

استفاده از هورمون 17α -ethynylestradiol به روش خوراکی جهت ماده‌سازی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) سوپه GIFT و بررسی اثرات آن بر شاخص‌های زیستی

بهروز مختاری^۱، محمدرضا کلباسی مسجدهشاهی^{۱*}، مرتضی علیزاده^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

چکیده

در ماهیان تیلاپیا، جنس نر نسبت به جنس ماده رشد بیشتری دارد. فناوری تولید ماهیان ابرنر (ژنوتیپ YY) یکی از روش‌های تولید جمعیت تمام‌نر این ماهیان جهت پرورش، بدون استفاده مستقیم از هورمون برای ماهیان ارائه شده به بازار است. در این مطالعه، به بررسی استفاده از هورمون 17α -ethynylestradiol با روش افزودن به خوراک، جهت ماده‌سازی ماهیان سوپه GIFT در دوزهای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک پرداخته شد. این اقدام به عنوان گام نخست تولید ماهیان ابرنر و تولید ماهیان ماده با ژنوتیپ XY صورت گرفت، و اثرات استفاده از این هورمون بر شاخص‌های زیستی این ماهی بررسی گردید. براساس نتایج، بیشترین میزان ماده‌سازی که با روش اسکواش بافت گناد ارزیابی گردید، در دوز 175 mg/kg خوراک به میزان $22/83 \pm 0/29$ درصد بود. بیشترین وزن نهایی در گروه شاهد و تیمار 175 mg/kg مشاهده شد. ضریب تبدیل غذایی در تمامی گروه‌های تیمار، نسبت به گروه شاهد بهتر بود و بین گروه‌های تیمار، تفاوت معناداری وجود نداشت. نرخ زنده‌مانی در تمامی گروه‌های تیمار، نسبت به شاهد بالاتر بود و بهترین تیمارها از این منظر، دوزهای 50 mg/kg و 175 mg/kg بودند. با ادامه رشد این ماهیان و رسیدگی آنها به مرحله تولید مثل، امکان تولید ماهیان ابرنر فراهم خواهد گردید.

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۰

بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۳۰

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵

چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵

*نویسنده مسئول:

Kalbassi_m@modares.ac.ir

کلید واژه‌ها: تیلاپیا، ابرنر، ماده‌سازی، هورمون‌تراپی، آبی‌پروری پایدار

مقدمه

تأمین غذای جمعیت روبه‌رشد جهان تا سال ۲۰۵۰، از مهم‌ترین چالش‌های جهانی به شمار می‌رود. در این میان، محصولات آبی‌پروری از جمله ماهیان می‌توانند نقش بسزایی در برطرف‌سازی نیازهای تغذیه‌ای انسان و ارتقای امنیت غذایی به‌ویژه در جوامع کم‌درآمد ایفا کنند (۱). در سال ۲۰۲۲، تولیدات آبی‌پروری برای اولین بار نسبت به تولیدات صید پیشی گرفت و ۹۴/۴ میلیون تن (۵۱ درصد) از مجموع ۱۸۴/۴ میلیون تن تولیدات جانوران آبی را به خود اختصاص داد (۲).

در میان انواع گونه‌های آبی، ماهیان تیلاپیا که متعلق به خانواده *Cichlidae* هستند، از گونه‌های عمده پرورشی در جهان محسوب می‌شوند و نقش بسزایی در افزایش تولیدات آبی‌پروری دارند. به‌طوری‌که تولیدات این ماهیان، سهم ۶/۹ درصدی از کل تولیدات آبی‌پروری و به عبارتی ۱۱ درصد از تولیدات آبی‌پروری در آب‌های داخلی^۱ را شامل می‌شوند (۲). مهم‌ترین گونه پرورشی ماهیان تیلاپیا، گونه تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) با سهم تولید ۸۹ درصدی است که به دلیل رشد بهتر در استخرهای پرورشی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و

^۱ Inland waters

سویه GIFT^۲ (تیلاپای ارتقا یافته ژنتیکی پرورشی) یکی از معروف‌ترین و بهترین سویه‌های پرورشی این گونه است (۳). ماهی تیلاپا به دلیل مزایای متعددی همچون سازگاری گسترده با شرایط محیطی مختلف، تکثیر آسان در اسارت، مقاومت مناسب در برابر استرس‌های محیطی، بیماری‌ها و عفونت‌های پاتوژن میکروبی، کیفیت خوب گوشت، تغذیه در سطوح پایین تغذیه‌ای و سرعت رشد عالی در انواع رژیم‌های غذایی، به یکی از برجسته‌ترین گونه‌های ماهی در آبی‌پروری تبدیل گردیده است (۴،۵).

جنس نر ماهی تیلاپا، در پرورش تک‌جنسی، دارای رشد بیشتری نسبت به جنس ماده است (۶). یکی از چالش‌های اصلی در پرورش تیلاپا، کنترل تولیدمثل ناخواسته آن است. این ماهیان در صورت وجود شرایط محیطی مناسب، به‌ویژه دمای مطلوب، به‌سرعت در استخرهای پرورشی تکثیر می‌شوند و این امر موجب افزایش تراکم، رقابت غذایی و بالا رفتن هزینه‌های تولید می‌گردد. برای جلوگیری از این مشکل، روش‌هایی مانند پرورش چندگونه‌ای با ماهیان شکارچی، نرسازی تک‌جنسی و استفاده از تکنیک‌های عقیم‌سازی نظیر تولید ماهیان تریپلوئید به‌کار گرفته می‌شود (۷). در میان روش‌های مختلف کنترل تولیدمثل، تولید جمعیت‌های تک‌جنس نر یکی از رایج‌ترین و مؤثرترین شیوه‌ها در سراسر جهان است. برای نرسازی تیلاپا از روش‌های گوناگونی مانند استفاده از هورمون‌ها، دورگه‌سازی، دستکاری ژنتیکی و جداسازی دستی جنس‌ها بهره گرفته می‌شود، اما رایج‌ترین روش، استفاده مستقیم از هورمون‌هاست (۸،۹).

عوامل متعددی از جمله گونه‌های ماهی، ژنتیک، نوع هورمون، دوز هورمون، مدت زمان استفاده از هورمون، زمان هورمون‌دهی و تجربه نیروی مسئول بر اثربخشی استفاده از هورمون‌ها در تغییر جنسیت ماهی تیلاپا تأثیر می‌گذارند. به همین دلیل، استفاده از هورمون به یک تکنیک بسیار متغیر با نتایج غیرقابل اعتماد تبدیل شده است که بازدهی متفاوتی بین ۶۵ تا ۹۹ درصد در امر نرسازی را باعث می‌شود (۱۰). دوره حساس اثرگذاری بر جنسیت ماهیان تیلاپا به وسیله هورمون و یا عوامل محیطی همچون دما معمولاً یک دوره ۱۲-۱۰ روزه گزارش شده است. به جهت اطمینان از اقدام اثربخش بر تغییر جنسیت، دوره هورمون‌دهی بین ۳۰-۲۸ روز در نظر گرفته می‌شود (۱۱). همچنین استفاده از هورمون‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند تنظیم هورمونی متابولیسم (۱۳،۱۲)، تمایز جنسی و رشد (۱۳) و تنظیم واکنش به استرس (۱۴) بر ضریب تبدیل غذایی و رشد ماهیان اثرگذار باشد. تغییر جنسیت در ماهیان تیلاپا، با توجه به تنوع ژنتیکی آن‌ها، یک فرآیند پیچیده محسوب می‌گردد و از مهم‌ترین عواملی که در زمان تغییر جنسیت هورمونی باید تحت کنترل باشد تا حداکثر بازدهی مشاهده گردد نوسانات دمایی است (۱۵).

یکی از دیگر روش‌های موجود برای تولید ماهیان تک‌جنس نر، استفاده از فناوری تیلاپاهای نر ژنتیکی (GMT^۳) است که در دسته روش‌های ژنتیکی تک‌جنس‌نرسازی قرار می‌گیرد. این روش بر پایه تولید ماهیان ابرنر^۴ تیلاپا با ژنوتیپ YY استوار است که با لقاح آن با ماهی ماده معمولی تیلاپا (ژنوتیپ XX)، جمعیت تمام نر ژنتیکی (XY) بدون استفاده مستقیم از هورمون تولید می‌گردد.

در کشور ایران با توجه به غیربومی بودن این گونه، پرورش آن به برخی از استان‌ها همچون یزد و سمنان محدود گردیده است. یکی از اصلی‌ترین دلایل محدودیت پرورش این گونه، توانایی تکثیر زیاد و مقاومت بالای آن در صورت راهیابی به محیط زیست است. با تولید ماهیان ابرنر، می‌توان با نسبت بالاتر از ۹۵ درصد، جمعیت تمام‌نر تولید نمود که همین نسبت بالا، حتی در صورت راهیابی این ماهیان در اثر خطای انسانی به محیط زیست نیز جلوی تکثیر بی‌رویه آن‌ها را خواهد گرفت. گام نخست تولید ماهیان ابرنر، تولید ماهیان ماده با ژنوتیپ XY است که با ماده‌سازی توسط هورمون‌های مختلف انجام می‌گردد. در پژوهش حاضر به بررسی اثر هورمون 17 α -ethynylestradiol^۵ بعنوان یکی از برترین هورمون‌های معرفی شده جهت ماده‌سازی ماهیان تیلاپا، در ماده‌سازی و اثر آن بر زنده‌مانی و شاخص‌های رشد سویه GIFT ماهی تیلاپا نیل به عنوان یکی از برترین سویه‌های پرورشی این ماهیان در جهان پرداخته شد. با توجه به تنوع ژنتیکی در سویه‌های مختلف ماهیان تیلاپا، نژادهای مختلف این ماهیان می‌توانند نتایج بسیار متنوعی را نشان دهند که این تحقیق، اثر هورمون ذکرشده را بر سویه GIFT موجود در ایران، در شرایط مزرعه دارای آب نامتعارف (لب‌شور) را بررسی نمود.

^۲ Genetically Improved Farmed Tilapia

^۳ Genetically Male Tilapia

^۴ supermale

^۵ EE

مواد و روش‌ها

محل انجام مطالعه

این پژوهش در مزرعه تکثیر و پرورش ماهی تیلاپیا نیل‌آبیست، واقع در شهرستان بافق استان یزد انجام شد. آب مورد استفاده جهت انجام پژوهش، آب دست اول چاه بود و شاخص‌های کیفی آن در طول دوره به شرح ذیل اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱- شاخص‌های کیفی آب در طول دوره پرورش

نام پارامتر	عدد اندازه‌گیری شده
دما (درجه سانتی‌گراد)	27.5 ± 0.5
شوری (گرم بر لیتر)	9.31 ± 0.28
pH	7.95 ± 0.16
اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	6.84 ± 0.38
آمونیاک (میلی‌گرم بر لیتر)	0.42 ± 0.06

انتخاب سویه، استحصال تخم، انکوباسیون و شاخص‌های مورد ارزیابی

به منظور انتخاب سویه در این تحقیق، دو معیار اصلی مدنظر قرار گرفت و در نهایت، سویه GIFT به‌عنوان گزینه مطلوب برگزیده شد. الف) قابلیت ردیابی منبع ژنتیکی ماهیان: با توجه به تنوع سویه‌ها و دوره‌های موجود در مزرعه نیل‌آبیست واقع در بافق یزد، دسترسی به اطلاعات دقیق درباره خاستگاه ماهیان اهمیت بالایی داشت. از آنجا که برخی ماهیان موجود در مزرعه در سال‌های گذشته وارد کشور شده بودند و احتمال آمیختگی آن‌ها با سایر سویه‌ها وجود داشت، در نهایت سویه‌ای انتخاب شد که در سال ۱۳۹۸ از شرکت Nam Si واقع در کشور تایلند وارد شده بود. ب) بازارپسندی: در ابعاد تجاری و با هدف تولید اقتصادی، ماهیان سویه GIFT با رنگ تیره، به دلیل نرخ رشد بالاتر و سطح بازماندگی بیشتر، از استقبال بیشتری در میان پرورش‌دهندگان برخوردارند. از این رو، این سویه به‌عنوان گزینه‌ای با ارزش اقتصادی بالاتر نیز در نظر گرفته شد.

ماهیان مولد با نسبت ۱:۳ (یک ماهی نر به ازای سه ماهی ماده) در استخرهای ۸ مترمکعبی ذخیره‌سازی شدند (۹). پس از ذخیره‌سازی مولدین به مدت ۴ هفته، ۷ مولد به صورت تصادفی انتخاب شده و تخم لقاح‌یافته از دهان ماهیان ماده استحصال گردید. به منظور انکوباسیون، تخم‌ها به انکوباتورهای مک‌دونالد انتقال یافتند. پس از ۷ روز، لاروهای با سن ۱ روز بعد از جذب کیسه زرده جداسازی شدند و جهت انجام آزمایش، استفاده گردیدند.

رابطه ۱- نرخ بازماندگی لاروها در طول دوره پرورش

$$100 \times (\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}) = \text{نرخ زنده‌مانی (Survival rate)}$$

رابطه ۲- ضریب تبدیل غذایی

$$[\text{وزن گرفته شده (گرم)} / \text{مقدار غذای مصرف شده (گرم)}] = \text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)}^6$$

رابطه ۳- نرخ رشد ویژه

$$100 \times [(\text{طول دوره آزمایش (روز)} / (\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)})) \ln] = \text{نرخ رشد ویژه (SGR)}^7$$

رابطه ۴- ضریب چاقی (شاخص وضعیت)

$$100 \times [{}^2 \text{ طول کل} / \text{وزن ماهی (گرم)}] = \text{شاخص وضعیت (CF)}^8$$

رابطه ۵- درصد افزایش وزن بدن

⁶ Food conversion ratio

⁷ Specific growth rate

⁸ Conditional factor

$100 \times \left[\frac{\text{وزن اولیه ماهی (گرم)}}{\text{وزن اولیه ماهی (گرم)} - \text{وزن نهایی ماهی (گرم)}} \right] = \text{درصد افزایش وزن بدن (PBWI)}^9$

رابطه ۶- میزان ماده سازی

[نسبت ماهیان ماده در گروه شاهد - نسبت ماهیان ماده در تیمارهای هورمونی] = درصد ماده سازی

تهیه خوراک حاوی هورمون، غذایی، تیماربندی و نگهداری ماهیان

دوزهای مورد استفاده از هورمون $17\alpha\text{-ethynylestradiol}$ ، سه دوز گزارش شده برای آن، یعنی 50 mg/kg ، 100 mg/kg و 175 mg/kg خوراک بود که در منابع مختلف به عنوان دوزهای بهینه جهت ماده سازی ماهی تیلاپیا گزارش گردیده اند (۱۱، ۱۶-۱۸). در ابتدا یک استوک هورمون با غلظت ۱ میلی گرم هورمون در ۱ سی سی اتانول تهیه گردید و سپس با محاسبات لازم، دوزهای مدنظر بر روی خوراک افشانه شدند (۱۹). این خوراک در طول دوره در اندازه های مختلف غذا تهیه گردید. غذایی هورمونی ماهیان در ۷ وعده (۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴) و براساس اشتها به مدت ۳۰ روز از زمان شروع تغذیه خارجی صورت گرفت.

ماهیان در طول دوره پرورش که مجموعاً ۴۰ روز بود، در هاپا نگهداری می شدند. همچنین جهت تهیه خوراک شاهد، به اندازه خوراک تیمارهای هورمون، اتانول ۹۶ درصد بر روی خوراک افشانه شد و برای تیمارهای شاهد استفاده گردید.

هاپا مورد استفاده برای هر تکرار، یک قفس توری به ابعاد $23 \times 23 \times 23$ سانتی متر و حجم آب گیری ۱۲ لیتر در نظر گرفته شد. تعداد ماهیان داخل هر هاپا ۱۰۰ عدد بود. هاپاها در مخازن ۳۰۰ لیتری دارای قابلیت تعویض آب دائم به تعداد ۳ عدد در هر مخزن ۳۰۰ لیتری به عنوان ۳ تکرار قرار داده شدند.

در پایان دوره، از هر تکرار ۱۰ عدد ماهی به صورت تصادفی برداشته شد. هر ۱۰ ماهی در ابتدا به روش اسکواش گناد از نظر فنوتیپی تعیین جنسیت شدند. این روش برای نمونه های تازه و همچنین نمونه های تثبیت شده در فرمالین و الکل به خوبی پاسخ می دهد. رنگ به وسیله افزودن ۰/۵ گرم کارمین به ۱۰۰ ml از اسید استیک ۴۵ درصد و سپس جوشاندن آن به مدت ۲ تا ۴ دقیقه آماده می شود. زمانی که این محلول خنک شد باید آن را از کاغذ صافی گذراند. سپس بخشی از گناد ماهی جدا شده و بر روی لام قرار داده می شود و کوبیده می شود. بعد از آن چند قطره از رنگ استوکارمین روی آن اضافه خواهد شد. تخمدان کاملاً به شکل دانه های دایره ای شکل قابل مشاهده است (تصاویر ۱ و ۲) (۲۰).



تصویر ۲- گناد ماهی نر پس از انجام اسکواش گناد به منظور تعیین جنسیت فنوتیپی



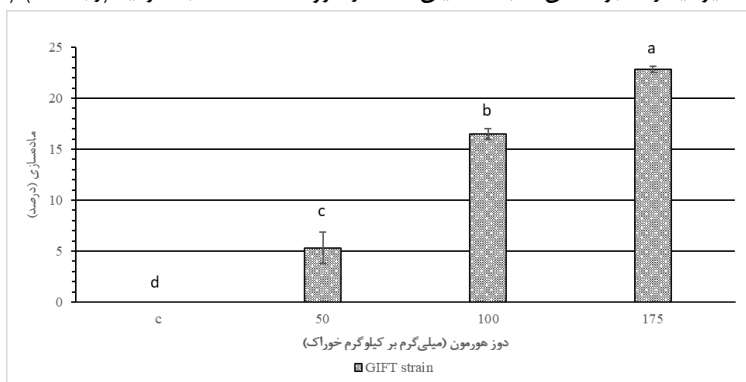
تصویر ۱- گناد ماهی ماده پس از انجام اسکواش گناد به منظور تعیین جنسیت فنوتیپی

⁹ Percent body weight increase

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پژوهش توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گردید. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. همچنین برای بررسی همگنی داده‌ها از آزمون Levene استفاده گردید. بررسی معناداری اختلافات میان داده‌ها با آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) انجام شد و تجزیه و تحلیل تعقیبی Duncan به منظور مقایسه میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

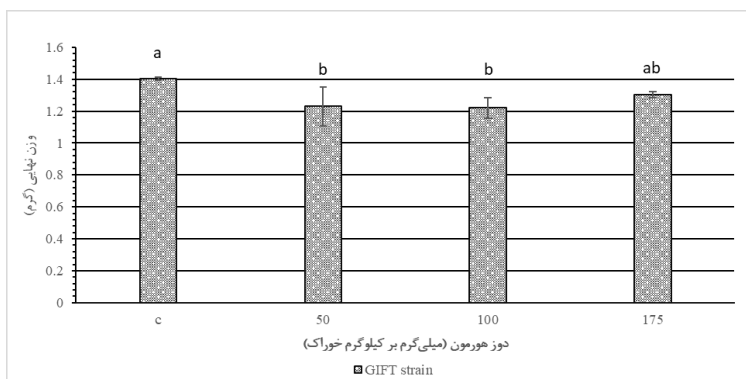
نتایج

با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش، تمامی تیمارهای هورمونی، نسبت به گروه شاهد باعث ماده‌سازی شدند. از طرفی با افزایش دوز هورمون، میزان ماده‌سازی نیز افزایش یافته است به صورتیکه بیشترین میزان ماده‌سازی در دوز ۱۷۵ mg/kg مشاهده شد و بین تمامی تیمارها، اختلاف معناداری وجود داشت ($P < 0.05$). لازم به ذکر است که نسبت ماهیان ماده در گروه شاهد $33/5 \pm 2/5$ درصد بود و میزان ماده‌سازی (افزایش تعداد ماهیان ماده) در سایر تیمارها، بر اساس نسبت ماهیان ماده در گروه شاهد محاسبه گردید (رابطه-۶) (تصویر ۳ و جدول ۲).



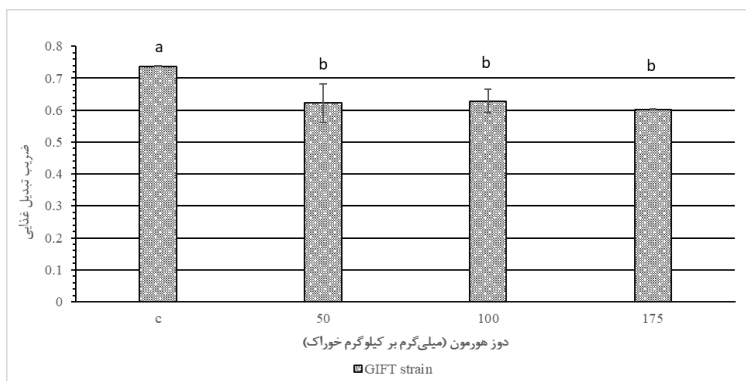
تصویر ۳: درصد ماهیان ماده‌سازی شده. میزان ماده‌سازی در پایان دوره پس از مصرف هورمون EE در سویه GIFT ماهیان تیلاپیا تحت تأثیر دوزهای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها است.

بالاترین وزن نهایی متعلق به گروه شاهد بود و در بین تیمارهای هورمونی، تیمار دوز ۱۷۵ mg/kg نیز با گروه شاهد اختلاف معناداری نداشت در حالی که تیمارهای دوز ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg نسبت به تیمارهای اشاره‌شده، وزن کمتری را نشان دادند (تصویر ۴ و جدول ۲).



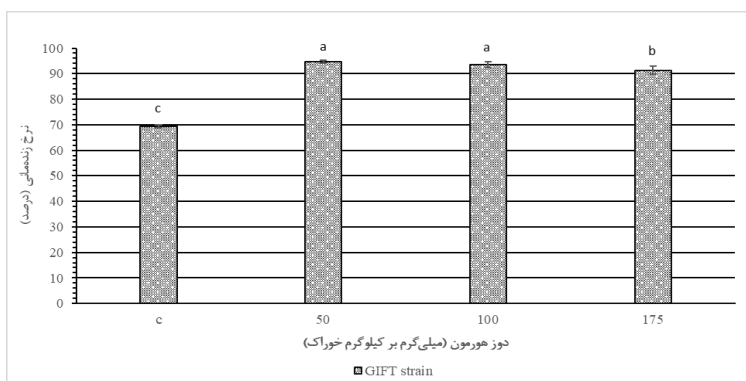
تصویر ۴: میانگین وزن نهایی. وزن نهایی در پایان دوره پس از مصرف هورمون EE در سویه GIFT ماهیان تیلاپیا تحت تأثیر دوزهای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها است.

استفاده از هورمون 17α -ethynylestradiol منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید به شکلی که تمامی تیمارهای هورمونی، ضریب تبدیل غذایی بهتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P < 0.05$)، از طرفی بین تیمارهای هورمونی اختلاف معناداری مشاهده نگردید. در واقع استفاده از هورمون، ضریب تبدیل غذایی را بهتر کرد، ولی افزایش دوز هورمون بین تیمارهای هورمونی اثر معناداری بر بهبود بیشتر ضریب تبدیل غذایی نداشت (تصویر ۵ و جدول ۲).



تصویر ۵: میانگین ضریب تبدیل غذایی. ضریب تبدیل غذایی در پایان دوره پس از مصرف هورمون EE در سویه GIFT ماهیان تیلاپیا تحت تأثیر دوزهای +، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها است.

ماده سازی توسط هورمون 17α -ethynylestradiol باعث افزایش معنادار نرخ بازماندگی در تمامی تیمارهای هورمونی نسبت به گروه شاهد گردید. بهترین بازماندگی مختص تیمارهای هورمونی دوز ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg بود که بین این دو تیمار اختلاف معناداری وجود نداشت (تصویر ۶ و جدول ۲).



تصویر ۶: میانگین درصد زنده ماندن. نرخ زنده ماندن در پایان دوره پس از مصرف هورمون EE در سویه GIFT ماهیان تیلاپیا تحت تأثیر دوزهای +، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها است.

جدول ۲- پارامترهای اندازه‌گیری شده از ماهیان تیلاپیا سویه GIFT تحت تأثیر دوزهای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار ± میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها است.

نام تیمار				نام پارامتر
۱۷۵ mg/kg	۱۰۰ mg/kg	۵۰ mg/kg	شاهد	شاخص اندازه‌گیری شده
۰/۰۱۳۴ ± ۰/۰۰۰۰۵ ^a	۰/۰۱۳۵ ± ۰/۰۰۰۰۱ ^a	۰/۰۱۳۵ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	۰/۰۱۳۵ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	وزن اولیه (g)
۱/۳۰ ± ۰/۰۰۲ ^{ab}	۱/۲۲ ± ۰/۰۰۶ ^b	۱/۲۳ ± ۰/۰۱۲ ^b	۱/۴۰ ± ۰/۰۱۱ ^a	وزن نهایی (g)
۱/۲۹ ± ۰/۰۰۲ ^{ab}	۱/۲۱ ± ۰/۰۰۶ ^b	۱/۲۲ ± ۰/۰۱۲ ^b	۱/۳۹ ± ۰/۰۱۱ ^a	وزن گرفته شده (g)
۰/۹۳ ± ۰/۰۰۶ ^a	۰/۹۳ ± ۰/۰۰۶ ^a	۰/۹۴ ± ۰/۰۰۵ ^a	۰/۹۳ ± ۰/۰۰۶ ^a	طول اولیه (cm)
۴/۳۷ ± ۰/۰۱۵ ^a	۴/۵۴ ± ۰/۰۲ ^a	۴/۳۴ ± ۰/۰۱۳ ^a	۴/۳۷ ± ۰/۰۰۷ ^a	طول نهایی (cm)
۳/۴۴ ± ۰/۰۱۴ ^a	۳/۶۱ ± ۰/۰۲۱ ^a	۳/۴۰ ± ۰/۰۱۳ ^a	۳/۴۳ ± ۰/۰۰۷ ^a	طول گرفته شده (cm)
۰/۰۳۳ ± ۰/۰۰۰۰۵ ^{ab}	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۰۰۰۲ ^b	۰/۰۳۱ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^b	۰/۰۳۶ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	نرخ رشد روزانه وزنی (g/d)
۰/۰۸۸ ± ۰/۰۰۰۰۴ ^a	۰/۰۹۲ ± ۰/۰۰۰۰۵ ^a	۰/۰۸۷ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	۰/۰۸۸ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	نرخ رشد روزانه طولی (cm/d)
۱۱/۷۲ ± ۰/۰۰۰۰۵ ^{ab}	۱۱/۵۴ ± ۰/۰۱۴ ^b	۱۱/۵۶ ± ۰/۰۲۴ ^b	۱۱/۹۱ ± ۰/۰۰۰۰۴ ^a	نرخ رشد ویژه وزنی (%/d)
۳/۷۶ ± ۰/۰۰۰۰۷ ^a	۳/۸۶ ± ۰/۰۱۲ ^a	۳/۷۴ ± ۰/۰۰۰۰۶ ^a	۳/۷۷ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^a	نرخ رشد ویژه طولی (%/d)
۱/۷۳ ± ۰/۰۰۰۰۱ ^a	۱/۷۱ ± ۰/۰۰۰۰۴ ^b	۱/۷۳ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^{ab}	۱/۸۱ ± ۰/۰۰۰۰۱ ^a	شاخص وضعیت
۰/۶۰ ± ۰/۰۰۰۰۱ ^{ab}	۰/۶۲ ± ۰/۰۰۰۰۳ ^b	۰/۶۲ ± ۰/۰۰۰۰۶ ^b	۰/۷۴ ± ۰/۰۰۰۰۰۰۵ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۹۱/۳۳ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^{ab}	۹۳/۶۶ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^a	۹۴/۶۶ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^a	۶۹/۳۳ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^c	نرخ زنده‌مانی (%)
۲۲/۸۳ ± ۱/۰۰۰۰۲ ^a	۱۶/۵ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^b	۵/۳۳ ± ۱/۰۰۰۰۵ ^c	. ^d	ماده‌سازی (%)

بحث و نتیجه‌گیری

در خصوص ماده‌سازی و نسبت جنسی ماهیان سویه GIFT، همانطور که مشاهده گردید، میزان ماهیان ماده و نر در گروه شاهد، از نسبت ۱:۱ پیروی نمی‌کند. این امر دلایل مختلفی می‌تواند داشته باشد که اصلی‌ترین دلیل آن با توجه به ثابت بودن شرایط کیفی آب، دلایل ژنتیکی است. تحقیقات نشان می‌دهد که تعیین جنسیت در تیلاپیا یک صفت پیچیده و چندعاملی است که علاوه بر سیستم ژنتیکی XX/XY، ژن‌ها و نواحی ژنی مختلفی (مانند amh و dmrt1) روی گروه‌های پیوندی مختلف LG1، LG20 و LG23 در آن دخیل هستند و این تنوع ژنتیکی می‌تواند باعث بروز نسبت جنسی غیر از ۱:۱ شود (۲۱، ۲۲). در برخی سویه‌های اهلی و اصلاح‌شده مانند GIFT، ممکن است به دلیل انتخاب‌های ژنتیکی، وجود ژن‌های تعیین جنسیت خاص یا حتی دوگانگی در سیستم‌های تعیین جنسیت مانند وجود نسخه‌های مضاعف ژن amh یا جهش در ژن dmrt1، تمایل به تولید نرها بیشتر باشد. همچنین، برخی مطالعات نشان داده‌اند که حتی در شرایط محیطی کاملاً کنترل‌شده، تفاوت‌های ژنتیکی بین والدین یا جمعیت می‌تواند نسبت جنسی نتاج را به سمت نرها تغییر دهد (۲۳-۲۵). رشد و تمایز جنسی در ماهیان تحت تأثیر هورمون‌های هیپوفیزی، به ویژه گنادوتروپین‌ها قرار دارد که توسط هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین و سایر عوامل عصبی تنظیم می‌شوند (۱۱). تعادل بین آندروژن‌ها و استروژن‌ها از طریق مدولاسیون آروماتاز گناد (cyp19a) و تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما تنظیم می‌شود. قرار دادن ماهیان در معرض هورمون‌ها در دوره‌های حساس و اختلال در این تعادل می‌تواند منجر به تغییر جنسیت فنوتیپی شود. با افزایش دوز مورد استفاده از هورمون 17α-ethynylestradiol، میزان ماده‌سازی نیز افزایش یافته است که این نتیجه همسو با نتایج سایر تحقیقات بود (۲۶، ۲۷). از طرفی میزان ماده‌سازی با استفاده از این هورمون به نسبت‌های بالای ۸۰ درصد نرسید که این نتیجه برخلاف تعدادی از پژوهش‌های دیگر بود که می‌تواند به دلایل اختلافات ژنتیکی باشد (۱۷، ۱۸، ۲۸).

در این پژوهش نرخ زنده‌مانی در تیمارهای هورمونی نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. در مطالعه (۲۶) که در آن دوره هورمون‌دهی به مدت ۲۰ روز و در دوز ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک از هورمون DES در ماهی تیلاپای نیل بود، در پایان روز ۳۰ آزمایش، تیمارهای شاهد، دوز ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک، بیشترین نرخ بازماندگی را داشتند. در همین پژوهش در پایان دوره ۵ ماهه، نرخ بازماندگی در همه تیمارهای هورمونی به شکل معناداری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. در مطالعه‌ای گزارش داده شد که تغییر جنسیت از طریق استروژن‌ها (طبیعی یا مصنوعی) ممکن است اثرات نامطلوبی بر بقا داشته باشد (۱۹). با این حال، این موضوع به عوامل مختلفی بستگی دارد که از جمله می‌توان به نوع استروژن، غلظت مورد استفاده، زمان‌بندی و مدت زمان تیمار هورمونی اشاره نمود. زمان بهینه برای تیمار هورمونی بر اساس زمان تمایز گنادها به تخمدان‌ها و بیضه‌ها است (۲۹). علاوه بر این، حساسیت فیزیولوژیکی گونه‌ها تعیین‌کننده شدت اثرات منفی بر بقا است، به‌ویژه اگر یک آستانه خاص از بین برود (۱۹، ۲۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر هیچ‌گونه مرگ‌ومیر قابل‌توجهی در تیلاپای موزامبیک هنگام استفاده از DES با غلظت‌های بالا (معادل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک) مشاهده نشد (۳۰). بررسی منابع نشان می‌دهد که هورمون‌های تغییر جنسیت، عمدتاً دارای اثر منفی بر نرخ زنده‌مانی در ماهیان مختلف دارند. یکی از عواملی که ممکن است در پژوهش حاضر، نتیجه‌ای برخلاف عمده نتایج دیگر مشاهده گردد، طول دوره آزمایش است.

در پژوهش حاضر، تیمار شاهد بهترین عملکرد را از نظر افزایش وزن داشته است، باید توجه نمود که این تیمار نیز دارای کمترین بازماندگی در بین تیمارهای سویه GIFT بوده است. از طرفی، به طور کلی در بسیاری از مطالعات اشاره گردیده که استفاده از هورمون منجر به کاهش رشد در تیمارهای هورمونی گردیده است، از جمله در مطالعه‌ای، استفاده از هورمون Diethylstilbestrol، منجر به کاهش رشد در تیمارهای هورمونی نسبت به تیمار شاهد گردیده است به‌طوری‌که تیمار شاهد بیشترین افزایش وزن را در ۵۰ روز بعد از تغذیه فعال داشت و پس از آن ماهیان در دوزهای حداکثر ۳۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg بیشترین افزایش وزن را نشان دادند و کمترین افزایش وزن مربوط به دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg بود که ممکن است به این دلایل اتفاق افتاده باشد (۲۶): الف) تداخل هورمونی: استفاده از استروژن‌های مصنوعی ممکن است عملکرد طبیعی غدد درون ریز را مختل کند و به‌طور بالقوه منجر به اثرات نامطلوب بر رشد شود، ب) عوامل تغذیه‌ای: ترکیب رژیم غذایی و جذب مواد مغذی ممکن است زمانی که ماهی تحت درمان‌های هورمونی قرار می‌گیرند، به خطر بیفتد، ج) پاسخ‌های خاص گونه: اثرات آنابولیک مشاهده شده در سایر گونه‌های ماهی با درمان‌های مشابه لزوماً به تیلاپیا نیل بسط داده نمی‌شود، که نشان دهنده پاسخ خاص گونه به هورمون‌های سنتتیک است.

در خصوص ضریب تبدیل غذایی، شاخصی تحت عنوان کارایی تبدیلی غذایی^{۱۰} (FCE) وجود دارد که افزایش کارایی غذایی معادل بهبود شاخص ضریب تبدیل غذایی است. تأثیرات هورمون‌های ماده‌سازی بر ضریب تبدیلی غذایی (FCR) در ماهی‌ها بسته به نوع هورمون و گونه متفاوت است. در *Oreochromis spilurus*، ماده‌سازی با هورمون 17 α -ethynylestradiol پس از ۴۲ روز تفاوت معنی‌داری در کارایی تبدیلی غذایی (FCE) نسبت به گروه شاهد نشان نداد (۳۱). مطالعات در حیطه ماده‌سازی ماهیان، عمدتاً بر شاخص‌های رشد متمرکز بودند و به‌طور خاص به ضریب تبدیلی غذایی اشاره‌ای نکردند. در مجموع کارایی استفاده از خوراک در آبزیان تحت تیمار ماده‌سازی به وسیله هورمون می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی باشد. تأثیرگذاری بر عملکرد رشد با تنظیم هورمونی متابولیسم، تمایز جنسی و تعدیل واکنش به استرس، به‌طور قابل‌توجهی بر ضریب تبدیلی غذایی و کارایی تبدیلی غذایی در ماهی‌ها تحت تأثیر از جمله این موارد هستند. این تأثیرات بسته به نوع هورمون مصرفی، دوز، مدت درمان و واکنش‌های گونه‌های مختلف متفاوت است.

جمع‌بندی نهایی مویید آن است که استفاده از هورمون 17 α -ethynylestradiol جهت ماده‌سازی ماهیان تیلاپیا سویه GIFT، اثرات منفی بر شاخص‌های رشد این ماهی نداشت و در بعضی موارد منجر به عملکرد بهتر تیمارهای هورمونی نسبت به گروه شاهد نیز گردید. از طرفی استفاده

¹⁰ Food conversion efficiency

از این هورمون با توجه به نتایج، قطعاً منجر به تولید ماهیان ماده‌سازی شده که دارای ژنوتیپ XY هستند، گردیده است و می‌توان از این هورمون در جهت تولید ماهیان ابرنر استفاده نمود. از طرفی استفاده از سایر هورمون‌های استروژنیک به منظور بررسی کارایی آن‌ها در تولید ماهیان ماده‌سازی شده و مقایسه آن‌ها با هورمون 17α -ethynylestradiol جهت استفاده در روند تولید ماهیان ابرنر تیلاپیا نیز پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از عوامل مجموعه نیل‌آبزیست بافق یزد که در جهت انجام این پژوهش، یاری‌رسان بودند، کمال تشکر را دارند.

تأییدیه اخلاقی: این پژوهش با شناسه اخلاق IR.MODARES.AEC.1402.069 دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: بخشی از بودجه مورد نیاز طرح از محل اعتبار حمایت از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس تامین گردید.

سهم نویسندگان: بهروز مختاری: ارائه طرح پژوهش، نمونه‌برداری، انجام دادن کارهای آزمایشگاهی، تجمیع و تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش نسخه اولیه مقاله، ویرایش و تصحیح نسخه نهایی مقاله؛ محمدرضا کلباسی: استاد راهنمای دانشجو، ارائه طرح پژوهش، تجزیه و تحلیل داده‌ها، ویرایش نسخه نهایی مقاله؛ مرتضی علیزاده: استاد مشاور دانشجو، فراهم نمودن ملزومات اولیه پژوهش، ویرایش و بررسی نسخه نهایی مقاله

منابع

1. Mair GC, Halwart M, Derun Y, Costa-Pierce BA. A decadal outlook for global aquaculture. J Journal of the World Aquaculture Society [Internet]. 2023 Apr 1;54(2):196–205. Available from: <https://doi.org/10.1111/jwas.12977>
2. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 - Blue Transformation in action. Rome. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. FAO; 2024.
3. Ng W, Hanim R. Performance of genetically improved Nile tilapia compared with red hybrid tilapia fed diets containing two protein levels. Aquaculture Research. 2007 Jun 5;38:965–72.
4. Welker TL, Lim C. Use of probiotics in diets of tilapia. 2011;
5. Prabu E, Rajagopalsamy CBT, Ahilan B, Jeevagan I, Renuhadevi M. Tilapia—an excellent candidate species for world aquaculture: a review. Annual Research & Review in Biology. 2019;31(3):1–14.
6. Toguyeni A, Fauconneau B, Fostier A, Abucay J, Mair G, Baroiller JF. Influence of sexual phenotype and genotype, and sex ratio on growth performances in tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture [Internet]. 2002;207(3):249–61. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848601007475>
7. Fuentes-Silva C, Soto-Zarazúa GM, Torres-Pacheco I, Flores-Rangel A. Male tilapia production techniques: a mini-review. African Journal of Biotechnology. 2013;12(36).
8. Baroiller JF, D'Cotta H, Bezault E, Wessels S, Hoerstgen-Schwark G. Tilapia sex determination: Where temperature and genetics meet. Vol. 153, Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology. Elsevier Inc.; 2009. p. 30–8.
9. El-Sayed AFM. Chapter 8 - Reproduction and seed production. In: El-Sayed AFM, editor. Tilapia Culture (Second Edition) [Internet]. Academic Press; 2020. p. 173–203. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128165096000082>

10. Hartley A, BINK E. Global Aquaculture Advocate. 2014 [cited 2023 Nov 6]. Potential of YY male tilapia technology - Responsible Seafood Advocate. Available from: <https://www.globalseafood.org/advocate/potential-of-yy-male-tilapia-technology/>
11. Baroiller JF, D'Cotta H. Sex Control in Tilapias. In: Sex Control in Aquaculture [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2018 [cited 2023 Jul 4]. p. 189–234. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781119127291.ch9>
12. Tolufase HKM. EFFECTS OF LOW LEVELS OF THE STEROID 17 α METHYL TESTOSTERONE ON GROWTH , BODY COMPOSITION AND GONADAL DEVELOPMENT OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*). In 2014. Available from: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:204824405>
13. Berhanu B, BalkewWorkagegn K, Pavanassam N. Effect of 17 α -methyl testosterone on sex reversal and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. East African Journal of Biophysical and Computational Sciences [Internet]. 2023; Available from: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:268412310>
14. Bagryantseva O, Skakun V, Sokolov IE, Gureu ZG. Questions of control of hormone content in fish and other aquatic organisms (metaanalysis). BIO Web of Conferences [Internet]. 2021; Available from: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:240120183>
15. Abucay JS, Mair GC, Skibinski DOF, Beardmore JA. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture [Internet]. 1999;173(1):219–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004484869800489X>
16. NAKAMURA M, TAKAHASHI H. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*, with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. 1973;24(1):1–13.
17. Nakamura M. Sex control in cultured tilapia (*Tilapia mossambica*) and salmon (*Oncorhynchus masou*). Current Trends in Comparative Endocrinology. 1985;1255–60.
18. Mohamed GA, Farag ME, Elghobashy HA, Ali MA. Feminization of sexually undifferentiated progeny of *Oreochromis niloticus* and *O. aureus*. Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development–C Molecular Biology. 2004;5:31–44.
19. Piferrer F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture [Internet]. 2001;197(1):229–81. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848601005890>
20. Guerrero III R, Shelton W. An Aceto-Carmine Squash Method For Sexing Juvenile Fishes. The Progressive Fish-Culturist. 1974 Jan 1;36.
21. Palaikostas C, Bekaert M, Khan M, Taggart J, Gharbi K, McAndrew B, et al. Mapping and Validation of the Major Sex-Determining Region in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Using RAD Sequencing. PLoS One. 2013 Sep 9;8:e68389.
22. Triay C, Conte M, Baroiller JF, Bezault E, Clark F, Penman D, et al. Structure and Sequence of the Sex Determining Locus in Two Wild Populations of Nile Tilapia. Genes (Basel). 2020 Aug 29;11:1017.

23. Qi S, Dai S, Zhou X, Wei X, Chen P, He Y, et al. Dmrt1 is the only male pathway gene tested indispensable for sex determination and functional testis development in tilapia. PLoS Genet [Internet]. 2024 Mar 27;20(3):e1011210-. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1011210>
24. Eshel O, Shirak A, Dor L, Band M, Zak T, Markovich-Gordon M, et al. Identification of male-specific amh duplication, sexually differentially expressed genes and microRNAs at early embryonic development of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). BMC Genomics. 2014 Sep 9;15:774.
25. Cáceres G, López ME, Cadiz M, Yoshida G, Jedlicki A, Palma-Véjares R, et al. Fine Mapping Using Whole-Genome Sequencing Confirms Anti-Müllerian Hormone as a Major Gene for Sex Determination in Farmed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). G3-Genes Genomes Genetics. 2019 Aug 15;9:g3.400297.2019.
26. Ramírez J, Alcántar Vázquez JP, Antonio C, Torre R, Calzada-Ruiz D. Feminization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by diethylstilbestrol. Growth and gonadosomatic index. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. 2015 Nov 20;3:51–61.
27. Potts AC, Phelps RP. Use of diethylstilbestrol and ethynylestradiol to feminize Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in an outdoor environment. Journal of Applied Ichthyology [Internet]. 1995 Jun 1;11(1–2):111–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1995.tb00011.x>
28. Juárez-Juárez V, Alcántar Vázquez JP, Antonio C, Marín-Ramírez J, Torre R. Feminization by 17 α -ethynylestradiol of the progeny of XY-female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Effects on growth, condition factor and gonadosomatic index. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2017 May 1;17:599–607.
29. Lin S, Benfey T, Martin-Robichaud D. Hormonal sex reversal in Atlantic cod, *Gadus morhua*. Aquaculture. 2012 Oct 1;s 364–365:192–197.
30. Varadaraj K. Feminization of *Oreochromis mossambicus* by the administration of diethylstilbestrol. Aquaculture. 1989;80(3–4):337–41.
31. Ridha M, Lone K. Preliminary studies on feminization and growth of *Oreochromis spilurus* (Günther) by oral administration of 17 α -ethynylestradiol in sea water. Aquaculture Research. 2008 Jun 28;26:479–82.

Oral administration of 17 α -ethynylestradiol for feminization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) of the GIFT strain and evaluation of its effects on biological performance indices

Behrooz Mokhtari¹, Mohammad Reza Kalbassi^{1*}, Morteza Alizadeh²

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Iran

2- Iranian Fisheries Sciences Research Institute

ABSTRACT

Male tilapia typically exhibits faster growth rates than females. The production of supermales (YY genotype) is a key strategy for generating all-male populations for aquaculture purposes without the direct use of hormones in marketable fish. In this study, the feminization of GIFT strain tilapia was investigated using dietary administration of 17 α -ethynylestradiol (EE₂) at doses of 0, 50, 100, and 175 mg/kg of feed. This feminization step represents the first phase in the production of supermales and aims to generate phenotypic females with an XY genotype. The effects of hormone administration on key biological indices were assessed. Based on the results, the highest feminization rate, evaluated through gonadal squash analysis, was obtained at the 175 mg/kg dose, reaching 22.83% $\pm$ 0.29. The highest final body weight was observed in both the control group and the 175 mg/kg treatment. Feed conversion ratio (FCR) was improved in all hormone-treated groups compared to the control, with no significant differences among the treatment groups. Survival rates were higher in all hormone-treated groups relative to the control, with the best performance observed in the 50 and 100 mg/kg treatments.

KEYWORDS: Tilapia, Supermale, Feminization, Hormonal therapy, Sustainable aquaculture

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: August 10, 2025

Revised: November 21, 2025

Accepted: December 6, 2025

Online Publication:
December 16, 2025

* Corresponding Author:

Email address: kalbassi_m@modares.ac.ir

Tel: 01144998000

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513