مقاله مروری

تولید ماهیان تک‌جنس در آبزی‌پروری، روش‌ها، مزایا، محدودیت‌ها و دورنمای آتی

فاطمه پیکان حیرتی*، سارا سقاوی، امین مخلص آبادی فراهانی، سالار درافشان

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، کد پستی ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱، ایران.

*نویسنده مسئول: fheyrati@iut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۵

چکیده

در برخی مواقع بلوغ جنسی و تولیدمثل در آبزیان، اثرات منفی و قابل‌توجهی بر روند تولید خواهند داشت، بنابراین تولید جمعیت‌های تک‌جنس در آبزی‌پروری حائز اهمیت است. با توجه به ارزش اقتصادی الگوی رشد دوشکلی، بهتر است در آبزی‌پروری، جنس‌هایی با اندازه بزرگ‌تر و رشد سریع‌تر پرورش داده شود. به‌منظور تولید جمعیت‌های تک‌جنس می‌توان از روش‌های مختلفی نظیر جداسازی جنسی، آمیخته‌گری بین‌گونه‌ای، تغییر جنسیت با استفاده از تیمار حرارتی، شوک الکتریکی، تیمار هورمون‌های آستروئیدی مصنوعی یا ترکیبات گیاهی و هومیک استفاده کرد، که از بین آن‌ها تغییر جنسیت هورمونی یکی از کارآمدترین روش‌های بر پایه زیست‌فناوری در آبزیان است. تغییر جنسیت آبزیان از طریق هورمون، درواقع تغییر روند طبیعی تمایز جنسی تحت تأثیر هورمون‌های استروئیدی است. در صورت استفاده از هورمون‌های مصنوعی در مقادیر بالاتر از حد معمول یا به مدت طولانی، این هورمون‌ها می‌تواند منجر ایجاد عقیمی یا اختلال در سیستم ایمنی، غدد درون‌ریز و کبد شوند. در این مقاله ضمن برشمردن مزایا و چگونگی تولید ماهیان تک‌جنس، سیستم‌های تعیین جنسیت در ماهیان مورداشاره قرار گرفته و استفاده از روش‌های جدید سازگار با محیط‌زیست نظیر استفاده از هورمون‌های کم‌خطرتر، شوک الکتریکی و نیز ترکیبات گیاهان دارویی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت محدودیت دانش موجود در زمینه تولید ماهیان تک‌جنس مورد بحث قرار می‌گیرد.

واژگان کلیدی: آبزی‌پروری، زیست‌فناوری، پرورش تک‌جنسی، الگوی رشد دوشکلی.

مقدمه

تغذیه و تأمین غذای سالم و کافی از مهم‌ترین مسائل حیاتی انسان است. در این راستا آبزی‌پروری یک بخش در حال رشد صنعت کشاورزی در سرتاسر دنیا بوده و یکی از منابع مهم تأمین پروتئین مورد نیاز جامعه بشری است. افزایش تقاضای مصرف ماهی به دلیل رشد سریع جمعیت و افزایش آگاهی از ارزش غذایی و ارجحیت گوشت ماهی بر سایر پروتئین‌های حیوانی، افزایش پرورش آبزیان از جمله ماهی و افزایش میزان تولید در واحد سطح برای تأمین نیاز جمعیت رو به افزایش دنیا را سبب شده است (Phelps e*t al*., 2000).

علم ژنتیک به‌عنوان ابزاری در راستای افزایش تولید در واحد سطح، به‌عنوان یکی از راه‌حل‌های اصلی برای تأمین نیازهای غذایی آینده جمعیت رو به رشد جهان شناخته‌شده است. زیست‌فناوری دریچه جدیدی را برای توسعه منابع ژنتیکی در آبزی‌پروری باز کرده است، زیرا می‌تواند نقش به‌سزایی در بهبود یافتن محصولات آبزی‌پروری داشته باشد و علاوه بر آن به بازارپسندی، فرهنگ پذیری و حفظ ذخایر طبیعی کمک می‌کند. استفاده از زیست‌فناوری در سیستم‌های مختلف تولید همراه با اثرات منفی است، اما حتی با این‌وجود، مزایای بیشتری نسبت به نگرانی‌های آن وجود دارد، زیرا تکنیک‌ها به‌طور مداوم درحال‌توسعه هستند و در نتیجه اثرات منفی آن را کاهش می‌دهند (Omole, 2017). تولید جمعیت‌های تک‌جنس یا عقیم ماهیان به دلایل مختلفی در آبزی‌پروری اهمیت دارند. تفاوت‌های جنسی صفات تجاری در ماهیان خوراکی و یا تزئینی، تعیین‌کننده مطلوبیت تولید جمعیت‌های تک‌جنس است. در بیشتر گونه‌های ماهیان، یک جنس از رشد بیشتری نسبت به جنس دیگر برخوردار است.

به‌عنوان‌مثال در گربه‌ماهی روگاهی *Ictalurus punctatus* و تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus*، افراد نر سریع‌تر از ماده‌ها رشد می‌کنند، اما در مورد کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella*، قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* و دیگر آزادماهیان و کپورماهیان، جنس ماده سریع‌تر از جنس نر رشد می‌کند. تعدادی از انواع ماهیان در جثه‌های کوچک و سنین جوانی و قبل از رسیدن به‌اندازه قابل برداشت، به بلوغ جنسی می‌رسند. این پدیده می‌تواند تولید را به‌تبع وجود تولیدمثل ناخواسته و در نتیجه افزایش تراکم ماهیان در استخرهای پرورشی و همچنین به علت صرف انرژی توسط ماهیان پرورشی برای فعالیت‌های تولیدمثلی، کاهش دهد (Abo-al-ela, 2018). همچنین ممکن است از نظر کیفیت گوشت و وزن لاشه بین جنس نر و ماده تفاوت وجود داشته باشد. رسیدگی جنسی نیز با کیفیت گوشت و وزن لاشه ماهیان ارتباط نزدیکی دارد، زیرا با فرارسیدن بلوغ جنسی و رسیدگی ماهیان، سرعت رشد کاهش‌یافته و یا درصد بازده لاشه کاهش می‌یابد. همچنین در رابطه با صفات تجاری دیگری مثل مقاومت در برابر بیماری یا تحمل کیفیت نامطلوب آب نیز تفاوت‌های جنسی در بین برخی گونه‌ها وجود دارد. در برخی کشورها، ورود گونه‌های پرورشی غیربومی با مخالفت روبه‌رو است، زیرا احتمال ایجاد اثرات اکولوژیکی مخرب، انتقال عوامل بیماری‌زای جدید به محیط طبیعی و کاهش تنوع زیستی گونه‌های بومی وجود دارد، در مورد استفاده از ماهیان آمیخته دیپلوئید برای پرورش با در مدیریت صید تفریحی نیز بحث‌هایی وجود دارد؛ زیرا ممکن است آن‌ها به طبیعت وارد شده و به‌واسطه آمیزش با گونه‌های والد خود، ذخیره ژنتیکی آن‌ها را آلوده کنند. استفاده از جمعیت‌های ماهیان تک‌جنس یا عقیم یکی از راه‌های مقابله با مشکلات ناشی از تفاوت‌های جنس نر و ماده در رابطه با رسیدگی جنسی و تولیدمثل ناخواسته است. بنابراین تولید جمعیت تمام نر یا تمام ماده فواید اقتصادی زیادی دارد که باعث توجه علاقه‌مندان به تکنیکی به نام پرورش تک‌جنس (Monosex) هست (Dudakov *et al*., 2009). در این نوشتار، به دلایل و چگونگی تولید ماهیان تک‌جنس در ایران و جهان پرداخته می‌شود و در ادامه روش‌های نوین تولید ماهیان تک‌جنس و محدودیت‌های تولید ماهیان تک‌جنس از منظر اثر روش‌های تولیدی بر بقا، رشد، ایمنی آبزی و تأثیر احتمالی منفی آن بر محیط‌زیست موردتوجه قرار می‌گیرد.

سیستم‌های تعیین جنسیت در ماهی‌ها

به‌طورکلی تاکنون، نه سیستم تعیین جنسیت در ماهیان گزارش‌شده است. هشت مورد از این سیستم تحت کنترل کروموزوم‌های جنسی و یکی از آن‌ها تحت کنترل کروموزوم‌های غیرجنسی یا اتوزوم‌ها است. با این وجود ممکن است کروموزوم‌های جنسی از نظر ریختی قابل‌شناسایی نباشند. رایج‌ترین سیستم تعیین جنسیت در ماهیان، سیستم XY است. در این سیستم جنس ماده هموگامتیک (XX) و جنس نر، هتروگامتیک (XY) است. در این حالت، والد نر و در حقیقت کروموزوم Y تعیین‌کننده جنسیت است. فرزندانی که گامت حاوی کروموزوم Y را دریافت نمایند، جنسیت نر پیدا کرده و آن‌هایی که اسپرم حاوی کروموزوم X را دریافت کنند، تبدیل به جنس ماده خواهند شد. این سیستم تعیین جنسیت تاکنون در قزل‌آلای رنگین‌کمان، گربه‌ماهی روگاهی، کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys moltrix*) و کپور علفخوار مشاهده‌شده است. دومین سیستم تعیین جنسیت، WZ نام دارد و در *Tilapia aurea*، *Tilapia hornorum* و نیز مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) مشاهده می‌شود. در این سیستم جنس نر هموگامتیک (ZZ) و جنس ماده هتروگامتیک (WZ) است و بنابراین وجود کروموزوم W از جنس ماده تعیین‌کننده جنسیت است.

سومین، چهارمین و پنجمین سیستم تعیین جنسیت از طریق کروموزوم‌های جنسی چندگانه کنترل می‌شود. در سومین سیستم تعیین جنسیت،

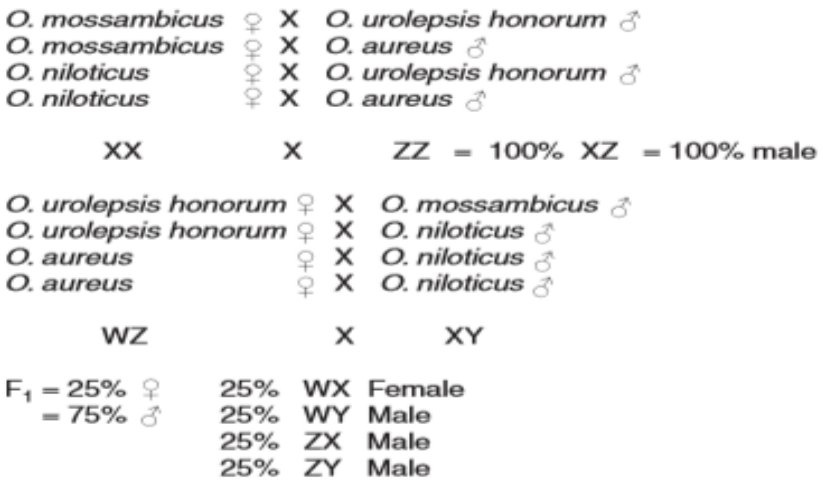
جنس ماده به شکل $X_1X_1X_2X_2$ و جنس نر به‌صورت X_1X_2Y خواهد بود، بنابراین نرها، هتروگامتیک و تعیین‌کننده جنسیت نتاج خواهند بود. این سیستم تعیین جنسیت در برخی از کپور ماهیان دنداندار نظیر *Megupsilon aporus* گزارش‌شده است. در چهارمین سیستم، جنس نر دارای کروموزوم‌های ZZ و جنس ماده دارای کروموزوم‌های ZW_1W_2 است. در این سیستم، تعیین‌کننده جنسیت نتاج، ماده‌های هتروگامتیک هستند. فرزندانی که کروموزوم‌های W_1W_2 را دریافت می‌کنند، ماده و آن‌هایی که کروموزوم Z را از والد ماده دریافت کنند، تبدیل به جنس نر می‌شوند. این حالت تعیین جنسیت در نوعی ماهی بومی آرژانتین به نام *Apareiodon affinis* گزارش شده است. در پنجمین شکل تعیین جنسیت که در گونه‌های مختلف گرگ‌ماهی آب‌شیرین آمریکای جنوبی *Hoplias sp.* مشاهده‌شده است، نرها کروموزوم‌های XY_1Y_2 و ماده‌ها کروموزوم‌های XX را دارا هستند. در این سیستم، جنس نر تعیین‌کننده جنسیت ماهی است. فرزندانی که کروموزوم‌های Y_1Y_2 را از والد پدری دریافت می‌کنند، جنسیت نر و آن‌هایی که کروموزوم X را دریافت نمایند، تبدیل به جنس ماده می‌شوند. در سیستم ششم یا سیستم WXY، کروموزوم W قادر است قابلیت نر کنندگی کروموزوم Y را متوقف کند. بنابراین ماهیان XY،YY نر و ماهیان XX، WX، WY ماده هستند. این سیستم تعیین جنسیت در ماهی پلاتی *Xiphophorus maculatus* مشاهده‌شده است.

هفتمین و هشتمین سیستم در ماهیانی دیده می‌شود که تنها دارای یک کروموزوم جنسی هستند. در این دسته از موجودات فقدان یک کروموزوم جنسی منجر به ایجاد جنسیت خاص می‌شود. در سیستم XO، ماده‌ها XX و نرها XO هستند در حقیقت O به معنای نبود کروموزوم جنسی است و فرد نر در عدد کروموزومی خود، یک کروموزوم کمتر از فرد ماده خواهد داشت. واضح است که در این سیستم نیز ماهان نر تعیین‌کننده جنسیت نتاج هستند و فرزندانی که کروموزوم X را از جنس نر دریافت دارند، ماده و آن‌هایی که کروموزومی از جنس نر دریافت نکنند، نر خواهد شد، این سیستم در *Sternoptyx diaphana* گزارش‌شده است. در سیستم ZO، ماهی ماده ZO و ماهی نر به‌صورت ZZ خواهند بود و ماده‌ها تعیین‌کننده جنسیت فرزندان هستند. فرزندانی که کروموزوم Z را از جنس ماده دریافت کنند نر و آن‌هایی که کروموزومی دریافت نکنند، ماده خواهند شد. مثال بارز این سیستم تعیین جنسیت ماهی زینتی گورامی *Colisa lalia* است.

ممکن است تعیین جنسیت فرد توسط کروموزوم‌های غیرجنسی یا اتوزومی کنترل شود و فرد فاقد کروموزوم جنسی باشند. این سیستم تعیین جنسیت در ماهی دم‌شمشیری *Xiphophorus hellerii* و برخی از گوپی‌ها شناسایی شده است. در این ماهیان وجود عوامل محیطی نظیر درجه حرارت، پ-هاش و حضور جنس مخالف می‌تواند بر جنسیت نتاج تولیدی مؤثر باشد. باوجود تنوع در روش‌های تعیین جنسیت، سیستم‌های XX/XY و ZZ/ZW رایج‌ترین روش تعیین جنسیت در بین ماهیان محسوب می‌شوند (Ebrahimzadeh and Darafshan, 2011).

روش‌های تولید و ایجاد جمعیت‌های تک‌جنس در آبزیان

جداسازی جنسی: جداسازی جنس نر و ماده به‌صورت دستی به حداقل فنون و تجهیزات برای پرورش تک‌جنسی نیازمند است، اما این روش بی‌نهایت خسته‌کننده، وقت‌گیر و ناکارآمد است. جداسازی جنسی به‌صورت دستی، فرایندی تنش‌زا برای آبزی و دشوار برای کارگران است. با وجود آن‌که این روش به‌طور مؤثری به‌ویژه در کشورهای درحال توسعه مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش ماهیان انگشت قد باید به حدی رشد کنند که بتوان قبل از جداسازی دستی جنس نر و ماده، آن‌ها را به روش چشمی تشخیص داد که درنتیجه این امر نیمی



شکل ۱- ژنوتیپ‌های تعیین جنسیت و نسبت جنسی در دورگه‌های بین‌گونه‌ای متقابل تیلاپیا (Dudakov *et al*., 2009).

از ماهیان انگشت قد و تولید آن‌ها از بین می‌رود. روش جداسازی دستی جنس نر و ماده بسیار پرزحمت بوده و در طی آن احتمال خطا وجود دارد (Abo-al-ela, 2018). این روش مبتنی بر وجود صفات ثانویه جنسی در ماهیان است. تغییراتی که در ساختار باله‌ها، منفذ تناسلی یا شکل بدن پدید می‌آید، می‌تواند ما را در انتخاب جنسیت مطلوب کمک کند.

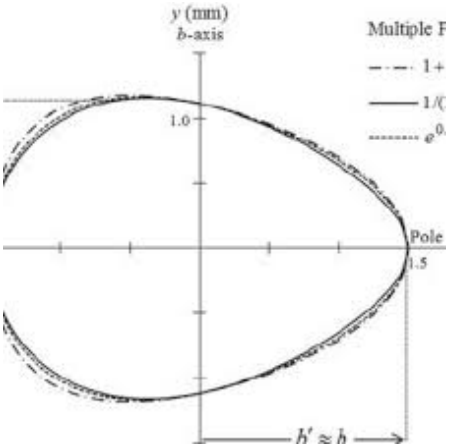
آمیخته‌گری (دگر آمیزی) بین‌گونه‌ای: به‌طورکلی در صنعت آبزی‌پروری، آمیخته‌گری به‌منظور تولید آبزیان با صفات مطلوب یا بهبود کلی عملکرد آن‌ها به کار گرفته می‌شود و هدف، معمولاً تولید نسلی است که عملکرد بهتری را نسبت به والدین نشان دهند. برای ارزیابی مطلوب از امکان به‌کارگیری آمیخته‌ها در صنعت آبزی‌پروری، ابتدا باید تفسیری مناسب از صفات آن‌ها ارائه داد. در حقیقت ارزش آمیخته‌ها درنتیجه یک یا ترکیب مناسبی از این صفات حاصل می‌شود. سه دسته از اطلاعات شامل بازماندگی، نرخ رشد و عملکرد تولیدمثلی درآمیخته‌ها باید با دقت بیشتری مورد ارزیابی قرار گیرند. آمیخته‌گری در آبزی‌پروری به‌منظور افزایش توان تولید، تولید آبزیان مناسب برای پرواربندی، ایجاد نژاد یا سویه‌های جدید، تولید محصولات هم‌شکل، تولید جمعیت‌های تک‌جنس، تولید آبزیان آمیخته برای ذخیره‌سازی در آن دسته از پیکره‌های آبی که ناتوان از نگهداری جمعیت‌های خود تکثیر هستند، تولید افراد عقیم، افزایش سرعت رشد، بهبود کیفیت گوشت، افزایش مقاومت به بیماری و تحمل شرایط محیطی و همچنین بهبود سایر صفات باکیفیت به‌منظور سودآور ساختن ماهی‌ها انجام می‌شود (Rahman *et al*., 2018). یکی از مزایای بالقوه آمیخته‌گری بین‌گونه‌ای، ایجاد انحراف از نسبت جنسی ۱:۱ یا تولید جمعیت تک‌جنس است. همان‌گونه که بیان شد، سیستم‌های تعیین جنسیت مختلفی در آبزیان وجود دارد. ماهیان تیلاپیا یکی از گروه‌های بسیار معروفی هستند که سیستم‌های تعیین جنسیت متفاوتی در گونه‌های مختلف آن دیده می‌شود. در برخی از گونه‌های تیلاپیا از جمله گونه‌های معروف پرورشی مانند تیلاپیای نیل و تیلاپیای موزامبیک، سیستم تعیین جنسیت آن به‌صورت (XX , XY) و در برخی از گونه‌های همین جنس مثل *Oreochromis aureus* و *Oreochromis urolepsis honorum* سیستم تعیین جنسیت آن به‌صورت (WZ, ZZ) است. در آمیخته‌گری بین گونه ماده هموگامت *Oreochromis niloticus* و نر هموگامت *O. aureus* فرزندان XZ به وجود می‌آید (Z در مقابل X نقش Y را دارد) در نتیجه ۱۰۰٪ جمعیت تک‌جنس نر تولید می‌کنند که فنوتیپ مورد تقاضای بازار تیلاپیا است. ولی زمانی که

بین ماده هتروگامت *Oreochromis aureus* و نر هتروگامت *Oreochromis niloticus* آمیزش انجام می‌شود باعث تولید ۲۵٪ ماده و ۷۵٪ نر می‌شود (شکل ۱).

تیمار حرارتی: تعیین جنسیت در آبزیان به چندین حالت مختلف می‌تواند تعریف شود. در حالت عمومی یک لوکوس حاوی ژن‌های تعیین‌کننده جنسیت است بر روی کروموزوم‌های جنسی قرار دارد. در حالت دوم چندین لوکوس بر روی کروموزوم‌های جنسی دخالت دارند. و در حالت سوم به این صورت است که ژن‌ها و عواملی که تعیین‌کننده جنسیت هستند، روی کروموزوم خاصی تمرکز ندارند و بین کروموزوم‌های مختلف توزیع‌شده‌اند که در این حالت معمولاً اثرپذیری تعیین جنسیت از عوامل محیطی مثل دما بسیار بیشتر خواهد بود (Dudakov *et al*., 2009). علاوه بر پیچیدگی‌هایی که در تعیین جنسیت در تیلاپیا و سایر ماهی‌ها وجود دارد، اثرات دما بر تمایز جنسی نیز وجود دارد. اثر دما بر ماهی تیلاپیای نیل گزارش‌شده است که جمعیت‌های تمام ماده و تمام نر YY را زمانی که در معرض دماها و شوری‌های مختلف قرار می‌دهند در واقع منجر به تغییر جنسیت می‌شود. به‌طوری‌که در دمای بالای ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد درصد بالایی از جمعیت تمام ماده به نر تبدیل می‌شود. در اغلب گونه‌هایی که تأثیر دما بر تمایز جنسیت آن‌ها بررسی‌شده است افزایش دما فراوانی جنس نر در نتاج را افزایش داده است (Azari Takami *et al*., 1996). ظاهراً اثر دما بر نسبت جنسی در تیلاپیای نیل دارای اساس ژنتیکی است. در تحقیقی فرزندان تمام ماده ژنتیکی که مولدین نر آن‌ها نرهای XX بودند و فرزندان تمام نر که مولدین نر آن‌ها، نرهای YY بودند را که در دمای ۲۷ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد نمو یافته بودند، بررسی کردند. نسخه‌های DNA ژن MM20C به‌طور متفاوت بیان‌شده بودند. این ژن در دمای معمولی در کمترین مقدار بیان می‌شود، اما در دماهای بالاتر در هر دو جنس و به‌ویژه در نرهای ژنتیکی به مقدار زیادی بیان می‌شود. ظاهراً ژن MM20C ژنی است که تشکیل بیضه را در تیلاپیا تحریک کرده و با افزایش دما بیان آن افزایش می‌یابد. درمجموع می‌توان گفت تعیین جنسیت در تیلاپیا، عمدتاً تک عاملی بوده و سازوکار زیربنایی آن هتروگامت بودن نرها است. اما این سیستم توسط عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Dudakov *et al*., 2009).

تغییر جنسیت با شوک الکتریکی: شوک الکتریکی یک روش جایگزین برای تغییر جنسیت تک‌جنس نر در تیلاپیای نیل را با استفاده از میدان پالس‌های الکتریکی برای کاهش دز مصرف هورمون‌های اندروژنی و زمان تیمار تغییر جنسیت به‌جای ۲۸ روز تغذیه لارو و تکنیک غوطه‌وری که از مقادیر بسیار بالای هورمون ۱۷ آلفا متیل تستوسترون استفاده می‌کند، پیشنهاد شد. مدل الکتریکی تخم ماهی غیرکروی برای ارزیابی پتانسیل القایی از طریق غشا با استفاده از مدل RC توسعه پیدا کرد تا ناهمخوانی‌های موجود در مورد ضخامت پوسته و تخمین خواص دی الکتریک غشای تخم برای القا را اصلاح کرد (شکل ۲).

الکترودهای صفحه‌ای موازی تجهیز شده توسط ژنراتور دارای پالس ترکیبی در این روش مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعه‌ای تخم‌های تیلاپیای نیل (۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از لقاح، شکل ۳) با دقت در میدان الکتریکی القایی با شدت۸۷/۵۰- ۰/۲۵ کیلوولت بر مترمربع قرار گرفتند. محیط الکتروپوریشن با افزودن بافر HEPES و با غلظت حداقلی متیل تستوسترون آماده شد. تائید تغییر جنسیت تخم‌های القاشده، با توسط تشریح بچه ماهیان ۲ماهه با استفاده از تکنیک رنگ‌آمیزی استوکارمن انجام شد. شرایط بهینه ۳ پالس موج مربعی ۸۷/۵۰ کیلوولت بر مترمربع بود. این روش تولید ۸۹/۲۵ درصد بچه ماهی نر در نتاج را با حدود افزایش ۲۵ درصدی تلفات نسبت به گروه شاهد، فراهم کرد (Bunthawin *et al*., 2015).



شکل ۲- شبیه‌سازی تخم ماهی به یک مدار الکتریکی (RC) (Bunthawin *et al*., 2015).

استفاده از ترکیبات گیاهی برای تغییر جنسیت: فیتوکمیکال‌ها ترکیبات استخراج‌شده از گیاهان هستند که معمولاً در میوه‌جات، سبزیجات و حبوبات یافت می‌شوند. صنعت تکثیر و پرورش ماهی امروزه تحت‌فشار زیادی برای کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، هورمون‌های استروئیدی و مواد شیمیائی قرارگرفته است. در نتیجه تلاش‌ها مبنی بر این بوده‌اند که از ترکیبات جایگزین دیگری مانند عصاره‌های گیاهی و ترکیبات طبیعی استفاده شود. فیتوکمیکال‌هایی مانند ایزوفلاونوئیدها، فلاونوئیدها و ساپونین‌ها که ترکیباتی با خصوصیات استروژنی /آندروژنی هستند و می‌توانند جهت تغییر جنسیت انواع ماهی استفاده شوند (شکل ۴). ایزوفلاونوئیدهایی مانند جنیستئین (فیتواستروژن) و دایدزین به‌عنوان ترکیبات آگونیست استروژن از طریق رسپتورهای استروژن در سلول‌ها عمل کرده و اثرات شبه استروژنی در سیستم تولیدمثل ماهی نشان می‌دهند. اثرات فیتواستروژن بر روی حیوانات به عوامل متعددی از جمله میزان استروژن، فعالیت آروماتازی، نوع گونه و وضعیت تولیدمثل، طول دوره استفاده و روش استفاده بستگی دارد. درنهایت اینکه ممکن است فیتواستروژن‌ها دارای اثرات مشابه استروژن یا اثرات ضد استروژن داشته باشند. فیتوکمیکال‌ها تحریک کننده‌های سیستم ایمنی هستند. این ترکیبات می‌توانند سیستم ایمنی را تقویت کرده و خاصیت ضد میکروبی دارند. بیشتر آن‌ها مولکول‌های فعالی هستند که خصوصیت آنتی‌اکسیدانی داشته که می‌توانند سبب بهبود وضعیت فیزیولوژیکی ماهی شوند (Chakraborty and Hancz, 2011). امروزه مزایای استفاده از ترکیبات گیاهان دارویی بر هیچ‌کس پوشیده نیست و به جهت تأثیرات مثبت بر آبزیان می‌توانند به‌عنوان جایگزین در جهت دستیابی به آبزی‌پروری پایدار و دوستدار محیط‌زیست استفاده شوند. ولی استفاده از عصاره‌های گیاهی نیز ایرادهایی از جمله مشخص نبودن میزان ترکیبات خالص آندروژنی برای القای نرسازی و عدم دسترسی به این گیاهان دارد و از طرفی برداشت بی‌رویه از این گیاهان باعث تخریب محیط‌زیست نیز می‌شود. به‌عنوان‌مثال، تحقیق انجام‌شده در ایران در خصوص استفاده از خارخاسک برای تغییر جنسیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، با موفقیت همراه نبود (Ghamati, 2011). ازآنجاکه زمان زیادی از استفاده گیاهان دارویی در آبزی‌پروری نمی‌گذرد، همانند تمامی فناوری‌های نوین نیازمند مطالعات بیشتر به‌خصوص در راستای نوع گیاه مورداستفاده، روش‌های استفاده، روش استخراج و دوز مناسب هست.

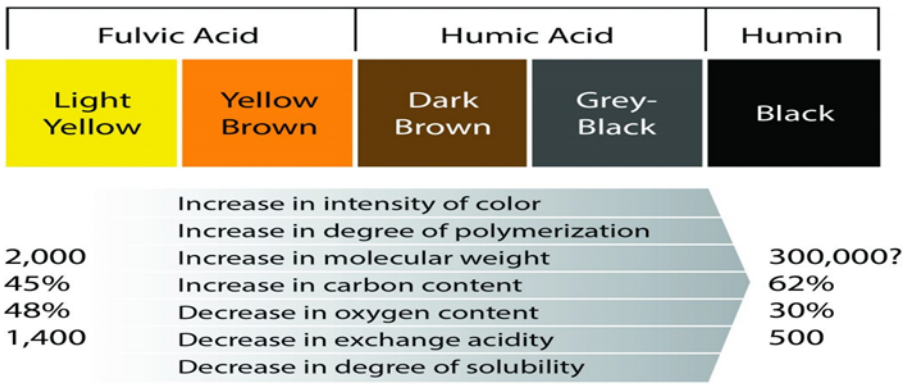
تغییر جنسیت با استفاده از ترکیبات هیومیک: مواد هومیک (Humic substances) که به‌اختصار HS نامیده می‌شوند، ترکیبات عمده موجود در مواد آلی طبیعی خاک و آب و همچنین رسوبات زمین‌شناختی آلی مثل رسوبات بستر دریاچه‌ها، تورب ها و شیل‌ها می‌باشند. آن‌ها ترکیباتی بسیار پیچیده

شکل ۳- تخم لقاح یافته تیلاپیای نیل، ۲۴ ساعت پس از لقاح در حال انکوباسیون دهانی در جنس ماده (Bunthawin *et al*., 2015).

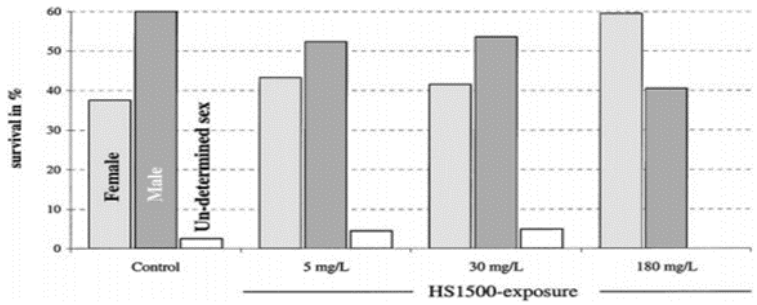
شکل ۴- ترکیبات گیاهان دارویی با خصوصیات استروژنی/آندروژنی که توانند جهت تغییر جنسیت انواع ماهی استفاده شوند.

هستند که توسط واکنش‌های شیمیایی و بیوشیمیایی در طی فرآیند تجزیه پوسیدن و جابجایی بقایای گیاهی و میکروبی تولید می‌شوند. به مجموعه این فرآیندها Humification گفته می‌شود (Steinberg *et al*., 2008). رنگ قهوه‌ای بقایای گیاهی در حال تجزیه، رنگ سیاه و قهوه‌ای خاک‌های سطحی و نیز طیف رنگی (قهوه‌ای متمایل به زرد تا سیاه) موجود در برگ‌های درختان در حال تجزیه و یا کمپوست ها، همگی مربوط به وجود همین مواد است، که بسته به درجه پیشرفت فرآیند تجزیه و غلظت این مواد رنگی نیز متفاوت خواهد بود. مواد هومیک ازنظر شیمیایی بسیار واکنش‌پذیر هستند اما نسبت به تجزیه زیستی مقاوم هستند. از دیگر فواید HS ها باید به کاهش زیست‌فراهمی فلزات سنگین و همچنین Xenobioticها و کاهش آلایندگی آن‌ها در پی فرآیند ادغام و واکنش با آن‌ها اشاره نمود. این مسئله خود باعث افزایش تولید زیستی در اکوسیستم‌های آبی خواهد شد (Meinelt *et al*., 2004). HS ها خود به سه بخش تقسیم می‌شوند: اسید هیومیک (HA)، اسید فولویک (FA) و هیومین (H). در بحث تغییر جنسیت ماهیان زینتی فقط دو مورد اول به دلیل محلول بودن در آب موردتوجه می‌باشند. با توجه به موارد اشاره‌شده در شکل ۵ می‌توان تا حدودی به تفاوت‌های بین خواص فیزیکی و شیمیایی بخش‌های مختلف HS ها و اهمیت این مواد پی برد (Meinelt *et al*., 2004).

در سال‌های اخیر در بسیاری از کشورها تمایل به استفاده از مواد هیومیکی در آبزی‌پروری به دلیل



شکل ۵- انواع مواد هیومیکی، تغییر رنگ هومیک از زرد روشن به سیاه، منجر به کاهش حلالیت و محتوای اکسیژنی آن‌ها و در مقابل افزایش وزن مولکولی و شدت پلی مریزاسیون ترکیبات می‌شود (Meinelt *et al*., 2004).



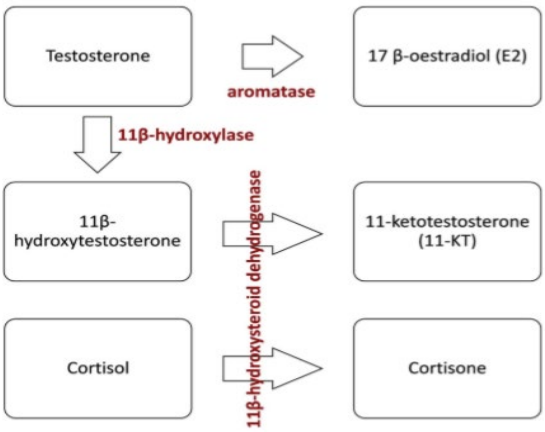
شکل ۶- تغییر جنسیت ماهی دم شمشیری در دوزهای مختلف مواد هومیکی (HS). ماهیان جوان به مدت ۲۱ هفته در معرض مواد هیومیکی با غلظت‌های ۰، ۵، ۳۰ و ۱۸۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند، در دوزهای بالا، نسبت ماهیان ماده در گله به طرز محسوسی افزایش یافت؛ درصدی از ماهیان با جنسیت نامشخص نیز در تیمارها مشاهده می‌شوند (Meinelt *et al*., 2004).

خواص شبه هورمونی آن‌ها رو به افزایش است (Lutz *et al*., 2005). در ایران، در چند سال اخیر، استفاده از مواد هیومیکی مصنوعی در بخش کشاورزی افزایش بسیار چشم‌گیری نسبت به سال‌های قبل داشته است، ولی تاکنون به سایر مزایای این مواد در بخش‌های مختلف کشاورزی و منابع طبیعی، از جمله آبزی‌پروری و محیط‌زیست توجه چندانی نشده است. اثرگذاری مواد هیومیکی بر موجودات به دلیل واکنش آن‌ها با یون‌هایی موجود در محیط آبی، محل زیست ماهی، خواهد بود. مواد هیومیکی پتانسیل رهاسازی رزورسینول (Resorcinol) را دارا هستند، چون جزئی از ساختار همه HS ها می‌باشد. ازآنجاکه این ماده به‌عنوان یک بازدارنده فعالیت آنزیم تیروئید پروکسیداز شناخته می‌شود، که می‌تواند بر سنتز هورمون تیروئید اثرگذار باشد (Tabata *et al*., 2018). در مطالعه اثرات HS بر تغییر جنسیت ماهی دم شمشیری، نتایج نشان داد که در دوزهای بالا، این ترکیبات می‌توانند منجر به افزایش درصد ماهیان ماده در گله شوند (شکل ۶).

یکی از اثرات منفی مواد هیومیکی بر ماهیان زنده‌زا ، افزایش تعداد ماهیان عقیم که ازنظر جنسی غیرقابل شناسایی هستند، بود. البته ازآنجاکه این افزایش معنی‌دار نبوده و همچنین به دلیل این‌که در حالت طبیعی نیز در ماهیانی همچون ماهی دم شمشیری، می‌توان شاهد این‌چنین مواردی بود، می‌توان از این موضوع چشم‌پوشی کرد.

استروئیدهای جنسی و کاربرد آن‌ها در تغییر جنسیت ماهی‌ها

از دهه‌ها پیش، نقش هورمون‌ها در عملکرد سیستم‌های مختلف بدن در مهره‌داران آشکارشده است. هورمون‌های جنسی نقش اساسی در تنظیم سیستم ایمنی بدن بر عهده دارند. در مراحل اولیه



شکل ۷- مسیر ساده شماتیک استروئیدزایی. تستوسترون توسط β-hydroxylase ۱۱ و ۱۱β-hydroxysteroid دهیدروژناز به ۱۱-ketotestosterone تبدیل می‌شود. ۱۱β-hydroxysteroid dehydrogenase، کورتیزول را به کورتیزون تبدیل می‌کند، همچنین آروماتاز، آنزیم کلیدی در تبدیل تستوسترون به β-oestradiol ۱۷ است (Abo-al-*et al*., 2018).

رشد بچه ماهیان، ژن‌های مسئول تعیین جنسیت و کروموزوم‌های جنسی از طریق تجویز هورمون‌های استروئیدی غدد جنسی را به سمت نر یا ماده سوق می‌دهند، هورمون‌ها دارای چرخه تبدیلی گسترده‌ای هستند و قابلیت این رادارند که در اثر آنزیم‌های مختلف به انواع دیگری تبدیل شوند (شکل ۷). اگرچه می‌توان چندین روش برای تولید جمعیت تک‌جنس (تمام نر-تمام ماده) استفاده کرد، اما روش مرسوم در حال حاضر، تغییر جنسیت هورمونی است. درمان هورمونی در اکثر موارد نتیجه بخش و خصوصاً در نر سازی تا ۱۰۰ درصد مؤثر است، علاوه بر این، استفاده از آن بسیار آسان است (شکل ۸).

ایجاد تغییر جنسیت در ماهیان به‌وسیله آستروئیدهای جنسی با منشأ خارجی، باید در زمان مناسب شروع شود. زمان شروع تیمار در وهله نخست به زمان تمایز ماهیان یعنی زمانی که در اثر عوامل درونی جنسیت طبیعی تحریک می‌شود، بستگی دارد. تنها راه تشخیص زمان شروع برای تجویز هورمون، آزمایش‌های بافت‌شناسی است. آزمایش‌های بافت شناسی نشان داده‌اند که تمایز جنسی در ماهیان مختلف در زمان‌های متفاوتی صورت می‌گیرد. در اکثر ماهیان تمایز جنسی بعد از تفریخ (قبل یا بعد از تغذیه) شروع می‌شود. بنابراین بسته به گونه ماهی، تجویز هورمون‌های استروئیدی به نوزادان یا بچه

شکل ۸-روش‌های مختلفی که در تولید جمعیت‌های تک‌جنس نر، در صنعت پرورش تیلاپیا مورداستفاده قرار می‌گیرد، دراین‌بین، تغییر جنسیت هورمونی، نقشی اساسی و فراگیر دارد (Abo-al-*et al*., 2018).

ماهیان تفریخ شده در زمان‌های متفاوتی انجام می‌گیرد (Ikhwanuddin *et al*., 2013). بررسی کاربرد هورمون‌ها برای تغییر جنسیت در ماهیان در ایران از اوایل دهه ۷۰ آغاز و نرسازی در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* با استفاده از هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون انجام گردید (Azari Takami *et al*., 1996).

جدول ۱- هورمون‌های آندروژنی استفاده شده جهت تغییر جنسیت در گونه‌های مختلف ماهیان، مطالعات خارج از ایران.

هورمون یا ترکیب	گونه	نام علمی	منبع
۱۷آلفا متیل تستوسترون	تیلاپیای نیل	*Oreochromis niloticus*	(Zanoni *et al*., 2013)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	قزل‌آلای رنگین‌کمان	*Oncorhynchus mykiss*	(Tabata *et al*., 2018)
۱۷آلفا متیل هیدروتستوسترون	کاد اقیانوس اطلس	*Gadusmorhua*	(Lin *et al*., 2012)

جدول ۲- هورمون‌های آندروژنی استفاده شده جهت تغییر جنسیت در گونه‌های مختلف ماهیان در ایران.

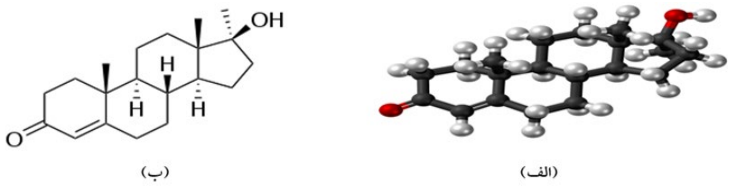
هورمون	گونه ماهی	نتایج	منبع
۱۷آلفا متیل تستوسترون	قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*	غلظت بهینه هورمون برای نرسازی ۰/۵ mg به مدت ۶۰ روز از زمان شروع تغذیه فعال	(Amini and Tala, 2003)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	گوپی *Poecilia reticulata*	ایجاد جمعیت تمام نر با تجویز ۲۰۰ mg هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۴۰ روز در بچه ماهیان یک‌روزه	(Hatefi, 1998)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	گوپی *Poecilia reticulata*	ایجاد ۶۱٪ جمعیت تمام نر با تجویز ۶۰ mg هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۳۰ روز در بچه ماهیان یک‌روزه	(Amini and Tala, 2003)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	سیچلاید گورخری *Amatitlania nigrofasciata*	ایجاد جمعیت تمام نر در غلظت ۱۰۰ mg و ایجاد تلفات و عقیمی در مقادیر بالا مانند ۳۰۰ mg	(Mousavi Sabet *et al*., 2010)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	مولی *Poecilia latipinna*	ایجاد جمعیت تمام نر با تجویز ۵۰۰ mg هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا اما درصد تلفات بالا	(Amini and Tala, 2003)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	سیچلاید بلوهاب *Sciaenochromis ahli*	ایجاد ۹۳٪ جمعیت تمام نر با تجویز ۶۰ mg هورمون به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۳۰ روز	(Alam Dost, 2006)
۱۷آلفا متیل تستوسترون	ماهی دم شمشیری *Xiphophorus helleri*	ایجاد جمعیت تمام نر و اثبات برگشت‌پذیری جنسیت در اثر قطع هورمون	(Maleki et al., 1993)

آندروژن‌ها و استروژن‌ها

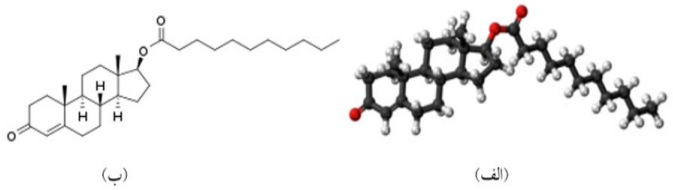
جهت نرسازی از هورمون‌های آندروژنی استفاده می‌شود. از آندروژن‌های طبیعی می‌توان به تستوسترون، ۱۱-کتو تستوسترون (11-Ketotestosterone)، ۱۱-بتاهیدروکسی آندرو استندیون (11β-Hydroxyandrostenedione) و آندرواستندیون (Androstendione) اشاره کرد (جدول‌های ۱ و ۲). اخیراً از ۱۱کتوتستوسترون برای نرسازی تیلاپیا استفاده شده است، اما مقادیر موردنیاز به‌قدری زیاد بود که استفاده از آن بسیار گران تمام شد. از آندروژنهای سنتتیک می‌توان از میبولرون (Mibolerone)، فلوکسی‌میسترون (Fluoxy-mesttrone)، تستوسترون استات (Testosterone acetate)، ۱۷-آلفا اتیلن تستوسترون، ۱۷- آلفامتیل تستوسترون یادکرد (Alam Dost, 2006).

به دلیل زیان‌بار بودن استفاده از هورمون‌های سنتتیک مانند متیل تستوسترون (شکل ۹) استفاده از هورمون جدید آندروژنی به دنبال جایگزینی هورمون مضر متیل تستوسترون، مطرح می‌گردد تا اطمینان حاصل شود که با استفاده از هورمون‌های جایگزین هم می‌توان جمعیت نر تغییر جنسیت یافته تولید کرد. هورمون آندروژنی جایگزین باید برای انسان ایمن باشد و در غلظت کم نیز مؤثر باشد تا هزینه و آلودگی محیطزیست را به حداقل برساند (۴۷). از جمله این ترکیبات، تستوسترون آندکانوات ($C_{30}H_{48}O_3$) با نام تجاری آندریول است (شکل ۱۰).

آندریول جزء فرآورده‌های خوراکی و منحصربه‌فرد تستوسترون است که حاوی ۴۰ میلی‌گرم تستوسترون آن دکانوات هست و در داخل کپسول به بازار عرضه می‌شود و جزء استروئیدهای خوراکی ایده‌آل تستوسترون محسوب می‌شود (شکل۱۰) داروی



شکل ۹- (الف) مدل از مولکول ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، یک استروئید آنابولیک و آندروژنی. (ب) ساختار شیمیایی ۱۷ آلفا متیل تستوسترون (Zitzmann, 2010).



شکل ۱۰- (الف) مدل از مولکول تستوسترون آن دکانوات، یک استروئید آنابولیک و آندروژنی. (ب) ساختار تستوسترون آندکانوات (Behre and Elliesen, 2007).

تستوسترون آندکانوات از طریق روده جذب‌شده و با کمترین آسیب کبدی مورداستفاده قرار می‌گیرد (Behre and Elliesen, 2007). این دارو برای درمان برخی از بیماری‌ها و شرایط مرتبط با سطح پایین تستوسترون (هیپوگنادیسم) استفاده می‌شود. مصرف آندریول تابع فاکتورهای مختلفی است که اثرات آن را کمی تغییر می‌دهد. مهم‌ترین فاکتور به‌سرعت آزاد شدن و واردشده آن به جریان خون بازمی‌گردد تا اثرات خود را در بدن نشان دهد. البته قدرت آنابولیکی آندریول نسبت به استرهای دیگر تستوسترون، پایین‌تر است. تستوسترون آندکانوات به‌عنوان یک روش جایگزین برای کسانی که سطح غیرطبیعی تستوسترون رادارند، در نظر گرفته‌شده است. استفاده از هورمون آندروژن تستوسترون آندکانوات در حداقل غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، منجر به ایجاد جمعیت تمام نر در پست لارو میگوی موزی *Fenneropenaeus merguiensis* شد (Ikhwanuddin *et al*., 2013).

جهت ماده‌سازی از هورمون‌های استروژنی استفاده می‌شود (جدول‌های ۳ و ۴). در بین استروژن هایی که تاکنون استفاده شده است ۱۷بتا استرادیول، استیل بسترول، استرون و استریول کارایی بهتری نشان دادند. ۱۷بتا استرادیول به دلیل دسترسی آسان و مزایای مختلفی که در امر تکثیر و پرورش دارد (مانند تحریک ساخت پروتئین زرده)، جهت تحریک ماده‌سازی مفیدتر است. تمامی استروژن‌ها معمولاً زمانی که در مقادیر مورد نیاز برای ماده‌سازی استفاده شوند، سبب کاهش رشد می‌شوند اما به‌محض این‌که دوره تجویز هورمون پایان یافت، این ماهیان دوباره به وضعیت عادی دست می‌یابند. هنگام استفاده از استروژن‌ها باید دقت کرد از مقدار پیشنهادی تجاوز نکند زیرا بر طبق مطالعات انجام‌شده بر روی آزادماهیان و کفشک ماهیان، استفاده از مقادیر بالای استروژن‌ها به دلیل ایجاد اختلال در کبد، منجر به تلفات می‌شود (Ghamati, 2011).

مزایای استفاده از استروئیدهای جنسی

تغذیه ماهیان با هورمون‌های نر کننده می‌تواند اثرات آنابولیک یا کاتابولیک داشته و یا هیچ اثری بر رشد بچه ماهیان بعد از اتمام تیمارها نداشته باشد. با وجود آن که غذای هورمون‌دار معمولاً تنها طی سه تا چهار هفته اولیه زندگی ماهیان مورداستفاده قرار می‌گیرد، غذادهی بچه ماهیان تیلاپیا با استفاده از جیره‌های دارای ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، سرعت رشد آن‌ها را تا اندازه ۲۰۰ گرم یا بیشتر تحت تأثیر قرار داد. نوع هورمون آندروژنی، مقدار هورمون و طول مدت تیمار و اثرات ژنتیکی، شدت اثرات آنابولیک و بروز یا عدم بروز آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (شکل ۱۱). مصرف‌کنندگان، خواهان غذایی هستند که در تولید

جدول ۳- هورمون‌های (استروژنی) استفاده شده جهت تغییر جنسیت در گونه‌های مختلف ماهیان، مطالعات خارج از ایران.

هورمون یا ترکیب	گونه	اسم علمی	منبع
۱۷-βاسترادیول	قزل‌آلای رنگین‌کمان	*Oncorhynchus mykiss*	(۲۲)
۱۷-βاسترادیول	هالیبوت	*Hippoglossus hippoglossus*	(Hendry *et al*., 2003)
۱۷αاتیلن استرادیول	تیلاپیا	*Oreochromis aureus*	(Melard, 1995)
۱۷-βاسترادیول	کاد سیاه	*Anoplapoma fimbria*	(Luckenbach *et al*., 2017)

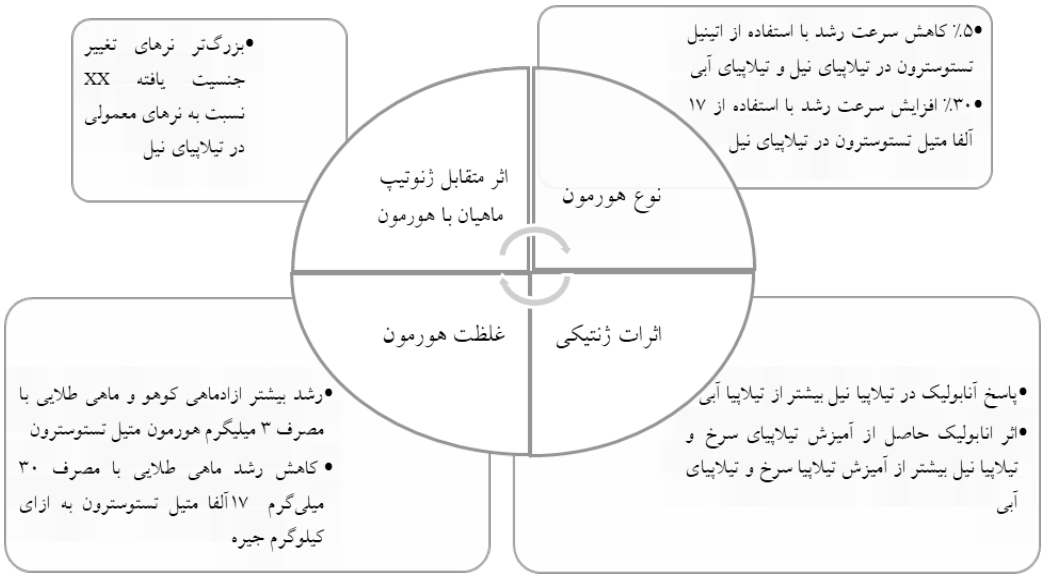
جدول ۴- هورمون‌های استروژنی استفاده شده جهت تغییر جنسیت در گونه‌های مختلف ماهیان در ایران.

هورمون	گونه	نتایج	منبع
۱۷بتا استرادیول والرات	قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*	ایجاد جمعیت تمام ماده با روش غوطه‌وری در ۳۰۰ µg/lit هورمون و اثبات رابطه مستقیم درصد ماده سازی با مدت‌زمان غوطه‌وری	Naji *et al*., 2008)

آن‌ها از سموم، کودها، هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک استفاده‌نشده باشد. در صورت استفاده از هورمون سنتتیک در مقادیر بالاتر از حد معمول یا به مدت طولانی، این هورمون می‌تواند منجر به بروز علائم خطرناکی شود. این هورمون‌ها همچنین می‌تواند منجر به ایجاد اختلال در سیستم درون‌ریز انسان، حیوانات اهلی و وحشی شود و نیز احتمال ایجاد بیماری مسمومیت کبدی نیز وجود دارد. تماس هورمون‌های سنتتیک با پوست می‌تواند سبب خارش و حساسیت‌های پوستی در انسان شود. بنابراین تماس مداوم کارگران جهت توزین هورمون، آماده‌سازی غذا، غذادهی ماهی می‌تواند خطرناک باشد (شکل ۱۲).

الف) ایجاد جنسیت‌های بینابینی: در برخی مطالعات مقاطع بافت‌شناسی غدد جنسی ماهیان پس از تجویز هورمون ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، چند مورد جنسیت بینابین مشاهده گردید. در بررسی فرحمند (۱۳۷۲) بر روی ماهی کپور معمولی، سلول‌های جنسی نر و ماده در غدد جنسی با جنسیت بینابینی در لابه‌لای یکدیگر مشاهده شدند. به نظر می‌رسد که ایجاد ماهیان با جنسیت بینابینی، احتمالاً به دلیل دریافت مقادیر ناکافی هورمون توسط ماهیان تحت تیمار باشد. زیرا در این ماهیان به دلیل عدم حضور مؤثر در رقابت غذایی و یا دریافت دانه‌های غذایی که به‌طور تصادفی حاوی مقادیر کمتری هورمون بوده‌اند و یا به دلیل تفاوت‌های موجود بین ماهیان ازنظر توانایی گیرنده‌های سلولی هورمون مذکور، تغییر جنسیت به‌طور کامل ایجاد نشده است (Farahmand, 1993).

ب) اثر بر محیط‌زیست و جوامع اکولوژیک: امروزه توجه بسیار زیادی به اثرات هورمون‌های استروئیدی آزادشده به محیط‌زیست از طریق فاضلاب می‌شود که این مواد می‌توانند بر موجودات غیر هدف تأثیر گذاشته و سبب تأثیرات ناخواسته در اثر استفاده کوتاه یا درازمدت شوند. آندروژن‌ها و استروژن‌ها به‌عنوان آلاینده‌های محیط‌زیست، به‌ویژه در اکوسیستم‌های زهکشی شده شناسایی شده‌اند (Ghamati, 2011). تأثیرات آندروژن‌ها در موارد منفی می‌توانند به گونه‌های غیر هدف گسترش یابند، از جمله مراحل اولیه زندگی ماهی که باعث سمیت سیتوژنتیک، ناهنجاری‌های جنینی و تأخیر در تفریخ می‌شود. ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، می‌تواند هماوری ماهی را در غلظت‌های اندک مختل کند. اگرچه این اثر می‌تواند از گونه‌ای به گونه دیگری متفاوت باشد. خروج هورمون‌های مصرف نشده از استخرها و ورود آن‌ها به محیط آبی و آلودگی محیط‌زیست و اثرات احتمالی آن‌ها بر ماهیان بومی، احتمال تجمع در رسوبات و آبزیان کفزی، از دلایلی است که استفاده از



شکل ۱۱- اثرات کاتابولیک و آنابولیک هورمون‌های آندروژنی (Dudakov *et al*., 2009).

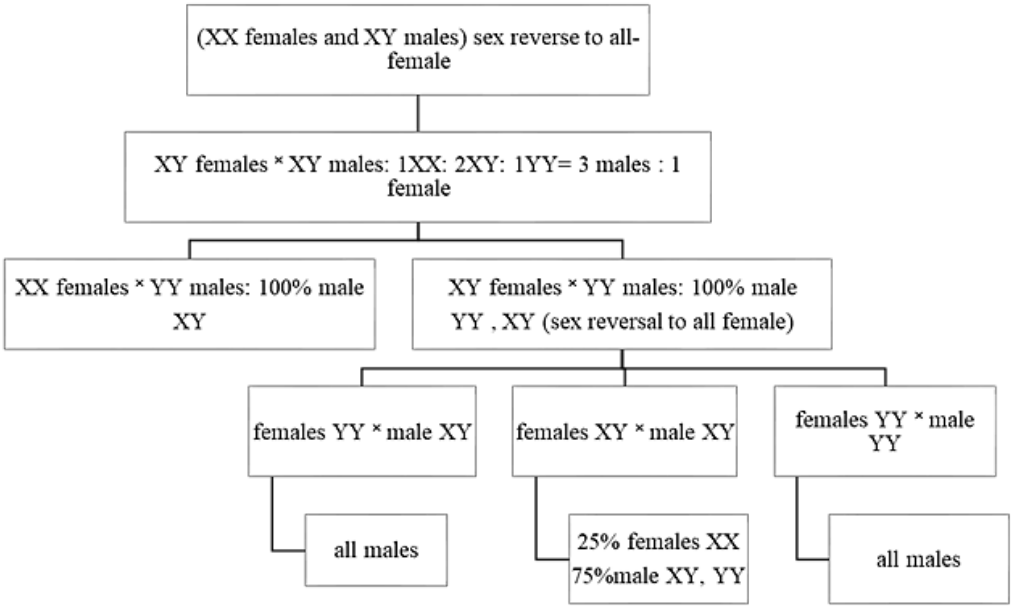
هورمون‌ها را خطرآفرین می‌کند (Abo-al-ela, 2018).

ج) اثرات منفی آندروژن‌ها و استروژن‌ها بر ایمنی و سایر ویژگی‌های فیزیولوژیک: در خصوص بحث ایمنی، هورمون‌های استروئیدی در تنظیم سیستم ایمنی بدن نقش اساسی دارند. هورمون‌های آندروژنی ممکن است به‌طور مثبت یا منفی بر سلامت و رشد تأثیر بگذارند. ۱۷ آلفا متیل تستوسترون، نوعی مختل‌کننده شدید غدد درون‌ریز است. علاوه بر این، باعث تخریب فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رونویسی ژن پس از قرار گرفتن در معرض ۱۷ آلفا متیل تستوسترون در تیلاپیای نیل می‌شود (Abo-al-ela, 2018).

به‌علاوه، گلبول‌های سفید ماهی آزاد کوهو *Oncorhynchus kisutch* که با تستوسترون، آندروژن‌های سنتتیک مانند ۱۷ آلفا متیل تستوسترون یا mibolerone انکوبه شده‌اند، کاهش قابل توجهی در سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی نشان داده‌اند. تستوسترون در دوزهای زیاد باعث سرکوب سیستم ایمنی بدن، از جمله لنفوسیت‌های T بدن، مانع تبدیل فیتوهموگلوتینین و پروتئین‌های خاص لنفوسیت‌های تحریک‌شده در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (Abo-al-ela *et al*., 2017).

درمان با تستوسترون یا Dihydrotestosterone پس از حذف بیضه منجر به جوان‌سازی مجدد تیموس و کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های T تیموس می‌شود. به‌طورکلی، این نتایج، تأثیر سرکوب‌کننده آندروژن در رشد تیموس و متعاقباً سلول‌های T را نشان می‌دهد. در شرایط آزمایشگاهی سلول‌های کبدی تیلاپیای نر یا ماده در اثر استفاده از Dihydrotestosterone به مدت ۴۸ ساعت به‌طور قابل‌توجهی انتشار پروتئین ویتلوژنین Vtg را افزایش داده است. علاوه بر این، قرار گرفتن کوتاه‌مدت در معرض ۱۷ آلفا متیل تستوسترون باعث تأخیر و یا مهار تفریخ در ۲۴ ساعت، ادم (ورم) قلب، ناهنجاری‌های ستون فقرات، ناهنجاری‌های چشمی در ۴۸ ساعت و کاهش سطح ویتلوژنین در گورخر ماهی *Danio rerio* تازه تفریخ شده می‌شود (Abo-al-ela, 2018).

فاگوسیتوز فرایندی است که سلول‌ها ذرات خارجی را شناسایی و آن‌ها را احاطه می‌کنند، که نقش مهمی را در دفاع ایمنی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا مهاجم ایفا می‌کند. تزریق 11-KT می‌تواند برخی از پارامترهای ایمنی، از جمله فاگوسیتوز را در



شکل ۱۲- موفق‌ترین برنامه تکثیر در تیلاپیا برای تولید گله تمام نر (Dudakov *et al*., 2009).

ماهی کپور، هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی سرکوب کند. همچنین، عملکرد گلبول‌های سفید خون با سطح پلاسمای آندروژن ارتباط منفی دارد و تستوسترون باعث کاهش قابل‌توجه گلبول‌های سفید و تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. درمان کوتاه‌مدت با متیل تستوسترون به‌طور قابل‌توجهی روند فاگوسیتوز را تحت‌فشار قرار می‌دهد، اما فعالیت لیزوزیم را در تیلاپیای نیل بالغ تحریک می‌کند (Abo-al-ela *et al*., 2017).

کبد یک عضو حیاتی است که در دفاع از بدن نقش دارد و در شرایط سالم و بیمار سیتوکین تولید می‌کند. آندروژن‌ها می‌توانند باعث ایجاد مسمومیت کبدی شوند. لارو تیلاپیای نیل که به مدت ۲۸ روز متوالی از طریق رژیم غذایی ۱۷ آلفا متیل تستوسترون تغذیه می‌شد، چندشکلی هسته‌ای خفیف سلول‌های کبدی و واکوئوله شدن متوسط تا نسبتاً شدید کبد را نشان داد. در ماهی آزاد *Salmo salar*، تزریق ۱۷ آلفا متیل تستوسترون باعث از بین رفتن کلیه و کبد می‌شود. تیمار طولانی‌مدت ۱۷ آلفا متیل تستوسترون تأثیر مضری بر کلیه‌ها و کبد بچه گربه‌ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* داشت که شامل ورم در گویچه‌های کلیوی ولوله‌های کوچک و افزایش وزن کبد است. غلظت زیاد ۱۷ آلفا متیل تستوسترون در رژیم غذایی ماهی طلایی *Carassius auratus auratus* باعث گسترش شبکه آندوپلاسمی زبر، تولید زیاد دانه ترشحی و هیپرتروفی دستگاه گلژی در کبد، ایجاد آدنوم‌های (ورم) کبدی، التهاب پلیوز و هایپرپلازی سلول‌های کبدی می‌شوند. ویتامین C قادر به حفظ و یا افزایش سایر عملکردهای سیستم ایمنی مانند فاگوسیتوز که به‌طور منفی تحت تأثیر متیل تستوسترون قرارگرفته‌اند. این نشان‌دهنده عملکرد قدرتمند ویتامین C به‌عنوان داروی تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن و آنتی‌اکسیدان است (Ghamati, 2011). به‌طورکلی با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه تجویز آندروژن‌ها اثر منفی بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی و اختلال عملکرد سیستم ایمنی مانند فاگوسیتوز، فعالیت لیزوزیم، فعالیت‌های سیستم کمپلمان و پراکسیداز دارد (Abo-al-ela, 2018).

در بسیاری از موارد، از استروژن‌ها در پرورش ماهی تک‌جنس استفاده می‌شود، مثلاً در تولید ماهی *Anguilliformes* و در مراحل اولیه تولید ابر نرهای YY، استرادیول یکی از ماده‌های ترجیحی استروژن در این مورد است. کمبود استروژن سبب

تحریک ماکروفاژها از طریق افزایش فاکتور نکروز توموری آلفا (Tumor necrosis factor) و اینترلوکین (IL1= Interleukin-I) می‌شود. تجویز هورمون‌های ماده، مانند استروژن یا پروژسترون سبب کاهش در تعداد لنفوسیت‌ها می‌شود. اثرات استروژن‌ها از طریق گیرنده‌های استروژنی ویژه گلبول‌های سفید که در سلول‌های ایمنی بدن مانند گلبول‌های سفید قرار دارند، منتقل‌شده و از این طریق مواد استروژنی می‌توانند در فرآیند واکنش ایمنی شرکت کنند (Naji *et al*., 2008). E_2 مانع تکثیر گلبول سفید قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط آزمایشگاهی شد. مواجهه کوتاه‌مدت با استرادیول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن ایمنی ذاتی در ماهی گورخری را تحریک کرد (Rodenas *et al*., 2016). مداکای ژاپنی به مدت ۲۸ روز در معرض E_2 -0.1) (10µg / L یک الگوی بیان متغیر از ژن‌های مرتبط با ایمنی را نشان داد که در آن اجزای سیستم کمپلمان (C3-1، C3-2، Bf/C2)، لیزوزیم و سرولوپلاسمین تنظیم کاهشی یافتند. علاوه بر این، سیستم‌های سم‌زدایی و آنتی‌اکسیدانی با درمان هورمونی تغییر می‌کنند. درمان از طریق رژیم غذایی EE_2 در باس دهان بزرگ *Micropterus salmoides* ماده، مجموعه‌ای از ژن‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و ایمنی را ایجاد کرد که باعث شد بیان mRNA گلوتاتیون S-ترانسفراز کبدی به میزان قابل‌توجهی افزایش یابد. درحالی‌که سطح mRNA گلوتاتیون پراکسیداز به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌یابد، که این نشان‌دهنده پاسخ اکسیداتیو در کبد بعد از درمان EE_2 بود. در گورخر ماهی، EE_2 به‌طور معنی‌داری غلظت ویتلوژنین Vtg را افزایش داد. علاوه بر این، فعالیت فاگوسیتوز گربه‌ماهی نوجوان در معرض ۱ نانوگرم در لیتر EE_2 پایین‌تر از گروه کنترل بود (Abo-al-ela, 2018).

تغییر جنسیت توأم با انجام آزمون نتاج و تکثیر انتخابی

تغییر جنسیت، همیشه بازدهی ۱۰۰ درصد ندارد و می‌تواند در مورد برخی از گونه‌ها دشوار یا غیرممکن باشد. علاوه بر این، فروش ماهیان تیمار شده با هورمون‌ها در برخی کشورها، نظیر کشورهای اتحادیه اروپا ممنوع است. یکی از روش‌های غلبه بر این مشکل‌ها، تلفیق روش تغییر جنسیت و تکثیر است. هنگامی‌که تغییر جنسیت با دست‌کاری‌های ژنتیکی همراه می‌شود، می‌توان جمعیت‌هایی تولید کرد که به‌طور طبیعی و ازنظر ژنتیکی، تک‌جنس هستند. از جنبه نظری این امر می‌تواند فرصت تولید جمعیت‌های تک‌جنس را به‌واسطه آمیزش افراد تغییر جنسیت یافته هموگامتیک و افراد هموگامتیک تیمار نشده، فراهم کند. برای مثال در تعدادی از گونه‌ها، نخستین مرحله تولید جمعیت تمام نر، تغییر جنسیت و تولید افراد YY است که اگر زنده و بارور باشند، می‌توان با آمیزش آن‌ها و ماده‌های XX، جمعیت‌های تمام نر (XY) را تولید نمود (Dudakov *et al*., 2009).

با استراتژی‌های تکثیر که در آن‌ها از تغییر جنسیت و تکثیر، آزمون نتاج، ماده زایی و نرزایی استفاده می‌شود، می‌توان جمعیت‌های تمام نر یا تمام ماده یا جمعیت‌هایی را تولید کرد که نزدیک به ۱۰۰ درصد افراد آن‌ها نر یا ماده بوده و دارای ژنوتیپ ماده (XX)یا ژنوتیپ ابرنر (YY) باشند. تغییر جنسیت و تکثیر در رابطه با تولید جمعیت‌های تمام ماده آزادماهیان مؤثر بوده است. پرورش ماهی ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان به دلیل بلوغ جنسی دیرهنگام نسبت به جنس نر، از اهمیت بیشتری برخوردار است. این نوع ماهی، گونه اصلی ماهی پرورشی در بسیاری از مزارع کشور است و ایران با تولید بیش از ۱۰۰ هزار تن، بزرگ‌ترین تولیدکننده این منبع غذایی آب شیرین در سطح جهان به شمار می‌رود. عمده تولید جهانی این‌گونه با تکیه برگله های تک جنسیتی تمام ماده استوار است. استفاده از روش غیرمستقیم ایجاد ماهیان تمام ماده می‌تواند مشکل بروز تلفات در روش مستقیم تولید جمعیت تمام ماده با استفاده از روش دست‌کاری‌های کروموزومی (ژینوژنز) را برطرف نماید.

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده دارای ژنوتیپ هموگامتیک XX هستند. جنسیت بچه ماهیان با تیمارهای متیل تستوسترون تغییریافته و نرهای تغییر جنسیت یافته XX به‌واسطه انجام آزمون نتاج شناسایی شدند. این ماهیان نر با ماده‌های معمولی XX آمیزش‌یافته و فرزندان تمام ماده تولد کردند.

یکی از موانع اولیه این فرآیند مربوط به مولدین نر XX است. مجاری اسپرم بر نرهای XX در طی فرآیند تغییر جنسیت به‌طور کامل تشکیل نشده و بسته می‌شوند. بااین‌حال، این ماهیان اسپرم تولید کرده و می‌توان اسپرم آن‌ها را با خارج کردن بیضه‌ها و فشردن آن‌ها استحصال نمود. کم کردن مقدار هورمون متیل تستوسترون مورد استفاده در تیمارها موجب باز شدن مجاری اسپرمی می‌شود، اما ضریب تغییر جنسیت را کاهش می‌دهد. وجود تیمارهای بهینه برای باز شدن مجاری اسپرم، بدون آنکه تغییر جنسیت کاهش پیدا کند، ضروری است.

تغییر جنسیت ماهیان ماده زاد، نظیر آنچه برای کپور معمولی و اخیراً کاراس طلایی *Carassius auratus* red var.، رخ داده است، کارایی این روش را برای تولید ماهیان نر از منشا تمام ماده، در طی یک نسل فراهم ساخته است. در این روش‌ها می‌توان از اسپرم گونه همسان یا ناهمسان از نظر ژنتیکی به عنوان مثال ماده زایی ماهی کپورمعمولی با اسپرم ماهی سیم پوزه‌کوتاه *Megalobrama amblycephala* یا ماده‌زایی ماهی کپور معمولی طلایی یا آینه‌ای به ترتیب با اسپرم کپور معمولی با رنگ طبیعی یا کپور فلس‌دار استفاده کرد. ماهیان ماده زاد حاصل را می‌توان از طریق فنوتیپی و یا الگوی ژنتیکی منحصر، از منظر نشانگرهای مولکولی نظیر ریزماهواره، تشخیص داد و آن‌ها را تحت تیمارهای هورمونی با ترکیبات آندروژنی نظیر متیل تستوسترون یا مهارکننده های آروماتاز قرارداد. ماهیان مذکور از گله تماماً ماده، مبتی بر ماده‌زایی، Gynogenesis حاصل شده و بعد از تغییر جنسیت، تبدیل به نرهای عملکردی می‌شوند. اخیراً کارایی تولیدمثلی نرهای مذکور در خصوص ماهی کاراس طلایی در مقایسه با ماهیان نر طبیعی همان گونه مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در ویژگی های فیزیولوژیک مرتبط با رسیدگی جنسی و کیفیت و کمیت اسپرم استحصالی بوده است (Hu *et al*., 2019)

موفق‌ترین برنامه تغییر جنسیت و تکثیر که بیشترین اثرات اقتصادی را در مورد تیلاپیا داشته است، تولید جمعیت‌های تمام نر XY تیلاپیای نیل با استفاده از نرهای YY بوده است. در ابتدا بچه ماهیان تحت تأثیر هورمون‌های مادگی مانند ۱۷ بتا استرادیول به افراد ماده تغییر جنسیت یافته و درنتیجه آن جمعیت ماده‌های XY و ماده‌های معمولی XX تولید می‌شود که در مورد آن‌ها نیز به‌واسطه آمیزش با نرهای XY، آزمون نتاج انجام می‌شود. در نتیجه آمیزش‌های XY×XY، ۷۵ درصد جمعیت فرزندان نر بوده (۲۵ درصد نر YY و ۵۰ درصد نر XY و۲۵ درصد آن‌ها را ماده‌های XX) تشکیل می‌دهند، که درنتیجه آن می‌توان ماده‌های XY را شناسایی کرد، فرزندان نر حاصل از این آمیزش برای انجام آزمون نتاج تا نسل دوم پرورش داده می‌شوند. هنگامی‌که نرهای YY با ماده‌های XX آمیزش داده می‌شوند، فرزندان تمام نر XYتولید می‌شوند، تکرار عملیات پرزحمت آزمون نتاج روش کارآمدی نیست، ازاین‌رو می‌توان از یک مرحله ژنتیکی دیگر برای ایجاد روش کارآمدتری استفاده کرد (شکل ۱؛۱۳).

آمیزش نرهای YY و ماده‌های XY نیز موجب تولید جمعیت تمام نری می‌شود که شامل هر دو ژنوتیپ XY و YY است، درصورتی‌که جنسیت این بچه ماهیان تغییر داده شود و یک زیرگروه از آن‌ها به ماده تبدیل شوند، ماده‌هایی با ژنوتیپ YY×XY تولید می‌شوند. در صورت آمیزش آن‌ها با نرهای XY معمولی با ماده‌های YY، فرزندان تمام نر و ماده‌های XY، فرزندانی را تولید می‌کنند که ۲۵ درصد آن‌ها ماده خواهند بود. در این مرحله، نرهای YY و

ماده‌های YY شناسایی می‌شوند. همه ماهیان انگشت قد تولید شده از آمیزش‌های YY×YY، نر بوده و دارای ژنوتیپ YY هستند که تولید انبوه نرهای YY را از نظر فنی امکان‌پذیر خواهد کند. جایگزین‌سازی ماده‌های YY نیز به‌آسانی با اعمال تیمارهای تغییر جنسیت در مورد گروهی از جمعیت بچه ماهیان YY و بدون نیاز به انجام سه نسل آزمون نتاج قابل انجام است (Dudakov *et al*., 2009). این سیستم تولید جمعیت تمام نر YY در مورد تیلاپیای نیل انجام‌شده و می‌تواند تولید تیلاپیا را تا ۵۰ درصد افزایش دهد. ژنوتیپ YY نر تیلاپیای نیل دارای باروری و بقای مشابه با نرهای XY معمولی هستند، بیشتر نرهای YY، اما نه همه آن‌ها، فرزندان تمام نر تولید می‌کنند، که این امر نشان‌دهنده وجود احتمالی سیستم تعیین جنسیت چندژنی در تیلاپیای نیل است. فرزندان تمام نر، XY، که به‌عنوان ماهیان تیلاپیای نر ژنتیکی معروف هستند، از نرهای YY تولیدشده و درحالی‌که حاضر تولید انبوه آن‌ها در مقیاس تجاری انجام می‌شود. روش تولید نرهای YY راه حل قابل اطمینانی برای برطرف کردن مشکل بلوغ جنسی زودرس، تکثیر ناخواسته و ازدحام بیش‌ازحد ماهیان در محیط‌های پرورش تیلاپیا، ایجاد می‌کند. بااین‌حال، این روش برای دستیابی به مولدین نر یا ماده YY، مدت زمان زیادی طول می‌کشد و فرزندان جدید باید ازنظر تئوری تمام نر و بدون هیچ‌گونه تیمار اضافی باشند (Abo-al-ela, 2018).

ترکیبات آنزیمی، مهارکننده آروماتاز

آروماتاز یکی از آنزیم های موثر در عمدتاً در لایه های فولیکولی تخمک است که با تحریک واکنش‌های بیوشیمیایی آندروژن‌های ۱۹ کربنی را به استروژن ۱۸ کربنی تبدیل می‌نماید. آروماتاز، آندروستون‌دیون را به استرون و تستوسترون را به استرادیول تبدیل می‌کند و فعالیت آن در بافت‌های مختلف، متفاوت است. مهار آروماتیزه شدن آندروژن به استروژن باعث کاهش استروژن در بافت مورد نظر می‌شود، بنابراین می‌تواند منجر به آزاد شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز از فیدبک منفی استروژن و افزایش ترشح FSH که نتیجه آن رشد فولیکول‌های تخمدانی است، رخ می‌دهد، به نظر می‌رسد آروماتاز یک آنزیم حیاتی در تکوین اولیه گنادی در ماهیان به لحاظ تبدیل بافت Ovotestis به تخمدان با Ovary باشد. تحقیقات اخیر نشان داده است با استفاده از ترکیبات مهارکننده آروماتاز، نظیر مهارکننده‌های غیر استروئیدی فادرازول یا لتروزول، بتوان از فعالیت آروماتاز و در نتیجه تولید استرادیول جلوگیری کرد، فرایندی که منجر به تجمع تستوسترون در بافت گناد ابتدایی و در نهایت تبدیل آن به بیضه خواهد شد (Liao *et al*., 2014). کارایی مناسب ترکیبات غیراستروئیدی و مهارکننده آروماتاز در تغییر جنسیت گونه های مختلف ماهیان نظیر تیلاپیای نیل (Waffa *et al*., 2011) هالیبوت اطلس *Hippoplossus hippoglossus* (Babiak *et al*., 2012) مداکا (Liao *et al*., 2014)، مورد اشاره قرار گرفته است. در اغلب موارد کارایی ترکیبات مهارکننده آروماتاز در مراحل اولیه تکوین گنادی در نرسازی ماهیان مشابه و یا حتی مطلوب تر از ترکیبات استروییدی نظیر متیل تستوسترون بود. استفاده از این ترکیبات نوید بخش آینده روشن برای نرسازی در گونه‌های مختلف ماهیان با استفاده از ترکیبات غیر استروئیدی و نسبتاً ارزان قیمت است.

دیدگاه‌های آتی و دورنمای آینده

روش‌های تغییر جنسیت که در حال حاضر در کشورهای مختلف و از جمله کشور ایران، درزمینه آبزیان در حال استفاده است بسیار پرهزینه، با کار آیی پایین و گاهی مواقع خطرناک هستند. هورمون‌های سنتتیک آندروژنی و استروژنی در این بین نقش اساسی دارند و به به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرند. این هورمون‌ها می‌توانند سیستم‌های مختلف بدن آبزی، انسان و سایر موجودات در اکوسیستم را به‌عنوان گونه‌های غیر هدف، تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین توجه به روش‌های جایگزین، نظیر استفاده از ترکیبات گیاهی

همانند عصاره گیاهان دارویی، ترکیبات هومیکی یا حتی تیمارهای الکتریکی و حرارتی در میان مورد توجه قرار گرفته‌اند که به نظر تاکنون فاقد کارایی لازم در مقیاس تجاری هستند. به نظر می‌رسد در حال حاضر استفاده از هورمون‌های استروییدی به‌عنوان بخش غیرقابل انکار از فرایند تغییر جنسیت در آبزیان باید پذیرفته شود. به‌منظور کاهش اثرات منفی این ترکیبات، به کارگیری موارد زیر می تواند مفید باشد:

- افزودن ویتامین C، به‌منظور رفع اثرات نامطلوب هورمون‌های استروییدی در آبزیان
- استفاده از شوک الکتریکی برای کاهش زمان و میزان مصرف هورمون
- استفاده از هورمون آندروژنی جایگزین مانند تستوسترون آندکانوات، مؤثر در غلظت کم و ایمن برای انسان، به‌منظور کاهش هزینه‌ها و احتمال آلودگی محیط‌زیست
- توسعه روش‌های مبتنی بر تغییر جنسیت و تکثیر، به‌منظور محدودسازی استفاده از هورمون‌ها در چند نسل آغازین، عدم مصرف هورمون بر ماهیان عرضه‌شده به بازار و محدود ساختن مصرف هورمون در مراکز محدود در سطح کشور. این امر خود نیازمند آگاهی از سیستم‌های تعیین جنسیت، زمان تمایز جنسی و ترجیح بازار مصرف نسبت به جنسیت تولیدی خواهد بود.

منابع

Abo-al-ela, H.G. 2018. Hormones and fish monosex farming: A spotlight on immunity. *Fish and Shellfish Immunology* 72, 23-30.

Abo-Al-Ela, H.G.; El-Nahas, A.F.; Mahmoud, S., Ibrahim, E.M. 2017. Vitamin C modulates the immunotoxic effect of 17 - methyltestosterone in Nile tilapia. *Biochemistry* 56(14), 2042–2050.

Alam Dost, A. 2006. Ability of masculinization of *Sciaenochromis ahli* using 17-alpha alpha methyl testosterone. Master Thesis, University of Tehran, Faculty of Natural Resources (In Farsi).

Amini, F., Tala, M. 2003. Optimization of oral administration of 17 alpha methyltestosterone hormone for Masculinization and infertility in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. 58(3): 235-240 (In Farsi).

Azari Takami, Q., Amini, F., Farahmand, J. 1996. A study of sex reversal and infertility in common carp Cyprinus carpio using 17 alpha-methyl testosterone. *Iranian Journal of Natural Resources*, 49, 3-15. (In Farsi)

Babiak, J., Babiak, I., van Nes, S., Harboe, T., Haugen, T., Norberg, B. 2012. Induced sex reversal using an aromatase inhibitor, Fadrozole, in Atlantic halibut Hippoglossus hippoglossus L. *Aquaculture*, 324, 276-280.

Behre, H.M., Elliesen, J. 2007. 343 Safety and efficacy of intramuscular injections of 1000 mg testosterone undecanoate: A prospective multicenter study in hypogonadal men under conditions resembling real-life situations. *European Urology Supplements* 6(2), 108-112.

Bunthawin, S., Sornsilpa, T., Tuantranont, A., Jaruwongrungsee, K., Ritchie, R.J. 2015. Monosex-Male Sex Reversal of Nile Tilapia Eggs Using Pulse-Electric Field Inductions. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience* 12(5), 724-728.

Chakraborty, S.B., Hancz, C. 2011. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture* 3(3), 103-119.

Dudakov, J.A., Goldberg, G.L., Reiseger, J.J., Vlahos, K., Chidgey, A.P., Boyd, R.L. 2009. Sex steroid ablation enhances hematopoietic recovery following cytotoxic antineoplastic therapy in aged mice. *The Journal of Immunology* 183(11), 7084-7094.

Dunham, R.A. 2011. Aquaculture and fisheries biotechnology: genetic approaches, Cabi.

Ebrahimzadeh, M., Darafshan, S. 2011. Biology of fish reproduction. Isfahan University of Technology. Isfahan (In Farsi).

Farahmand, H. 1993. Sex reversal in the common carp cyprinus carpio by the hormone 17 alpha-methyl testosterone. Master Thesis in Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran. 101 (In Farsi).

aquaculture. Cairo, Egypt. pp. 1129-1134.
Johnstone, R., Simpson, T.H., Youngson, A.F. 1978. Sex reversal in salmonid culture. *Aquaculture* 13(2), 115-134.
Kimble, R.B., Srivastava, S., Ross, F.P., Matayoshi, A., Pacifici, R. 1996. Estrogen deficiency increases the ability of stromal cells to support murine osteoclastogenesis via an interleukin-1and tumor necrosis factor-mediated stimulation of macrophage colony-stimulating factor production. *Journal of Biological Chemistry* 271(46), 28890-28897.
Lee, E.-Y., Park, H.-H., Kim, Y.-T., Chung, J.-K., Choi, T.-J. 2001. Cloning and sequence analysis of the interleukin-8 gene from flounder *Paralichthys olivaceous*. *Gene* 274(1-2), 237-243.
Liao, P.-H., Chu, S.-H., Tu, T.-Y., Wang, X.-H., Lin, A.Y.-C., Chen, P.-J. 2014. Persistent endocrine disruption effects in medaka fish with early life-stage exposure to a triazole-containing aromatase inhibitor (letrozole). *Journal of Hazardous Materials* 277:141-149.
Lin, S., Benfey, T.J., Martin-Robichaud, D.J. 2012. Hormonal sex reversal in Atlantic cod, Gadus morhua. *Aquaculture* 364, 192-197.
Luckenbach, J.A., Fairgrieve, W.T., Hayman, E.S. 2017. Establishment of monosex female production of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) through direct and indirect sex control. *Aquaculture* 479, 285-296.
Lutz, I., Jie, Z., Opitz, R., Kloas, W., Ying, X., Menzel, R., Steinberg, C.E.W. 2005. Environmental signals: synthetic humic substances act as xeno-estrogen and affect the thyroid system of *Xenopus laevis*. *Chemosphere* 61(8),1183-1188.
Maleki, H., Mahboubi Sufiani, N., Asadaleh, S., 1993. The effect of 17 alpha-methyltestosterone on sex reversal of *Xiphophorus hellerii*. *Research in Marine Science and Technology* 5, 20-29 (In Farsi).
Mcbride, J.R., Overbeeke, A.P. van 1971. Effects of androgens, estrogens, and cortisol on the skin, stomach, liver, pancreas, and kidney in gonadectomized adult sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 28(4), 485-490.
Meinelt, T., Schreckenbach, K., Knopf, K., Wienke, A., Stüber, A., Steinberg, C.E.W.
Ghamati, N. 2011. Effect of Tribulus terrestris and 17-alpha Methyltestosterone on growth performance and masculinization of rainbow trout Oncorhynchus mykiss. A thesis submitted for Master of science, Isfahan University of Technology (In Farsi).
Hatefi, M. 1998. Gender reversal in Poecilia reticulata using methyl testosterone and ethinyl estradiol. Master Thesis. Islamic Azad University, Lahijan Branch. Iran (In Farsi).
Hendry, C.I.; Martin-Robichaud, D.J. and Benfey, T.J. 2003. Hormonal sex reversal of Atlantic halibut Hippoglossus hippoglossus L. *Aquaculture* 219(1-4), 769-781.
Hori, S.H., Kodama, T., Tanahashi, K. 1979. Induction of vitellogenin synthesis in goldfish by massive doses of androgens. *General and Comparative Endocrinology* 37(3), 306-320.
Hosseinzadeh Sahafi, H., Ashja Ardalan, A., Seifi, J. 2013. The effect of 17 alpha methyl testosterone on sex reversal of Labeotropheous foellobroni. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 22(1), 27-36 (In Farsi).
Hu, F., Fana, J., Luoa, K., Zhoua, Y., Wua, Ch., Luoa, L., Wang, S., Taoa, M., Zhang C., Chen, B., Mab, M., Liu, Sh. 2019. Comparative analyses of reproductive characteristics of functional sex reversal male gynogenetic red crucian carp and ordinary male red crucian carp. *Aquaculture* 511, 634199.
Ikhwanuddin, M., Khairul Hafiz, A.R., Hafiz, M.B., Hidayah, M., Noor-Hidayati, A.B., Abol-Munafi, A.B. 2013. Effect of androgen hormone, testosterone undecanoate on the banana shrimp, fenneropenaeus merguiensis (De Man, 1888) postlarvae. *World Applied Sciences Journal* 28(8),1154-1160.
Iwanowicz, L.R., Stafford, J.L., Patino, R., Bengten, E., Miller, N.W., Blazer, V.S. 2014. Channel catfish Ictalurus punctatus leukocytes express estrogen receptor isoforms ER and ER 2 and are functionally modulated by estrogens. *Fish & Shellfish Immunology* 40(1), 109-119.
Jegede, T., Fagbenro, O. 2008. Histology of gonads in Tilapia zillii (Gervais) fed Neem Azadirachta indica leaf meal diets. In: 8th International symposium on tilapia

estradiol and nonylphenol on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* peripheral blood leukocytes. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Toxicology & Pharmacology* 155(3), 440-446.

Steinberg, C.E.W., Meinelt, T., Timofeyev, M.A., Bittner, M., Menzel, R. 2008. Humic substances. *Environmental Science and Pollution Research* 15(2), 128.

Tabata, Y.A., Rigolino, M.G., Tsukamoto, R.Y. 2018. Produaco de lotes monosexos femininos triploides de truta arco-iris, *Oncorhynchus mykiss* (Pisces,Salmonidae). III-Crescimento ate idade de primeira maturacao sexual. *Boletim do Instituto de Pesca* 25, 67-76.

Turan, F., Cek, S. 2007. Masculinization of African catfish *Clarias gariepinus* treated with gokshura *Tribulus terrestri*s. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 59, 20-28.

Wafaa, E., Nahla, R., Ellatif Mohamed, A., Ahmed, T., Nasser, Kh. 2011. Effects of nonsteriodal aromatase inhibitor in sex reversal of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Nature and Science* 9(12), 145-150.

Zanoni, M.A., Leal, T.V., Caetano Filho, M., de Oliveira, C.A.L., Ribeiro, R.P. 2013. Inversao sexual de alevinos de tilapias do Nilo *Oreochromis niloticus* variedade Supreme, submetidos a diferentes temperaturas durante fase de diferenciacao sexual. Semina: *Ciencias Agrarias* 34(1), 455-465.

Zhang, L., Khan, I.A., Foran, C.M. 2002. Characterization of the estrogenic response to genistein in Japanese medaka Oryzias *latipes*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Toxicology & Pharmacology* 132(2), 203-211.

Zitzmann, M. 2010. Testosterone deficiency and treatment in older men: definition, treatment, pitfalls. *Asian Journal of Andrology* 12(5), 623-629.

2004. Humic substances affect physiological condition and sex ratio of swordtail *Xiphophorus helleri Heckel* 66, 239-245.

Melard, C. 1995. Production of a high percentage of male offspring with 17 - ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F_2 pseudofemales. *Aquaculture* 130(1), 25-34.

Mousavi Sabet, S.H., Earth, A.A., Vahabzadeh Rudsari, H., Moradkhani, Z. 2010. Masculinization in zebrafish *Cichlasoma nigrofasciatum* using dietary hormone 17α-Methyltestosterone and its effect on mortality, infertility and interstitial sex. *Research in the Journal of Marine Science and Technology* 5(3), 1-7 (In Farsi).

Naji, T., Spiritual Savior, P., Shirinabadi, M., 2008. The effects of 17-beta estradiol valerate on gonadal differentiation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss. Environmental Science and Technology* 10(2), 105-112 (In Farsi).

Omole, I.A. 2017. Biotechnology as an Important Tool for Improving Fish Productivity. *American Journal of Bioscience and Bioengineering* 5(1),17-22.

Park, I.-S., Kim, J.-H., Cho, S.H., Kim, D.S. 2004. Sex differentiation and hormonal sex reversal in the bagrid catfish *Pseudobagrus fulvidraco* (Richardson). *Aquaculture* 232(1-4), 183-193.

Phelps, R.P., Popma, T.J. 2000. Sex Reversal of Tilapia. *Tilapia Aquaculture in the Americas* 26, 34-59.

Rahman, M.A., Lee, S.G., Yusoff, F.M., Rafiquzzaman, S.M. 2018. Hybridization and Its Application in Aquaculture. *Sex Control in Aquaculture* 163-178.

Rodenas, M.C., Cabas, I., Garcia-Alcazar, A., Meseguer, J., Mulero, V., Garcia-Ayala, A. 2016. Selective estrogen receptor modulators differentially alter the immune response of gilthead seabream juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 52, 189-197.

Semeniuk, C.A.D., Capelle, P.M., Dender, M.G.E., Devlin, R., Dixon, B., Drown, J., Heath, J., Hepburn, R., Higgs, D.M., Janisse, K. 2019. Domestic-wild hybridization to improve aquaculture performance in Chinook salmon. *Aquaculture* 511, 734255.

Shelley, L.K., Ross, P.S., Kennedy, C.J. 2012. The effects of an in vitro exposure to 17 -

Review Article

Monosex fish production in aquaculture, methods, benefits, limitation and future aspects

Fatemeh Paykan Heyrati*, Sara Saghavi, Amin Mokhlesabady Farahany, Salar Darafshan

Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, 8415683111, Iran.

*Corresponding author: fheyrati@iut.ac.ir

Received: 2021/4/6 Accepted: 2021/8/6

Abstract

In some cases, sexual maturation and reproduction show significant adverse effects on production trend so, monosex production has a key role in fish aquaculture. Respecting economic importance of sexual dimorphisms in growth rate, focusing on the sex with greater size and higher growth rate is necessary. Sexual separation, interspecific hybridization, thermal or electrical treatments, hormonal manipulation using synthetic steroids or using medicinal or humic compounds are within the main methods for monosex fish production. Among them, hormonal sex changes is one of the most efficient biotechnological methods, which cause some changes in normal hormonal sex differentiation in fish. Using synthetic sex steroids at higher than recommended dose or longer duration can cause significant adverse effects on fish such as sterility, negative feedback on immune and some endocrine gland and liver functions. In this manuscript, the benefits and production methods of monosex fish followed by sex determination mechanisms and systems in fish are summarized. Then some new environmental friendly methods such as using safer sex steroids, electrical shocks and/or medicinal plant compounds for fish sex changes are fully described. Finally the limitation of current knowledge regarding production of monosex fish are mentioned.

Keywords: Aquaculture, Biotechnology, Monosex culture, Immune function, Dimorphisms in growth rate.