

## مقایسه کاربرد هورمونهای مصنوعی

### در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون

#### *Acipenser stellatus stellatus* Berg, 1932

شهرام بهمنش

behmanesh110@yahoo.com

موسسه تحقیقات شیلات ایران

بخش تکثیر و پرورش، مرکز تحقیقات شیلاتی استان کیلان، بندر انزلی صندوق پستی: ۶۶

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۰

#### چکیده

در این تحقیق اثرات هورمون I.HRH<sub>a</sub>، ترکیبی از هیپوفیز کپور ماهیان و تاسماهیان (CCP+SPE) و هورمون تیروکسین در حالت تلفیق با هیپوفیز تاسماهیان نسبت به روشهای مرسوم در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری جهت القاء رسیدگی جنسی مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. آزمایشات با مقادیر مختلفی از هورمونها و در تکرارهای متفاوت برای دستیابی به بهترین نوع هورمون و میزان مؤثر آن صورت گرفته است. تعداد مولدین ماهی ازون برون مورد بررسی شامل ۵۸ عدد مولد ماده و ۲۲ عدد مولد نر بوده است. نتایج حاصل از مقایسه مولدین تزریق شده در ۴ تیمار مختلف نشان دادند که مولدین تزریق شده با هورمون I.HRH<sub>a</sub> از نظر درصد جوابدهی، درصد لقاح و درصد تخمه‌گشایی نسبت به مولدین تیمارهای دیگر دارای تفاوت معنی‌داری بوده و کمترین میزان این هورمون که باعث رسیدگی و جوابدهی مولدین شده میزان ۲۵۰ μg/fish در یک نوبت تزریق می‌باشد. در تزریق دو مرحله‌ای آن به میزان ۳۷۵ μg/fish - ۳۵۰ بیشترین جوابدهی حاصل گردیده است. در مورد مولدین نر، اسپرم‌دریافتی در اثر تزریق این هورمون از نظر حجم و کیفیت بسیار عالی بوده و میزان مؤثر آن ۲۵۰ - ۲۰۰ μg/fish بدست آمده است. همچنین میزان مؤثر عصاره هیپوفیز کپور ماهیان در حالت تلفیق با عصاره هیپوفیز تاسماهیان برای مولدین ماده ۷ mgSPE/Kg/BW + ۲/۵ mgCCP/Kg/BW و برای مولدین نر ۷ mgCCP/Kg/BW + ۱/۵ mgSPE/Kg/BW بوده است. مولدینی که با هورمون تیروکسین در مرحله اول و پس از آن با عصاره هیپوفیز تاسماهیان تزریق شدند، به دلیل اینکه هورمون تزریقی از نوع خوراکی بود، هیچ کدام از مولدین تزریقی به مرحله رسیدگی نرسیدند و بنابراین نتایج بدست آمده در تیمار مطلوب نبوده است.

**لغات کلیدی:** ازون برون، *Acipenser stellatus stellatus* هورمون، تکثیر مصنوعی

## مقدمه

تا سالهای اخیر معمولترین روش برای القاء رسیدگی جنسی در ماهیان خاویاری، استفاده از تزریق عصاره هیپوفیز (SPE) بوده است. این روش در اکثر مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری توسعه زیادی یافته و دارای اشکالاتی به شرح زیر می باشد (Gerbilsky, 1941):

۱- میزان هورمونهای گنادوتروپین موجود در غده های هیپوفیز استخراجی غالباً مشخص نمی باشد و این امر موجب بروز واکنشهای متفاوتی در مولدین می گردد.

۲- غده هیپوفیز فاقد عملکرد استاندارد مشخصی است زیرا مرحله رسیدگی تخمدان و بیضه در ماهیانی که مورد تزریق عصاره هیپوفیز (SPE) قرار می گیرند دقیقاً مشخص نمی باشد.

۳- نداشتن اطلاع و اطمینان از مناسب بودن ماهی دهنده هیپوفیز از نظر سن، تغذیه، شرایط زیست و غیره ...

۴- محدودیت زمانی مصرف غده هیپوفیز استحصالی، مشکلات نگهداری آن، قیمت بالا و محدودیت منابع تهیه آن و هزینه قابل توجه به دلیل صرف نیروی انسانی، وقت و غیره.

با توجه به این دلایل نخستین کوششها برای جایگزینی عصاره هیپوفیز ماهیان خاویاری با پروژسترون بوسیله دانشمند روسی به نام Goncharov در سال ۱۹۶۹ انجام گرفت و پس از آن Barannikova و همکاران در سال ۱۹۷۵ آزمایشاتی را بوسیله گنادوتروپین انسانی (HCG) برای القاء تخم ریزی ماهیان خاویاری انجام دادند ولی موفقیت چندانی حاصل ننمودند. تا اینکه آزمایشات و مطالعات اخیر با هورمون رهاکننده گنادوتروپین پستانداران GnRH و آنالوگهای آن نشان داد که این مواد قادر به القاء تخم ریزی و اسپرم ریزی در ماهیان می باشند (Goncharov *et al.*, 1989). بعلاوه استفاده از هورمون LHRH پستانداران و آنالوگهای آن اخیراً توسعه زیادی یافته اند. مزیت استفاده از این هورمونها در تکثیر مصنوعی ماهیان این است که نقش مهمی در تنظیم چرخه تولید مثلی دارند و می توانند در سطوح بالای چرخه تولید مثلی وارد عمل گردند. همچنین می توان از آنها به مقدار خیلی پایین استفاده نمود

(Goncharov *et al.*, 1991).

در کشور ما استفاده از هورمونهای مصنوعی در تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری سابقه‌ای نداشته و در تمام مراکز تکثیر از غده هیپوفیز استحصالی از ماهیان همان گونه مورد تکثیر استفاده می‌گردد. لذا در این تحقیق از هورمونهای LHRHa، مخلوط هیپوفیز کپور ماهیان با هیپوفیز تاسماهیان و همچنین از هورمون تیروکسین در حالت تلفیق با هیپوفیز تاسماهیان در مقایسه با روش مرسوم در مراکز تکثیر ماهیان خاویاری جهت یافتن بهترین نوع و میزان مواد تزریقی مورد نظر، استفاده شده است.

## مواد و روشها

این تحقیق در سال ۱۳۷۵ روی ۵۸ عدد مولد ماده بامیانگین وزنی ۱۱/۲ کیلوگرم و ۲۲ عدد مولد نر ماهی ازون برون بامیانگین وزنی ۷/۱ کیلوگرم در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی انجام گرفته است. مولدین مورد استفاده عمدتاً از صیدگاههای ناحیه دو شیلات گیلان صید شدند. از کلیه مولدین ماده انتخابی در صیدگاهها قبل از انتقال به مجتمع تکثیر و به جهت تعیین شاخص رسیدگی تخمک (Classification index) یا موقعیت هسته سلول تخم (GV)، بوسیله سوند شیاردار از تخمکهایشان نمونه برداری بعمل آمد.

هورمونهای مورد استفاده شامل عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی و ماهی اوزن برون و همچنین آنالوگ هورمون LHRHa ساخت کشور چین بود. کلیه هورمونها با محلول سرم فیزیولوژی ۶/۵ گرم در هزار رقیق شدند و عمل تزریق بوسیله سرنگ و در ناحیه عضلات پشتی انجام گرفت. کلیه مولدین در ۴ تیمار مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند.

تیمار اول (تیمار شاهد): در این تیمار از هیپوفیز ماهیان خاویاری مطابق با شرایط مرسوم در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری استفاده شده است.

تیمار دوم: در این تیمار از هورمون LHRHa استفاده شده و از آنجائیکه مقدار موثر هورمون جهت تزریق با شرایط ایران، مورد بررسی قرار نگرفته بود، لذا از روش تجربه شده بوسیله Goncharov و همکاران در سال ۱۹۹۱ در خصوص هورمون GnRH که از یک مقدار بالا به

ازای هر ماهی آغاز و به پایین ترین مقدار و در نتیجه میزان مؤثر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن رسیده، استفاده گردیده است.

تیمار سوم: در این تیمار از عصاره هیپوفیز کپور ماهیان در حالت تلفیق با عصاره هیپوفیز تاسماهیان (CCP+SPE) استفاده شده و به دلیل مشخص نبودن مقدار این ترکیب مطابق با شرایط و خصوصیات فیزیولوژیک ماهی از وزن برون در کشورمان، تکرارهای زیر برای مولدین ماده و نر به منظور دستیابی به بهترین مقدار مؤثر این ترکیب انجام گرفت:

مولدین ماده

مولدین نر

5 mg CCP/Kg/BW+ 2 mg SPE/Kg/BW

5mg CCP/Kg/BW+ 1 mg SPE/Kg/BW

6 mg CCP/Kg/BW+ 2 mg SPE/Kg/BW

6mg CCP/Kg/BW+ 1 mg SPE/Kg/BW

7 mg CCP/Kg/BW+ 2 mg SPE/Kg/BW

7mg CCP/Kg/BW+ 1 mg SPE/Kg/BW

7mg CCP/Kg/BW+ 2 / 5 mg SPE/Kg/BW 7mg CCP/Kg/BW+ 1 / 5 mg SPE/Kg/BW

تیمار چهارم: در این تیمار به دلیل بررسی اثرات هورمون تیروکسین و با توجه به تحقیقات انجام گرفته در سایر کشورها و نتایج بسیار خوب آن، از هورمون تیروکسین (T3) استفاده شده است. کاربرد آن به این صورت بود که پس از انتقال مولدین به مجتمع تکثیر، ابتدا بوسیله هورمون مذکور تزریق و پس از گذشت یک تا دو هفته با روشهای مرسوم در مراکز تکثیر ماهیان خاویاری به آنها عصاره هیپوفیز تزریق می گردید.

برای عملیات تزریق ابتدا تخمکهای مولدین انتخاب شده را که بهمراه آنان به مجتمع تکثیر انتقال یافته بود به مدت 2 دقیقه در آب جوش قرار داده و سپس تخم پخته شده را بوسیله تیغ ریش تراشی در طول محور گیاهی - جانوری برش داده و با میکروسکوپ، موقعیت هسته سلول تخم (GV) تعیین گردید (براساس متد سریع (Dettlaff et al., 1992). حتی المقدور سعی گردید مولدینی مورد تزریق قرار گیرند که دارای شاخص رسیدگی پایین تر از 12 باشند. تزریق هورمونها و عصاره هیپوفیز در یک مرحله و فقط در خصوص هورمون LHRHa در بعضی تکرارها بصورت دو مرحله ای انجام گرفته است. پس از اطمینان از رسیدگی مولدین، آنها را به سالن تکثیر انتقال داده و مبادرت به دریافت تخم از آنها می گردید.

قبل از عملیات لقاح، تعداد تخمک‌ها در واحد گرم و کیفیت اسپرم براساس مقیاس ۵ رده‌ای (Persov, 1941) تعیین گردید و از اسپرم‌های با کیفیت بالا (حالت ۱ و ۲) استفاده شد. همچنین حجم اسپرم مولدین نر نیز محاسبه گردید. عمل لقاح به طریقه نیمه خشک انجام گرفته و ۵ تا ۶ ساعت پس از لقاح جهت بررسی کیفیت تخم‌ها نسبت به تعیین درصد لقاح آنها اقدام گردید. برای مقایسه بین درصد تخم استحصالی و درصد حجم اسپرم جمع آوری شده نسبت به وزن بدن مولدین در گروه‌های آزمایشی و شاهد و تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین برای مقایسه بین درصد جوابدهی مولدین ماده و نر تزریق شده در گروه‌های آزمایشی و شاهد و تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین مولدین، از آزمون اختلاف نسبتها (آزمون Z) استفاده شده است. در مورد بررسی وضعیت کیفیت اسپرم‌های مولدین نر در گروه‌های آزمایشی و شاهد بصورت جداگانه از آزمون اختلاف نسبتها (آزمون Z) استفاده شده و کلیه محاسبات فوق بوسیله نرم‌افزارهای Statgraphic و Quatropro انجام گرفته است.

## نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری در تیمارهای مورد آزمایش و مقایسه بین درصد تخم دریافت شده نسبت به وزن مولدین در گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه، اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه نشان نمی‌دهد ( $F.t = 3/7$ ,  $d.f = 3/61$ ,  $sig. Level = 16\%$ ). همچنین استفاده از آزمون توکی نیز کلیه تیمارها را در یک گروه همگن قرار داده است. مقایسه درصد جوابدهی مولدین ماده مورد آزمایش با هورمونهای بکار گرفته شده و گروه شاهد با استفاده از آزمون اختلاف نسبتها، نشان می‌دهد مولدینی که با هورمون LHRHa تزریق شده‌اند با مولدینی که با CCP+SPE تزریق شده بودند اختلاف معنی‌داری داشته ( $ZR = 2/16$ )، که با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت درصد جوابدهی هورمون LHRHa بهتر از ترکیب CCP+SPE بوده است (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج آزمون اختلاف نسبت‌ها مربوط به ماهیان ماده مورد بررسی

عنوان	آزمون	Z محاسباتی	Z/۹۵	تفاوت معنی دار
رسیدگی تخمک	CCP,LHRHa	۲/۱۶	۱/۹۶	+
∕	LHRHa,SPE	۱۹	۱/۹۶	+
∕	CCP,SPE	۰/۰۵	۱/۹۶	-

مقایسه رسیدگی تخمک مولدین تزریق شده با هورمون LHRHa (تیمار ۲) با مولدینی که مورد تزریق SPE (تیمار ۱) قرار گرفته بودند، نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار وجود دارد ( $ZR=19$ ) و با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت که رسیدگی تخمک مولدین تزریق شده با هورمون LHRHa بهتر از مولدین تزریقی با SPE می‌باشد (جدول ۱). همچنین مقایسه رسیدگی تخمک مولدین با SPE+CCP (تیمار ۳) با مولدین تزریق شده با SPE (تیمار شاهد) نشان می‌دهد که با اطمینان ۹۵ درصد هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار وجود ندارد ( $ZR = 5\%$ ). بنابراین براحتی می‌توان به مقدار ۵۰ درصد، هیپوفیز ماهی کپور را بجای هیپوفیز ازون برون بکار برد. لازم بذکر است، از آنجاکه مولدین تزریقی با هورمون تیروکسین به تزریق جواب مثبت ندادند و این تیمار به این جهت با ۳ تیمار دیگر دارای اختلاف معنی‌دار شده است، لذا عملاً از انجام تجزیه و تحلیل آماری مربوط به این تیمار صرف نظر شده است.

جدول ۲ درصد رسیدگی تخمک و میانگین درصد لقاح، درصد تخمه‌گشایی و درصد تخم دریافت شده به وزن بدن مولدین را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. همانگونه که ملاحظه می‌گردد مولدینی که با هورمون LHRHa تزریق شده‌اند بیشترین تعداد را داشته و پس از آن به ترتیب تیمار شاهد و تیمار سوم و تیمار چهارم قرار می‌گیرند.

در مقایسه بین تعداد ماهیان تزریق شده با میزانهای مختلف و تعداد ماهیان رسیده شده براساس میزان تزریق‌های مختلف هورمون در تیمارها که در جدول ۳ آورده شده، مشخص گردیده که در تیماری که از هورمون LHRHa استفاده شده کمترین میزان هورمون که باعث

جدول ۲: مقایسه میزان رسیدگی تخمک، میانگین درصد لقاح، میانگین درصد تخمه‌گشایی و درصد تخم دریافت شده در تیمارهای مختلف

نوع هورمون	رسیدگی تخمک مولدین	میانگین درصد لقاح	میانگین درصد تخمه‌گشایی	درصد تخم دریافت شده
LHRHa	۶۹/۲	۵۵/۷	۳۷/۶	۱۷/۷
CCP+SPE	۳۰	۳۵/۵	۲۶	۱۳/۳
تیروکسین	-	-	-	-
SPE	۳۱/۵	۵۱/۵	۲۳/۸	۱۶/۵

عمل اوولاسیون در مولدین ماده گردیده میزان  $250 \mu\text{g}/\text{fish}$  (میکروگرم به ازای هر ماهی) در یک نوبت تزریق بوده است و از تعداد ۸ مولد تزریقی تعداد ۷ مولد (۸۷/۵ درصد) به تزریق جواب مثبت داده‌اند و نیز در تزریق دو مرحله‌ای که میزان هورمون  $350 - 375 \mu\text{g}/\text{fish}$  بوده، بیشترین تأثیر را داشته است.

بدین ترتیب دامنه مقدار مؤثر این هورمون بین  $20 - 31/2 \mu\text{g}/\text{Kg}$  بدست آمده است. همچنین بالا بودن درصد لقاح و درصد تخمه‌گشایی مولدینی که با هورمون LHRHa تزریق گردیده‌اند در مقایسه با مولدین گروه شاهد نشان دهنده این مطلب است که کیفیت تخم‌های دریافتی این مولدین بالاتر و بهتر بوده است.

در تیماری که از ترکیب CCP+SPE استفاده شده بهترین تکرار مربوط به میزان  $7 \text{ mg CCP}/\text{Kg}/\text{BW} + 2/5 \text{ mg SPE}/\text{Kg}/\text{BW}$  بوده که هر سه مولد تزریق شده به عملیات جواب مثبت داده‌اند. در مورد تیمار شاهد نیز بهترین تکرار مربوط به استفاده SPE به میزان  $40 \text{ mg}$  به ازای هر ماهی و یا میزان ۳ تا ۴ میلی‌گرم از ماده مذکور به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد که از تعداد ۸ مولد تزریقی در این تکرار ۶ مولد (۷۵ درصد) جواب مثبت داده‌اند.

جدول ۳: تأثیر مقادیر مختلف از هورمونها در رسیدگی جنسی ماهی ازون‌برون

نوع آزمایش	نوع هورمون مورد استفاده	میزان هورمون استفاده شده	میزان حداکثر و حداقل هورمون استفاده شده به ازای وزن هر ماهی	تعداد ماهیان تزریق شده	تعداد ماهیان رسیده	دفعات تزریق
گروه آزمایشی	LHRHa	۴۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۲۶/۷-۴۰ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۶	۱	یک مرحله‌ای
		۳۷۵ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۳۰-۳۱/۲ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۲	۲	دو مرحله‌ای
		۳۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۳۰/۴ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۲	۲	یک مرحله‌ای
		۳۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۲۹/۱-۳۱/۸ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۴	۴	دو مرحله‌ای
		۲۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۲۰-۳۱/۲ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۸	۷	یک مرحله‌ای
		۲۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۱۵/۳-۲۰ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۴	۱	یک مرحله‌ای
		۵۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۵+۲ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۱	-	یک مرحله‌ای
		۴۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۶+۲ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۳	-	یک مرحله‌ای
		۴۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۷+۲ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۳	-	یک مرحله‌ای
		۴۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۷+۲/۵ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۳	۳	یک مرحله‌ای
گروه شاهد	SPE	۴۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۵۰ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۱	-	یک مرحله‌ای
		۴۰۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۴-۵/۲ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{BW}$	۲	-	یک مرحله‌ای
		۴۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	+	۲	-	یک مرحله‌ای
		۴۵۰ $\mu\text{g}/\text{fish}$	۳۶/۳-۴۷ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۲	-	یک مرحله‌ای
گروه شاهد	SPE	۳۵ $\text{mg}/\text{fish}$	۳/۱ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۲	-	یک مرحله‌ای
		۴۰ $\text{mg}/\text{fish}$	۳-۴ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۸	۶	یک مرحله‌ای
		۴۵ $\text{mg}/\text{fish}$	۳/۷۵-۵/۶ $\text{mg}/\text{kg}/\text{BW}$	۹	-	یک مرحله‌ای



در مولدین نر، مقایسه بین درصد میزان اسپرم دریافت شده نسبت به وزن بدن مولدین در گروههای آزمایشی (تیمارهای ۲ و ۳) و گروه شاهد (تیمار ۱) با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه اختلاف معنی داری را بین دو گروه مذکور نشان نمی دهد ( $d.f. = 2/21$ ,  $t_r = 6/63$ ,  $sig. Level = 61\%$ ). استفاده از آزمون توکی نیز برای این گروهها نشان می دهد که در تیماری که از هورمون LHRHa استفاده شده با دو تیمار دیگر دارای تفاوت معنی داری بوده و میزان اسپرم در این تیمار بالاتر از دو تیمار دیگر می باشد.

در مورد مقایسه درصد جوابدهی مولدین نر مورد آزمایش به هورمونهای مختلف در تیمارهای مختلف بصورت دو به دو با استفاده از آزمون اختلاف نسبتها (آزمون Z) نشان می دهد که سه هورمون استفاده شده از نظر درصد جوابدهی دارای تفاوت معنی دار نبوده اند. نتایج این آزمون در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴: نتایج آزمون اختلاف نسبتها مربوط به ماهیان نر

عنوان	آزمون	Z محاسباتی	Z%. ۹۵	تفاوت معنی دار
درصد جوابدهی	CCP, LHRHa	۱/۴۷	۱/۹۶	-
	CCP, SPE	۰/۷۵	۱/۹۶	-
کیفیت اسپرم	SPE, LHRHa	۱/۹۵	۱/۹۶	-
خوب و عالی	CCP	۰/۶۳	۱/۹۶	-
	LHRHa	۰/۵۳	۱/۹۶	-

بالاترین درصد جوابدهی مولدین نر مربوط به تیماری بوده که از هورمون LHRHa استفاده شده و پس از آن مربوط به تیمار مخلوط هیپوفیز با عصاره تاسماهیان و در نهایت مربوط به تیمار شاهد می باشد. جدول ۵ وضعیت کیفیت اسپرم مولدین نر و درصد جوابدهی را در تیمارهای مختلف نشان می دهد.

در جدول ۶ مقادیر مختلفی که مولدین نر با هورمونهای مختلف مورد آزمایش قرار گرفته اند، همچنین تعداد مولدینی که به آن میزان خاص جواب داده اند، آورده شده و طبق آن

جدول ۵: مقایسه کیفیت اسپرم در تیمارهای مختلف

وضعیت کیفیت اسپرم				درصد عدم جوابدهی	درصد جوابدهی	نوع هورمون
عالی	خوب	متوسط	ضعیف			
(۱)	(۲)	(۳)	(۴)			
۲۵	۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	۲۵	۷۵	CCP+SPE
۵۷/۲	۴۲/۸	-	-	-	۱۰۰	LHRHa
۱۴/۲	۱۴/۲	۱۴/۲	۱۴/۲	۴۲/۸	۵۷/۲	SPE

تمام ۷ مولدی که با میزان  $250 - 200 \mu\text{g}/\text{fish}$  هورمون LHRHa تزریق گردیده‌اند به عملیات جواب مثبت داده‌اند و قادر به تولید اسپرم با کیفیت خوب و عالی بوده‌اند. در مولدینی که با مخلوط CCP+SPE تزریق شده‌اند، بهترین مقدار این مخلوط برابر با  $1/5 \text{ mg SPE}/\text{Kg}/\text{BW} + 1$   $7 \text{ mg CCP}/\text{Kg}/\text{BW}$  بوده و نیز کیفیت اسپرم‌های دریافتی نیز نسبتاً خوب بوده است. در تیمار شاهد نیز از ۷ مولد نر تزریق شده با میزان  $40 - 35 \text{ mg}$  هیوفیز، ۴ مولد ( $1/57$  درصد) جواب مثبت داده‌اند و کیفیت اسپرم دریافتی از آنها برابر بوده است.

جدول ۶: اثرات مقادیر مختلف هورمونها در رسیدگی مولدین نر ماهی ازون برون

نوع آزمایش	نوع هورمون	میزان استفاده شده برای هر ماهی	حداقل و حداکثر هورمون استفاده شده به ازای وزن بدن	تعداد ماهیان تزریق شده	تعداد ماهیانی که اسپرم‌ریزی نموده‌اند
	LHRHa	$200 \mu\text{g}/\text{fish}$	$28/5 - 30/7 \mu\text{g}/\text{Kg}$	۲	۲
		$250 \mu\text{g}/\text{fish}$	$27/7 - 31/2 \mu\text{g}/\text{Kg}$	۵	۵
گروه			$5+1 \text{ mg}/\text{Kg}$	۲	۱
آزمایشی	CCP+SPE		$6+1 \text{ mg}/\text{Kg}$	۲	۱
			$7+1 \text{ mg}/\text{Kg}$	۲	۲
			$7+1/5 \text{ mg}/\text{Kg}$	۲	۲
گروه شاهد	SPE	$35 - 40 \text{ mg}/\text{fish}$	$3/5 - 8 \text{ mg}/\text{Kg}$	۷	۴

## بحث

بررسی نتایج بدست آمده از این تحقیق بوضوح مشخص ساخت که استفاده از آنالوگهای مصنوعی هورمون LHRHa اثرات بسیار مطلوبی در تحریک رسیدگی تخم‌ها و عمل اوولاسیون و اسپرماتاسیون داشته و در مقام مقایسه تطبیقی با عصاره هیپوفیز تاسماهیان، SPE دارای مزیت و برتری قابل ملاحظه‌ای بوده است. مطالعات و بررسیهای محققین در دیگر کشورها نیز همانند روسیه، آمریکا، فرانسه و غیره مؤید آن است که از ترکیب فوق می‌توان به منظور القاء کننده عمل رسیدگی و اوولاسیون در انواع ماهیان خاویاری استفاده نمود (Igumnova & Goncharov, 1986 ; Goncharov, 1984<sub>a,b</sub>, 1985)

همچنین محققین آمریکائی از این هورمون به منظور القاء رسیدگی و تخم‌ریزی در تاسماهی سفید *A. transmontanus* بطور موفقیت آمیزی استفاده نموده‌اند (Moberg et al., 1991). در استفاده از مقادیر مختلف هورمون LHRHa هیچگونه علائمی از آثار دریافت مقدار اضافی هورمون و حالات غیر عادی در مولدین تزریقی ملاحظه نگردید. تجربیات و آزمایشات انجام گرفته در کشور روسیه نیز تأیید می‌نماید که حتی در مقادیر تزریقی فراتر از حد آستانه نیز هیچگونه علایم دریافت مقدار اضافی در مولدین مورد آزمایش مشاهده نگردید (Goncharov et al., 1991). در این آزمایشات کمترین میزان مؤثر هورمون LHRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن  $20 \mu\text{g}$  بوده که موجب رسیدگی مولدین شده، در حالیکه در آزمایشاتی که بصورت گسترده در کشور روسیه روی سه گونه *A. guldenstaedti*؛ *Huso huso* و *A. stellatus* صورت گرفت، بیشترین بازده در مقدار  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  بوده است (Dettlaff et al., 1992). علت این تفاوت در میزان هورمون احتمالاً بنا به دلایل زیر می‌باشد:

۱- اکثر مولدین انتقال یافته به مجتمع تکثیر از نواحی دور از ساحل صید شده‌اند و تخمکهای آنها مراحل نهائی رسیدگی خود را طی ننموده‌اند، در حالیکه در کشور روسیه مولدین مورد استفاده در مجتمع‌های تکثیر، از رودخانه‌های ولگا صید می‌گردند و همگی مراحل رسیدگی خود را طی نموده‌اند و آماده پذیرش مقدار کمی از هورمون مذکور جهت عمل اوولاسیون و رسیدگی می‌باشند.

۲- از کل مولدین استفاده شده در این تحقیق تنها ۶/۸ درصد از آنها دارای شاخص رسیدگی پایین تر از ۸ بوده‌اند و ۶۰/۳ درصد از آنها مابین ۸ تا ۱۲ و در نهایت ۳۱ درصد بالای ۱۲ بوده‌اند (بهمنش، ۱۳۷۵). در حالیکه در کشور روسیه اکثر مولدین از رودخانه صید می‌گردند و دارای شاخص رسیدگی کمتر از ۸ می‌باشند.

۳- انتخاب مولدین اصلح جهت تکثیر در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری براساس یکسری مشخصه‌های ظاهری مانند نرمی و سفتی شکم، رنگ قرمز مخرج ماهی و پارامترهای دیگر می‌باشد. در حالیکه در کشور روسیه قبل از انتقال مولدین جهت تکثیر حتماً عمل نمونه برداری از تخمکها جهت تعیین موقعیت GV و افزایش امکان جوابدهی به هورمون صورت می‌گیرد.

بنابراین با توجه به اقتصادی بودن و هزینه پایین کاربرد هورمون LHRHa و با در نظر گرفتن تجربیات و پیشرفتهای سایر کشورها در زمینه استفاده از هورمونهای مصنوعی، این هورمون می‌تواند جایگزین عصاره هیپوفیز باشد. لیکن برای دستیابی به نتایج بهتر آن در تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری و رفع نواقص موجود، لازم است که اینگونه آزمایشات بصورت مستمر در سالهای آتی صورت پذیرد.

نتایج حاصل از تزریق مخلوط هورمون CCP+SPE نیز نشان داد که از این ترکیب می‌توان برای تحریک رسیدگی و اوولاسیون ماهیان خاویاری با مقدار  $2/5 \text{ mg/Kg/BW} + 7$  استفاده نمود. بررسی محققین فرانسوی در سال ۱۹۸۱ و روسی در سال ۱۹۷۳ بیانگر آن است که از مخلوط فوق می‌توان به منظور القاء تخم‌ریزی و اوولاسیون انواع ماهیان خاویاری استفاده نمود، بطوریکه استفاده از مخلوط فوق به میزان  $2 \text{ mg/kg/BW} + 6$  در گونه سبیره (*A. baeri*) ۱۰۰ درصد موفقیت آمیز بوده است (آذری تاکامی، ۱۳۷۳).

در آزمایش انجام گرفته با ترکیب هورمون تیروکسین و پس از آن عصاره هیپوفیز تاسماهیان بدلیل اینکه از طرفی مولدین مورد آزمایش مراحل نهائی رسیدگی و تکوین جنسی خود را طی نموده بودند و از شاخص رسیدگی بالایی برخوردار بوده‌اند و از طرف دیگر بدلیل عدم دستیابی به نوع تزریقی هورمون مذکور، به ناچار از نوع خوراکی آن استفاده گردیده لذا تمام

این عوامل جوابدهی مولدین را تحت تأثیر قرار داده و باعث گردید که در این تیمار موفقیت مورد نظر حاصل نگردد. لیکن به دلیل مطالعات و آزمایشات انجام گرفته توسط محققین مختلف از جمله (Kalashnikov & Skadovskii, 1940) تأثیر هورمون تیروکسین روی رسیدگی مولدین ماهیان خاویاری و همچنین اثر آن روی ترشح هورمونهای گنادوتروپیک هیپوفیزی و غشای فولیکولی به اثبات رسیده است. البته لازم بذکر است که تزریق نوع خوراکی آن به مولدین مورد آزمایش، تأثیر بسیار زیادی بر قطبی شدن هسته سلول تخم (GV) داشته و میزان آن را از یک حد بسیار بالا به یک حد بسیار پایین کاهش داده بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیقات مشابهی که سایر کشورها روی گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری بعمل آورده‌اند، مشخص می‌گردد که هورمون LHRHa و مخلوط CCP+SPE می‌تواند بعنوان جایگزین عصاره هیپوفیز تاسماهیان باشد، به شرط اینکه کلیه مولدین قبل از انجام عملیات تزریق، از نظر وضعیت قطبی شدن هسته سلول تخمک بررسی شده باشند و انتخاب مولدین تنها براساس علائم ظاهری نباشد و یا اینکه محل‌های مناسبی جهت نگهداری مولدین غیررسیده تا زمان مطلوب از نظر رسیدگی در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری تعیین گردد تا از این طریق از هدر رفتن میزان زیادی خاویار، سرمایه، انرژی، نیروی انسانی و امکانات جلوگیری گردد.

## تشکر و قدردانی

وظیفه خود می‌دانم که از کلیه استادان، همکاران و دوستانی که در کمال صداقت و صمیمیت در طول اجرای این تحقیق مرا مورد حمایت‌های علمی و فنی خود قرار داده‌اند از جمله خانم دکتر شهربانو عریان، آقایان دکتر قباد آذری تاکامی، دکتر امین کیوان، دکتر پور کاظمی، دکتر نظامی، شادروان دکتر یوسف پور، مهندس وهابی، مهندس شفیع‌زاده ثانی، مهندس جمال‌زاده و دیگر دوستان که در این سطور مجال تشکر و قدردانی از آنان نمی‌باشد، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

## منابع

- آذری تاکامی، ق.، ۱۳۷۳. مروری بر تکثیر و پرورش تاسماهیان در ایران. سخنرانی علمی تالار حامدی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.
- بهمنش، ش.، ۱۳۷۵. بررسی امکان استفاده توأم از هیپوفیز تاسماهیان و کپور ماهیان و هورمون LHRHa در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون *A. stellatus* و مقایسه آن با روشهای مرسوم. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی.؟.
- Barannikova, I.A. ; Boev, A.A. ; Saenko, I.I. and Travkin, B.G. , 1975. On the possibility of Chorionic gonadotropin application for stimulation of fish maturation.T.R. VNIRO, No. 111, pp.136-142.
- Dettlaff, T.A. ; Ginsburg, A.S. and Schmalhausen O.I. , 1992. Sturgeon fishes developmental biology and aquaculture. 27 P.
- Gerbilskii, N.L. , 1941. Method of pituitary injections and its role in fish culture.In : Gerbilskii NL (ed) Method of pituitary injections and its role in reproduction of fish resources. LGU Press, Leningrad, pp.5-35.
- Goncharov, B.F. , 1969. On the regularities of emergence of gonad sensitivity to the pituitary gonadotropic hormone.In:A contemporary method of pituitary injections. Astrakhan. pp.39-43.
- Goncharov, B.F. , 1984a. Application of synthetic LH-RH analogs for inducing maturation of gametes in Acipenseridae fishes. In: Abstracts All-unionconf.Sturgeon culture in water bodies of the U.S.S.R., Dec 11-14,1984, Astrakhan. pp.94-95.
- Goncharov, B.F. , 1984b. A synthetic analog of LHRH as a new promising stimulus

- of maturation of the gametes in Acipenserid fishes. Dokl Akad Nauk SSR. Vol. 276, pp.1002-1006.
- Goncharov, B.F. ; Igumnova, L.V. ; Polupan, I.S. and Saveliva, E.A. , 1989.** Induced oocyte maturation, ovulation and spermiation in sturgeons (Acipenseridae) using synthetic analogue of gonadotropin-releasing hormone. *In: summaries of oral communications, posters, films of the 1 st Int. Sym. on the sturgeon, 3-6 Oct 1989, Bordeaux, CEMAGREF, Bordeaux. 34 P.*
- Goncharov, B.F. ; Igumnova, L.V. ; Polupan, I.S. and Saveliva, E.A. , 1991.** Induced oocyte maturation, ovulation and spermiation in sturgeons (Acipenseridae) using synthetic analogue of gonadotropin-releasing hormone. *In: Acipenser Actes due premier colloque international surl Esturgeon, Bordeaux. 3-6 octobre, 1989, Bordeaux, CEMA VREF. pp.351-364.*
- Igumnova, L.V. and Goncharov, B.F. , 1986.** Obtaining of mature gametes from the giant sturgeon females through the use of a synthetic LH-RH analog. *In: formation of sturgeon reserves under the conditions of complex utilization of aquatic resources. Abstracts, TS NIORKH, Astrakhan. 111 P.*
- Kalashnikov, G.N. and Skadovskii, S.N. , 1940.** Observations of the physiology of Acipenseridae fishes during reproduction with reference to the problem of artificial propagation. *Zoolzh, No. 19, pp.671-679.*
- Moberg, G.P. ; Doroshov, S.I. ; Chapman, F.A. ; Kroll, K.J. ; Van Eenennaam, J. and Watson, J.G. , 1991.** Effects of various hormone implants on vitellogenin synthesis and ovarian development in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*).

---

*In: Acipenser, Actes du premier colloque international sur l'esturgeon, Bordeaux 3-6 october 1989, Brodeaux, CEMAGREF. pp.389-399.*

**Persov, G.M. , 1941.** Estimation of sturgeon fish farming in connection with application of the method of pituitary injections. *In: method of pituitary injection and its role in fish management. Izd. LGU. Leningrad. pp.42-45.*



# Comparison Study on Different Synthetic Hormones Used for Artificial Propagation of Stellate Sturgeon *Acipenser stellatus stellatus* Berg, 1932

Behmanesh Sh.

behmanesh110@yahoo.com

I.F.R.O.

Aquaculture Dept., Guilan Fisheries Research Center,  
P.O.Box: 66 Bandar Anzali, Iran

Received: June 2001

Accepted : January 2002

**Key words :** *A. stellatus stellatus*, LHRHa, CCP, T3

## ABSTRACT

In this study the effects of LHRHa, a mixture of common carp and sturgeon pituitary extracts (CCP+SPE), Thyroxin hormone (T3) with commonly method used in hatcheries were compared. The experiments were conducted using different doses of hormones with several replicates in order to determine the most effective dose. Total number of broodstocks were 58 females and 22 males. Prior to injecting the fishes, the Germinal Vesicle (GV) situation of all broodstocks were determined.

The results showed that broodstocks has been injected with LHRHa were very satisfactory and the percentage of response, fertilization and hatching of them had significantly different. The least effective dose of LHRHa that induced maturation was 250 $\mu$ g/fish for single injection and 350-375 $\mu$ g/fish for double injection. Thus it was determined that under the experimental conditions, 20.0 to 31.2  $\mu$ g/Kg of body weight of broodstock was the most effective dose. In the case of male broodstocks LHRHa was the most effective hormone and the sperms collected from these broodstocks were better in quality and quantity.

The most effective dose of this hormone for males was determined to be 200 to 250  $\mu\text{g}/\text{fish}$  or 27.7 to 31.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of body weight. The best dose of mixture of CCP + SPE which all broodstocks responded was 7.0mg/kgBW+2.5mg/kgBW for females and 7.0mg/kgBW+1.5mg/kgBW for males.

In the case of broodstocks that were first injected thyroxin and latter injected SPE it must be stated that since the thyroxin used was of edible grade none of the broodstocks attained maturity. Therefore the results obtained in this treatment were not satisfactory.