magiran.com

کارآیی عصاره هیپوفیز ماهی کاراس (*Carassius auratus* Linnaes 1758) در تکثیر القایی ماهی طلایی دم چادری (*Carrassius auratus gibelio* Bloch 1738) و اثر آن بر کیفیت تخم‌های استحصالی

آریا وزیرزاده [۱]؛ زهره حسن آبادی زاده[۲]؛ اشکان اژدهاکش پور[۳] و کامران رضایی توابع [٤]

vazir@ut.ac.ir

۱ و ٤- دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ٤٣١٤-٣١٥٨٥

۲- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ٣٥٦-٤٦٤١٤

۳ - مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، چابهار صندوق پستی: ٤٤٦

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۸۸　　تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۸

لغات کلیدی: مولد، هورمون، کاراس، ماهی طلایی دم چادری

در بسیاری از کارگاههای تکثیر ماهی، به منظور همزمانی و تسریع در تخم‌کشی مولدین یا تولید لارو در زمانهای از پیش تعین شده، تخمریزی در ماهیان ماده با استفاده از هورمون‌ها مختلف مورد تحریک و تسریع قرار می‌گیرد (Donadlson, ;Fontenele, 1955 ;1973 Vazirzadeh *et al*., 2008 ;Zohar & Mylonas, 2001).

استفاده از غده هیپوفیز عمل‌آوری شده و عصاره آن به منظور تکثیر القایی ماهیان استخوانی تقریباً از اواخر دهه ۱۹۳۰ در کشور برزیل آغاز شد (Fontenele, 1955 ;Von Ihering, 1937). براساس مطالعات انجام شده کارآیی این روش به طریقه جمع‌آوری و آماده‌سازی غده هیپوفیز، تبحر کارکنان کارگاه، روش استفاده از هورمون، مرحله رسیدگی جنسی ماهی و شرایط محیطی بستگی دارد (Zohar & Mylonas, 2001). اگرچه امروزه از هورمون‌های متعدد و با روشهای مختلف در تحریک و همزمانی تکثیر ماهیان مولد استفاده می‌شود (Vazirzadeh *et al*., 2008 ;Zohar & Mylonas, 2001) ولی در برخی از ماهیان از جمله ماهیان خاویاری و برخی از ماهیان گرمآبی با وجود تلاشهای متعدد صورت گرفته، سایر هورمونها نتوانسته‌اند بطور کامل جایگزین هیپوفیز شوند. آنچه امروزه بیش از هر عامل دیگری استفاده از هیپوفیز در ماهیان را محدود می‌کند قیمت بالای آن می‌باشد (Lee *et al*., 1988).

اگر چه ماهی طلایی بطور عام و واریته‌های دیگر آن از جمله ماهی طلایی دم چادری بطور خاص در فرهنگ ایرانی بعنوان یکی از ماهیان زینتی جایگاه ویژه‌ای دارد، اما در رابطه با تکثیر آن در ایران مطالعات بسیار اندکی صورت گرفته و تقریباً اکثر ماهیان زینتی در این بخش به شکل سنتی تولید می‌شوند که از بازده و بازماندگی پایینی برخوردارند (ایمانپور و کمالی، ۱۳۸۵). با توجه به گرانقیمت بودن هیپوفیز رایج در کشور، برای استفاده مطلوب از ماهیان کاراس که در مزارع پرورشی بعنوان یک ماهی هرز مطرح می‌باشد ولی در تکثیر ماهیان زینتی ارزشمند است، این مطالعه صورت گرفت. هدف از این تحقیق بررسی کارآیی غده هیپوفیز ماهی کاراس در تکثیر القایی ماهی طلایی دم چادری و دستیابی به حداقل مقدار موثر این غده و همچنین مطالعه اثر آن بر کیفیت تخمهای استحصالی بود.

این مطالعه در سال ۱۳۸۳ در استان فارس انجام گرفت. برای تهیه عصاره هیپوفیز از ماهیان کاراسی که بیش از یک ساعت از صید آنها از مزارع پرورش ماهی شهرستان گرگان نگذشته بود، استفاده شد. پس از جمع‌آوری غده هیپوفیز، عمل‌آوری آن به روش فرید پاک (۱۳۸۶) و Rothbard (1981) انجام شد.

magiran.com

در اواسط فروردین ماه، ماهیان طلایی دم چادری ۲ ساله با میانگین وزنی ۱۲۴ گرم که تفاوت معنی‌داری در اوزان آنان مشاهده نشد انتخاب و بطور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. ماهیان به نسبت ۱ ماده و ۲ نر در آکواریومهای ۱۳۵ لیتری و در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳ روز پیش از شروع آزمایش برای عادت‌پذیری با شرایط آزمایش نگهداری شدند. در زمان آزمایش ماهیان با استفاده از پودر گل میخک بیهوش شده و به هر ماهی مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محلول محتوی عصاره هیپوفیز تزریق شد. ماهیان هیپوفیز مصرفی را در دو مرحله (۱۰ و ۹۰ درصد) و به فاصله ۱۲ ساعت دریافت کردند. تیمارهای مورد آزمایش بدین شرح بود: ۱- ماهیان گروه شاهد (تیمار یک) که محلول نمکی ۰/۹ درصد دریافت نمودند ۲- ماهیان تیمارهای ۲، ۳ و ۴ بترتیب ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیپوفیز دریافت نمودند. تعداد ماهیان ماده در هر تیمار ۶ عدد بود. پس از تزریق، ماهیان هر یک ساعت مورد معاینه قرار گرفتند و ماهیان رسیده جدا شدند. ماهیان رسیده در همه تیمارها به دو گروه تقسیم شدند: در گروه اول هر ماهی ماده همراه با ۲ ماهی نر در یک آکواریوم که بستر آن پوشیده از علفهای مصنوعی بود، قرار گرفتند تا به شکل نیمه طبیعی تخمریزی کنند و در گروه دوم از ماهیان ماده رسیده بصورت دستی تخم‌کشی صورت گرفت و با اسپرم دو ماهی نر مخلوط شد. تخم این ماهیان نیز پس از لقاح برای طی دوره انکوباسیون به آکواریومی مشابه گروه اول منتقل شد. مقدار هماوری کاری، درصد لقاح و درصد تفریخ براساس روش فریدپاک (۱۳۸۶) و Mylonas و همکاران (۱۹۹۲) برآورد شد. میانگین زمان تخمک گذاری با استفاده از آزمون ناپارامتریک کروسکال- والیس آنالیز شد. کیفیت تخمهای استحصالی با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام گرفت.

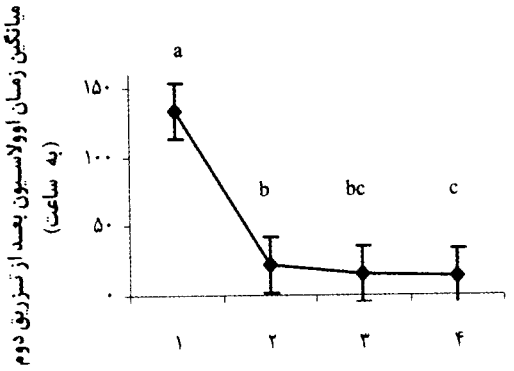
استفاده از عصاره هیپوفیز بطور معنی‌داری سبب تسریع در زمان تخمک گذاری ماهیان تحت مطالعه گردید (نمودار ۱). در ماهیان تیمار ۴ که بیشترین مقدار هیپوفیز را دریافت نمودند، همه مولدین ۱۷ ساعت پس از تزریق دوم تخمریزی کردند در حالیکه در همین زمان در ماهیان تیمار ۲، درصد تجمعی تخمریزی کمتر از ۱۰ درصد بود و در ماهیان گروه شاهد درصد تجمعی تخمریزی ۱۵۲ ساعت پس از تزریق دوم کامل شد.

نمودار ۱: درصد تجمعی تخمریزی در ماهیان مورد مطالعه. در این نمودار درصد تجمعی تخمریزی ماهیان تیمار شاهد به علت میانگین زمان تخمریزی زیاد (۱۳۲ ساعت) و عدم تناسب با نمودار نشان داده نشده است.

magiran.com

میانگین زمان تخمک گذاری در گروه‌های دریافت کننده حداقل و حداکثر هیپوفیز بترتیب ۱۵ و ۱۳ ساعت، ولی در ماهیان گروه شاهد ۱۳۲ ساعت بود (نمودار ۲). میانگین زمان اتخمک گذاری در ماهیان تیمار ۴ بطور معنی‌داری نسبت به ماهیان گروه شاهد و ماهیان دریافت کننده حداقل مقدار هیپوفیز کوتاهتر بود ($P\leq 0.05$).

همآوری کاری، درصد لقاح و درصد تفریخ در ماهیان تیمارهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. تزریق هیپوفیز اثر مثبت معنی‌داری در افزایش همآوری کاری ماهیان تحت مطالعه داشت و با افزایش مقدار هیپوفیز همآوری کاری نیز افزایش یافت. از سوی دیگر به نظر می‌رسد تزریق هورمون در ماهیان تیمار ۴ اثر منفی بر درصد لقاح و تفریخ تخم‌های استحصالی داشته است (جدول ۱). دو روش مختلف لقاح تخمک‌ها، تفاوت معنی‌داری در کیفیت تخمک‌ها نداشتند.



نمودار ۲: میانگین زمان تخمریزی ماهیان تیمارهای مورد مطالعه بعد از تزریق دوم (ساعت). تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P\geq 0.05$).

جدول ۱: میانگین همآوری کاری، درصد لقاح و درصد تفریخ در تیمارهای مختلف. با افزایش مقدار هیپوفیز تزریقی همآوری کاری افزایش یافته ($P\leq 0.05$)، ولی درصد لقاح و تفریخ در تیمار ٤ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P\leq 0.05$). دو روش مختلف لقاح تاثیری در پارامترهای یاد شده نداشت.

روش لقاح	تیمار	میانگین همآوری کاری	درصد لقاح	درصد تفریخ
نیمه طبیعی	۱	۱۵٦۱±۲۹۹ a	۸٤±٤ a	۸۵±٦ a
	۲	۲۳۹٦±٤۵ b	۸۲±۵ ab	۸٤±۷ ab
	۳	۲۸٦۳±۱۵۱ c	۷۹±۱ ab	۷۸±۳ ab
	٤	۲۰۳٦±۳۱۵ d	۷۸±۸ b	۷۷±٤ b
مصنوعی	۱	۱۹۹۰±۱۱۵ a	۸۱±۳ ab	۷۸±۵ a
	۲	۲۲۹۱±۱۹۲ b	۸۳±٤ ab	۸٦±۲ ab
	۳	۲۷٤٦±۹۵ c	۷۸±۸ ab	۸۱±٤ ab
	٤	۳۳٦٦±۱۲۵ d	۷۸±٦ b	۷۸±٦ b

magiran.com

کاهش وابسته به مقدار میانگین زمان تخمک گذاری در ماهیان تزریق شده با عصاره هیپوفیز در این تحقیق بیانگر آن است که پروتکل استفاده شده و هیپوفیز مصرفی در تحریک تخمک گذاری ماهیان مولد مورد آزمایش موثر بوده است.

Penzes و Tolg در سال ۱۹۸۶، نیز بیان داشتند که تزریق ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن غده هیپوفیز ماهی کپور در تکثیر القایی ماهی طلایی موثر است.

نتایج نشان می‌دهد که استفاده از هیپوفیز ماهی کاراس در تحریک و پیش‌رس کردن تخمک گذاری ماهی طلایی موثر است. عصاره هیپوفیز حاوی هورمون GtH و بخصوص GtH2 می‌باشد. با تزریق هیپوفیز مقدار GtH2 خون ماهیان و در نتیجه استروئیدهای جنسی گناد که مسوول بلوغ نهایی تخمک می‌باشند، افزایش می‌یابد که منجر به تخمک گذاری و همزمانی تخمریزی ماهیان می‌گردد (Nagahama, 1995).

نتایج نشان داد که در تیمار ۴ با افزایش مقدار هیپوفیز تزریقی هماوری افزایش، اما درصد لقاح و تفریخ کاهش یافت. این پدیده غالبا زمانی مشاهده می‌شود که ماهیان با هورمون‌های مختلف جهت تسریع یا همزمانی تخمک گذاری مورد تزریق قرار می‌گیرند. اگر چه نتایج اکثر مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که میزان لقاح و تفریخ در ماهیانی که تحت تخمریزی القایی قرار گرفته‌اند در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاهش یافته است (Sokolowska *et al.*, 1984; Vazirzadeh *et al.*, 2008 ;Mylonas & Zohar, 2001)، اما در اینگونه مطالعات غالبا تفاوتهای مشاهده شده از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. ولی در برخی از مطالعات نیز تفاوت در کیفیت تخمکها معنی‌دار بوده است. دلایل مختلفی برای این موضوع ذکر شده است. برخی از محققین علت این امر را در فوق رسیده شدن تخمک ماهیان می‌دانند. Hirose و همکاران (۱۹۷۷) در ماهی آیو (*Plecoglossus altivelis*) و Hirose و همکاران (۱۹۷۹) در ماهی فلاندر ژاپنی(*Limanda yokohama*) کاهش کیفیت تخمکها را بعلت فوق رسیده شدن تخمکهای ماهیان بیان نمودند. در ماهی کفشک معمولی (*Solea solea*) نیز Ramos در سال ۱۹۸۶نشان داد که با افزایش مقدار HCG درصد لقاح تخمکها کاهش یافت. برخی دیگر از محققین معتقدند که کاهش مقدار لقاح ممکن است به سبب تخمک گذاری تخمکهای نارس باشد (Billard *et al.*, 1984; Mylonas *et al.*, 1992).

در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد علت کاهش درصد لقاح، اووله شدن تخمکهای نارس باشد. ماهی طلایی دارای استراتژی تخمریزی همزمان گروهی (Group synchronize) می‌باشد (Srivastava, 1999). تخمدان ماهی طلایی در فصل تولید مثل حاوی چندین گروه (Clutch) تخمک است که دارای تفاوت اندکی از نظر رسیدگی جنسی می‌باشند و به همین علت این ماهی در فصل تولید مثل چندین مرحله و با فواصل زمانی کوتاه تخمریزی می‌کند. وقتی به این ماهی هورمون تزریق شود، این احتمال وجود دارد که برخی از تخمکها که هنوز بلوغ نهایی خود را کامل ننموده‌اند نیز همراه با تخمکهای رسیده آزاد شوند که سبب افزایش هماوری کاری، ولی کاهش درصد لقاح می‌گردد.

بطور خلاصه، با توجه به نتایج بدست آمده و با در نظر گرفتن فاکتورهای مختلف از قبیل میانگین زمان تخمک گذاری، هماوری کاری و درصد لقاح به نظر می‌رسد مقدار ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن غده هیپوفیز ماهی کاراس حداقل مقدار مناسب برای تحریک تخمک گذاری ماهی طلایی دم چادری باشد.

منابع

ایمانپور، م. و کمالی، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تکثیر مصنوعی و پرورش لاروهای ماهی قرمز *Carrassius auratus gibelio* توسط HCG. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، شماره ۲، صفحات ۱۶۵ تا ۱۷۲.

فریدپاک، ف.، ۱۳۸۶. دستورالعمل اجرایی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی‌های گرم آبی. انتشارات آبزیان. چاپ دوم، ۳۰۸ صفحه.

Billard R., Reinand P., Hollebecq M. and Breton B., 1984. Advancement and synchronization of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LHRH-a combined or not with pimozide. Aquaculture, 43:57-66.

Donaldson E.M., 1973. Reproductive endocrine-ology of fishes. American Zoologist, 13:909-927.

Fontenele O., 1955. Injecting pituitary (hypophyseal) hormones into fish to induce spawning. The Progressive Fish Culturist, 34:18, 71-75.

Hirose K., Ishida R., Sakai K., 1977. Induced ovulation of ayu (*Plecoglossus altivelis*) using HCG, with special reference to changes in

magiran.com

several characteristics of eggs retained in the ovarian cavity after ovulation. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 43:409-416.

Hirose K., Machida Y. and Donaldson E.M., 1979. Induced ovulation of Japanese flounder (*Limanda yokohama*) with human chorionic gonadotropin and salmon gondotropin, with special reference to changes in quality of eggs retained in ovarian cavity after ovulation. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 45:31-36.

Lee C., Tamaru C.S., Miyamoto G.T. and Kelly C.D., 1988. The cost and effectiveness of CPH, HCG and LHRH-a on the induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus*). Aquaculture, 73:341-347.

Mylonas C.C., Hinshaw M.J. and Sulivan V.C., 1992. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. Aquaculture, 106:379-392.

Nagahama Y., 1995. Teleost oocyte maturation: Actuality and potentiality. Aquaculture, 135:73-78.

Penzes B. and Tolg I., 1986. Goldfish and ornamental carp. Barons Educational Series, Inc. pp.125-237.

Ramos J., 1986. Induction of spawning in common sole (*Solea Solea* L.) with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 56:239-242.

Rothbard S., 1981. Induced reproduction in cultivated cyprinids: The common carp and the group of Chinese carps. 1: The technique of induction, spawning and hatching. Bamidgeh, 33:103-121.

Sokolowska M., Peter R.E., Nahorniak C.S., Chang P.J.P., Crim L.W. and Weil C., 1984. Induction of ovulation in gold fish, *Carassius auratus*, by pimozide and analogues of LHRH. Aquaculture, 62:319-325.

Srivastava C.B.L., 1999. Fish Biology. Nerendra Publication House, Delhi, India, 320P.

Vazirzadeh A., Hajimoradloo A., Akhlaghi M. and Esmaeili H.R., 2008. The effects of emulsified versus saline administration of GnRHa on induction of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 280:267-269.

Von Ihering R., 1937. A method for induced spawning in fish. The Progressive Fish Culturist, 34:15-16.

Zohar Y. and Mylonas C.C., 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: From hormone to genes. Aquaculture, 197:99-136.

magiran.com

Iranian Scientific Fisheries Journal Short Communication Vol. 19, No. 1, Spring 2010

The effectiveness of pituitary extract from Crucian carp (*Carassius auratus* Linnaes, 1758) in inducing ovulation in Veil tail gold fish (*Carrassius auratus gibelio*) and its effects on egg quality

Vazirzadeh A.[(1)*]; Hasanabadizadeh Z.[(2)]; Ezhdehakoshpoor A.[(3)] and Rezaei Tavabe K.[(4)]

1, 4- Faculty of Natural Resources, University of Tehran, P.O. Box: 31585-4314 Karaj, Iran
2- Faculty of Natural Resources, Tarbiat ModaresUniversity, P.O. Box: 1415-356 Noor, Iran
3- Off-shore Waters Research Center, P.O. Box 446 Chabahar, Iran

Received: April 2009 Accepted: November 2009

Keywords: Breeding, Hormone, Crucian carp, Veil tail gold fish

Abstract

The effectiveness of pituitary extract from Crucian carp (*Carassius auratus* Linnaes 1758) in inducing ovulation in Veil Tail Gold Fish (*Carassius auratus gibelio* Bloch 1783), was examined and the effect of maternal hormone treatment on egg quality in two types of fertilization (fertilization in aquarium and artificial fertilization), were evaluated in 22°C temperature. Fish were injected intrapritoneally with three doses of, 2, 3 and 4mg/kg B.W pituitary extract (PE). With increasing of pituitary dose, practical fecundity also increased from 1775 in control fish to 3201 in fish with 4mg/kg B.W of PE. Mean time to ovulation was reduced significantly ($P<0.05$) from 132h in control fish to 13h in fish with 4mg/kg B.W. Ovulated eggs from fish injected with 4mg/kg B.W of PE had lower fertility and hatching rates compared to eggs from fish injected with lower doses and the control fish. The methods of fertilization had no significant effect on the egg quality. In conclusion, the results of this study showed that the pituitary extract of Crucian carp is effective in inducing and shortening of ovulation of Veil Tail Gold Fish and the suggested dose for this species is 3mg/kg B.W.

* Corresponding author