

## بررسی مقایسه‌ای میزان تلفات ناشی از تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در ماهیان گوپی (*Poecilia reticulata*) و سیچلاید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*)

سید حامد موسوی ثابت<sup>\*</sup>، عباسعلی زمینی<sup>۱</sup>، حبیب وهاب زاده رودسری<sup>۲</sup>، زینب مرادخانی<sup>۳</sup>

### چکیده

این پژوهش با هدف بررسی مقایسه‌ای میزان تلفات بین ماهیان گوپی (*Poecilia reticulata*) و سیچلاید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون انجام گرفت. تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون عموماً با هدف نرسازی در ماهیان انجام می‌گیرد. بچه ماهیان گوپی در ۷ تیمار و بچه ماهیان سیچلاید نیز در ۷ تیمار جداگانه تقسیم و هر گروه بترتیب با استفاده از غذای واحد ۳۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و صفر (شاهد) میلی گرم هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به ازای هر کیلو گرم غذا، غذاده‌ی شدنده و هر تیمار با سه تکرار انجام شد. هورمون مذکور به روش تبخیر الکلی به غذای ماهیان افزوده شد. تجویز هورمون به مدت ۴۰ روز ادامه یافت. در این مدت ماهیان در دمای  $28 \pm 1$  درجه سانتی گراد، pH ۷/۵ تا  $8/3$  و سختی کمتر از  $170 \pm 10$  میلی گرم در لیتر نگهداری شدند. نحوه غذاده‌ی ۶ وعده در روز بود که از ساعت هفت صبح شروع و در ساعت ۲۳ پایان می‌یافتد. پس از پایان دوره تجویز هورمون، ماهیان به روش بافت شناسی مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج حاصل از این بررسی‌ها بروز معنی دار تلفات را تأیید نمود. نتایج بدین ترتیب بود که در ماهی سیچلاید گورخری تجویز  $300 \text{ mg/kg}$  food منجر به بروز  $37/5\%$  تلفات گردید ( $P < 0.05$ ). همچنین در ماهی گوپی تجویز  $300 \text{ mg/kg}$  food MT منجر به بروز  $46/6\%$  تلفات گردید ( $P < 0.05$ ). نتایج نشان دادند که افزایش غلظت هورمون سبب افزایش تلفات می‌گردد. همچنین ماهیان گوپی در مقایسه با سیچلاید گورخری در خصوص بروز تلفات در اثر هورمون حساس تر بودند. در نتیجه گیری کلی می‌توان بیان نمود که استفاده از غذای حاوی هورمون سبب تلفات شده و با توجه به اینکه نرسازی از تولید مثل های زودهنگام و نامطلوب جلوگیری می‌کند و ماهیان تک جنس رشد بهتری را نشان می‌دهند، اما در عین حال تعیین دوز مطلوب هورمون به منظور رسیدن به کمترین تلفات به لحاظ بهره وری اقتصادی مفید است.

**واژگان کلیدی:** ماهی سیچلاید گورخری، ماهی گوپی، تلفات، ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، *Cichlasoma nigrofasciatum Poecilia reticulata*

۱- دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۳- گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۴- کارشناس ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

\*-نویسنده مسئول Mosavii.h@gmail.com

متیل تستوسترون خالص (تهیه شده از شرکت داروسازی ابوریحان) و ۴۲ آکواریوم ۴۰ لیتری استفاده شد. دمای آب  $28\pm 1$  درجه سانتی گراد، pH بین ۷/۵ تا ۸/۳ و سختی کمتر از  $170\pm 10$  میلی گرم در لیتر بود. میزان اکسیژن محلول بوسیله هوادهی مداوم در حد اشباع نگهداری شد. میزان غلظت نیتریت، نیترات و آمونیاک نیز در اثر تعویض روزانه ۲۰ درصد آب آکواریومها و استفاده از زئولیت در فیلترها، در حد مطلوب ( $>0.02$  میلی گرم) حفظ شد. طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و طول دوره خاموشی ۸ ساعت در طی ۲۴ ساعت بود. لاروها و بچه ماهیان به صورت کاملاً تصادفی از میان ماهیان موجود در کارگاه انتخاب شدند. به این منظور برای جمع آوری بچه ماهیان گوپی، مولدین در توری پلاستیکی با چشم‌های ۵ میلی‌متر قرار داده شدند. به طوری که نوزادان پس از تولد از توری خارج می‌شدند اما مولدین توانایی خروج را نداشتند. بدین ترتیب بچه ماهیان از خطر خورده شدن توسط مولدین در امان می‌مانندند.

اما جهت تأمین لاروهای سیچلاید گورخری، کوزه تخمیریزی مربوط به این مولدین پس از اتمام تخمیریزی از آکواریوم آنها خارج و در مخزن دیگری با هوادهی و اضافه نمودن متیلن بلو قرار داده می‌شدند. در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد تخم‌ها پس از ۴۸ ساعت به لارو و سه روز بعد به بچه ماهی با شناخت آزاد تبدیل می‌شدند. در هر تیمار (آکواریوم) ۴۰ بچه ماهی قرار داده شد و غذاده‌ی در شش نوبت صورت گرفت. غذاي مورد استفاده پودر آغازین قزل‌آلای رنگین کمان ساخت شرکت بیومار فرانسه (۴۰٪ پروتئین خام) بود. بچه ماهیان گوپی به ۷ گروه (شامل A,B,C,D,E,F,G) و بچه ماهیان سیچلاید نیز به ۷ گروه (شامل H,I,J,K,L,M,N) تقسیم و هر گروه بترتیب با استفاده از غذای واحد ۳۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و صفر (شاهد G) میلی گرم هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به ازای هر کیلو گرم غذا، غذاده‌ی شدند.

## مقدمه

امروزه آکواریوم و ماهیان زیستی به خوبی توانسته‌اند در این دنیای صنعتی، جای خود را در خانه‌های مردم باز کنند و این شاخه از علم شیلات به یک صنعت بزرگ و تجاری سود آور تبدیل شده است. ماهیان زیستی آب شیرین در مناطق مختلفی از جهان یافت می‌شوند و در صنعت آکواریوم مورد بهره برداری و تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند. این ماهیان عموماً بومی مناطق استوایی هستند، ولی در هر نوع شرایطی مطابق با شرایط اقلیمی آن نواحی قادر به زندگی خواهند بود. این ماهیان به طور معمول در کمتر از ۶ ماهگی بالغ می‌شوند و در طول دوره زندگی تقریباً همواره در حال تولید مثل هستند و در هر بار تعداد قابل توجهی لارو و بچه ماهی تولید می‌کنند. در بسیاری از گونه‌های ماهیان، پرورش ماهیان تک جنس رشد و بازدهی بیشتری را بدنبال دارد. همچنین نرسازی روش مناسبی برای جلوگیری از تولید مثل‌های زودهنگام به شمار می‌آید. این امر انگیزه نرسازی را در محققین و آبزی پروران برانگیخته است (۵). ماهی گوپی (Poecilia reticulata) از خانواده پوسیلیده و زنده زا Cichlasoma nigrofasciatum است. ماهی سیچلاید گورخری (Cichlasoma nigrofasciatum) از خانواده سیکلیده و تخم‌گذار می‌باشد (۷). در این ماهیان نرسازی از بروز تولید مثل زودهنگام و نا مطلوب جلوگیری می‌کند، این امر سبب تولید ماهیان درشت‌تر و بازار پسندتر می‌شود. لذا استفاده از روش مستقیم تیمار هورمونی می‌تواند سبب افزایش بهره‌وری شده و سود بیشتری را برای تولید کنندگان این گونه‌ها به همراه داشته باشد. در عین حال تعیین دوز مطلوب هورمون به منظور رسیدن به کمترین تلفات به لحاظ بهره‌وری اقتصادی برای کارگاه‌های تکثیر و پرورش مفید است.

## مواد و روش‌ها

به منظور انجام این آزمایش از هورمون ۱۷ آلفا-

## جدول ۱ آورده شده است.

همان طور که از جدول استنباط می شود، نتایج حاصل از بررسی‌ها بروز تلفات را در ماهیان سیچلاید گورخری و گوپی با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلا- متیل تستوسترون تایید نمودند. درگروه الف (بچه ماهیان گوپی) تیمار A (۳۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۳/۳٪، تیمار B (۶۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۵/۸٪، تیمار C (۱۰۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۱۱/۸٪، تیمار D (۱۵۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۱۹/۱٪، تیمار E (۲۰۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۲۹/۱٪، تیمار F (۳۰۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا) ۴۶/۶٪ و در تیمار G (شاهد) (بدون اضافه کردن هورمون) ۳/۳٪ درصد تلفات مشاهده شد. در این گروه (بچه ماهیان گوپی) در مورد فاکتور درصد تلفات، تیمارهای D، E، F، A، D، E، F اختلاف معنی داری را با گروه شاهد (G) نشان دادند و تیمارهای A، B، C، D، E، F، G قاقد اختلاف معنی دار بودند ( $P<0.05$ ). لذا می‌توان گفت تجویز مقادیر ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا، تلفات را تا حدود معنی داری افزایش می‌دهد ( $P<0.05$ ). در مورد رابطه بین افزایش غلظت هورمون و تغییر درصد تلفات و با توجه به نتایج آزمون ضریب همبستگی می‌توان بیان نمود ارتباط مستقیم معنی داری بین افزایش دوز تیمار و افزایش درصد تلفات وجود دارد ( $P<0.005$ ).

هورمون با استفاده از روش استاندارد خشک‌سازی توسط الكل (Alcohol Dry Method) به غذا اضافه شد. به این منظور مقدار هورمون نیاز توسط ترازوی دیجیتال به دقیقاً ۰.۰۰۰۱ گرم توزین و در الكل اتیلیک ۹۶ درجه کاملاً حل شد. محلول الكلی هورمون به صورت یکنواخت روی غذا اسپری شده و خوب با آن مخلوط گردید. این عمل چندین بار تکرار شد تا تمامی مقدار الكل در نظر گرفته شده به غذا اضافه گردد. بعد از ۲۴ ساعت و تبخير کامل الكل، غذا جمع آوری و در طول آزمایش در یخچال نگهداری شد. به غذای مخصوص تیمارهای شاهد نیز به مقدار مساوی با غذای حاوی هورمون، الكل زده شد و بعد از خشک شدن برای تغذیه ماهی‌ها استفاده شد. به این صورت همه تیمارها غذای کاملاً یکسانی را دریافت کردند و فقط مقدار هورمون در آنها متفاوت بود (۳). تعیین عقیمی در ماهیان بوسیله آزمایش‌های بافت شناسی مشخص شد، برای این منظور از هر تیمار ۱۵ عدد ماهی بصورت زنده شدند. آنالیزهای آماری و رسم نمودارها بوسیله نرم افزارهای SPSS و EXCEL انجام شد. این آزمایش در سه تکرار انجام گردید.

## نتایج

اطلاعات حاصل از ثبت روزانه تعداد و درصد تلفات مربوط به گروه الف (بچه ماهیان گوپی) و گروه ب (بچه ماهیان سیچلاید گورخری) به تفکیک در

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین درصد تلفات در ماهیان گوپی و سیچلاید گورخری

تیمار							
۰ mg/kg food (شاهد)	۳۰۰ mg/kg food	۲۰۰ mg/kg food	۱۵۰ mg/kg food	۱۰۰ mg/kg food	۶۰ mg/kg food	۳۰ mg/kg food	
۳/۳	۴۶/۶	۲۹/۱	۱۹/۱	۱۱/۸	۵/۸	۳/۳	گوپی
۰/۸	۳۷/۵	۲۴/۱	۱۵/۸	۷/۵	۵	۳/۳	سیچلاید گورخری

(*Cichlasoma nigrofasciatum*) نیز وجود این رابطه را تایید نمودند(۱).

علیرغم اینکه تجویز خوراکی هورمون MT در ماهیان در دوره تغییرپذیری (دوره‌ای که صفات ثانویه و فنوتیپ جنسی ماهیان بارز نشده و تا حدودی میتوان با روشهای مختلف جنسیت را تغییر داد. این دوران با توجه به گونه‌های مختلف اغلب منطبق بر دوران جنینی و لاروی است) سبب نرسازی میشود، اما از طرفی همانطور که مشاهده میشود افزایش دوز هورمون تلفات را به طور معنی‌داری افزایش داد.

با بررسی داده‌های آماری می‌توان به این نتیجه رسید که افزایش غلظت در تیمارهای هورمونی باعث افزایش شدید تلفات در بچه ماهیان می‌شود. اختلاف در میزان تأثیرگذاری هورمون در این دو ماهی را می‌توان در اختلافات میان گونه‌ای و اختلافات میان خانواده‌ها و مقاومت آنها به بیماریها، شرایط نامطلوب زیستی و فیزیولوژیک جستجو نمود. همانطور که مشاهده می‌شود میزان تلفات در ماهی سیچلاید گورخری نسبت به ماهی گوپی کمتر بوده است، این اختلاف را میتوان در مقاوم بودن سیچلاید نسبت به گوپی دنبال کرد که در شرایط معمول پرورش نیز تلفات سیچلایدها بسیار کمتر می‌باشد.

از بحث اخیر میتوان چنین نتیجه‌گیری کرد که تأثیرپذیری سیچلایدها (خانواده سیکلیده) در مورد تجویز خوراکی هورمون MT از ماهیان زنده زا (خانواده پوسیلیده) به مراتب بیشتر می‌باشد (۶)، با توجه به اینکه تجویز خوراکی هورمون MT در ماهیان با هدف نرسازی انجام می‌شود، اما از طرفی باید توجه داشت که تجویز دوزهای زیاد هورمون، بروز عقیمی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

درگروه ب (بچه ماهیان سیچلاید گورخری) تیمار H (۳۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار I (۶۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار J (۱۰۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار K (۱۵۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار L (۲۰۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار M (۳۰۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا)، تیمار N (شاهد) (بدون اضافه کردن هورمون) درصد تلفات مشاهده شد. در این گروه (بچه ماهیان سیچلاید گورخری) در مورد فاکتور درصد تلفات، تیمارهای L, K, M اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد (N) نشان دادند. اما تیمارهای H و L با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ( $P<0.05$ ). لذا می‌توان گفت تجویز مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا، تلفات را تاحد معنی‌داری افزایش می‌دهد ( $P<0.05$ ). درمورد رابطه بین افزایش دوز تیمار هورمونی و تغییر درصد تلفات و با توجه به نتایج آزمون ضربی همبستگی می‌توان بیان نمود ارتباط مستقیم معنی‌داری بین افزایش دوز تیمار و افزایش درصد تلفات وجود دارد ( $P<0.005$ ).

## بحث

محققین با تجویز خوراکی هورمون MT به مدت ۳۶ روز در ۴۹ روز پس از تفریخ در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) افزایش میزان تلفات را متناسب با افزایش میزان تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون تایید نمود (۲). با تجویز خوراکی هورمون MT به مدت ۳۰ روز در بچه ماهیان یک روزه ماهی گوپی افزایش میزان تلفات را متناسب با افزایش میزان تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون تایید نمود (۱ و ۶). با تجویز  $200\text{ mg/kg}$  هورمون MT به مدت ۲۰ روز در بچه ماهیان سیچلاید گورخری

- 3- George, T. pandian, T.J (1996): .Hormonal induction of sex reversal and progeny testing in the zebra cichlid *Cichlasoma nigrofasciatum*. Aquaculture research. 146.342-361.
- 4- Pandian, T.J. kirankumar, s. (2003): Recent Advances in Hormonal induction of sex- Reversal in fish. Aquaculture 221, 184-191.
- 5- Piferrer, f.Lim, L, c. (2004): sex reversal in ornamental fish.abstract.springer.com.
- 6- Piferrer, F. (2002): Endocrine sex control strategies for feminization of teleost fish. Aquaculture.197, 229-281.
- 7- Sandford, Gina. (1998): The Aquarium fish Keeping.288p.

تهران و واحد لاهیجان، گروه شیلات و همین طور معاونت پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## منابع

- ۱- امینی، محمد. (۱۳۸۰): بررسی امکان نر سازی ماهی گوبی توسط هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون. پایان نامه کارشناسی ارشد صفحه ۹۸.
  - ۲- فرحمدن، حمید. (۱۳۷۲): ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی بوسیله هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون. پایان نامه کارشناسی ارشد.
- دانشکده منابع طبیعی تربیت مدرس صفحه ۱۰۲.

