

## مقایسه اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز بر کیفیت اسپرم تولیدی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio Linnaeus, 1758*)

تقی سیفی<sup>۱</sup>، محمد رضا ایمان‌پور<sup>۲\*</sup>، ولی‌ا... جعفری<sup>۳</sup> و چنگیز مخدومی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

<sup>۳</sup> استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

<sup>۴</sup> مریبی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی شهید رجایی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۰، تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۱۷)

### چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی مولدین نر کپور پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. میزان حجم اسپرم‌دهی و درصد اسپرم‌های متحرك در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.01$ ، به‌طوری که بیشترین میزان حجم اسپرم‌دهی در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم  $40.4 \pm 4.96$  و  $12.78 \pm 4.00$  میلی-لیتر، به ترتیب) و بالاترین مقدار درصد اسپرم‌های متحرك در تیمار هیپوفیز مشاهده شدند ( $17.9\% \pm 1.42$ ). بین میزان اسپرم‌ماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ) و بیشترین میزان اسپرم‌ماتوکریت در تیمار اوواپریم مشاهده شد ( $1.26 \pm 0.86$ ). تراکم اسپرم در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) به‌گونه‌ایی که در تیمارهای اوواپریم و هیپوفیز بیشتر از بقیه بود ( $10.9 \times 10^9 \pm 0.18 \times 10^9$  و  $2.38 \times 10^9 \pm 0.14 \times 10^9$ ، به ترتیب). طول دوره تحرك اسپرم هم در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ) و بیشترین میزان آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد ( $74.80 \pm 7.69$  ثانیه). میانگین pH در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ) و بیشترین آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد ( $0.15 \pm 0.36$ ). نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق هورمون‌های اوواپریم و غده هیپوفیز در مقایسه با هورمون HCG موجب افزایش کیفیت پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی کپور معمولی پرورشی می‌شوند.

**واژه‌های کلیدی:** ماهی کپور، اوواپریم، HCG، هیپوفیز، پارامترهای اسپرم شناختی

القاً هورمونی تولیدمثل بطور گستردگی در آبزی پروری جهت تحریک رسیدگی جنسی (اوولاسیون و اسپرمیشن) در گونه‌هایی که به طور خودبخودی در محیط اسارت رسیده نشدنند، یا برای همزمانی اوولاسیون برای اهداف کاربردی در برخی گونه‌های دیگر استفاده می‌شود (Bobe and Labb  , 2010). غده هیپوفیز به طور گستردگی در آبزی پروری جهت القای تولید مثل در کپور ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، و به نحو مؤثری عمل اسپرم‌ریزی را در کپور ماهیان تحریک می‌کند. همچنین GnRH به همراه یک آنتی دوپامین سال‌هاست که به دلیل قیمت مناسب نسبت به هیپوفیز جهت تزریق به ماهیان مولد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zohar and Mylonas, 2001). اوواپریم مخلوطی از هورمون مصنوعی آزاد کننده گنادوتروپین آزاد ماهیان (sGnRHa<sup>1</sup>) و یک ضد دوپامین دومپریدون<sup>۲</sup> است (Leelapatra, 1988; Nandeesha et al., 1990; Lim et al., 2004). هورمون HCG<sup>۳</sup> به منظور بلوغ در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این هورمون توسط جفت انسان ساخته و در ادرار خانم‌های باردار وجود دارد (Glen et al., 2003). تزریق هورمون‌های مختلف به ماهیان می‌تواند روی کیفیت پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهیان اثر داشته باشد به‌گونه‌ایی که در برخی موارد کیفیت آن افزایش می‌یابد.

هدف از این مطالعه بررسی اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی (طول دوره حرکت اسپرم، درصد تحرك اسپرم، اسپرماتوکریت، حجم اسپرم‌دهی، تراکم اسپرم و pH) در مولدین نر کپور معمولی می‌باشد و از آنجا که تاثیر این هورمون‌ها روی کیفیت اسپرم ماهی کپور معمولی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفت است، لزوم انجام این مطالعه بیشتر احساس می‌شود.

۱-Salmon Gonadotropin Releasing Hormone analog

۲-Dompridron

۳-Human Chorionic Gonadotropin

## مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) از خانواده کپورماهیان است. این خانواده دارای ۲۱۰ جنس و ۲۰۱۰ گونه می‌باشد. پراکنش این ماهی در دریای خزر، رودخانه تجن و تمام حوزه‌های آبریز ایران با بیشینه طول ۱۵۰ (میانگین ۳۸) سانتی‌متر مشاهده شده است (Sattari et al., 2003). در بسیاری از ماهیان اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و تخمریزی در شرایط پرورشی به صورت کامل صورت نمی‌گیرد و برای القای تخمریزی و اسپرم‌ریزی و همزمانی آزادسازی گامت‌ها در کارگاه‌های Zohar پرورش ماهی از تزریق هورمون استفاده می‌شود (and Mylonas, 2001). یکی از مهمترین مشکلات در تکثیر مصنوعی کپور ماهیان بدست آوردن گامت‌هایی با کیفیت بالا از ماهیان تزریق شده می‌باشد. کیفیت اسپرم معمولاً بوسیله درصد تحرك و مدت زمان حرکت رو به جلوی اسپرم ارزیابی می‌گردد (Billard, 1992).

در صنعت آبزی پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیشتر می‌باشد این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها موثر است. از آنجا که اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده اثر گذار است و در هچری‌های در مقیاس تجاری، سمن از نظر کمی و کیفی ناکافی است، استفاده از تکنیک‌هایی جهت افزایش درصد و طول دوره حرکتی اسپرم موجب افزایش راندمان تولید خواهد شد (Rurangwa et al., 2004). همچنین دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند. به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص باشد (Tekin et al., 2003). برای این کار می‌بایست بیومارکرهای کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرك) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثربند مشخص شود (Rurangwa et al., 2004).

۲۰۰۰ در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی گراد) رقیق گردید و حرکت اسپرم با تأخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم توسط دوربین CCD متصل به میکروسکوپ ثبت شد و تا زمانی که صد درصد اسپرم‌ها از تحرک باز ایستادند با دوربین تصویربرداری شد. نرم افزار مورد استفاده ASUS در ادامه با استفاده از نرم افزار premeier Adobe هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد (Turner and ۲۰۰۲). جهت اندازه‌گیری (Montgomerie, ۲۰۰۲) اسپرماتوکریت، لوله‌های مؤئنه محتوی سمن که یک سمت آن با خمیر مخصوص لوله‌های هیپارینه مسدود شده بود در دستگاه سانتریفیوژ<sup>۳</sup> قرار داده شد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس درصد اسپرم به پلاسمای سمن اندازه‌گیری شد (Fitzpatrick *et al.*, ۲۰۰۵). برای اطمینان از هر ماهی ۳ الی ۵ لوله مؤئنه محتوی سمن تهیه شد و از میانگین داده‌ها استفاده شد. تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست زمینه سیاه با درشت نمایی ۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد  $10^9 \times$  در هر میلی لیتر سمن نوشته شد. با استفاده از سرنگ انسولین حجم اسپرم‌دهی ماهیان اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری pH، نمونه‌ها درون ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد، و ابتدا در دور ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه و در ادامه در دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Linhart *et al.*, ۱۹۹۱). بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای منی که در قسمت بالای ویال قرار دارد (سوپر ننت)<sup>۴</sup> به درون ویال‌های جدید انتقال داده و pH بوسیله پی.اچ متر (pH-) این کار، شیوه نمونه برداری به صورت تصادفی و در قالب

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در طی ماههای فروردین، اردیبهشت و خرداد ۱۳۸۸ صورت گرفت. مولدین نر کپور پرورشی از مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری تهیه شدند. برای این کار تعداد ۲۰ مولد نر کپور پرورشی سه ساله (با میانگین طولی  $149 \pm 65$  میلی‌متر و میانگین وزنی  $68 \pm 10$  گرم) آماده و توسط هیپوفیز، اوواپریم و HCG تزریق شدند و با شاهد که تنها توسط سرم فیزیولوژی تزریق شده بود مقایسه گردیدند (۴ تیمار). در هر تیمار ۵ مولد نر کپور پرورشی تزریق شدند. به گروه اول عصاره هیپوفیز کپور معمولی به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (Zohar and Mylonas, ۲۰۰۱) در قاعده باله سینه‌ایی و در محل صفاق تزریق گردید (Rottman *et al.*, ۱۹۹۱) به گروه دوم هورمون اوواپریم به میزان ۵/۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید و به گروه سوم به میزان ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم تزریق به عمل آمد (Zohar and Mylonas, ۲۰۰۱). پس از گذشت ۱۲ ساعت از تزریق با HCG و ۲۴ ساعت از تزریق با اوواپریم و عصاره هیپوفیز، نمونه‌های منی با دقت بدون اینکه با آب، ادرار و یا خون آلوده شوند، جمع آوری شدند. بعد از اطمینان از فعال بودن اسپرم، نمونه‌های جمع آوری شده در سرنگ‌های استریل و در مجاورت هوا (پ حجم سرنگ از هوا پر شده بود) بوسیله فلاسک محتوی یخ، در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و pH) منتقل گردید (Secer *et al.*, ۲۰۰۴).

برای اندازه‌گیری مدت زمان تحرک اسپرم از میکروسکوپ فاز کنتراست<sup>۱</sup> استفاده شد (Cosson *et al.*, ۲۰۰۰). سمن با رقیق کننده (آب مقطر) به نسبت ۱ به

۱- Sigma 1-13 England

۲- Supernatant

۳- Tajhizat sanjesh company

۴- Leica usa wv-cp 240 japan

تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ), به طوری که بیشترین میزان حجم اسپرم‌دهی در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شد. در میزان تراکم اسپرم در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ )، و بیشترین میزان تراکم اسپرم در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شدند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌های اسپرماتوکریت بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور معمولی پرورشی در جدول ۱ نشان داده شده است. مطابق این جدول بین میزان اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ), و بیشترین میزان اسپرماتوکریت در تیمار اوواپریم مشاهده شد. مطابق جدول ۲، pH در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.01$ ) به طوری که بیشترین میزان pH در گروه هیپوفیز مشاهده شد. همچنین نمودارهای مربوط به پارامترهای اسپرم‌شناختی و پی-اچ سمن ماهی کپور پرورشی تحت تاثیر تزریق عصاره هیپوفیز، هورمون‌های اوواپریم و HCG در شکل ۱ نشان داده شده است.

طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های بدست آمده در ارتباط با مدت زمان و درصد حرکت اسپرم، حجم اسپرم‌دهی، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم و pH مایع اسپرمی در چهار گروه تزریق عصاره هیپوفیز، هورمون اوواپریم، HCG و شاهد با کمک آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد ( $P < 0.05$ ) توسط آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 با یکدیگر مقایسه شدند.

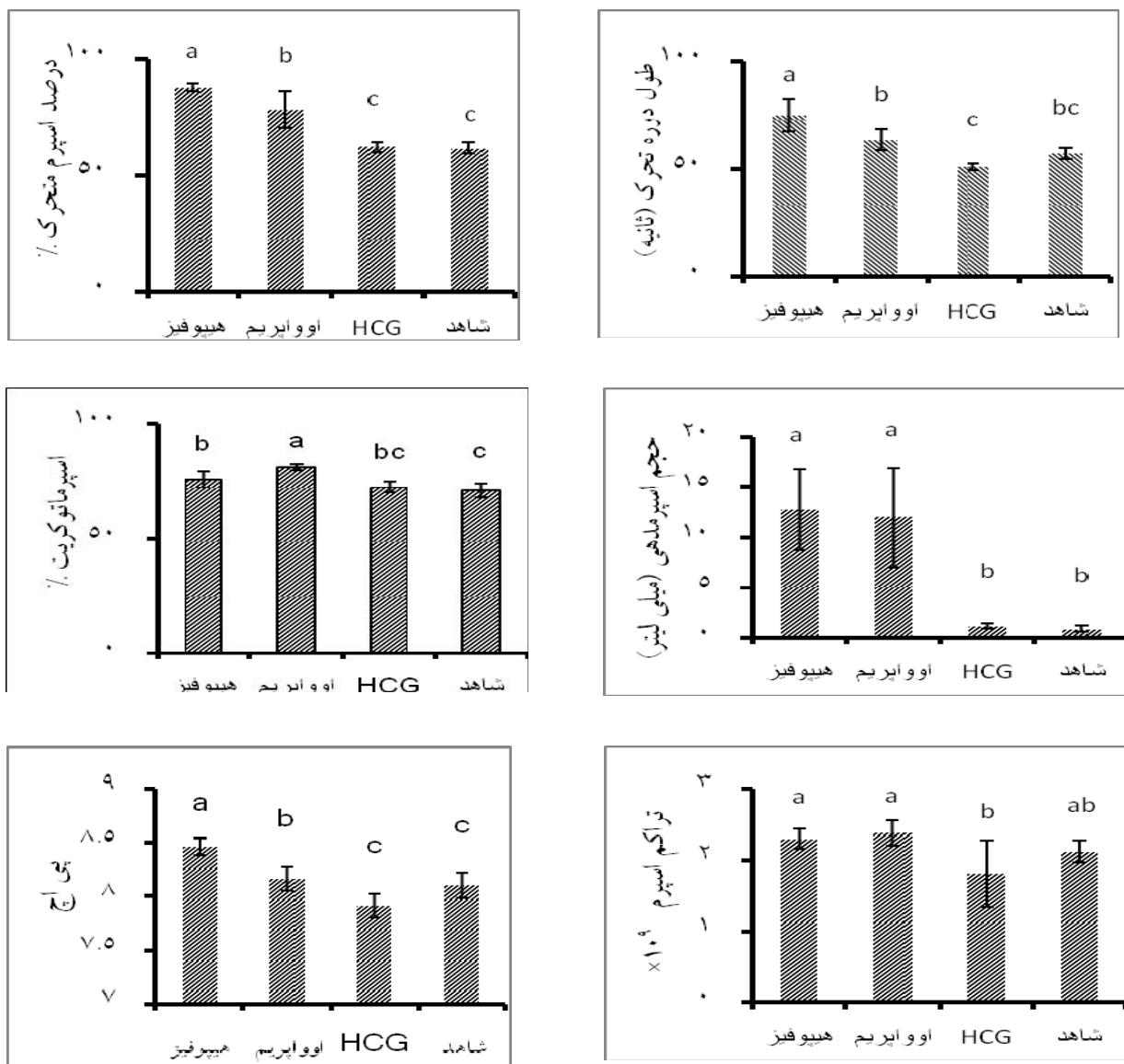
## نتایج

مقایسه میانگین طول دوره تحرك اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور معمولی پرورشی در جدول ۱ نشان داده شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود بین میانگین طول دوره حرکت اسپرم در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ), و بیشترین میزان آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد. همچنین بین درصد اسپرم‌های متحرک در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ), که بیشترین میزان درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار هیپوفیز مشاهده شد. بعلاوه مطابق جدول ۱ بین میزان حجم اسپرم‌دهی در بین

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های داده‌های (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی کپور معمولی پرورشی در بین تیمارهای مختلف

تیمار ۴ شاهد	تیمار ۳ HCG	تیمار ۲ اوواپریم	تیمار ۱ هیپوفیز	تیمار
$57/20 \pm 2/58^{bc}$	$50/80 \pm 1/64^c$	$63/40 \pm 5/02^b$	$74/80 \pm 7/69^a$	طول دوره تحرك (ثانیه)
$61/43 \pm 2/37^c$	$62/05 \pm 2/16^c$	$77/88 \pm 7/62^b$	$87/42 \pm 1/79^a$	درصد اسپرم متحرک
$0/86 \pm 0/29^b$	$1/11 \pm 0/25^b$	$12/00 \pm 4/96^a$	$12/78 \pm 4/04^a$	حجم اسپرم (CC)
$2/12 \pm 0/15^{ab}$	$1/81 \pm 0/47^b$	$2/38 \pm 0/18^a$	$2/29 \pm 0/14^a$	تراکم اسپرم $\times 10^9$
$70/85 \pm 3/10^c$	$72/28 \pm 2/38^{bc}$	$80/86 \pm 1/26^a$	$75/73 \pm 3/54^b$	اسپرماتوکریت (درصد)
$8/04 \pm 0/11^c$	$7/94 \pm 0/05^c$	$8/20 \pm 0/12^b$	$8/36 \pm 0/15^a$	بی-اچ

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد.



شکل ۱- نمودارهای مربوط به پارامترهای اسپرم‌شناختی و pH سمن ماهی کپور پرورشی تحت تاثیر هورمون‌های مختلف حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می‌باشد (داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است).

کامل کردن اعمال تولیدمثلى است بر می‌گردد (Metwally and Fouad, 2008). در چنین شرایطی به دلیل کاهش هورمون‌های استروئیدی عملکرد تولیدمثلى ماهیان مختل می‌شود، در نتیجه با کمک دستکاری‌های هورمونی می‌توان از طریق افزایش هورمون‌های جنسی همچون تستوسترون و ۱۱ کتو تستوسترون این مشکل را حل کرد (Lim *et al.*, 2004).

## بحث و نتیجه‌گیری

برای استفاده کارآمدتر روش‌های تولید مثلى، تکثیر القایی، لقاد مصنوعی، تفریخ موفق و انجام اسپرم نیاز به سمن با کیفیت خوب می‌باشد (Agarwal and Raghuvanshi, 2009) ولی رسیدگی جنسی در برخی گونه‌های ماهیان در شرایط اسارت رخ نمی‌دهد که علت آن به شرایط محیطی یا شرایط پرورشی که در آن به سبب استرس یا عدم رعایت نیازهای طبیعی آن‌ها برای

روی تولید اسپرم در ماهی اسملت ندارد (Krol *et al.*, 2009). همچنین مطالعات نشان داد که عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی حجم اسپرم‌دهی کپور معمولی (Clemens and Grant, 1965) دارد (C.carpio). هورمون GnRH از طریق تأثیر بر غده هیپوفیز باعث افزایش GTH و در نتیجه افزایش حجم اسپرم‌دهی می‌شود (Lim *et al.*, 2004). بین تراکم اسپرم در تیمارهای مختلف مولدهای ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ) و بیشترین میزان آن هم در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شد. در این مطالعه مشاهده شد که HCG نسبت به سایر هورمون‌ها تاثیر کمی روی تراکم اسپرم دارد، که با مطالعات صورت گرفته توسط Zadmajid *et al.*, 2008 همخوانی دارد. عموماً تراکم اسپرم برای ارزیابی کیفیت اسپرم استفاده می‌شود و ارتباط معنی‌داری بین تراکم اسپرم و موفقیت اسپرم وجود دارد همچنین بین تراکم اسپرم و لقاح هم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (Harald *et al.*, 2001). بیشترین میزان اسپرم‌ماتوکریت هم در تیمار اوواپریم مشاهده شد که از تیمارهای هیپوفیز و Viveiros *et al.*, 2002 مطابقت دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون هیپوفیز سبب افزایش pH مایع سمنیال ماهی کپور معمولی پرورشی شده است که با نتایج Zadmajid *et al.*, 2008 مطابقت دارد. آنچه سبب افزایش pH در مجرای اسپرم‌بر می‌شود، افزایش هورمون  $\alpha,20\beta$ - $\text{cAMP}$  در اسپرم است که در نهایت موجب افزایش cAMP در اسپرم شده و زمینه شروع حرکت اسپرم را فراهم می‌کند (Miura *et al.*, 1991). pH مهمترین مشخصه پلاسمای سمنیال می‌باشد که روی پتانسیل حرکت اسپرم در کپور ماهیان مؤثر است (Billard *et al.*, 1995).

نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون اوواپریم و عصاره هیپوفیز نسبت به هورمون HCG و گروه شاهد تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در ماهی کپور

درصد اسپرم‌های متحرک و طول دوره تحرك اسپرم از مهمترین بیومارکرهای کیفی اسپرم بهشمار می‌روند (Billard *et al.*, 1995). طبق نتایج این تحقیق بین طول دوره تحرك اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.01$ ) که بیشترین میزان آن در گروه هیپوفیز اندازه‌گیری شد که نشان می‌دهد عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی طول دوره حرکت اسپرم ماهی کپور معمولی پرورشی دارد. احتمالاً هورمون هیپوفیز نسبت به هورمون‌های اوواپریم و HCG بهتر توانسته است اسپرمیشن و قابلیت حرکتی اسپرم را در ماهی کپور معمولی تحریک نماید. در تحقیق حاضر میان درصد اسپرم‌های متحرک در تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ) و بیشترین میزان آن در گروه هیپوفیز مشاهده شد. که با Lahnsteiner *et al.*, 2008 و Zadmajid *et al.*, 1996 مطابقت دارد. در کپور ماهیان بین pH پلاسمای سمنیال و درصد اسپرم‌های متحرک همبستگی خطی و مثبتی وجود دارد (Lahnsteiner *et al.*, 1996). با توجه به نتایج این تحقیق بین حجم اسپرم‌دهی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.01$ ), بهطوری که در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم نسبت به تیمارهای HCG و شاهد حجم اسپرم‌دهی بالاتری داشتند (Zadmajid *et al.*, 2008). کاربرد هورمون HCG روی حجم اسپرم‌دهی در گونه مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) تأثیر کمی نشان داده است (Ohta and Tanaka, 1997) در این تحقیق نیز در نتیجه تزریق هورمون HCG حجم اسپرم‌دهی کپور معمولی نسبت به سایر هورمون‌های بکاربرده شده کمتر بوده است. از طرفی طی مطالعاتی که Krol *et al.*, 2009 را اسملت اروپایی انجام دادند، مشاهده کردند که هورمون اوواپریم نسبت به هورمون اووبل (mGnRHa+metaclopramide) تأثیر مثبت معنی‌داری روی حجم اسپرم‌دهی داشته است. نتایج بدست آمده در تحقیقات مختلف هم نشان داد که HCG اثر تحریکی

اینجانب را در انجام این تحقیق یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

ممولوی پرورشی دارند و بهطور موقیت آمیزی فرایند اسپرم‌سازی و اسپرم‌ریزی را در این گونه تحریک می‌کند.

## سیاستگزاری

از مسئولین و پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی و ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری که

## References

- Zadmajid, V., Imanpoor, M.R., Sudagar, M., Shabani, A., 2008. Comparison the injection effects of GnRH<sub>a</sub>, HCG and pituitary extract on Spermatological parameters in goldfish (*Carassius auratus*). *J. Agric. Sci. Natur. Resour.*, Vol. 15(1), 1- 9.
- Sattari, M., Shahsavari, D., Shafii, S., 2003. Ichthyology (2) systematics. Haghshenas press, 502 pp.
- Agarwal, N.K., Raghuvanshi, S.K., 2009. Spermatoцит and sperm density in snowtrout (*Schizothorax richardsonii*): Correlation and variation during the breeding season. *Aquaculture* 291, 61–64.
- Billard, R., 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamic of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture* 100, 263-298.
- Billard, R., Cosson, J., Perche, G., Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 124, 95-112.
- Bobe J., Labb   C., 2010. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165, 535–548.
- Clemens, H.P., Grant, F.B., 1965. The seminal thinning response in carp *Cyprinus carpio* and rainbow trout *Salmo gairdneri* after injections of pituitary extracts. *Copeia* 1965, 174–177.
- Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. *Journal of Fish Biology* 56, 1348-1367.
- Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Leily, N.R., Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masculinized coho salmon *oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture* 249, 459-468.
- Glen, V.D.K., John, P., Jans, D.M., 2003. The physiology of fishes, *Reproduction*: 465-480.
- Goudie, C.A., Simco, B.A., Davis, K.B., Parker, N.C., 1992. Reproductive performance of pigmented and albino female channel catfish induced to spawn with HCG or Ovaprim. *Journal of the World Aquaculture Society* 23, 138-145.
- Harald, B.T., Tillmann, J.B., Deborah, J.M.R., Joanne, P., 2001. The relationship between sperm density, spermatoцит, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture* 194, 191–200.
- Kr  l, J., Kowalski, R.K., Hliwa, P., Dietrich, G.J., Stabi  ski, R., Ciereszko, A., 2009. The effects of commercial preparations containing two different GnRH analogues and dopamine antagonists on spermiation and sperm characteristics in the European smelt *Osmerus eperlanus* (L.). *Aquaculture* 286, 328–331.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A., 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (*Cyprinidae*) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem* 15, 167– 179.
- Leelapatra, W., 1988. Carp culture in Thailand with particular emphasis on induced spawning. In Proceedings of the Aquaculture International Congress and Exposition, Vancouver. Pp. 331-337.

- Lim, H.K., Pankhurst, N.W., Fitzgibbon, Q.P., 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*). *Aquaculture* 240, 505–516.
- Linhart, O., Slechta, V., Slavik, T., 1991. Fish sperm composition and biochemistry. *Bull Inst Zool Acad Sin Monogr.* 16, 285–311.
- Metwally, M.A.A., Fouad, I.M., 2008. Some Biochemical Changes Associated with Injection of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) with Oviaprim and Pregnyl for Induction of Artificial Spawning. *Global Veterinaria* 2(6), 320-326.
- Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1991. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *Journal of Experimental zoology* 261, 359-363.
- Nandeesha, M.C., Rao, K.G., Jayanna, R.N., Parker, N.C., Varghese, T.J., Keshavanath, P., Shetty, H.P.C., 1990. Induced spawning of Indian major carps through single application of Ovaprim-C. In: The Second Fisheries Forum. (Eds. Hirano, R. and Hanyu, I.), Asian Fisheries Society, Manila, Phillipines. 991 pp.
- Ohta, H., Tanaka, H., 1997. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin HCG and 11-ketotestosterone after a single injection of HCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 153, 123–134.
- Rottmann, R.w., Shireman, J.V., Chapman, F.A., 1991. Determining sexual maturity of broodstock for induced spawning of fish. SRAC publication 423, 1-4.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Olllevier, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234, 1-28.
- Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., 2004. correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bamidgeh* 56, 274-280.
- Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y., 2003. Cryopreservation of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss*. *Bamidgeh* 55, 208-212.
- Turner, E., Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhance sperm movement in Arctic charr. *Journal of Fish Biology* 60, 1570-1579.
- Viveiros, A.T.M., Fesehaye, Y., ter Veld, M., Schulz, R.W., Komen, J., 2002. Hand-stripping of semen and semen quality after maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 213, 373–386.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197, 99–136.

## The injection effects of ovaprim, HCG and pituitary extract hormones on Sperm quality in cultured common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

T.Seifi<sup>1</sup>, M.R. Imanpoor<sup>2</sup>, V.Jafari<sup>3</sup> and C.Makhdomi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> M.Sc. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I.R. Iran

<sup>2</sup> Associate Prof., Gorgan University of Agricultural Sciecnies and Natural Resurces, I.R. Iran

<sup>3</sup> Assistant Prof., Gorgan University of Agricultural Sciecnies and Natural Resurces, I.R. Iran

<sup>4</sup> M.Sc. shahid Rajaii Warm Water Fishes Breeding and Cultivation Center, Sari, I.R. Iran

(Received: 10 May 2010, Accepted: 08 March 2011)

### Abstract

In this study the effects of ovaprim, HCG and pituitary extract injection on spermatological parameters was compared in cultured common carp (*C.carpio*) males. There was a significant difference about milt volume and percentage of motile spermatozoa among treatments ( $p<0.01$ ) as the highest value of milt volume observed in pituitary extract and ovaprim treatments ( $12.78\pm4.04$  and  $12.00\pm4.96$  ml, respectively) and the highest value percentage of motile spermatozoa observed in pituitary extract treatment ( $87.42\pm1.79$  %). There was a significant difference of spermatocrit among treatments ( $P<0.01$ ), and the highest value of spermatocrit observed in treatment of ovaprim ( $80.86\pm1.26$ ). There were significant difference of sperm density among treatments ( $p<0.05$ ) as the highest value of sperm density observed in treatments of ovaprim and pituitary extract ( $2.38\pm0.18$  and  $2.29\pm0.14 \times 10^9$ , respectively). There were significant difference of motility duration among treatments too ( $P<0.01$ ) and the highest of motility duration of spermatozoa observed in treatment of pituitary extract ( $74.80\pm7.69$  s). There were a highly significant difference of seminal plasma pH average among treatments ( $P<0.01$ ), as the highest value of pH observed in pituitary extract treatment ( $8.36\pm0.15$ ). The present study showed that hormonal ovaprim and pituitary extract injection at compare with HCG more effective on spermatological parameters quality in cultured common carp.

**Keywords:** Common carp; Ovaprim; HCG; Pituitary extract; Spermatological parameters

\*Corresponding author: Tel: +98 911 1787902 , Fax: +98 171 2245886 , E-mail: mrimanpoor@yahoo.com