



نقش هورمون‌های سنتتیک در زادآوری کپور ماهی هندی مریگال *Cirrhinus cirrhosus*

محمد یونس‌زاده فشالمی^{۱*}، سید عبدالصاحب مرتضوی‌زاده^۲

DOI: 10.22124/japb.2024.26558.1527

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۲

چکیده

مریگال *Cirrhinus cirrhosus* یکی از سه گونه مهم کپورماهیان هندی در سیستم پرورش ماهیان گرمابی در دنیا محسوب می‌شود. برای تنوع بخشی به سیستم آبی‌پروری ماهیان گرمابی، گونه‌های کپورماهیان هندی در سال ۱۳۸۷ به ایران وارد شدند. به منظور مقایسه شاخص‌های تکثیر از هورمون‌های القای تخم‌ریزی برای ۴۰ قطعه مولد ماده با میانگین وزن و طول کل به ترتیب $3212/69 \pm 5/31$ گرم و $635/38 \pm 3/32$ سانتی‌متر استفاده شد. دمای مناسب تکثیر $28-28/5$ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. از هورمون‌های سنتتیک القای تخم‌ریزی اوپاس (ساخت ایران) و اوپریم و عصاره هیپوفیز برای تحریک تخم‌ریزی استفاده شد. به گروه شاهد سرم فیزیولوژی تزریق شد. تزریق به صورت عضلانی و در یک مرحله انجام گرفت. شاخص‌های تکثیر در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد درصد موفقیت تخم‌ریزی در گروه‌های یاد شده به ترتیب ۱۰۰، ۹۰ و ۸۰ درصد بود و در گروه شاهد مولدین به تزریق پاسخ ندادند. دوره پنهان ۸-۶ ساعت محاسبه شد که کمترین زمان در گروه هورمون اوپاس بود. ماهی مریگال تخم‌های غیرچسبنده داشت. تعداد تخم در گرم و در میلی‌لیتر و اندازه تخم استحصال شده، لقاح یافته و آب‌کشیده تفاوت معنی‌داری را در گروه‌های مختلف نشان نداد. میانگین درصد لقاح $91/2 \pm 5/33$ ، درصد تخم‌گشایی $80/66 \pm 1/7$ و درصد بازماندگی لارو $70/81 \pm 2/83$ محاسبه شد. زمان شروع خروج لارو از تخم ۱۶ ساعت و ۲۰ دقیقه پس از لقاح بود. اندازه لارو تازه تخم‌گشایی شده $4/55 \pm 0/06$ میلی‌متر بود. داده‌های تکثیر نشان دهنده آن است که هورمون اوپاس می‌تواند جایگزین خوبی برای هورمون‌های وارداتی مثل اوپریم و عصاره هیپوفیز باشد. نتایج به دست آمده در تعیین بیوتکنیک تکثیر ماهی مریگال، می‌تواند در توسعه تکثیر و پرورش این گونه و معرفی به سیستم آبی‌پروری کشور مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: مریگال، تکثیر، اوپاس، مولدین، تزریق.

۱- استادیار پژوهشگاه آبی‌پروری آب‌های جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

۲- مربی پژوهشگاه آبی‌پروری آب‌های جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: m_yooneszadeh@yahoo.com

مقدمه

کیپورماهیان هندی مهم‌ترین گونه‌های پرورشی آب شیرین محسوب می‌شوند که در سیستم چند گونه‌ای در کشورهای جنوب شرق آسیا تولیدات بالایی دارند. سه گونه اصلی کیپورماهیان هندی شامل کاتلا (*Catla catla*)، روهو (*Labeo rohita*) و مریگال (*Cirrhinus cirrhosus*) در آمار تولید آبزیان در فائو جزء ده گونه برتر تولید آبی‌پروری در دنیا به شمار می‌آیند (FAO, 2022).

مریگال یکی از سه گونه مهم کیپورماهیان هندی پرورشی در کشورهای جنوب شرق آسیا محسوب می‌شود. این گونه در پرورش توام با گونه‌های بومی دیگر، بویژه در هند حائز اهمیت است. نرخ رشد بالای مریگال و توانایی سازگاری با کیپورماهیان دیگر منجر به معرفی این گونه به سیستم آبی‌پروری شده است (Dwivedi et al., 2004; Mayank and Dwivedi, 2014). این ماهیان در سیستم‌های پرورش توام کیپورماهیان در استخرهای هند و بنگلادش به عنوان کشورهای عمده تولید آن، پرورش می‌یابد. مریگال به طور معمول با دو گونه کیپور هندی کاتلا و روهو پرورش می‌یابد. همچنین آنها در سیستم‌های پرورش کیپورماهیان که حاوی سه گونه کیپور هندی و ۲ گونه کیپور چینی از

جمله کیپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix* فیتوفاگ)، کیپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) و کیپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش می‌یابد. مریگال یک گونه کفزی خوار است و رقیب غذایی کیپور معمولی محسوب می‌شود (Pathak et al., 2015). ماهی مریگال در شرایط اسارت در سال دوم بالغ می‌شود. در این مرحله ماهی بالغ نیاز به محیط رودخانه‌ای برای تخم‌ریزی دارد و در شرایط بسته با آب راکد استخر تخم‌ریزی نمی‌کند. از این رو، در کارگاه‌های تکثیر با تزریق هورمون تکثیر صورت می‌گیرد.

گونه‌های زیادی از ماهیانی که در شرایط اسارت پرورش داده می‌شوند در فرایند تولیدمثل دچار اختلال می‌شوند (Kouril et al., 2008) که علت را می‌توان در فراهم نبودن شرایط محیطی (بستر تخم‌ریزی، جریان آب، کیفیت آب، عمق آب) دانست که پاسخ‌های محیطی مناسب را برای تحریک در ماهیان ایجاد نمی‌کند. در این شرایط ماهیان قادر به تخم‌ریزی در اسارت نیستند و فرایند رسیدگی نهایی جنسی در این ماهیان تکمیل نمی‌شود (Podhorec and Kouril, 2009). تزریق هورمون برای تحریک تخم‌ریزی در گونه‌های

زیادی از ماهیان در آبی‌پروری استفاده می‌شود (Mylonas and Zohar, 2007; Rainis and Ballestrazzi, 2005; Brzuska, 2021).

ضرورت استفاده از تحریک‌کننده‌های تخم‌ریزی در کپورماهیان به اثبات رسیده است. هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) از جمله هورمون‌هایی هستند که به شکل صنعتی ساخته شده‌اند. از مزایای استفاده از این هورمون‌ها، مشخص بودن ساختار مولکولی و امکان ساخت صنعتی آنها و آنالوگ‌های فوق فعال آنها است (Weil et al., 1986; Peter et al., 1988; Hosseinzadeh Sahafi et al., 2019; Brzuska, 2021). در بسیاری از ماهیان دوپامین به عنوان عامل ممانعت کننده تکثیر، نقش مهمی را در جلوگیری از آزادسازی گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز دارد و یا توانایی GnRH تزریق شده را برای افزایش رهاسازی LH از طریق کاهش حساسیت گیرنده‌های سلولی در سطح هیپوفیز، شدیداً کاهش می‌دهد که برای غلبه بر این مشکل می‌توان به همراه تزریق GnRH از آنتی‌دوپامین‌های مختلف استفاده کرد که می‌توان به دومپریدون، متوکلوپرامید، هالوپریدول و غیره اشاره کرد (Brzuska, 2021).

در سال‌های اخیر در مزارع تکثیر با تزریق عصاره غده هیپوفیز و دیگر هورمون‌های تجاری سنتتیک خارجی از جمله گنادوتروپین تخلیص شده از سالمون و آنتی‌گونیست‌های دوپامین از جمله اوپریم، اواتاید و Wova-FH، تکثیر به طور موفقیت‌آمیزی صورت گرفته است. از آنجایی که در سیستم آبی‌پروری بالا بودن تعداد گونه‌های مناسب باعث بالا رفتن کارایی تولید می‌شود، از این رو در سال ۱۳۸۷ گونه‌های اصلی کپورماهیان هندی که شامل کاتلا، مریگال و روهو است، برای بالا بردن تنوع گونه‌های پرورشی وارد کشور شدند. در حال حاضر با توجه به اقلیم مناسب استان خوزستان این گونه‌ها در پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور (اهواز) توانستند مراحل رشد و تکامل را سپری کنند و به بخش اجرا و شیلات واگذار شوند. از آنجایی که کپورماهیان هندی در شرایط استخر قادر به تخم‌ریزی نیستند، در این مطالعه برای تعیین بیوتکنیک تکثیر این گونه، از هورمون تراپی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

ماهیان و مکان مطالعه

کلیه مراحل اجرایی این پژوهش در مجتمع پرورش ماهی آزادگان اهواز در قطعه ۴۶-

(Rokade et al., 2006) و تیمار (۴) تزریق سرم فیزیولوژی (تیمار شاهد) بود.

ماهیان قبل از تزریق، با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر ماده بیهوشی اتیلن گلیکول مونوفتیل بیهوش شدند (Leroy Creswell, 2000). تزریق به صورت عضلانی و در یک مرحله انجام گرفت. در گروه‌های ۱ و ۲ به ماهیان نر به ترتیب اوپاس و اوپریم با غلظت ۰/۲ میلی لیتر در کیلوگرم با فاصله ۳ ساعته پس از تزریق مولدین ماده، تزریق شد. در گروه ۳ به ماهیان نر عصاره هیپوفیز با غلظت ۲ میلی گرم در کیلوگرم تزریق شد.

بررسی شاخص‌های تکثیر

تزریق ماهیان به روش متداول داخل عضلانی (IM) انجام شد. در این آزمایش از روش لقاح خشک استفاده شد. تخم‌ها به مدت ۵ دقیقه با آب شستشو شده و سپس به انکوباتورهای زوج منتقل شدند (شکل ۱). لاروهای به دست آمده بعد از جذب دو سوم کیسه زرده به وسیله شیرابه زرده تخم‌مرغ پخته شده با فاصله سه ساعت یک بار در طول روز تغذیه شدند (فرید پاک، ۱۳۶۵). دمای آب در طول دوره تکثیر 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود.

پرورش ماهی سیکا آبی جنوب، از خرداد ۱۴۰۰ تا مرداد ۱۴۰۰ انجام شد.

تشخیص جنسیت در مولدین کپورماهیان هندی مریگال (*Cirrhinus cirrhosus*) بر اساس زبری باله سینه و طول باله سینه‌ای انجام گرفت. پس از بررسی ظاهری، مولدین ماده‌ای که شکم نرم و منفذ تناسلی متورم داشتند، انتخاب شدند. ۴۰ مولد ماده ۳ ساله مریگال دارای میانگین وزنی $3212/69 \pm 5/31$ گرم و طولی $635/38 \pm 3/32$ سانتی‌متر بودند. ۲۰ قطعه مولد نر نیز بر اساس شاخص سیالیت اسپرم انتخاب شد. در زمان تکثیر دمای آب $29-29/5$ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. در این مطالعه، سه تیمار هورمونی برای القای تخم‌ریزی بر روی مریگال و یک گروه شاهد در نظر گرفته شد که شامل تیمار (۱) تزریق هورمون اوپاس (OvaPAS؛ پروتئین آرایه سامان، ایران) با غلظت ۰/۵ میلی لیتر در کیلوگرم (Younesazadeh Feshalami et al., 2024)، تیمار (۲) تزریق اوپریم (Ovaprim) با غلظت ۰/۵ میلی لیتر در کیلوگرم (Rokade et al., 2006)، تیمار (۳) تزریق عصاره هیپوفیز کپور هندی با غلظت ۳ میلی گرم در کیلوگرم



شکل ۱: مراحل استحصال تخم مولدین مریگال و معرفی آن به زوک برای تولید لارو

رابطه ۲:

$$SR (\%) = (N_L / N_E) \times 100$$

N_L : تعداد لاروهای زنده؛ N_E : تعداد کل تخم‌ها.

رابطه ۳:

$$FF (kg^{-1}) = N_E / W$$

N_E : تعداد تخم‌های به دست آمده؛ W : وزن بدن (کیلوگرم).

رابطه ۴:

$$F (\%) = (N_F / N_T) \times 100$$

N_F : تعداد تخم لقاح یافته؛ N_T : تعداد کل تخم‌ها.

رابطه ۵:

$$H (\%) = (N_H / N_F) \times 100$$

شاخص‌های تعیین میزان تخم‌ریزی (SpR)،

درصد بازماندگی لارو (SR) (Kulikovsky et

al., 1996)، هم‌آوری کاری (FF)، درصد لقاح

(F) و تخم‌گشایی (H) (NACA, 1989) و

دوره پنهان (Latency Period)، فاصله زمانی

بین اولین تزریق و اوولاسیون (Drori et al.,

1994) اندازه‌گیری و محاسبه شد (رابطه‌های ۱

تا ۵).

رابطه ۱:

$$SpR (\%) = (N_{FS} / N_{FI}) \times 100$$

N_{FS} : تعداد ماهیان تخم‌ریزی کننده؛ N_{FI} : تعداد ماهیان تزریق شده.

N_H : تعداد لاروهای تخم‌گشایی شده؛ N_F : تعداد تخم‌های لقاح یافته.

اندازه تخم‌های استحصال شده (میکرومتر)، اندازه تخم‌های لقاح یافته (میکرومتر)، اندازه تخم‌های آبکشیده (میکرومتر) و اندازه لاروهای تازه تخم‌گشایی شده (میلی‌متر) با استریومیکروسکوپ (Motic، چین) به دست آمد. اندازه‌گیری تعداد تخم در یک گرم با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مقایسه بین داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس‌آزمون‌های LSD و Duncan با ۹۵ درصد اطمینان ($P < 0.05$) در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ صورت گرفت. از نرم‌افزار Microsoft Excel 2019 نیز به منظور رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

در این بررسی موفقیت تکثیر (تخم‌ریزی)، دوره پنهان و شاخص‌های تکثیر شامل مقدار تخم در هر ماهی (گرم)، تخم در گرم، تخم در میلی‌لیتر، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی، بازماندگی لارو، تخم آب جذب کرده در میلی‌لیتر، تعداد لارو در میلی‌لیتر، اندازه تخم

استحصال شده، اندازه تخم لقاح یافته، اندازه تخم آبکشیده و اندازه لارو تازه تخم‌گشایی شده مریگال در تیمارهای مختلف بررسی شد که نتایج آن در جدول ۱ آمده است. در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری در موفقیت تخم‌ریزی به هورمون مشاهده شد ($P < 0.05$). هورمون اوپاس بالاترین درصد پاسخ‌دهی مولدین به هورمون را نشان داد و پس از آن هورمون اوپریم و عصاره هیپوفیز در بالاترین مقدار بودند. مولدینی که در گروه شاهد قرار داشتند و به آنها سرم فیزیولوژی تزریق شده بود، موفقیت تخم‌ریزی در آنها مشاهده نشد. دوره پنهان در گروه‌های مختلف از ۶/۵-۸ ساعت در نوسان بود و کمترین دوره پنهان در گروه اوپاس مشاهده شد، اگر چه اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۱). در گروه اوپاس درصد لقاح، تخم‌گشایی و بازماندگی لارو به ترتیب 91.2 ± 5.33 درصد، 80.1 ± 6.67 درصد و $70.2 \pm 8.1/83$ درصد بود که بالاتر از گروه‌های اوپریم (به ترتیب $67.0/2 \pm 5.5/33$ و $75.2 \pm 7.5/3$ ، $85.3 \pm 3.3/32$ درصد) و عصاره هیپوفیز (به ترتیب $66.3 \pm 3.2/25$ و $78.1 \pm 5.3/4$ ، $86.3 \pm 6.7/45$ درصد) بود (جدول ۱). با این وجود، اختلاف معنی‌داری در این شاخص‌ها بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۱: شاخص‌های تکثیر مولدین ماده مریگال با تحریک القای تخم‌ریزی در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	تیمار	هورمون اوپاس (n=10)	هورمون اوپریم (n=10)	عصاره هیپوفیز کپور هندی (n=10)	سرم فیزیولوژی (n=8)
موفقیت تخم‌ریزی (%) *	۱۰۰ ^a	۹۰ ^b	۸۰ ^c	.	.
دوره پنهان (ساعت)	۶/۱۱ $\pm$ ۰/۰۸	۷/۱۱ $\pm$ ۰/۰۷	۷/۵۰ $\pm$ ۰/۰۹	.	.
مقدار تخم در هر ماهی (گرم)	۵۸۱/۳۳ $\pm$ ۵۲/۶۲	۵۶۰/۶۴ $\pm$ ۴۳/۴۳	۵۱۰/۲۱ $\pm$ ۲۲/۷۴	.	.
تعداد تخم در گرم	۱۲۷۱/۱۶ $\pm$ ۲۱/۲۹	۱۲۸۵/۳۲ $\pm$ ۲۵/۳۲	۱۲۶۵/۱۶ $\pm$ ۳۲/۱۸	.	.
تعداد تخم در میلی‌لیتر	۱۲۵۹/۸۳ $\pm$ ۳۵/۲۲	۱۲۲۳/۲۱ $\pm$ ۳۳/۴۳	۱۲۷۴/۴۷ $\pm$ ۶۴/۷۲	.	.
درصد لقاح	۹۱/۵۰ $\pm$ ۲/۳۳	۸۵/۳۰ $\pm$ ۳/۳۲	۸۶/۶۷ $\pm$ ۳/۴۵	.	.
درصد تخم‌گشایی	۸۰/۶۶ $\pm$ ۱/۷	۷۵/۷۵ $\pm$ ۲/۳	۷۸/۵۳ $\pm$ ۱/۴	.	.
درصد بازماندگی لارو	۷۰/۸۱ $\pm$ ۲/۸۳	۶۷/۵۵ $\pm$ ۲/۳۳	۶۶/۳۲ $\pm$ ۳/۲۵	.	.
تخم آب‌کشیده در میلی‌لیتر	۶۲/۸۳ $\pm$ ۲/۰۲	۶۳/۲۳ $\pm$ ۲/۲۰	۶۰/۶۴ $\pm$ ۱/۴۰	.	.
تعداد لارو در میلی‌لیتر	۷۲۸/۷ $\pm$ ۵/۹۲	۷۲۰/۴ $\pm$ ۶/۴۳	۷۱۸/۲ $\pm$ ۳/۱۲	.	.
اندازه تخم استحصال شده (میکرومتر)	۱۰۸۰/۱۷ $\pm$ ۹/۶۴	۱۰۷۸/۲۷ $\pm$ ۸/۷۴	۱۰۸۲/۴۳ $\pm$ ۷/۹۴	.	.
اندازه تخم لقاح یافته (میکرومتر)	۱۶۴۱/۶۲ $\pm$ ۱۴/۳۹	۱۵۹۹/۴۲ $\pm$ ۱۳/۵۷	۱۶۶۹/۶۳ $\pm$ ۱۳/۹۶	.	.
اندازه تخم آب‌کشیده (میکرومتر)	۳۳۷۰/۴۶ $\pm$ ۲۴/۶۵	۳۳۴۳/۵۶ $\pm$ ۳۲/۲۳	۳۳۲۹/۶۳ $\pm$ ۲۲/۳۵	.	.
اندازه لارو تازه تخم‌گشایی شده (میلی‌متر)	۴/۵۵ $\pm$ ۰/۰۶	۴/۴۳ $\pm$ ۰/۰۸	۴/۶۵ $\pm$ ۰/۰۶	.	.

*: در این شاخص حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$). در بقیه شاخص‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

در گروه اوپاس تعداد تخم تازه استحصال شده در گرم، تعداد تخم در میلی‌لیتر، تعداد تخم آب‌کشیده در میلی‌لیتر به ترتیب ۱۲۷۱/۲۱ $\pm$ ۲۱/۲۹ عدد، ۱۲۵۹/۸۳ $\pm$ ۳۵/۲۲ عدد، اندازه تخم تازه استحصال شده در گرم، تعداد تخم در میلی‌لیتر، تعداد تخم آب‌کشیده در میلی‌لیتر به ترتیب ۵۸۱/۳۳ $\pm$ ۵۲/۶۲ عدد، ۵۶۰/۶۴ $\pm$ ۴۳/۴۳ عدد، ۵۱۰/۲۱ $\pm$ ۲۲/۷۴ عدد، اندازه تخم تازه استحصال شده، اندازه تخم لقاح یافته، اندازه تخم آب

کشیده و اندازه لارو تازه تخم‌گذاری شده در تیمارهای بررسی شده اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). تخم‌ها به صورت کروی، غیرچسبنده و به رنگ سبز متمایل به خاکستری بودند. پس از لقاح، تخم‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با آب شستشو شدند و به داخل زوک‌ها با جریان آب جزیی ریخته شدند. زمان تخم‌گذاری لاروها ۱۶ ساعت و ۲۰ دقیقه در گروه‌های مختلف ثبت شد (جدول ۱).

بحث

در بررسی حاضر نشان داده شد که ماهی مریگال بدون تزریق هورمون به مرحله تخم‌ریزی در شرایط موجود نرسد. به طوری که در گروه شاهد که از سرم فیزیولوژی استفاده شد، هیچ کدام از مولدین به مرحله رسیدگی نهایی نرسیدند. با بهره‌گیری از هورمون القا کننده رسیدگی جنسی موفقیت تخم‌ریزی به دست آمد. ضرورت استفاده از تحریک‌کننده‌های تخم‌ریزی برای مثال عصاره هیپوفیز، HCG و GnRHa در کپورماهیان به اثبات رسیده است (Weil et al., 1986; Peter et al., 1988).

در ارتباط با تحریک رسیدگی جنسی کپورماهیان هندی هورمون‌های مختلفی بررسی شدند. از هورمون هیپوفیز به صورت دو مرحله‌ای

با غلظت ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن مولد در دو مرحله با فاصله زمانی ۶ ساعت استفاده شد. تزریق اولیه با غلظت ۲-۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و غلظت نهایی ۸-۶ میلی‌گرم در کیلوگرم با فاصله زمانی ۶ ساعت به کار گرفته شد و زمان تخم‌ریزی ۴-۶ ساعت پس از تزریق نهایی انجام گرفت (Jhingran and Pullin, 1985). Mohapatra و همکاران (۲۰۱۶) برای تکثیر کپورماهیان هندی (گونه‌های روهو و مریگال) از هورمون اواتاید (Ovatide) که یکی از هورمون‌های سنتتیک مشابه اوپریم است، استفاده کردند و پاسخ‌دهی مثبتی را در ماهیان به تزریق هورمون (۹۷/۱۷ درصد) مشاهده کردند که مشابه نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با بهره‌گیری از هورمون اوپریم بود. یکی دیگر از شاخص‌های مهم در این مطالعه زمان رسیدگی مولدین ماده (دوره پنهان) بود که تا زمان $7/21 \pm 0/06$ ساعت همگی به تزریق جواب مثبت نشان داده بودند که این شاخص با نتایج مطالعات قبلی متفاوت است. در حالی که این نتایج با مطالعه‌ای که بر روی کپورماهیان هندی در گونه‌های روهو و مریگال انجام گرفت و در آن دوره پنهان در ماهیان روهو و مریگال به ترتیب ۶/۵-۷/۷ و ۶/۲-۷/۳ ساعت ثبت شد (Mohapatra et al., 2016)، مطابقت دارد.

- از هورمون اوپریم در گونه‌های کپورماهیان هندی (Nandeesh et al., 1990; Sarkar et al., 2004; More et al., 2010) در مولدین گربه‌ماهی (*Heteropneustes fossilis*) (Haniffa and Sridhar, 2002) در ماهی فیتوفاگ (Naeem et al., 2005) و کپور معمولی (Brzuska, 2021) برای تحریک تخم‌ریزی استفاده شده است.
- هورمون‌های اوپریم، هیپوفیز، LHRHa2، HCG و اواتاید در گونه‌های ماهیان بومی بنی، شیربت (*Barbus grypus*) و گطان برای تحریک تخم‌ریزی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مطالعه موفقیت کمتری را نسبت به عصاره هیپوفیز نشان داد (Bosak Kahkesh et al., 2010, 1011; Mortezaavizadeh et al., 2010).
- هورمون اوپریم در ۲۵ گونه ماهیان زینتی در جهت رسیدگی جنسی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن موفقیت ۹۲ درصدی را نشان داد (Hill et al., 2009).
- Khan (۱۹۷۲) از یک مولد کاتلا به وزن ۵/۱ کیلوگرم ۴۰۰۲۷۵ عدد تخم به دست آورد که به ازای هر کیلوگرم از وزن ماهی ماده ۷۷۸۳۲ عدد به ثبت رسید. در مطالعه حاضر از مولدینی با وزن ۳/۱ کیلوگرم ۶۶۲۶۹۳
- ضرورت استفاده از تحریک‌کننده‌های تخم‌ریزی برای مثال عصاره هیپوفیز، HCG و GnRHa در کپورماهیان به اثبات رسیده است (Weil et al., 1986; Peter et al., 1988; Hosseinzadeh Sahafi et al., 2019). یکی دیگر از شاخص‌های مهم در این مطالعه زمان رسیدگی مولدین ماده (دوره پنهان) بود که در زمان $6/11 \pm 0/08$ ساعت همگی به تزریق هورمون اوپاس جواب مثبت نشان دادند که این شاخص با نتایج قبلی متفاوت است. بر اساس مطالعات انجام شده، مدت زمان دوره پنهان در کپور معمولی ۱۰-۱۴ ساعت پس از تزریق دوم (Dorafshan et al., 2003; Arabaci and Rutilus frisia, 2004)، ماهی سفید (Sari, 2004)، ماهی *kutum* ۵۶ ساعت (Heyrati et al., 2007)، ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) ۲۴/۲۵ ساعت (Mohammadian et al., 2009)، در گطان (*Barbus xanthopterus*) ۱۶ ساعت پس از تزریق دوم (Mortezaavizadeh et al., 2011) مشاهده شد. در حالی که در ماهی کاتلا دوره پنهان ۶ ساعت پس از تزریق اول انجام گرفت. به نظر می‌رسد دلیل این تفاوت را می‌توان در گونه و دما جستجو کرد. تکثیر ماهی کاتلا در دمای ۲۹-۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

رسید (Jhingran and Khan, 1979) که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر شباهت دارد. Miah و همکاران (۲۰۰۹) قطر تخم لقاح یافته ماهی *Labeo bata* یکی از گونه‌های کپورماهی هندی را ۰/۷-۰/۸ میلی‌متر گزارش دادند. درحالی که میانگین قطر تخم لقاح یافته ماهی روهو (*Labeo rohita*) یکی از گونه‌های اصلی کپورماهی هندی ۴/۴ میلی‌متر (Chakraborty and Murty, 1972). Mookerjee در سال ۱۹۴۵ قطر تخم آب کشیده کاتلا را ۵/۵-۶/۵ میلی‌متر به دست آورد در صورتی که در مطالعه حاضر قطر تخم آب جذب کرده ۳۳۷۰/۴۶±۲۴/۶۵ میکرومتر (۳/۳ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. علت این تفاوت‌ها را می‌توان در نوع گونه و اندازه ماهی جستجو کرد (Chakraborty and Murty, 1972). اندازه لارو تازه تخم‌گشایی شده در مطالعه حاضر ۴/۵۵±۰/۰۶ میلی‌متر بود که با نتایج Chakraborty و Murty (۱۹۷۲) (۴/۶۸ میلی‌متر) مشابه است.

در مجموع، داده‌های تکثیر نشان دهنده این است که هورمون اوایپاس می‌تواند جایگزین خوبی برای هورمون‌های وارداتی مثل اوایپیم و هیپوفیز باشد با توجه به این نکته که بیشتر هورمون‌ها جنبه وارداتی دارند و هر تغییری در

عدد تخم استحصال شد که ۲۰۸۳۹۴ در هر کیلوگرم به دست آمد. Natarajan و Jhingran در سال ۱۹۶۳ هم‌آوری را در کاتلاهای ۳-۵ ساله با محدوده طولی ۷۸۳-۹۵۰ میلی‌متر ۲۳۰۸۳۱-۴۲۰۲۲۵۰ عدد به دست آوردند که بسته به طول ماهی، وزن ماهی و وزن تخمدان متغیر بود. در مطالعات دیگر از گونه‌های اصلی کپورماهیان هندی، هم‌آوری روهو ۲۷۹۴۰۰-۲۲۶۰۰۰ عدد (محدوده وزنی ۶۷۵۰-۱۵۰۰ گرم) و هم‌آوری مریگال ۱۵۱۶۸۵-۱۸۰۹۵۳۶ عدد (محدوده وزنی ۵۸۹۷-۱۳۰۱۲ گرم) به ثبت رسید (Jhingran and Khan, 1979). همچنین در مولدین ماده روهو با محدوده وزنی ۵۱۷-۱۴۷۴ گرم هم‌آوری ۳۲۳۲۰۳-۹۰۴۱۵ عدد ثبت شد (Sehgal and Toor, 1991) که حاکی از این است تخم‌های استحصالی در محدوده یاد شده قرار دارد. تعداد تخم در گرم در مطالعه حاضر ۱۲۷۱/۱۶±۲۱/۲۹ عدد شمارش شد. در حالی که Jhingran در سال ۱۹۶۸ تعداد تخم در گرم را در مولدین ماده کاتلا ۳-۵ ساله ۷۶۷-۹۸۷ عدد در هر گرم اعلام کرد که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر متفاوت است. در حالی که در ماهی روهو تخم در گرم ۷۴۷-۱۵۲۸ عدد و در ماهی مریگال ۸۰۰-۱۸۷۳ عدد به ثبت

سیستم می‌تواند در ورود این هورمون‌ها تاثیر داشته باشند، از این رو تولیدات داخلی می‌توانند در پایداری سیستم آبی‌پروری کمک کنند. هورمون سنتتیک اوپاس یک محصول دانش بنیان است که می‌تواند با ورود به عرصه آبی‌پروری از خروج ارز از کشور جلوگیری کند و در جهت پایداری آبی‌پروری و در تولید بیشتر نقش بسزایی داشته باشد. نتایج به دست آمده در تعیین بیوتکنیک تکثیر ماهی مریگال، می‌تواند در توسعه تکثیر و پرورش این گونه و معرفی به سیستم آبی‌پروری کشور مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- Arabaci M. and Sari M. 2004.** Induction of ovulation in endemic pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi*), living in the highly alkaline Lake Van, using GnRHa ([D-Ser (tBu)₆, Pro⁹-Net]-GnRH) combined with haloperidol. *Aquaculture*, 238: 529–535. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.05.004
- Bosak Kahkesh F., Yooneszadeh Feshalami M., Amiri F. and Nickpey M. 2010.** Effect of ovaprim, ovatide, HCG, LHRH-A₂, LHRHA₂+CPE and carp pituitary in benni (*Barbus sharpeyi*) artificial breeding. *Global Veterinaria*, 5(4): 209–214.
- Bosak Kahkesh F., Yooneszadeh M., Amiri F. and Nickpey M. 2011.** Survey of different hormones on final maturation in shirbut (*Barbus grypus* Heckel, 1843). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(6): 548–552.
- Brzuska E. 2021.** Reproduction effectiveness of carp (*Cyprinus carpio* L.) from the Hungarian W breeding line after stimulating ovulation with spawning inducing agents of natural (CPH, hCG, PMSG) and/or synthetic origin (ovopel, dagin, ovaprim, mGnRH-a). *Aquaculture*, 532(1-2): 1–11 (736023). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736023
- Chakraborty R.D. and Murty D.S. 1972.** Life history of Indian major carps, *Cirrhinus mrigala* (HAM.), *Catla catla* (HAM.) and *Labeo rohita* (HAM.). *Journal of Inland Fish Society*, 6: 133–161.
- Dorafshan S., Mostafavi H. and Amiri B.M. 2003.** Induction of spawning in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract and GnRH analogue in combination with domperidone. *Iranian Journal of Biotechnology*, 1: 213–217.
- Drori S., Ofir M., Sivan B.L. and Yaron Z. 1994.** Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with methoclopramide: Analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119: 393–407. doi: 10.1016/0044-8486(94)90303-4
- FAO. 2022.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Italy. 266P. doi: 10.4060/cc0461en
- Haniffa M.A.K. and Sridhar S. 2002.** Induced spawning of spotted murrel (*Channa punctatus*) and catfish (*Heteropneustes fossilis*) using human chorionic gonadotropin and synthetic hormone (ovaprim). *Veterinarski Arhiv*, 72(1): 51–56.

- Heyrati F.P., Mostafavi H., Toloei H. and Dorafshan S. 2007.** Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala⁶, Pro⁹-Net) GnRHa combined with domperidone. *Aquaculture*, 265: 288–293. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.12.011
- Hill J.E., Kilgore K.H., Pouder D.B., Powell J.F.F., Watson C.A. and Yanong R.P.E. 2009.** Survey of ovaprim use as a spawning aid in ornamental fishes in the United States as administered through the University of Florida Tropical Aquaculture Laboratory. *North American Journal of Aquaculture*, 71(3): 206–209. doi: 10.1577/FA04-015.1
- Hosseinzadeh Sahafi H., Ahmadnezhad M. and Yelghi S. 2019.** A review of hormone used in aquaculture and a variety of hormonal administration methods in Iran. *Advanced Aquaculture Science Journal*, 3(1):17–34.
- Jhingran V.G. 1968.** Synopsis of biological data on *Catla catla* (Hamilton, 1822). *FAO Fisheries Synopsis*, No. 32. 88P.
- Jhingran V.G. and Khan H.A. 1979.** Synopsis of biological data on the mrigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). *FAO Fisheries Synopsis*, No. 120. 78P.
- Jhingran V.G. and Pullin R.S.V. 1985.** A Hatchery Manual for the Common, Chinese and Indian Major Carps. Asian Development Bank, Philippines. 171P.
- Khan R.A. 1972.** Studies on the biology of some important major carps. Thesis, Aligarh Muslim University, India. 185P.
- Kouril J., Mraz J., Hamackova J. and Barth T. 2008.** Hormonal induction of tench (*Tinca tinca* L.) ovulation with the same treatments over two consecutive reproductive seasons. *Cybium*, 32(2): 61.
- Kulikovskiy Z., Martin F.J.B. and Yaron Z. 1996.** A comparison of two spawning inducing agent for common carp. *Israel Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 48: 108–111. doi: 10.1016/0044-486(94)90303-4
- Leroy Creswell R. 2000.** *Aquaculture Desk Reference*. Florida Aqua Farm Inc, USA. 206P.
- Miah M.I., Harun M.S., Rahman M.M., Haque M.R. and Hossain M.A. 2009.** Study on the embryonic and larval development of an endangered species of bata (*Labeo bata*). *International Journal of Sustainable Crop Production*, 4(1): 72–82.
- Mohammadian T., Kochanian P., Nikou S., Sheikholeslami M., Bitra S., Eskandari G. and Abhari Segonbad H. 2009.** Comparison of the effects of GnRH hormone analog combined with antidopamine domperidone (Ova-

- fact) by the Linpe method, with common carp pituitary extract (CPE) on reproductive indices of *Barbus sharpeyi*. Iranian Veterinary Journal, 5(23): 70–80.
- Mohapatra B.C., Mahanta S.K., Sahu H., Majhi D. and Barik N.K. 2016.** Induced breeding of Indian major carps in FRP hatchery at farmer's field. International Journal of Applied Science, 3(5): 249–257.
- Mookerjee H.K. 1945.** Life history of some major carps of Bengal. Science Culture, 10(9): 400–402.
- More P.R., Bhandare R.Y., Shinde S.E., Pathan T.S. and Sonawane D.L. 2010.** Comparative study of synthetic hormones Ovaprim and carp pituitary extract used in Induced breeding of Indian major carps. Libyan Agriculture Research Center Journal International, 1: 288–295.
- Mortezavizadeh S.A., Moazedi J., Youneszadeh Feshalami M. and Jorfi E. 2011.** Determination of artificial propagation biotechnic of *Barbus xanthopterus*. Iranian Fisheries Science Research Institute, 19(4): 137–142. doi: 10.22092/ISFJ.2017.109967
- Mortezavizadeh S.A., Yooneszadeh Feshalami M. and Bosak Kahkesh F. 2010.** Effect of GnRHa (Ala6, des-Gly10 mGnRHa), LHRH-a (des-Gly10, [D-Ala6] LH-RH Ethylamid) and carp pituitary in artificial propagation of gattan, *Barbus xanthopetru* (Heckel, 1843). World Journal of Fish and Marine Sciences, 2(4): 280–284.
- Mylonas C.C. and Zohar Y. 2007.** Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10: 463–491. doi: 10.1023/A:1012279814708
- NACA. 1989.** Integrated Fish Farming in China. NACA Technical Manual 7. A World Food Day Publication of The Network of Aquaculture Centers in Asia and the Pacific, Thailand. 278P.
- Naeem M., Salam A., Diba F. and Saghir A. 2005.** Fecundity and induced spawning of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* by using a single intramuscular injection of ovaprim-C at fish hatchery Islamabad, Pakistan. Pakistan Journal of Biological Science, 8(8): 1126–1130. doi: 10.3923/pjbs.2005.1126.1130
- Nandeesh M.C., Das S.K., Nathaniel D.E. and Varghese T.J. 1990.** Breeding of carps with ovaprim in India. Indian Journal of Marine Sciences, 21(1): 87–87.
- Natarajan A.V. and Jhingran A.G. 1963.** On the biology of *Catla catla* (Ham.) from tile river Yamuna. Proceedings of the National Academy of Sciences, India (B), 29(3): 326–355.

- Pathak R.K., Gopesh A. and Dwivedi A.C. 2015.** Invasion Potential and Biology of *Cyprinus carpio* (Common Carp). LAP LAMBERT Academic Publishing, Germany. 192P.
- Peter R.E., Lin H.R. and Van Der Kraak G. 1988.** Induced ovulation and spawning in cultured fresh water fish in China: Advanced in application of GnRH analogue and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74: 1–10. doi: 10.1016/0044-8486(88)90080-4
- Podhorec P. and Kouril J. 2009.** Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: A review. *Veterinarni Medicina*, 54(3): 97–110. doi: 10.17221/50/2009-VETMED
- Rainis S. and Ballestrazzi R. 2005.** The control of reproduction in finfish species through GnRH treatments. *Italian Journal of Animal Science*, 4: 345–353. doi: 10.4081/ijas.2005.345
- Rokade P., Ganeshwade R.M. and Somwane S.A. 2006.** A comparative account on the induced breeding of major carp *Cirrhina mrigala* by pituitary extract and ovaprim. *Journal of Environmental Biology*, 27(2): 309–310.
- Sarkar U.K., Negi R.S., Deepak P.K., Singh S.P., Srivastava S.M. and Roy D. 2004.** Captive breeding of vulnerable Indian carp *Cirrhinus reba* with ovaprim for conservation of wild populations. *Aquaculture Asia*, 9: 5–7.
- Sehgal H.S. and Toor H.S. 1991.** Offspring fitness and fecundity of an Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham), in relation to egg size. *Aquaculture*, 97: 269–279. doi: 10.1016/0044-8486(91)90269-D
- Weil C., Fostier A. and Billard R. 1986.** Induced spawning (ovulation and spermiation) in carp and related species. P: 119–137. In: Billard R. and Marcel J. (Eds.). *Aquaculture of Cyprinids*. INRA, France. doi: 10.1016/0044-8486(94)90303-4
- Younesazadeh Feshalami M., Mortazavizadeh S.A. and Hosseinzadeh Sahafi H. 2024.** Breeding and reproduction biotechniques of Indian carp (*Catla catla*) with synthetic spawning-inducing hormone. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 12(3): 117–132. doi: 10.22124/japb.2024.26545.1526



Research Paper

The role of synthetic hormones in reproduction of Indian carp *Cirrhinus cirrhosus*

Mohammad Youneszadeh Feshalami^{1*}, Seyed Abdolsaheb Mortazevizadeh²

Received: February 2024

Accepted: March 2024

Abstract

Mrigal (*Cirrhinus cirrhosus*) is one of the three most important species of Indian carp in tropical fish breeding system in the world. In order to diversify the tropical fish aquaculture system, Indian carp species were imported to Iran in 2008. In order to compare the indicators, 40 brooder females with mean weight and total length of 3212.69 ± 5.31 grams and 635.38 ± 3.32 cm were investigated. The propagation temperature was recorded $28-28.5^\circ\text{C}$. The synthetic ovulation induction hormones OvaPAS (made in Iran) and Ovaprim and pituitary extract were used to stimulate spawning. Physiological serum was injected to the control group. The injection was done intra-muscularly and in one step. Reproduction indices were investigated in different groups. The results showed that the percentage of spawning success in mentioned groups was recorded as 100, 90 and 80%, respectively, and in the control group, the spawners did not respond to the injection. Latency period was calculated to be 6.5-8 hours long, which the shortest time was in the OvaPAS hormone group. Mrigal fish had non-adherent eggs. The number of eggs per gram and per mL, and the size of extracted eggs, fertilized eggs and the hatched eggs did not show significant difference between the groups. The average fertilization percentage was 91.2 ± 5.33 , egg hatching percentage was 80.66 ± 1.7 , and larval survival percentage was 70.81 ± 2.83 . The hatching time of larvae was 16 hours and 20 minutes after fertilization. The size of newly hatched larvae was 4.55 ± 0.06 mm. Reproduction data showed that OvaPAS hormone can be a good substitute for imported hormones such as ovaprim and pituitary extract. The results obtained in determining the breeding biotechnology of mrigal, can be used in the development of breeding and farming of this species and introducing it to the country's aquaculture system.

Key words: *Mrigal, Propagation, OvaPAS, Broodstock, Injection.*

1- Assistant Professor in South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ahvaz, Iran.

2- Scientific Member in South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ahvaz, Iran.

*Corresponding Author: m_yooneszadeh@yahoo.com