اثرات رژیم غذایی حاوی ۱۷- بتا استرادیول روی رشد، تغییر جنسیت و برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)

- **محمدرضا ایمانپور***: گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٣٦٤-٤١٦٣٥
- **احمد عرب صباحی**: دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، صندوق پستی: ٦١٩٦٤-٤٧٦٥١
- **معصومه بحرکاظمی**: دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، صندوق پستی: ٦١٩٦٤-٤٧٦٥١
- **مینا مختاری**: گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٣٦٤-٤١٦٣٥

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۳

چکیده

در این تحقیق اثرات رژیم غذایی حاوی ۱۷-بتا استرادیول روی رشد و تغییر جنسیت بچه ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ۲٤۰ قطعه بچه‌ماهی نورس گورامی به وزن اولیه ۰/۱۲±۱/۲٦ گرم طی ۹۰ روز با ۱۷-بتا استرادیول در دوزهای مختلف (۰، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم استرادیول در کیلوگرم جیره غذایی) تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش از بچه ماهیان جهت اندازه‌گیری هماتوکریت و گلبول‌های سفید خون‌گیری شد. یافته‌های آنالیز واریانس شاخص‌های رشد (ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و اختلاف وزن)، درصد هماتوکریت و تعداد گلبول‌های سفید بین تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (p>۰/۰۵). بیش‌ترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمار ۳ (دوز ۲۵ میلی‌گرم استرادیول در کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. نتایج حاصل از تاثیر۱۷-بتا استرادیول روی تغییر جنسیت اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف تیماری، نشان نداد (p>۰/۰۵)، اما با افزایش میزان هورمون ماده‌زایی روندی افزایشی داشت.

کلمات کلیدی: ماهی گورامی سه خال، ۱۷- بتا استرادیول، تغییر جنسیت

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mrimanpoor@yahoo.com

مقدمه

ماهیان لابیرنت‌دار از خانواده‌های آنابانتیده (Anabantidae)، بلونتیده (Belontiidae)، هلوستوماتیده (Helostomatidae) و اسفرونمیده (Osphronemidae) می‌باشند. گورامی ماهیان تجاری حدوداً ۸۰ گونه نسبتاً کوچک هستند که در آفریقا و آسیای جنوب‌شرقی یافت می‌شوند (Linke، ۱۹۹۱). اغلب گورامی ماهیان به‌دلیل رفتار تولیدمثلی جالبی که دارند محبوب علاقه‌مندان به ماهیان آکواریومی هستند، در اکثر گونه‌ها جنس نر تخم‌ها را در دهان یا لانه‌های حبابی شناور می‌پروراند (Mills، ۲۰۰۰). این ماهیان در چندین تحقیق زیست‌محیطی، مورفولوژیکی و ژنتیکی نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند (Franklen، ۲۰۰۵). گورامی سه خال (*Trichogaste trichopterus*) به‌طور طبیعی در جنوب ویتنام، جزایر سودا، تایلند و شبه جزایر مالایا یافت می‌شوند (Richter، ۱۹۸۸). گورامی سه خال از معروف‌ترین گونه‌های ماهی در مزارع برنج است و برخی اوقات در نواحی خاصی از آفریقا و آسیا برای مصارف خوراکی جمع‌آوری می‌شود (Alfred، ۱۹۶۲). جنسیت گورامی سه خال را می‌توان از باله پشتی تشخیص داد به‌طوری‌که در ماهی بالغ نر این باله کشیده و نوک تیز ولی در ماهی بالغ ماده دارای کشیدگی کم‌تر و نوک گرد می‌باشد (Cole، ۱۹۹۹). در فرایند تولیدمثلی گورامی سه خال معمولاً جنس نر با ساختن لانه‌های کف مانند که شامل حباب‌هایی است که در غشایی از موکوس قرار دارند از تخم‌ها نگه‌داری می‌کنند (Scheurmann، ۱۹۹۰). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه جهش، تولید واریته‌های مختلف و هیبریدگیری در گورامی ماهیان انجام شده ولی در زمینه تغییر جنسیت با استفاده از هورمون‌های آندروژن مطالعات کم‌تری صورت گرفته است (Richter، ۱۹۸۸).

در ماهیان زینتی علاوه بر زیبایی و رنگ، در بسیاری از گونه‌ها یکی از جنس‌ها از نظر میزان رشد و زمان بلوغ دارای ارزش بیش‌تری است. از این رو تکنیک تغییر جنسیت (نرسازی، ماده‌سازی و عقیم‌سازی) تاکنون درمورد حدود ۶۰ گونه از انواع ماهی‌ها اجرا شده است (Piferrer، ۲۰۰۱). در ایران مطالعه‌ای روی تغییر جنسیت ماهی گورامی انجام نشده و مطالعات انجام شده در ماهیان آکواریومی بسیار کم است و عمده مطالعات روی ماهیان خوراکی متمرکز بوده است. از جمله این مطالعات می‌توان به تغییر جنسیت ماهی قزل‌آلا (امینی و طلا، ۱۳۸۲؛ آذری‌تاکامی و همکاران، ۱۳۸۰) و کپور (آذری‌تاکامی و همکاران، ۱۳۷۵) اشاره نمود.

با توجه به این‌که استروئیدهای جنسی در مراحل طبیعی تمایز جنسی ماهیان شرکت دارند، می‌توان با استفاده از استروئیدهای اگزوژن، تمایز جنسی را در تمام ماهیان تمایز نیافته کنترل کرد. بدین ترتیب پرورش‌دهندگان بسته به این‌که چه جنسی از نظر رشد، رفتار، ضریب تبدیل غذایی، زمان بلوغ، رنگ بدن و طعم گوشت برایشان مطلوب‌تر است، می‌توانند از طریق یک درمان استروئیدی دوره تمایز جنسی را به سمت فنوتیپ مورد نظر تغییر دهند (Lim و Wong، ۱۹۹۶). تولید جمعیت‌های تماماً ماده در ماهیان می‌تواند باعث افزایش میزان تولید تخم از طریق پرورش ماهیان ماده واقعی و جلوگیری از بلوغ زودرس در ماهیان نر شود. علاوه بر این، پرورش جنسی که دارای بالاترین میزان رشد می‌باشد کیفیت و کمیت تولید را افزایش می‌دهد (Sower و همکاران، ۱۹۸۴).

یکی از روش‌های تولید جمعیت‌های تک‌جنسی ماده با استفاده از استروئیدهای جنسی، ماده‌سازی مستقیم می‌باشد. در ماده‌سازی مستقیم صرف‌نظر از روش به‌کار رفته، یک اصل کلی که در تمامی گونه‌ها عمومیت دارد این است که هورمون درمانی باید در طول دوره تمایز جنسی ماهیان انجام شود. پس از آن که زمان این دوره در گونه مورد نظر مشخص گردید برای دستیابی به بالاترین بازده اثر هورمون باید حداکثر مقدار هورمونی را که منجر به نتایج نامطلوب (کاهش رشد طولی و وزنی) نمی‌شود در کوتاه‌ترین زمان ممکن مورد استفاده قرار داد (ناجی و همکاران، ۱۳۸۷).

بر طبق معیارهایی که Yamamoto (۱۹۶۹) در مورد کنترل تمایز جنسی ماهیان ذکر کرده است، تغییرجنسیت در ماهیان به‌وسیله هورمون‌ها تنها زمانی می‌تواند منجر به نتایج مطلوب شود که هورمون درمانی در طول دوره تمایز جنسی و در زمانی رخ دهد که غدد تناسلی هنوز به‌طور کامل از نظر جنسی تمایز پیدا نکرده‌اند. این دوره زمانی در گونه‌های مختلف کاملاً متفاوت می‌باشد و حتی در گونه‌هایی که خویشاوندی نزدیکی با یکدیگر دارند نیز ممکن است در زمان‌های مختلفی از دوره تکامل رخ دهد. ماده‌سازی مستقیم تاکنون حداقل در ۵۶ گونه از ماهیان استخوانی که مربوط به ۲۴ خانواده مختلف می‌باشند به‌کار گرفته شده است (ناجی و همکاران، ۱۳۸۷). این روش در تمامی گونه‌های ماهیان صرف‌نظر از نوع سیستم تعیین جنسیت و این‌که چه جنسی (نر یا ماده) به‌صورت گامتیک و یا هتروگامتیک است کاربرد دارد و شامل استفاده از استروژن‌ها در طول مراحل اولیه رشد می‌باشد. در این روش با استفاده از یک استروژن طبیعی و یا مصنوعی، جنس مورد نظر در همان نسلی که استروژن

را دریافت کرده به‌دست می‌آید (Hendry و همکاران، ۲۰۰۳). این عمل از طریق غوطه‌ورکردن تخم‌ها یا لاروهای دارای کیسه زرده در حمام حاوی استروژن‌ها و هم‌چنین تجویز خوراکی استروژن‌ها امکان‌پذیر می‌باشد. اولین مطالعات در زمینه ماده‌سازی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد که طی آن padoa و همکاران (۱۹۳۷) با استفاده از استروژن طبیعی استرون (E۱) به‌روش غوطه‌وری اقدام به تولید جمعیت‌های ماده در این ماهی نمودند (ناجی و همکاران، ۱۳۸۷). میزان هورمون مصرفی و طول دوره درمان در این روش به عواملی مانند گونه مورد نظر و شرایط محیطی مثل درجه حرارت و طول دوره نوری بستگی دارد (Sower، ۱۹۸۴). آندروژن‌ها با مکانیسم‌های مجزا خصوصیات اولیه و ثانویه جنسی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. آندروژن‌ها به‌طور معمول جهت تحریک هورمونی رشد یا تغییر جنسیت در ماهیان کاربرد دارند (Sutherland، ۱۹۷۲). اثرات آن‌ها به گونه ماهی، سن، دوز و زمان قرارگیری در معرض هورمون بستگی دارد. دوزهای بالا و زمان کوتاه معمولاً برای تغییر جنسیت استفاده شده، حال آن‌که دوزهای پایین با زمان طولانی جهت تحریک رشد کاربرد دارند (Zakes و همکاران، ۲۰۰۰).

در ایران برای اولین‌بار حسینی (۱۳۷۳) با به‌کارگیری استروژن طبیعی ۱۷–بتا استرادیول (E۲) به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی ۶۰ روز موفق به تولید ۶۵٪ جمعیت ماده در این ماده گردید (ناجی و همکاران، ۱۳۸۷). در حال حاضر با بررسی‌های صورت گرفته در منابع موجود تاکنون تحقیقی در خصوص نقش هورمون ۱۷–بتا استرادیول روی ماهی گورامی سه خال صورت نگرفته است. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی ۱۷-بتا استرادیول روی رشد و تغییر جنسیت در ماهی گورامی سه خال انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی باران کوه استرآباد انجام شد و حدود ۶ ماه به طول انجامید. در این آزمایش ۱۲ عدد آکواریوم شیشه ای به ابعاد ۴۰×۶۰×۴۰ به‌عنوان واحدهای آزمایش استفاده گردید. حجم آب هر آکواریوم ۴۰ لیتر بود که به‌طور مداوم تعویض می‌شد. تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی با وزن حدود (۱/۲۶±۰/۱۲) از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در روستای توشن گرگان تحویل گرفته شد و ۲۴ ساعت جهت سازگاری در محیط قرار گرفتند و سپس زیست‌سنجی شده و به تعداد ۲۰ قطعه ماهی گورامی سه خال در هر آکواریوم رها شدند. در دو هفته اول آزمایش برای آداپتاسیون، ماهی‌ها با غذای بیومار (فاقد هورمون) تغذیه شدند و سپس مجدداً زیست‌سنجی گردیدند. بچه‌ماهیان تلف شده پس از خارج شدن از آکواریوم‌ها به‌طور دقیق شمارش و ثبت می‌گردید. آب مورد استفاده برای پرورش بچه ماهی‌های گورامی سه خال از آب شهری تأمین می شد. این آب ابتدا در یک مخزن ۵۰۰ لیتری برای مدت ۲۴ ساعت جهت کلرزدایی و هوادهی نگه‌داری می‌شد سپس مورد استفاده قرار می گرفت.

نحوه ساخت و آماده سازی جیره غذایی: در ابتدا ۴ بسته نیم کیلویی از بیومار ساخت فرانسه در ۴ تشت پلاستیکی به‌صورت جداگانه ریخته شد. هورمون ۱۷–بتا استرادیول ساخت شرکت SynoPharm آلمان، با مقادیر ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توسط ترازوی دیجیتال مدل BP۳۱۰P sartorious ساخت آلمان با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و سپس هر کدام در یک بشر جداگانه ریخته شد و مقدار ۱۰۰ سی‌سی الکل اتانول ۹۶ درجه به هر بشر اضافه شد و کاملاً با هورمون مخلوط گردیده و مخلوط به‌دست آمده از بشر به آب‌پاش انتقال داده شد که به‌صورت اسپری به تشت‌های شامل بیومار اضافه شد و به‌طور دستی آن‌ها را با هم مخلوط کرده و در آخر یک تشت بدون هورمون به‌عنوان غذای شاهد درنظر گرفته شد. غذاهای ساخته شده به‌مدت ۲۴ ساعت در محیط قرار گرفتند تا کاملاً الکل آن بپرد و سپس به‌میزان ۵٪ وزن بدن ماهی‌ها غذادهی صورت گرفت. توزین با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ ساخت شرکت DNA ژاپن صورت پذیرفت.

زیست‌سنجی: برای آگاهی از عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد بچه‌ماهیان، در طول تحقیق ۱۵ روز یک‌بار کلیه ماهیان با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. جهت زیست‌سنجی ۲۴ ساعت قبل از اندازه‌گیری و ۲۴ ساعت بعد از توزین جهت کاهش استرس و تلفات ماهیان غذادهی قطع گردید. لازم به ذکر است در زمان زیست‌سنجی، آکواریوم‌ها، شیلنگ‌ها و سنگ‌های هوا به‌طور کامل تمیز می‌شدند.

تغذیه و غذادهی: با توجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی هر یک از آکواریوم‌ها غذای مورد نیاز هر آکواریوم محاسبه و برای ۱۴روز بعد تنظیم می‌شد. غذادهی براساس مشاهدات و مدت زمان مصرف غذا توسط ماهیان به‌صورت اشباع و تا حد سیری و به‌صورت طرح کاملاً تصادفی به‌میزان ۳ تا ۵ درصد وزن بدن، طی ۹۰ روز با ۱۷-بتا استرادیول در سطوح ۰، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم

استرادیول در کیلوگرم جیره غذایی آن‌ها و هر تیمار با ۳ تکرار صورت می‌گرفت. ماهیان روزانه در ۳ وعده غذادهی می‌شدند، غذا حداکثر ظرف مدت ۲۵ دقیقه مورد مصرف ماهیان قرار می‌گرفت.

تکثیر ماهیان: در اواخر دوره پرورش مشاهده می‌شد در هر آکواریوم نرها به‌دنبال ماده‌ها می‌کردند و این از علائم اصلی آمادگی ماهی‌ها برای تکثیر بود. به این منظور ابتدا هر سه تکرار مربوط به یک تیمار را در یک آکواریوم قرار داده و آکواریوم‌های باقی‌مانده خالی شده را پس از ضدعفونی و تمیز نمودن، توسط شیشه‌های (تیغه) ۴۰×۴۰ به سه قسمت تقسیم نموده و اطراف هر آکواریوم و شیشه تکثیر را توسط نوار آلومینیوم پوشانده (زیرا ماهیان گورامی موقع تکثیر نباید همدیگر را ببینند در غیراین‌صورت حالت تهاجمی گرفته و کار تکثیر را شروع نمی‌کنند) و از هر تیمار آزمایشی نرهایی که آمادگی بیش‌تری برای تکثیر داشتند جدا شدند و در اتاقک تکثیر قرار گرفتند. در سطح آکواریوم پلاستیک فریزری به‌طوری‌که یک طرف آن به دیواره آکواریوم چسبیده بود قرار گرفت. تا با حرکات ماهی‌ها تکان نخورد و حباب‌سازی ماهی نر از بین نرود.

پس از مدتی نرها در زیر پلاستیک‌های فریزری شروع به حباب‌سازی کردند. اگر بعد از چند ساعت مشاهده می‌شد که ماهی نری حباب‌سازی نکرده سریعاً با ماهی نر دیگری از همان تیمار جایگزین می‌شد. زمانی که حباب‌سازی توسط ماهیان نر انجام شد در هر اتاقک تکثیر یک ماهی ماده اضافه گردید. اگر پس از ساعاتی مشاهده می‌شد که تخم‌ریزی صورت نگرفته ماده‌ها با ماده‌های آماده دیگر از همان تیمار جایگزین می‌شدند. پس از تخم‌ریزی ماهیان ماده را برداشته و ماهیان نر تا زمان تفریخ تخم‌ها در اتاقک تکثیر نگه‌داری شدند. برای تغذیه لاروها از انفوزوئر استفاده شد.

محاسبه شاخص‌های رشد ماهی‌ها: برای بررسی چگونگی عملکرد جیره‌های مختلف و مقایسه آن‌ها، در فواصل زمانی مشخص از طریق داده‌های به‌دست آمده از زیست‌سنجی و انجام آزمایشات تغذیه‌ای طبق فرمول‌های موجود، برخی از فاکتورهای رشد به‌شرح زیر تعیین گردید:

وزن ابتدای دوره - وزن انتهای دوره = افزایش وزن بدن (Tacon، ۱۹۹۰)

۱۰۰ × وزن ابتدای دوره / (وزن ابتدای دوره - وزن انتهای دوره) = درصد افزایش وزن بدن (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶)

۱۰۰ × طول دوره / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی- لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی) = نرخ رشد ویژه (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

گرم وزن به‌دست آمده ماهی / غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی (Hevroy و همکاران، ۲۰۰۵)

آزمایش هماتوکریت: برای انجام این آزمایش از هر تیمار ۶ عدد ماهی به‌طور تصادفی انتخاب شد و با قطع ساقه دمی خون‌گیری گردید. برای این منظور از لوله موئینه ساخت لندن استفاده شد و سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ مدل DAMON/IEC Division ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ با استفاده از دستگاه هماتوکریت خوان مدل DAMON/IEC Division درصد هماتوکریت اندازه‌گیری شد.

آزمایش شمارش گلبول سفید: برای شمارش گلبول سفید از هر تیمار ۳ عدد ماهی انتخاب شد و با قطع ساقه دمی خون‌گیری صورت گرفت. سپس ۹۵۰ لاندا خون با ۵۰ لاندا محلول دایس مخلوط گردید. بعد از گذشت ۱۰ دقیقه یک قطره از این ترکیب روی لام نئوبار ریخته شد و لامل را روی آن قرار داده و سپس زیر میکروسکوپ شمارش صورت گرفت. سپس تعداد شمارش شده در ۱۶ خانه مربوط به گلبول سفید با هم جمع و در عدد ۵۰ ضرب شد. به این طریق تعداد گلبول سفید شمارش شد.

شیوه نمونه‌برداری، روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده های مربوط به تغییرات شاخص‌های رشد، تغذیه و تمام آزمایشات دیگر از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن Duncans multiple -range test صورت گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) و Excel (۲۰۰۷) در محیط ویندوز انجام شد. مقادیر $p<0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد ماهیان ماده، اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای دوم (۶۶۷/ ۵۶ درصد) و سوم (۵۸/۳۳۳ درصد) و چهارم (۶۵/۰۰۰ درصد) که به‌ترتیب دریافت کننده دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم استرادیول در کیلوگرم وعده غذایی بود در مقایسه با گروه شاهد (۵۳/۳۳۳ درصد) نشان نداد ($p>0/05$). اما با افزایش سطح استرادیول روندی صعودی در درصد ماهیان ماده مشاهده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های فاکتورهای رشد از جمله اختلاف وزن ماهیان، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص رشد ویژه (SGR) و رشد روزانه، در گورامی سه‌خال در تیمارهای آزمایشی که هورمون ۱۷-بتا استرادیول دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$) (جدول۲).

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین فراسنجه‌های خونی درصد هماتوکریت، اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای دوم (۴۷/۸۰۵ درصد) و سوم (۴۴/۹۱۵ درصد) و چهارم (۴۶/۷۳۵ درصد) در مقایسه با گروه شاهد (۴۳/۲۳۰ درصد) نشان نداد ($p<0/05$). ولی در تیمار شاهد کم‌ترین میزان مشاهده شد، هم‌چنین تعداد گلبول سفید در تیمارهای آزمایشی که هورمون ۱۷-بتا استرادیول دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p<0/05$) و بیش‌ترین تعداد گلبول سفید در تیمار چهارم (۲/۴۵) مشاهده گردید (جدول ۳).

جدول ۱: مقایسه داده‌های (میانگین± انحراف معیار) درصد ماهیان ماده تحت تیمار ۱۷-بتا استرادیول در ماهی گورامی سه خال

متغیر	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
درصد ماهیان ماده	۵۳/۳۳۳ ±۱۲/۵۸۳ [a]	۵۶/۶۶۷ ±۷/۶۳۸ [a]	۵۸/۳۳۳ ±۷/۶۳۸ [a]	۶۵/۰۰۰ ±۱۰/۰۰۰ [a]

حروف انگلیسی یکسان بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه داده‌های (میانگین± انحراف معیار) فاکتورهای رشد ماهیان تحت تیمار ۱۷-بتا استرادیول در ماهی گورامی سه خال

متغیر	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
اختلاف وزن (گرم)	۴/۳۶۶ ±۰/۲۹۷ [a]	۴/۷۱۸ ±۰/۵۰۵ [a]	۵/۰۹۵ ±۰/۳۱۱ [a]	۴/۶۹۱ ±۰/۱۵۷ [a]
FCR	۱/۳۵۳ ±۰/۰۵۵ [a]	۱/۳۱۷ ±۰/۰۷۶ [a]	۱/۳۶۰ ±۰/۰۴۰ [a]	۱/۳۵۰ ±۰/۰۵۰ [a]
SGR (گرم در روز)	۲/۱۳۶ ±۰/۰۷۴ [a]	۲/۲۲۱ ±۰/۱۲۰ [a]	۲/۳۱۱ ±۰/۰۷۱ [a]	۲/۲۱۷ ±۰/۰۳۷ [a]
رشد روزانه (گرم)	۰/۰۶۲ ± ۰/۰۰۴ [a]	۰/۰۶۷ ± ۰/۰۰۷ [a]	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۰۴ [a]	۰/۰۶۷ ±۰/۰۰۲ [a]

حروف انگلیسی یکسان بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۳: مقایسه داده های (میانگین± انحراف معیار) فراسنجه‌های خونی ماهیان تحت تیمار ۱۷-بتا استرادیول در ماهی گورامی سه‌خال

متغیر	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
درصد هماتوکریت	۴۳/۲۳۰ ±۰/۶۷۹ [a]	۴۷/۸۰۵ ±۰/۷۸۵ [a]	۴۴/۹۱۵ ±۰/۴۰۳ [a]	۴۶/۷۳۵ ±۱/۹۴۴ [a]
تعداد گلبول سفید	۲۴۲۱۲/۰±۴۰۸۳/۵۴۲ [a]	۲۳۹۸۸/۰±۸۶۰۹/۰۲۵ [a]	۱۴۰۱۲/۰±۵۴۸/۰۰۸ [a]	۲۴۵۰۰/۰±۵۹۰۴/۳۴۲ [a]

حروف انگلیسی یکسان بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

بحث

بررسی نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR)، اختلاف وزن و رشد روزانه) اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد. درخصوص FCR روندی نامنظم در بین تیمارها مشاهده شد. بالاترین میزان FCR در تیمار ۳ (سطح ۲۵٪ استرادیول) مشاهده گردید. در یافته‌های آنالیز

شاخص SGR مشاهده شد که از تیمار ۱ که به‌عنوان شاهد است تا تیمار ۳، میزان SGR افزایش یافته و در تیمار ۴ کاهش ناچیزی به‌وجود آمد. مشابه روند صعودی که در SGR از تیمار ۱ تا تیمار ۳ دیده شد در اختلاف وزن ماهیان نیز رخ داد. در اختلاف وزن نیز بیش‌ترین میانگین بین تیمارها را تیمار ۳ با ۵/۰۹۵ گرم به خود اختصاص داد.

مقایسه میانگین رشد روزانه ماهیان حاکی از افزایش رشد از تیمار ۱ تا تیمار ۳ می‌باشد. مقایسه میانگین تیمارها در شاخص‌های SGR، اختلاف وزن و رشد روزانه مشابه می‌باشد. در این شاخص‌ها از تیمار ۳ به تیمار ۴ کاهش در میانگین تیمارها به‌وجود آمد. به‌طورکلی کاهش شاخص‌های رشد در ماهیان به‌ویژه رشد طولی و وزنی از جمله مشخصات هورمون درمانی با استفاده از استروژن‌ها در مقادیر بالا و درمان طولانی مدت می‌باشد، که این، با نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر همسو می‌باشد. Goetz و همکاران (۱۹۷۹) دریافتند زمانی‌که ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) تحت تأثیر مقادیر بالایی از هورمون استرادیول قرار می‌گیرد، رشد آن کاهش می‌یابد. Funk و همکاران (۱۹۷۳) در ماهی آزاد صورتی و Johnstone و همکاران (۱۹۷۸) نیز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان چنین تأثیری را در زمان استفاده از استرادیول مشاهده کردند.

تاکنون در زمینه ماده‌سازی ماهیان زینتی در ایران مطالعه انجام نشده است و تنها در زمینه نرسازی ماهی گوپی با استفاده از آلفا-متیل تستوسترون توسط آذری‌تاکامی و همکاران (۱۳۸۵) و تغییر جنسیت ماهی کالیکو با استفاده از آلفا-متیل‌تستوسترون توسط حسین‌زاده‌صحافی و همکاران (۱۳۹۲) انجام شد. ناجی و همکاران (۱۳۸۶) طی مطالعه‌ای اثرات هورمون ۱۷–بتا استرادیول والرات بر تمایز گنادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mikiss*) در مرحله جذب کیسه زرده و رابطه بین مدت زمان غوطه‌وری و درصد تغییر جنسیت در این ماهی را مورد ارزیابی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که غوطه‌وری لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون می‌تواند منجر به تغییر جنسیت شود اما اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن و طول ماهیان تیمارهای غوطه‌وری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. Flynn و Benfey (۲۰۰۷) با انجام آزمایشی اثرات رژیم ۱۷-بتا استرادیول را در ماهی خاویاری پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) مورد مطالعه قرار دادند و بر اساس آزمایشات بافت شناسی دریافتند که استرادیول باعث ایجاد کبد لکه‌دار، کلیه ورم کرده و کاهش اندازه گناد شد. تعداد هپاتوسیت (سلول‌های کبدی) و خصوصیاتشان در هر دو گروه صفر و ۱۰ میلی گرم استرادیول مشابه بود اما در ۲۵ میلی‌گرم استرادیول و بالاتر، تعداد هپاتوسیت و حضور و مقدار پروتئین زرده با مقدار استعمال استرادیول افزایش یافت.

در تحقیق حاضر با افزایش میزان هورمون ۱۷-بتا استرادیول در تیمارهای مختلف، روندی صعودی در درصد ماده‌زایی آن‌ها مشاهده شد. بیش‌ترین درصد ماهیان ماده در تیمار۴ (دوز ۵۰ میلی‌گرم استرادیول در کیلوگرم جیره غذایی) با ۶۵ درصد و پایین‌ترین درصد ماهیان ماده در تیمار ۱ یا شاهد با ۵۳/۳۳۳ درصد مشاهده گردید. با وجود تغییراتی که در نسبت جنسی ماهیان تحت تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، اختلاف معنی‌داری را در نسبت جنسی ماهیان گروه شاهد و ماهیان تیمارهایی که برای ایجاد تغییر جنسیت به ماده منظور شده بودند، نشان نداد ($p>0/05$).

Piferrer و Donaldson (۱۹۹۲) تأثیر ماده‌سازی به‌روش غوطه‌وری را در آزادماهیان گزارش کردند. آن‌ها با غوطه‌ورکردن لاروهای ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) به مدت ۲ ساعت در محلول حاوی ۴۰۰ میکروگرم در لیتر از هورمون ۱۷–بتا استرادیول، ۷۲/۲ ٪ ماهی ماده در جمعیت تحت آزمایش خود به‌دست آوردند و در تیمار دیگر با افزایش مدت زمان غوطه‌وری به ۸ ساعت موفق به ایجاد جمعیت تماماً ماده در این ماهی شدند. اختلافات موجود میان نتایج حاصل از غوطه‌وری لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در حمام هورمون با نتایجی که Piferrer و Donaldson (۱۹۹۲) با آزمایش بر روی ماهی آزاد چینوک به‌دست آوردند، می‌تواند ناشی از هورمون درمانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بدون در نظر گرفتن زمان تمایز جنسی در آن باشد. Baker و همکاران (۱۹۸۸) و Piferrer و Donaldson (۱۹۹۲) طی مطالعاتی که بر روی تغییر جنسیت ماهی آزاد چینوک انجام دادند به این نتیجه دست یافتند که تمایز جنسی در این ماهی پس از تخمه‌گشایی لاروها و در طول دوره جذب کیسه زرده اتفاق می‌افتد، درحالی‌که Piferrer (۲۰۰۱) گزارش کرد که تمایز جنسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اندکی پس از شروع تغذیه فعال و هم زمان با جذب کامل کیسه زرده آغاز می‌شد.

طبق نتایج به‌دست آمده، رژیم‌غذایی حاوی ۱۷-بتا استرادیول بر شاخص‌های رشد مانند ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و اختلاف وزن اثر معنی‌داری نداشت اما بیش‌ترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمار۳ (دوز ۲۵ میلی‌گرم استرادیول در کیلوگرم جیره غذایی) مشاهده شد. هم‌چنین رژیم غذایی حاوی

۱۷- بتا استرادیول روی تغییر جنسیت اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف تیماری، نشان نداد، اما با افزایش میزان هورمون ماده‌زایی روندی افزایشی داشت.

منابع

۱. **آذری‌تاکامی، ق.؛ امینی، ف. و فرحمند، ح.، ۱۳۷۵.** بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی (*cyprinus carpio*) به‌وسیله هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون. مجله منابع طبیعی ایران. شماره ۴۹، صفحات ۳ تا ۱۶.

۲. **آذری‌تاکامی، ق.؛ امینی، م. و نقوی، م.، ۱۳۸۵.** بررسی امکان ایجاد جنس تمام نر در ماهی گوپی *Poecilia reticulate* توسط هورمون آلفا-متیل تستوسترون. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال ۱۰، شماره ۲، صفحات ۲۸۷ تا ۲۷۹.

۳. **آذری‌تاکامی، ق.؛ فرحمند، ح. و بهرامی‌کمانگر، ب.، ۱۳۸۰.** ایجاد ماده‌زایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط پرتو فرابنفش. مجله منابع طبیعی ایران. دوره ۵۴، شماره ۴، صفحات ۳۶۹ تا ۳۸۲.

۴. **امینی، ف. و طلا، م.، ۱۳۸۲.** بهینه سازی تجویز خوراکی هورمون ۱۷ متیل تستوسترون به‌منظور نرسازی و عقیم‌سازی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره ۳، صفحات ۲۳۵ تا ۲۴۰.

۵. **حسین‌زاده‌صحافی، ه.؛ اشجع‌اردلان، آ. و سیفی، ج.، ۱۳۹۲.** تاثیر هورمون ۱۷ متیل تستوسترون بر تغییر جنسیت ماهی کالیکو (*Labeotropheous foellobroni*). مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۰، شماره ۱، صفحات ۲۷ تا ۳۶.

۶. **ناجی، ط.؛ نجات‌خواه‌معنوی، پ. و شیرین‌آبادی، م.، ۱۳۸۷.** بررسی اثرات هورمون ۱۷- بتا استرادیول والرات بر تمایز گنادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست. دوره ۱۰، شماره ۲، صفحات ۱۸ تا ۲۲.

۷. **Alfred, E.R., ۱۹۶۲.** Notes on a Collection of Fresh-Water Fishes from Penang. Singapore National Moseum. Vol. ۳۰, pp: ۱۴۷-۱۵۳.

۸. **Baker, I.J.; Solar, I.I. and Donaldson, E.M., ۱۹۸۸.** Masculinization of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by immersion treatments using ۱۷α-methyl testosterone around the time of hatching. Aquaculture. Vol. ۷۲, pp: ۳۵۹-۳۶۷.

۹. **Bekcan, S.: Dogankaya, L. and Cakirogullari, G.C., ۲۰۰۶.** Growth and body composition of European catifish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. The Israeli Journal of Aquaculture -Bamidgeh. Vol. ۵۸, pp: ۱۳۷-۱۴۲.

۱۰. **Cole, B.S.; Tamaru, C. and Bailey, R., ۱۹۹۹.** A Manual for Commercial Production of the Gourami, *Trichogaster Trichopterus*. A Temporary Paired Spawner. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture Publicati. Vol. ۱۳۵, pp: ۱-۳۷.

۱۱. **Flynn, S.R. and Benfey, T.J., ۲۰۰۷.** Effects of dietary estradiol-۱۷β in juvenile shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Aquaculture. Vol. ۲۷۰, pp: ۴۰۵-۴۱۲.

۱۲. **Franklen, J.S., ۲۰۰۵.** Digenic control of colouration in the two-spot gourami *Trichogaster trichopterus trichopterus*. Journal of Genetics. Vol.۸۴, pp: ۱۷۹-۱۸۱.

۱۳. **Funk, J.D.; Donaldson, E.M. and Dye, H.M., ۱۹۷۳.** Induction of precocious sexual development in female Pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). Can. J. Zool. Vol. ۵۱, pp: ۴۹۳-۵۰۰.

۱۴. **Goetz, F.W.; Donaldson, E.M. and Hunter, G.A., ۱۹۷۹.** Effects of estradiol-۱۷β and ۱۷α-methyltestosterone on gonadal differentiation in the Coho salmon, *Oncorhynchus Kisutch*, Aquaculture. Vol. ۱۷, pp: ۲۶۷-۲۷۸.

۱۵. **Hendry, C.I.; Martin-Robichaud, D.J. and Benfey, T.J., ۲۰۰۳.** Hormonal sex reversal of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture. Vol. ۲۱۹, pp: ۷۶۹-۷۸۱.

۱۶. **Hevroy, E.M.; Espe, M.; Waagbo, R.; Sandness, K.; Rund, M. and Heme, G.I., ۲۰۰۵.** Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased Level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. Vol. ۱۱, pp: ۳۰۱-۳۱۳.

۱۷. **Linke H., ۱۹۹۱.** Labyrinth fish the bubble-nest-builders. Tetra Press, Melle Mills D. ۲۰۰۰ Aquarium fish. Dorling Kindersley, London. Sommer C. ۱۹۸۲ Comparative studies on the morphology of olfactory organs of labyrinth fish (Perciformes, Anabantoidei). Zoologische Beitraege. Vol. ۲۸, pp: ۷۹-۸۶.

۱۸. **Lim, L.C. and Wong, C.C., ۱۹۹۶.** Fry production of freshwater ornamental fish in Singapore. In: Le Roy, R. (Ed.), World Aquaculture ۹۶ Book of Abstracts. Bangkok, Thailand. ۲۲۸ p.

۱۹. **Mills, D., ۲۰۰۰.** Aquarium fish. Dorling Kindersley, London. Sommer C. ۱۹۸۲ Comparative studies on the morphology of olfactory organs of labyrinth fish (Perciformes, Anabantoidei). Zoologische Beitraege. Vol. ۲۸, pp: ۷۹-۸۶.

۲۰. **Piferrer, F., ۲۰۰۱.** Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish, Aquaculture. Vol. ۱۹۷, pp: ۲۲۹-۲۸۱.

۲۱. **Piferrer, F. and Donaldson, E.M., ۱۹۹۲.** The comparative effectiveness of the natural and a synthetic estrogen for the direct feminization of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture. Vol. ۱۰۶, pp: ۱۸۳-۱۹۳.

۲۲. **Richter, H.J., ۱۹۸۸.** Gouramis and Other Anabantoids. Neptune City T F H Publications. Vol. ۸, ۲۲۴ p.

۲۳. **Scheurmann, I., ۱۹۹۰.** Aquarium fish breeding. Barrons Educational Series Incorporated. ۱۳۹ p.

۲۴. **Sower, S.A.; Dichhoff, W.W.; Flagg, T.A.; Mighell, J.L. and Mahnken, C.V.W., ۱۹۸۴.** Effects of estradiol and diethylstilbestrol on sex reversal and mortality in Atlantic salmon (*salmo salar*). Aguaculture. Vol. ۴۳, pp: ۷۵-۸۱.

۲۵. **Sutherland, E.W., ۱۹۷۲.** Studies of the mechanism of hormone action. American Association for the Advancement of Science. Vol. ۱۷۷, pp: ۴۰۱-۴۰۸.

۲۶. **Tacon, A.G.J., ۱۹۹۰.** Standard methods for the nutrition and feeding of famed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. pp: ۴-۲۴.

۲۷. **Yamamoto, T., ۱۹۶۹.** Sex differentiation. In: Hoar WS, Randall DJ (Eds.). Physiology of Fishes. Academic Press, New York. Vol. ۳, pp: ۱۱۷-۱۷۵.

۲۸. **Zakes, K.D.; Hliwa, P.; Czepolanis, A. and Zakes, Z., ۲۰۰۰.** The effect of administration of ۱۱β-Hydroxy androstenedione in feed on morphology of some internal organs of Wels, *Silurus glanis*. Archives of Polish Fisheries. Vol. ۸, pp: ۲۵-۳۴.