مقایسه اثر محرک‌های $LHRH\text{-}A_3$ و $LHRH\text{-}A_2$ بر میزان پاسخگویی جنسی مولدین، درصد لقاح و بازماندگی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

حسین عمادی[۱]، همایون حسین زاده صحافی*[۲]،طهمورث پوری[۱]، پریسا امانی نژاد[۱]

۱- دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۹۸۷۹۷۴۶۳۵

۲-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران، صندوق پستی:۱۶۶۱-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: ۶ آبان ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۳ اسفند ۱۳۹۲

چکیده

در این تحقیق اثرهورمون $LHRH\text{-}A_3$ بر شاخص‌های اصلی تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ بررسی و با اثرهورمون $LHRH\text{-}A_2$ مقایسه شد. بدین منظور سه دوز ۳/۷۵، ۵ و ۶/۲۵ میکروگرم به ازاء هرکیلوگرم وزن بدن از هورمون $LHRH\text{-}A_3$ به سه گروه تیمار از مولدین ماده، هر تیمارشامل ۵ عدد مولد ماده با وزن تقریبی۵ کیلوگرم تزریق شد. برای مولدین نرکه هر تیمار شامل ۸ عدد مولد نر با وزن تقریبی ۵ کیلوگرم بود، فقط از دوز ۲/۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن استفاده شد. لازم به ذکر است که در هرتیمار ۳ تکرار وجود داشت. همچنین تعداد دیگری از مولدین (۵ مولد ماده و ۸ مولد نر) با شرایط مشابه از نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز تکثیر و پرورش شهید ملکی اهواز (۱۰ میکروگرم LHRH-A2 به ازاء هر کیلوگرم به همراه هورمون HCG با دوز $200\ IU/kg$ برای ماده و۵ میکروگرم به ازاءهرکیلوگرم هورمون LHRH-A2 به همراه هورمون HCG با دوز IU/kg ۱۰۰ برای نرها) به عنوان گروه شاهد مرسوم (SH) مورد تزریق قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان دادند که کاربرد هورمون $LHRH\text{-}A_3$ می‌تواند باعث رسیدگی نهایی جنسی مولدین فیتوفاگ، تخم‌ریزی و اسپرم ریزی آن‌ها شده و بهترین دوز آن برای القاء رسیدگی جنسی مولدین ماده $5\ \mu g/kg$ می‌باشد. این هورمون دارای اثر مشابهی با هورمون $LHRH\text{-}A_2$ بوده و درهیچ کدام از پارامترهای مورد بررسی (میزان مولدین دارای تخم ریزی و اسپرم ریزی، درصد لقاح، درصد تخم گشایی و درصد بقاءلارو تا زمان جذب کیسه زرده) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$).

کلمات کلیدی: ماهی فیتوفاگ، $LHRH\text{-}A_3$، $LHRH\text{-}A_2$ ، رسیدگی جنسی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). h_hosseinzadeh@yahoo.com

مقدمه

برای اینکه تولیدآبزیان بتواند پاسخگوی نیازهای پروتئینی جمعیت رو به افزایش‌دنیا باشد، باید تکنیک‌های علمی در این بخش به خوبی مورداستفاده قرارگیرد (Yadav,1995). در گذشته پرورش ماهی متکی به تکثیروتولیدآن در استخرهای پرورشی و یا منابع طبیعی بوده است. در حال حاضرآبزی‌پروری مدرن از فناوری سایرعلوم زیستی نیز استفاده کرده است. به‌طور مثال با توجه به اینکه بسیاری از ماهی‌ها در شرایط اسارت و پرورش دچار مشکلات تولید مثلی می‌شوند، نقش هورمون‌های القاءکننده جنسی توسط دانشمندان و محققین غدد داخلی مورد بررسی قرار گرفته است. القاء تخم‌ریزی ماهیان اولین بار در سال ۱۹۳۴ میلادی با استفاده ازعصاره هیپوفیز ماهی انجام گرفت. با پیشرفت علوم زیستی و ساخت انواع هورمون‌های القاء کننده جنسی مصنوعی به وسیله دانشمدان استفاده از آن‌ها متداول شد. هورمون LHRH وآنالوگ‌های آن از مهمترین این هورمون‌ها می‌باشند. محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد مهم‌ترین محورکنترل کننده تولیدمثل درماهیان می‌باشد. عوامل محیطی مانند درجه حرارت آب، نور، جریان آب و وجود جنس مخالف با تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و در رأس آن‌ها هیپوتالاموس، نقش خود را درکنترل تولید مثل ماهیان ایفا می‌نمایند. این اطلاعات حسی در قسمت هیپوتالاموس مغز ضبط شده و زمانی که محرک به آستانه تحریک می‌رسد، هیپوتالاموس با ترشح هورمون رهاساز گنادوتروپین (GnRH) به هیپوفیز فرمان ترشح گنادوتروپین را به داخل جریان خون می‌دهد (بهمنش، ۱۳۷۵). در مولدین ماده، تحت شرایط پرورشی، رسیدگی نهایی اووسیت (FOM) و به تبع آن جدا شدن تخمک‌ها از هم دیگر (اوولاسیون) و تخم‌ریزی دیده نمی‌شود (Zohar, 1989b). در مولدین نر نیز تحت این شرایط حجم اسپرم (مایع منی) کم شده وکیفیت کاهش می‌یابد (Billard, 1989). یکی از انواع هورمون‌هایی که برای القاءتخم ریزی ماهیان استفاده می‌شود هورمون LHRH است. به دلیل تأثیر و اهمیت این هورمون در سال ۱۹۷۳، LHRH به صورت مصنوعی ساخته شد. در سال ۱۹۷۵ با تغییر ششمین و دهمین اسید آمینه LHRH مصنوعی، آنالوگ‌های آن را ساختند (LHRH-A) که دارای اسیدهای آمینه اسیدپیروگلوتامیک، هیستیدین، تریپتوفان، سرین، تیروزین، دی آلانین، لوسین، آرژینین، پرولین واستیل آمین می‌باشد. این هورمون ضمن اینکه بسیار ارزانتر از LHRH تهیه می‌گردد اثرش نیز برروی ماهیان یکصد برابر بیشتر از هورمون LHRH می‌باشد. دوز پیشنهادی هورمون‌های $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ از سوی شرکت سازنده ۵ µg / kg برای مولدین ماده و ۲/۵ µg / kg برای مولدین نر می‌باشد، به‌طوری‌که مولدین ماده ۰/۵ تا ۱ میکروگرم به ازاء هرکیلوگرم از وزن بدن در مرحله اول و مابقی از مقدارکل در مرحله دوم تزریق می‌شود. فاصله بین دو تزریق ۱ تا ۱۲ ساعت و مولدین نردر یک مرحله همزمان با تزریق دوم مولدین ماده تزریق می‌شوند.

القاء تخم‌ریزی به‌وسیله تزریق عصاره غده هیپوفیز در اوایل دهه ۱۹۵۰میلادی در کشور چین برروی گونه‌های کپور سیاه، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای و کپور علفخوار انجام شد. در هندوستان القاء تخم‌ریزی به‌وسیله تزریق عصاره غده هیپوفیز برروی کپور ماهیان هندی کاتلا، لابیوومرگال انجام شده و تخم‌ریزی این گونه‌ها نیز مشاهده‌گردیده است (نفیسی بهابادی و فلاحتی مروست، ۱۳۸۷). لازم به ذکراست که تحقق این تنظیم، بستگی به هماهنگی سیستم عصبی، سیستم تعدیل مایع بدن و روابط پس خوردی (Feedback) میان آن‌ها دارد. در سال ۱۹۷۴، آزمایش‌ها، مؤثر بودن LHRH مصنوعی در القای تخم‌ریزی را ثابت کردند و در سال ۱۹۷۵ LHRH-A با تأثیرخیلی بالا تولید گردید و هزینه تولید را بسیار کاهش داد (نظری، ۱۳۷۵). کاشانی ثابت و همکاران (۱۳۸۳) نشان دادند که هورمون LHRH-A باعث تخم‌ریزی مولدین فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) می‌گردد. این تحقیق با هدف بررسی اثر هورمون $LHRH-A_3$ بر شاخص‌های اصلی تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ شامل: میزان جواب دهی مولدین ماده، میزان پاسخ‌دهی مولدین نر، میزان درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده و تعیین بهترین دوز هورمون $LHRH-A_3$ برای القاء اوولاسیون مولدین ماده صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید ملکی اهواز در تابستان ۱۳۹۰ انجام پذیرفت. دوز هورمون مصرفی که توسط شرکت سازنده هورمون برای القاء اوولاسیون ماهی فیتوفاگ پیشنهاد شده بود، برای هر دو هورمون $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ معادل ۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن برای مولدین ماده و برای مولدین نر ۲/۵ میکروگرم به ازاء هرکیلوگرم از وزن بدن بود. در این تحقیق سه دوز ۳/۷۵، ۵ و ۶/۲۵ میکروگرم به ازاء هرکیلوگرم ازوزن بدن مولد ماده و برای مولدین نر فقط دوز ۲/۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن مورد تزریق عضلانی (در ناحیه جانبی باله پشتی) قرار گرفتند. در این آزمایش برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. همچنین تعداد دیگری از مولدین (۵ مولد ماده و ۸ مولد نر) با شرایط مشابه از نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز تکثیر و پرورش شهید ملکی اهواز (۱۰میکروگرم $LHRH-A_2$ به ازاء هرکیلوگرم به همراه هورمون HCG با دوز ۲۰۰ برای ماده و ۵ میکروگرم به ازاءهرکیلوگرم هورمون $LHRH-A_2$ به همراه هورمون HCG با دوز ۱۰۰ برای نرها) به عنوان گروه شاهد مرسوم (SH) مورد تزریق قرارگرفتند. برای انجام این طرح دوزهای مورد نظراز هورمون $LHRH-A_3$ بر روی یک گروه ۵ تایی از مولدین ماده تزریق شد، سپس ۸ عدد مولد نر نیز پس از تزریق دوز مورد نظر هورمون $LHRH-A_3$ همراه با مولدین ماده به حوضچه تخم‌ریزی منتقل شدند. پس از انجام این

مرحله آزمایش دیگری با شرایط مشابه به فاصله یک روز به عنوان تکرار آزمایش انجام شد. برای تمام تیمار هاهورمون $LHRH\text{-}A_2$ به عنوان گروه شاهد به مولدین تزریق گردید (نحوه آزمایش، شرایط و تکرارآن مشابه سایر تیمارها بود) و یال‌های هر یک از هورمون‌های $LHRH\text{-}A_3$ و $LHRH\text{-}A_2$ حاوی ۱۰۰ میکروگرم از هورمون به صورت پودر بود. برای حل کردن هورمون‌های مذکور از سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد استفاده شد. هورمون‌های مورد آزمایش درتمام تیمارها به اندازه‌ای با سرم فیزیولوژی به صورت محلول در آمد که حجم کل محلول تزریقی (حاوی مقدار تعیین شده هورمون مصرفی) در هربار تزریق ۱ سی‌سی در نظر گرفته شد. پس از آماده‌سازی هورمون مورد آزمایش، مقداری از آب استخرهای حاوی مولدین ماده تخلیه و با اضافه کردن عصاره گل میخک با دوز ۱ گرم در لیتر مولدین بیهوش شدند. روش کار این مرکز بدین صورت بود که از ۰/۱کل دوز مصرفی $LHRH\text{-}A_2$ در نوبت اول و پس از گذشت ۱۱ ساعت ۰/۹ مابقی همراه با هورمون HCG به مولدین ماده تزریق گردید. مولدین نر در یک نوبت همزمان با تزریق دوم مولدین ماده تزریق می‌شدند. برای هرمولد، ۰/۱ از کل مقدار تعیین شده تزریق و سپس مولدین به استخرهای فایبرگلاس دیگری که آب تمیز درآن بود منتقل شدند. پس از گذشت ۱۱ ساعت از تزریق نوبت اول، تمامی مولدین ماده بیهوش شده و مجدداً وزن و دوز هورمون مصرفی آن‌ها محاسبه و تعیین شد. در این مرحله ۰/۹ از کل هورمون مصرفی به مولدین ماده تزریق گردید. پس ازآغاز تخم ریزی توسط مولدین، تخم‌های تجمع یافته در کلکتور، طی فواصل زمانی منظم با بشر و سطل پلاستیکی جمع‌آوری و به سالن انکوباسیون منتقل شد. در آنجا در هر انکوباتور زوگ که ۱۲۰ لیتر حجم داشت، ۲/۵ لیتر تخم (آبکشیده) ریخته شد. برای تعیین درصد لقاح از روش روتر(Rutter, 1902) استفاده شد.

$$\text{درصدلقاح} = \frac{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخم‌ها (لقاح یافته + لقاح نیافته)}} \times ۱۰۰$$

پس از تخم‌گشایی و خروج لاروها تعداد لاروهای هر انکوباتور ویس شمارش و درصد تخم‌گشایی برمبنای درصد تخم‌های لقاح یافته برای هر انکوباتور با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد تخم‌گشایی} = \frac{\text{تعداد لاروها}}{\text{درصد لقاح} \times \text{تعداد کل تخم}} \times ۱۰۰$$

درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده برای هر انکوباتور با استفاده از فرمول زیر اندازه گیری شد:

$$\text{درصد بقاء لارو} = \frac{\text{تعداد لاروها بعد از جذب کیسه زرده}}{\text{تعداد کل لارو}} \times ۱۰۰$$

به منظور تحلیل آماری نتایج به‌دست آمده و تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین اثر دوزهای مختلف هورمون‌های موردآزمایش بر میزان جواب‌دهی مولدین از نرم‌افزار SPSS11.05 وآزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و نیز

جهت مقایسه میانگین ازآزمون دانکن استفاده شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد (Zar,1984).

نتایج

نتایج حاصل از تزریق هورمون‌های $LHRH-A_3$– $LHRH-A_2$ در گروه‌های مختلف آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است.

بر اساس نتایج مشخص شدکه میان اثر هورمون $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ (در شرایط یکسان مورد آزمایش) بر میزان پاسخ‌دهی مولدین ماده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل۱) ($P>۰/۰۵$).

گروه‌های تیماروشاهد یک که به ترتیب دوز ۳/۷۵ µg / kg هورمون $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ را دریافت کرده بودند دارای کمترین بازده از نظر تعداد مولدینی که تخم‌ریزی کرده بودند، نسبت به سایر گروه‌های تیمارو شاهد بودند و این اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱: نتایج حاصل از تزریق دوز های مختلف هورمون‌های $LHRH-A_2$ و $LHRH-A_3$ در مولدین ماده فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

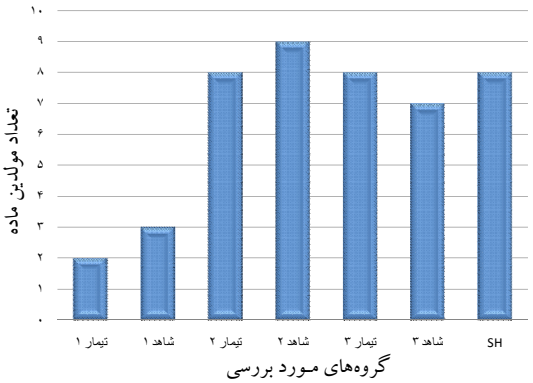
ترزیق هورمون	دوز مصرفی میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن	گروه‌های آزمایشی	پاسخ دهی جنسی ماده‌ها (از ۱۰ عدد) میزان	میانگین درصد لقاح	میانگین درصد تخم گشایی	میانگین درصد بقاءلارو تا زمان جذب کیسه زرده
$HCG+LHRH-A_2$	۱۰۰+۲۰۰	SH	۲	۸۰^{a}	۸۰^{a}	۸۰^{a}
$LHRH-A_3$	۳/۷۵	تیمار ۱	۲	۸۵^{a}	۷۷^{b}	۸۲^{b}
$LHRH-A_2$	۳/۷۵	شاهد۱	۳	۸۷^{b}	۷۶^{b}	۸۰^{a}
$LHRH-A_3$	۵	تیمار ۲	۸	۸۸^{b}	۷۹^{b}	۸۳^{b}
$LHRH-A_2$	۵	شاهد ۲	۹	۸۶^{b}	۸۱^{a}	۸۶^{c}
$LHRH-A_3$	۶/۲۵	تیمار ۳	۸	۸۶^{b}	۷۸^{b}	۸۵^{c}
$LHRH-A_2$	۶/۲۵	شاهد ۳	۷	۸۵^{a}	۷۶^{b}	۸۵^{c}

عدم وجود حروف غیر همسان بر روی داده‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین داده‌هاست ($P>۰/۰۵$)

میان گروه‌های تیمارو شاهد دوم و سوم که به ترتیب دوزهای ۵ µg / kg و ۶/۲۵ µg / kg هورمون‌های مورد آزمایش را دریافت کرده بودند تفاوت معنی‌داری ازنظرتعداد مولدین دارای تخم‌ریزی وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

مقایسه بین نتایج گروه‌های تیمارو شاهد دوم و سوم که به ترتیب دوزهای ۵ µg / kg و۶/۲۵ µg/kg هورمون‌های موردآزمایش را دریافت کرده بودند با نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی اهواز نشان داد که از این نظر اختلاف

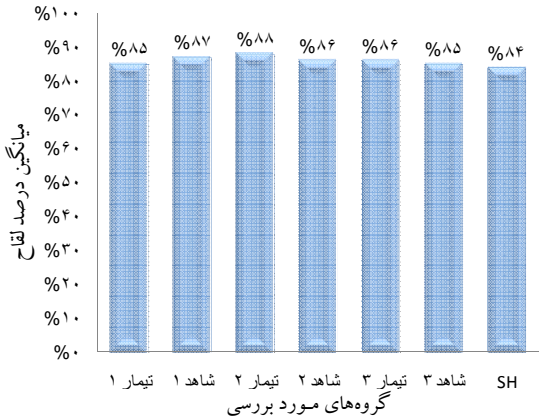
معنی‌داری میان نتایج حاصل از گروه‌های نامبرده وجود نداشت (P>۰/۰۵).



شکل ۱: نتایج میزان جواب دهی مولدین ماده به عدد (از ۱۰ عدد)

نتایج حاصل از درصد لقاح گروه‌های تیمار و شاهد و همچنین نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی اهواز در شکل۲ نشان داده شده است (نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با نام داده شده است).

بر اساس این نتایج مشخص گردیدکه گروه تیمار دوم که هورمون $LHRH\text{-}A_3$ را با دوز ۵ دریافت کرده بود دارای بیش‌ترین مقدار درصد لقاح با ۸۸ درصد و کمترین مقدار آن متعلق به نمونه نتایج حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با ۸۴ درصد بود اما اختلاف معنی‌داری میان نتایج این دوگروه وجود نداشت. همچنین نتایج نشان دادندکه اثر هورمون LHRH-A3 و $LHRH\text{-}A_2$ در شرایط یکسان مورد آزمایش بر میزان درصد لقاح فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵) و میان درصد لقاح گروه‌های مختلف مورد بررسی با هورمون‌ها و دوزهای متفاوت مورد آزمایش (در صورت تخم‌ریزی مولدین) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

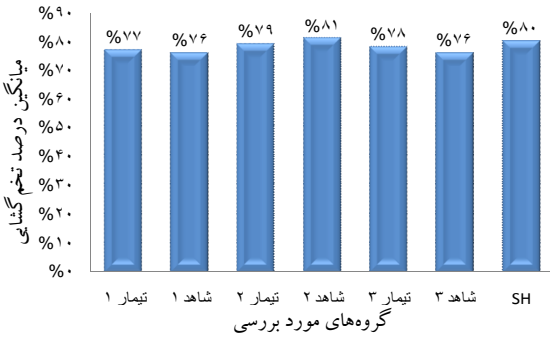


شکل ۲: نتایج درصد لقاح گروه‌های مورد بررسی

نتایج حاصل از درصد تخم گشایی گروه‌های تیمار و شاهد و همچنین نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی اهواز درشکل ۳ نشان داده شده است(نمونه نتیجه حاصل از روش کاربردی مرکز شهید ملکی با نام SH نشان داده شده است).

براساس این نتایج مشخص گردیدکه گروه شاهددوم که هورمون $LHRH\text{-}A_2$ را با دوز ۵ دریافت کرده بود دارای بیش‌ترین مقدار درصد تخم گشایی با ۸۱ درصد وکمترین مقدارآن متعلق به گروه شاهد ۱ و شاهد ۳ که هورمون $LHRH\text{-}A_2$ را به ترتیب با دوزهای ۳/۷۵ و ۶/۲۵ دریافت کرده بودند با میزان ۷۶٪ بود اما اختلاف معنی‌داری میان نتایج این گروه‌ها وجود نداشت. همچنین نتایج نشان دادندکه اثر هورمون $LHRH\text{-}A_3$ و $LHRH\text{-}A_2$ در شرایط یکسان موردآزمایش بر میزان درصد تخم‌گشایی فاقد اختلاف معنی‌دار بود (P>۰/۰۵) و میان میزان درصد تخم‌گشایی گروه‌های مختلف

مورد بررسی با هورمون‌ها و دوزهای متفاوت مورد آزمایش (در صورت تخم‌ریزی مولدین) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).



شکل ۳: نتایج درصد تخم‌گشایی گروه‌های مورد بررسی

بحث

برای ارزیابی اثر این هورمون ($LHRH-A_3$)، تعداد مولدینی که تخم ریزی و اسپرم‌ریزی کردند، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی ودرصد بقاءلارو تا زمان جذب کیسه زرده مورد بررسی قرارگرفت.

تحلیل نتایج این تحقیق بیانگر آن است که هورمون $LHRH-A_3$ می‌تواند باعث القاء اوولاسیون مولدین ماده وهمچنین باعث رسیدگی نهایی جنسی و اسپرم‌ریزی مولدین نر ماهی فیتوفاگ شود. همچنین اثر این هورمون بر سایر پارامترهای مورد بررسی مطلوب بود و نتیجه غیر مطلوب در هیچ کدام از پارامترهای مورد بررسی مشاهده نشد. تحلیل‌های آماری نتایج نشان دادند که میان اثر هورمون $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ در شرایط یکسان مورد آزمایش بر پارامترهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. لذا می‌توان بیان کرد که هورمون $LHRH-A_3$ و $LHRH-A_2$ دارای اثر مشابهی بر شاخص‌های اصلی تکثیر ماهی فیتوفاگ می‌باشند و همچنین بر این اساس می‌توان گفت که مواردی که در این تحقیق پیرامون هورمون $LHRH-A_3$ بحث می‌شود برای هورمون $LHRH-A_2$ نیز صدق می‌کند. بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شدکه استفاده از دوز ۳/۷۵ $\mu g / kg$ هورمون $LHRH-A_3$ باعث کاهش تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند گردید (این تفاوت با نتایج سایر گروه‌های مورد آزمایش معنی دار بود ($P<۰/۰۵$)) که می‌توان آن را به نامناسب بودن مقدار تزریقی این هورمون برای القاء تخم‌ریزی مولدین ماده فیتوفاگ نسبت داد زیرا بر اساس یک بررسی انجام شده برروی مولدین کپوراستفاده از مقدار پایین آنالوگ هورمون GnRH باعث عدم تخم‌ریزی مولدین گردید (Drori *et al.*,1994).

نظری در سال ۱۳۷۵ بیان نمود در صورت تزریق توأم هورمون HCG، استفاده از میزان کمتر هورمون LHRH-A را ۱۰ $\mu g / kg$) نسبت به میزان تزریق آن به تنهایی پیشنهاد داده است که این میزان بازهم از میزان پیشنهادی کاشانی ثابت و همکاران (۱۳۸۳) بیشتر می‌باشد هر چند که نظری (۱۳۷۵) استفاده از این مقدار را بدون استفاده متوکلوپرامید یا سایر آنتی دوپامین‌ها پیشنهاد کرده است. از طرف دیگر محققین قدرت بالاتر هورمون $LHRH-A_2$ را نسبت به هورمون LHRH-A گزارش کرده‌اند. در این تحقیق نیز همان‌طورکه بیان شد بهترین میزان هورمون $LHRH-A_3$برای القای اوولاسیون مولدین ماده فیتوفاگ ۵ $\mu g / kg$ تعیین شد که دوز مناسب گزارش شده از سوی کاشانی ثابت و همکاران

(۱۳۸۳) بـرای هورمـون LHRH-A $3\ \mu g/kg$ از دوز مناسب پیشنهاد شده برای‌هورمون‌های LHRH-A_2 و LHRH-A_3 از سوی شرکت سازنده هورمون و نتایج حاصل از این تحقیق کمتر می‌باشد. البته اثر مهارکننده دوپامین بر آزادسازی GnRH روی ماهیانی مانند ماهی طلایی (Peter *et al*.,1987)، ماهی کپور (Fermin, 1991) و ماهیان دیگر تأیید شده است و از سوی دیگر اثر مطلوب استفاده از آنتی‌دوپامین‌ها همراه با هورمون‌های GnRH-A بر روی مولدینی مانندکلمه (Glubokov *et al*., 1991) و ماهی سرگنده (Fermin, 1991) گزارش شده است. اما اینکه تزریق توام $15\ mg/kg$ آنتی دوپامین متوکلوپرامید تا این حد بتواند باعث افزایش کارایی هورمون LHRH-A شود جای تردید دارد. همچنین بر اساس مواردی که پیش‌تر پیرامون اثر مهارکننده دوپامین بر آزادسازی GnRH و اثر مطلوب استفاده از آنتی‌دوپامین‌ها بحث شد و نیز بر اساس پیشنهاد شرکت سازنده هورمون LHRH-A_3 در سال ۲۰۱۱ میلادی مبنی بر تزریق توأم آنتی دوپامین دامپریدون شاید بتوان گفت که در صورت تزریق توأم دامپریدون با هورمون LHRH-A_3 با دوزهای کمتر از $5\ \mu g/kg$ نیز بشود به نتایج مطلوب دست یافت (در این تحقیق از آنتی دوپامین استفاده نشد).

از مزیت‌های دیگر هورمون LHRH-A_3 می‌توان به این نکته اشاره کرد که این هورمون همانند سایرآنالوگ‌های هورمون LHRH قابل سنتز و استحصال به شکل خالص است (بر خلاف هورمون هیپوفیز) و احتمال انتقال بیماری‌ها وجود ندارد و نیز دارای قیمت بسیار پایین‌تری نسبت به هورمون هیپوفیز می‌باشد. با توجه به تحلیل‌های آماری نتایج این تحقیق که پیشتر درباره آن بحث شد و همچنین با توجه به دوز پیشنهاد شده هورمون LHRH-A ($10\ \mu g/kg$ به همراه $200\ IU/kg$ هورمون HCG) (نظری، ۱۳۷۵) برای تکثیر ماهی فیتوفاگ، به نظر می‌رسد که مراکز تکثیری همچون مرکز شهید ملکی اهواز که از دوزهای بالاتر از $5\ \mu g/kg$ هورمون LHRH-A_2 و تزریق توأم هورمون HCG برای تکثیر ماهی فیتوفاگ استفاده می‌کنند، هورمون LHRH-A_2 را به اشتباه بر اساس الگوی پیشنهادی هورمون LHRH-A به‌کار می‌برند. پیشنهاد می‌شود که برای تکثیر ماهیان فیتوفاگ به‌جای هورمون‌های هیپوفیز، LHRH-A و HCG از هورمون‌های LHRH-A_3 یا LHRH-A_2 استفاده گردد. همچنین نتایج این تحقیق با مطالعات Breton و همکاران (۱۹۹۰) که در قزل‌آلا گزارش نمود: کاربرد هورمون LHRH-A_2 تأثیر منفی بر روی درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و بازماندگی لاروها نداشت و مشابه گروه شاهد بود و نیز با نتایج مطالعات نظری و کردکلایی (۱۳۸۷) که هورمون LHRH-A_2 را به منظور القاء رسیدگی جنسی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با موفقیت آزمایش کردند و اثر مخرب بر درصد لقاح ، درصد تخم‌گشایی و بازماندگی لاروها مشاهده نکردند مطابقت دارد. همچنین نظری و همکاران (۱۳۸۷) که در تحقیق مذکور چهار دوز ۳/۵، ۷، ۸ و ۱۰ میکروگرم هورمون LHRH-A_2 را به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن برای القاء رسیدگی جنسی

مولدین ماده ماهی قره برون آزمایش کرده بودند بیان کردند که اختلاف معنی‌داری میان نتایج درصد لقاح، درصد تخمگشایی و درصد بقاء لارو تا زمان جذب کیسه زرده تیمارهای مختلف وجود نداشت که از این نظر نیز با نتایج این تحقیق که در صورت تخم‌ریزی مولدین با استفاده از دوزهای مختلف (میزان‌های مورد آزمایش) اختلاف معنی‌داری میان پارامترهای یادشده وجود نداشت مطابقت دارد. تنها تفاوتی که میان نتایج تحقیق نظری و همکاران (۱۳۸۷) با تحقیق انجام شده وجود دارد این است که آن‌ها گزارش کردند در تیمارهای مختلف (دوزهای ۳/۵، ۷، ۸ و ۱۰ میکروگرم هورمون $LHRH-A_2$ به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن مولد ماده بر روی گروه‌های تیمار آزمایش شد) تفاوت معنی‌داری میان تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند وجود نداشت که برخلاف آن نتایج این تحقیق نشان دادکه در صورت استفاده از دوز $۳/۷۵\ \mu g/kg$ هورمون $LHRH-A_3$ تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند کاهش یافت و این اختلاف با نتایج سایر تیمارها معنی‌دار بود. از لحاظ میزان مناسب هورمون‌های مختلف برای القاء تخم‌ریزی نظری (۱۳۷۵) دوز مناسب هورمون LHRH-A را برای مولدین ماده فیتوفاگ $۱۰\ \mu g/kg$ تا $۲۰\ \mu g/kg$ و برای هورمون GnRH $۱۵\ mg/kg$ (همراه باتزریق MET با دوز ۱۵mg/kg) بیان نمود در حالی که همان‌طوری‌که بیان شد نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین دوز هورمون $LHRH-A_3$، $۵\ \mu g/kg$ می‌باشد لذا می‌توان بیان کردکه هورمون $LHRH-A_3$ از قدرت بسیار بیشتری نسبت به LHRH-A و GnRH برخوردار است که این نتیجه با بیان شرکت سازنده هورمون نیز مطابقت دارد. همچنین نظری (۱۳۷۵) در صورت استفاده هورمون LHRH-A با دوز کمتر ($۱۰\ \mu g/kg$) تزریق هورمون HCG بادوز $۲۰۰\ IU/kg$ را نیز توصیه کرده است ولی نتایج این تحقیق نشان داد که در صورت استفاده از دوز $۵\ \mu g/kg$ هورمون $LHRH-A_3$ نیازی به استفاده توأم هورمون HCG نیست. بر این اساس شاید بتوان استنباط نمود که در صورت استفاده از دوز $۳/۷۵\ \mu g/kg$ هورمون $LHRH-A_3$ با تزریق توأم مقدار مناسبی از هورمون HCG بتوان به نتیجه مطلوب رسید (بر اساس نتایج استفاده از دوز $۳/۷۵\ \mu g/kg$ هورمون $LHRH-A_3$ باعث کاهش تعداد مولدینی که موفق به تخم‌ریزی شدند نسبت به دوزهای بالاتر مورد آزمایش شد). همچنین با توجه به حلالیت بسیار بالای هورمون $LHRH-A_3$ نسبت به هورمون‌هایی مانند هیپوفیز لذا از نظر حجمی مقدار کمتری از محلول این هورمون (هورمون مورد نیاز حل شده در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر) را نسبت به سایر هورمون‌های ذکر شده برای تکثیر مولدین فیتوفاگ می‌توان به‌کار برد که از این نظر حائز اهمیت است. از مزیت‌های دیگر هورمون $LHRH-A_3$ می‌توان به این نکته اشاره کرد که این هورمون همانند سایر آنالوگ‌های هورمون LHRH قابل سنتزواستحصال به شکل خالص است (بر خلاف هورمون هیپوفیز) و احتمال انتقال بیماری‌ها وجود ندارد و نیز دارای قیمت بسیار پایین‌تری نسبت به هورمون هیپوفیز می‌باشد. در کل با توجه به

نتایج و مطالب ذکر شده می‌توان بیان نمودکه هورمون LHRH-A_3 همانند هورمون LHRH-A_2 بر روی فرآیند فیزیولوژیک تولید مثل ماهی فیتوفاگ به صورت طبیعی عمل کرده و باعث ناهنجاری در سیستم تولیدمثلی و مراحل مختلف تکثیر نیمه مصنوعی ماهی فیتوفاگ نمی‌شود. همچنین با توجه به مطالب ذکر شده می‌توان بیان کرد که هورمون LHRH-A_3 همانند هورمون LHRH-A_2 از بهترین جایگزین‌ها نسبت به هورمون‌هایی همچون CPE، HCG و LHRH-A برای تکثیر ماهی فیتوفاگ می‌باشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. بهمنش، ش.، ۱۳۷۵. بررسی امکان استفاده توأم از هیپوفیز تاسماهیان و کپورماهیان و هورمون LHRHa دراوزون برون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۳۵صفحه.

۲. کاشانی ثابت، ع.، عریان، ش.، بهمنی، م.، ۱۳۸۲. القای اوولاسیون درمولدین فیتوفاگ (*Hypohthalmichthys molitrix*) با استفاده از هورمون LHRH-A و ترکیب آن با آنتاگونیست-های دوپامین. مجله علمی شیلات ایران، ۱۳(۳).

۳. نظری، ر.، ۱۳۷۵. زیست‌شناسی و تکثیر ماهی کپور نقره‌ای. نشر معاونت تکثیر و پرورش آبزیان،اداره کل آموزش و ترویج، تهران، ۹۴ صفحه.

۴. نظری، ر.، کردکلایی، م.، ۱۳۸۷. بررسی کاربرد هورمون LHRH-A2 در تکثیر مصنوعی تاسماهی ایرانی (*Acipencer percicus*). مجله علمی شیلات، ۲(۴).

۵. نفیسی بهابادی، م.، فلاحتی مروست، م.، ۱۳۸۷. اصول تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ۴۰۰ صفحه.

6. Billard, R., 1989. Endocrinology and fish culture. Fish Physiology and Biochemistry, 7, 49-58.
7. Breton, B., Weid, C., Sambroin, E., Zohar, Y., 1990. Effect of acute versus sustained administration of GnRHa on GTH reduse and ovulation in the rainbow trout, (Oncorhynchus mykiss). Science Direct @published by Elsevier B.V., 91(3-4), 373-383.
8. Drori, S., Ofir, M., Sivan, B.L., Yaron, Z., 1994. Spawning induction in Common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH super active analogue with methoclopramide: analysis of hormone profile, Progress of oocyte maturation and dependence on temperature Aquaculture, 119, 393-407.
9. Fermin, C.A., 1991. LHRH-A and domperidon-induced oocyte maturation and ovulation in Bighead carp, *Aristichthys nobilis*. Aquaculture, 93, 87-94.
10. Glubokov, A. I., Motloch, N. N., Sedova, M. A., 1991. Effect of synthetic LHRH analogudopamine antagonists on the maturation of Bream, *Abramis brama*. Aquaculture, 95, 373-377.
11. Peter, R. E., Nahorniak, C. S., Sokolowsha, M.., Change, J.P., Rivier, J. E., Vale, R. E., Sokolowska, M., Nahornika, C.S., Rivier, J. E. &Vale, W. W., 1987. Comparison of [D- Arg^6 Trp^7 Leu^8 Pro^9] Net sGnRH, and [D-Ala^6, Pro^9 NET] LHRH-A, in combination with pimozide in stimulation gonadotropin release and ovulation in the gold fish, *Carassius auratus*. Can. J. Zool., 65, 987-991.
12. Rutter, C., 1902. Natural history of the quinnat salmon.U.S. Fish Comm., Bull., 22, 65- 141.

13. Yadav, B.N., 1995. Fish endocrinology, published by Daya publishing House, 170 P.
14. Zar, J.H., 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 718 P.
15. Applied Aspects in Endocrinology and Genetics. INRA Press, paris, 47-62.
16. Zohar, Y., 1989a. Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction growth, and smoltificat Fish Physiology and Biochemistry, 7, 395-405.
17. Zohar, Y., 1989b. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. In Shilo, J.; Sarig, S., ea., Fish culture in warm water systems: problems and trends CRC Press, Boca Raton, FL, 65-119.