آن، بافت بیضه در نزدیکی بخش قدامی غده جنسی تشکیل شده بود، می‌تواند مثالی برای نقض فرضیهٔ فوق باشد. ضمن این که در پژوهش انجام شده توسط Feist و همکاران نیز که ماهیان تماما مادهٔ قزل آلای رنگین کمان را از طریق غوطه‌وری تحت تجویز هورمون قرار دادند، در یک ماهی دو ساله، تخمدانی تقریبا طبیعی یافت شد که مقدار کمی از بافت بیضه در بخش قدامی آن ایجاد شده بود (Feist *et al.*, 1995). بنابراین این پرسش که آیا تمایز جنسی در ماهیان استخوانی از بخش قدامی به سمت بخش خلفی گرایش دارد یا خیر، همچنان باقی می‌ماند.

نتایج بدست آمده از مشاهدات انجام شده در این بررسی نشان داد که تعداد قابل توجهی از ماهیان در تمام تیمارها به استثنای تیمار A_3 دارای غدد جنسی نخی شکل عقیم بودند. احتمالا تغییر ساختار این غدد جنسی،

به دلیل دریافت مقادیر زیاد هورمون بوده است. Chevassus و Krieg (۱۹۹۲) نیز در آزمایشی که از طریق تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به مقدار ppm ۳ به مدت ۶۰ روز تا ۹۰ روز در ماهی قزل آلای خال قرمز انجام دادند، تولید تعداد زیادی از ماهیان که دارای غدد جنسی عقیم نخی شکل بودند را گزارش نمودند. مشاهدهٔ این حالت در ماهی آزاد اقیانوس اطلس *Salmo salar* (Jhonstone *et al.*, 1978)، قزل آلای رنگین کمان (Jhonstone *et al.*, 1979) و قزل آلای خال قرمز *Salmo trutta* (Quillet *et al.*, 1991) نیز گزارش گردیده است (Chevassus and Krieg, 1992).

در بررسی حاضر، سه نوع مجرای اسپرم بر غیرطبیعی شامل مجاری اسپرم‌بر با انتهای مسدود و فاقد اسپرم، مجاری اسپرم‌بر با انتهای مسدود و حاوی اسپرم، مجاری اسپرم‌بر حاوی اسپرم مشاهده گردید که قبل از رسیدن به منفذ تناسلی مسدود شده بودند. تنوع مشاهده شده در شکل مجاری اسپرم‌بر مربوط به هر یک از تیمارهای مورد آزمایش در این بررسی را شاید بتوان به تجویز مقادیر مختلف هورمون و دوره‌های متفاوت تجویز هورمون در تیمارهای مختلف و نیز دریافت مقادیر متفاوت هورمونی نسبت داد که همراه با غذا توسط هر یک از افراد در هر تیمار اخذ شده است. احتمالا به دلیل تفاوت اندازهٔ ماهیان و تاثیر آن در رقابت غذایی و نیز توزیع نشدن کاملا یکنواخت هورمون در تمام دانه‌های غذا، همچنین تفاوتهای موجود در بین ماهیان از نظر توانایی گیرنده‌های سلولی هورمون ۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون، میزان دریافت هورمون توسط افراد مختلف هر تیمار متفاوت بوده است. شاید ماهیانی که موفق به دریافت مقادیر نزدیک به مقدار بهینهٔ هورمون گردیده‌اند، با توجه به مقدار هورمونی که دریافت کرده‌اند، مجرای اسپرم‌بر با انتهای مسدود و حاوی اسپرم داشته یا دارای مجاری اسپرم‌بری بوده‌اند که حاوی اسپرم بوده اما قبل از رسیدن به منفذ تناسلی مسدود شده‌اند و در ماهیانی که مقادیر دور از مقدار بهینه را دریافت نموده‌اند، مجاری اسپرم‌بر با انتهای مسدود و فاقد اسپرم ایجاد شده است. بر این اساس ماهیانی که دارای مجاری اسپرم‌بر طبیعی بوده‌اند، مقادیر بهینهٔ هورمون را دریافت کرده‌اند. چندین محقق از جمله Bye و Lincoln (۱۹۸۱) و Jhonstone و همکاران (۱۹۷۹) نیز وقوع اختلال مجاری تناسلی را توصیف نموده و خاطر نشان کرده‌اند که این موضوع احتمالا مانع از رهاسازی محصولات غدد جنسی می‌گردد. اما Hunter و Donaldson (۱۹۸۳) که نرسازی را در ماهی آزاد چینوک انجام دادند، اختلال مجاری اسپرم بر را در این ماهی مشاهده نکردند (Cousin-Gerber *et al.*, 1989). همچنین نشان داده شده است که کاهش دورهٔ تجویز

هورمون و بویژه کاهش مقدار هورمون، موجب افزایش قابل توجه در تعداد ماهیان نر دارای مجاری اسپرم بر طبیعی می گردد (Cousin-Gerber *et al.*, 1989).

در این آزمایش، بعضی از ماهیان نر بالغ هنگام بلوغ، قادر به اسپرم‌ریزی بوده (ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز)، اما بیشتر آنها قادر به انجام این عمل نبودند. پس از باز نمودن شکم ماهیان نر بالغی که قادر به اسپرم‌ریزی نبودند، مشخص گردید دلیل این امر، فقدان مجاری اسپرم‌بر یا وجود مجاری اسپرم بر مسدود، همچنین وجود غدد جنسی نخی شکل در بعضی از ماهیان (ماهیان عقیم یا ماهیان با جنسیت بینابینی) بوده است. احتمالا بخشی از ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز، ماهیان نر ژنتیکی هستند که مقادیر مؤثر هورمون را دریافت ننموده‌اند و بخشی دیگر، ماهیان نر فنوتیپی هستند که به دلیل دریافت مقادیر بهینهٔ هورمون، به ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر باز تغییرجنسیت یافته‌اند. ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر مسدود نیز ماهیان ماده‌ای بوده‌اند که به دلیل دریافت مقادیر مؤثر هورمون به ماهیان نر تغییرجنسیت یافته‌اند، اما مقدار هورمون دریافتی هنوز با مقدار بهینهٔ آن که سبب ایجاد مجرای اسپرم بر باز می‌شود، فاصله داشته است. بر اساس مشاهدات انجام شده در این بررسی، میزان تولید ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر باز در تیمار A_3 (۴۵ درصد)، بیش از تیمار A_2 بود (جدول ۳). در این بررسی، مقایسهٔ تیمار غوطه‌وری مضاعف تخمهای چشم‌زده و لاروهای دارای کیسه‌زرده در حمام هورمون (A_1)، با تیمار سه نوبت غوطه‌وری نشان داد که سه نوبت غوطه‌وری، تولید ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر مسدود را افزایش داده و در عین حال موجب کاهش تولید ماهی با مجرای اسپرم‌بر باز گردیده است. ممکن است افزایش دفعات غوطه‌وری، موجب افزایش تولید ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر مسدود از ۴۵ درصد در تیمار A_1 ، به ۶۰ درصد در تیمار A_2 و نیز کاهش نسبت ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز از ۵ درصد در تیمار A_1 ، به صفر در تیمار A_2 گردیده باشد.در این مطالعه، بیشترین ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر باز (۴۵ درصد)، در تیمار A_3 (دو نوبت غوطه‌وری به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون) مشاهده گردید. این تیمار از نظر تولید ماهی نر نیز از دو تیمار A_1 و A_2 مؤثرتر بود. این در حالی است که Feist و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده نمودند، ماهیان قزل آلای رنگین کمانی که در مرحلهٔ جنینی تحت تیمار غوطه‌وری در حمام هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به مقدار ۴۰۰ میکروگرم در لیتر و به مدت ۲ ساعت قرار داشتند، دارای درصد بالایی از

ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر باز بودند. اما ماهیانی که تحت تیمار غوطه‌وری به اضافهٔ تجویز خوراکی هورمون به مقدار ppm ۳ و به مدت ۶۰ روز قرار گرفته بودند، مجرای اسپرم‌بر طبیعی نداشتند. اما در مطالعات آزمایشگاهی و نیز در مزارع تجاری که فقط نوزادان ماده برای نرسازی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، مشاهده شده که بعضی از ماهیان تغییرجنسیت یافتهٔ بالغ، قادر به اسپرم‌ریزی بودند. وقتی این موضوع بررسی شد، ملاحظه گردید که این ماهیان نر که واجد مجاری اسپرم‌بر طبیعی بودند، میزان لقاح عالی داشته و فقط نتاج ماده تولید کردند. این آزمایشها، امکان دستیابی به دورهٔ مناسب تجویز هورمون، برای دسترسی به درصد بالایی از ماهیان نر تغییرجنسیت یافتهٔ دارای مجاری اسپرم‌بر طبیعی را بیان می‌کند. ممکن است کاهش دورهٔ تجویز اندروژن، درصد ماهیان نر با مجاری اسپرم‌بر طبیعی را افزایش دهد (Hunter and Donaldson, 1983). Cousin-gerber و همکاران (۱۹۸۹) مقدار هورمون را عامل اصلی در تعیین فراوانی ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر طبیعی می‌دانند. در آزمایشی که وی انجام داد، از ماهیان نر تغییرجنسیت یافتهٔ ۲ سالهٔ قزل آلای رنگین کمانی که از طریق تجویز مقدار ppm ۳ به مدت ۶۰ روز قرار داشتند، ۳۶ درصد ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر طبیعی تولید گردید. وی نشان داد که افزایش طول دورهٔ تجویز هورمون، منجر به کاهش تعداد ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر طبیعی می‌گردد. وی پیشنهاد کرد که برای افزایش میزان تولید ماهیان نر با مجرای اسپرم‌بر طبیعی، باید مقدار کم هورمون (ppm ۰/۵) به مدت فقط ۶۰ روز مورد استفاده قرار گیرد. Bye و Lincoln (۱۹۸۶) نیز معتقدند که کاهش دورهٔ تجویز اندروژن، نسبت ماهی نر با مجرای اسپرم‌بر طبیعی را افزایش می‌دهد. در مورد ماهیان نر کاری تولید شده در این آزمایش که فاقد مجاری اسپرم‌بر طبیعی بوده و در نتیجه قادر به اسپرم‌ریزی نبودند، لازم بود که اسپرم آنها از طریق بیرون آوردن بیضه از بدن ماهی، خارج شود. Johnstone و همکاران (b ۱۹۷۹) نیز اعلام کردند که ماهیان قزل آلای رنگین کمان مادهٔ ژنتیکی که توسط اندروژنها تغییرجنسیت یافته بودند، دارای مجرای اسپرم‌بر توسعه یافته نبودند و آنها اسپرم را از طریق جراحی خارج نمودند (Hunter and Donaldson, 1983). پس از باز نمودن شکم تعدادی از این ماهیان نر کاری با مجرای اسپرم‌بر مسدود، حتی با خصوصیات ثانویهٔ جنسی پیشرفته، مشاهده گردید که دارای بیضه‌های سفت محتوی کمی منی مایع بودند. به علاوه این ماهیان بلوغ تاخیری داشتند و مقدار اسپرم در آنها حتی ۲ سال بعد از خاتمهٔ تجویز هورمون کم بود. اما تعدادی نیز بیضه های رسیدهٔ فاقد مجرا داشتند که اغلب دارای مقدار زیادی منی بودند که براحتی ترشح می‌گردید. Bye و Lincoln (۱۹۸۶) نیز توانستند از طریق نرسازی

نوزادان ماهی قزل آلای رنگین کمان، ماهیان نر هوموگامتیک کاری دارای منی تولید کنند، اما آنها نیز با این مشکل مواجه بودند که بعضی از ماهیان بالغ با ویژگیهای ثانویهٔ جنسی پیشرفته، بیضه‌های سفت حاوی مختصری منی مایع بودند. بعضی دیگر از محققین نیز مشاهدات مشابهی در مورد سایر گونه‌هایی که تحت تجویز هورمون قرار داشتند را گزارش نموده‌اند (Hunter and Donaldson, 1983). Pandian و Sheela (۱۹۹۸)، همچنین Tsumara و همکاران (۱۹۹۱) که در بررسی خود از یک جمعیت تماما مادهٔ قزل آلای رنگین کمان استفاده کرده و فقط نوزادان ماده را نرسازی نمودند، در زمان بلوغ ماهیها مشاهده کردند که بعضی از ماهیان تغییرجنسیت یافتهٔ بالغ، قادر به اسپرم‌ریزی بودند. وقتی این موضوع بررسی شد، مشاهده گردید که این ماهیان نر با مجاری اسپرم‌بر طبیعی، میزان لقاح عالی داشتند و فقط نتاج ماده تولید کردند (Shepherd and Bromage, 1992; Pandian and Sheela, 1995). بنابراین احتمالا تعدادی از ماهیان مورد آزمایش در بررسی حاضر که به طور طبیعی قادر به اسپرم‌ریزی بودند، ماهیان نر تغییرجنسیت یافته می‌باشند که البته قطعیت این موضوع، توسط آزمون نتاج مشخص خواهد شد. چند گزارش نیز وجود دارد که میزان لقاح اسپرم حاصل از ماهیان نر هوموگامتیک با تخمک ماهیان مادهٔ تیمار نشده را بیشتر از میزان لقاح ماهیان نر هتروگامتیک طبیعی با ماهیان مادهٔ طبیعی بیان می‌کند (Hunter and Donaldson, 1983).

به هر حال تولید ماهیان نر کاری با مجرای اسپرم‌بر باز یا مسدود و امکان دست بردن در نسبت این ماهیان نر کاری، بسته به نیاز، دو کاربرد متفاوت خواهد داشت:

۱- چندین سال استفادهٔ مکرر از ماهیان نر کاری با مجرای اسپرم‌بر باز برای تولید زاده‌های تماما ماده، به دلیل صرفه‌جویی در منابع و امکانات بسیار مفید است.

۲- به منظور ایجاد تنوع ژنتیکی و دودمانهای جدید، ممکن است تولید نسبت زیادی از ماهیان نر کاری با مجرای اسپرم‌بر مسدود ارجح باشد (Cousin-Gerber *et al.*, 1989).

نتایج حاصل از مشاهدات بافت شناسی انجام شده در این بررسی نشان داد که تجویز هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون می‌تواند باعث تغییر جنسیت در ماهیان ماده و تبدیل آنها به ماهیان نر فنوتیپی(XX) گردد. مشاهدهٔ تعدادی فولیکول در مقاطع بافت شناسی بیضهٔ ماهیان مورد آزمایش، مؤید این موضوع می باشد (شکل ۲۳). بررسی بافت شناسی غدد جنسی ماهیان نر تغییرجنسیت یافته نشان داد که غدد جنسی این ماهیان،

همانند ماهیان نر طبیعی شامل اسپرماتوگونیومها، اسپرماتوسیتها، اسپرماتیدها و اسپرماتوزوئیدها، همچنین سلولهای سرتولی و بینابینی می باشند.

در بررسی مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان نمونه، چند مورد جنسیت بینابینی مشاهده گردید که در تمام آنها سلولهای جنسی نر و ماده به صورت لوبهای مجزا در مجاورت یکدیگر قرار داشتند و لابلای یکدیگر نبودند (شکل ۲۴). اما در بررسی که توسط فرحمند (۱۳۷۲) پیرامون ماهی کپور معمولی انجام گردید، سلولهای جنسی نر و ماده در غدد جنسی با جنسیت بینابینی در لابلای یکدیگر مشاهده شدند. Okada و همکاران (۱۹۸۱) نیز در آزمایشی که با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در قزل‌آلای رنگین کمان انجام دادند، غدد جنسی با هر دو نوع سلولهای زایگر نر و ماده را مشاهده نمودند (Yamazaki, 1983). ماهیان با جنسیت بینابینی را می توان در زمان بلوغ برای ایجاد دودمانهای خالص جهت اهداف اصلاح نژادی مورد استفاده قرار داد. Chevassus و همکاران (۱۹۸۸) در آزمایشی که پیرامون ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام دادند، موفق به تولید ماهیان دوجنسی خودبارور گردیدند. در این بررسی نیز امکان ایجاد خودباروری در یکی از ماهیان دو سالهٔ فصل اول که هر دو بافت بیضه و تخمدان به طور همزمان در غده جنسی آن مشاهده گردید، وجود داشت.

سیستهای سلولی متشکل از سلولهای جنسی پیشرفته که در مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی تعدادی از ماهیان بالغ عقیم (نر عقیم) و نیز ماهیان بالغ با جنسیت بینابینی و همچنین تعدادی از ماهیان نر ۱۱ ماهه مشاهده گردید، در هیچ یک از ماهیان نر گروه شاهد یافت نشد. تعداد این سیستهای سلولی، همچنین تعداد سلولهای تشکیل دهندهٔ هر سیست در مقاطع بافت غدد جنسی ماهیان مختلف، متفاوت بود. یک فرضیه برای علت تشکیل این سیستها، این است که سلولهای جنسی موجود در مناطقی از غدد جنسی که در مجاورت مویرگهای خونی قرار داشته اند، به دلیل دریافت مقدار بیشتر هورمون، تمایز یافته‌تر از سلولهای جنسی سایر نواحی شده‌اند. فرضیه‌ای که برای تفاوت تعداد این سیستها در ماهیان مربوط به هر تیمارمی توان در نظر گرفت، تفاوت رقابت غذایی در میان ماهیان مختلف هر تیمار و در نتیجه دریافت مقادیر متفاوت از هورمون می‌باشد. از سویی پخش نشدن کاملا یکنواخت هورمون در تمام دانه‌های غذا و شانس متفاوت ماهیها برای دریافت دانه‌های غذایی که حاوی مقادیر کافی هورمون باشند، همچنین تفاوتهای موجود در بین ماهیان از نظر گیرنده‌های سلولی هورمون

۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، ممکن است در این پدیده مؤثر بوده باشد. فرضیه‌ای که می‌توان برای نحوهٔ تشکیل این سیستهای سلولی در نظر گرفت این است که سلولهایی که به دلیل دریافت مقادیر بیشتر هورمون، تمایز بیشتری یافته و کوچکتر شده‌اند، به تدریج از سلولهای مجاور فاصله گرفته و نهایتا سیستهای متشکل از سلولهای جنسی پیشرفته ایجاد شده است. مقایسهٔ سیستهای سلولی که در غدد جنسی ماهیان فصل اول تشکیل شده بودند با سیستهای سلولی موجود در غدد جنسی ماهیان فصل دوم، نشان داد که تعداد سیستهای سلولی موجود در غدد جنسی ماهیان فصل اول خیلی بیشتر بود، به طوری که گاهی به تعداد زیاد در تمام سطح مقطع بافت مشاهده می گردید. احتمالا دلیل کاهش تعداد این سیستها در ماهیان ۱۱ ماهه نسبت به ماهیان ۲۴ ماهه، سن کمتر ماهیان ۱۱ ماهه می باشد.

به طور کلی، بر اساس مشاهدات بافت‌شناسی انجام شده، غدد جنسی عقیم در سه گروه نر عقیم، مادهٔ عقیم و کاملا عقیم قرار گرفتند. مقاطع بافت شناسی در گروه نر عقیم به دو حالت مشاهده گردید. در حالت اول، غدد جنسی اغلب شامل بافت همبند بوده و سلولهای جنسی نر تحلیل رفته به تعداد اندک و به طور پراکنده در بعضی مناطق یا فقط در یک قسمت مشاهده شدند. اما در حالت دوم، سلولهای جنسی نر در سراسر مقطع بافت غدد جنسی عقیم وجود داشتند. در هر دو حالت، سلولهای جنسی نر در گروه ماهیان نر عقیم بسیار تمایز نیافته و اغلب شامل اسپرماتوگونیومها و اسپرماتوسیتها بودند. یک فرضیه برای مشاهدهٔ حالتهای نر عقیم، وجود ماهیان نر طبیعی می باشد که به دلیل دریافت مقادیر زیاد هورمون، عقیم شده‌اند و در تعدادی از آنها که باز هم مقادیر بیشتری هورمون دریافت نموده‌اند، تقریبا تمام سلولهای جنسی از بین رفته و فقط تعداد اندکی سلولهای جنسی در حالی که تحلیل رفته‌اند مشاهده می‌شوند. Solar و Donaldson (۱۹۸۴) نیز مشاهده کردند که تجویز مقادیر ppm ۳ و ppm ۹ ، باعث بوجود آمدن غدد جنسی متشکل از بافت همبند و مناطقی می‌گردد که سلولهای زایگر در آنها کاهش یافته است. غدد جنسی در گروه مادهٔ عقیم نیز به دو حالت مشاهده شدند. در حالت اول، سلولهای جنسی ماده در حالی که تحلیل رفته و تعداد آنها بسیار اندک (۱ تا ۵ عدد) بود، فقط در قسمتهایی از مقاطع بافت‌شناسی مربوطه مشاهده شدند. اما در حالت دوم، سلولهای جنسی ماده در سراسر مقاطع بافت غدد جنسی عقیم مشاهده می‌شدند. در هر دو حالت، فولیکولهای مشاهده شده بسیار تمایز نیافته و غالبا شامل اواوگونیوم و اواوسیتهای اولیه و ثانویه بودند. به طور کلی در مقاطع بافت شناسی غدد

جنسی ماهیان مادهٔ عقیم، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده نگردید. وجود غدد جنسی مادهٔ عقیم را می توان به دریافت مقدار زیاد هورمون و دورهٔ طولانی تجویز آن نسبت داد. Solar و Donaldson (۱۹۸۴) نیز مشاهده کردند که تجویز مقادیر زیاد هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (۲۵ ppm، ۵۰ ppm و ۱۰۰ ppm) علاوه بر تولید نسبتا بالایی از ماهیان کاملا عقیم، باعث تولید تعدادی غدد جنسی با مناطقی از بافت تخمدانی پراکنده گردید.Yamazaki (۱۹۸۶) نیز در آزمایشی که با تجویز متیل تستوسترون در سویه ای از ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام داد، تولید یک تخمدان نخی شکل با تعداد کمی اواوسیت فاقد زرده در یک ماهی ۳ ساله را گزارش کرد (Hunter and Donaldson, 1983). در حالت کاملا عقیم، غدد جنسی فاقد سلول جنسی بودند. اما در بعضی موارد، سلولهای ویژهٔ بافت همبند و سایر سلولهای پیکری مشاهده گردیدند و در بعضی نیز شدت عقیمی تا اندازه ای بود که هیچ سلولی وجود نداشته و فقط بافت نگهدارنده به صورت داربست مشاهده شد. در برخی موارد نیز فقط بافت چربی شامل سلولهای چند وجهی یافت گردید. احتمالا مقدار بیش از حد هورمون و نیز طولانی بودن دورهٔ تجویز هورمون، علل اصلی برای حذف تمام سلولهای جنسی بوده است. Fagerland و McBride (۱۹۷۵) در مطالعه ای که پیرامون ماهی آزاد کوهو *Oncorhynchus kisutch* انجام دادند، بعد از ۵۶ روز، تغییرات تخریبی در غدد جنسی ماهیانی مشاهده نمودند که مقدار ۱۰ ppm هورمون دریافت کرده بودند. به این ترتیب که در پایان ۱۴۰ روز، هیچ اسپرماتوگونیومی در غدد جنسی این ماهیان یافت نگردید و پس از ۲۴۴ روز، این غدد جنسی شامل بافت پیوندی ضخیمی بودند.

به طور کلی، در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی ماهیان دوساله، ۱۲ ماهی ماده مشاهده گردید که دو ماهی دارای غدد جنسی با تخمدانهای توسعه یافته در مرحلهٔ ۵ رسیدگی جنسی و ده ماهی دارای تخمدانهای کوچک در مرحلهٔ ۳ رسیدگی جنسی بودند. احتمالا هورمونهای نر و ماده که معمولا در پستانداران نوعا مختص به یک جنس هستند، می‌توانند در گونه‌هایی از مهره‌داران پست‌تر که ثبات جنسی ندارند، تمایز جنسی متضادی را در مقایسه با نسبت جنسی مورد انتظار ایجاد کنند. یعنی این موضوع که برای نرسازی در ماهیها از اندروژنهای ساختگی انسانی استفاده می‌شود، ممکن است سبب ایجاد تاثیراتی نظیر ماده‌سازی گردد. Hunter و Donaldson (۱۹۸۳) نیز معتقدند که فعالیت بیولوژیک هورمونها، ممکن است با منشاء آنها مرتبط باشد. به علاوه، به نظر می‌رسد اثر استروییدهای با منشاء خارجی، ویژگی گونه‌ای داشته و بیش از جنبهٔ فیزیولوژیک، دارای جنبهٔ

فارماکولوژیک باشد. با وجود این، مکانیسم این ماده‌سازی معکوس ایجاد شده هنوز به روشنی دانسته نشده و به دلیل تنوع وسیع پاسخها در گونه‌های مختلف ماهیها به مقادیر کم یا زیاد هورمون، شرح یک مکانیسم واضح مشکل است (Solar and Donaldson, 1984). در تیمارهای نرسازی و نیز تیمار عقیم‌سازی نیز ۱۴ ماهی ماده مشاهده گردید که ساختار تیغه‌ای تخمدان در مقاطع بافت هیچ یک از آنها مشاهده نشد. فقدان ساختار تیغه‌ای تخمدان در مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان ماده در تیمارهای مورد بررسی را شاید بتوان به تاثیر هورمون نسبت داد. زیرا در مقاطع بافت شناسی غدد جنسی تمام ماهیان ماده در گروه شاهد، ساختار تیغه‌ای تخمدان مشاهده گردید.

در این بررسی، بیضهٔ ماهیان نر تغییر جنسیت یافته که تقریبا کروی شکل بودند، شامل اسپرماتوزوییدهای کاملا تمایز یافته همانند بیضهٔ ماهیان نر معمولی بود، لذا لقاح تخمکهای ماهیان مادهٔ معمولی (XX)، با اسپرم این ماهیان نر تغییر جنسیت یافته که دارای ژنوتیپ XX می‌باشند، موجب تولید جمعیتهای تک جنسی تماما ماده گردید. Hunter و همکاران (۱۹۸۳) توانستند از طریق لقاح تخمکهای طبیعی با اسپرم ماهیان نر تغییر جنسیت یافته توسط هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در ماهی آزاد چینوک *Oncorhynchus tshawytscha* جمعیتهای تک جنسی تماما ماده تولید نمایند (Baker and Solar., 1988). Tsumara و همکاران (۱۹۹۱) هنگامی که ماهیان قزل آلای رنگین هورمونوتراپی شده که واجد بیضه‌های غیرطبیعی بودند را برای آمیزش با ماهیان مادهٔ تیمار نشده مورد استفاده قرار دادند، زاده‌های تماما ماده تولید نمودند (Yamazaki, 1983). Jhonstone و همکاران (۱۹۷۹) نیز از طریق لقاح تخمهای تیمار نشدهٔ ماهیان قزل آلای رنگین کمان با نمونه‌های اسپرمی که از طریق جراحی، از ماهیان نر تغییر جنسیت یافته بدست آورده بودند، موفق به تولید زاده‌های تماما ماده گردیدند. در مطالعهٔ دیگری که توسط Bieniarz و همکاران (۱۹۹۱) به منظور بررسی اثر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در مورد ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام گردید نیز هیچ ماهی نری در بین زاده‌های حاصل از آمیزش ماهیان نری که فاقد مجرای اسپرم‌بر بودند با ماهیان مادهٔ تیمار نشده، مشاهده نگردید. بدیهی است به دلیل فقدان کروموزوم Y در مواد تناسلی (تخمک و اسپرم) ماهیان نر تغییر جنسیت یافته که دارای ژنوتیپ XX می‌باشند و نیز ماهیان مادهٔ تیمار نشده(XX) ، تمامی زاده‌ها ماده خواهند بود.

تولید ماهیان ماده در نسل دوم با استفاده از روش دو مرحله‌ای تجویز اندروژن به ماهیان و سپس آمیزش

ماهیان تغییر جنسیت یافته با ماهیان مادهٔ تیمار نشده، در مقایسه با روش یک مرحله‌ای ماده سازی آن است که در روش دو مرحله‌ای، ماهیانی که به مصارف انسانی خواهند رسید، تحت تجویز استرویید قرار نداشته‌اند، بلکه والدین آنها استرویید دریافت نموده‌اند.

بدیهی است در صورتی که یک جمعیت تماما ماده (از نظر ژنتیکی) نرسازی شوند، این ماهیان تغییر جنسیت یافته تماما ماهیان نر XX خواهند بود (Cousin-Gerber *et al.*, 1989).

در حال حاضر، تولید جمعیتهای تک جنسی ماده قزل آلای رنگین کمان از طریق آمیزش مولدین نر تغییر جنسیت یافته با مولدین مادهٔ تیمار نشده، در مزارع پرورش ماهی بسیاری از کشورها از جمله انگلیس و دانمارک در سطح صنعتی رایج می‌باشد، به طوری که بیش از نیمی از تولید این مزارع ، به ذخایر تماما ماده اختصاص دارد (Bye and Lincoln, 1986).

تجویز استرویدهای جنسی ماده به ماهیان و سپس آمیزش ماهیان مادهٔ تغییر جنسیت یافته (XY) با ماهیان نر تیمار نشده (XY)، سبب تولید زاده‌هایی با نسبت جنسی ♀۱: ♂۳ در نسل دوم خواهد گردید (Hunter *et al.*, 1982 ; in : Baker *et al.*, 1988).

بعضی از گزارشهای منتشره توانایی آنابولیک استرویدها را به عنوان تسریع کننده های رشد در ماهیان پرورشی مطرح کرده اند (Matty and Cheema, 1978). ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون عملکردهای آنابولیک خود را تا اندازه ای از طریق افزایش رشد و کاهش کاتابولیسم پروتئین اعمال می‌نماید (Hunter and Donaldson, 1983). Yamazaki (۱۹۷۶) تاثیر آنابولیک تجویز خوراکی مقدار ۱ ppm هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون را در قزل آلای رنگین کمان گزارش نموده است.

۵- نتیجه گیری

مزارع تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان با خریداری تخمهای چشم زدهٔ تماما ماده و یا در اختیار داشتن ذخایر ماهیان قزل آلای رنگین کمان نر تغییر جنسیت یافته که فقط قادر به تولید اسپرم X بوده و دارای مجاری اسپرم بر طبیعی می‌باشند، می‌توانند برای همیشه به تولید جمعیتهای تماما ماده مبادرت نموده و به این ترتیب پرورش گروههای مخلوط ماهیان نر و ماده و هزینه‌های مربوط به آن را مرتفع نمایند. تولید ماهیان تک جنسی ماده که سریعتر از ماهیان نر رشد می‌کنند، علاوه بر پرورش تجاری، برای نگهداری در مخازن ذخیره‌سازی جهت صید با قلاب نیز دارای ارزش زیادی می‌باشد. به دلیل بلوغ زودرس ماهیان نر قزل آلای رنگین کمان که در جمعیتهای معمولی (مخلوط نر و ماده) وجود دارند، بسیاری از ماهیان نر، قبل از رسیدن به اندازهٔ بازاری، بالغ می‌شوند و در نتیجه رشد این گروه از ماهیان متوقف می‌گردد، زیرا غذایی که مورد مصرف قرار می‌دهند، به جای آن که صرف تولید گوشت گردد، صرف رسیدگی جنسی و تولید مواد تناسلی خواهد شد.

هر دو روش غوطه‌وری در حمام هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و تجویز خوراکی هورمون مذکور، برای تغییر جنسیت ماهیان قزل آلای رنگین کمان به نر، جهت استفاده در مراکز تکثیری که از نظر تکنیکی پیشرفته نیستند مناسب می‌باشند، زیرا به هیچ ابزار ویژه‌ای نیاز ندارند. در صورت استفاده از روش غوطه‌وری، دونوبت غوطه وری تخمهای چشم زده ولاروهای دارای کیسه زرده درحمام هورمون به مقدار ۲۵۰ میکروگرم به ازای هرلیترآب با فاصلهٔ ۸ روز و هر نوبت به مدت ۲ ساعت، و درصورت استفاده از روش خوراکی، تجویزمقدار ۰/۵ ppm هورمون از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۶۰ روز، به عنوان مقادیر بهینه توصیه می‌شوند.

پرورش ماهیان قزل آلای عقیم نیز، بویژه به منظور نگهداری درمخازن ذخیره‌سازی، جهت ماهیگیری تفریحی بسیار مناسب است. تجویزخوراکی مقدار ۳۰ ppm هورمون از زمان شروع تغذیه فعال به مدت ۱۲۰ روز برای عقیم نمودن این ماهی پیشنهاد می‌شود، اگرچه برای دستیابی به یک تیمار موثر جهت عقیم‌سازی، انجام آزمایشهای بیشتری مورد نیاز است.

پیشنهادها

- جایگزین نمودن پرورش جمعیتهای تک جنسی ماده به جای جمعیتهای مخلوط نر و ماده در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان کشور به دلیل افزایش تولید و نیز تولید ماهیان بازاری با اختلاف اندازهٔ حداقل و در نتیجه در برداشتن منافع مالی قابل توجه برای پرورش‌دهنده.

- انجام مطالعات بیشتر به منظور یافتن تیمارهای موثرتر برای ایجاد تغییر جنیست به نر در ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از روش غوطه‌وری، به دلیل سهولت بیشتر این روش در مقایسه با روش تجویز خوراکی هورمون.

- انجام مطالعات موثر برای یافتن تیمار بهینه جهت تولید ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با مجاری اسپرم‌بر طبیعی (مولدین نر تغییر جنسیت یافته غالبا دارای مجاری اسپرم بر مسدود یا ناقص بوده یا فاقد مجاری اسپرم‌بر می باشند).

- استفاده از رقیق‌کننده‌های مناسب، به منظور افزایش قابلیت بیضه‌های مولدین نر تغییر جنیست یافته که اغلب دارای منی غلیظ می باشند.

- استفاده از جمعیتهای تک جنسی ماده به منظور تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته.

- انجام تحقیقات موثر برای تهیه دستور العمل صحیح انجماد اسپرم ماهیان نر تغییر جنسیت یافته که می‌تواند تولید جمعیتهای تماما ماده را به طور منظم قابل انجام نماید و موجب توسعه کارآیی تولید گردد.

- تولید ماهیان عقیم با استفاده از جمعیتهای تک جنسی ماده و اعمال روش القای تریپلوییدی.

- وضع قوانین مشخص در استفاده از استروییدهای جنسی و نظارت مراجع ذیصلاح بر این امر.

- این طرح در شرایط دمایی مرکز تکثیر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت انجام گردید با این هدف که تولید تخم چشم‌زده و لارو تماما مادهٔ قزل آلای رنگین کمان جهت فروش به پرورش‌دهندگان در دستور کار این مرکز قرار گیرد، لذا پیشنهاد می‌شود طرح حاضر در سایر مراکز تکثیر با شرایط دمایی متفاوت تکرار گردد.

امید است استفاده از دستاوردهای پروژهٔ حاضر بتواند نقش موثری در ارتقای توان تولید ماهی قزل آلای رنگین کمان در مزارع پرورش ماهی کشور ایفا نماید.

تشکر و قدردانی

سپاس خداوند بی‌همتا را که پیمودن طریق بی‌انتهای حقیقت را بر حقیر میسر فرمود.

این پژوهش با استفاده از امکانات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران و با همکاری مؤسسه تحقیقات شیلات ایران انجام پذیرفته است.

ازجناب آقای دکتر فرهاد امینی (دانشیار گروه بهداشت و بیماریهای دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)، که با دقت هر چه تمامتر و صرف وقت بسیار، هدایت علمی طرح را عهده دار شدند، سپاسگزاری می نمایم.

از سرکار خانم دکتر مریم رضاییان (دانشیار بخش بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)، به خاطر مساعدت فراوان در انجام مراحل بافت شناسی طرح بسیار سپاسگزارم.

همچنین از جناب آقای فردوس ابراهیم پور (کارشناس آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) که لامهای بافت شناسی را با کیفیتی بسیار مطلوب تهیه نمودند، سپاسگزارم.

از جناب آقای پورمحمدی و جناب آقای سیاحی (کارشناسان آزمایشگاه تغذیه و اصلاح نژاد دام دانشکده دامپزشکی) که در مرحلهٔ تهیهٔ غذای حاوی هورمون همکاری نمودند، سپاسگزاری می نمایم.

از جناب آقای مهندس رکابی، جناب آقای مهندس پورقدیری و جناب آقای پاشا زانوسی (رؤسای مرکز تکثیر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت) و همچنین جناب آقای مهندس رضوانی (معاون محترم تکثیر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت) به خاطر همکاری در مراحل اجرایی طرح بسیار سپاسگزارم.

همچنین از جناب آقای محسن میار، جناب آقای افشین مسلمی، جناب آقای آذری سلطان مرادی و جناب آقای قاسم ضمیری (به ترتیب، کارشناس، تکنسین و کارگران مرکز تکثیر کلاردشت) که در مراحل اجرایی این طرح نهایت همکاری را نمودند، بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقای مهندس محمد جواد طلا (مدیر عامل شرکت امداد خودرو ایران) به خاطر تهیهٔ امکانات لازم جهت تهیهٔ تصاویر مندرج در طرح بسیار سپاسگزارم.

منابع

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

۲- امینی، ف. ۱۳۷۰، جایگاه ژنتیک و اصلاح نژاد در پرورش ماهی، مجموعه مقالات دهمین کنگرهٔ دامپزشکی ایران، انتشارات جامعه دامپزشکان ایران، صفحات ۴۲۳ الی ۴۳۰.

۳- تاکاشیما، ف. و ت. هایبیا.، اطلس بافت شناسی ماهی اشکال طبیعی و آسیب شناسی، ۱۳۷۸، ترجمهٔ پوستی، ا. و ع. صدیق مروستی، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۲۸ ص.

۴- حسینی، ا. ۱۳۷۳، بررسی کاربرد هورمونها در تغییر جنسیت قزل آلای رنگین کمان، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۰۴ ص.

۵- شهبازی، پ. و ن. ملک نیا. ۱۳۷۸، بیوشیمی عمومی، جلد ۲. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۹۸ ص.

۶- 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 دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۴۰ ص.

۷- علیشاهی، م. ۱۳۷۷، القای تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی به وسیلهٔ هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون خوراکی در سطح صنعتی، پایان نامه دکتری عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،۹۸ ص.

۸- فرحمند، ح. ۱۳۷۲، ایجاد تغییر جنسیت در ماهی کپور معمولی، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه منابع طبیعی نور، ۱۰۱ ص.

۹- لیت ریتز، ا. ۱۳۷۴، راهنمای تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا و ماهی آزاد، ترجمه عمادی، ح.، ماهنامه آبزیان، ۲۱۲ ص.

10- Baker, I. and I. Solar, 1988. Masculinisation of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by immersion treatment using 17α –methyltestosterone around the time of hatching. Aquaculture, Vol. 72, PP: 359–367.

11- Beardmore, J.A., G.C. Mair and R.I. Lewis, 2001. Monosex male production in finfish as exemplified by Tilapia : application, problems and prospects. Aquaculture, Vol. 197, PP: 283–301.

12- Bieniarz, K., K. Goryczko, S. Dobosz and T. Grudniewski, 1991. The effects of 17α–methyltestosterone on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). POL-ARCH-HYDROBIOL, Vol. 38, no. 2, pp. 295-301

13- Billard, R., 1992. Reproduction in Rainbow trout : Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gamets. Aquaculture, Vol. 100, PP; 263 – 298.

14- Bromage, N. and R. Cumaranatunga, 1988. Egg production in the Rainbow trout. In: *Recent advances in aquaculture.* Vol. 3, F. Muir and J. Roberts (Editors), Croom Helm, PP: 63-138.

15- Bye, V. J. and R. F. Lincoln, 1986. Commercial methods for the control of sexual maturation in Rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture, Vol. 56, PP: 299-309.
16- Chen, L., 1990. Aquaculture in Taiwan, Fishing News Book, 253 PP.
17- Cousin-Gerber, M., G. Burger, C. Boisseau and B. Chevassus, 1989. Effect of 17 α–methyltestosterone on sex differentiation and gonad morphogenesis in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, Vol. 2, No. 4, PP: 225-230.
18- Chevassus, B. and F. Krieg, 1992. Effect of the concentration and duration of methyltestosterone treatment on masculinization rate in the brown trout (*Salmo trutta*). Aquaculture, Vol. 5. No. 4, PP: 325-328.
19- Feist, G., C-G., Yeoh, M.S. Fitzpatric and C.B. Schreck, 1995. The production of functional sex-reversal male rainbow trout with 17α–methyltestosterone and 11β-hydroxyandrostenedione. Aquaculture, Vol. 20- Garcia-Abiado, M. A. and K. Dabrowski, 1998. Research review : The fish genetic resources bank.
21- Geffen, A. J., J.P. Evans, 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex reversed female rainbow trout. Aquaculture, Vol. 182, PP: 61-72.
22- Hunter, G. A. and E. M. Donaldson, 1983. Hormrnal 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 (Editors), Academic Press INC., 477 PP.
administered 23– Johnston, R., D.J. Macintosh and R.S. Wright, 1983. Elimination of orally 17α–methyltestosterone by *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) and *Salmo gairdneri* (Rainbow trout) juveniles. Aquaculture, Vol. 35, PP : 249-257.
24- Matty, A.J. and I.R. Cheema, 1978. The effect of some steroid hormones on the growth and protein metabolism of Rainbow trout. Aquaculture, Vol. 14, PP: 163-178.
25- Pandian, T. J. and S. G. Sheela, 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture, Vol. 138, PP: 1-22.
26- Piferrer, F., 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture, Vol. 197, PP: 229-281.
27- Pillay, T.V. R., 1985. Aquaculture principles and practices, Fishing News Book.
28- Purdom, C. E., 1993. Genetics and fish breeding. Champan & Hall, 277 pp.
29- Santandreu, I.A. and N.F. Diaz, 1994. Effect of 17α–methyltestosterone on growth and nitrogen excretion in masu salmon (*Oncorhynchus masou* Brevoort). Aquaculture, Vol. 124, PP: 321-333.
30- Shepherd, C. and N. Bromage, 1992. Intensive fish farming. Blackwell scientific publications, 404 PP.
31- Solar, I. and E. Donaldson, 1984. Optimization of treatment regimes for controlled sex differentiation and sterilization in wild Rainbow trout Richardson) by oral administration of 17α–methyltestosterone. Aquaculture, Vol. 42, PP: 129-139.
32- Tsumura, K., V.E. Blann and C.A. Lamont. 1991. Progeny test of masculinized female rainbow trout having functional gonoducts. The progressive fish culturist. Vol. 53, PP: 45-47.
33- Yamazaki, F., 1983. Sex control and manipulation in fish. Aquaculture, Vol. 33, PP: 329-354.

Abstract

This investigation carried out for the first time in Iran inorder to prodcution of monosex female and also sterilization in Rainbow trout. In this study, the eggs of general females were fertilized with the sperm of sex reversed male and so monosex female population was produced in second generation and sterilization carried out with oral administration of 17 α methy 1 testosterone and immenrsion and oral administiration methods were used in embryonic stage and from commencing of acitve feeding of larvae, respectiverly. For sex reversal , 13 treatments were considered totally, that the most percentage of male (100%) was observedc in a treatment including of orally administration of 0.5 ppm hormone for 60 days after commencing active feeding ($P<0.001$). In the other treamtnet, different percentages of sex ratio including male, female, intersex and sterility were observed. The offspring of genral eggs fertilization with the sperm of masculinized fish were 100% female, chi-square test was shown the treatment of orally administration of 30 ppm hormone for 120 days after commencing active feeding that had been considered for sterilization, was produced 90% sterile fish ($P<0.001$) and was changed the sex ratio significancthy. Morphological changes of the gonads and sperm ducts in matured fish and also histological changes in the gonads of fish in the treamtints were considerable.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.