

بررسی امکان ایجاد جنس تمام نر در ماهی گویی *Poecilia reticulata* توسط هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون

قباد آذری تاکامی^۱، محمد امینی^۲ و محمدرضا نقوی^۳

چکیده

در این پژوهش اثر هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون روی نرسازی ماهی گویی *Poecilia reticulata* در دو مرحله از رشد و نمو یعنی نوزادی و مولدین جنین دار بررسی شد. گروه اول یعنی نوزادان دارای چهار تیمار شامل دو دوز ۳۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا و هر دوز در دوره های ۱۵ و ۳۰ روزه و گروه دوم یعنی مولدین دارای جنین دارای سه تیمار شامل دوزهای ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا در ۱۰ روز انتهایی دوره جنینی به همراه تیمار شاهد بودند. در گروه اول فقط تیمار ۶۰ mg/kg در ۳۰ روز با میانگین ۶۲/۱۴ درصد نر با تیمار شاهد تفاوت معنی دار داشت و تیمارهای دیگر تأثیری بر نرسازی نداشتند. در این گروه از هفته سوم و چهارم هورمون دهی صفات ثانویه جنسی در همه ماهی ها قابل مشاهده بود ولی با قطع هورمون دهی به تدریج این صفات در نیمی از ماهی ها از بین رفت و به جز تیمار مذکور همه تیمارها تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشتند. در گروه دوم هر سه تیمار با تیمار شاهد تفاوت معنی دار داشتند. دو تیمار ۴۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم با ۹۰/۸۲ و ۹۷/۰۷ درصد نر دارای بیشترین درصد نرسازی بودند ولی از نظر آماری تفاوتی با یکدیگر نداشتند. در تیمار ۴۵۰ mg/kg بقیه ماهی ها ماده بودند در حالی که در تیمار ۵۰۰ mg/kg ماهی ماده دیده نشد و بقیه ماهی ها جنسیت بینایی داشتند. درصد تلفات در هر سه تیمار بالاتر از تیمار شاهد و تعداد کل بچه ماهی های تولید شده کمتر از تیمار شاهد بود. بنابراین تیمار هورمونی باعث کاهش هم آوری و افزایش مرگ و میر می شود. درصد تلفات در تیمار ۵۰۰ mg/kg بالاتر از تیمار ۴۰۰ mg/kg بود. درصد نرسازی در گروه اول کمتر از گروه دوم و هم چنین نزدیک تیمار شاهد بود. بنابراین تیمار هورمونی بعد از تولد بچه ماهی ها تأثیر قابل ملاحظه ای در نرسازی ماهی گویی ندارد. در مجموع با توجه به درصد نرسازی و درصد تلفات تیمار ۴۵۰ mg/kg از گروه دوم بهترین تیمار تشخیص داده شد.

واژه های کلیدی: ماهی گویی، تغییر جنسیت، نرسازی، هورمون ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، جنسیت بینایی

مقدمه

رفتار و زمان بلوغ با هم تفاوت دارند. در ماهی های زیتنی هم از

در بسیاری از ماهی ها جنس نر و ماده از نظر رشد، شکل، رنگ، جمله گویی *Poecilia reticulata* این حالت دیده می شود، به

۱. استاد بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دام پزشکی، دانشگاه تهران

۲. کارشناس ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۳. استادیار بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

با ژنوتیپ YY تولید شده و از آمیزش این ماهی‌ها با ماده‌های طبیعی (XX) نتاج تمام نر تولید می‌شوند.

برخی از محققین اظهار نموده‌اند که با تجویز هورمون چه در دوره جنینی و چه بعد از آن (دوره نوزادی) می‌توان در این ماهی جنس تمام نر ایجاد نمود (۱۴). در حالی که برخی دیگر دوره هورمون‌دهی را محدود به دوره جنینی دانسته و نرسازی در خارج از این دوره را ناممکن بیان می‌کنند (۷). هدف از این تحقیق بررسی زمان مناسب تیمار هورمونی جهت نرسازی کامل ماهی گوپی و تعیین دستورالعمل مناسب جهت این عمل است.

مواد و روش‌ها

آزمایش در کارگاه پرورش ماهیان زینتی شرکت بهینه کاران آبریان واقع در زیبادشت کرج انجام گرفت. برای این منظور از ۲۷ عدد آکواریوم ۴۰ لیتری استفاده شد.

آکواریوم‌ها قبل از ورود بچه ماهی‌ها کاملاً شسته و ضدعفونی شدند. به منظور حفظ شرایط مطلوب آب آکواریوم‌ها تصفیه و دائماً هوادهی می‌شدند و باقی‌مانده غذا و مدفوع ماهی‌ها به خارج از آکواریوم سیفون شده و حدود ۳۰-۲۰ درصد آب به صورت هفتگی تعویض می‌شد.

بچه ماهی‌ها و مولدین مورد استفاده به صورت کاملاً تصادفی از میان ماهی‌های موجود در کارگاه انتخاب شدند. در هر آکواریوم ۶۰ عدد بچه ماهی یک روزه برای انجام آزمایش معرفی شده و در مورد مولدین ۵۰ عدد ماهی (۲۵ عدد ماده و ۲۵ عدد نر) نگهداری شدند. با توجه به وجود نژادهای مختلف ماهی گوپی در این بررسی به منظور حصول نتایج یک‌نواخت همه ماهی‌ها در هر دو گروه از نژاد سنگاپوری انتخاب شدند (شکل ۱). برای جلوگیری از خورده شدن بچه ماهی‌ها توسط مولدین، مولدین در سبدهای توری پلاستیکی با اندازه چشمه حدود ۳mm قرار داده شدند. غذادهی هر روز در پنج نوبت با استفاده از سیستم پسته زدایی شده آرتیمیا صورت گرفت. به علت استفاده از آب چاه و هم‌چنین مجهز بودن کارگاه به سیستم گرمایشی، درجه حرارت و خصوصیات فیزیکی و

طوری که جنس نر رنگین‌تر و درخشان‌تر و دارای باله‌های بلندتر نسبت به جنس ماده است (شکل ۱). این در حالی است که هزینه تولید آنها یکسان است و از طرف دیگر میزان تقاضا برای ماهی نر در بازار بیشتر از ماهی ماده است. مجموعه این عوامل باعث شده که تغییر جنسیت (نر سازی) در این ماهی‌ها مورد توجه بسیار زیادی قرار گیرد (۵، ۶، ۷، ۱۰ و ۱۳).

علاوه بر زیبایی و رنگ، در بسیاری از گونه‌های دیگر یکی از جنس‌ها از نظر میزان رشد و زمان بلوغ دارای ارزش بیشتری است. از این رو تکنیک تغییر جنسیت (نر سازی، ماده سازی و عقیم سازی) تاکنون در مورد حدود ۶۰ گونه از انواع ماهی‌ها اجرا شده است (۱۴). این مطالعات با دو هدف عمده صورت گرفته است: ۱- به دست آوردن یک دستورالعمل مناسب برای نر سازی و ۲- مشخص نمودن سیستم تعیین جنسیت (۱۱).

در ایران مطالعه‌ای روی تغییر جنسیت ماهی گوپی و یا دیگر ماهی‌های آکواریومی صورت نگرفته است و عمده مطالعات انجام شده روی ماهی‌های خوراکی متمرکز بوده است. از جمله این مطالعات می‌توان به تغییر جنسیت قزل آلا (۲ و ۳) و کپور (۱) اشاره نمود.

ماهی گوپی نه تنها گونه اقتصادی مهمی است بلکه به دلیل تنوع رنگ و هم‌چنین سادگی تکثیر و پرورش، از نظر مطالعات مختلف ژنتیکی و فیزیولوژیکی دارای ارزش زیادی است و به عنوان ماهی آزمایشگاهی کاربرد وسیعی دارد. این ماهی جزء ماهی‌های زنده‌زا است 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 قابل اجرا نیست، چون لقاح به صورت داخلی انجام می‌شود و تخم داخل بدن ماهی ماده باقی می‌ماند (۲). از این رو تنها روش قابل اجرا در این ماهی تغییر جنسیت هورمونی است که می‌تواند به صورت مستقیم یا غیرمستقیم انجام شود. در روش مستقیم جنین یا نوزاد تحت تیمار هورمونی قرار می‌گیرد ولی در روش غیر مستقیم ابتدا ابر نرهای



شکل ۱. ماهی گویی (بالا نر، پایین ماده)

بود که با غذای بدون هورمون تغذیه شدند (جدول ۱). دسته دوم شامل مولدین دارای جنین بود که سه دوز هورمونی ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا در یک دوره ۱۰ روزه انتهای دوره جنینی در اختیار آنها قرار گرفت. به این شکل که مولدین دارای جنین به مدت ۱۰ روز با غذای حاوی هورمون تغذیه شدند و بلافاصله بعد از این دوره بچه ماهی‌های متولد شده جدا شده و برای بررسی درصد نرسازی و آزمایش‌های بعدی در آکواریوم نگهداری شدند. بچه ماهی‌هایی

شیمیایی آب در طول دوره آزمایش و حتی قبل از آن ثابت بود (درجه حرارت 26°C ، pH حدود $7/1-7/2$ و سختی حدود 240 mg/litCaCO_3).

در این بررسی به طور کلی هفت تیمار هورمونی در نظر گرفته شد که به دو دسته قابل تفکیک بود. در دسته اول بچه ماهی‌های یک روزه با دو مقدار ۳۰ و ۶۰ میلی گرم هورمون در هر کیلوگرم غذا تیمار شدند که این مقادیر در دو دوره زمانی ۱۵ و ۳۰ روزه به کار رفت. تیمار شاهد شامل بچه ماهی‌هایی

جدول ۱. خلاصه نتایج تیمارهای مختلف در دو گروه آزمایشی

تیمار	گروه اول				گروه دوم			
	A	B	C	D	E (شاهد)	F	G	H (شاهد)
دوز هورمون mg/kg	۳۰	۶۰	۳۰	۶۰	-	۴۰۰	۴۵۰	۵۰۰
دوره هورمون‌دهی (روز)	۱۵	۱۵	۳۰	۳۰	-	۱۰	۱۰	۱۰
میانگین درصد تعداد نر	۵۰/۳۳	۴۹/۱۶	۵۵/۶	۶۲/۴	۵۰/۲۵	۷۷/۲۶	۹۰/۸۲	۹۷/۰۷
نتیجه آزمون دانکن	b	b	b	a	b	b	a	a
میانگین درصد تلفات	۷/۲۲	۲۴/۶۶	۲۷/۲۲	۳۱/۱	۶/۱۱	۲۷/۸۶	۳۳/۸۳	۴۳/۰۴
نتیجه آزمون دانکن	b	a	a	a	b	b	ab	a
میانگین همآوری	-	-	-	-	-	۴۵/۶۷	۵۰/۳۳	۴۴/۳۳
میانگین درصد جنسیت بینابینی	-	-	-	-	-	-	-	۲/۹۳

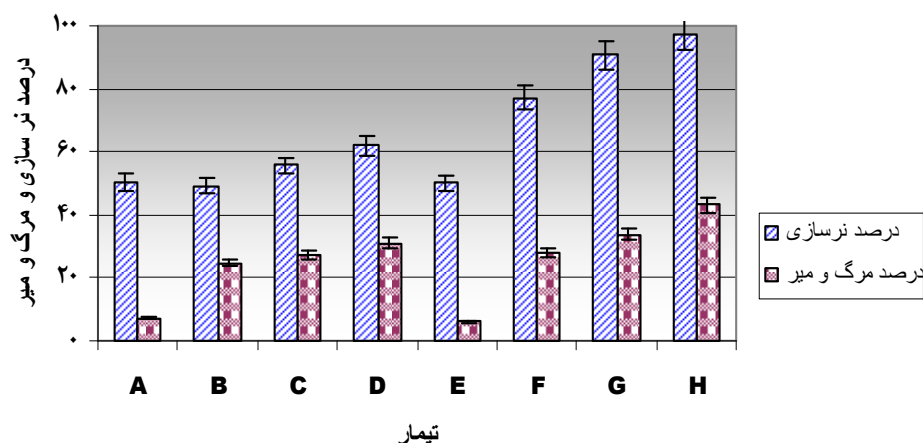
که قبل یا بعد از این زمان به دنیا آمدند از آزمایش حذف شدند. به این ترتیب فقط بچه ماهی‌هایی که در طول ۱۰ روز انتهایی دوره جنینی هورمون دریافت کرده بودند در آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. برای این گروه یک تیمار شاهد جداگانه در نظر گرفته شد که فقط برای بررسی میزان هم‌آوری و تلفات بین تیمارهای این گروه به کار رفت و برای مقایسه درصد نرسازی یک تیمار شاهد کافی است.

برای انجام آزمایش تغییر جنسیت از هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون استفاده شد که از شرکت داروسازی ابوریحان تهیه شد. هورمون با استفاده از روش خشک‌سازی الکلی (Alcohol Dry Method) به غذا اضافه شد (۱). مقدار هورمون مورد نیاز به دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شده و در الکل اتیلیک ۹۶ درجه حل شد. محلول الکلی روی غذا اسپری شده و بعد از ۲۴ ساعت و تبخیر کامل الکل غذا جمع‌آوری شد. به غذای تیمار شاهد نیز به مقدار مساوی الکل اضافه شد و مراحل خشک سازی انجام گرفت. بچه ماهی‌ها به مدت سه ماه بعد از دوره هورمون دهی نگهداری شدند و در طول این مدت تلفات کنترل و ثبت شد. در پایان کار با توجه به تفاوت ظاهری نر و ماده، تشخیص جنسیت بر حسب ظاهر ماهی صورت گرفت. برای

تایید این تشخیص و بررسی دقیق آثار هورمون روی گنادها آزمایش‌های بافت شناسی به روش هماتوکسیلین - اتوزین انجام شد. از هر تکرار ۳ عدد ماهی نر و ۳ عدد ماهی ماده برای این منظور انتخاب شد. البته در تیمارها و تکرارهایی که نرسازی به صورت کامل انجام شده بود تعداد بیشتری ماهی نر و هم‌چنین ماهی‌های با ظاهر مشکوک انتخاب شدند و در محلول بوئن فیکس شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها هر دسته در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و هم‌چنین کل تیمارها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی جداگانه بررسی شدند و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین بهترین تیمار و مقایسه با تیمار شاهد به کار رفت. برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

میانگین درصد نرسازی و تلفات در دو گروه در شکل ۲ نشان داده شده است. ابتدا دو تیمار شاهد از لحاظ آماری مقایسه شد و چون بین این دو تیمار تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت برای مقایسه درصد نرسازی از نتایج تیمار شاهد گروه اول استفاده شد (جدول ۱).



شکل ۲. میانگین درصد نرسازی و تلفات در کل تیمارها

۲/۹۲٪ جنسیت بینابینی ایجاد شد و ماهی ماده دیده نشد. ماهی‌های با جنسیت بینابینی بدن شبیه به ماده ولی باله‌های دارای رنگدانه زیاد و همچنین گونوپودیوم داشتند. گنادهای ماهی با جنسیت بینابینی دارای هر دو نوع سلول‌های جنسی نر و ماده هستند.

در گروه دوم تیمارهای G و H از نظر میانگین درصد نرسازی تفاوت معنی‌دار ندارند اما تیمار F با تیمارهای دیگر و تیمار شاهد متفاوت است و همه تیمارها با تیمار شاهد تفاوت دارند ($P < 0/05$).

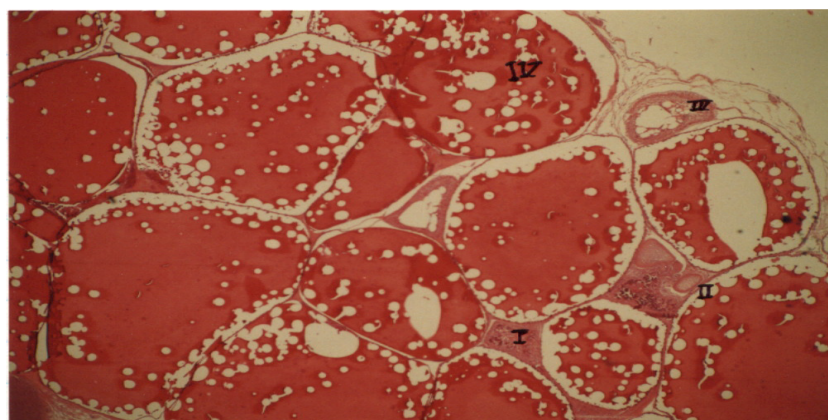
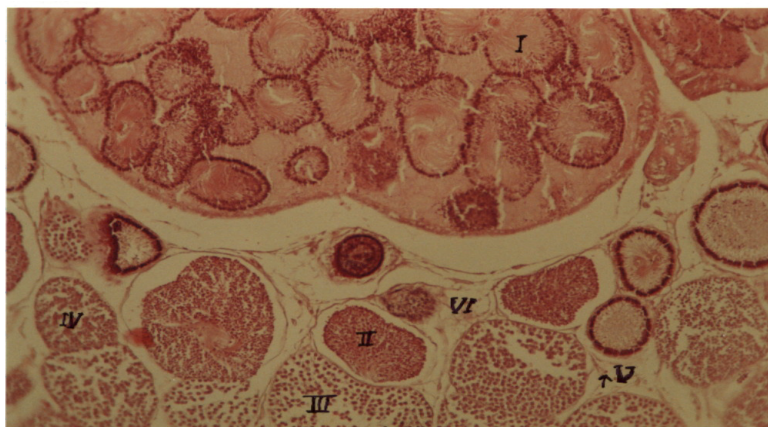
در این گروه میانگین درصد تلفات در تیمار شاهد کمترین مقدار بوده و با همه تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد. بین تیمارهای F و G و همچنین G و H از نظر آماری تفاوتی دیده نمی‌شود ولی تیمار F و H تفاوت دارند ($P < 0/05$). تعداد کل بچه ماهی تولید شده در تیمار شاهد بیشترین مقدار بوده و تفاوت مشخصی با سه تیمار دیگر دارد و بین سه تیمار هورمونی تفاوتی از لحاظ آماری وجود ندارد.

در مقایسه تیمارهای دو گروه تیمارهای A، B، C و E از لحاظ آماری درصد نرسازی متفاوتی ندارند و تیمار D و E نیز در یک گروه هستند ولی تیمار D با تیمارهای دیگر تفاوت دارد ($P < 0/05$). تیمار F با همه تیمارها تفاوت معنی‌دار دارد و دو تیمار G و H از نظر آماری یکسان هستند. دو تیمار A و E دارای کمترین تلفات بودند و تیمار B، C، D و F یکسانند.

تصویر بافت شناسی بیضه و تخمدان طبیعی ماهی گوپی که از گناد تیمارهای شاهد تهیه شد در شکل ۳ نشان داده شده است.

در هر گروه صفات مورد بررسی یعنی درصد نرسازی، درصد تلفات و همچنین میزان همآوری از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). ماهی‌های تیمار شده در گروه اول بعد از حدود ۳ هفته همگی صفات اختصاصی جنس نر یعنی رنگدانه بیشتر و ظهور گونوپودیوم را نشان دادند ولی بعد از قطع تیمار هورمونی به تدریج این صفات در تقریباً نیمی از ماهی‌ها از بین رفت و تعداد نر و ماده در پایان آزمایش طبق جدول ۱ بود. طبق نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن در گروه اول از نظر درصد نرسازی فقط تیمار D با تیمارهای دیگر تفاوت داشت و تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P < 0/05$). در مورد درصد تلفات تیمار A و تیمار شاهد (E) یکسان بوده و تیمارهای دیگر با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار دارند. تیمار هورمونی در این گروه (گروه اول) در تعدادی از نمونه‌ها باعث بروز اثرات جانبی روی گناد ماهی‌ها شده است از جمله کاهش سلول‌های جنسی و افزایش بافت همبند (شکل ۴).

در گروه دوم همه تیمار در نرسازی موفق بوده‌اند. در دو تیمار G و F به ترتیب ۷۷/۲۶٪ و ۹۰/۸۲٪ نر ایجاد شد و بقیه ماهی‌ها ماده بوده‌اند در حالی که در تیمار H، ۹۷/۰۸٪ نر و

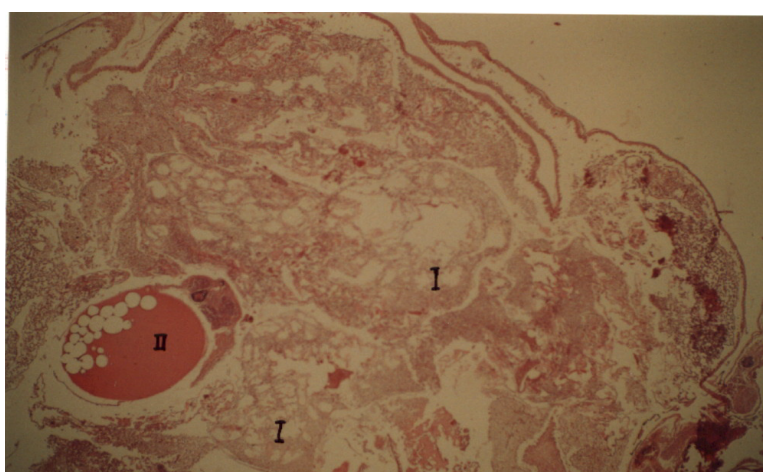


شکل ۳. بالا: بیضه طبیعی ماهی گوپی

I- اسپرماتوزوئید، II- اسپرماتید، III- اسپرماتوگونیا، IV- اسپرماتوسیت I، V- سلولهای لیدیک، VI- بافت همبندی استروما

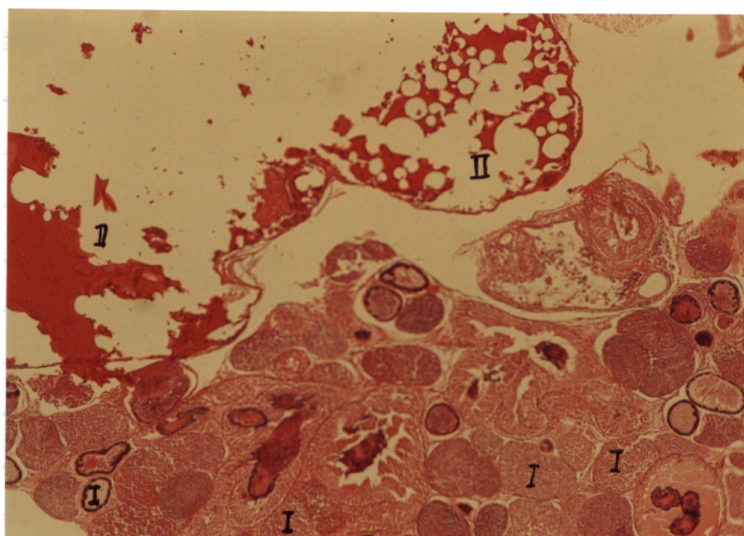
پایین: تخمدان طبیعی ماهی گوپی

I- بافت همبندی استروما، II- اووگونی، III- تخمک هسته کناری، IV- تخمک ویتلوژنیک



شکل ۴. دژنراسیون سلولهای جنسی

I- تخمک در حال دژنراسیون II- تخمک ویتلوژنیک



شکل ۵. گناد با جنسیت بینابینی

I- لوله‌های حاوی سلول‌های جنسی نر II- سلول‌های جنسی ماده

بیشترین دوز و دوره هورمونی بود توانست نسبت جنسی را هرچند کم تغییر دهد. با توجه به این که هورمون آندروژن می‌تواند باعث افزایش تلفات در ماهی‌های با ژنوتیپ ماده شود (۵)، ممکن است مقداری از این تفاوت در نسبت نر به ماده مربوط به مرگ و میر ماهی‌های ماده باشد.

همان طور که در بخش نتایج ذکر شد هورمون ۱۷ - آلفا متیل تستوسترون می‌تواند اثرات موقتی زیادی روی ماهی بگذارد ولی این اثرات بعد از قطع تجویز هورمون به تدریج از بین رفته و ماهی‌ها به جنسیت ژنتیکی خود باز می‌گردند. این نشان می‌دهد که تیمار هورمونی مناسب نبوده و تغییر جنسیت به خوبی انجام نشده است. به طوری که بازگشت ماهی‌ها به جنسیت ژنتیکی خود فقط در گروه اول دیده شد. بازگشت ماهی‌های تغییر جنسیت یافته گویی به جنسیت ژنتیکی خود توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۱۳). در این آزمایش ماهی‌های نر گویی بعد از ۵۶ روز توقف هورمون دهی به جنسیت اولیه خود برگشتند که با نتایج به دست آمده از این بررسی مطابقت دارد.

از طرف دیگر در آزمایش‌های بافت شناسی مشخص شد که

تیمارهای F، D، C و G نیز در یک گروه آماری قرار دارند، یعنی تفاوت معنی‌داری ندارند ولی B و G باهم تفاوت دارند ($P < 0.05$). تیمار H نیز با همه تیمارها متفاوت بوده و دارای بیشترین تلفات است و فقط در این تیمار جنسیت بینابینی مشاهده شد. این ماهی‌ها از نظر شکل حد واسط نر و ماده بودند. شکل ۵ گناد این ماهی‌ها را نشان می‌دهد.

بحث

دوره تغییرپذیری (Labile Period) یعنی زمانی که جنسیت ماهی می‌تواند در اثر استروئیدهای جنسی خارجی تغییر کند در ماهی گویی منطبق بر دوره جنینی است (۷). بهترین زمان هورمون دهی در دوره تغییرپذیری است ولی این بدان معنی نیست که در خارج از این دوره هیچ تغییری در جنسیت ماهی ایجاد نمی‌شود. این موضوع در ماهی‌های دیگر نظیر ماهی آزاد نیز گزارش شده است (۴، ۱۲ و ۱۴). اما برای تغییر جنسیت در خارج از دوره تغییرپذیری به دوز هورمونی بالا و دوره طولانی‌تر نیاز است. در این بررسی تیمارهای A، B و C تأثیری بر نرسازی نداشتند. در گروه اول فقط تیمار D که دارای

تیمارهای هورمونی باعث آثار جانبی روی گنادها می‌شوند به طوری که اگرچه نمی‌توانند جنسیت یک ماهی ماده را تغییر دهند و آن را به نر تبدیل کنند ولی می‌توانند باعث کاهش سلول‌های جنسی در آن شوند (شکل ۴).

هرچند در منابع مختلف ذکر می‌شود که تیمار هورمونی از طریق جیره معمولاً باعث افزایش مرگ و میر نمی‌شود (۱۴) اما در این بررسی تیمارهای B، C و D در گروه اول نسبت به شاهد مرگ و میر بیشتری داشتند. این تفاوت می‌تواند به دلیل نوع هورمون مورد استفاده باشد به طوری که برخی محققین با تحقیق روی ماهی جنگجو نشان دادند که هورمون‌های مصنوعی (از جمله متیل تستوسترون) نسبت به هورمون‌های طبیعی باعث افزایش تلفات در ماهی‌ها می‌شوند (۸ و ۱۰).

دی متیل تستوسترون (DMT) در نرسازی ناموفق و آندرو استندیون (AS) موثرین هورمون (با دوز ۲۰۰ mg/kg) تشخیص داده شده است. طبق نظر برخی محققین بهترین میزان هورمون MT جهت نرسازی گوپی ۵۰۰ mg/kg است (۱۱). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان دید که تیمارهای هورمونی در گروه دوم باعث افزایش شدید تلفات شده‌اند که عمده این تلفات در روزهای نخستین بعد از تولد مشاهده شد و دارای توزیع یک‌نواخت در طول دوره نبود. همچنین با افزایش دوز هورمون درصد تلفات افزایش می‌یابد. با مقایسه میزان هم‌آوری می‌توان دید که تیمارهای هورمونی باعث کاهش هم‌آوری نیز می‌شوند. محققین با مطالعه نرسازی ماهی گوپی توسط تیمار مولدین دریافتند که تیمار هورمونی می‌تواند باعث تأخیر در تولد نوزادان و تلفات مولدین شود (۸ و ۹). تأخیر در تولد

می‌تواند باعث کاهش تعداد بچه ماهی تولید شده در پایان دوره ۱۰ روزه هورمون دهی و همچنین ضعیف شدن و قابلیت بقا پایین بچه ماهی‌های متولد شده شود که نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر نیز این مطلب را تایید می‌کند. این بررسی به عنوان اولین گام در تغییر جنسیت ماهی گوپی مطرح است و اگرچه درصد تلفات در تیمارهای موفق در نرسازی بالاست ولی با بهینه سازی متغیرهای تیماری (مقدار هورمون، زمان هورمون دهی و طول دوره هورمون دهی) در تحقیقات بعدی می‌توان به یک دستور العمل مطلوب برای نرسازی این ماهی دست یافت. علاوه بر متغیرهای تیماری مذکور عوامل دیگر مانند شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، شرایط نگه‌داری و تکثیر مولدین و پرورش نوزادان، نوع غذای به کار رفته و غیره می‌توان بر میزان تلفات مؤثر باشد. همچنین نژادهای مختلف این ماهی که برای ایجاد رنگ‌های خاص گزینش شده‌اند نسبت به شرایط مختلف مقاومت متفاوتی دارند. توجه به همه این موارد می‌تواند بهترین نتایج را همراه با کمترین مرگ و میر در پی داشته باشد. در مجموع می‌توان گفت که تیمار G (۴۵۰ mg/kg) بهترین تیمار است زیرا از طرفی درصد نرسازی آن با تیمار H (۵۰۰ mg/kg) تفاوت معنی‌داری ندارد و از طرف دیگر تلفات در آن کمتر از H است. طبق نتایج به دست آمده، تیمار هورمونی در دوره جنینی آثار پایدار و دائمی در بر دارد در حالی که تیمار هورمونی در دوره نوزادی اثرات موقتی در پی خواهد داشت، بنابراین دوره تغییرپذیری کاملاً منطبق بر دوره جنینی است، در حالی که در برخی منابع این دوره هم‌زمان با دوره جنینی یا بعد از تولد ذکر می‌شود (۱۴).

منابع مورد استفاده

- آذری تاکامی، ق.، ف. امینی، و ح. فرحمنند. ۱۳۷۵. بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به وسیله هورمون ۱۷ - آلفا متیل تستوسترون. منابع طبیعی ایران ۴۹: ۳-۱۶.
- آذری تاکامی، ق.، ح. فرحمنند و ب. بهرامی کمانگر. ۱۳۸۰. ایجاد ماده‌زایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط پرتو فرابنفش. منابع طبیعی ایران ۳۸۲-۳۶۹: ۴(۵۴).
- امینی، ف. و م. طلا. ۱۳۸۲. بهینه‌سازی تجویز خوراکی هورمون ۱۷ - آلفا متیل تستوسترون به منظور نرسازی و عقیم سازی در

- ماهی قزل آلاى رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۳ (۵۸): ۲۳۵-۲۴۰.
4. Donaldson, E. M., R. H. Devlin F. Piferrer and I. I. Solar. 1996. Hormones and sex control in fish with particular emphasis on salmon. Asian Fish Sci. 9:1-8.
 5. George, T. and T. J. Pandian. 1995. Production of ZZ female-heterogametic black molly, *Poecilia sphenops*, by endocrine sex reversal and progeny testing. Aquaculture 136: 81-90.
 6. George, T. and T. J. Pandian. 1996. Hormonal induction of sex reversal and progeny testing in the zebra cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. J. Experimen. Zool. 275:374-382.
 7. Kavumpurath, S. and T. J. Pandian. 1992. Production of YY male in the guppy, *Poecilia reticulata*, by endocrine sex reversal and progeny testing. Asian Fish Sci. 5: 265-276.
 8. Kavumpurath, S. and T. J. Pandian. 1993. Masculinization of *Poecilia reticulata* by dietary administration of synthetic or natural androgen to gravid females. Aquaculture 116: 83-89.
 9. Kavumpurath, S. and T. J. Pandian. 1993. Production of YY female guppy, *Poecilia reticulata*, by endocrine sex reversal and progeny testing. Aquaculture 118: 183-189.
 10. Kvumpurath, S. and T. J. Pandian. 1994. Masculinization of fighting fish, *Betta splendens*, using synthetic or natural androgens. Aquacul. and Fish Manag. 25: 373-381.
 11. Pandian, T. J. and S. G. Sheela. 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture 138: 1-22.
 12. Piferrer, F., I. J. Baker and E. M. Donaldson. 1993. Effects of natural, synthetic, aromatizable, and non-aromatizable androgens in inducing male sex differentiation in genotypic female chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Gen. Comp. Endocrinol 91: 59-65.
 13. Piferrer, F. and L. C. Lim. 1997. Application of sex reversal technology in ornamental fish culture. Aquarium Sci. and Conserv. 1: 113-118.
 14. Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture 197: 229-281.