وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – ایستگاه تحقیقاتی ماهیان آب شور داخلی

عنوان :

بررسی روش‌های تولید تک‌جنس نر تیلاپیای سیاه (*Oreochromis niloticus*) در شرایط آب لب‌شور بافق

مجری :
احمد بیطرف

شماره ثبت
٤٠٩١٣

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور ـ ایستگاه تحقیقات ماهیان آب شور داخلی

عنوان پروژه : بررسی روش‌های تولید تک‌جنس نر تیلاپیای سیاه (*Oreochromis niloticus*) در شرایط آب لب‌شور بافق
شماره مصوب : ۸۸۰۱۵-۸۷۰۳-۱۲-۱۲-۱۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : احمد بیطرف
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : احمد بیطرف
نام و نام خانوادگی همکاران : نسرین مشایی - حبیب سرسنگی علی‌آباد- محمد محمدی- مرتضی علیزاده – فرهاد رجبی‌پور- مصطفی شریف‌روحانی
نام و نام خانوادگی مشاوران : -
نام و نام خانوادگی ناظر : -
محل اجرا : استان یزد
تاریخ شروع : ۸۸/۴/۱
مدت اجرا : ۲ سال
ناشر : موسسه تحقیقات شیلات ایران
شمارگان (تیتراژ) : ۲۰ نسخه
تاریخ انتشار : سال۱۳۹۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ه و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری»

پروژه : بررسی روش‌های تولید تک‌جنس نر تیلاپیای سیاه (*Oreochromis niloticus*) در شرایط آب لب‌شور بافق

کد مصوب :۸۸۰۱۵-۸۷۰۳-۱۲-۱۲-۱۲

شماره ثبت (فروست) :۴۰۹۱۳ تاریخ : ۹۱/۳/۲۰

با مسئولیت اجرایی جناب آقای احمد بیطرف دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته دامپروری می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیـــان در تاریخ ۹۰/۱۱/۲۵ مورد ارزیابی و با نمره ۱۷/۷ و رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز□ ایستگاه■

با سمت رئیس ایستگاه تحقیقات ماهیان آب شور داخلی- بافق مشغول بوده است.

به نام خدا

عنوان	«فهرست مندرجات »	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۳
۱-۱- مروری بر پژوهش‌های گذشته ۵
۲- مواد و روش‌ها ۱۶
۱-۲- مواد و وسایل بکاررفته ۱۶
۲-۲- روش‌ها ۱۹
۳- نتایج ۲۵
۱-۳- داده‌های حاصل از زیست‌سنجی و تعیین جنسیت بچه‌ماهیان ۲۵
۲-۳- داده‌های حاصل از اندازه‌گیری سنجه‌های فیزیکی- شیمیایی آب ۳۴
۴- بحث و نتیجه‌گیری ۳۹
۱-۴- آزمایش ۱ ..... ۴۰
۲-۴- آزمایش ۲ ..... ۴۳
۳-۴- آزمایش ۳ ..... ۴۵
پیشنهادها ۵۰
منابع ۵۳
چکیده انگلیسی ۵۵

چکیده

هدف از این پژوهش که دربرگیرنده ۳ آزمایش جداگانه بود بررسی اثرات دزهای مختلف هورمون آندروژنیک ۱۷- آلفا متیل تستوسترون سنتتیک (MT) و ترکیب آنتی‌آروماتاز لتروزول بصورت خوراکی، و اثر هورمون متیل دای هیدرو تستوسترون (MDHT) یا مستانولون بصورت غوطه وری بر نرسازی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تحت شرایط پرورش در آب لب شور بافق بود. این۳ آزمایش هر یک دربرگیرنده ۵ تیمار با ۳ تکرار بود که در آغاز هر آزمایش شمار ۱۷۲۵ لارو بطور تصادفی در ۱۵ تکرار توزیع شد. طول دوره هر آزمایش ۴۵ روز و میانگین دما، شوری، pH و اکسیژن محلول در آب به ترتیب ۲۶/۹ سانتی‌گراد، ۸ گرم در لیتر، ۷/۶ و ۵/۷۸ درصد بود.

در آزمایش ۱ تاثیر هورمون MT در ۳ تیمار آزمایشی مختلف دربرگیرنده ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بررسی شد. بچه ماهیان تغذیه شده در گروه آزمایشی ۱ (سطح ۴۰ میلی گرم) صددرصد نرسازی شدند در حالی در گروه های آزمایشی ۲ و ۳ جمعیت نرها ۹۹/۷ و ۹۶/۲ درصد بود. از نظر آزمون دانکن میانگین‌های وزن و طول کل بدن در گروه های مختلف در بیومتری ۳ (آخرین بیومتری) با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند اما در بیومتری ۲ تنها در تیمار آزمایشی ۱ بطور معنی‌دار کمتر از سایر گروه ها بود ($P<0.05$). از نظر آزمون مربع کای (chi-square) میزان بازماندگی در گروه‌های مختلف این آزمایش دارای تفاوت معنی‌دار بود($\chi^2=31.166, P<0.05$) که میزان آن درگروه آزمایشی ۱ و ۳ (به ترتیب ۷۴/۵ و ۸۲/۹ درصد) کمتر از گروه‌های آزمایشی ۲ و تیمارهای شاهد ۱ و ۲ (به ترتیب ۸۴/۳، ۸۹/۰ و ۸۷/۰ درصد) بود.

در آزمایش ۲ تاثیر هورمون MDHT در ۲ تیمار آزمایشی گوناگون (غوطه‌وری ۱ بار در روز ۱۰ ، و غوطه‌وری۲ بار روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از لقاح در محلول آبی ۱۸۰۰ میکروگرم در لیتر MDHT) به مدت ۴ ساعت بررسی شد. میزان نرسازی در تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب ۸۰/۰ و ۹۱/۹ درصد بود. از نظر آزمون دانکن بین میانگین‌های وزن زنده و طول کل بدن بین تیمارها در بیومتری ۲ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت اما تنها برای میانگین های طول کل بدن در بیومتری۳ تفاوت معنی‌دار بود ($P<0.05$) بطوریکه بیشترین میانگین در تیمار شاهد ۱ و آزمایشی ۱ و کمترین آن در تیمار آزمایشی ۲ دیده شد. میزان بازماندگی در گروه‌های مختلف این آزمایش

از نظر آزمون مربع کای دارای تفاوت معنی‌دار بود (χ^2=15.165, P<0.05) که میزان آن درگروه‌های آزمایشی ۱ و شاهد ۲ و ۳ (به ترتیب ۸۹/۹، ۸۶/۴ و ۸۹/۹ درصد) بیشتر از گروه‌های آزمایشی ۲ و شاهد ۱ (به ترتیب ۸۲/۰ و ۸۲/۳ درصد) بود.

در آزمایش۳ که تاثیر ترکیب آنتی‌آروماتاز لتروزول در ۳ تیمار آزمایشی مختلف با سطوح ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بررسی شد بچه ماهیان در گروه آزمایشی ۳ (سطح ۴۰۰ میلی‌گرم) صددرصد نرسازی شدند در حالی که این نسبت‌ها در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب۹۹/۰ و ۹۹/۶ درصد بود. از نظر آزمون دانکن بین میانگین‌های وزن زنده و طول کل بدن در تیمارهای شاهد و آزمایشی در ۲ بیومتری انجام شده ۲ و ۳ تفاوت معنی‌دار وجود داشت (P<0.05) که بیشترین مقدار در تیمار شاهد ۲ و کمترین مقدار در تیمار آزمایشی ۲ دیده شد. میزان بازماندگی در این آزمایش از نظر آزمون مربع کای در گروه‌های گوناگون دارای تفاوت معنی‌دار بود (χ^2=41.119, P<0.05) که کمترین مقداردرگروه آزمایشی ۲ (۷۶/۵ درصد) دیده شد. شایان توجه اینکه نسبت‌های جنسی افراد نر و ماده در درون گروه‌های شاهد در هر ۳ آزمایش از نظر آزمون مربع کای با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشت.

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، تحت شرایط آب لب شور ایستگاه بافق، بهره برداری از هورمون MT و آنتی‌آروماتاز لتروزول بصورت خوراکی برای تهیه جمعیت تک‌جنس تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) به منظور ارائه به مزارع پرورشی و نیز کنترل تکثیر در جهت اهداف زیست محیطی پس از مطالعات تکمیلی و رعایت کلیه موارد احتیاطی قابل توصیه است. با این وجود، برای بهره‌گیری از آنتی‌آروماتازها (بویژه لتروزول به علت محدودیت تحقیق در منابع موجود) به پژوهش‌های تکمیلی بیشتری نیاز است.

کلیدواژه‌ها: تک جنس نر، تیلاپیای نیل، ۱۷- آلفا متیل تستوسترون، متیل دای‌هیدروتستوسترون، مستانولون، افزایش وزن، طول کل بدن، آب لب شور، ایستگاه بافق

۱- مقدمه

ماهیان تیلاپیا یکی از گونه‌های آب شیرین متعلق به خانواده Cichlidae هستند. تاکنون بیش از ۷۰ گونه تیلاپیا شناسایی شده است. این ماهی بومی افریقا است اما به بسیاری از مناطق حاره، نیمه حاره و معتدل در جهان طی نیمه دوم قرن بیستم معرفی شده است (Pillay, 1990).

تاریخچه پرورش تیلاپیا به بیش از ۴۰۰۰ سال پیش، ۱۰۰۰ سال زودتر از معرفی کپور در چین، بازمی‌گردد اما اطلاعات بسیار اندکی در مورد چگونگی پرورش در عهد باستان در دست است. اولین موارد پرورش این آبزی در دهه ۱۹۲۰ میلادی در کشور افریقایی کنیا به ثبت رسیده است اما امروزه در بیش از ۱۰۰ کشور در گوشه و کنار جهان، به دور از موطن اصلی خود پرورش داده می شود. تیلاپیا بعنوان مرغ آبزی شناخته می شود زیرا از یک سو سرعت رشد آن زیاد بوده و از سوی دیگر قابلیت سازگاری به محدوده وسیعی از شرایط محیطی گوناگون مانند دما، شوری، اکسیژن محلول پایین، ... را دارد. همچنین این آبزی به تنش‌ها و بیماری‌ها مقاوم و در شرایط اسارت قادر به رشد و تولید مثل در فاصله زمانی کوتاه است. تیلاپیا توانایی استفاده از منابع غذایی فقیر را دارد و تغذیه از غذای‌های آماده شده را بی‌درنگ پس از جذب کیسه زرده آغاز می کند (El-Sayed, 2006).

مهمترین انواع تیلاپیا در آبزی پروری، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mosambicus*) و تیلاپیای آبی (*Oreochromis aureus*) می باشند. فزون بر این، شماری از آمیخته‌های تیلاپیا مانند تیلاپیای قرمز که لاروهای خود را در فضای دهان تفریخ می کنند، به این مجموعه اضافه می‌شوند که روی هم رفته نزدیک به ۹۹/۵ درصد از تولیدات جهانی تیلاپیا را به خود اختصاص می‌دهند. هم‌اکنون بیشترین تولید در جهان مربوط به تیلاپیای نیل است. کشورهای آسیایی بزرگترین تولیدکنندگان تیلاپیا در جهان هستند که در صدر آنها کشور چین (نزدیک به ۴۸ درصد تولید جهانی) قرار می‌گیرد. کشورهای فیلیپین، تایلند، اندونزی و مصر در رده‌های بعدی قرار می‌گیرند. کوبا بزرگترین تولیدکننده تیلاپیای آبی (*O. aureus*) و آمریکا بزرگترین واردکننده تیلاپیا در جهان هستند (Fortes, 2005).

از جمله قابلیت‌های پرورش این آبزی، رشد فزاینده تولیدات در مقیاس جهانی، معرفی متداوم آن به مناطق جدید جغرافیایی در جهان و تولید تیلاپیای نر اصلاح‌شده (GMT) است. احتمالا تولید GMT به عنوان یک پیشرفت و

دست آورد فنی، در آینده نزدیک موجب توزیع این سویه در جهان خواهد شد اگرچه توزیع آن هم‌اکنون در بسیاری از کشورها آغاز شده است. از اینرو، برنامه تولید این سویه در دستور کار ایستگاه تحقیقات ماهیان آب شور داخلی بافق قرار گرفت.

شایان توجه اینکه پرورش ماهی تیلاپیا در گذشته، با موفقیت چندانی توام نبود (اغلب به دلیل تکثیر بی‌رویه و غیر قابل کنترل که منجر به تولید انبوه لارو و جمعیت با رشد کم می شد) اما هم‌اکنون با پیدایش و بکارگیری تکنیک‌های مناسب این مشکل برطرف شده است. امروزه رشد در ماهیان انگشت‌قد افزایش یافته بطوریکه در یک دوره زمانی کوتاه به سایز قابل قبول تجارتی می‌رسند. برای نیل به موفقیت می‌بایست پرورش سویه‌های پررشد، دیربلوغ و ذخیره جمعیت‌های تک‌جنس نر را در دستور کار قرار دارد. برای تک‌جنس‌سازی و کنترل جمعیت از تکنیک‌های گوناگونی مانند جداسازی دستی نرها از ماده ها، دورگ گیری، تجویز هورمون‌ها و ترکیبات آنتی‌آروماتاز و دستکاری‌های ژنتیکی (مانند اندروژنر، ژاینوژنز، پلی‌پلوئیدی و ترانژنز) استفاده می‌شود (Fortes, 2005; Lutz, 2001). در پژوهش‌های گوناگونی اثرات ترکیبات آنتی‌آروماتاز مانند فادرزول (Afonso *et al*., 2001) و هورمون‌های اندروژنیک بصورت غوطه‌وری (Wassermann and Afonso, 2003) و خوراکی (Desprez *et al*., 2003) بر نرسازی گونه‌های تیلاپیا مورد آزمایش قرارگرفته که نتایج گوناگونی در برداشته است.

این پژوهش یکی از پروژه‌های طرح بررسی امکان معرفی تیلاپیا به صنعت تکثیر و پرورش آبهای داخلی مناطق کویری ایران است که از سال ۱۳۸۸ در ایستگاه بافق آغاز شد. هدف از این پژوهش بررسی اثر دزهای مختلف هورمون آندروژنیک ۱۷- آلفا متیل تستوسترون سنتتیک و اثر ترکِیب آنتی‌آروماتاز لتروزول بصورت خوراکی، و هورمون متیل دای هیدرو تستوسترون بصورت غوطه‌وری بر نرسازی تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) تحت شرایط پرورش در آب لب شور بافق بود که برای نخستین بار در کشور به منظور بومی‌سازی نتایج سایر تحقیقات بعمل آمده در جهان به اجرا درآمد.

این ماهی در دو تیپ سیاه (تیلاپیای نیل) و قرمز (آمیخته نیل با موزامبیک) در تاریخ ۱۳۸۷/۸/۲۹ از کشور اندونزی به ایستگاه بافق آورده شد. ایستگاه بافق بخاطر قرنطینه‌بودن و دوربودن از آب‌های باز محل مناسبی برای پژوهش روی گونه تیلاپیا تشخیص داده شد.

۱-۱- مروری بر پژوهش‌های گذشته

در پی انبوه پژوهش‌های انجام شده، روش‌های بی‌شماری برای کنترل جمعیت، تک‌جنس‌سازی و افزایش رشد در تیلاپیا ارایه شده است. در یک بررسی که بوسیله Fortes (2005) برای ارایه روش‌های عملی کنترل جمعیت تیلاپیای موزامبیک در جمهوری Naura انجام شد از هفت روش عمده مختلف یاد می‌شود که می‌توان برای کنترل جمعیت تیلاپیا جهت اهداف آبزی‌پروری و در پاره‌ای از موارد کنترل جمعیت و ریشه‌کنی بهره‌برداری کرد. این روش‌ها عبارتند از:

۱- صید تناوبی لاروها و ماهیان انگشت‌قد: پرورش در استخر کماکان رایج‌ترین روش پرورش تیلاپیا است که در آن یک جمعیت دو جنس تیلاپیا در استخرها ذخیره‌سازی شده و عملیات معمول پرورش اعمال می‌شود. با این وجود بجای برداشت کل محصول، جمع‌آوری لاروها و ماهیان انگشت‌قد بطور تناوبی و هر ۱ تا ۳ هفته در دستور کار قرار می‌گیرد.

۲- پرورش ماهیان تک‌جنس نر: در این روش ماهیان تک‌جنس نر در استخر ذخیره و پرورش داده می‌شوند. تک جنس سازی با هدف غلبه بر مشکل تولید مثل زیاد، تراکم شدید و نیز افزایش رشد است. بطور معمول رشد در تک جنس‌های نر دو برابر تک جنس‌های ماده است و زمانی از این روش استفاده می‌شود که در بازار تقاضا برای ماهیان درشت وجود داشته باشد. بازماندگی ماهیان به ۹۰ درصد می‌رسد و تراکم پرورش از ۱۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ قطعه در هکتار متغیر است. برای نرسازی از روش‌های گوناگونی استفاده می‌شود، اما هیچ یک از این روش‌ها به تنهایی صددرصد موثر نیستند، لذا بطور معمول از ترکیبی از چند روش استفاده می شود. روش‌های گوناگون نرسازی عبارتند از:

۲-۱- جداسازی دستی نرها: در این روش ماهیان نر به شیوه بازرسی چشمی اندام‌های تناسلی خارجی در ناحیه شکمی، پس از افزودن رنگ، از ماهیان ماده جدا می شوند. این روش نیاز به نیروی کار ماهر و آموزش‌دیده دارد و اغلب در ماهیان ۲۰ گرم به بالا و ترجیحاً ۵۰ تا ۸۰ گرم قابل انجام اما وقت‌گیر و دشوار بوده و دقت آن تنها نزدیک به ۹۰ درصد است.

۲-۲- دورگ‌گیری: بین دو زیرگونه کاملاً مشخص و متمایز اما ازنظر ژنتیکی خیلی نزدیک به یکدیگر انجام شده که درصد بالایی از ماهیان نر خواهند شد. به این ترتیب از شلوغ شدن استخر پرورش در اثر تکثیر و بدنبال آن از کاهش رشد جلوگیری می‌شود، اما دارای معایبی از جمله مشکل حفظ خلوص خونی والدین است.

۲-۳- بگارگیری هورمون: در این روش از هورمون‌ها بصورت خوراکی یا غوطه‌وری در مرحله لاروی (هنوز جنسیت لاروها مشخص نیست) استفاده می‌شود. طول دوره استفاده از هورمون اغلب۲ تا ۴ هفته است که طی آن جنسیت لاروها به نر تغییر داده می‌شود.

۲-۴- روش‌های دستکاری ژنتیکی: دربرگیرنده اندروژنز، ژاینوژنز، پلی‌پلوئیدی و ترانژنز می‌باشند. از دستکاری ژنتیکی می‌توان برای تولید تیلاپیای ابرنر(supermale) بعنوان جمعیت مولد استفاده کرد که تمامی نتاج حاصله ازاین جمعیت ۱۰۰ درصد نر خواهند شد.

۳- پرورش در قفس: در این روش ماهیان، برای دسترسی به گردش آزاد آب، درون سازه‌هایی (قفس) در بالای کف استخر ثابت و شناور می‌شوند. پرورش در قفس را می‌توان در آب‌های باز و جاری مانند ذخایر عظیم آب، رودخانه‌ها، کانال‌های خروج آب، مدخل آب بندان‌های بزرگ و خلیج‌های مصنوعی کنار ساحل انجام داد. با این سیستم امکان کنترل جمعیت تیلاپیا وجود دارد زیرا تخم‌ها پس از تخم‌ریزی از چشمه‌های قفس عبور کرده و در کف از بین می‌روند. از این گذشته در پرورش قفس سیکل تولید مثل متوقف شده و به این ترتیب مشکل کاهش رشد و تکثیر زیاد ناشی از پرورش جمعیت‌های دوجنس از بین می‌رود.

۴- پرورش در تراکم بالا: پرورش در تراکم بالا در استخر، قفس و آبراهه‌ها یک شیوه برای کنترل جمعیت تیلاپیا است زیرا تراکم بالا از تکثیر جلوگیری می‌کند.

۵- کنترل بیولوژیک: در این روش افزایش جمعیت تیلاپیا به کمک یک گونه ماهی شکارچی بالغ یا انگشت‌قد کنترل می‌شود.

۶- عقیم‌سازی: عقیم‌سازی به شیوه‌های گوناگونی انجام می‌شود. برای نمونه افزایش بذر آسیاب‌شده درخت پاپایا (pawpaw) به غذای تیلاپیا طی مدت ۳۰ روز موجب عقیم‌سازی ماهیان نر و توقف تولیدمثل می‌شود (Ekanem and Okoronkwo, 2003). پرتوافکنی از جمله روش‌های دیگر برای عقیم‌سازی است.

۷- ریشه کنی با سموم و مواد شیمیایی: از سموم ارگانیک و برخی مواد شیمیایی برای ریشه‌کنی گونه‌های مزاحم تیلاپیا که بطور مجاز و یا غیرمجاز به کشور یا منطقه‌ای وارد شده استفاده می‌شود. از این روش در مناطقی از جهان که گونه تیلاپیای موازمبیک یا آمیخته‌های آن وارد آب های باز شده استفاده شده است.

در پژوهشی Ekanem and Okoronkwo (2003) اثر تغذیه از آرد بذر گیاه Pawpaw (*Carica papaya*) را در عقیم‌سازی نرهای تیلاپیای نیل به منظور کنترل و افزایش رشد در ۲ سطح ۴/۹ و ۹/۸ گرم/کیلوگرم ماهی/ روز مورد بررسی قرار دادند. بذر این گیاه دارای ترکیباتی مانند caricacin، carpasemine و oleanolic glycoside است. به نظر می‌رسد که ترکیب آخری موجب عقیم‌سازی در تیلاپیای نر بشود زیرا اثر این گلیکوزید در عقیم‌سازی موش صحرایی به اثبات رسیده است (Das, 1980). در این پژوهش، در آکواریوم‌هایی به ابعاد ۳۰×۵۰×۹۵ سانتی‌متر ۵ ماهی نر و ۵ ماهی ماده تیلاپیا قرار گرفت و پس از یک دوره ۲ هفته‌ای سازگاری، آزمایش آغاز و به مدت ۳۰ روز انجام شد. یافته‌ها نشان داد که تخم‌ریزی ماهیان در گروه کنترل در هفته های ۲ و ۵ پس از آغاز آزمایش انجام شد در حالی که در گروه آزمایشی تغذیه شده از سطح پایین (۴/۹) ماهیان در دوره ۳۰ روزه آزمایش تخم‌ریزی نکردند اما ۳۰ روز پس از پایان آزمایش تخم‌ریزی در آنها مشاهده شد. با این وجود ۳۰ روز پس از پایان آزمایش، در گروه تغذیه شده از سطح بالا (۹/۸)، تخم‌ریزی مشاهده نشد. میزان کاهش رشد در ماهیان تغذیه شده از سطح بالا (۹/۸) معنی‌دار نبود ($P>0.05$). در پژوهشی دیگر شاخص‌های اثرگذار بر تغییر جنسیت اندروژنیک در تیلاپیای آبی (*Tilapia aurea*) بوسیله Shelton *et al.* (1981a) بررسی شد. در این مطالعه نرسازی با ۶۰ میلی‌گرم هورمون اتینیل تستوسترون (ET) در کیلوگرم غذا تحت شرایط گوناگون زمانی و دمایی انجام شد که موجب افزایش معنی‌دار نسبت نرها در گروه‌های آزمایشی مختلف نسبت به گروه شاهد شد ($P<0.05$). لاروها در دمای ۲۱ درجه در دو تیمار زمانی ۲۱ و ۲۸ روزه، صددرصد نرسازی شدند اما در همین تیمارهای زمانی شمار اندکی ماده در دمای ۳۰ درجه مشاهده شد (۲ تا ۳ درصد). تراکم ۲۶۰۰ لارو در مقایسه با تراکم ۱۶۰ لارو در مترمربع موجب کاهش معنی‌دار در رشد شد اما در نسبت‌های نرسازی تغییری دیده نشد. انتظار می‌رود که یک دوره هورمون‌درمانی ۲۱ روزه (۶۰ میلی‌گرم ET) با سطح تغذیه‌ای ۱۵٪ وزن زنده در روز و در دامنه دمایی ۲۱ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد، بطور قطع جمعیت تک‌جنس تمام نر تیلاپیای آبی را تا تراکم

۲۶۰۰ لارو در مترمربع ایجاد کند. در مطالعه‌ای Phelps *et al*. (1996b) تاثیر سطوح گوناگون متیل تستوسترون در نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل را بررسی کردند. همچنین در این پژوهش امکان نرسازی با استفاده از بیضه گاوی خشک شده به روش انجماد در ۲ نسبت غذایی ۱:۱ و ۱:۳ (غذای قزل آلا: بیضه گاوی خشک شده) آزمون شد. یافته‌ها نشان داد که استفاده از بیضه گاوی در نسبت‌های یادشده به مدت ۲۸ روز تاثیری در افزایش نرها به منظور هدف‌های کاربردی نداشت (به ترتیب ۶۴/۸ و ۵۴ درصد) اگرچه شمار نرها در نسبت ۱:۱ بطور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود (۶۴/۸ در برابر ۵۲/۴ درصد). در این پژوهش، نرسازی در بیش از ۹۷ درصد از لاروهایی که از سطوح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون MT در کیلوگرم غذا به مدت ۲۸ روز استفاده کرده بودند مشاهده شد. در پژوهشی با استفاده از یک اندروژن طبیعی، 11□-hydroxuandrotenedione (11□OHA4)، تولید درصد بالایی از نتاج نر در تیلاپیای قرمز فلوریدا (Florida red tilapia) بوسیله Desprez *et al*. (2003) بررسی شد. در نخستین گام، دز و زمان مطلوب در آزمایشگاه تعیین شد. تیمارهای آزمایشی دربرگیرنده ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم 11□OHA4 در کیلوگرم غذا بود که به لاروهای تیلاپیای قرمز فلوریدا ۱۰ روز پس از لقاح و در یک دوره زمانی ۱۰ تا ۳۵ روزه در دمای ۲۷ سانتی‌گراد تغذیه شدند. دزهای ۴۰ و ۵۰ میلی گرم در مدت ۲۱ تا ۳۵ روز موجب افزایش معنی‌دار درصد نرها در مقایسه با گروه کنترل شدند ($P<0.01$). دز ۴۰ میلی‌گرم دست‌کم طی ۲۸ روز تنها موجب انحراف معنی‌دار درصد نرها شد در حالی که دزهای پایین‌تر اثری از خود نشان نداد. تاثیر اندروژن فلوئوکسی مسترون (fluoxymesterone) بر تغییر جنسیت و رشد گنادیک تیلاپیای قرمز تایوانی (آمیخته *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) بوسیله Manosroi *et al*. (2004) بررسی شد. در این پژوهش لاروهای ۴ روزه از غذای مخلوط شده با هورمون در ۳ تیمار (غلظت های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) طی مدت ۲۱ روز تغذیه کردند. پرورش در دمای۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بیشترین درصد نرسازی مربوط به تیمار ۴۰ میلی‌گرم بود ($P<0.05$) اما در تیمارهای ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم، درصد ماهیان اینترسکس و عقیم افزایش یافت. لاروها در گروه‌های آزمایشی رشد بالاتری از گروه شاهد داشتند؛ با این وجود، تغییرات معنی‌دار در درصد بازماندگی مشاهده نشد. در این آزمایش، هیچ اثری از بقایای هورمون در ماهیان ۵ ماهه دیده نشد. در پژوهش دیگری بوسیله Wahbi and Shalaby (2010) اثر تجویز متیل تستوسترون در خوراک بر تغییر جنسیت و رشد بیضه در لاروهای ۳ گونه تیلاپیا دربرگیرنده Tilapia Nilotica، Tilapia Zillii و

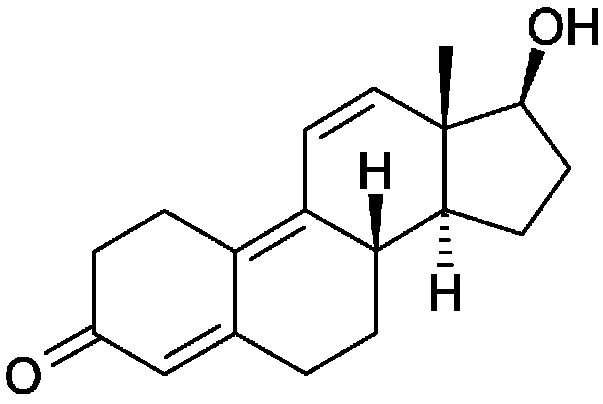
Red Tilapia مطالعه شد. لاروها ۷ روز پس از تفریخ به مدت ۲۸ روز در گروه شاهد از غذای (۳۰٪ پروتئین) بدون هورمون و در تیمارهای آزمایشی از غذای مخلوط شده با ۳ سطح ۶۰، ۱۲۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم هورمون MT در کیلوگرم تغذیه شدند. نسبت نرها در گروه های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد بطور قابل ملاحظه، ۳۰روز پس از هورمون‌درمانی افزایش یافت و در گروه ۶۰ میلی‌گرم ۸۶/۷ تا ۹۰ درصد لاروها نرسازی شدند. سطوح ۱۲۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اثر بازدارندگی روی اووژنز داشتند که شدت آن بسته به سطح اندروژن و گونه ماهی متغیر بود. نسبت نرها در این سطوح کاهش اما به نسبت ماهیان اینترسکس افزوده شد. سطح تستوسترون پلاسما در ماهیان نر ۶ ماهه گروه آزمایشی ۶۰ میلی‌گرم MT، بویژه تیلاپیای نیل و زیلی، بطور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد بود ($P<0.05$). بررسی های بافت‌شناسی در لاروهای نرسازی شده، وجود کیست‌های اسپرماتوژنیک با سلول‌هایی در مراحل اولیه رشد را تائید کرد در حالی که در کیست ماهیان نر شاهد وجود اسپرم بارز بود. حسین‌زاده صحافی (۱۳۸۹) در پژوهشی نسبت به تولید جمعیت تمام ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان به کمک هورمون طبیعی ۱۷ بتا- استرادیول اقدام کرد. یافته‌ها نشان داد که سطح ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا موجب ماده‌سازی در سطح ۹۶ درصد از جمعیت لاروها شد و بیشترین رشد نیز در این گروه دیده شد. در مطالعه‌ای بوسیله Marjani *et al.* (2009) نرسازی در لاروهای تیلاپیای موزامبیک با دزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم هورمون MT در کیلوگرم غذا انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان نرسازی در سطح ۷۵ میلی گرم رخ داد (۹۸/۰۹ درصد) و این در حالی است که رشد در این گروه ۱/۲ برابر گروه کنترل بود. همچنین در پژوهش‌های دیگری اثر هورمون‌های اندروژنیک بر نرسازی گونه‌هایی مانند تیلاپیای موزامبیک، باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) sea bass و Blue hap (*Sciaenochromis ahli*) بررسی شد (Navarro-MartÍn *et al*., 2009 and Abed Elmdoust *et al*., 2011). در پژوهشی که بوسیله James and Sampath (2006) انجام شد با برخی سطح‌های هورمون متیل تستوسترون دو گونه ماهی زینتی دم‌شمشیری قرمز (*Xiphophorus hellerii*) Red swordtail و ماهی جنگجوی سیامی(*Betta splendens*) Siamese fighting fish صددرصد نرسازی شدند.

در پژوهشی بوسیله Gale *et al.* (1999)، کارایی نر سازی در تیلاپیای نیل به شیوه غوطه‌وری کوتاه‌مدت بوسیله دو هورمون آندروژنیک سنتتیک، ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون (MT) و ۱۷ آلفا-دای متیل تستوسترون (MDHT)، در ۳

آزمایش جداگانه بررسی شد. در آزمایش نخست، لاروها برای مدت ۳ ساعت ۱۰ و ۱۳ روز پس از لقاح (DPF) در دو تیمار آزمایشی ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در لیتراز هورمون‌های MT و MDHT غوطه‌ور شدند. تیمارهای شاهد دربرگیرنده غوطه وری درآب معمولی، غوطه وری در آب معمولی و سپس تغذیه با غذای تجاری آغشته به MT (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) ۱۰ تا ۳۰ روز پس از لقاح و غوطه‌وری در محلول آبی اتانول بودند. در بقیه تیمارها لاروها از غذای بدون هورمون استفاده کردند. همه تیمارها برای مدت ۳۰ روز در ظروف ۳ لیتری (۱۰۰ لارو در هر ظرف) نگهداری شدند. در آزمایش دوم، همه عملیات گفته شده برای آزمایش نخست با دو تغییر انجام شد. در تغییر نخست تیمار شاهد دریافت‌کننده MT خوراکی حذف و در تغییر دوم ماهیان ۱۳ روز پس از آغاز آزمایش از ظروف ۳ لیتری به تانک‌های پرورش منتقل شدند. در ادامه هر دو آزمایش تا ۱۰۰ روز پس از لقاح ، از مخزن های ۲۰ لیتری با تعویض آب استفاده شد. در آزمایش ۳، لاروها بطور تصادفی به ظرف‌های ۱لیتری آب (۳۳ لارو در هر ظرف) منتقل شدند و با همان شیوه آزمایش ۲ اما با دو تغییر نگهداری شدند. تغییر نخست حذف تیمار شاهد غوطه‌وری در آب (به دلیل مشاهده نشدن تغییرات معنی‌دار در نسبت‌های جنسی در مقایسه با گروه غوطه‌وری در محلول آبی اتانول) و تغییر دوم افزایش یک گروه آزمایشی یک‌بار غوطه‌وری در محلول ۵۰۰ میکروگرم در لیتر MDHT در روز ۱۳ پس از تفریخ بود. یافته‌ها در آزمایش‌های ۱ و ۳ نشان داد ۲بار غوطه‌وری با ۱۰۰ میکروگرم در لیتر از هورمون‌های MT و MDHT موجب افزایش معنی دار نسبت نرها شد (۷۳٪ و ۳± ۸۳ ٪ در MT و ۷۲٪ و ۱±۹۱٪ در MDHT) در حالی که در آزمایش ۲ تفاوت معنی‌دار دیده نشد. سطح ۵۰۰ میکروگرم MT تنها در آزمایش ۳ موجب نرسازی معنی دار (۱± ۸۷٪) شد اما غوطه‌وری با MDHT در همین سطح در۳ آزمایش اثرات معنی‌دار (در آزمایش ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۰۰، ۹۴ و ۲± ۸۳٪) نشان داد. نرسازی با یک بار غوطه‌وری در ۵۰۰ میکروگرم MDHT در لیتر، در روز۱۳ پس از تفریخ نیز تفاوت معنی‌دار (۳±۸۶٪) نشان داد. غوطه‌وری با ۱۰۰ میکروگرم MT (که لاروها از غذای آغشته به MT نیز تغذیه کردند) در آزمایش ۱ نیز تفاوت معنی‌دار (۹۲٪) نشان داد. مقایسه آماری بین گروه ها در این پژوهش در سطح $P<0.05$ انجام شد. در پژوهشی دیگر بوسیله Wassermann and Afonso (2003) اثر ۳ هورمون MT، MDHT و ۱۷ آلفا–اتینیل تستوسترون (ET) بصورت غوطه‌وری بر نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل (*O. niloticus* Linaeaus) در ۲ آزمایش جداگانه بررسی شد. در آزمایش نخست، ۳ سطح غوطه‌وری ۲۰۰، ۶۰۰ و ۱۸۰۰ میکروگرم در لیتر از این هورمون‌ها طی مدت

۴ساعت (در هر تیمار ۱۳۰ لارو) ۱۴ روز پس از تفریخ (DPH) مورد آزمون قرار گرفت. در آزمایش دوم، سطح ۱۸۰۰ میکروگرم بصورت یک بار غوطه‌وری در روز ۱۴ و دوبار غوطه‌وری در روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از تفریخ بررسی شد. در آزمایش ۱، این ۳ هورمون بطور معنی‌دار و یکسان موجب افزایش نسبت نرها در سطح ۱۸۰۰ میکروگرم (۸۶/۰٪ ، ۹۰/۰٪ و ۸۶/۷٪) شدند. در سطح ۲۰۰ میکروگرم هیچکدام از این هورمون‌ها تغییر معنی‌دار در نسبت نرها بوجود نیاوردند اما در سطح ۶۰۰، تنها هورمون MDHT به مقدار کم بطور معنی‌دار موجب انحراف نسبت جنسی به طرف نرها شد (۷۳/۰٪). در آزمایش ۲، در گروه های یک بار غوطه وری (۱۸۰۰ میکروگرم در لیتر در روز ۱۴ پس از تفریخ) نسبت نرها بطور معنی‌دار افزایش یافت که میزان پاسخ به نوع هورمون وابسته بود (MDHT ۱۰۰٪، MT ۹۱/۹٪ و ET ۷۶/۹٪ نر). نسبت نرسازی ۲ بار غوطه‌وری در مقایسه با ۱ بار غوطه‌وری در گروه MT بطور معنی‌دار افزایش (به ترتیب۹۱/۶٪ و ۹۸/۳٪)، در گروه MDHT کاهش (به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۳/۴٪) و در گروه ET تغییری نشان نداد (به ترتیب ۸۲/۰٪ و ۷۶/۹٪). مقایسه آماری در این پژوهش در سطح $P<0.05$ انجام شد.

از سایر ترکیبات استفاده‌شده استروئیدی در روش غوطه‌وری، ترکیبات استری ترنبلون (trenbolone) است. ترنبلون ترکیبی است که به منظور افزایش رشد ماهیچه‌ای و اشتهای دام تجویز می‌شود. برای افزایش نیمه عمر، این استروئید بصورت مشتقات استری مانند استات ترنبلون (trenbolone acetate or TBA) تجویز شده اما پس از ورود به خون آنزیم‌های لیپاز پلاسما گروه استری آنرا جدا و ترنبلون خالص در جریان خون آزاد می‌شود (شکل ۲-۱).



شکل ۲-۱: ساختمان ملکولی استات ترنبلون

در پژوهشی دیگر Phelps *et al*. (1998a) نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل را به شیوه غوطه‌وری در TBA بررسی کردند. لاروها با تراکم ۳۳ لارو در لیتر در ۳ تکرار در محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر این استروئید برای ۶ ساعت در روزهای ۹، ۱۱، ۱۳ یا ۱۵ پس از تفریخ غوطه‌ور شدند. لاروها تا سن ۲۰ روزگی با غذای بدون هورمون ۴ بار در روز تغذیه و پس از اندازه‌گیری میانگین طول، وزن و بازماندگی به تانک‌های ۲۰ مترمکعب منتقل و تا اندازه ۵ سانتی‌متری و یا بیشتر پرورش داده شدند. پس از آن ماهیان جمع‌آوری و برای تعیین جنسیت در فرمالین ۱۰درصد قرار گرفتند. جنسیت ۱۰۰ ماهی از هر تکرار به شیوه اسکواش تعیین و از نظر گنادیک در ۳ دسته بیضه، تخمدان و اینترسکس (intersex) قرار گرفتند. یافته‌ها نشان داد که TBA در مقایسه با گروه شاهد هیچ تاثیری بر تغییر جنسیت نداشت. در پژوهشی دیگر بوسیله Fitzpatrick *et al*. (1997a) اثر ۲ استروئید MDHT و TBA در ۳آزمایش جداگانه بر نرسازی تیلاپیای نیل بررسی شد. آزمایش ها عبارت بودند از:

۱- اثر تراکم بر راندمان در غوطه‌وری با MDHT

۲- اثر تکرار و مدت زمان در غوطه‌وری با MDHT

۳- اثر غوطه‌وری با TBA

یافته‌ها در آزمایش ۱ نشان داد که ۲ بارغوطه‌وری در ۵۰۰ میکروگرم در لیتر MDHT (تراکم ۳۳ لارو در لیتر) به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۸ °C ، ۱۰ و ۱۳ روز پس از لقاح (به ترتیب در ۲۸۰ و ۳۶۴ درجه روز یا CTU) موجب افزایش معنی‌دار نسبت نرها در مقایسه با گروه شاهد شد (P=0.004, 80.3% vs. 56.7%) در حالی که غوطه‌وری با تراکم ۶۷، ۱۰۹۰ و ۲۰۰ در لیتر افزایش معنی‌دار نسبت نرها را در پی نداشت. یافته‌ها در آزمایش ۲ نشان داد که نسبت نرسازی در لاروهای ۱ بار غوطه‌ور شده در ۵۰۰ میکروگرم در لیتر MDHT (۷۹/۳٪ نر) به مدت ۲ ساعت در روز ۱۳ (۳۶۴ درجه روز) با نسبت نرسازی در لاروهای ۲ بارغوط ور شده (۸۲/۹٪ نر) در روزهای ۱۰ و ۱۳(به ترتیب ۲۸۰ و۳۶۴ درجه روز) تفاوت معنی‌دار نداشت. هر دوی این گروه دارای تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل بودند (P=0.001, 56.6% male). در این آزمایش تفاوت معنی‌دار در گروه های یک بار غوطه‌وری در روزهای ۱۰ و ۱۳ (به ترتیب ۲۸۰ یا ۳۱۰ درجه روز) نسبت به گروه شاهد دیده نشد. در آزمایش ۳، یک بار غوطه‌وری (در ۳۱۰ درجه روز) و دو بار غوطه‌وری (در ۳۱۰ و ۳۶۴ درجه روز) به مدت ۲ ساعت درTBA نسبت نرها را بطور معنی‌دار (P<0.001) در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد، در حالی که ۱ بار غوطه‌وری به مدت ۴۸ساعت در ۲۹۲ درجه روز در سطح P<0.01 موجب افزایش نرها شد. در پژوهشی دیگر Fitzpatrick *et al*.

(1998b) نسبت‌های جنسی در۱ بار با ۲ بار غوطه‌وری در هورمون MDHT مقایسه شد. یافته‌ها نشان داد که نسبت جنسی در ۱ بار غوطه‌وری در ۳۶۴ درجه روز (CTU) ۱۳ روز پس از لقاح (DPF) همراه با نسبت‌های ۲ بار غوطه وری در ۲۸۰ و ۳۶۴ درجه روز ۱۰ و ۱۳ روز پس از لقاح در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌دار بطرف نرها منحرف شدند (P<0.001) اما نسبت نرها در ۱ بار غوطه‌وری در مقایسه با ۲ بار غوطه‌وری تفاوت معنی‌دار نشان نداد (به ترتیب ۷۹/۳ و ۸۲/۹٪). در این آزمایش تفاوتی بین ۱ بار غوطه‌وری در ۲۸۰ درجه روز ۱۰ روز پس از لقاح و ۳۱۰ درجه روز ۱۱ روز پس از لقاح دیده نشد. همچنین Fitzpatrick *et al.* (1998c) تاثیر تراکم را در نرسازی با MDHT در تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار داد. یافته‌ها در این آزمایش نشان داد که غوطه‌وری در ۵۰۰ میلی گرم MDHT در لیتر به مدت ۲ ساعت با تراکم ۳۳ لارو در لیتر در ۲۸۰ و ۳۶۴ درجه روز نسبت نرها را در مقایسه با گروه شاهد (۸۰/۳ در برابر ۵۶/۷٪) بطور معنی‌دار افزایش داد (P<0.01) ؛ در حالی که، تراکم های ۶۶ یا ۱۰۰ لارو در لیتر منجر به نرسازی معنی‌دار در نسبتی نزدیک به گروه شاهد شد. این یافته‌ها روی هم‌رفته نشان‌دهنده تاثیر تراکم بر نرسازی است. در پژوهشی Bhandari *et al.* (2006) نشان دادند که استفاده خوراکی از هورمون اندروژنیک MT (۵۰۰ میکروگرم در گرم غذا) در تیلاپیای نیل موجب سرکوبی ۳ آنزیم استروئیدوژنیک P450 cholesterol-side-chain-cleavage، 3β-hydroxysteroid dehydrogenase و cytochrome P450 aromatase (P450arom) در گنادها می‌شود که نرسازی ۱۰۰ درصد را در پی دارد. تمایز تخمدان در لاروهای ماده‌ای که هورمون دریافت نکردند طبیعی و بروز ۳ آنزیم استروئیدوژنیک مذکور قوی بود. در گناد لاروهای تغذیه شده با MT بروز ۳ آنزیم طی ۱۵ روز کاهش و پس از ۳۰ روز بطور کامل ناپدید شد. یافته‌ها در این پژوهش نشان دادند که مصرف اندروژن‌های برون‌زاد (exogenic) آنزیم‌های استروئیدوژنیک کلیدی (دربرگیرنده P450arom) را هنگام تمایز جنسی سرکوب و منجر به نرسازی لاروها می‌شود اما اینکه آیا فقدان آروماتاز و یا حضور اندروژن‌ها کدام موجب تمایز بافت گنادیگ به بافت بیضه می‌شود در پرده‌ای از ابهام است.

یکی از روش‌های دیگر نرسازی استفاده از ترکیباتی است که ضد آنزیم های استروئیدوژنیک هستند. این ترکیبات عمل آنزیم های مذکور را سد کرده و لذا تبدیل اندروژن به ترکیبات استروئیدی متوقف می‌شود. به این ترتیب گناد ماده تشکیل نشده و بافت بیضه شکل می‌گیرد. در پژوهشی Afonso *et al.* (2001) تاثیر یک آنتی‌آروماتاز قوی موسوم به فادرزول را بصورت خوراکی (۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به مدت ۱۵ و ۳۰ روز برای تغییر جنسیت لاروهای تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار دادند. یافته‌ها نشان داد که مستقل از

مدت زمان استفاده از آنتی‌آروماتاز، نسبت نرها در همه گروه‌های آزمایشی بطور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد (صفر میلی گرم در کیلوگرم) بود. با این وجود دزهای ۷۵ و ۱۰۰ فادرزول به مدت ۳۰ روز منجر به نرسازی صددرصد شدند. در یک مقاله مروری Guiguen *et al.* (2010) نقش استروژن و آنزیم آروماتاز Cyp19a1a را در تمایز گنادیک ماهی مطرح نمودند. بر اساس منابع اخیر، او فرضیه پذیرفته شده تاثیر استروژن و آروماتاز در تمایز تخمدانی را به فرضیه‌ای وسیع‌تر گسترش می‌دهد که برای این دو یک نقش محوری در کنترل تمایز تخمدان و بیضه، هم در افراد نر و ماده و هم در فرد هرمافرودیت، قائل می‌شود. در پژوهشی Lee *et al.* (2006) تاثیر ترکیبات آنتی‌آروماتاز را در شرایط *in vitro* بر استروئیدوژنز (فرآیندی بیولوژیک که طی آن استروئیدها در کورتکس غده آدرنال، بیضه‌ها و تخمدان از کلسترول تولید می‌شوند) در بافت گنادیک و مغزی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) مورد مطالعه قرار دادند. در این پژوهش در یک سازه *in vitro* تولید هورمون -□ 17 estradiol(E2) بوسیله این بافت‌ها اندازه‌گیری شد. فولیکول‌های ویتلوژنیک، و بافت کامل مغزی هموژنیزه به ترتیب ۱۸ و ۲۴ ساعت در دمای ۱۰°C در محلول کامل Cortlands قرار گرفت و سطوح E2 به روش RIA تعیین شد. افزایش تستوسترون در هردو محیط موجب افزایش تولید E2 شد. تولید E2 در حضور تستوسترون توام با آنتی‌آروماتازهای 17-, 4-androstene-4-ol-3 ,17-dione (4-OHA) ,aminoglutethimid ,1,4,6-androtatriene-3 fadrozole dione(ATD), و micronazole کاهش یافت. محلول ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر Fadrozole، ATD و 4-OHA از میزان تولید E2 بوسیله اووسیت ویتلوژنیک کاست، در حالی که micronazole تنها در غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر موثر بود. این پژوهش روش ردیابی سریع و آسانی را برای ارزیابی کارایی آنتی آروماتازها در بافت های ماهی آشکار ساخت و همچنین نشان داد که ATD و 4-OHA و Fadrozole آنتی‌آروماتازهایی قوی برای هورمون‌های آروماتاز در کشت *in vitro* بافت مغزی و گنادیک ماهی سالمون هستند. در پژوهشی Gao, *et al.* (2009) تاثیر آنتی‌آروماتاز لتروزول را بر تمایز جنسی و گنادیک ماهی Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) در ۲ آزمایش جداگانه مورد مطالعه قرار دادند. در آزمایش ۱، مقادیر ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم لتروزول در کیلوگرم غذا از روزهای ۳۰ تا ۹۰ روز پس از تفریخ مورد بررسی قرار گرفت که نسبت نرها در گروه‌های آزمایشی بطور معنی‌دار بیشتر ازگروه شاهد بود ($P<0.05$). دز ۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌آروماتاز موجب توقف تشکیل حفره تخمدانی گردید و یک ماهی اینترسکس در این گروه شناسایی شد. در آزمایش ۲ که اثر لتروزول بصورت غوطه‌وری بر تمایز جنسی و گنادیک این ماهی طی روزهای ۱۰ تا ۳۰

پس از تفریخ مورد مطالعه قرار گرفت شمار نرها در گروه‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ بیشتر از گروه شاهد (به ترتیب ۶۷، ۷۵ و ۴۱ درصد) بود اما تیمار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر اثر معنی‌داری نشان نداد (P>0.05). یافته‌ها در ۲ آزمایش نشان داد که تفاوت معنی‌دار از نظر وزن و طول بین ماهیان گروه آزمایشی و گروه شاهد ۲۱۰ روز پس از تفریخ وجود نداشت (P>0.05). همچنین میزان بازماندگی در گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نداشت و هیچ نشانه مسمومیت و تغییر رفتار در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد. در پژوهشی Navarro-Martin *et al*. (2008) نرسازی در ماهی Sea bass (Dicentrarchus labrax) اروپایی را بوسیله اندروژن و آنتی‌آروماتازهایی که درگیر در بروز ژن‌های گوناگون بوده و اثرات پایدار و مشخصی روی بلوغ می گذارند را مطالعه کردند. برای این منظور از هورمون‌ها و ترکیبات آنتی‌آروماتاز دربرگیرنده methyldihydrotestosterone (MDHT)، estradiol-17β (E2)، fadrozole (Fz)، cyproterone acetate (CPA) (یک آنتی‌اندروژن است که گیرنده‌های اندروژن را مسدود و از چسبیدن اندروژن به آنها جلوگیری می‌کند. همچنین موجب توقف ترشح LH شده که به نوبه خود ترشح تستوسترون را کاهش می دهد) و tamoxifen (Tx) استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که MDHT و fadrozole به ترتیب موجب نرسازی در سطح ۱۰۰ و ۹۵ درصد و E2 و tamoxifen ماده‌سازی در سطح صددرصد شدند. آنتی‌آروماتاز cyproterone acetate نسبت جنسی را تغییر نداد.

از روش‌های ژنتیکی مانند تریپلوئیدی در سطح تجاری برای تولید جمعیت عقیم آبزیان استفاده می‌شود که از یک سو موجب بهبود رشد و راندمان غذایی شده و از سوی دیگر خطر بالقوه اکولوژیک تکثیر گونه‌های اگزوتیک، هیبریدها و یا موجودات ترانس‌ژنیک را در محیط‌های پرورشی غیربومی به کمینه می‌رساند (Lutz, 2001). در پژوهشی Hussein (1995) با توقف تقسیمات سلولی میتوتیک و میوزیک موفق به ایجاد موجودات تریپلوئید و دو نوع ژاینوژنیک دیپلوئید شد. امروزه تولید ماهیان ابرنر (Supermale or GMT) تیلاپیای نیل با ترکیب کروموزومی YY به روش‌های ژاینوژنز (Hussein, 1995 and Myers *et al*., 1995)، اندروژنز (Marengoni and Onoue, 1998 and Shelton, 2001b) و هورمونی (Herrera *et al*., 2001) امکان‌پذیر شده که نتاج حاصل از جفتگیری آن با ماده‌های معمولی جمعیت تمام نر با ترکیب کروموزومی XY است.

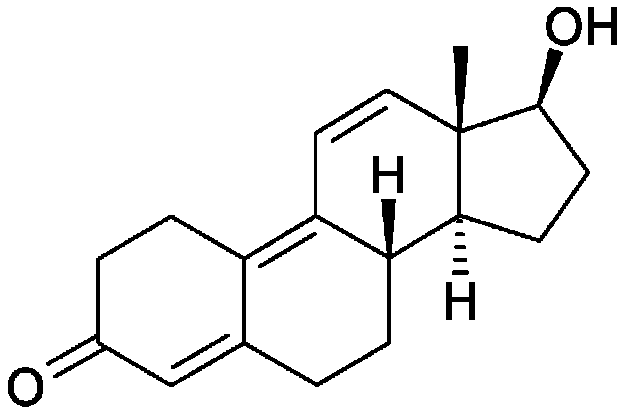
۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و وسایل بکاررفته

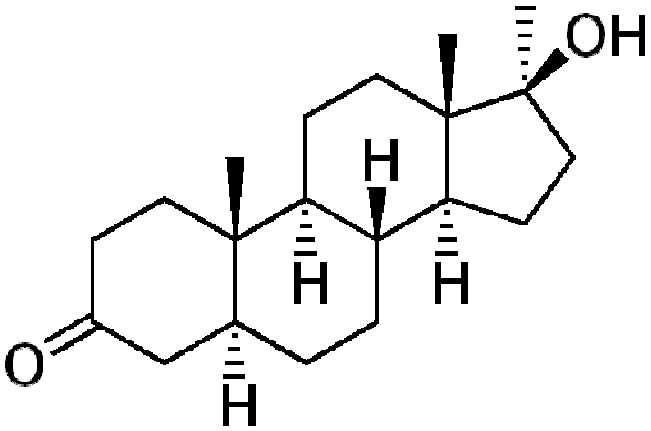
۱- بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل: در این پژوهش از ۳ گروه لاروهای تیلاپیای نیل استفاده شد که خود هر یک از ۳ گروه گوناگون مولدین ماده در ایستگاه تحقیقات بافق تکثیر شدند. در هر یک از آزمایش های۱ (نرسازی با MT)، ۲ (نرسازی با MDHT) و ۳ (نرسازی با لتروزول)، شمار ۱۷۲۵ لارو تیلاپیا، ۷ روز پس از لقاح، در ۵ تیمار دربرگیرنده تیمارهای شاهد و آزمایشی هر یک با ۳ تکرار بطور مساوی و تصادفی توزیع شدند. به ترتیب میانگین های وزن در ۳ آزمایش برابر با ۰۱۵/ ۰، ۰/۰۱۵ و ۰۱۰/ ۰ گرم و طول برابر با ۱/۰۹، ۹۸ /۰ و ۰/۹۰ سانتی‌متر بودند.

۲- غذای ماهیان: در این پژوهش، از ۲ نوع غذای پلت آماده، از کارخانه Skretting ساخت کشور ایتالیا، دربرگیرنده NUTRA PRO 4.0 به ترتیب دارای ۵۸/۰، ۱۲/۰ و ۱۰/۰ درصد و NUTRA PRO 2.0 به ترتیب دارای ۵۴/۰، ۱۸/۰ و ۱۰/۰ درصد پروتئین خام، چربی خام و خاکستر بودند استفاده شد.

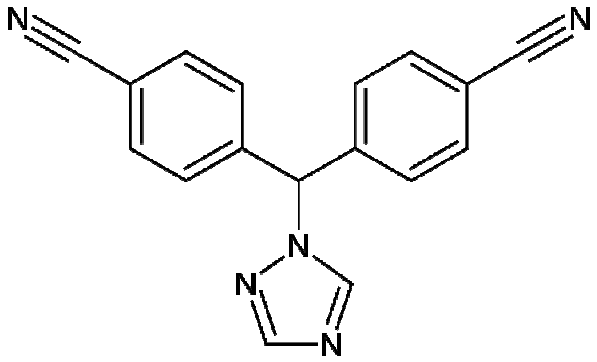
۳-هورمون‌ها، آنتی‌آروماتاز، مواد شیمیایی و ضدعفونی بکاررفته: هورمون‌ها شامل آلفا-متیل تستوسترون (MT) ساخت کارخانه ARGENT از کشور فیلیپین با درجه خلوص۹۸ درصد (شکل ۱-۲)، هورمون متیل دای هایدروتستوسترون یا مستانولن (MDHT) ساخت کارخانه SIGMA از کشور بلژیک با درجه خلوص۹۹٪< بودند (شکل ۲-۲). ترکیب استفاده‌شده برای نرسازی آنتی‌آروماتاز لتروزول ساخت کارخانه Ind-Swift از کشور هند با درجه خلوص نزدیک به صددرصد بود که از شرکت ایران هورمون تهیه شد (شکل ۳-۲). همچنین از پرمنگنات پتاسیم و محلول فرمالین برای ضدعفونی ظروف استفاده شد. از جمله مواد شیمیایی بکاررفته دیگر محلول بوئین و رنگ استوکارمین (Guerrero and Shelton, 1974) بودند که به ترتیب برای فیکس‌کردن و رنگ آمیزی گناد بچه ماهیان هنگام اسکواش استفاده شدند.



شکل ۱-۲: فرمول ساختمانی هورمون آلفا-متیل تستوسترون (MT)



شکل ۲-۲- فرمول ساختمانی هورمون متیل دای‌هایدرو تستوسترون یا مستانولن (MDHT)



شکل ۳-۲- فرمول ساختمانی آنتی آروماتاز لتروزول

۴- محیط نگهداری و پرورش بچه‌ماهیان: در زمان پژوهش نخست از ظروف پلاستیکی ۱۲ و سپس از تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری به ترتیب با ظرفیت آبگیری ۱۰ (تا ۳۰ روز پس از آغاز آزمایش) و ۲۵۰ لیتر (از روز ۳۱ تا پایان آزمایش) استفاده شد (شکل ۴-۲).

شکل ٤-۲- ظروف پلاستیکی و تانک‌های فایبرگلاس استفاده‌شده در این پژوهش

۵- مواد، وسایل و لوازم بکاررفته برای آماده‌سازی غذا: این وسایل شامل افشانه، الکل اتیلیک خالص، بهم‌زن آزمایشگاهی، لوازم شیشه‌ای آزمایشگاهی مانند استوانه مدرج، بشر، ارلن، ترازوی دقیق آزمایشگاهی۰/۱ و ۰/۰۱ گرم و پوآر برای اندازه‌گیری، برداشت و تهیه محلول آنتی‌آروماتاز و هورمونی برای افزایش به غذا، هود آزمایشگاهی برای خشک‌کردن غذا، ظروف نگهداری و آماده‌سازی غذا و دستکش یک‌بار مصرف بودند.

۶- وسایل و لوازم بیومتری: این وسایل شامل تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی متر، کولیس، پنس، دستکش یک بار مصرف، کاغذ صافی و ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ و ۰/۰۱ گرم بودند (شکل۵-۲).

شکل۵-۲: عملیات بیومتری و ثبت داده‌ها

۷- وسایل و لوازم کارگاهی: مانند سطل، ظروف گوناگون، ساچوک و سایر لوازم مورد نیاز.

۸- وسایل و مواد بکاررفته برای اندازه‌گیری سنجه‌های آبی: در این پژوهش، دمای آب بوسیله دماسنج جیوه‌ای، شوری، pH و اکسیژن محلول بوسیله دستگاه WTW 82362 weilheim ساخت کشور آلمان و درصد آمونیوم و نیتریت بوسیله کیت و دستگاه Photometer PF-11 ساخت کارخانه MACHEREY-NAGEL از کشور آلمان اندازه گیری شدند.

۹- وسایل و لوازم و مواد شیمیایی برای تعیین جنسیت: دربرگیرنده میکروسکوپ، اسلاید و کاور، میله اسکواش، رنگ ایندیگوکارمین، محلول بوئین، ست جراحی شامل قیچی کوچک، پنس ظریف مخصوص، پنس بلند معمولی و تیغ جراحی و میکروسکوپ آزمایشگاهی بودند.

۱۰- وسایل و لوازم ثبت داده‌ها: دربرگیرنده فرم های کاغذی، کامپیوتر، دوربین عکاسی دیجیتال و برنامه‌های نرم‌افزاری Word 2003، Exel 2003 و SPSS 19 بودند.

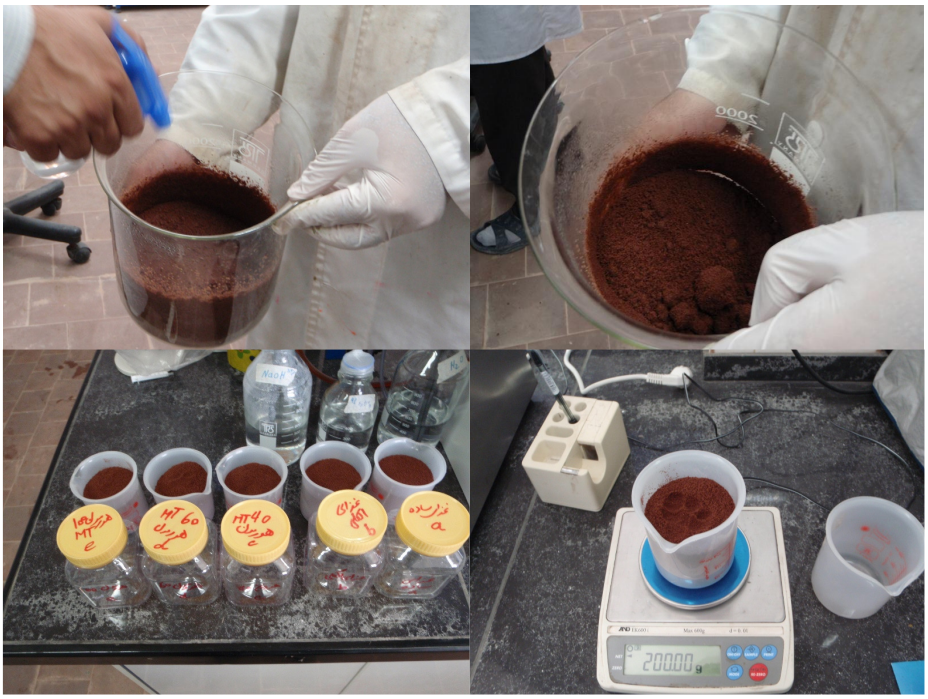
۲-۲- روش ها

۱- زمان و مکان انجام پژوهش: این پژوهش دربرگیرنده ۳ آزمایش جداگانه بود که در ایستگاه تحقیقات ماهیان آب شور داخلی بافق یزد انجام شد. برای مدیریت بهتر و افزایش دقت، آزمایش‌ها با فاصله زمانی ۲ هفته از یکدیگر آغاز تا از ایجاد اختلال و اشتباه در انجام امور جلوگیری شود. پس از یک دوره سازگاری کوتاه، لاروها ۷ روز پس از لقاح برای مدت ۴۵ روز تحت تیمار قرار گرفتند. پس از پایان دوره پرورش، همه لاروها به شیوه اسکواش (squash) تعیین جنسیت شدند (Guerrero and Shelton, 1974). عملیات اجرایی این پژوهش شامل تیماربندی و توزیع لاروها در تیمارها، تغذیه، بیومتری و اسکواش از تاریخ ۸۹/۱۱/۶ آغاز و در تاریخ ۱۳۹۰/۱/۳۱ به پایان رسید.

۲- طراحی و تیماربندی: در انجام این پژوهش از ۳ روش‌کار (پروتوکل) گوناگون برای نرسازی لاروهای تیلاپیا به مدت ۴۵ روز، از سن ۷ روز پس از تفریخ، استفاده شد. در آزمایش اول از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (MT) استفاده شد که از ۵ تیمار گوناگون دربرگیرنده ۲ تیمار شاهد (شاهد۱، غذای ساده بدون

افزودنی و شاهد۲، غذای آغشته به الکل خشک شده) و ۳ تیمار آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب از غذای خشک شده آغشته به محلول الکلی ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم MT در کیلوگرم خوراک) تشکیل شده بود (Phelps *et al*., 1996b and Wahbi and Shalaby, 2010).در هر تکرار در ابتدای آزمایش شمار ۱۱۵ لارو با میانگین طول ۱/۰۹ سانتی‌متر و وزن ۰/۰۱۵ گرم قرار گرفت. آزمایش دوم از ۵ تیمار گوناگون دربرگیرنده ۳ تیمار شاهد (غوطه وری در آب معمولی، ۱ بار غوطه‌وری در محلول آبی ۱ میلی‌لیتر اتانول در لیتر در روز ۱۴ پس از لقاح و ۲ بار غوطه‌وری در محلول آبی ۱ میلی‌لیتر اتانول در لیتر در روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از لقاح) و ۲ تیمار آزمایشی ۱، ۲ (۱ بار غوطه‌وری در محلول آبی ۱۸۰۰ میکروگرم هورمون MDHT در لیتر در روز ۱۴ پس از لقاح و ۲ بار غوطه وری در محلول مذکور در روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از لقاح) تشکیل شده بود (Wassermann and Afonso, 2003 and Gale *et al*., 1999). در هر تکرار در ابتدای آزمایش شمار ۱۱۵ لارو با میانگین طول ۰/۹۸ سانتی‌متر و وزن ۰/۰۱۵ گرم قرار گرفت در آزمایش سوم، از ترکیب آنتی‌آروماتاز لتروزول استفاده شد که از ۵ تیمار گوناگون دربرگیرنده ۲ تیمار شاهد (شاهد۱، غذای ساده بدون افزودنی و شاهد۲، غذای آغشته به الکل خشک‌شده) و ۳ تیمار آزمایشی ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب از غذای خشک‌شده آغشته به محلول الکلی ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم لتروزول در کیلوگرم خوراک) تشکیل شده بود. شایان توجه اینکه، دزهای موثر گفته‌شده بر اساس آزمایش‌های اولیه در ایستگاه بافق تعیین شد (Afonso *et al*., 2001 and Sun *et al*., 2007). در هر تکرار در ابتدای آزمایش شمار ۱۱۵ لارو با میانگین طول ۰/۹۰ سانتی‌متر و وزن ۰/۰۱۰ گرم قرار گرفت.

۳- روش افزودن آنتی‌آروماتاز و هورمون به غذا و خشک‌کردن آن: برای افزودن MT و لتروزل به خوراک در آزمایش‌های ۱ و ۳، محلول الکلی این ترکیبات ساخته شد. نخست دزهای معینMT و لتروزل (بند ۲) در ۱۲۰ میلی‌لیتر الکل مرک با درجه خلوص ٪۹۹/۹≤ ساخت کشور آلمان حل شد. سپس محلول حاصل به کمک یک افشانه روی توده ۱ کیلوگرم غذای خشک (پلت آماده NUTRA 4.0 and 2.0) پاشیده و همزمان بطور یکنواخت با غذا مخلوط و برای خشک‌شدن در زیر هود در معرض جریان هوا قرار داده شد.غذاها پس از خشک‌شدن و بسته‌بندی درون یخچال برای استفاده‌های بعدی قرارگرفتند. همچنین در تیمارهای شاهد ۲ در آزمایش های ۱ و ۳ تنها از ۱۲۰ میلی‌لیتر الکل اتانول بدون افزودنی برای هر کیلوگرم غذا (Desprez *et al*., 2003) استفاده شد (شکل ۶-۲).



شکل ٦-۲- چگونگی افزودن آنتی‌آروماتاز و هورمون به غذا

۴- نگهداری بچه‌ماهیان و روش غذادهی: برای نگهداری لاروها از سن ۷ روز پس از لقاح تا ۳۰ روز از ظروف پلاستیکی ۱۲ لیتری با ظرفیت آبگیری ۱۰ لیتر استفاده شد. شمار لاروهای رهاشده در هر ظرف ۱۱۵ قطعه بود. در ابتدا آب مورد نیاز برای پرورش به یک تانک فایبرگلاس نیم‌تنی وارد و پس از هوادهی به کمک شیلنگ های آکواریومی به این ظرف‌ها وارد و از مجراهایی نزدیک به لبه این ظروف خارج شد. پس از آن تا پایان آزمایش بچه‌ماهیان به تانک های ۳۰۰ لیتری با ظرفیت آبگیری ۲۵۰ لیتر با آبرسانی و هوادهی مستقل انتقال یافتند (نگاره ۳-۴). در طول دوره آزمایش، میانگین دما، شوری، pH و اکسیژن محلول در آب به ترتیب ۲۶/۹ سانتی‌گراد، ۸ گرم در لیتر، ۷/۶ و ۵/۷۸ درصد بود. برای تمیزکردن ظروف و تانک‌ها از روش سیفون‌کردن به کمک یک شیلنگ لاستیکی با قطر درونی ۵ میلی‌متر استفاده شد. غذادهی در حد سیری، ۷ بار در روز در ساعت های۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱ و۲۴ نخست از NUTRA PRO 4.0 و سپس با استفاده از NUTRA PRO 2.0 انجام شد (به بند ۲ الف- مواد و وسایل بکاررفته نگاه شود).

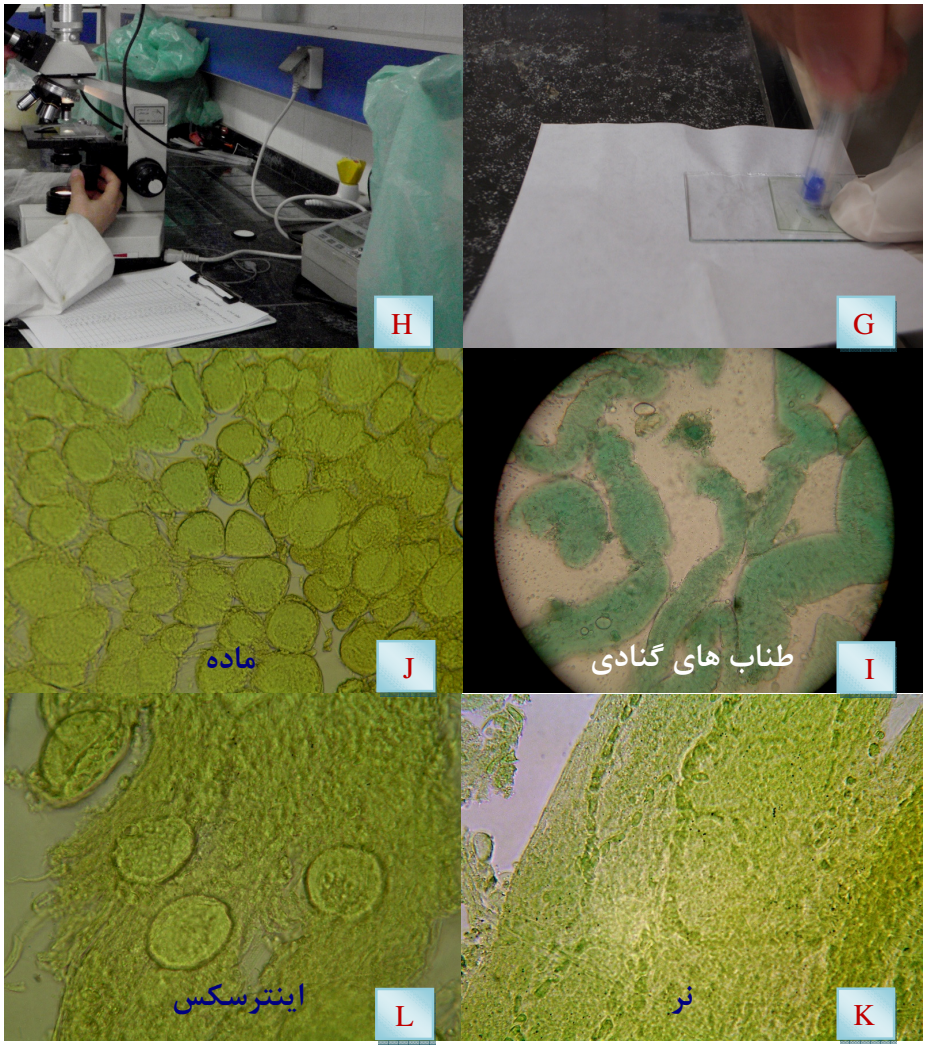
۵- روش انجام غوطه‌وری: برای غوطه‌وری لاروها در آزمایش ۲ ابتدا میزان آب همه ظرف ها به ۴ لیتر کاهش داده شد که به منظور ایجاد شرایط یکنواخت در آزمایش و نیز صرفه‌جویی و مصرف کمتر هورمون MDHT بود.

برای انجام غوطه‌وری در تیمارهای شاهد ۲ و۳ و نیز آزمایشی ۱ و ۲ میزان ۴ میلی‌لیتر اتانول برای هر ظرف (غلظت ۱ میلی‌لیتر الکل در ۱ لیتر آب) منظور شد. فزون بر آن، در تیمارهای آزمایشی پس از افزایش و بهم زدن ۷۲۰۰ میکروگرم هورمون MDHT (غلظت ۱۸۰۰µ/l) به ۴ میلی‌لیتر الکل، محلول آبی هورمون تهیه و برای ۴ ساعت به هر ظرف افزوده شد. در تیمارهای شاهد ۲ و ۳ تنها از ۴ میلی‌لیتر الکل خالص استفاده شد.

۶- اندازه گیری سنجه‌های فیزیکی و شیمیایی آب: این سنجه‌ها دربرگیرنده دمای آب، pH، اکسیژن محلول در آب، درصد آمونیاک و نیتریت بود که در جدول ب-۱ در بخش چهارم گزارش(یافته‌ها) آمده است (به بند ۸ الف- مواد و وسایل بکاررفته نگاه شود).

۷- روش تعیین جنسیت: برای تعیین جنسیت بچه‌ماهیان پس از پایان آزمایش از روش تهاجمی(invasive) اسکواش استفاده شد (نگاره ۳-۷). برای این منظور، ابتدا بچه‌ماهیان برای مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱۵۰ ppm گل میخک قرار گرفته تا بیهوش شدند (شریف‌پور و همکاران، ۱۳۸۱). سپس با تیغ جراحی شکافی طولی در خط میانی شکمی از پایه باله سینه‌ای تا نزدیک مخرج ایجاد (تصویر A) و از ناحیه پهلویی پنجره کوچکی برای بیرون‌آوردن محتویات شکمی باز شد (تصویر B و C). شایان توجه اینکه این عمل باید با ظرافت و دقت انجام شود تا طناب‌های گنادی که روی کیسه هوا قرار گرفته اند و در بچه‌ماهیان بسیار ظریف هستند از جا کنده نشوند. سپس یک یا دو قطره محلول بوئین به موضع افزوده که موجب سفت و فیکس‌شدن گناد و درنتیجه سهولت کندن آن با یک پنس ظریف می شد (تصویرهای D، E و F). طناب‌های گنادی برداشت‌شده به کمک پنس روی یک اسلاید قرار گرفته و روی آن قطره‌ای از محلول استوکارمین افزوده می‌شد. در ادامه روی آن را با لامل پوشانده و با ضربات پی‌درپی یک جسم میله‌ای، طناب گنادی روی اسلاید بصورت نواری پهن می‌شد (تصویر G) به گونه‌ای که در زیر میکروسکوپ سلول‌های آن قابل دیدن و تشخیص بودند. برای دیدن بافت گنادی و سلول‌های آن در زیر میکروسکوپ از بزرگ‌نمایی 160 x استفاده شد (تصویرهای H تا L). به مجموعه این عملیات تکنیک میکروسکوپی اسکواش می گویند (Guerrero and Shelton, 1974).

شکل ۷-۲- مراحل گوناگون اسکواش از رنگ‌آمیزی تا تعیین جنسیت در بچه‌ماهیان تیلاپیا



ادامه شکل ۷-۲

۸- سایر سنجه‌های زیستی اندازه گیری‌شده هنگام آزمایش: از جمله آنها می‌توان به به اندازه‌گیری میزان غذای مصرفی ، محاسبه FCR، اندازه‌گیری وزن و طول کل بدن (به بند ۶ الف- روش‌ها نگاه شود) و تعیین جنسیت (نر، ماده و اینترسکس) اشاره کرد.

۹- روش های ثبت و تحلیل داده‌ها: نخست داده‌ها در فرم‌های چاپی ثبت و سپس در صفحه گسترده اکسل برای آنالیز و پردازش آماری وارد شد. برای انجام آنالیز آماری از برنامه نرم‌افزاری SPSS version 19 کمک گرفته شد. برای تحلیل آماری داده‌های پیوسته از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و برای داده‌های گسسته از آزمون مربع کای (chi-square) استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها در سطح اطمینان $P<0.05$ انجام شد.

۳- نتایج

این پژوهش دربرگیرنده سه آزمایش جداگانه بود که در آزمایش ۱ و ۲ تاثیر دو هورمون آندروژنیک ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون (MT) به شیوه خوراکی و هورمون متیل دای‌هایدروتستوسترون (MDHT) یا مستانولون به شیوه غوطه‌وری و در آزمایش ۳ تاثیر ترکیب آنتی‌آروماتاز لتروزول به شیوه خوراکی بر نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد مطالعه قرار گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده در این پژوهش شامل الف- داده‌های زیست‌سنجی و تعیین جنسیت بچه‌ماهیان در ۳ آزمایش جداگانه و ب- اندازه‌گیری سنجه‌های فیزیکی- شیمیایی آب در زمان اجرای آزمایش بود که در جدول‌ها و نمودارهای زیر آمده است.

۱-۳- داده های حاصل از زیست سنجی و تعیین جنسیت بچه ماهیان:

داده های زیست سنجی (طی ۳ بیومتری نخست، ۱ و ۱/۵ ماه پس از آغاز آزمایش) و تعیین جنسیت در پایان آزمایش بشرح جدول‌های ذیل است.

جدول‌های میانگین وزن، طول کل بدن و ضریب تبدیل غذایی لاروها و بچه‌ماهیان در ۳ آزمایش:

جدول ۱-۳- میانگین وزن، طول کل بدن و ضریب تبدیل غذایی لاروها و بچه‌ماهیان در طول دوره آزمایش۱ (MT)

سنجه‌های اندازه گیری‌شده		وزن (گرم)[1]		طول کل بدن (cm)		ضریب تبدیل غذایی تیمار (FCR)	
تیمار	تکرار[2]	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳
شاهد ۱ (غذای ساده خشک)	۱	۰/۸۷	۲/۶۰	۳/۷	۵/۴		
	۲	۰/۸۹	۳/۰۴	۳/۸	۵/۷		
	۳	۱/۰۳	۳/۶۷	۴/۰	۶/۰		
میانگین تیمار		۰/۹۳	۳/۱۰	۳/۸	۵/۷	۰/۸۷	۰/۶۳
شاهد ۲ (غذای الکلی خشک شده)	۱	۰/۸۶	۳/۱۷	۳/۷	۵/۸		
	۲	۰/۹۵	۳/۶۲	۳/۸	۶/۰		
	۳	۱/۰۲	۲/۶۵	۳/۹	۵/۴		
میانگین تیمار		۰/۹۴	۳/۱۵	۳/۸	۵/۷	۰/۸۱	۰/۶۳
آزمایشی۱ (40 mg MT/k feed)	۱	۰/۹۳	۳/۶۴	۳/۹	۵/۹		
	۲	۰/۷۱	۳/۸۹	۳/۵	۶/۰		
	۳	۰/۵۰	۲/۳۱	۳/۰	۴/۹		
میانگین تیمار		۰/۷۱	۳/۲۸	۳/۵	۵/۶	۱/۰۸	۰/۷۲
آزمایشی ۲ (60 mg MT/k feed)	۱	۰/۹۳	۳/۲۷	۳/۹	۵/۸		
	۲	۰/۹۹	۳/۶۲	۳/۸	۶/۱		
	۳	۰/۸۷	۳/۰۸	۳/۸	۵/۷		
میانگین تیمار		۰/۹۳	۳/۳۲	۳/۸	۵/۹	۰/۸۵	۰/۶۴
آزمایشی۳ (100 mg MT/k feed)	۱	۱/۰۵	۳/۱۰	۳/۸	۵/۷		
	۲	۰/۸۸	۲/۹۲	۳/۸	۵/۶		
	۳	۰/۷۸	۲/۸۵	۳/۵	۵/۴		
میانگین تیمار		۰/۹۰	۲/۹۶	۳/۷	۵/۶	۰/۸۶	۰/۷۲

۱. میانگین وزن و طول کل بدن لاروها در آغاز آزمایش به ترتیب ۰/۰۱۵ گرم و ۱/۰۹ سانتی‌متر؛ طول دوره آزمایش= ۴۵ روز

۲. از شمار ۲۰ لارو و بچه‌ماهی در هر تکرار بیومنری شد.

جدول ۲-۳- میانگین وزن، طول کل بدن و ضریب تبدیل غذایی لاروها و بچه‌ماهیان در طول دوره آزمایش (MDHT) ۲

سنجه‌های اندازه‌گیری‌شده		وزن (گرم)[1]		طول کل بدن (cm)		ضریب تبدیل غذایی تیمار(FCR)	
تیمار	تکرار[2]	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳
شاهد ۱ (غوطه ور در آب)	۱	۰/۵۶	۲/۹۴	۳/۴	۵/۴		
	۲	۰/۵۴	۳/۱۱	۳/۴	۵/۴		
	۳	۰/۶۵	۲/۸۰	۳/۵	۵/۳		
میانگین تیمار		۰/۵۸	۲/۹۵	۳/۴	۵/۴	۰/۸۶	۰/۷۹
شاهد ۲ (غوطه‌ور ۱ بار در محلول آبی اتانول)	۱	۰/۶۱	۲/۶۹	۳/۵	۵/۲		
	۲	۰/۵۱	۲/۹۰	۳/۴	۵/۲		
	۳	۰/۶۹	۲/۶۱	۳/۶	۵/۲		
میانگین تیمار		۰/۶۰	۲/۷۳	۳/۵	۵/۲	۰/۷۴	۰/۷۶
شاهد ۳ (غوطه‌ور ۲ بار در محلول آبی اتانول)	۱	۰/۵۶	۲/۵۵	۳/۴	۵/۱		
	۲	۰/۵۹	۲/۷۳	۳/۴	۵/۲		
	۳	۰/۵۵	۲/۹۰	۳/۴	۵/۳		
میانگین تیمار		۰/۵۷	۲/۷۳	۳/۴	۵/۲	۰/۷۴	۰/۷۱
آزمایشی۱(غوطه‌ور ۱ بار در محلول آبی MDHT)	۱	۰/۶۰	۲/۶۲	۳/۵	۵/۳		
	۲	۰/۶۲	۳/۰۴	۳/۴	۵/۴		
	۳	۰/۶۳	۳/۱۰	۳/۴	۵/۴		
میانگین تیمار		۰/۶۲	۲/۹۲	۳/۴	۵/۴	۰/۷۲	۰/۷۰
آزمایشی۲(غوطه‌ور ۲ بار در محلول آبی MDHT)	۱	۰/۴۵	۲/۴۴	۳/۲	۵/۰		
	۲	۰/۶۳	۲/۴۶	۳/۵	۵/۱		
	۳	۰/۵۱	۲/۶۰	۳/۱	۵/۱		
میانگین تیمار		۰/۵۳	۲/۵۰	۳/۳	۵/۱	۰/۸۳	۰/۸۰

۱. میانگین وزن و طول کل بدن لاروها در آغاز آزمایش به ترتیب ۰/۰۱۵ گرم و ۰/۹۸ سانتی‌متر؛ طول دوره آزمایش= ۴۵ روز

۲. از شمار ۲۰ لارو و بچه‌ماهی در هر تکرار بیومنری شد.

جدول ۳-۳- میانگین وزن، طول کل بدن و ضریب تبدیل غذایی لاروها و بچه‌ماهیان در طول دوره آزمایش۳ (لتروزول)

سنجه‌های اندازه گیری شده		وزن (گرم)[1]		طول کل بدن (cm)		ضریب تبدیل غذایی تیمار (FCR)	
تیمار	تکرار[2]	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳	بیومتری۲	بیومتری۳
شاهد ۱ (غذای ساده خشک)	۱	۰/۲۴	۰/۹۵	۲/۵	۳/۹		
	۲	۰/۳۵	۱/۱۵	۲/۸	۴/۰		
	۳	۰/۳۳	۱/۲۸	۲/۸	۴/۲		
میانگین تیمار		۰/۳۱	۱/۱۳	۲/۷	۴/۰	۱/۰۲	۰/۹۳
شاهد ۲ (غذای الکلی خشک شده)	۱	۰/۳۲	۱/۱۲	۲/۷	۳/۹		
	۲	۰/۳۵	۱/۱۷	۲/۸	۴/۰		
	۳	۰/۴۰	۱/۲۰	۲/۹	۴/۰		
میانگین تیمار		۰/۳۶	۱/۱۶	۲/۸	۴/۰	۰/۸۶	۰/۸۴
آزمایشی۱ (200 mg Letrozole /k feed)	۱	۰/۳۷	۱/۰۶	۲/۸	۳/۹		
	۲	۰/۳۰	۱/۱۳	۲/۷	۴/۰		
	۳	۰/۲۶	۰/۸۹	۲/۶	۳/۶		
میانگین تیمار		۰/۳۱	۱/۰۳	۲/۷	۳/۸	۱/۰۶	۱/۰۲
آزمایشی۲ (300 mg Letrozole /k feed)	۱	۰/۲۰	۰/۵۴	۲/۴	۳/۱		
	۲	۰/۳۲	۱/۰۱	۲/۷	۳/۸		
	۳	۰/۲۶	۰/۹۹	۲/۵	۳/۷		
میانگین تیمار		۰/۲۶	۰/۸۵	۲/۵	۰/۳۵	۱/۲۵	۱/۲۷
آزمایشی۳ (400mg Letrozole /k feed)	۱	۰/۲۶	۰/۸۵	۲/۶	۳/۶		
	۲	۰/۳۰	۱/۰۰	۲/۷	۳/۸		
	۳	۰/۳۷	۰/۹۷	۲/۹	۳/۸		
میانگین تیمار		۰/۳۱	۰/۹۴	۲/۷	۳/۷	۱/۱۴	۱/۰۹

۱. میانگین وزن و طول کل بدن لاروها در آغاز آزمایش به ترتیب ۰/۰۱۰ گرم و ۰/۹۰ سانتی متر؛ طول دوره آزمایش= ۴۵ روز

۲. از شمار ۲۰ لارو و بچه‌ماهی در هر تکرار بیومنری شد.

جدول‌های شمار، درصد بازماندگی و جنسیت بچه‌ماهیان در پایان دوره آزمایش

جدول ٤-٣- شمار، درصد بازماندگی و جنسیت بچه‌ماهیان در پایان آزمایش۱ (MT)

سنجه‌های اندازه گیری شده		بازماندگی		بچه‌ماهیان نر		بچه‌ماهیان ماده		بچه‌ماهیان اینترسکس		تلفات	
تیمار	تکرا[1]	شمار[1]	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد
شاهد ۱ (غذای ساده خشک)	۱	۱۰۳	۸۹/۶	۵۳	۵۱/۵	۵۰	۴۸/۵	–	–	۱۲	۱۰/۴
	۲	۱۰۶	۹۲/۲	۵۷	۵۳/۸	۴۹	۴۶/۲	–	–	۹	۷/۸
	۳	۹۸	۸۵/۲	۵۰	۵۱/۰	۴۸	۴۹/۰	–	–	۱۷	۱۴/۸
تیمار		۳۰۷	۸۹/۰	۱۵۸	۵۱/۵	۱۴۹	۴۸/۵	–	–	۳۸	۱۱/۰۱
شاهد ۲ (غذای الکلی خشک شده)	۱	۹۶	۸۳/۵	۴۸	۵۰/۰	۴۸	۵۰/۰	–	–	۱۹	۱۶/۵
	۲	۹۹	۸۶/۱	۵۳	۵۳/۵	۴۶	۴۶/۵	–	–	۱۶	۱۳/۹
	۳	۱۰۵	۹۱/۳	۵۵	۵۲/۴	۵۰	۴۷/۶	–	–	۱۰	۸/۷
تیمار		۳۰۰	۸۷/۰	۱۵۶	۵۲/۰	۱۴۴	۴۸/۰	–	–	۴۵	۱۳/۰۴
آزمایشی ۱ (40 mg MT/k feed)	۱	۹۸	۸۵/۲	۹۸	۱۰۰	–	–	–	–	۱۷	۱۴/۸
	۲	۷۸	۶۷/۸	۷۸	۱۰۰	–	–	–	–	۳۷	۳۲/۱۷
	۳	۸۱	۷۰/۴	۸۱	۱۰۰	–	–	–	–	۳۴	۲۹/۶
تیمار		۲۵۷	۷۴/۵	۲۵۷	۱۰۰	–	–	–	–	۸۸	۲۵/۵
آزمایشی ۲ (60 mg MT/k feed)	۱	۱۰۰	۸۷/۰	۹۹	۹۹/۰	–	–	۱	۰/۳	۱۵	۱۳/۰
	۲	۹۱	۷۹/۱	۹۱	۱۰۰	–	–	–	–	۲۴	۲۰/۹
	۳	۱۰۰	۸۷/۰	۱۰۰	۱۰۰	–	–	–	–	۱۵	۱۳/۰
تیمار		۲۹۱	۸۴/۳	۲۹۰	۹۹/۷	–	–	۱	۰/۳	۵۴	۱۵/۷
آزمایشی۳ (100 mg MT/k feed)	۱	۱۰۰	۸۷/۰	۹۴	۹۴/۰	۲	۲/۰	۴	۴/۰	۱۵	۱۳/۰
	۲	۱۰۳	۸۹/۶	۹۹	۹۶/۱	۲	۱/۹	۲	۱/۹	۱۲	۱۰/۴
	۳	۸۳	۷۲/۲	۸۲	۹۸/۸	۱	۱/۲	–	–	۳۲	۲۷/۸
تیمار		۲۸۶	۸۲/۹	۲۷۵	۹۶/۲	۵	۱/۷	۶	۲/۱	۵۹	۱۷/۱

۱. شمار لارو در هر تکرار در آغاز آزمایش ۱۱۵ قطعه بود.

جدول ۵-۳- شمار، درصد بازماندگی و جنسیت بچه‌ماهیان در پایان دوره آزمایش۲ (MDHT)

سنجه‌های اندازه گیری شده		بازماندگی		بچه‌ماهیان نر		بچه‌ماهیان ماده		بچه‌ماهیان اینترسکس		تلفات	
تیمار	تکرار	شمار[1]	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد
شاهد ۱ (غوطه‌ور در آب)	۱	۱۰۳	۸۹/۶	۵۴	۵۲/۴	۴۹	۴۷/۶	–	–	۱۲	۱۰/۴
	۲	۸۱	۷۰/۴	۴۱	۵۰/۶	۴۰	۴۹/۴	–	–	۳۴	۲۹/۶
	۳	۱۰۰	۸۷/۰	۴۹	۴۹/۰	۵۱	۵۱/۰	–	–	۱۵	۱۳/۰
تیمار		۲۸۴	۸۲/۳	۱۴۴	۵۰/۷	۱۴۰	۴۹/۳	–	–	۶۱	۱۷/۷
شاهد ۲ (غوطه‌ور ۱ بار در محلول آبی اتانول)	۱	۱۰۱	۸۷/۸	۵۰	۴۹/۵	۵۱	۵۰/۵	–	–	۱۴	۱۲/۲
	۲	۹۶	۸۳/۵	۴۹	۵۱/۰	۴۷	۴۹/۰	–	–	۱۹	۱۶/۵
	۳	۱۰۱	۸۷/۸	۵۰	۴۹/۵	۵۱	۵۰/۵	–	–	۱۴	۱۲/۲
تیمار		۲۹۸	۸۶/۴	۱۴۹	۵۰/۰	۱۴۹	۵۰/۰	–	–	۴۷	۱۳/۶
شاهد ۳ (غوطه‌ور ۲ بار در محلول آبی اتانول)	۱	۱۰۵	۹۱/۳	۵۴	۵۱/۴	۵۱	۴۸/۶	–	–	۱۰	۸/۷
	۲	۹۸	۸۵/۲	۵۲	۵۳/۱	۴۶	۴۶/۹	–	–	۱۷	۱۴/۸
	۳	۱۰۴	۹۰/۴	۵۳	۵۱/۰	۵۱	۴۹/۰	–	–	۱۱	۹/۶
تیمار		۳۰۷	۸۹/۰	۱۵۹	۵۱/۸	۱۴۸	۴۸/۲	–	–	۳۸	۱۱/۰
آزمایشی۱ (غوطه ور ۱ بار در محلول آبی اتانول (MDHT	۱	۱۰۳	۸۹/۶	۸۳	۸۰/۶	۱۷	۱۶/۵	۳	۲/۹	۱۲	۱۰/۴
	۲	۱۰۶	۹۲/۲	۸۳	۷۸/۳	۲۱	۱۹/۸	۲	۱/۹	۹	۷/۸
	۳	۱۰۱	۸۷/۸	۸۲	۸۱/۲	۱۷	۱۶/۸	۲	۲/۰	۱۴	۱۲/۲
تیمار		۳۱۰	۸۹/۹	۲۴۸	۸۰/۰	۵۵	۱۷/۷	۷	۲/۳	۳۵	۱۰/۱
آزمایشی۲ (غوطه ور ۲ بار در محلول آبی اتانول (MDHT	۱	۸۹	۷۷/۴	۷۸	۸۷/۶	۹	۱۰/۱	۲	۲/۳	۲۶	۲۲/۶
	۲	۹۱	۷۹/۱	۸۴	۹۲/۳	۴	۴/۴	۳	۳/۳	۲۴	۲۰/۹
	۳	۱۰۳	۸۹/۶	۹۸	۹۵/۱	۵	۴/۹	۰	۰/۰	۱۲	۱۰/۴
تیمار		۲۸۳	۸۲/۰	۲۶۰	۹۱/۹	۱۸	۶/۴	۵	۱/۸	۶۲	۱۸/۰

۱. شمار لارو در هر تکرار در آغاز آزمایش ۱۱۵ قطعه بود.

جدول ٦-۳- شمار، درصد بازماندگی و جنسیت بچه‌ماهیان در پایان دوره آزمایش۳ (لتروزول)

سنجه‌های اندازه گیری شده		بازماندگی		بچه‌ماهیان نر		بچه‌ماهیان ماده		بچه‌ماهیان اینترسکس		تلفات	
تیمار	تکرار	شمار[1]	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد
شاهد ۱ (غذای ساده خشک)	۱	۱۰۱	۸۷/۸	۵۲	۵۱/۵	۴۹	۴۸/۵	–	–	۱۴	۱۲/۲
	۲	۱۰۲	۸۸/۷	۵۳	۵۲/۰	۴۹	۴۸/۰	–	–	۱۳	۱۱/۳
	۳	۱۰۹	۹۴/۸	۵۳	۴۸/۶	۵۶	۵۱/۴	–	–	۶	۵/۲
تیمار	۳۱۲	۹۰/۴		۱۵۸	۵۰/۶	۱۵۴	۴۹/۴	–	–	۳۳	۹/۶
شاهد ۲ (غذای الکلی خشک شده)	۱	۱۰۱	۸۷/۸	۵۵	۵۴/۵	۴۶	۴۵/۵	–	–	۱۴	۱۲/۲
	۲	۱۰۸	۹۳/۹	۵۶	۵۱/۹	۵۲	۴۸/۱	–	–	۷	۶/۱
	۳	۱۰۷	۹۳/۰	۵۱	۴۷/۷	۵۶	۵۲/۳	–	–	۸	۷/۰
تیمار	۳۱۶	۹۱/۶		۱۶۲	۵۱/۳	۱۵۴	۴۸/۷	–	–	۲۹	۸/۴
آزمایشی ۱ (200 mg Letrozole /k feed)	۱	۱۰۰	۸۷/۰	۹۹	۹۹/۰	۱	۱/۰	–	–	۱۵	۱۳/۰
	۲	۱۰۱	۸۷/۸	۱۰۱	۱۰۰	–	–	–	–	۱۴	۱۲/۲
	۳	۹۹	۸۶/۱	۹۷	۹۸/۰	۲	۲/۰	–	–	۱۶	۱۳/۹
تیمار	۳۰۰	۸۷/۰		۲۹۷	۹۹/۰	۳	۱/۰	–	–	۴۵	۱۳/۰
آزمایشی ۲ (300 mg Letrozole /k feed)	۱	۹۱	۷۹/۱	۹۱	۱۰۰	–	–	–	–	۲۴	۲۰/۹
	۲	۸۳	۷۲/۲	۸۲	۹۸/۸	–	–	۱	۱/۲	۳۲	۲۷/۸
	۳	۹۰	۷۸/۳	۹۰	۱۰۰	–	–	–	–	۲۵	۲۱/۷
تیمار	۲۶۴	۷۶/۵		۲۶۳	۹۹/۶	–	–	۱	۰/۴	۸۱	۲۳/۵
آزمایشی ۳ (400 mg Letrozole /k feed)	۱	۹۵	۸۲/۶	۹۵	۱۰۰	–	–	–	–	۲۰	۱۷/۴
	۲	۹۷	۸۴/۳	۹۷	۱۰۰	–	–	–	–	۱۸	۱۵/۷
	۳	۱۰۳	۸۹/۶	۱۰۳	۱۰۰	–	–	–	–	۱۲	۱۰/۴
تیمار	۲۹۵	۸۴/۱		۲۹۵	۱۰۰	–	–	–	–	۵۰	۱۴/۵

۱. شمار لارو در هر تکرار در آغاز آزمایش ۱۱۵ قطعه بود.

جداول تحلیل آماری میانگین وزن وطول کل بدن، بازماندگی و جنسیت ماهیان در ۳ آزمایش:

جدول۷-۳- تحلیل آماری میانگین وزن (گرم) و طول کل بدن (سانتی متر) در طول دوره ۳ آزمایش

سنجه‌های اندازه گیری شده		میانگین وزن[1] به گرم (average±SE)		میانگین طول کل بدن (average±SE)	
آزمایش ۱ (MT)	شمار	بیومتری۲ (A1)	بیومتری۳ (A2)	بیومتری۲ (A3)	بیومتری۳ (A4)
۱) شاهد۱	۶۰	۰/۹۳±۰/۰۳^{a}	۳/۱۰±۰/۰۹	۳/۸±۰/۰۴^{a}	۵/۷±۰/۰۶
۲) شاهد ۲	۶۰	۰/۹۵±۰/۰۳^{a}	۳/۱۰±۰/۱۰	۳/۸±۰/۰۵^{a}	۵/۷±۰/۰۷
۳) آزمایشی۱ (40mg MT/k of feed)	۶۰	۰/۷۱±۰/۲۰^{b}	۳/۳۰±۰/۰۹	۳/۵±۰/۰۸^{b}	۵/۶±۰/۱۴
۴) آزمایشی۲ (60mg MT/k of feed)	۶۰	۰/۹۳±۰/۰۴^{a}	۳/۳۰±۰/۱۱	۳/۸±۰/۰۶^{a}	۵/۹±۰/۰۷
۵) آزمایشی۳ (100mg MT/k of feed)	۶۰	۰/۹۰±۰/۰۳^{a}	۳/۰۰±۰/۱۳	۳/۷±۰/۰۷^{a}	۵/۶±۰/۰۸
آزمایش ۲ (MDHT)	شمار	بیومتری۲ (B1)	بیومتری۳ (B2)	بیومتری۲ (B3)	بیومتری۳ (B4)
۱) تیمار شاهد۱	۶۰	۰/۵۸±۰/۰۳	۲/۹۵±۰/۱۵	۳/۴±۰/۰۵	۵/۴±۰/۰۹^{a}
۲) تیمار شاهد ۲	۶۰	۰/۶۰±۰/۰۳	۲/۷۳±۰/۱۳	۳/۵±۰/۰۵	۵/۲±۰/۱۰^{ab}
۳) تیمار شاهد ۳	۶۰	۰/۶۰±۰/۲۰	۲/۷۲±۰/۱۰	۳/۴±۰/۰۵	۵/۲±۰/۰۷^{ab}
۴) آزمایشی۱ (۱ بار غوطه ور با MDHT)	۶۰	۰/۶۲±۰/۰۲	۲/۹۲±۰/۱۲	۳/۵±۰/۰۳	۵/۴±۰/۰۷^{a}
۵) آزمایشی۲ (۲ بار غوطه ور با MDHT)	۶۰	۰/۵۳±۰/۰۳	۲/۵۰±۰/۱۳	۳/۳±۰/۰۶	۵/۱±۰/۰۹^{b}
آزمایش ۳ (لتروزول)	شمار	بیومتری۲ (C1)	بیومتری۳ (C2)	بیومتری۲ (C3)	بیومتری۳ (C4)
۱) تیمار شاهد۱	۶۰	۰/۳۱±۰/۰۱^{b}	۱/۱۲±۰/۰۴^{ab}	۲/۷±۰/۰۴^{b}	۴/۰±۰/۰۴^{a}
۲) تیمار شاهد ۲	۶۰	۰/۳۶±۰/۰۱^{a}	۱/۱۶±۰/۰۳^{a}	۲/۸±۰/۰۳^{a}	۴/۰±۰/۰۴^{a}
۳)**آزمایشی۱** (200 mg Letrozole /k feed)	۶۰	۰/۳۱±۰/۰۱^{b}	۱/۰۳±۰/۰۳^{bc}	۲/۷±۰/۰۲^{ab}	۳/۸±۰/۰۴^{b}
۴)**آزمایشی۲** (300 mg Letrozole /k feed)	۶۰	۰/۲۶±۰/۰۱^{c}	۰/۸۵±۰/۰۵^{d}	۲/۵±۰/۰۴^{c}	۳/۵±۰/۰۶^{c}
۵)**آزمایشی۳** (400 mg Letrozole /k feed)	۶۰	۰/۳۱±۰/۰۱^{b}	۰/۹۳±۰/۰۴^{cd}	۲/۷±۰/۰۳^{ab}	۳/۷±۰/۰۵^{b}

بین میانگین‌ها در ستون با اندیس‌های گوناگون تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P<0.05$).

۱. میانگین وزن و طول کل بدن لاروها در آغاز آزمایش ۱ (MT) به ترتیب ۰/۰۱۰ گرم و ۰/۹۰ سانتی‌متر، در آغاز آزمایش ۲ به ترتیب ۰/۰۱۵ گرم و ۰/۹۸ سانتی‌متر و در آغاز آزمایش ۳ (لتروزول) به ترتیب ۰/۰۱۵ گرم و ۱/۰۹ سانتی متر.

(A1). MS_e=0.075, df=295, F=7.658, P<0.05; **(A2).** MS_e=0.960, df=295, F=1.345, P<0.05; **(A3).** MS_e=0.225, df=295, F=6.559, P<0.05;
(A4). MS_e=0.483, df=295, F=1.490, P<0.05; **(B1).** MS_e=0.047, df=295, F=1.553, P<0.05; **(B2).** MS_e=0.976, df=295, F=2.033, P<0.05;
(B3). MS_e=0.153, df=295, F=2.337, P<0.05; **(B4).** MS_e=0.411, df=295, F=2.481, P<0.05; **(C1).** MS_e=0.010, df=295, F=7.018, P<0.05;
(C2). MS_e=0.081, df=295, F=12.504, P<0.05; **(C3).** MS_e=0.058, df=295, F=8.564, P<0.05; **(C4).** MS_e=0.134, df=295, F=14.930, P<0.05.

جدول ۸-۳- تحلیل آماری بازماندگی و جنسیت بچه‌ماهیان در ۳ آزمایش

			جنسیت							
			نر		ماده		اینترسکس			
آزمایش ۱ (MT)	**بازماندگی** [1]	**درصد**	شمار	درصد	شمار	درصد	شمار	درصد	**توزیع χ^2**	P-value
۱) شاهد ۱ [2]	۳۰۷ [a]	۸۹/۰	۱۵۸	۵۱/۵ [a]	۱۴۹	۴۸/۵	–	–	۰/۲۶۴	۰/۶۰۷
۲) شاهد ۲ [2]	۳۰۰ [a]	۸۷/۰	۱۵۶	۵۲/۰ [a]	۱۴۴	۴۸/۰	–	–	۰/۴۸۰	۰/۴۸۸
۳) آزمایشی۱(40mg MT/k) [3]	۲۵۷ [b]	۷۴/۵	۲۵۷	۱۰۰ [c]	–	–	–	–	–	–
۴) آزمایشی۲(60mg MT/k)	۲۹۱ [a]	۸۴/۳	۲۹۰	۹۹/۷ [c]	–	–	۱	۰/۳	۲۸۷/۰۱۴	۰/۰۰۰
۵)آزمایشی۳ (100mg MT/k)	۲۸۶ [b]	۸۲/۹	۲۷۵	۹۶/۲ [b]	۵	۱/۷	۶	۲/۱	۵۰۷/۹۰۹	۰/۰۰۰
آزمایش ۲ (MDHT)										
۱) تیمار شاهد۱ [2]	۲۸۴ [b]	۸۲/۳	۱۴۴	۵۰/۷ [a]	۱۴۰	۴۹/۳	–	–	۰/۰۵۶	۰/۸۱۲
۲) تیمار شاهد ۲ [2]	۲۹۸ [a]	۸۶/۴	۱۴۹	۵۰/۰ [a]	۱۴۹	۵۰/۰	–	–	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
۳) تیمار شاهد ۳ [2]	۳۰۷ [a]	۸۹/۰	۱۵۹	۵۱/۸ [a]	۱۴۸	۴۸/۲	–	–	۰/۳۹۴	۰/۵۳۰
۴)آزمایشی۱ (۱ بار غوطه ور باMDHT)	۳۱۰ [a]	۸۹/۹	۲۴۸	۸۰/۰ [b]	۵۵	۱۷/۷	۷	۲/۳	۳۱۴/۹۴۸	۰/۰۰۰
۵)آزمایشی۲ (۲ بار غوطه ور با MDHT)	۲۸۳ [b]	۸۲/۰	۲۶۰	۹۱/۹ [c]	۱۸	۶/۴	۵	۱/۸	۴۳۷/۳۰۷	۰/۰۰۰
آزمایش ۳ (لتروزول)										
۱) تیمار شاهد۱ [2]	۳۱۲ [a]	۹۰/۴	۱۵۸	۵۰/۶ [a]	۱۵۴	۴۹/۴	–	–	۰/۰۵۱	۰/۸۲۱
۲) تیمار شاهد ۲ [2]	۳۱۶ [a]	۹۱/۶	۱۶۲	۵۱/۳ [a]	۱۵۴	۴۸/۷	–	–	۰/۲۰۳	۰/۶۵۳
۳) آزمایشی۱ (200 mg Letrozole)	۳۰۰ [a]	۸۷/۰	۲۹۷	۹۹/۰ [b]	۳	۱/۰	–	–	۲۸۸/۱۲۰	۰/۰۰۰
۴) آزمایشی۲ (300 mg Letrozole)	۲۶۴ [b]	۷۶/۵	۲۶۳	۹۹/۶[b]	–	–	۱	۰/۴	۲۶۰/۰۱۵	۰/۰۰۰
۵)آزمایشی۳ (400 mg Letrozole) [3]	۲۹۵ [a]	۸۵/۵	۲۹۵	۱۰۰ [b]	–	–	–	–	–	–

بین میزان بازماندگی و میانگین نسبت نرها در تیمارهای گوناگون که با اندیس‌های مختلف مشخص شده اند تفاوت معنی‌دار در سطح $P<0.05$ وجود داشت.

۱. بین میزان بازماندگی در تیمارهای گوناگون در سه آزمایش با اندیس های مختلف از نظر آزمون مربع کای (chi-square) با استفاده از جدول‌های توافقی و حذف کمترین مقدار(ها) تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

۲. بین نسبت‌های جنسیتی افراد درون تیمار از نظر آزمون مربع کای تفاوت معنی‌دار وجود نداشت.

۳. همه افراد درون تیمار نرسازی شدند.

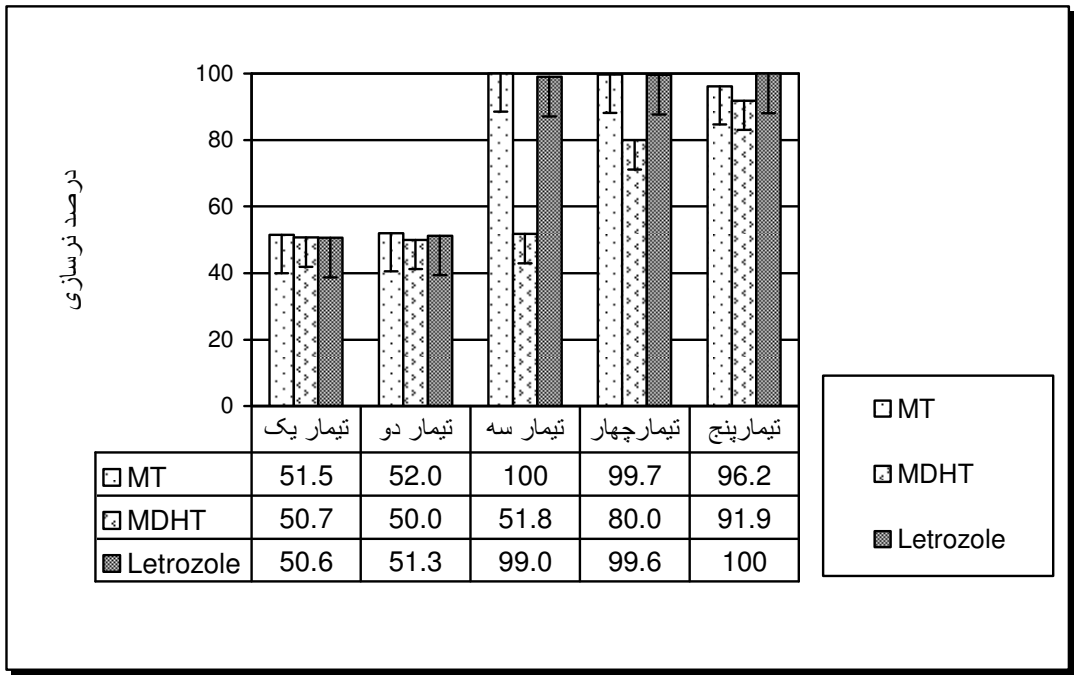
۲-۳- داده‌های حاصل از اندازه گیری سنجه‌های فیزیکی- شیمیایی آب:

این داده ها دربرگیرنده دمای آب، pH، اکسیژن محلول در آب، درصد آمونیاک و نیتریت بود که در جدول ۹-۳ آمده است.

۹-۳: میانگین سنجه‌های آبی اندازه‌گیری شده در طول اجرای آزمایش

میانگین سنجه های آبی در طول آزمایش					
دمای آب (Ċ)	شوری (g/l)	pH	اکسیژن محلول (mg/l)	درصد آمونیوم	درصد نیتریت
۲۶/۹±۰/۰۳	۸	۷/۶	۵/۷۸±۰/۰۵	۰/۱۱±۰/۰۱	>۰/۰۲

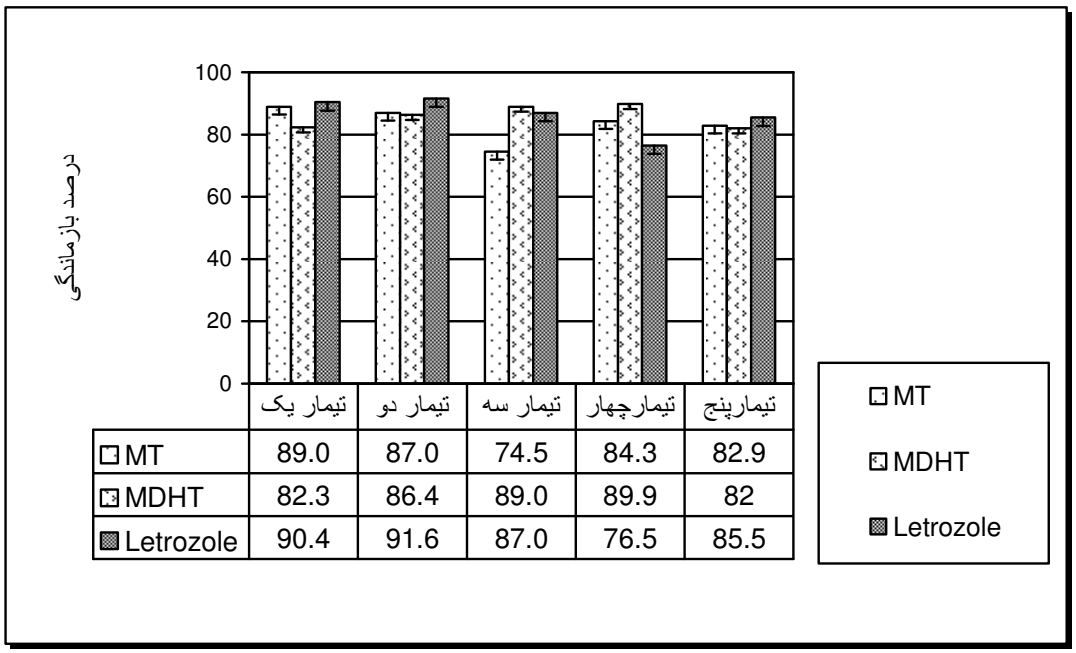
- مقادیر دما، اکسیژن محلول و درصد آمونیاک به (average±SE)
- اندازه‌گیری دمای آب بوسیله دماسنج جیوه ای
- اندازه‌گیری شوری، pH و اکسیژن محلول به وسیله دستگاه WTW 82362 weilheim ساخت کشور آلمان
- اندازه‌گیری درصد آمونیوم و نیتریت به کمک کیت و دستگاه Photometer PF-11 از کارخانه MACHEREY-NAGEL ساخت کشورآلمان



	تیمار یک	تیمار دو	تیمار سه	تیمارچهار	تیمارپنج
MT	51.5	52.0	100	99.7	96.2
MDHT	50.7	50.0	51.8	80.0	91.9
Letrozole	50.6	51.3	99.0	99.6	100

نم

نمودار ۱-۳- درصد نرسازی در تیمارهای گوناگون ۳ آزمایش



	تیمار یک	تیمار دو	تیمار سه	تیمارچهار	تیمارپنج
MT	89.0	87.0	74.5	84.3	82.9
MDHT	82.3	86.4	89.0	89.9	82
Letrozole	90.4	91.6	87.0	76.5	85.5

نمودار ۲-۳- درصد بازماندگی در تیمارهای گوناگون ۳ آزمایش

آزمایش۱ دربرگیرنده دو تیمار شاهد (خوراک ساده و خوراک آغشته به محلول آبی اتانول خشک شده) و ۳ تیمار آزمایشی بود. در آغاز آزمایش، در هر تیمار و هر تکرار به ترتیب شمار ۳۴۵ و ۱۱۵ لارو بطور تصادفی قرار گرفت. در این آزمایش، تاثیر ۳ سطح مختلف ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک از هورمون ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون (MT) بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطح 40mg MT/k of feed در گروه آزمایشی ۱ صددرصد نرسازی شدند (۲۵۷ بچه‌ماهی) در حالی در گروه آزمایشی ۲ که از سطح 60mg MT/k of feed تغذیه کرده بودند ۹۹/۷ درصد (۲۹۱ بچه‌ماهی) نرسازی مشاهده شد و تنها یک بچه‌ماهی دارای جنسیت اینترسکس بود. با این وجود در تیمار آزمایشی ۳ (100mg MT/k of feed) جمعیت نرها ۹۶/۲ درصد(۲۸۶ بچه‌ماهی) بود و به ترتیب ۱/۷ و ۲/۱ درصد از جمعیت را ماده‌ها (۵ بچه‌ماهی) و افراد اینترسکس(۶ بچه‌ماهی) بخود اختصاص دادند. در گروه‌های شاهد ۱ و ۲ نسبت افراد نر و ماده از نظر آزمون مربع‌کای (chi-square) تفاوت معنی‌دار($P>0.05$) نشان نداد (نمودار ۱-۳ و جدول ۸-۳). در آغاز این آزمایش، میانگین طول کل بدن و وزن لاروها (بیومتری ۱) به ترتیب برابر با ۱/۰۹ سانتی‌متر و ۰/۰۱۵ گرم بود که بطور مساوی و تصادفی در تیمارها توزیع شدند. میانگین طول کل(±SE) بدن در بیومتری ۲ برای ۲ گروه شاهد و ۳ گروه آزمایشی به ترتیب در دامنه ۳/۸±۰/۰۴ تا ۳/۸±۰/۰۵ و ۳/۵±۰/۰۸ تا ۳/۸±۰/۰۶ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۵/۷±۰/۰۶ تا ۵/۷±۰/۰۷ و ۵/۶±۰/۰۸ تا ۵/۹±۰/۰۷ سانتی‌متر بود. میانگین وزن (±SE) در بیومتری۲ (۳۰ روز پس از آغاز آزمایش) برای گروه‌های شاهد و آزمایشی به ترتیب در دامنه ۰/۹۳±۰/۰۳ تا ۰/۹۵±۰/۰۳ و ۰/۷۱±۰/۲۰ تا ۰/۹۳±۰/۰۴ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۳/۱۰±۰/۰۹ تا ۳/۱۰±۰/۱۰ و ۳/۰۰±۰/۱۳ تا ۳/۳±۰/۱۱ گرم بود. از نظر آزمون دانکن میانگین‌های وزن و طول کل بدن در بیومتری ۲ در دو تیمار شاهد و آزمایشی ۲ و ۳ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و تنها در تیمار آزمایشی ۱ بطور معنی‌دار کمتر از سایر گروه ها بود ($P,0.05$) اما در بیومتری ۳ به رغم دامنه بزرگتر وزن و طول کل بدن در تیمارهای آزمایشی هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه ها دیده نشد(جدول۳-۳). در آزمایش حاضر در یک دوره ۴۵ روزه آزمایشی، ضریب تبدیل غذایی (FCR) کل در ۳ گروه آزمایشی و ۲ گروه شاهد در بیومتری ۲ به ترتیب در دامنه ۰/۸۵ تا ۱/۰۸ و ۰/۸۱ تا ۰/۸۷ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۰/۶۴ تا ۰/۷۲ و ۰/۶۳ متغیر بود (جدول ۱-۳). میزان بازماندگی درگروه های این آزمایش از نظر آزمون مربع کای متفاوت بود ($\chi^2=31.166, P<0.05$) و درگروه آزمایشی ۱ (۴۰ میلی‌گرم هورمون

۷۴/۵ درصد) و ۳ (۱۰۰میلی‌گرم هورمون ۸۲/۹ درصد) کمتر از گروه‌های آزمایشی ۲ (۶۰ میلی‌گرم هورمون) و تیمار شاهد ۱ و ۲ (به ترتیب ۸۴/۳، ۸۹/۰ و ۸۷/۰ درصد) بود (نمودار ۲-۳ و جدول ۸-۳).

آزمایش ۲ در برگیرنده سه تیمار شاهد غوطه‌وری در آب معمولی، غوطه‌وری ۱ بار، و غوطه‌وری ۲ بار در محلول آبی اتانول و دو تیمار آزمایشی بود. در آغاز آزمایش، در هر تیمار و هر تکرار به ترتیب شمار ۳۴۵ و ۱۱۵ لارو بطور تصادفی قرار گرفت. در این آزمایش، تاثیر هورمون متیل دای‌هایدرو تستوسترون (MDHT) یا مستانولون به دو صورت غوطه‌وری ۱ بار، و غوطه‌وری۲ بار در محلول آبی(۱۸۰۰ میکروگرم هورمون در لیتر) به مدت ۴ ساعت (به ترتیب در روز ۱۰ و روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از لقاح) بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که در تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب ۸۰/۰ و ۹۱/۹ درصد بچه‌ماهیان (به ترتیب ۲۴۸ و ۲۶۰ بچه‌ماهی) نرسازی شدند اما در ۳ تیمار شاهد، شمار نرها از نظر آزمون chi-square با ماده‌ها تفاوت معنی‌دار ($P<0.05$) نداشت (نمودار ۲-۳ و جدول ۸-۳). در آغاز این آزمایش، میانگین طول کل بدن و وزن لاروها (در بیومتری ۱) به ترتیب برابر با ۰/۹۸ سانتی‌متر و ۰/۰۱۵ گرم بود که بطور مساوی و تصادفی در تیمارها توزیع شدند. میانگین طول کل بدن (±SE) در بیومتری ۲ برای ۳ گروه شاهد و ۲ گروه آزمایشی به ترتیب در دامنه ۳/۴±۰/۰۵ تا ۳/۵±۰/۰۵ و ۳/۳±۰/۰۶ تا ۳/۵±۰/۰۳ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۵/۲±۰/۰۷ تا ۵/۴±۰/۰۹ و ۵/۱±۰/۰۹ تا ۵/۴±۰/۰۷ سانتی متر بود. میانگین وزن (±SE) در بیومتری ۲ برای گروه های شاهد و آزمایشی به ترتیب در دامنه ۰/۵۸±۰/۰۳ تا ۰/۶۰±۰/۲۰ و ۰/۵۳±۰/۰۳ تا ۰/۶۲±۰/۰۲ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۲/۷۲۰±۰/۱۰ تا ۲/۹۵±۰/۱۵ و ۲/۵۰±۰/۱۳ تا ۲/۹۲±۰/۱۲ گرم بود. از نظر آزمون دانکن بین میانگین‌های وزن زنده در تیمارهای شاهد و آزمایشی در بیومتری ۲ و ۳ و نیز میانگین طول کل بدن در بیومتری ۲ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$) اما بین میانگین‌های طول کل بدن در بیومتری ۳ تفاوت معنی دار بود بطوریکه بیشترین میانگین در تیمار شاهد ۱ و آزمایشی ۱ و کمترین آن در تیمار آزمایشی ۲ دیده شد (جدول۳-۳). در آزمایش حاضر در یک دوره ۴۵ روزه، ضریب تبدیل غذایی (FCR) کل در ۲ گروه آزمایشی و ۳ گروه شاهد در بیومتری ۲ به ترتیب در دامنه ۰/۷۲ تا ۰/۸۳ و ۰/۷۴ تا ۰/۸۶ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۰/۷۰ تا ۰/۸۰ و ۰/۷۱ تا ۰/۷۹متغیر بود. میزان بازماندگی درگروه‌های این آزمایش از نظر آزمون مربع کای متفاوت بود (χ^2=15.165, $P<0.05$) و در گروه آزمایشی ۱ (۱ بار غوطه‌وری در محلول هورمون) و گروه‌های شاهد ۲ و ۳ (به ترتیب ۸۹/۹، ۸۶/۴ و ۸۹/۹ درصد) بیشتر از گروه آزمایشی ۲، ۸۲/۰ درصد، و گروه شاهد، ۸۲/۳ درصد، بود (نمودار ۲-۳ و

جدول ۶-۳). میزان بازماندگی درگروه آزمایشی ۱ (۱ بار غوطه‌وری در محلول هورمون) و گروه‌های شاهد ۲ و ۳ از نظر آزمون مربع کای بطور معنی‌دار (به ترتیب ۸۹/۹، ۸۶/۴ و ۸۹/۹ درصد و P<0.05) بیشتر از گروه آزمایشی ۲، ۸۲/۰ درصد، و گروه شاهد ۱، ۸۲/۳ درصد، بود (نمودار ۲-۳ و جدول ۶-۳).

آزمایش۳ دربرگیرنده دو تیمار شاهد (خوراک ساده و خوراک آغشته به محلول آبی اتانول خشک شده) و ۳ تیمار آزمایشی بود. در این آزمایش، تاثیر ۳ سطح مختلف ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک از آنتی‌آروماتاز لتروزول بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطح 400mg Letrozole/k of feed در گروه آزمایشی ۳ صددرصد (۲۹۵ بچه‌ماهی) نرسازی شدند در حالی که این نسبت‌ها در گروه‌های آزمایشی ۱ و ۲ که از سطوح ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم لتروزول تغذیه کرده بودند به ترتیب به ۹۹/۰ و ۹۹/۶ درصد(به ترتیب ۳۰۰ و ۲۶۴ بچه‌ماهی) رسید. در گروه آزمایشی ۱ سه بچه‌ماهی (۱ درصد) دارای جنسیت ماده و در گروه آزمایشی ۲ تنها یک بچه ماهی (۰/۴ درصد) جنسیت اینترسکس داشتند. نسبت‌های جنسی افراد نر و ماده در درون گروه‌های شاهد از نظر آزمون chi-square با یکدیگر تفاوت معنی‌دار (P<0.05) نداشت (نمودار ۱-۳ و جدول ۸-۳). در این آزمایش، میانگین طول کل بدن و وزن لاروها در بیومتری ۱ به ترتیب برابر با ۰/۹۰ سانتی‌متر و ۰/۰۱۰ گرم بود که بطور مساوی و تصادفی در تیمارها توزیع شدند. میانگین طول کل بدن (±SE) در بیومتری ۲ برای ۲ گروه شاهد و ۳ گروه آزمایشی به ترتیب در دامنه ۲/۷±۰/۰۴ تا ۲/۸±۰/۰۳ و ۲/۵±۰/۰۴ تا ۲/۷±۰/۰۳ و در بیومتری ۳ به ترتیب ۴/۰±۰/۰۴ و در دامنه ۳/۵±۰/۰۶ تا ۳/۸±۰/۰۴ سانتی‌متر بود. میانگین وزن (±SE) در بیومتری ۲ برای گروه های شاهد و آزمایشی به ترتیب در دامنه ۰/۳۱±۰/۰۱ تا ۰/۳۶±۰/۰۱ و ۰/۲۶±۰/۰۱ تا ۰/۳۱±۰/۰۱ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۱/۱۲±۰/۰۴ تا ۱/۱۶±۰/۰۳ و ۰/۸۵±۰/۰۵ تا ۱/۰۳±۰/۰۳ گرم بود. در آزمایش حاضر در یک دوره ۴۵ روزه، ضریب تبدیل غذایی (FCR) کلی در ۳ گروه آزمایشی و ۲ گروه شاهد در بیومتری ۲ به ترتیب در دامنه ۱/۰۶ تا ۱/۲۵ و ۰/۸۶ تا ۱/۰۲ و در بیومتری ۳ به ترتیب در دامنه ۱/۰۲ تا ۱/۲۷ و ۰/۸۴ تا ۰/۹۳ متغیر بود. میزان بازماندگی درگروه‌های این آزمایش از نظر آزمون مربع کای متفاوت بود (χ^2=41.119, P<0.05) که درگروه آزمایشی ۲ (۷۶/۵ درصد) کمتر از گروه های شاهد و ۲ گروه آزمایشی دیگر بود. میزان بازماندگی در گروه های شاهد ۱ و ۲ و آزمایشی ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با ۹۰/۴، ۹۱/۶، ۸۷/۰، ۷۶/۵ و ۸۵/۵ درصد بود (نمودار ۲-۳ و جدول ۸-۳).

٤- بحث

برای اینکه تغییر جنسیت موثر بیفتد باید عملیات تک جنس سازی پیش از تمایز اندام های جنسی آغاز شود. تمایز جنسیت گنادها در زمان خاصی پس از تفریخ انجام می شود. در لاروهای تازه تفریخ شده تیلاپیای نیل(*Oreochromis niloticus*) و موزامبیک سلول های نخستین جنسی (PGC) در ریشه پشتی مزانتر در حال رشد در مزودرم، در ناحیه شکمی روده و در سلول‌های اندودرم روده یافت می‌شوند. این سلول‌ها سرانجام به ناحیه گنادی مهاجرت کرده و در روز ۹ تا ۱۲ پس از تفریخ یک جفت آنالژن گنادیک (بافتی که در مراحل بعدی به بیضه و یا تخمدان تبدیل می شود) دیده می‌شوند. پیدایش حفره تخمدانی و بیضه‌ای نشانه تمایز جنسیت به نر و یا ماده است که ۱۶ تا ۲۰ روز پس از تفریخ در تیلاپیای موزامبیک و احتمالا ۳۰ تا ۳۳ روز پس از آن در تیلاپیای نیل رخ می‌دهد (Phelps and Popma, 2000). هنگام نرسازی، مصرف اندروژن‌های برون‌زاد (exogenic) مانند MT، MDHT و ET آنزیم‌های استروئیدوژنیک کلیدی دربرگیرنده P450arom را تنها هنگام تمایز جنسی درلاروهای ماده سرکوب کرده و منجر به نرسازی آنها می‌شود اما اینکه آیا فقدان آروماتاز و یا حضور اندروژن‌ها کدام موجب تمایز بافت گنادیگ به بافت بیضه می‌شود یا نه در پرده ای از ابهام است (Bhandari *et al*., 2006). لذا با توجه به مطالب گفته‌شده استفاده از هورمون و سایر ترکیبات برای تغییر جنسیت در ماهیان در دوره زمانی خاصی تاثیرگذار است. بر این اساس در منابع مختلف روش‌کارهای متنوعی برای نرسازی گونه‌های مختلف ماهیان ارایه شده که هدف‌های گوناگونی مانند افزایش رشد، کنترل جمعیت و نیز اهداف زیست‌محیطی را دربرمی‌گیرند. در این روش‌کارها از هورمون های گوناگون آندروژنیک مانند MT، MDHT، ET، Fluoxymesterone و نیز ترکیبات آنتی‌آروماتاز مانند فادروزل، لتروزول و تاموکسیفن بهره‌گیری می‌شود که تاثیرات متفاوتی بر میزان نرسازی، رشد، طول کل بدن، ضریب تبدیل غذایی و بازماندگی در شرایط گوناگون آزمایشی داشته‌اند.

در پژوهش حاضر، در ۳ آزمایش جداگانه تاثیر دو هورمون آندروژنیک MT و MDHT به ترتیب بصورت خوراکی و غوطه‌وری و نیز ترکیب آنتی‌آروماتاز بصورت خوراکی بر نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل، ۷ روز

پس از لقاح، مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین سنجه‌های دیگر مانند افزایش وزن، طول کل بدن، بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی در دوره آزمایشی اندازه‌گیری شدند.

۱-٤- آزمایش ۱:

در این آزمایش تاثیر هورمون ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون (MT) در ۳ تیمار آزمایشی مختلف با سطوح ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بررسی شد که بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطح 40mg MT/k of feed در گروه آزمایشی ۱ صددرصد نرسازی شدند و میزان نرسازی در ۲ گروه دیگر به ترتیب ۹۹/۷ و ۹۶/۲ درصد بود (نمودار ۱-۳ و جدول۶-۳).

در پژوهش Shelton *et al.* (1981a) روی تیلاپیای آبی (*Oreochromis aureus*)، نرسازی با ۶۰ میلی‌گرم هورمون اتینیل تستوسترون (ET) در کیلوگرم غذا تحت شرایط گوناگون زمانی و دمایی موجب افزایش معنی‌دار نسبت نرها در گروه های آزمایشی مختلف نسبت به گروه شاهد شد ($P<0.05$). در این آزمایش، لاروها در دمای ۲۱ درجه در دو تیمار زمانی ۲۱ و ۲۸ روزه، صددرصد نرسازی شدند اما در ۲ تیمار زمانی ذکر شده در دمای ۳۰ درجه تنها شمار اندکی ماده (۲ تا ۳ درصد) مشاهده شد. در پژوهش حاضر روی گونه تیلاپیای نیل نیز در گروه آزمایشی ۱ (40 mg MT/k of feed) صددرصد بچه‌ماهیان (۲۵۷ قطعه) نرسازی شدند. همچنین در گروه آزمایشی ۳ پژوهش حاضر (100 mg MT/k of feed) ۱/۷ درصد بچه‌ماهیان(۵ قطعه) ماده بودند اما فزون بر آن، ۲/۱ درصد بچه‌ماهیان (۶ قطعه) جنسیت اینترسکس داشتند. با این وجود، در ۹۶/۲ درصد بچه‌ماهیان نرسازی (۲۷۵ قطعه) انجام شد. شایان توجه اینکه در گروه ۲ آزمایشی پژوهش حاضر (60 mg MT/k of feed) بجز یک بچه‌ماهی که جنسیتی اینترسکس داشت مابقی ۲۹۰ بچه‌ماهی نرسازی شدند(جدول ۸-۳). در مطالعه ای Phelps *et al.* (1996b) تاثیر سطوح گوناگون متیل تستوسترون و پودر بیضه گاوی خشک‌شده به روش انجماد در ۲ نسبت غذایی ۱:۱ و ۱:۳ (غذای قزل آلا: بیضه گاوی خشک شده) را در نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل به مدت ۲۸ روز بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد که استفاده از بیضه گاوی در نسبت های یادشده بی تاثیر بوده و یا تاثیری در افزایش نرها به منظور هدف های کاربردی نداشت (به علت پایین بودن غلظت تستوسترون در حد ۱۱/۴ g/g□) اما در بیش از ۹۷ درصد از لاروهایی که از سطوح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم هورمون MT در کیلوگرم غذا استفاده

کرده بودند نرسازی مشاهده شد که با یافته‌های تیمار ۳ آزمایشی پژوهش حاضر (100 mg MT/k of feed; 96.2% male) همخوانی دارد در حالی که در آزمایش حاضر، بیش از ۹۹ درصد لاروها درتیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ (به ترتیب ۱۰۰ و ۹۹/۷ درصد) که از ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم MT در کیلوگرم تغذیه کرده بودند نرسازی مشاهده شد (جدول ۶-۳). در پژوهشی دیگر بوسیله Desprez *et al.* (2003) که امکان نرسازی در تیلاپیای قرمز فلوریدا (Florida red tilapia) با استفاده از اندروژن طبیعی 11□-hydroxyandrostenedione (11□OHA4) بررسی شد تیمارهای آزمایشی دربرگیرنده ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی گرم 11□OHA4 در کیلوگرم غذا بودند که در یک دوره زمانی ۱۰ تا ۳۵ روزه در دمای ۲۷ سانتی‌گراد به لاروها (۱۰ روز پس از لقاح) تغذیه شدند. در یک آزمایش گروهی لاروهایی که ۵۰ میلی‌گرم هورمون طی ۲۱ تا ۳۵ روز دریافت کردند همه نرسازی شدند (P<0.001) اما دزهای پایین‌تر(۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و دوره‌های زمانی کوتاه‌تر (۱۰ و ۱۴ روز) دارای اثر متفاوت یا بی‌تاثیر بودند. در پژوهش حاضر نیز در تیمار آزمایشی ۱، دز ۴۰ میلی‌گرم خوراکی MT توانست جمعیت صددرصد نر را در لاروهای تیلاپیای نیل ایجادکند (جدول ۶-۳). شایان توجه اینکه بر اساس یافته‌های Baroiller and Toguyeni (1996) برای نرسازی تیلاپیای نیل به دزهای بالاتری از این اندروژن طبیعی در مقایسه با تیلاپیای قرمز فلوریدا (۱۰ در برابر ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نیاز است. در آزمایشی بوسیله Manosroi *et al.* (2004) تاثیر اندروژن فلوئوکسی مسترون (fluoxymesterone) در ۳ تیمار خوراکی (غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) بر تغییر جنسیت و رشد گنادیک لاروهای ۴ روزه تیلاپیای قرمز تایوانی (Thai red tilapia) طی مدت ۲۱ روز در دمای۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. در این آزمایش بیشترین درصد نرسازی مربوط به تیمار ۴۰ میلی‌گرم بود (P<0.05; 96.10 male) اما با افزایش هورمون در تیمارهای آزمایشی دیگر به ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم، درصد ماهیان اینترسکس و عقیم افزایش یافت. در پژوهش حاضر در گونه نیل نیز با افزایش سطح هورمون MT از سطح ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به ۶۰ و۱۰۰ میلی‌گرم شمار اندکی بچه‌ماهی اینترسکس مشاهده شد. با این وجود، درصد ماهیان ماده و اینترسکس در آزمایش حاضر کمتر بود و نسبت ماهیان نر در تیمار ۴۰ میلی‌گرم (برخلاف آزمایش ذکرشده) به صددرصد رسید(جدول ۶-۳). در پژوهش دیگری بوسیله Wahbi and Shalaby, (2010) اثر تجویز ۳ سطح ۶۰، ۱۲۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم هورمون MT در کیلوگرم خوراک بر

تغییر جنسیت و رشد بیضه در لاروهای ۷ روز پس از تفریخ ۳ گونه تیلاپیا دربرگیرنده Tilapia Nilotica، Tilapia Zillii و Red Tilapia به مدت ۲۸ روز بررسی شد که نسبت نرها بطور قابل ملاحظه ای در گروه های آزمایشی (در مقایسه با گروه شاهد)، ۳۰ روز پس از هورمون‌درمانی افزایش یافت بطوری که ۸۶/۷ تا ۹۰ درصد لاروها در گروه ۶۰ میلی‌گرم نرسازی شدند. سطوح ۱۲۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اثر بازدارندگی روی اووژنز داشتند که شدت آن بسته به سطح اندروژن و گونه ماهی متغیر بود و همانند آزمایش حاضر با افزایش سطح هورمون ماهیان اینترسکس مشاهده شدند.

در آزمایش‌های گوناگون نشان داده شده که پارامترهایی مانند وزن و طول خود تابعی از سطح تغذیه، تراکم پرورش، دمای پرورش، محیط و سیستم پرورش، چگونگی تیماربندی و زمان و طول دوره هورمون‌درمانی، سطح استفاده از هورمون و سایر ترکیبات شیمیایی هستند (Phelps *et al*., 1996b; Shelton *et al*., 1981a and Manosroi *et al*., 2004). در مطالعه‌ای که روی تیلاپیای نیل بوسیله Phelps *et al*. (1996b) انجام شد میانگین طول و وزن لاروها (تراکم ۸ لارو در لیتر) پس از یک دوره ۲۸ روزه تغذیه از غذای آغشته به MT در سیستم پرورش در آکواریوم به ترتیب در دامنه ۳۲/۸ تا ۳۹/۶ میلی‌متر و ۰/۷ تا ۱/۰ گرم و در سیستم هاپا به ترتیب در دامنه ۴۰/۷ تا ۴۴/۳ میلی‌متر و ۱/۲ تا ۱/۹ گرم بود؛ در حالی که میانگین طول و وزن لاروها (تراکم ۸ لارو در لیتر) پس از یک دوره ۲۸ روزه تغذیه از پودر بیضه گاوی خشک شده به روش انجماد در ۲ نسبت غذایی ۱:۱ و ۱:۳ (غذای قزل آلا: بیضه گاوی خشک شده) به ترتیب۵۵/۶ و ۵۹/۷ میلی‌متر و ۲/۰ و ۰/۷ گرم بود. در آزمایش حاضر، میانگین طول کل بدن و وزن در بیومتری ۱ (۳۰ روز پس از آغاز آزمایش) تنها در گروه ۱ آزمایشی (۴۰میلی‌گرم MT در کیلوگرم غذا) کمتر از سایر گروه‌های آزمایشی و شاهد بود. در پژوهش Manosroi *et al*. (2004) در تیلاپیای قرمز تایوانی میزان رشد در گروه های آزمایشی که فلوئوکسی مسترون دریافت کرده بودند بیش از گروه کنترل بود ($P<0.05$). در آزمایش حاضر در تیلاپیای نیل به رغم میانگین بالاتر وزن در گروه‌های آزمایشی در بیومتری ۳، تفاوت های معنی‌دار بین گروه ها دیده نشد ($P>0.05$). همچنین نرخ رشد ویژه (گرم در روز) در پژوهش Manosroi در یک دوره ۵ ماهه در گروهی که ۴۰ میلی‌گرم فلوئوکسی مسترون دریافت کرده بود بطورمعنی‌دار بیش از همه گروه‌های دیگر و در گروه‌های آزمایشی بیش از گروه‌های شاهد بود($P<0.05$).

در مطالعه Phelp *et al.* (1996b) روی لاروهای تیلاپیای نیل تحت شرایط آکواریوم و هاپا تلفات به ترتیب در دامنه ۱۷/۷ تا ۲۷/۷ و ۲۵/۷ تا ۴۳/۶ بود در حالی که در آزمایش حاضر میزان آن کمتر و در دامنه‌ای باریک تر و از ۱۱/۰ تا ۲۵/۵ درصد متغیر بود (نمودار ۲-۳ و جدول ۶-۳). در آزمایش Shelton *et al.* (1981a) که تحت شرایط گوناگون زمانی و دمایی روی تیلاپیای آبی انجام شد میزان بازماندگی در گروه‌های تیماری ۲۱ و ۲۸ روزه بیش از ۹۰ درصد گزارش شد. با این وجود و به رغم پایین بودن تلفات کلی در گروه‌های ۱۶ و ۱۹ روزه، در تیمار ۱۹ روزه در دمای ۲۱ درجه میزان تلفات ۴۶ درصد بود در حالی که در آزمایش حاضر درتیلاپیای نیل میزان تلفات در تیمارها از ۱۱/۰ تا ۲۵/۵ درصد متغیر و بیشینه آن (۲۵/۵ درصد) در تیمار آزمایشی ۱ (40 mg MT/k of feed) دیده شد. در پژوهش Desprez *et al.* (2003) روی تیلاپیای قرمز فلوریدا میزان بازماندگی با تراکم ۸ تا ۱۱ لارو در لیتر از ۴۲/۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. در آزمایش حاضر درتیلاپیای نیل بازماندگی در دامنه ۷۴/۵ تا ۸۹/۰ درصد و تراکم بچه ماهیان نزدیک به آزمایش ذکرشده (۱۱/۵ لارو در لیتر در آغاز آزمایش) بود. میزان تلفات در آزمایشی روی تیلاپیای قرمز تایوانی بوسیله Manosroi *et al.* (2004) در یک دوره ۵ ماهه نزدیک به آزمایش حاضر و در دامنه ۸۲/۲±۳/۸۰ تا ۸۴/۹۵±۵/۰ متغیر بود. با توجه به یافته‌های بدست‌آمده در پژوهش های ذکرشده تلفات و بازماندگی در آزمایش حاضر در حد قابل قبول و مناسب بود.

۲-٤- آزمایش ۲:

در این آزمایش تاثیر هورمون متیل دای‌هایدروتستوسترون (MDHT) یا مستانولون در ۲ تیمار آزمایشی گوناگون غوطه‌وری ۱ بار، و غوطه‌وری۲ بار در محلول آبی ۱۸۰۰ میکروگرم در لیتر این هورمون به مدت ۴ ساعت (به ترتیب در روز ۱۰ و روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از لقاح) بررسی شد که در تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب ۸۰/۰ و ۹۱/۹ درصد بچه‌ماهیان نرسازی شدند (نمودار ۱-۳ و جدول ۶-۳).

در پژوهشی بوسیله Gale *et al.* (1999) روی تیلاپیای نیل، در ۳ آزمایش جداگانه کارایی نر سازی به شیوه غوطه‌وری کوتاه مدت (۳ ساعت) در محلول دو هورمون آندروژنیک سنتتیک MT و MDHT بررسی شد. یافته ها در ۲ آزمایش ۱ و ۳ نشان داد که ۲ بار غوطه وری در ۱۰۰ میکروگرم در لیتر از هورمون های MT و

MDHT در روزهای ۱۰ و ۱۳ پس از لقاح موجب افزایش معنی‌دار نسبت نرها شد (۷۳٪ و ۳± ۸۳ ٪ در MT و ۷۲٪ و ۱±۹۱٪ در MDHT) در حالی که در آزمایش ۲ تفاوت معنی‌دار دیده نشد. سطح ۵۰۰ میکروگرم MT تنها در آزمایش ۳ موجب نرسازی معنی دار (۱± ۸۷٪) شد اما غوطه‌وری با MDHT در همین سطح در ۳ آزمایش معنی‌دار (در آزمایش ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۰۰، ۹۴ و ۲± ۸۳ درصد) بود. در آزمایش ۳، نرسازی در تنها تیمار یک بار غوطه‌وری که در روز ۱۳ پس از لقاح (۵۰۰ میکروگرم MDHT در لیتر) انجام شد تفاوت معنی‌دار (۳±۸۶٪) نشان داد. درصد نرسازی در این تیمار بالاتر از تیمار ۲ بار غوطه وری در همین آزمایش بود. برعکس در آزمایش حاضر درصد نرهای بوجود آمده در ۱ بار غوطه‌وری با MDHT کمتر از ۲ بار غوطه‌وری (۸۰/۰ در برابر ۹۱/۹ درصد) بود؛ با این وجود، در آزمایش حاضر نرسازی به صددرصد(بیشینه ۹۱/۹ درصد) نرسید (جدول ۸-۳) اما در پژوهش Gale *et al*. (1999) نیز تنها در آزمایش ۱ همه لاروهای تحت تیمار نرسازی شدند. تفاوت‌ها در تیماری از آزمایش ۱ که لاروها ضمن تغذیه از غذای آغشته به MT (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از روز ۱۳ تا ۳۰ پس از لقاح، در محلول ۱۰۰ میکروگرم MT در لیتر نیز غوطه‌ور شدند معنی‌دار (۹۲ درصد نر) بود. این ۳ آزمایش نشان می‌دهد که در نرسازی با روش غوطه‌وری، هورمون MDHT نسبت به MT عملکرد بهتری دارد که با یافته‌های دیگر پژوهشگران نیز همخوانی دارد. ناگفته نماند که بطور معمول نیز از این هورمون به شیوه غوطه‌وری برای نرسازی استفاده می‌شود لذا بر اساس مطالب گفته‌شده در پژوهش حاضر تنها از هورمون MDHT برای نرسازی به روش غوطه‌وری استفاده شد. در پژوهشی دیگر بوسیله Wassermann and Afonso (2003) در ۲ آزمایش جداگانه اثر ۳ هورمون MT، MDHT و ۱۷ آلفا-اتینیل تستوسترون (ET) بصورت غوطه‌وری بر نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus* Linaeaus) بررسی شد. در آزمایش نخست، ۳ سطح غوطه وری ۲۰۰، ۶۰۰ و ۱۸۰۰ میکروگرم در لیتر این ۳ هورمون طی مدت ۴ ساعت (در هر تیمار ۱۳۰ لارو) ۱۴ روز پس از تفریخ (DPH) آزمایش شد. نتایج نشان داد که سطح ۱۸۰۰ میکروگرم از ۳ هورمون بطور معنی‌دار و یکسان موجب افزایش نسبت نرها (به ترتیب ۸۶/۰٪ ، ۹۰/۰٪ و ۸۶/۷٪) شد اما در سطح ۲۰۰ میکروگرم هیچکدام از آنها تغییرات معنی‌دار در نسبت نرها بوجود نیاوردند. در سطح ۶۰۰، تنها هورمون MDHT به مقدار کم بطور معنی‌دار موجب انحراف نسبت جنسی به طرف نرها شد. در آزمایش دوم، سطح ۱۸۰۰ میکروگرم بصورت یک بار غوطه‌وری در روز ۱۴ نسبت نرها را بطور معنی‌دار افزایش داد که میزان پاسخ به نوع هورمون وابسته بود (MDHT

۱۰۰/۰٪، MT ۹۱/۹٪ و ET ۷۶/۹٪ نر). در این آزمایش، دوبار غوطه‌وری با سطح ۱۸۰۰ میکروگرم هورمون‌های MT، MDHT و ET در روزهای ۱۰ و ۱۴ پس از تفریخ ، بطور معنی‌دار درصد نرها (به ترتیب ۹۸/۳٪، ۹۳/۴٪ و ۸۲/۰٪) را نسبت به گروه شاهد افزایش داد (P<0.05). همانگونه که پیداست همانند آزمایش Gale *et al*. (1999) در این پژوهش نیز استفاده از MDHT اما بصورت یک بار غوطه‌وری توانست جمعیت صددرصد نر را ایجاد کند در حالی که در پژوهش حاضر نرسازی با دو بارغوطه وری در MDHT درصد بالاتری(۹۱/۹ در برابر ۸۰/۰ درصد) از جمعیت نرها را ایجاد کرد. همچنین برخلاف آزمایش حاضر در آزمایش Wassermann and Afonso (2003) جنسیت اینترسکس مشاهده نشد.

همانند آزمایش حاضر، در ۳ پژوهشی که Fitzpatrick *et al*. (1997a, 1998b and 1998c) روی نرسازی تیلاپیای نیل به شیوه غوطه‌وری انجام دادند از نظر آزمون دانکن بین میانگین وزن نهایی تیمارها تفاوت معنی دار وجود نداشت (P>0.05). در آزمایش حاضر، میانگین طول کل بدن در گروه ها تنها در بیومتری ۳ تفاوت معنی‌دار (P<0.05) نشان داد (جدول ۷-۳).

همچنین در ۳ پژوهش Fitzpatrick *et al*. (1997a, 1998b and 1998c) از نظر تلفات بین تیمارها تفاوت معنی دار وجود نداشت (P>0.05). در پژوهش Gale *et al*. (1999) غوطه‌وری بطور معنی‌دار میزان تلفات را در تیمارهای آزمایشی تغییر نداد (P>0.05). با این وجود، میزان تلفات در آزمایش های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب در دامنه ۰ تا ۸۱، ۰ تا ۶۴ و ۰ تا ۳±۱۲ (±SE) درصدگزارش شد که در مجموع بیش از پژوهش حاضر (۱۰/۱ تا ۱۷/۷درصد) و داده ها نیز در دامنه ای با پراکندگی بزرگ‌تر قرار گرفت.

۳-٤- آزمایش ۳:

در این آزمایش تاثیر آنتی‌آروماتاز لتروزول در ۳ تیمار آزمایشی مختلف با سطوح ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بررسی شد که بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطح 400mg Letrozole/k of feed در گروه آزمایشی ۳ صددرصد نرسازی (۲۹۵ بچه‌ماهی) شدند در حالی که این نسبت ها در گروه های آزمایشی ۱ و ۲ که از سطوح

۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم لتروزول تغذیه کرده بودند به ترتیب به ۹۹/۰ (۲۹۷ بچه‌ماهی) و ۹۹/۶ (۲۶۳ بچه‌ماهی) درصد رسید (نمودار ۱-۳ و جدول ۶-۳).

در نرسازی با استفاده از ضد آنزیم های استروئیدوژنیک موسوم به آنتی‌آروماتازها، عمل آنزیم آروماتاز سد شده و لذا تبدیل اندروژن به ترکیبات استروئیدی متوقف می شود. به این ترتیب در لاروهای ماده تخمدان تشکیل نشده و بافت بیضه شکل می‌گیرد. تولید هورمون 17 □-estradiol(E2) در بافت گنادیک و مغزی سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*) بوسیله Lee *et al.* (2006) در یک سازه *in vitro* مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش، فولیکول های ویتلوژنیک و بافت کامل مغزی هموژنیزه به ترتیب ۱۸ و ۲۴ ساعت در دمای ۱۰°C در محلول کامل Cortlands قرار گرفت و سطوح E2 به روش RIA تعیین شد. یافته ها نشان داد که افزایش تستوسترون در هردو محیط موجب افزایش تولید E2 شد اما تولید E2 در حضور تستوسترون توام با آنتی‌آروماتازهای 1,4,6-androstatriene-3,17-dione (ATD), 4-androstene-4-ol-3,17-dione (4-OHA), aminoglutethimid, fadrozole و micronazole کاهش یافت. این پژوهش نشان داد که در کشت *in vitro* بافت مغزی و گنادیک ماهی سالمون، ATD, 4-OHA و Fadrozole آنتی‌آروماتازهایی قوی برای سرکوب هورمون های آروماتاز هستند. در پژوهشی دیگر Afonso *et al.* (2001) تاثیر آنتی آروماتاز فادرزول را بصورت خوراکی (دزهای ۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به مدت ۱۵ و ۳۰ روز در نرسازی لاروهای تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار دادند. یافته‌ها نشان داد که مستقل از مدت زمان استفاده از آنتی‌آروماتاز، نسبت نرها در همه گروه های آزمایشی بطور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد (صفر میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. با این وجود دزهای ۷۵ و ۱۰۰ فادرزول به مدت ۳۰ روز منجر به نرسازی ۱۰۰ درصد لاروها شدند که با نتایج تیمار آزمایشی ۳ در پژوهش حاضر (400 mg Letrozole/k of feed) همخوانی دارد. ناگفته نماند که در تیمارهای ۱ و ۲ آزمایش حاضر نسبت بچه‌ماهیان نرسازی شده نزدیک به ۱۰۰ و به ترتیب ۹۹/۰ و ۹۹/۶ درصد بود(جدول ۶-۳). تاثیر آنتی‌آروماتاز لتروزول بر تمایز جنسی و گنادیک ماهی Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) در ۲ آزمایش جداگانه بوسیله Gao *et al.* (2009) مورد مطالعه قرار گرفت. در آزمایش ۱، نسبت نرها در گروه های آزمایشی که از لتروزول بصورت خوراکی (مقادیر ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم لتروزول در کیلوگرم غذا) از روزهای ۳۰ تا ۹۰ روز پس از تفریخ تغذیه کرده بودند، بطور معنی‌دار بیشتر ازگروه شاهد بود (به ترتیب در تیمارهای شاهد و آزمایشی ۳۹، ۵۹، ۶۵، ۶۵ و ۷۰ درصد نر ،

P<0.05). در این پژوهش بیشینه نسبت نرها در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم (۷۰ درصد) مشاهده شد در حالی که در آزمایش حاضر روی تیلاپیای نیل ، نسبت های نرسازی با مقادیر خوراکی ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم لتروزول در کیلوگرم در دامنه ۹۹/۰ تا ۱۰۰ درصد قرار گرفتند (جدول ۶-۳). در آزمایش ۲، اثر لتروزول بصورت غوطه‌وری بر تمایز جنسی و گنادیک ماهی طی روزهای ۱۰ تا ۳۰ پس از تفریخ مورد مطالعه قرار گرفت که در آن شمار نرها در گروه های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ بیشتر از گروه شاهد بود (به ترتیب ۶۷، ۷۵ و ۴۱ درصد؛ P<0.05) اما تیمار ۲۵۰ میکروگرم در لیتر اثر معنی‌داری نشان نداد(۴۴ درصد). همانند آزمایش حاضر، در این آزمایش هیچ نشانه‌ای از مسمومیت و تغییر رفتار در گروه های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد. در آزمایشی Sun *et al*. (2007) سمیت لتروزول در تخم، لارو و مولدین بالغ مداکای ژاپنی (*Oryzias latipes*) Japanese medaka را بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد تلفات در لاروهایی که برای ۹۶ روز در معرض غلظت‌های مختلف لتروزول حتی تا ۳۱۲۵ میکروگرم در لیتر قرار گرفتند با گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت. همچنین اندیکس‌های هپاتوسوماتیک و گنادوسوماتیک ماهیان بالغ نر و ماده که ۲۱ روز در سطوح مختلف لتروزول (۱، ۵، ۲۵، ۱۲۵ و ۶۲۵ میکروگرم در لیتر) غوطه‌ور شده بودند اندازه‌گیری شد که نتایج متفاوتی را در مداکای نر و ماده نشان داد. بررسی برش‌های گنادیک موید اثرات بارز سطوح مذکور روی تخمدان‌های مولدین بود. بویژه هیچکدام از مولدین در تیمار ۶۲۵ میکروگرم اووسایت طبیعی بالغ نداشتند. همچنین افزایش اندیکس گنادوسوماتیک با وفور انباشتگی اووسایت های کوچک در تخمدان همراه بود. در افراد نر اتساع حفره لوله های اسپرم ساز همراه با افزایش غلظت اسپرم بویژه در گروه ۶۲۵ میکروگرم لتروزول در لیتر مشاهده شد. ماده ها در گروه ۶۲۵ میکروگرم در هفته پایانی غوطه‌وری، تخم‌ریزی نکرده و در گروه ۱۲۵ میکروگرم هماوری و باروری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته(P<0.01) و تخم‌های لقاح‌شده تفریخ نشدند. دزهای پایین تر اثرات جزیی روی پارامترهای تولیدمثلی ماده ها داشتند. در افراد نر شمار نتاج نر F1 افزایش یافت که درصد آن بسته به غلظت لتروزول متغیر بود. این پژوهش تداعی‌کننده این موضوع است که در مورد تیلاپیا نیز می‌بایست مطالعات تکمیلی در دستور کار قرار گیرد. در پژوهشی Ankely *et al*. (2002) اثر غلظت های ۲ تا ۵۰ میکروگرم در لیتر fadrozole را بر آنزیم آروماتاز P450 (CYP19) در ماهی(*Pimephales promelas*) Fathead Minnow بررسی کردند. یافته‌های

بافت شناسی نشان داد که تخمدان های در معرض محلول فاروزل موجب کاهش اووسایت های بالغ و افزایش فولیکول‌های تحلیل رفته پیش از تخمک‌ریزی می شود. در نرها غلظت اندروژن های تستوسترون و ۱۱-کیتوتستوسترون (KT) بطور معنی‌دار افزایش و منجر به انباشتگی بارز اسپرم در بیضه‌ها می شود. در پژوهشی Navarro-Martin *et al.* (2008) نرسازی در ماهی Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) اروپایی را بوسیله اندروژن و آنتی‌آروماتازهایی مطالعه کردند که در بروز ژن های گوناگون دخیل بوده و اثرات پایدار و مشخصی روی بلوغ می گذارند. یافته‌ها نشان داد که تجویز خوراکی MDHT و Fadrozole (به ترتیب ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) از نظر آزمون مربع‌کای به ترتیب موجب نرسازی در سطح ۱۰۰ و ۹۵ درصد و E2 و Tamoxifen (به ترتیب ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا) موجب ماده سازی در سطح ۱۰۰ درصد شدند($P<0.001$) اما cyproterone acetate (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا) نسبت جنسی را تغییر نداد.

از نظر آزمون دانکن بین میانگین‌های وزن زنده و طول کل بدن در تیمارهای شاهد و آزمایشی در ۲ بیومتری ۲ و ۳ تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P<0.05$). بیشترین مقدار وزن و طول کل بدن در بیومتری ۲ و ۳ در تیمار شاهد ۲ و کمترین مقدار در تیمار آزمایشی ۲ دیده شد(جدول ۷-۳). در آزمایش Gao, *et al.* (2009) که تاثیر آنتی‌آروماتاز لتروزول بر تمایز جنسی و گنادیک ماهی Bluegill sunfish در ۲ آزمایش جداگانه بررسی شد تغییرات معنی‌داری دیده نشد اما در آزمایش حاضر روی گونه تیلاپیای نیل تغییرات معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از نظر وزن و طول کل بدن وجود داشت ($P<0.05$).

در آزمایش Gao, *et al.* (2009) برای بررسی تاثیر آنتی‌آروماتاز لتروزول بر تمایز جنسی و گنادیک ماهی Bluegill sunfish در ۲ آزمایش جداگانه، میزان تلفات در گروه های آزمایشی در دامنه ۴۰ تا ۴۵ درصد بود که با گروه شاهد تفاوت معنی دار نداشت ($P>0.05$). تلفات در گروه های آزمایشی آزمایش حاضر اما در گونه تیلاپیای نیل در دامنه ۲۳/۵ تا ۱۳ درصد بود که بطور معنی دار تنها در گروه آزمایشی ۲ (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی دیگر و شاهد کمتر بود.

با توجه به نتایج بدست آمده در ۳ آزمایش پژوهش حاضر تحت شرایط آب لب شور ایستگاه بافق و نیز پژوهش‌های انجام شده بوسیله سایر محققین در شرایط گوناگون محیطی، استفاده از هورمون MT بصورت خوراکی برای تولید جمعیت های صددرصد نر و یا بسیار نزدیک به آن به منظور معرفی به مزارع برای پرورش و

یا بنا به ملاحظات زیست محیطی قابل توصیه است. ناگفته نماند که آنتی‌آروماتاز لتروزول نیز دارای ویژگی‌های مشابهی با MT است اما هنوز به علت محدودیت تحقیق در منابع موجود، بویژه در مورد لتروزول، به پژوهش‌های تکمیلی بیشتری نیاز است. با این وجود، روش استفاده از هورمون MDHT به صورت غوطه‌وری برای مقاصد ذکرشده بویژه برای کنترل تکثیر بنا به ملاحظات زیست محیطی روشی کاربردی نیست.

پیشنهادها

با توجه به نتایج بدست‌آمده در این پژوهش و نتایج موجود در سایر منابع، به نظر می‌رسد که پژوهش‌های تکمیلی بیشتری برای نرسازی تیلاپیا و آنهم در جمعیت‌هایی از لاروهای تولید شده صددرصد ماده نیاز باشد که به روش های هورمونی و به کمک ابزارهای آزمایشگاهی خاص قابل تولید است. تولید این جمعیت‌ها پس از اجرای پروژه تولید ابرنر (supermale) در دستور کار ایستگاه بافق قرار خواهد گرفت. شایان توجه اینکه پژوهش حاضر به مدت ۴۵ روز در گروهی از لاروها، ۷ روز پس از لقاح انجام شد و لذا لازم است پژوهش‌های تکمیلی در سن‌های بالاتر نیز انجام شود تا تاثیرات این سنین بر نرسازی و وضعیت گنادیک بررسی شده و سرعت و میزان رشد این ماهیان با گروه‌های دو جنس هم‌سن مقایسه شده و احتمال برگشت گنادها و یا سایر ناهنجاری‌های احتمالی نیز بررسی شود. همچنین می‌توان اثرات ترکیبات شیمیایی و هورمون ها را بر نرسازی از سنین پیش از لاروی و در تخم های لقاح شده بررسی نمود. از جمله زمینه های دیگر، ادامه پژوهش در مورد استفاده از آنتی‌آروماتازها بویژه لتروزول به علت محدودیت تحقیق در منابع موجود است.

تشکر و قدردانی

در اینجا بر خود لازم می بینم که از همه همکاران و دست‌اندرکاران در موسسه تحقیقات شیلات ایران بویژه معاون محترم تحقیقاتی آقای دکتر شریف‌روحانی، آقایان دکتر حسین‌زاده صحافی و دکتر متین‌فر و سایر همکاران در بخش آبزی پروری و اداره پژوهشی بخاطر زحمات، همفکری و راهنمایی‌های ارزنده‌اشان در جهت تصویب و اجرایی شدن این پروژه سپاسگزاری کنم.

همچنین بایسته می‌دانم که در پایان از زحمات بی‌دریغ و ارزنده همه همکاران در ایستگاه بافق، سرکار خانم مهندس نسرین مشایی، آقایان مهندس فرهاد رجبی پور، حبیب سرسنگی و محمد محمدی، دکتر علیزاده و مهدی حاجی عباسی تکنسین ایستگاه که در مراحل اجرایی این پروژه مرا یاری کرده‌اند صمیمانه تشکر کنم.

واژه نامه

11□OHA4: 11□- hydroxyandrostenedione
4-OHA: 4-hydroxy-4-androstene-3, 17-dione

ATD: 1, 4, 6-Androstatrien-3, 17-dione

ANOVA: Analysis of Variance
CPA: Cyproterone Acetate
CTU: Celsius Temperature Units
CYP19: Cytochrome P450 Aromatase
Cyp19a1a: Cytochrome P450, family 19, subfamily a, polypeptide 1a
DPF: Day Post Fertilization
DPH: Days Post-Hatching
E2: Estradiol-17β
ET: Ethynyl Testosterone
FCR: Feed Conversion Ratio
GMT: Genetically Male Tilapia
KT: 11-Ketotestoterone
LH: Luteinising Hormone
PGC: Primordial Germ Cells
MDHT: Methyl Di Hydro Testosterone
MT: Methyl Testosterone
RIA: Radioimmunoassay
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
TBA: Trenbolone Acetate

منابع

۱. حسین‌زاده صحافی، ه.(۱۳۸۹). گزارش نهایی پروژه: ایجاد تک‌جنس ماهی قزل‌آلا به روش مستقیم از هورمون ۱۷ بتا-استرادیول. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۲۶ص.

۲. شریف‌پور، ع.، سلطانی، م.، عبدالحی، ح. و قیومی، ر. (۱۳۸۱). اثر بیهوش‌کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllatta*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه‌ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*).مجله علمی شیلات ایران،۱۱: ۴ .

3. Abed Elmdoust, A.R., Farahmand, H., Rafiee, Gh., Majazi Amiri, B. and Mirvaghefi, A.R. (2011). Masculinization of blue hap (Sciaenochromis ahli) treated with 17□-methyltestosterone. Journal of Agricultural Science and Technology, Volume 13, 173-180.
4. Afonso, L.O.B., Wassermann, G.J. and de Oliveira, R.T. (2001). Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a nonsteroidal aromatase inhibitor. Journal of Experimental Zoology, Volume 290, Issue 2, 177-181.
5. Ankely, G.T., Kahl, M.D., Jensen. K.M., Hornung, M.W., Korte, J.J., Makynen, E.A. and Leino, R.L. (2002). Evaluation of the aromatase inhibitor fadrozole in a short-term reproduction assay with the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Toxicological Science, Volume 67, 121-130.
6. Baroiller, J.F. and Toguyeni, A. (1996). Comparaison des effets d'un ste´roide naturel, la 11h-hydroxy-androste´ne´dione (11h-OH-A4) et d'un androge`ne de synthe`se, la 17a-methyltestoste´rone (17a-MT) sur le sexe-ratio chez Oreochromis niloticus. In: Pullin, R.S.V., Lazard, J., Legendre, M., Amon Kotias, J.B., Pauly, D. (Eds.), Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 11 – 16 November 1991, Abidjan, Coˆ te d'Ivoire. ICLARM Conf. Proc., vol. 41, 261– 269 (Cited in Desprez *et al*., 2003).
7. Bhandari, R.K., Nakamura, M., Kobayashi, T. and Nagahama, Y. (2006). Suppression of steroidogenic enzyme expression during androgen-induced sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). General Comparative Endocrinology, Volume 145, Issue 1, 20-24.
8. Das, R.P. (1980). Effect of papaya seeds on the genital organs and fertility of the male rats. Indian Journal of Experimental Biology, Volume 18, 408-409 (Cited in Ekanem and Okoronkwo, 2003).
9. Desprez, D., Géraz, E., Hoareau, M.C., Mélard, C., Bosc, P., Baroiller, J.F. (2003). Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen 111□- hydroxyandrostenedione (11□OHA4) in Florida red tilapia. Aquaculture, Volume 216, 55-65.
10. Ekanem, S.B. and Okoronkwo, T.E. (2003). Pawpaw seed as fertility control agent on male Nile tilapia. NAGA, WorldFish Center Quartely, Volume 26, No. 2., 8-10.
11. El-Sayed, A.M. (2006). Tilapia Culture. CABI Publishing. CAB International, Wallingford, UK, 276P.
12. Fitzpatrick, M.S., Sánchez, W.M.C., Milston, R.H., Lucero, M. and Feist, G.W. (1997a). Steroid immersion for masculinization of tilapia. PD/A CRSP fifteenth annual technical report, 29-34.
13. Fitzpatrick, M.S., Sánchez, W.M.C., Milston, R.H., Lucero, M. and Feist, G.W. (1998b). Steroid immersion for masculinization of tilapia: Immersion of tilapia fry in MDHT. PD/A CRSP sixteenth annual technical report, 73-74.
14. Fitzpatrick, M.S., Sánchez, W.M.C., Milston, R.H., Lucero, M. and Feist, G.W. (1998c). Effect of fish density on efficacy of masculinization by immersion in MDHT. PD/A CRSP sixteenth annual technical report, 75-77.
15. Fortes R.D. (2005). Review of Techniques and Practices in Controlling Tilapia Populations and Identification of Methods that May Have Practical Applications in Nauru Including a National Tilapia Plan. Secretariat of the Pacific Community (**SPC**), Marine Resources, Noumea, New Caledonia. 55P.
16. Gale, W.L., Fitzpatrick, M.S., Lucero, M., Contreras-Sánchez, W.M. and Schreck, C. (1999).Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. Aquaculture, Volume 178, Issues 3-4, 349-357
17. Gao. Z.X., Wang, H.P., Wallat, G., Yao, H., Rapp, D., O'Briant, P., MacDonald, R. and Wang, W.M. (2010). effect of a nonsteroidal inhibitor on gonadal differentiation of bluegill sunfish *lepomis macrochirus*. Aquaculture Research, Volume 41, Issue 9, 1282-1289.

18. GUERRERO, R.D. and SHELTON W.L. (1974). An aceto-carmine squash technique for sexing juvenile fishes. The Progressive Fish-Culturist, v.36, p.56.(cited in Wassermann and Afonso, 2003)
19. Guiguen, Y., Fostier, A., Piferrer, F. and Chang, C.F. (2010). Ovarian aromatase and estrogens: A pivotal role for gonadal differentiation and sex change in fish. General and Comparative Endocrinology, Volume 165, 352-365.
20. Herrera, A.A., Cruz, R. and Fish Genetics Breeding Program Genetic Manipulation for Improved Tilapia Project (2001). Developmental Biology of the Supermale YY Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Histogenesis of the Reproductive System. Science Diliman, Volume 13, Issue 1, 33-40.
21. Hussein, M.G. (1995). Suppression of meiotic and mitotic cell divisionin Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., and induction of triploid and two types of gynogenic diploids. Asian Fisheries Science, Volume 8, 133-142.
22. James, R. and Sampath, K. (2006).Effect of dietary administration of methyltestosterone on the growth and sex reversal of two ornamental fish species. Indian Journal of Fisheries, Volume 53, Issue 3, 283-290.
23. Lee, P.S., Pankhurst, N.W. and King, H.R. (2006). Effects of aromatase inhibitor on *in vitro* steroidogenesis by Atlantic salmon (*Salmo salar*) gonadal and brain tissue. Comparative Biochemitry and Physiology, Part A, Volume 145, 195-203.
24. Lutz, C.G. (2001). Practical Genetics for Aquaculture. Fishing New Books, Blackwell Science, UK, 235P.
25. Manosroi, J., Petchejul, K. and Manosroi, A. (2004). Effect of Fluoxymesterone Fish Feed Granule on Sex Reversal of the Hybrid, Thai Red Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn. x *Oreochromismossambicus* Linn.). Asian Fisheries Science, Volume 17**,** 323-331.
26. Marengoni, N.G. and Onoue, Y. (1998). Ultraviolet-induced androgenesis in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and hybrid Nile H blue tilapia, *O. aureus* (Steindachner). Aquaculture Research, Volume 29**,** 359–366.
27. Marjani, M., Jamili, S., Mostafavi, P.G., Rami, M. and Mashinchian, A. (2009). Influence of 17-alpha methyl testosterone on masculinization and growth in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, Volume 4, Issue 1, 71-74.
28. Myers, J. M., Penman, D. J., Basavaraju, Y., Powell, S. F., Baoprasertkul, P., Rana, K. J., Bromage, N. and McAndrew, B. J. (1995) Induction of diploid androgenetic and mitotic gynogenetic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Theoretical and Applied Genetics, Volume 90, 205-210.
29. Navarro-MartÍn, L., Blázquez, M. and Piferrer, F. (2009). Masculinization of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by treatment with an androgen or aromatase inhibitor involves different gene expression and has distinct lasting effects on maturation. General and Comparative Endocrinology, Volume 160, Issue 1, 3-11.
30. Phelps, R.P., Arnd T. J.T. and Warrington R.L, (1998a). Masculinization of tilapia fry by immersion in trenbolone acetate (TBA) at a production level. PD/A CRSP sixteenth annual technical report. 79-80.
31. Phelps., R., Lovshin, L.L. and Green, BV.W. (1996b). Sex reversal of Tilapia: 17□-methyltestosterone dose rate by environmental and efficacy of bull testis. PD/A CRSP fourteenth annual technical report, 89-91.
32. Phelps, R.P. and T.J. Popma. (2000). Sex reversal of tilapia. Pages 34–59 in B.A. Costa-Pierce and J.E. Rakocy, eds. Tilapia Aquaculture in the Americas, Vol. 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
33. Pillay, T.V.R. (1990). Aquaculture Principles and Practices. Fishing News Book, Blackwell Science, Oxford, UK, 575P. (Cited in El-Sayed, 2006).
34. Shelton, W.L., Rodrigues-Guerrero, D., and Lopez-Macias, J. (1981a). Factors affecting androgen sex reversal of Tilapia aurea. Aquaculture, Volume 25, Issue 1, 59-65.
35. Shelton, W.L. (2001b). Monosex tilapia production through androgegesis. PD/A CRSP nineteenth annual technical report. 45-51.
36. Sun, L., Zha, J., Spear, P.A. and Wang, Z. (2007). Toxicity of the aromatize inhibitor letrozole to Japanese medaka (*Oryzias latipez*) eggs, larvae and breeding adults. Comparative Biochemitry and Physiology, Part C, Volume 145, 533-541.
37. Wahbi, O.M. and Shalaby, S.H. (2010). Oral administration of testosterone in fish diet affect sex differentiation and testis development in tilapia. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, Volume 6, Issue6, 946-952.
38. Wassermann, G.J. and Afonso, L.O.B. (2003). Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) by androgen immersion. Aquaculture Research, Volume 34, 65-71.

Abstract

This study was aimed to investigate the effects of different doses of two hormones and an anti-aromatase, i.e. 17 methyl testosterone (MT), methyl di hydrotestosterone (MDHT) or mestanolone and letozole in masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under the condition of brackish water in Bafgh station situated in Yazd province in center of Iran. Each experiment in this study was consisted of 5 treaments with 3 replicates each. A number of 1725 larvaes was distributed randomly among 15 replicates at the beginning of each experiment. Each experiment lasted 45 days and the larvaes were reared in aerated flow-through pots and fiberglass tanks filled with brackish water. The averages for temperature, salinity, pH and dissolved oxygen of water were 26.9 Ċ, 8 g/l, 7.6 and 5.78% respectively during this study.

In experiment 1, three different doses of 40, 60 and 100 mg MT/k of feed were fed to different groups of 7 day post fertilization (dpf) larvaes for 45 days from the beginning of the experiment. The results showed that the larvaes in 40 mg group were 100 percent masculinized based on squash test performed at the end of the experiment but masculinization rates of those in 60 and 100 mg groups were 99.7 and 96.2 perecent respectively. Based on Dunkan test, total body length and weight averages measured in biometry 3 (at the end of the experiment) were not significantly different among groups but in biometry 2 (30 days after the beginning of experiment), they were significantly lesser only in 40 mg group ($P<0.05$). There was significant differences in survival rate of different groups of larvaes in this experiment based on chi-square test ($\chi^2=31.166$, $P<0.05$) and the values in 40 and 100 mg groups (74.5 and 82.9% respectively) were lesser than those in 60 mg, control 1 and control 2 groups (84.3, 89.0 and 87.0 respectively).

In experiment 2, masculinization rates of two different groups of larvaes immersed in 1800 µg MDHT/liter once in 10dpf and twice in 10 and 14dpf were 80.0 and 91.9 percent respectively. There were no significant differences in total body length and weight averages measured in biometry 2 between different groups but significant differences were observed in total body length only in biometry 3 ($P<0.05$) where the highest values occurred in experiment 1 and control 1 groups and the lowest one in experiment 2. Significant differences observed in survival rate of different groups of larvaes in this experiment based on chi-square test ($\chi^2=15.165$, $P<0.05$) and the rates in experiment 1, control 2 and 3 groups (89.9, 86.4 and 89.9% respectively) were higher than those in experiment 2 and control 1 groups (82.0 and 82.3 respectively).

In experiment 3, three different doses of anti-aromatse letrozole (200, 300 and 400 mg/k feed) were fed to different groups of 7 day post fertilization (dpf) larvaes for 45 days from the beginning of the experiment. The larvaes in 400 group .were all masculinized whereas the masculinization rates in 200 and 300 mg groups were 99.0 and 99.6% respectively. There were significant differences in total body length and weight averages measured in biometry 2 and 3 among groups in this experiment ($P<0.05$) where the highest and the lowest values occurred in control 2 and experime2 groups respectively. Based on chi-square, the survival rate of different groups was significantly different ($\chi^2=41.119$, $P<0.05$) and the lowest rate occurred in experiment 2 group. No significant differences observed in gender ratios whithin all control groups in this study based on chi-square test.

According to the findings aquired under the condition of brackish water at the present study, it would be potentially recommended to use MT and letrozole for the production of all male polpulations of Nile tilapia fish in order to provide fish farmers with no harmful environmental impacts on water sources in rivers and seas which occured due to the uncontroled breeding of tilapia. However, more research is needed to draw firm conclusions to use hormones and in especial anti-aromase letrozole because of the shortage of sufficient data in current references.

Key words: Masculinization, Nile tilapia, 17α-methyl testosterone, Methyl di hydro testosterone, Mestanolone, Body weight gain, Total body lenght, Brackish water, Bafgh Station

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENTION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – Inland Saline ,Waters Aquaculture Research Center

Title : AN INVESTIGATION ON ALL MALE PRODUCTION OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) UNDER THE CONDITION OF BRACKISH WATER IN BAFGH
Apprpved Number: 12-12-12-8703-88015
Author: AHMAD BITARAF
Executor *:* AHMAD BITARAF
Collaborator:N.MASHAII,H.SARSANGIALIABAD,M.MOHAMMADI,M. ALIZADEH, F. RAJABIPOUR ,M. SHARIFROHANI
Advisor(s): -
Supervisor: -
Location of execution : Yazd province
Date of Beginning : 2009
Period of execution : *2 Years*
Publisher : ***Iranian Fisheries Research Organization***
Circulation : ***20***
Date of publishing : 2013
All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENTION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION- Inland Saline ,Waters Aquaculture Research Center

Title:

AN INVESTIGATION ON ALL MALE PRODUCTION OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) UNDER THE CONDITION OF BRACKISH WATER IN BAFGH

Executor :
AHMAD BITARAF

Registration Number
40913