مجله شیلات
سال سوم، شماره سوم، پاییز ۸۸

مقایسه اثر تیمارهای هیپوفیزی با HCG و متوکلوپرامید در کارآیی تکثیر مصنوعی ماهیان مولد سیم (*Abramis brama orientalis* Berg 1905)

*سعید دادرس[۱]، عباسعلی زمینی[۲]، حسین خارا[۳]، احمد قناعت پرست[۴] و صمد درویشی[۵]
[۱،۲ و ۳] دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران،
[۴ و ۵] مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت، ایران

چکیده

ماهی سیم (*Abramis brama orientalis*) یکی از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر می‌باشد. با توجه به اینکه تاکنون گزارشی مبنی بر کاربرد هورمون HCG در ترکیب با متوکلوپرامید بر روی ماهی سیم موجود نبود، عملیات اجرایی این تحقیق در مورخه ۱۳۸۷/۲/۲۰ و همزمان با شروع فصل تکثیر بررسی شد. برای اجرای این تحقیق، ۷ گروه تیماری شامل: هیپوفیز (٤ mg/kg B.W.) به‌عنوان گروه شاهد، گروه‌های تیماری HCG با ۳ دوز تزریقی (۲۰۰۰،۱۰۰۰ IU/kg B.W. و ۳۰۰۰) به تنهایی و در ترکیب با متوکلوپرامید (۵ mg/kg B.W.) در نظر گرفته شد. با احتساب پنج مولد به‌عنوان تکرار برای هر گروه تیماری، در مجموع ۳۵ جفت مولد ماهی سیم نر و ماده در اختیار این تحقیق قرار داده شد. میانگین وزن نمونه‌ها ۵۹/۳۸±۷۹۲/٤۳ گرم، میانگین طول کل ۱/۰٦±۳٤/۱۹ سانتی‌متر، میانگین اندازه دور شکم ۰/۹۸±۲٦/۳۱ سانتی‌متر و میانگین سن ٤/۰۰±۰/۱٤ سال بود. نتایج این تحقیق نشان داد که عملیات هورمون تراپی با کاربرد HCG به تنهایی در هیچ کدام از ماهیان مولد ماده سیم با موفقیت همراه نبود، اما ترکیبی از هورمون HCG با متوکلوپرامید نتایج مطلوبی را به همراه داشت، بطوری‌که بالاترین درصد جوابدهی با میزان ۸۰ درصد به تیمار HCG در دوز ۲۰۰۰IU/kg در ترکیب با MET در دوز ۵ mg/kg و گروه شاهد تعلق گرفت، همچنین بیشترین درصد لقاح تخم مربوط به تیمار مذکور با ٦۱ درصد و گروه شاهد با ٦۹ درصد بود. از نظر درصد تخم گشایی بیشترین مقدار، مربوط به تیمارهای HCG در دو دوز ۳۰۰۰ IU/kg و ۲۰۰۰ IU/kg در ترکیب با MET در دوز ۵ mg/kg به‌ترتیب با ۷۵ و ۷۰ درصد و گروه شاهد با ۷۸ درصد بود. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده، گروه تیماری HCG در دوز ۲۰۰۰ IU/kg در ترکیب با MET در دوز ۵ mg/kg و گروه شاهد از ویژگی‌های بسیار مناسبی به عنوان یک القاکننده در تکثیر مصنوعی مولدین سیم برخوردار است. در آنالیزهای آماری بر روی مولدین گروه‌های تیماری HCG در ترکیب با MET و گروه شاهد که به عملیات تزریق هورمون پاسخ مثبت دادند، درجه- ساعت رسیدگی ماهیان سیم ۱٤/۹۷±۳۰۸/۹۲ ساعت – درجه، میانگین وزن تخمک استحصالی ۸/٤٤±۸۷/۰۹ گرم و درصد وزن تخمک به وزن بدن ۰/۳۰± ۸/۷۸ درصد تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: تکثیر مصنوعی، ماهی سیم ***(Abramis brama orientalis)***، متوکلوپرامید،HCG

مقدمه

یکی از مهمترین مشکل‌های موجود در تکثیر کپورماهیان، دسترسی به گامت‌های با کیفیت خوب است، که به‌همین دلیل، تزریق‌های هورمونی برای تحریک رسیدگی گامت‌ها در کپور ماهیان تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. از رایج‌ترین هورمون‌های مورد استفاده، عصاره غده هیپوفیز کپور (CPH) و در مواردی به اضافه گنادوتروپین کریونیک انسانی (HCG) است (۱۲). این

*- مسئول مکاتبه: dadras_shilat@yahoo.com

مشکل جهت انجام تکثیر مصنوعی در مورد کپورماهیان غیر پرورشی ملموس‌تر است. از آنجایی که بسیاری از ذخایر کپور ماهیان غیرپرورشی منقرض شده است، نیاز به گسترش سریع تکنیک‌های تخم‌ریزی کنترل شده این ماهیان حس می‌شود (۱۱).

ماهی سیم از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر می‌باشد که اهمیت ویژه‌ای از لحاظ اکولوژیک، بیولوژیک و اقتصادی دارد. در گذشته نه چندان دور این ماهی در سواحل شمالی کشور ایران به میزان زیادی صید می‌گردید، اما مشکلاتی از قبیل صید بی‌رویه، آلودگی زیست‌محیطی، تخریب زیستگاه اصلی ماهی (تالاب انزلی) و پایین آمدن سطح آب طی چند دهه گذشته منجر به کاهش شدید ذخایر آن در حوضه جنوبی دریای خزر شده است.

بررسی‌های انجام شده نشان داده است که مقدار صید این ماهی در سال‌های صید ۱۳-۱۳۱۲ افزون بر ۱۶۳۹ تن بود و از آن پس سیر نزولی تا حد انقراض آغاز شد. پس از آن از ۱۳۶۹ به‌دنبال فعالیت‌های شیلات ایران جهت ترمیم ذخایر ماهی سیم از طریق تکثیر و رهاسازی بچه‌ماهیان، ذخایر آن رو به بهبود نهاد (۳). از سال ۱۳۷۲ تکثیر نیمه طبیعی ماهی سیم در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان شهید انصاری رشت آغاز و همچنان نیز ادامه دارد. در این روش استخرها توسط آهک، کودهای شیمیایی و کود آلی قبلاً بارور گشته و چند روز پس از رهاسازی مولدین ماهی سیم، لانه‌گذاری با سرشاخه‌های درخت سرو و کاج آغاز می‌گردد. پس از مدتی ماهیان شروع به تخم‌ریزی کرده که این تخم‌ریزی همراه با سر و صدای زیاد و حرکات سریع ماهی می‌باشد (۱).

در سال‌های اخیر از انواع هورمون‌های سنتتیک نظیر LHRH، جهت القای رسیدگی جنسی در ماهیان مولد استفاده شده، که به‌منظور افزایش کارآیی تکثیر به همراه این هورمون‌ها از ترکیبات ضددوپامین استفاده گردید، که از جمله معروفترین آنها متوکلوپرامید (MET) است. بنا به گزارش‌های موجود در بعضی ماهیان مانند ماهی دم زرد ژاپنی *(Seriola quinquerad)*، و باس مخطط *(Morone saxatilis)*، تزریق هورمون HCG در ماده‌های بالغ غیرپرورشی در فصل تخم‌ریزی و در مرحله رسیدگی نهایی اووسیت، منجر به القای تخم‌ریزی در این ماهیان شد (۱۴ و ۱۶).

HCG هورمونی پلی‌پپتیدی و در واقع گنادوتروپینی انسانی بوده که در روزهای اول در سرم خون و سپس در ادرار زنان حامله یافت می‌شود. این هورمون همچنین اثرات فیزیولوژیک مشابه با GTH-I را دارا است. Kucharczyk و همکاران در سال ۱۹۹۷ به بررسی تخم‌ریزی القا شده در ماهی سیم (*Abramis brama* L.) با استفاده از عصاره غده هیپوفیز کپور (CPE)، عصاره غده هیپوفیز سیم (BP) و هورمون HCG پرداختند. دوز موثر، $5\ mg.kg^{-1}$ عصاره غده هیپوفیز ماهی سیم، یا $4\ mg.kg^{-1}$ عصاره غده هیپوفیز کپور معمولی به اضافه $2000-2200\ IU.kg^{-1}$ هورمون HCG ، یا بدون افزودن این مقدار، برای ماهیان مولد ماده بوده است. نتایج نشان داد که تزریق هورمون HCG و عصاره غده هیپوفیز کپور منجر به تخم‌ریزی در ۷۹ درصد از ماهیان شد (۱۲).

متوکلوپرامید نیز به‌عنوان آنتاگونیست رسپتور D_2 دوپامین شناخته شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده، در اثرات داروشناسی حداقل دارای ۲ عملکرد می‌باشد: اثر مهاری بر رسپتورهای دوپامین و اثر بر سیستم کولینرژیک که احتمالاً منجر به افزایش آزادسازی استیل کولین می‌شود. در تحقیقات و بررسی‌های مختلف به کرات ثابت شده، که متوکلوپرامید در سیستم تولیدمثلی ماهیان به‌عنوان یکی از آنتاگونیست‌های قوی و مناسب دوپامین بوده، که در کنار آنالوگ‌های قوی می‌تواند منجر به اوولاسیون و رسیدگی جنسی در ماهیان شود (۹). دلیل اصلی ترکیب هورمون HCG با متوکلوپرامید در تحقیق حاضر، توجه به این حقیقت است که، برخی از ماهیان نه تنها دارای هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) می‌باشند، بلکه دارای هورمون های بازدارنده گنادوتروپین

(GnIF) نیـز مـی‌باشـند. در کپـور ماهیـان فاکتورهـای بازدارنـده بـسیار قـوی و مهمـی وجـود دارد کـه از آنهـا می‌توان دوپامین (DA) را نام برد. از آنجایی که دوپـامین و اثـر مهـاری آن بـر آزادسـازی GnRH در مـاهی طلایی Gold fish و (۱۳) و کپور معمولی common carp (۱۰) و ماهیان دیگر تأیید شده است. بنابراین بـرای کنترل و جلوگیری از اثر بازدارندگی دوپـامین بـر ترشـح GTH و تقویـت عمـل HCG از آنتـی دوپـامین متوکلوپرامید با ویژگی‌های خاص خود استفاده شـد. طـی بررسـی‌هـای انجـام یافتـه بـه‌منظـور تعیـین دوز اپتـیمم متوکلوپرامید، مشخص شد کـه دوز (mg/Kg ۵) سـطح GHT II سرم خون را در میزان بالاتری افزایش می‌دهـد (۲).

با توجه به مـوارد فـوق، القـای رسـیدگی جنـسی در مولدین ماهی سیم با کاربرد HCG به تنهایی و به همـراه متوکلوپرامید به‌منظور افزایش درصد جواب دهی و درصد لقاح این مولـدین بـه عملیـات تکثیـر مـصنوعی در سـال ۱۳۸۷ ضروری به نظر رسید، تـا از ایـن طریـق بتـوان بـه افزایش تولید بچه‌ماهیان سیم و حفظ ذخایر این گونـه بـا ارزش بومی کمک قابل توجهی شود.

مواد و روش‌ها

عملیات اجرایی تحقیق حاضر، در مورخه ۱۳۸۷/۲/۲۰ و همزمان با شروع فصل تکثیر انجام شد، که برای اجرای آن ۷ تیمار بر اساس تنوع محلول‌هـای هورمـونی و تنـوع دوز تزریقی آنها مطابق با جدول ۱ در نظر گرفته شـد. بـا احتساب پنج مولد به عنـوان تکـرار بـرای هـر تیمـار، در مجمـوع ۳۵ جفـت مولـد مـاهی سـیم بـا میـانگین وزن ۷۹۲/٤۳±۵۹/۳۸ گرم و میانگین طول کـل ۳٤/۱۹±۱/۰٦ سانتی‌متراز مرکز تکثیر و بازسـازی ذخـایر ماهیـان شـهید انصاری رشت تهیه و مورد تزریق قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- انواع و دوز تزریقی، برحسب تیمارهای مورد بررسی در مولدین سیم

تیمار	محلول هورمونی	دوز تزریقی
۱	HCG	۱۰۰۰ IU/kg B.W.
۲	HCG	۲۰۰۰ IU/kg B.W.
۳	HCG	۳۰۰۰ IU/kg B.W.
٤	HCG+MET	۱۰۰۰ IU/kg + ۵mg/kg
۵	HCG+MET	۲۰۰۰ IU/kg + ۵mg/kg
٦	HCG+MET	۳۰۰۰ IU/kg + ۵mg/kg
شاهد	CPE	۵ mg/kg

در ابتدا با مناسب شدن درجـه حـرارت آب اسـتخرها (۱۵ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد) و شروع فصل تکثیر، مولدین از استخرهای ویژه نگهداری مولد با تور صید شـده و بـه وان‌های فایبرگلاسی سـالن تکثیـر انتقـال داده شـدند. در ادامه جداسازی و انتخاب ماهیـان مولـد جهـت عملیـات تکثیر انجام یافت. سپس ماهیـان بـه‌مـدت تقریبـاً ۳ روز، بدون تغذیه و در شرایط وان، با دما و فوتوپریـود طبیعـی قرار داده شده تا کاملاً نسبت به شرایط جدید آداپته شوند. با پایان پذیرفتن دوره مذکور، ابتدا مولدین ماده بـه‌ترتیـب برای بیهوش شدن در وان حاوی محلول بیهوشـی (پـودر گل میخک) قرار داده شدند. بعـد از اطمینـان از بیهوشـی، مولدین با ترازوی دیجیتال توزین و سـپس بـر روی میـز بالشتک‌دار قـرار گرفتنـد و وسـایل علامـت‌گـذاری (نـخ رنگی) را که برای هر گروه تیماری مشخص شده بود، بـه قسمت جلویی باله پشتی هر مولد متصل گردید. سپس بـه کمک تخته بیومتری اقدام به اندازه‌گیری طول کل و اندازه دور بدن مولدین شد. همچنین جداسازی ۱ یـا ۲ فلـس از ناحیه بین خط جانبی و جلوی باله پشتی مولد بـه منظـور

تعیین سن ماهی انجام گردید. روش تزریق به‌صورت یک مرحله‌ای بوده و در عضله باله سینه‌ای انجام شد. بعد از تزریق، مولدین تا رسیدگی کامل جنسی در وان‌های فایبرگلاس نگهداری شدند و در این مدت تا زمان احراز آمادگی لازم جهت استخراج مواد تناسلی تحت نظارت مستمر بودند. در ماهیان مولد سیم که به عملیات هورمون تراپی پاسخ مثبت دادند، استخراج تخمک‌ها به روش مالش دادن شکم (Stripping method) و لقاح به روش خشک (Dry method) انجام پذیرفت (٦). در مدت انکوباسیون رنگ تخم‌ها به تدریج عوض شد و در بدو امر که متمایل به زرد و خاکستری بود به تدریج تیره‌تر شده و در مراحل پایانی و ظهور لارو به رنگ قهوه‌ای تیره و یا سیاه در آمد. با توجه به درجه حرارت آب در روزهای مراحل اجرایی تحقیق (به‌طور میانگین ١٨/٤ درجه سانتی‌گراد) خروج لاروها از پوسته ١٧٦٦/٤ ساعت- درجه طول کشید. پس از گذشت ٦-٥ ساعت از عمل لقاح، زمانی که تخم‌های لقاح یافته به مرحله بسته شدن بلاستوپور رسیدند، درصد لقاح (باروری) طبق معادله ١ محاسبه شد:

معادله ١ (٦):

$$\text{نسبت لقاح} = \frac{\text{میزان تخم‌های لقاح یافته}}{\text{کل تخم‌های نمونه‌برداری}} \times ١٠٠$$

بعد از خروج کامل لاروها از پوسته تخم عمل شمارش لاروها انجام گرفت. درصد تخم گشایی و درصد لاروهای دارای تغذیه فعال نیز به‌ترتیب، طبق معادله ٢ و ٣ تعیین گردید.

معادله ٢ (٦):

$$\text{درصد تخم گشایی} = \frac{\text{تعداد لارو دارای کیسه زرده}}{\text{تعداد کل تخم‌های لقاح یافته}} \times ١٠٠$$

معادله ٣ (٦):

$$\text{نسبت لارو دارای تغذیه فعال} = \frac{\text{تعداد لارو دارای تغذیه فعال}}{\text{تعداد لارو دارای کیسه زرده}} \times ١٠٠$$

برای رسم نمودارهای مربوطه و انجام محاسبات آمار توصیفی و آزمون‌های آماری مورد نیاز، به‌ترتیب از نرم‌افزارهای Excel 2003 و Spss 15.0 استفاده شد. بطوری‌که جهت مشخص نمودن وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA با درصد اطمینان ٩٥ درصد ($P<٠/٠٥$) استفاده شد. همچنین در موارد غیرنرمال بودن داده‌ها از آزمون مقایسه میانگین Duncan استفاده گردید.

نتایج

بر اساس بررسی‌های انجام گرفته بر روی ٣٥ عدد ماهی مولد سیم، میانگین وزن ٥٩/٣٨±٧٩٢/٤٣ گرم، با دامنه تغیرات ١٣٥٠-٣٠٠ گرم بدست آمد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه، بین تیمارهای مختلف از نظر میانگین وزن ماهی‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P>٠/٠٥$)، (جدول ٢).

جدول ٢- میانگین وزن مولدین در تیمارهای مختلف (گرم)

تیمار	هورمون	میانگین وزن ماهی‌ها (Mean±S.E)	حداقل	حداکثر
١	HCG (١٠٠٠Iu/kg)	٧٧٢/٠٠ ±١٦٤/١٢[a]	٤٠٠	١٣١٠
٢	HCG (٢٠٠٠Iu/kg)	٧٥١/٠٠ ±١٨٣/٣١ [a]	٣٠٠	١٣٥٠
٣	HCG (٣٠٠٠Iu/kg)	٧١٦/٠٠ ±١٦٧/١٤ [a]	٣٢٠	١٢٠٠
٤	HCG(١٠٠٠Iu/kg)+MET(٥ mg/kg)	٨٠٠/٠٠ ±١١٥/١١ [a]	٤٥٠	١١٠٠
٥	HCG(٢٠٠٠Iu/kg)+MET(٥ mg/kg)	٨٧٠/٠٠ ±٢١١/٣٠ [a]	٣٠٠	١٣٥٠
٦	HCG(٣٠٠٠Iu/kg)+MET(٥ mg/kg)	٨٢٤/٠٠ ±٢٠٠/٥٦ [a]	٣٥٠	١٣٠٠
شاهد	CPE (٤ mg/kg)	٨١٤/٠٠ ±١٣٩/٠٩ [a]	٥٠٠	١٢٥٠

بر اساس بررسی های انجام گرفته بر روی ۳۵ عدد ماهی مولد سیم، میانگین طول کل ۱/۰۶±۳٤/۱۹ سانتی‌متر، با دامنه تغییرات ٤٤ – ۲۵ سانتی‌متر به‌دست آمد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه، بین تیمارهای مختلف از نظر میانگین طول کل ماهی‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$)، (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین طول کل مولدین در تیمارهای مختلف (سانتی‌متر)

تیمار	هورمون	میانگین طول کل ماهی‌ها (Mean±S.E)	حداقل	حداکثر
۱	HCG (۱۰۰۰Iu/kg)	۳۳/۱٤ ±۲/۷۹a	۲۷	٤۱/۲
۲	HCG (۲۰۰۰Iu/kg)	۳٤/٦۸ ±۳/۳٦a	۲۵	٤۳/٤
۳	HCG (۳۰۰۰Iu/kg)	۳۲/۳٤ ±۳/۰۲a	۲۵	٤۰/۱
٤	HCG(۱۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳۲/۷۸ ±۱/٦٦a	۲۸	۳۷
۵	HCG(۲۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳۵/۵۸ ±۳/۸۸a	۲۵	٤٤
٦	HCG(۳۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳۳/۷۸ ±۳/٤۲a	۲۵	٤۱
شاهد	CPE (٤ mg/kg)	۳۷/۰۰ ±۲/۳٤a	۲۸	٤۱

بر اساس بررسی‌های انجام گرفته برروی ۳۵ عدد ماهی مولد سیم، میانگین اندازه دور شکم ۰/۹۸±۲٦/۳۱ سانتی‌متر، با دامنه تغیرات ۳٦/۵– ۱۸سانتی‌متر به‌دست آمد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه، بین تیمارهای مختلف از نظر میانگین اندازه دور شکم ماهی‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$)، (جدول ٤).

جدول ٤- میانگین اندازه دور شکم مولدین در تیمارهای مختلف (سانتی‌متر)

تیمار	هورمون	میانگین اندازه دور شکم ماهی‌ها (Mean±S.E)	حداقل	حداکثر
۱	HCG (۱۰۰۰Iu/kg)	۲٤/۸٤ ±۲/٤۲ a	۲۰	۳۲
۲	HCG (۲۰۰۰Iu/kg)	۲٦/۸۲ ±۲/۹۷ a	۱۸/۱	۳٤/۵
۳	HCG (۳۰۰۰Iu/kg)	۲٤/۸۸ ±۲/۸۸ a	۱۸	۳۲/۵
٤	HCG(۱۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۲۵/۰۸ ±۱/۷۳ a	۲۰	۲۹
۵	HCG(۲۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۲۸/۰۰ ±۳/۵۷ a	۱۸	۳٦/۵
٦	HCG(۳۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۲۵/٤٤ ±۳/۰٤ a	۱۸	۳۲
شاهد	CPE (٤ mg/kg)	۲۹/۱۰ ±۲/۱۲ a	۲۱	۳۳

بر اساس بررسی‌های انجام گرفته بر روی ۳۵ عدد ماهی مولد سیم، میانگین سن ۰/۱٤±٤/۰۰ سال، با دامنه تغییرات ۵–۳ سال به‌دست آمد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه، بین تیمارهای مختلف از نظر میانگین سن ماهی‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$)، (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین سن مولدین در تیمارهای مختلف (سال)

تیمار	هورمون	میانگین سن ماهی‌ها (Mean±S.E)	حداقل	حداکثر
۱	HCG (۱۰۰۰Iu/kg)	٤/۰۰ ±۰/٤۵a	۳	۵
۲	HCG (۲۰۰۰Iu/kg)	٤/۰۰ ±۰/٤۵a	۳	۵
۳	HCG (۳۰۰۰Iu/kg)	۳/۸۰ ±۰/۳۷a	۳	۵
٤	HCG(۱۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳/٦۰ ±۰/٤۰a	۳	۵
۵	HCG(۲۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	٤/۲۰ ±۰/۳۷a	۳	۵
٦	HCG(۳۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	٤/۰۰ ±۰/٤۵a	۳	۵
شاهد	CPE (٤ mg/kg)	٤/٤۰ ±۰/۲٤a	٤	۵

بر اساس بررسی‌های انجام گرفته میانگین درجه- ساعت رسیدگی ماهیان سیم، ۱٤/۹۷±۳۰۸/۹۲ ساعت- درجه، با دامنه تغییرات ۲۲۲/۸٤-۳۸۳/۰٤ بدست آمد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه، بین تیمارهای مختلف از نظر میانگین درجه- ساعت رسیدگی اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، (جدول ٦).

جدول ٦- میانگین درجه - ساعت رسیدگی مولدین در تیمارهای مختلف

تیمار	هورمون	میانگین درجه- ساعت رسیدگی (Mean±S.E)	حداقل	حداکثر
۱	HCG (۱۰۰۰Iu/kg)	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی
۲	HCG (۲۰۰۰Iu/kg)	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی
۳	HCG (۳۰۰۰Iu/kg)	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی	عدم جوابدهی
٤	HCG(۱۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳٤٤/٦٦	۳٤٤/٦٦	۳٤٤/٦٦
۵	HCG(۲۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳٤۰/۷۷ ±۱۸/۹۸ a	۲۹۰/۷۲	۳۸۳/۰٤
٦	HCG(۳۰۰۰Iu/kg)+MET(۵ mg/kg)	۳۳۵/۲۳ ±۹/٤۳ a	۳۲۵/۸۰	۳٤٤/٦٦
شاهد	CPE (٤ mg/kg)	۲۵٤/۹۷ ±۱۲/۲۳ b	۲۲۲/۸٤	۲۸۲/٤۱

با آنالیز آماری داده‌های مربوطه مشخص شد که درصد جوابدهی گروه تیماری HCG+MET در دوز ۲۰۰۰IU/kg+۵ mg/kg و گروه شاهد با ۸۰ درصد از اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌ها برخوردار بود. همچنین بیشترین درصد لقاح تخم متعلق به گروه تیماری HCG+MET در دوز ۵ mg/kg + ۲۰۰۰ IU/kg با ٦۱ درصد و گروه شاهد با ٦۹ درصد بود، از نظر درصد تخم گشایی بیشترین مقدار به گروه تیماری HCG + MET در دوز ۵ mg/kg + ۳۰۰۰ IU/kg با ۷۵ درصد و گروه شاهد با ۷۸ درصد تعلق گرفت (جدول ۷).

جدول ۷- درصد جوابدهی مولدین، درصد لقاح، درصد تخم گشایی و درصد بازماندگی لاروها در تیمارهای مختلف

	HCG(۱۰۰۰Iu/kg)+ MET(۵ mg/kg)	HCG(۲۰۰۰Iu/kg)+ MET(۵ mg/kg)	HCG(۳۰۰۰Iu/kg)+ MET(۵ mg/kg)	CPE (٤ mg/kg)
درصد جواب‌دهی مولدین	۲۰	۸۰	٤۰	۸۰
درصد لقاح	٤۳	٦۱	۵۲	٦۹
درصد تخم گشایی	٦۸	۷۰	۷۵	۷۸
درصد بازماندگی	۷۳	۸۲	۸۳	۸٤

بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون در بررسی‌های مختلف انجام شده توسط محققین، از هورمون سنتتیک HCG به تنهایی و یا در ترکیب با سایر هورمون‌ها مانند: عصاره غده هیپوفیز کپور،LHRH و ... استفاده می‌شد، اما در تحقیق حاضر، از ترکیب هورمون HCG با متوکلوپرامید (آنتاگونیت دوپامین)، جهت عملیات هورمون تراپی در مولدین ماهی سیم استفاده گردید.

در تحقیق حاضر بالاترین درصد جوابدهی با میزان ۸۰ درصد به تیمار HCG در دوز ۲۰۰۰ IU/kg در ترکیب با MET در دوز ۵ mg/kg و گروه شاهد تعلق گرفت. همچنین بیشترین درصد لقاح تخم مربوط به تیمار مذکور با ٦۱ درصد و گروه شاهد با ٦۹ درصد بود. از نظر درصد تخم‌گشایی بیشترین مقدار، مربوط به تیمارهای HCG در دو دوز ۳۰۰۰ IU/kg و ۲۰۰۰ IU/kg در ترکیب با MET در دوز ۵ mg/kg به‌ترتیب با ۷۵ و ۷۰ درصد و گروه شاهد با ۷۸ درصد بود.

همچنین در این تحقیق اختلاف معنی‌داری در وزن، طول، اندازه دور شکم و سن ماهیان بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد که این نشان‌دهنده، اهمیت ترکیب‌های هورمونی مورد تزریق به همراه دوز تزریقی آنها، در پاسخ مثبت مولدین ماهی سیم به عملیات تکثیر مصنوعی بود.

با مشاهده داده‌های به‌دست آمده از گروه تیماری HCG+MET با دوز ۵ mg/Kg B.W. + ۲۰۰۰IU/Kg و گروه شاهد می‌توان این دو تیمار را، به‌عنوان بهترین ترکیب هورمونی، به‌دلیل بدست آمدن درصد جواب‌دهی بسیار مطلوب (۸۰ درصد) و مناسب بودن دیگر پارامترهای مورد بررسی معرفی نمود.

در خصوص ترکیب هورمون HCG با سایر هورمون‌ها، گزارش‌های ارزشمندی توسط محققین مختلف بیان شد. Kucharczyk و همکاران در سال ۱۹۹۷ به بررسی تخم‌ریزی القا شده در ماهی سیم، *(Abramis brama* L.*)* با استفاده از عصاره غده هیپوفیز کپور (CPE)، عصاره غده هیپوفیز سیم (BP) و هورمون HCG پرداختند، دوز مؤثر استفاده شده $mg.kg^{-1}$ ۵ عصاره غده هیپوفیز ماهی سیم، یا $mg.kg^{-1}$ ٤ عصاره غده هیپوفیز کپور معمولی، به اضافه $IU.kg^{-1}$ ۲۲۰۰-۲۰۰۰ هورمون HCG برای ماهیان مولد ماده بود. نتایج تحقیق فوق نشان داد که در ماده‌ها مؤثرترین روش، تزریق هورمون HCG و عصاره غده هیپوفیز کپور با تخم‌ریزی در ۷۹ درصدی ماهیان (بیش از ٦٨ درصدی تخم چشم‌زده) می‌باشد (۱۲).

Cacot و همکاران در سال ۲۰۰۲ تحریک اوولاسیون در گربه‌ماهی مکانگ (*Pangasius bocourti*) را با تزریق تدریجی HCG بررسی نموده و نتیجه گرفتند که دو تزریق پیاپی HCG در دوزهای بالا ($IU.kg^{-1}$ ۲۵۰۰ و ۱۵۰۰) در فاصله زمانی ۱۰-۸ ساعته، منجر به رسیدگی اووسیت‌ها و به‌دنبال آن تخم‌ریزی در ۳±۱۹ساعت بعد از اولین تزریق خواهد شد، در این تحقیق متوسط اوولاسیون و درصد تفریخ به‌ترتیب ٦٦ درصد و ۵۵ درصد گزارش شده است (۷).

به‌منظور تعیین دوز اپتیمم ترکیب متوکلوپرامید مشخص شد که دوز ۵ mg/Kg سطح GHT II سرم خون را در میزان بالاتری افزایش می‌دهد (۲). بررسی‌های متعدد نیز نشان می‌دهند که انواع مختلفی از آنتاگونیست‌های دوپامین مانند سولپراید (SUL) و متوکلوپرامید (MET) وجود دارند که می‌توانند ترشح II GTH را تحریک کرده و باعث ایجاد اوولاسیون در ماهیان شوند، هنگامی که به تنهایی یا در ترکیب با هورمون‌های سنتتیک برای مثال در گلدفیش‌ها، تیلاپیا و کپور معمولی به‌کار روند. بنابراین در تحقیق حاضر القای ترکیب هورمونی HCG+MET منجر به تسریع رسیدگی اووسیت شده است. این احتمال وجود دارد که در حالت ترکیبی، این ترکیبات اثر مثبت بر روی هم داشته باشند که در این حالت اجازه افزایش سطح GTH II را دادند.

Watanabe در سال ۱۹۹۸ اقدام به تکثیر مصنوعی Mutton (*Lutjanus analis*) snapper، با تزریق هورمون HCG در دوز IU/Kg ۱۰۰۰ نمود، که در پایان پس از گذشت ۳۳-۱۸ ساعت پس از القای هورمونی، ۸۰ درصد ماهیان تخم‌ریزی نموده و درصدهای لقاح و بازماندگی لارو به‌ترتیب ۷۵/۷ و ۷۹/٦ درصد گزارش گردید (۱۵)، در تحقیق حاضر نیز درصد لقاح ٦١ درصد و درصد بازماندگی لارو ۸۲ درصد تعیین شد.

با بررسی نتایج حاصل از تیمارهای تزریق شده با هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG) در ۳ دوز تزریقی (۳۰۰۰ IU/kg B.W. و ۲۰۰۰، ۱۰۰۰) در تحقیق حاضر مشخص شد، که HCG به تنهایی توانایی القای اوولاسیون و تخم‌ریزی را در مولدین ماده ماهی سیم ندارد. دلیل آن می‌تواند مربوط به عدم کنترل اثر مهاری دوپامین در آزاد سازی GTH در این گروه آزمایشی باشد. زیرا این اثر مهاری بر تنظیم ترشح GTH ماهیان و از جمله کپور ماهیان به اثبات رسیده است. مشابه چنین نتیجه‌ای در ماهی Summer Flounder (*Paralichthys denatus*)، گزارش شده بود (۵).

عدم جوابدهی مولدین ماده سیم در استفاده از هورمون HCG به تنهایی، با توجه به نتایج بررسی‌ها می‌تواند. زمان نامناسب تزریق HCG باشد. براساس گزارش های موجود در این مورد باید نمونه‌های اووسیت از ماهیان گرفته شود و براساس معیارها (موقعیت GV و افزودن قطره روغن) بهترین زمان تزریق HCG تعیین گردد، این نکته در ماهی سیم (*Abramis brama* L.) در عملیات هورمون تراپی با ترکیبی از هورمون HCG و

عصاره غده هیپوفیز تأیید شده است (۱۲). همچنین در بررسی دیگری بر روی ماهی دم زرد ژاپنی (*Seriola quinquerad*) مشخص شد که فقط ماهیانی که کاملاً رسیده و جهت تزریق آماده بودند، به تزریق HCG جواب مثبت دادند (۱٤).

تزریق هورمون HCG بصورت چند مرحله‌ای نیز باعث کارآمدی هورمون می‌شود، به‌طوری‌که بر طبق نتایج بررسی‌ها در گربه‌ماهی مکانگ (*pangasius bocourti*)، ابتدا چندین تزریق روزانه HCG در دوز پایین (۵۰۰IU.kg-1) و در ادامه، دو تزریق پیاپی HCG در دوزهای بالاتر (۲۵۰۰IU.kg-1 و ۱۵۰۰)، رسیدگی نهایی اووسیت‌ها و تخم‌ریزی را منجر شد، که به‌عنوان روشی کارآمد معرفی گردید (۷).

بکارگیری هورمون HCG در ماهیان غیرپرورشی که در فصل تخم‌ریزی از محیط طبیعی مانند دریاچه، رودخانه و... صید شوند، با موفقیت بیشتری همراه خواهد بود، که این موضوع در مورد ماهی باس استرالیایی (*Macquaria novemaculeata*) غیر پرورشی تأیید شده است (٤).

عدم کنترل اثر مهاری دوپامین در استفاده از هورمون HCG به تنهایی از دیگر دلایل ناموفق بودن کاربرد هورمون HCG به تنهایی در جوابدهی مولدین ماده سیم بود.

همچنین بر اساس یافته‌های سایر محققین، تیمار با HCG ممکن است بی‌تأثیر باشد و یا به‌منظور اوولاسیون نیازمند مقادیر زیاد و یا تکرار مصرف آن باشد (۵ و ۸).

بنابراین با توجه به نتایج حاصله در صورت استفاده از هورمون HCG، کاربرد متوکلوبرآیید به میزان mg/kg ۵ به همراه آن توصیه می‌شود.

منابع

۱- قناعت پرست، الف. ۱۳۷۲. تکثیر ماهی سیم با استفاده از هورمون LRH-A , CPE. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی. ۲٤۲ صفحه.

۲- کوهی لای، س. ۱۳۸٦. بررسی اثرات بکارگیری بلوکرهای دوپامینی (متوکلوپرامید و کلرپرومازین) به همراه LHRHa بر آزاد سازی GTH و رسیدگی جنسی تخمدان در ماهی سیم *(Abramis brama orientalis)*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، گروه بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.، ۱۹٦ صفحه.

۳- گلشاهی، ع. ۱۳۷٦. تعیین همخونی مولدین ماهی سیم در کارگاه‌های تکثیر و پرورش. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی. ۵۰ صفحه.

4.Battaglene, S.C. and Selosset, P.M. 1996. Hormone-induced ovulation and spawning of captive and wild broodfish of the catadromous Australian bass, *Macquaria novemaculeata* (Steindachner), (Percichthyidae), Aquaculture 27, 191-194.

5.Berlinsky, D.L., King, W., Hodson, R.G., and Sullivan, C.V. 1997. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. Journal of the World Aquaculture Society 28, 79-86.

6.Biswas, S.P. 1993. Manual of methods in fish biology. South Asian publishery. New Dehli, pp. 190.

7.Cacot, P., Legendre, M., Dan, T.Q., Tung, L., Liem, P., Mariojouls, C., and Lazard, J. 2002. Induced ovulation of *pangasius bocourti* with a progressive HCG treatment, Aquaculture 213, 199-203.

8.Donaldson, E.M., and Hunter, G.A. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in fish cultured, Fish physiology 9: (2), 351-403.

9.Drori, S.M., Ofire, B., Sivan, L., and Yaron, Z. 1994. Spawning inducing in common carp *(Cyprinus carpio)* using pituitary extract or GnRH super active analogue combined wit metoclopramide: analysis of hormone profile progress of oocyte maturation and dependence on temperature, Aquaculture 119, 393-407.

10.Fermin, C.A. 1991. LHRH-a and domperidon - induced oocyte maturation and ovulation in bighead carp, *Hypophthalmichthys nobilis*. Aquaculture 93, 87-94.

11.Glubokov, A.I., Motloch, N.N., and Sedova, M.A. 1991. Effect of a synthetic LHRH analogue and dopamine antagonist on the maturation of bream *(Abramis brama* L.*)* , Aquaculture 95 (3-4), 373-377.

12.Kucharczyk D., Kujawa R., Luczynski, M., Glogowski, J., Babiak, I., and Wyszomirska, E. 1997. Induced spawning in bream, *Abramis brama (L.)*, Using carp pituitary extract and HCG. Aquaculture, Res. 28, 139-144.

13.Peter, R.E., Sokolowska, C.S., and Nahoriniak, J.E. River. 1988. Induced ovulation and spawning of cultured fresh water in china, Aquaculture 74, 1-2.

14.Rahman, M.A., Ohta, K., Chuda, H., Nakano, S., Maruyama, K., and Matsuyama, M. 2001. Gonadotropin-induced steroidogenic shift towards maturation-inducing hormone in Japanese yellowtail during final oocyte maturation, Journal of fish Biology 58, 462-474.

15.Watanabe, W.O., Ellis, E.P., Ellis, S.C., Chaves, J., and Manfredi, C. 1998. Artificial propagation of Mutton Snapper *Lutjanus analis*, A new candidate marine fish species for aquaculture, Aquaculture 29 (2).

16.Woods, L.C. and Sullivan, C.V. 2001. Reproduction of striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), broodstock: monitoring maturation and hormonal induction of spawning, Aquaculture 24, 211-222.

Comparison of effects on hypophysis treatment with HCG and Metoclopramide in the efficiency of artificial propagation on bream reproduction fishes *(Abramis brama orientails* Berg 1905*)*

S. Dadras[1,*], A.A. Zamini[2], H. Khara[3], A. Ghanaat Parast[4] and S. Darvishi[5]
[1,2,3] Islamic Azad Uinversity, Lahijan Branch, Natural Resources Faculty, Fisheries Group, Lahijan, Iran,
[4,5]Rasht Shahid Ansari Bony Fishes Breeding and Propagation, Iran

Abstract

Bream fishes *(Abramis brama orientalis)* are the valuable bony fishes of Caspian Sea. With respect to this point that there is not any report in application of HCG hormone in composition with Metocloparmide on bream fishes, the executive operation of this research has been assessed on May 09, 2008 and it was coincident with the commencement of reproduction season. To execute this research, 7 groups of treatment have been considered which are included: hypothesis (4 mg/kg B.W.) as control group, treatment group of HCG with three injection doses (1000, 2000 and 3000 IU/kg B.W.) lonely and in compound with Metocloparmide with the dose of (5 mg/kg B.W.).With calculating of 5 females as the repetition for every treatment, totally 35 pairs of male and female breams were considered for this research. The results of this research showed that to the operations of hormone trophy with the only usage of HCG were not successful in any of the bream female reproduction fish but a compound of HCG hormone with Metoclopramide had a favorite result, so that the highest percent of response with the amount of 80% is belonged to treatment fishes of HCG with the dose of 2000 IU/kg in compound with MET with the dose of 5 mg/kg and control group. Also, the most percentage of egg fecundation was related to the above-mentioned treatment group with 61% and control group with 69%. In the viewpoint of the percentage of hatching, the most amount were related to treatments of HCG in two doses of 3000 IU/kg and 2000 IU/kg in compound with MET with dose of 5 mg/kg for 70 and 75 percent respectively and the control group with 78 percent. Therefore, with respect to the acquired results, treatment group of HCG with the dose of 2000 IU/kg in compound with MET at dose of 5 mg/kg and the control group have the most suitable particulars as the fecundation in artificial propagation of bream reproductions. Also, on the basis of the performed analysis on 35 bream reproduction fish, these averages are obtained: Average of weight: 792.43±59.38 g, Average of the total length: 34.19±1.06 cm, Average of the round of stomach: 26.31±0.98 cm, Average of age: 4.00± 0.14 year. In the statistical analysis on reproduction treatment groups of HCG in compound with MET and the control group which have given positive respond to the hormone injection operation, these measurements are determined: The degree- hour maturation of bream fishes: 308.92±14.97 degree-hours, The average of the extracted ovum weight: 87.09±8.44 g, The percent of the ovum weight to the body weight: 8.78±0.30 percent

Keywords: Artificial Propagation; Bream fish *(Abrama orientalis)*; Metoclopramide; HCG

*- Corresponding Author; Email: dadras_shilat@yahoo.com