

## بررسی مقایسه ای اثر تزریق هورمون GnRHa و عصاره هیپوفیز CPE بر القاء و همزمانی اوولاسیون، همآوری نسبی، درصد لقاح، تخمه‌گشایی، تلفات و بازماندگی لارو در ماهی طلائی *Carassius auratus*

محمد کریم رعیت پیشه<sup>۱</sup>، باقر مجازی امیری<sup>۱</sup>، سید حامد موسوی ثابت\*<sup>۲</sup>، زینب مرادخانی<sup>۳</sup> و صفورا محبی<sup>۴</sup>

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

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

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

۴- دانشگاه علوم پزشکی فسا

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۹/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۱/۳۰

### چکیده

در این پژوهش اثر تزریق هورمون GnRHa و عصاره هیپوفیز بر روند تسریع رسیدگی نهایی جنسی و زمان تخم‌ریزی، میزان همآوری نسبی، کیفیت تخم‌های قابل استحصال، درصد لقاح، درصد تخمه‌گشایی، تلفات و بازماندگی لارو در مولدین ماهی طلائی (*Carassius auratus*) مورد بررسی قرار گرفت. مولدین ماهی طلائی در ۵ گروه به ترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین هورمون GnRHa، ۳ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین عصاره هیپوفیز (CPE) و گروه شاهد (بدون تزریق هورمون) تقسیم بندی شدند. مولدین ماده دو مرحله و با فاصله دوازده ساعت و مولدین نر یک مرحله و همزمان با تزریق دوم مولدین ماده مورد تزریق قرار گرفتند. در پایان آزمایش در گروه‌های دریافت کننده هورمون، تمامی مولدین به مرحله باروری رسیدند. در حالیکه در گروه شاهد هیچ یک از مولدین به این مرحله نرسیدند. تعداد تخم‌های قابل استحصال در مولدینی که تحت تزریق هورمونی GnRHa و CPE قرار گرفتند، به ترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکروگرم GnRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۳ و ۵ میلی‌گرم CPE به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برابر با ۲۱۱۰±۵۷/۸۱، ۲۵۵۷±۴۱/۵۱، ۱۹۶۲±۵۵/۰۷ و ۲۴۲۹±۶۵/۰۱ بود، و افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان می‌داد ( $p < 0.05$ ). قابلیت باروری تخم ماهیان تحت تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE نیز به ترتیب برابر با ۱۳۹۹/۲۱±۴۷/۵۵، ۱۷۷۲/۷۲±۴۸/۴۷، ۱۱۷۹/۵۱±۴۹/۱۹ و ۱۵۹۰/۳۳±۳۸/۵۲ بود، تعداد لاروهای تفریخ شده به ترتیب برابر با ۱۲۰۶±۳۲/۹۶، ۱۴۹۱/۴±۳۶/۸۳، ۹۸۲/۸۴±۵۳/۵۳ و ۱۳۹۵/۳۴±۳۲/۲۳ بود، تعداد لاروهای بقا یافته نیز به ترتیب برابر با ۱۰۹۲/۹۶±۳۳/۴۱، ۱۳۳۶/۱۷±۴۱/۳۶، ۸۸۰/۶۲±۵۴/۴۳ و ۱۲۳۰/۷۴±۳۲/۸۹ بود، که به لحاظ آماری بین نتایج تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ).

**واژگان کلیدی:** ماهی طلائی، تولید مثل، هورمون GnRHa، عصاره هیپوفیز، *Carassius auratus*.

\*مسئول مکاتبه: Mosavii.h@gmail.com

### مقدمه

امروزه آکواریوم و ماهیان زینتی به خوبی توانسته‌اند در این دنیای صنعتی، جای خود را در خانه‌های مردم باز کنند و این شاخه از علم شیلات به یک صنعت بزرگ و تجارتي سود آور تبدیل شده است. ماهیان زینتی آب شیرین در مناطق مختلفی از جهان یافت می‌شوند و در صنعت آکواریوم مورد بهره‌برداری و تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند. این ماهیان عموماً بومی مناطق استوایی هستند، ولی در هر نوع شرایطی مطابق با شرایط اقلیمی آن نواحی، در آکواریوم قادر به زندگی خواهند بود (Sandford, 2003). در بسیاری از گونه‌های ماهیان زینتی، تکثیر موفقیت آمیز ماهیان در زمان‌های قابل تعیین، بسیار مطلوب است. این امر علاوه بر ایجاد امکان برنامه‌ریزی در کار تکثیر، بهره‌وری بیشتری را بدنبال دارد. همچنین اطلاع از زمان تخم‌ریزی راه کار مناسبی برای مدیریت امر تکثیر در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان به شمار می‌آید (Donaldson et al., 1983, Zohar, 1989a). بعلاوه امکان افزایش همآوری، درصد لقاح، درصد تخمه‌گشایی و درصد بازماندگی لارو در اثر

تزریق هورمون می‌تواند نتایج بهتری را در مقایسه با تولید مثل طبیعی حاصل نماید که این امر سبب افزایش بهره‌وری خواهد شد (Zohar, 1989a).

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

مطالعات بسیاری در خصوص پیش‌رس نمودن تخم‌ریزی ماهی‌ها با استفاده از تزریق هورمون‌های محرک تولیدمثل و عصاره هیپوفیز در گونه‌های مختلف ماهیان با ارزش انجام پذیرفته است. از این میان می‌توان به مطالعات معاشر (۱۳۷۹)، Andreu-Vieyra و همکاران (2005)، Fitzpatrick و همکاران (1984)، Mylonas و همکاران (1992) که به ترتیب روی ماهیان طلائی، گلدفیش، ماهی آزاد کوهو و قزل‌آلای قهوه‌ای صورت گرفت، اشاره نمود.

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

## مواد و روش کار

۲۵ جفت ماهی مولد گلدفیش در ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند. وجود ۵ جفت مولد در هر گروه به منزله ۵ تکرار برای هر تیمار بود. هر جفت ماهی در یک آکواریوم مجزا به صورت کاملاً تصادفی قرار داده شد. لازم به ذکر است که از لحاظ آماری ( $p < 0.05$ ) تفاوت معنی‌داری بین متوسط وزن (۱۱۶/۵۴ گرم) و طولی استاندارد (۱۳/۱۷ سانتی‌متر) ماهیان مورد بررسی وجود نداشت. دمای آب  $26 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد، pH بین ۷/۵ تا ۸/۳ و سختی کمتر از  $10 \pm 170$  میلی‌گرم در لیتر بود (ارجینی، ۱۳۸۸). میزان اکسیژن محلول بوسیله هوادهی مداوم در حد اشباع نگهداری شد. میزان غلظت نیتريت، نترات و آمونیاک نیز در اثر تعویض روزانه ۲۰ درصد آب آکواریوم‌ها و استفاده از ژئولیت در فیلترها، در حد مطلوب (کمتر از ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر) حفظ شد. طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و طول دوره خاموشی ۸ ساعت در طی ۲۴ ساعت بود (Sandford, 2003). دوز تزریق هورمون و عصاره هیپوفیز به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین هورمون GnRHa، ۳ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن مولدین عصاره هیپوفیز (CPE) و گروه شاهد (بدون تزریق هورمون) انتخاب گردید (جدول ۱) (معاشر، ۱۳۷۹؛ Andreu-Vieyra et al., 2005). مولدین قبل از تزریق هورمون بیهوش گردیدند، که برای این منظور از پودر گل میخک استفاده شد. بعد از بیهوشی کامل، مولدین طوری روی میز قرار گرفتند که باله پشتی آنها به سمت بالا قرار گیرد. برای آماده‌سازی غده هیپوفیز، تعداد غده مورد نظر در هاون پودر شده، در سرم فیزیولوژی ۰/۰۷ حل و سپس از توری با چشمه‌های ریز عبور داده شد، تا ناخالصی‌های آن گرفته شود. جهت تزریق هورمون از سرنگ‌های ۱ میلی‌لیتر انسولین استفاده شد. سوزن سرنگ حاوی محلول هورمون با زاویه ۴۵ درجه در زیر ناحیه باله پشتی وارد گردید و هورمون به میزان تعیین شده به صورت عضلانی به ماهی تزریق شد (معاشر، ۱۳۷۹). بعد از انجام عمل تزریق، خروج سرنگ به آرامی، همراه با ماساژ ناحیه تزریق هورمون صورت گرفت تا محلول هورمون تزریقی از بدن خارج نشود. گروه شاهد هیچ‌گونه تزریقی را دریافت نکردند. در این آزمایش تخمکشی و اسپرم‌گیری بصورت دستی از مولدین صورت گرفت و تخم و اسپرم در ظرفی استریل و خشک مخلوط گردید و با یک پر مرغ به آرامی به هم زده شد و پس از چند دقیقه کم‌کم به آن آب اضافه شد و چندین بار آب اضافه و خارج گردید تا آبگیری تخم‌ها انجام شود و سپس تخم‌ها به آرامی وارد آکواریوم انکوباسیون شدند (ارجینی، ۱۳۸۸). تخم‌های لقاح یافته روزانه یک بار با محلول سبز مالاشیت به مقدار ۱ میلی‌گرم در لیتر به مدت یک تا دو ساعت حمام داده شد تا مانع از قارچ زدگی تخم‌ها

شوند (معاشر، ۱۳۷۹). در تعیین همآوری، شمارش تخمک‌ها بصورت تخمینی و با روش حجمی صورت گرفت. در تعیین همآوری نسبی نیز، مولدین وزن شده و نسبت تعداد تخم‌های استحصال شده به وزن ماهیان برحسب گرم براساس فرمول ذیل محاسبه گردید (معاشر، ۱۳۷۹).

(وزن مولدین / تعداد کل تخمک‌ها) = هم‌آوری نسبی (تعداد تخمک‌های نمونه‌ها × وزن کل تخمک‌ها) = هم‌آوری مطلق

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

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

به منظور بررسی تاثیر استفاده از هورمون‌های القایی از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) با سطح معنی داری ( $p < 0.05$ ) و آزمون‌های مقایسه میانگین توکی (Tukey) و دان‌نت (Dunnet) استفاده شد. از آزمون توکی برای مقایسه معنی دار بودن نتایج بدست آمده از گروه‌های تحت تاثیر هورمون و از آزمون دان‌نت به منظور مقایسه نتایج بدست آمده از گروه‌های تحت تاثیر هورمون با گروه شاهد بهره گرفته شد. لازم به ذکر است که بررسی‌های آماری توسط نرم افزار SPSS (version 11.5) صورت پذیرفت.

جدول ۱- نوع هورمون، محل و مقدار تزریق هورمون

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

## نتایج

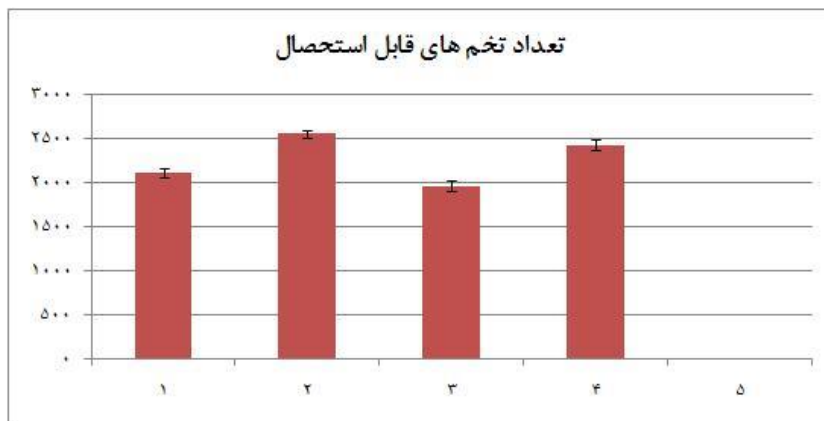
بعد از دومین مرحله تزریق هورمون، مولدین ماده در طی روز اول، چندین بار مورد معاینه قرار گرفتند تا در صورت آماده بودن و اووله شدن تخم‌ها، تکثیر شوند. این روند معاینه مولدین ماده تا ۱۲ ساعت پس از تزریق دوم ادامه یافت و ماهیان رسیده و آماده تکثیر بعد از شناسایی، در همان روز تکثیر شدند. در پایان این دوره،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

جدول ۲- مقایسه میانگین نتایج حاصل از آزمایش\*

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

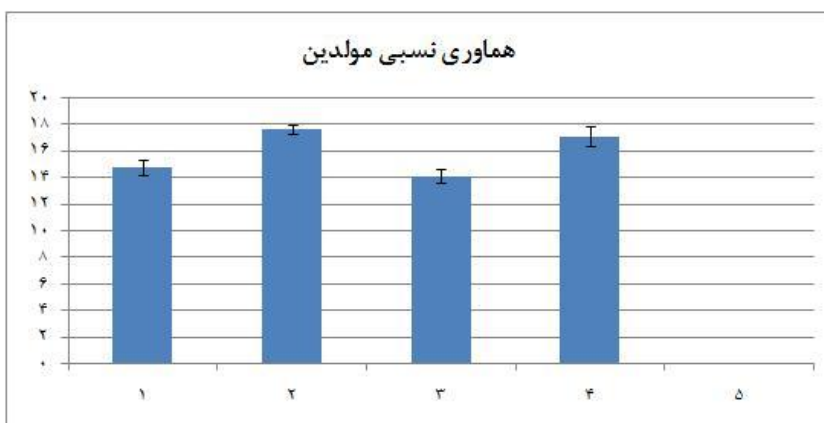
\*حروف لاتین (a, b, c, d) نامشابه در هر ستون نمایانگر وجود اختلافات معنی دار ( $p < 0.05$ ) بین گروه‌های آزمایشی هستند.

همانطور که از جدول (۲) و شکل (۱) استنباط می‌شود، تعداد تخم‌های قابل استحصال در ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE بودند به ترتیب در تیمارهای ۱ ( $1.0 \mu\text{g/kgBW GnRHa}$ )، ۲ ( $2.0 \mu\text{g/kgBW GnRHa}$ )، ۳ ( $3 \text{ mg/kgBW CPE}$ ) و ۴ ( $5 \text{ mg/kgBW CPE}$ )، برابر با  $2110 \pm 57/8.0715$ ،  $2557 \pm 41/5.077$ ،  $1962 \pm 55/0.7167$  و  $2429 \pm 65/0.1398$  بود. که از لحاظ آماری بین نتایج تیمارهای هورمونی ۱ با ۲ و ۳ با ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). براساس آزمون دانت اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای هورمونی و شاهد که هیچ هورمونی دریافت نکردند، مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ).



شکل ۱- نمودار میانگین ( $\pm SD$ ) تعداد تخم‌های استحصالی در تیمارهای ۱ ( $1.0 \mu\text{g/KgBW GnRHa}$ )، ۲ ( $2.0 \mu\text{g/KgBW GnRHa}$ )، ۳ ( $3 \text{ mg/KgBW CPE}$ )، ۴ ( $5 \text{ mg/KgBW CPE}$ ) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

هماوری نسبی ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE قرار گرفته بودند به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با  $14/11 \pm 0/50$ ،  $17/65 \pm 0/33$ ،  $14/79 \pm 0/60$  و  $17/08 \pm 0/73$  عدد تخم به ازای هر گرم وزن بدن بود (شکل ۲)، که بین نتایج تیمارهای هورمونی ۱ با ۲ و ۳ با ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). براساس نتایج بدست آمده از آزمون دانت اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای هورمونی و گروه شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).



شکل ۲- نمودار میانگین ( $\pm SD$ ) هماوری نسبی مولدین در تیمارهای ۱ ( $1.0 \mu\text{g/KgBW GnRHa}$ )، ۲ ( $2.0 \mu\text{g/KgBW GnRHa}$ )، ۳ ( $3 \text{ mg/KgBW CPE}$ )، ۴ ( $5 \text{ mg/KgBW CPE}$ ) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

درصد باروری تخم‌های استحصال شده از ماهیان مولد تحت تیمارهای هورمونی GnRHa و CPE به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با  $65/96 \pm 2/68$  و  $60/08 \pm 1/69$ ،  $69/29 \pm 1/40$ ،  $66/33 \pm 1/50$  بود (شکل ۳) که از لحاظ آماری بین نتایج تیمارهای ۱ با ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در حالی که بین نتایج بدست آمده در تیمارهای هورمونی دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). براساس نتایج آزمون دانت اختلاف معنی‌داری بین کلیه تیمارهای هورمونی و گروه شاهد مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ).



شکل ۳- نمودار میانگین (±SD) درصد باروری تخم‌های استحصالی در تیمارهای ۱ (GnRHα - 10 μg/KgBW)، ۲ (GnRHα - 20 μg/KgBW) - ۳ (GnRHα)، ۴ (CPE - 3 mg/KgBW)، ۵ (CPE - 5 mg/KgBW) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

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



شکل ۴- نمودار میانگین (±SD) درصد بقای لاروهای تفریخ شده در تیمارهای ۱ (GnRHα - 10 μg/KgBW)، ۲ (GnRHα - 20 μg/KgBW) - ۳ (GnRHα)، ۴ (CPE - 3 mg/KgBW)، ۵ (CPE - 5 mg/KgBW) و ۵ (شاهد- بدون تزریق هورمون)

## بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق، به بررسی اثرات هورمون‌های GnRHα و CPE در دوزهای مختلف به منظور القای اوولاسیون و تحریک ماهیان به تخم‌ریزی پرداخته شد. نتایج کلی بدین ترتیب بود که تعداد تخم‌های قابل استحصال در مولدینی که تحت تزریق هورمونی GnRHα و CPE قرار گرفتند، به ترتیب در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ برابر با ۲۱۱۰±۵۷/۸۱، ۲۵۵۷±۴۱/۵۱، ۱۹۶۲±۵۵/۰۷ و ۲۴۲۹±۶۵/۰۱ بود، قابلیت باروری تخم به ترتیب برابر با ۱۳۹۹/۲۱±۴۷/۵۵، ۱۷۷۲/۷۲±۴۸/۴۷، ۱۱۷۹/۵۱±۴۹/۱۹ و ۱۵۹۰/۳۳±۳۸/۵۲ بود، تعداد لاروهای تفریخ شده به ترتیب برابر با ۱۲۰۶±۳۲/۹۶، ۱۴۹۱/۴±۳۶/۸۳، ۹۸۲/۸۴±۵۳/۵۳ و ۱۳۹۵/۳۴±۳۲/۲۳ بود، تعداد لاروهای بقا یافته نیز به ترتیب برابر با ۱۰۹۲/۹۶±۳۳/۴۱، ۱۳۳۶/۱۷±۴۱/۳۶، ۸۸۰/۶۲±۵۴/۴۳ و ۱۲۳۰/۷۴±۳۲/۸۹ بود. محققین در مطالعات صورت گرفته بر روی گلدفیش و دیگر ماهیان استخوانی اطلاعات حائز اهمیتی درباره کنترل هورمونی رشد و تکامل غدد جنسی بدست آورده اند. علاوه بر هورمون‌های

گنادوتروپین، فاکتورهای دیگری بصورت موضعی تولید می‌شوند که نقش مهمی در کنترل رشد و تکامل غدد جنسی ایفا می‌نمایند. یافته‌های علمی نشان می‌دهد که GnRH بصورت ترشحات پاراکرین نقش بسزایی در رشد و تکامل غدد جنسی و کنترل مرگ سلولی در غدد جنسی که منجر به دژنره شدن فولیکول‌ها و بافت بیضه در ماهیان بالغ می‌شود ایفا می‌نماید (Andreu-Vieyra *et al.*, 2005, Andreu- Vieyra & Habibi, 2000).

بر اساس نتایج بدست آمده، تزریق هورمون GnRH و CPE به ماهی گلدفیش موجب القای اوولاسیون و تحریک این ماهیان به تخم‌ریزی شده است. این در حالی است که هیچ یک از مولدین تیمار شاهد که تحت هیچ گونه تیمار هورمونی قرار نداشته‌اند، در شرایط نگهداری مشابه، تخم‌ریزی انجام ندادند. به عبارتی پاسخ مولدین گلدفیش به تزریق هورمونهای GnRH و CPE در سطح ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشته است. نتیجه استفاده از تیمارهای هورمونی در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی همزمانی در رسیدگی جنسی اووسیت‌ها و افزایش تعداد مولدین ماده آماده تخم‌ریزی است. اوونزیز همزمان در ماهیانی نظیر آتلانتیک سالمون (Mylonas *et al.*, 1997)، کوهو سالمون (Donadlson *et al.*, 1984)، قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل‌آلای قهوه‌ای (Billard *et al.*, 1989) مؤید این مطلب است. این حالت در ماهیانی که دارای رسیدگی گروهی تخمک‌ها (Group-synchronous ovogenesis) می‌باشند، نظیر باس سفید و راه‌راه (Mylonas *et al.*, 1997) نیز مشاهده شده است. در این ماهیان تیمارهای هورمونی با GnRH موجب کاهش زمان بین اوولاسیون می‌گردد و میانگین حجمی تخم‌های قابل استحصال در هر مرحله بدون هیچ گونه تغییری در هم‌آوری کل افزایش می‌یابد. معمولاً القای اوولاسیون به منظور دستیابی به تعداد بیشتر تخمک قابل استحصال و با کیفیت بالاتر صورت می‌گیرد. لذا کیفیت تخم‌های بدست آمده از مولدینی که تحت تیمار هورمونی قرار داده می‌شوند از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است.

تعداد تخم‌های قابل استحصال از مولدین گلدفیش که تحت تیمار هورمونی GnRH و CPE به ترتیب با دوزهای  $5 \mu\text{g/kgBW}$  CPE و  $20 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH قرار داشته‌اند در سطح ( $p < 0.05$ ) بطور معنی داری بیشتر از تعداد تخم‌های ماهیان مولدی است که تحت تیمار دوزهای هورمونی  $10 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH و  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار داشته‌اند. در مورد کمیت تخم‌های استحصال شده از مولدین تحت تیمار انواع مختلف GnRH و سایر هورمون‌های سنتتیک و طبیعی القاکننده اوولاسیون در ماهیانی که در شرایط پرورشی بطور طبیعی قادر به تخم‌ریزی نیستند مانند کپور ماهیان چینی (Bromage *et al.*, 1995) مطالعات متعددی صورت گرفته است. نتیجه این تحقیقات حاکی از این است که استفاده از هورمون GnRH در مقایسه با سایر هورمون‌های سنتتیک و طبیعی در افزایش هم‌آوری نسبی کارایی بیشتری دارد.

میزان هم‌آوری نسبی مولدینی که تحت تیمار هورمونی GnRH و CPE به ترتیب با دوزهای  $20 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH با  $5 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار داشته‌اند در سطح ( $p < 0.05$ ) بطور معنی داری بیشتر از هم‌آوری نسبی ماهیان مولدی است که تحت تیمار دوزهای هورمونی  $10 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH با  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار داشته‌اند. همچنین تزریق عصاره هیپوفیز آزاد ماهیان (SPE) به ماهی کوهو سالمون موجب تحریک و القای اوولاسیون در این ماهیان شده است (Donalson *et al.*, 1983).

میزان باروری تخم‌های مولدین گلدفیش که تحت تیمار هورمون  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE در مقایسه با دیگر تیمارهای هورمونی در کمترین حد قرار دارد و از نظر آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری بین نتایج حاصل از این تیمار با دیگر تیمارها مشاهده شد. در مقابل باروری تخم‌ها در تیمارهای هورمونی GnRH و CPE با دوزهای  $20 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH و  $5 \text{mg/kgBW}$  CPE نسبتاً بالاست و از نظر آماری بین آنها در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. بین میزان باروری تخم‌های مولدینی که تحت تیمار هورمونی  $10 \mu\text{g/kgBW}$  GnRH قرار داشته‌اند نیز در سطح ( $p < 0.05$ ) بطور معنی داری در مقایسه با نتایج دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف وجود دارد. درصد باروری تخم‌ها نیز در تمامی تیمارهای هورمونی تقریباً مشابه یکدیگر بوده و از نظر آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی دار چندانی بین نتایج بدست آمده، مشاهده نمی‌شود.

در مواردی استفاده از هورمون‌های تزریقی به منظور القای ماهیان و تسریع رسیدگی و اوولاسیون همزمان تخمک‌ها ممکن است منجر به کاهش کیفیت تخم‌ها شود. این امر احتمالاً متاثر از هورمون‌های خاص یا ترکیبات همراه با آنها، مقدار دوز هورمونی تجویز شده، نحوه تزریق و انتقال هورمون، زمان تجویز هورمون، فاصله زمانی بین دو هورمون و زمان اوولاسیون طبیعی در گله مولدین، استرس‌های محیطی ناشی از دستکاری‌های پایایی، سلامت و وضعیت تغذیه‌ای ماهی است. استفاده از دوزهای بالای هورمونی نیز منجر به کاهش کیفیت تخم‌های ماهیان می‌گردد. تاثیرات سوء ناشی از بالا بودن دوز تزریقی یا استفاده بیش از حد از هورمون‌های GnRH در ماهیان مختلف گزارش شده است (Peter & Yu, 1997). البته بالا بودن دوز تزریقی یا استفاده بیش از حد از هورمون‌های GnRH نیز می‌تواند پیامدهای سوئی در پی

داشته باشد (Peter & Yu, 1997). در بسیاری از ماهیان تغییرات روزانه هورمون‌های گنادوتروپین GtH-II و یا اوولاسیون تخم‌ها در پاسخ به GnRHa صورت می‌گیرد که این پدیده در ماهی کپور معمولی و باس دریایی به اثبات رسیده است. لذا آزادسازی مداوم هورمون‌های GnRHa می‌تواند چرخه طبیعی ترشح هورمون‌های گنادوتروپین GtH-II را برهم بزند. استفاده از دوزهای بالای GnRHa و هورمون GtH-II همان طور که ذکر شد می‌تواند تاثیرات سوءیی بر روی کیفیت تخم‌های مولدین داشته باشد. که این امر مغایر با اهداف استفاده از هورمون‌های القا کننده می‌باشد. در این پژوهش، در کیفیت تخم‌های استحصال شده و بازماندگی لاروها با افزایش دوز هورمون‌های تزریقی تغییر معنی داری ( $p < 0.05$ ) مشاهده نشد. درصد بقای لاروها نیز در تمامی تیمارهای هورونی تقریباً مشابه یکدیگر بوده و از نظر آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری بین نتایج بدست آمده مشاهده نشد. در ماهی کفشک معمولی، استفاده از دوزهای بالای هورمون HCG موجب کاهش کیفیت تخم‌ها و کاهش نرخ باروری و لقاح شده است (Ramos, 1986). در ماهی قزل‌آلای قهوه‌ای نیز استفاده بیش از حد از هورمون GnRHa موجب کاهش کیفیت و نرخ باروری و لقاح تخم‌ها شده است، که بنظر می‌رسد این امر ممکن است ناشی از کوتاه شدن زمان بین القای هورمونی و اوولاسیون باشد (Mylonas et al., 1992). در ماهی آتلانتیک سالمون، تزریق بیش از حد هورمون در مراحل اولیه می‌تواند منجر به غیر طبیعی شدن تخم‌ها و مرگ و میر ۱۰۰ درصد آنها، پس از گذشت ۲۴ ساعت از لقاح گردد (Crim & Glebe, 1997). همچنین ممکن است اوولاسیون دچار اختلال شود. تزریق دوزهای کم GnRHa، اما در دفعات زیاد نیز علاوه بر ایجاد استرس در ماهیان ممکن است موجب افزایش دوز تزریقی به ماهیان گردد. این امر نیز ممکن است موجب افزایش بیش از حد ترشحات GtH II نسبت به دوز هورمونی مناسب در اوولاسیون طبیعی گردد. تزریق یک مرحله ای GnRHa تنها منجر به افزایش تحریک کوتاه مدت ترشح و آزاد سازی GtH-II می‌گردد. این دوز تحریک در ماهیان گلدفیش، قزل‌آلای رنگین کمان و سیم دریایی سر طلایی حداکثر ۳۶ تا ۴۸ ساعت پس از تزریق هورمون گزارش شده است (Zohar, 2001).

تعداد لاروهای تخمه‌گشایی شده در ماهیان مولد تحت تیمار هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای GnRHa  $20 \mu\text{g/kgBW}$  و  $5 \text{mg/kgBW}$  CPE متناسب با میزان باروری نسبت به دیگر تیمارهای هورمونی بالاتر است و بین نتایج بدست آمده در این دو تیمار با دیگر تیمارهای هورمونی در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری مشاهده شد. میزان تفریح لاروها از تخم مولدین گلدفیشی که تحت تیمار هورمون  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار گرفته اند، در مقایسه با دیگر تیمارهای هورمونی در کمترین حد قرار دارد و از نظر آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری بین نتایج حاصل از این تیمار با دیگر تیمارها مشاهده می‌شود. تعداد لاروهای بدست آمده از تخم مولدینی که تحت تیمار هورمونی  $10 \mu\text{g/kgBW}$  GnRHa قرار داشته اند نیز در سطح ( $p < 0.05$ ) بطور معنی داری با نتایج بدست آمده در دیگر تیمارها متفاوت است. بقای لاروهای ماهیان مولدی که تحت تیمار هورمونی  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار داشته اند در سطح ( $p < 0.05$ ) بطور معنی داری پایین تر از لارو سایر مولدین است. تعداد لاروهای بقا یافته از مولدینی که تحت تیمارهای هورمونی  $10 \mu\text{g/kgBW}$  GnRHa و  $20 \mu\text{g/kgBW}$  GnRHa و  $5 \text{mg/kgBW}$  CPE قرار داشته اند از لحاظ آماری در سطح ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری چندانی با یکدیگر ندارند.

در مجموع کارایی هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای GnRHa  $20 \mu\text{g/kgBW}$  و  $5 \text{mg/kgBW}$  CPE در اغلب موارد بیشتر از دوزهای هورمونی GnRHa  $10 \mu\text{g/kgBW}$  و  $3 \text{mg/kgBW}$  CPE بوده است. معاشر (۱۳۸۵) با تزریق هورمون GnRHa و LHRHa به دو صورت یک مرحله ای و دو مرحله ای به ماهی طلایی (*Carassius auratus*) نشان داد که هورمون‌های GnRHa و LHRHa موجب تسریع روند رشد و تکامل غدد جنسی ماهی طلایی می‌شود. هورمون GnRHa و LHRHa به ترتیب در دوزهای ۱ و ۰/۱ میلی گرم بر گرم وزن ماهی سبب افزایش معنی داری سطح GtH در مقایسه به غلظت‌های دیگر شده است و کارایی LHRHa نیز در مقایسه با GnRHa در افزایش طولانی مدت تر سطح GtH بیشتر است. در ماهیان استخوانی، اختلال در تخم ریزی و اوولاسیون در مولدین پرورشی و در شرایط اسارت می‌تواند ناشی از عدم رهاسازی هورمون لوتینیزینگ هیپوفیزی (LH) باشد (Zohar, 1989a). هورمون‌های سنتتیک و آنالوگ آزاد کننده گنادوتروپین (GnRHa) بطور گسترده‌ای در دو دهه گذشته به منظور القای سنتز و آزاد سازی LH از هیپوفیز مورد استفاده قرار گرفته است، که منتج به بلوغ نهایی اووسیت‌ها (FOM)، اوولاسیون و تخم ریزی ماهیان در شرایط پرورشی گردیده است (Peter & Yu, 1997). استفاده از هورمون‌های سنتتیک و آنالوگ GnRHa می‌تواند بصورت تزریق یک مرحله‌ای یا چند مرحله‌ای، به تنهایی یا همراه با یک ترکیب ضد دوپامین و با فاصله زمانی چند ساعت یا چند روز صورت گیرد. این تیمارهای هورمونی به طور موفقیت آمیزی در تحریک آزاد ماهیان (Fitzpatrick et al., 1984)، سیم دریایی گیلتهد (Zohar et al., 1989b) و بسیاری دیگر از ماهیان آب شیرین آسیایی (Peter et al., 1993) مورد استفاده قرار گرفته است.

در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان بیان نمود که کارایی هورمونی GnRHa و CPE با دوزهای  $20 \mu\text{g/kgBW}$  و  $3 \text{mg/kgBW}$  در اغلب موارد بیشتر از دوزهای هورمونی GnRHa  $10 \mu\text{g/kgBW}$  و CPE  $3 \text{mg/kgBW}$  بوده است و با عنایت به اهمیت تجاری تکثیر و پرورش ماهی طلایی، استفاده از تیمارهای هورمونی با دوزهای مذکور به پرورش‌دهندگان پیشنهاد می‌شود. بدیهی است استفاده از تیمارهای هورمونی با هدف تسریع در اوولاسیون و تکثیر این ماهیان ارزشمند به لحاظ بهره‌وری زمانی و استفاده مطلوب از عمر مفید مولدین و در نهایت بهره‌وری اقتصادی کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی دارای اهمیت بوده و توصیه می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

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

### فهرست منابع

- معاشر، ل. س. ۱۳۷۹. بررسی و مقایسه هورمون هیپوفیز GnRHa و آنالوگ آن (LRHa) در پیش‌رس کردن ماهی طلایی (*Carassius auratus*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران. ایران
- ارجینی، م. ۱۳۸۸. راهنمای گلدفیش (تکثیر و پرورش، تغذیه و بیماری‌ها). انتشارات برهمند. ایران
- Andreu-Vieyra, C.V. & Habibi, H.R. 2000. Factors controlling ovarian apoptosis. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 78:1003-1012.
- Andreu-Vieyra, C, Buret, A.G. & Habibi, H.R. 2005. Gonadotropin-releasing hormone induction of apoptosis in the testes of Goldfish (*Carassius auratus*). *Endocrinology*, 146: 1588-1596.
- Billard, R. 1989. *Endocrinology and fish culture*. *Fish Physiol. Biochem.*, 7: 49-58.
- Bromage, N.R. & Roberts, R.J. 1995. *Brood stock management and egg and larval quality*. Blackwell, Oxford.
- Crim, L.W. & Bettles, S. 1997. Use of GnRHa analogues in fish culture. In: Fingerman, M., Nagabhushanam, R., Thompson, M.F. Eds. *Recent advances in marine biotechnology*, Vol. 1: Endocrinology and reproduction. Oxford and IBH Publishing, New Delhi.
- Donaldson, E. M. & Hunter, G. A. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. and Donaldson, E. M. (Eds), *Fish Physiology: Reproduction*, IX, Part B, Behavior and Fertility Control, chap. 7., Academic Press, New York.
- Fitzpatrick, M. S., Suzumoto, B. K., Schereck, C. B. & Oberbillig, D. 1984. Luteinizing hormone-releasing hormone analogue induces precocious ovulation in adult Coho salmon, *O. kisutch*. *Aquaculture*, 43: 67-73.
- Mylonas, C. C., Hinshaw, J. M. & Sullivan, C. 1992. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. *Aquaculture*, 106: 379-392.
- Mylonas, C. C., Magnus, Y., Klebanov, Y., Gissis, A. & Zohar, Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *Journal of fish biology*, 51: 234-250.
- Peter, R.E., Lin, H.R., Van Der Kraak, G. & Little, M. 1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. In: Muir, J.F., Roberts, R.J. Eds, *Recent advances in aquaculture*. Blackwell Scientific, Oxford.
- Peter, R.E. & Yu, K.L. 1997. Neuro endocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Rev. Fish Biol. Fish*, 7: 173-197.



- 
- Ramos, J.1986. Induction of spawning in common sole (*Solea solea L.*) with human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture*, 56: 239-242.
- Sandford, G.2003. *Aquarium owners manual*. Dorling Kindersley. United Kingdom.
- Zohar, Y.1989a. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. In: Shilo, M., Sarig, S. Eds. , *Fish culture in warm water systems: problems and trends*. CRC Press. Boca Raton.
- Zohar, Y.1989b. Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction growth, and smoltification. *Fish Physiol. Biochem.*, 7: 395–405.
- Zohar, Y. & Mylonas, C.C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99–136.