

"مقاله پژوهشی"

تاثیر حمام متیل تستوسترون و تاموکسیفن بر نر سازی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

عبدالجبار ایرانی^{۱*}، سعید حاجی نژاد^۱

۱- پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۳۱

چکیده

تغییر جنسیت یکی از مهم‌ترین فناوری‌هایی است که در سال‌های اخیر وارد صنعت آبی‌پروری شده است، به طوری که امروزه نر سازی به‌عنوان پیش‌زمینه تولید ماهیان تمام ماده به‌طور وسیعی در ماهیان پرورشی به‌ویژه در آزادماهیان به کار می‌رود. به همین دلیل، در مطالعه حاضر، نر سازی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از هورمون متیل تستوسترون و همچنین تاموکسیفن به‌عنوان یک ماده غیر هورمونی با خاصیت ضد استروژنی به‌روش حمام دادن کوتاه‌مدت مورد بررسی قرار گرفت. لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان در قالب چهار تیمار و سه تکرار برای هر تیمار، یک هفته بعد از تفریح، به مدت ۲ ساعت در معرض تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند: ۱- الکل، بدون تیمار هورمونی (شاهد)، ۲- ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر متیل تستوسترون (MT 0.5)، ۳- ۲ میلی‌گرم در لیتر متیل تستوسترون (MT 2) و ۴- ۲ میلی‌گرم در لیتر تاموکسیفن (TAM 2). نتایج نشان داد که در پایان دوره تحقیق، ماهیان تیمار هورمونی متیل تستوسترون با دز ۲ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به تیمار تاموکسیفن و گروه شاهد رشد بالاتری داشتند. مقایسه طول و وزن تیمارهای مختلف به تفکیک جنسیت نشان داد که بیش‌ترین مقدار طول مربوط به ماهیان نر تیمار MT 2 بود. وزن این ماهیان نسبت به همه گروه‌ها، حتی نسبت به ماهیان ماده هم‌گروه (MT 2) نیز به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($p < 0.05$). یک‌بار حمام دوساعته هورمون متیل تستوسترون با دز ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر باعث تولید ۳۶/۷ درصد نر و تیمار هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث تولید ۴۳/۳ درصد نر شده است، اما تاموکسیفن بر فرایند تمایز جنسی تأثیر نگذاشت و وضعیت گنادهای این ماهیان تفاوتی با ماهیان گروه شاهد نداشت؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حمام دوساعته متیل تستوسترون با دز ۲ میلی‌گرم در لیتر برای نر سازی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند مناسب باشد.

کلمات کلیدی: تغییر جنسیت، تاموکسیفن، متیل تستوسترون.

مقدمه

در بسیاری از کشورها تکنیک تغییر جنسیت و تولید ماهیان تک‌جنسی به‌عنوان یک فناوری نوین در راستای افزایش تولید و سودآوری، از مدت‌ها پیش وارد این صنعت شده است، چراکه در بسیاری از گونه‌های ماهی یکی از جنس‌های نر و ماده ارزش بیشتری نسبت به دیگری دارد. در بعضی از گونه‌ها تخمدان و تخم‌های جنس ماده به دلیل بازارپسندی که دارد ارزش آن را بالا می‌برد، در بعضی دیگر، میزان رشد یکی از جنس‌ها بیشتر است و در برخی مواقع برنامه‌های مدیریتی مراکز تکثیر و پرورش (از قبیل حفظ ماهیان مولد اصلاح نژاد شده) باعث می‌شود که پرورش‌دهنده تمایل به تولید ماهیان تک‌جنسی داشته باشد؛ بنابراین از زمانی که بحث تغییر جنسیت ماهی به‌وسیله هورمون‌های استروئیدی (آندروژن‌ها و استروژن‌ها) قبل از کامل شدن تمایز جنسی، به‌طور جدی‌تری مطرح شد بسیاری از محققان روش‌های مختلفی را برای این امر بررسی کردند و امروزه این تکنیک با روش‌های مختلف در گونه‌های متنوعی از ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بسیاری از موارد تجویز آندروژن‌ها برای نر سازی ماهیان بسیار مؤثر بوده است (Hunter and Donaldson, 1983). تجویز این استروئیدها غالباً به‌صورت ترکیب با جیره غذایی یا به‌صورت غوطه‌وری مستقیم بوده و در موارد کمی به‌صورت تزریقی یا کاشتن در بدن و آزادسازی تدریجی آن بوده است (Pandian and Sheela, 1995). مهم‌ترین آندروژن به‌کاررفته برای نر سازی ماهیان، ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون (MT) بوده که در ۲۵ گونه از ماهیان باعث نر سازی شده است (Devlin and Nagaham, 2002). در کنار هورمون‌های

استروئیدی طبیعی و مصنوعی، از مواد ضد استروژن نیز برای تغییر جنسیت در پستانداران، پرندگان، دوزیستان، خزندگان و ماهیان استفاده شده است (Singh and Srivastava, 2015). به‌طور کلی مواد شیمیایی دارای فعالیت ضد استروژنی بر اساس مکانیسم عمل آن‌ها به دو گروه تقسیم می‌شوند؛ موادی که از طریق رقابت با استروژن‌ها برای اتصال به گیرنده‌ها (ER) باعث تداخل در عملکرد استروژن‌ها می‌گردند که به‌عنوان ضد استروژن‌های مستقیم (direct-acting anti-estrogens) در نظر گرفته می‌شوند. گروه دوم ضد استروژن‌های غیرمستقیم هستند (indirect-acting anti-estrogens) که از طریق جلوگیری کردن عملکرد آروماتاز باعث کاهش ساخت استروژن می‌گردند (Sun et al., 2011).

تاموکسیفن (TAM) جزء گروه اول است و با گیرنده‌های استروژن پیوند نسبتاً پایدار تشکیل می‌دهد؛ بنابراین تعداد گیرنده‌های در دسترس برای اتصال استرادیول را کاهش می‌دهد (Jordan et al., 1977). رفتار ضد استروژنی تاموکسیفن از مسیر گیرنده‌های استروژن نه‌تنها در پستانداران بلکه در ماهیان استخوانی نیز مشاهده شده است (Kitano et al., 2007). علاوه بر آن، تاموکسیفن از طریق متوقف کردن بیان P450arom mRNA باعث نر سازی ماهیانی می‌گردد که از نظر ژنتیکی ماده هستند (Hulak et al., 2010; Kitano et al., 2007; Liu et al., 2010). از طرف دیگر، خصوصیت تحریک‌کنندگی استروژن نیز برای آن گزارش شده است (Osborne, 1998). نتایج مطالعه Singh و Srivastava (۲۰۱۵) نشان داد که تاموکسیفن در غلظت‌های استفاده‌شده (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) تأثیر زیادی در نر سازی

تیلاپیا و کپور معمولی داشته است و تأثیر آن در تیلاپیا بیش‌تر از کپور معمولی بوده است. در مطالعه دیگر، استفاده از تاموکسیفن در جیره غذایی تیلاپیا باعث تولید ۹۰٪ نر شده است بدون این‌که تلفات قابل‌توجهی داشته باشد (Singh et al., 2012). بعضی محققین نتایج ضعیف‌تری به دست آورده‌اند، به‌عنوان‌مثال، استفاده از تاموکسیفن به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای کپور معمولی فقط ۵۰-۴۵٪ نر تولید نموده است (Hulak et al., 2008, 2010). به‌رحال، کارایی تاموکسیفن برای نر سازی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی ایران مطرح است (خارا و همکاران، ۱۳۹۲)، به‌طورجدی مورد ارزیابی قرار نگرفته است. از آنجاکه در روش رایج نر سازی قزل‌آلا، یعنی تجویز خوراکی هورمون متیل‌تستوسترون، ماهیان بایستی حداقل دو ماه با غذای هورمون دار تغذیه شوند و نرهای تولیدشده فاقد مجرای اسپرم بر هستند، در نتیجه برای دریافت اسپرم، ماهی بایستی کشته شود، به‌همین دلیل بهتر است که روش‌ها و مواد مختلف هورمونی و غیر هورمونی برای این منظور موردبررسی قرار گیرند. بنابراین، در این پژوهش، امکان نر سازی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌روش حمام با استفاده از متیل‌تستوسترون به‌عنوان یک هورمون استروئیدی و تاموکسیفن به‌عنوان یک ضد استروژن موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی و سیستم پرورش

برای اجرای این پژوهش، تخم‌های تمام ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان از شرکت تکثیر و پرورش قزل‌آلای رشکند تهیه شد. تخم‌های چند مولد ماده باهم

مخلوط و با اسپرم رقیق‌شده چند ماهی نر تغییرجنسیت‌یافته به روش خشک لقاح داده شد و پس از چشم زدن به پژوهشکده آرتمیا و آبرزی‌پروری دانشگاه ارومیه منتقل شد. پس از سپری شدن دوره سازگاری اولیه، تخم‌ها به داخل انکوباتور کالیفرنایی چهار جعبه‌ای منتقل شدند. هریک از جعبه‌ها به‌وسیله ورقه مشبک آلومینیومی به چهار حجره تقسیم و در هر حجره، تعداد ۱۰۰ تخم چشم زده قرار داده شد. لاروهای تفریخ‌شده، در داخل انکوباتور کالیفرنایی تا زمان جذب کیسه زرده نگه‌داری شدند. در این دوره، مقادیر درجه حرارت در دامنه ۱۳/۲ - ۱۲/۸ درجه سانتی‌گراد، مقادیر اکسیژن محلول در دامنه ۷/۷۵ - ۷/۵۸ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر pH در دامنه ۷/۸ - ۷/۶ بود. پس از جذب کیسه زرده، لاروها به داخل مخزن‌های ۴۵ لیتر با حجم آبگیری ۲۵ لیتر منتقل و حدود ۳ ماه در آن‌ها پرورش داده شدند. طی این مدت مقادیر دبی آب در دامنه ۲/۱ - ۱/۸ لیتر در دقیقه، مقادیر درجه حرارت در دامنه ۱۵/۳ - ۱۳/۱ درجه سانتی‌گراد، مقادیر pH در دامنه ۸/۰۴ - ۷/۸۵ و مقادیر اکسیژن محلول در دامنه ۸/۲۲ - ۷/۹۶ میلی‌گرم در لیتر بود. بعد از این مدت، تمام ماهیان توزین، شمارش و به مخازن ۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری حدود ۲۰۰ لیتر منتقل شدند. در هر مخزن، دبی آب ۶/۴ - ۵/۷ لیتر در دقیقه به همراه هوادهی برقرار شد. در این مخازن، مقادیر درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول به‌ترتیب در دامنه ۱۵/۴ - ۱۴/۶ درجه سانتی‌گراد، ۷/۹۸ - ۷/۷۴ درجه و ۷/۶۸ - ۷/۲۳ میلی‌گرم در لیتر بود. در این شرایط ماهیان به مدت ۴/۵ ماه پرورش داده شدند.

تیمارهای آزمایشی

کممک اسکالپل و قیچی، تکه کوچکی از گناد را برداشته و در روی لام به تکه‌های کوچک‌تر بریده شد. سپس یک یا دو قطره رنگ استوکارمین به آن اضافه و با قرار دادن لامل روی آن، زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت.

تخم‌های چشم‌زده قزل‌آلای رنگین‌کمان به ۴ گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰۰ تخم چشم‌زده بود. یک هفته بعد از تفریخ، لاروها به مدت ۲ ساعت در معرض تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند: ۱- شاهد؛ بدون تیمار هورمونی، ۲- MT 0.5: ۰/۵ میلی گرم در لیتر متیل تستوسترون، ۳- MT 2: ۲ میلی گرم در لیتر متیل تستوسترون و ۴- TAM 2: ۲ میلی گرم در لیتر تاموکسیفن. لاروها پس از حمام دادن در شرایط تیمارهای آزمایشی به داخل تراف‌ها برگردانده شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای مقایسه میانگین‌های تیمارهای مختلف، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، برای تفکیک گروه‌ها، تست تعقیبی دانکن به کار رفت. تمامی بررسی‌ها در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط برنامه SPSS 22 انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند.

بررسی شاخص رسیدگی جنسی و تعیین جنسیت

حدود ۸ ماه پس از تفریخ، از هر تیمار تعداد ۳۰ ماهی به‌طور تصادفی نمونه‌گیری و پس از بی‌هوش شدن در پودر گل میخک با دز ۲۰۰ میلی گرم در لیتر (ایرانی و آق، ۱۴۰۱)، بیومتری و تشریح شدند. اندام‌های جنسی پس از توزین در محلول بوئن تثبیت شدند. شاخص رسیدگی جنسی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (بیسواس، ۱۳۷۹):

$$\text{رابطه ۱- } GSI = (Wg / Wb) \times 100$$

در رابطه بالا، GSI: شاخص رسیدگی جنسی، Wg: وزن اندام جنسی و Wb: وزن کل بدن ماهی است.

برای تعیین جنسیت از روش رنگ‌آمیزی استوکارمین استفاده شد (Guerrero and Shelton, 1974). برای تهیه این محلول، مقدار ۰/۵ گرم پودر کارمین را به ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیداستیک ۴۵ درصد اضافه و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد. پس از سرد شدن، برای حذف ذرات حل‌نشده، از صافی عبور داده شد. به

نتایج

شاخص‌های رشد، تغذیه و بقا

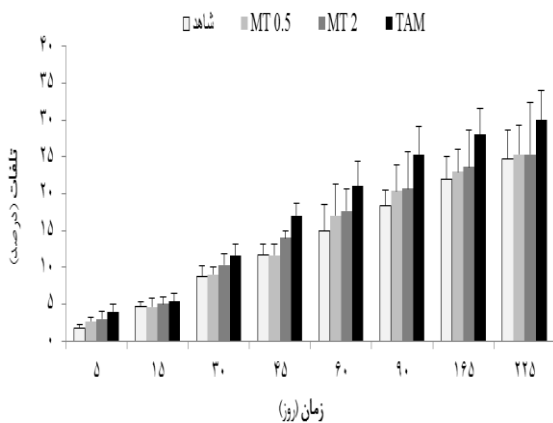
طی دوره مطالعه، از نظر وزن کل بدن اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد وجود نداشت (شکل‌های ۱ و ۲)، اما در پایان دوره آزمایش، وزن ماهیان تیمار 2 MT (۱۱۳/۳۰ گرم) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر گروه‌ها (۹۶/۲۳، ۱۰۲/۴۸ و ۹۷/۹۲ گرم به‌ترتیب در گروه‌های شاهد، MT 0.5 و TAM) بود ($p < 0.05$). میانگین طول کل در گروه‌های مختلف در دامنه ۲۰/۸۸ - ۱۹/۸۹ سانتی‌متر قرار داشت و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. مقادیر ضریب تبدیل غذایی نیز در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) و میانگین آن برای کل دوره آزمایش در دامنه ۱/۴۱ - ۱/۳۵ بود.

جدول ۱: مقادیر طول و وزن قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف به تفکیک جنسیت در پایان دوره تحقیق (۲۲۵ روز)

تیمار	طول (سانتی متر)	کل وزن کل (گرم)	جنسیت	تعداد
شاهد	19.89 ± 1.17^{ab}	96.14 ± 23.43^{ab}	ماده	۳۰
MT 0.5 f	20.25 ± 0.8^{ab}	101.11 ± 57.04^{ab}	ماده	۱۹
MT 0.5 m	20.70 ± 0.92^{bc}	104.29 ± 13.55^{ab}	نر	۱۱
MT 2 f	20.58 ± 1.05^{ab}	109.11 ± 11.37^b	ماده	۱۷
MT 2 m	21.33 ± 0.27^c	119.60 ± 12.82^c	نر	۱۳
TAM	20.04 ± 0.83^{ab}	97.92 ± 10.15^a	ماده	۳۰

* حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در هر ستون است ($p < 0.05$).

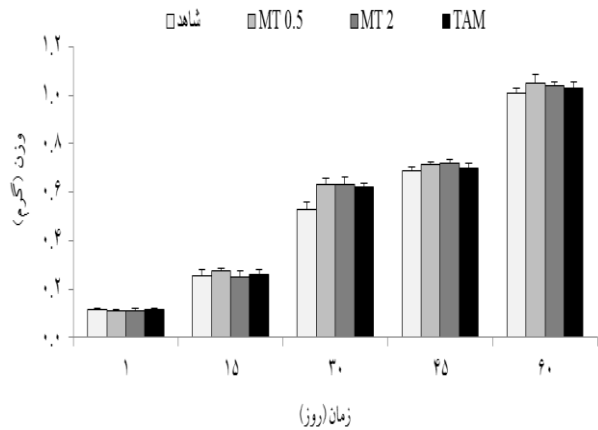
از نظر درصد تلفات بین گروه‌های مختلف، فقط طی روز نخست اختلاف معنی دار وجود داشت (شکل ۳). به طوری که تلفات گروه تاموکسیفن در روز ۴۵ بعد از تفریح به طور معنی داری بیش تر از سایر گروه‌ها بود ($p < 0.05$)، اما گروه‌های دیگر اختلاف معنی داری باهم نداشتند ($p > 0.05$).



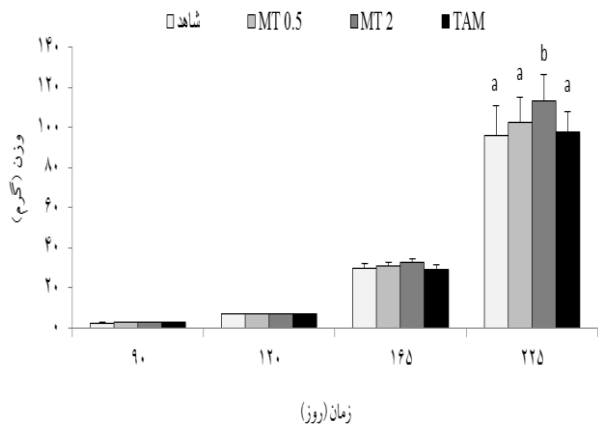
شکل ۳: درصد تلفات تجمعی در روزهای مختلف بعد از تفریح.

شاخص رسیدگی جنسی و تغییر جنسیت

بیشترین مقدار وزن گناده (۰/۲۹ گرم) و شاخص رسیدگی جنسی (۰/۲۷ درصد) در تیمار MT 0.5 مشاهده شد که نسبت به گروه شاهد (به ترتیب ۰/۱۰ گرم و ۰/۱۰ درصد) و تیمار TAM (به ترتیب ۰/۱۱ گرم و ۰/۱۱ درصد) اختلاف معنی داری نشان داد



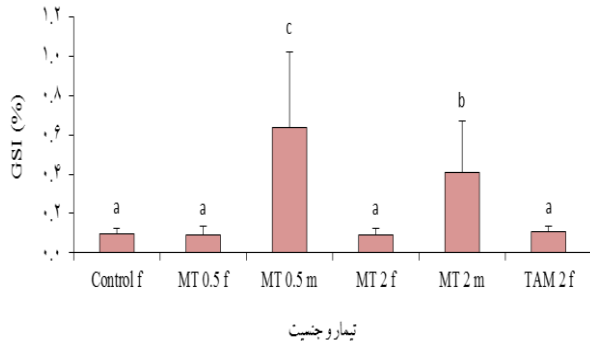
شکل ۱: وزن ماهیان تیمارهای مختلف، طی ۶۰ روز بعد از شروع تغذیه.



شکل ۲: وزن ماهیان تیمارهای مختلف، طی ۹۰ - ۲۲۵ روز بعد از شروع تغذیه. * حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در هر ستون است ($p < 0.05$).

مقایسه طول و وزن جنس‌های نر و ماده تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین مقدار طول و وزن مربوط به ماهیان نر تیمار MT 2 بود. به طوری که طول کل این ماهیان به استثنای ماهیان نر تیمار MT 0.5 نسبت به سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری نشان داد (جدول ۱). وزن این ماهیان نسبت به همه گروه‌ها، حتی نسبت به ماهیان ماده هم گروه (MT 2) نیز به طور معنی داری بیش تر بود ($p < 0.05$).

مقادیر شاخص رسیدگی جنسی در نرهای تغییر جنسیت یافته هردو تیمار متیل‌تستوسترون به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ماده‌های داخل‌گروه و گروه‌های دیگر بود (شکل ۴).



شکل ۴: مقادیر شاخص رسیدگی جنسی تیمارهای مختلف به تفکیک جنسیت در پایان دوره مطالعه. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون است ($p < 0.05$).

($p < 0.05$). مقادیر وزن گناد (۰/۲۶ گرم) و شاخص رسیدگی جنسی (۰/۲۲ درصد) در تیمار MT 2 نیز نسبت به گروه شاهد و تیمار TAM اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

در پایان دوره آزمایش، ماهیان گروه شاهد، همان‌طور که انتظار می‌رفت ۱۰۰ درصد ماده بودند. تیمار تاموکسیفن بر تغییر جنسیت تأثیری نداشت و همه ماهیان این گروه نیز ماده بودند. تأثیر دزهای مختلف حمام متیل‌تستوسترون متفاوت بود، به‌طوری‌که تیمار هورمونی MT 0.5 باعث ۳۶/۷ درصد نر سازی و تیمار هورمونی MT 2 باعث ۴۳/۳ درصد نر سازی شد (جدول ۱).

جدول ۲: مقادیر وزن گناد، شاخص رسیدگی جنسی (GSI) و درصد نر سازی در تیمارهای مختلف.

تیمار	وزن گناد (گرم)	GSI (درصد)	درصد ماده	درصد نر
شاهد	0.10 ± 0.03^{ab}	0.10 ± 0.03^{cd}	۱۰۰	۰
MT 0.5	0.29 ± 0.03^{b}	0.27 ± 0.03^{b}	۶۳.۳	۳۶.۷
MT 2	0.26 ± 0.03^{b}	0.22 ± 0.03^{b}	۵۶.۷	۴۳.۳
TAM	0.11 ± 0.03^{ab}	0.11 ± 0.03^{cd}	۱۰۰	۰

* حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون است ($p < 0.05$).

بحث

در این مطالعه نرسازی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با استفاده از هورمون متیل تستوسترون و همچنین تاموکسیفن به‌عنوان یک ماده غیر هورمونی با خاصیت ضد استروژنی به‌روش حمام دادن کوتاه‌مدت مورد بررسی قرار گرفت. تغییر جنسیت یکی از مهم‌ترین فناوری‌هایی است که در سال‌های اخیر وارد صنعت آبی‌پروری شده است، به‌طوری‌که امروزه نر سازی به‌عنوان پیش‌زمینه تولید ماهیان تمام ماده به‌طور وسیعی در ماهیان پرورشی به‌ویژه در آزادماهیان به‌کار می‌رود (Devlin and Nagahama, 2002; Kuzminski and Dobosz, 2010). نتایج این مطالعه نشان داد که ماهیان تیمار هورمونی متیل تستوسترون با دز ۲ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به تیمار تاموکسیفن و گروه شاهد رشد بالاتری داشتند. این پدیده احتمالاً به‌خاطر رشد سریع‌تر ماهیان نر قزل‌آلای رنگین کمان در این دوره زندگی بوده است، چراکه مقایسه طول و وزن تیمارهای مختلف به تفکیک جنسیت نشان داد که بیش‌ترین مقدار طول و وزن مربوط به ماهیان نر تیمار 2 MT بود، به‌طوری‌که طول کل این ماهیان به‌استثنای ماهیان نر تیمار 0.5 MT نسبت به سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد. وزن این ماهیان نسبت همه گروه‌ها، حتی نسبت به ماهیان ماده هم‌گروه (2 MT) نیز به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. بنابراین به‌نظر می‌رسد که بالا بودن رشد ماهیان تیمارهای متیل تستوسترون، نتیجه حضور ماهیان نر و افزایش سرعت رشد آن‌ها در اواخر دوره تحقیق بوده است، نه ناشی از اثر مستقیم متیل تستوسترون، زیرا طی هفته‌ها و ماه‌های بعد از حمام هورمونی، رشد این ماهیان تفاوت معنی‌داری با گروه‌های دیگر نداشته است. نتایج مشابه آن، توسط

Atar و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش شده است، این محققان مشاهده کردند که رشد قزل‌آلای رنگین کمان طی دوره هورمون دهی تفاوتی با گروه شاهد ندارد، اما بعد از آن رشد ماهیان تغییر جنسیت یافته به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بوده است.

در مطالعه حاضر، حمام هورمونی متیل تستوسترون تأثیر چندانی در میزان بازماندگی لاروهای قزل‌آلا نداشت، به‌طوری‌که تلفات ماهیان تیمارهای متیل تستوسترون طی دوره تحقیق اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. حمام تاموکسیفن باعث افزایش درصد تلفات ماهیان طی چند هفته بعد از اعمال تیمار شد، اما عدم وجود اختلاف معنی‌دار در میزان بازماندگی تجمعی طی مراحل بعدی رشد، نشان‌دهنده این واقعیت است که لاروهای تلف‌شده بعد از اعمال تیمار تاموکسیفن، لاروهای ضعیفی بودند که احتمالاً در صورت عدم اعمال این تیمار نیز در مراحل بعدی تلف می‌شدند، همان‌گونه که در گروه شاهد اتفاق افتاد.

یک‌بار حمام دوساعته هورمون متیل تستوسترون در مطالعه حاضر به‌طور موفقیت‌آمیزی توانست مسیر تمایز جنسی را در قزل‌آلای رنگین کمان تغییر دهد. به‌طوری‌که تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر باعث تولید ۳۶/۷ درصد نر و تیمار هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث تولید ۴۳/۳ درصد نر شده است. باوجود آن‌که دز مناسب توصیه‌شده حمام متیل تستوسترون ۰/۵ – ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر بود (Feist et al., 1995; Arslan et al., 2012)، اما مطالعه حاضر نشان داد که افزایش دز هورمون تا ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند باعث افزایش درصد نر سازی شود. تجویز خوراکی تاموکسیفن در تغییر روند تمایز جنسی برخی از ماهیان از جمله کپور معمولی و تیلاپای نیل و تیلاپای

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. ایرانی، ع. و آق، ن.، ۱۴۰۱. مقایسه رشد و شاخص‌های جنسی فیل‌ماهی (*Huso huso*) و تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). توسعه آبرزی پروری، ۱۶(۴)، ۲۳-۱۳.
 ۲. بیسواس، اس. پی.، ۱۳۷۹. روش‌های مطالعه زیست‌شناسی ماهیان. مترجمین: علیرضا ولی‌پور و شهرام عبدالملکی. گیلان، مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۱۹۹ ص.
 ۳. خارا، ح.، محمدزاده، و.ا.، قیاسی، م. و رهبر، م.، ۱۳۹۲. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و سرمی خون ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان فاقد واجد عفونت باکتریایی (در مزارع پرورشی استان مازندران). نشریه توسعه آبرزی پروری، ۷(۲)، ۲۳-۱۷.
 4. Arslan, T., Erdoğan, F. and Erdoğan, M., 2012. The production of functional sex-reversed male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 18 (2), 227-234.
 5. Atar, H.H., Bekcan, S. and Dogankaya, L., 2009. Effects of different hormones on sex reversal of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and production of all-female populations. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(4), 1509-1514.
 6. Devlin, R.H. and Nagahama, Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208, 191-364.
- موزامبیک (Sing, 2013; Singh and Srivastava,) مؤثر بوده است. نتایج مطالعه Singh و Srivastava (۲۰۱۵) نشان داد که تاموکسیفن در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، تأثیر زیادی در نر سازی تیلاپیا و کپور معمولی داشته است و تأثیر آن در تیلاپیا بیش‌تر از کپور معمولی بوده است. در مطالعه دیگر، استفاده از تاموکسیفن در جیره غذایی تیلاپیا باعث تولید ۹۰٪ نر شده است، بدون این‌که تلفات قابل توجهی داشته باشد (Singh et al., 2012). بعضی محققین نتایج ضعیف‌تری به دست آورده‌اند، به‌عنوان مثال، استفاده از تاموکسیفن به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای کپور معمولی فقط ۵۰-۴۵٪ نر تولید نموده است (Hulak et al., 2008;). در مطالعه حاضر، تجویز تاموکسیفن به روش حمام دادن بر نر سازی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر نداشت. از آنجاکه در مطالعات گذشته، تأثیر تاموکسیفن به‌روش حمام دادن مورد بررسی قرار نگرفته است. به‌همین دلیل ارزیابی مقایسه‌ای در این زمینه نمی‌توان داشت.
- به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تجویز تاموکسیفن به روش حمام دادن با دز ۲ میلی‌گرم در لیتر تأثیری در تغییر تمایز جنسی و نر سازی قزل‌آلای نداشت و بایستی مطالعات بیش‌تری در این زمینه انجام شود؛ اما تجویز هورمون متیل‌تستوسترون به‌روش حمام، با وجود درصد پایین نر سازی نسبت به روش تجویز خوراکی، می‌تواند به‌عنوان یک روش راحت‌تر که نیازمند زمان و مدیریت کمتر است، مورد توجه قرار گیرد.

- determination, and differentiation of the Southern catfish, *Silurus meridionalis* — a review. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 223–235.
16. Osborne, C.K., 1998. Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 339, 1609–1618.
 17. Pandian, T.J and Sheela, S.G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, 138, 1-22.
 18. Singh, R., Singh, A.K. and Madhu, T., 2012. Effect of an aromatase inhibitor analog tamoxifen on the gonad and sex differentiation in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Environmental Biology*, 33, 799-803.
 19. Singh, A.K., 2013. Introduction of modern endocrine techniques for the production of monosex population of fishes. *General and Comparative Endocrinology*, 181, 146–155.
 20. Singh, A.K. and Srivastava, P.P., 2015. A CYP19 based sex determination and monosex production in aquaculture species *Oreochromis niloticus* L. and a Cyprinid *Cyprinus carpio* L. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 6 (1), 1000112.
 21. Sun, L., Shao, X., Chi, J., Hu, X., Jin, Y. and Fu, Z., 2011. Transcriptional responses in the brain, liver and gonad of Japanese rice fish (*Oryzias latipes*) exposed to two anti-estrogens. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 153, 392–401.
 7. Feist, G, Yeoh, C.H, Fitzpatrick, M and Schreck, C.B., 1995. The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17 α -methyltestosterone and 11 β -hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*, 131, 145-152.
 8. Guerrero, R.D. and Shelton, W.L., 1974. An aceto-carmin squash method for sexing juvenile fishes. *The Progressive Fish Culturist*, 36, 56.
 9. Hulak, M., Psenicka, M., Coward, K. and Linhart, O., 2008. A quantitative study of testicular germ cell populations in masculinized neomale common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Cell Biology International*, 32, 515-524.
 10. Hulak, M., Psenicka, M., Gela, D., Rodina, M. and Linhart, O., 2010. Morphological sex change upon treatment by endocrine modulators in meiogynogenetic tench (*Tinca tinca* L.). *Aquaculture Research*, 41, 233-239.
 11. Hunter, G.A. and Donaldson, E.M., 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In, Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (Eds): *Fish Physiology*. Vol: 9B, pp. 223-291, Academic Press, New York.
 12. Jordan, V.C., Dix, C.J., Rowsby, L. and Prestwich, G., 1977. Studies on the mechanism of action of the non steroidal antioestrogen tamoxifen (I.C.I. 46, 474) in the rat. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 7, 177–192.
 13. Kitano, T., Yoshinaga, N., Shiraishi, E., Koyanagi, T. and Abe, S., 2007. Tamoxifen induces masculinization of genetic females and regulates P450 aromatase and Mullerian inhibiting substance mRNA expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Molecular Reproduction and Development*, 74, 1171-1177.
 14. Kuzminski, H. and Dobosz, S., 2010. Effect of sex reversal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) using 17 α -methyltestosterone and 11 β -hydroxyandrostenedione. *Archives of Polish Fisheries*, 18, 45–49.
 15. Liu, Z.H., Zhang, Y.G. and Wang, D.S., 2010. Studies on feminization, sex