



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره چهارم، شماره سوم، پاییز ۹۵

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی اثر هورمون‌های اوپریم (SGnRHa + دامپریدون)، اوافکت (آنتاگونیست دوپامین + GnRH) و عصاره هیپوفیز بر بازده تکثیر مصنوعی ماهی سفید  
*Rutilus kutum* (Kamensky, 1901)

محمد سوداگر<sup>\*</sup>، سولماز صدق‌پور ثابت<sup>۲</sup>، حمیده ذکریائی<sup>۲</sup>، شهرام دادگر<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup>دانش‌آموخته کارشناس ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۳</sup>استادیار مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۷/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۴

چکیده

جهت بررسی اثرات هورمون‌های اوپریم (SGnRHa + دامپریدون)، اوافکت (آنتاگونیست دوپامین + GnRH) و عصاره هیپوفیز بر تکثیر مصنوعی، تعداد ۵۰ قطعه مولد ماده ماهی سفید (*R. kutum*) در فصل مهاجرت تولید مثلی از رودخانه سفید رود صید گردیده و جهت انجام مراحل آزمایش به مرکز تکثیر شهید انصاری (رشت، ایران) منتقل شد. ماهیان به ۶ گروه شاهد (تزریق سرم فیزیولوژیک)، تزریق اوپریم (با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم)، تزریق اوافکت (با دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و تزریق عصاره هیپوفیز کپور (به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشینه و کمینه درصد لقاح به ترتیب در ماهیان مولد سفید تحت تزریق اوپریم (۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و عصاره هیپوفیز مشاهده شد. حداکثر درصد پاسخ مولدین در تیمار اوافکت (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و اوپریم (۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و حداقل آن در مولدین تیمارهای هیپوفیز و اوپریم (۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم) استحصال شد. حداکثر و حداقل زمان رسیدگی در ماهیان مولد سفید به ترتیب، در تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم ( $45 \pm 2$  ساعت پس از تزریق هورمون) و تیمار اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم ( $40/25 \pm 2$  ساعت پس از تزریق هورمون) مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین درجه ساعت رسیدگی نیز به ترتیب در ماهیان تحت تزریق اوپریم (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و اوافکت (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) ثبت

\*نویسنده مسئول: [sodagar@gua.ac.ir](mailto:sodagar@gua.ac.ir)

گردید. افزون بر این، حداکثر و حداقل درصد تخمه‌گشایی به ترتیب در ماهیان تحت تزریق اوپریم (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و عصاره هیپوفیز گزارش گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین درجه روز تخم‌گشایی به ترتیب در ماهیان تحت تزریق اوپریم (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) اوافکت (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) مشاهده گردید. به دلیل تأثیر بیشتر هورمون اوپریم بر میزان اوولاسیون ماهی سفید، قابلیت دسترسی بیشتر و ارزان‌تر بودن این هورمون نسبت به اوافکت و هیپوفیز، استفاده از هورمون اوپریم در مطالعات آبی‌پروری پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *R. kutum*، اوافکت، اوپریم، عصاره هیپوفیز، تکثیر مصنوعی.

#### مقدمه

ماهی سفید دریای خزر (*R. kutum*) یکی از ماهیان با ارزش و منحصر به فرد در دنیاست که به دلیل طعم خوب و کیفیت مناسب گوشت، مصرف‌کنندگان بسیاری را به خود اختصاص داده است. این ماهی بیش از ۶۰ درصد ترکیب صید ماهیان استخوانی صیادان را در سواحل ایرانی به خود اختصاص داده است. ماهی سفید از ماهیان مهاجر حقیقی و رودکوچ می‌باشد که بخش عمده زندگی خود را در آب شور دریا گذرانده و فصل تخم‌ریزی و تولیدمثل به آب شیرین رودخانه مهاجرت می‌کند (Niku, 2003). با کاهش شدید ذخایر این ماهی در سال‌های ۶۰-۶۱ لزوم تکثیر مصنوعی ماهی سفید بیش از پیش احساس گردیده و کارشناسان مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان اقدام به تعیین بیوتکنیک تکثیر نیمه‌مصنوعی ماهی سفید و رهاسازی بچه‌ماهیان به دست آمده به رودخانه‌های منتهی به دریای خزر نمودند و تکثیر مصنوعی ماهی سفید در برنامه سالانه بازسازی ذخایر سازمان شیلات ایران قرار گرفت.

مهم‌ترین گام جهت تکثیر ماهی و مطلوب کردن مدیریت و فن‌آوری پرورش مولدین، همزمان سازی استحصال سلول‌های جنسی از جنس نر و ماده می‌باشد. این عمل باعث کاهش هزینه، ساده کردن جمع‌آوری سلول‌های جنسی و انکوباسیون تخم‌ها می‌گردد. دستکاری‌های هورمونی در آبی‌پروری تجاری حتی در مورد گونه‌هایی که به صورت خود به خودی (Spontaneously) مرحله اوولاسیون و اسپرمیشن را طی می‌کنند نیز اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. به نحوی که در بسیاری از کارگاه‌های تکثیر کپورماهیان و آزادماهیان جهت بهینه‌سازی و هم‌زمانی تولید تخم و لارو، کاهش دستکاری و استرس وارده به ماهیان و هم‌چنین کاهش هزینه‌های اوولاسیون و اسپرمیشن القاء هورمونی صورت می‌گیرد (Zohar, 1989). اکثر مولدین ماهی سفید در هنگام ورود به رودخانه با وجود وزن بالا دارای تخمک‌های اووله نبوده و نمی‌توان از این ماهیان جهت انجام تکثیر مصنوعی تخم‌کشی نمود. از این‌رو در اغلب موارد به‌راحتی از چرخه تکثیر کنار گذاشته می‌شوند. با توجه به این‌که ماهیان

مولد بزرگ‌تر سبب تولید تخم و لاروهای بزرگ‌تری خواهند شد با خارج ساختن این ماهیان از گردونه تکثیر بسیاری از ذخایر ارزشمند ژنتیکی نهفته در تخمک این ماهیان از بین می‌رود (Niku, 2003). از سوی دیگر با توجه به کاهش چشم‌گیر ذخایر این ماهی تنها استفاده از ماهیان کاملاً رسیده در مصب رودخانه‌ها پاسخ‌گوی تأمین نیاز بچه‌ماهی جهت رهاسازی و امر بازسازی ذخایر نیست. لذا به منظور استفاده بهینه از ذخایر ژنتیکی و تولید انبوه بچه‌ماهی جهت رهاسازی به دریا، سازمان شیلات ایران اقدام به استفاده از هورمون‌های سنتتیک جهت جلواندازی رسیدگی جنسی در ماهیان مولد سفید در مراکز تکثیر نموده است. از جمله این هورمون‌ها می‌توان به اوپریم و اوافکت اشاره نمود.

اوپریم یک محصول پپتیدی و مایع ساخت کشور کانادا بوده که عمل‌کرد بسیار مناسبی در القای رسیدگی جنسی ماهیان استخوانی دارد. این هورمون حاوی آنالوگ GnRH ماهی سالمون (SGnRHa) و مهارکننده نوروترانسمیتر مغزی دوپامین (دامپریدون) می‌باشد. این هورمون موجب موفقیت تخم‌ریزی و افزایش تعداد تخم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی ماده و افزایش حجم تولید میلت در جنس نر و دوره طولانی‌تر اسپرم‌دهی، افزایش نرخ لقاح و درصد تخم‌گشایی می‌شود. از دیگر مزایای استفاده از این هورمون می‌توان به کوتاه‌کردن فصل تکثیر، هم‌زمان کردن زمان‌های تخم‌ریزی، افزایش تولیدات جنسی در ماهیان نر و دستیابی به نتایج مطمئن اشاره نمود (Zohar, 1989).

هورمون اوافکت هورمونی سنتتیک ساخت شرکت دارو سازی ثامن، کشور ایران می‌باشد. این دارو محلول پپتیدی تزریقی حاوی GnRH به همراه آنتاگونیست دوپامین می‌باشد. این هورمون بر ترشح هورمون‌های جنسی ماهی تأثیر گذاشته و علاوه بر اینکه باعث آمادگی تخمک‌گذاری و بلوغ گشته، موجب هماهنگ‌سازی زمان‌های تخم‌ریزی در ماهیان ماده و افزایش میزان اسپرم در ماهیان نر می‌گردد.

در طول سه دهه گذشته القای تخم‌ریزی مصنوعی در ماهیان مورد آزمایش قرار گرفته است. افزایش مداوم قیمت عصاره هیپوفیز و پروسه دست و پاگیر آن، متخصصان را وادار به انجام آزمایش‌هایی جهت پیدا کردن هورمون‌های جایگزین مانند گنادوتروپین کوریونیک انسان (HCG)، آنالوگ هورمون آزادکننده Luteinizing (Haniffa et al., 2005) و اوپریم (Haniffa and Saridhar, 2002) نموده است.

در تحقیقی که توسط چپاه و لی (Cheah and lee, 2000) انجام گردید، تأثیر هورمون اوپریم بر رسیدگی جنسی گربه ماهی استرالیایی (*Neosilurus ater*) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل حاکی از تأثیر مثبت اوپریم بر القاء رسیدگی جنسی این گونه بود. هنیفا و همکاران (Haniffa et al., 2005) تأثیر هورمون‌های غیر سنتتیک (عصاره هیپوفیز و گنادوتروپین کوریونیک انسان) و هورمون‌های سنتتیک (آنالوگ هورمون ترشح‌کننده هورمون Luteinizing و اوپریم) را بر القای

تخم‌ریزی مورل خالدار *Channa striatus* مورد بررسی و مقایسه قرار دادند و نتیجه گرفتند که مدت زمان پاسخ‌گویی به هورمون در ماهی‌های تزریق شده با اوپریم به‌طور معناداری با LHRHap متفاوت بود و با توجه به درصد لقاح و دوره انکوباسیون، اوپریم تفاوت معنی‌داری با سایر هورمون‌ها و بیش‌ترین تأثیر را از خود نشان داد. سریدهار و همکاران (Saridhar *et al.*, 1998) با استفاده از هورمون اوپریم برای اولین بار موفق به تولید یک جمعیت ۵۴۸ نفری از گونه در معرض انقراض *Ompok bimaculatus* در اسارت شدند. آن‌ها نشان دادند که تزریق یک مرحله‌ای عضلانی اوپریم با دوز تزریقی برحسب وزن بدن  $0.5 \text{ ml/kg}$  موجب القای تخم‌ریزی ماهی طی ۶-۵ ساعت بعد از تزریق شده و به‌طور متوسط  $40.12 \pm 1.0$  تخمک از هر ماهی ماده به‌دست آمد. هم‌چنین تفریح تخم‌ها ۲۴ ساعت بعد از تخم‌ریزی اتفاق افتاد.

پژوهش حاضر با هدف تعیین بهترین هورمون با دوز مناسب جهت افزایش راندمان تکثیر و افزایش ذخایر ماهی سفید با توجه به اهمیت تکثیر این گونه صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

**تهیه مولد:** تعداد ۷۰ قطعه مولد ماده ماهی سفید در فصل مهاجرت تولید مثلی از رودخانه سفیدرود صید گردیده و جهت انجام مراحل آزمایش به مرکز تکثیر شهید انصاری رشت منتقل شد.

**تزریق هورمون:** ماهیان به ۷ گروه شاهد (تزریق سرم فیزیولوژیک)، تزریق اوپریم با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم، تزریق اوافکت با دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم و تزریق عصاره هیپوفیز کیور به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید (Zohar *et al.*, 1995). از هر تیمار در ۱۰ عدد ماهی ماده عمل تزریق صورت گرفت و با توجه به اسپرم‌دهی مناسب در مولدین نر ماهی سفید، تزریق هورمون صورت نگرفت. تزریق در عضله و زیر باله پشتی هنگامی که دمای آب به ۱۲ درجه سانتی‌گراد رسید، انجام گرفت. لازم به‌ذکر است دمای آب در طول دوره تکثیر و تفریح تخم‌ها ثبت و کلیه ماهی‌ها پلاک‌گذاری شدند.

**تخم‌کشی:** پس از گذشت حدود ۴۰-۵۰ ساعت از زمان تزریق اوپریم و عصاره هیپوفیز، بعد از خشک کردن منفذ تناسلی ماهیان مولد ماده، با فشار ملایم به ناحیه شکمی تخم‌گیری انجام گردید. هم‌چنین ماهیان نر نیز با فشار آرام ناحیه شکمی اسپرم‌گیری شدند. پس از انجام لقاح به روش استاندارد جهت تعیین هم‌آوری نسبت به نمونه‌گیری اقدام و هم‌آوری مطلق و نسبی محاسبه گردید. سپس تخم‌های لقاح یافته در انکوباتور ریخته شده تا عمل تخم‌گشایی صورت گیرد.

**تعیین درصد لقاح:** جهت باروری تخم‌ها از روش لقاح خشک استفاده شد. بدین ترتیب که اسپرم‌ها مستقیماً از ماهی نر استحصال و روی تخمک‌های حاصل از مولدین به‌طور جداگانه ریخته و جهت فعال

نمودن بیشتر اسپرم و نتیجتاً لقاح موفق مقداری آب به ظرف لقاح اضافه گردید. هم‌چنین جهت جلوگیری از چسبندگی تخم‌ها عملیات شستشو بعد از لقاح انجام گرفت. به این ترتیب که تخم‌های لقاح یافته با اضافه کردن آب در چند مرحله شستشو شده و با اضافه کردن آب و تخلیه آن ضمن رفع چسبندگی تخم‌ها، اسپرم‌های مرده نیز خارج گردیدند. سپس به میزان دو برابر حجم تخم‌ها آب به ظروف لقاح اضافه و عمل جذب آب توسط تخم‌ها در مدت ۲ ساعت انجام پذیرفت.

**تعیین درصد تفریخ تخم‌ها:** تخم‌های مورد آزمایش در این تحقیق تا زمان تفریخ و خروج لاروهای دارای کیسه زرده داخل ترف نگه‌داری شدند و بعد از زمان تخم‌گشایی با توجه به تعداد تخم‌های خوابانده شده و میزان تلفات تخم‌ها درصد تفریخ با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید ( Forsat kar *et al.*, 2013):

$$100 \times (\text{تعداد کل تخم‌های لقاح یافته} / \text{تعداد تخم تفریخ شده}) = \text{درصد تفریخ}$$

### نتایج

**طول و وزن ماهیان مولد:** حداکثر وزن ماهیان مولد سفید مورد مطالعه  $986 \pm 21$  گرم و حداقل آن  $801.5 \pm 24.2$  گرم بوده است. براساس تست آماری اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد آزمایش در سطح ۵٪ مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). حداکثر طول کل ماهیان مولد سفید  $46 \pm 2/0.9$  سانتی‌متر و حداقل آن  $41/4 \pm 2/13$  سانتی‌متر بوده است که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد آزمایش در سطح ۵٪ مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). حداکثر طول استاندارد ماهیان مولد سفید مورد مطالعه در  $40/15 \pm 1/99$  سانتی‌متر و حداقل آن  $37/62 \pm 2/9$  سانتی‌متر ثبت گردید ( $p > 0.05$ ). هم‌چنین حداکثر طول چنگالی  $43/60 \pm 3/15$  سانتی‌متر و حداقل آن  $38/87 \pm 1/892$  سانتی‌متر ثبت گردید ( $p > 0.05$ ). حداکثر دور شکم ماهیان سفید  $22/60 \pm 1/42$  سانتی‌متر و حداقل آن  $20/62 \pm 0/98$  سانتی‌متر بوده است ( $p > 0.05$ ).

جدول ۱- طول و وزن ماهیان مولد تیمار شده با دوزهای متفاوت هورمون اوپریم، اوافکت و هیپوفیز در ماهی سفید (*R. kutum*)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
وزن کل (gr)	$835 \pm 23/4^a$	$901 \pm 25/7$	$986 \pm 26/8^a$	$971/5 \pm 26/15^a$	$906 \pm 25/7^a$
طول کل (cm)	$46 \pm 2/0.9^a$	$43/8 \pm 2/0.4^a$	$44 \pm 2/0.42^a$	$43/0.5 \pm 2/0.47^a$	$42/9 \pm 2/0.41^a$
طول چنگالی (cm)	$43/6 \pm 2/23^a$	$43/67 \pm 2/231^a$	$41 \pm 2/11^a$	$40/35 \pm 2/0.92^a$	$40/15 \pm 2/0.67^a$
طول استاندارد (cm)	$40 \pm 1/985^a$	$39/67 \pm 1/895^a$	$39 \pm 1/84^a$	$39/15 \pm 1/87^a$	$40/15 \pm 1/99^a$
دور شکم (cm)	$21/8 \pm 1/0.9^a$	$21/33 \pm 1/15^a$	$21/25 \pm 1/0.7^a$	$22/6 \pm 1/42^a$	$21/9 \pm 1/0.9^a$

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**درصد لقاح:** حداکثر درصد لقاح در ماهیان مولد سفید مورد مطالعه در تیمار اوپریم ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم (۹۵/۶۳ ± ۴/۷۲ درصد) و حداقل آن (۹۱/۰۶ ± ۳/۹۸ درصد) در تیمار هیپوفیز به ثبت رسید ( $p > 0/05$ ).

جدول ۲- درصد لقاح ماهیان مولد تیمار شده با دوزهای متفاوت هورمون اوپریم، اوافکت و هیپوفیز در ماهی سفید (*R. kutum*)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰ میکروگرم	اوپریم ۲۰ میکروگرم	اوپریم ۳۰ میکروگرم	اوافکت ۵ میکروگرم	اوافکت ۱۰ میکروگرم
۹۱/۰۶ ± ۳/۹۸ <sup>a</sup>	۹۵/۳۶ ± ۴/۶۵ <sup>a</sup>	۹۵/۶۳ ± ۴/۷۲ <sup>a</sup>	۹۱/۸۸ ± ۴/۱۲ <sup>a</sup>	۹۵/۸ ± ۴/۸۱ <sup>a</sup>	۹۵/۰۶ ± ۴/۰۸ <sup>a</sup>

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**زمان رسیدگی مولدین:** حداکثر زمان رسیدگی در ماهیان مولد سفید مورد مطالعه در تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم (۴۵ ± ۲ ساعت پس از تزریق هورمون) و حداقل زمان رسیدگی در ماهیان مولد سفید (۴۰/۲۵ ± ۲ ساعت پس از تزریق هورمون) در تیمار اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). ولی بین سایر تیمارها این اختلاف معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ).

جدول ۳- زمان رسیدگی پس از تزریق در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (*R. kutum*)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰ میکروگرم	اوپریم ۲۰ میکروگرم	اوپریم ۳۰ میکروگرم	اوافکت ۵ میکروگرم	اوافکت ۱۰ میکروگرم
۴۴/۷۵ ± ۱ <sup>a</sup>	۴۵ ± ۲ <sup>a</sup>	۴۳ ± ۲ <sup>ab</sup>	۴۲ ± ۲ <sup>ab</sup>	۴۰/۶۲ ± ۱ <sup>ab</sup>	۳۷/۸۸ ± ۱ <sup>b</sup>

\* حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**درجه ساعت رسیدگی مولدین:** حداکثر درجه ساعت رسیدگی در ماهیان مولد سفید مورد مطالعه در تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم (۵۰۱ ± ۱۳/۹۸) و حداقل آن (۴۲۴/۳۵ ± ۱۲/۰۳) در تیمار اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشاهده گردید. براساس تست آماری بین تیمارهای هیپوفیز و اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم با اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ) ولی بین سایر تیمارها این اختلاف معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ).

بررسی اثرهورمون‌های اوپریم (SGnRHa + دامپریدون)، اوافکت (آنتاگونیست دوپامین + GnRH)...

جدول ۴- درجه ساعت رسیدگی در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (R. kutum)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
۴۶۹/۶±۱۲/۸۵ <sup>a</sup>	۵۰۱/۲±۱۳/۹۸ <sup>a</sup>	۴۸۶/۵۷±۱۳/۲۴ <sup>ab</sup>	۴۸۰/۲±۱۳/۰۷ <sup>ab</sup>	۴۵۵±۱۲/۶۱ <sup>ab</sup>	۴۲۴±۱۲/۰۳ <sup>b</sup>

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**هماوری کاری در مولدین:** حداکثر نسبت وزن تخمک استحصال شده به وزن بدن در مولدین ماده سفید مورد مطالعه ( $16/68 \pm 1/3$  درصد) در تیمار اوپریم ۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم حاصل گردید. در حالی که پایین‌ترین نسبت وزن تخمک به بدن در مولدین ماده سفید تیمار هیپوفیز ( $12/89 \pm 1/1$  درصد) مشاهده گردید. براساس تست آماری تیمارهای اوپریم ۱۰ و ۳۰ میکروگرم با تیمار هیپوفیز اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در حالی که بین تیمارهای اوپریم ۱۰ و ۳۰ میکروگرم با اوافکت و اوپریم ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم هیچ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ).

جدول ۵- نسبت وزن به تخم‌های استحصال شده در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (R. kutum)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
۱۲/۸۹ ± ۱/۱ <sup>a</sup>	۱۶/۲۴ ± ۱/۹۸ <sup>ab</sup>	۱۴/۹۸ ± ۱/۲۴ <sup>ab</sup>	۱۶/۶۸ ± ۱/۳ <sup>ab</sup>	۱۳/۸۶ ± ۱/۰۱ <sup>b</sup>	۱۶/۲ ± ۱/۰۳ <sup>ab</sup>

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**درصد تخم‌کشی در مولدین:** حداکثر درصد تخم‌کشی در مولدین ماده سفید مورد مطالعه ( $3/1 \pm 84/38$  درصد) در تیمار اوافکت ۵ میکروگرم بر کیلوگرم حاصل گردید. در حالی که حداقل آن در تیمار هیپوفیز ( $73/1 \pm 2/8$  درصد) مشاهده گردید. بر اساس تست آماری تیمار اوافکت ۵ میکروگرم بر کیلوگرم با تیمار هیپوفیز اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در حالی که بین تیمارهای اوافکت با اوپریم ۱۰ ، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم هیچ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ).

جدول ۶- درصد تخم‌کشی در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (R. kutum)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
۷۳/۱ ± ۲/۸ <sup>a</sup>	± ۳/۳۸ <sup>b</sup>	۷۷/۲۸ ± ۲/۳ <sup>b</sup>	۷۸/۸۳ ± ۳/۳۸ <sup>b</sup>	۸۴/۳۸ ± ۳/۱ <sup>b</sup>	۷۹/۹۸ ± ۲/۰۳ <sup>b</sup>

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**درصد تخم‌گذاری:** حداکثر درصد تخم‌گذاری در (۸۲/۴۶ ± ۳/۱) درصد در تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم حاصل گردید. در حالی که حداقل آن در تیمار هیپوفیز (۷۴/۶۲ ± ۲/۸) درصد مشاهده گردید. بر اساس تست آماری تیمارهای اوافکت و اوپریم با تیمار هیپوفیز اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0/05$ ). در حالی که بین تیمارهای اوافکت با اوپریم ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم هیچ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ).

جدول ۷- درصد تخم‌گذاری در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (R. kutum)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
۴۲/۴۶۶ ± ۲/۱۵ <sup>a</sup>	۷۴/۶۲ ± ۲/۸ <sup>ab</sup>	۸۲/۴۶ ± ۳/۱ <sup>ab</sup>	۸۱/۲۱۵ ± ۲/۹۸ <sup>a</sup>	۸۴/۳۸ ± ۳/۱۲ <sup>ab</sup>	۸۱/۹۹ ± ۳/۰۴ <sup>b</sup>

\* حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**درجه روز تخم‌گذاری در مولدین:** حداکثر درجه روز تخم‌گذاری در مولدین ماده سفید مورد مطالعه (۱۸۹/۹۶ ± ۱/۶) در تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی حاصل گردید. در حالی که حداقل آن در تیمار اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی (۱۷۴/۱۷ ± ۲/۴) مشاهده گردید. بر اساس تست آماری تیمار اوپریم ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی اختلاف معنی‌داری با تیمار اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی نشان داد ( $p < 0/05$ ). در حالی که بین سایر تیمارها هیچ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ).

جدول ۸- درجه روز تخم‌گذاری در تیمارهای مختلف (اوپریم، اوافکت، هیپوفیز) در مولدین ماهی سفید (R. kutum)

هیپوفیز	اوپریم ۱۰	اوپریم ۲۰	اوپریم ۳۰	اوافکت ۵	اوافکت ۱۰
میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم	میکروگرم
۱۷۴/۴۶ ± ۲/۱۵ <sup>ab</sup>	۱۸۹/۹۶ ± ۱/۶ <sup>b</sup>	۱۷۹/۱۲ ± ۲/۱ <sup>ab</sup>	۱۷۶/۲۱ ± ۲/۰۸ <sup>ab</sup>	۱۷۵/۳۸ ± ۳/۲۲ <sup>ab</sup>	۱۷۴/۱۷ ± ۲/۴ <sup>a</sup>

\* حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

یکی از روش‌های نسبتاً جدید کنترل تولید مثل و رشد ماهی‌ها در آبی‌پروری استفاده از هورمون‌ها (نظیر اوپریم و عصاره هیپوفیز) می‌باشد که در برنامه‌های کاری بسیاری از محققین و متخصصین غدد درون‌ریز قرار گرفته است.

مطالعات انجام شده توسط چیه‌ا و لی (Cheah and Lee, 2000) روی گربه ماهی استرالیایی *Neosilurus ater* مشخص نمود که استفاده از هورمون اوپریم موجب تخم‌ریزی مشابه در مولدین ماده این گونه می‌شوند. در تحقیق حاضر نیز استفاده از هورمون‌های هیپوفیز، اوافکت و اوپریم هر سه موجب تخم‌ریزی در ماهی سفید گردیدند. لیکن با استفاده از اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم و اوپریم ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم ۹۰ درصد از مولدین به تزریق پاسخ دادند. این در حالی است که میزان پاسخ‌گویی مولدینی که با استفاده از هیپوفیز القاء گشته‌اند تنها ۶۶/۶۶ درصد بوده است. به‌علاوه در مطالعات انجام شده توسط هانیفا و همکاران (Haniffa et al., 2002) تأثیر هورمون‌های غیر سنتتیک (عصاره هیپوفیز و گنادوتروپین کوریونیک انسان) و هورمون‌های سنتتیک (آنالوگ هورمون ترشح‌کننده هورمون Luteinizing و اوپریم) بر القای تخم‌ریزی مورل خالدار (*Channa striatus*) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت و مشخص شد که تیمارهای تزریق شده با عصاره هیپوفیز دارای پایین‌ترین درصد لقاح بودند (۶۸-۶۰ درصد) ولی دوره هیچ طولانی‌تر بود (۴۳-۳۹ ساعت). در حالی که این مدت در HCG ۳۶-۳۸ ساعت در LHRHap، ۳۶-۳۴ ساعت و نمونه‌های تزریق شده با اوپریم ۲۳-۲۱ ساعت بود. در مورد درصد لقاح در استفاده از اوپریم در حدود ۹۵-۹۸ درصد بوده که استفاده از اوپریم نتایج بهتری را نشان داد. در تحقیق ما، همه تیمارهای تزریق شده با عصاره هیپوفیز دارای پایین‌ترین درصد لقاح و تیمار اوپریم ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم دارای بالاترین درصد لقاح بوده ولی اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نشد.

نعیم و آرگوان (Naeem and Arghwan, 2005) تأثیرات تزریق هورمون اوپریم را بر درصد لقاح و درصد تفریح تخم‌های ماهی‌های آمور بررسی نمودند. در این آزمایش عمل تخم‌ریزی با موفقیت با استفاده از دوز ۰/۷ ml/kg برای ماهی‌های ماده و دوز ۰/۲ ml/kg برای ماهی‌های نر انجام شد. در تحقیق حاضر نیز القای تخم‌ریزی توسط هورمون اوپریم در دوزهای مختلف، با موفقیت انجام شد.

با بررسی‌های صورت پذیرفته توسط زابو (Szabo, 2003) بر القای اوولاسیون در اردک ماهی (*Esox lucius*) گزارش گردید که اوپریم نقش کم‌تری نسبت به عصاره هیپوفیز کیور در القای تخم‌ریزی این گونه دارد اما می‌تواند موجب بروز تخم‌ریزی در این ماهی گردد. در تحقیق حاضر اگرچه در درصد لقاح تیمارهای اوافکت و اوپریم نسبت به هیپوفیز در مولدین اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ولی در

سایر شاخص‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردیده و عصاره هیپوفیز نقش کم‌تری نسبت به تیمارهای اوافکت و اوپریم در القای تخم‌ریزی این گونه از خود نشان داد.

مطالعات صورت پذیرفته توسط هیل و بالدوین (Hill and Baldwin, 2005) روی ماهی *Epalzeorhynchus erythrurus* از خانواده کپور ماهیان مشخص نمود که استفاده از اوپریم می‌تواند زمینه‌های تکثیر این ماهی تزئینی را فراهم نماید. در تحقیق حاضر این مسئله در خصوص ماهی سفید هم نتایج مثبتی را نشان داد.

هم‌چنین ساهو و همکاران (Sahoo et al., 2005) تزریق دوزهای مختلف هورمون اوپریم در تکثیر مصنوعی ماهی *C. batrachus* را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از چهار دوز ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن استفاده گردید که نشان داد که بهترین دوز برای القای تخم‌ریزی در این ماهی دوزهای ۱-۱/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. در این تحقیق نیز بالاترین میزان پاسخ-گویی در تیمارهای اوپریم ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن و اوافکت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن مشاهده گردید.

افزون بر این، اونونوجو و همکاران (Ononuju et al., 2007) به بررسی تکثیر مصنوعی گربه ماهی آفریقایی با استفاده از هورمون‌های سنتتیک و غیر سنتتیک پرداختند. این بررسی نشان داد که القای تخم‌ریزی در این گونه با استفاده از هورمون سنتتیک اوپریم و هورمون طبیعی (هورمون عصاره هیپوفیز از *H. bidorsals*) امکان پذیر است. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد تیمار اوپریم در تمام شاخص‌های مورد نظر نتایج قابل ملاحظه‌ای را نسبت به عصاره هیپوفیز نشان داد. در ضمن با توجه به قیمت بسیار پایین‌تر هورمون اوپریم و نیز روش استفاده آسان‌تر، کاربرد آن در مقایسه با عصاره هیپوفیز در مراکز تکثیر پیشنهاد شده است. در تحقیق حاضر نیز گرچه القای تخم‌ریزی توسط عصاره هیپوفیز امکان‌پذیر است لیکن مشاهده تفاوت معنی‌دار بین میزان پاسخ به هورمون در تیمارهای هورمون‌های سنتتیک و عصاره هیپوفیز و سهولت استفاده و قیمت بسیار پایین‌تر استفاده از این هورمون‌ها را در مراکز تکثیر پیشنهاد می‌کند.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره هیپوفیز، هورمون اوپریم و هورمون اوافکت هر سه موجب القای تخم‌ریزی در ماهیان مولد نارس سفید گردید. بالاترین میزان پاسخ‌گویی در تیمار هورمون‌های اوپریم (دوز ۲۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و اوافکت (دوز ۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و پایین‌ترین میزان پاسخ‌گویی در تیمار عصاره هیپوفیز مشاهده شد. اهمیت هر ۶ تیمار از لحاظ درصد لقاح مشابه بود. کوتاه‌ترین زمان رسیدگی در تیمار اوافکت (دوز ۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را نیز با تیمار هیپوفیز نشان داد. کوتاه‌ترین درجه ساعت رسیدگی در تیمار اوافکت (دوز ۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن)

مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را نیز با تیمار هیپوفیز نشان داد. بالاترین میزان تخمک استحصالی به وزن بدن در تیمار اوپریم (دوز ۳۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) مشاهده شد و تیمارهای اوپریم (دوز ۳۰ و ۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و اوافکت (دوز ۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) اختلاف معنی‌داری را نیز با تیمار هیپوفیز نشان دادند. حداکثر درصد تخم-کشی در تیمار اوافکت (۵ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و حداقل درصد تخم‌کشی تیمار هیپوفیز مشاهده گردید. حداکثر درصد تخم‌گشایی در تیمار اوافکت (۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و حداقل درصد تخم‌گشایی در تیمار اوپریم (۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) مشاهده گردید. حداکثر درجه روز تخم‌گشایی در تیمار اوپریم (دوز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن) و حداقل درجه روز تخم‌گشایی در تیمار اوافکت (دوز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن) مشاهده گردید. با توجه به قیمت بسیار پایین‌تر هورمون اوپریم و نیز روش استفاده آسان‌تر، کاربرد آن در مقایسه با عصاره هیپوفیز در مراکز تکثیر پیشنهاد می‌گردد.

#### منابع

- Cheah M.S.H., Lee C.L. 2000. Induced ovulation of the Australian Eel-tailed catfish *Neosilurus ater* with ovaprim. *Asian Fisheries Science*, 13: 87-96.
- Donaldson E.M., Hunter G.A. 2003. Induced final maturation, ovulation and spermiation in culture fishes. In: Hoar W.S., Randall G.J., Donaldson E.M. (Eds.). *Fish physiology reproduction*, vol. IXB. Academic press, Orlando, Florida, pp: 351-403.
- Forsat kar M.N., Nematollahi M.A., Hedayati Rad M. 2013. The effect of parental care and body size, reproductive success of Zebra cichlid. *Journal of Fisheries- Natural Resources of Iran*, 66(2): 225-231.
- Haniffa M.A., Merlin T., Shaik Mohamed J. 2005. Induced spawning of the striped Murrel *channa striatus* using pituitary extracts, human chorionic gonadotropin, Luteinizing hormone releasing hormone analogue, and ovaprim. *Acta Ichthyologica et Piscatorial*, 30(1): 53-60.
- Haniffa M.A., Saridhar S. 2002. Induced spawning of spotted murrel (*Channa punctatus*) and cat fish (*Heteropneustes fossilis*) using human chrionic gonadotropin and synthetic hormone (ovaprim). *Veterinarski Archive*, 72(1): 51-56.
- Hill E., Baldwin D. 2005. Preliminary observations of topical Gill application of reproductive hormones for induced spawning of a tropical ornamental fish. *North American Journal of Aquaculture*, 67: 7-9.
- Naeem M., Salam A., Arghwan J. 2005. Induced Spawning of Major Carp *Catla catla* by a Single Intramuscular Injection of Ovaprim-C and Fecundity at Fish Hatchery Islamabad. *Journal of Biological Sciences*, 5(6): 776-780.
- Niku M. 2003. The study of some physiological differences were female and pending Kutum (*Rutilus frisii kutum*). Master Thesis, Faculty Natural Resources, University of Tehran. (In Persian)

- Ononuju C., Afuluenu I., Effiong J. 2007. Induced propagation of African Clariid catfish, *Heterobranchus bidorsalis* using synthetic and homoplastic hormones. African Journal of Biotechnology, 6(23): 2687-2693.
- Sahoo S.K., Giri S.S., Sahu A.K. 2005. Effect on breeding performance and egg quality of *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of ovatid during spawning induction. Asian Fisheries Science, 18: 77-83.
- Saridhar S., Vijayakumar C., Haniffa M.A. 1998. Induced spawning and establishment of captive population for an endangered fish, *Ompok bimaculatus* in India. Current Science, 75(10): 1066-1068.
- Szabo T. 2003. Ovulation induction in northern pike *Esox lucius* L. using different GnRH analogues, Ovaprim, Dagin and carp pituitary. Aquaculture Research, 34: 479-486.
- Zohar Y. 1989. 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, pp: 65-119.
- Zohar Y., Elizur A., Sherwood N.M., Rivier J.F., Zmora N. 1995. Gonadotropin-releasing potencies of the three native forms of gonadotropin-releasing hormones present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. General and Comparative Endocrinology, 97: 289-299.