Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

The effect of 17 alpha-methyl testosterone, aromasin and green light radiation on the production of all male populations in (*Xiphophorus helleri*)

Ali Hajibeglou[*1], Kimia Alaei[2], Vali Allah Jafari[3], Seyed Hossein Hoseinifar[4], Ali Jafar[5]

1. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: alihajibeglou@gmail.com
2. M.Sc. Student of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kimia.allaei.75@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: v.jafari.sh110@gmail.com
4. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hoseinifar@gau.ac.ir
5. Ph.D. Student of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.jafar55@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.08.2022
Revised: 06.21.2022
Accepted: 08.01.2022

Keywords:
Green light radiation and aromatase inhibitor,
Hormone 17 alpha-methyl testosterone,
Ornamental fish,
Xiphophorus helleri

ABSTRACT

The alpha-17-methyltestosterone is one of the androgens hormone involved in the sexual cycle and is used to increase growth and change sexual secondary charactristics. The aim of this study was to induction of masculinization in *Xiphophorus helleri*. in this experiment, fish in experimental groups including: Control group, 17 alpha-methyl testosterone with 3 levels (400, 300 and 500 mg/kg diet), aromasin with levels (45, 30 and 60 mg/kg diet) and green light radiation (12 hours of light and 12 hours of darkness) each with 3 repetitions for 45 days. Results showed that in group with 45 mg aromasin /kg diet (79.9%) higher percentage of masculinization were observed. The percentage of masculinization in females treated in treatment green light was significantly higher than other treatmens. Also, The percentage of survival in the green light group and aromasin was higher than 17 alpha-methyl testosterone group. In general, according to the results of masculinization, the percentage of masculinization in females treated with 45 mg aromasin/kg diet and green light treatment were recognized as the highest results, respectively. Overall, the results showed that in order to induction of masculinization in swordfish, Aromasin could be a suitable alternative to methyltestosterone.

Cite this article: Hajibeglou, Ali, Alaei, Kimia, Jafari, Vali Allah, Hoseinifar, Seyed Hossein, Jafar, Ali. 2023. The effect of 17 alpha-methyl testosterone, aromasin and green light radiation on the production of all male populations in (*Xiphophorus helleri*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (1), 15-25.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20195.1653
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

تأثیر هورمون ۱۷ آلفا– متیل تستوسترون، آروماسین و تابش نور سبز بر تولید جمعیت تمام نر در ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*)

علی حاجی‌بگلو*[۱]، کیمیا علائی[۲]، ولی‌اله جعفری[۳]، سید حسین حسینی‌فر[٤]، علی جافر[٥]

۱. نویسنده مسئول، استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: alihajibeglou@gmail.com

۲. دانشجوی کارشناسی‌ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: kimia.allaei.75@gmail.com

۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: v.jafari.sh110@gmail.com

٤. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hoseinifar@gau.ac.ir

۵. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: a.jafar55@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰۲/۱۸
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۳/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۵/۱۰

واژه‌های کلیدی:
تابش نور سبز و مهارکننده آروماتاز، ماهی زینتی، هورمون ۱۷ آلفا–متیل تستوسترون، *Xiphophorus helleri*

چکیده

هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون از جمله آندروژن‌هایی است که در سیکل جنسی نقش داشته و برای افزایش رشد و تغییر صفات ثانویه مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پژوهش با هدف ایجاد جمعیت تمام نر در ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*) انجام شد. در این آزمایش ماهیان در قالب گروه‌های آزمایشی شامل گروه کنترل، هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون با ۳ سطح (۳۰۰، ٤۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره)، آروماسین با سطح (۳۰، ٤۵ و ٦۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و تابش نور سبز (به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) هر یک با ۳ تکرار به مدت ٤۵ روز اجرا شد. در این آزمایش در گروه آروماسین ٤۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره (۷۹/۹ درصد) بیش‌ترین درصد نرسازی دیده شد. درصد مولدین ماده تغییر جنسیت یافته به نر در تیمار نورسبز بالاتر از سایر تیمارها بود. هم‌چنین درصد بقا در تیمار نورسبز و آروماسین بالاتر از تیمار ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون بود. در مجموع با توجه به درصد نرسازی و درصد مولدین ماده تغییر جنسیت یافته به نر به ترتیب تیمار نورسبز و تیمار آروماسین بهترین تیمار تشخیص داده شد. در مجموع نتایج نشان داد به‌منظور القای نرسازی در ماهی دم‌شمشیری آروماسین می‌تواند گزینه مناسبی برای جایگزینی با هورمون متیل تستوسترون باشد.

استناد: حاجی‌بگلو، علی، علائی، کیمیا، جعفری، ولی‌اله، حسینی‌فر، سید حسین، جافر، علی (۱۴۰۲). تأثیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، آروماسین و تابش نور سبز بر تولید جمعیت تمام نر در ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۲ (۱)، ۲۵-۱۵.
DOI: 10.22069/japu.2022.20195.1653

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

ماهی دم‌شمشیری یکی از ماهیان آب شیرین، زنده‌زا و مراحل رشد و نمو جنین در داخل بدن ماهی ماده سپری می‌شود به همین دلیل محدودیت‌هایی در تغییر جنسیت آن وجود دارد و روش‌های تغییر جنسیت ژنتیکی و دستکاری‌های کروموزومی که نیاز به تیمار اسپرم یا تخمک دارد در مورد این ماهی قابل‌اجرا نیست، چون لقاح به‌صورت داخلی انجام می‌شود و تخم داخل بدن ماهی ماده باقی می‌ماند (۱). از این‌رو تنها روش قابل‌اجرا در این ماهی تغییر جنسیت هورمونی است که می‌تواند به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم اجرا شود (۲).

در ماهی و هم‌چنین سایر مهره‌داران خون‌سرد، تغییر جنسیت می‌تواند به وسیله تیمارهای هورمونی و گاهی اوقات به وسیله تیمارهای محیطی القا شود (۳). در این راستا هر گونه تمهیداتی که موجب افزایش درصد نرزایی در تکثیر این گونه گردد توجیه اقتصادی این گونه را موجب می‌شود. بدین‌ترتیب روش‌های متفاوت برای تغییر جنسیت در ماهیان زینتی پیگیری می‌شود که یکی از این روش‌ها، روش تغییر جنسی از طریق مصرف هورمون می‌باشد (٤). متداول‌ترین آندروژنی که در مطالعات تغییر جنسیت به کار برده می‌شود ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون است که در بیش از ۲۵ گونه آزمایش شده موثر بوده است (۵).

بسیاری از پژوهش‌گران علاقه‌مند به پژوهش در خصوص تغییر جنسیت جانوران در ارتباط با استفاده از آنتی‌استروژن‌ها و آنتی‌آروماتازها، که دارای اثرات جانبی کم‌تری هستند، می‌باشند (٦). از این جهت در این پژوهش به‌دنبال تاثیر داروی آروماسین به‌عنوان یک ترکیب آنتی استروژنی بر تغییر جنسیت ماده به نر در ماهیان خواهیم بود.

در تمایز جنسی ماهی، آنزیم آروماتاز سیتوکروم پی ٤۵۰ آندروژن‌ها را به استروژن تبدیل می‌کند. این یک گام مهم برای استفاده از مهارکننده‌های آروماتاز است که به نوبه خود باعث نرینگی می‌شود زیرا استروژن‌ها به‌طور فعال در تمایز جنسی طبیعی ماده‌ها یا به عبارت دیگر ایجاد جنس ماده نقش دارند در حالی‌که آندروژن‌های طبیعی در تمایز جنسی شرکت نمی‌کنند؛ بنابراین مهارکننده‌های آروماتاز مصنوعی موجود در بازار، یعنی آناستروزول، لتروزول، فادروزول، اگزمستان و غیره با استفاده از فعالیت آنزیمی خود مانع تبدیل آندروژن به استروژن شده و در نتیجه با بالا بردن سطح تستوسترون در بدن ماهی، در تولید جمعیت تمام نر استفاده می‌شوند. مهارکننده‌های آروماتاز قادرند از طریق مهار تمایز تخمدان ناشی از استروژن، نرینگی را در ماهی‌ها القاء کنند (۷).

مکانیزم اثر داروی آروماسین به این صورت است که تبدیل آندروژن به استروژن را از طریق سیستم آنزیمی آروماتاز مهار می‌کند و مصرف این دارو باعث افزایش میزان هورمون‌های جسم زرد و محرکه فولیکولی شده که در نتیجه سبب افزایش سطح تستوسترون در بدن می‌شود (۸). به نظر می‌رسد این دارو بتواند با بالا بردن سطح تستوسترون در بدن ماهی سبب تکامل گناد به سمت تشکیل بیضه در بدن و در نتیجه نرسازی شود. بنابراین دژنره شدن دیواره اووسیت‌ها مانع از تکامل و رشد اووسیت‌ها و در نهایت مانع از تکامل و رشد گنادها و نابارور شدن آن‌ها می‌شود. به‌علاوه تغییرات سطوح استروئیدهای جنسی (استرادیول و تستوسترون) نیز می‌تواند منجر به کاهش باروری گنادها و عدم تکامل و بلوغ آن‌ها شود. همان‌طور که گفته شد اروماسین یک مهارکننده قوی آروماتاز می‌باشد (۹).

در برخی از گونه‌های ماهیان عوامل محیطی مانند دمای آب، پی‌اچ (۱۰ و ۱۱). چگالی آب پرورش و دوره نوری (۱۲). تمایز جنسی وابسته به ژنوتیپ را

سرکوب می‌کند و باعث تغییر جنسیت می‌شود (۱۳). مکانیسم عمل اثر نور سبز در نرسازی به‌طور دقیق مورد مطالعه قرار نگرفته است ولی به‌نظر می‌رسد برخی طول موج‌های نور مرئی مانند نور سبز می‌تواند سبب بروز استرس در ماهی شده و در نتیجه سطح کورتیزول بدن را افزایش دهد. افزایش کورتیزول نیز می‌تواند سبب سرکوب شدن و ممانعت از بیان ژن‌های دخیل در فعالیت‌های آروماتازی شود. هم‌چنین برخی طول موج‌های نور مرئی می‌تواند سبب مرگ سلولی یا ممانعت از تقسیمات طبیعی سلولی شوند. این موضوع در حشرات نیز دیده می‌شود به‌طوری که به عنوان مثال برخی طول موج‌های نور مرئی مربوط به نور آبی در برخی حشرات سبب مرگ آن‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد جلوگیری و سرکوب کردن تقسیمات سلولی لایه زایا در سلول‌های گنادی جنین توسط تابش نور سبز، سبب القای تغییر جنسیت فنوتیپی در ماهیان می‌شود (۱٤). بر این اساس تابش نور سبز با طول موج خاص می‌تواند محرکی برای تغییر جنسیت باشد.

این پژوهش با هدف تعیین میزان تأثیر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، آروماسین و تابش نور سبز بر تغییر جنسیت و تولید ماهیان تک جنس نر دم‌شمشیری *Xiphophorus helleri* صورت پذیرفته است. در این پژوهش به‌دنبال یافتن روش‌های نوین، با هزینه‌های کم‌تر، خطرات جانبی کم‌تر و روش‌های جایگزین برای روش‌های قدیمی‌تر مانند ترکیبات هورمونی هستیم.

مواد و روش‌ها

ماهیان پیش مولد مورد نیاز در این آزمایش از نژاد قرمز پرچمی از یکی کارگاه‌های تکثیروپرورش ماهیان زینتی داخل کشور (گرگان، شصت‌کلا) انتخاب و به مرکز تحقیقاتی آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی، دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی و به‌مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با شرایط پرورش، نگهداری و پس از اتمام دوره سازگاری به‌صورت تصادفی در ۹ گروه آزمایشی و هر یک با سه تکرار در ۱۰ آکواریوم ۳۰ لیتری به ابعاد ۳۰×٤۰×٦۰ سانتی‌مترمکعب (یک آکواریوم برای نگهداری ماهیان نر) و با تراکم ۱۰ عدد ماهی توزیع شدند. و در هر آکواریوم به نسبت ٤ ماده به ۱ نر نگه‌داری شدند. در ضمن برای تغذیه ماهیان در دوره سازگاری از غذای تجاری ۲۱ بیضا (۱۵). به صورت دستی و روزانه در دو نوبت ۹ صبح و ۱۵ بعدازظهر به میزان تقریبی ۵ درصد وزن بدن صورت گرفت. در طول مدت آزمایش آب آکواریوم‌ها با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، پی‌اچ ۷ ثابت بود. هر روز نیم ساعت پس از اخرین نوبت غذادهی، مدفوع و غذاهای خورده نشده از کف آکواریوم سیفون شده و تعویض آب نیز به صورت روزانه و به میزان دو سوم کل آب هر آکواریوم اجرا شد.

هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و آروماسین از یکی از شرکت‌های معتبر (ایران، داروسازی ابوریحان) تهیه و به‌منظور اثر گذاری بهتر هورمون و آروماسین در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حاوی ۵-۳ درصد ژلاتین اضافه و بعد از ترکیب بر روی جیره مصرفی در هر ۹ تیمار آزمایشی اسپری و به ماهیان ارائه شد.

تیمارهای در نظر گرفته شده در این آزمایش شامل: تیمار کنترل، کنترل منفی، سه دوز هورمونی ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون ۳۰۰، ٤۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، سه دوز آروماسین ۳۰، ٤۵ و ٦۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره و تیمار تابش نور سبز که از لامپ‌های ال ای دی نواری سبز رنگ (تراکم ٦۰ لامپ در ۵ متر، ولتاژ ورودی ۱۲ وات، طول موج

۵۵۰-۵۷۰ نانومتر و دارای روکش ضدآب) استفاده شد. نوار لامپ‌های ال ای دی در فاصله ۵ سانتی‌متری از سطح آب نصب شد (۱٤). به این شکل که مولدین دارای جنین به‌مدت ٤۵ روز با غذای حاوی هورمون و داروی مهارکننده آروماسین تغذیه شدند و بلافاصله بعد از این دوره بچه‌ماهیان متولد شده جدا شده و برای بررسی درصد نرسازی براساس شاخص‌های مورفولوژیک و آزمایش‌های بعدی در آکواریوم نگه‌داری شدند. بچه‌ماهیانی که قبل یا بعد از این زمان به دنیا آمدند از آزمایش حذف شدند.

در پایان آزمایش شاخص‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت (۱۵).

۱۰۰ × (وزن بدن / وزن گناد) = شاخص گنادوسوماتیک

۱۰۰× (تعداد اولیه ماهی / تعداد نهایی ماهی) = درصد بقاء

۱۰۰ × (تعداد کل لارو متولد شده / تعداد کل لارو معیوب) = تعداد لارو معیوب

۱۰۰× (تعداد ماهی اولیه / تعداد ماهی‌های تغییر جنسیت یافته) = درصد ماده‌های تغییر جنسیت یافته

(تعداد مولدین ماده در آن تیمار) / (تعداد لارو متولد شده از هر تیمار در کل دوره) = تعداد کل لارو به‌ازای هر مولد ماده

(میانگین وزن مولد ماده (گرم)) / (میانگین تعداد لاروهای متولد شده در کل دوره آزمایش) = هماوری نسبی

به‌منظور اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های استرادیول و تستوسترون از کیت ایمنوتک (ساخت کشور آلمان) و روش رادیوایمنواسی بر اساس واکنش رقابتی بین آنتی‌ژن نشان‌دار (تستوسترون یا استرادیول) با آنتی‌بادی فاز جامد با گاما کانتر (ساخت کشور فنلاند) اندازه‌گیری و پردازش شد. هم‌چنین برای استاندارد کردن روش از کالیبراتورهای ایمنوتک استفاده شد. بدین‌ترتیب مقادیر هورمون‌ها بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (۱٦). در انتها برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها هر دسته در قالب یک طرح کاملاً تصادفی جداگانه بررسی شدند و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای تعیین بهترین تیمار به کار رفت.

نتایج

نتایج این پژوهش (جدول ۱) نشان داد جمعیت نر در تیمار ٤۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره آروماسین (۷۹/۹۳ درصد) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). همان‌طور که ملاحظه می‌شود جمعیت نر در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (۷۲/۳±۲/۵۱)، تیمار ٤۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (٦۹/۵±٤/۷٦)، تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (۷۱/۰۰±۳/٦۰)، تیمار آروماسین ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره (۷۰/۲۲±۳/٦۷) و تیمار آروماسین ٦۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره (۷۰/٦٦±٤/۰٤) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵) اما این ۵ تیمار اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). هم‌چنین تیمار نور سبز (۳٤/۷۳±۸/٤٦) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل بود اما نسبت به سایر تیمارها کم‌تر بود (P<۰/۰۵). از سوی دیگر تیمار کنترل و کنترل منفی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد با توجه به اثرات و عوارض نامطلوب هورمون‌ها، می‌توان تیمار آروماسین را به عنوان جایگزین مناسب برای هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون معرفی نمود.

نتایج نشان داد پایین‌ترین میزان تستوسترون در تیمار کنترل (۱/۰۸±۶/۲۰) مشاهده شد. در این آزمایش میزان تستوسترون در پنج تیمار شامل: تیمار ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و تیمار ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم آروماسین به ترتیب ۵۰/۵۰±۱۶۸/۳۳، ۶/۰۸±۱۶۹/۰۰، ۱۱/۷۱±۱۶۲/۶۶، ۲/۰۲±۱۵۸/۶۶ و ۰/۵۷±۱۶۰/۳۳ نانوگرم در میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل بود (P<۰/۰۵)، اما این پنج تیمار اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵)، هم‌چنین میران تستوسترون در تیمار نور سبز برابر با ۳/۰۱±۱۷/۸۳ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل بود اما نسبت به سایر تیمارها کم‌تر بود (P<۰/۰۵).

در این آزمایش میزان استرادیول در گروه کنترل (۰/۳۴±۳/۸۹) نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین میزان استرادیول در نور سبز (۰/۰۷±۱/۱۸) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه کنترل بود اما نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). در این آزمایش میزان استرادیول در شش تیمار شامل: تیمار ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و تیمار آروماسین ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره به‌ترتیب با ۰/۰۲±۰/۸۸، ۰/۰۵±۰/۸۴، ۰/۰۵±۰/۸۶، ۰/۰۲±۰/۸۸، ۰/۰۱±۰/۸۷ و ۰/۰۱±۰/۸۲ نانوگرم در میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار نورسبز و گروه کنترل بود (P<۰/۰۵)، اما این شش تیمار اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). میانگین میزان پروژسترون در تیمارهای ۱۷ آلفا- متیل تستوتسترون با مقادیر ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، آروماسین با مقادیر ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). بالاترین میزان پروژسترون در تیمار کنترل و پس از آن در تیمار نور سبز مشاهده شد (جدول ۱). به علاوه بین تیمار نورسبز با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵).

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های نسبت‌های جنسی در ماهیان دم‌شمشیری تغذیه شده با جیره‌های حاوی هورمون‌های ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، آروماسین و تابش نورسبز.

تیمار	فاکتور			
	نرسازی لارو (درصد)	تستوسترون (ng/ml)	استرادیول (ng/ml)	پروژسترون (ng/ml)
۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون (300 mg/kg)	72.33±2.51^{b}	168.33±5.50^{a}	0.88±0.02^{bc}	1.31±0.11^{c}
۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون (400 mg/kg)	69.50±4.76^{b}	169.00±6.08^{a}	0.84±0.05^{c}	1.67±0.71^{c}
۱۷ آلفا- متیل‌تستوسترون (500 mg/kg)	71.00±3.60^{b}	162.66±11.71^{a}	0.86±0.05^{bc}	1.48±0.29^{c}
آروماسین (30 mg/kg)	70.22±3.67^{b}	111.66±10.40^{b}	0.88±0.02^{bc}	1.21±0.13^{c}
آروماسین (45 mg/kg)	79.93±3.43^{a}	158.66±2.02^{a}	0.87±0.01^{bc}	1.39±0.27^{c}
آروماسین (60 mg/kg)	70.66±4.04^{b}	160.33±0.57^{a}	0.82±0.01^{c}	1.74±0.11^{c}
نورسبز	34.73±8.46^{c}	17.83±3.01^{c}	1.18±0.07^{b}	3.11±0.50^{b}
کنترل منفی	23.31±0.57^{d}	6.20±1.08^{d}	3.97±0.36^{a}	8.52±0.49^{a}
کنترل	24.13±3.13^{d}	6.33±2.08^{d}	3.89±0.34^{a}	8.01±0.59^{a}

در بررسی شاخص‌های تولیدمثلی بیش‌ترین مقدار نسبت تعداد لارو به‌ازای هر مولد (میانگین تعداد لارو متولد شده توسط هر مولد) و میزان هماوری در گروه کنترل و سپس در تیمار نور سبز مشاهده شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین تیمارهای ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و تیمارهای آروماسین به طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار نورسبز و گروه کنترل بود (P<۰/۰۵)، اما این تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). از سوی دیگر پایین‌ترین درصد بقا و بیش‌ترین درصد لارو معیوب در تیمارهای ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون مشاهده شد (P<۰/۰۵)، اما درصد بقا و درصد لارو معیوب در سایر تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار شاخص گنادوسوماتیک در تیمار ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و تیمارهای آروماسین مشاهده شد اما این تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. هم‌چنین کم‌ترین مقدار در تیمار نورسبز و گروه کنترل مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵) (جدول ۲). هم‌چنین در این آزمایش کم‌ترین درصد مولدین جنس ماده تبدیل به جنس نر شده به‌ترتیب در تیمارهای ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و آروماسین مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (P>۰/۰۵). هم‌چنین تیمار کنترل و تیمار نورسبز بالاترین درصد را به خود اختصاص دادند (P<۰/۰۵). در مجموع به نظر می‌رسد استفاده از نورسبز و آروماسین می‌تواند در زمینه نرسازی ماهی دم‌شمشیری کارایی و امنیت بالاتری نسبت به هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون داشته باشد (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین‌های عملکرد تولیدمثلی در ماهیان دم‌شمشیری تغذیه شده با جیره‌های حاوی هورمون‌های ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، آروماسین و تابش نورسبز.

تیمار	فاکتور					
	مولد / تعداد کل لارو	هماوری نسبی	بقا بچه‌ماهی (درصد)	GSI (درصد)	مولد ماده به نر (درصد)	لارو معیوب (درصد)
۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (300 mg/kg)	3.35±1.45^{c}	11.43±4.00^{c}	87.33±2.51^{a}	2.94±0.90^{ab}	0.45±0.30^{c}	2.33±0.57^{a}
۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (400 mg/kg)	2.83±1.48^{c}	8.74±3.03^{c}	72.66±3.05^{b}	3.03±0.76^{ab}	0.47±0.24^{c}	2.33±0.30^{a}
۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (500 mg/kg)	2.05±0.49^{c}	6.11±0.91^{c}	70.00±2.64^{b}	3.79±0.08^{a}	0.45±0.37^{c}	2.41±0.38^{a}
آروماسین (30 mg/kg)	2.75±0.76^{c}	9.40±1.70^{c}	86.33±11.84^{a}	3.75±0.73^{a}	0.42±0.13^{c}	0.90±0.60^{b}
آروماسین (45 mg/kg)	2.20±0.43^{c}	8.36±1.12^{c}	92.33±4.04^{a}	3.72±0.54^{a}	0.25±0.05^{c}	1.09±0.12^{b}
آروماسین (60 mg/kg)	1.42±0.93^{c}	5.62±3.80^{c}	0.82±0.01^{a}	3.29±0.29^{a}	0.45±0.28^{c}	1.38±0.36^{ab}
نورسبز	6.27±0.76^{b}	21.65±1.56^{b}	90.00±10.00^{a}	2.11±0.52^{bc}	1.98±0.68^{b}	0.53±0.93^{b}
کنترل منفی	8.61±1.00^{a}	35.65±4.85^{a}	93.33±5.77^{a}	1.83±0.10^{c}	3.29±0.10^{a}	0.41±0.72^{b}
کنترل	9.02±0.98^{a}	35.25±6.40^{a}	90.00±10.00^{a}	1.94±0.19^{c}	3.19±0.55^{a}	0.36±0.63^{b}

بحث

دو گروه هورمونی مؤثر در تعیین جنسیت، آندروژن‌ها و استروژن‌ها می‌باشند که آندروژن‌ها باعث ایجاد ماهیت نری در مراحل جنسی ماهی می‌شوند و استروژن‌ها باعث ایجاد ماهیت مادگی در مراحل جنسی ماهی می‌شوند. تیمارهای آندروژن در ماهیان در اغلب موارد مؤثر بوده و به نرسازی ماهی انجامیده است. متداول‌ترین آندروژنی که در مطالعات تغییر جنسیت به کار برده می‌شود ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون است و در بیش از ۲۵ گونه آزمایش شده مؤثر بوده است. براساس مطالعات و بررسی‌های انجام شده در زمینه ایجاد تک جنسی ماهیان قابل ذکر است که تفاوت‌های معنی‌داری در نسبت جنسی ماهیان گروه شاهد با سایر ماهیان در تیمار هورمونی، مشاهده شد (۱۷).

در این پژوهش با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون اختلاف بین تیمارها به لحاظ تعداد جنسیت مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. قابل ذکر است که در حالت نرمال تعداد ماهیان ماده سه برابر ماهیان نر در جمعیت وجود دارند. اگرچه تعیین جنسیت بر اساس صفات مورفولوژیک در ماهی بسیار مشکل است ولی در ماهی دم‌شمشیری *Xiphophorus helleri* با وجود زائده معروف در انتهای دم که به شکل شمشیر می‌باشد شناخت جنسیت ماهی به‌راحتی امکان‌پذیر است.

با توجه به میزان درصد نرسازی در تیمارهای مختلف در این پژوهش با تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، آن گونه که نتایج نشان می‌دهد به‌طور مستقیم بر افزایش نرسازی در جمعیت ماهیان بعد از داروی آروماسین که به‌عنوان مهارکننده آروماتاز فعالیت می‌کند تأثیر چشم‌گیری داشته است. از آن جایی که منشأ تحریک گیرنده‌های آندروژنی در بروز صفات ثانویه جنسی نر و تمایز سلول‌های جنسی اولیه به سمت تولید اسپرماتوگونی گنادها می‌باشد (۱۸). به نظر می‌رسد که تأثیر این هورمون هم در سطح بالا (مغز) و هم در محور پایین محور (گناد) بر پدیده نرزایی مؤثر باشد (۱۹). روی و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد مصرف خوراکی ۶۰ میلی‌گرم هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون در هر کیلوگرم غذای ماهی دم‌شمشیری *Xiphophorus helleri* به مدت ۲۸ روز ۸۰ درصد جمعیت نر را به وجود آورد (۲۰). هم‌چنین در پژوهش مشابه موسوی ثابت و همکاران (۲۰۱۰) با تجویز ۳۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون به‌ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۴۰ روز در بچه‌ماهیان سیچلاید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) توانستند تا حد معنی‌داری درصد جنسیت را به سمت جنسیت تمام نر تغییر دهند (۲۱). همین‌طور وبر و همکاران (۲۰۲۰) در پژوهش دیگری که روی تأثیر آلفا- متیل تستوسترون بر تغییر جنسیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام دادند نشان دادند که ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون باعث تولید ۱۰۰ درصد نئومیل می‌شود (۲۲). کوزمینسکی و دوبوز (۲۰۱۰) در پژوهشی دیگر که اثر هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و ۱۱ بتا هیدروکسی آندرستندیون در تغییر جنسیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام دادند نتایج نشان داد که در میان ماهیان تحت تیمار با ۱۱ بتا هیدروکسی آندرستندیون ۹۵ درصد ماده‌ها به نئومیل و در میان ماهیان تحت تیمار با هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون ۵۹/۷ درصد ماده‌ها به نئومیل تبدیل شدند (۲۳).

در ماهی تیلاپیای قرمز (*Oreochromis spp*) به‌منظور جایگزین کردن هورمون‌های استروئیدی با استفاده از دو نسل از مهارکننده‌های آروماتازی مطالعاتی انجام گرفته است (۲۴). طی این بررسی لاروهای ۵ روزه با جیره‌های غذایی با مقادیر ۲۵ و

۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا از اگزامتان، جیره شاهد مثبت با مقدار ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون و جیره شاهد منفی حاوی ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول بر کیلوگرم غذا در مدت ۳۰ روز و در دمای آب ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد مورد تغذیه قرار دادند. آن‌ها دریافتند از نظر نسبت‌های جنسی تفاوت معنی‌داری بین مهارکننده‌های آروماتازی و متیل تستسرون وجود نداشت. اما از نظر بقا و شاخص‌های رشد کارایی بالاتری نسبت به متیل تستوسترون مشاهده شد. پس از یک دوره ٦۰ روزه مطالعه بافت این ماهیان نشان داد که درصد تغییر جنسیت در تیمارهای مهارکننده آروماتازی و متیل تستوسترون تفاوت معنی‌درای با یکدیگر ندارند. با این وجود میزان بقا و شاخص‌های رشد در ماهیان در تیمارهای آنتی آروماتازی بالاتر بود. گائو و همکاران (۲۰۱۰) نیز با استفاده از داروی لترزول به دو روش غوطه‌وری و تغذیه‌ای بر روی ماهی *Lempomis macrochirus* موفق به ایجاد نرسازی در ۷۵ و ۷۰ درصد جمعیت ماهیان مورد مطالعه گردیدند که در پژوهش آن‌ها هیچ‌گونه تلفات و بدشکلی یا ناهنجاری در ظاهر ماهیان یا در بافت‌های مختلف بدن مشاهده نشد (۲۵). مطالعات متعددی در گذشته برای تولید جمعیت نر در *Carassius, Betta splendens* (۲٦)، *Lebistes, Zebra fario* (۲۷)، *Auratus* (۲۸)، *Xiphophorus helleri* (۲۹) و *petenia splendida* (۳۰) انجام شده است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

مطالعات چندانی در رابطه با اثر رنگ نور در تغییر جنسیت ماهیان گزارش نشده است. در مطالعه‌ای پژوهش‌گران با تابش نور طی مرحله تمایز جنسی، توانستند جنسیت ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) را تغییر دهند. این مطالعه نشان داد تابش برخی نورها بر تغییر جنسیت ماهی مداکا می‌تواند مؤثر باشد (١٤).

باید توجه داشت امروزه استفاده از هورمون‌ها در آبزی‌پروری و القای تک‌جنسی از طریق هورمون‌ها مانند ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون، ۱۱ بتا هیدروکسی آندرواستنودیون، ۱۷ آلفا- اتینیل تستوسترون و ...، مورد بحث و انتقاد می‌باشد. به‌نحوی‌که بسیاری از کشورهای دنیا با توجه به عوارض و اثرات جانبی مختلف این‌گونه هورمون‌ها، نسبت به ورود ماهیانی که تحت تیمارهای هورمونی (تیمارهای مستقیم یا غیرمستقیم هورمونی) قرار گرفته‌اند در سبد غذایی شهروندان (ماهیان خوراکی) خود جلوگیری می‌کنند و از سوی دیگر با ورود این‌گونه ترکیبات هورمونی به محیط زیست نیز مخالف جدی می‌کنند. در مجموع در این پژوهش به دنبال دستیابی به روشی با کارایی بالاتر، امن‌تر و جایگزینی مناسب برای ترکیبات هورمونی بودیم. به‌طورکلی نتایج نشان داد که در ماهیان دم‌شمشیری *Xiphophorus helleri* داروی آروماسین و نورسبز سبب افزایش درصد نرسازی و درصد بقاء در این ماهیان گردید. داروی آروماسین به‌عنوان گزینه پیشنهادی برای هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون می‌باشد و بهترین دوز برای این منظور آروماسین ٤٥ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره پیشنهاد می‌شود (۳۱).

منابع

1. Azari Takami, Gh., Farahmand, H., and Bahrami Kamangar, B. 2001. Creating materiality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by ultraviolet light. Natural Resources of Iran. 369-382: 54: 4. (Translated in Persian)
2. Azari Takami, Gh., Amini, M., and Naghavi, M. 2006. Investigate the possibility of creating all males in *Poecilia reticulata* by the hormone 17 alpha-methyl testosterone. Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources, 10: 2. 1-11. (Translated in Persian)
3. Baroiller, J.F., and D'Cotta, H. 2016. "The Reversible Sex of Gonochoristic Fish: Insights and Consequences", Sex Dev. 10: 242-266.
4. Mart, S., and Gross, G. 1996. Alternative reproductive strategies and tactics, Hormonal control of brood care and social status in a cichlid fish with brood care helpers. pp. 45-40.
5. Gale, D., Fitzpatrick, E., Lucero, I., and Contreras Sánchez, S. 1999. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. pp. 349-357.
6. Guiguen, Y., Fostier, A., Piferrer, F., and Chang, C.F. 2010. Ovarian aromatase and estrogens: a pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish. General and comparative endocrinology. 165: 3. 352-366.
7. Komatsu, T., Nakamura, S., and Nakamura, M. 2006. Masculinization of female golden rabbitfish Siganus guttatus using an aromatase inhibitor treatment during sex differentiation. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology. 143: 4. 402-409.
8. Elbercht, A., and Smith, R.G. 1992. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. Science, 255: 5043. 467-470.
9. Naji, T., Sahafi, H., Jazebizadeh, M., and Majidi, M. 2010. The effect of letrazole as an aromatase-enhancing drug on changes in sex steroid levels in adult and immature female zebrafish (*Cichlosoma nigrofasciatu*). Journal of Marine Science and Technology Research, 6: 1. 81-88. (Translated in Persian)
10. Sato, T., Endo, T., Yamahira, K., Hamaguchi, S., and Sakaizumi, M. 2005. Induction of female-to-male sex reversal by high temperature treatment in medaka (*Oryzias latipes*). Zoological science, 22: 9. 985-988.
11. Baroiller, J.F., D'Cotta, H., Bezault, E., Wessels, S., and Hoerstgen-Schwark, G. 2009. Tilapia (*Oreochromis niloticus*) sex determination: where temperature and genetics meet. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 153: 1. 30-38.
12. Brown, E.E., Baumann, H., and Conover, D.O. 2014. Temperature and photoperiod effects on sex determination in a fish. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 461: 39-43.
13. Devlin, R.H., and Nagahama, Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish (*Amphiprioninae*): an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 208: 3-4. 191-364.
14. Hayasaka, O., Takeuchi, Y., Shiozaki, K., Anraku, K., and Kotani, T. 2019. Green light irradiation during sex differentiation induces female-to-male sex reversal in the medaka (*Oryzias latipes*). Scientific reports, 9: 1. 1-8.
15. Hajibeglou, A. 2014. The effect of microencapsulation and use of ethanolic extract of Corcorus elitorius and Ficus Benghalensis on reproductive performance and growth indices of swordfish (*Xiphophorus helleri*). Phd thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (Translated in Persian)
16. Naji, T., Sahafi, H., Jazebizadeh, M., and Majidi, M. 2010. The effect of letrazole as an aromatase-enhancing drug on changes in sex steroid levels in adult and immature female zebrafish (*Cichlosoma nigrofasciatu*). Journal of Marine Science and Technology Research, 6: 1. 81-88. (Translated in Persian)

17.Yamazaki, E. 1983. Sex control and manipulation in fish . Laboratory of Embryology and Genetics, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan. pp. 12-19.
18.Amini, M. 2001. Investigation of the possibility of producing all males by 17 alpha-methyl testosterone in Poecilia reticulata. master thesis, University of Tehran. (Translated in Persian)
19.Karen, R., Watanabe, F., Li, E., Kroll, M., Villeneuve, O., Reyero Orlando, E., and Denslow, A. 2008. A Computational Model of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Male Fathead Minnows Exposed to 17α-Ethinylestradiol and 17β-Estradiol, Division of Environmental and Biomolecular Systems, Oregon Health and Science University, West Campus, pp. 180-192.
20.Roy, P.E., Yanong, J., Hill, E., Chris, J., Crag, D., and Watson, A. 2005. North American Journal of Aquaculture, 68: 3. 224-229.
21.Mousavi Sabet, H., Zamini, A., Vahabzadeh Rudsari, H., and Muradkhani, Z. 2010. Nursing using 17 alpha-methyltestosterone hormone through food and its effect on mortality, sterility and intermediate sex in zebrafish cichlids (*Amatitlania nigrofasciata*). Journal of Marine Science and Technology, 5: 3. 25-29. (Translated in Persian)
22.Weber, G.M., Leeds, T.D., and Schneider, R.P. 2020. Sex reversal of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* by immersion in 17α-methyltestosterone. Aquaculture, 528: 735535.
23.Kuzminski, H., and Dobosz, S. 2010. Effect of sex reversal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum using 17a-methyltestosterone and 11b-hydroxyandrostenedione. Fisheries & Aquatic Life, 18: 1. 45-49.
24.Betancur López, J.J., Quintero Velez, J.C., Ostos Alfonso, H., Barreiro-Sanchez, F., and Olivera Angel, M. 2014. Effectiveness of the aromatase (P450 Arom) inhibitors Letrozole and Exemestane for masculinization of red tilapia (*Oreochromis spp.*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 27: 1. 47-53.
25.Gao, Z.X., Wang, H.P., Wallat, G., Yao, H., Rapp, D., O'Bryant, P., and Wang, W.M. 2010. Effects of a nonsteroidal aromatase inhibitor on gonadal differentiation of bluegill sunfish Lepomis macrochirus. Aquaculture Research, 41: 9. 1282-1289.
26.Katare, M.B., Basavaraja, N., Joshi, H.D., and Archana, C. 2015. Effect of letrozole on masculinization of Siamese fighting fish (*Betta splendens*). Journal of Applied and Natural Science. 7: 1. 425-433.
27.Yamazaki, F. 1976. Application of hormones in fish culture. Journal of the Fisheries Board of Canada. 33: 4. 948-958.
28.Yamamoto, T.O., and Kajishima, T. 1968. Sex hormone induction of sex reversal in the goldfish and evidence for male heterogamity. Journal of Experimental Zoology. 168: 2. 215-221.
29.James, R., and Sampath, K. 2006. Effect of dietary administration of methyltestosterone on the growth and sex reversal of two ornamental fish species. Indian J. Fish. 53: 3. 283-290.
30.Kavumpurath, S., and Pandian, T.J. 1993. Production of YY male in the guppy Poecilia reticulata by endocrine sex reversal and progeny testing. Asian Fisheries Science. 5: 265-276.
31.Contreras-García, M.J., Contreras-Sánchez, W.M., Mcdonal-Vera, A., and Hernández-Vidal, U. 2018. Masculinization of the Native Bay Snook, Petenia splendida, Using Oral Administration of the Synthetic Steroid 17-methyltestosterone. J. World Aquac. Soc. 49: 889. doi: 10.1111/jwas.12449.