

بررسی کاربرد هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول در ماده سازی ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

طاهره ناجی^{۱*}
پریسا نجات خواه معنوی^۲
کمیل رزمی^۳

تاریخ پذیرش: ۸۶/۸/۲۱

تاریخ دریافت: ۸۶/۴/۵

چکیده

در این تحقیق اثرات هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول برای ماده سازی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان در مرحله جذب کیسه زرده مورد ارزیابی قرار گرفت و رابطه بین مدت زمان غوطه‌وری و درصد تغییر جنسیت در این ماهی بررسی شد. بدین منظور، ۴۰۰ قطعه لارو دارای کیسه زرده (*Sac fry*) در ۴ تیمار جداگانه به طور مساوی تقسیم شدند. بررسی طی یک مرحله و در طول زمان‌های گوناگون در حمام حاوی ۴۰۰ $\mu\text{g/lit}$ هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول به روش غوطه‌وری انجام یافت. بدین ترتیب که تیمار ۱ به مدت ۱ ساعت، تیمار ۲ به مدت ۲ ساعت، تیمار ۳ به مدت ۴ ساعت و تیمار ۴ به مدت ۸ ساعت در معرض هورمون قرار گرفتند و تیمار ۵ نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تلفات در تیمار چهارم پس از دو روز آغاز و پس از یک ماه ۱۰۰٪ لاروها تلف شدند، تلفات در تیمار سوم پس از یک هفته شروع شد و پس از ۴۳ روز ۱۰۰٪ آن‌ها تلف شدند. لازم به ذکر است در دو تیمار فوق لاروهای دارای کیسه زرده دیرتر از تیمار شاهد کیسه زرده را جذب کردند. نتایج حاصل از نشان داد که ۷۴/۳٪ تیمار ۱ و ۹۴/۴٪ تیمار ۲ ماده شده بودند. مقایسه این نتایج با نسبت جنسیت در گروه شاهد که شامل ۳۵٪ ماهی ماده و ۶۵٪ ماهی نر بود، نشان داد که غوطه‌ور کردن لاروهای دارای کیسه زرده در حمام هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول می‌تواند منجر به تغییر جنسیت ماهیان گردد. تلفات در دو تیمار ۱ و ۲ کاملاً عادی و شبیه تلفات تیمار شاهد بود و اختلاف معنی داری در میانگین وزن و طول ماهیان تیمارهای غوطه‌وری در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده گردید ($P < 0/05$).

واژه های کلیدی: ماهی قزل آلابی رنگین کمان، ماده سازی، تغییر جنسیت، ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول، غوطه‌وری.

۱- استادیار، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران* (مسئول مکاتبات)

۲- استادیار، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- کارشناس ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

ولی پس از آن محققان زیادی به اهمیت اقتصادی کنترل جنسیت در ماهیان پرورشی پی بردند (4).

Anderson در سال 1996 تیمارهای متفاوتی را تحت تجویز خوراکی به وسیله هورمون استرون قرار داد که با مرگ و میر زیاد و کاهش رشد مواجه شده بود (5).

Chang در سال 1995، تخم های چشم زده و لاروها را در محلول هورمونی ۱۷-بتاسترادیول غوطه ور ساخت که نتایج بسیار موفقیت آمیز بود (6).

پس از گذشت بیش از ۵۰ سال از این تلاش ها برای القای جنسیت بر روی ماهیان استفاده از هورمون اتینیل استرادیول به عنوان هورمون سنتتیک و جدید، تجربه ای نو در عرصه تغییر جنسیت خانواده آزادماهیان است. هدف از این تحقیق نیز بررسی اثر هورمون اتینیل استرادیول بر میزان در صد ماده سازی ماهی قزل آلی رنگین کمان و تاثیر آن بر ساختار گناد می باشد به این امید که باز هم نتایج و پیشرفت هایی در این زمینه به وجود آید.

مواد و روش کار

تحقیق در ۱۲۰ کیلومتری شهر تهران در یکی از نقاط کوهستانی رشته کوه البرز در مزرعه پرورش قزل آلی رنگین کمان شرکت زر قزل هراز در تاریخ اردیبهشت ماه ۱۳۸۵ انجام گرفت. آب مصرفی سالن تکثیر مزرعه از چندین چاه کم عمق تأمین می شد که از دما و شفافیت ثابتی برخوردار بود. دمای آب در زمان انجام آزمایش کمی بیش از ۱۰ درجه سانتی گراد و اکسیژن اشباع ورودی آب ۱۰۳٪ (فوق اشباع) و اکسیژن آب خروجی از تراف ها ۸۴٪ بود.

pH آب نیز در زمان انجام آزمایش ۷/۵ بود. لاروهای دارای کیسه زرده مورد آزمایش از تخم های واسط فصل تکثیر همان مزرعه انتخاب شدند. مولدهای نر و ماده کاملاً سالم بوده و بین ۴ تا ۵ سال سن داشتند. تخم های سبز دارای تلفات عادی بوده و در هنگام چشم زدن وزن ۱۰ قطعه از آن ها به

گزارش های FAO در مورد ارقام پرورش آب زیان در ۱۰ سال گذشته نشان می دهد که قزل آلی رنگین کمان و در کل خانواده آزادماهیان گونه بی رقیب از نظر مقدار تولید جهانی در میان رقبای خود بوده و از اقبال عمومی در میان مصرف کنندگان در دهه اخیر برخوردار بوده است.

تعدد مقالات و گزارش های علمی کارشناسان و صاحب نظران در زمینه تکثیر و پرورش نیز نشان از اهمیت این گونه برای آنان داشته است. آمارها نشان می دهد بیشترین فعالیت های تحقیقاتی و مقالات چاپ شده در مورد پرورش آب زیان مربوط به جیره غذایی قزل آلی رنگین کمان پرورشی است.

محققان در زمینه های بسیار گوناگونی سعی در بهبود کیفیت پرورش و افزایش تولید داشته اند. موارد بسیاری از قبیل مطالعه در مورد بهبود کیفیت لاشه، بهبود ضریب تبدیل غذایی، بهبود کیفیت تخم ها، افزایش زادآوری مولدین و کنترل جنسیت مدنظر دانشمندان و محققان بوده است. کنترل جنسیت نیز از چندین دهه پیش با هدف کوتاه تر شدن دوره رشد و افزایش سرعت تولید و کاهش بیماری های محیطی مورد آزمایش قرار گرفت (۱). مطالعات نشان داده است که جنس ماده در آزاد ماهیان به دلیل تأخیر در بلوغ جنسی نسبت به جنس نر (یک سال) دارای ضریب تبدیل بهتری است و از نظر مقابله با بیماری های محیطی نسبت به جنس نر توان مقاومت بیشتری دارد. در کل، جمعیت های تک جنسی در آب زیان، همزیستی بهتری با هم دارند و در هنگام بروز تنش های محیطی همدیگر را کمتر مورد حمله قرار داده و به یکدیگر کمتر لطمه می زنند (۲). به همین دلایل بود که دانشمندان مطالعات خود را در مورد تغییر جنسیت قزل آلی رنگین کمان آغاز کردند.

اولین مطالعات تغییر جنسیت در سال 1969 توسط Yamamoto انجام گرفت. او برای اولین بار موفق به القای تغییر جنسیت در ماهیان با استفاده از تیمار تغذیه ای هورمون های استروئیدی شد (3).

لاروها در طول مدت رشد تا رسیدن به اندازه ۳ گرم توسط غذای بیومار تغذیه شدند و بعد از آن از مخلوط غذای بیومار و چینه مصرف شد و در تاریخ ۸۵/۶/۳۰ صید و برای تشریح و کالبد شکافی به آزمایشگاه منتقل شدند. برای بررسی و تشریح ماهی های تیمارهای اول و دوم از هر تیمار ۴۰ عدد بچه ماهی صید و به آزمایشگاه منتقل گردید که از هر تیمار، دستگاه تناسلی ۴ قطعه بچه ماهی به دلیل کوچک بودن به صورت کامل و سالم از بدن خارج نشد و تشخیص جنسیت ممکن نگردید.

نتایج

نتایج حاصل نشان داد در تیمار اول که به مدت یک ساعت در حمام هورمون حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ غوطه‌ور شده بودند از ۳۵ قطعه لارو، ۲۶ قطعه ماده و ۹ قطعه نر بودند ($25/7\%$ نر و $74/3\%$ ماده). تلفات در تیمار اول نسبت به تیمار شاهد عادی بود و افزایش قد و وزن نیز محسوس بود.

در تیمار دوم که لاروهای دارای کیسه‌زرده به مدت دو ساعت در حمام حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ هورمون غوطه‌ور شدند، از ۳۶ قطعه لارو، ۳۴ قطعه ماده و ۲ قطعه نر شناسایی شد ($94/4\%$ ماده و $5/6\%$ نر) و تلفات کاملاً عادی بود. افزایش قد و وزن محسوس، اما کمتر از میزان افزایش قد و وزن تیمار اول بود.

در تیمارهای سوم و چهارم که لاروها به ترتیب به مدت چهار و هشت ساعت در حمام حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ هورمون غوطه‌ور شدند در هر دو تیمار ۱۰۰٪ تلفات مشاهده شد (نمودارهای ۱ تا ۳ و جدول ۱).

لاروهای تیمار سوم و چهارم دیرتر از تیمار شاهد کیسه زرده خود را جذب کرده و شنای فعال را نیز دیرتر آغاز کردند، حتی بعضی از لاروها بدون داشتن توانایی برای شنای فعال از بین رفتند. لاروهای تیمار سوم و چهارم قبل از مرگ کاملاً بی‌حرکت بوده و فقط در صورت ایجاد ضربات مکانیکی شروع به حرکت سریع و مقطعی می‌کردند.

یک گرم می‌رسید. در مدت زمانی که تخم‌ها سبز بودند هفته‌ای سه روز با مالاشیت‌گرین به مقدار 1ppm ضدعفونی می‌شدند. تخم‌های سبز و چشم زده در محیط کاملاً تاریک نگه‌داری شده و هورمون‌تراپی هفت روز پس از تخمه‌گشایی صورت گرفت.

چند روز قبل از هورمون‌تراپی ۲۰۰۰ قطعه لارو دارای کیسه زرده جدا و در پنج سبد تقسیم شدند. در هر سبد ۴۰۰ قطعه لارو دارای کیسه زرده قرار داده شد و ۴ تیمار برای هورمون‌تراپی و یک تیمار به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تیمار اول به مدت یک‌ساعت، تیمار دوم دو ساعت و تیمار سوم و چهارم به ترتیب به مدت چهار و هشت ساعت، در حمام حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ هورمون غوطه‌ور گردیدند.

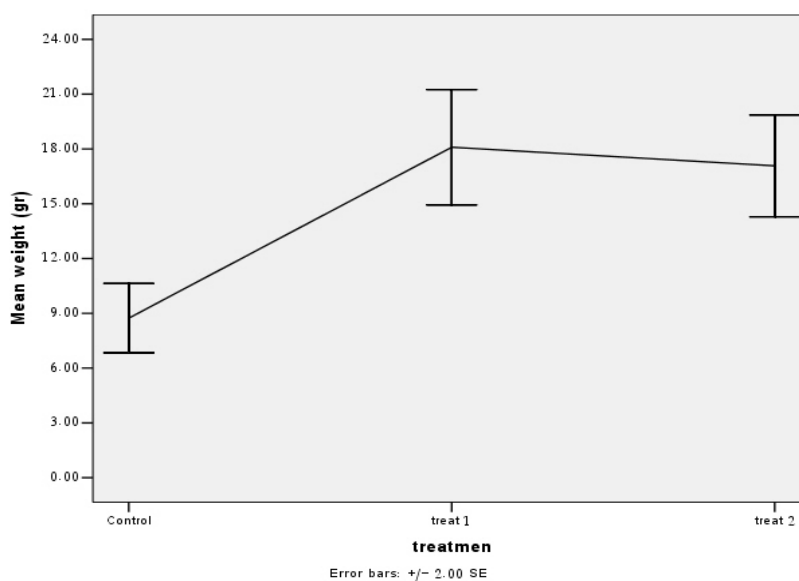
برای حل کردن هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول از اتانول ۹۶٪ استفاده شد. برای غوطه‌وری، یک تشت ۷۰ لیتری تا ۵۰ لیتر از آب سالن تکثیر پر شد. مقدار محلول هورمونی به آب اضافه و بخوبی مخلوط شد، در طول هورمون‌تراپی از هوادهی به وسیله پمپ هوا استفاده گردید. در این تحقیق دو نوع تیمار شاهد وجود داشت که یک تیمار شاهد لاروهای داخل سالن بودند که از همان مولدهای مشابه گرفته شده و در تراف‌ها نگه‌داری می‌شدند، به عبارت دیگر این تیمار شاهد وضعیت معمول سالن تکثیر بود. تیمار شاهد دوم بدین ترتیب بود که تمام مراحل که در مورد تیمارهای هورمون‌تراپی شده صورت می‌گرفت در مورد این تیمار شاهد نیز انجام می‌یافت، با این تفاوت که فقط مقدار مشخصی الکل با آب تانکر مخلوط شده و تیمار شاهد غوطه‌ور می‌گردید.

لاروهای دارای کیسه زرده در داخل سبد نگه‌داری می‌شد تا تراف‌ها راحت‌تر تمیز گردد، تراف‌ها را هفته‌ای دوبار تمیز می‌شد و بعد از این که لاروها به طور کامل کیسه زرده را جذب کردند، تا رسیدن به وزن ۴ گرم، هر دو هفته یک بار با فرمالین ۴۰٪ ضدعفونی می‌گردید. لازم به ذکر است، هورمون به صورت پودر خالص از شرکت داروسازی ایران هورمون و غذای مورد نیاز از کارخانه بیومار فرانسه و کارخانه چینه در اندازه‌های SFT و FFT تهیه شد.

جدول ۱- بررسی القای جنسیت به وسیله هورمون اتینیل استرادیول با توجه به مقدار تجویز هورمون و مدت زمان غوطه‌وری

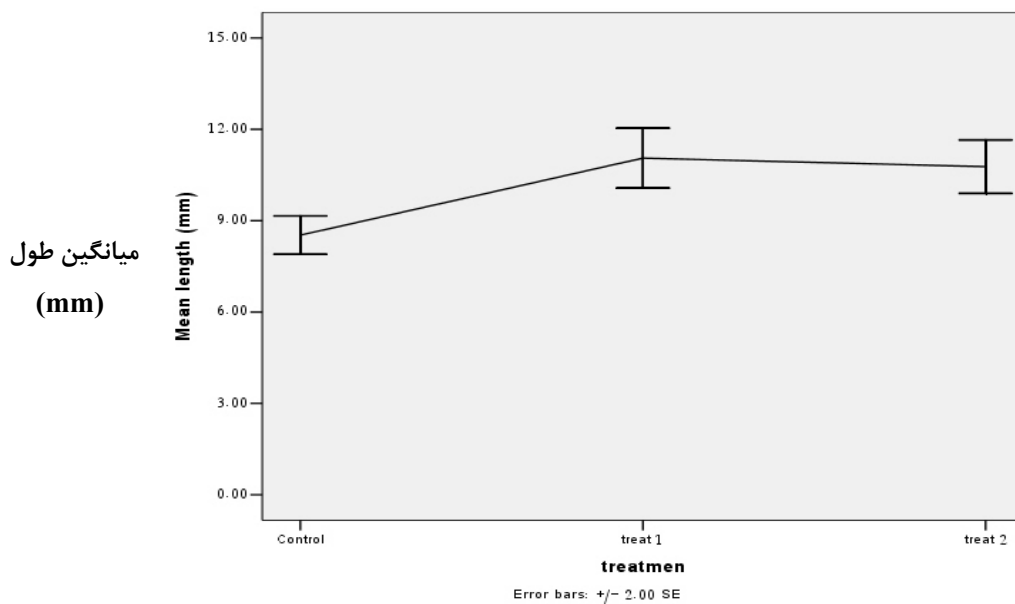
ردیف	تیمار	مقدار هورمون تجویز شده (µg/lit)	مدت زمان غوطه‌وری (ساعت)	بررسی جنسیت پس از هورمون‌تراپی	
				ماده (%)	نر (%)
۱	اول	۴۰۰	۱	۷۴/۳	۲۵/۷
۲	دوم	۴۰۰	۲	۹۴/۴	۵/۶
۳	سوم	۴۰۰	۴	۱۰۰٪ لاروها به دلیل مسمومیت تلف شدند	
۴	چهارم	۴۰۰	۸	۱۰۰٪ لاروها به دلیل مسمومیت تلف شدند	
۵	شاهد	-	-	۳۵٪	۶۵٪

میانگین وزن (gr)



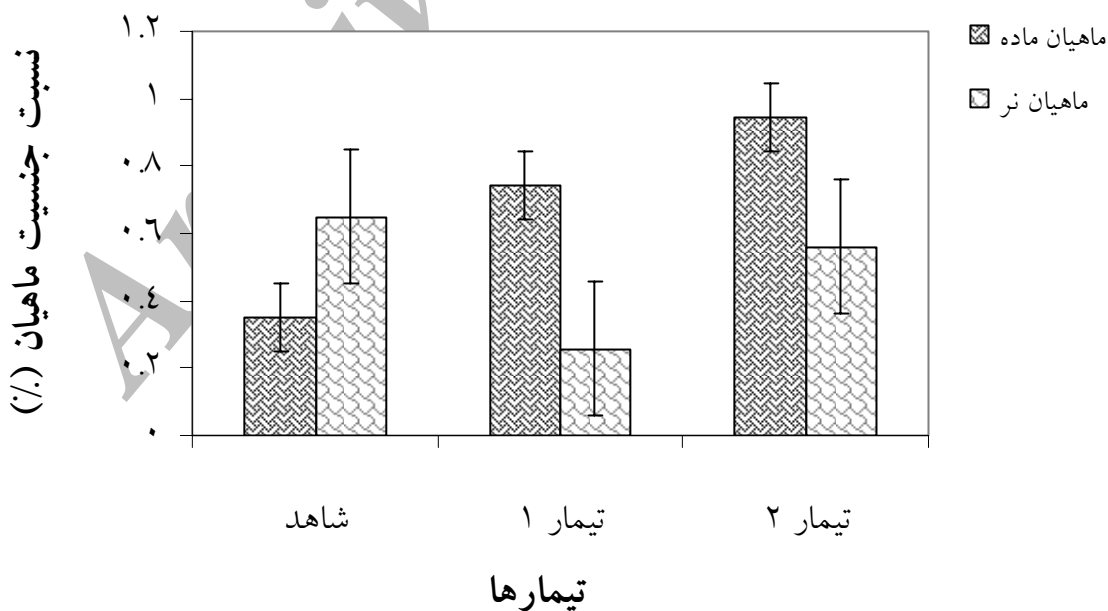
تیمارها

نمودار ۱ - مقایسه میانگین وزنی ماهیان تحت تیمار با هورمون ۱۷-آلفا اتینیل استرادیول نسبت به گروه شاهد



تیمارها

نمودار ۲- مقایسه میانگین طولی ماهیان تحت تیمار با هورمون ۱۷-آلفا تینیل استرادیول نسبت به گروه شاهد



نمودار ۳ - مقایسه نسبت جنسیت ماهیان گروه شاهد و ماهیان تحت تیمار در زمان یک ساعت (تیمار ۱) و دو ساعت (تیمار ۲)

بحث

Yamazaki در سال ۱۹۸۳ و Lange در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که توانایی استروئیدهای طبیعی و ساختگی در ایجاد تغییر جنسیت متفاوت است (۷و۸).

Piferrer در سال ۲۰۰۳ و Hunter در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که تأثیر زیاد تجویز خوراکی و حتی غوطه‌وری استروئیدهای ساختگی در مقایسه با استروئیدهای طبیعی تا اندازه‌ای به مقاومت آن‌ها در برابر تجزیه شدن در بدن و در طول مدت هضم بستگی دارد، لذا هورمون‌های ساختگی نسبت به هورمون‌های طبیعی آهسته‌تر دفع می‌شود و زمان بیشتری در بدن می‌ماند (۱۰ و ۹).

در گذشته تهیه استروژن‌های مصنوعی از منابع تجاری به راحتی امکان‌پذیر نبود و از نظر توانایی در جنبه‌های مختلف تولیدمثل مانند تولید زرده و یا تولید فرمون‌هایی که ماهی نر را جذب می‌کند مانند انواع طبیعی خود عمل نمی‌کرد، از طرف دیگر این هورمون مصنوعی بسیار قوی بوده و دستیابی به مقدار مطلوب برای گونه‌های مختلف مشکل بوده است (۷). با توجه به این که هورمون اتینیل استرادیول از دسته هورمون‌های استروئیدی می‌باشد که به صورت سنتتیک تولید می‌شود. مکانیسم هورمون‌های استروئیدی به این صورت است که پس از اتصال گیرنده با هورمون در سیتوزول سلول گونادوتروف، گیرنده دستخوش تغییرات ساختمانی خاص شود. در نتیجه کمپلکس گیرنده-هورمون توانایی اتصال با بخش‌هایی از DNA را پیدا نموده که معروف به جایگاه‌های پذیرنده (Receptor site) می‌باشد. به دنبال این اتصال، سطح فعالیت RNA پلیمراز II به شدت افزایش یافته که منجر به افزایش تولید mRNA می‌شود. در نهایت با تحریک هستک تولید RNA افزایش یافته و فعالیت سنتر پروتئین درون سلولی را افزایش می‌دهد. تنظیم فعالیت هورمون‌های استروئیدی در سطح گیرنده‌ها وابسته به تراکم هورمون موجود در بافت هدف می‌باشد. در بسیاری از موارد هورمون‌ها تحت تأثیر عوامل بافتی (نظیر آنزیم‌ها) در بافت‌های هدف تغییر ساختمان داده و اثرات بیشتری را از خود به جا می‌گذارد (۱۱).

اولسین مطالعات استفاده از هورمون مصنوعی ۱۷آلفا اتینیل استرادیول بیشتر مربوط به تیلاپیا بود. هورمون‌های مصنوعی تأثیر بیشتری نسبت به انواع طبیعی خود دارد و بیشتر برای گونه‌هایی استفاده می‌شود که مقاومت بیشتر در برابر این نوع هورمون از خود نشان می‌دهند، به همین دلیل خانواده آزادماهیان کمتر مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (۸).

تاکنون از هورمون‌تراپی به روش غوطه‌وری با هورمون ۱۷آلفا اتینیل استرادیول بر روی قزل‌آلای رنگین کمان گزارشی مشاهده نشده و در مورد هورمون‌تراپی به روش غذادهی هم گزارشها بسیار محدود است.

اثر هورمون ۱۷آلفا اتینیل استرادیول در ماهیان متفاوت می‌باشد. تأثیر اتینیل استرادیول بدین صورت است که مصرف هورمون در حالت بیش از حد بهینه (بیشینه) به دلیل مسمومیت باعث تلفات نسبتاً زیاد می‌شود. اما مصرف هورمون در حد کمی بیش از بهینه موجب کاهش تغییر جنسیت می‌گردد که این اثر بسیار گمراه کننده است چون همانند تأثیر هورمون در هنگامی است که کمتر از حد بهینه تجویز شود (۸)، به همین دلیل از چهار تیمار با فواصل نسبتاً نزدیک برای پیدا کردن نقطه بهینه (optimum) استفاده گردید.

نتایج حاصل از این بررسی که با هدف مطالعه مقدماتی تأثیر هورمون مصنوعی ۱۷آلفا اتینیل استرادیول بر تغییر جنسیت رشد و بازماندگی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان انجام گرفت، نشان داد که تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد کاملاً تحت تأثیر هورمون قرار گرفته‌اند، تأثیرپذیری تا آن جا پیش رفته است که از چهار تیمار، دو تیمار به طور کامل تلف شدند، تلفات لاروهای *O. shawitcha* در اثر هورمون‌تراپی با اتینیل استرادیول توسط Donaldson در سال ۲۰۰۳ گزارش شده است (۹).

در گزارش فوق چهار تیمار از لاروهای دارای کیسه‌زرده *O. shawitcha* را در حمام حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ هورمون در زمان‌های مختلف یک، دو، چهار و هشت ساعت غوطه‌ور کردند، که در تیمار اول ۷۰٪ و تیمار دوم ۱۰۰٪ ماده و تیمار سوم و چهارم لاروها ۱۰۰٪ تلف شدند.

تحلیل‌های آماری گزارش حاضر با استفاده از برنامه‌نرم‌افزاری SPSS و مقایسه تیمارهای شاهد و ۱ و ۲ به وسیله جدول تحلیل واریانس انجام گرفته است .
باتوجه به نتایج و آمار و ارقام به دست آمده استفاده از هورمون اتینیل‌استرادیول دو کاربرد متفاوت خواهد داشت :

۱. این نوع غوطه‌وری به دلیل کم‌بودن زمان عملیات نسبت به غوطه‌وری‌های دیگر عملی تر و انجام آن برای کارکنان مراکز تکثیر و پرورش آسان تر است .
۲. به دلیل افزایش محسوس در قد و وزن لاروها پس از هورمون‌تراپی آزمایش‌ها می‌تواند فقط به عنوان بهبود وضعیت رشد لاروها نیز انجام پذیرد .

استفاده از هورمون اتینیل‌استرادیول در تغییر جنسیت ماهیان تجربه کاملاً جدیدی در ایران است و حتی در جهان نیز کمابیش ناشناخته است و می‌تواند این تحقیق دارای نواقصی باشد. در پایان باید گفت این پژوهش بیشتر به عنوان معرفی این هورمون و مقدمه‌ای بر تحقیقات آینده است .

پیشنهادها

به منظور کسب نتایج بهتر در تحقیقات آینده در مورد القای تغییر جنسیت به وسیله هورمون اتینیل‌استرادیول چند مورد پیشنهاد می‌شود:

۱. بهتر است از لاروهایی استفاده شود که در هنگامی که تخم سبز بوده‌اند دارای تلفات عادی باشند .
۲. جهت کاهش استرس در طول مدت دوره هورمون درمانی بهتر است تماماً از غذای مکمل و زنده استفاده گردد.
۳. بهتر است تا جذب کامل کیسه زرده از مالاشیت‌گرین جهت ضدعفونی استفاده نشود و در صورت لزوم آب اکسیژنه مناسب‌تر است .
۴. در مدت هورمون درمانی تمیز بودن ترف تیمارها کمک زیادی به نتیجه آزمایش می‌کند .

در دو تیمار اول افزایش قد و وزن نیز گزارش شد (تحقیق مذکور بر اساس گزارش‌های هانتر و دونالدسون انجام شده است) . در همان سال Donaldson و همکاران (۲۰۰۳) آزمایش مشابه را با هورمون ۱۷بتاسترادیول که نوع طبیعی اتینیل‌استرادیول است ، انجام دادند و در حمام حاوی $400 \mu\text{g/lit}$ هورمون تعدادی لارو دارای کیسه‌زده را یک، دو، چهار و هشت ساعت غوطه‌ور کردند که در تیمار چهارم (۸ساعت غوطه‌وری) ۱۰۰٪ لاروها ماده شده بودند و سه تیمار دیگر به مقدار کمتری دچار تغییر جنسیت شده بودند (۹) ، بدین ترتیب می‌توان قدرت اثرپذیری دو هورمون را با هم مقایسه نمود .

در گزارش دیگری هورمون‌تراپی به وسیله اتینیل‌استرادیول درمورد لاروهای دارای کیسه‌زده قزل‌آلا انجام گرفت، بدین ترتیب که چهار تیمار به مدت ۶ روز و هر روز به مدت دو ساعت با دوزهای ۰/۲۵ ، ۰/۵ ، ۱ و $2 \mu\text{g/lit}$ غوطه‌ور شدند که تغییر جنسیت در تیمارها خیلی چشمگیر نبود و درصد بازماندگی در چهار تیمار بسیار پایین بود، چنان‌چه در گزارشات انجام شده غوطه‌وری مزمن را با گزارش غوطه‌وری حاد مقایسه کنیم می‌توان نتیجه گرفت که لاروها در برابر افزایش زمان غوطه‌وری با اتینیل‌استرادیول واکنش منفی نشان می‌دهند. هرچند که مقدار تجویز بسیار کم باشد، اما اگر در زمان بسیار کم و با مقدار هورمون بیشتر مورد آزمایش قرار گیرند، دچار تلفات کمتر و اثرپذیری بیشتر می‌شوند.

می‌توان ادعا کرد که در میان استروژن‌های طبیعی و مصنوعی که برای تغییر جنسیت به کار می‌رود، مصرف اتینیل‌استرادیول باعث افزایش قابل توجه در قد و وزن ماهیان می‌گردد . Donaldson و همکاران هم در گزارش‌های خود این موضوع را تأیید می‌کنند (۱۰) .

Matty در سال ۱۹۷۸ در مورد تأثیر استروژن‌ها بر روی رشد معتقد است که استروژن‌ها با ایجاد تغییرات داخلی در هورمون رشد ، انسولین و هورمون‌های تیروئیدی باعث افزایش رشد می‌شوند (۱۲) ، اما اگر نمودارهای آماری این گزارش را در مورد بررسی قد و وزن بررسی کنیم بین افزایش رشد با افزایش مقدار هورمون رابطه معنی‌داری وجود ندارد.

