

القاء تکثیر جنس ماده قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

با استفاده از هورمون سنتز شده GnRHa

سالار درافشان^(۱) - باقر مجازی امیری^(۲) - علی حاجی‌زاده^(۳) - حسین مصطفوی^(۴) و
فاطمه پیکان حیرتی^(۵)

sdorafshan@hotmail.com

- ۱ - دانشگاه صنعتی اصفهان - دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، اصفهان صندوق پستی: ۸۴۱۵۴
 - ۲ و ۵ - دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج صندوق پستی: ۳۱۵۸۵-۴۳۱۴
 - ۳ - معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، شرکت سهامی شیلات ایران، تهران خیابان فاطمی پلاک ۲۵۰
 - ۴ - مرکز تحقیقات مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۳۴۳
- تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۱

چکیده

در این تحقیق اثر تزریق هورمون سنتز شده (GnRHa) بر فرآیند تسریع و همزمانی رسیدگی در گله مولدین قزل‌آلای رنگین کمان مورد مطالعه قرار گرفت. ماهیان مورد بررسی در ۵ گروه آزمایشی هر گروه شامل ۱۰ عدد مولد در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم‌بندی شده و تزریقات بصورت داخل صفاقی صورت پذیرفت. میزان کل هورمون دریافتی توسط ماهیان در گروه ۱ الی ۵ بترتیب معادل ۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن ماهی بود. در این بررسی متوسط زمان مورد نیاز تا تکمیل فرایند تخم‌دهی، همزمانی تکثیر، کمیت و کیفیت تخم‌های استحصالی و همچنین تغییرات سطوح هورمون تستوسترون سرم خون مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج بدست آمده نشان دادند که تزریق هورمون GnRHa، منجر به القاء تکثیر، تسریع و همزمانی فرایند اوولاسیون در گله مولدین می‌شود، بطوری که متوسط زمان مورد نیاز برای تکمیل فرایند تخم‌دهی در گله مولدین را از $19/6 \pm 2/45$ ، در گروه کنترل به $11/56 \pm 2/25$ ، $12/75 \pm 2/72$ ، $7/56 \pm 0/29$ و $9/5 \pm 0/98$ روز در گروه‌های دو الی پنج بطور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0/05$). همچنین همزمانی بسیار بالایی در فرایند تکثیر گروه‌های گیرنده هورمون نسبت به گروه کنترل دیده شد، بطوری که تا روز هشتم پس

۵۶/۳ درصد رسیده بود، اما هیچیک از مولدین گروه کنترل تا این زمان به مرحله تخم‌دهی
نرسیده بودند.

در روز بیست و دوم پس از آغاز آزمایش، در حالی که فرایند تخم‌ریزی در گروه‌های
گیرنده هورمون کامل شده بود، میزان تخم‌دهی تجمعی در گروه کنترل به ۴۰ درصد رسید.
میزان درصد وزن تخم استحصالی از هر مولد به ازای واحد وزن بدن در گروه‌های
مختلف آزمایش بترتیب معادل ۱۴/۶۴±۰/۴۵، ۱۵/۶۸±۰/۷۱، ۱۵/۲۱±۰/۳۷،
۱۴/۹۱±۰/۴ و ۱۴/۹۷±۰/۵ اندازه‌گیری شد ($P>0/05$). همچنین میزان بازماندگی
تخم‌های لقاح یافته تا مرحله چشم‌زدگی در گروه‌های مختلف آزمایشی فاقد تفاوت
معنی‌دار ثبت گردید ($P>0/05$).

تزریق هورمون GnRHa به مولدین منجر به افزایش سطح هورمون تستوسترون سرم
خون از ۹/۲۱±۴/۱۱ng/ml در زمان صفر به ۲۳/۴۷±۴/۲۹ng/ml در ۲۴ ساعت پس
از اولین تزریق و کاهش مجدد آن به سطوح پایه پس از ۷۲ ساعت (۱۰/۹۱±۳/۱۱)
گردید. در حالیکه چنین تغییراتی در گروه کنترل دیده نشد.

نکات کلیدی: القاء رسیدگی جنسی، تخم‌دهی، GnRHa، تستوسترون، فزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

آبزیان بعنوان یکی از منابع مهم غذایی سهم رو به تزایدی را در جیره غذایی مردم جهان
دارند. امروزه با توجه به محدودیت منابع دریایی، آبزی پروری بعنوان یک روش پایدار جهت
تولید منابع غذایی با کیفیت مطلوب در سالهای اخیر به شدت توسعه یافته است (Donaldson,
1996).

توسعه آبزی پروری خصوصاً در روشهای متراکم و فوق متراکم پرورشی، نیازمند دسترسی
آسان و مطمئن به تخم‌های لقاح یافته و یا بچه ماهیان در زمانهای از پیش تعیین شده می‌باشد.
بدین منظور روشهای القاء تکثیر در ماهیان مولد در سالهای اخیر به شدت توسعه یافته است.
گرچه استفاده اولیه از روشهای القاء تخم‌ریزی و تکثیر عمدتاً در برگرنده گونه‌هایی بود که در
شرایط کارگاهی قادر به تولید مثل نبودند، اما مزایای فراوانی که بکارگیری این روشها برای
گونه‌های قابل تکثیر در شرایط کارگاهی نظیر جنس‌های مختلف آزاد ماهیان وجود داشت، منجر

به توسعه بیش از پیش آنها گردید.

تکثیر در این گونه‌ها غالباً در یک دوره خاص زمانی در طول سال رخ می‌دهد. بکارگیری روشهای هورمونی القاء تکثیر می‌تواند منجر به حصول سلولهای جنسی سالم در خارج از دوره تولید مثل به منظور آمیخته‌گری بین جمعیت‌های مختلف، بهبود و افزایش بازده تولید با توجه به تسریع و همزمانی فرایند تخم‌دهی در گله مولدین شود (Bromage & Cumaranatunga, 1988; Lam, 1982).

به منظور القاء هورمونی تکثیر در ماهیان می‌توان از ترکیبات مختلفی نظیر عصاره هیپوفیز ماهیان، هورمونهای گنادوتروپینی جفت (HCG) و... استفاده نمود؛ اما استفاده از هورمونهای رها کننده گنادوتروپین GnRH α و انواع مشابه آنها با توجه به مزایایی نظیر قابلیت رهاسازی گنادوتروپین موجود در هیپوفیز ماهی مولد، نداشتن اثرات جانبی بر دوره‌های تولید مثلی، عدم بروز پاسخهای ایمنی در ماهیان گیرنده هورمون، سهولت دسترسی، کاربرد و همچنین قیمت مناسب، این ترکیبات را در اولویت قرار داده است (Donaldson, 1996; Peter & Yu, 1997; Yaron, 1995). گرچه در خارج از کشور مطالعات گسترده‌ای جهت القاء هورمونی تکثیر در گونه‌های مختلف آزاد ماهیان صورت پذیرفته است (Billard, 1992; Breton *et al.*, 1990; Breton *et al.*, 1995) اما کاربرد این روشها در ایران رایج نمی‌باشد.

در این تحقیق سعی بر آن شد که برای اولین بار در کشور با استفاده از نوع سنتتیک GnRH α ([D-Ala⁶ desGly¹⁰] GnRH α)، به بررسی اثرات استفاده از این هورمون بر فرایند تسریع و همزمانی رسیدگی جنسی، کمیت و کیفیت تخم‌های استحصالی و همچنین تغییرات سطوح هورمون تستوسترون در سرم خون پرداخته شود.

مواد و روشها

۵۰ عدد ماهی ماده مولد قزل‌آلای رنگین کمان (167 ± 1987) بطور همزمان در پاییز ۱۳۷۹ (اوایل فصل تکثیر)، از استخرهای نگهداری کارگاه شهید مطهری یاسوج صید و پس از بیهوشی در محلول ۱۰۰ ppm داروی MS222 مورد معاینه و شماره‌زنی قرار گرفته و سپس به داخل

حوضچه مجزایی رهاسازی شدند. مولدین در پنج گروه آزمایشی هر گروه شامل ۱۰ عدد مولد، در قالب طرح کاملاً تصادفی بصورت زیر مورد تزریق هورمون GnRHa قرار گرفتند.

- گروه یک (کنترل) تزریق با حلال هورمون، (پروپیلن گلیکول).

- گروه‌های ۲ الی ۵ بترتیب ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از هورمون سنتز شده GnRHa دریافت داشتند. تزریق در گروه‌های ۱ الی ۳ بصورت یک مرحله‌ای، در گروه ۴ دو مرحله‌ای به فاصله ۱۲ ساعت و نسبت ۳۳ و ۶۷ درصد و در گروه ۵ بصورت ۴ مرحله‌ای با فواصل ۴۸ ساعت و نسبت برابر ۲۵ درصد صورت گرفت، حجم تزریق معادل نیم میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تعیین و تزریق با سرنگ انسولین بصورت داخل صفاقی اجرا شد.

مولدین هر سه روز یکبار پس از انجام تزریقات مورد معاینه قرار گرفته و مولدین آماده تکثیر، تخم‌کشی گردیدند. تخم‌های استحصالی از هر مولد پس از توزین و تعیین تعداد در گرم، با اسپرم ۲ ماهی نر بصورت نیمه خشک با آب سالن انکوباسیون، لقاح داده شده و در تراف تا مرحله چشم‌زدگی نگهداری شدند. مراقبت‌های دوره انکوباسیون بطور معمول برای تمامی ترافها انجام شد. شرایط آزمایشی طی دوره برای تمامی مولدین و تخم‌ها یکسان و میزان اکسیژن محلول $7/2 \pm 0/1$ میلیگرم در لیتر، pH $7/9 \pm 0/1$ و دما $11/2 \pm 0/2$ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

قابل ذکر است که هورمون مورد نیاز برای اجرای این طرح از مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی تهیه گردید.

کلیه اطلاعات جمع‌آوری شده از بررسی‌های کارگاهی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS97 و با روش GLM (General Linear Model) و آزمون حداقل میانگین مربعات (L.S.Means) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در تمامی بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمونها، $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

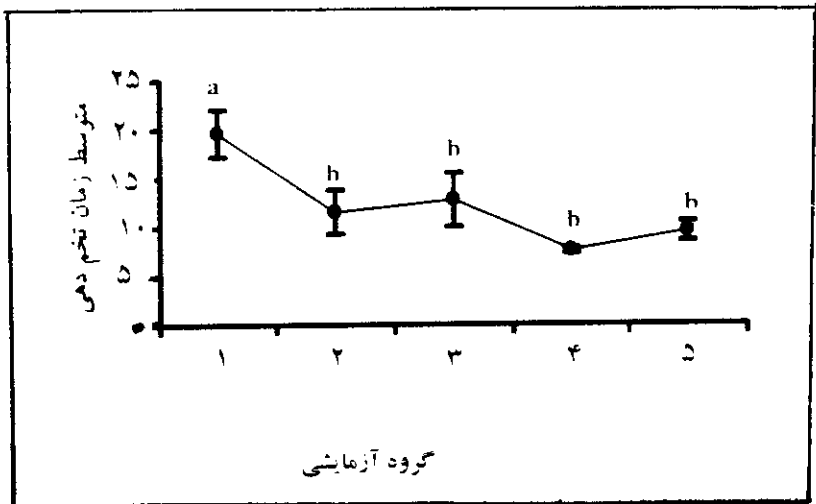
اثر تزریق بر تسریع رسیدگی جنسی در گروه مولدین در جدول ۱ و نمودار ۱ نشان داده شده است. متوسط زمان مورد نیاز بمنظور تکمیل فرایند تخم‌دهی مولدین در گروه‌های مختلف آزمایشی بترتیب $19/6 \pm 2/4$ ، $21/25 \pm 1/11$ ، $22/72 \pm 1/12$ ، $29/56 \pm 7/7$ و $98/5 \pm 9/5$ روز اندازه‌گیری شد. اگر چه تفاوت معنی‌داری برای این صفت بین گروه‌های گیرنده هورمون با گروه کنترل وجود داشت ($P < 0/05$)، اما این تفاوتها بین گروه‌های گیرنده هورمون معنی‌دار نبود.

(P>۰/۰۵).

جدول ۱: اثر تزریق هورمون GnRH α بر فرایند تسریع اوولاسیون در گروه مولدین ماهی قزل آلابی رنگین کمان

پارامترهای مورد بررسی	تعداد ماهی مولد تکثیر شده	متوسط زمان تخم دهی بعد از اولین تزریق	گروه آزمایشی
هورمون \pm SEM (روز)	از گله مولدین		۱ (کنترل)
۱۹/۶ \pm ۲/۴۵	۵	a	۱
a	a*		
۱۱/۵۶ \pm ۲/۲۵	۹	b	۲
b	b		
۱۲/۷۵ \pm ۲/۷۲	۸	b	۳
b	b		
۷/۵۶ \pm ۰/۲۹	۹	b	۴
b	b		
۹/۵ \pm ۰/۹۸	۸	b	۵
b	b		

*گروههای دارای حداقل یک حرف مشابه فاقد اختلاف معنی دار هستند (P>۰/۰۵)



نمودار ۱: اثر تزریق هورمون GnRH α بر تسریع رسیدگی نهایی تخمکهای ماهی قزل آلابی رنگین کمان در گروههای آزمایشی

نتایج حاصل از این بررسی‌ها در مورد همزمانی فرایند تکثیر و تخم‌دهی در گروه مولدین در نمودار ۲ مشخص می‌باشد براساس این نتایج، تزریق هورمون GnRHa منجر به همزمانی فرایند تکثیر در مولدین شده است. این حالت در گروه‌های چهار و پنج آزمایش، گروه‌های گیرنده مقادیر هورمونی ۶۰ و ۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم، بارزتر می‌باشد. در روز ششم پس از اولین تزریق در حالی که تخم‌دهی در گروه‌های دو، سه و چهار آغاز گردیده بود، اولین مورد تکثیر در گروه مولدین گروه پنج در روز هشتم و در گروه یک (کنترل) در روز چهاردهم پس از آغاز آزمایش رخ داد.

در روز هشتم پس از آغاز آزمایش، میزان تخم‌دهی تجمعی در گروه‌های دو الی پنج به ۴۷، ۳۴/۴، ۹۰ و ۵۶/۳ درصد افزایش یافت در حالیکه تا این زمان هیچکدام از مولدین گروه کنترل موفق به تخم‌دهی نشده بودند.

میزان تخم‌دهی تجمعی در چهاردهمین روز پس از آغاز آزمایش در گروه کنترل به ۱۷/۸ درصد رسید در حالیکه این نسبت در گروه‌های گیرنده هورمون به ۶۶، ۴۴، ۹۰ و ۸۰ درصد رسید. در بیست و دومین روز پس از آغاز دوره، میزان تخم‌دهی تجمعی در گروه‌های گیرنده هورمون، حتی در گروهی که هورمون به مقدار ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم دریافت کرده بود، کامل گردید. در این زمان، تنها ۳۹ درصد مولدین موجود در گروه کنترل موفق به تکثیر شدند. این میزان با افزایش جزئی در پایان روز بیست و ششم به ۵۰ درصد در گروه کنترل رسید که بیانگر نقش مؤثر هورمون GnRHa در همزمان سازی فرایند تکثیر در مولدین گروه‌های هورمون‌تراپی نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

کمیت تخم‌های استحصالی بر مبنای درصد کل تخم استحصالی برحسب واحد وزن بدن مولدین سنجیده شد و کیفیت آن با شاخصهایی نظیر اندازه تخمک‌ها و بازماندگی آنها تا مرحله چشم‌زدگی مورد ارزیابی قرار گرفت. این نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. این نتایج درصد کل تخم استحصالی نسبت به وزن بدن مولدین در گروه‌های مختلف آزمایشی (گروه‌های دو الی پنج) را بترتیب معادل ۱۵/۶۸±۰/۳۷، ۱۵/۲۱±۰/۳۷، ۱۴/۹۱±۰/۴ و ۱۴/۹۷±۰/۵ درصد و در گروه کنترل ۱۴/۶۴±۰/۴۵ درصد نشان داد. همانگونه که مشخص است میزان تخم استحصالی در

گروههای گیرنده هورمون نسبت به گروه کنترل بالاتر می‌باشد. اگرچه این تفاوتها از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0/05$).

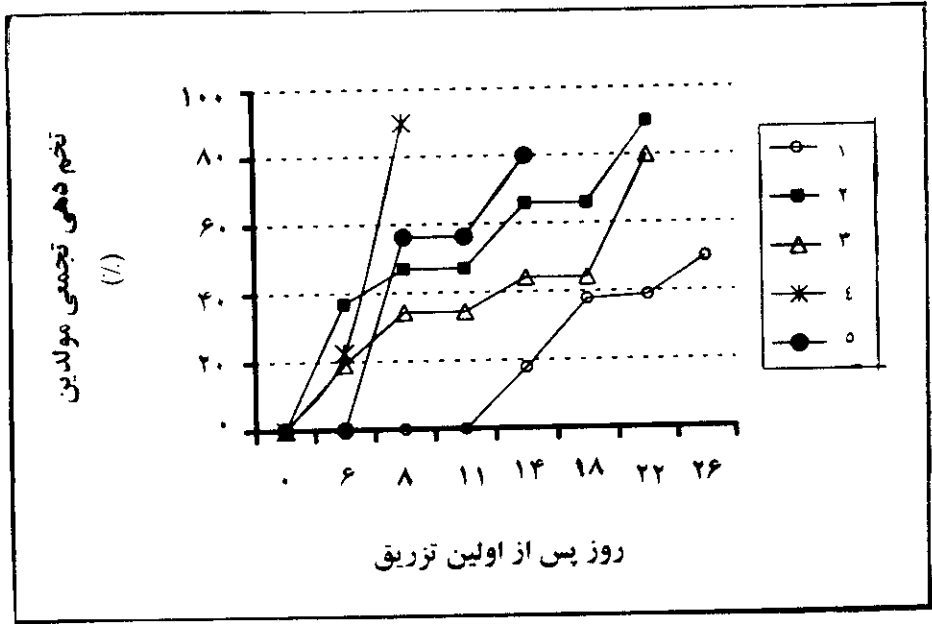
به لحاظ تعداد تخم در هر گرم وزن خشک از تخمهای استحصالی تفاوت معنی‌داری بین گروههای مختلف آزمایشی وجود نداشت ($P > 0/05$).

میزان بازماندگی تخم‌ها تا مرحله چشم‌زدگی در گروههای مختلف آزمایشی بترتیب معادل $71/57 \pm 1/43$ ، $72/51 \pm 0/92$ ، $72/05 \pm 0/98$ ، $72/1 \pm 0/99$ ، $71/52 \pm 0/99$ ثبت گردید. اگرچه گروه کنترل نسبت کمتری از این صفت را نشان داد اما از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین گروههای مختلف آزمایشی دیده نشد ($P > 0/05$) (جدول ۲).

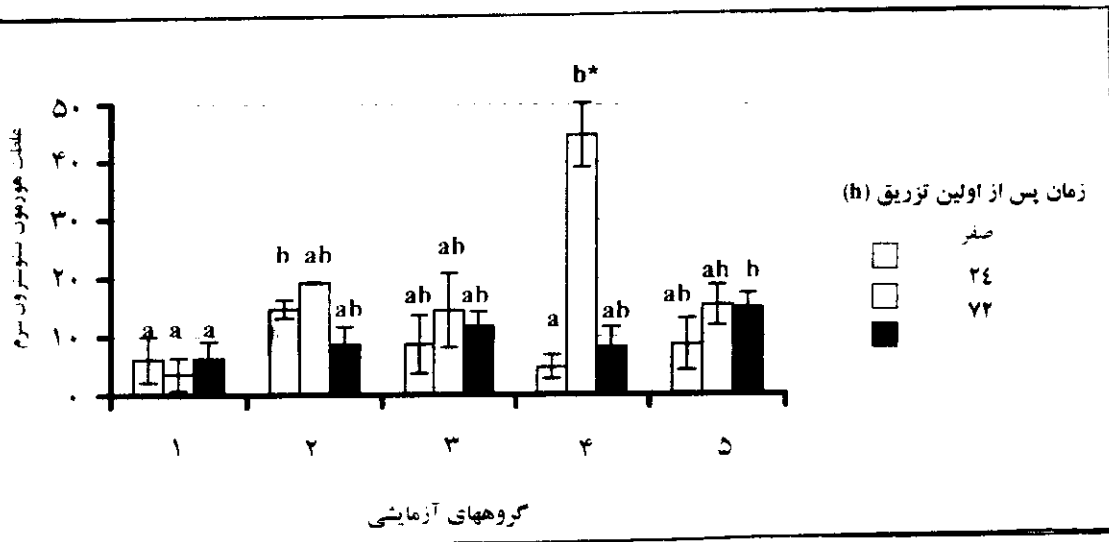
جدول ۲: اثر تزریق هورمون GnRHa بر کمیت و کیفیت تخم‌های استحصالی قزل‌آلای رنگین کمان

پارامترهای مورد بررسی	درصد کل تخم استحصالی	تعداد تخم در هر گرم وزن خشک	درصد چشم‌زدگی
گروه آزمایشی	نسبت به واحد وزن مولد	SEM \pm	SEM \pm
۱ (کنترل)	$14/64 \pm 0/45$	$14/7 \pm 1/06$	$71/57 \pm 1/43$
	ns	ns	ns
۲	$15/68 \pm 0/71$	$13/39 \pm 0/79$	$72/51 \pm 0/92$
	ns	ns	ns
۳	$15/21 \pm 0/37$	$12/98 \pm 0/84$	$72/05 \pm 0/98$
	ns	ns	ns
۴	$14/91 \pm 0/4$	$13/87 \pm 0/79$	$72/1 \pm 0/99$
	ns	ns	ns
۵	$14/97 \pm 0/5$	$12/08 \pm 0/84$	$71/52 \pm 0/99$
	ns	ns	ns

ns: تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0/05$).



نمودار ۲: اثر تزریق هورمون GnRHα بر همزمانی تکثیر در گروه مولدین قزل‌آلای رنگین کمان



نمودار ۳: اثر تزریق هورمون GnRHα در تغییرات سطوح غلظت هورمون تستوسترون سرم (حروف جهت مقایسه بین گروهی و * جهت مقایسه‌های درون گروهی در سطح $P < 0/05$ استفاده شده است)

نتایج حاصل از بررسی‌های غلظت هورمون تستوسترون سرم ماهیان مولد در نمودار ۳ نشان داده شده است. سطوح اولیه غلظت هورمون تستوسترون در زمان صفر (قبل از آغاز تزریقات) در گروه‌های مختلف آزمایشی معادل $۶/۱۸ \pm ۳/۹$ ، $۱۴/۷۵ \pm ۱/۵۴$ ، $۸/۶۹ \pm ۵$ و $۸/۶۴ \pm ۴/۴$ نانوگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که بدین لحاظ گروه ۲ سطح بالاتری از این هورمون را در زمان صفر نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد.

در گروه‌های گیرنده هورمون GnRHa، غلظت هورمون تستوسترون سرم، ۲۴ ساعت پس از اجرای اولین تزریق افزایش یافت، در حالیکه گروه کنترل فاقد تغییرات فاحش در غلظت هورمون تستوسترون به این زمان بود. بیشترین میزان این تغییرات نسبت به زمان صفر متعلق به گروه ۴ آزمایش بود که غلظت هورمون تستوسترون از $۴/۷۹ \pm ۲$ در زمان صفر به $۴۴/۷ \pm ۵/۶$ نانوگرم در زمان ۲۴ ساعت افزایش یافت. غلظت هورمون تستوسترون سرم خون در تمامی گروه‌های آزمایش بجز گروه پنج، در ۷۲ ساعت پس از اولین تزریق به میزان اولیه خود در زمان صفر نزدیک گردید.

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان دادند که GnRHa [D-Ala⁶ desGly¹⁰] ترکیبی فعال و مؤثر جهت القاء رسیدگی نهایی و همزمانی تخم‌دهی در مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان است. بدین لحاظ می‌توان بیان نمود که احتمالاً استفاده از هورمون GnRHa در مراحل نهایی رسیدگی جنسی منجر به تسریع فرایند تکمیل مهاجرت هسته زاینده و گسیختگی آن GVBD (Germinal Vesicle Break Down) گردیده و مولدین را سریعتر به مرحله تخم‌دهی می‌رساند.

با توجه به نتایج حاصله به نظر می‌رسد که دو تزریق متوالی از هورمون GnRHa به فاصله ۱۲ ساعت به منظور حصول بهترین نتیجه مناسب می‌باشد. در این حالت احتمالاً اثر تزریق مقدماتی با تزریق نهایی تشدید و تقویت می‌شود. افزایش غلظت تستوسترون سرم در ۲۴ ساعت پس از

اولین تزریق که بیانگر اثر محرک GnRHa به تحریک ترشح GtH و در نتیجه تحریک گنادها به تولید استروئیدهای جنسی (تستوسترون) می‌باشد مؤید این مسئله است. (Zohar, 1996 ; Cumaranatunga, 1988 & Bromage).

هارالدسون و همکاران در سال ۱۹۹۳ استفاده از ۲ تا ۳ تزریق از GnRHa را برای حصول بهترین نتیجه در گونه *Salvelinus alpinus* توصیه کرده‌اند. زوهر در سال ۱۹۹۶ نیز بیان نمود که دوره افزایش سطح گنادوتروپین تحت تأثیر تزریق GnRHa، دوره‌ای بسیار کوتاه می‌باشد بطوری که غالباً به منظور القاء رسیدگی نهایی، تخم‌دهی و تکثیر در آزاد ماهیان مؤثر نمی‌باشد بدین لحاظ او تزریقات مکرر GnRHa را برای القاء موفقیت‌آمیز تخم‌ریزی در این ماهیان ضروری دانست (Zohar, 1996). دیگر محققین نیز با استفاده از مقادیر مختلف هورمون GnRHa نتایج مشابهی را بر فرایند تسریع و همزمانی فرایند تکثیر در گروه مولدین گونه‌های مختلف نظیر قزل‌آلای رنگین کمان، قزل‌آلای قهوه‌ای، قزل‌آلای دریاچه، چار قطبی، ماهی آزاد کوهو، قزل‌آلای سرفولادی و ماهی آزاد اطلس بدست آورده‌اند (Haraldson et al. ; Breton et al., 1990 ; Billard et al. ; Crim et al., 1983 ; Erdahl & Clain, 1987 ; Sower et al., 1984 ; 1993 ; Taranger et al., 1992 ; 1984).

احتمالاً تفاوت‌های موجود از لحاظ میزان پاسخ‌دهی مولدین نسبت به تزریقات هورمونی به لحاظ متفاوت بودن وضعیت رسیدگی جنسی و همچنین اثرات استرس‌زایی تزریقات مکرر و متوالی می‌باشد. این حالت را می‌توان با توجه به متفاوت بودن میزان سطح هورمون تستوسترون سرم در مولدین در زمان صفر نیز نتیجه‌گیری کرد، همچنین محققین مختلفی نیز به نقش منفی عوامل استرس‌زا در فرایندهای تکثیر ماهیان مولد اشاره کرده‌اند. آنها چنین بیان کردند که بروز تحریک در مراحل نهایی رسیدگی جنسی مولدین قزل‌آلای رنگین کمان و قهوه‌ای منجر به تأخیر فرایند تخم‌دهی می‌شود (Contreras-Sanches et al., 1995 ; Brooks et al., 1995 ; Campbell, 1994).

با توجه به مقایسه میزان تخم استحصالی از هر مولد، می‌توان بیان نمود که استفاده از GnRHa تغییر محسوسی را در میزان تخم استحصالی موجب نمی‌شود. با توجه به اینکه این هورمون تنها در مراحل نهایی رسیدگی جنسی در مولدین مورد استفاده قرار گرفته، در نتیجه نمی‌تواند تأثیری بر تعداد تخمک‌های تولیدی هر ماهی مولد داشته باشد زیرا این مقدار تخمک تولیدی در هر مولد در هر دوره جنسی طی یک فرایند طولانی مدت تثبیت می‌گردد و با عوامل ژنتیکی، هورمونی، محیطی و تغذیه‌ای کنترل می‌شود (Zohar, 1989). هارالدسون و همکاران در سال ۱۹۹۳ نیز با تحقیقی که بر گونه چار قطبی *Salvelinus alpinus* انجام دادند بیان کردند که پس از القاء تخم‌ریزی در این ماهیان، تفاوت معنی‌داری بین وزن تخم‌های استحصالی و همچنین میزان تخم باقی مانده در حفره شکمی در ماهیان تیمار شده با گروه کنترل وجود نداشت (Haraldson et al., 1993). نتایج مشابهی هم در مورد گونه *Cynoscion nebulosus* توسط گروه‌های دیگر گزارش شده است (Erdahl & Clain, 1987 ; Peter & Yu, 1997).

به هر حال نتایج این گروه‌ها نشان می‌دهد که عوامل متعددی نظیر شرایط محیطی، نوع و میزان تزریق هورمون، مرحله رسیدگی گناده‌ها، گونه مورد بررسی، همگی بر میزان پاسخ‌دهی مولدین پس از القاء هورمونی تکثیر، مؤثر می‌باشند (Breton et al., 1990).

اندازه تخم‌های استحصالی (تعداد تخم در هر گرم وزن خشک از تخمها) نیز تحت تأثیر القاء هورمونی تکثیر قرار نداشت. همانگونه که بیان شده است اندازه تخم‌های استحصالی از هر مولد به طور عمده تحت تأثیر اندازه مولد می‌باشد. بدین لحاظ به نظر نمی‌رسد که استفاده از GnRHa در مراحل نهایی رسیدگی جنسی و پس از اتمام زرده‌گیری نهایی، بر اندازه تخمک‌ها دخیل باشد (Crim et al., 1983 ; Peter & Yu, 1997).

میزان بازماندگی تخم‌های لقاح یافته تا مرحله چشم‌زدگی ویژگی مهمی است که در مزارع تکثیر قزل‌آلای رنگین‌کمان بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همانگونه که بیان گردید، در این بررسی میزان بازماندگی تخم‌ها تا مرحله چشم‌زدگی تحت تأثیر تیمارهای هورمونی قرار نداشت و تفاوت

معنی‌داری بین گروه‌های مختلف آزمایشی دیده نشد ($P > 0/05$). نتایج مشابهی نیز توسط گروه‌های دیگر تحقیقاتی روی گونه ماهی آزاد کوهو، قزل‌آلای سرفولادی، قزل‌آلای دریاچه‌ای و قزل‌آلای رنگین کمان، گزارش شده است (Billard *et al.*, 1984 ; Breton *et al.*, 1990 ; Donaldson & Hunter , 1983 ; Erdahl & Clain, 1987 ; Sower *et al.*, 1984). به هر حال برخی از محققین نیز عقیده دارند که استفاده از هورمون‌ها می‌تواند منجر به کاهش کیفیت تخم‌های استحصالی شود. این دسته از محققین عوامل متعددی را نظیر استفاده از هورمون یا ترکیبات خاص همراه آنها، مقدار تجویز هورمون، روش‌های انتقال و تجویز هورمون، فاصله زمانی بین تجویز هورمون و آغاز تخم‌دهی طبیعی و همچنین استرس‌های ناشی از دستکاری‌های مولدین در این امر دخیل می‌دانند که در این سنین مهمترین عوامل، فاصله زمانی بین القاء هورمونی تکثیر و تخم‌دهی طبیعی و مقدار هورمون تجویز شده می‌باشند (Mylonas *et al.*, 1992 ; Bromage & Cumaranatunga, 1988). بررسی‌های هورمونی نشان می‌دهد که GnRHa تزریق شده منجر به القاء استروئیدزایی در گنادها می‌گردد. بدین لحاظ و بطور غیرمستقیم نیز می‌توان نقش استروئیدهای جنسی (تستوسترون) را در مراحل نهایی رسیدگی جنسی نتیجه‌گیری کرد و بیان نمود که اثر محرک GnRHa بر فرایندهای القاء تخم‌ریزی در ماهیان احتمالاً به دلیل تشدید فعالیت استروئیدزای گنادها به دلیل القاء ترشح GtH-II از هیپوفیز به دلیل حضور GnRHa می‌باشد. کاهش سطوح تستوسترون سرم، ۷۲ ساعت پس از اولین تزریق احتمالاً بیانگر این مسأله می‌باشد که اثر محرک این هورمون در بدن یک دوره نسبتاً کوتاه بوده و اثر آن به سرعت تحت تأثیر آنزیم‌های تجزیه‌کننده تقلیل می‌یابد. بدین لحاظ استفاده از تزریقات مکرر برای تحریک مداوم هیپوفیز به ترشح GtH-II و در نتیجه تشدید فرایند استروئیدزایی گنادها ضرورت دارد. به هر حال و با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان بیان نمود که تزریق هورمون GnRHa می‌تواند منجر به تسریع و هم‌زمانی فرایند تکثیر در مولدین گردد. بدین لحاظ می‌تواند سهم بسیار مهم و مؤثری در مدیریت کارگاه‌های تکثیر ماهیان سرد آبی به لحاظ کوتاه نمودن فصل تکثیر، مدیریت

بهرتر کارگاه و برنامه ریزی دقیقتر جهت استفاده از تجهیزات نظیر سالن انکوباسیون و فروش تخم چشم‌زده و بچه ماهی داشته و در نهایت منجر به سودآوری بیشتر فعالیت تولیدی شود. همچنین اثر القاء کنندگی این هورمون در تکثیر مولدین خارج از فصل تکثیر، افزایش حجم اسپرم از مولدین نر و مدیریت تکثیر ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius*، قزل آلاهی قهوه‌ای *S. trutta fario* و سفید ماهی *Coregonus lavaretus* می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از زحمات و همکاری‌های آقایان مهندس مهربانی، مهندس جعفری و رهنمایی سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

- Billard, R. ; Reinaud, P. ; Hollebecq, M.G. ; Breton, B. , 1984. Advancement and sunchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* & *S. trutta* following administration of LRH-a combined or not with pimozide, Aquaculture, Vol. 43, pp.57-66.
- Billard, R. , 1992. Reproduction in rainbow trout, sex differentiation dynamics of gametogenesis, Biology & Preservation of gametes, Aquaculture, Vol. 100, pp.263-298.
- Breton, B. ; Weil, C. ; Sambrani, E. ; Zohar, Y. , 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRH-a on GnRH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Aquaculture, Vol. 91, pp.373-383.
- Breton, B. ; Roelants, I. ; Mikalajczyk, T. ; Epler, P. ; Ollevier, F. , 1995. Induced

- spawning in teleost fish after oral administration of GnRh. pp.102-104.
- Bromage, N. ; Cumarantunga, R. , 1988.** Egg production in the rainbow trout. *In:* Recent Advance in Aquaculture. (Eds. J.F. Muir & R.J. Roberts). Vol. 3, pp.63-139.
- Brooks, S. ; Pottinger, T.G. ; Tyler, C.R. ; Sumpter, J.P. , 1995.** Does cortisol influence egg quality in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, In Fifth Int. Symp. on the reproductive physiology of fishes, (Eds. F.W. Goetz & P. Thomas) Austin, Texas, U.S.A. 180 P.
- Campbell, P. , 1994.** Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown & rainbow trout, *Aquaculture*, Vol. 12, pp.151-169.
- Contreras-Sanches, W.M. ; Shreck, C.B. ; Fitzpatrick, M.S. , 1995.** Effect of stress on the reproductive physiology of rainbow, *O. mykiss*, In Fifth Int. Symp. on the reproductive physiology of fishes, (Eds. F.W. Goetz & P. Thomas) Austin, Texas, U.S.A. 183 P.
- Crim, L.W. ; Sutterline, A.M. ; Evans, D.M. ; Weil, C. , 1983.** Accelerated ovulation by pelleted LHRH analogue treatment of spring-spawning rainbow trout, *Salmo gairdneri*. held at low temperature. *Aquaculture*, 35, pp.299-307.
- Donaldson, E.M. ; Hunter, G.A. , 1983.** Induced final maturation, ovulation & spermiation in culture fish. *In:* Fish Physiology, (Eds. W.S. Hoar ; D.J. Randal and E.M. Donaldson) Academic Press, New York. Vol. IXB, pp.351-404.
- Donaldson, E.M. , 1996.** Manipulation of reproduction in farmed fish, *Animal*

- Reproduction Science. Vol. 42, pp.381-392.
- Erdahl, D.J. ; McClain, J. , 1987.** Effect of LH-RH analogue treatment on egg maturation (ovulation) in lake trout brood stock. Progressive fish-culturist. Vol. 49, pp.276-279.
- Haraddson, H. ; Sveinsson, T. ; Skulason, S. , 1993.** Effects of LHRH- a treatments upon the timing of ovulation & upon egg and offspring quality in arctic charr, *Salvelinus alpinus*. Aquaculture & Fisheries Management. Vol. 24, pp.145-150.
- Lam, T.J. , 1982.** Application of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish Aquat. Sci. Vol. 39, pp.111-137.
- Mylonas, C.C. ; Hinshaw, J.M. ; Sullivan, C.V. , 1992.** GnRHa induced ovulation of brown trout, *Salmo trutta* and its effects on egg quality. Aquaculture. Vol. 106, pp.379-392.
- Peter, R.E. ; Yu, K.L. , 1997.** Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes, basic & applied aspects, reviews in fish biology and fisheries. Vol. 7, pp.173-197.
- Sower, S.A. ; Iwamoto, R.N. ; Dickhoff, W.W. ; Gorbman, A. , 1984.** Ovulatory & steroidal responses in coho salmon & steelhead trout following administration of salmon gonadotropin & D-Ala6, desGly10 gonadotropin-releasing hormone ethylamide (GnRHa). Aquaculture. Vol. 43, pp.35-46.
- Taranger, G.L. ; Stefansson, S.O. ; Hansen, T. , 1992.** Advancement & synchronization of ovulation in atlantic salmon, *Salmo salar* L., following injection of LH-RH analogue. Aquaculture. Vol. 102, pp.169-175.
- Yaron, Z. , 1995.** Endocrine control of gametogenesis & spawning induction in the

carp. Aquaculture. Vol. 129, pp.49-73.

Zohar, Y. , 1989. Fish reproduction: Its physiology & artificial manipulation, In: Fish culture in warm water ssystem. Problems & Trends. (Eds. M. Shilo and Sarig, S.), CRC Press, Chapter 3, pp.66-119.

Zohar, Y. , 1996. New approaches for the mainpulation of ovulation & spawning in farmed fish, Bull. Natl. Inst. Aquaculture. Suppl., Vol. 2, pp.43-48.