القاء تخم‌ریزی ماهی عنزه (*Barbus esocinus*) با استفاده از هورمون LHRH-A۲ همراه با عصاره غده هیپوفیز

- **مالک سیلاوی**: گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق‌پستی: ٤٣١٧٥-٦٤١٩٩
- **سیدمحمد موسوی***: گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق‌پستی: ٤٣١٧٥-٦٤١٩٩
- **وحید یاوری**: گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق‌پستی: ٤٣١٧٥-٦٤١٩٩
- **علی سواری**: کارگاه توسعه ماهیان بومی سوسنگرد، اداره کل شیلات استان خوزستان
- **ابراهیم رجب‌زاده قطرمی**: گروه شیلات، دانشکده منابع‌طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق‌پستی: ٤٣١٧٥-٦٤١٩٩

تاریخ دریافت: آذر ١٣٩٤ تاریخ پذیرش: اسفند ١٣٩٤

چکیده

ماهی عنزه (*Barbus esocinus*) یکی از گونه‌های متعلق به خانواده کپورماهیان و جنس سس ماهی و ماهی بومی خوزستان می‌باشد که با توجه به وضعیت منابع آبی داخلی استان و صید بی‌رویه ماهیان بومی، ذخایر طبیعی این گونه به‌شدت کاهش یافته است. هدف از اجرای این تحقیق دست‌یابی به یک روش کاربردی در تکثیر مصنوعی ماهی عنزه بوده است. به این منظور تعداد ٢٠ مولد ماده عنزه با وزن متوسط ١١/٤٣ کیلوگرم، از استخرهای پرورشی ماهیان بومی مرکز توسعه ماهیان بومی دشت آزادگان به‌طور تصادفی انتخاب و به سه تیمار آزمایشی و یک تیمار شاهد تقسیم شدند. در تیمارهای اول تا سوم به‌ترتیب، مقادیر ٤، ٧ و ١٠ میکروگرم در کیلوگرم هورمون LHRH-A۲ در مرحله مقدماتی، ٠/٥ میلی‌گرم در کیلوگرم غده هیپوفیز در مرحله دوم و ٤/٥ میلی‌گرم در کیلوگرم نیز غده هیپوفیز در مرحله نهایی و در تیمار شاهد فقط از غده هیپوفیز به‌مقدار ٠/٥ میلی‌گرم در کیلوگرم در مرحله اول و مقدار ٤/٥ میلی‌گرم در کیلوگرم در مرحله نهایی تزریق صورت گرفت. تزریق دوم با فاصله زمانی ٢٤ ساعت از تزریق اول و تزریق سوم در فاصله زمانی ١٢ ساعت از تزریق دوم صورت پذیرفت. پس از طی شدن دوره نهفته، تخم‌گیری از ماهیان و عمل لقاح (لقاح خشک) انجام گردید. در انتها شاخص‌های تکثیر نظیر نسبت جوابدهی مولدین، هم‌آوری کاری، درصد لقاح، درصد تفریخ و میزان لارو استحصالی تعیین و مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، بهترین شاخص‌های تولید مثلی در تیمار دوم مشاهده گردید به‌طوری‌که در این تیمار همه مولدین نسبت به تزریق جواب دادند و هم‌آوری کاری ٣٣٦٥٨±٢٥٧٢٤٠، درصد لقاح ٠/٤٧±٩٦/٣، درصد تفریخ ٠/٦٧±٩٧، میزان لارو استحصالی١٥٣١٥±٢٤٠٤٠٠ به‌دست آمد که با سایر تیمارها و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (p<٠/٠٥). براساس نتایج حاصله، روش تزریق سه مرحله‌ای با استفاده از تزریق یک مرحله‌ای ٧ میکروگرم در کیلوگرم هورمون LHRH-A۲ و دو مرحله تزریق عصاره غده هیپوفیز می‌تواند به‌طور موفق در تکثیر ماهی عنزه مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی عنزه (*Barbus esocinus*)، LHRH-A۲، غده هیپوفیز، شاخص‌های تولیدمثلی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: seied١٣٥٦@yahoo.com

مقدمه

تقریباً تمام ماهیان در محیط استخرهای پرورشی، عملکرد تولیدمثلی ضعیفی را از خود نشان می‌دهند. غالباً در جنس ماده، ناتوانی در بلوغ نهایی اووسیت‌ها، تخمک‌گذاری و تخم‌ریزی وجود دارد و در جنس نر ممکن است اسپرم با کیفیت ضعیف تولید شود. این عملکردهای ضعیف ناشی از این واقعیت است که ماهی در شرایط اسارت، شرایط تخم‌ریزی طبیعی را تجربه نکرده‌است، بنابراین غده هیپوفیز در ترشح گنادوتروپین‌ها، بلوغ و تخمک گذاری ناتوان است. از سال ۱۹۳۰ از عصاره هیپوفیز در تحریک تولیدمثل و وادار کردن ماهی به تخمک‌گذاری، اسپرم‌سازی و تخم‌ریزی استفاده شده است و در سال ۱۹۷۰، اولین روش به‌کارگیری غده هیپوفیز تازه جمع‌آوری شده از ماهی کپور معمولی در فصل تولیدمثل و هورمون کوریونیک انسانی و دیگر هورمون‌های پستانداران و ماهی‌ها، در وادار کردن ماهی به تخم‌ریزی مورد استفاده قرار گرفت (Zohar و همکاران، ۲۰۱۱). آنالوگ هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRHa) به‌همراه ترکیبات ضددوپامین و هورمون آزادکننده هورمون زرده‌ساز (LHRH)، برای القاء ترشح هورمون‌های تولیدمثلی در آبزیان به‌طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در سال‌های اخیر نوع مصنوعی هورمون LHRH به‌نام آنالوگ LHRH (LHRHa) معرفی شده که از نوع طبیعی آن موثرتر است که علت آن خلوص بیش‌تر، متابولیزه‌شدن سریع‌تر توسط ماهی و مدت زمان فعالیت بیش‌تر می‌باشد. هورمون LHRH-A یکی از هورمون‌های القاء کننده تخم‌ریزی در ماهیان است که تخم‌ریزی را تسریع می‌کند. امروزه دو نوع LHRH-A به نام‌های $LHRH-A_1$ و $LHRH-A_2$ (با اثر بیش‌تر)، در امر القاء تخم‌ریزی به‌کار گرفته می‌شود (Kalbassi و همکاران، ۲۰۱۴؛ Shoaib و همکاران، ۲۰۱۴؛ حسین‌زاده صحافی، ۱۳۸۰).

در منطقه خوزستان، تاکنون ۱۴ جنس و ۲۴ گونه ماهی شناسایی شده است که بیش‌ترین تنوع را سس ماهیان با حداقل ۱۱ گونه به‌خود اختصاص می‌دهند (رئیسی‌عزیزی و همکاران، ۱۳۹۲؛ ولی‌الهی، ۱۳۹۳؛ هاشمی و مرتضوی، ۱۳۸۹؛ نجف‌پور و همکاران، ۱۳۷۵). پراکنش این گونه‌ها در ناحیه دجله، فرات، اروندرود و کارون می‌باشد (کد و عبدلی، ۱۳۷۵؛ Coad، ۱۹۹۵). از جمله این ماهی‌ها ماهی عنزه (*Barbus esocinus*) است. این ماهی دارای سری بزرگ و پوزه‌ای بلند بوده، به‌طوری‌که تقریباً طول پوزه یک سوم طول سر می‌باشد. ماهی‌های ماده عنزه با وزن ۱۰/۱۰۰-۶/۳۰۰ کیلوگرمی دارای طول کل ۹۳-۸۲ سانتی‌متر، طول استاندارد ۸۴-۷۱، طول سر ۱۶-۱۵ سانتی‌متر و طول پوزه ۶-۵ سانتی‌متر می‌باشند (Coad، ۲۰۱۰).

با توجه به‌کاربرد موفقیت آمیز هورمون $LHRH-A_2$ به‌همراه عصاره غده هیپوفیز در تکثیر برخی ماهی‌ها در تحقیقات قبلی (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳؛ Kalbassi و همکاران، ۲۰۱۴؛ Shoaib و همکاران، ۲۰۱۴؛ Ahmadnezhad و همکاران، ۲۰۱۳؛ Maboudi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Kahkesh و همکاران، ۲۰۱۰؛ Arabaci، ۲۰۰۱) و محدودیت تولید بچه ماهی عنزه جهت توسعه آبزی‌پروری و بازسازی ذخایر این گونه ماهی در منابع آب‌های داخلی، تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تزریق هورمون سنتتیک $LHRH-A_2$ به‌همراه عصاره غده هیپوفیز در القای رسیدگی جنسی ماهی عنزه (*B. esocinus*) و تاثیرات آن بر درصد لقاح، تخم‌گشایی، هم‌آوری کاری و موفقیت تکثیر ماهی عنزه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تمام مراحل اجرایی این طرح در مرکز توسعه ماهیان بومی سوسنگرد وابسته به اداره کل شیلات خوزستان واقع در کیلومتر ۴۰ جاده اهواز- سوسنگرد در فروردین ماه سال ۱۳۹۲ انجام شد. عملیات تکثیر پس از مناسب شدن شرایط طبیعی دمایی آب استخر نگه‌داری ماهیان مولد (۲۱-۲۰ درجه سانتی‌گراد) با تزریق هورمون و عصاره غده هیپوفیز در سه مرحله با فواصل زمانی ۲۴ و ۱۲ ساعته آغاز شد و در روز سوم با ۱۶ ساعت فاصله زمانی پس از تزریق نهایی تخم‌کشی به‌صورت دستی انجام شد.

ماهیان مولد اولیه به صورت وحشی از محل زیست طبیعی آن‌ها با کمک صیادان محلی از رودخانه کرخه، دریاچه سد دز و هورالعظیم با انواع ادوات صید مانند تورگوشگیر و قلاب صید و با خودروی مجهز به وسایل حمل و نقل ماهی زنده از قبیل تانک فایبرگلاس، کپسول اکسیژن و... بارگیری و تا استخرهای خاکی کارگاه جابه‌جا شدند. به‌منظور نگه‌داری ماهیان مولد قبل از شروع فصل تکثیر، از استخرهای خاکی نیم تا یک هکتاری استفاده شد. منبع تأمین آب جهت پرورش ماهی، رودخانه کرخه می‌باشد. تغذیه ماهیان مولد علاوه بر غذای طبیعی، با غذای فرموله‌شده کنستانتره ویژه بنی، جو و سبوس برنج به میزان ۳ تا ۵ درصد وزن بدن به‌صورت روزانه دو بار انجام می‌گردید. برای اجرای این تحقیق از تعداد ۲۰ ماهی مولد ماده عنزه با میانگین وزن ۱۲ کیلوگرم استفاده شد. ماهی‌های مولد از استخرهای پرورشی خاکی به‌وسیله تور پره صید و با وان حمل و نقل درب‌دار همراه با اکسیژن‌دهی تا سالن تکثیر جابه‌جا شدند و بلافاصله با محلول

ماده شیمیایی اتیلن گلیکول مونو فنیل اتر با دوز ۳۰۰ قسمت در میلیون آرام شده و پس از توزین با ترازوی برقی، با محلول هورمونی تازه آماده شده، تزریق شدند و پس از تزریق به حوضچه نگه‌داری و آرامش در داخل سالن انکوباسیون (مجهز به آب جاری همراه با هوادهی)، منتقل شدند (Maboudi و همکاران، ۲۰۱۳). شرایط فیزیکوشیمیایی آب سالن تکثیر و حوضچه‌های آرامش روزانه اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید (دمای آب سالن تکثیر ۲۳/۸۱±۰/۵۷ درجه سانتی‌گراد، pH: ۸±۰/۲، اکسیژن: ۷/۹±۰/۴ میلی‌گرم در لیتر). جهت اجرای پروژه از سه گروه تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد استفاده شد. برای هر تیمار تعداد پنج قطعه ماهی مولد ماده عنزه در نظر گرفته شد. جهت القاء و یا تحریک ماهیان ماده عنزه به رسیدگی جنسی و سیال کردن تخمک‌ها از هورمون $LHRH\text{-}A_2$ ساخت کشور چین (Shansheng, China) و عصاره غده هیپوفیز کپورمعمولی (تهیه و فرآوری شده در اداره کل شیلات گیلان) استفاده گردید. به‌منظور تهیه محلول تزریقی، از محلول سرم فیزیولوژی استفاده گردید. تزریق محلول هورمون با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری در محل پایه باله سینه‌ای در سه مرحله به‌شرح زیر صورت گرفت (شکل ۱). در تیمارهای اول تا سوم به‌ترتیب، مقادیر ۴، ۷ و ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم هورمون $LHRH\text{-}A_2$ در مرحله مقدماتی، ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غده هیپوفیز در مرحله دوم و ۴/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نیز غده هیپوفیز در مرحله نهایی و در تیمار شاهد فقط از غده هیپوفیز به‌مقدار ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در مرحله اول و مقدار ۴/۵ میلی گرم در کیلوگرم در مرحله نهایی تزریق صورت گرفت. ماهیان مولد نر عنزه نیز با محلول هورمون $LHRH\text{-}A_2$ هم‌زمان با مرحله سوم یا نهایی مولدین ماده عنزه به‌میزان ۸ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدنشان تزریق شدند (جدول ۱). جهت لقاح تخمک‌های استحصالی هر ماده عنزه از اسپرم دو قطعه ماهی مولد نر استفاده گردید (Maboudi و همکاران، ۲۰۱۳). پس از تزریق کلیه مولدین در استخرهای بتنی آرامش با ظرفیت ۲۰۰۰ لیتر آب که دارای ورودی آب و سیستم اکسیژن‌رسانی بوده نگهداری شدند. بعد استحصال تخمک از مولدین ماده (شکل ۲) و افزودن اسپرم مولدین نر، عملیات لقاح به روش لقاح خشک صورت گرفت و به منظور فعال کردن اسپرم‌ها، آب معمولی تمیز و صاف (آب کارگاه) به مخلوط تخم‌ها و اسپرم‌ها اضافه و تخم‌ها به‌مدت ۳۰ الی ۴۵ دقیقه شستشو داده و در نهایت به‌منظور رفع کامل چسبندگی تخم‌ها، از محلول تانن با غلظت ۸ دهم در هزار (فریدپاک، ۱۳۶۸) به‌مدت کم‌تر از یک دقیقه غوطه‌ور گردیده و چند بار با آب معمولی شستشو داده شده و در نهایت تخم‌های عمل‌آوری شده به انکوباتورهای ۸ لیتری شیشه‌ای (زوک) که قبلاً با پرمنگنات پتاسیم ضدعفونی شده‌اند کشت داده شدند. مدت زمان انکوباسیون با توجه به درجه حرارت آب سالن، ۳ روز طول کشید. سپس ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد از کشت تخم‌ها در انکوباتورها اقدام به تعیین درصد لقاح و در نهایت درصد هچ تخم‌ها گردید که برای هر تکرار به‌صورت جداگانه ثبت شد. جهت تعیین میزان شاخص‌های تولیدمثلی شامل هم‌آوری کاری، درصد لقاح، درصد هچ، میزان لارو تولیدی، درصد بازماندگی لاروها و میزان تخم-ریزی از فرمول‌های زیر استفاده گردید (Mikolajczyk و همکاران، ۲۰۰۳)

هم‌آوری کاری= تعداد تخم در هر بار تخم‌ریزی که قابلیت باروری و تبدیل شدن به لارو را داشته باشند

$$\text{درصد لقاح} : \frac{\text{تعداد تخم ها لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخم ها}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد هچ} : \frac{\text{تعداد لارو حاصله}}{\text{تعداد تخم های لقاح یافته}} \times ۱۰۰$$

$$\text{میزان لارو تولیدی}: \frac{\text{تعداد لارو تولیدی در هر تیمار}}{\text{تعداد ماهی موجود در هر تیمار}}$$

$$\text{درصد بازماندگی لاروها} : \frac{\text{تعداد لارو های زنده}}{\text{تعداد کل تخم ها}} \times ۱۰۰$$

$$\text{میزان تخم‌ریزی} : \frac{\text{تعداد ماهیان تخم ریزی کننده}}{\text{تعداد ماهیان تزریق شده}} \times ۱۰۰$$

شکل ۱: محل و نحوه تزریق در زیر باله سینه‌ای در ماهی مولد عنزه

جدول ۱: تیماربندی ماهیان مولد ماده عنزه

گروه	مرحله اول	فاصله زمانی	مرحله دوم	فاصله زمانی	مرحله سوم
۱	۴ میکروگرم در کیلوگرم از LHRH-A۲	۲۴ ساعت	۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم PGE	۱۲ ساعت	۴/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم PGE
۲	۷ میکروگرم در کیلوگرم ازLHRH-A۲	۲۴ ساعت	۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم PGE	۱۲ ساعت	۴/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم PGE
۳	۱۰ میکروگرم در کیلوگرم ازLHRH-A۲	۲۴ ساعت	۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم PGE	۱۲ ساعت	۴/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم PGE
شاهد	----------	----	۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم PGE	۱۲ ساعت	۴/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم PGE

شکل ۲: تخم‌گیری از ماهی مولد ماده عنزه

تجزیه و تحلیل آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف مشاهده شده در نتایج شاخص‌های تولیدمثلی تیمارها، از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excell ۲۰۰۷ استفاده گردید.

نتایج

براساس نتایج جدول ۲، کل ماهیان تحت تیمار ۲ (با میزان ۷میکروگرم در کیلوگرم هورمون LHRH-A۲ در مرحله مقدماتی) به تزریق جواب داده و بیش‌ترین میزان شاخص‌های تولیدمثلی در این تیمار مشاهده شد به‌نحوی که میزان جواب‌دهی ۱۰۰٪، میانگین وزن تخمک استحصالی، ۸۴±۱۲۲۴ گرم، میانگین نسبت تخمک به وزن بدن ۱۳/۵۷٪، میانگین هم‌آوری کاری ۱۵۰۵۲±۲۵۷۲۴۰، میانگین درصد لقاح ۰/۴۷±۹۶/۳٪، میانگین درصد هچ ۰/۶۷±۹۷٪ و میانگین لارو تولیدی ۱۵۳۱۵±۲۴۰۴۰۰ با یک دروه پنهان ۵۲ ساعته در ماهیان تحت این تیمار مشاهده گردید که با دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (p<۰/۰۵). بعد از تیمار ۲، تیمار ۳ با میزان ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم هورمون LHRH-A۲ در مرحله مقدماتی، بهترین تاثیر را بر شاخص‌های تولیدمثلی در مولدین ماهی عنزه داشت که در برخی از شاخص‌ها با تیمار ۱ دارای اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. هم‌چنین تیمار شاهد، با وجود رسیدگی و برآمدگی شکم، به تزریق جواب نداده و تخم‌ریزی ننمودند که از نظر شاخص‌های تولیدمثلی با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشتند (p<۰/۰۵).

جدول ۲: شاخص‌های تولیدمثلی ماهی عنزه تحت تاثیر تیمارهای مختلف هورمون LHRH-A۲ و عصاره غده هیپوفیز (براساس میانگین±خطای استاندارد)

شاخص‌های تولید مثلی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
تعداد ماهی جواب داده	۰	۳	۵	۴
میانگین وزن مولدین ماده عنزه (کیلوگرم)	۱۱/۴۳ ±۳/۲۱[a]	۱۱/۴۳ ±۳/۲۱[a]	۱۱/۴۳ ±۳/۲۱[a]	۱۱/۴۳ ±۳/۲۱[a]
نسبت جوابدهی مولدین ماده عنزه	۰	٪ ۶۰ [c]	٪۱۰۰ [a]	٪۸۰ [b]
میانگین وزن تخمک استحصالی(گرم)	۰	۳۶۳ ±۱۴۹ [c]	۱۲۲۴ ± ۸۴ [a]	۸۶۰ ±۲۴۸ [b]
میانگین نسبت تخمک به وزن بدن	۰	٪۳/۲۸[c]	٪۱۳/۵۷[a]	٪۷/۷۵[b]
میانگین هم‌آوری کاری	۰	۸۶۸۹۰± ۳۶۴۰۶[b]	۲۵۷۲۴۰±۱۵۰۵۲[a]	۲۱۲۹۳۰±۶۰۹۰۵[a]
میانگین درصد لقاح	۰	۵۱/۲±۲۰/۹[b]	۹۶/۳±۰/۴۷[a]	۷۵ ±۱۸/۷[ab]
میانگین درصد هچ	۰	۵۴/۷±۲۲/۳[c]	۹۷±۰/۶۷[a]	۷۴/۶±۱۸/۶[b]
میانگین لارو تولیدی	۰	۶۷۶۰۰±۲۸۲۹۴[b]	۲۴۰۴۰۰±۱۵۳۱۵[a]	۱۸۶۸۰۰±۵۴۰۹۱[a]
دوره پنهان (ساعت)	۰	۵۲	۵۲	۵۲

بحث

امروزه نیاز به استفاده از عوامل القاءکننده تکثیر از قبیل: عصاره غده هیپوفیز HCG، GnRH یا LHRH-A_2 در تکثیر مصنوعی خانواده کپورماهیان و جنس سس ماهی ها از قبیل بنی، گطان، برزم، شیربت، کپورمعمولی و کپورماهیان چینی (کپور نقره‌ای، سرگنده و علف‌خوار) و کپورماهیان هندی، به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر، در تکثیر مصنوعی ماهی عنزه به منظور موفقیت کامل در رسیدگی نهایی تخمک‌ها و تخم‌کشی دستی، استفاده از عصاره غده هیپوفیز در ترکیب با هورمون LHRH-A_2 مورد بررسی قرار گرفت. برای دست‌یابی به شاخص‌های تولیدمثلی مطلوب نیاز به بهره‌گیری از یک القاءکننده موثر در تخم‌ریزی با دوز مناسب تزریق بارز می‌باشد. چرا که در رسیدگی جنسی مولدین اثر مطلوبی ایجاد می‌کند. موفقیت استفاده از هورمون LHRH-A_2 به تنهایی یا در ترکیب با دیگر القاءکننده‌ها مانند عصاره غده هیپوفیز، مهارکننده‌های دوپامینی و غیره در القاء تخم‌ریزی ماهیان زینتی مانند گورامی سه خال (*Colisa lalia*) (ناجی و همکاران، ١٣٨٠)، ماهیان پرورشی از جمله ماهی آزاد کتا *Oncorhynchus kisutch* (Berton و همکاران، ١٩٩٠)، سی‌باس دریایی *Lates calcarifer* (Harvey و همکاران، ١٩٨٥)، خامه‌ماهی *Chanos chanos* (Marte و همکاران، ١٩٨٧) در تولید انبوه لارو با کیفیت، بسیار مورد توجه و استفاده قرار گرفته است.

در این بررسی استفاده از هورمون LHRH-A_2 همراه با عصاره غده هیپوفیز در تزریق سه مرحله‌ای، بهترین اثر القاء تخم‌ریزی در مقایسه با عصاره غده هیپوفیز به تنهایی در ماهیان مولد ماده را در برداشت. در ماهی مولد عنزه هورمون LHRH-A_2 که با استفاده از محلول نمک ٠/٧ درصد آماده گردید، به‌عنوان ماده تزریقی مرحله اول یا مرحله مقدماتی، به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید. در مدت ٢٤ ساعت اثر مطلوبی بر روی غده هیپوفیز ماهی مولد گذاشته و منجر به ترشح GtHII گردیده‌است (مشاهده افزایش حجم شکم و افزایش وزن بدن ماهی مولد ماده عنزه به‌دلیل بزرگ‌تر شدن تخمک‌ها در تخمدان بر اثر جذب آب در زمان تزریق مرحله دوم). جهت کمک در ایجاد اثر مطلوب بر روی تخمدان‌ها، پیشرفت در بلوغ تخمک‌ها و رسیدگی هم‌زمان آن‌ها، عصاره غده هیپوفیز به مقدار ٠/٥میلی‌گرم برکیلوگرم در مرحله دوم تزریق گردید. در نهایت بعد از ١٢ ساعت، جهت رسیدگی کامل و بلوغ نهایی تخمک‌ها و آزاد شدن آن‌ها از تخمدان، در مرحله سوم عصاره غده هیپوفیز به‌میزان ٤/٥ میلی‌گرم تزریق شد و پس از ١٦-١٤ ساعت در دمای ٢٤-٢٢ درجه سانتی‌گراد (دمای مطلوب تکثیر ماهی عنزه) تخمک‌ها سیال شده و به‌صورت دستی تخلیه صورت گرفت.

در تیمار شاهد برای القاء تخم‌ریزی ماهی عنزه از عصاره غده هیپوفیز به‌میزان ٤ میلی‌گرم در کیلوگرم از عصاره غده هیپوفیز در دو مرحله (١٠٪ و ٩٠٪) استفاده شد که هیچ‌کدام از مولدین ماده ماهی عنزه جواب ندادند، که نشان‌دهنده این است که جهت القاء تخم‌ریزی ماهی عنزه به هورمون LHRH-A_2 همراه با عصاره هیپوفیز مورد نیاز می‌باشد. در این مطالعه متوسط هم‌آوری کاری حاصل شده بین تمام تیمارها ٧٠٠٩٣/٥±٢٣٢١٠٨/٣ عدد تخمک در قبال هر یک مولد ماده عنزه محاسبه گردید که بالاترین آن مربوط به تیمار ٢ (٣٣٦٥٨±٢٥٧٢٤٠) بود. دلیل افزایش هم‌آوری کاری در تیمارهای LHRH-A_2 همراه با عصاره هیپوفیز نسبت به عصاره هیپوفیز به تنهایی (تیمار شاهد) احتمالاً می‌تواند به تأثیر مفید LHRH-A_2 روی ترشح هورمون‌هایی مثل ١٧آلفا-هیدروکسی پروژسترون باشد که منجر به تکامل و بلوغ نهایی تخمک‌ها می‌گردد. هم‌چنین دلیل دیگر این افزایش را می‌توان به تعداد بیش‌تر گیرنده‌های هورمون LHRH-A_2 بر روی هیپوفیز و گناد ماهیان نسبت داد. این هورمون اختصاصاً باعث آزاد سازی GtH می‌شود ولی در هنگام تزریق عصاره غده هیپوفیز، بسیاری از هورمون‌های آنتی گنادال نیز بر سیستم تولیدمثلی ماهی اثر می‌گذارند (Kahkesh و همکاران، ٢٠١٠؛ خدادادی و همکاران، ١٣٨٨؛ Arabaci و همکاران، ٢٠٠٤)، اثر هورمون LHRH-A_2 به تنهایی و یا در ترکیب با غده هیپوفیز بر روی ماهی بنی را بررسی نمودند که در تیمار با هورمون LHRH-A_2 به تنهایی نتیجه حاصل نشد اما در تیمار LHRH-A_2 به‌همراه غده هیپوفیز منجر به جواب‌دهی مولدین گردید که میزان هم‌آوری کاری حاصل شده ٥٦٦٢٦/١٨±٥٠٣٦ گزارش شد. Savari و همکاران (٢٠١٤) نیز در تحقیق خود در تکثیر مصنوعی ماهی گطان با استفاده از هورمون LHRH-A_2 و غده هیپوفیز میزان هم‌آوری کاری را ٢٣١٠٠٠±٥٤٥٦٣ گزارش کردند. که نتایج آن‌ها با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در طی تحقیقی بر دست‌یابی به‌روش مناسب در القاء تخم‌ریزی ماهی سوف نقره‌ای(*Bidyanus bidyanus*)، با دریافت مقادیر ١٠، ٢٠، ٣٠ و ٤٠ میکروگرم در کیلوگرم از sGnRH و ٣٠ میکروگرم در کیلوگرم از هورمون mGnRH، مشخص گردید که بیش‌ترین تخم‌ریزی در اثر تزریق مقادیر ٣٠ و ٤٠ میکروگرم در کیلوگرم از هورمون sGnRH حاصل داده شده است و هم‌آوری‌کاری آن‌ها به‌ترتیب ١٩٨٠٠٠ و ١٣٩٠٠٠ عدد تخم بوده است (Levavi-Sivan و همکاران، ٢٠٠٤). در تحقیق حاضر، میانگین درصد لقاح حاصل شده در تیمارها به‌ترتیب،

۵۱/۲۶٪ و ۹۶/۳۶٪ و ۷۵٪ محاسبه شد، بیش‌ترین این مقادیر در تیمار دوم مشاهده گردید (p<۰/۰۵). هم‌چنین، میانگین درصد هچ حاصل شده در تیمارهای آزمایشی به‌ترتیب ۵۴/۷٪، ۹۷٪ و ۷۴/۶٪ بود که بالاترین میزان درصد هچ نیز در تیمار دوم دیده شد. Kahkesh و همکاران (۲۰۱۰) اثر انواع هورمون سنتتیک بر ماهی بنی را بررسی کردند و بهترین نتایج را در روش تلفیقی هورمون LHRH-A۲ و عصاره غده هیپوفیز با بالاترین میزان درصد لقاح ۰/۹۹±۹۴/۵۷ و درصد هچ ۷۸/۴۲٪ گزارش کرده‌اند که این نتایج با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت دارد. محمدیان و همکاران (۱۳۹۳) در مقایسه تأثیر تزریق سه مرحله‌ای هورمون LHRH-A۲ و عصاره غده هیپوفیز بر ماهی بنی، بالاترین میزان درصد لقاح ۸۹/۸٪ و درصد هچ ۸۷/۹۵٪ گزارش کردند. هم‌چنین، محمدیان و همکاران (۱۳۸۸) بیان نمودند که در اثر استفاده از Ovafact حاوی آنالوگ GnRH به‌همراه آنتی دوپامین دامپریدون در تکثیر ماهی بنی درصد لقاح ۸۴/۶۵٪ می‌باشد، که نتایج حاصل شده در تحقیق‌های ذکر شده با نتیجه این تحقیق مطابقت دارد. Mortezavizadeh و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیق خود با استفاده از مواد سنتتیک مختلف GnRH و LHRH روی ماهی گطان، بالاترین میزان درصد لقاح به‌دست آمده را ۳/۱±۷۷/۲۲ گزارش کردند. نتیجه این تحقیق از نظر موفقیت در میزان درصد لقاح و درصد هچ از نتایج تحقیق های فوق بالاتر است، دلیل این برتری می‌تواند به کیفیت بسیار خوب تخمک حاصل شده، استفاده از نوع هورمون با دوز مناسب برای ماهی عنزه، لقاح مطلوب تخمک‌ها، نگه‌داری ماهیان مولد با تراکم و تغذیه مناسب قبل از فصل تکثیر در استخرهای پرورشی خاکی، مدیریت انکوباسیون تخم‌ها در سالن تکثیر و کاهش میزان استرس ناشی از دستکاری و گونه ماهی مورد مطالعه باشد. تعداد لارو استحصال شده در تحقیق حاضر نشان داد که بهترین نتایج در تیمار دوم به‌میزان ۱۵۳۱۵±۲۴۰۴۰۰ قطعه لارو در برابر هر مولد ماده عنزه حاصل گردید. در طول مدت نگه‌داری لاروها در سالن تکثیر تا زمان آغاز تغذیه فعال تلفات قابل توجه و محسوسی در انکوباتورهای زوک مشاهده نشد. این نتیجه با نتایج مطالعات مشابه که برای القاء تخم‌ریزی ماهی از هورمون LHRH-A۲ استفاده شده بود، قابل مقایسه است (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳؛ Savari و همکاران، ۲۰۱۴؛ Kahkesh و همکاران، ۲۰۱۰). در این تحقیق، دوره پنهان ۵۲ ساعت حاصل گردید (Al-Mukhtar و همکاران، ۲۰۰۶). در تکثیر ماهی بنی با استفاده از هورمون در تزریق دو مرحله‌ای دوره پنهان ۴۸ ساعت، محمدیان و همکاران (۱۳۹۳)، در تکثیر مصنوعی ماهی بنی با هورمون LHRH-A۲ در تلفیق با غده هیپوفیز به‌روش تزریق سه مرحله‌ای، مدت زمان دوره پنهان ۵۰ ساعت، Savari و همکاران (۲۰۱۴) در تکثیر ماهی گطان به‌روش تزریق سه مرحله‌ای با هورمون LHRH-A۲ در تلفیق با غده هیپوفیز، دوره پنهان ۵۰-۴۸ ساعته را گزارش نمودند که نتایج این تحقیقات با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. دلیل طولانی بودن دوره پنهان مربوط به فعالیت و اثر هورمون LHRH-A۲ در سطوح بالاتر محور تولیدمثلی می‌باشد (Donaldson و Hunter، ۱۹۸۳). هم‌چنین، احتمالاً دلیل دیگر آن به گونه ماهی و یا فیزیولوژی تولیدمثل و متابولیک ماهی عنزه مرتبط باشد. از نتایج این تحقیق چنین استنباط می‌شود که استفاده از هورمون LHRH-A۲ همراه با عصاره غده هیپوفیز در تکثیر مصنوعی ماهی مولد ماده عنزه به‌روش تزریق سه مرحله‌ای، باعث دستیابی به شاخص‌های تولیدمثلی و جنسی مطلوبی مانند نسبت جواب‌دهی ماهیان ماده، هم‌آوری کاری، درصد لقاح، درصد هچ و میزان لارو گردید. با توجه اهمیت مسائل اقتصادی و نیاز به بازسازی ذخایر منابع آب‌های داخلی و توسعه گونه‌های پرورشی، تولید انبوه بچه ماهی عنزه به این روش امکان‌پذیر می‌باشد و توصیه می‌شود از تیمار دوم (مقادیر ۷ میکروگرم بر کیلوگرم هورمون LHRH-A۲ در مرحله مقدماتی، ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم غده هیپوفیز در مرحله دوم و ۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز غده هیپوفیز در مرحله نهایی)، برای القای تخم‌ریزی ماهی عنزه استفاده شود.

تشکر و قدردانی

لازم است مراتب قدردانی و سپاس خود را از پرسنل و مدیریت محترم مرکز تکثیر و توسعه ماهیان بومی سوسنگرد و اداره کل شیلات خوزستان به سبب همکاری و در اختیار قرار دادن امکانات اجرایی و حسن توجه در طول این پروژه تحقیقاتی اعلام داریم. هم‌چنین از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر جهت تامین هزینه‌های مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **حسین‌زاده‌صحافی، ه.، ۱۳۸۰**. بیولوژی تولیدمثل ماهی با تاکید بر ماهیان ایران. جلد اول، معاونت توسعه آبزی‌پروری، شرکت سهامی شیلات ایران. صفحات ۱۲۰ تا ۱۲۶.

۲. **خدادادی، م.؛ انصاری، م.؛ پیغان، ر.؛ محمدی، غ. و رئیسی، م.، ۱۳۸۸.** بررسی برخی پارامترهای سرمی مولدین ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در فصل تولیدمثل. فصلنامه پژوهش‌های علوم و فنون دریایی. سال ۴، شماره ۳، صفحات ۳۷ تا ۴۳.

۳. **رئیسی‌عزیزی، م.؛ قرایی، ا. و غفاری، م.، ۱۳۹۲.** بررسی روابط فیلوژنی باربوس ماهیان جنوب ایران براساس توالی ژنی سیتوکروم b. ژنتیک نوین. دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۳۱۳ تا ۳۲۰.

۴. **کد، ب. و عبدلی، ا.، ۱۳۷۵.** تنوع زیستی ماهیان آب شیرین ایران. ماهنامه آبزیان. سال ۷، شماره ۱، صفحات ۴ تا ۱۱.

۵. **محمدیان، ت.؛ کوچنین، پ.؛ نیکو، س.؛ شیخ‌الاسلامی، م.؛ سراج، ب.؛ اسکندری، غ. و ابهری‌سه‌گنبد، ح.، ۱۳۸۸.** مقایسه ی تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون (Ovafact) به روش لینپه، با عصاره هیپوفیز معمولی (CPE) بر شاخص‌های تولیدمثلی ماهی بنی(*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی ایران. سال ۵، شماره ۲، صفحات ۷۰ تا ۸۰.

۶. **محمدیان، ت.؛ سیلاوی، م.؛ حسینی، ا.ر.؛ روحانی، س.؛ محمدی، ا. و حیدری، ب.، ۱۳۹۳.** مقایسه تزریق سه مرحله‌ای هورمون LHRH-A۲+PG با تزریق دو مرحله‌ای عصاره غده هیپوفیز بر عملکرد تولیدمثلی ماهی بنی. مجله دامپزشکی ایران. سال ۱۰، شماره ۱، صفحات ۸۵ تا ۹۵.

۷. **معبودی، ح.، ۱۳۹۰.** بررسی هورمونی و هیستولوژی هورمون گرلین روی تخمدان ماهی بنی *Barbus sharpeyi* به‌منظور بررسی رسیدگی جنسی و زادآوری تخم و لارو. رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اهواز. ۱۱۷ صفحه.

۸. **ناجی، ط.؛ حسین‌زاده‌صحافی، ه.؛ شکیباییان، گ.؛ جاذبی زاده، م.ک. و اجتماعی‌فر، ش.، ۱۳۸۸.** تأثیر هورمون به تنهایی و در ترکیب با پیموزاید بر القاء رسیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال. فصلنامه پژوهش‌های علوم و فنون دریایی. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۴۳ تا ۵۴.

۹. **نجف‌پور، ن.؛ المختار، م.؛ نیک‌پی، م. و اسکندری، غ.، ۱۳۷۵.** گزارش نهایی ماهیان مهم آب شیرین استان خوزستان. مرکز تحقیقات شیلاتی خوزستان. ۹۶ صفحه.

۱۰. **ولی‌الهی، ج.، ۱۳۹۳.** شناسایی و مقایسه تاکسونومیک گونه یکی از باربوس ماهیان بومی ایران. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۸۳ تا ۹۴.

۱۱. **هاشمی، س.ا.ر. و مرتضوی، س.ع.، ۱۳۸۹.** پویایی جمعیت ماهی شیربت (*Barbus grypus*) و ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbulus*) در رودخانه کارون. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۰، شماره ۳، صفحات ۱۵۵تا ۱۶۵.

۱۲. **Ahmadnezhad, M.; Oryan, S.H.; Hosseinzadeh Sahafi, H.; Khara, H. and Sattari, M., ۲۰۱۲.** Effects of LHRH-A۲ and chlorpromazine (dopamine antagonists) on inducing spawning in Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum*, from the southwest of the Caspian Sea, Caspian Journal of Environmental Sciences. Vol. ۱۰, No.۱, pp: ۳۳-۴۲.

۱۳. **Al Mukhtar, M.A.; Saged, S. and Saleh, A.J.H., ۲۰۰۶.** General reproductive biology of bunnei (*Barbus sharpeyi* Gunther, ۱۸۷۴) in Al Huwaizah Marsh, Basra, Iraq. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. ۶, pp: ۱۴۹-۱۵۳.

۱۴. **Arabaci, M.; Cagırgan, H. and Sar, M., ۲۰۰۱.** Induction of Spawning in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Using LHRHa ([D-Ser (tBu) ۶, Pro۹-Net]-LHRH) Combined with Haloperidol: Effects of Different Treatment Time and Determination of Latency Period Dependence on Temperature. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. ۱, pp: ۱-۵.

۱۵. **Arabaci, M.; Diler, I. and Sari, M., ۲۰۰۴.** Induction and synchronization of ovulation in rainbow trout Oncorhynchus mykiss by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. Aquaculture. Vol. ۲۳۷, pp: ۴۷۵ -۴۸۴.

۱۶. **Berton, B.; Weil, C.; Sambron, E. and Zohr, Y., ۱۹۹۰.** Effect of acute versus sustained administration of GnRh_A on Gth release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. Vol. ۹۱, pp: ۳۷۳-۳۸۳.

۱۷. **Kahkesh, B.F.; Yooneszadeh Feshalami, M.; Amiri, F. and Nickpey, M., ۲۰۱۰.** Effect of ovaprin, ovatid, HCG, LHRH-A۲, LHRH-A۲ + CPE and Carp Pituitary in benni (*Barbus sharpeyi*) Artificial Breeding. Global Verterinaria. Vol. ۵, No. ۴, pp: ۲۰۹-۲۱۴.

۱۸. **Coad, B.W., ۲۰۱۰.** Fresh water fishes of Iraq. Pensoft Publishers. Sofia-Moscow. ۲۹۴ p.

۱۹. **Coad, B.W., ۱۹۹۵.** The Fresh water fishes of Iran. Acta Scientiarum Naturalium Acadenias Scientiarum Vohemicas. Brno. Vol. ۲۹, No. ۱, pp: ۱-۹۴.

۲۰. **Donaldson, E.M. and Hunter, G.A., ۱۹۸۳.** Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. and Donaldson, E.M. (Eds.), Fish Physiology. Vol. IX, Part B: Reproduction. Academic Press. Orlamdo, Florida. pp: ۳۵۱-۴۰۳.

۲۱. **Harvey, B.; Nacario, J.; Crim, L.W.; Juario, J.V. and Marte, C.L., ۱۹۸۵.** Induced spawning of sea bass, Lates calcarifer and rabbitfish, Siganus guttatus, after implantation of pelleted LHRH analogue. Aquaculture. Vol. ۴۷, No. ۱, pp: ۵۳-۵۹.

۲۲. **Kalbassi, M.R.; Lorestani, R. and Marammazi, J.G. ۲۰۱۴.** Improvement of Sperm Quality Indices of Benni Fish (*Barbus sharpeyi*) by Application of LHRHA۲ and Metoclopramide. Journal of Agricultural Science and Technology. Vol. ۱۶, pp: ۹۱-۱۰۴.

۲۳. **Levavi-Sivan, B.; Vaiman, R.; Sachs, O. and Tzchori, I., ۲۰۰۴.** Spawning induction and hormonal levels during final oocyte maturation in silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture. Vol. ۲۲۹, pp: ۴۱۹-۴۳۱.

۲۴. **Mabudi, H.; Savari, A. and Javadzadeh, N., ۲۰۱۳.** The integrated effect of LHRHA۲ and pituitary extract on maturation of *Barbus xanthopterus*. International journal of marine science and engineering. Vol. ۳, No. ۳, pp: ۱۵۳-۱۵۸.

۲۵. **Marte, C.L.; Sherwood, N.M.; Crim, L.W. and Harvey, B., ۱۹۸۷.** Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos*

chanos Forsskal) with gonadotropin-releasing-hormone (GnRH) analogues administered in various ways. Aquaculture. Vol. ۶۰, No. ۳, pp: ۳۰۱-۳۰۳.

۲۶. **Mikolajczyk, T.; Chyb, J.; Sokolowska, M.; Enright, W.; Epler, P.; Filipak, M. and Berton, B., ۲۰۰۳**. Attemps to induce LH surge and ovulation in common carp (*Cyprinus carpio*) by differential application of a potent, GnRH analogue, azagly-nafaelin, under laboratory, commercial hatchery and natural conditions. Aquaculture. Vol. ۲۲۳, pp: ۱۴۱-۱۵۷.

۲۷. **Mortezavizadeh, A.S.; Yooneszadeh Feshalami, M. and Bosak Kahkesh, F., ۲۰۱۰.** Effect of GnRHa (D-Ala۶, des-Gly ۱۰ mGnRHa), LHRH-a (des-Gly۱۰,[D-Ala۶] LH-RH Ethylamid) and Carp Pituitary Propagation of Gattan, *Barbus xanthopetrus*, Heckel, ۱۸۴۳.World Journal of Fish and Marine Sciences. Vol. ۲, No. ۴, pp: ۲۸۰-۲۸۴.

۲۸. **Rottmann, R.W.; Shireman, J.V. and Chapman, F.A., ۱۹۹۱.** Hormonal Control of Reproduction in Fish for Induced Spawning. Southern Regional Aquachulture Center. Publication. No. ۴۲۴.

۲۹. **Savari, A.; Mabudi, H. and Javadzadeh, N., ۲۰۱۴**. The integrated effect of LHRHA and pituitary extract on maturation of *Barbus xanthopterus*. IJFAS Journal. Vol. ۳, No. ۱, pp: ۳۰-۳۴.

۳۰. **Shoaib, M.; Nasir, M. and Kareem, A., ۲۰۱۴**. Effects of ovaprim on reproductive performance of fresh water carp, *Cirrhina mrigala* (F. Hamilton, ۱۸۲۲). International Journal of Biological Research. Vol. ۲, No. ۲, pp: ۱۲۹-۱۳۴.

۳۱. **Zohar, Y. and Mylonas, C.C., ۲۰۰۱.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture. Vol. ۱۹۷, pp: ۹۹-۱۳۶.