Archive of SID

بررسی مقایسه ای اثر تزریق هورمون GnRHa و عصاره هیپوفیز CPE بر القاء و همزمانی اوولاسیون، هماوری نسبی، درصد لقاح، تخمه گشایی، تلفات و بازماندگی لارو در ماهی طلایی *Carassius auratus*

محمد کریم رعیت پیشه[1]، باقر مجازی امیری[1]، سید حامد موسوی ثابت*[2]، زینب مرادخانی[3] و صفورا محبی[4]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۴- دانشگاه علوم پزشکی فسا

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۱/۱۵

چکیده

در این پژوهش اثر تزریق هورمون GnRHa و عصاره هیپوفیز بر روند تسریع رسیدگی نهایی جنسی و زمان تخمریزی، میزان هماوری نسبی، کیفیت تخم های قابل استحصال، درصد لقاح، درصد تخمه گشایی، تلفات و بازماندگی لارو در مولدین ماهی طلایی (گُلدفیش) *Carassius auratus* مورد بررسی قرار گرفت. مولدین ماهی طلایی در ۵ گروه به ترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین هورمون GnRHa، ۳ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین عصاره هیپوفیز (CPE) و گروه شاهد (بدون تزریق هورمون) تقسیم بندی شدند. مولدین ماده دو مرحله و با فاصله دوازده ساعت و مولدین نر یک مرحله و همزمان با تزریق دوم مولدین ماده مورد تزریق قرار گرفتند. در پایان آزمایش در گروه‌های دریافت کننده هورمون، تمامی مولدین به مرحله باروری رسیدند. در حالیکه در گروه شاهد هیچ یک از مولدین به این مرحله نرسیدند. تعداد تخم‌های قابل استحصال در مولدینی که تحت تزریق هورمونی GnRHa و CPE قرار گرفتند، به ترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکروگرم GnRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۳ و ۵ میلی‌گرم CPE به ازای هرکیلوگرم وزن بدن برابر با ۲۱۱۰±۵۷/۸۱، ۲۵۵۷±۴۱/۵۱، ۱۹۶۲±۵۵/۰۷ و ۲۴۲۹±۶۵/۰۱ بود، و افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان می داد ($p<0/05$). قابلیت باروری تخم ماهیان تحت تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE نیز به ترتیب برابر با ۱۳۹۹/۲۱±۴۷/۵۵، ۱۷۷۲/۷۲±۴۸/۴۷، ۱۱۷۹/۵۱±۴۹/۱۹ و ۱۵۹۰/۳۳±۳۸/۵۲ بود، تعداد لاروهای تفریخ شده به ترتیب برابر با ۱۲۰۶±۳۲/۹۶، ۱۴۹۱/۴±۳۶/۸۳، ۹۸۲/۸۴±۵۳/۵۳ و ۱۳۹۵/۳۴±۳۲/۲۳ بود، تعداد لاروهای بقا یافته نیز به ترتیب برابر با ۱۰۹۲/۹۶±۳۳/۴۱، ۱۳۳۶/۱۷±۴۱/۳۶، ۸۸۰/۶۲±۵۴/۴۳ و ۱۲۳۰/۷۴±۳۲/۸۹ بود، که به لحاظ آماری بین نتایج تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<0/05$).

واژگان کلیدی

ماهی طلایی، تولید مثل، هورمون GnRHa ، عصاره هیپوفیز، *Carassius auratus*.

[1] مسئول مکاتبه: Mosavii.h@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه آکواریوم و ماهیان زینتی به خوبی توانسته اند در این دنیای صنعتی، جای خود را در خانه های مردم باز کنند و این شاخه از علم شیلات به یک صنعت بزرگ و تجارتی سود آور تبدیل شده است. ماهیان زینتی آب شیرین در مناطق مختلفی از جهان یافت می‌شوند و در صنعت آکواریوم مورد بهره برداری و تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند. این ماهیان عموماً بومی مناطق استوایی هستند، ولی در هر نوع شرایطی مطابق با شرایط اقلیمی آن نواحی، در آکواریوم قادر به زندگی خواهند بود (Sandford, 2003). دربسیاری ازگونه‌های ماهیان زینتی، تکثیر موفقیت آمیز ماهیان در زمان های قابل تعیین، بسیار مطلوب است. این امر علاوه بر ایجاد امکان برنامه ریزی در کار تکثیر، بهره وری بیشتری را بدنبال دارد. همچنین اطلاع از زمان تخمریزی راه کار مناسبی برای مدیریت امر تکثیر در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان به شمار می آید (Donaldson *et al.*, 1983, Zohar, 1989a). بعلاوه امکان افزایش هماوری، درصد لقاح، درصدتخمه گشایی و درصد بازماندگی لارو در اثر تزریق هورمون میتواند نتایج بهتری را در مقایسه با تولید مثل طبیعی حاصل نماید که این امر سبب افزایش بهره وری خواهد شد (Zohar, 1989a).

ماهی طلایی، ماهی حوض یا گلدفیش *Carassius auratus* از خانواده کپورماهیان و تخم گذار میباشد. این ماهی به لحاظ زینتی دارای ارزش اقتصادی می‌باشد. میلیون‌ها نفر از مردم در سراسر جهان، ماهی‌های آکواریومی را به عنوان سرگرمی نگهداری می‌کنند. آنچه قابل توجه و چشمگیر است این نکته می‌باشد که بسیاری از این افراد پر شوق و ذوق، این سرگرمی را با نگهداری یک گلدفیش شروع کرده‌اند (ارجینی، ۱۳۸۸). ماهی که قدمت آن می‌تواند تا چین باستان هم به عقب بازگردد و در آیین نوروز ایرانیان نیز جایگاه ویژه ای دارد. در شرایط مطلوب، آنها توانسته‌اند به خوبی تا ۳۲ سال هم عمر کنند. امروزه تا بیش از یکصد سویه (واریته) زینتی از گونه گلدفیش معمولی وجود دارد. واریته‌های شگفت‌انگیز بسیاری که از اشکال وحشی کپوری که از جنوب چین منشأ گرفته‌اند، به دست آمده‌اند. این واریته‌ها توجه تکثیرکنندگان ماهی را به خود جلب کردند (ارجینی، ۱۳۸۸). بدون شک گلدفیش عمومی‌ترین ماهی خانگی در جهان است که اجتماعش با انسان تا ۱۶۰۰ سال به عقب باز می‌گردد. از آنجایی که این ماهی از نظر اقتصادی با ارزش بوده و مورد تقاضای روز افزون است، لذا موفقیت در امر تکثیر و تأمین لارو این ماهی از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده و امری غیر قابل انکار است (Sandford, 2003).

مطالعات بسیاری در خصوص پیش‌رس نمودن تخم ریزی ماهی‌ها با استفاده از تزریق هورمون‌های محرک تولیدمثل و عصاره هیپوفیز در گونه‌های مختلف ماهیان با ارزش انجام پذیرفته است. از این میان می‌توان به مطالعات معاشر (۱۳۷۹)، Andreu-Vieyra و همکاران (۲۰۰۵)، Fitzpatrick وهمکاران (۱۹۸۴)، Mylonas و همکاران (۱۹۹۲) که به ترتیب روی ماهیان طلایی، گلدفیش، ماهی آزاد کوهو و قزل‌آلای قهوه‌ای صورت گرفت، اشاره نمود.

این پژوهش با هدف بررسی اثر تزریق هورمون GnRHa و عصاره هیپوفیز بر روند تسریع رسیدگی نهایی جنسی و زمان تخمریزی، میزان هماوری نسبی، کیفیت تخم‌های قابل استحصال، درصد لقاح، درصد تخمه گشایی، تلفات و بازماندگی لارو در مولدین ماهی طلایی (گُلدفیش) *Carassius auratus* صورت پذیرفته است.

مواد و روش کار

۲۵ جفت ماهی مولد گلدفیش در ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند. وجود ۵ جفت مولد در هر گروه به منزله ۵ تکرار برای هر تیمار بود. هر جفت ماهی در یک آکواریوم مجزا به صورت کاملاً تصادفی قرار داده شد. لازم به ذکر است که از لحاظ آماری ($p<۰/۰۵$) تفاوت معنی داری بین متوسط وزن (۱۱۶/۵۴ گرم) و طولی استاندارد (۱۳/۱۷ سانتی‌متر) ماهیان مورد بررسی وجود نداشت. دمای آب ۱±۲۶ درجه سانتی گراد، pH بین ۷/۵ تا ۸/۳ و سختی کمتر از

۱۰±۱۷۰ میلی گرم در لیتر بود (ارجینی، ۱۳۸۸). میزان اکسیژن محلول بوسیله هوادهی مداوم در حد اشباع نگهداری شد. میزان غلظت نیتریت، نیترات و آمونیاک نیز در اثر تعویض روزانه ۲۰درصد آب آکواریوم‌ها و استفاده از زئولیت در فیلترها، در حد مطلوب (کمتر از ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر) حفظ شد. طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و طول دوره خاموشی ۸ ساعت در طی ۲۴ ساعت بود (Sandford, 2003). دوز تزریق هورمون و عصاره هیپوفیز به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین هورمون GnRHa، ۳ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین عصاره هیپوفیز (CPE) و گروه شاهد (بدون تزریق هورمون) انتخاب گردید (جدول ۱) (معاشر، ۱۳۷۹؛ Andreu-Vieyra *et al.*, 2005). مولدین قبل از تزریق هورمون بیهوش گردیدند، که برای این منظور از پودر گل میخک استفاده شد. بعد از بیهوشی کامل، مولدین طوری روی میز قرار گرفتند که باله پشتی آنها به سمت بالا قرار گیرد. برای آماده سازی غده هیپوفیز، تعداد غده مورد نظر در هاون پودر شده، در سرم فیزیولوژی ۰/۰۷ حل و سپس از توری با چشمه های ریز عبور داده شد، تا ناخالصی‌های آن گرفته شود. جهت تزریق هورمون از سرنگ‌های ۱ میلی لیتر انسولین استفاده شد. سوزن سرنگ حاوی محلول هورمون با زاویه ۴۵ درجه در زیر ناحیه باله پشتی وارد گردید و هورمون به میزان تعیین شده به صورت عضلانی به ماهی تزریق شد (معاشر، ۱۳۷۹). بعد از انجام عمل تزریق، خروج سرنگ به آرامی، همراه با ماساژ ناحیه تزریق هورمون صورت گرفت تا محلول هورمون تزریقی از بدن خارج نشود. گروه شاهد هیچگونه تزریقی را دریافت نکردند. در این آزمایش تخمکشی و اسپرم گیری بصورت دستی از مولدین صورت گرفت و تخم و اسپرم در ظرفی استریل و خشک مخلوط گردید و با یک پر مرغ به آرامی به هم زده شد و پس از چند دقیقه کم کم به آن آب اضافه شد و چندین بار آب اضافه و خارج گردید تا آبگیری تخم‌ها انجام شود و سپس تخم‌ها به آرامی وارد آکواریوم انکوباسیون شدند (ارجینی، ۱۳۸۸). تخم های لقاح یافته روزانه یک بار با محلول سبز مالاشیت به مقدار ۱ میلی گرم در لیتر به مدت یک تا دو ساعت حمام داده شد تا مانع از قارچ زدگی تخم ها شوند (معاشر، ۱۳۷۹). در تعیین هماوری، شمارش تخمک ها بصورت تخمینی و با روش حجمی صورت گرفت. در تعیین هماوری نسبی نیز، مولدین وزن شده و نسبت تعداد تخم های استحصال شده به وزن ماهیان برحسب گرم براساس فرمول ذیل محاسبه گردید (معاشر، ۱۳۷۹).

(وزن مولدین / تعداد کل تخمک ها) = هم آوری نسبی (تعداد تخمک های نمونه ها × وزن کل تخمک ها) = هم آوری مطلق

میانگین مقدار حاصل از دو روش حجمی و چگالی سنجی به عنوان هم آوری مطلق ثبت گردید. هم آوری نسبی از نسبت تعداد کل تخم به وزن کل ماهی به دست آمد. برای تعیین درصد لقاح، در حدود ۵۰ عدد تخم از هر جفت مولد نمونه برداری شد و پس از شفاف سازی در محلول شفاف سازی، مراحل رشد و نمو جنینی در زیر لوپ مشاهده گردید. در تعیین درصد لقاح نمونه‌های دارای کمربند عصبی (Neural streak) مورد شمارش قرار گرفت.

پس از تخمه گشایی، تخم های باز نشده و پوسته خالی تخم‌ها بوسیله جمع‌کننده‌های مخصوص جمع آوری شد و به دقت از آکواریوم خارج گردید تا مانع از مرگ و میر لاروها شود. لاروها، پس از جذب کیسه زرده قادر به تغذیه خارجی بودند و با زرده تخم مرغ و پس از آن با ناپلی تازه تفریخ شده آرتمیا تغذیه شدند و سپس برای پرورش آنها از مخازن بزرگ تر استفاده شد (معاشر، ۱۳۷۹).

به منظور بررسی تاثیر استفاده از هورمون های القایی از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) با سطح معنی داری ($p<۰/۰۵$) و آزمون‌های مقایسه میانگین توکی (Tukey) و دان‌نت (Dunnet) استفاده شد. از آزمون توکی برای مقایسه معنی دار بودن نتایج بدست آمده از گروه‌های تحت تاثیر هورمون و از آزمون دان‌نت به منظور مقایسه نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

بدست آمده از گروه های تحت تاثیر هورمون با گروه شاهد بهره گرفته شد. لازم به ذکر است که بررسی های آماری توسط نرم افزار SPSS (version 11.5) صورت پذیرفت.

جدول ۱- نوع هورمون، محل و مقدار تزریق هورمون

گروه آزمایشی	نوع هورمون تزریقی	نحوه تزریق	دوز تزریقی هورمون	فاصله زمانی بین تزریق
۱	GnRHa	عضلانی	۱۰µg/KgBW	۱۲ ساعت
۲	GnRHa	عضلانی	۲۰µg/KgBW	۱۲ ساعت
۳	CPE	عضلانی	۳mg/KgBW	۱۲ ساعت
۴	CPE	عضلانی	۵mg/KgBW	۱۲ ساعت
شاهد	بدون تزریق	-	-	-

نتایج

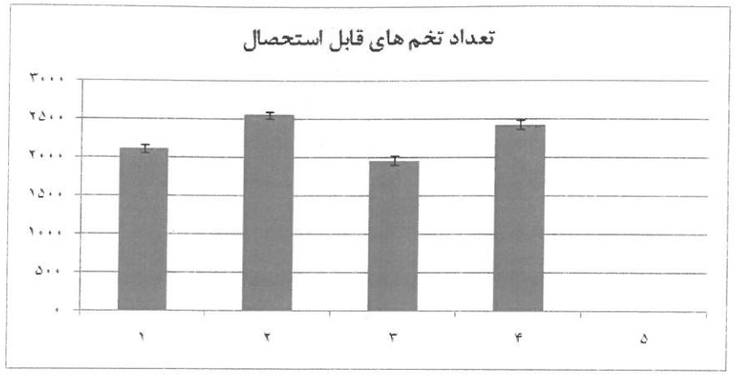
بعد از دومین مرحله تزریق هورمون، مولدین ماده در طی روز اول، چندین بار مورد معاینه قرار گرفتند تا در صورت آماده بودن و اوولِه شدن تخم‌ها، تکثیر شوند. این روند معاینه مولدین ماده تا ۱۲ ساعت پس از تزریق دوم ادامه یافت و ماهیان رسیده و آماده تکثیر بعد از شناسایی، در همان روز تکثیر شدند. در پایان این دوره، از گروه‌های دریافت کننده هورمون، تمامی ۵ جفت مولد به مرحله باروری رسیدند در حالیکه از گروه‌های شاهد هیچ یک از مولدین به این مرحله نرسیدند. نتایج حاصل از بررسی ها به تفکیک در جدول شماره (۲) ارائه شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین نتایج حاصل از آزمایش*

گروه آزمایشی	نوع هورمون تزریقی	دوز تزریقی هورمون	تعداد تخم های قابل استحصال	هماوری نسبی مولدین	درصد باروری تخمهای استحصالی	درصد بقای لاروهای تفریخ شده
۱	GnRHa	۱۰µg/KgBW	۲۱۱۰±۵۷/۸۱ a	۱۴/۷۹±۰/۶۰ a	۶۶/۳۳±۱/۵۰ a	۸۹/۵۰±۰/۸۷ a
۲	GnRHa	۲۰µg/KgBW	۲۵۵۷±۴۱/۵۱ b	۱۷/۶۴±۰/۳۳ b	۶۹/۲۹±۱/۴۰ b	۸۹/۵۰±۱/۰۳ a
۳	CPE	۳mg/KgBW	۱۹۶۲±۵۵/۰۷ a	۱۴/۱۱±۰/۵۰ a	۶۰/۰۸±۱/۶۹ c	۸۹/۲۴±۱/۸۷ a
۴	CPE	۵mg/KgBW	۲۴۲۹±۶۵/۰۱ b	۱۷/۰۸±۰/۷۳ b	۶۵/۹۶±۲/۶۸ a	۸۸/۱۹±۱/۱۳ a
شاهد	بدون تزریق	-	۰ c	۰ c	۰ d	۰ b

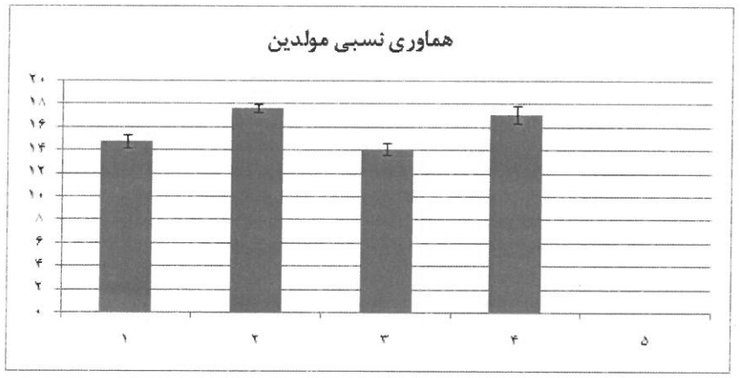
*حروف لاتین (a, b, c, d) نامشابه در هر ستون نمایانگر وجود اختلافات معنی‌دار ($p<0/05$) بین گروه‌های آزمایشی مختلف هستند.

همانطور که از جدول (۲) و شکل (۱) استنباط می شود، تعداد تخم های قابل استحصال در ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE بودند به ترتیب در تیمارهای ۱ (۱۰µg/kgBW GnRHa)، ۲ (۲۰µg/kgBW GnRHa)، ۳ (۳mg/kgBW CPE) و ۴ (۵mg/kgBW CPE)، برابر با ۲۱۱۰±۵۷/۸۰۷۱۵، ۲۵۵۷±۴۱/۵۰۷۷، ۱۹۶۲±۵۵/۰۷۱۶۷ و ۲۴۲۹±۶۵/۰۱۳۹۸ بود. که از لحاظ آماری بین نتایج تیمارهای هورمونی ۱ با ۳ و ۲ با ۴ اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p<0/05$). براساس نتایج آزمون دانت اختلاف معنی داری بین تیمارهای هورمونی و شاهد که هیچ هورمونی دریافت نکردند، مشاهده گردید ($p<0/05$).



شکل ۱- نمودار میانگین (±SD) تعداد تخم‌های استحصالی در تیمارهای ۱ (۱۰µg/KgBW - GnRHa)، ۲ (۲۰µg/KgBW - GnRHa)، ۳ (۳mg/KgBW - CPE)، ۴ (۵mg/KgBW - CPE) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

هماوری نسبی ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE قرار گرفته بودند به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با ۱۴/۷۹±۰/۶۰، ۱۷/۶۵±۰/۳۳، ۱۴/۱۱±۰/۵۰ و ۱۷/۰۸±۰/۷۳ عدد تخم به ازای هر گرم وزن بدن بود (شکل ۲)، که بین نتایج تیمارهای هورمونی ۱ با ۳ و ۲ با ۴ اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p<0/05$). براساس نتایج بدست آمده از آزمون دانت اختلاف معنی داری بین تیمارهای هورمونی و گروه شاهد مشاهده شد ($p<0/05$).

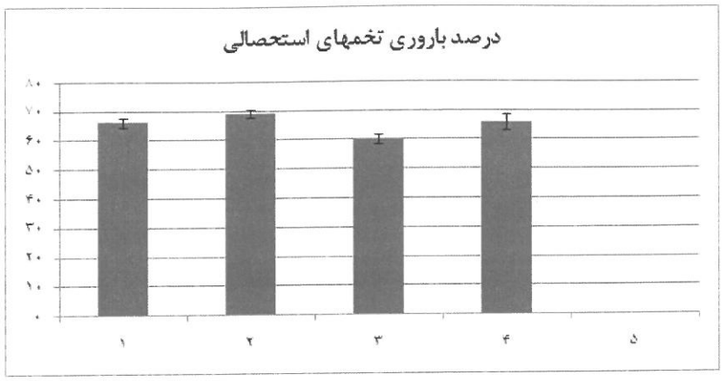


شکل ۲- نمودار میانگین (±SD) هماوری نسبی مولدین در تیمارهای ۱ (۱۰µg/KgBW - GnRHa)، ۲ (۲۰µg/KgBW - GnRHa)، ۳ (۳mg/KgBW - CPE)، ۴ (۵mg/KgBW - CPE) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

درصد باروری تخم‌های استحصال شده از ماهیان مولد تحت تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با ۶۶/۳۳±۱/۵۰، ۶۹/۲۹±۱/۴۰، ۶۰/۰۸±۱/۶۹ و ۶۵/۹۶±۲/۶۸ بود (شکل ۳) که از لحاظ آماری بین نتایج تیمارهای ۱ با ۳ اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p<0/05$). در حالی که بین نتایج بدست آمده در تیمارهای هورمونی دیگر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p<0/05$). براساس نتایج آزمون دانت اختلاف معنی داری بین کلیه تیمارهای هورمونی و گروه شاهد مشاهده گردید ($p<0/05$).

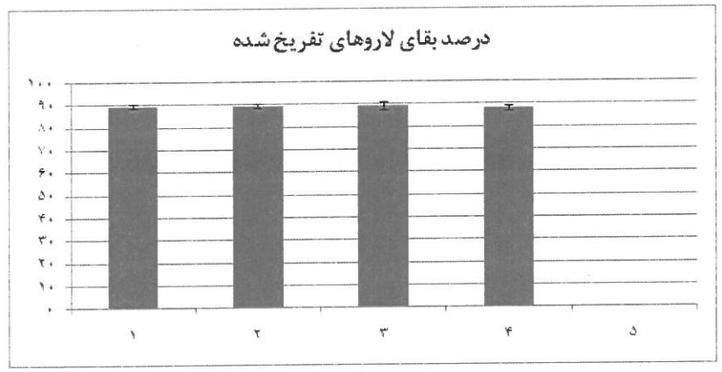
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- نمودار میانگین (SD) درصد باروری تخم‌های استحصالی در تیمارهای ۱ (GnRHa - ۱۰µg/KgBW)، ۲ (GnRHa - ۲۰µg/KgBW)، ۳ (CPE - ۳mg/KgBW)، ۴ (CPE - ۵mg/KgBW) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

درصد بقای لاروهای تفریخ شده از تخم ماهیان مولد تحت تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با ۸۹/۵۰±۰/۸۷، ۸۹/۵۰±۱/۰۳، ۸۹/۲۴±۱/۸۷ و ۸۸/۱۹±۱/۱۳ بود (شکل ۴) که از لحاظ آماری بین نتایج تیمارهای هورمونی اختلاف معنی داری در سطح (p<۰/۰۵) دیده نشد. اما براساس نتایج آزمون دانت اختلاف معنی داری بین کلیه تیمارهای هورمونی و گروه شاهد مشاهده گردید (p<۰/۰۵).



شکل ۴- نمودار میانگین (SD) درصد بقای لاروهای تفریخ شده در تیمارهای ۱ (GnRHa - ۱۰µg/KgBW)، ۲ (GnRHa - ۲۰µg/KgBW)، ۳ (CPE - ۳mg/KgBW)، ۴ (CPE - ۵mg/KgBW) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق، به بررسی اثرات هورمون‌های GnRHa و CPE در دوزهای مختلف به منظور القای اوولاسیون و تحریک ماهیان به تخمریزی پرداخته شد. نتایج کلی بدین ترتیب بود که تعداد تخم‌های قابل استحصال در مولدینی که تحت تزریق هورمونی GnRHa و CPE قرار گرفتند، به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با ۵۷/۸۱±۲۱۱۰، ۴۱/۵۱±۲۵۵۷، ۵۵/۰۷±۱۹۶۲ و ۶۵/۰۱±۲۴۲۹ بود، قابلیت باروری تخم به ترتیب برابر با ۴۷/۵۵±۱۳۹۹/۲۱، ۴۸/۴۷±۱۷۷۲/۷۲، ۴۹/۱۹±۱۱۷۹/۵۱ و ۳۸/۵۲±۱۵۹۰/۳۳ بود، تعداد لاروهای تفریخ شده به ترتیب برابر با ۳۲/۹۶±۱۲۰۶، ۳۶/۸۳±۱۴۹۱/۴، ۵۳/۵۳±۹۸۲/۸۴ و ۳۲/۲۳±۱۳۹۵/۳۴ بود، تعداد لاروهای بقا یافته نیز به ترتیب

برابر با ۳۳/۴۱±۱۰۹۲/۹۶، ۴۱/۳۶±۱۳۳۶/۱۷، ۵۴/۴۳±۸۸۰/۶۲ و ۳۲/۸۹±۱۲۳۰/۷۴ بود. محققین در مطالعات صورت گرفته بر روی گلدفیش و دیگر ماهیان استخوانی اطلاعات حائز اهمیتی درباره کنترل هورمونی رشد و تکامل غدد جنسی بدست آورده اند. علاوه بر هورمون‌های گنادوتروپین، فاکتورهای دیگری بصورت موضعی تولید می شوند که نقش مهمی در کنترل رشد و تکامل غدد جنسی ایفا می نمایند. یافته های علمی نشان می دهد که GnRHa بصورت ترشحات پاراکرین نقش بسزایی در رشد و تکامل غدد جنسی و کنترل مرگ سلولی در غدد جنسی که منجر به دژنره شدن فولیکول‌ها و بافت بیضه در ماهیان بالغ می شود ایفا می نماید (Andreu-Vieyra *et al.*, 2005, Andreu-Vieyra & Habibi, 2000).

بر اساس نتایج بدست آمده، تزریق هورمون GnRHa و CPE به ماهی گلدفیش موجب القای اوولاسیون و تحریک این ماهیان به تخمریزی شده است. این در حالی است که هیچ یک از مولدین تیمار شاهد که تحت هیچ گونه تیمار هورمونی قرار نداشته اند، در شرایط نگهداری مشابه، تخمریزی انجام ندادند. به عبارتی پاسخ مولدین گلدفیش به تزریق هورمونهای GnRHa و CPE در سطح (P<۰/۰۵) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشته است. نتیجه استفاده از تیمارهای هورمونی در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی همزمانی در رسیدگی جنسی اووسیت‌ها و افزایش تعداد مولدین ماده آماده تخم ریزی است. اووژنزیز همزمان در ماهیانی نظیر آتلانتیک سالمون (Mylonas *et al.*, 1997)، کوهو سالمون (Donadlson *et al.*, 1984)، قزل آلای رنگین کمان و قزل آلای قهوه‌ای (Billard *et al.*, 1989) مؤید این مطلب است. این حالت در ماهیانی که دارای رسیدگی گروهی تخمک‌ها (Group-synchronus ovogenesis) می‌باشند، نظیر باس سفید و راه‌راه (Mylonas *et al.*, 1997) نیز مشاهده شده است. در این ماهیان تیمارهای هورمونی با GnRHa موجب کاهش زمان بین اوولاسیون می‌گردد و میانگین حجمی تخم‌های قابل استحصال در هر مرحله بدون هیچ گونه تغییری در هماوری کل افزایش می‌یابد. معمولاً القای اوولاسیون به منظور دستیابی به تعداد بیشتر تخمک قابل استحصال و با کیفیت بالاتر صورت می گیرد. لذا کیفیت تخم‌های بدست آمده از مولدینی که تحت تیمار هورمونی قرار داده می شوند از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است.

تعداد تخم های قابل استحصال از مولدین گلدفیش که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE به ترتیب با دوزهای ۲۰ µg/kgBW GnRHa و ۵mg/kgBW CPE قرار داشته اند در سطح (P<۰/۰۵) بطور معنی داری بیشتر از تعداد تخم‌های ماهیان مولدی است که تحت تیمار دوزهای هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa و ۳mg/kgBW CPE قرار داشته اند. در مورد کمیت تخم های استحصال شده از مولدین تحت تیمار انواع مختلف GnRHa و سایر هورمون‌های سنتتیک و طبیعی القا کننده اوولاسیون در ماهیانی که در شرایط پرورشی بطور طبیعی قادر به تخم ریزی نیستند مانند کپور ماهیان چینی (Bromage *et al.*, 1995) مطالعات متعددی صورت گرفته است. نتیجه این تحقیقات حاکی از این است که استفاده از هورمون GnRHa در مقایسه با سایر هورمون های سنتتیک و طبیعی در افزایش هماوری نسبی کارایی بیشتری دارد.

میزان هماوری نسبی مولدینی که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE به ترتیب با دوزهای µg/kgBW ۲۰ GnRHa با ۵mg/kgBW CPE قرار داشته اند در سطح (P<۰/۰۵) بطور معنی داری بیشتر از هماوری نسبی ماهیان مولدی است که تحت تیمار دوزهای هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa با ۳mg/kgBW CPE قرار داشته اند. همچنین تزریق عصاره هیپوفیز آزاد ماهیان (SPE) به ماهی کوهو سالمون موجب تحریک و القای اوولاسیون در این ماهیان شده است (Donalson *et al.*, 1983).

میزان باروری تخم های مولدین گلدفیش که تحت تیمار هورمون ۳mg/kgBW CPE در مقایسه با دیگر تیمارهای هورمونی در کمترین حد قرار دارد و از نظر آماری در سطح (p<۰/۰۵) اختلاف معنی داری بین نتایج حاصل

www.SID.ir

Archive of SID

از این تیمار با دیگر تیمارها مشاهده شد. در مقابل باروری تخم ها در تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای ۲۰µg/kgBW GnRHa و ۵mg/kgBW CPE نسبتا بالاست و از نظر آماری بین آنها در سطح (P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. بین میزان باروری تخم های مولدینی که تحت تیمار هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa قرار داشته اند نیز در سطح (P<۰/۰۵) بطور معنی داری در مقایسه با نتایج دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف وجود دارد. درصد باروری تخم ها نیز در تمامی تیمارهای هورمونی تقریبا مشابه یکدیگر بوده و از نظر آماری در سطح (p<۰/۰۵) اختلاف معنی دار چندانی بین نتایج بدست آمده، مشاهده نمی شود.

در مواردی استفاده از هورمون های تزریقی به منظور القای ماهیان و تسریع رسیدگی و اوولاسیون همزمان تخمک ها ممکن است منجر به کاهش کیفیت تخم ها شود. این امر احتمالا متاثر از هورمون های خاص یا ترکیبات همراه با آنها، مقدار دوز هورمونی تجویز شده، نحوه تزریق و انتقال هورمون، زمان تجویز هورمون، فاصله زمانی بین دو هورمون و زمان اوولاسیون طبیعی در گله مولدین، استرس های محیطی ناشی از دستکاری های پیاپی، سلامت و وضعیت تغذیه ای ماهی است. استفاده از دوزهای بالای هورمونی نیز منجر به کاهش کیفیت تخم‌های ماهیان می‌گردد. تاثیرات سوء ناشی از بالا بودن دوز تزریقی یا استفاده بیش از حد از هورمون های GnRHa در ماهیان مختلف گزارش شده است (Peter & Yu, 1997). البته بالا بودن دوز تزریقی یا استفاده بیش از حد از هورمون های GnRHa نیز می تواند پیامدهای سوئی در پی داشته باشد (Peter & Yu, 1997). در بسیاری از ماهیان تغییرات روزانه هورمون‌های گنادوتروپین GtH-II و یا اوولاسیون تخم‌ها در پاسخ به GnRHa صورت می گیرد که این پدیده در ماهی کپور معمولی و باس دریایی به اثبات رسیده است. لذا آزادسازی مداوم هورمون های GnRHa می تواند چرخه طبیعی ترشح هورمون های گنادوتروپین GtH-II را برهم بزند. استفاده از دوزهای بالای GnRHa و هورمون GtH-II همان طور که ذکر شد می تواند تاثیرات سوءیی بر روی کیفیت تخم های مولدین داشته باشد. که این امر مغایر با اهداف استفاده از هورمون های القا کننده می باشد. در این پژوهش، در کیفیت تخم های استحصال شده و بازماندگی لاروها با افزایش دوز هورمون های تزریقی تغییر معنی داری (P<۰/۰۵) مشاهده نشد. درصد بقای لاروها نیز در تمامی تیمارهای هورونی تقریبا مشابه یکدیگر بوده و از نظر آماری در سطح (P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری بین نتایج بدست آمده مشاهده نشد. در ماهی کفشک معمولی، استفاده از دوزهای بالای هورمون HCG موجب کاهش کیفیت تخم‌ها و کاهش نرخ باروری و لقاح شده است (Ramos, 1986). در ماهی قزل‌آلای قهوه‌ای نیز استفاده بیش از حد از هورمون GnRHa موجب کاهش کیفیت و نرخ باروری و لقاح تخم‌ها شده است، که بنظر می‌رسد این امر ممکن است ناشی از کوتاه شدن زمان بین القای هورمونی و اوولاسیون باشد (Mylonas *et al.*, 1992). در ماهی آتلانتیک سالمون، تزریق بیش از حد هورمون در مراحل اولیه می‌تواند منجر به غیر طبیعی شدن تخم‌ها و مرگ و میر ۱۰۰ درصد آنها، پس از گذشت ۲۴ ساعت از لقاح گردد (Crim & Glebe, 1997). همچنین ممکن است اوولاسیون دچار اختلال شود. تزریق دوزهای کم GnRHa، اما در دفعات زیاد نیز علاوه بر ایجاد استرس در ماهیان ممکن است موجب افزایش دوز تزریقی به ماهیان گردد. این امر نیز ممکن است موجب افزایش بیش از حد ترشحات GTH II نسبت به دوز هورمونی مناسب در اوولاسیون طبیعی گردد. تزریق یک مرحله ای GnRHa تنها منجر به افزایش تحریک کوتاه مدت ترشح و آزاد سازی GtH-II می گردد. این دوز تحریک در ماهیان گلدفیش، قزل آلای رنگین کمان و سیم دریایی سر طلایی حداکثر ۳۶ تا ۴۸ ساعت پس از تزریق هورمون گزارش شده است (Zohar, 2001).

تعداد لاروهای تخمه گشایی شده در ماهیان مولد تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای ۲۰ µg/kgBW GnRHa و ۵mg/kgBW CPE متناسب با میزان باروری نسبت به دیگر تیمارهای هورمونی بالاتر است و بین نتایج بدست آمده در این دو تیمار با دیگر تیمارهای هورمونی در سطح (P<۰/۰۵) اختلاف معنی

داری مشاهده شد. میزان تفریخ لاروها از تخم مولدین گلدفیشی که تحت تیمار هورمون ۳mg/kgBW CPE قرار گرفته اند، در مقایسه با دیگر تیمارهای هورمونی در کمترین حد قرار دارد و از نظر آماری در سطح (P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری بین نتایج حاصل از این تیمار با دیگر تیمارها مشاهده می شود. تعداد لاروهای بدست آمده از تخم مولدینی که تحت تیمار هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa قرار داشته اند نیز در سطح (P<۰/۰۵) بطور معنی داری با نتایج بدست آمده در دیگر تیمارها متفاوت است. بقای لاروهای ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی ۳mg/kgBW CPE قرار داشته اند در سطح (P<۰/۰۵) بطور معنی داری پایین تر از لارو سایر مولدین است. تعداد لاروهای بقا یافته از مولدینی که تحت تیمارهای هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa، ۲۰ µg/kgBW GnRHa و ۵mg/kgBW CPE قرار داشته اند از لحاظ آماری در سطح (P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری چندانی با یکدیگر ندارند.

در مجموع کارایی هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای ۲۰ µg/kgBW GnRHa و ۵mg/kgBW CPE در اغلب موارد بیشتر از دوزهای هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa و ۳mg/kgBW CPE بوده است. معاشر (۱۳۸۵) با تزریق هورمون GnRHa و LHRHa به دو صورت یک مرحله ای و دو مرحله ای به ماهی طلایی (*Carassius auratus*) نشان داد که هورمون های GnRHa و LHRHa موجب تسریع روند رشد و تکامل غدد جنسی ماهی طلایی می شود. هورمون GnRHa و LHRHa به ترتیب در دوزهای ۱ و ۰/۱ میلی گرم بر گرم وزن ماهی سبب افزایش معنی داری سطح GtH در مقایسه به غلظت های دیگر شده است و کارایی LHRHa نیز در مقایسه با GnRHa در افزایش طولانی مدت تر سطح GtH بیشتر است. در ماهیان استخوانی، اختلال در تخم ریزی و اوولاسیون در مولدین پرورشی و در شرایط اسارت می‌تواند ناشی از عدم رهاسازی هورمون لوتینزینگ هیپوفیزی (LH) باشد (Zohar, 1989a). هورمون‌های سنتتیک و آنالوگ آزاد کننده گنادوتروپین (GnRHa) بطور گسترده‌ای در دو دهه گذشته به منظور القای سنتز و آزاد سازی LH از هیپوفیز مورد استفاده قرار گرفته است، که منتج به بلوغ نهایی اووسیت‌ها (FOM)، اوولاسیون و تخم ریزی ماهیان در شرایط پرورشی گردیده است (Peter & Yu, 1997). استفاده از هورمون‌های سنتتیک و آنالوگ GnRHa می‌تواند بصورت تزریق یک مرحله‌ای یا چند مرحله‌ای، به تنهایی یا همراه با یک ترکیب ضد دوپامین و با فاصله زمانی چند ساعت یا چند روز صورت گیرد. این تیمارهای هورمونی به طور موفقیت آمیزی در تحریک آزاد ماهیان (Fitzpatrick *et al.*, 1984)، سیم دریایی گیلت‌هد (Zohar *et al.*, 1989b) و بسیاری دیگر از ماهیان آب شیرین آسیایی (Peter *et al.*, 1993) مورد استفاده قرار گرفته است.

در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان بیان نمود که کارایی هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای µg/kgBW ۲۰ GnRHa و ۵mg/kgBW CPE در اغلب موارد بیشتر از دوزهای هورمونی ۱۰µg/kgBW GnRHa و ۳mg/kgBW CPE بوده است و با عنایت به اهمیت تجاری تکثیر و پرورش ماهی طلایی، استفاده از تیمارهای هورمونی با دوزهای مذکور به پرورش‌دهندگان پیشنهاد می‌شود. بدیهی است استفاده از تیمارهای هورمونی با هدف تسریع در اوولاسیون و تکثیر این ماهیان ارزشمند به لحاظ بهره‌وری زمانی و استفاده مطلوب از عمر مفید مولدین و در نهایت بهره‌وری اقتصادی کارگاه های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی دارای اهمیت بوده و توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مسئولین محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیلات و همین طور معاونت پژوهشی دانشگاه‌های مذکور تقدیر و تشکر به عمل می آید.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

معاشر، ل. س. ۱۳۷۹. بررسی و مقایسه هورمون هیپوفیز GnRHa و آنالوگ آن (LRHa) در پیش رس کردن ماهی طلایی (*Carassius auratus*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران. ایران

ارجینی، م. ۱۳۸۸. راهنمای گلدفیش (تکثیر و پرورش، تغذیه و بیماری ها). انتشارات برهمند. ایران

Andreu-Vieyra, C.V. & Habibi, H.R. 2000. Factors controlling ovarian apoptosis. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 78:1003-1012.

Andreu-Vieyra, C, Buret, A.G. & Habibi, H.R. 2005. Gonadotropin-releasing hormone induction of apoptosis in the testes of Goldfish (*Carassius auratus*). Endocrinology, 146: 1588-1596.

Billard, R.1989. Endocrinology and fish culture. Fish Physiol. Biochem., 7: 49–58.

Bromage, N.R.& Roberts, R.J.1995. Brood stock management and egg and larval quality. Blackwell, Oxford.

Crim, L.W. & Bettles, S. 1997. Use of GnRHa analogues in fish culture. In: Fingerman, M., Nagabhushanam, R., Thompson, M.F. Eds. Recent advances in marine biotechnology, Vol. 1: Endocrinology and reproduction. Oxford and IBH Publishing, New Delhi.

Donaldson, E. M. & Hunter, G. A.1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. and Donaldson, E. M. (Eds), Fish Physiology: Reproduction, IX, Part B, Behavior and Fertility Control, chap. 7., Academic Press, New York.

Fitzpatrick, M. S., Suzumoto, B. K., Schereck, C. B. & Oberbillig, D.1984. Luteinizing hormone-releasing hormone analogue induces precocious ovulation in adult Coho salmon, *O. kisutch*. Aquaculture, 43: 67-73.

Mylonas, C. C., Hinshaw, J. M. & Sullivan, C. 1992. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. Aquaculture, 106: 379-392.

Mylonas, C. C., Magnus, Y., Klebanov, Y., Gissis, A. & Zohar, Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. Journal of fish biology, 51: 234-250.

Peter, R.E., Lin, H. R., Van Der Kraak, G. & Little, M.1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. In: Muir, J.F., Roberts, R.J. Eds, Recent advances in aquaculture. Blackwell Scientific, Oxford.

Peter, R. E. & Yu, K. L.1997. Neuro endocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. Rev. Fish Biol. Fish, 7: 173–197.

Ramos, J.1986. Induction of spawning in common sole (*Solea solea L.*) with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 56: 239-242.

Sandford, G.2003. Aquarium owners manual. Dorling Kindersley. United Kingdom.

Zohar, Y.1989a. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. In: Shilo, M., Sarig, S. Eds., Fish culture in warm water systems: problems and trends. CRC Press. Boca Raton.

Zohar, Y.1989b. Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction growth, and smoltification. Fish Physiol. Biochem., 7: 395–405.

Zohar, Y. & Mylonas, C. C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture, 197: 99–136.

www.SID.ir