



موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور  
معاونت ترویج و انتقال یافته‌های علمی



وزارت جهاد کشاورزی  
مركزان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
معاونت ترویج



موضوع:

**دستور العمل تولید ماهیان تمام ماده قزل آلاي رنگين کمان (روش غير مستقيم)**

نگارندگان:

طبيبه باشتي، همایون حسين زاده، داود ضرغام

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

دستور العمل فنی - ترویجی، سال ۱۳۹۵



## **دستور العمل تولید ماهیان تمام ماده قزل آلاهی رنگین کمان (روش غیر مستقیم)**

نگارندگان:

طیبه باشتی، همایون حسین زاده، داود ضرغام

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

۱۳۹۵

## مقدمه

پرورش ماهیان سرد آبی در کشور در طی ۲۰ سال گذشته از رشد مضاعفی برخوردار بوده به بطوری که میزان تولید سالانه این ماهی، از حدود ۵۰۰ تن در سال ۱۳۷۴ به بیش از ۱۲۰ هزار تن در سال ۹۵ رسیده است. کنترل جنسیت در پرورش ماهیان سردابی از اهمیت زیادی برخوردار است. وجود اختلاف اندازه در دو جنس نر و ماده و نیز بلوغ زودرس و عوارض ناشی از آن شامل کاهش رشد، تلفات همراه با بلوغ و تغییرات نامطلوب در کیفیت گوشت همگی باعث می شوند که پرورش جمعیت هایی که در آنها جنسیت به صورت تک جنسی و یا عقیم کنترل شده است، دارای فواید اقتصادی بیشتری نسبت به جمعیت های مخلوط عادی باشد. امروزه در بسیاری از کشور های دنیا موضوع پرورش ماهیان تک جنس در دستور کار قرار دارد و با توجه به کاهش فاصله درآمد و هزینه در پرورش قزل آلا ی کشور این پروژه در تقویت اقتصاد تولید تاثیر بسزایی دارد. جنس ماده قزل آلا ی رنگین کمان دارای میزان رشد و اندازه بزرگتری می باشد و جنس نر قبل از اینکه به اندازه مناسب برای خرید و فروش برسد، بالغ میشوند. این دو عامل باعث تنوع بسیار زیادی در اندازه ماهیان و کاهش میزان تولید می گردد. به همین دلیل موسسات خصوصی پرورش ماهی تمایل بسیار زیادی برای تولید جمعیت های یکنواخت از ماهیان ماده دارند. درکل دو روش اصلی برای ماده سازی ماهیان وجود دارد که شامل هورمون درمانی و درمان درطول ژینوژنز (ماده زایی) می باشد که ماده سازی هورمونی با هدف استفاده از استروئیدهای جنسی در برخی گونه ها مانند آزاد ماهیان آزمایش شده و به نتیجه مطلوب رسیده است. بنابراین استفاده از استروئیدها در گونه هایی که در آنها سیستم تعیین جنسیت به صورت کروموزومی است، مثل ماهی قزل آلا و آزاد، باعث نرسازی و ماده سازی می شود.

### ماهی قزل آلا ی رنگین کمان



## مزایای تولید ماهی تمام ماده قزل آرای رنگین کمان

امروزه در اکثر کشورهای تولید کننده ماهی قزل آلا برای اقتصادی بودن پرورش، اقدام به تولید ماهیان تک جنس تمام ماده و یا عقیم می نمایند. زیرا ماهیان ماده از رشد سریعتری نسبت به ماهیان نر برخوردار می باشند چون ماهیان ماده نسبت به ماهیان نر دیرتر بالغ می گردند یعنی در سن ۱۷ الی ۱۸ ماهگی و ماهیان نر در ۷ الی ۹ ماهگی بالغ می شوند. در هنگام بالغ شدن بخش زیادی از انرژی بدن که باید صرف رشد گردد برای تشکیل گنادها صرف می گردد و در نتیجه در این مرحله ماهی دچار توقف رشد خواهد شد که این وضعیت برای ماهیان ماده وجود نخواهد داشت. ماهیان ماده قبل از بالغ شدن به وزن بازاری خواهند رسید و به بازار عرضه خواهند شد و این شرایط باعث می شود که رشد بهتر و سریعتری نسبت به ماهیان نر داشته باشند و این سریع رشد بودن ماده ها باعث می گردد که هزینه کمتری را شامل گردد و از طرفی زودتر به بازار عرضه شود. کیفیت گوشت بهتر جنس ماده نسبت به نر (بازار پسندی بالاتر جنس ماده قزل آرای رنگین کمان

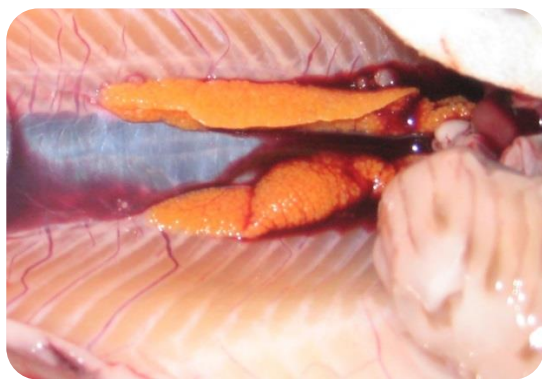


بالا ماهی نر-پایین ماده

زائده تناسلی ماده (1-2cm)

## روشهای هورمونی کنترل جنسیت

به منظور کنترل جنسیت از سه روش 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 غذایی و غوطه وری (تعداد زیاد ماهی در حمام آب ساکن یا آب در حال جریان) روش های رایج عملی در تغییر جنسیت ماهی می باشد. روش غوطه وری برای آن دسته از ماهیها مناسب است که تمایز جنسی آنها در مرحله 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 خارجی صورت می گیرد. برای تغییر جنسیت ماهی به جنس نر از هورمون ۱۷ آلفا متیل تستوسترون (MT) و برای تغییر جنسیت ماهی به جنس ماده، از هورمون طبیعی ۱۷ بتا استرادیول (E<sub>2</sub>) استفاده می گردد. این دو روش با یکدیگر تفاوت هایی دارند. در روش اول از استروژن استفاده می شود و در نسل اول جمعیت تک جنس ایجاد خواهد شد، اما در روش دوم از آندروژن استفاده می شود و برای تولید جمعیت تک جنس به دو نسل نیاز می باشد، در ضمن مصرف کنندگان نیز دغدغه استفاده از ماهی هایی که در فرایند رشد هورمون مصرف کرده اند را ندارند. گرچه دانشمندان بر این عقیده اند که این دغدغه مبنای علمی ندارد، زیرا مطالعات نشان می دهد پس از گذشت چند ساعت از مصرف خوراک هورمونی، سطح هورمون در بدن به قدری کاهش می یابد که قابل اندازه گیری نیست.



## هورمون های موثر در ماده سازی ماهیان

امروزه هورمونهای متعددی در تغییر جنسیت ماهیان تاثیر گذار بوده، که مهمترین آنها هورمونهای استروئیدی و بویژه استروئید های جنسی می باشند. در این راستا انواع هورمونها و دارو ها نظیر استرادیول و مشتقات مربوطه و نیز انواع داروهای گیاهی و دارو هایایی نظیر، تا موکسی فن می توانند، تغییر جنسیت در ماهی را تشدید نمایند .

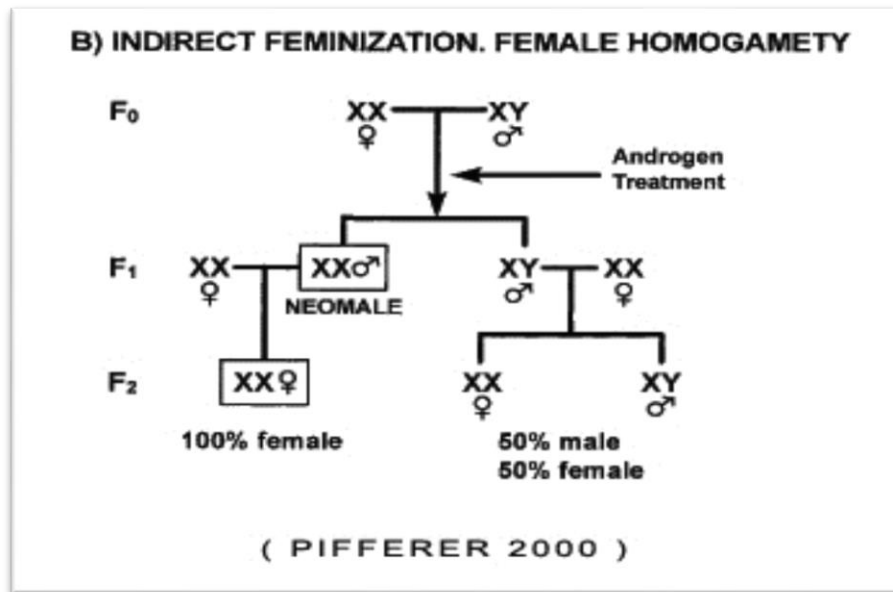
### هورمون تستوسترون:

تستوسترون از هورمون های استروئیدی است، که ساختمان اصلی سازنده آن کلسترول تشکیل می دهد. این هورمون از سلول های لیدینگ در بافت بیضه ترشح می شود و ترشح آن توسط هورمون دیگری که از سلول های قدامی هیپوفیز ترشح می شود، کنترل می شود. تستوسترون برای اثرگذاری در بافت هدف و جلوگیری از کاهش اثرش، با برخی پروتئین های ساخته شده در کبد ترکیب شده و بعد از انتقال به اعضاء هدف یا گیرنده های موجود در بافت ترکیب شده و از جدار سلول عبور کرده و آثارش را ایجاد می کند. بسیاری عقیده دارند که این هورمون عامل اصلی در تمایل افراد به پرخاشگری است. به طور کلی مدل های زیست شناسی و فیزیولوژیکی و تحقیقاتی که درباره جانوران انجام می شود حاکی از این است که تستوسترون نقش کلیدی در تعاملات اجتماعی بازی می کند. در آزاد ماهیان دوره تمایز جنسی در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  آب، ۷۰-۵۰ روز بعد از اولین تغذیه می باشد. در خصوص قزل آلاهی رنگین کمان موفق به تولید بچه ماهیان ۱۰۰ درصد ماده در آزمایشگاه شده اند. البته این نتیجه عمومی نبود و جهت دستیابی به میزان ۱۰۰ درصد ماده باید غذای حاوی هورمون حداقل به مدت ۱۶ ساعت در روز به ماهیان خورنده شود. در صورتی که میزان یا مدت تغذیه کاهش یابد، ماده زایی نیز به صورت ناقص انجام خواهد شد.

## تولید ماهیان تمام ماده به روش غیر مستقیم

▪ روش غیر مستقیم یا کنترل ژنتیکی جنسیت: عبارتست از آمیزش ماهیهای طبیعی با ماهیهایی که از قبل با بکار بردن هورمون به ماهی نر تغییر جنسیت یافته اند.

### روش غیر مستقیم



### مزایای بکارگیری روش تک جنس سازی در مزارع سردابی:

۱. برتری رشد جنس ماده نسبت به جنس نر قزل آلا ی رنگین کمان
۲. برطرف نمودن مشکلات مربوط بلوغ زودرس جنس نر
۳. مقاومت به بیماری
۴. کیفیت گوشت بالاتر جنس ماده نسبت به جنس نر
۵. بهبود توان تولید مزارع پرورش ماهی قزل آلا
۶. اقتصادی بودن و بازارپسندی تولید ماهیان هم اندازه با توجه به تقاضای بازار و افزایش ۳۰ درصدی قیمت فروش جنس ماده نسبت به نر

## دستور العمل تولید بچه ماهی تمام ماده به روش غیر مستقیم:

### مشخصات مولدین و تخم های چشم زده

- ۱- انتخاب مولدین ۳ تا ۵ ساله با وزن متوسط وزن آنها ۳ کیلوگرم در فصل تکثیر برای عملیات تخم کشی
- ۲- انتخاب مولدین جهت استحصال تخم با ظاهری سالم و بدون هیچ گونه علائمی از بیماری
- ۳- انجام مراحل مختلف تکثیر از جمله تخم گیری، اسپرم گیری و لقاح بر اساس پروتوکل تکثیر و پرورش ماهی قزل آلاهی رنگین کمان
- ۴- انتقال تخم به سالن انکوباسیون جهت طی دوره انکوباسیون
- ۵- میانگین مناسب قطر تخم های چشم زده ۶ میلی متر با وزن هر ۱۰ تا ۱۱ عدد آنها یک گرم
- ۶- وزن مناسب لاروهای دارای کیسه زرده بعد از تخم گشایی ۱۲۰ تا ۱۲۵ میلی گرم است.





## مشخصات خوراک

- ۱- توصیه می شود خوراک مورد نیاز برای هورمون تراپی و طی دوران مختلف پرورشی از کارخانجات تولید غذای اکستروود تهیه گردید.
- ۲- توصیه می شود جهت تغذیه لاروها و ساخت غذای هورمونی، از غذای کارخانه ای استفاده شود که تا رسیدن لارو به وزن یک گرم دارای ۳ سائز مختلف باشد.

## نحوه غذادهی

- ۱- غذادهی ماهیان از زمان تغذیه فعال شروع و ۶۰ روز ادامه می یابد.
- ۲- درصد غذادهی بر اساس جداول استاندارد غذایی محاسبه گردد و همزمان با رشد ماهیان درصد غذادهی کاهش یابد.
- ۳- توصیه می شود در ابتدای درمان هورمونی غذادهی ۱۵ بار در روز و در انتها ، ۸ بار در روز غذادهی صورت گیرد.
- ۴- میزان هورمون مورد نیاز یک میلی گرم در کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم غذا محاسبه شده می باشد.



## اضافه نمودن هورمون به غذا

۱. برای تک جنس نمودن از روش اسپری نمودن هورمون ۱۷آلفا متیل تستوسترون بر روی غذای ماهی استفاده شود.
۲. برای حل کردن هورمون، میزان مورد نیاز هورمون (یک میلی گرم در کیلوگرم) را در الکل اتیلیک ۹۶٪ حل نمایید.
۳. در خصوص چگونگی حل کردن هورمون در الکل به این صورت عمل میشود که هورمون را به مدت دو ساعت در الکل درون ظرف در بسته در دمای اتاق قرار داده و در طول این دو ساعت چند بار ظرف هم زده می شود.
۴. می توان در صورت موجود بودن دستگاه هم زن برقی آزمایشگاهی به مدت ده دقیقه استفاده نمود.
۵. مقدار الکل مورد نیاز به ازای هر کیلو غذا ۲۰۰ سی سی می باشد.
۶. غذا باید بر روی پلاستیک و با قطر نازک و گسترده پهن شود.
۷. در خصوص نحوه بکارگیری هورمون به این صورت عمل می شود که اسپری در ۵ مرحله و هر بار ۲۰٪ محلول اسپری و در ۱۰ دقیقه خشک شود. پس از مخلوط کردن غذا (زیرورو کردن) مجدداً غذا پهن و اسپری انجام گردد.
۸. اسپری نمودن هورمون روی غذا چندین دفعه صورت می گیرد تا هورمون کاملاً با تمام غذا مخلوط گردد.
۹. پس از اتمام این مرحله و خشک شدن غذا، غذای حاوی هورمون در ظرف سر بسته در داخل یخچال و یا در جای خنک نگهداری شود.
۱۰. شروع غذادهی هورمونی از زمانی آغاز شود که نیمی از لاروها از کف سینی بلند شده و شروع به شنای فعال نمایند.
۱۱. تعداد دفعات غذادهی روزانه ۱۰ تا ۱۵ بار و در ۳ دوره ۲۰ روزه به مدت ۶۰ روز انجام گردد.



**روش اسپری کردن غذای هورمونی بر غذا**



**روش اسپری کردن غذای هورمونی بر غذا**



**توزین هورمون جهت هورمون درمانی**

## تعیین جنسیت و اتمام فاز اول تک جنس سازی

۱. پس از پایان دوره تجویز هورمون، ماهیان تک جنس شده تا زمانی که غدد جنسی آنها رشد یافته و به اندازه مناسب برای بررسی تشخیص جنسیت برسد، با غذای فاقد هورمون تغذیه شوند
۲. پس از رسیدن بچه ماهیها به وزن ۲۰ گرم، بیومتری انجام و گنادهای خارج گرد و تعیین جنسیت انجام می گردد. گناد نر به شکل لوله ای نازک و گناده ماده به شکل غده های میبشند.
۳. فاز اول (تولید ماهیان نر تغییر جنسیت یافته) پس از تشخیص و اطمینان از صحت تغییر جنسیت به اتمام می رسد و بچه ماهیان جهت مولد سازی برای فاز دوم تک جنس سازی بصورت جداگانه نگهداری گردد.
۴. فاز دوم تغییر جنسیت تا رسیدن ماهیان نر تغییر جنسیت یافته به زمان بلوغ و رسیدگی جنسی گنادها ادامه دارد.

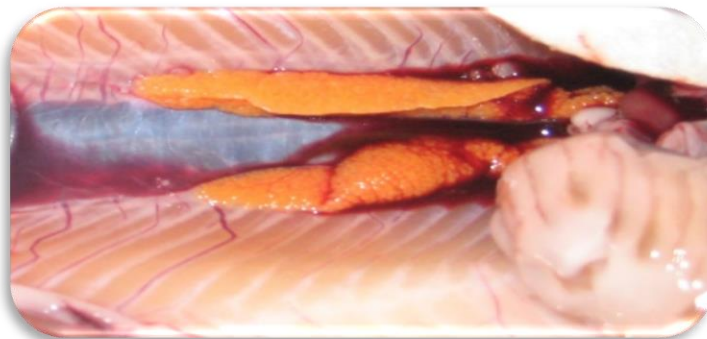


گناد نر به شکل لوله ای نازک و گناده ماده به شکل غده ای

## فاز دوم و نحوه تولید تخم تک جنس

۵. پس از رسیدن ماهیان هورمون درمانی شده به رسیدگی جنسی (سن دوسالگی)، با توجه به اینکه مجرای اسپرم بر ماهیان ماده تغییر جنسیت یافته بسته است و یا وجود ندارد، در نتیجه اسپرم به طور مستقیم از بیضه های این ماهیان خارج نمیشود. بنابراین پس از تشخیص ماهیانی که لوله اسپرم بر بسته دارند از طریق معاینه هفتگی ماهی ها، و حذف ماهیانی که در معاینه دارای اسپرم و لوله اسپرم باز هستند گنادها با عمل جراحی از ماهیان ماده تغییر جنسیت یافته کشته شده خارج می گردد
۶. گناد خارج شده در ابتدا جهت اسپرم گیری با دست چلانده میشود و سپس مایع اسپرمی با فشار دست از یک الک ۱ تا ۲ میلی متری عبور داده می شود تا بافت های بیضه ای جدا شوند.
۷. در نهایت از آمیزش اسپرم بدست آمده از مولد ماهیان تغییر جنسیت یافته (دارای گناد نر و ژنتیک ماده) با تخمک مولدین ماده معمولی تخم تک جنس ماده در نسل دوم تولید می شود.

### گناد ماهی نر



### گناد ماهی ماده

## منابع:

- ۱- حسین زاده، ه. ۱۳۹۰. ایجاد جمعیت تک جنس ماده با استفاده از هورمون  $17\text{-}\beta$  estradiol به روش ماده سازی مستقیم. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور با شماره مصوب ۴-۱۲-۱۲-۸۷۰۴۶.
  - ۲- حسین زاده، ه. ۱۳۹۲. مقایسه رشد ماهیان تک جنس ماده معرفی شده با سایر ماهیان قزل آلا در مزارع پرورش ماهی تجاری. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور با شماره مصوب ۴-۱۲-۱۲-۸۹۰۱۶.
  - ۳- حسین زاده، ه. ۱۳۹۳. تعیین بقایای هورمونی ۱۷-بتا استرادیول در ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان با هدف ارتقای سلامت ماهیان. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. با شماره مصوب ۴-۱۲-۱۲-۸۹۰۱۶.
  - ۴- باشتی، ط. ۱۳۹۴. ایجاد جمعیت تمام ماده قزل آلا ی رنگین کمان به روش غیر مستقیم. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور با شماره مصوب
- ۵- Hoseinzadeh Sahafi ,h. Bashti, T. Zargham,D. ۲۰۱۱. Dietary Effects of  $17\text{-}\beta$  Estradiol on Sex Reversal of Rainbow Trout in Early Larval Stage. Journal of Advances in Environmental Biology . ۵(۸): ۲۱۰۰-۲۱۰۶
  - ۶- Piferrer , F., ۲۰۰۱ . Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish . Aquaculture , Vol. ۱۹۷, pp: ۲۲۹-۲۸۱.
  - ۷- Schreck, C.B., ۱۹۷۴. Hormonal treatment and sex manipulation in fishes. In: Schreck, C.B. (Ed.), Control of Sex in Fishes. Virginia Polytechnic Institute and State University Sea Grant Program, pp. ۸۴-۱۰۶