تکثیر ، پرورش و فناوری های نوین

مروری بر کاربرد هورمون تراپی در صنعت آبزی پروری

مصطفی خضری[1*]، مولود زرگران حسینی[1]
[1] دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز
*www.m.khezri1363@yahoo.com

چکیده:

برای غلبه بر مشکلات تولیدمثلی آبزیان در شرایط اسارت از اوایل دهه ۱۹۳۰ میلادی استفاده از هورمون های محور HPG جهت القا اوولاسیون و کنترل تولیدمثل آبزیان آغاز شد. این روش ها ابتدا با استفاده از عصاره هیپوفیز شروع گردید و متعاقب آن استفاده از انواع گنادوتروپین‌های صناعی از جمله گنادوتروپین ماهیان و انسان در آبزی پروری رونق پیدا کرد.. روند فیزیولوژیک بیان شده در تولیدمثل ماهیان در شرائط طبیعی انجام پذیرفته، اما در شرائط تحت تنش همچون نگهداری مولدین در شرائط مصنوعی (آبزی پروری) و یا تحت شرائط نامناسب محیطی دچار اختلالات مهمی می گردد که تولیدمثل یا گامت زائی را دچار مشکل می نماید. نقش هورمون های استروئیدی از جمله تستسترون (T، 17بتا استرادیول) bE2، OHP و DHP ، کنترل رشد و توسعه گناد ماهیان در مراحل مختلف تکاملی و همچنین رفتارهای جنسی ماهیان می¬باشد. عوامل محیطی که از مهمترین آنها می توان به نور و دما اشاره نمود با تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و در راس آنها هیپوتالاموس، نقش خود را در کنترل تولید مثل ماهیان ایفا می نمایند.

کلمات کلیدی: هورمون تراپی، صنعت آبزی پروری، تولید مثل، بقا، گناد، هیپوفیز

مقدمه

هورمون تراپی مشتق شده از دو کلمه یونانی hormone (به هیجان آوردن) و (thrapy) درمان و معالجه) می باشد. هورمون تراپی به معنی استفاده از هورمون ها برای اهداف درمانی است . هورمون ها ترکیبات آلی می باشند که بوسیله ی غدد درون ریز سنتز شده و در خون به بافت ها یا اندام های دیگر فرستاده شده و در آنجا با گیرنده های هورمون برای تغییر کنش سلول، اثر متقابل دارند. کنش های کلیدی از قبیل رشد، تولیدمثل، تنظیم فشار اسمزی، متابولیسم و پاسخ استرس بوسیله هورمون ها تنظیم می شود. برخی از هورمون ها در فرآیندهای هموستازی از قبیل هماهنگی در فرآیند گامتوژنز، دخیل می باشند. بسیاری از هورمون ها بوسیله ی سیستم اعصاب مرکزی (CNG)کنترل می شوند (۸). تا به امروز از هورمون های شناخته شده موجود در ماهیان باله دار، تعداد نسبتا کمی در آبزی پروری مورد استفاده قرار گرفته اند.اگرچه، آنهایی که مورد بهره برداری قرار گرفته اند نقش تعیین کننده ایی در سیستم های تولیدی

آبزی پروری داشته اند و در یک چارچوب تنظیمی مناسب و در یک اسلوب ایمن و قابل تحمل، افزایش استفاده از آنها، دور از انتظار نیست (۴).

یکی از تکنیک های توسعه آبزی پروری در دهه های اخیر استفاده از هورمون تراپی جهت دستیابی به اهداف مختلف است . برای غلبه بر مشکلات تولیدمثلی آبزیان در شرایط اسارت از اوایل دهه ۱۹۳۰ میلادی استفاده از هورمون های محور HPG جهت القا اوولاسیون و کنترل تولیدمثل آبزیان آغاز شد. این روش ها ابتدا با استفاده از عصاره هیپوفیز شروع گردید و متعاقب آن استفاده از انواع گنادوتروپین‌های صناعی از جمله گنادوتروپین ماهیان و انسان در آبزی پروری رونق پیدا کرد. پس از کشف هورمون هیپوتالاموسی پستانداران در سال ۱۹۷۰ که کنترل آزادسازی LH (LHRH یا GnRH پستانداران) را بر عهده داشت ، دانشمندان استفاده از این هورمون جهت القاء تخمریزی در ماهیان را شروع نمودند. اندک زمانی بعد با سنتز آنالوگ بسیار موثر GnRH تحقیقات به سمت استفاده از آنالوگ‌های متعدد GnRH گرایش پیدا کرد که از GnRH طبیعی ماهی بسیار موثرتر بود. کارآیی GnRH و آنالوگهای آن (GnRHa) در تکثیر القایی ماهیان این فرضیه را که در ماهیان دارای اختلالات تولیدمثلی، هیپوفیز هنوز قادر به سنتز و آزادسازی گنادوتروپین‌های اندوژنز می باشد، تایید نمود(۴).

اهداف هورمون تراپی :

ا ستفاده از هورمون ها با اهداف مختلفی صورت می گیرد که هدف نهایی همه آنها بهبود و ضعیت آبزی پروری و افزایش درآمد برای تولید کنندگان است . استفاده از هورمون ها بر بقای جمعیتی و کنترل جمعیت ماهی ها تاثیر بسزایی دارد نقش هورمون تراپی در چند دهه پیش فقط برای اهداف تولید مثلی بود ولی اکنون علاوه بر تولید مثل از هورمون ها به منظور رشد بیشتر و افزایش بهره وری نیز استفاده های فراوانی می شود (۸). اهداف مد نظر هورمون تراپی عبارتند از :

۱- تولید مثل

۲- رشد

۳- تغیر جنسیت

۴- رنگ آمیزی

۵- واکسیناسیون

تولید مثل :

جلو انداختن زمان تخم ریزی در ماهیانی که در شرایط پرورشی به رسیدگی می رسند، همزمان سازی تخم ریزی در ماهیانی که در یک دوره ی طولانی تخم ریزی دارند یکی از اهداف اصلی هورمون تراپی است . در میان مهم ترین پیشرفت هایی که در زمینه ی آبزی پروری در طول چند دهه ی اخیر به وقوع پیوسته است، توسعه ی تکنیک های القاء تولیدمثل در ماهی قرار دارد. این تکنیک ها به پرورش دهندگان اجازه می دهد تا به مولد سازی و پرورش گونه هایی که بطور طبیعی در شرایط پرورشی قادر به تکثیر نمی باشند ، بپردازند و زمان تکثیر ماهیان پرورشی را مطابق با چرخه ی تولیدی دستکاری نمایند.(۸)

برخی از گونه ها، به خاطر شرایط محیطی یا پرورشی که با شرایط طبیعی شان متفاوت می باشد؛ از قبیل دمای آب یا مواد مختلف موجود در طبیعت ، قادر به تولیدمثل در شرایط اسارت نیستند. این شرایط برای مولدین استرس زا بوده و یا عناصر مورد نیاز برای کامل شدن فرایند تولیدمثل را فراهم نمی کنند(۴). ماهی ممکن است در شرایط پرورشی، در زمان مطلوب قادر به تولیدمثل نباشد، از این رو تغییر در سیکل تولیدمثل مناسب خواهد بود. این شرایط به پرورش دهنده اجازه می دهد تا:

۱- ماهی را خارج از فصل طبیعیِ تکثیر، بدست آورد که موجب طولانی تر شدن زمان پرورش و یا تولید ماهیان دورگه با سایر گونه ها می شود؛

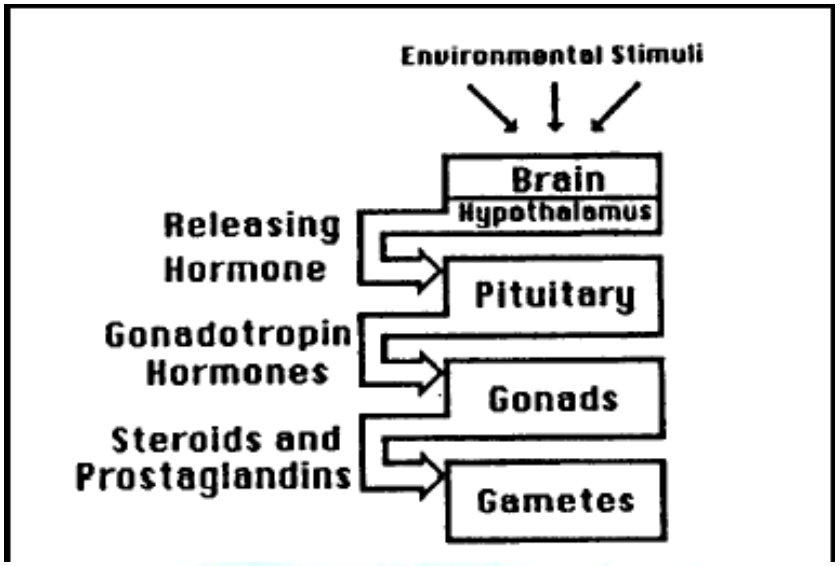
۲- سبب بهبود بازدهی میزان تولیدمثل ماهی با توجه به داده های از پیش تعیین شده می شود؛

۳- میزان زنده مانی لاروها، تحت شرایط کنترل شده ی کارگاه تکثیر، از طریق لقاح مصنوعی و انکوباسیون تخم ها، افزایش می یابد.

به این دلایل، استفاده از تکنیک های مناسب برای تغییر سیکل تولیدمثل ، ابزار مناسبی برای تکثیر ماهی می باشد.(۴)

مکانیسم تنظیم تولید مثل در ماهی :

تولید مثل در ماهی ها تحت تاثیر شرایط محیطی و عوامل داخلی بدن کنترل می شوند . فاکتور های محیطی موثر بر تولید مثل دما ، نور، سیلابی بودن ، وجود جنس مخالف و ...هستند . این فاکتور ها با تاثیر بر روی هیپوتالاموس مغز باعث رها شدن هورمونهای آزاد کننده در غده هیپوفیز شده و غده هیپوفیز با تولید هورمون های گنادوتروپین باعث رسیدگی گنادها و تکمیل سیکل تولید مثلی می شود (۴).



هورمون های مورد استفاده در آبزی پروری :

HCG (Human chorionic gonadotropin)

PG (pituitary gland)

GnRH

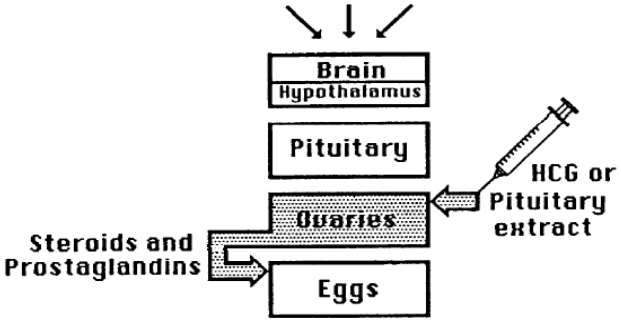
LHRH-A(Luteinizing hormone releasing hormones)

Dopamine

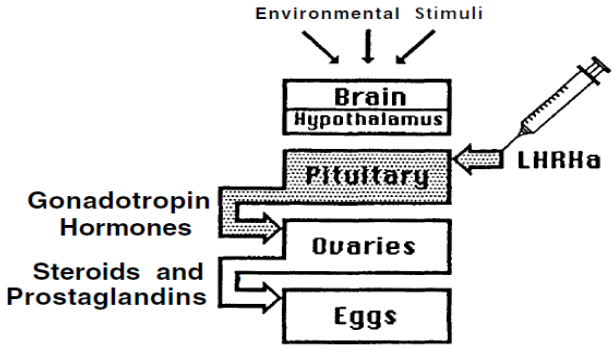
استفاده از هورمون های مختلف به دلیل پاسخ متفاوت ماهی ها نسبت به هورمون ها است . به عنوان مثال در ماهی کپور معمولی استفاده از غده هیپوفیز نسبت به هورمون LHRH و HCG اثر بهتری دارد .

مکانیسم عمل غده هیپوفیز و HCG در زمان تزریق :

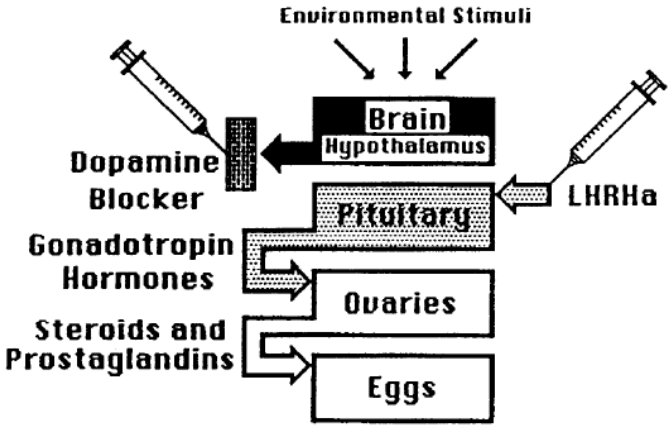
HCG و هیپوفیز مستقیما بر روی گنادها اثر می گزارند (۴).



مکانیسم عمل LHRH:LHRH بر روی غده هیپوفیز اثر می گزارد (۴).



مکانیسم عمل دوپامین و LHRH :



دوپامین یک عامل بازدارنده برای جلوگیری از تاثیر هورمون های تولیدی از هیپوتالاموس می باشد . استفاده توام از دوپامین و LHRH باعث تاثیر بیشتر LHRH می شود . دوز هورمون مورد استفاده وابسته به گونه ماهی و وزن ماهی است . در بعضی از گونه ها هورمون تزریقی در دو دوز و در بعضی از گونه ها در چند دوز متوالی صورت می گیرد . در سال های اخیر استفاده از هورمون های آزاد کننده

هیپوتالاموس و آنالوگ های مصـنوعی آنها به عنوان راه حلی برای مشـکل ناهماهنگی در خلوص هورمون ها و تامین عصـاره هیپوفیز است .در جداول زیر میزان هورمون تزریقی به گونه های مختلف ماهی و دوز آنها آورده شده است (۴)

گونه ماهی	هورمون	دوز
کپور معمولی وکپور ماهیان چینی کپور ماهیان هندی وآزاد ماهی کوهو	هیپوفیز	4-8 mg/kg
کپور ماهیان چینی وگربه ماهی وکپور ماهیان هندی	HCG	300-1800 IU/kg
کپور معمولی کپور ماهیان چینی	HCG+ هیپوفیز	430-2300 IU/kg 5-9 mg/kg
کپور ماهیان چینی گربه ماهی آفریقایی	LHRHa	5-100 µg/kg

Table 1. Commonly used hormone concentrations in weight and International Units (III) per fish body weight, time interval in hours (h) between injections, and percentage of total dose in each injection.

Hormone	Total dose	Interval	Percentage
Pituitary	4-8 mg/kg	6-24 h	20%-80% 33%-67%
HCG	300-1,800 IU/kg	0 h 24 h	100% 33%-67%
HCG + Pituitary	430-2,300 IU/kg 5-9 mg/kg	6-24 h 6-24 h	10%-90% + 100%
HCG & Pituitary Mixture	60-1,000 IU/kg + 2.5-12 mg/kg	6-24 h	20%-80% 50%-50%
LHRHa	5-100 µg/kg	0 h 6-18 h (48 -72 h for trout)	100% 20%-80% 50% -50 %
LHRHa+	5-100 µg/kg	6-18 h	20%-80% 50%-50% +
Haloperidol	0.1-1 mg/kg		100%

روش های استفاده از هورمون :

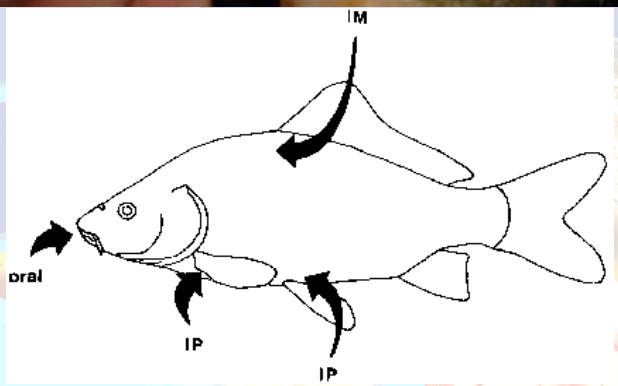
روش های مختلفی برای استفاده از هورمون ها توسعه یافته است . این روش ها عبارتند از :

۱- تزریق داخل صفاقی یا تزریق عضلانی در محلول آبی

۲- تزریق در فرم آزاد کننده ی کُند، به عنوان مثال میکروکپسول ها، کاشت GnRH در ترکیب با یک قرص کلسترولی یا پلیمری، استفاده ی خوراکی در محلول یا در غذا و غوطه وری در محلول GnRH با یا بدون در معرض فراصوت(Ultrasound) قرار دادن ، استفاده از ذرات نانو Chitosan ،پمپ های اسمزی ، ترکیب آدجوانت ، میکروسفر ها و ... استفاده از وکتور یا ناقل

۱- تزریق داخل صفاقی و عضلانی :

این روش بااستفاده از سرنگ صورت می گیرد . سرنگ های نیدل نازک برای تزریق درون صفاقی و سرنگ های نیدل ضخیم برای تزریق درون عضلانی مورد استفاده قرار می گیرند . در تزریق درون عضلانی سرنگ بیشتر از حالت درون صفاقی وارد بدن می شود .



Intramuscular (IM) intraperitoneal (IP) may be by injection or slow-release implant.

۲- تزریق در فرم آزاد کننده کند :

آزاد شدن مقطعی و آهسته هورمون ها و داروها در بدن ماهی یکی از تکنیک های جدیدی است که در سال های اخیر برای گونه هایی از ماهی که تحت شرایط اسارت بازده تولید مثلی پایینی دارند مورد استفاده قرار می گیرد . به همین دلیل استفاده از این روش ها توسط دانشمندان بسیار مورد توجه قرار دارد (۵) .

ایمپلنت کردن :

یکی از روش های مورد اســتفاده ایمپلنت کردن هورمونهای محرک تولید مثل یا داروها در بدن ماهی می باشــد . هورمون هایی مثل GNRH و LHRH و .. و داروهایی مثل تتراسایکلین برای ایمپلنت کردن استفاده می شوند (۱۰).

روش ساخت ایمپلنت :

۱- حل کردن دارو یا هورمون در آب

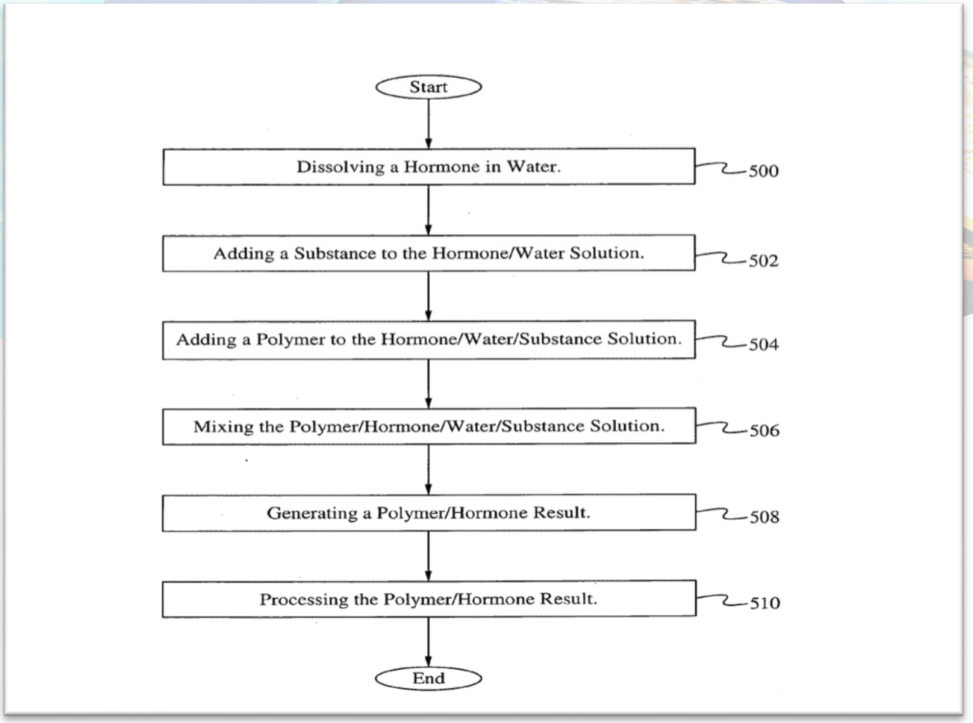
۲- اضافه کردن ماده حلال به محلول . ماده حلال می تواند استون ، اتر ، تتراهیدروفوران ، دی متیل فرمامید ، دی متیل استامید و یا دیگر ترکیبات الکلی باشد .

۳- اضافه کردن پلیمر به محلول . مثل استات سلولز

۴- مخلوط کردن محلول با استفاده از سانتریفیوژ . اختلاط باید تا زمانی صورت گیرد که پلیمر کاملا حل شود .

۵- قرار دادن محلول بدست آمده در قالب های مخصوص

۶- اتمام فرآیند ساخت پلیمر (ایمپلنت ها معمولا ا استوانه ای و با وزن ۲۰ میلی گرم و ۲,۴ میلی متر قطر و ۵ میلی متر طول دارند . دوز LHRH معمولا ۲۰۰ میکروگرم است)(۵).



روش استفاده :

پلیمر ساخته شده موجود در قالب های مخصوص با استفاده از سرنگ های پمپ دار در بدن ماهی کاشته می شود . به طور کلی بیشتر ایمپلنت ها آب دوست هستند در نتیجه مواد موجود در ایمپلنت به راحتی درون بدن آزاد می شوند . کربوکسی متیل سلولز ، سلولز اتر ، کربوسی متیل سلولز و کیتوسان بهترین گزینه های آبدوست برای ساخت پلیمر هستند .

دوز هورمون رها شده در بدن به قابلیت مایعات بدن در نفوذ به ایمپلنت ، قابلیت حل شدن دارو و انتشار آن به خارج از ایمپلنت بستگی دارد (۵).

شیمی دارو و مواد مورد استفاده برای ایمپلنت به عوامل زیر بستگی دارد :

۱- فشار اسمزی

۲- محل کاشت ایمپلنت

۳- PH

۴- حلالیت هورمون و دارو

۵- مرفولوژی پلیمر

۶- میزان انتشار دارو در پلیمر

وسایل مورد استفاده برای کاشت (۱۰) :

تفنگ کاشت ایمپلنت

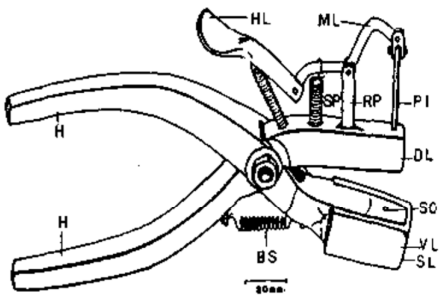


Fig. 1. Line drawing of the pelletizer showing the different parts.

LEGENDS

H	-	Handle
HL	-	Handle lever
SP	-	Spring
ML	-	M Shaped Lever
RP	-	Rectangular Piece of Iron
PI	-	Piston
DL	-	Dorsal Lip
SO	-	Socket
VL	-	Ventral Lip
SL	-	Sleeve
BS	-	Basal Spring

مدت زمان رها شدن تتراسایکلین در بدن از پلیمر های ایمپلنت

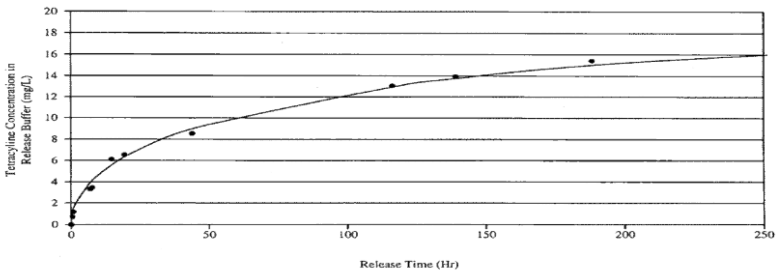


Fig. 2

Patent Application Publication Jun. 25, 2009 Sheet 2 of 8 US 2009/0162416 A1

استفاده از ذرات نانو Chitosan :

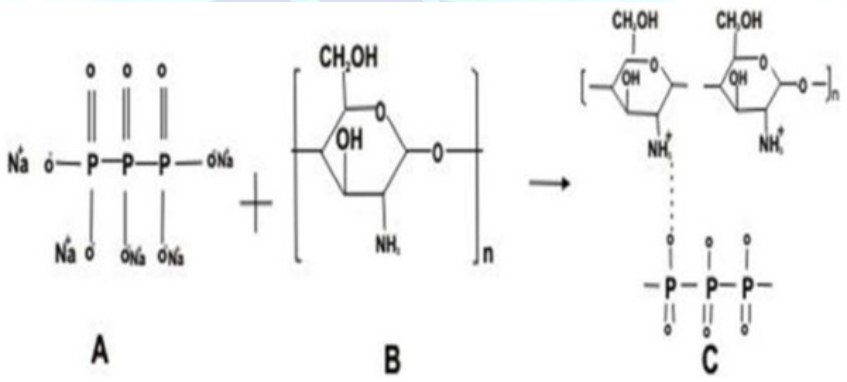
فرآیند تولید مثل توسط هورمون های مختلفی تحت تاثیر قرار می گیرد که این هورمون ها باعث رسیدگی نهایی گامت ها و در نتیجه کارایی بالای تولید مثل می شود .یکی از روش هایی که باعث افزایش کارایی هورمون ها در بدن و جلوگیری از تزریقات مکرر می شود رها شدن مکرر هورمون در بدن با استفاده از ریز ذرات است (۹).

کیتو سان ها یکی از ترکیباتی هستند که به شکل ترکیبات میکرو و نانو مورد توجه بسیار هستند . کیتو سان یک پلی ساکارید کاتیونی است که از داستیل شدن کیتین بدست می آید . کیتوسان دارای ویژگی های منحصر به فردی مثل غیر قابل سمیت بودن ، سازش پذیری زیستی و ... را دارا است (۹).

ریز ذرات ظلایی بهترین گزینه برای ترکیب کردن هورمون ها با ذرات کیتوسان هستند . هورمون های GnRH و LHRH و ... یر ترکیب با ذرات نانو بکار می روند .

روش تهیه کیتوسان :

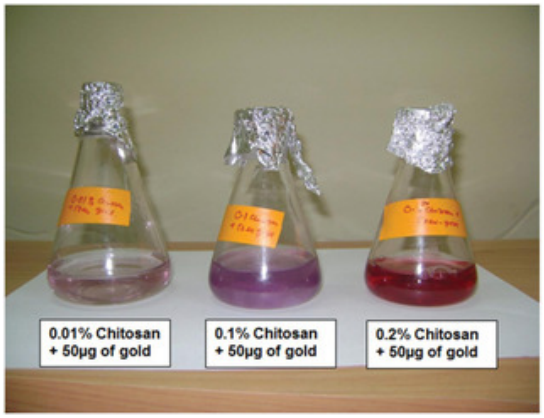
کیتوسان را می توان با استفاده از پوسته میگو و یا سخت پوستانی که دارای کیتین هستند تهیه کرد . ذرات نانو از حل کردن ۲ میلی گرم کیتوسان در ۱۰۰ میلی لیتر محلول آبی اسیدی حاصل می شود . محلول آبی اسیدی از ۸۰ میلی لیتر آب و ۱۵ میلی لیتر تری پلی فسفات و ۵ میلی لیتر ا سید ا ستیک تهیه می شود . محلول بد ست امده برای مدت ۱۰ دقیقه با شوکر های مغناطیسی تکان داده می شود . PH محلول باید ۶,۵ باشد (۹).



(A) Sodium tripolyphosphate, (B) chitosan, (C) chitosan nanoparticles

سنتز ذرات نانو کیتوسان طلایی :

از اضافه کردن کلرااوریک اسید ($HAuCl_4$) با غلظت ۵۰µl به محلول کیتوسان بدست می آید . سپس محلول بدست آمده را در دمای ۶۰-۸۰ درجه سانتی گراد حرارت داده و به مدت ۲۰ دقیقه با شوکر مغناطیسی تکان می دهند تا محلول قرمز یاقوتی بدست اید .

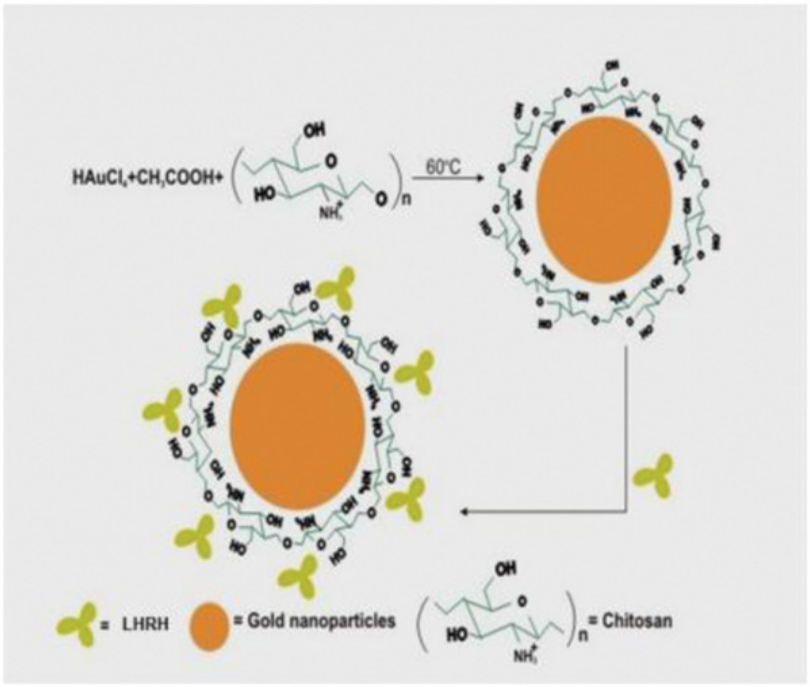


اضافه کردن هورمون به کیتوسان :

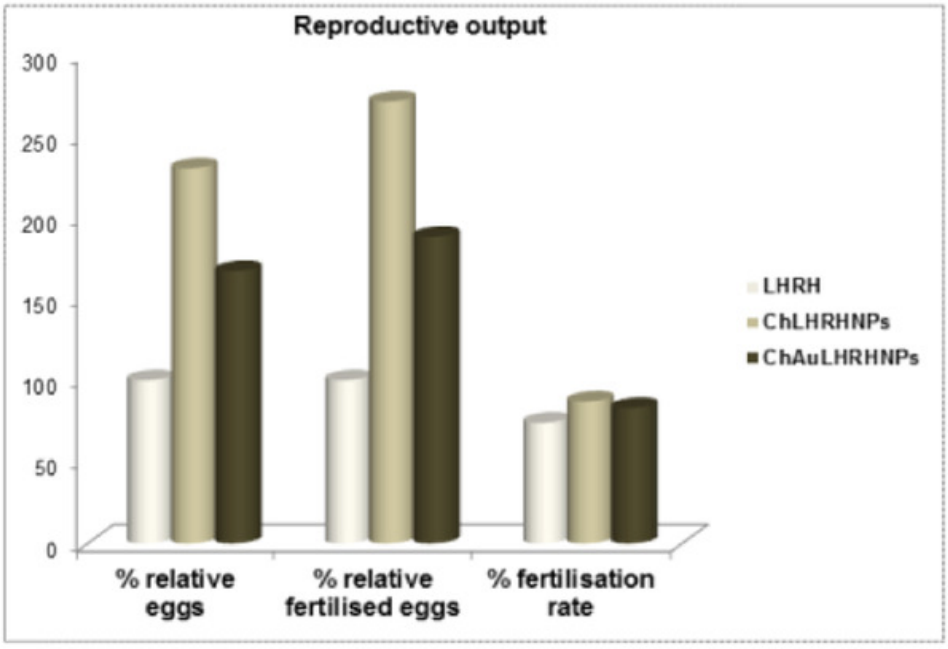
برای اینکه ذرات نانو به خوبی ترکیب شوند باید فرآیند هموژنیزه کردن تحت فشار بالا صورت پذیرد . هورمون مورد استفاده به میزان ۱میلی گرم در ۱ میلی لیتر آب تهیه می گردد . سپس محول بدست آمده را می توان به میزان مختلف (50µl, 100 µl and 200 µl) به کیتوسان یا کیتوسان طلایی اضافه کرد . بعد از هموژنیزه کردن محلول (۳۵۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه) محلول بدست امده را در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری می کنند . سپس روز بعد محلول را دوباره ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ می کنند . سپس غلظت پروتئین (هورمون) را اندازه گیری می کنند (۹).

ضریب گیر افتادن (EE) هورمون در ذرات نانو کیتوسان را بصورت زیر محاسبه می کنند :

$$EE=\frac{\text{کل } LHRH-\text{نشده حل } LHRH}{\text{کل } LHRH}$$



نمودار زیر درجه تاثیر کیتوسان را نسبت به حالت طبیعی تزریق LHRH بر روی فاکتور های تولید مثلی نشان می دهد (۹).



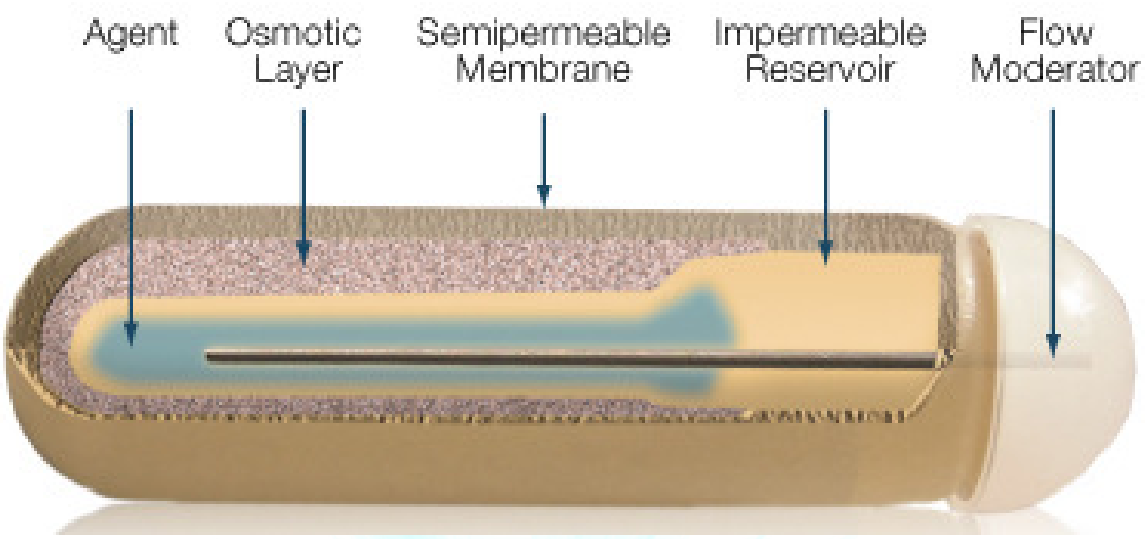
استفاده از پمپ های اسمزی :

پمپ های اسمزی معمولا از مواد بیولوژیکی غیر زنده و غیر قابل نفوذ سنتتیک ساخته می شوند که با استفاده از محلول هایی پر می شود . زمان رها شدن محلول ها از این پمپ ها متفاوت ا ست و می تواند (0.5 - 10 µl/hr) با شد که در اینصورت زمان رها شدن هورمونها می توانند بین ۳ روز تا ۴ هفته متفاوت باشند .

مراحل پر کردن پمپ های اسمزی باید کاملا استریلیزه باشد تا از ایجاد عفونت در ماهی ها جلوگیری شود . استفاده از محلول ۷۰٪ ایزوپروپانال برای ضدعفونی کردن قبل از استفاده ضرورت دارد (۱۳) .

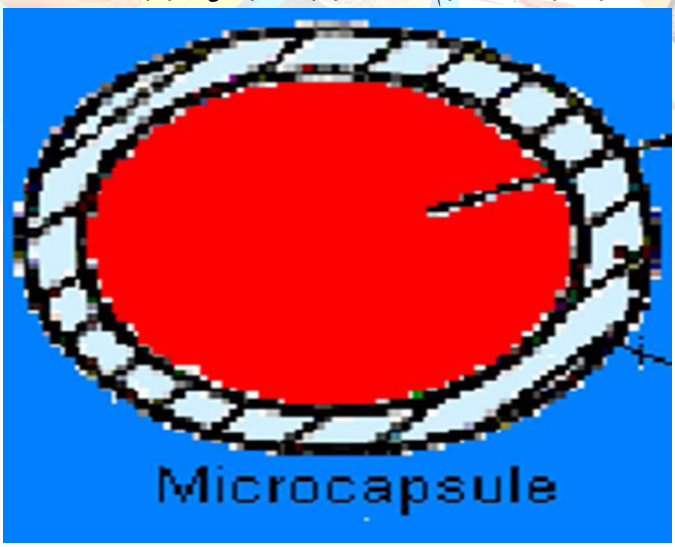
بعد از قرار دادن هورمونها در پمپ ها با استفاده از سرنگ پمپ را در بدن ماهی می کارند . باید دقت کرد تا از ایجاد حباب های هوا درون پمپ جلوگیری گردد .

تزریق در بسیاری از ماهیان بویژه در ماهیان گرمابی موثر می با شد. کا شت هورمون برای گونه های سردآبی، از قبیل آزاد ماهیان، مفید می با شد بطوریکه نیاز به دو تزریق بردا شته شده و برای گونه هایی که دارای تخم ریزی مکرر می با شند، مانند سیم دریایی، سودمند ا ست.ا ستفاده ی خوراکی و غوطه وری برای تنظیم تخم ریزی گونه هایی که در شرایط د ستکاری دچار ا سترس می شوند، تو صیه می شود(۱۳).



استفاده از میکروسفر ها یا ریز ذرات :

میکروسفر ها ذرات ریز کروی در اندازه میکرون هستند که هرمون ها و یا داروها از طریق فرآیند تخریب و یا انتشار از آنها آزاد می شوند . میکروسفر ها از مواد مختلفی مثل پلی هیدروکسی اتیل متیل ، پلی اکریلامید ، استات سلولز ، آلبومین ، ژلاتین ، موادی مثل دکستران و ... ساخته می شوند . میکروسفر ها در دو فرم زیست تخریب و غیر قابل تخریب وجود دارند .



کنترل جنسی :

به دلیل اینکه در خلال رشد ماهی، جهت تولیدمثل، تغییرات گوناگونی در وضعیت جانور روی می دهد، بسیاری از پرورش دهندگان ، ترجیح می دهند که بلوغ ماهی را به تاخیر بیندازند یا از بروز آن ممانعت به عمل آورند و در بیشتر موارد به تولید ماهیان نابالغ یا عقیم

مبادرت ورزند. از جمله این تغییرات می توان به نداشتن جذابیت برای مصرف کننده، غیرقابل پیش بینی بودن تغییرات رشد، کارایی تبدیل غذا، رفتار ماهی، رنگ بدن و گوشت و حساسیت به بیماری ها اشاره کرد. لذا در این شرایط تغییر جنسیت و تولید جمعیت های تک جنس مناسب خواهد بود. تغییر جنسیت ماهی از طریق هورمون ، در واقع تغییر روند طبیعی تمایز جنسی تحت تاثیر هورمون های استروئیدی می باشد که در نتیجه ی آن در ماهیهایی که از لحاظ ژنتیکی ماده هستند، بیضه و یا در ماهیهایی که از لحاظ ژنتیکی نرهستند، تخمدان رشد می یابد ولی فرمول ژنتیکی (ژنوتیپ) کروموزوم های جنسی بدون تغییر باقی می ماند(۱).

مزایای کنترل جنسی :

- رشد بالاتر در یک جنس
- جلوگیری از اتلاف انرژی
- جلوگیری از کاهش تولید
- مقاومت بالا در یک جنس نسبت به بیماری
- کیفیت گوشت بهتر

درمان هورمونی در ماهیان به روش های مختلفی انجام می گیرد. این روش ها به دو گروه سریع و مدت دار یا کند تقسیم بندی می شوند .

روش های سریع استفاده از هورمون عبارتست از:۱- تزریق داخل عضلانی یا تزریق به حفره ی بدن بصورت سوسپانسیون ۲- بکار بردن هورمون در آب آکواریوم۳- غوطه وری ماهی در حمام آب ساکن حاوی هورمون این روش معمولا برای گونه هایی مورد استفاده قرار می گیرد که فرآیند تمایز جنسی کمی بعد از تخم گشایی به وقوع می پیوندد(مانند کثر آزاد ماهیان)(۱۱).روش کند عبارتست از :۱- درمان غذایی ۲- کپسول هورمونی ۳- پلت های کلسترولی به منظور کنترل جنسیت از سه روشِ درمان غذایی ، تزریق و غوطه وری استفاده می شود.البته قابل ذکر است که در سطح تجاری ، انتخاب روش مناسب استفاده از هورمون به ملاحظات اقتصادی و عملی بستگی دارد . از این رو ، دو روش درمان تغذیه ایی و غوطه وریِ تعداد زیاد ماهی در حمام آب ساکن یا آب در حال جریان روش های رایج عملی در تغییر جنسیت ماهی می باشد(۶). روش غوطه وری برای آن دسته ازماهیها مناسب است که تمایز جنسی آنها در مرحله ی جنینی یا در طول مراحل لاروی انجام گیرد این درحالی است که روش درمان غذایی (بکار بردن هورمون از طریق غذا) بیشتر برای گونه هایی بکار می رود که تمایز جنسی در هنگام آغاز تغذیه ی خارجی بوقوع بپیوندد .استفاده از غذای زنده از قبیل آرتمیا بعنوان ناقل هورمون های استروئیدی در برخی از ماهیها از قبیل

باس دهان بزرگ، لامپ ماهی انجام گرفته است .این روش جایگزین مناسبی برای روش غوطه وری می باشد .چرا که در برخی گونه ها با فاصله ی بسیارکمی پس از تخم گشایی با آرتمیای غنی شده با هورمون قابل درمان می باشند بدون اینکه نیازی به جایگزینی آب بعد از غوطه وری یا انتقال لارو به حمام آب حاوی هورمون باشد . جلوگیری از بهم خوردن شرایط زیستی لاروها ، بخصوص برای گونه های دریایی که لاروهای خیلی کوچک دارند ، حائز اهمیت است(۱۲).برای تغییر جنسیت ماهی به جنس نر از ۱۷ – آلفا – متیل تستوسترون و برای تغییر جنسیت ماهی به جنس ماده، از ۱۷ – بتا – استرادیول استفاده می گردد مقدار مورد نیاز و مدت زمان درمان هورمونی بستگی به نوع گونه دارد . بعنوان مثال در کپور معمولی ۱۰ میلی گرم هورمون ۱۷- آلفا – متیل تستوسترون به ازاء هر کیلو گرم غذا در ظرف زمانی ۴۰ تا ۸۸ روز پس از خروج لارو از تخم وبرای ماهی قزل آلای رنگین کمان ۲۵ میلی گرم به مدت ۷۰ روز از زمان شروع به تغذیه ، برای ایجاد نرزادی بکار رفته است . در زمینه ی القاء ماده زادی نیز با توجه به نوع گونه ، مقدار هورمون و دوره ی زمانی درمان متفاوت می باشد . برای نمونه قزل آلای رنگین کمان با ۲۰ میلی گرم هورمون ۱۷- بتا – استرادیول به ازاء هر کیلو غذا به مدت ۶۰ روز پس از شروع تغذیه به جنس ماده تبدیل می شود(۲)

روش تهیه هورمون :

ابتدا هورمون مورد نظر با اتیل الکل مخلوط می کنند سپس محلول بدست آمده را بر روی غذا اسپری کرده و می گذارند تا غذا خشک شود . سپس غذا را مورد استفاده قرار می دهند (۶).

نر زایی :

برای القای جنسیت نر از هورمون های آندروژنی ا ستفاده می شود .بعضی از گونه های اقتصادی ماهی مانند تیلاپیا دارای ویژگی های منا سبی برای پرورش ه ستند اما بلوغ جن سی زودرس این گونه مانع از ک شت دو جن سی آن می شود به همین دلیل پژوه شگران جهت ایجاد جمعیت های تک جنس این گونه تلاش های بسیاری را انجام داده اند . ایجاد جنس نر در تیلاپیا به علت سرعت رشد بالاتر این گونه بسیار حائز اهمیت است (۱)،(۳).

هورمون های نرزایی :

- ***17α-Methyltestosteron***
- ***11β- hydroxyandrostenedione***
- ***17α-Ethynyltestosterone***

- *11-ketotestosterone*

مورد استفاده در گونه های مختلف : *17α-Methyltestosteron*

ماهی	مقدار هورمون غذا (mg/kg)	دوره درمانی (روز) از زمان شروع تغذیه
آزاد ماهی اطلس	۳	۹۰
کپور معمولی	۱۰۰	۴۰تا ۸۰ روز بعد از خروج لاروها
قزل آلای رنگین کمان	۳	۷۰
توربوت	۳	۶۰
تیلاپیا زیلی	۵۰	۴۵
آزاد ماهی کوهو	۱ ۲*۲ ساعت غوطه وری نوزادان در ۴۰۰ میکروگرم در لیتر	۶۰

مقدار هورمون مورد استفاده و درجه تاثیر آن به عوامل مختلفی بستگی دارد :

۱- گونه ماهی

۲- نوع هورمون

۳- مدت زمان استفاده

جدول زیر اثر هورمون های مختلف و درجه تاثیر هر یک از آنهارا در ماهی قزل آلای رنگین کمان برای ایجاد جمعیت های تمام نر نشان می دهد . بهترین تاثیر در قزل آلای رنگین کمان استفاده از *17α-Methyltestosteron* به میزان ۳ میلی گرم در هر کیلوگرم غذا در یک دوره ۶۰ روزه است (۷).

Group / Hormone		Hormone concentration (mg/kg)	Feeding period (days)	Male ratio (%) (sex reversed females)	Intersex ratio (%)	Female ratio (%)
1	MT	3	30	53.33± 6.67 b	13.33±6.67 bc	33,33±6,67 b
2	MT	3	60	86.67±6.67 a	0.00±0.00 c	13,33±6,67 bc
3	MT	3	90	80.00±0.00 ab	20.00±0.00 ab	0,00±0,00 c
4	ET	30	20	73.33±6.67 ab	13.33±6.67 bc	13,33±6,67 bc
5	ET	30	40	53.33±6.67 b	46.67±6.67 a	0,00±0,00 c
6	ET	30	60	60.00±11.5 b	33.33±6.67 ab	6,67±6,67 c
7	HA	60	20	66.67±13.3 ab	20.00±11.5 b	13,33±6,67 bc
8	HA	60	40	73.33±6.67 ab	20.00±0.00 ab	6,67±6,67 c
9	HA	60	60	66.67±6.67 ab	20.00±0.00 ab	13,33±6,67 bc
Control		-	-	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	100.00±0.00 a

* MT: 17α-Methyltestosterone, ET: 17α-Ethynyltestosterone, HA: 11β-Hydroxyandrostenedione

ماده زایی :

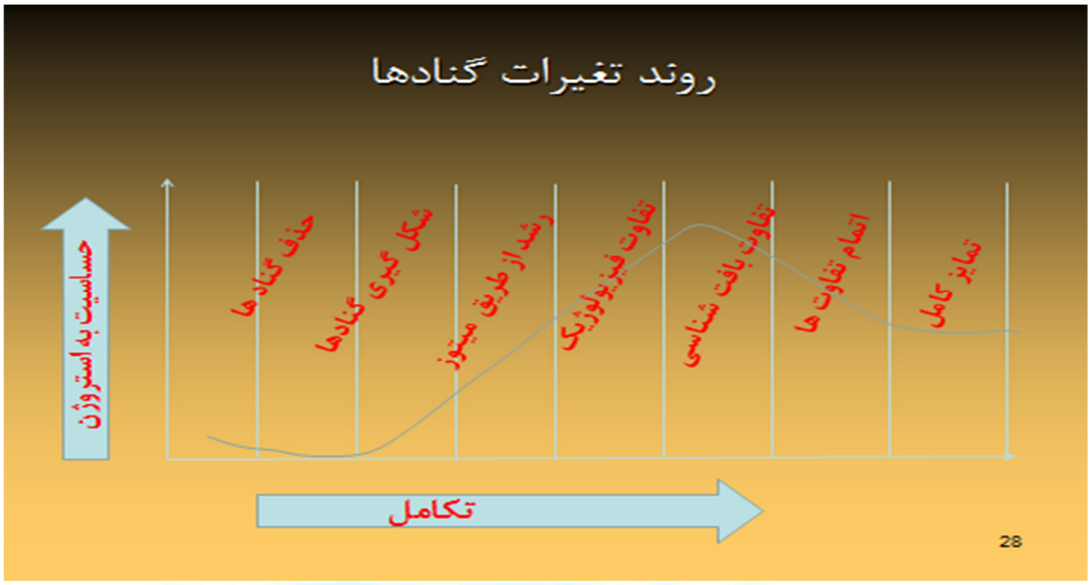
برای القاء جنسیت ماده از هورمون های استروژنی استفاده می شود (۲)

هورمون های مورد استفاده :

17ß-Estradiol و Ethynyl oestradiol

مقدار ۱۷-بتا استرادیول برای ماده زایی

ماهی	مقدار هورمون غذا (mg/kg)	دوره درمانی (روز) از زمان شروع تغذیه
آزاد ماهی اطلس	20 ۲ بار غوطه وری نوزادها در ۲۵۰ میکروگرم در لیتر	۱۲۰
قزل آلای جویباری	۲۰	۶۰
قزل آلای رنگین کمان	۲۰	۶۰
توربوت	۵	۶۰
آزاد ماهی کوهو	غوطه ور کردن نوزادها ۱۸ روز در ۵ میکروگرم در لیتر	۲۸(۵ روز بعد از خروج لاروها از تخم)

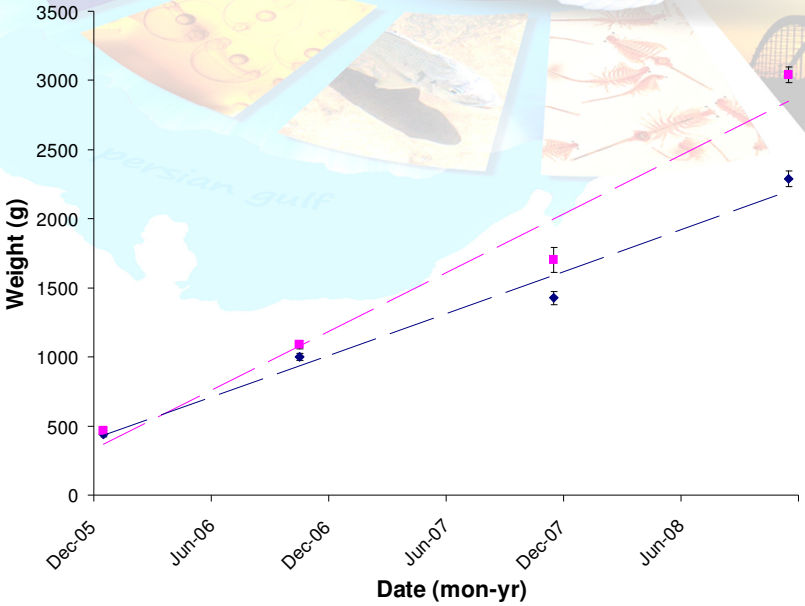


گونه هایی که برای تولید جمعیت های تک جنس بکار می روند :

قزل آلا :کیفیت گوشت در ماده ها بهتر است

ماهی خاویاری : فقط ماده ها تولید خاویار می کنند

تیلاپیا : جنس نر رشد سریع تری دارد (۶).



نمودار رشد در ماهی هالیبوت نشان از رشد بیشتر ماده ها نسبت به نر ها دارد.

بحث و نتیجه گیری :

با توجه به موارد ذکر شده در بالا می توان نتیجه گرفت که نوع هرمون و روش کاربرد آن می تواند در بهبود میزان هم آوری و همسان سازی زمان ر سیدگی مولدین بخصوص در گونه هایی که دارای ارزش اقتصادی بالایی هستند بسیار موثر با شد و از این طریق بتوان هزینه های تولید را کاهش داد . همچنین می توان هرمون ها بصـــورت خالص و بدون وجود عوامل بازدارنده با روش های القای نوین و کاربرد فناوری نانو بکار برد تا هم میزان جذب هرمون بالا رود و هم از ایجاد عوامل ضد محرک جلوگیری شود (۵)

پیشنهادات :

۱- استفاده از روش های مختلف هرمون تراپی در گونه های مختلف آبزیان و بدست آوردن موثر ترین روش جهت القا تولید مثلی

۲- استفاده از روشهای نوین هرمون تراپی در گونه هایی که زیست فن تکثیر آنها هنوز بدست نیامده است .

۳- مقایسه میزان تاثیر روش های مختلف در القا تولید مثلی

منابع :

1- Ferdous z., & M. M. Ali , (2011) . Optimization of hormonal dose during masculinization of tilapia(*Oreochromis niloticus*) fry , Journal of the Bangladesh Agricultural University ISSN 1810-3030 , 359–364

2- Atar,HH ., & Bekcan.S & Dogankaya, H (2009), EFFECTS OF DIFFERENT HORMONES ON SEX REVERSAL OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) AND PRODUCTION OF ALL-FEMALE POPULATIONS , Ankara University, Faculty of Agriculture, Fisheries & Aquaculture Department.

3- Fitzpatrick,S & Wilfrido M. Contreras-Sánchez & Ruth H. Milston, Michael Lucero., &Grant W. Feist .(1998), STEROID IMMERSION FOR MASCULINIZATION OF TILAPIA *Eighth Work Plan, Reproduction Control Research 2 (RCR2) and 3 (RCR3)*Martin Department of Fisheries and Wildlife Oregon State University Corvallis, USA

4- J.V. Shireman, & Chapman,F.A (1991) , Hormonal Control of Reproduction in Fish for Induced Spawning , Southern Regional Aquaculture Center

5 - Rex A. Dunham &Royall Broughton &Amina Zuberi &Fatma S. Kilinc-Balci (2009) ,. Polymer implants for timed release of drugs with particular emphasis on ovulation or spermiation of fish Inventors: USA , patent application publication

6-..Martin-Robichaud,DG &Tillmann Benfey.(2009). The fundamentals of producing monosex fish for aquaculture .

7- Martin-Robichaud ,D.G & Tillmann Benfey, (2010) .Effect of sex reversal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) using 17-methyltestosterone and11-hydroxyandrostenedione .; Inland Fisheries Institute in Olsztyn, Poland

9- Mohd Ashraf Rather& Rupam Sharma& Subodh Gupta&S. Ferosekhan &V. L. Ramya, (2013) . Chitosan-Nanoconjugated Hormone Nanoparticles for Sustained Surge of Gonadotropins and Enhanced Reproductive Output in Female Fish , PLoS ONE 8(2): e57094. doi:10.1371/journal.pone.0057094

10- Amini K.; & Siraj S. & S. Mojazi Amiri & Mirhashemi Rostami B , (2012) . Evaluation of LHRH-a acute release implantation on final maturation and spawning in not-fully matured broodstocks of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) , Volume 11, Number 3 (Summer, Iranian Journal of Fisheries Sciences)

11 Tarkhani, R & Imanpoor , M & Vahid Taghizadeh(2012) ,Effect of Dietary 17$-Estradiol on Serum Sex Hormones' Levels and Gamete Quality in Goldfish (*Carassius auratus*) , World Journal of Fish and Marine Sciences 4 (6): 637-644

12- Ronald P. &Phelps Thomas & Popma.J . (2000).SEX REVERSAL OF TILAPIA . Department of Fisheries and Allied Aquacultures Auburn University, Auburn, Alabama 36849 United States

13- Mylonas C., Zohar Y.Zaragoza : CIHEAM 1998 . New technologies for the control of gamete maturation in marine fishes , as tools in broods tock management , Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, p. 193-213