

اثر هورمون اکسی متولون جیره بر رشد، بقا و زادآوری ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)

عباس تراییان^۱، بهرام فلاحتکار^{۱*}، مجید رضا خوش خلق^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۳

چکیده

برای بررسی قابلیت ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) پیش مولد به دریافت دوزهای بالای هورمون اکسی متولون در جیره و اثرات آن بر پارامترهای رشد، بقا و زادآوری، ۳۰۰ ماهی ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن 0.09 ± 0.38 گرم انتخاب و به‌طور تصادفی در ۵ تیمار و ۳ تکرار در ۱۵ آکواریوم شیشه‌ای (حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر) توزیع شدند. مقادیر هورمون اکسی متولون شامل ۵ دوز مختلف صفر (OM_0)، ۱۰۰ (OM_{100})، ۲۰۰ (OM_{200})، ۴۰۰ (OM_{400}) و ۸۰۰ (OM_{800}) میلی گرم در کیلوگرم جیره برای انجام تحقیق به مدت ۹۰ روز در نظر گرفته شد و هر دو هفته یک بار زیست‌سنجی برای اندازه‌گیری فاکتورهای مورد نظر انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش میزان هورمون جیره در وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و وزن به دست آمده تغییر معنی‌داری دیده نمی‌شود ($p > 0.05$) ولی ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نشان داد ($p < 0.05$)، به‌طوری‌که کم‌ترین و بیش‌ترین ضریب تبدیل غذایی به‌دست آمده به ترتیب در تیمار کنترل (OM_0) و دوز حداکثر هورمون (OM_{800}) مشاهده شد. با افزایش دوز هورمون از میزان بقا و زادآوری به نحو معنی‌داری کاسته شد ($p < 0.05$)، به گونه‌ای که بیش‌ترین و کم‌ترین تلفات به ترتیب در تیمار دوز حداکثر هورمون و تیمار کنترل دیده شد. هم‌چنین کم‌ترین و بیش‌ترین زادآوری به ترتیب در تیمار دوز حداکثر هورمون و تیمار کنترل مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف دوزهای بالای اکسی متولون در جیره باعث بهبود شاخص‌های رشد ماهی نمی‌گردد و با افزایش میزان هورمون در جیره به‌صورت معنی‌داری از میزان بقا و زادآوری کم می‌شود.

کلمات کلیدی: تستوسترون، بازماندگی، تولید مثل، پارامترهای رشد، ماهیان زینتی.

مقدمه

ماهی‌های زینتی نقش مهمی در اقتصاد کشورهای بسیاری داشته و ضمن ایجاد اشتغال و تولید درآمد برای افراد (FAO, 2015)، سبب ایجاد اثرات مثبت روانی در علاقمندان به این بخش از آبی‌پروری می‌شوند (Friedmann, 2013). بهبود روش‌های تغذیه، نگهداری، پرورش، تکثیر و تجارت آبزیان زینتی در طی سال‌های گذشته از روند رو به رشد مناسبی برخوردار بوده است (Lucas and Southgate, 2012) و از سال ۱۹۸۵ به این سو، ارزش تجارت جهانی آبزیان زینتی رشد سالیانه‌ای در حدود ۱۴ درصد نشان داد (FAO, 2010) و هر ساله بیش از ۱ میلیارد ماهی زینتی مشتمل بر ۴۰۰۰ گونه آب شیرین و ۱۴۰۰ گونه آب شور مورد داد و ستد قرار گرفته است (Whittington and Chong, 2007). این ماهی‌ها بر اساس جذابیت الگوهای رنگی، خصوصیات ویژه ریختی و یا اختصاصات دلبذیر رفتاری تقسیم‌بندی می‌شوند (Sarkar and Ponniah, 2000). نقش و کاربرد هورمون‌ها در تاثیر بر این خصائص، یکی از جنبه‌های مورد توجه محققین در این بخش می‌باشد (Treves-Brown, 2013) زیرا خصوصیت‌های رنگی و یا ریخت‌شناسی جذاب ماهی‌های زینتی، امکان فروش و موفقیت تجاری بیش‌تر را در این زمینه فراهم می‌کند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸).

خصوصیت‌های جنسی و رشد تحت تاثیر هورمون‌های داخلی و غدد درون‌ریز قرار می‌گیرند (Gonçalves and Oliveira, 2011) به‌طوری‌که از آندروژن‌ها نیز برای تحریک هورمونی در فرایند رشد (دوزهای کم با مدت زمان طولانی) و یا برای تغییر جنسیت ماهی‌ها (دوز بالا و مدت زمان کوتاه) استفاده

می‌شود (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸؛ Biswas et al., 2014). میزان آندروژن مصرفی و نوع اثر آن توسط سن ماهی، دوز مصرفی آندروژن، گونه ماهی، زمانی از رشد و نمو که ماهی در معرض هورمون قرار می‌گیرد و طول مدت قرارگیری در معرض هورمون تعیین می‌شود (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸).

آندروژن‌های مختلفی با این هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند که از بین آنها، ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون به دلیل جذب راحت‌تر و عدم تجمع در بدن ماهی، بیش‌تر به کار می‌رود (Turan et al., 2006) و از آن تاکنون برای نرسازی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*، گویی (*Poecilia reticulata*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، سیچلاید آبی (*Sciaenochromis ahli*)، سیچلاید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*)، مولی (*Poecilia latipinna*) و تیلایپا (*Oreochromis niloticus*) استفاده گردیده است (امینی و طلا، ۱۳۸۲؛ آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۵؛ ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸؛ علم دوست و همکاران، ۱۳۸۹؛ موسوی ثابت و همکاران، ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹؛ صباغی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Turan et al., 2006; Megbowon et al., 2014; Mateen et al., 2015).

گونه‌های آکواریومی آب شیرین در حدود ۹۰ درصد ماهیان زینتی مورد پرورش کنونی را تشکیل می‌دهند (Wabnitz et al., 2003; Olivotto et al., 2011). قسمت عمده‌ای از ماهی‌های زینتی آب شیرین از مناطق استوایی بوده (Sandford, 2003) و ماهی گویی از خانواده Poeciliidae یکی از زیباترین و محبوب‌ترین ماهی‌های گرمسیری است که در دامنه دمایی ۲۴ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد در طبیعت زندگی

می کند (Magurran, 2005). داشتن تنوع رنگ بسیار زیبا، سهولت نگهداری و تکثیر، دوره رشد و نمو کوتاه و تمایز جنسیت بسیار راحت و ارزش اقتصادی بالای این ماهی سبب شده تا همواره مورد توجه محققین باشد (عاطف و فلاحتکار، ۱۳۹۳).

به دلیل عدم استفاده خوراکی از ماهی‌های زینتی، دستکاری سیستم هورمونی آن‌ها، ضرری را متوجه انسان نمی‌کند (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸) و ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش برای بهبود رنگ، تغییر جنسیت و افزایش رشد، استفاده از انواع هورمون‌های استروئیدی در غذای ماهی بوده که نوع هورمون و میزان استفاده از آن با توجه به گونه ماهی، هدف تحقیق و مدت مصرف تعیین می‌شود (شمسایی و همکاران، ۱۳۸۹). اکسی متولون (آنادرول) یک ۱۷ - آلفا - آلکامین و از مشتقات سنتزی تستوسترون بوده که از طریق متیله شدن کربن ۱۷ آلفا و اشباع شدن کربن ۵ آلفا تستوسترون به دست می‌آید (El-desoky et al., 2016). مشتقات مختلف تستوسترون دارای قدرت و خواص آنابولیک و آندروژنیک مختلف و طبعاً عوارض متفاوتی نسبت به یکدیگر هستند و شناخت خصوصیات و آثار مصرف هر یک در ماهی نیازمند تحقیق و بررسی عملی است. به نظر می‌رسد استفاده از هورمون اکسی متولون در ماهی زینتی سبب بهبود رنگ در ماهی، تحریک ماهی به رشد بیش‌تر و کاهش طول دوره پرورش، تاثیر بر جنسیت با توجه به مطلوبیت جمعیت تمام نر در بعضی گونه‌ها نظیر ماهی فایتر (*Betta splendens*)، گورامی کوتوله (*Colisa lalia*) و گویی که جنس نر بازار پسندتر است و نیز تاثیر بر زادآوری در مواقع نیاز به کنترل جمعیت ماهی می‌شود.

بر اساس اطلاعات در دسترس با وجود سهولت دسترسی به اکسی متولون و قیمت مناسب‌تر آن نسبت به متیل تستوسترون، تاکنون تحقیقی در خصوص مصرف آن در پرورش ماهیان زینتی صورت نگرفته است و اطلاعی از قدرت اثر و عوارض مصرف آن در ماهیان زینتی وجود ندارد. از این‌رو تحقیق حاضر با هدف بررسی قابلیت ماهی گویی به دریافت هورمون اکسی - متولون در جیره و تاثیر آن بر رشد، بقا و زادآوری ماهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

این تحقیق طی ماه‌های آذر تا اسفند ۱۳۹۴ در کارگاه ماهیان زینتی شرکت گیل برکه (رشت، گیلان) به مدت ۳ ماه انجام شد. برای تهیه ماهی مورد نیاز، از یک مخزن پرورش ماهی گویی پیش‌مولد با سن ۱۰ هفته که شامل گله‌ای مخلوط بوده و در برگیرنده نژادهای مختلف و آمیخته‌های آنها بود، تعداد ۴۵۰ عدد ماهی گرفته شد، میانگین وزن ماهیان ماده $0.11 \pm$ گرم و میانگین وزن ماهیان نر 0.05 ± 0.28 گرم بود. سپس ماهی‌ها برای طی دوره یک هفته‌ای سازگاری با محیط پرورشی در مخزنی به گنجایش ۴۰۰ لیتر نگهداری و با جیره شاهد تغذیه شدند. تعداد ۲۰ عدد از این ماهی‌ها برای انجام آزمایش به هر آکواریوم (با حجم آبگیری ۱۰۰ لیتر در ابعاد $40 \times 48 \times 60$ سانتی‌متر به ترتیب طول، عرض و ارتفاع) و در مجموع تعداد ۳۰۰ ماهی به سیستم آزمایش این تحقیق (۱۵ تانک) معرفی شد.

برای گرم کردن سالن پرورش تا دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد از یک بخاری گازی استفاده شد و دمای

استفاده شد. پس از طی دوره سازگاری ماهی‌ها، از مخزن نگهداری برای هر یک از تکرارها، ۱۰ ماهی نر و ۱۰ ماهی ماده صید شده و به آکواریوم‌های مربوطه انتقال داده شد. میانگین وزن ماهی‌های ماده $0.1 \pm$ و $0.48 \pm$ گرم و میانگین وزن ماهی‌های نر $0.1 \pm$ و $0.48 \pm$ گرم بود.

ساخت جیره و غذادهی

برای آماده سازی جیره، از غذای استارتر دو صفر قزل‌آلا (شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضا، شیراز، ایران) در سایز 0.5 میلی‌متر با ترکیب 52% درصد پروتئین خام، 9% درصد چربی، 1.5% درصد فیبر خام، 10% درصد خاکستر و 1% درصد فسفر قابل جذب استفاده شد. برای افزودن هورمون به جیره از اکسی متولون (ایران هورمون، تهران، ایران)، به شکل محلول استفاده شد که پس از محاسبه میزان ماده موثره مورد نیاز در هر تیمار، به روش تبخیر الکلی با غذا مخلوط شد. هورمون مورد نیاز توسط ترازوی دیجیتالی (SF-400c, Shanghai, China) با دقت 0.01 گرم توزین و توسط الکل اتیلیک 96% درجه، محلول هورمونی آماده شد و سپس به مقدار مورد نیاز در هر تیمار با غذا مخلوط شد. غذای آماده شده در ظرف‌های متناسب ریخته شد و برای خشک شدن و تبخیر الکل آن به مدت 10 ساعت در مجاورت منبع گرمایی در دمای 40°C قرار داده شد. تیمار شاهد نیز به میزان مساوی با سایر تیمارها الکل را به شکل اسپری دریافت کرده و پس از خشک شدن آن به درون ظروف غذای تیمار شاهد وارد شد. غذادهی به ماهی‌ها تا حد سیری به‌طور روزانه و در سه نوبت در ساعت‌های صبح، 2 بعد از ظهر و 8 شب انجام شد.

سالن در حد مورد نیاز تنظیم شد. برای اطمینان از عدم بروز هرگونه آشفته‌گی دمایی در تانک‌های پرورش، در هر تانک از یک بخاری 300 وات اتوماتیک برای تنظیم دمای آکواریوم‌ها در 28 درجه سانتی‌گراد استفاده شد. طول دوره روشنایی 16 ساعت (از 6 صبح تا 10 شب) و طول دوره تاریکی 8 ساعت بود که زمان روشن و خاموش شدن لامپ‌های فلورسنت توسط تایمر اتوماتیک تنظیم شد.

آب مورد نیاز از سیستم لوله کشی شهری، پس از کلرزدایی تامین شد. پارامترهای کیفی آب شامل اکسیژن محلول و pH، هر هفته و دما، هر روز اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری اکسیژن توسط اکسیژن‌متر (DO-5510, Taipei, Taiwan) و اندازه‌گیری اسیدیته آب با pH متر (HI-98107, Michigan, United States) صورت گرفت. در طی تحقیق میزان pH 0.14 ± 0.3 ، میزان دما $28.2 \pm 0.3^\circ\text{C}$ و اکسیژن محلول $6.2 \pm 0.4 \text{ mg/L}$ بود. آکواریوم‌ها در طول آزمایش به خوبی هوادهی شدند. برای هوادهی تانک‌ها از یک هواده سیلندری (ACO-500, GuangDong, China) استفاده شد که جریان هوا توسط شلنگ‌های هوا و سنگ‌هوا از لوله انتقال دهنده اکسیژن مرکزی به تانک‌های آزمایش منتقل شد. برای بهبود و حفظ کیفیت مطلوب آب، هر سه روز یک بار، فضولات بستر تانک سیفون شده و به میزان 25% درصد با آب کلرزدایی شده و هم دما تعویض شد.

طراحی آزمایش

در این پژوهش، از 5 دوز مختلف صفر (OM_0)، 100 (OM_{100})، 200 (OM_{200})، 400 (OM_{400}) و 800 (OM_{800}) میلی گرم هورمون اکسی متولون در کیلوگرم جیره با سه تکرار در طول دوره پرورش 90 روزه

نمونه گیری و تعیین شاخص های رشد

بیومتری ماهی ها، هر دو هفته یک بار برای مشخص کردن روند تغییرات پارامترهای مورد نظر صورت گرفت. شاخص های رشد، بقا و زادآوری در طی بیومتری ها مورد محاسبه و سنجش قرار گرفت. تلفات ماهی در تانک های مختلف به صورت روزانه جمع-آوری و آمار آن ثبت گردید.

نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، درصد بازماندگی (SR) و وزن به دست آمده (WG) هر کدام از تیمارها از طریق روابط زیر محاسبه شد (Falahatkar et al., 2006):

نرخ رشد ویژه (درصد / روز) = $[\ln(\text{میانگین وزن ثانویه} - \ln(\text{میانگین وزن اولیه})) / \text{روزهای پرورش}] \times 100$

افزایش وزن بدن (درصد) = $[(\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه}) / \text{وزن اولیه}] \times 100$

ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده / مقدار افزایش وزن بدن

بازماندگی (درصد) = $[(\text{تعداد اولیه} - \text{تعداد تلفات}) / \text{تعداد اولیه}] \times 100$

وزن به دست آمده (گرم) = وزن نهایی - وزن اولیه

القای تولید مثل

پس از ظهور لکه بارداری در ماهی های ماده، بر روی سطح آب هر آکواریوم یک بستر چمن پلاستیکی به ابعاد 23×23 سانتی متر با قطر ۴ سانتی متر به عنوان محل اختفای نوزادان و نیز تحریک ماده های باردار به زایمان و ایجاد حس امنیت مادر برای تولد نوزادان قرار داده شد. این شرایط تا پایان آزمایش در تانک ها حفظ شد و نوزادان تولد یافته در آکواریوم ها هر سه روز یک

بار در فواصل بین بیومتری ها جمع آوری و پس از شمارش برای هر تکرار به صورت مجزا ثبت شد. غذادهی در این دوره نیز تا حد سیری و طی سه وعده در ساعت های ۸ صبح، ۲ بعدازظهر و ۸ شب انجام شد.

تجزیه تحلیل آماری

داده های حاصل از تحقیق توسط نرم افزار SPSS 16 ارزیابی و نمودارها توسط نرم افزار EXCEL نسخه ۲۰۱۳ ترسیم شد. ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و جهت مشخص نمودن اختلاف میانگین بین سطوح مختلف اکسی-متولون، از آزمون واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و هم چنین برای مقایسه میانگین ها با یکدیگر، از آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد. تمام داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده اند.

نتایج

شاخص های رشد

تغییرات وزن نهایی در بین تیمارها در شکل ۱ نشان داده شده است. در پایان آزمایش (ماه سوم) وزن نهایی تغییرات معنی داری در تیمارهای مختلف نشان نداد ($p > 0.05$) اما کم ترین وزن نهایی مربوط به تیمار $OM_{800} (0.1 \pm 0.5)$ گرم و بیش ترین به تیمار $OM_{400} (0.06 \pm 0.63)$ گرم تعلق داشت. با افزایش دوز هورمون اکسی متولون در جیره تغییرات معنی داری در WG، BWI و SGR در پایان آزمایش در تیمارهای مختلف دیده نشد ($p > 0.05$). FCR در پایان آزمایش اختلاف معنی داری در بین تیمارها نشان داد ($p < 0.05$)، به طوری که کم ترین آن به تیمار شاهد (0.57 ± 0.02)

تاثیر دوزهای مختلف هورمون اکسی متولون جیره بر میزان زادآوری ماهی‌های گوپی در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان زادآوری در طی ماه اول تحقیق تفاوت معنی‌دار آماری نشان نداد اما در ماه دوم و سوم در میزان لارو تولیدی در بین تیمارهای مختلف تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد به‌طوری که کم‌ترین مقدار لارو تولیدی به تیمار OM800 ($2/31 \pm 14/33$ عدد) و بیش‌ترین مقدار لارو تولیدی به تیمار OM0 ($14/57 \pm 76/67$ عدد) تعلق داشت که هورمونی دریافت نکرده بود.

و بیش‌ترین به تیمار OM800 ($2/89 \pm 0/17$) تعلق داشت (جدول ۱). فاکتورهای بقا و زادآوری در این آزمایش تحت تاثیر مصرف هورمون در جیره قرار گرفتند و با افزایش دوز هورمون جیره از میزان بقا و زادآوری به میزان معنی‌داری ($p < 0/05$) کاسته شد. بیش‌ترین میزان تلفات به دست آمده در پایان آزمایش به تیمار OM800 ($7/64 \pm 86/67$ درصد) و کم‌ترین به تیمار شاهد ($2/89 \pm 18/33$ درصد) تعلق داشت (جدول ۱). تیمار شاهد و OM100 با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند اما هر یک با سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار داشتند.

جدول ۱- شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون اکسی متولون پس از ۹۰ روز پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

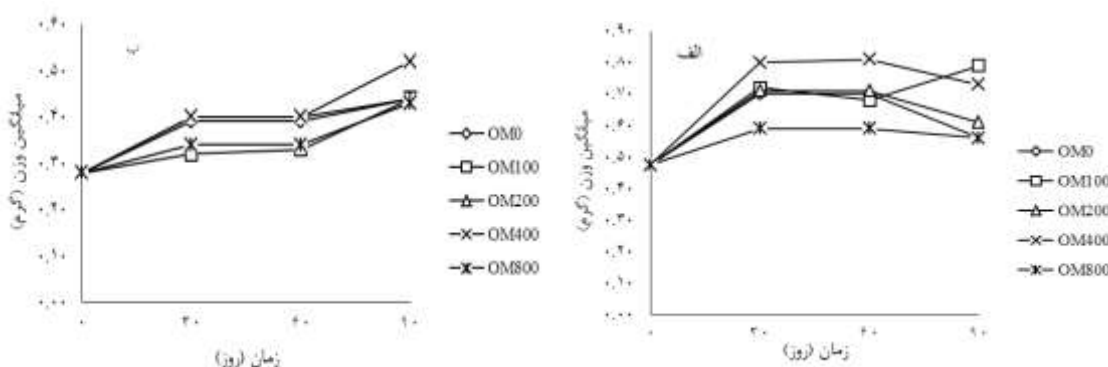
زمان (روز)	صفر	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	سطوح اکسی متولون (میلی گرم در کیلو گرم جیره)
وزن نهایی ماده (گرم)	$0/56 \pm 0/07$	$0/79 \pm 0/08$	$0/61 \pm 0/19$	$0/73 \pm 0/15$	$0/56 \pm 0/14$	
وزن نهایی نر (گرم)	$0/44 \pm 0/19$	$0/44 \pm 0/15$	$0/44 \pm 0/08$	$0/52 \pm 0/02$	$0/43 \pm 0/08$	
وزن به دست آمده ماده (گرم)	$0/08 \pm 0/07$	$0/32 \pm 0/08$	$0/23 \pm 0/14$	$0/26 \pm 0/15$	$0/09 \pm 0/14$	
وزن به دست آمده نر (گرم)	$0/26 \pm 0/99$	$0/24 \pm 0/04$	$0/16 \pm 0/08$	$0/24 \pm 0/02$	$0/15 \pm 0/08$	
BWI ماده (درصد)	$17/89 \pm 14/74$	$67/72 \pm 16/35$	$29/12 \pm 41/06$	$54/39 \pm 30/82$	$18/6 \pm 28/58$	
BWI نر (درصد)	$53/76 \pm 67/67$	$54/93 \pm 52/58$	$56/1 \pm 27/35$	$84/27 \pm 8/13$	$52/58 \pm 28/68$	
SGR ماده (درصد / روز)	$0/18 \pm 0/14$	$0/57 \pm 0/11$	$0/24 \pm 0/36$	$0/47 \pm 0/22$	$0/17 \pm 0/25$	
SGR نر (درصد / روز)	$0/39 \pm 0/56$	$0/44 \pm 0/43$	$0/48 \pm 0/19$	$0/68 \pm 0/05$	$0/45 \pm 0/22$	
FCR	$1/57 \pm 0/02^d$	$2/12 \pm 0/13^c$	$2/35 \pm 0/05^{bc}$	$2/62 \pm 0/09^{ab}$	$2/89 \pm 0/17^a$	
SR ماده (درصد)	$73/34 \pm 2/89^a$	$63/34 \pm 2/89^a$	20 ± 5^b	$16/66 \pm 7/64^b$	$6/66 \pm 5/77^b$	
SR نر (درصد)	90 ± 5^a	$86/66 \pm 2/89^a$	$56/66 \pm 15/28^{ab}$	$50 \pm 13/23^{ab}$	$20 \pm 8/66^b$	

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0/05$).

جدول ۲. میزان زادآوری (میانگین لارو تولیدی در هر تکرار) ماهی گوبی (*Poecilia reticulata*) تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون اکسی متولون پس از ۹۰ روز پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

زمان (روز)	صفر	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰
۳۰	۱۶ $\pm$ ۶/۲۴	۱۰ $\pm$ ۲/۶۵	۶ $\pm$ ۸/۷۲	۹/۶۷ $\pm$ ۳/۵۱	۷ $\pm$ ۱
۶۰	۳۷ $\pm$ ۶	۲۲/۶۷ $\pm$ ۵/۵۱	۱۵ $\pm$ ۱۹/۰۵	۱۷/۶۷ $\pm$ ۷/۰۲	۱۱/۳۳ $\pm$ ۱/۵۳
۹۰	۷۶/۶۷ $\pm$ ۱۴/۵۷ ^a	۴۱/۳۳ $\pm$ ۱۳/۶۵ ^{ab}	۲۶/۶۷ $\pm$ ۲۹/۸۴ ^b	۲۷/۶۷ $\pm$ ۹/۰۷ ^b	۱۴/۳۳ $\pm$ ۲/۳۱ ^b

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).



شکل ۱. تغییرات وزن نهایی (بر حسب گرم) در ماهی گوبی (*Poecilia reticulata*) ماده (الف) و نر (ب) تغذیه شده با سطوح مختلف هورمون اکسی متولون پس از ۹۰ روز پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

عدم وجود حروف انگلیسی متفاوت در نمودار نشان دهنده فقدان تفاوت معنی دار بین تیمارها است ($p > 0.05$).

میزان کم تری هورمون دریافت کرده بودند، عملکرد رشد کم تری را نشان داد.

تغییر جنسیت به عنوان روشی برای افزایش رشد در ماهی ها شناخته شده است (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸؛ شمسایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Zakes et al., 2000) و محققین مختلفی از هورمون ۱۷ آلفا- متیل تستوسترون برای نرسازی ماهی استفاده کرده اند (امینی و طلا، ۱۳۸۲؛ آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۵؛ صباغی و همکاران، ۱۳۸۹؛ علم دوست و همکاران، ۱۳۸۹؛ موسوی ثابت و همکاران، ۱۳۸۹؛ Zakes et al., 2000; Megbowon et al., 2014; Mateen et al., 2015) ولی در این تحقیقات اثر مثبتی از مصرف دوزهای بالای هورمون در رشد ماهی گزارش نشده است

بحث

رشد و تلفات

نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف اکسی متولون در جیره در دوزهای بالا پس از طی ۹۰ روز اثر معنی-داری بر وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و وزن بدست آمده ندارد ولی ضریب تبدیل غذایی افزایش معنی داری در تیمارهای دریافت کننده هورمون نسبت به تیمار شاهد نشان داد. با وجود عدم تفاوت معنی دار در غالب فاکتورهای رشد در تیمارهای مختلف این آزمایش با یکدیگر، تیمار OM₈₀₀ که بیشترین میزان هورمون را دریافت کرده بود، کمترین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن به دست آمده را داشت به-طوری که از تیمار شاهد و سایر تیمارهای هورمونی که

در حالی که ابراهیمی و همکاران (۱۳۸۸) اظهار کردند، مصرف متیل تستوسترون (۳ دوز مختلف ۳۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) می تواند باعث افزایش رشد ماهی گوپی شود.

در این تحقیق تیمارهایی که سهم بیش تری از هورمون را دریافت کرده بودند، تاثیرات منفی بیش تری را متحمل شدند که می تواند به دلیل دریافت سهم بیش تر از اثرات زیانبار اکسی متولون باشد که به طرق مختلف و با اثر بر کبد و فعالیت های متابولیکی مهم بدن (Woreta, 2014) بر رشد و بقا در ماهی تاثیر منفی می - گذارد. در این خصوص باید به نوع جیره غذایی و خصوصاً محتوای پروتئینی آن نیز توجه شود زیرا رشد سوماتیک و فرایند تولید مثل، همبستگی مثبتی با افزایش پروتئین در جیره نشان می دهد و پروتئین های حیوانی جیره نسبت به انواع گیاهی از عملکرد بهتری برخوردار هستند (Allen, 1991; James *et al.*, 2003; Chong *et al.*, 2004). کبد در سوخت و ساز بدن نقش داشته و بافت هدف اصلی برای آسیب های مصرف استروئیدهای آنابولیک و آندروژنیک (Anabolic Androgenic Steroids; AAS) است که می تواند سبب اختلال در عملکرد آن و از عوامل ایجاد آسیب های کبدی نظیر کلستاز داخل کبدی، هپاتیت و کارسینوم سلول کبدی باشد (Robles-Diaz *et al.*, 2015).

آسیب های وارده به بافت کبد و کاهش عملکرد و نقش آن در ساخت پروتئین های مورد نیاز بدن و خون از جمله آلبومین (رشیدلمیر، ۱۳۸۹)، سبب کاهش قابلیت انتقال متابولیت های مورد نیاز به اندام های مختلف بدن می شود. هم چنین اثرات زیانبار اکسی - متولون بر گیرنده های مینرالوکورتیکوئید و

گلوکوکورتیکوئید بدن (آذرینا و همکاران، ۱۳۸۶) باعث کاهش قابلیت فوق کلیه در تولید مینرالوکورتیکوئید در تنظیم آب و یون های بدن و گلوکوکورتیکوئید و از جمله کورتیزول و نقش های آن در التهاب، واکنش های ایمنی و متابولیسم می تواند علت فقدان روند رشد مناسب در تیمارهای مختلف در اثر مصرف دوزهای بالای هورمون در جیره باشد و با وجود اینکه تفاوت معنی داری در بین تیمارها از نظر فاکتورهای رشد مشاهده نمی شود اما به نظر می رسد با افزایش طول دوره نگهداری ماهی ها، متناسب با افزایش دوز هورمون در جیره نه تنها ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی داری در جهت منفی نشان دهد بلکه به دلیل شدت آسیب های بافتی و فیزیولوژیک وارده به بدن و از دست دادن مقاومت و قدرت انطباق ماهی با این شرایط، سبب کاهش بیش تر فاکتورهای رشد نسبت به قبل متناسب با میزان هورمون دریافتی در ماهی ها شود. شاهد این امر کاهش وزن نهایی در ماه سوم نسبت به ماه دوم در تیمار OM₈₀₀ است که بیش ترین مقدار هورمون را دریافت کرده بود. با توجه به رابطه مثبت شدت آثار سوء هورمون در بدن ماهی با دریافت دوزهای بالاتر هورمون در جیره می توان انتظار داشت که افزایش دوز هورمون در جیره موجب کاهش قابلیت هضم و جذب و سوخت و ساز مواد و توانایی زیستی در بدن شود و این امر در این تحقیق با افزایش میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف هورمونی متناسب با میزان افزایش هورمون جیره دیده می شود به - طوری که کم ترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار شاهد است که هورمونی دریافت نکرده و از آثار زیان - بار آن در بدن مصون بوده است و به تدریج با افزایش میزان هورمون در جیره بر میزان ضریب تبدیل غذایی

افزوده شده و نهایتاً بیشترین ضریب تبدیل غذایی به تیمار OM₈₀₀ تعلق داشته است که بالاترین میزان هورمون را در جیره دریافت کرده است.

کاربرد AAS برای سلامت فیزیکی و فیزیولوژیک، صرف نظر از جنسیت و سن مصرف کننده، مضر بوده (Tomkins et al., 2016) و به افزایش تلفات در اثر مصرف آن اشاره شده است، از جمله اینکه مصرف هورمون متیل تستوسترون به عنوان یک نمونه از AAS در ماهی گویی، سیکلید گورخری، سیکلید کالیکو (*Labeotropheus foellobroni*)، مولی، گربه ماهی (*Ictalurus punctatus*) و تیلپیا سبب کاهش بقا و هم آوری شده و مصرف دوزهای بالاتر سبب تلفات بیش تر شد (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۵؛ موسوی ثابت و همکاران، ۱۳۸۸؛ شمسایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Okoko and Pheps, 1995).

این اطلاعات با نتایج این تحقیق که تلفات ماهی با افزایش دوز هورمونی جیره افزایش یافته است موافقت دارد به طوری که در ماه اول تحقیق تفاوت معنی داری در میزان تلفات در بین تیمارهای مختلف دیده نشد که می تواند به دلیل زمان کم تر برای تاثیر گذاری و بروز آثار سو مختل کننده هورمون در کبد و فرایندهای متابولیک مهم بدن باشد ولی از ماه دوم، تفاوت آماری معنی داری در میزان تلفات بین تیمارها بسته به دوز مصرفی هورمون مشاهده شد که بیشترین میزان تلفات به بالاترین دوز مصرفی هورمون (OM₈₀₀) مربوط بود و این می تواند به علت طولانی تر بودن دوره مصرف هورمون و بیش تر بودن شدت آثار سو هورمون از حد تحمل فیزیولوژیک ماهی باشد که سبب شده ماهی قادر به تطبیق بدن خود با میزان هورمون دریافتی نبوده

و آثار سوء هورمون بر کبد و فرایندهای متابولیک بدن به حدی بوده که سبب افزایش تلفات متناسب با میزان دوز دریافتی هورمون در جیره باشد و این روند در ماه سوم نیز با افزایش میزان تلفات در تیمارهای با دوز هورمونی بیش تر تایید می شود. البته محققینی نیز اظهار می کنند که تیمار هورمونی از طریق جیره سبب افزایش تلفات نمی شود (Piferrer, 2002) و این تفاوت نتایج می تواند به علت نوع هورمون، گونه، دوره و میزان مصرف باشد.

زادآوری

عوامل شیمیایی و هورمون ها نقش مهمی در تولید مثل ماهی ها و از جمله انتخاب جنس (Guevara-Fiore et al., 2009, 2010) که نقش محوری در پویایی جمعیت ها و فرایندهای تکاملی در ماهی دارند ایفا می کنند (Tomkins et al., 2016) ولی مختل کنندگان استروژنیک عملکرد غدد درون ریز، بر مکانیسم انتخاب جنسی ماهی ماده تاثیر منفی می گذارند (Tomkins et al., 2016). تحقیقات مختلفی در ارتباط با عوارض مصرف آندروژن ها بر تولید مثل صورت گرفته و در خصوص مصرف متیل تستوسترون نشان داده شده که اثرات آن بر ماهی مداکا (*Oryzias latipes*)، ماهی هرمافروdit کیلی فیش مانگرو (*Kryptolebias marmoratus*) و گورامی کوتوله سبب کاهش پتانسیل تولید مثل شده است (Seki et al., 2004; Park et al., 2014; Biswas et al., 2013). بررسی عملکرد استروئید آندروژنیک ترنبولون (trenbolone) نیز نشان داد که در گویی، ماهی قنات سرچرب (*Pimephales promelas*)، گامبوزیا (*Gambusia holbrooki*) و زبرا (*Danio rerio*)، انتخاب جنس را در ماده ها کم تر و قابلیت تولید مثل را کاهش می دهد (Schiffer et al.,

سبب اشغال گیرنده‌های پروژسترون و استروژن شده، پاسخ فیدبک منفی به مغز ارسال می‌شود و زمانی که محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد فعال نشود سبب عدم تولید و ترشح هورمون‌های تحریک کننده تخمدان می‌شوند و طبعاً آثار استروژن و پروژسترون بر تخمدان مختل شده و تخمک گذاری به‌طور منظم انجام نمی‌شود (ناجی و همکاران، ۱۳۹۴؛ بهمنی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Jänne *et al.*, 1993). در این شرایط از میزان انتخاب جنسی در ماهی‌های ماده پس از مصرف هورمون کاسته شده و با کاهش جفت گیری می‌توان انتظار تولید نوزاد کم‌تری را در ماه اول یا دوم داشت اما شیوه خاص تولید مثل گویی که به ماهی اجازه می‌دهد با یک مرحله جفت گیری آمادگی تولید چند نسل نتاج را داشته باشد باعث شده این کاهش تمایل به انتخاب جنس و همراهی و جفت گیری با ماهی نر در طی ماه‌های اول و دوم تحقیق کم‌تر در روند کاهش تولید نوزادان تاثیر داشته باشد و به نظر می‌رسد آسیب‌های بافتی اندام‌های تولید مثلی و اختلالات فرایندهای متابولیکی در ماهی نقش موثرتری در کاهش تعداد نوزادان در این ماهی ایفا می‌کند. نهایتاً با افزایش طول مدت اثر هورمون در تیمارها و فرصت بروز آثار و عوارض مخرب آن در هموستازی بدن و نیز سیستم تولید مثلی ماهی‌های دریافت کننده هورمون، سبب کاهش معنی‌دار زادآوری در تیمارها با توجه به غلظت هورمون دریافتی می‌شود به‌طوری که تیمار OM₈₀₀ با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری در تولید لارو نشان داد. با توجه به نتایج به دست آمده، کاربرد اکسی-متولون در دوزهای بالای مورد استفاده در این تحقیق اثر مثبتی در فاکتورهای رشد نداشته و کاهش معنی‌دار میزان بازماندگی و زادآوری در حدی بود که برای

2001; Ankley *et al.*, 2003; Sone *et al.*, 2005; Hotchkiss *et al.*, 2008; Morthorst *et al.*, 2010; Tomkins *et al.*, 2016). استفاده از اکسی متولون نیز نشان داده که باعث کاهش رشد تخمدان و هم چنین تخمک گذاری می‌شود (آذرینا و همکاران، ۱۳۸۶).

گیرنده‌های آندروژنی در اندام‌های تولید مثلی و غیرتولید مثلی تفاوتی با هم ندارند و آندروژن‌های طبیعی و سنتزی را قبول می‌کنند. بنابراین مصرف AAS نظیر اکسی متولون در سرتاسر بدن تاثیر و نفوذ دارد و اثرات ناشی از مصرف دوزهای بالای آن در تحقیق حاضر با بروز افت شدید زادآوری در تیمارهای هورمونی با دوز بالاتر تایید می‌شود. در ماه اول در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری در تولید لارو وجود نداشت اگرچه کم‌ترین تعداد زادآوری به تیمار OM₈₀₀ با بالاترین دوز هورمون دریافتی تعلق داشت و بیش‌ترین زادآوری به تیمار کنترل که هورمونی دریافت نکرده بود مربوط بود که تعداد نوزادانش بیش از دو برابر تیمار OM₈₀₀ بود. این تفاوت در زادآوری در ماه دوم نیز در تیمارها مشاهده شد به‌طوری که با افزایش میزان هورمون از میزان زادآوری با آهنگ مشخصی کم شد اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها وجود نداشت. ضمناً کم‌ترین زادآوری به تیمار OM₈₀₀ تعلق داشت که تعداد لارو تولیدی آن کم‌تر از ۳۰ درصد لارو تولیدی در تیمار کنترل بود. با وجود اینکه دوز ۱۰۰ میلی گرم هورمون در کیلوگرم جیره در حدی است که زادآوری آن با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ولی میزان زادآوری در تیمار OM₁₀₀ در حدود نصف تیمار شاهد بود و لذا کاربرد آن توجیه پذیر نیست.

مصرف اکسی متولون در غلظت بالاتر از حد فیزیولوژیک، علاوه بر اشغال گیرنده‌های آندروژنی

تولید و پرورش قابل قبول و اقتصادی نمی‌باشد. به نظر می‌رسد باید در تحقیقات دیگر اثر دوزهای کم این هورمون در دوره‌های مختلف زمانی بر فاکتورهای رشد، بقا و زادآوری مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مدیریت محترم شرکت ایران هورمون که هورمون مورد نیاز این تحقیق را تامین کردند سپاسگزارند.

منابع

۱. ابراهیمی، م.ح.، عباسی، ف.، مهدوی صاحبی، س.، رحیمی، م.، ۱۳۸۸. اثر هورمون ۱۷ آلفا-متیل تستوسترون بر خصوصیات ثانویه جنسی، بافت-شناسی تخمدان و تولید لارو در ماهی گویی (*Poecilia reticulata*). مجله علوم و فنون دریایی، ۸ (۳ و ۴)، ۳۴-۴۶.
۲. آذرینا، م.، دانش‌پژوه، ح.، امینیان، ب.، دهقانی، ن.، ۱۳۸۶. بررسی آثار مصرف داروی نیروزای اکسی متولون در دوزهای بسیار بالاتر از حد فیزیولوژیک بر روی اووژنز موش ماده، نژاد NMRI. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، ۱۱ (۱)، ۳۷-۴۳.
۳. آذری تاکامی، ق.، امینی، م.، نقوی، م.، ۱۳۸۵. بررسی امکان ایجاد جنس تمام نر در ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) توسط هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون. مجله علوم آب و خاک-علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۰ (۲)، ۲۷۹-۲۸۸.

۴. امینی، ف.، طلا، م.، ۱۳۸۲. بهینه سازی تجویز خوراکی هورمون ۱۷ آلفا - متیل تستوسترون به-منظور نرسازی و عقیم سازی در ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۸ (۳)، ۲۳۵-۲۴۰.

۵. بهمنی، م.، یوسفی جوردی، ا.، حلاجیان، ع.، پوردهقانی، م.، مرادی، ی.، مصدق، م.، ۱۳۹۵. سطوح باقیمانده هورمون‌ها در تخمک تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) پرورشی. مجله توسعه آبی پروری، ۱۰ (۲)، ۴۱-۴۷.

۶. رشیدلمیر، ا.، دهباشی، م.، کتابدار، ب.، ۱۳۸۹. اثرات ناشی از سوء مصرف استروئیدهای آنابولیک-آندروژنیک بر میزان آنزیم‌های کبدی و آلبومین خون ورزشکاران رشته پرورش اندام. نشریه مدیریت و فیزیولوژی ورزشی شمال، ۱ (۲)، ۹-۱۸.

۷. شمسایی، م.، صباغی، م.، عباسی قادیکلایی، ح.، جمیلی، ش.، ۱۳۸۹. ایجاد جمعیت‌های تک جنسی نر بچه ماهیان مولی با مصرف خوراکی هورمون ۱۷ آلفا متیل تستوسترون. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۵ (۳)، ۷۵-۸۰.

۸. صباغی، م.، شمسایی، م.، عباسی قادیکلایی، ح.، شمالی خوزانی، ب.، ۱۳۸۹. تولید جمعیت‌های تک جنسی نر بچه ماهیان مولی (*Poecilia latipinna*) حاصل از مولدین با مصرف خوراکی هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون. مجله علمی پژوهشی بیولوژی دریا، ۲ (۱)، ۱۹-۲۴.

خال (*Trichogaster trichopterus*). مجله توسعه

آبزی پروری، ۹(۳)، ۵۹-۶۹.

14. Allen, G. R., 1991. Field guide to the freshwater fishes of New Guinea. Christensen Research Inst., Madang., p. 643.
15. Ankley, G. T., 2003. Effects of the androgenic growth promoter 17- β -trenbolone on fecundity and reproductive endocrinology of the fathead minnow. *Environmental Toxicology* 22: 1350-1360.
16. Biswas, A., Behera, S., Das, P., Meena, D. K., Behera, B. K., 2014. Effect of Methyl Testosterone on the phenotype, bioindices and gonads of adult male dwarf gourami (*Colisa lalia*). *Emirates Journal of Food and Agriculture* 26: 459-464.
17. Chong, A. S., Ishak, S. D., Osman, Z., Hashim, R., 2004. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture* 234: 381-392.
18. El-Desoky, E. I., Reyad, M., Afsah, E. M., Dawidar, A. M., 2016. Synthesis and chemical reactions of the steroidal hormone 17 α -methyltestosterone. *Steroids* 115: 68-95.
19. Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M. R., Pourkazemi, M., 2006. Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in great sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology* 22: 283-286.
20. FAO., 2010. The Ornamental Fish Trade, FAO, United Nations, Rome, Italy.
21. FAO., 2015. World review of fisheries and aquaculture (Ornamental fish), FAO, United Nations, Rome, Italy.
22. Friedmann, E., 2013. The Role of Pets in Enhancing Human Well-being: Physiological. Elsevier Science Inc, U.S.A., p. 151.
23. Guevara-Fiore, P., Skinner, A., Watt, P. J., 2009. Do male guppies distinguish virgin females from recently mated ones? *Animal Behaviour* 77: 425-431.

۹. عاطف، م.، فلاحتکار، ب.، ۱۳۹۳. تأثیر استرس بر

رشد، تولیدمثل و محتوای کورتیزول بدن ماهی

گویی (*Poecilia reticulata*). فصلنامه علمی

پژوهشی علوم و فنون شیلات، ۳(۴)، ۵۷-۶۷.

۱۰. علم دوست ع. ر.، فرحمند، ح.، رفیعی، غ.،

مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع.، ۱۳۸۹. نرسازی

در ماهی هاپ آبی (*Sciaenochromis ahli*) با

استفاده از هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون. مجله

بین المللی علوم و فناوری کشاورزی، ۱۳(۲)،

۱۷۳-۱۸۰.

۱۱. موسوی ثابت، ح.، زمینی، ع.، وهابزاده

رودسری، ح.، مرادخانی، ز.، ۱۳۸۸. بررسی مقایسه

ای میزان تلفات ناشی از تجویز خوراکی هورمون

۱۷ آلفا-متیل تستوسترون در ماهیان

گویی (*Poecilia reticulata*) و سیچلاید

گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*).

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۳(۹)، ۴۵-

۴۹.

۱۲. موسوی ثابت، ح.، زمینی، ع.، وهابزاده

رودسری، ح.، مرادخانی، ز.، ۱۳۸۹. نرسازی در

ماهی سیچلاید گورخری (*Cichlasoma*

nigrofasciatum) با استفاده از هورمون ۱۷ آلفا-

متیل تستوسترون از طریق غذا و بررسی اثر آن بر

میزان تلفات، عقمی و جنسیت بینابینی. پژوهش-

های مجله علوم و فنون دریایی، ۹(۳)، ۷۶-۸۲.

۱۳. ناجی، ط.، باقری زیاری، ص.، حسینزاده صحافی،

ه.، ۱۳۹۴. اثرات LHRH-A₂، ۱۷ بتا استرادیول و

عصاره‌ی سرشاخه هوایی مرزنجوش (*Origanum*

vulgare) بر القاء باروری در ماهی گورامی سه

33. Morthorst, J. E., Holbech, H., Bjerregaard, P., 2010. Trenbolone causes irreversible masculinization of zebrafish at environmentally relevant concentrations. *Aquatic Toxicology* 98: 336-343.
34. Okoko, M., Phelps, R. P., 1995, July. Effects of methyltestosterone concentration on sex ratio, growth and development of Nile tilapia. In Proc. Fifth International Symposium on Reproductive Physiology of fish, Fish Symposium, vol. 95.
35. Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G. J., Avella, M. A., Calado, R., 2011. Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 135-166.
36. Park, C. B., Soyano, K., Kiros, S., Kitamura, T., Minamiyama, M., Suzuki, Y., 2013. Transient effects of methyltestosterone injection on different reproductive parameters of the hermaphrodite fish *Kryptolebias marmoratus*. *Ecotoxicology* 22: 1145-1154.
37. Piferrer, F., 2002. Endocrine sex control strategies for feminization of teleost fish. *Aquaculture* 197: 229-281.
38. Robles-Diaz, M., Gonzalez-Jimenez, A., Medina-Caliz, I., Stephens, C., García-Cortes, M., García-Muñoz, B., 2015. Distinct phenotype of hepatotoxicity associated with illicit use of anabolic androgenic steroids. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 41: 116-125.
39. Sandford, G., 2003. *Aquarium owner's manual*. Dorling Kindersley Publishing., 256 p.
40. Schiffer, B., Daxenberger, A., Meyer, K., Meyer, H. H., 2001. The fate of trenbolone acetate and melengestrol acetate after application as growth promoters in cattle: environmental studies. *Environmental Health Perspectives* 109: 1145-1151.
41. Seki, M., Yokota, H., Matsubara, H., Maeda, M., Tadokoro, H., Kobayashi, K., 2004. Fish full life-cycle testing for androgen methyltestosterone on medaka
24. Guevara-Fiore, P., Stapley, J., Krause, J., Ramnarine, I. W., Watt, P. J., 2010. Male mate-searching strategies and female cues: how do male guppies find receptive females? *Animal Behaviour* 79: 1191-1197.
25. James, R., Sampath, K., 2003. Effect of animal and plant protein diets on growth and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (regan). Department of Zoology, Tamilnadu, India.
26. Jänne, O. A., Palvimo, J. J., Kallio, P., Mehto, M., 1993. Androgen receptor and mechanism of androgen action. *Annals of medicine* 25: 83-89.
27. Lucas, J. S., Southgate, P. C., 2012. *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*. John Wiley & Sons, Ltd, UK., p. 643.
28. Gonçalves, D. M., Oliveira, R. F., 2011. Hormones and sexual behavior of teleost fishes. *Hormones and Reproduction of Vertebrates*. Academic Press, 119-147.
29. Hotchkiss, A. K., Rider, C. V., Blystone, C. R., Wilson, V. S., Hartig, P. C., Ankley, G. T., Gray, L. E., 2008. Fifteen years after "Wingspread" environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: where we are today and where we need to go. *Toxicological Sciences* 105: 235-259.
30. Magurran, A. E., 2005. *Evolutionary ecology: the Trinidadian guppy*. Oxford University Press on Demand., 219 p.
31. Mateen, A., Ahmed, I., 2015. Androgen sex reversal, subsequent growth and meat quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 52: 199-202.
32. Megbowon, I., Mojekwu, T. O., 2014. Tilapia sex reversal using methyl testosterone (MT) and its effect on fish, man and environment. *Biotechnology* 13: 213-216.

- methyltestosterone. *Aquaculture Research* 37: 200-203.
47. Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., Razak, T., 2003. From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species. UNEP World Conservation Monitoring Centre, Cambridge, UK., p. 69.
 48. Whittington, R., Chong, R., 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: the case for revised import risk analysis and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine* 81: 92-116.
 49. Woreta, T., Alqahtani, S., 2014. Evaluation of abnormal liver tests. *Medical Clinics of North America* 98: 1-16.
 50. Zakes, K. D., Hliwa, P., Czepolanis, A., Zakes, Z., 2000. The effect of administration of 11 β -Hydroxyandrostenedione in feed on morphology of some internal organs of Wels, *Silurus glanis* (L.). *Archiwum Rybactwa Polskiego* 8: 1-8.
 - (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 774-781.
 42. Sarkar, U.K., M., Ponniah, A. G., 2000. Evaluation of North East Indian fishes for their potential as cultivable, sport and ornamental fishes along with their conservation and endemic status. *National Bureau of Fish Genetic Resources* 2: 11-30.
 43. Sone, K., Hinago, M., Itamoto, M., Katsu, Y., Watanabe, H., Urushitani, H., Iguchi, T., 2005. Effects of an androgenic growth promoter 17 β -trenbolone on masculinization of mosquitofish (*Gambusia affinis affinis*). *General and Comparative Endocrinology* 143: 151-160.
 44. Tomkins, P., Saaristo, M., Allinson, M., Wong, B. B., 2016. Exposure to an agricultural contaminant, 17 β -trenbolone, impairs female mate choice in a freshwater fish. *Aquatic Toxicology* 170: 365-370.
 45. Treves-Brown, K. M., 2013. *Applied fish pharmacology*. Kluwer Academic Publishers, p. 328.
 46. Turan, F., Çek, Ş., Atik, E., 2006. Production of monosex male guppy, *Poecilia reticulata*, by 17 α -