

## مقایسه اثر محرک‌های LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> بر میزان پاسخگویی جنسی مولدین، درصد لقاح و بازماندگی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

حسین عمادی<sup>۱</sup>، همایون حسین زاده صحافی<sup>۲\*</sup>، طهمورث پوری<sup>۱</sup>، پریسا امانی نژاد<sup>۱</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۹۸۷۹۷۴۶۳۵

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۶۱-۱۴۱۵۵

تاریخ پذیرش: ۳ اسفند ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۶ آبان ۱۳۹۲

### چکیده

در این تحقیق اثر هورمون LHRH-A<sub>3</sub> بر شاخص‌های اصلی تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ بررسی و با اثر هورمون LHRH-A<sub>2</sub> مقایسه شد. بدین منظور سه دوز ۳/۷۵، ۵ و ۶/۲۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن از هورمون LHRH-A<sub>3</sub> به سه گروه تیمار از مولدین ماده، هر تیمار شامل ۵ عدد مولد ماده با وزن تقریبی ۵ کیلوگرم تزریق شد. برای مولدین نر که هر تیمار شامل ۸ عدد مولد نر با وزن تقریبی ۵ کیلوگرم بود، فقط از دوز ۲/۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن استفاده شد. لازم به ذکر است که در هر تیمار ۳ تکرار وجود داشت. همچنین تعداد دیگری از مولدین (۵ مولد ماده و ۸ مولد نر) با شرایط مشابه از نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز تکثیر و پرورش شهید ملکی اهواز (۱۰ میکروگرم LHRH-A<sub>2</sub> به ازاء هر کیلوگرم به همراه هورمون HCG با دوز ۲۰۰ IU/kg برای ماده و ۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> به همراه هورمون HCG با دوز IU/kg ۱۰۰ برای نرها) به عنوان گروه شاهد مرسوم (SH) مورد تزریق قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان دادند که کاربرد هورمون LHRH-A<sub>3</sub> می‌تواند باعث رسیدگی نهایی جنسی مولدین فیتوفاگ، تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی آنها شده و بهترین دوز آن برای القاء رسیدگی جنسی مولدین ماده ۵ μg/kg می‌باشد. این هورمون دارای اثر مشابهی با هورمون LHRH-A<sub>2</sub> بوده و در هیچ کدام از پارامترهای مورد بررسی (میزان مولدین دارای تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**کلمات کلیدی:** ماهی فیتوفاگ، LHRH-A<sub>2</sub>، LHRH-A<sub>3</sub>، رسیدگی جنسی.

\* عهده‌دار مکاتبات (✉). h\_hosseinzadeh@yahoo.com

## مقدمه

برای اینکه تولیدآزبان بتواند پاسخگوی نیازهای پروتئینی جمعیت رو به افزایش دنیا باشد، باید تکنیک‌های علمی در این بخش به خوبی مورد استفاده قرار گیرد (Yadav, 1995). در گذشته پرورش ماهی متکی به تکثیر و تولید آن در استخرهای پرورشی و یا منابع طبیعی بوده است. در حال حاضر آبی پروری مدرن از فناوری سایر علوم زیستی نیز استفاده کرده است. به طور مثال با توجه به اینکه بسیاری از ماهی‌ها در شرایط اسارت و پرورش دچار مشکلات تولید مثلی می‌شوند، نقش هورمون‌های القاء کننده جنسی توسط دانشمندان و محققین غدد داخلی مورد بررسی قرار گرفته است. القاء تخم‌ریزی ماهیان اولین بار در سال ۱۹۳۴ میلادی با استفاده از عصاره هیپوفیز ماهی انجام گرفت. با پیشرفت علوم زیستی و ساخت انواع هورمون‌های القاء کننده جنسی مصنوعی به وسیله دانشمندان استفاده از آن‌ها متداول شد. هورمون LHRH و آنالوگ‌های آن از مهمترین این هورمون‌ها می‌باشند. محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادهای مهم‌ترین محور کنترل کننده تولید مثل در ماهیان می‌باشد. عوامل محیطی مانند درجه حرارت آب، نور، جریان آب و وجود جنس مخالف با تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و در رأس آن‌ها هیپوتالاموس، نقش خود را در کنترل تولید مثل ماهیان ایفا می‌نمایند. این اطلاعات حسی در قسمت هیپوتالاموس مغز ضبط شده و زمانی که محرک به آستانه تحریک می‌رسد، هیپوتالاموس با ترشح هورمون رهاساز گنادوتروپین (GnRH) به

هیپوفیز فرمان ترشح گنادوتروپین را به داخل جریان خون می‌دهد (بهمنش، ۱۳۷۵). در مولدین ماده، تحت شرایط پرورشی، رسیدگی نهایی اووسیت (FOM) و به تبع آن جدا شدن تخمک‌ها از هم دیگر (اوولاسیون) و تخم‌ریزی دیده نمی‌شود (Zohar, 1989b). در مولدین نر نیز تحت این شرایط حجم اسپرم (مایع منی) کم شده و کیفیت کاهش می‌یابد (Billard, 1989). یکی از انواع هورمون‌هایی که برای القاء تخم‌ریزی ماهیان استفاده می‌شود هورمون LHRH است. به دلیل تأثیر و اهمیت این هورمون در سال ۱۹۷۳، LHRH به صورت مصنوعی ساخته شد. در سال ۱۹۷۵ با تغییر ششمین و دهمین اسید آمینه LHRH مصنوعی، آنالوگ‌های آن را ساختند (LHRH-A) که دارای اسیدهای آمینه اسیدپرو و گلو تامیک، هیستیدین، تریتوفان، سرین، تیروزین، دی آلانین، لوسین، آرژینین، پرولین و استیل آمین می‌باشد. این هورمون ضمن اینکه بسیار ارزانتر از LHRH تهیه می‌گردد اثرش نیز بر روی ماهیان یکصد برابر بیشتر از هورمون LHRH می‌باشد. دوز پیشنهادی هورمون‌های LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> از سوی شرکت سازنده ۵ μg/kg برای مولدین ماده و ۲/۵ μg/kg برای مولدین نر می‌باشد، به طوری که مولدین ماده ۰/۵ تا ۱ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن در مرحله اول و مابقی از مقدار کل در مرحله دوم تزریق می‌شود. فاصله بین دو تزریق ۱ تا ۱۲ ساعت و مولدین نر در یک مرحله همزمان با تزریق دوم مولدین ماده تزریق می‌شوند.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید ملکی اهواز در تابستان ۱۳۹۰ انجام پذیرفت. دوز هورمون مصرفی که توسط شرکت سازنده هورمون برای القاء اوولاسیون ماهی فیتوفاگ LHRH-A<sub>3</sub> پیشنهاد شده بود، برای هر دو هورمون LHRH-A<sub>3</sub> و LHRH-A<sub>2</sub> معادل ۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن برای مولدین ماده و برای مولدین نر ۲/۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن بود. در این تحقیق سه دوز ۳/۷۵، ۵ و ۶/۲۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن مولد ماده و برای مولدین نر فقط دوز ۲/۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن مورد تزریق عضلانی (در ناحیه جانبی باله پشتی) قرار گرفتند. در این آزمایش برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. همچنین تعداد دیگری از مولدین (۵ مولد ماده و ۸ مولد نر) با شرایط مشابه از نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز تکثیر و پرورش شهید ملکی اهواز (۱۰ میکروگرم LHRH-A<sub>2</sub> به ازاء هر کیلوگرم به همراه هورمون HCG با دوز ۲۰۰ برای ماده و ۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> به همراه هورمون HCG با دوز ۱۰۰ برای نرها) به عنوان گروه شاهد مرسوم (SH) مورد تزریق قرار گرفتند. برای انجام این طرح دوزهای مورد نظرا از هورمون LHRH-A<sub>3</sub> بر روی یک گروه ۵ تایی از مولدین ماده تزریق شد، سپس ۸ عدد مولد نر نیز پس از تزریق دوز مورد نظر هورمون LHRH-A<sub>3</sub> همراه با مولدین ماده به حوضچه تخم‌ریزی منتقل شدند. پس از انجام این

القاء تخم‌ریزی به وسیله تزریق عصاره غده هیپوفیز در اوایل دهه ۱۹۵۰ میلادی در کشور چین بر روی گونه‌های کپور سیاه، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای و کپور علفخوار انجام شد. در هندوستان القاء تخم‌ریزی به وسیله تزریق عصاره غده هیپوفیز بر روی کپور ماهیان هندی کاتلا، لابیومرگال انجام شده و تخم‌ریزی این گونه‌ها نیز مشاهده گردیده است (نفیسی بهابادی و فلاحتی مروت، ۱۳۸۷). لازم به ذکر است که تحقق این تنظیم، بستگی به هماهنگی سیستم عصبی، سیستم تعدیل مایع بدن و روابط پس خوردی (Feedback) میان آن‌ها دارد. در سال ۱۹۷۴، آزمایش‌ها، مؤثر بودن LHRH مصنوعی در القای تخم‌ریزی را ثابت کردند و در سال ۱۹۷۵ LHRH-A با تأثیر خیلی بالا تولید گردید و هزینه تولید را بسیار کاهش داد (نظری، ۱۳۷۵). کاشانی ثابت و همکاران (۱۳۸۳) نشان دادند که هورمون LHRH-A باعث تخم‌ریزی مولدین فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) می‌گردد. این تحقیق با هدف بررسی اثر هورمون LHRH-A<sub>3</sub> بر شاخص‌های اصلی تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ شامل: میزان جواب دهی مولدین ماده، میزان پاسخ‌دهی مولدین نر، میزان درصد لقاح، درصد تخم‌کشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده و تعیین بهترین دوز هورمون LHRH-A<sub>3</sub> برای القاء اوولاسیون مولدین ماده صورت پذیرفت.

مولدین ماده تزریق گردید. پس از آغاز تخم ریزی توسط مولدین، تخم‌های تجمع یافته در کلکتور، طی فواصل زمانی منظم با بشر و سطل پلاستیکی جمع‌آوری و به سالن انکوباسیون منتقل شد. در آنجا در هر انکوباتور زوج که ۱۲۰ لیتر حجم داشت، ۲/۵ لیتر تخم (آبکشیده) ریخته شد. برای تعیین درصد لقاح از روش روتر (Rutter, 1902) استفاده شد.

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخم‌ها (لقاح یافته + لقاح نیافته)}} \times 100$$

پس از تخم‌گشایی و خروج لاروها تعداد لاروهای هر انکوباتور ویس شمارش و درصد تخم‌گشایی بر مبنای درصد تخم‌های لقاح یافته برای هر انکوباتور با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد تخم‌گشایی} = \frac{\text{تعداد لاروها}}{\text{درصد لقاح} \times \text{تعداد کل تخم}} \times 100$$

درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده برای هر انکوباتور با استفاده از فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

$$\text{درصد بقاء لارو} = \frac{\text{تعداد لاروها بعد از جذب کیسه زرده}}{\text{تعداد کل لارو}} \times 100$$

به منظور تحلیل آماری نتایج به دست آمده و تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین اثر دوزهای مختلف هورمون‌های مورد آزمایش بر میزان جواب‌دهی مولدین از نرم‌افزار SPSS11.05 و آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و نیز

مرحله آزمایش دیگری با شرایط مشابه به فاصله یک روز به عنوان تکرار آزمایش انجام شد. برای تمام تیمارها هورمون LHRH-A<sub>2</sub> به عنوان گروه شاهد به مولدین تزریق گردید (نحوه آزمایش، شرایط و تکرار آن مشابه سایر تیمارها بود) و یال‌های هر یک از هورمون‌های LHRH-A<sub>3</sub> و LHRH-A<sub>2</sub> حاوی ۱۰۰ میکروگرم از هورمون به صورت پودر بود. برای حل کردن هورمون‌های مذکور از سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد استفاده شد. هورمون‌های مورد آزمایش در تمام تیمارها به اندازه‌ای با سرم فیزیولوژی به صورت محلول در آمد که حجم کل محلول تزریقی (حاوی مقدار تعیین شده هورمون مصرفی) در هر بار تزریق ۱ سی‌سی در نظر گرفته شد. پس از آماده‌سازی هورمون مورد آزمایش، مقداری از آب استخرهای حاوی مولدین ماده تخلیه و با اضافه کردن عصاره گل میخک با دوز ۱ گرم در لیتر مولدین بیهوش شدند. روش کار این مرکز بدین صورت بود که از ۰/۱ کل دوز مصرفی LHRH-A<sub>2</sub> در نوبت اول و پس از گذشت ۱۱ ساعت ۰/۹ مابقی همراه با هورمون HCG به مولدین ماده تزریق گردید. مولدین نر در یک نوبت همزمان با تزریق دوم مولدین ماده تزریق می‌شدند. برای هر مولد، ۰/۱ از کل مقدار تعیین شده تزریق و سپس مولدین به استخرهای فایبرگلاس دیگری که آب تمیز در آن بود منتقل شدند. پس از گذشت ۱۱ ساعت از تزریق نوبت اول، تمامی مولدین ماده بیهوش شده و مجدداً وزن و دوز هورمون مصرفی آن‌ها محاسبه و تعیین شد. در این مرحله ۰/۹ از کل هورمون مصرفی به

مورد آزمایش) بر میزان پاسخ‌دهی مولدین ماده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱) ( $P > 0.05$ ).

گروه‌های تیمار و شاهد یک که به ترتیب دوز LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> ۳/۷۵  $\mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون را دریافت کرده بودند دارای کمترین بازده از نظر تعداد مولدینی که تخم‌ریزی کرده بودند، نسبت به سایر گروه‌های تیمار و شاهد بودند و این اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

جهت مقایسه میانگین از آزمون دانکن استفاده شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد (Zar, 1984).

### نتایج

نتایج حاصل از تزریق هورمون‌های LHRH- A<sub>2</sub>-A<sub>3</sub> در گروه‌های مختلف آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس نتایج مشخص شد که میان اثر هورمون LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> (در شرایط یکسان

جدول ۱: نتایج حاصل از تزریق دوزهای مختلف هورمون‌های LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> در مولدین ماده فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

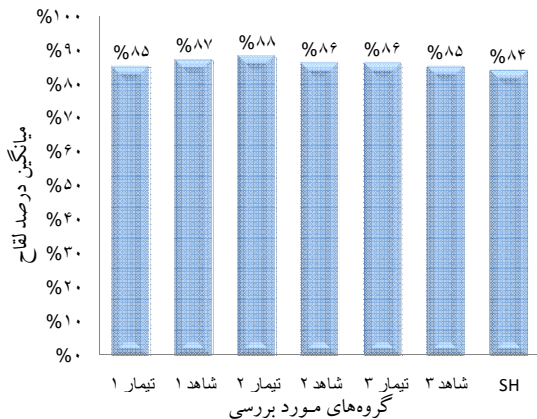
میانگین درصد بقا، لارو تا زمان جذب کیسه زرده	میانگین درصد تخم گشایی	میانگین درصد لقاح	میزان پاسخ دهی جنسی ماده‌ها (از ۱۰ عدد)	گروه‌های آزمایشی	دوز مصرفی میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن	تزریق هورمون
۸۰ <sup>a</sup>	۸۰ <sup>a</sup>	۸۰ <sup>a</sup>	۲	SH	۱۰۰+۲۰۰	HCG+LHRH-A <sub>2</sub>
۸۲ <sup>b</sup>	۷۷ <sup>b</sup>	۸۵ <sup>a</sup>	۲	تیمار ۱	۳/۷۵	LHRH-A <sub>3</sub>
۸۰ <sup>a</sup>	۷۶ <sup>b</sup>	۸۷ <sup>b</sup>	۳	شاهد ۱	۳/۷۵	LHRH-A <sub>2</sub>
۸۳ <sup>b</sup>	۷۹ <sup>b</sup>	۸۸ <sup>b</sup>	۸	تیمار ۲	۵	LHRH-A <sub>3</sub>
۸۶ <sup>c</sup>	۸۱ <sup>a</sup>	۸۶ <sup>b</sup>	۹	شاهد ۲	۵	LHRH-A <sub>2</sub>
۸۵ <sup>c</sup>	۷۸ <sup>b</sup>	۸۶ <sup>b</sup>	۸	تیمار ۳	۶/۲۵	LHRH-A <sub>3</sub>
۸۵ <sup>c</sup>	۷۶ <sup>b</sup>	۸۵ <sup>a</sup>	۷	شاهد ۳	۶/۲۵	LHRH-A <sub>2</sub>

عدم وجود حروف غیر همسان بر روی داده‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌هاست ( $P > 0.05$ )

مقایسه بین نتایج گروه‌های تیمار و شاهد دوم و سوم که به ترتیب دوزهای ۵  $\mu\text{g}/\text{kg}$  و ۶/۲۵  $\mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون‌های مورد آزمایش را دریافت کرده بودند با نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملک‌آهواز نشان داد که از این نظر اختلاف

میان گروه‌های تیمار و شاهد دوم و سوم که به ترتیب دوزهای ۵  $\mu\text{g}/\text{kg}$  و ۶/۲۵  $\mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون‌های مورد آزمایش را دریافت کرده بودند تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد مولدین دارای تخم‌ریزی وجود نداشت ( $P > 0.05$ ).

صورت تخم‌ریزی مولدین) اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ).

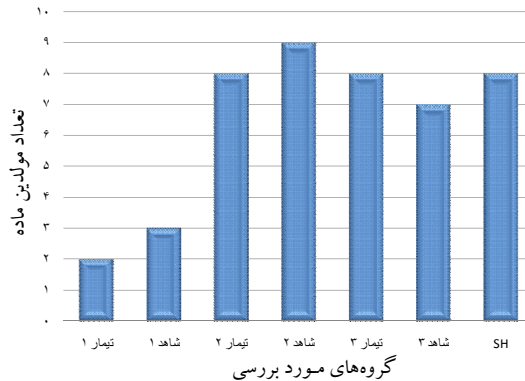


شکل ۲: نتایج درصد لقاح گروه‌های مورد بررسی

نتایج حاصل از درصد تخم‌گشایی گروه‌های تیمار و شاهد و همچنین نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی اهواز در شکل ۳ نشان داده شده است (نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با نام SH نشان داده شده است).

بر اساس این نتایج مشخص گردید که گروه شاهد دوم که هورمون  $LHRH-A_2$  را با دوز ۵ دریافت کرده بود دارای بیشترین مقدار درصد تخم‌گشایی با ۸۱ درصد و کمترین مقدار آن متعلق به گروه شاهد ۱ و شاهد ۳ که هورمون  $LHRH-A_2$  را به ترتیب با دوزهای ۳/۷۵ و ۶/۲۵ دریافت کرده بودند با میزان ۷۶٪ بود اما اختلاف معنی داری میان نتایج این گروه‌ها وجود نداشت. همچنین نتایج نشان دادند که اثر هورمون  $LHRH-A_3$  و  $LHRH-A_2$  در شرایط یکسان مورد آزمایش بر میزان درصد تخم‌گشایی فاقد اختلاف معنی داری بود ( $P > 0/05$ ) و میان میزان درصد تخم‌گشایی گروه‌های مختلف

معنی داری میان نتایج حاصل از گروه‌های نامبرده وجود نداشت ( $P > 0/05$ ).



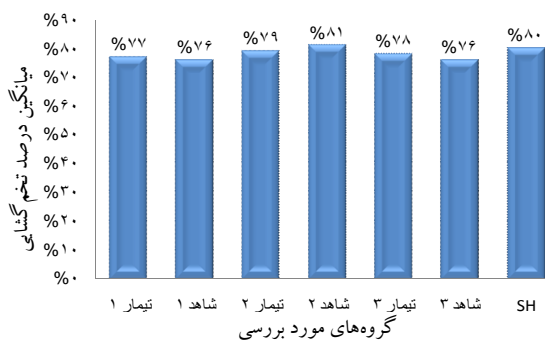
شکل ۱: نتایج میزان جواب دهی مولدین ماده به عدد (از ۱۰ عدد)

نتایج حاصل از درصد لقاح گروه‌های تیمار و شاهد و همچنین نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی اهواز در شکل ۲ نشان داده شده است (نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با نام داده شده است). بر اساس این نتایج مشخص گردید که گروه تیمار دوم که هورمون  $LHRH-A_3$  را با دوز ۵ دریافت کرده بود دارای بیشترین مقدار درصد لقاح با ۸۸ درصد و کمترین مقدار آن متعلق به نمونه نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با ۸۴ درصد بود اما اختلاف معنی داری میان نتایج این دو گروه وجود نداشت. همچنین نتایج نشان دادند که اثر هورمون  $LHRH-A_3$  و  $LHRH-A_2$  در شرایط یکسان مورد آزمایش بر میزان درصد لقاح فاقد اختلاف معنی داری بود ( $P > 0/05$ ) و میان درصد لقاح گروه‌های مختلف مورد بررسی با هورمون‌ها و دوزهای متفاوت مورد آزمایش (در

اثر مشابهی بر شاخص‌های اصلی تکثیر ماهی فیتوفاگک می‌باشند و همچنین بر این اساس می‌توان گفت که مواردی که در این تحقیق پیرامون هورمون LHRH-A<sub>3</sub> بحث می‌شود برای هورمون LHRH-A<sub>2</sub> نیز صدق می‌کند. بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که استفاده از دوز ۳/۷۵ µg/kg هورمون LHRH-A<sub>3</sub> باعث کاهش تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند گردید (این تفاوت با نتایج سایر گروه‌های مورد آزمایش معنی دار بود) (P<۰/۰۵) که می‌توان آن را به نامناسب بودن مقدار تزریقی این هورمون برای القاء تخم‌ریزی مولدین ماده فیتوفاگک نسبت داد زیرا بر اساس یک بررسی انجام شده بر روی مولدین کپوراستفاده از مقدار پایین آنالوگ هورمون GnRH باعث عدم تخم‌ریزی مولدین گردید (Drori et al., 1994).

نظری در سال ۱۳۷۵ بیان نمود در صورت تزریق توأم هورمون HCG، استفاده از میزان کمتر هورمون LHRH-A (۱۰ µg/kg) نسبت به میزان تزریق آن به تنهایی پیشنهاد داده است که این میزان بازم از میزان پیشنهادی کاشانی ثابت و همکاران (۱۳۸۳) بیشتر می‌باشد هر چند که نظری (۱۳۷۵) استفاده از این مقدار را بدون استفاده متوکلوپرامید یا سایر آنتی دوپامین‌ها پیشنهاد کرده است. از طرف دیگر محققین قدرت بالاتر هورمون LHRH-A<sub>2</sub> را نسبت به هورمون LHRH-A گزارش کرده‌اند. در این تحقیق نیز همان‌طور که بیان شد بهترین میزان هورمون LHRH-A<sub>3</sub> برای القای اوولاسیون مولدین ماده فیتوفاگک ۵ µg/kg تعیین شد که دوز مناسب گزارش شده از سوی کاشانی ثابت و همکاران

مورد بررسی با هورمون‌ها و دوزهای متفاوت مورد آزمایش (در صورت تخم‌ریزی مولدین) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).



شکل ۳: نتایج درصد تخم‌گشایی گروه‌های مورد بررسی

## بحث

برای ارزیابی اثر این هورمون (LHRH-A<sub>3</sub>)، تعداد مولدینی که تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی کردند، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل نتایج این تحقیق بیانگر آن است که هورمون LHRH-A<sub>3</sub> می‌تواند باعث القاء اوولاسیون مولدین ماده و همچنین باعث رسیدگی نهایی جنسی و اسپرم‌ریزی مولدین نر ماهی فیتوفاگک شود. همچنین اثر این هورمون بر سایر پارامترهای مورد بررسی مطلوب بود و نتیجه غیر مطلوب در هیچ کدام از پارامترهای مورد بررسی مشاهده نشد. تحلیل‌های آماری نتایج نشان دادند که میان اثر هورمون LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> در شرایط یکسان مورد آزمایش بر پارامترهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. لذا می‌توان بیان کرد که هورمون LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> دارای



ندارد و نیز دارای قیمت بسیار پایین تری نسبت به هورمون هیپوفیز می باشد. با توجه به تحلیل های آماری نتایج این تحقیق که پیشتر درباره آن بحث شد و همچنین با توجه به دوز پیشنهاد شده هورمون LHRH-A ( $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  به همراه  $200 \text{ IU}/\text{kg}$  هورمون HCG) (نظری، ۱۳۷۵) برای تکثیر ماهی فیتوفاگ، به نظر می رسد که مراکز تکثیری همچون مرکز شهید ملکی اهواز که از دوزهای بالاتر از  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون LHRH-A<sub>2</sub> و تزریق توأم هورمون HCG برای تکثیر ماهی فیتوفاگ استفاده می کنند، هورمون LHRH-A<sub>2</sub> را به اشتباه بر اساس الگوی پیشنهادی هورمون LHRH-A به کار می برند. پیشنهاد می شود که برای تکثیر ماهیان فیتوفاگ به جای هورمون های هیپوفیز، LHRH-A و HCG از هورمون های LHRH-A<sub>3</sub> یا LHRH-A<sub>2</sub> استفاده گردد. همچنین نتایج این تحقیق با مطالعات Breton و همکاران (۱۹۹۰) که در قزل آلا گزارش نمود: کاربرد هورمون LHRH-A<sub>2</sub> تأثیر منفی بر روی درصد لقاح، درصد تخم گشایی و بازماندگی لاروها نداشت و مشابه گروه شاهد بود و نیز با نتایج مطالعات نظری و کرد کلایی (۱۳۸۷) که هورمون LHRH-A<sub>2</sub> را به منظور القاء رسیدگی جنسی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با موفقیت آزمایش کردند و اثر مخرب بر درصد لقاح، درصد تخم گشایی و بازماندگی لاروها مشاهده نکردند مطابقت دارد. همچنین نظری و همکاران (۱۳۸۷) که در تحقیق مذکور چهار دوز ۳/۵، ۷، ۸ و ۱۰ میکروگرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> را به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن برای القاء رسیدگی جنسی

(۱۳۸۳) برای هورمون LHRH-A  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  از دوز مناسب پیشنهاد شده برای هورمون های LHRH-A<sub>2</sub> و LHRH-A<sub>3</sub> از سوی شرکت سازنده هورمون و نتایج حاصل از این تحقیق کمتر می باشد. البته اثر مهارکننده دوپامین بر آزادسازی GnRH روی ماهیانی مانند ماهی طلایی (Peter et al., 1987)، ماهی کپور (Fermin, 1991) و ماهیان دیگر تأیید شده است و از سوی دیگر اثر مطلوب استفاده از آنتی دوپامین ها همراه با هورمون های GnRH-A بر روی مولدینی مانند کلمه (Glubokov et al., 1991) و ماهی سرگنده (Fermin, 1991) گزارش شده است. اما اینکه تزریق توأم  $15 \text{ mg}/\text{kg}$  آنتی دوپامین متوکلوپرامید تا این حد بتواند باعث افزایش کارایی هورمون LHRH-A شود جای تردید دارد. همچنین بر اساس مواردی که پیش تر پیرامون اثر مهارکننده دوپامین بر آزادسازی GnRH و اثر مطلوب استفاده از آنتی دوپامین ها بحث شد و نیز بر اساس پیشنهاد شرکت سازنده هورمون LHRH-A<sub>3</sub> در سال ۲۰۱۱ میلادی مبنی بر تزریق توأم آنتی دوپامین دامپریدون شاید بتوان گفت که در صورت تزریق توأم دامپریدون با هورمون LHRH-A<sub>3</sub> با دوزهای کمتر از  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  نیز بشود به نتایج مطلوب دست یافت (در این تحقیق از آنتی دوپامین استفاده نشد).

از مزیت های دیگر هورمون LHRH-A<sub>3</sub> می توان به این نکته اشاره کرد که این هورمون همانند سایر آنالوگ های هورمون LHRH قابل سنتز و استحصال به شکل خالص است (بر خلاف هورمون هیپوفیز) و احتمال انتقال بیماری ها وجود



بسیار بیشتری نسبت به LHRH-A و GnRH برخوردار است که این نتیجه با بیان شرکت سازنده هورمون نیز مطابقت دارد. همچنین نظری (۱۳۷۵) در صورت استفاده هورمون LHRH-A با دوز کمتر ( $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) تزریق هورمون HCG با دوز  $200 \text{ IU}/\text{kg}$  را نیز توصیه کرده است ولی نتایج این تحقیق نشان داد که در صورت استفاده از دوز  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون LHRH-A<sub>3</sub> نیازی به استفاده توأم هورمون HCG نیست. بر این اساس شاید بتوان استنباط نمود که در صورت استفاده از دوز  $3/75 \mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون LHRH-A<sub>3</sub> با تزریق توأم مقدار مناسبی از هورمون HCG بتوان به نتیجه مطلوب رسید (بر اساس نتایج استفاده از دوز  $3/75 \mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون LHRH-A<sub>3</sub> باعث کاهش تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند نسبت به دوزهای بالاتر مورد آزمایش شد). همچنین با توجه به حلالیت بسیار بالای هورمون LHRH-A<sub>3</sub> نسبت به هورمون‌هایی مانند هیپوفیز لذا از نظر حجمی مقدار کمتری از محلول این هورمون (هورمون مورد نیاز حل شده در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر) را نسبت به سایر هورمون‌های ذکر شده برای تکثیر مولدین فیتوفاگ می‌توان به کار برد که از این نظر حائز اهمیت است. از مزیت‌های دیگر هورمون LHRH-A<sub>3</sub> می‌توان به این نکته اشاره کرد که این هورمون همانند سایر آنالوگ‌های هورمون LHRH قابل سنتز و استحصال به شکل خالص است (بر خلاف هورمون هیپوفیز) و احتمال انتقال بیماری‌ها وجود ندارد و نیز دارای قیمت بسیار پایین‌تری نسبت به هورمون هیپوفیز می‌باشد. در کل با توجه به

مولدین ماده ماهی قره برون آزمایش کرده بودند بیان کردند که اختلاف معنی‌داری میان نتایج درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده تیمارهای مختلف وجود نداشت که از این نظر نیز با نتایج این تحقیق که در صورت تخم‌ریزی مولدین با استفاده از دوزهای مختلف (میزان‌های مورد آزمایش) اختلاف معنی‌داری میان پارامترهای یادشده وجود نداشت مطابقت دارد. تنها تفاوتی که میان نتایج تحقیق نظری و همکاران (۱۳۸۷) با تحقیق انجام شده وجود دارد این است که آن‌ها گزارش کردند در تیمارهای مختلف (دوزهای  $3/5$ ،  $7$ ،  $8$  و  $10$  میکروگرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن مولد ماده بر روی گروه‌های تیمار آزمایش شد) تفاوت معنی‌داری میان تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند وجود نداشت که برخلاف آن نتایج این تحقیق نشان داد که در صورت استفاده از دوز  $3/75 \mu\text{g}/\text{kg}$  هورمون LHRH-A<sub>3</sub> تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند کاهش یافت و این اختلاف با نتایج سایر تیمارها معنی‌دار بود. از لحاظ میزان مناسب هورمون‌های مختلف برای القاء تخم‌ریزی نظری (۱۳۷۵) دوز مناسب هورمون LHRH-A را برای مولدین ماده فیتوفاگ  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  تا  $20 \mu\text{g}/\text{kg}$  و برای هورمون GnRH  $15 \text{ mg}/\text{kg}$  (همراه با تزریق MET با دوز  $15 \text{ mg}/\text{kg}$ ) بیان نمود در حالی که همان‌طوری که بیان شد نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین دوز هورمون LHRH-A<sub>3</sub>  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  می‌باشد لذا می‌توان بیان کرد که هورمون LHRH-A<sub>3</sub> از قدرت

- آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج، تهران، ۹۴ صفحه.
۴. نظری، ر.، کردکلایی، م.، ۱۳۸۷. بررسی کاربرد هورمون LHRH-A2 در تکثیر مصنوعی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات، ۲(۴).
۵. نفیسی بهابادی، م.، فلاحتی مروست، م.، ۱۳۸۷. اصول تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ۴۰۰ صفحه.
6. Billard, R., 1989. Endocrinology and fish culture. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7, 49-58.
7. Breton, B., Weid, C., Sambroin, E., Zohar, Y., 1990. Effect of acute versus sustained administration of GnRH $\alpha$  on GTH reduce and ovulation in the rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Science Direct @published by Elsevier B.V., 91(3-4), 373-383.
8. Drori, S., Ofir, M., Sivan, B.L., Yaron, Z., 1994. Spawning induction in Common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH super active analogue with methoclopramide: analysis of hormone profile, Progress of oocyte maturation and dependence on temperature *Aquaculture*, 119, 393-407.
9. Fermin, C.A., 1991. LHRH-A and domperidon-induced oocyte maturation and ovulation in Bighead carp, *Aristichthys nobilis*. *Aquaculture*, 93, 87-94.
10. Glubokov, A. I., Motloch, N. N., Sedova, M. A., 1991. Effect of synthetic LHRH analogudopamine antagonists on the maturation of Bream, *Abramis brama*. *Aquaculture*, 95, 373-377.
11. Peter, R. E., Nahorniak, C. S., Sokolowsha, M., Change, J.P., Rivier, J. E., Vale, R. E., Sokolowska, M., Nahornika, C.S., Rivier, J. E. & Vale, W. W., 1987. Comparison of [D- Arg<sup>6</sup> Trp<sup>7</sup> Leu<sup>8</sup> Pro<sup>9</sup>] Net sGnRH, and [D-Ala<sup>6</sup> Pro<sup>9</sup> NET] LHRH-A, in combination with pimozide in stimulation gonadotropin release and ovulation in the gold fish, *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.*, 65, 987-991.
12. Rutter, C., 1902. Natural history of the quinnat salmon. *U.S. Fish Comm., Bull.*, 22, 65- 141.

نتایج و مطالب ذکر شده می‌توان بیان نمود که هورمون LHRH-A<sub>3</sub> همانند هورمون LHRH-A<sub>2</sub> بر روی فرآیند فیزیولوژیک تولید مثل ماهی فیتوفاگ به صورت طبیعی عمل کرده و باعث ناهنجاری در سیستم تولیدمثلی و مراحل مختلف تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ نمی‌شود. همچنین با توجه به مطالب ذکر شده می‌توان بیان کرد که هورمون LHRH-A<sub>3</sub> همانند هورمون LHRH-A<sub>2</sub> از بهترین جایگزین‌ها نسبت به هورمون‌هایی همچون HCG، CPE و LHRH-A برای تکثیر ماهی فیتوفاگ می‌باشد.

### سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

### منابع

۱. بهمنش، ش.، ۱۳۷۵. بررسی امکان استفاده توأم از هیپوفیز تاسماهیان و کپورماهیان و هورمون LHRH $\alpha$  در اووزون برون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۳۵ صفحه.
۲. کاشانی ثابت، ع.، عریان، ش.، بهمنی، م.، ۱۳۸۲. القای اوولاسیون در مولدین فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از هورمون LHRH-A و ترکیب آن با آنتاگونیست-های دوپامین. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳(۳).
۳. نظری، ر.، ۱۳۷۵. زیست‌شناسی و تکثیر ماهی کپور نقره‌ای. نشر معاونت تکثیر و پرورش

- farming: aspects in reproduction growth, and smoltificat Fish Physiology and Biochemistry, 7, 395-405.
17. Zohar, Y., 1989b. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. In Shilo, J.; Sarig, S., ea., Fish culture in warm water systems: problems and trends CRC Press, Boca Raton, FL, 65-119.
  13. Yadav, B.N., 1995. Fish endocrinology, published by Daya publishing House, 170 P.
  14. Zar, J.H., 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 718 P.
  15. Applied Aspects in Endocrinology and Genetics. INRA Press, paris, 47-62.
  16. Zohar, Y., 1989a. Endocrinology and fish