معرفی روشی جدید جهت مقایسه ی فاکتورهای رنگی و استفاده از آن جهت بررسی تاثیر هورمون متیل تستوسترون بر الگوی رنگی در ماهی نر گوپی (*Poecilia reticulate*)

محمد حسین ابراهیمی،[۱] فاطمه عباسی[۲]

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۸
تاریخ تصویب: ۸۹/۱۰/۶

چکیده

رنگ پوست در ماهیان از نظر فیزیولوژیکی، رفتاری و اکولوژیکی دارای اهمیت بوده و می تواند به عنوان شاخصی از آرامش ماهی در زمان پرورش و همچنین به عنوان یک فاکتور کیفی مهم در زمان فروش در نظر گرفته شود. در این مطالعه اثر دوزهای مختلف هورمون متیل تستوسترون تجاری (۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا) بر خصوصیات سه بعدی ظاهری رنگ (روشنایی (L^*)، ته رنگ (H^o_{ab}) و کروما (C^*_{ab})) و شاخص کلی رنگ (ECI) این ماهی مورد بررسی قرار گرفت. جهت آنالیز داده ها بعلت ماهیت آنها از آزمون های مربوط به توزیع دایره ای استفاده گردید. در تمام سطوح مختلف هورمون بجز دوز ۱۰۰۰، میزان روشنایی پوست ناحیه باله دمی بطور معنی داری بیشتر از ناحیه تنه ماهی گوپی بود. همچنین میزان روشنایی ناحیه تنه با افزایش دوز هورمون کاهش و سپس در بالاترین دوز افزایش معنی دار نشان داد. به طور کلی، با افزایش دوز هورمونی افزایش تمایل به ته رنگ قرمز در هر دو ناحیه ی باله ی دمی و قسمت جانبی بدن قابل مشاهده بود. ضمن آنکه در تمامی دوزهای مورد بررسی بین ناحیه ی تنه و دم از نظر میزان ته رنگ

۱. کارشناس ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان eh.ebrahimi64@gmail .com
۲. دکتری بیولوژی دریا. گروه زیست شناسی دانشگاه الزهرا

اختلاف دیده شد. به طور کلی می توان اینگونه نتیجه گرفت که با افزودن میزان هورمون بر مقدار رنگدانه های قرمز و در نتیجه میزان جذابیت جنسی ماهیان افزوده شده، ضمن آنکه این تغییرات رنگی بر جذابیت ماهیان جهت فروش نیز می تواند تاثیر گذار باشد.

واژه های کلیدی: *ماهی گوپی، الگوی رنگی، متیل تستوسترون*

مقدمه

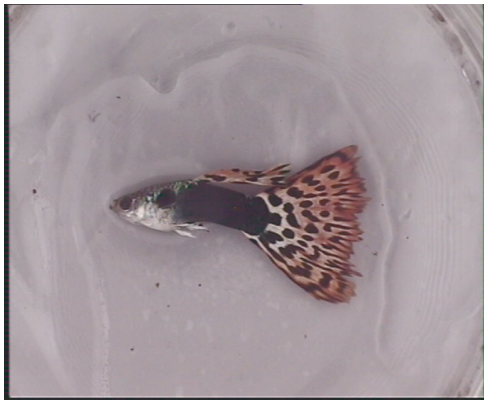
ماهیان الگوهای رنگ آمیزی بسیاری را از خود نشان می دهند که اهمیت اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و رفتاری بسیاری را دارا می باشد. ماهی گوپی از خانواده *Poecilidae*، یکی از ماهیان محبوب در بین ماهیان زینتی در سطح جهان می باشد. میزان جذابیت و رفتار ماهی نر در انتخاب آن به عنوان جفت موثر است، ماهیان ماده گوپی در انتخاب جفت قبل از جفت گیری، نرهای نسبتا رنگارنگ با جذابیت بالا را ترجیح می دهند (Endler, 1983; Rodric-Brown, 1985; Houde, 1987; Pilastro et al., 2002; Houde and Endler, 1990). به خصوص ناحیه ی با رنگ آمیزی کاروتنوئید (نارنجی، قرمز و زرد) انتخاب های جنسی ماده را تحت تاثیر قرار می دهد (Endler and Houde, 1995; Houde, 1987; Evans et al., 2004). بسیاری از این ویژگی ها به عنوان ویژگی های ثانویه جنسی مطرح بوده و تحت تاثیر میـزان هـورمون های داخلی و سیستم درون ریـز می باشند. مشخص گردیده است که رنگ آمیزی سطح بدن ماهی گوپی نر (Lopez, 1998; Pandy, 1969)، و توسعه گونوپودیوم در نرهای جوان (Pandy, 1969; Hopper, 1965)، به وسیله آندروژن های گنادی کنترل می گردد. (Bayley et al.) در سال ۲۰۰۲، شاخص گونوپودیوم و میزان رنگ نارنجی نسبت به سطح بدن را به عنوان خصوصیات ثانویه و تحت تاثیر اندروژن ها در ماهی گوپی، اندازه گیری و بررسی کرد. همچنین در مطالعات (Nielsen and Baatrup) در سال ۲۰۰۶ و (Houde) در سال ۱۹۸۷ نیز رنگ نارنجی وچند مولفه دیگر به عنوان شاخص ویژگی های ثانویه و عوامل تعیین کننده در موفقیت جفت گیری مورد سنجش قرار گرفته است. به علاوه نرهای جذاب از نظر فنوتیپی میزان بیشتر اسپرم (Matthews et al. 1997; Pilastro and Bisazza, 1999; Pitcher and Evans, 2001)، اسپرم های سریع تر و زیستاتر (Locatello et al., 2006)، و اسپرم بیشتری را نسبت به هم جنس های با جذابیت کم تر تولید می کنند (Pilastro et al, 2002). درسال ۱۹۹۱ (Nicoletto) نیز رنگ نارنجی جانبی را با بنیه، نرخ متابولیکی و استقامت ماهیان نر دارای ارتباط دانسته و آن را عاملی جهت ترجیح ماده معرفی نمود.

(Devasurend et al.) در سال ۲۰۰۷، با استفاده از غلظت ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا از یک آنالوگ آندروژنی در این ماهی، تفاوت رنگی را گزارش نمود. ضمن آنکه متیل تستوسترون جهت نرسازی در ماهی گوپی ماده مورد استفاده قرار گرفته است (Turan et al., 2006). در ۱۹۹۵ (Pandian and Sheela) مقدار مورد نیاز از ۱۷α- متیل تستوسترون را برای ایجاد نرزایی به طور کامل، ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره عنوان کردند.

با توجه به نقش خصوصیات ثانویه جنسی نر در انتخاب ماده ها در جفت گیری و رابطه مثبت افزایش رنگ آمیزی در افزایش بازارپسندی، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر مقادیر مختلف هورمون متیل تستوسترون تجاری بر الگوی رنگی ماهی تزئینی گوپی (*P. reticulate*) بود.

مواد و روش ها

این آزمایش بمنظور بررسی تاثیر سطوح مختلف هورمون متیل تستوسترون (۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا) بر الگوی رنگی ماهیان نر بالغ گوپی در دانشگاه گرگان در سال ۱۳۸۷ انجام شد. در ضمن برای هر تیمار (دوز هورمونی) ۶ عدد ماهی نر بعنوان تکرار (تقسیم شده در سه تانک) در نظر گرفته شد. در مطالعه از قرص های متیل تستوسترون تجاری (حاوی ۲۵ میلی گرم ماده ی موثره) ساخت شرکت داروسازی ابوریحان استفاده شد که پس از محاسبه میزان ماده ی موثره، به صورت پودر در آمده و با غذای آنها مخلوط گردید و به مدت ۴۵ روز به ماهیان داده شد. جهت تغذیه از غذای بیومار فرانسه با اندازه ۰/۸ میلی متر و دو نوبت در روز، استفاده شد. آنالیز غذایی این غذای تجاری به شکل پروتئین: ۵۶٪، چربی: ۱۸٪، فیبر: ۰/۴٪، خاکستر: ۱۰/۵٪، رطوبت و سایر مواد تشکیل دهنده: ۱۵/۱٪ بود. جهت حفظ کیفیت آب، یک دوم آب آکواریوم هر سه روز یکبار تعویض می گردید. در هر آکواریوم جهت هوادهی از پمپ و یک عدد سنگ هوا استفاده گردید و غذادهی در دو نوبت صبح و بعد از ظهر انجام می گرفت. سنجش پارامترهای کیفی آب به دفعات در طی آزمایش انجام گرفت. در انتهای آزمایش از هر ماهی گوپی در دو ناحیه (ناحیه جانبی بدن فاقد سر و باله ها و ناحیه باله دمی) سنجش رنگ صورت گرفت.



شکل ۱. ماهی نر گوپی مورد استفاده در این آزمون که تحت تاثیر هورمون قرار گرفته و جهت سنجش رنگ پس از بیهوشی، در آب فیکس شده و آماده ی عکسبرداری است.

جهت سنجش میزان رنگ، پس از آماده سازی ماهیان (شکل۱)، از دستگاه رنگ سنج Colour and Appearance Measurement System. ، ساخت انگلستان با دوربین (Camera system

(CAM- System 500) استفاده شد که بر اساس سیستم پیشنهاد شده به وسیله ی (The International Commission on Illumination (CIE)) سه مولفه اصلی L^*، a^* و b^* را به دست می داد که به ترتیب از ۱۰۰+ تا ۰- یعنی از سیاه تا سفید خالص، ۱۰۰+ تا ۱۰۰- جهت میزان سبزی تا قرمزی که صفر هم نشانه خاکستری است، و ۱۰۰+ تا ۱۰۰- برای رنگ های آبی تا زردی و صفر نیز نشانه ی خاکستری بود. قبل از اندازه گیری، دستگاه به کمک کاشی ۲۴ خانه ای که جهت کالیبره شدن دستگاه طراحی شده بود، به صورت اتوماتیک کالیبره گشت.

با توجه به CIE(1978) رنگ یک ویژگی سه بعدی است که از یک جزء روشنایی (L^*) و دو جزء رنگی با نام های کروما و ته رنگ تشکیل شده است، رنگ ها می توانند به وسیله ی اختصاصات این سه مولفه از یکدیگر تشخیص داده شوند. ته رنگ[1] (H) طول موج غالب می باشد و به صورت زاویه ی h°_{ab} ته رنگ در صفحه ی a^*-b^* نمایش داده می شود که به صورت پاد ساعت گرد در حول محور خود افزایش می یابد که 0° قرمز، 90° زرد، 180° سبز و 270° آبی می باشد. کروما[2] (C^*_{ab}) به میزان اشباعیت یک رنگ اشاره داشته و بیان می دارد که چه میزان نور خاکستری و سفید با رنگ خالص مخلوط گشته است. کروما از خنثی تا براق تغییر می کند. و به میزان فاصله بر روی محور عمود بر صفحه(a^*-b^*) از مبدا بر می گردد. این دو جزء رنگی (ته رنگ و کروما) در صفحه ی (a^*-b^*) به صورت دو مولفه ی برداری بوده که در آن ته رنگ زاویه ی جهت و کروما طول بردار رنگی می باشد.

جهت اندازه گیری کروما از فرمول (۱) استفاده گردیده است (Vender et al., 2004)، همچنین بر طبق (Pavlidis et al. 2006)، میزان ته رنگ نیز از رابطه (۲) محاسبه گشت:

(1) $\text{Chroma}= (a^{*2}+ b^{*2})^{0/5}$

(2) $H^\circ = \arctan (b^*/a^*)$

ته رنگ به صورت یک متغیر زاویه ای بوده، بنابراین محاسبه ی میزان میانگین و انحراف معیار به وسیله ی روش های آماری که برای توصیف و تجزیه وتحلیل اطلاعات حاصل از پراکندگی دایره ای به کار می رود، تعیین می شود (Zar, 1996). محاسبه ی میانگین حسابی و انحراف معیار ته رنگ کلاسیک با روش معمول، اما میانگین و انحراف معیار مخصوص داده های دایره ای طبق فرمول های (۳و۴) انجام گرفت:

(3) $H^{'}_{ab}= \text{asin}(Y/r)$

(4) $SD= [(-2)\ \text{Ln}(r)\ ]^{1/2}$

$X= \sum(\cos H^{'}_{ab})/N$; $r= (X^2+Y^2)$; $Y= \sum(\sin H^{'}_{ab})/N$, in radians

N هم در این فرمول تعداد مشاهده می باشد.

همچنین یک شاخص جدیدی به نام ECI (Pavlidis et al., 2006) محاسبه گردید. این شاخص در بین گروه هایی که فاقد اختلاف معنی دار در میانگین ته رنگ باشند، مورد استفاده قرار می گیرد، اما در اینجا جهت معرفی آورده شده است. این شاخص، تصویر هر بردار رنگی در جهت زاویه ای میانگین گروه بوده و سهم آن را در رنگ میانگین نشان می دهد. این فاکتور ترکیب دو فاکتور ته رنگ و کروما می باشد (فرمول ۵).

1. Hue
2. Chroma

$$(5)\ ECI_i = C_i^* \cos(H_i - H_{mean})$$

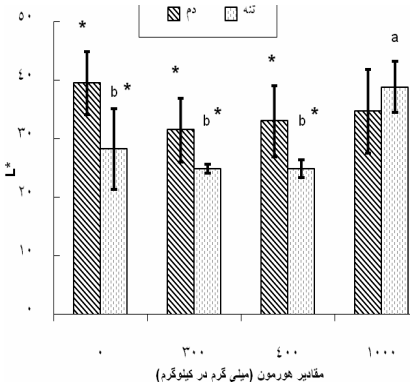
که H_{mean} میانگین ته رنگ، C_i و H_i نیز کروما و ته رنگ مربوط به هر اندازه گیری می باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

قبل از آنالیز داده های دایره ای، برای بررسی نرمال بودن انها از تست ریلاق[1] استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده ها از روش واتسون- ویلیامز[2] و در صورت غیر نرمال بودن، از تست ناپارامتری واتسون استفاده گردید. تفاوت های آماری بین مقادیر L^* ، ECI ، a^* ، b^* و Chroma در مقایسه دوزهای مختلف در ناحیه بدن با یکدیگر و دم با هم، با استفاده از روش آنالیز واریانس یکطرفه و در صورت معنی دار بودن، از آزمون دانکن، برای مقایسه تفاوت در دوزهای مختلف و بین تنه و دم از آنالیز دو طرفه واریانس استفاده شد. آمار کلاسیک به وسیله ی نرم افزار های Excell و SPSS و آنالیز داده های زاویه ای به وسیله ی نرم افزار Oriana version 3.00 و رسم گراف های دایره ای به وسیله ی نرم افزار OriginPro 8 SR0 انجام گرفت.

نتایج

با توجه به اندازه گیری پارامترهای کیفی آب، میانگین دما برای تیمارها ۰/۲۵±۲۸/۸۲درجه سانتیگراد؛ میزان PH ، ۰/۰۵±۸/۶۹ و میزان اکسیژن، ۰/۱۵±۶/۳۸ میلی گرم در هر لیتر بود.



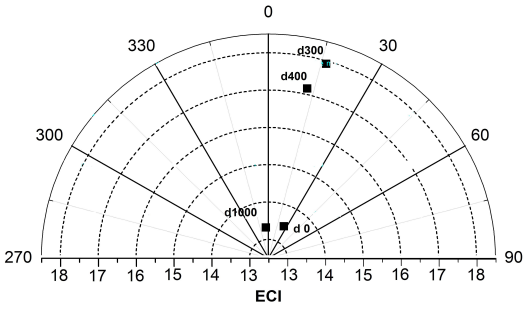
شکل۲. میزان روشنایی در ناحیه تنه و باله ی دمی ماهی گوپی در دوزهای مختلف هورمون متیل تستوسترون (در این شکل علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معنی داری بین بخش دم و تنه در هر دوز و حروف انگلیسی نشان دهنده اختلاف معنی داری بین دوزهای مختلف در هر بخش دم یا تنه می باشد).

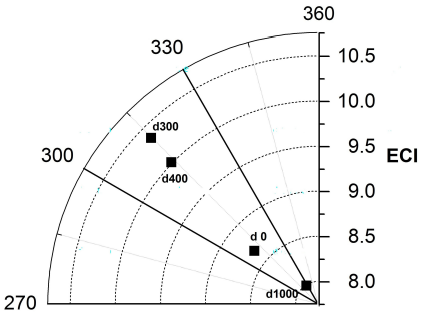
به طور کلی میزان روشنایی ناحیه دم ماهی گوپی در تمام سطوح مختلف هورمون یکسان بود، اما میزان این فاکتور در ناحیه تنه متفاوت بود بطوری که میزان روشنایی ناحیه تنه ماهی در معرض دوز هورمونی ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا، بطور معنی داری بیشتر از دوزهای دیگر بود. همچنین در تمام سطوح مختلف هورمونی بجز ۱۰۰۰ میلی گرم، میزان روشنایی ناحیه تنه بطور معنی داری بیشتر از ناحیه دمی بود.

در تمامی دوز های مورد بررسی، در مقادیر ته رنگ ناحیه ی باله ی دمی و تنه اختلاف معنی دار ($p<0.05$) مشاهده شد و این در حالی است که در تمامی دوزهای مورد بررسی مقادیر ته رنگ برای تنه بین ۲۷۰ تا ۳۶۰ قرار داشته حال آنکه برای باله ی دمی، بین ۲۷۰ تا ۹۰ درجه می باشد. بنابراین با توجه به شکل۳ ، از نظر مقادیر میانگین ته رنگ در ناحیه

1. Rayleigh
2. Watson- Williams

ی باله ی دمی، به ترتیب ماهیان تحت تاثیر دوزهای ۱۰۰۰، ۴۰۰، ۳۰۰ و ۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا، بین ته رنگ قرمز تا قرمز کمرنگ تغییر نموده و همچنین در ناحیه ی تنه نیز به ترتیب ماهیان تحت تاثیر دوزهای ۱۰۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰و ۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا، تمایل به ته رنگ قرمز را نشان دادند و دوز ۱۰۰۰ بیشترین ته رنگ قرمز را نشان داده است.





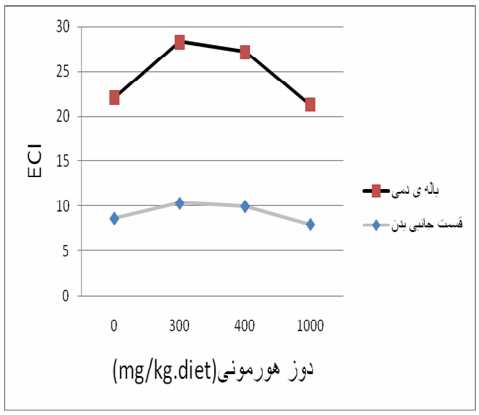
شکل ۳. میانگین مقادیر ته رنگ و ECI مربوط به بخش های باله ی دمی (بالا) و تنه (سمت چپ) ماهی گوپی نر در معرض دوزهای مختلف هورمونی.

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، بین مقادیر محاسبه شده میانگین و انحراف معیار ته رنگ به روش کلاسیک (معمول) و روش دایره ای، اختلاف موجود است و به همین خاطر در تمامی آنالیزها با تـوجه به ماهیت و نوع داده های دایره ای، از میانگین های دایره ای استفاده شده است.

جدول ۲. مقایسه ی مقادیر میانگین کلاسیک و دایره ای ته رنگ و ECI بین دوزهای مختلف هورمونی.

دوزها	بخش بدن	میانگین و SD برای ته رنگ	میانگین حسابی و SD برای ته رنگ	P	میانگین ECI	P
۰	تنه	^{b}۳۰۹/۷۶±۳/۲۰۶	۳۰۹/۷۶± ۳/۵۸	<۰/۰۵	۱/۴۷ ^{ab}۸/۶۷±	۰/۰۸
	باله دمی	^{a}۲۶/۰۸۱±۵/۴۳۳	۲۶/۰۸± ۶/۰۷		۱۳/۴۴± ۵/۰۹	
۳۰۰	تنه	^{b}۳۱۴/۸۲±۲/۷۵۵	۳۱۴/۸۲± ۳/۰۲	<۰/۰۵	۱/۷۱ ^{a}۱۰/۳۶±	۰/۰۰۲
	باله دمی	^{ab}۱۶/۳۶±۲/۶۲۳	۱۶/۳۶± ۲/۹۳		۱۷/۹۲± ۳/۸۶	
۴۰۰	تنه	^{b}۳۱۳/۹۵±۵/۵۱۱	۳۱۳/۹۴± ۶/۱۶	<۰/۰۵	۱/۳۱ ^{a}۱۰/۰۱±	۰/۰۱
	باله دمی	^{b}۱۲/۷۴±۲/۱۷۵	۱۲/۷۴± ۲/۳۸		۱۷/۱۵± ۳/۹۸	
۱۰۰۰	تنه	^{a}۳۲۷/۸۴±۵/۱۶۲	۳۲۷/۸۴± ۵/۷۷	<۰/۰۵	^{b}۷/۹۹± ۱/۱۲	۰/۰۰۱
	باله دمی	^{c}۳۵۵/۳۹±۶/۸۹۵	۲۱۱/۳۸± ۱۹۰/۶۲		۱۳/۳۲± ۲/۱۶	
P تنه		<۰/۰۵			۰/۰۵	
P باله دمی		<۰/۰۵			۰/۱۶	

داده های حاصل پس از محاسبه ی مقادیر میانگین ته رنگ و سپس شاخص ECI ، به مقایسه ی بهتر شاخص های رنگی کمک نمود به طوری که در هر دو بخش مورد سنجش، مقادیر ECI ابتدا افزایش و سپس کاهش را نشان داد (شکل۴) و چنانکه در جدول ۲ آورده شده، در تمامی حالات مگر دوز صفر، بین باله ی دمی و ته از نظر مقادیر ECI، اختلاف معنی دار وجود داشته و میزان آن در تمامی تیمارها، در ناحیه ی دمی بیش از ناحیه ی ته است، این مسئله گرادیان رنگی از ناحیه ی دمی به بخش ته را نشان می دهد.



شکل ۴. تغییرات مقادیر ECI در ناحیه ی جانبی بدن و باله ی دمی با افزایش دوز هورمونی

جدول۳. مقایسه ی مقادیر a^* و b^* و کروما در بین تیمار های مختلف هورمونی

دوزها	بخش بدن	میانگین و SE برای a^*	P	میانگین و SE برای b^*	P	میانگین و SE برای کروما	P
۰	تنه	۵/۷± ۱/۱۸		-۵/۷± ۲/۳۹^{ab}		۸/۴± ۱/۵۲^{bc}	
		(۴/۳-۶/۷)		(-۸/۲ - -۱/۲)		(۶/۸ -۱۰/۶)	
	باله دمی	۱۱/۵± ۴/۵۳^{b}	۰/۰۱۳	۶± ۲/۰۸^{a}	۰/۰	۱۳/۱± ۴/۶۳	۰/۰۴
		(۵/۱ -۱۸/۴)		(۳/۵ -۹)		(۶/۲-۲۰/۵)	
۳۰۰	تنه	۷/۳± ۱/۵۱		-۷/۳± ۱/۰۱^{b}		۱۰/۳۶± ۱/۷۲^{a}	
		(۵/۹±۹/۸)		(-۸/۲ - -۵/۹)		(۸/۳ -۱۲/۸)	
	باله دمی	۱۶/۹± ۳/۳۹^{a}	۰/۰	۳/۶± ۲/۶۰^{ab}	۰/۰	۱۷/۵± ۳/۶۲	۰/۰۰۱
		(۱۲/۹ -۲۰)		(۰/۴-۵/۹)		(۱۲/۹ -۲۰/۹)	
۴۰۰	تنه	۶/۵± ۱/۷۵		-۷/۲± ۰/۶۲^{b}		۹/۸± ۱/۳^{ab}	
		(۴/۳-۹)		(-۸/۲ - -۶/۷)		(۸/۶ -۱۲/۲)	
	باله دمی	۱۶/۷± ۳/۸۹^{a}	۰/۰	۳/۷± ۱/۰۹^{ab}	۰/۰	۱۷/۱± ۳/۹۸	۰/۰۰۲
		(۱۰/۶ -۲۲/۴)		(۲/۷ -۵/۱)		(۱۰/۹ -۲۳)	
۱۰۰۰	تنه	۵/۶± ۲/۳۵		-۴/۶± ۰/۸۲^{a}		۷/۵± ۱/۳۱^{c}	
		(۲ -۹)		(-۵/۹ - -۳/۵)		(۶/۲ -۱۰)	
	باله دمی	۱۲/۱± ۴/۰۲^{ab}	۰/۰۰۶	۰/۸۶± ۳/۱۶^{c}	۰/۰۰۲	۱۲/۵± ۳/۹۱	۰/۰۱۴
		(۵/۱ -۱۶/۱)		(-۲/۷ -۵/۹)		(۵/۸ -۱۶/۱)	
P تنه		۰/۳۱۵		۰/۰۰۸		/۰۱۲	
P باله دمی		۰/۰۴۳		۰/۰۱۱		۰/۰۸۸	

در جدول ۳، مقادیر مختلف شاخص های a^* و b^* و کروما در دوز های مختلف مقایسه شده است. از آنجا که رنگ یک ویژگی سه بعدی بوده و در روش های رنگ سنجی، به مولفه های مختلف رنگی تقسیم می شود، چنانکه در جدول ۳ مشاهده می شود، مقایسه این مولفه ها، گیج کننده بوده و درک درستی از طبیعت سه بعدی آنها به دست نمی دهد؛ حال آنکه در شاخص ته رنگ دو فاکتور a^* و b^* با یکدیگر جمع شده و ضمن سادگی در مقایسات رنگی، دید جامع و معنی داری را از تغییرات رنگی نتیجه می دهد. در شاخص جدید ECI نیز این مسئله دیده می شود به طوری که دو فاکتور ته رنگ و کروما در آن جمع شده است.

بحث

علت شناسی ناهنجاری های رنگی پوست، تاکنون به نتیجه قطعی نرسیده است. علاوه بر این، تفسیر تغییرات رنگی در ماهی به دلیل کمبود اطلاعات واقعی از ویژگی های رنگی پوست، و همچنین به دلیل سختی های موجود در بیان تفاوت های رنگی به صورتی که با فهم سه بعدی ما از طبیعت رنگ ها مرتبط باشد، پیچیده است (Pavlidis et al., 2006). با آنکه تفاوت های رنگی می تواند تشخیص داده شود، اما مشکل است که بتوان تشخیص داد که این تفاوت ها مربوط به تغییرات روشنایی است یا تغییرات شدیدتر ته رنگ ویا تفاوت ها در میزان اشباعیت یک رنگ باعث آن می گردد. بنابراین یک روش جایگزین جهت بیان تفاوت های رنگی که بیشتر با دید سه بعدی ما از طبیعت رنگ ها ارتباط می یابد، ایجاد شده است که مفهوم ته رنگ و کروما را با هم ادغام می کند و این فاکتور ECI است. در جایی که میزان میانگین ته رنگ عدم وجود اختلاف معنی دار را نشان دهد، مورد بحث و ارزیابی قرار می گیرد. زیرا همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده در جایی که اختلاف رنگی با استفاده از مقایسات ته رنگ به خوبی نشان داده شده، استفاده از ECI بی معنی بوده و تفادت های رنگی بین تیمارها در شاخص ته رنگ به خوبی توصیف گشته است.

تاکنون کارهای بسیار متعددی در مورد رنگ سنجی به خصوص در خارج از ایران صورت گرفته اما، در اغلب آنها بدون توجه به ماهیت فاکتورهای مورد بررسی، از آمار کلاسیک برای مقایسه ی مقادیر ته رنگ استفاده شده است. حال آنکه به دلیل طبیعت سه بعدی آنها، بایستی به گونه ای دیگر مورد استفاده قرار گیرند که استفاده از آمار دایره ای این مسئله را کامل می کند. داده های حاصل از پراکندگی های دایره ای نیز نباید به صورت آمار مرسوم آنالیز گردد و ریشه ی آن به اختیاری بودن نقطه ی صفر در مقیاس دایره ای باز می گردد. روش های آماری برای توصیف و آنالیز داده های حاصل از پراکندگی دایره ای نسبتا جدید بوده و در حال پیشرفت می باشند (Pavlidis et al., 2006). همان طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است، نتایج حاصل از آمار دایره ای با آمار کلاسیک دارای تفادت بوده و حتی در محاسبه ی میانگین، این دو نوع آنالیز اعداد مختلفی را به دست داد. این مسئله به خصوص در مورد زوایای منفی بیشتر نمایان می شود (دوز ۱۰۰۰

میلی گرم در ناحیه ی دمی). حال آنکه استفاده از آمار دایره ای به دلیل ماهیت زاویه ای فاکتورهای حاصل از رنگ سنجی، درست تر بوده و به نتایج صحیح تری منجر می شود. روش مورد استفاده در این پژوهش اولین بار در مورد ماهیان در ایران مورد استفـاده قرار گرفته و روشی مناسب و قدرتمند جهت آمـار توصیفی و همچنین مقایسه ی داده های دایره ای می باشد.

فاکتور روشنایی یا L^* به میزان نوری اشاره دارد که رنگ مورد نظررا بازتاب داده یا از خود عبور می دهد که این مسئله باعث تمایز بین رنگ های روشن و تیره می شود. (Pavlidis et al.) در سال ۲۰۰۶، کم بودن فاکتور روشنایی را نتیجه ی مقادیر بالاتر محتوای ملانین و بالاتر بودن درصد رنگدانه ی کاروتنوئید در پوست می داند. در این آزمون کاهش ظهور و بروز رنگدانه های ملانین در پوست و افزایش تدریجی رنگدانه های قرمز و زرد را شاید بتوان دلیل روند تغییرات روشنایی در باله ی دمی ماهی گوپی دانست. اما در بخش تنه، وجود اختلاف معنی دار ($p<0.05$) را بین دوز ۱۰۰۰ و سایر دوزها و عدم آن را در بین سایر دوزها شاید بتوان به کاهش رنگدانه های تیره از جمله ملانین در بخش تنه و تغییرات رنگدانه ای نظیر دروزوپترین[1] در این بخش بدن با افزایش دوز هورمون به ۱۰۰۰میلی گرم در کیلوگرم غذا دانست.

با توجه به نتایج این آزمایش، رنگدانه های مربوط به رنگ زرد و قرمز بیشتر در ناحیه دمی این ماهی موجود بوده و تغییرات رنگ قرمز بیشتر در این ناحیه ی بدن قابل مشاهده است. این مسئله می تواند به الگوی رنگی ژنتیکی این ماهی باز گردد. (Grether et al.) در سال ۲۰۰۱، نیز مساحت کل نواحی نارنجی بر روی بدن ماهی نر را بسیار زیاد تحت تاثیر ارث دانست که در اثر مقدار کاروتنوئید ها در جیره تحت تاثیر قرار نمی گیرد.

از طرفی (Grether et al.)، در سال ۱۹۹۹، افزایش میزان دسترسی به کاروتنوئید را با توجه به عدم امکان تولید آن در بدن، عامل بروز بیشتر رنگ نارنجی، ابتدا در رنگ آمیزی عمومی بدن و سپس در نقاط نارنجی رنگ در این ماهی دانست. ضمن آنکه (Kodric-Brown) در سال ۱۹۹۳ نیز بیان نمود که مقادیر کاروتنوئیدها در جیره بر روی کرومای نقاط نارنجی رنگ اثر می گذارد. اما، در این آزمون جیره ی داده شده به تمامی ماهیان در دوزهای مختلف هورمونی یکسان بوده و از لحاظ میزان دسترسی به کاروتنوئیدها تفاوتی را نمی توان برای آن ها در نظر گرفت. ولی، استفاده از هورمون می تواند به افزایش جذب این رنگدانه به سلول های بدن و نقل و انتقالات خاص آن در پوست منجر شود.

القای هورمونی تولید اسپرم در ماهیان به وسیله ی آندروژن های گنادی و به خصوص۱۱- کتوتستو- سترون (KT) کنترل می گردد (Borg, 1994). تولید KT به وسیله ی گونادوتروپین های هیپوفیزی کنترل می گردد که باعث تحریک سلول های لیدیگ به تولید آندروژن می گردد. آندروژن با گیرنده ها در سلول های سرتولی باند شده و آنها را

1. Drosopterine

برای تولید اکتیوین B[1] فعال می کند که بر روی اسپرماتوگونیا اثر گذاشته و باعث میتوز می گردد (Kinnberg and Toft, 2003). از طرف دیگر صفات ثانویه ی جنسی نیز تحت تاثیر آندروژن ها قرار دارند (Christiansen et al., 1998). در مطالعه ای که اثر مختل کننده های هورمون های درون ریز آندروژنی بررسی گردید، درنرهای بالغ گوپی نواحی دارای نقاط نارنجی پس از قرار گرفتن در معرض غلظت های بالای اکتیل فنول یا استرادیول تحت تاثیر قرار گرفت (Bayley et al., 1999; Toft and Baatrup, 2001). در مطالعه ی (Pikulkaew and Wongsathein) در سال ۲۰۰۶، نیز شدت رنگ قرمز در ناحیه ی باله ی دمی، تحت تاثیر غلظت های مواد مشابه DDT (یک ماده ی استروژنی)، کاهش را نشان می داد. (Bayley et al.) در سال ۲۰۰۲ در مورد ماهیان جوان نتیجه گرفت که ماهیان در معرض آنتی اندروژن های وینکلوزولین و DDE- p,p' و فلوتامید کاهش در میزان رنگ نارنجی را نشان می دهند. (Devasurend et al., 2007) با استفاده از غلظت ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا از یک آنالوگ آندروژن در این ماهی، افزایش میزان رنگدانه های دروزوپترین را که به همراه رنگدانه های کاروتنوئید نقاط قرمز را در این ماهی ایجاد می کنند، گزارش داد و ایجاد نقاط نارنجی در این ماهی را بیشتر تحت تاثیر آندروژن ها دانست. دروزوپترین و کاروتنوئید در ایجاد کرومای نقاط نارنجی نقش دارند. بنابراین می توان وجود این دو رنگدانه را در ماهیان مورد بررسی، در نظر گرفت. در این آزمون، ورود متیل تستوسترون از طریق جیره به بدن می تواند ته رنگ زرد تا قرمز و به خصوص افزایش رنگدانه های قرمز را در ناحیه ی دمی توجیه کند. ضمن آنکه روند تغییرات رنگی در ناحیه ی تنه هرچند در نهایت با افزایش دوز هورمون افزایش ته رنگ قرمز را نشان می دهد، اما در ابتدا چندان تفاوتی را در میزان رنگدانه های قرمز ایجاد ننموده و تنها در دوز ۱۰۰۰، یک گرایش خاص به رنگ قرمز و نارنجی را نشان می دهد که همان طور که ذکر گردید، شاید بتوان آن را با تولید دروزوپترین در ارتباط دانست.

1. Activin B

سپاس گزاری

از همکاری مدیریت محترم گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی جهت اجرای آنالیز رنگی و همچنین همراهی مهندس مهدی ذوالفقاری و به خصوص مهندس پرویز زارع جهت انجام مباحث آماری کمال تشکر و قدردانی را می نمایم.

منابع

Bayley, M., Nielsen, J.R. and Baatrup, E. (1999) Guppy sexual behavior as an effect biomarker of estrogen mimics. Ecotoxicology and Environmental Safety 43: 68-73.

Bayley, M., Junge, M. and Baatrup, E. (2002) Exposure of juvenile guppies to three antiandrogens causes demasculinization and a reduced sperm count in adult males. Aquatic toxicology 56: 227-239.

Borg, B. (1994) Androgens in teleost fishes. A Review. Comparative Biochemistry and Physiology 109C (3): 219-245.

Christiansen, T., Korsgaard, B. and Jespersen., A. (1998) Effect of nonylphenol and 17 β-oestradiol on vitellogenin synthesis, testicular structure and cytology in male eelpout *Zoarces viviparus*. Journal of Experimental Biology 201: 179-192.

CIE (Commission Internationale de l' Ecalairage). (1978) Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Supplement No 2 to CIE Publication No 15, Colorimetry, Bureau Central de la CIE, Paris.

Devasurenda, R.S., Wanigasekera, A., Arulkanthan, A. and Jayasooriya, A.P. (2007) Identification of Androgen Induced Pigments in Guppies (*Poecilia reticulata*). Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions, Sri Lanka 12 (I): 164-5.

Endler, J.A. (1983) Natural and sexual selection on color patterns in Poeciliid fishes. Environmental Biology of fishes 9: 173-190.

Endler, J.A. and Houde, A.E. (1995) Geographic variation in female preferences for male traits in *Poecilia reticulate*. Evolution 49: 456-468.

Evans, J.P., Bisazza, A. and Pilastro, A. (2004) Female mating Preferences for colour fur males in a population of guppies subject to high predation. Journal of fish biology 65: 1154-1159.

Grether, G.F., Hudon, J. and Millie, D.F. (1999) Carotenoid limitation of sexual coloration along an environmental gradient in guppies. Proceedings of the Royal Society of London 266 (B): 1317-1322.

Grether, G.F., Hudon, J. and Endler, J.A. (2001) Carotenoid scarcity, synthetic pteridine pigments and the evolution of sexual coloration in guppies (*Poecilia reticulata*). Proceedings of the Royal Society of London 268 (B): 1245-1253.

Hopper, A.F. (1965) Inhibition of regeneration of the gonopodium of the guppy by treatment with thiouracil. Journal of experimental zoology 159: 231-240.

Houde, A.E. (1987) Mate choice based on naturally occurring color pattern variation in a guppy population. Evolution 41: 1-10.

Houde, A.E. and Endler, J.A. (1990) Correlated evolution of female mating preferences and male color patterns in the guppy, *Poecillia reticulata*. Sience 248: 1405-1408.

Kinnberg, K., and Toft, G. (2003) Effects of estrogenic and antiandrogenic compounds on the

testis structure of the adult guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicology and Environmental Safety 54: 16-24.

Kodric-Brown, A. (1993) Female choice of multiple male criteria in guppies: interacting effects of dominance, coloration and courtship. Behavioral Ecology and Sociobiology 32: 415-420.

Locatello, L., Rasotto, M.B., Evans, J.P. and Pilastro, A. (2006) Colourful male guppies produce faster and more viable sperm. Journal of Evolutionary Biology 19: 1595-1602.

Lopez, S. (1998) Aquired resistance effects male sexual display and female choice in guppies. Proceedings of the Royal Society of London 265 (B): 717-723.

Matthews, I.M., Evans, J.P. and Majurran, A.E. (1997) Male display rate reveals ejaculate characteristics in the Trinidian guppy *Poecilia reticulata* . Proceedings of the Royal Society of London 264 (B): 695-700.

Nicoletto, P.F. (1991) The relationship between male ornamentation and swimming performance in the guppy, *Poecilia reticulate*. Behavioral Ecology and Sociobiology 28: 365-370.

Nielsen, L. and Baatrup, E. (2006) Quantitative studies on the effects of environmental estrogens on the testis of guppy, *Poecilia reticulate*. Aquatic toxicology 80: 140-148.

Pandian, T.J. and Sheela, S.G. (1995) Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture 138: 1-22.

Pandey, S. (1969) The role of pituitary and gonadal hormones in the differentiation of testis and secondary sex characters of the juvenile Guppy *Poecilia reticulate* peters. Biology of reproduction 1: 272-281.

Pavlidis, M., Papandroulakis, N. and Divanach, P. (2006) A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae. Aquaculture 258: 211-219.

Pikulkaew, S. and Wongsathein, D. (2006) The effect of DDT congeners on reproductive function in male Guppy (*Poecilia reticulate*), Chiang Mai University Journal 5 (2): 219-228.

Pilastro, A. and Bisazza, A. (1999) Insemination efficiency of two alternative male mating tactics in the guppy (*Poecilia reticulate*). Proceedings of Royal Society of London 266 (B): 1887-1891.

Pilastro, A., Evans, J.P., Sartorelli, S. and Bisazza, A. (2002) Male phenotype predicts insemination success in guppies. Proceedings of the Royal Society of London 269 (B): 1325-1330.

Pitcher, T.E. and Evans, J.P. (2001) Male phenotype and sperm number

in the guppy (*Poecila reticulate*). Canadian journal of Zoology 79: 1891-1896.

Rodric- Brown, A. (1985) Female preference and sexual selection for male coloration in the guppy, *Poecilia reticulata*. Behavioral Ecolgy and Sociobiology 17: 199-206.

Toft, G. and Baatrup, E. (2001) Sexual characteristics are altered by 4-tert-octylphenol and 17β-estradiol in the adult male guppy (*Poecilia reticlate*). Ecotoxicology and Environmntal Safety 48: 76-84.

Turan, F., Cek, S. and Atik, E. (2006) Production of monosex male guppy *Poecilia reticulata* by 17α- methyl testosterone. Aquaculture research 37: 200-203.

Vander Sam, A.L., Martinez, M., Flik, G. and Wender Laar Bonga, S.E. (2004) Effects of husbandry conditions on the skin colour and stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*. Aquaculture 241: 371-386.

Zar, J.H. (1996) Circular Distributions, Biostatistical Analysis, 3rd edition. Prentice-Hall International, INC, pp.591-652.