

تعیین غلظت بهینه هورمون‌های عصاره غده هیپوفیز و LHRHa2 در تزریق سه مرحله‌ای بر اساس شاخص‌های تولیدمثلی *Arabibarbus grypus*

حدیده معبودی^{*}، نرگس جواد زاده^۱، علی سواری^۲ و محمدتقی آژیر^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۹۱۵

۲- مرکز تکثیر ماهیان بومی دشت آزادگان، اهواز، ایران

۳- مرکز تحقیقات ماهیان سردابی کشور، تنکابن، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۹

چکیده

هدف از اجرای این تحقیق بررسی مقایسه‌ای تأثیر مقادیر مختلف آنالوگ عصاره هیپوفیز و هورمون LHRHa2 به روش سه مرحله‌ای، بر شاخص‌های تولیدمثلی ماهی شیربت (*Arabibarbus grypus*) از خانواده کپور ماهیان و از ماهیان بومی استان خوزستان است. به این منظور ۵۰ قطعه ماهی مولد شیربت در ۴ تیمار شاهد ۴mg/kg عصاره هیپوفیز، تیمار اول ۴mg/kg هیپوفیز و ۳µg/kg LHRHa2، تیمار دوم ۴mg/kg هیپوفیز و ۷µg/kg LHRHa2 و تیمار سوم ۴mg/kg هیپوفیز و ۱۰µg/kg LHRHa2 به صورت ۴۰ قطعه به روش تزریق سه مرحله‌ای و ۱۰ قطعه به روش تزریق دو مرحله‌ای (شاهد) مورد مطالعه قرار گرفتند و شاخص‌های تولیدمثلی از زمان تخم‌کشی مولدین تا بازماندگی بچه ماهی محاسبه شدند. نتایج نشان داد که وزن تخمک استحصالی (۶۹۲±۱۱۱/۲)، هم‌آوری نسبی (۴۱/۹±۳/۲۲)، درصد لقاح (۹۴/۴±۰/۸۹) درصد تخم‌گشایی (۹۸/۲±۰/۸۴)، تعداد لارو استحصالی (۱۰۹۱۲/۸±۱۸۱۷/۹۳) و درصد زنده‌مانی بچه ماهی در استخر خاکی (۷۰/۵±۲/۳) در تیمار دوم (تزریق سه مرحله‌ای) دارای افزایش معنی‌داری نسبت به تزریق دو مرحله‌ای و سایر تیمارها است ($p < 0.05$). لذا روش تزریق سه مرحله‌ای با غلظت بکار رفته در تیمار دوم (۴mg/kg هیپوفیز و ۷µg/kg LHRHa2) بهترین روش و غلظت جهت تکثیر مصنوعی مولدین شیربت به دست آمد.

کلمات کلیدی: هورمون LHRHa2، غده هیپوفیز، شاخص تولیدمثلی، شیربت، دفعات تزریق هورمون.

مقدمه

گونه ماهی مورد بررسی با نام علمی *Arabibarbus grypus* و نام محلی شیربت یا شبوط (به زبان عربی) می باشد که با توجه به قدرت سازگاری مطلوب، در اکثر منابع آبی جنوب غرب ایران بخصوص حوضه رودخانه های دجله، کارون و زهره پراکنش داشته و رشد می نماید و با توجه به کیفیت بالا و لذیذ بودن گوشت، مورد توجه ساکنین این مناطق هستند (ستاری، ۱۳۸۱). این گونه از خانواده کپور ماهیان می باشد که با توجه به اهمیت اقتصادی آن در خلال سال های ۱۳۶۹ تا ۱۳۸۰ مورد تکثیر و پرورش قرار گرفت (معبودی و همکاران، ۱۳۹۳). در فرایند تولید مثل ماهیان استخوانی، به علت عدم وجود ارتباط خونی بین هیپوتالاموس و هیپوفیز، تعداد کثیری از نوروهورمون های هیپوتالاموسی مسئولیت تنظیم ترشح GTH را بر عهده دارند که از مهم ترین این نوروهورمون ها می توان به GnRH و دوپامین اشاره کرد (ضرغام و همکاران، ۱۳۹۶). صدها مولد شیربت تاکنون با استفاده از عصاره غده هیپوفیز و هورمون های سنتتیک مختلف مانند اوپریم، LHRH، GnRH، HCG و... (Mussavi *et al.*, 2009). غده هیپوفیز به طور گسترده در مطالعات مورد استفاده قرار می گیرد و به نحو موثری تخم ریزی در ماهیان را تحریک می کند (صابری اصل و همکاران، ۱۳۹۷)، در مراکز اجرایی و تحقیقاتی جنوب غرب کشور به صورت مصنوعی تکثیر شدند اما با توجه به پایین بودن نسبی شاخص های تولید مثل نیاز به تغییر روش تزریق دیده شد (سواری و همکاران، ۱۳۹۱). مطالعات مشابه در سایر گونه ها بررسی شد و زمینه ای برای تحقیق حاضر ایجاد گردید. در سال ۱۳۸۰ حسین زاده صحافی با بررسی تأثیر عصاره هیپوفیز همراه با

HCG بر ماهی فیتوفاگ *Hypophthalmichthys molitrix*، روش تزریق سه مرحله ای با غلظت ترکیبی (۱۰۰iu + ۵mg) را پیشنهاد داده است. Kahkesh و همکاران در سال ۲۰۱۰ با مقایسه تزریق هورمون سنتتیک LHRH₂ به همراه عصاره هیپوفیز بر روی تکثیر ماهی بنی، بهترین نتایج را در تزریق ترکیبی دو ماده مذکور و با غلظت (۲mg/kg + ۱۰ μg/kg) مشاهده کردند. Arabaci و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر تزریق ترکیبی عصاره هیپوفیز با هورمون LHRH را بر میزان تولید تخمک ماهی کپور معمولی بررسی و اثرات مثبت آن را گزارش نمودند. معبودی و همکاران در سال ۱۳۹۳ تزریق ترکیبی عصاره غده هیپوفیز و LHRH₂ را بر شاخص های تکثیر مولدین بنی با وزن بالای ۱/۵ کیلوگرم بررسی نمودند و بهترین نتایج را در غلظت LHRH ۷ μg/kg + PG ۴mg/kg به دست آوردند. با توجه به نتایجی که از مطالعات فوق به دست می آید و اینکه در حال حاضر عصاره هیپوفیز تنها گزینه مورد استفاده جهت تکثیر ماهی شیربت است؛ تحقیق حاضر با هدف مقایسه تزریق ترکیبی سه مرحله ای LHRH₂ و عصاره هیپوفیز با روش تزریق دو مرحله ای عصاره هیپوفیز به منظور تعیین غلظت و روش تزریق مناسب جهت بهبود نتایج شاخص های تولید مثل ماهی شیربت انتخاب گردیده است.

مواد و روش ها

تعداد ۵۰ قطعه ماهی مولد ماده و ۳۰ قطعه ماهی مولد نر گونه *Arabibarbus grypus* از استخرهای پرورشی مرکز تکثیر ماهیان بومی دشت آزادگان-اهواز توسط تورهای انتظاری صید شد و به استخرهای واقع در سالن تکثیر با گنجایش ۱۰۰۰ لیتر و دبی آب حدود

رنگ - نرها خروج اسپرم غلیظ) انجام شد. به منظور سازگاری با محیط جدید مولدین به مدت ۳ روز در استخر نگهداری شدند و در طول مدت نگهداری به منظور کاهش استرس تغذیه نشدند (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳). هورمون LHRHa₂ ساخت شرکت Anaspec کشور کانادا و از شرکت تجاری آبزبان خریداری گردید. برای بیهوشی مولدین از ۲ فنوکسی اتانول با غلظت ۲۰۰ ppm به مدت ۴ دقیقه استفاده گردید (معبودی و همکاران، ۱۳۹۳) و هورمون‌های مذکور به صورت ۴ تیمار به شرح جدول ۱ تزریق گردید.

۴-۵ لیتر در دقیقه، انتقال داده شدند؛ منبع تغذیه آب استخرها، از آب رودخانه کرخه با pH حدود ۷/۷ بود، آب در حال جریان و دمای آن حدود ۲۲ °C بود. مولدین پس از صید از لحاظ سلامت بررسی شدند. طول کل و وزن بدن اندازه‌گیری شد، ماهیان ماده در محدوده وزنی ۲۱۰۰-۱۵۲۰ گرم و ماهیان نر در محدوده وزنی ۱۸۰۰-۱۵۰۰ گرم قرار داشتند. طول کل مولدین ماده ۵۰-۴۰ سانتی‌متر و مولدین نر ۴۰-۳۰ سانتی‌متر بود و از لحاظ سنی همگی ۳ ساله و از لحاظ جنسی بالغ بودند. پس از زیست‌سنجی ماهیان جداسازی نر و ماده (ماده‌ها شکم نرم و متورم و منفذ تناسلی گلی

جدول ۱: تیمارهای مختلف تزریق هورمون‌ها در ماهی شیربت

تیمار	غلظت تزریقی	ماده تزریق شده	مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم
شاهد	۴mg	هیپوفیز CPE	۱۰٪ هیپوفیز	۹۰٪ هیپوفیز	-
اول	۴mg + ۴μg	CPE + LHRHa ₂	کل LH	۱۰٪ هیپوفیز ۲۴ ساعت بعد	۹۰٪ هیپوفیز ۱۲ ساعت بعد
دوم	۴mg + ۷μg	CPE + LHRHa ₂	کل LH	۱۰٪ هیپوفیز ۲۴ ساعت بعد	۹۰٪ هیپوفیز ۱۲ ساعت بعد
سوم	۴mg + ۱۰μg	CPE + LHRHa ₂	کل LH	۱۰٪ هیپوفیز ۲۴ ساعت بعد	۹۰٪ هیپوفیز ۱۲ ساعت بعد

هم آوری F=

وزن تخمدان (گرم) -G

$$F = \frac{nG}{g}$$

n= تعداد تخم‌های نمونه

g= وزن نمونه (گرم)

پس از محاسبه هم‌آوری مطلق، به منظور تعیین

هم‌آوری نسبی از معادله ی زیر استفاده شد (آذری

تاکامی و رجبی نژاد، ۱۳۸۱):

هم‌آوری نسبی - R

هم‌آوری مطلق - F

$$R = \frac{F}{T_w}$$

وزن کل بدن (گرم) - T_w

کلید تزریقات در حالت بیهوشی نارکوزیس به روش داخل عضلانی و زیر باله سینه‌ای با زاویه حدود ۴۵ درجه انجام پذیرفت. هر ماهی پس از دریافت غلظت مربوطه بر اساس وزن بدن در استخر سرامیکی با آب تازه رها شده و هوشیاری مجدد می‌یابد. ۱۴-۱۲ ساعت پس از تزریق نهایی ماهی‌ها بیهوشی شده و به روش دستی با مالش در ناحیه شکمی ماهی، عملیات استحصال تخم انجام پذیرفت. پس از تخم‌کشی، تخمک‌های استحصالی توزین شده، نمونه‌ای از آن برداشته و وزن شده و تعداد تخمک‌های آن توسط استریو میکروسکوپ شمارش شد. هم‌آوری کاری (مطلق) مطابق فرمول زیر به دست می‌آید:

از ماهی‌های نر گونه *Arabibarbus grypus* که در یک مرحله هم‌زمان با تزریق مرحله نهایی LHRHa2 برای لقاح با تخمک‌های استحصالی با نسبت نر به ماده ۲ به ۱ استفاده شد. مدت زمان رسیدگی برای مولدین ماده ۴۸ ساعت پس از اولین تزریق در نظر گرفته شد و از روش لقاح خشک استفاده گردید. تخمک و اسپرم به کمک پر به مدت ۵ دقیقه برای افزایش شانس لقاح هم زده شدند و به علت چسبندگی تخم ماهی شیربت و جهت رفع چسبندگی، تخم‌ها به مدت ۵ دقیقه با محلول تانن (حاوی ۵ گرم اسید تانیک در ۱۰ لیتر آب) شستشو داده شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه با آب پالایه شده شستشو شدند. تخم‌ها با شستشو تغییر رنگ و اندازه دادند. پس از شستشو، تخم‌ها با تراکم ۲۵۰ سی سی به انکوباتورهای ویس با حجم ۸ لیتر منتقل شدند. تخم‌ها پس از ۷۲-۹۴ ساعت در انکوباتور ویس هچ شده و درصد تفریح محاسبه شد. به این منظور نسبت تعداد لاروهای تفریح یافته به تخم‌های لقاح یافته تعیین گردید و در عدد صد ضرب شد. پس از آن لاروها به انکوباتورهای بزرگ‌تر (زوک) با حجم ۴۰ لیتر منتقل شده و توسط غذای مخصوص تغذیه شدند. بعد از حدود ۷۲ ساعت که کیسه‌ی زرده کروی و بزرگ لاروها کاملاً جذب گردید، نمونه‌ای از آب حاوی لارو از انکوباتور برداشت شده و تعداد لاروهای زنده شمارش و در حجم کل آب انکوباتور محاسبه گردید. پس از جذب

کیسه‌زرده لاروها به استخرهای خاکی با مساحت ۵۰۰ مترمربع و با تراکم ۵۰۰ هزار لارو معرفی شدند و جهت تغذیه تا ۵ روز اول از غذای زنده موجود در استخرها که دارای مقادیر بالایی روتیفر بودند و در ادامه تا دو ماه بعد از خوراک آغازین از نوع SFC با ۳۳٪ پروتئین و ۱۰/۵٪ چربی (ساخت شرکت کیمیا گران شهر کرد) استفاده شد. دمای آب بین ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از رسیدن اندازه بچه ماهی به یک گرم نمونه‌برداری از چند نقطه آب انجام و شمارش انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها در تیمارهای مختلف از نرم‌افزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان دادند کلیه مولدین نر و ماده به تزریق عصاره هیپوفیز به تنهایی و تزریق ترکیبی پاسخ دادند و زمان تخم‌ریزی تمام آنها ۱۴-۱۲ ساعت پس از تزریق نهایی صورت گرفت. نتایج مربوط به کلیه شاخص‌های تولیدمثلی در جدول ۲ آورده شده است و نشان می‌دهد تزریق سه مرحله‌ای سبب پاسخ‌دهی بیشتر مولدین و موفقیت بالاتر تخم‌های به‌دست آمده در لقاح، تخم‌گشایی و بازماندگی تا مرحله بچه ماهی ۱ گرمی نسبت به روش تزریق دو مرحله‌ای می‌شود.

جدول ۲: میانگین شاخص‌های تولیدمثلی ماهی شیربت در تیمارهای مختلف

تیمار	غلظت تزریقی	ماده تزریق شده	جواب دهی	تخمک استحصالی (گرم)	هماوری کاری (تعداد)	هماوری نسبی
شاهد	۴mg	هیپوفیز CPE	٪۶۰ ^a	۴۴±۹/۶۲ ^a	۳۹۰۰ ± ۷۲۰ ^a	۲/۶ ± ۰/۰۵ ^a
اول	۴mg + ۴μg	CPE + LHRHa ₂	٪۷۵ ^b	۱۹۰ ± ۳۵/۳۵ ^b	۱۷۲۰۰ ± ۱۵۰۰ ^b	۱۱/۴۷ ± ۰/۳۴ ^b
دوم	۴mg + ۷μg	CPE + LHRHa ₂	٪۸۷ ^c	۶۹۲ ± ۱۱۱/۲ ^c	۶۲۸۰۰ ± ۵۸۰۰ ^c	۴۱/۹ ± ۳/۲۲ ^c
سوم	۴mg + ۱۰μg	CPE + LHRHa ₂	٪۹۰ ^d	۷۰۲ ± ۱۱۸/۲ ^d	۶۴۰۰۰ ± ۶۱۰۰ ^d	۴۲/۶ ± ۲/۴ ^d

+

ادامه جدول ۲:

تیمار	غلظت تزریقی	ماده تزریق شده	درصد لقاح	تخم گشایی (%)	لارو استحصالی	زنده ماننی بچه ماهی
شاهد	۴mg	هیپوفیز CPE	۱۱/۴ ± ۲/۳ ^a	۸ ± ۱/۸۷ ^a	۴۸/۶ ± ۶/۱ ^a	٪۵۰ ^a
اول	۴mg + ۴μg	CPE + LHRHa ₂	۶۱/۱ ± ۱ ^b	۸۶/۶ ± ۲/۰۷ ^b	۱۶۹۱/۲ ± ۲۹۴/۷ ^b	٪۶۱ ^b
دوم	۴mg + ۷μg	CPE + LHRHa ₂	۹۴/۴ ± ۰/۸۹ ^c	۹۸/۲ ± ۰/۸۴ ^c	۱۰۹۱۲/۸ ± ۱۸۱۷/۹ ^c	٪۷۰ ^c
سوم	۴mg + ۱۰μg	CPE + LHRHa ₂	۹۴/۴ ± ۰/۵۴ ^d	۹۸/۲ ± ۰/۹۴ ^d	۱۱۰۷۷/۶ ± ۱۹۷۲/۲ ^d	٪۷۲ ^d

حروف غیر مشابه به مفهوم اختلاف معنی دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد است.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که نرخ جواب دهی (تخم‌ریزی) مولدین، وزن تخمک استحصالی، هم‌آوری، درصد لقاح و تخم گشایی، تعداد لارو و بازماندگی بچه ماهی در تیمار اول دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد، دوم و سوم است ($P < 0.05$). در بررسی آماری سایر تیمارها، اختلاف معنی‌داری از لحاظ کلیه شاخص‌های تکثیر بین تیمار دوم و سوم مشاهده نشد ($P > 0.05$). بهترین نتایج در تیمار دوم و سوم تزریق سه مرحله‌ای و کمترین مقادیر در تیمار شاهد با تزریق دو مرحله‌ای به دست آمد.

بحث

در پژوهش حاضر اثر تزریق عصاره هیپوفیز به-تنهایی و بصورت ترکیبی بر شاخص‌های تولیدمثلی ماهی شیربت بررسی و مقایسه شد. یکی از معیارهای مهم در شاخص‌های تولیدمثلی گونه‌های مختلف رسیدگی جنسی مولدین است که لازم است با تأثیر بر

هورمون‌های اصلی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد کنترل و تحریک شود (سواری و همکاران، ۱۳۹۱) که عصاره غده هیپوفیز و هورمون LHRHa₂ می‌تواند تأثیر تحریکی مناسبی روی این محور داشته باشد و سبب بهبود شاخص‌های تولیدمثلی گردد (معبودی و همکاران، ۱۳۹۰). در تحقیق حاضر فرض شده است که روش تلفیقی هورمون LHRHa₂ و عصاره غده هیپوفیز نسبت به عصاره هیپوفیز به‌تنهایی سبب القاء بهتر رسیدگی جنسی ماهی شیربت می‌شود.

نتایج به دست آمده از جواب دهی مولدین نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار درصد جواب دهی در تزریق سه مرحله‌ای تا ۹۰٪ نسبت به روش دو مرحله‌ای است. این نتیجه تأثیر مثبت و مطلوب غلظت هورمونی و روش تزریق (سه مرحله‌ای) را در تیمار دوم و سوم نسبت به سایر غلظتها و روش دو مرحله‌ای در تیمارهای دیگر نشان می‌دهد. هورمون LHRHa₂ در صورتی که

به همراه عصاره ی غده هیپوفیز در تکثیر ماهی شیربت استفاده شود، اثرات بیشتری روی بلوغ نهایی تخمک ها داشته و در نتیجه مولدین ماده ی بیشتری از بین ماهیان تیمار شده تخم ریزی موفق خواهند داشت، مخصوصا اگر تعداد دفعات تزریق بیش از دو نوبت باشد. نتایج حاضر با نتایج محمدیان و همکاران در سال ۱۳۸۸ که در تکثیر ماهی بنی از ترکیب هورمونی پژوهش حاضر استفاده نمودند و به جوابدهی تا ۹۵٪ دست یافتند مطابقت دارد. بیشترین مقدار تخم استحصال شده، هماوری کاری و نسبی در تیمار سوم به میزان $118/2 \pm$ ، 702 ، 6100 ± 64000 و $2/4 \pm 42/6$ است که دارای اختلاف معنی داری با تیمار شاهد (عصاره هیپوفیز) و تیمار اول است اما اختلاف معنی داری با تیمار دوم ندارد. مشابه این نتایج در مطالعه‌ای که سواری و همکاران در سال ۱۳۹۱ بر روی ماهی گطان انجام دادند به دست آمد و بیشترین وزن تخمک استحصال و هماوری کاری و نسبی در تیمار دوم تزریق تلفیقی عصاره هیپوفیز و LHRHa2 مشاهده گردید اما مقدار عددی در ماهی گطان بالاتر از ماهی مورد مطالعه در تحقیق حاضر به دست آمده است که به علت عواملی چون سن ماهی، شرایط فیزیکی و شیمیایی آب و تراکم کشت در زمان پرورش مولدین و عوامل ژنتیکی می باشد (کد و عبدلی، ۱۳۷۵). غفاری و فلاحتکار (۱۳۹۴) در مطالعه‌ای بر کپور معمولی نشان دادند هر چه ماهی مسن تر باشد بعلت بالا بودن وزن و طول مولدین، وزن و اندازه تخمک ها بیشتر است و در این شرایط تعداد تخمک کاهش می یابد (غفاری و فلاحتکار، ۱۳۹۴). در مطالعه‌ای دیگر بر تزریق تلفیقی عصاره هیپوفیز و LHRHa2 در ماهی بنی که توسط کاهکش و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد بالاترین

هماوری کاری را به میزان $5036 \pm 56626/18$ گزارش نمودند که با مطالعه حاضر مطابقت نشان می دهد. میزان بالای هم آوری کاری و نسبی به دلیل اثر کمکی LHRHa2 در آزادسازی هورمون گنادوتروپین از هیپوفیز ماهی مولد می باشد که به همراه دو تزریق بعدی غده ی هیپوفیز اثر اوولاسیون بهتری نسبت به روش تزریق به تنهایی غده هیپوفیز دارد (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳).

بهترین درصد لقاح در تیمار سوم به میزان $0/54 \pm$ ۹۴/۴ درصد محاسبه گردید که دارای اختلاف معنی داری با تیمار شاهد (عصاره هیپوفیز) و تیمار اول است اما اختلاف معنی داری با تیمار سوم ندارد. سواری و همکاران در سال ۱۳۹۱ اثر تزریق تلفیقی ۳ مرحله‌ای را بر روی ماهی گطان بررسی نمودند و مشابه تحقیق حاضر بالاترین درصد لقاح را در تیمار دوم تزریق تلفیقی عصاره هیپوفیز و LHRHa2 به میزان ۸۱٪ به دست آوردند و در غلظت بالاتر از LHRHa2 از تزریق تلفیقی اختلاف معنی داری با تیمار دوم نشان نداد و با توجه به اینکه نوع و غلظت هورمون‌های مورد استفاده و روش کار در دو مطالعه یکسان بوده است با مطالعه حاضر مطابقت نشان می دهد. درصد لقاح در تحقیق حاضر با نتایج Arabaci و همکاران روی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان و سیم دریایی در سال ۲۰۰۴ مطابقت دارد. از آنجا که توفیق در امر تولید مثل در تعداد نوزادان تولید شده اهمیت دارد بنابراین جهت بررسی باروری معیار بهتری جهت بررسی است (ستاری، ۱۳۸۱). بالاتر بودن نرخ جوابدهی، هماوری و درصد لقاح در تیمارهای با تزریق ترکیبی نسبت به عصاره هیپوفیز به تنهایی به این دلیل می توان عنوان کرد که وقتی به ماهی عصاره هیپوفیز به تنهایی تزریق می -

شود (گروه شاهد) بلافاصله سطوح گنادوتروپین های خون افزایش می‌یابد که در این حالت مقدار کمی از این هورمون ها مصرف می‌شود، در حالی که وقتی از آنالوگ های GnRH استفاده می‌شود این هورمون روی سلول های گنادوتروپ هیپوفیز اثر کرده و باعث آزاد سازی هورمون GTHII و افزایش نسبی شاخص-های تولیدمثلی می‌شوند (Khan et al., 2006).

زمان اندازه‌گیری تخم‌گذاری در هنگام خروج کلیه لاروها از جدار پوسته تخم است که در این مطالعه پس از گذشت زمان حدود ۷۷ ساعت از زمان لقاح است. مقایسه آماری نتایج نشان داد تزریق سه مرحله‌ای در تیمار دوم بالاترین درصد تخم‌گذاری را $1/17 \pm$ در ۹۴/۴ در مقایسه با تیمار شاهد (تزریق دومرحله‌ای) و تیمار اول دارد اما با تیمار سوم اختلاف معنی‌داری ندارد. معبودی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی اثر عصاره هیپوفیز بر بیوتکنیک تکثیر ماهی بنی درصد تخم‌گذاری را پایین‌تر گزارش نمودند که این نتیجه نشان‌دهنده موفقیت‌آمیز بودن روش تزریق تلفیقی و مدیریت صحیح‌تر عوامل است (Mustafa et al., 2006). دوره لاروی ماهی شیرت از زمان تخم‌گذاری تا جذب کامل کیسه زرده در این تحقیق ۷ روز بود که پس از پایان ۷ روز و جذب کامل کیسه زرده، لاروها در انکوباتورها مورد تغذیه قرار گرفتند و پس از آن کلیه لاروها به تفکیک تیمارها شمارش شد. بهترین نتایج در تیمار دوم به میزان $1817/93 \pm 10912/8$ مشاهده گردید که روش تزریق سه مرحله‌ای داشتند. بازماندگی بچه ماهیان پس از معرفی لاروهای استحصالی به استخرهای خاکی که دوره پرورش آنها تا اندازه ۱ گرمی در گونه موردنظر ۲ ماه برآورد شده است و بالاترین میزان آن در روش تزریق سه مرحله‌ای ۷۲٪ به

دست آمد که دارای اختلاف معنی‌داری با روش تزریق دومرحله‌ای بوده و نسبت به گزارش‌هایی که در پژوهش سواری و همکاران (۱۳۹۱) و معبودی و همکاران (۱۳۹۳) در ماهی گطان و بنی بالاتر به دست آمد و علت آن مربوط به اندازه تخمک ماهی شیرت است که با دارا بودن ذخایر سلولی بیشتر توان‌زیستی بالاتری دارد و باعث کمتر شدن هماوری در گونه شیرت اما بالا بودن درصد تخم‌گذاری و بازماندگی لارو و بچه ماهی می‌شود. مشابه نتایج فوق را در سال Berton و Weil در سال ۱۹۹۰ در قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش کردند که کاربرد LHRHa2 تأثیر مثبت روی کیفیت تخم، درصد لقاح، درصد تخم‌گذاری و بازماندگی لارو داشته است (Mortazavizadeh et al., 2010).

در تحقیق حاضر به‌علت استفاده از روش تزریق (سه مرحله‌ای) شرایط تخم‌ریزی مولدین بهبود حاصل نموده است و تخم استحصالی آمادگی بهتری برای پذیرش اسپرم و لارو حاصله توانایی زیستی بیشتری داشته است. اختلاف معنی‌داری بین تیمار دوم و سوم که از میزان بیشتری هورمون LHRHa2 (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن) استفاده می‌نماید مشاهده نشده است. با توجه به اینکه هورمون LHRHa2 از قیمت جهانی بالایی برخوردار است لذا استفاده بیشتر از هورمون علاوه بر اینکه صرفه اقتصادی ندارد قادر به ایجاد اثر بالاتر بر محور هورمونی نیست لذا غلظت تزریق ۴ میلی‌گرم عصاره هیپوفیز و ۷ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن LHRHa2 با روش سه مرحله‌ای (تیمار دوم) که دارای اختلاف معنی‌داری از نظر کلیه شاخص‌های تکثیر با روش تزریق دومرحله‌ای و سایر تیمارها است توصیه می‌گردد تا تولید این‌گونه با توجه

۵. صابری اصل، ا.، تقی زاده، و.، ایمانپور، م.، ۱۳۹۷. مقایسه اثرات تزریق هورمون های اوپریم، HCG و عصاره هیپوفیز ماهی باربوس روی پارامترهای اسپرم شناختی ماهی قرمز *Carassius auratus*، نشریه توسعه آبی پروری، سال دوازدهم، شماره دوم، صفحات ۷۴-۶۳.

۶. ضرغام، د.، شعبانی، ع.، حسین زاده صحافی، ه.، ایمانپور، م.، ۱۳۹۶. القاء و همزمان سازی اوولاسیون ماهی تیلای نیل *Oreochromis niloticus* با استفاده از آنالوگ LHRH و آنتاگونیست های اختصاصی رسپتورهای دوپامینی D₂ و D₄، نشریه توسعه آبی پروری، سال یازدهم، شماره اول، صفحات ۸۸-۷۷.

۷. غفاری، ط.، فلاحتکار، ب.، ۱۳۹۴. اثر سن بر شاخص های تولیدمثلی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، نشریه توسعه آبی پروری، سال نهم، شماره اول، صفحات ۷۹-۶۷.

۸. کد، ب.، عبدلی، ا.، ۱۳۷۵. تنوع زیستی ماهیان آب شیرین ایران، ماهنامه آبیان، سال هفتم. شماره ۱. صفحات ۱۱-۴.

۹. محمدیان، ت.، کوچینین، پ.، نیکو، س.، شیخ الاسلامی، م.، سراج، ب.، اسکندری، غ. و ابهری سه گنبد، ح. ۱۳۸۸. مقایسه ی تأثیر آنالوگ هورمون به روش لینه، با عصاره هیپوفیز بر شاخص های رسیدگی بنی، مجله دامپزشکی ایران، سال پنجم، شماره ی دوم، صفحات ۸۰-۷۱.

۱۰. محمدیان، ت.، سیلاوی، م.، حسینی، ا.، روحانی س.، محمدی، ا.، ۱۳۹۳. مقایسه تأثیر تزریق ۳ مرحله ای هورمون و عصاره هیپوفیز با تزریق ۲ مرحله ای عصاره هیپوفیز بر عملکرد تولیدمثلی

به نیاز شدید منابع آبی استان جهت بازسازی ذخایر به حد انبوه رسانده شود.

سپاسگزاری

این مقاله، مستخرج از طرح پژوهشی درون دانشگاهی تحت عنوان بررسی تزریق سه مرحله ای هورمون LH و عصاره غده هیپوفیز بر شاخص های بیوتکنیک تکثیر مصنوعی مولدین شیربت» استخراج شده و هزینه آن توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تأمین گردیده است که بدین وسیله از همکاران واحد دانشگاهی قدردانی می گردد.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، رجبی نژاد، ر.، ۱۳۸۱. بررسی هم آوری ماهی شاه کولی *Chalcalburnus chalcoides* در رودخانه سفید رود، نشریه علوم آب و خاک، دوره ۶، شماره چهارم، صفحات ۲۳۸-۲۳۱.
۲. حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۸۰. بیولوژی تولیدمثل ماهی، موسسه نشر جهاد دانشگاهی، صفحات ۱۷۰-۱۰۰.
۳. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی تشریح و فیزیولوژی، گیلان، انتشارات نقش مهر، صفحات ۴۴۰-۵۲۰.
۴. سواری، ع.، معبودی، ح.، جواد زاده، ن.، ۱۳۹۱. بررسی تزریق عصاره هیپوفیز و LHRHa2 بر رسیدگی جنسی ماهی گطان، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان. ۵۹ صفحه.

15. Khan, A. M., Sharkiv, H.A., Ashraf, M., Ahmad, Z., 2006. Induced spawning of *Labeo rohito* using synthetic hormones. Punjab University Journal Zoology, 2(1), 67-72.
16. Mortazavizadeh, S. A., Yooneszadeh Feshalami, M., BosakKahkesh, F., 2010. Effect of GnRH, LHRHa Ethylamide and carp pituitary in artificial propagation of Gattan, *Arabibarbus xanthopterus*. World Journal Fish and Marine Science, 2 (4), 280-284.
17. Mussavi, M., Nelson, E. R., Habibi, H. R. 2009. Seasonal regulation of vitellogenin by growth hormone in the goldfish live. General and Comparative Endocrinology, 161, 79-82.
18. Mustafa, A., Al Mukhtar, S., Al Noor, J. H. S. 2006. General reproduction Biology of Bunni (*Arabibarbus sharpeyi* Gunter, 1874) in Al Huwaizah Marsh, Basra-Iraq, Turkish Journal of fisheries and Aquatic Sciences, 6, 149-153.
- ماهی بنی، مجله دامپزشکی ایران، دوره دهم، شماره ۱، صفحات ۸۵-۹۵
۱۱. معبودی، ح.، جواد زاده، ن.، سواری ع. ۱۳۹۳. بررسی تزریق تلفیقی عصاره غده هیپوفیز و LHRHA2 بر شاخص‌های تکثیر مولدین بنی با اوزان بالای ۱/۵ کیلوگرم، گزارش نهایی طرح، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان. ۴۹ صفحه.
12. Arabaci, M., Cagirgan, H., Sari, M. 2004., Induction of ovulation in ornamental common carp (koi, *Cyprinus carpio* L.) using LHRHa combined with haloperidol and CPE. Aquaculture Research, 35, 10-14.
13. Berton, B., Weil, C., Sambron, E., Zohr, Y., 1990. Effect of acute versus sustained administration of GnRH_a on GTH release and ovulation in the rainbow trout. Aquaculture, 91, 373-383.
14. Kahkesh, F. B., Feshalami, M. Y., Amiri, F., Nickpey, M., 2011. Effect of ovaprim, ovatide, HCG, LHRH-a2, LHRH-a2+CPE and carp pituitary in Shirbut *Arabibarbus grypus* artificial breeding. Global Veterinaria, 5 (4) 209-214