مقایسه‌ی تأثیر تزریق ۳ مرحله‌ای هورمون LHRH-α_2+PG با تزریق ۲ مرحله‌ای عصاره‌ی هیپوفیز بر عملکرد تولید مثلی ماهی بنی

تکاور محمدیان[۱*]، مالک سیلاوی[۲]، احمدرضا حسینی[۳]، سیامک روحانی[۳]، اسماء محمدی[۴] و بختیار حیدری[۴]

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۷

خلاصه

ماهی بنی از خانواده‌ی کپور ماهیان و از ماهیان بومی استان خوزستان است که سالانه میلیون‌ها بچه ماهی ۵-۱ گرمی برای بازسازی ذخائر تالاب شادگان و هورالعظیم تولید می‌کند. هدف از این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای تأثیر آنالوگ هورمون LHRH-α2 به همراه عصاره‌ی هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) به روش ۳ تزریقه، با عصاره‌ی هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) به روش مرسوم (روش ۲ تزریقه) بر عملکرد تولید مثلی شامل میزان موفقیت تخم‌ریزی، دوره‌ی پنهان، وزن تخمک استحصالی به وزن مولدین، درصد لقاح در ماهی بنی است. ۲۰۰ قطعه ماهی در ۱۰ گروه (تیمار هورمونی) ۲۰ تایی (۱۸۰ قطعه به روش ۳ تزریقه و ۲۰ قطعه به روش تزریق ۲ مرحله‌ای هیپوفیز) تقسیم شدند. نتایج نشان داد که در روش ۳ تزریقه که دارای مرحله‌ی تزریق اضافه‌تری نسبت به گروه ۲ تزریقه بود، دارای دوره‌ی پنهان طولانی‌تری است. بیش‌ترین اثر نرخ تخم‌ریزی در یکی از گروه‌ها (۸ میکروگرم/کیلوگرم هورمون LHRH-α_2 در تزریق مرحله‌ی اول، ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم غده هیپوفیز در مرحله‌ی دوم و ۳ میلی‌گرم غده هیپوفیز در مرحله‌ی نهایی) حاصل شده است که دارای بالاترین مقدار در نرخ جواب‌دهی مولدین ماده‌ی بنی بوده است (۹۵٪). میزان نرخ تخم‌ریزی در این گروه با تمام گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در شاخص میزان تخم استحصالی به وزن بدن مولد، بیش‌ترین نسبت حاصل شده (۹/۷۹ ±۰/۶۲) و بیش‌ترین درصد لقاح (۹/۸٪) نیز در همین گروه دیده شد. نتایج حاکی از آن بود که روش تزریق سه مرحله‌ای در بهترین غلظت مناسب، از لحاظ عملکردی نسبت به روش تزریق ۲ مرحله‌ای بهتر بود و تیمار دو به عنوان غلظت مناسب برای تکثیر مصنوعی ماهی بنی محسوب می‌شود.

کلمات کلیدی: ماهی بنی، تحریک تخم‌ریزی، LHRH-α2، عصاره‌ی هیپوفیز کپور، روش تزریق

مقدمه

ماهی بنی[۱] یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی بالا بوده و از مرغوبیت خاصی برخوردار است (محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). به طور کلی ماهی بنی در ایران بومی هورالعظیم است و در آب‌های دارای جریان آرام (مصب رودخانه به هور) جایی‌که از گیاهان آبزی برخوردار است، زیست می‌کند. با توجه به این که مطالعات زیست‌شناسی، بوم شناسی، فیزیولوژی، مطالعه‌ی چرخه‌ی تولید مثل ماهی بنی، وارد مرحله‌ی پیشرفت خود شده است، رشد چشمگیری در توسعه‌ی تولیدمثل، تکثیر مصنوعی و هم‌چنین پرورش این ماهی با ارزش در کشور حاصل شده

[۱*] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: Takavar_m2002@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

[۳] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

[۴] دانش‌آموخته‌ی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

1- *Barbus sharpeyi*

است و سالانه میلیون‌ها بچه ماهی انگشت قد که نتیجه‌ی تکثیر مصنوعی این گونه است، تولید می‌شود. بخش اعظم این بچه ماهیان توسط شیلات خوزستان در هور شادگان و هورالعظیم، رودخانه‌های استان خوزستان و دریاچه‌های سد کرخه و سد دز رهاسازی می‌شوند؛ به طوری که در سال ۱۳۹۱ میزان ۷۱۶۰۰۰۰ قطعه بچه ماهی ۳-۱ گرمی توسط شیلات خوزستان در هورالعظیم و تالاب شادگان رهاسازی گردید. بخشی نیز به منظور پرورش در استخرهای خاکی به صورت توأم با کپور ماهیان چینی به بخش خصوصی به فروش می‌رسد (Kahkesh et al. 2010، محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). تولید مثل و تکثیر مصنوعی ماهی بنی پس از افزایش دما (بیش از ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) معمولاً از اواسط یا اواخر فروردین ماه آغاز می‌شود (نیک‌پی و همکاران ۱۳۷۵). ماهی بنی مانند بسیاری از ماهیان پرورشی، از جمله کپور ماهیان آسیایی، کفال، خامه ماهی و چند گونه از سوف ماهیان در محیط اصلی خود به‌راحتی به رسیدگی جنسی می‌رسند و تخم‌ریزی می‌کنند؛ اما در شرایط محصور قادر به تخم‌ریزی به صورت طبیعی نمی‌باشند؛ هر چند به رسیدگی جنسی می‌رسند و مقدار زیادی تخمک در تخمدان خود انباشته می‌کنند (Al Mukhtar 2009، معاضدی ۱۳۷۴). هیپوفیز از سال ۱۹۳۰ در تحریک تولید مثل و وادار کردن ماهی به تخمک‌گذاری و تخم‌ریزی، مورد استفاده قرار گرفته است. در حال حاضر عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز تنها گزینه‌ی مورد استفاده برای تکثیر ماهی بنی محسوب می‌شود. این غده بسیار گران بوده، همیشه به صورت آماده در دسترس نیست و با واکنش‌های غیرقابل پیش‌بینی همراه می‌باشد (Drori et al. 1994، محمدیان و همکاران ۱۳۸۸) و هم‌چنین دارای هورمون‌های ضد تولید مثلی نیز می‌باشد (بهمنی و همکاران ۱۳۸۱). یک روش دیگر برای القای اوولاسیون در بسیاری از ماهیان، استفاده از شکل‌های مختلف یا آنالوگ‌های هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) است که ترشح گنادوتروپین را تحریک می‌کند (Peter et al. 1987, Zohar 1989). ماهی بنی و دیگر ماهیان بومی، از قبیل گطان، عنزه، برزم و شیربت (شبوط) در القاء تخمک‌گذاری و تخم‌ریزی با هورمون $LHRH\alpha_2$ و عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز، مواد تناسلی آن‌ها به صورت همزمان به رسیدگی می‌رسد و آزاد می‌شوند. این یک مزیت برای مراکز تکثیر است؛ زیرا در مدت زمان کوتاهی می‌توان تخمک زیادی استحصال کرد (Kahkesh et al. 2010، محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). با توجه به اهمیت ماهی بنی در کشور، به دلیل این که یک گونه‌ی بومی و دارای پتانسیل رشد است و از بین رفتن ذخائر طبیعی این ماهی از سویی دیگر، تکثیر موفق این ماهی به هر طریقی را قابل توجیه می‌نماید. از آن جایی که تکثیر مصنوعی ماهی بنی با استفاده از غده‌ی هیپوفیز یا هورمون‌های سنتتیک به روش دو تزریقه، به‌تنهایی مؤثر نبوده است (Kahkesh et al. 2010). هدف از اجرای مطالعه‌ی حاضر بررسی مقایسه‌ای تأثیر آنالوگ هورمون $LHRH-\alpha_2$ به همراه عصاره‌ی هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) به روش ۳ تزریقه، با عصاره‌ی هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) به روش ۲ تزریقه (روش مرسوم) بر شاخص‌های تولید مثلی ماهی بنی از قبیل دوره‌ی پنهان (زمان بین انجام اولین تزریق و اوولاسیون)، نرخ تخم‌ریزی (تعداد ماهی‌های تخم‌ریزی کرده به تعداد ماهی‌های ماده تزریق شده)، درصد لقاح و دیگر شاخص‌های تولید مثلی در ماهی بنی است. این نکته نیز قابل ذکر است که هدف اصلی در این بررسی دستیابی به موفق‌ترین تیمار با کم‌ترین هزینه برای تکثیر مصنوعی این ماهی است.

مواد و روش کار

ذخیره و نگهداری مولدین

این مطالعه در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی دشت آزادگان وابسته به اداره‌ی کل شیلات خوزستان واقع در ۴۰ کیلومتری اهواز به انجام رسید. برای انجام این طرح از نسل پنجم و ششم والدین ماهیان بنی که از هور العظیم صید شده بودند، استفاده گردید. مولدین

ماهی بنی از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی دشت آزادگان انتخاب و در استخرهای کارگاه نگهداری شدند و مورد تغذیه قرار گرفتند. در این بررسی تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی (۱۸۰ قطعه به روش ۳ تزریقه در ۹ تیمار و ۲۰ قطعه به روش تزریق ۲ مرحله‌ای هیپوفیز) با میانگین وزن ۱۴۰۰±۴۵۸ گرم تحت تیمار قرار گرفتند. ماهیان قبل از تزریق از نظر شکل ظاهری، وزن، اندازه و سلامتی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت؛ سپس مولدین جداگانه وزن شدند و با علامت گذاری در باله پشتی به استخرهای بتونی در سالن تکثیر منتقل گردیدند. هورمون LHRH-α_2 ($LHRH - ethylamide\ [D\text{-}Ali^6 - des - GLY^{10}]_m$) ساخت کشور چین و غده‌ی هیپوفیز مرغوب و با کیفیت کپور معمولی استفاده گردید. ماهیان تحت تیمار LHRH-α_2 به همراه عصاره‌ی هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) غلظت‌های متفاوت (جدول ۱) مورد تزریق قرار گرفتند. لازم به ذکر است که تیمارهای شاهد نیز، بر اساس روند کاری مرکز تحت هیپوفیزکاری[1] با غلظت $4.5mg\ kg^{-1}\ b.w$ مطابق روش Billard در سال ۱۹۹۰ قرار گرفتند.

آزمایش‌ها

در این مرحله، ابتدا گروه‌های مورد آزمایش در دسته‌های ۲۰ تایی انتخاب شدند و گروه‌های آزمایشی همراه با گروه شاهد همزمان برای مقایسه‌ی تطبیقی مورد تزریق هورمون یا هیپوفیز قرار گرفتند. جابه‌جایی ماهیان به کمک بیهوشی با اسانس گل میخک[2] (غلظت ۶۰-۴۰ میلی‌گرم در لیتر) صورت گرفت و پس از بیهوشی، ماهیان توسط آب شست و شو داده شدند زیرا برخی مواد بیهوش کننده، مانند عصاره‌ی گل میخک قادرند قدرت تحرک اسپرم و کیفیت تخمک را کاهش دهند (ستاری ۱۳۸۱). در مرحله‌ی نخست، تزریق فقط از هورمون غلظت‌های مختلف LHRH-α_2 استفاده و در مراحل دوم و سوم، به ترتیب پس از مدت ۲۴ و ۱۲ ساعت از عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز استفاده شد. در ماهی مولد بنی هورمون LHRH-α_2 که با استفاده از محلول نمک ۰/۷ درصد آماده شده است، به عنوان مرحله‌ی اول تزریق یا مرحله‌ی مقدماتی، به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. این تزریق در مدت ۲۴ ساعت اثر مطلوبی روی هیپوفیز ماهی مولد گذاشت و منجر به ترشح به مقدار کافی GtH_2 گردید. برای کمک در ایجاد اثر مطلوب روی تخمدان‌ها، پیشرفت در بلوغ تخمک‌ها و رسیدگی همزمان آن‌ها، عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مرحله‌ی دوم تزریق گردید. در نهایت بعد از ۱۲ ساعت، برای رسیدگی کامل و بلوغ نهایی تخمک‌ها و آزاد شدن آن‌ها از تخمدان، در مرحله‌ی سوم عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز به میزان ۳ میلی‌گرم یا بیش‌تر تزریق شد تا پس از ۱۴-۱۳ ساعت در دمای ۲۴-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای مطلوب تکثیر ماهی بنی) تخمک‌ها سیال شده و به صورت دستی تخلیه صورت گیرد. بعد از تزریق، ماهیان در استخرهای بتونی داخل سالن با میزان اکسیژن کافی قرار گرفتند. بر اساس مشاهدات ظاهری چون نرمی شکم، وضعیت رفتاری ماهی و پس از اطمینان وقوع اوولاسیون در ماهیان، مولدین ماده صید گردیدند. تخمک‌های هر دو یا سه مولد را پس از لقاح در یک ظرف مناسب گذاشته و با کمک پر آن‌ها به هم زده شدند و کمی آب اضافه گردید تا اسپرم‌ها فعال و لقاح صورت گیرد. پس از یک ساعت شست و شو با آب معمولی تخم‌ها کاملاً آب کشیده و متورم شدند و در نهایت با محلول تانن ۰/۸ در هزار (برای هر یک لیتر تخم آب‌کشیده مقدار ۱-۲ لیتر محلول) به مدت کم‌تر از یک دقیقه شست و شو گردیدند (Zohar and Mylonas 2001). آخرین مرحله از عمل‌آوری تخم‌ها، انتقال تخم‌های متورم و آب‌کشیده به انکوباتور است. مدت زمان انکوباسیون با توجه به درجه‌ی حرارت آب سالن بین ۵-۳ روز طول کشید.

1- Hypophysation

۲- دارای ماده‌ای به نام اژینول با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{12}O_2$ است

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور مقایسه‌ی شاخص‌های تیمارهای تحت بررسی از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن استفاده گردید و مقایسه‌ی صفات کیفی با آزمون مربع کای انجام شد. α=۰/۰۵ مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید. نتایج به صورت Means±S.E.M مطابق روش Kulikovsky و همکاران در سال ۱۹۹۶ ارائه می‌شود.

جدول ۱: *روش تیمار کردن گروه‌ها*

گروه	مرحله‌ی اول	مرحله‌ی دوم	مرحله‌ی سوم
۱	LHRH-α_2 ۱۰ μg/kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۲	LHRH- α_2 ۸ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۳	LHRH- α_2 ۶ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۲/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۴	LHRH- α_2 ۱۰ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۵	LHRH- α_2 ۱۰ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۲/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۶	LHRH- α_2 ۸ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۷	LHRH- α_2 ۸ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۲/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۸	LHRH- α_2 ۶ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
۹	LHRH- α_2 ۶ μg /kg	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۳ mg/kg غده‌ی هیپوفیز
شاهد (۱۰)	.....	۰/۵ mg/kg غده‌ی هیپوفیز	۴ mg/kg غده‌ی هیپوفیز

نتایج

تمام ماهیان گروه‌های آزمایشی استفاده شده در این مطالعه در مرحله‌ی پیش از تخم‌ریزی در وضعیت یکسان قرار داشتند. نتایج حاصل به طور خلاصه در جدول ۲ آمده است. نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از این است که در همه‌ی گروه‌ها، تعدادی مولد با توجه به میزان تأثیر تیمارها، به رسیدگی جنسی رسیده و تخمک‌ها پس از بلوغ نهایی (اوولاسیون) رها شده و تخم‌ریزی صورت می‌گیرد. میزان شاخص‌های تولید مثلی حاصل شده از این تیمارها، در برخی گروه‌ها تقریباً یکسان و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) ولی در برخی، اختلاف مشاهده گردید.

دوره‌ی پنهان

مقایسه‌ی دوره‌ی پنهان در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد در سطح اطمینان ۹۵٪، اختلاف معنی‌داری در روش تزریق نشان داد (P<۰/۰۵)؛ به طوری که در روش ۳ تزریقه که دارای مرحله‌ی تزریق اضافه‌تری نسبت به گروه ۲ تزریقه است، دارای دوره‌ی پنهان طولانی‌تری بود؛ بنابراین نتیجه فوق قابل انتظار بود.

نرخ جواب‌دهی (تخم‌ریزی)

با مقایسه‌ی میانگین نرخ تخم‌ریزی در گروه شاهد با دیگر تیمارها، اختلاف معنی‌دار، مشاهده گردید (P<۰/۰۵). بیش‌ترین اثر در گروه دوم مشاهده گردید (جدول ۲) که دارای بالاترین مقدار در نرخ جواب‌دهی مولدین ماده بنی بود و از میان ۲۰ مولد ماده‌ی تحت تیمار قرار گرفته، تعداد ۱۹ ماده جواب داده و تخم‌ریزی کردند (۹۵٪) و با تمام گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند. بین گروه‌های ۱، ۸ هم‌چنین بین ۳ و ۱۰ نیز اختلافی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نسبت تخم استحصالی به وزن بدن

بیش‌ترین نسبت حاصل شده در گروه ۲ دیده می‌شود (۹/۷۹±۰/۶۲) و سپس در گروه‌های ۴، ۶، ۷ و ۸ ملاحظه می‌گردد. در بین این ۵ گروه، اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (P>۰/۰۵). کم‌ترین مقدار از این نسبت، در دو گروه شاهد و ۹ وجود دارد که با گروه‌های دیگر ذکر شده اختلاف معنی‌داری دارد (P<۰/۰۵).

شاخص هم‌آوری‌کاری

بیش‌ترین اثر تیمار برای این شاخص، در گروه دوم (۸ میکروگرم/کیلوگرم هورمون LHRH-α_2 در تزریق مرحله‌ی اول (۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم غده‌ی هیپوفیز در مرحله‌ی دوم و ۳ میلی‌گرم در مرحله‌ی نهایی) به تعداد ۴۲۱۹۶ عدد تخمک بارور حاصل شد (جدول ۲). همان طور که ملاحظه می‌شود، این گروه به ترتیب با گروه‌های ۱، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ در سطح اطمینان ۹۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵)؛ ولی با دو گروه شاهد و ۹ این اختلاف مشاهده می‌شود (P<۰/۰۵).

درصد لقاح

شاخص تولید مثلی مهم دیگری که در مطالعات و آزمایش‌های تولید مثل طبیعی و تکثیر مصنوعی ماهی مورد توجه قرار می‌گیرد و میزان تأثیر تیمار را در آن مقایسه می‌کنند، درصد لقاح است. بیش‌ترین اثر تیماری این شاخص در گروه ۲ مشاهده گردید (۸۹/۸٪) و کم‌ترین آن در گروه ۴ حاصل شد (۶۱/۸۶٪). با توجه به آنالیز داده‌های جدول ۲، مشاهده می‌شود که بین تیمار ۲ و ۳، ۳ و ۹ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵)؛ ولی بین گروه‌های دیگر اختلاف معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۵).

درصد تفریخ

یکی دیگر از شاخص‌های تولید مثلی که مورد توجه خاص قرار می‌گیرد، میزان هچ تخم‌های بارور حاصل شده است. این عامل نشان می‌دهد که از میان تخم‌های بارور شده، چه میزانی از آن‌ها قابلیت شکفتن (تفریخ) دارند و چه تعداد لارو یا نوزاد ماهی تولید شده است. بالاترین میزان هچ در گروه دوم و سپس به ترتیب در گروه‌های ۹، ۷، ۴، ۸ و ۳ وجود داشت و در میان آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)؛ ولی با دیگر گروه‌های تیماری این اختلاف وجود دارد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان به دست آمده، به ترتیب در گروه‌های ۶، ۱ و ۱۰ دیده می‌شود (جدول ۲). ضمناً در کلیه‌ی ماهیان تحت تیمار پرویلن گلایکول که در این تحقیق به عنوان کنترل منفی استفاده شد، رهاسازی تخمک مشاهده نگردید.

*جدول ۲: **میانگین‌ها** و خطای معیار **در سطوح تیماری شاخص‌های تولید مثلی ماهی بنی***

گروه	تعداد ماهی	نرخ جوابدهی (٪)	درصد وزن تخم به وزن بدن	هم‌آوری‌کاری (تعداد)	درصد لقاح	درصد تفریخ
۱	۲۰	^{d}۷۵٪	^{abc}۸/۱۱±۰/۵۱	^{abc}۳۴۹۸۲±۲۲۰۲	^{f}۶۹/۹۶±۰/۳۵	^{cd}۸۱/۴±۰/۳۳
۲	۲۰	^{a}۹۵٪	^{a}۹/۷۹±۰/۶۲	^{a}۴۲۱۹۵±۲۶۸۷	^{a}۸۹/۸±۰/۳۴	^{a}۸۷/۹۵±۰/۳۶
۳	۲۰	^{g}۶۰٪	^{abc}۸/۰۰±۰/۴۹	^{abc}۳۴۴۸۷±۲۱۴۸	^{ab}۸۷/۹۲±۰/۲۵	^{ab}۸۶±۰/۷۶
۴	۲۰	^{b}۸۵٪	^{ab}۹/۵۴±۰/۴۰	^{ab}۴۱۱۵۲±۱۷۵۲	^{g}۶۱/۸۶±۱/۷۴	^{ab}۸۶/۲۱±۰/۹۲
۵	۲۰	^{f}۶۵٪	^{bc}۷/۸۷±۰/۲۸	^{abc}۳۴۲۸۹±۱۲۱۳	^{e}۷۶/۳۴±۰/۴	^{b}۸۵/۷۱±۰/۳۷
۶	۲۰	^{h}۳۵٪	^{ab}۹/۵۷±۰/۵۶	^{ab}۴۱۲۷۶±۲۴۲۳	^{f}۶۸/۲۲±۰/۵۵	^{d}۸۰/۹۸±۰/۲۸
۷	۲۰	^{c}۸۰٪	^{ab}۹/۴۴±۰/۶۴	^{ab}۴۰۷۲۴±۲۷۹۶	^{c}۸۳/۶±۰/۳۱	^{ab}۸۷/۲۳±۰/۳
۸	۲۰	^{d}۷۵٪	^{ab}۹/۴۳±۰/۴۳	^{ab}۴۰۶۷۷±۱۸۷۵	^{d}۸۰/۲۶±۰/۴	^{ab}۸۶/۰۴±۱/۰۵
۹	۲۰	^{d}۷۵٪	^{bc}۶/۷۰±۰/۵۵	^{c}۲۸۸۹۷±۲۳۹۴	^{bc}۸۵/۷۷±۰/۲۵	^{ab}۸۷/۵۷±۰/۸۹
۱۰	۲۰	^{g}۶۰٪	^{c}۷/۷۸±۰/۷۹	^{bc}۳۳۵۳۳±۳۴۰۷	^{f}۶۸/۷±۰/۵۵	^{c}۸۳/۱۶±۰/۲۴

ـ حروف غیرمشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

بحث

با توجه به فرضیات و اهداف پیش‌بینی شده در تحقیق و انجام آزمایش‌های لازم، بررسی نتایج آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل آن‌ها مورد بحث قرار می‌گیرد. امروزه نیاز به استفاده از عوامل القاء کننده‌ی تکثیر، از قبیل عصاره‌ی غده-ی هیپوفیز، HCG ، GnRH و LHRH-α_2 در تکثیر مصنوعی خانواده‌ی کپور ماهیان از قبیل بنی، گطان، برزم، شیربت، کپور معمولی، کپور ماهیان چینی (کپور نقره‌ای، سرگنده و علف‌خوار) و کپورماهیان هندی به اثبات رسیده است (ناجی و همکاران ۱۳۸۸). در مطالعه‌ی حاضر، در تکثیر مصنوعی ماهی بنی به منظور موفقیت کامل در رسیدگی نهایی تخمک‌ها و تخم‌کشی دستی، استفاده از عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز در ترکیب با هورمون LHRH-α_2 مورد بررسی قرار گرفته است. ماهی بنی (با توجه به اندازه‌ی کوچک آن نسبت به کپور ماهیان چینی) به دلیل چسبندگی، عمل‌آوری و انکوباسیون تخم‌های آن نیاز به توجه و دقت بیش‌تری دارد تا شاخص‌های تولید مثلی، مانند هم‌آوری‌کاری، درصد لقاح، درصد تفریخ، درصد میزان تخم استحصالی نسبت به وزن بدن، شاخص رسیدگی جنسی ماهیان ماده (GSI)، درصدبازماندگی و سلامت کامل لارو، از افزایش بالاتری برخوردار شوند.

برای دست‌یابی به شاخص‌های تولیدمثلی مطلوب، نیاز به بهره‌گیری از یک القاء کننده‌ی مؤثر در تخم‌ریزی با دوز مناسب تزریقی است؛ چرا که در رسیدگی جنسی مولدین اثر مطلوبی ایجاد می‌کنند. موفقیت استفاده از هورمون LHRH-α_2 به تنهایی یا در ترکیب با دیگر القاء کننده‌ها، مانند عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز، مهار کننده‌های دوپامینی و غیره در القاء تخم‌ریزی ماهیان زینتی مانند گورامی سه خال[1] (ناجی و همکاران ۱۳۸۸) و ماهیان پرورشی از جمله ماهی آزاد کتا[2] (Berton et al. 1973)، باس دریایی، خرگوش ماهی[3] (Harvey et al. 1985)، خامه ماهی (Marte et al. 1987)، در تولید انبوه لارو با کیفیت بسیار مورد توجه و استفاده قرار گرفت. استفاده از هورمون LHRH-α_2 همراه با عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز، به دلیل داشتن تأثیر مثبت و مطلوب روی نرخ تخم‌ریزی، درصد لقاح و تفریخ و درصد بازماندگی لارو ماهیان بنی در مقایسه با دیگر کیت‌های القاءکننده، مانند اوتاید[4]، اواپریم[5]، اوافکت[6] و دیگر آنالوگ‌های GnRH، بسیار مؤثرتر و با صرفه‌تر است (محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). نتیجه‌ی این تحقیق با نتایج نظری‌رجب و همکاران در سال ۱۳۸۷ که با استفاده از هورمون LHRH-α_2 در تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی ایرانی (قره برون) در دوزهای ۳/۵، ۷ و ۸ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن منجر به جواب‌دهی ۱۰۰ درصد گردید، تقریباً مطابقت دارد. دوره‌ی پنهان یا مدت زمان بین تزریقات تا هنگام تخم‌کشی در این مطالعه برای تمام تیمارها ۵۰ ساعت و برای گروه شاهد ۲۶ ساعت حاصل گردید. هر چند دوره‌ی پنهان نسبت به گروه شاهد تقریباً دو برابر است، ولی به دلیل دست‌یابی به مقادیر فراوان تخمک و نرخ جواب‌دهی بسیار زیاد در گروه‌ها و تهیه‌ی زیاد لارو ماهی، از لحاظ اقتصادی با ارزش‌تر است. Al Mukhtar در سال ۲۰۰۹ گزارش کرده است که در تکثیر بنی با استفاده از هورمون در تزریق دو مرحله‌ای با فاصله زمانی ۲۴ ساعته بین دو تزریق، ماهی پس از ۲۴ساعت جواب داده است و بدین معنی که دوره‌ی پنهان ۴۸ ساعت است که با نتایج تحقیق حاضر شباهت

1- *Trichogaster trichoptera*
2- *Oncorhynchus kisutch*
3- Rabbit fish
4- OVATID:20µg/ml sGnRH +10mg/ml domperimone/canada
5- *OVAPRIM* : 20µg/ml sGnRH +10mg/ml domperimone/INDIAN
6- *OVA – FACT*

دارد. گزارش شده است که دوره‌ی پنهان در ماهی کپور معمولی در تیمار با LHRHα+DOM (آنتی دوپامین دامپریدون) در دمای ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به صورت تزریق دو مرحله‌ای حدود ۳۰-۲۸ ساعت و در کپور آینه‌ای تیمار شده با LHRHα+HAL (آنتی دوپامین هالاپریدول) در دمای ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۱۶-۱۴ساعت است (Al Mukhtar 2009, Arabaci et al. 2004). در تیمار با LHRHα+MET (آنتی دوپامین متوکلروپرامید) این دوره در دمای آب ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد، کم‌تر از ۱۶-۱۴ است (Drori et al. 1994). جالب توجه است که Haloperidol بر خلاف متوکلروپرامید در آب مستقیماً حل نمی‌شود و این کوتاهی دوره‌ی پنهان در تیمار با LHRH+MET، شاید به دلیل جذب سریع یا دریافت سریع مواد است که باعث تخم‌ریزی زودتر شده است (Arabaci et al. 2004، محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). مدت زمان جواب‌دهی در تیمار با عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز کپور در مقایسه با تیمار هورمون LHRHα کوتاه‌تر است، زیرا ترکیب LHRHα دارای اثر روی هیپوفیز ماهی مولد است؛ در حالی که عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز کپور دارای یک اثر مستقیم گنادی است که احتمالاً دوره‌ی پنهان طولانی‌تر در ماهیان تحت تیمار با LHRHα به آن مربوط می‌باشد. در مقایسه با ماهی تیمار شده با عصاره‌ی هیپوفیز گزارش شده است که دوره‌ی پنهان در مولد بنی تیمار شده با هیپوفیز و آنالوگ GnRH[1] در دمای ۲۵-۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به ترتیب ۲۴/۴ و ۲۲/۴ ساعت (محمدیان و همکاران ۱۳۸۸) و در تیمار با ترکیب $LHRHα_2$ + CpE به صورت تزریق دو مرحله‌ای ۲۴/۴ ساعت است (Kahkesh et al. 2010). مدت زمان جواب‌دهی بنی در این دو روش خیلی نزدیک به هم است و دلیل این تشابه احتمالاً به درجه‌ی حرارت آب بستگی دارد. در تحقیق حاضر متوسط درصد نرخ تخم‌ریزی در تیمارها (به جز تیمار شاهد) ۷۲/۷۷٪ است. بالاترین نسبت نرخ تخم‌ریزی در گروه دوم مشاهده می‌شود. این نسبت ۹۵٪ با گروه شاهد (هیپوفیزاسیون) و سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۵). نرخ تخم‌ریزی در گروه شاهد ۶۰٪ است. هورمون $LHRH-α_2$ در صورتی که به همراه عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز در تکثیر بنی استفاده شود، اثرات بیش‌تری روی بلوغ نهایی تخمک‌ها دارد و در نتیجه تعداد ماهی ماده‌ی بیش‌تری از بین ماهیان تیمار شده تخم‌ریزی موفق خواهند داشت؛ مخصوصاً اگر تعداد دفعات تزریق بیش از دو نوبت باشد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج نظری‌رجب و همکاران در سال ۱۳۸۷ در تکثیر تاس ماهی ایرانی (قره برون) با استفاده از هورمون $LHRH-α_2$ نشان داد که تزریق مقادیر ۳/۵ و ۷ و ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن، به ترتیب ۸۰ و ۱۰۰٪ این ماهی‌ها تخم‌ریزی کرده‌اند، هماهنگی دارد. هم‌چنین با نتایج تحقیق درافشان و همکاران در سال ۱۳۸۲ از نظر نرخ تخم‌ریزی روی کپور معمولی که بر اثر تیمار با GnRHα ۹۰٪ بوده است نیز، هماهنگی دارد. Paykan-Heyrati و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی هورمون GnRHα بر روی ماهی سفید دریای خزر با نرخ تخم‌ریزی ۹۰٪-۷۰ و Aizen و همکاران در سال ۲۰۰۵ در ماهی کفال خاکستری با نرخ تخم‌ریزی بیش از ۸۵٪، Kahkesh و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی تأثیر هورمون $LHRH-α_2$ همراه با عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز روی ماهی بنی با نرخ تخم‌ریزی بالای ۸۵٪ دست یافته‌اند. میانگین نسبت تخم به وزن بدن حاصل شده در این بررسی ۸/۶۷٪ است که بالاترین آن مربوط به گروه دوم ۰/۶۳±۹/۷۹٪ می‌باشد. نسبت‌های مشابهی توسط محمدیان و همکاران در سال ۱۳۸۸ در بررسی تأثیر آنالوگ GnRH روی شاخص‌های تولید مثلی بنی حاصل گردید و آنان مشخص کردند که نسبت تخم به وزن بدن در روش هیپوفیزاسیون ۸/۴۱٪ و در روش لینپه ۱۱/۸۶٪ می‌باشد (Kahkesh et al. 2010، محمدیان و همکاران در سال ۱۳۸۸). در این بررسی درصد

1- Ovafact

جواب‌دهی مولدین و نسبت تخم حاصل شده به وزن بدن در گروه شاهد (هیپوفیزاسیون) نسبت به تیمار LHRH-α_2+C.P.E کم‌تر است (۶۰٪). پایین بودن وزن تخم استحصالی به وزن بدن مولدین بنی (در گروه شاهد)، را احتمالاً به این دلیل می‌توان عنوان کرد که وقتی به ماهی عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز تزریق می‌گردد، بلافاصله سطوح گنادوتروپین‌های خون افزایش می‌یابد که در این حالت مقدار کمی از این هورمون‌ها مصرف می‌شود؛ در حالی که وقتی از آنالوگ‌های GnRH استفاده می‌شود این هورمون روی سلول‌های گنادوتروپیک هیپوفیز اثر کرده و باعث آزادسازی هورمون گنادوتروپین II می‌شوند (بهمنی ۱۳۸۰). ضمناً ستاری در سال ۱۳۸۱ علت دیگر پایین بودن شاخص تولیدمثلی را بروز واکنش‌های ایمنی‌شناسی می‌داند؛ با ایجاد پادتن علیه هورمون‌های محرک غدد جنسی کارایی تزریقات بعدی را کاهش می‌دهد؛ در حالی که اندازه‌ی نسبتاً کوچک آنالوگ‌های GnRH باعث می‌شود که هنگام استفاده از آن‌ها واکنش‌های ایمنی‌شناسی تحریک نشود. ماهی مولد بنی ماده با وزن بیش از یک کیلوگرم در فصل تولید مثل، به دلیل وجود شاخص ایمنی سرمی ایمنوگلبولین M نسبت به ماهیان ماده‌ی کوچک‌تر و نرهای بنی، از توانایی ایمنی بالاتری در مقابل مواجه با استرس و دستکاری‌ها و انواع عامل‌های بیماری‌زا برخوردار است، که در پی این عامل مهم ماهی به توان بدنی و بازماندگی بالا و هم‌چنین احتمالاً از توان تولید مثلی بسیار خوبی برخودار می‌گردد (خدادادی و همکاران ۱۳۸۸). در این مطالعه، متوسط هم‌آوری‌کاری حاصل شده بین تمام گروه‌ها ۹۰۳۶±۳۷۴۵۲ می‌باشد که بالاترین آن مربوط به گروه دوم (۴۲۱۹۶ عدد تخمک خشک) است و در گروه شاهد هم‌آوری‌کاری برابر ۳۳۵۳۴ عدد تخمک خشک است. Kahkesh و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر هورمون LHRH-α_2 به‌تنهایی و یا در ترکیب با غده هیپوفیز روی ماهی بنی را بررسی نمودند که در تیمار با هورمون LHRH-α_2 به‌تنهایی نتیجه‌ای حاصل نشد؛ اما در تیمار LHRH-α_2 به همراه غده‌ی هیپوفیز در دو مرحله‌ی تزریق با نتیجه‌ی این تحقیق مطابقت دارد (Kahkesh et al. 2010) . هم‌چنین تیمار با HCG به‌تنهایی نمی‌تواند در ماهی بنی، ماهی طلایی و کپور علف خوار القاء تخم‌ریزی به وجود آورد؛ ولی در ترکیب با غده‌ی هیپوفیز می‌تواند در ماهی کپور نقره‌ای و کپور هندی (روهو) باعث تخم‌ریزی گردد (Bhowmick 1979، محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). در طی تحقیقی توسط Levavi-Sivan و همکاران در سال ۲۰۰۴، دست‌یابی به روش مناسب در القاء تخم‌ریزی ماهی سوف نقره‌ای[1] با دریافت مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم از sGnRH و ۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم از هورمون mGnRH، مشخص گردید که بیش‌ترین تخم‌ریزی در اثر تزریق ۳۰، ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم sGnRH حاصل شده و هم‌آوری‌کاری آن‌ها به ترتیب ۱۹۸۰۰۰ و ۱۳۹۰۰۰ عدد تخم و حجم تخم نیز به ترتیب برای این دو دوز ۶۶۶/۸۲ و ۴۲۷/۲۷ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بوده است. هم‌چنین نرخ تخم‌ریزی در این دو گروه صددرصد است که با تحقیق حاضر از نظر انجام اولاسیون و تخم‌ریزی شباهت دارد. البته مدت زمان جواب‌دهی ۴۲-۴۱ ساعت پس از تزریق بوده است که در مقایسه با ماهی بنی (۵۰ ساعت) کمی کم‌تر است. میزان زیاد هم‌آوری‌کاری بالا در بعضی از تیمارها، احتمالاً به دلیل اثر کمکی LHRH-α_2 در آزادسازی هورمون گنادوتروپین از هیپوفیز مولد می‌باشد که به همراه دو تزریق بعدی غده‌ی هیپوفیز اثر اوولاسیون بهتری نسبت به روش دوتزریقه به‌تنهایی غده‌ی هیپوفیز، LHRH-α_2 یا PG+ LHRH-α_2دارد. در تحقیق حاضر حداقل و حداکثر مقادیر درصد لقاح حاصل شده بین تمیارها به ترتیب، ۶۱/۸۶ و ۸۹/۸۰٪ می‌باشد که بیش‌ترین مقدار به تیمار دوم و کم‌ترین آن به تیمار ۴ تعلق دارد. درصد لقاح

1- *Bidyanus bidyanus*

تیمار شاهد ۶۸/۷٪ است. هم‌چنین در مطالعه‌ی حاضر درصد بازماندگی بسیار بالای تخم در مدت زمان انکوباسیون و درصد تخم‌گشایی (هچ) نسبتاً عالی در تیمار دوم (۸۷/۹۵٪) به دست آمد. درصد تخم‌گشایی بین تیمارهای دوم با تیمارهای سوم، چهارم، هفتم هشتم و نهم اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد؛ ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای بالا با گروه شاهد (۸۳/۱۶) دیده می‌شود (P<۰/۰۵). درصد لقاح در تحقیق حاضر با نتایج آزمایش بهمنی و همکاران در سال ۱۳۸۱ در ماهی ازون برون، درفشان و همکاران در سال ۱۳۸۲ روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و تحقیق Arabaci و همکاران روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و سیم دریایی و مخدومی در سال ۱۳۷۲ در کپور نقره‌ای هماهنگی دارد. Berton و weil در سال ۱۹۹۰ در قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش کردند که کاربرد هورمون LHRH-α_2 تأثیر منفی روی کیفیت تخم، درصدلقاح، درصد تخم‌گشایی و بازماندگی لارو نداشته است که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت دارد. هم‌چنین نتایج حاصله منطبق با نتایج تحقیق Arabaci و همکاران در سال ۲۰۰۴ در سیم دریایی بود که هیچ گونه تلفاتی در مراحل مختلف بعد از تخم‌ریزی مشاهده نگردید (Al Mukhtar 2009, Arabaci et al. 2004).

Abdul Majid Khan و همکاران در سال ۲۰۰۶ در هچری پنجاب پاکستان تشریح کردند که بر اثر تزریق یک مرحله‌ای ماهی روهو[1] با هورمون‌های اواتید و اواپریم به ترتیب نسبت‌های درصد لقاح ۶۹ و ۵۴، نسبت درصد تفریخ ۳۷ و ۴۲ حاصل گردید. این نتایج هر چند از نظر مقدار در مقایسه با تحقیق حاضر کم‌تر است، ولی این هورمون‌ها توانسته‌اند ماهی روهو را وادار به تخم‌ریزی کنند. با توجه به تجربیات گذشته در تکثیر بنی، درصورت استفاده از غده‌ی هیپوفیز به‌تنهایی در تکثیر ماهیان ماده بنی با بیش از یک کیلوگرم مشکل عدم رهاسازی تخمک‌ها از تخمدان مشاهده می‌شود و اکثر ماهیان مولد تخم‌ریزی نمی‌کنند و این باعث می‌شود تمام ماهیان جواب نداده با شکمی متورم و پر از تخمک بعد از مدتی کوتاه (۲-۵ روز) تلف شوند (محمدیان و همکاران ۱۳۸۸). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار کردن بنی با LHRH-α_2+CPE در تزریق سه مرحله‌ای نسبت به روش تزریق دو مرحله‌ای غده‌ی هیپوفیز به تنهایی باعث افزایش جواب‌دهی مولدین و تخم‌ریزی موفق و استحصال تخم با کمیت و کیفیت مطلوبی می‌گردد؛ به طوری که اکثر گروه‌های تیماری از برتری بالایی در شاخص‌های تولید مثلی برخوردارند. لازم به ذکر است که پس از انجام این تحقیق از این پروتکل تکثیر برای القای تخم‌ریزی در مرکز تکثیر ماهیان بومی استفاده می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب دکتر مهرزاد مصباح و هم‌چنین تمامی کارکنان مرکز تکثیر ماهیان بومی دشت آزادگان، به‌خصوص جناب آقای مهندس سواری که در انجام این تحقیق همکاری لازم را مبذول داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

بهمنی، محمود (۱۳۸۰). تحلیلی بر گزینه‌های شاخص در ساختار زیستی ماهیان خاویاری دریای خزر. سمینار زیست محیطی دریای خزر، گرگان، صفحه‌ی ۲۸.

1- *Labeo rohita*

بهمنی، محمود؛ کاظمی، رضوان‌الله؛ امینی، کورش؛ محسنی، محمود؛ دونسکایا، پاول و پیسکوونوا، لاری (۱۳۸۱). گزارش نهایی پروژه‌ی ارزیابی کیفی تاسماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی. انتشارات مؤسسه‌ی تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۵۴-۵۹.

خدادادی، مژگان؛ انصاری، مهسا؛ پیغان، رحیم؛ محمدی، غلام‌حسین و رئیسی، مهدی (۱۳۸۸). بررسی برخی پارامترهای سرمی مولدین ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در فصل تولید مثل. پژوهش‌های مجله‌ی علوم و فنون دریایی خرمشهر، صفحات ۴۳-۳۸.

درافشان، سالار؛ مجازی‌امیری، باقر؛ مصطفوی، حسین و پیکان‌حیرتی، فاطمه (۱۳۸۲). القای تخم‌ریزی در قزل‌آلای رنگین کمان ماده به وسیله‌ی آنالوگ GnRH. مجله‌ی شیلات ایران، شماره‌ی ۱۱، صفحات ۲۹-۲۳.

ستاری، مسعود (۱۳۸۱). ماهی‌شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر، صفحه‌ی ۴۲۵.

محمدیان، تکاور؛ کوچنین، پریتا؛ نیکو، سارا؛ شیخ‌الاسلامی، مجتبی؛ بیتا، سراج؛ اسکندری، غلامرضا و ابهری‌سه‌گنبد، حسن (۱۳۸۸). مقایسه‌ی تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی‌دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینپه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) بر شاخص‌های رسید جنسی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله‌ی دامپزشکی ایران، سال پنجم، شماره‌ی دوم، صفحات۸۰-۷۱.

مخدومی، چنگیز (۱۳۷۲). نقش و کاربرد هورمون‌های سنتتیک در تکثیر مصنوعی ماهی کپور نقره‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شماره‌ی ۱۱۲، دانشکده‌ی منابع طبیعی دانشگاه تهران، صفحه‌ی ۸۷.

معاضدی، جلیل (۱۳۷۴). ماهی بنی، فصلنامه آبزی پرور، سال سوم، شماره‌ی ۹، صفحات ۷-۵.

ناجی، طاهره؛ حسین‌زاده‌صحافی، همایون؛ شکیباییان، گلناز؛ جاذبی‌زاده، محمدکریم و اجتماعی‌فر، شهرام (۱۳۸۸). تأثیر هورمون به تنهایی و در ترکیب با پیموزاید بر القاء رسیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال. پژوهش‌های مجله‌ی علوم و فنون دریایی، صفحات ۵۴- ۴۳.

نظری‌رجب، محمد و مدانلوکردکلایی، مریم (۱۳۸۷). بررسی کاربرد هورمون LHRH-α_2 در تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی ایرانی (قره برون *Acipenser persicus*)، مجله‌ی شیلات، سال دوم، شماره‌ی چهارم، صفحات ۶۳-۵۴.

نیک‌پی، منصور؛ اسکندری، غلامرضا و دهقان‌مدیسه، سیمین (۱۳۷۵). گزارش نهایی پروژه بررسی بیولوژیک ماهی شیربت و ماهی بنی. مؤسسه‌ی تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۱۰-۱ و ۶۴-۵۲.

Aizen, j.; Meiri, I.; Tzchori, I.; Levavi-Sivan, B. and Rosenfeld, H. (2005). Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. General and Comparative Endocrinology, 142: 212-221.

Al Mukhtar, M.A. (2009). Propagation planning and hatchery construction for Bunnei (*Barbus Sharpeyi*, Gunther 1874) in Basra-Iraq. Mediterranean Aquaculture Journal, 2: 1-7.

Arabaci, M.; Cagirgan, H. and Sari, M. (2004). Induction of ovulation in ornamental common carp (Koi, *Cyprinus carpio* L.) using LHRHa ([D-Ser (tBu) 6, Pro-Net]-LHRH) combined with haloperidol and carp pituitary extract. Aquaculture Research, 35: 10-14.

Berton, B. and Weil, C. (1973). Effects du LH/FSH –RH Synthetique et extraits hypothlamiques decarpe sur la secretion de hormone gonad trope in vivo chez la car *(Cyprinus carpio)*", C.R. Academy Science Paris, 27: 2061-2064.

Berton, B.; Weil, C.; Sambron, E. and Zohr, Y. (1990). Effect of acute versus sustained administration of $GnRH_\alpha$ on GTH release and ovulation in the rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*". Aquaculture, 91:373-383.

Bhowmick, R.M. (1979). Observations on the human chorionic gonadotropin prepared in inducing spawning in major carp *Labeo rohita".* Ham Technology: 16: 11-12.

Billard, R. (1990). The major carps and other cyprinids. In: Nash, C.E. (Ed.), World animal Sciences CIIX, production of Aquatic Animals (Fishes). Elsevier Science Publication, 2: 21-55.

Drori, S.; Ofir, M.; Levavi-sivan, B. and Yaron, Z. (1994). Spawning induction in in common crap, *Cyprinus carpio*, using pituitary extract or GnRH super active analogue combined with metoclopramid: analysis of profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquacultuare, 119:393-407.

Harvey, B.J.; Nacario, L.W.; Crim, J.V. and Marte, C.L. (1985). "Induced spawning of sea bass, *Lates calcarifer* and rabbitfish, *Siganus guttatus*, after implantation of pelleted LHRH analogue". Aquaculture, 47(1): 53-59.

Kahkesh, F.B.; Yooneszadeh-Feshalami, M.; Amiri, A. and Nickpey, M. (2010). "effect of ovaprin, ovatid, HCG, LHRH-a_2, LHRH-a_2 + CPE and carp Pituitary in benni (*Barbus sharpeyi*) Artificial Breeding". Global Verterinaria, 5(4): 209-214.

Khan, A.M.; Shakir, H.A.; Ashraf, M. and Ahmad, Z. (2006). Induced spawning of *Labeo rohita* using synthetic hormones. Punjab University Journal Zoology, 2 (1): 67-72.

Kulikovsky, Z., Martin, F.J.B. and Yaron, Z. (1996). A comparison of two spawning inducing agent for common carp. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh, 48: 108-111.

Levavi-Sivan, B.; Weiman, R.; Sachs, O. and Tzchori, I. (2004). Spawning induction and hormonal levels during final oocyte maturation in silver perch *(Bidyanus bidyanus*). Aquaculture, 229: 419-431.

Marte, C.L.; Sherwood, N.M.; Crim, L.W. and Harvey, B. (1987). " Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos chanos*) Forsskal With gonadotropin-releasing-hormone (GnRH) analogues administered in various ways". Aquaculture, 60(3): 303-310.

Paykan Heyrati, F.; Amiri, B.M.; Hajizadeh, A.; Mostafavi, H. and Dorafshan, S. (2005). Induced spawning of *Rutilus frisi Kutum* by GnRH analogue. Aquaculture, 256: 288-293.

Peter, R.E.; Sokolowska, M.; Nahorniak, C.S.; Rivier, J.E. and Vale, W.W. (1987). Comparison of {D-Arg Trp Leu Pro} net sGnRH-A, and {D-Ala, Pro Net} LHRH-A, in combination with pimozide in stimulating gonadotropin release and ovulation in the goldfish, *Carrassius auratus.* Canadian Journal of. Zoology, 65: 987-991.

Zohar, Y. (1989). Fish Reproduction, Its Physiology and Artificial Manipulation. In: Shilo M.C., Sargi S.H. Fish culture in warm water systems, problems and trends. CRC Press, pp: 65-119.

Zohar, Y. and Mylonas, C.C. (2001). Endocrine manipulation of spawning induction in cultured fish from hormone to gene. Aquaculture, 197: 99-136.

Effectiveness comparison of 3 step injection LHRH-a2+PG with carp pituitary extract (2 step injection) in reproduction function of *Barbus sharpeyi*

Mohammadian, T.[1]; Silavi, M.[2]; Hosseni, A.R.[3]; Rohani, S.[3]; Mohammadi, A.[4] and Heidary, B.[4]

Received: 30.06.2012 Accepted: 7.05.2013

Abstract

Barbus sharpeyi of Cyprinidae family is an endemic fish of the province Khuzestan. The Iranian Fisheries Organization (Shilat) produces millions fry (1–5 gr) to restock the horalazim and lagoon Shadgan population annually. The objective of this study was to assay the effectiveness of LHRH-α2 hormone combined with carp pituitary extract (3 steps injection) and carp pituitary extract (2 steps injection) on reproduction index in *Barbus sharpeyi* including: spawning success, latency period, weight of stripped egg mass/weight of stripped egg mass remnant ovaries, and fertilization success. 200 fish were divided into 10 groups (180 fish treated with LHRH-α2 hormone combined with carp pituitary extract (3 steps injection) to different concentration and 20 carp pituitary extract (2 steps injection) 4.5 mg kg^{-1} b.w.). The results showed that the LHRH-α2 hormone combined with carp pituitary extract in three steps injection (Second treatment with 8µg/kg LHRH-α2 in step one, 0.5 mg/kg PG in step two and 3mg/kg PG in step three have excess steps than two step injection lead to higher Latency period, spawning success (72%) and weight of stripped egg mass/weight of stripped egg mass (8.67% average) and fertilization success (77.85%) and spawning rate in comparison with method 2 steps injection ($P<0.05$). Therefore, it can be concluded that LHRH-α2 hormone combined with carp pituitary extract (3 steps injection) is more effective than CPE (2 steps injection) for spawning induction in *Barbus sharpeyi* specially Second treatment have suitable concentration for artificial breeding.

Key words: *Barbus sharpeyi*, Induce Spawning, LHRH-α2 hormone, Carp pituitary extract, Injection method

1- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahwaz, Iran
2- MSc. Student of Fishery, Faculty of Natural Resource, Marine Sciences and Technology University of Khoramshahr, Iran
3- MSc. Graduated of Fishery, Faculty of Natural Resource, Marine Sciences and Technology University of Khoramshahr, Iran
4- DVM. Graduated Student of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Mohammadiyan, T., E-mail: Takavar_m2002@yahoo.com