مجله علمی شیلات ایران ۳۱(۵) ۱۳-۲۶ (DOI): 10.22092/ISFJ.2023.128315

مقاله علمی – پژوهشی:

تأثیر هورمون ۱۷ آلفا – متیل تستوسترون بر روند تولید مولد نر تغییر جنسیت یافته از تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان بومی و تخم‌های چشم‌زده وارداتی

ابوالحسن راستیان نسب*[۱]

*a.rastian@areeo.ac.ir

۱-مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۱

چکیده

تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان تک‌جنس تمام‌ماده از طریق تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته با روش هورمون‌تراپی دارای مزایای متعددی بوده و تأخیر در بومی‌سازی این فناوری در سال‌های قبل منجر به وابستگی کشور به واردات تخم چشم‌زده شده است. در این تحقیق، به‌منظور امکان استفاده از ذخایر ماهیان وارداتی جهت مولدسازی و نیز غلظت مناسب هورمون‌تراپی با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون، بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بومی و بچه‌ماهیان حاصل از تخم تمام ماده وارداتی با غذای حاوی ۳ میلی‌گرم هورمون در کیلوگرم غذا به مدت ۷۰ روز تغذیه گردید. یافته‌ها حاکی از تغییر جنسیت تمام ماهیان معمولی (بومی) به نر تغییر جنسیت یافته و قابلیت تولید اسپرم ماده زاد صرفاً به‌وسیله نیمی از مولدین (نر XX) بود. نتایج هورمون درمانی ماهیان تولیدی از تخم‌های وارداتی تمام ماده، تولید ۵۷ درصد ماهیان نر و ۴۳ درصد ماهیان ماده بود. ماهیان نر در سن ۲۲ ماهگی، مولد نر تغییر جنسیت یافته با قابلیت تولید اسپرم و لقاح تخم بودند. ولی ماهیان ماده دارای تخمدان توسعه نیافته و کوچک بودند. این تحقیق ضمن تولید غیر مستقیم ماهی تمام ماده، می‌تواند استفاده از پتانسیل ژنتیکی ماهیان حاصل از تخم‌های تمام‌ماده تک‌جنس وارداتی را از طریق تغییر جنسیت و آمیزش با ماهیان بومی تسهیل نماید و سبب افزایش تنوع ژنتیکی ذخایر ماهیان بومی در ایجاد جمعیت پایه در برنامه اصلاح‌نژاد و مزارع ماهیان سردابی گردد.

لغات کلیدی: نر تغییر جنسیت یافته، ۱۷ آلفا – متیل تستوسترون، قزل‌آلای رنگین‌کمان، مولدسازی، تخم وارداتی

*نویسنده مسئول

مقدمه

تولید و پرورش ماهیان عقیم یا تمام ماده به دلیل حذف کامل بلوغ یا تأخیر در بروز آن در آبزیان پرورشی اهمیت دارد (Dunham, 2004). یافته‌های پژوهشی حاصل از مقایسه رشد برخی گونه‌های ماهیان پرورشی حاصل از نژادهای وارداتی از جمله کپور معمولی با کپور معمولی استان خوزستان (عبدالحی و همکاران، ۱۳۹۶) و نیز رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان وارداتی از کشورهای مختلف در برابر نژاد بومی این گونه (گرجی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸، مهدوی و همکاران، ۱۳۹۱، راستیان‌نسب و همکاران، ۱۳۹۹)، حاکی از پتانسیل رشد بالاتر در نژادهای وارداتی نسبت به نمونه‌های بومی بوده و برتری این صفت اقتصادی سبب تمایل پرورش‌دهندگان به واردات این محصولات از جمله تخم چشم‌زده قزل‌آلای رنگین‌کمان از خارج کشور گردیده است. بر اساس نتایج این بررسی‌ها، قزل‌آلای رنگین‌کمان حاصل از تخم‌های چشم زده وارداتی دارای پتانسیل رشد سریع‌تر و وزن‌گیری در مدت زمان کمتر نسبت به ماهیان بومی بودند. همچنین طی دوره پرورش بچه ماهیان وارداتی، اختلاف و پراکندگی محدوده طولی و وزنی بسیار کمتری نسبت به ماهیان بومی وجود داشت. بخش عمده‌ای از مزایای پرورش ماهیان قزل‌آلای حاصل از تخم‌های وارداتی ناشی از تک‌جنس و تمام ماده بودن این محصولات و نیز پتانسیل رشد بالا ناشی از اجرای برنامه اصلاح نژاد و بهگزینی قزل‌آلای رنگین‌کمان است. با این‌وجود، در راستای تجدید نسل و بهره‌برداری از صفات برتر نژادهای وارداتی، تولید مولد ماده از این محصولات به دلیل تخم با قابلیت پایین در تکثیر، فاقد توجیه اقتصادی هستند (راستیان نسب و همکاران، ۱۳۹۶).

تولید مولد نر تغییر جنسیت یافته یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها جهت تولید جمعیت بچه ماهی تک‌جنس در جهان محسوب می‌گردد (Razmi *et al*., 2011). تولید مولد نر با قابلیت تولید اسپرم‌زا یا از تخم‌های وارداتی با روش مذکور، امکان تجدید نسل و بهره‌برداری از پتانسیل این محصولات را در نسل‌های بعدی فراهم می‌سازد. با این‌وجود، ایجاد جمعیت ماهیان تک‌جنس تمام‌ماده از طریق تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته، با روش استفاده از هورمون در تغذیه بچه ماهیان معمولی قزل‌آلا، به دلیل اختلاط جنس نر و ماده، تنها ماهیان ماده تغذیه شده با هورمون نر سازی، از قابلیت مولدسازی برخوردار است و ماهیان نر ژنتیکی (قریب به ۵۰ درصد جمعیت) با وجود تغذیه از هورمون، به دلیل عدم تولید اسپرم ماده‌زاد قابل استفاده نیستند و نیز به دلیل استفاده مستقیم از هورمون، کمتر مورد تغذیه انسانی قرار گرفته‌اند، حتی پس از تأثیر هورمون، با روش بررسی بیضه، تشخیص نرهای تغییر جنسیت یافته (xx) و نرهای ژنتیکی (xy) می‌تواند منجر به خطا گردد (Beirao *et al*., 2019). با این‌وجود، مدیران مزارع تکثیر در استفاده از این روش و حذف نیمی از مولدین و صرف هزینه‌های تولید و تغذیه مولدین نر و ماده، همواره با کمبود مولدین نر تغییر جنسیت یافته در تولید تخم و بچه ماهی تک جنس مواجه هستند.

نتایج برخی پژوهش‌های انجام شده حاکی از امکان تغییر جنسیت ماهیان حاصل از تخم تمام ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از هورمون‌های ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون[1] و ۱۱ بتا - هیدروکسی اندروستنیدیون[2] با قابلیت تولید اسپرم‌زایا بوده به‌طوری‌که هورمون اخیر (11β-OHA) تأثیر بهتری بر روند نر سازی داشته است (Kuzminski and Dobosz, 2010). همچنین در پژوهش دیگری، پس از تغییر جنسیت با هورمون نر سازی مشابه، مولد سازی از ماهیان حاصل از تخم‌های تمام ماده محقق شد و دارای اسپرم زایا با قابلیت لقاح تخمک بودند (Atar *et al*., 2009). با این‌وجود، تولید مولد نر تغییر جنسیت یافته از ماهیان حاصل از تخم تک‌جنس تمام‌ماده، قابلیت استفاده از ظرفیت همه مولدین تولیدی را در تکثیر ممکن می‌سازد و در صورت بررسی و توفیق در تغییر جنسیت بچه ماهیان حاصل از تخم‌های تمام ماده وارداتی پس از تغذیه با هورمون و تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته (xx) از آنها، ضمن بهره‌گیری از پتانسیل رشد بالا در

[1] 17α-Methyltestosterone

[2] 11β-Hydroxyandrostenedione

این محصولات، ۱۰۰ درصد ماهیان نر موجود در جمعیت، نر تغییر جنسیت یافته هستند و ضمن تشخیص سریع از ماده‌ها، اسپرم استحصالی از آنها قابل استفاده در تکثیر است و معضل حضور نرهای ژنتیکی (XY) و زایل شدن نیمی از سرمایه مرتفع می‌گردد. اگرچه تولید مولدین نر تغییر جنسیت یافته از تخم‌های معمولی (با جنسیت نر و ماده) در وضعیت کنونی جوابگوی تولید کمی و کیفی مولد و تخم تک‌جنس در سطح کشور نمی‌باشد و پرورش‌دهندگان به ناچار به واردات تخم‌های چشم زده تک جنس قزل آلای رنگین کمان از خارج کشور وابسته می‌باشند (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۸).

در این تحقیق، روند تأثیر تیمار تغذیه‌ای هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون بر تغییر جنسیت ماهیان حاصل از تخم‌های تمام ماده وارداتی را در مقایسه با تأثیر هورمون مذکور بر ماهیان بومی و امکان مولدسازی و قابلیت تولید مثل دو گروه بررسی و با ماهیان معمولی، مقایسه گردید.

مواد و روش کار

به منظور تولید ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون به روش تغذیه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با غذای حاوی هورمون و تعیین درصد تغییر جنسیت در مقایسه با ماهیان معمولی، ۴۰۰۰ عدد تخم چشم‌زده ماهی قزل‌آلای معمولی و بومی از ذخایر مولدین مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری انتخاب گردید. آب محل انجام آزمایش از طریق چشمه به روش ثقلی با میانگین دمای ۱۲ درجه سانتیگراد تامین گردید. پس از تفریخ تخم ها و شروع تغذیه، بچه ماهیان به دو دسته: گروه شاهد یا ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری (جدول ۱) بدون هورمون (تیمار ۱) و نیز ماهیان بومی تغذیه شده با غذای حاوی هورمون ۱۷ آلفا - متیل - تستوسترون به روش تبخیر الکل به مقدار سه میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا به مدت هفتاد روز (تیمار ۲) جهت ارزیابی تأثیر تیمار مذکور جهت تغییر جنسیت ماهیان، تقسیم شدند Atar *et al*., 2009; Weber *et al*., (2020).

جدول ۱: آنالیز تقریبی خوراک اکسترود قزل الای رنگین کمان

Table 1: Approximate composition of rainbow trout extruded feeds

ترکیب شیمیایی	نوع غذای مورد استفاده				
	پیش آغازی	آغازی	پیش پرواری	پرواری	مولد
پروتئین خام	۵۰-۵۴	۴۶-۵۰	۴۰-۴۴	۳۸-۴۲	۴۱-۴۵
چربی خام	۱۱-۱۵	۱۱-۱۵	۱۲-۱۶	۱۳-۱۷	۱۳-۱۷
فیبر خام	۱-۳	۱-۳	۲-۴	۲-۴	۱-۳
خاکستر	۹-۱۳	۹-۱۳	۷-۱۱	۷-۱۱	۷-۱۱
رطوبت	۵-۱۱	۵-۱۱	۵-۱۱	۵-۱۱	۵-۱۱
فسفر	۱-۱/۵	۱-۱/۵	۱-۱/۵	۱-۱/۵	۱-۱/۵

پس از تهیه هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون (محصول کمپانی سیگما آلدریچ آمریکا، وارد کننده: شرکت شهر آزما) مقدار هورمون مورد نیاز با توجه میزان غذای ماهی با ترازوی دیجیتال با دقت بالا (۰/۰۰۰۱ گرم) توزین شده و برای اسپری به یک کیلوگرم غذای ماهی در ۱۵۰ میلی‌لیتر الکل اتانول خالص حل گردید. پس از گستردن غذا روی سطح یکنواخت با اسپری دستی، محلول الکل و هورمون روی تمام سطح ذرات غذا اسپری گردید. غذای اسپری شده در آزمایشگاه خشک شده و پس از تغذیه ماهیان در هر وعده، مابقی آن در یخچال نگهداری شد.

همچنین به منظور بررسی امکان تغییر جنسیت و مولدسازی از تخم‌های تک جنس وارداتی نسبت به انتقال ۱۳۰۰ عدد تخم چشم‌زده تمام ماده وارداتی از طریق عامل واردات، از کشور اسپانیا به مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح

نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری اقدام گردید و پس از طی دوره انکوباسیون و شروع تغذیه با غذای حاوی هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا به مدت ۷۰ روز تغذیه شدند (تیمار ۳). در این بررسی، هر تیمار در قالب سه تکرار انجام گردید.

ماهیان تیمارهای مختلف طی ۲۳ ماه پرورش، از نظر برخی فاکتورهای رشد از قبیل طول و وزن بررسی شدند و ضمن بررسی‌های آناتومیک تعیین و تغییر جنسیت نمونه‌ها، از نظر برخی شاخص‌های تولیدمثلی از جمله شاخص گنادو سوماتیک (GSI) مطابق رابطه ذیل، زمان بلوغ و اسپرم‌دهی و قابلیت لقاح اسپرم این ماهیان در تکثیر از طریق محاسبه درصد لقاح و چشم زدگی تخم با یکدیگر مقایسه شدند.

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

بررسی فعال بودن و تحرک اسپرم بصورت کیفی بلافاصله بعد از استحصال و فعال شدن با آب معمولی به صورت چشمی انجام شد (Alavi *et al.*, 2006). برای این منظور از میکروسکوپ فاز کنترل است (Olympus 295) با عدسی شیئی ×۴۰ استفاده شد.

به منظور بررسی قابلیت لقاح اسپرم ماهیان نر تغییر جنسیت یافته حاصل از ماهیان بومی (تیمار ۲) و ماهیان نر تغییر جنسیت یافته حاصل از ماهیان وارداتی (تیمار ۳) و مقایسه با مولدین نر معمولی (تیمار ۱) تعداد ۵ مولد نر از هر گروه انتخاب گردید و مخلوطی از تخم ۱۳ مولد ماده معمولی به میزان ۳ کیلوگرم انتخاب و تخم‌ها به سه قسمت مساوی تقسیم شدند و هر قسمت با مخلوطی از اسپرم ۵ ماهی از هر تیمار تلقیح و در سه تکرار، دوره انکوباسیون طی گردید و بررسی‌ها تا مرحله چشم زدن تخم‌ها در تیمارهای مختلف انجام شد. با توجه به این‌که درصد لقاح و چشم‌زدگی تخم‌ها می‌تواند به عنوان معیاری برای سنجش قابلیت لقاح اسپرم تلقی شود و از آن‌جایی‌که در مطالعه حاضر از مخلوط تخمک چندین مولد ماده استفاده شده است، لذا، درصد لقاح و چشم‌زدگی تخم‌های لقاح یافته با اسپرم مولدین نر می‌تواند نشان‌دهنده قابلیت اسپرم برای انجام لقاح باشد (Aas *et al.*, 1991).

تعیین درصد لقاح تخم

حدود ۹ روز پس از عملیات تکثیر و لقاح، از تخم‌های مربوط به هر یک از تیمارهای مختلف آزمایشی نمونه‌برداری صورت گرفت و درصد لقاح با استفاده از لوپ (Nikon، ژاپن) محاسبه شد. بدین‌ترتیب، تعداد ۱۰۰ تخم از هر تکرار در یک پتری دیش حاوی محلول شفاف‌کننده (اسید استیک ۴ درصد، متانول و آب مقطر با نسبت ۱:۱:۱) قرار گرفت. بعد از گذشت ۳ دقیقه، تخم‌های لقاح یافته به‌راحتی از طریق حضور یک کمربند عصبی واضح از تخم‌های لقاح نیافته تشخیص داده شدند و مورد شمارش قرار گرفتند. درصد لقاح تخم‌ها (F) مطابق رابطه ذیل محاسبه و ثبت شد (Bromage and Cumaranatunga, 1988):

$$F\ (\%) = (NF\ /NT) \times 100$$

NT: تعداد کل تخم‌های هر تیمار،NF : تعداد تخم‌های عادی لقاح یافته هر تیمار

تعیین درصد چشم زدگی تخم

تعیین میزان تخم‌های چشم زده از تخم‌های تلف شده با روش شوک‌دهی صورت گرفت (Aas *et al.*, 1991). تخم‌ها از فاصله ۲۱ سانتی‌متری در سینی دیگری تخلیه شدند که طی این عمل تخم‌های لقاح نیافته یا تلف شده، سفید می‌شدند. در این مرحله درصد چشم زدگی تخم‌ها (E) با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد (Bromage and Cumaranatunga, 1988):

$$E(\%) = (NE\ /NT) \times 100$$

NT: تعداد کل تخم‌های هر تیمار، NE: تعداد کل تخم‌های چشم زده هر تیمار

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها به صورت میانگین تکرارها با محاسبه میزان انحراف استاندارد (Standard deviation) گزارش شد. به منظور مشخص نمودن همگنی واریانس داده‌ها از آزمون لون (Levene) و نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف-سمیرنوف استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در صورت همگنی واریانس داده‌ها به کمک آزمون t دو گروه مستقل و نرم افزار آماری SPSS V. 22 صورت می‌گیرد و در صورت

نرمال نبودن داده‌ها از آزمون ناپارامتری یو من ویتنی استفاده گردید.

نتایج

جهت تأمین بچه ماهی بومی قزل‌آلای رنگین کمان، ابتدای آذر ۱۳۹۸ نسبت به تکثیر ذخیره مولدین ایرانی، جهت تولید تخم اقدام گردید و بچه ماهیان حاصله در تیمارهای ۱، ۲ و نیز بچه ماهیان حاصل از تخم وارداتی (تیمار ۳) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج مقایسه شاخص‌های رشد تیمارهای مختلف

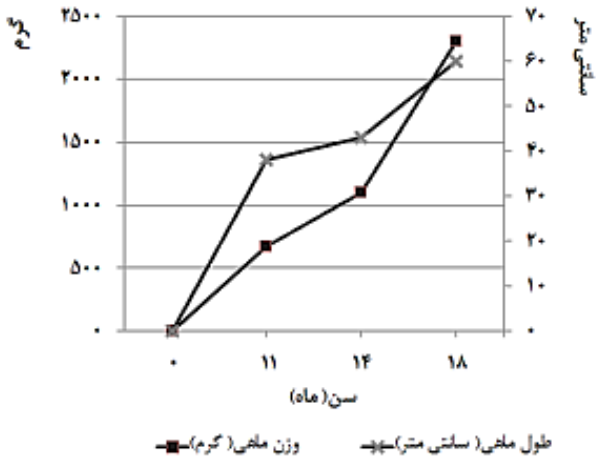
در جدول ۲ افزایش وزن و طول ماهیان تیمارهای مختلف در انتهای دوره پرورش و مولد سازی ارائه شده است. بر اساس جدول مذکور، میزان افزایش وزن و طول ماهیان تیمارهای مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین افزایش وزن و طول را ماهیان حاصل از تخم وارداتی طی دوره پرورش داشتند و ماهیان بومی تغذیه شده با غذای بدون هورمون دارای کمترین میزان افزایش وزن و طول بودند.

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های رشد اندازه گیری شده در ماهیان تیمارهای مختلف پس از ۲۳ ماه پرورش

Table 2: Comparison of growth rates measured in fish of different treatments after 23 months of rearing

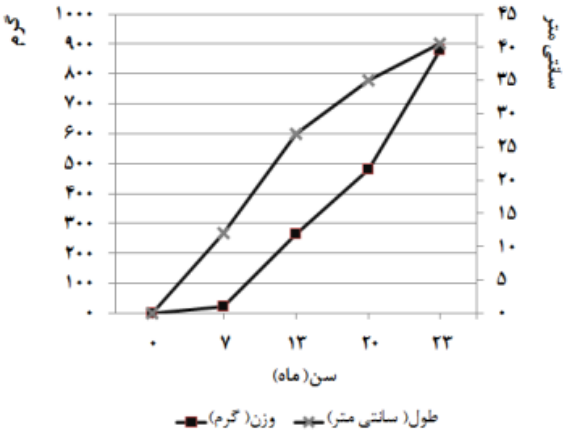
فاکتور	تیمار		
	ماهیان بومی قزل آلای رنگین کمان (تیمار ۱)	ماهیان نر تغییر جنسیت یافته بومی (تیمار ۲)	ماهیان نر تغییر جنسیت یافته وارداتی (تیمار ۳)
میانگین وزن ماهی (گرم)	۶۴۹±۱۳۲^{a}	۹۲۴± ۱۶۱^{b}	۲۸۰۰±۲۵۸^{c}
میانگین طول ماهی (میلی متر)	۳۹۰±۲۵^{a}	۴۰۵±۳۰^{b}	۶۶۰±۴۳^{c}
متوسط رشد روزانه (گرم)	۰/۹۸±۰/۲^{a}	۱/۴±۰/۲^{b}	۴/۲±۰/۳^{c}
میانگین رشد طولی روزانه (میلی‌متر)	۰/۶±۰/۱^{a}	۰/۶۱±۰/۱^{a}	۱±۰/۲^{b}

متوسط رشد روزانه ماهیان نر تغییر جنسیت یافته در تیمار ۳ طی ۶۶۰ روز پس از تفریخ و پرورش بچه ماهی ۴/۲±۰/۳ گرم بود و رشد طولی روزانه آنها ۱±۰/۲ میلی‌متر بود که این شاخص‌ها با میزان آنها در تیمار ۱ و ۲ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). ماهیان تیمار ۳ در ۱۴ و ۱۸ ماهگی به‌ترتیب دارای میانگین وزن ۱۰۹۹±۲۰ و ۲۳۰۰±۲۰۷ گرم بود (شکل ۱). در شکل ۲ روند افزایش وزن و طول ماهیان تیمار ۲ در دوره پرورش نشان داده شده است.



شکل ۱: روند افزایش وزن و طول ماهی قزل آلای رنگین کمان وارداتی پس از تیمار هورمون

Figure 1: Weight and length gain trends of the imported rainbow trout after hormone therapy.



شکل ۲: افزایش وزن و طول ماهی قزل آلای رنگین کمان معمولی پس از تیمار هورمون.

Figure 2: Weight and length gain of native rainbow trout after hormone therapy.

نتایج مقایسه شاخص‌های تولید مثلی و تکثیر تیمارهای مختلف

اولین نشانه‌های پیدایش گنادها در بررسی آناتومی در قزل‌آلای رنگین‌کمان معمولی (تیمار ۱) پس از سن یک‌سالگی ثبت گردید به‌طوری‌که قبل از آن نشانه مشخصی از ظهور گنادها نبود (شکل ۳). طی ماه‌های بعد گنادها رشد نمود به‌طوری‌که جنسیت ماهیان به میزان بالایی (قریب به ۸۰ درصد) قابل تشخیص بود (شکل ۴). شاخص گنادوسوماتیک ماهیان تیمار ۲ پس از ۲۳ ماه برابر با ۰/۸ ±۴ درصد بود و جنسیت تمام ماهیان تغذیه شده با هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون، نر (نر معمولی و نر XX) بودند (جدول ۳).

شکل ۳: عدم تشخیص و پیدایش گنادها در سن ۱۱ ماهگی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Figure 3: Non-recognition of gonads at the age of 11 months in rainbow trout

شکل ۴: گناد تغییر جنسیت یافته ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بومی (ایرانی)

Figure 4: Sex reversed gonad of native (Iranian) rainbow trout.

جدول ۳: مقایسه شاخص‌های تولید مثلی محاسبه شده در ماهیان مولد تیمارهای مختلف پس از ۲۳ ماه پرورش
Table 3: Comparison of reproductive indices calculated in brood fish of different treatments after 23 months of rearing

فاکتور	تیمار		
	ماهیان معمولی قزل الای رنگین کمان (تیمار ۱)	ماهیان نر تغییر جنسیت یافته بومی (تیمار ۲)	ماهیان نر تغییر جنسیت یافته وارداتی (تیمار ۳)
میانگین وزن گناد (گرم)	۲۹±۱۰^{a}	۴۱±۱۰/۷^{b}	۸۴±۲۰^{c}
میانگین شاخص گنادوسوماتیک (درصد)	۴/۵±۱/۵^{a}	۴±۰/۸۰^{ab}	۳±۰/۷۰^{b}
ماهیان نر در جمعیت (درصد)	۵۸±۳^{a}	۱۰۰±۰^{b}	۵۳±۲^{c}
میزان لقاح تخمک با اسپرم مولدین (درصد)	۷۸±۴^{a}	۸۱±۵^{a}	۸۵±۶^{a}
میزان چشم زدگی تخم لقاح یافته با اسپرم مولدین (درصد)	۷۵±۵^{a}	۷۷±۶^{a}	۷۷±۶^{a}

میانگین وزن گناد در ماهیان تیمار ۱ برابر با ۱۰±۲۹ گرم بود (جدول ۲) که با میانگین این مشخصه در ماهیان تیمار ۲ (۱۰/۷±۴۱ گرم) و تیمار ۳(۲۰±۸۴ گرم) تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). شاخص گنادوسوماتیک ماهیان نر تغییر جنسیت یافته با میانگین این شاخص در کل جمعیت ماهیان نر و ماده معمولی هم سن (۱/۵±۴/۵ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). بر اساس نتایج بررسی آناتومیک (جدول ۲)، جنسیت ماهیان در تیمار ۱ در نمونه‌های مطالعاتی، نر (۵۸ درصد) و ماده (۴۲ درصد) بودند (شکل ۵). بررسی جنسیت ماهیان تیمار شده با هورمون حاکی از تغییر جنسیت تمام ماهیان و تولید ۱۰۰ درصد ماهیان نر بود (شکل ۶).

شکل ۵: وضعیت گناد قزل‌آلای رنگین‌کمان نر و ماده معمولی
Figure 5: Gonad status of normal male and female rainbow trout

میانگین شاخص گنادوسوماتیک ماهیان تیمار ۳ در سن ۱۴ و ۲۳ ماهگی به‌ترتیب ۰/۷±۰/۸ و ۰/۷±۳ درصد بود. میانگین وزن گناد ماهیان مذکور در ۲۳ ماهگی ۲۰±۸۴ گرم بود (جدول ۲) درحالی‌که میزان آن در ماهیان تیمار ۲ ۱۰/۷±۴۱ گرم و دارای اختلاف معنی‌داری با وزن گناد در ماهیان وارداتی بود (p<۰/۰۵). با وجود گناد بزرگ‌تر در ماهیان وارداتی، میزان شاخص گنادوسوماتیک آنها (۰/۷±۳) و ماهیان نر تغییر جنسیت یافته (XX) بومی ۰/۸±۴ فاقد تفاوت معنی‌داری بود (p>۰/۰۵). گنادها در بررسی‌های آناتومیک در این ماهیان در ۱۴ ماهگی قابل تشخیص بود به‌طوری‌که ۵۳ درصد نمونه‌های تشریح شده دارای گناد و همگی نر بودند. گناد در تعداد ۴۷ درصد از

ماهیان تیمار ۳ تا سن ۲۳ ماهگی فاقد رشد قابل‌توجه بوده و شاخص گنادوسوماتیک در آنها برابر با ۰/۰۳±۰/۰۴ درصد، حاکی از عدم توسعه گنادها در آنها بوده است (شکل ۷). بنابراین، نیمی از ماهیان حاصل از تخم تمام ماده به نر تغییر جنسیت یافته تبدیل شدند (شکل ۸).

نتایج حاصل از تکثیر، درصد لقاح و چشم زدگی تخم با استفاده از اسپرم ماهیان تیمارهای شاهد، ۲ و ۳ (شکل ۹ الف) به‌ترتیب ۴±۷۸، ۵±۸۱ و ۶±۸۵ درصد و میانگین نتایج فاقد تفاوت معنی‌داری باهم بودند ($p>0/05$). همچنین یافته‌های حاصل از بررسی درصد چشم‌زدگی تخم در تیمارهای شاهد،۲ و تیمار ۳ (شکل B9) به‌ترتیب ۵±۷۵، ۶±۷۷ و ۶±۷۷ درصد و فاقد اختلاف معنی‌داری بودند ($p>0/05$).

شکل ۶: وضعیت گناد ماهیان نر و ماده معمولی (بالا) و گناد ماهیان نر تغییر جنسیت یافته (پایین)

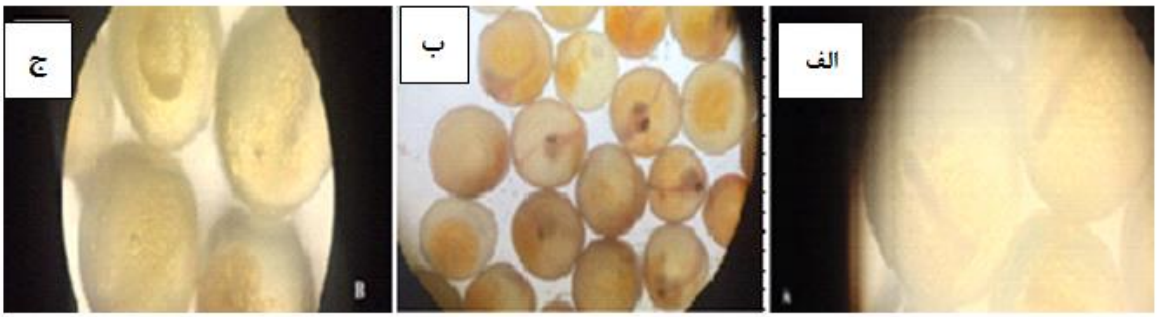
Figure 6: Gonads status of normal male and female fish (top) and gonads of sex reversed male fish (bottom)

شکل ۷: تخمدان توسعه نیافته در ماهی حاصل از تخم‌های تمام ماده وارداتی

Figure 7: Undeveloped ovary in fish obtained from all female imported eggs

شکل ۸: وضعیت گناد و رسیدگی جنسی ماهیان نر تغییر جنسیت یافته حاصل از تخم‌های تمام ماده وارداتی

Figure 8: Gonad status and sexual maturation of sex reversed male fish obtained from all female imported eggs



شکل ۹: تشکیل کمربند عصبی و رشد لارو در تخم‌های لقاح یافته با استفاده از اسپرم ماهیان نر (xx) وارداتی (الف)، تخم چشم زده (ب) و تخم لقاح نیافته (ج)

Figure 9: Formation of neural cord and larval growth in fertilized eggs using imported neomale (xx) sperm (A), eyed eggs (B) and unfertilized eggs (C)

بحث

یافته‌های پژوهشی حاکی از مزیت نژادهای وارداتی برخی از ماهیان پرورشی از جمله کپور معمولی (عبدالحی و همکاران، ۱۳۹۶) و قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر سرعت رشد نسبت به نژادهای بومی بوده که البته کیفیت این صفت اقتصادی در محصولات وارداتی از کشورهای مختلف باهم متفاوت است (گرجی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸؛ مهدوی و همکاران، ۱۳۹۱؛ راستیان‌نسب و همکاران، ۱۳۹۹). یافته‌ها حاکی از آن بوده که ماهیان وارداتی قزل الای رنگین کمان دارای سرعت رشد بیشتر به‌واسطه اشتهای بالا و تغذیه بیشتر بوده که این امر باعث کاهش طول دوره پرورش و به تبع آن، توجیه‌پذیر بودن پرورش ماهیان وارداتی نسبت به ماهیان بومی شده است و وزن‌گیری مناسب آنها با کاهش دوره پرورش به عنوان یک مزیت اقتصادی نسبت به ماهیان بومی است. بهبود مشخصه‌های کیفی و کمی تخم‌های وارداتی و ماهیان حاصله می‌تواند نتیجه بهبود شرایط نگهداری مولدین و اصلاح نژاد با برنامه بهگزینی باشد. به‌علاوه، تولید تک‌جنس و تمام ماده این محصولات بدون دستکاری در عدد پلوئیدی (راستیان نسب و همکاران، ۱۳۹۶) از جمله مزایای این تخم‌ها نسبت به تخم چشم زده ماهیان بومی است.

رابطه مستقیم میزان رشد و ضریب تبدیل غذایی و رابطه معکوس ضریب تبدیل غذایی با طول دوره رشد در دو گروه ماهی، ناشی از تأثیر برنامه‌های اصلاح نژاد و بهگزینی بر افزایش اشتهای ماهیان وارداتی نسبت به ماهیان بومی بوده (راستیان نسب و همکاران، ۱۳۹۹) و این ماهیان می‌توانند در زمان کوتاه‌تری به وزن مورد نظر برسند و چنین روندی در رشد، منجر به افزایش ضریب تبدیل غذا در آنها گردیده است. تأمین تخم چشم‌زده تک‌جنس وارداتی به دلیل قابلیت تولید ماهیان تک‌جنس ماده و پتانسیل رشد بالا از مهم‌ترین دغدغه‌های پرورش‌دهندگان است به‌طوری‌که در تحقیق اخیر، ماهیان حاصله از تخم‌های اسپانیایی طی دوره پرورش، رشد سه برابری نسبت به ماهیان بومی داشتند. یافته‌ها حاکی از آن بوده که ماهیان وارداتی علاوه بر تک‌جنس و تمام ماده بودن، دارای سرعت رشد بیشتر به‌واسطه اشتهای بالا و تغذیه بیشتر بوده که این امر باعث کاهش دوره پرورش و به تبع آن، توجیه‌پذیر بودن پرورش ماهیان وارداتی نسبت به ماهیان بومی شده است (Rastiannasab *et al*., 2015).

نتایج برخی پژوهش‌ها، تلاش برای بهبود پتانسیل رشد در ماهی حاکی از عدم تأثیر مثبت بر کاهش ضریب تبدیل و بازده غذایی بوده است (Ogata *et al*., 2002; Mambrini *et al*., 2004).

در تحقیق حاضر، در جمعیت ماهیان معمولی قزل‌آلا نسبت جنسی نامتعادل و تعداد نرها بیشتر از ماده بودند. در رابطه با نسبت جنسی در ماهیان معمولی قزل‌آلای رنگین‌کمان با توجه به ماهیت کروموزم های X و Y انتظار می‌رود تعداد نرها و ماده‌ها در جمعیت برابر باشند. با این‌وجود، برخی شرایط می‌تواند باعث حضور بیشتر یک جنس نسبت به جنس دیگر شود و حتی نسبت‌های جنسی یک گونه در یک رودخانه نسبت به رودخانه دیگر متفاوت باشد (Gilk *et al*., 2005). بر اساس برخی پژوهش‌ها، افزایش دمای آب بعد از تفریخ منجر به حضور بیشتر ماهیان ماده و کاهش درجه حرارت آب باعث حضور بیشتر ماهیان نر در جمعیت می‌گردد. در واقع، صرف نظر از تأثیر مستقم دما بر بهم خوردن تعادل جنسی جمعیت، افزایش نرها در فرزندان می‌تواند ناشی از حضور و غالبیت مولدین حساس به شرایط دمایی پایین و دارای پتانسیل تولید نتاج نر باشد (Brykov *et al*., 2008).

بر اساس مطالعات Geffen و Evans (۲۰۰۰) شاخص گنادوسوماتیک در نرهای معمولی بیشتر از نرهای تغییر جنسیت یافته بود. در آن بررسی، اندازه نرهای تغییر جنسیت یافته بیشتر از نرهای معمولی بود. از سوی دیگر، مطالعه جوهری و همکاران (۱۳۸۲) بیانگر بیشتر بودن شاخص گنادوسوماتیک نرهای تغییر جنسیت یافته نسبت به نرهای معمولی بود به‌طوری‌که به وزن یکسان دو گروه نرها و اندازه بزرگتر بیضه در نرهای تغییر جنسیت یافته اشاره نمودند. بر اساس یافته‌های Atar و همکاران (۲۰۰۹) استفاده از هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون با غلظت یک میلی‌گرم در کیلوگرم غذا طی مدت ۶۰ روز با تولید ۸۷ درصد قزل‌آلای رنگین‌کمان نر تغییر جنسیت یافته به عنوان موثرترین هورمون جهت تغییر جنسیت این گونه معرفی گردید به‌طوری‌که پس از تیمار هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون و ۱۱ بتا-هیدروکسی-اندروستنیدیون با غلظت‌های مختلف جهت تغییر جنسیت گروه‌های مختلف بچه ماهیان تک‌جنس تمام‌ماده، حاکی از افزایش شاخص GSI در تیمارهای ماهیان نر تغییر جنسیت یافته نسبت به ماهیان تمام ماده بود. این نتایج منطبق بر نتایج مطالعه Johnstone و همکاران (۱۹۷۹) بود. بالا بودن شاخص گنادوسوماتیک در ماهیان نر قزل‌آلا نسبت به ماهیان ماده، به دلیل بلوغ زودرس نرها نسبت به ماده‌ها و رشد بیضه طی فرایند نرسازی می‌باشد به‌طوری‌که میزان این شاخص در ماهیان نر تیمار ۳ نسبت به ماهیان ماده به میزان قابل‌توجهی بیشتر بود. این مطالعات نشان می‌دهد که تأثیر هورمون‌ها بر تغییر جنسیت حتی در یک گونه با توجه به تیمارهای مختلف، خانواده‌ها، نژادهای مختلف و شرایط تیمار و محیط آزمایش متفاوت است. در تحقیق حاضر، تشخیص جنسیت ماهیان نر تغییر جنسیت یافته از طریق کالبد شکافی در سن ۱۲ ماهگی ممکن بوده که منطبق با نتایج یک بررسی جهت تشخیص این ماهیان در سن ۱۵-۱۰ ماهگی بوده است (Fraslin *et al*., 2020).

اختلاف میانگین وزن بیضه (۲۰±۸۴ گرم) و شاخص گنادوسوماتیک (۰/۷±۳) ماهیان تغییر جنسیت یافته

وارداتی در مطالعه حاضر با میزان محاسبه شده آنها (به‌ترتیب ۳۸/۴ و ۳/۹) در مطالعه پیشین (Kuzminski and Dobosz, 2010) می‌تواند به دلیل افزایش وزن قابل توجه ماهیان وارداتی نسبت به وزن ماهیان در مطالعه انجام شده (۹۵۸ گرم) پس از سال سوم پرورش و نیز سن بالاتر آنها بوده است به‌طوری‌که ماهی بزرگتر، بیضه بزرگتری داشتند، ولی با شاخص GSI رابطه معکوس دارد. اگرچه به دلیل کاهش اختلاف وزن نمونه‌های استفاده در مطالعه قبلی با ماهیان نر تغییر جنسیت یافته بومی، شاخص GSI بین دو گروه اختلاف قابل توجهی نداشته اشت.

میانگین وزن بیضه در ماهیان وارداتی نسبت به ماهیان بومی بزرگتر بود. با این‌وجود، به دلیل وزن بالای ماهیان وارداتی، تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین شاخص گنادو سوماتیک آنها با سایر تیمارها نبود. یافته‌های این پژوهش حاکی از افزایش رشد ماهیان تحت تیمار هورمونی نسبت به ماهیان گروه شاهد (۱۳۲±۶۴۹) بوده و این نتایج منطبق بر یافته‌های تحقیقات Atar و همکاران (۲۰۰۹) و اظهارنظر مبنی بر اثر هورمون بر توسعه رشد و افزایش ماهیچه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و ضرورت بررسی بیشتر بود.

نتایج مطالعه حاضر، حاکی از تأثیر مطلوب هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا در تغییر جنسیت ماهی قزل‌آلا و تولید ماهیان ۱۰۰ درصد نر تغییر جنسیت یافته در ماهیان تیمار شده با هورمون بود. با این‌وجود، تأثیر هورمون مورد استفاده بر ماهیان حاصل از تخم‌های تمام ماده (وارداتی) منجر به تغییر جنسیت ۵۳ درصد از ماهیان مذکور به جنس نر بوده و در ۴۷ درصد از ماهیان جمعیت مذکور، توسعه گنادها کند بوده و با حفظ جنسیت ماده، شواهدی مبنی بر تشکیل تخمدان داشتند که می‌تواند به دلیل عملکرد تولید مثلی ضعیف ماهیان تمام ماده وارداتی در تولید تخمک زایا و و به تبع آن بازماندگی پایین تخم در تکثیر باشد و رشد تخمدان در این مرحله متوقف شود. بر اساس نتایج این تحقیق، ماهیان حاصل از تخم‌های وارداتی، در صورت عدم استفاده از هورمون و تغییر جنسیت، تمام‌ماده بوده و توانایی تولید تخم را در دو سالگی نداشته یا عقیم بودند درحالی‌که تحت تأثیر تغذیه با هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون، قریب به ۵۰ درصد از ماهیان به مولدین نر با قابلیت تولید اسپرم زایا با توانایی لقاح تخمک داشتند. این یافته‌ها منطبق با نتایج مطالعات تیمار تخم تمام ماده ماهی قزل آلا با هورمون ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون و تولید ۶۰ درصد نر و نیز تیمار تخم‌ها با هورمون ۱۱ بتا-هیدروکسی اندروستنیدیون و تولید ۹۵ درصد ماهی نر بوده است به‌طوری‌که هورمون اخیر (OHA) تأثیر بهتری بر روند نرسازی داشته است (Kuzminski and Dobosz, 2010). از سوی دیگر، تفاوت تأثیر هورمون بر ماهیان معمولی و ماهیان وارداتی از نظر تفاوت در تغییر نسبت جنسی دو گروه پس از تیمار هورمون می‌تواند ناشی از تغییر شرایط محیطی مبدأ تخم‌ها و بچه ماهیان وارداتی نسبت به محل انجام این بررسی باشد (Brykov *et al.*, 2008). نتایج این بررسی حاکی از تحقق تغییر جنسیت ماهیان حاصل از تخم‌های تمام ماده وارداتی و امکان مولدسازی از آنها بود به‌طوری‌که در شرایط فعلی، مولدین ماده تولیدی از آنها فاقد تخم تکامل یافته بودند و با تغییر جنسیت، مولدین نر با قابلیت تولید اسپرم زایا از آنها ایجاد شد.

بر اساس یافته‌های این بررسی درصد لقاح و چشم‌زدگی تخم لقاح‌یافته تفاوت معنی‌داری با بازده تکثیر مولدین معمولی در محل انجام این بررسی نداشت. با این‌وجود، شرایط خشکسالی، بحران کم آبی در فصل پرورش مولدین در تابستان، افزایش دمای هوا و عدم امکان تغذیه مناسب مولدین نر و یا ماده در فصل پرورش و قبل از تخم‌ریزی می‌تواند مهم‌ترین عوامل منفی مؤثر در لقاح تخم محسوب گردد (فراهانی و همکاران، ۱۳۹۴).

با این‌وجود، مولدین نر تغییر جنسیت یافته همانند مولدین معمولی، اسپرم با قابلیت لقاح تخم تولید نمودند. بر اساس یافته‌های این بررسی، مولدسازی از این محموله تخم‌های وارداتی با قابلیت تولید اسپرم با کیفیت جهت تلقیح تخم انجام شده و می‌توان از پتانسیل این ماهیان ذر نسل‌های بعدی تولید قزل‌آلا و افزایش تنوع ژنتیکی ذخایر بومی و تشکیل جمعیت پایه در برنامه‌های اصلاح نژاد ماهی قزل آلای رنگین کمان در کشور مورد استفاده قرار گرفته است و با توجه به بلوغ نرها در سال دوم، طول نسل را در برنامه

اصلاح نژاد و نسل گیری از برخی جمعیت‌ها از سه سال به دو سال کاهش داد.

مولدین حاصل از تخم‌های وارداتی می‌تواند جهت تکثیر و استفاده از قابلیت رشد بالای این ماهیان در نسل‌های بعدی در بهبود پتانسیل رشد ماهی قزل‌آلا در مزارع پرورشی سودمند می‌باشد. پرورش بچه‌ماهیان تیمارهای مختلف جهت بررسی میزان رشد فرزندان حاصله و میزان انتقال صفات رشد در والدین حاصله از تخم‌های وارداتی به نسل تولیدی ادامه دارد.

منابع

جوهری، س. ع.، کلباسی، م.، ویلکی، ا.س. و طلا. م.، ۱۳۸۲. مقایسه خصوصیات و قابلیت لقاح اسپرم در ماهیان نر تغییر جنسیت یافته و مولدان معمولی قزل آلای رنگین کمان. مجله علوم دریایی ایران،۲(۴): ۲۷-۳۷.

راستیان نسب، ا.، شریفیان، م.، گندمکار، ح.، نظری، س.، مرادیان، س.ح.، مهدوی، ج.، فلاحت، ع.، حسینی، س. ع. و کاظمی، ا.، ۱۳۹۶. بررسی کروموزمی و وضعیت پلوییدی ماهیان قزل آلای رنگین کمان حاصله از تخم‌های چشم زده وارداتی. گزارش نهایی طرح پژوهشی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج، ۳۷ صفحه.

راستیان نسب، ا.، گندمکار، ح.، فلاحت ناصراباد، ع.، حسینی، س. و مهدوی، ج.، ۱۳۹۹. تأثیر بهگزینی انفرادی بر بهبود ضریب تبدیل غذایی نسل اول (F1) ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۵): ۱-۱۱.

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۸. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، دفتر برنامه ریزی، گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، تهران، ۲۹ صفحه.

عبدالحی، ح. ع.، حسین زاده، ه.، شریفیان، م.، افراسیابی، م.، بیگی کلشتری، ع.، رجبی، ن.، اکبرنژاد، م.، میرزایی، ک. و کیانی، ب.، ۱۳۹۶. مقایسه شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی وارداتی از کشور چین با ماهی کپور معمولی استان خوزستان– اهواز، گزارش نهایی طرح پژوهشی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۹۸ صفحه.

فراهانی، ر.، غلامرضا شیرازی، ج.، خوشخو، ژ.، عظیم یاسک شهر، م.، اسدی، ه. و صیدی، د.، ۱۳۹۴. راهنمای پرورش قزل الا. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، معاونت ترویج، نشر آموزش کشاورزی، کرج، ۱۸۷ صفحه.

گرجی پور، ع.، کمائی، ک.، باشتی، ط.، ضرغام، د.، گندمکار، ح.، حسینی، ا.، مهدوی، ج.، شفاهی پور، ا. و طاهری میرقائد، ع.، ۱۳۸۸. مقایسه رشد و بازماندگی بچه ماهیان حاصل از تخم‌های چشم زده وارداتی و داخلی قزل الای رنگین کمان. گزارش نهایی طرح پژوهشی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۴۰ صفحه.

مهدوی، م.، مجازی امیری، ب. و صیاد بورانی، م.، ۱۳۹۱. مقایسه درصد تفریخ، بازماندگی و رشد لاروهای ماهی قزل آلای رنگین کمان حاصله از تخم‌های چشم زده وارداتی و داخلی. مجله توسعه آبزی پروری، ۷(۱): ۸۷- ۹۴.

Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde, B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95: 125-132. Doi: 10.1016/0044-8486(91)90079.

Alavi, S.M.H., Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in Acipencer persicus in relation to sequential stripping. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 400-405. Doi: 10.1111/j.1439-0426.2007.00994.

Atar, H., Bekcan, S. and Dogankaya, L., 2009. Effects of different hormone on sex reversal of rainbow trout and production of all- female population. *Journal of Biotechnology and Biotechnological equipment*, 23(4):1509-1514. Doi: 10.2478/V10133-009-0002.

Beirao, O., Boulais, M., Gallego, V., Justine K. and Peixoto, S., 2019. Sperm handling in aquatic animals for artificial reproduction. *Journal of Theriogenology***,** 133:161-178. Doi: 10.1016.2019.05.004

Bromage N.R. and Cumaranataunga R., 1988. Egg production in the rainbow trout (Recent advances in aquaculture). Blackwell Science, Oxford, , UK. pp 63-139.

Brykov, V.A., Kukhlevsky, A.D., Shevlyakov, E.A., Kinas, N.M. and Zavarina, L.O., 2008. Sex ratio control in pink salmon (*O. gorbuscha*) and chum salmon (*O. keta*) populations: the possible causes and mechanisms of changes in the sex ratio. *Russian Journal of Genetics*, 44: 786–792.
Doi: 10.1134/S1022795408070053.

Dunham, R.A., 2004. Aquaculture Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches. CABI Publishing, Massachusetts, 372 p.

Fraslin,C., Phocas, F., Bestin, A. and Charles, M., 2020. Genetic determinism of spontaneous masculinisation in XX female rainbow trout: new insights using medium throughput genotyping and whole genome sequencing. *Journal of Scientific Reports*, 10: 1-13. Doi: 10.1038/s41598-020-74757-8.

Geffen, A.J. and Evans, J.P., 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout. *Aquaculture*, 182(1): 61-72. Doi: 10.1016/S0044-8486(99)00248-3.

Gilk, S.E., Templin, W.D., Molyneaux, D.B., Hamazaki, T. and Pawluk, J.A., 2005. Characteristics of fall chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the Kuskokwim River drainage. Alaska Department of Fish and Game, Fishery Data Series Report No. 05-56, 58 P.

Johnstone, R., Simpson, T.H. and Walker, A.F., 1979. Sex reversal in salmonid culture. Part III. The production and performance of all-female populations of brook trout. *Aquaculture*, 18: 241-252. Doi: 10.1016/0044-8486(79)90015-2.

Kuzminski, H. and Dobosz, **S., 2010**. Effect of sex reversal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) using 17_-methyltestosterone and 11_-hydroxyandrostenedione. *Archives of Polish Fisheries*, 18: 45-49. Doi: 10.2478/v10086-010-0005-0

Mambrini, M., Medale, F., Sanchez, M.P., Recalde, B., Chevassus, B., Labbe, L., Quillet, E. and Boujard, T., 2004. Selection for growth in brown trout increases feed intake capacity without affecting maintenance and growth requirements. *Journal of Animal Science*, 82: 2865-2875.

Ogata, H., Oku, H. and Murai, T., 2002. Growth performance and macronutrient retention of offspring from wild and selected red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 206: 279-287. Doi: 10.1016/S0044-8486(01)00681-0

Rastiannasab, A., Ghaedi, A.R., Gandomkar, H., Nazari, S. and Hosseini, S.A., 2015. Comparision of some biological parameter and chromosomal number of

reared fish from native (IRAN) and imported (ORIGIONALLY: FRENCH) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eyed eggs. Paper presented at the international symposium on Middle East and Central Asia Aquaculture, December 14-16, 2015, Olympic Hotel, Tehran, Iran.

Razmi, K., Naji, T., Alizadeh, M. and Hoseinzadeh Sahafi, H., 2011. Hormonal sex reversal of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by ethynylestradiol-17α (EE2). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(2): 304-315. Doi: 20.1001.1.15622916.2011.10.2.12.3.

Weber, M., Timothy, D., Richard, l. and Schneider, P., 2020. Sex reversal of female rainbow trout by immersion in 17α-methyltestosterone. *Aquaculture*, 528: 735-743. Doi:10.1016.2020.735535.

Effect of 17-alpha-methyltestosterone on neomale broodstock production process from native and imported hatched rainbow trout eggs

Rastiannasab A.[1*]

[*]a.rastian@areeo.ac.ir

1-Shahid Motahary Cold water Fishes Genetic and breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Yasoj, Iran

Abstract

The production of all-female monosex rainbow trout through the production of sex reversed male breeders by hormone therapy has several advantages, and in previous years, delays in the localization of this technology has led to the country's dependence on imported eyed eggs. In this research, the native rainbow trout fry and the fry from all-female imported eggs were fed with a diet containing 3 mg/kg of the hormone for 70 days in order to make it possible to use the imported fish stocks for breeding and also the appropriate concentration of hormone therapy using 17 alpha-methyl testosterone. The results showed that all native fish were sex reversed to male and half of the breeders (XX male) were able to produce the gynogene sperm, exclusively. The results of hormone therapy of fish produced from the imported all-female eggs were about 57% male and 43% female. The male fish at age 22 months were neomale (sex reversed male) and capable of producing sperm and fertilizing eggs but female fish had undeveloped and small ovaries. In addition to the indirect production of all-female fish, this study can facilitate the use of the genetic potential of the fish from imported monosex all-female eggs through sex reversing and mate with native fish stocks and increase the genetic diversity of progenies of native fish stocks that be used in base population production in breeding programs and cold-water fish farms.

Keywords: Sex reversed male, 17 alpha-methyl testosterone, Rainbow trout, Induced breeding, Imported egg

[*]Corresponding author