

ניסוי הזרקת הורמונים לדגי אוסלריס (*Amphiprion ocellaris*)

ניצן רייס חבלין, טל גור, מוטי אושרוביץ, דן פופר ואנדראה אנצמן - מו"פ ערבה תיכונה וצפונית

כתובת המחברת: fish1@arava.co.il

תקציר

השוק העולמי לדגי נוי ימיים התפתח מאוד בשנים האחרונות, והביקוש לדגים מגידול בשבי הולך וגדל. דגי השושנון (*Amphiprion*) הם המבוקשים ביותר בשוק האירופי. בתחנת יאיר במו"פ ערבה פיתחו במהלך השנים האחרונות פרוטוקול לרבייה וגידול של שמונה מיני שושנון מהם המין המבוקש ביותר הוא ה- *A. Ocellaris*. פרוטוקול הגידול יושם בשלוש חוות מודל אשר פועלות היום באופן עצמאי ועוסקות בריבוי, גידול ושיווק דגי נוי של מים מלוחים. בהקמת חווה לגידול דגי שושנון, השלב הארוך ביותר הוא יצירת זוגות מטילים. תהליך זה מחולק לשלושה שלבים: שלב ראשון הוא גידול הדגים לגודל רבייה ונמשך כשבעה חודשים מהבקיעה. שלב שני חלוקה לקבוצות קטנות של 2-5 פרטים ואיתור זוגות אשר מזהים בהם תהליך חיזור. בשלב השלישי מעבירים את הזוגות שאותרו לאקווריומים בחדר הורים וממתינים לקבלת הטלות. שלב זה יכול להימשך בין חצי שנה לשנה וחצי ואף יותר ולעיתים לא יתקבלו הטלות כלל. לעיתים מותרים על השלבים ובחרים דג גדול ודג קטן יותר מתוך קבוצה של דגים בוגרים, מעבירים לאקווריומי הטלה, בוחנים את מערכת היחסים שלהם ואם נראה שמסתדרים יחד משאירים אותם ומחכים להטלות. בניסוי קודם שנערך בשנת 2009 נבחנו שני סוגי הורמונים: טסטוסטרון (Testosterone) ו-Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) בשתי שיטות יישום: האכלה והזרקה. לא התקבלו הטלות כתוצאה מהטיפול בהורמונים. בבחינה תחת מיקרוסקופ שנערכה לזוגות שאינם מטילים נמצא שהזכר אינו מוכן להטלה בעוד הנקבה מוכנה. ניתן לגשר על פער זה באמצעות השימוש בהורמונים או לחקות את הטבע ולתת לדגים ליצור את הזוגות בעצמם. בניסוי שנערך בתחנת יאיר בעונת 2012/13 נבדקה השפעת מתן GnRH אנטי דופומין Metoclopramid לנקבות ולזכרים ניתנו LH – Fsh. כמו כן, יצרנו אקווריומים קיבוציים בהם יוכלו הדגים ליצור זוגו על פי התאמה טבעית שלהם. בניסוי ההורמונים לא התקבלו הטלות באף אחד מהזוגות. באקווריומים הקיבוציים נוצרו זוגות אך בודדים מהם נכנסו למחזור ההטלה.

מבוא

השוק העולמי לדגי נוי ימיים התפתח מאוד בשנים האחרונות, והביקוש לדגים מגידול בשבי הולך וגדל. דגי השושנון (*Amphiprion*) הם המבוקשים ביותר בשוק האירופי (קחל וחובי, 2008) ונמכרים כדגי נוי לאקווריום שונית בשל צורתם היפה וצבעם העז וכן בשל יכולתם לחיות בשיתוף עם חסרי החוליות באקווריום. קיימים כ-28 מינים של דגי שושנון. בתחנת יאיר במו"פ ערבה פיתחו במהלך השנים האחרונות פרוטוקול לרבייה וגידול של שמונה מיני שושנון מהם המין המבוקש ביותר הוא ה- *A. Ocellaris*. פרוטוקול הגידול יושם בשלוש חוות מודל כאשר שתיים מהן פועלות היום באופן עצמאי ועוסקות בריבוי, גידול ושיווק דגי נוי של מים מלוחים. לאחר השגת היעד הראשוני של המו"פ בפיתוח פרוטוקול הרבייה והגידול מתרכזים המחקרים בשיפור יכולות הגידול והרבייה, בהכנסת מוצרים נוספים לסל המוצרים של מים מלוחים ובהוזלת עלויות הגידול.

בהקמת חווה לגידול דגי שושנון, השלב הארוך ביותר הוא יצירת זוגות מטילים. תהליך זה מחולק לשלושה שלבים: שלב ראשון הוא גידול הדגים לגודל רבייה ונמשך כשבעה חודשים מהבקיעה. שלב שני חלוקה לקבוצות קטנות של 2-5 פרטים ואיתור זוגות אשר מזהים בהם תהליך חיזור. בשלב השלישי מעבירים את הזוגות שאותרו לאקווריומים בחדר הורים וממתינים לקבלת הטלות. שלב זה יכול להימשך בין חצי שנה לשנה וחצי יותר

ולעיתים לא יתקבלו הטלות כלל. לעיתים מותרים על השלבים ובוחרים דג גדול ודג קטן יותר מתוך קבוצה של דגים בוגרים, מעבירים לאקווריומי הטלה, בוחנים את מערכת היחסים שלהם ואם נראה שמסתדרים יחד משאירים אותם ומחכים להטלות. בחווה מסחרית תקופת הזמן בה הזוגות אינם יצרניים היא מאוד משמעותית וחשוב להבין כיצד ל"עודד" או "לעורר" את הדגים בכדי שיתחילו להטיל.

עידוד רבייה בדגים יכול להתבצע בדרכים רבות כגון: שינויים בנתוני המים (טמפ', חומציות, קשיות או מליחות), פוטופריודה (משטר הארה), תזונה מתאימה וטיפול הורמונלי. במתקן הגידול במו"פ חיים זוגות הדגים בחדר הורים בתנאים זהים. עם זאת חלקם נכנסים להטלה וחלקם לא. גם בתוך קבוצת ההורים המטילים קיימת שונות בזמן הכניסה למחזור ההטלה, ובמשך הזמן שעובר בין ההטלות. מכוון שכל הזוגות נמצאים בתנאי גידול זהים ניתן להניח שהשונות ביניהם נובעת מרמת בשלות ובגרות מינית שונה של הדגים ו/או מדרגות התאמה שונות בין בני הזוג. בבחינה תחת מיקרוסקופ שנערכה לזוגות שאינם מטילים נמצא שהזכר אינו מוכן להטלה בעוד הנקבה מוכנה. ניתן לגשר על פער זה באמצעות השימוש בהורמונים. לא קיים חומר בספרות על שימוש בהורמונים לעידוד רבייה של דגי שושנון לכן בצענו בעבר שני ניסויים בהם נבחנו שני סוגי הורמון:

טסטוסטרון (Testosterone) דרך המזון ו- Gonadotropin Releasing והאשכים. תהליך עידוד רבייה באמצעות הזרקת ההורמון מתקיים בדגי מאכל כגון בורי (*Mugil cephalus*) או לברק (*Dicentrarchus labrax*) או בדגי נוי כגון דגי קוי (*Cyprinus carpio*) או שלייר (*Carassius auratus auratus*). (Marjani et al 2009 Lee et al 1986) (and Phelps 2010) בתהליך זה מזריקים לדגים את ההורמון ולאחר מכן מחכים להתפתחות הטלות באופן טבעי או "חולבים" את הביצים והזרע מהדגים מערבבים יחד ויוצרים הפריה מלאכותית. דגי שושנון הם עדינים ורגישים ולא נמצא בספרות מידע על טיפול בהזרקה ו/או "חליבה" של הדגים לכן שלב ההזרקה נערך תחת הרדמה ואחריו הוחזרו הדגים לאקווריום לתהליך רבייה טבעי.

בניסוי הנוכחי בדקנו השפעת מתן GnRh ואנטי דופומין Metoclopramid לנקבות ולזכרים ניתנו LH – Fsh. כיוון עבודה נוסף שנבחן בעקבות הממצא על השוני בין הזכרים והנקבות בכניסה להטלות היה ליצור זוגות בדרך טבעית. בשיטה זו מכניסים קבוצת דגים לאקווריום קיבוצי ועוקבים אחרי הדגים בכדי לאתר דגים אשר מתנהגים כזוג. במידה ונוצר זוג באופן טבעי מעבירים אותו לאקווריום הטלה נפרד. בשיטה זו יוצרים זוגות הורים פעילים בדגי נוי אחרים אשר מטילים בזוגות כגון דגי סקלר.

שיטות

עידוד רבייה בעזרת הורמונים:

הדגים אוכלסו בתאריך 20/8/12 במערך של 24 אקווריומים בחדר הניסויים בתחנת יאיר. כל הנקבות היו מאותו זוג הורים והזכרים משלושה זוגות הורים שונים. האקווריומים בנפח 100 ליטר המופרדים בעזרת מחיצות (כל זוג בנפח 50 ליטר). בכל קומה מערכת מים נפרדת במליחות 27 ppt. לאחר שנצפה כי כל הזוגות מסתדרים ביניהם, הוכנס בתאריך 14/10/12 לכל אקווריום אריח + עציץ בגודל זהה ליצירת תנאי הטלה מתאימים ע"פ הפרוטוקול שנקבע בעבר במו"פ. הזוגות נראו מוכנים להטלה אך אף זוג לא הטיל בצורה ספונטנית.

הורמונים הוזרקו לזוגות ההורים בתאריך 14/1/13. (תמונה 1). לדגים ניתן חומר הרדמה MS222 על מנת להקל על מתן הזריקה והטראומה כתוצאה ממנה. לאחר ההזרקה הדגים התאוששו מיד וקיבלו לאכול יום לאחר מכן.

פרוט הזרקות:

זכרים: (חושב לפי משקל זכר ממוצע 4 גרם) 30 מיקרוליטר לפרט-

6 זכרים - Rec FSH (sb alpha+beta): 7.5 μ g/KgBW

12 זכרים - Rec yoked LH (sb beta-alpha): 7.5 μ g/KgBW

נקבות: (חושב לפי משקל נקבה ממוצע 8 גרם) 50 מיקרוליטר לפרט-

זריקה בודדת משולבת ל-12 נקבות:

Metoclopramide (Sigma): 15mg/kgBW + GnRH α (D-ala⁶) (Sigma): 20 μ g/KgBW

טיפולם

1. 6 נקבות GnRh ואנטי דופומין Metoclopramid עם 6 זכרים Fsh.

2. 6 נקבות GnRh ואנטי דופומין Metoclopramid עם 6 זכרים LH.

3. 6 נקבות ללא הזרקה עם 6 זכרים LH.

4. 6 נקבות ללא הזרקה עם 6 זכרים ללא הזרקה.

טיפולים 1+2 באותה מערכת מים וטיפולים 3+4 באותה מערכת מים.



תמונה 1: הזרקת דג שושנון מורדם

יצירת זוגות באופן טבעי

6 אקווריומים בחדר הורים בנפח של 200 ליטר בשלושה 2 נקבות ו- 6 זכרים ו-3 אקווריומים 2 נקבות ו-8 זכרים. הדגים בוגרים (בני שנה עד שנה וחצי). בכל אקווריום 2 שושנות, שלושה כדי חמר ושני אריחים. נערך מעקב יומיומי אחרי אקווריומי הדגים והוצאו דגים פצועים ו/או חולים ודגים שאובחנו כזוגות. לאחר חודש הוספנו 4 אקווריומים נוספים עם קבוצות של 20 דגים צעירים בני 6 חודשים בכל אקווריום 2 שושנות, שלושה כדי חמר ושני אריחים. נערך מעקב יומיומי אחרי אקווריומי הדגים והוצאו דגים פצועים ו/או חולים.

תוצאות

עידוד רבייה בעזרת הורמונים: לא נצפו כל הטלות באף אחד משילובי הטיפוליים ההורמונליים שניתנו לדגים. בתאריכים 22/2/13 ו- 28/2/13 הועבר זוג מכל טיפול לחדר ההורים (סה"כ 8 זוגות). על מנת לבחון האם השינוי בתנאים ישפיע על הכניסה להטלות. אך לא ארע דבר ועד היום זוגות אלו לא הטילו.

יצירת זוגות באופן טבעי: במהלך החודש הראשון של הניסוי הוצאנו דגים פצועים ורזים והחלפנו בחדשים. לאחר חודש נתנו לסלקציה הטבעית באקווריומים לפעול עד שהחלנו להבחין בדגים אשר גילו התנהגות של חיזור ושמירה על טרטוריה בתוך האקווריום. כחודשיים לאחר תחילת הניסוי הופרדו שני זוגות ראשונים באקווריום קיבוצי של הדגים הבוגרים. תוך מספר שבועות נוצרו שני זוגות בחמישה מששת האקווריומים של הניסוי. בשיטה זו התקבלו 10 זוגות אשר נראו פעילים באקווריום אך מתוכם התחילו להטיל רק שלושה זוגות הראשון חודשיים לאחר ההפרדה ואילו השנים האחרים רק לאחר חצי שנה. באקווריומים של הדגים הצעירים היו הרבה דגים פצועים, רזים ומתים ולא אובחנו זוגות.

דיון ומסקנות

בניגוד למצופה, שום שילוב הורמונלי לא נתן תוצאות חיוביות. גם המעבר לחדר ההורים לא שינה את התוצאות. בחדר זה נמצאים זוגות הורים המתרבים באופן קבוע כך ששם התנאים מתאימים לרבייה מכל הבחינות (טמפ', תאורה, מליחות הזנה וכו') מערכת המים משותפת כך שבמידה וישנה השפעה הורמונאלית העוברת במים היינו מצפים כי הזוגות יכנסו למחזורי הטלה.

מכיוון שאף אחד מהזוגות, כולל הביקורת, לא החל להטיל, יתכן שהבעיה הינה בדגים עצמם – יתכן שהנקבות שכולן מאותם הורים אינן פוריות מסיבה לא ידועה.

לגבי חומר ההרדמה MS-222 יש צורך לכייל כמויות לצורך הרדמה. לא ידועה הכמות לשימוש בדגי שושנון. בניסוי זה שמנו חומר עד שהדגים הראו סימני טשטוש ללא מינון מדייק.

הניסיון להביא את הדגים ליצירת זוגות פעילים בדרך טבעית יותר אשר מחקה את הדרך ליצירת הזוגות בטבע, לא צלח. הרבה דגים הותקפו, נפצעו ומתו בתהליך זה ומרבית הזוגות שנוצרו נכנסו למחזור ההטלה רק כחצי שנה לאחר יצירת הזוג ורובם לא התחילו להטיל כלל.

לסיכום, הניסיון לשפר את משך הזמן שלוקח לזוג להיכנס למחזור הטלה ואת מספר הזוגות המטילים מתוך כלל הזוגות בחדר ההורים לא צלח, למרות שני כיווני העבודה השונים אשר ניסינו לבחון.

תודות

תודה מקרב לב לפרופ' חנה רוזנפלד וד"ר איריס מאירי מהמכון לחקר הימים והאגמים באילת על העזרה הרבה בהעמדת הניסוי.

מקורות

קחל ר', שגב ר', גור ט', אזולאי ד', פימנטה ל', הרפז ש', איצקוביץ י' וכרמלי ע' 2008, סקר שווקים - דגי נוי ימיים. סיכום עונת מחקר 2007/8, מו"פ ערבה תיכונה וצפונית.

Marjani M., Jamili S., Mostafavi P. G., Ramin M and Mashinchian A. 2009, Influence of 17-Alpha Methyl Testosterone on Masculinization and Growth in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Iranal of Fisheries and Aquatic Science*, 4(1):71-74.

Lee C. S., Weber G. M and Tamaru C. S. 1986, Effect of orally-administered 17^α- methyltestosterone on spermatogenesis in immature milkfish, *Chanos chanos* Forsskal. *Journal of Fish Biology*, 29: 567-572.

פרטי הדו"ח באנגלית

Promotion of reproduction in *Amphiprion ocellaris* by hormones

Nitzan Reiss Hevlin, Tal Gur, Moti Userovich, Dan Popper and Andrea Enzmann – Central and Northern Arava R&D

Keywords: *Amphiprion ocellaris*, hormone, fish breeding.