

مقاله پژوهشی

اثر اوپریم (Ovaprim™) امولسیون شده با روغن بر القای تولیدمثل و تکثیر  
مصنوعی مولدین ماده ماهی سیم (*Abramis brama*)

عرفان اکبری نرگسی<sup>۱</sup>، دانیال گروهی<sup>۲</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۳\*</sup>

تاریخ پذیرش: تیر ۹۸

تاریخ دریافت: دی ۹۷

چکیده

پژوهش حاضر به منظور تعیین اثر اوپریم امولسیون شده با روغن بادام تلخ بر القای تولیدمثل مولدین ماده ماهی سیم (*Abramis brama*) انجام گرفت، همچنین شاخص‌های اسپرم‌شناختی جنس نر این ماهی تعیین شد. مولدین تیمار اول (C)، دوم (OO) و سوم (OS) به ترتیب با ۱ میلی‌لیتر روغن بادام تلخ (شاهد)، ۱ میلی‌لیتر اوپریم به همراه روغن بادام (نسبت ۱ به ۱) و ۱ میلی‌لیتر مخلوط اوپریم و سرم فیزیولوژی (به نسبت ۱ به ۱) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند. در هر تیمار از ۱۰ قطعه مولد ماده (در محدوده وزنی ۹۳۴-۸۰۲ گرم) استفاده شد. همچنین ۲۶ قطعه مولد نر ماهی سیم در دو تکرار به صورت یک مرحله‌ای با مخلوط ۰/۶ میلی‌لیتر اوپریم و سرم فیزیولوژی (نسبت ۱ به ۲) به ازای هر کیلوگرم وزن مولدین تزریق شدند. بر اساس نتایج، بالاترین درصد پاسخ‌دهی در تیمار OS (۱۰۰ درصد) و پایین‌ترین آن در تیمار C (صفر درصد) مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). همچنین در میانگین مدت زمان رسیدگی مولدین تفاوت معنی‌داری بین تیمار OO ( $722/5 \pm 68/4$  درجه-ساعت) و OS ( $578/0 \pm 44/2$  درجه-ساعت) مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در میانگین وزن تخمک استحصالی نیز تفاوت قابل توجهی بین تیمار C (صفر گرم) و دو تیمار OO ( $52/4 \pm 34/6$  گرم) و OS ( $72/3 \pm 22/0$  گرم) به دست آمد ( $P < 0/05$ ). در هم‌آوری کاری، هم‌آوری نسبی، میانگین تعداد تخمک در گرم، درصد لقاح و مدت زمان تخم‌گذاری تفاوت معنی‌داری بین تیمار OO و OS مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). بر طبق مشاهدات، میانگین حجم اسپرم، میانگین فعالیت اسپرم، میانگین مدت زمان فعالیت اسپرم، میانگین اسپرماتوکریت و میانگین غلظت اسپرماتوزوئید ماهی سیم به ترتیب  $13/6 \pm 5/9$  میلی‌لیتر،  $56/7 \pm 12/1$  درصد،  $95/2 \pm 17/6$  ثانیه،  $30/0 \pm 8/8$  درصد و  $11/0 \pm 3/3 \times 10^9$  در میلی‌لیتر به دست آمد. با توجه به نتایج مناسب به دست آمده در پژوهش حاضر، توصیه می‌شود استفاده از اوپریم امولسیون شده با روغن برای القای تولیدمثل مولدین ماده ماهی سیم در مراکز تکثیر مدنظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اسپرم، تخم‌ریزی، هورمون القاکننده، سیم دریای خزر.

۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۳- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

۴- استاد گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

\* نویسنده مسئول: [falahatkar@guilan.ac.ir](mailto:falahatkar@guilan.ac.ir)

## مقدمه

۱۳۸۸؛ مورکی و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به اهمیت ذخایر این ماهی، از سال ۱۳۷۲ تکثیر نیمه طبیعی و رهاسازی ماهی سیم در زیستگاه طبیعی در مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت انجام می‌گیرد (حسین‌نیا و همکاران، ۱۳۹۵).

تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه القای تکثیر ماهی سیم با استفاده از انواع هورمون‌ها انجام شده است (دادرس و همکاران، ۱۳۸۸؛ کوهی لای و همکاران، ۱۳۸۹؛ Glubokov et al., 1991؛ Kucharczyk et al., 1997؛ Kucharczyk et al., 2005). با توجه به این مطالعات، مناسب‌ترین نتایج در تکثیر این ماهی هنگامی به دست می‌آید که به همراه هورمون مورد نظر از آنتاگونیست‌های دوپامین استفاده می‌شود و این امر در کپورماهیان دیگر نیز گزارش شده است (Dorafshan et al., 2003؛ Heyrati et al., 2007؛ Podhorec and Kouril, 2009؛ Cejko et al., 2014). در نتیجه، می‌توان اینگونه استنباط کرد که برای القای قابل قبول تخم‌ریزی در ماهی سیم استفاده از آنتاگونیست دوپامین به همراه هورمون مورد نظر ضروری است.

در آبی‌پروری برای دستیابی به اهداف مختلف مانند ایجاد گونه‌های تک جنس، تولید جمعیت‌های عقیم، تسریع بلوغ جنسی، افزایش سرعت رشد و القای تخم‌ریزی از هورمون‌ها استفاده می‌شود (کوهی لای و همکاران، ۱۳۸۹). با توجه به نقش کلیدی هورمون‌ها در القای تخم‌ریزی مولدین گونه‌های مختلف، بخش تکثیر از بخش‌هایی است که بیشترین استفاده از هورمون‌ها در آن صورت می‌گیرد (Zohar and Mylonas, 2001). در همین راستا نقش هورمون‌ها برای دستیابی به تکثیر موفق و همچنین تولید گامت‌های با کیفیت به ویژه در مولدین نگهداری شده در شرایط اسارت غیرقابل انکار است.

ماهی سیم (*Abramis brama*) از ماهیان ارزشمند دریای خزر است که به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) تعلق دارد. این ماهی از لحاظ بوم‌شناسی، زیست‌شناسی و اقتصادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مانند صید بی‌رویه، آلودگی زیست محیطی، تخریب زیستگاه اصلی ماهی در تالاب انزلی و پایین آمدن سطح آب طی چند دهه گذشته منجر به کاهش شدید ذخایر این ماهی در حوضه جنوبی دریای خزر شده است (دادرس و همکاران،

موارد این عمل در شرایط کارگاهی مطلوب نیست و سبب صرف زمان، به کارگیری نیروی کار و در نتیجه هزینه بیشتر می‌شود که علاوه بر ایجاد استرس بر روی ماهی، در بسیاری از موارد سبب کاهش بازدهی می‌شود. بر خلاف روش افزایش حجم هورمون با استفاده از سرم فیزیولوژی، استفاده از هورمون امولسیون شده به همراه انواع روغن‌ها به علت غلیظتر کردن هورمون سبب آهسته رهش شدن آن و افزایش مدت ماندگاری و روند جذب آن در بدن گونه مورد نظر می‌شود و در نتیجه موجب افزایش آزادسازی گنادوتروپین‌ها و افزایش سطوح در گردش LH (Luteinizing Hormone) در پلاسمای خون در دامنه زمانی طولانی‌تر خواهد شد (Mylonas et al., 2007; Shiraiishi et al., 2010; Mylonas et al., 2008). این امر سبب همزمانی رسیدگی تخمک‌ها در تخمدان و افزایش کیفیت تخمک‌های استحصالی در زمان تکثیر خواهد شد. در نتیجه، در بسیاری از موارد استفاده از این روش در شرایط کارگاهی مناسب‌تر خواهد بود.

با توجه به اهمیت گونه‌های بومی، به روز کردن اطلاعات در زمینه‌های مختلف از جمله تکثیر مصنوعی آن‌ها امری ضروری است. در همین راستا، در مطالعه حاضر به مقایسه اثر

اوپریم یکی از هورمون‌های تجاری است که در زمینه القای تولیدمثل در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این هورمون حاوی آنالوگ هورمون آزاد کننده گنادوتروپین ماهی آزاد (Salmon Gonadotropin Releasing Hormone: sGnRH) به مقدار ۲۰ میکروگرم و آنتی‌دوپامین دامپریدون به مقدار ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است که پس از تزریق به طور مستقیم بر روی غده هیپوفیز اثر می‌گذارد. این هورمون در بسیاری از گونه‌ها با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است (Jamroz et al., 2008; Karami et al., 2011; Zadmajid, 2016; Cejko et al., 2018).

به منظور انجام دقیق‌تر عمل تزریق هورمون در مولدین گونه‌های مختلف از روش‌های مرسوم، به حجم رسانیدن هورمون مورد نظر با سرم فیزیولوژی است. با این حال، این روش می‌تواند سبب رقیق‌تر شدن هورمون‌هایی با پایه روغن همچون اوپریم شده، زمان جذب هورمون در بدن مولدین را سرعت بخشد و در نتیجه سرعت رسیدگی نهایی و اوولاسیون را تسریع کند. در چنین شرایطی برای استحصال تخمک در زمان مناسب و جلوگیری از فوق رسیده شدن تخمک‌ها، بررسی مولدین در دامنه زمانی کوتاه‌تر الزامی است. در همین راستا، در بیشتر

به مرکز شهید انصاری به مدت سه سال در استخرهای خاکی این مرکز در شرایط طبیعی نگهداری شدند. لازم به ذکر است در طی این مدت مولدین با غذای پلت و غذای زنده موجود در استخر تغذیه شدند. به منظور انجام پژوهش، ابتدا مولدین از استخرهای خاکی مرکز مذکور به روش پره‌کشی صید و توسط خودرو دارای مخزن اکسیژن به مخازن فایبرگلاس ۱۰ تنی منتقل شدند. سپس مولدین دارای ظاهر سالم و محدوده وزنی یکسان جداسازی شدند. مولدین هر سه تیمار در مخازن فایبرگلاس ۲ تنی در شرایط یکسان با دبی آب ۳۰ لیتر در دقیقه و میانگین دمای  $16/7 \pm 0/6$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تعیین سن مولدین جمعا از ۱۲ مولد نمونه فلس گرفته شد و به وسیله لوپ (SZ40, Olympus, ژاپن) تعیین سن انجام گرفت (Treer et al., 2003). با توجه به مشاهدات، همگی مولدین در سن  $4^+$  قرار داشتند.

#### طراحی آزمایش و القای تولیدمثل مولدین

در تیمار اول (C)، ۱۰ مولد ماده سیم با میانگین وزن  $131/7 \pm 934/1$  گرم با ۱ میلی‌لیتر روغن بادام تلخ تجاری (Fadak Tanish، ایران) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند. در

القای تولیدمثل و تکثیر مصنوعی با استفاده از اوپریم به همراه سرم فیزیولوژی و اوپریم امولسیون شده با روغن بر عملکرد تکثیر ماهی سیم به عنوان یک گونه بومی دارای ارزش بوم‌شناختی و اقتصادی پرداخته شده است تا با بهینه‌سازی روش تکثیر در محیط‌های کنترل شده بتوان روند تولید و بازسازی ذخایر این ماهی را تسریع کرد. همچنین شاخص‌های اسپرم‌شناختی جنس نر ماهی سیم در این مطالعه در زمان تکثیر مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### تیمار بندی و شرایط نگهداری

این مطالعه در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۷ در مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری انجام گرفت. به منظور تعیین اثرگذاری اوپریم (Syndel، کانادا) بر مولدین ماده ماهی سیم (*Abramis brama*)، سه تیمار شاهد (C)، اوپریم+روغن (OO) و اوپریم+سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (OS) در نظر گرفته شد. در هر تیمار از ۱۰ ماهی مولد استفاده شد. مولدین مورد استفاده در تکثیر با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرمی از پشت سد دریاچه مخزنی مه‌آباد به روش پره‌کشی و نصب تور میکروفیلانمنت نامرئی صید و پس از انتقال

### بررسی شاخص‌های اسپرم‌شناختی

به منظور بررسی اسپرم و تعیین شاخص‌های اسپرم‌شناختی، تعداد ۱۰ قطعه مولد نر به صورت تصادفی صید شد (۵ مولد از هر تکرار) و پس از بیهوشی مولدین به وسیله عصاره پودر گل میخک، با فشار آرام به ناحیه شکمی عملیات اسپرم‌گیری انجام شد. در ادامه پس از اسپرم‌گیری از مولدین، شاخص‌های مربوطه شامل حجم اسپرم، مدت زمان و درصد فعالیت اسپرم، درصد اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. حجم اسپرم توسط سرنگ ۵ میلی لیتری تعیین شد. به منظور تعیین درصد و مدت زمان فعالیت اسپرم از میکروسکوپ نوری (Olympus، ژاپن) و کرنومتر استفاده شد. به این صورت که بلافاصله پس از اضافه کردن آب کارگاه به اسپرم (نسبت ۲ به ۱)، درصد تحرک با تخمین چشمی ارزیابی شد و مدت زمان فعالیت نیز تا زمانی که ۱۰۰ درصد اسپرماتوزوآها از حرکت ایستادند با کرنومتر ثبت شد (Alavi et al., 2010). برای تعیین اسپرماتوکریت لوله‌های میکرواسپرماتوکریت به میزان سه چهارم با اسپرم پر شدند و پس از مسدود کردن انتهای لوله‌ها با خمیر مخصوص، از دستگاه میکروسانتریفیوژ (Hawksley، انگلستان) برای

تیمار دوم (OO) ۱۰ مولد ماده سیم با میانگین وزن  $162/0 \pm 875/0$  گرم با ۱ میلی لیتر مخلوط اوپریم و روغن بادام (به نسب یکسان) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند. در تیمار سوم (OS) ۱۰ مولد ماده سیم با میانگین وزن  $211/5 \pm 802/0$  گرم با ۱ میلی لیتر مخلوط اوپریم و سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (به نسبت یکسان) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند. در تمامی تیمارها تزریق مولدین به صورت یک مرحله‌ای انجام شد. به منظور تزریق ابتدا مولدین با عصاره پودر گل میخک بیهوش شدند (غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر) و سپس تزریق در زیر باله شکمی به صورت داخل صفاقی با سرنگ ۲ میلی لیتری انجام گرفت.

پس از تزریق مولدین ماده، تعداد ۲۶ ماهی مولد نر سیم در دو تکرار (هر تکرار ۱۳ ماهی) به صورت یک مرحله‌ای با مخلوط ۰/۶ میلی لیتر اوپریم و سرم فیزیولوژی به ازای هر کیلوگرم وزن مولدین به نسبت ۱ به ۲ به صورت داخل صفاقی در زیر باله شکمی با سرنگ ۲ میلی لیتری تزریق شدند. دو تکرار مورد نظر در شرایط یکسان با دبی آب ۳۰ لیتر در دقیقه نگهداری شدند. میانگین وزن مولدین نر در تکرار اول  $124/3 \pm 744/3$  گرم و در تکرار دوم  $126/2 \pm 735/8$  گرم بود.

گرم، تعداد تخمک در گرم هر مولد با شمارش تعداد تخمک‌ها تعیین شد.

تخم‌کشی با فشار ملایم به ناحیه شکمی انجام گرفت و تخمک‌های استحصالی در تشتک‌های پلاستیکی خشک ریخته شدند. در هر مرحله تخمک‌های استحصالی از مولدین هر تیمار با هم مخلوط و از اسپرم ۲ مولد نر به ازای هر مولد ماده برای لقاح استفاده شد (۲ میلی‌لیتر اسپرم به ازای هر ۱۰۰ گرم تخمک). پس از اضافه شدن اسپرم به تخمک‌ها، به مدت ۳ دقیقه با مخلوط کردن ملایم اسپرم و تخمک، لقاح به شیوه خشک انجام گرفت (Biswas, 1993).

سپس به مدت ۵ دقیقه شست و شو با آب کارگاه انجام شد. به منظور رفع چسبندگی تخم‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با محلول لقاح ۱ (۱۰ لیتر آب کارگاه + ۳۰ گرم اوره + ۴۰ گرم نمک) و سپس ۴۵ دقیقه با محلول لقاح ۲ (۱۰ لیتر آب کارگاه + ۱۲۰ گرم اوره + ۴۰ گرم نمک) شست و شو شدند (Nowosad et al., 2013). در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو با آب کارگاه انجام گرفت و پس از آن تخم‌ها به مدت ۴۵ دقیقه برای جذب کامل آب بدون حرکت در آب کارگاه قرار داده شدند. پس از جذب آب، تخم‌ها به انکوباتور ویس (Weiss) منتقل (سه تکرار در هر مرحله) و تا زمان تخم‌گشایی در

جداسازی پلازما از اسپرم استفاده شد (۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰g)، سپس درصد اسپرماتوکریت توسط خط کش مخصوص تعیین شد. برای تعیین غلظت اسپرم از لام هماسیتومتر نئوبار و میکروسکوپ نوری استفاده شد. بدین منظور، اسپرم هر مولد به نسبت ۱ به ۱۰۰۰۰۰ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مخلوط و ۱۰ میکرولیتر از آن به لام هماسیتومتر اضافه شد شمارش با بزرگنمایی  $\times 400$  میکروسکوپ نوری انجام گرفت (Glogowski et al., 1999).

#### بررسی رسیدگی جنسی و عملیات تکثیر

پس از گذشت ۲۰ ساعت از انجام عملیات تزریق مولدین ماده، میزان آمادگی آن‌ها ابتدا هر ۳ ساعت یک‌بار و سپس هر ۱ ساعت یک‌بار (تا ۴۸ ساعت پس از تزریق) با بررسی نرمی شکم و بررسی منفذ تناسلی مورد سنجش قرار گرفت. در هر مرحله از بررسی، در صورت مشاهده مولد آماده برای تکثیر، مولد با عصاره پودر گل میخک بیهوش شد و پس از خشک کردن با حوله تمیز، عملیات تخم‌کشی به صورت دستی انجام گرفت. قبل از تخم‌کشی وزن هر مولد و میزان تخمک استحصالی ثبت شد. همچنین با توزین ۱ گرم از تخمک هر مولد با ترازوی دارای دقت ۰/۰۰۱

$N_o$ : تعداد تخمک استحصالی از هر مولد؛  $W_B$ : وزن مولد (کیلوگرم).

رابطه ۵:

$$F(\%) = (E_T / E_F) \times 100$$

$E_T$ : تعداد تخم‌های لقاح یافته؛  $E_F$ : تعداد کل تخم‌ها.

رابطه ۶:

$$IP(\text{degree-hour}) = T \times t$$

$T$ : میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)؛  $t$ : مدت زمان از لحظه لقاح تا تخم‌گشایی (ساعت).

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شده، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون

کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov)

(Smirnov) مورد بررسی قرار گرفت. سپس

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون

تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way

ANOVA) و پس‌آزمون دانکن (Duncan

Test) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت.

در مواردی که در تیمار شاهد داده‌ای برای آنالیز

موجود نبود، مقایسه میانگین‌های دو گروه دیگر

با استفاده از آزمون  $t$  مستقل (Independent-

Samples T Test) در سطح اطمینان ۹۵

درصد انجام گرفت. برای ارزیابی درصد

پاسخ‌دهی مولدین به تزریق نیز از آزمون مربع

کای (Chi Squared) استفاده شد. تمامی

شرایط کنترل شده نگهداری شدند. در مدت

نگهداری در انکوباتور، میزان دبی آب هر ویس

۱/۲ لیتر در دقیقه و میانگین دمای آب

$17.4 \pm 0.4$  درجه سانتی‌گراد بود. درصد

پاسخ‌دهی (OR) مولدین به تزریق، مدت زمان

رسیدگی مولدین (LT)، هم‌آوری کاری (تعداد

تخمک) ( $F_A$ )، هم‌آوری نسبی (تعداد تخمک به

ازای هر کیلوگرم وزن ماهی) ( $F_R$ )، درصد لقاح

(F) و مدت زمان تخم‌گشایی (IP) توسط

رابطه‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد (Kucharczyk

et al., 2005; Targonska et al., 2014).

رابطه ۱:

$$OR(\%) = (F_S / F_I) \times 100$$

$F_S$ : تعداد ماهی‌های تخم‌ریزی کرده؛  $F_I$ : تعداد

ماهی‌های تزریق شده.

رابطه ۲:

$$LT(\text{degree-hour}) = T \times t$$

$T$ : میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)؛  $t$ : مدت زمان از

لحظه تزریق تا تخم‌ریزی (ساعت).

رابطه ۳:

$$F_A = W_o \times N_o$$

$W_o$ : وزن تخمک استحصالی از هر مولد (گرم)؛  $N_o$ :

تعداد تخمک در هر گرم.

رابطه ۴:

$$F_R = N_o / W_B$$

آزمون‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (IBM Corporation، آمریکا) نسخه ۲۳ انجام گرفت. تمامی داده‌های درون متن به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

### نتایج

در جدول ۱ شاخص‌های تولیدمثلی مولدین ماده ماهی سیم ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، در درصد پاسخ‌دهی مولدین به تزریق تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و در جدول ۱ شاخص‌های تولیدمثلی مولدین ماده ماهی سیم ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، در درصد پاسخ‌دهی مولدین به تزریق تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های تولیدمثلی مولدین ماده ماهی سیم (*Abramis brama*) تکثیر شده به روش مصنوعی پس از القا با تیمارهای مختلف اوپریم (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

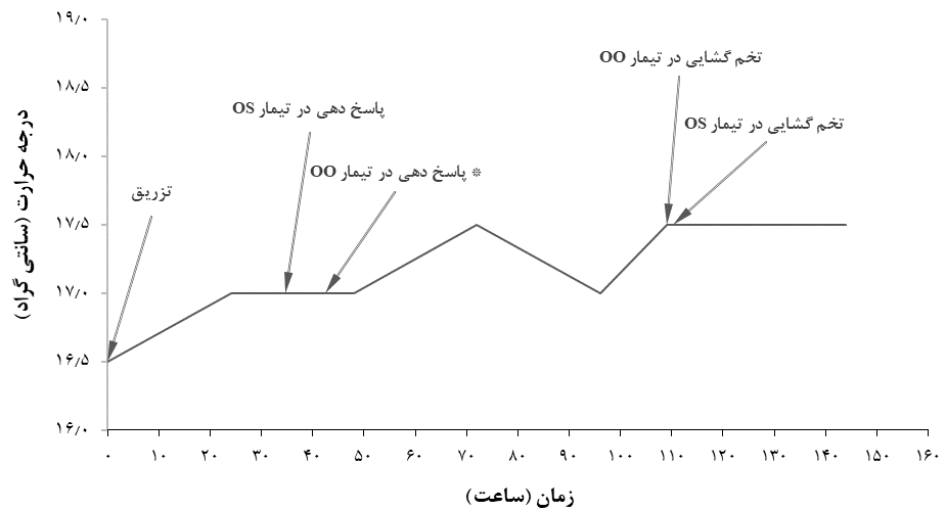
تیمارها		شاخص‌ها
اوپریم + روغن (OO) اوپریم + سرم فیزیولوژی (OS)	شاهد (C)	
۸۰۲/۲۱۱±۰/۵	۸۷۵/۱۶۲±۰/۰	وزن مولدین (گرم) ۹۳۴/۱۳۱±۱/۷
۴۲/۴±۷/۷	۴۳/۲±۹/۴	طول مولدین (سانتی‌متر) ۴۴/۲±۸/۰
۱۰۰ <sup>a</sup>	۹۰ <sup>b</sup>	درصد پاسخ‌دهی . <sup>c</sup>
۵۷۸/۴۴±۰/۲ <sup>b</sup>	۷۲۲/۶۸±۵/۴ <sup>a</sup>	مدت زمان رسیدگی (درجه-ساعت) -
۷۲/۲۲±۳/۰ <sup>a</sup>	۵۲/۳۴±۴/۶ <sup>a</sup>	وزن تخمک استحصالی به ازای هر مولد (گرم) . <sup>b</sup>
۹۰۱۹۵/۳۵۳۹۰±۱ <sup>a</sup>	۶۹۵۸۳/۴۷۷۶۴±۸ <sup>a</sup>	هم‌آوری کاری -
۱۰۳۸۸۵/۳۶۶۷۴±۹ <sup>a</sup>	۷۷۸۵۳/۵۴۸۵۰±۶ <sup>a</sup>	هم‌آوری نسبی -
۱۲۳۷/۸۳±۲/۵ <sup>a</sup>	۱۳۰۸/۷۶±۲/۸ <sup>a</sup>	تعداد تخمک در گرم -
۶۳/۴±۷/۲ <sup>a</sup>	۵۸/۵±۹/۶ <sup>a</sup>	درصد لقاح -
۱۸۹۶/۳۳±۰/۹ <sup>a</sup>	۱۸۷۶/۵۹±۰/۲ <sup>a</sup>	مدت زمان تخم‌گذاری (درجه-ساعت) -

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).



می‌دهد. بر طبق مشاهدات، میانگین حجم اسپرم ماهی سیم در مطالعه حاضر  $13/6 \pm 5/9$  میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. همچنین میانگین فعالیت اسپرم  $56/7 \pm 12/1$  درصد و میانگین مدت زمان فعالیت اسپرم  $95/2 \pm 17/6$  ثانیه بود. بر اساس نتایج به دست آمده میانگین اسپرماتوکریت  $30/0 \pm 8/8$  درصد و میانگین غلظت اسپرماتوزوئید  $11/0 \pm 3/3 \times 10^9$  در میلی‌لیتر به دست آمد.

در هم‌آوری کاری، هم‌آوری نسبی، میانگین تعداد تخمک در گرم، درصد لقاح و مدت زمان تخم‌گذاری تفاوت معنی‌داری بین تیمار OO و OS مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). مقایسه زمان پاسخ‌دهی و تخم‌گذاری پس از تزریق هورمون بر اساس درجه حرارت در مولدین دو تیمار OO و OS در شکل ۱ قابل مشاهده است. جدول ۲ نتایج مربوط به بررسی شاخص‌های اسپرم‌شناختی مولدین ماهی سیم را نشان



شکل ۱: زمان پاسخ‌دهی و تخم‌گذاری پس از تزریق در دو تیمار اوپریم+روغن (OO) و اوپریم+سرم فیزیولوژی (OS) بر اساس درجه حرارت در مولدین ماهی سیم (*Abramis brama*). علامت \* بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در زمان پاسخ‌دهی بین دو تیمار آزمایشی است.

جدول ۲: شاخص‌های اسپرم‌شناختی مولدین ماهی سیم (*Abramis brama*) پس از القا با اوپریم (n=۱۰)

شاخص‌ها	کمترین	بیشترین	میانگین	انحراف معیار
میانگین وزن (گرم)	۵۴۰	۱۰۰۰	۷۴۹/۰	۱۴۵/۹
حجم اسپرم (میلی‌لیتر)	۶/۰	۲۱/۵	۱۳/۶	۵/۹
فعالیت اسپرم (درصد)	۴۰	۷۰	۵۶/۷	۱۲/۱
مدت زمان فعالیت (ثانیه)	۶۹	۱۰۹	۹۵/۲	۱۷/۶
اسپرماتوکریت (درصد)	۱۸	۴۳	۳۰/۰	۸/۸
غلظت اسپرماتوزوئید ( $\times 10^6$ در میلی‌لیتر)	۶/۵	۱۴/۵	۱۱/۰	۳/۳

## بحث

همکاران (۱۹۹۱) اثر آنالوگ هورمون LHRH

(Luteinizing Hormone Releasing

Hormone) و آنتاگونیست‌های دوپامین را در

بلوغ جنسی ماهی سیم مورد بررسی قرار دادند

و مناسب‌ترین نتایج را در تیمار القا شده با ۵

میکروگرم LHRH به همراه ۵ میلی‌گرم

متوکلوپرامید به ازای هر کیلوگرم وزن مولدین

گزارش کردند. Kucharczyk و همکاران در

سال ۱۹۹۷ پس از القای مولدین ماهی سیم با

عصاره غده هیپوفیز ماهی کپور (CPE)، عصاره

غده هیپوفیز ماهی سیم (BP) و هورمون HCG

در تیمارهای مختلف، غلظت ۴ میلی‌گرم به ازای

هر کیلوگرم وزن بدن مولدین با CPE یا بدون

هورمون HCG را به منظور القای مولدین ماهی

سیم مناسب اعلام کردند. در مطالعه‌ای دیگر

Kucharczyk و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر

تیمار هورمونی CPE به همراه HCG و هورمون

در پژوهش حاضر، اثر اوپریم امولسیون شده

با روغن بادام و اوپریم به همراه سرم فیزیولوژی

بر القای تولیدمثل مولدین ماده ماهی سیم مورد

بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایج، تفاوت معنی

داری در درصد پاسخ‌دهی مولدین به تزریق،

هم‌آوری کاری، هم‌آوری نسبی، میانگین تعداد

تخمک در هر گرم و مدت زمان تخم‌گذاری دیده

نشد. با این حال، همان طور که قابل انتظار بود

در مدت زمان رسیدگی مولدین تفاوت قابل

توجهی مشاهده شد و مولدین القا شده با

هورمون امولسیون شده با روغن دیرتر از تیمار

القا شده با هورمون به همراه سرم فیزیولوژی

آماده تکثیر شدند که این موضوع می‌تواند در

شرایط کارگاهی مدنظر قرار گیرد. تاکنون

مطالعات مختلفی در زمینه القای تولیدمثل

ماهی سیم انجام گرفته است. Glubokov و

GnRHa به همراه آنتاگونیست دوپامین (Ovopel) را در القای تخم‌ریزی ماهی سیم بررسی کردند و طبق نتایج بهترین اثرات القا را در تیمار تزریق شده با Ovopel گزارش کردند. همان طور که نتایج این مطالعات نشان می‌دهند مناسب‌ترین نتایج در القای تولیدمثل مولدین ماده ماهی سیم هنگامی به دست آمد که به همراه هورمون مورد نظر از آنتاگونیست‌های دوپامین استفاده شد. در نتیجه هم راستای مطالعات ذکر شده در بررسی حاضر از تیمارهای مختلف اوپریم که دارای آنتی‌دوپامین دامپریدون است استفاده شد و نتایج مناسبی نیز به دست آمد. با توجه به نتایج، فقط در میانگین مدت زمان رسیدگی مولدین القا شده در دو تیمار OO و OS تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. این موضوع نشان می‌دهد که کیفیت تخم‌های استحصالی از مولدین هر دو تیمار کاملاً برای استفاده در تکثیر مصنوعی مناسب بود و استفاده از هر یک از دو روش القا در فصل تکثیر با توجه به شرایط مراکز تکثیر قابل اجرا است، به طوری که در مواقع فراهم بودن شرایط مناسب تکثیر و وجود نیروی کار کافی، استفاده از اوپریم به همراه سرم فیزیولوژی با توجه به پاسخ‌دهی سریع‌تر مولدین توصیه می‌شود و در مواردی که نیاز به کنترل و مدیریت زمان در فصل تکثیر

است (با توجه به این امر که تکثیر ماهی سیم در شرایطی انجام می‌گیرد که اوج فعالیت تکثیر و پرورش در مراکز بازسازی ذخایر در حال انجام است) استفاده از هورمون امولسیون شده با روغن می‌تواند مدنظر قرار گیرد.

با توجه به نتایج این بررسی، میانگین حجم اسپرم در ماهی سیم  $13/6 \pm 5/9$  میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. در بررسی‌های Kucharczyk و همکاران در سال‌های ۱۹۹۷ و ۲۰۰۵ میانگین حجم اسپرم در ماهی سیم به ترتیب ۳ و ۴/۴ میلی‌لیتر گزارش شد. در مطالعه Glogowski و همکاران (۱۹۹۹) بیشترین میانگین حجم اسپرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مولدین ماهی سیم  $3/4 \pm 0/5$  میلی‌لیتر مشاهده شد. Targonska و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیشترین میانگین حجم اسپرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مولدین این ماهی را  $3/7 \pm 0/4$  میلی‌لیتر عنوان کردند. بر طبق نتایج به دست آمده در بررسی حاضر، میانگین فعالیت اسپرم و میانگین مدت زمان فعالیت اسپرم در ماهی سیم به ترتیب  $56/7 \pm 12/1$  درصد و  $95/2 \pm 17/6$  ثانیه بود. در مطالعات دیگر نیز میانگین درصد فعالیت و مدت زمان فعالیت اسپرم به ترتیب ۵۹-۸۶ درصد (Kucharczyk et al., 1997;) و Glogowski et al., 1999; Kucharczyk et

مشاهده شد. به طوری که بیشترین حجم اسپرم استحصالی در ماهی سیم در مقایسه با بررسی‌های دیگر در این مطالعه مشاهده شد و از طرفی کاهش در غلظت اسپرم استحصالی نیز به وجود نیامد. در نتیجه می‌توان این گونه استنباط کرد که شرایط نگهداری، القای تولیدمثل و نمونه‌برداری مولدین در این مطالعه مناسب بود و ماهی‌ها شرایط بهتری داشتند. نتایج این مطالعه، اطلاعات مناسبی را در زمینه شاخص‌های اسپرم‌شناختی ماهی سیم در اختیار پژوهشگران قرار می‌دهد. در پژوهش‌های آتی، بررسی خصوصیات کمی و کیفی اسپرم و تاثیر آن‌ها بر شاخص‌های تولیدمثلی این ماهی می‌تواند مدنظر قرار گیرد. در زمینه القا و تکثیر مصنوعی ماهی سیم با اوپریم امولسیون شده با روغن و اوپریم به همراه سرم فیزیولوژی نیز تفاوت در میانگین مدت زمان رسیدگی مولدین، تنها تفاوت مشاهده شده بین دو تیمار آزمایشی بود که این تفاوت می‌تواند در مراکز تکثیر ماهی سیم نقش به‌سزایی در پیشبرد اهداف مدیریتی داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پرسنل مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی

(al., 2005; Targonska et al., 2014 و ۵۶ ثانیه (زادمجید و ایمان‌پور، ۱۳۸۶) گزارش شد. بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر در ماهی سیم میانگین اسپرماتوکریت  $30/0 \pm 8/8$  درصد و میانگین غلظت اسپرماتوزوئید  $11/0 \pm 3/3 \times 10^9$  در میلی‌لیتر بود. در همین راستا، Glogowski و همکاران (۱۹۹۹) میانگین غلظت اسپرماتوزوئید در ماهی سیم را  $11/7 \pm 4/3 \times 10^9$  در میلی‌لیتر گزارش کردند. همچنین در بررسی Kucharczyk و همکاران (۲۰۰۵)، بیشترین غلظت اسپرماتوزوئید در مولدین ماهی سیم  $10/2 \pm 1/4 \times 10^9$  میلی‌لیتر گزارش شد. در مطالعه زادمجید و ایمان‌پور (۱۳۸۶) نیز میانگین اسپرماتوکریت در این ماهی  $35/3 \pm 8/1$  درصد گزارش شد. با توجه به موارد فوق، برخی تفاوت‌ها در شاخص‌های اسپرم‌شناختی در مطالعات مختلف می‌تواند به علت تفاوت‌های دمایی، شرایط نگهداری، اثر تیمارهای مختلف آزمایشی، تفاوت در زمان و نوع نمونه‌برداری، سن و مرحله رسیدگی مولدین و همچنین استفاده از تیمارهای هورمونی مختلف باشد. همان‌طور که نتایج نشان داد در بسیاری از شاخص‌های اسپرم‌شناختی در مقایسه با مطالعات دیگر در این پژوهش نتایج مناسب‌تری

شهید انصاری و سایر دوستانی که ما را در  
پیشبرد اهداف در این پژوهش یاری نمودند  
قدردانی می‌گردد.

## منابع

- حسین‌نیا ز.، شعبانی ع. و کلنگی میاندره ح. ۱۳۹۵. بررسی تنوع ژنتیکی ماهی سیم دریای خزر ( *Abramis brama orientalis*; Berg, ) در سواحل چمخاله و بندرانزلی استان گیلان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. نشریه محیط زیست جانوری، ۸(۲): ۱۱۹-۱۲۴.
- دادرس س.، زمینی ع.ع.، خارا ح.، قناعت‌پرست ا. و درویشی ص. ۱۳۸۸. مقایسه اثر تیمارهای هیپوفیزی با HCG و متوکلوپرامید در کارایی تکثیر مصنوعی ماهیان مولد سیم ( *Abramis brama orientalis* ) (Berg 1905). مجله شیلات، ۳(۳): ۵۷-۶۴.
- زادمجید و. و ایمان‌پور م.ر. ۱۳۸۶. ارتباط بین برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی در منی ماهی سیم ( *Abramis* carp pituitary homogenate (CPH) and sGnRHa (Ovaprim) on northern pike (*Esox lucius*) spermiation stimulation and its effect on quantity and quality of sperm. Animal Reproduction Science, 193: 217-225.
- Cejko B.I., Zarski D., Judycka S., Kucharczyk D., Sarosiek B. and Kowalski R.K. 2014. Effect of two commercial preparations containing different GnRH analogues with dopamine antagonists on barbel *Barbus barbus* (L.) sperm quantity and
- brama*). مجله علوم فنون دریایی، ۶(۲): ۵۷-۶۳.
- کوهی لای س.، عریان ش. و حسین‌زاده صحافی ه. ۱۳۸۹. بررسی تعیین بهترین دوز تزریقی هورمون LHRHa2 و ترکیبات متوکلوپرامید و کلرپرومازین از طریق سنجش GTH II در ماهی سیم ماده *Abramis brama orientalis* (Berg, 1905). نشریه شیلات (منابع طبیعی ایران)، ۶۳(۱): ۳۷-۲۹.
- مورکی ن.، اخوان س.ع. و مظهر س.ف. ۱۳۹۳. بررسی اثر مهاری ( *Staphylococcus equorum* ) بر رشد ( *Aeromonas dhakensis* ) جداشده از روده ماهی سیم دریای خزر ( *Abramis brama orientalis* ) در شرایط آزمایشگاهی. نشریه زیست‌شناسی دریا، ۶(۲۲): ۲۴-۹.
- Alavi S., Rodina M., Hatf A., Stejskal V., Policar T., Hamackova J. and Linhart O. 2010. Sperm motility and monthly variations of semen characteristics in *Perca fluviatilis* (Teleostei: Percidae). Czech Journal of Animal Science, 55(4): 174-182.
- Biswas S. 1993. Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Publishers, New Dehli. 190P.
- Cejko B.I., Krejszef S., Zarski D., Judycka S., Targonska K. and Kucharczyk D. 2018. Effect of

- quality. *Aquaculture International*, 22(1): 97–109.
- Dorafshan S., Mostafavi H. and Mojazi A.B. 2003.** Induction of spawning in common carp *Cyprinus carpio*, using pituitary extract and GnRH analogue in combination with Domperidone. *Iranian Journal of Biotechnology*, 1(4): 213–217.
- Glogowski J., Babiak I., Kucharczyk D., Luczynski M. and Piros B. 1999.** Some properties of bream *Abramis brama* L. sperm and its cryopreservation. *Aquaculture Research*, 30(10): 765–772.
- Glubokov A., Motloch N. and Sedova M. 1991.** Effect of a synthetic LHRH analogue and dopamine antagonists on the maturation of bream, *Abramis brama*. *Aquaculture*, 95(4): 373–377.
- Heyrati F.P., Mostafavi H., Toloee H. and Dorafshan S. 2007.** Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala6, Pro9-NEt) GnRH $\alpha$  combined with domperidone. *Aquaculture*, 265(4): 288–293.
- Jamroz M., Kucharczyk D., Hakuc-Blazowska A., Krejszeff S., Kujawa R., Kupren K., Kwiatkowski M., Targonska K., Zarski D., Cejko B. and Glogowski J. 2008.** Comparing the effectiveness of Ovopel, Ovaprim, and LH-RH analogue used in the controlled reproduction of ide, *Leuciscus idus* (L.). *Archives of Polish Fisheries*, 16: 363–370.
- Karami A., Christianus A., Zokaeifar H., Saad K.Z., Imraan F.T., Shakibazadeh S., Negarestan H. and Courtenay S.C. 2011.** Ovaprim treatment promotes oocyte development and milt fertilization rate in diploid and triploid African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture International*, 19: 1025–1034.
- Kucharczyk D., Kujawa R., Luczynski M., Glogowski J., Babiak I. and Wyszomirska E. 1997.** Induced spawning in bream, *Abramis brama* (L.), using carp and bream pituitary extract and hCG. *Aquaculture Research*, 28(2): 139–144.
- Kucharczyk D., Kujawa R., Mamcarz A., Targonska K., Wyszomirska E., Glogowski J. and Szabo T. 2005.** Induced spawning in bream (*Abramis brama* L.) using pellets containing GnRH. *Czech Journal of Animal Science*, 50(3): 89–95.
- Mylonas C., Bridges C., Gordin H., Rios A., Garcia A., De La Gandara F., Fauvel C., Suquet M., Medina A., Papadaki M. and Heinisch G. 2007.** Preparation and administration of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH $\alpha$ ) implants for the artificial

- control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science*, 15(3): 183–210.
- Mylonas C., Fostier A. and Zanuy S. 2010.** Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3): 516–534.
- Nowosad J., Kucharczyk D., Bilas M., Palinska-Zarska K. and Krejszef S. 2013.** Optimization of feeding rate of juvenile common carp, (*Cyprinus carpio* L.), during short intensive rearing under controlled conditions. *Experiment Journal*, 15(2): 1056–1063.
- 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.
- Shiraishi T., Ketkar S.D., Kitano H., Nyuji M., Yamaguchi A. and Matsuyama M. 2008.** Time course of final oocyte maturation and ovulation in chub mackerel *Scomber japonicus* induced by hCG and GnRH $\alpha$ . *Fisheries Science*, 74(4): 764–769.
- Targonska K., Kupren K., Palinska-zarska K., Mamcarz A., Kujawa R., Skrzypczak A. and Kucharczyk D. 2014.** Influence of temperature during four following spawning seasons on the spawning effectiveness of common bream, *Abramis brama* (L.) under natural and controlled conditions. *Journal of Thermal Biology*, 39: 17–23.
- Treer T., Opacak A., Anicic I., Safner R., Piria M. and Odak T. 2003.** Growth of bream, *Abramis brama*, in the Croatian section of the Danube. *Czech Journal of Animal Science*, 48: 251–256.
- Zadmajid V. 2016.** Comparative effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and Ovaprim<sup>TM</sup> (sGnRH $\alpha$ + domperidone) on the reproductive characteristics of wild-caught male Longspine scraper, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *Aquaculture*, 463: 7–15.
- Zohar Y. and Mylonas C. 2001.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: From hormones to genes. P: 99–136. In: Donaldson E.M. and Lee C.S. (Eds.). *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. Elsevier, Netherlands.





Research Paper

**The effect of oil-emulsified Ovaprim™ on spawning induction and artificial reproduction of bream (*Abramis brama*) female broodstock**

Erfan Akbari Nargesi<sup>1</sup>, Danial Gorouhi<sup>2</sup>, Bahram Falahatkar<sup>3,4\*</sup>

Received: January 2019

Accepted: July 2019

**Abstract**

The present study was carried out to determine the effect of emulsified Ovaprim™ with almond oil on spawning induction of *Abramis brama*, as well as, the spermatological parameters of males. In the first (C), second (OO) and third (OS) treatments, females were injected with 1mL.kg<sup>-1</sup> body weight (BW) of bitter almond oil, 1mL.kg<sup>-1</sup> BW Ovaprim™ with almond oil (1:1) and 1mL.kg<sup>-1</sup> BW Ovaprim™ with 0.9% NaCl solution (1:1), respectively. In each treatment, 10 females (weight range between 802 to 934g) were injected. Moreover, 26 males were injected in two replicates with 0.6mL.kg<sup>-1</sup> BW by Ovaprim™ with 0.9% NaCl solution (1:2). Based on the results, the highest ovulation rate was observed in OS treatment (100%) and the lowest ovulation rate was observed in control group (0%) (P<0.05). Moreover, there was a significant difference between OO (722.5±68.4 degree-hour) and OS (578.0±44.2 degree-hour) treatments in latency time (P<0.05). The significant difference was observed between control group (0g) and OO (52.4±34.6g) and OS (72.3±0.2g) treatments in average weight of obtained eggs (P<0.05). The significant differences were not found between OO and OS treatments in absolute fecundity, relative fecundity, the average number of eggs per gram, fertilization rate, and incubation period (P>0.05). Based on the results of this study, the mean of sperm volume, sperm activity, motility time, spermatocrit value, and spermatozoa concentration of *Abramis brama* were 13.6±5.9mL, 56.7±12.1%, 95.2±17.6s, 30.0±8.8%, 11.0±3.3×10<sup>9</sup>mL<sup>-1</sup>, respectively. According to the results, it is recommended that the emulsified Ovaprim™ with oil can be used to induce spawning of bream in hatcheries.

**Key words:** Sperm, Spawning, Inducing Hormone, Caspian Sea Bream.

1- Ph.D. Student in Fisheries, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

2- M.Sc. Student in Fisheries, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

3- Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

4- Professor in Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran.

\*Corresponding Author: [falahatkar@guilan.ac.ir](mailto:falahatkar@guilan.ac.ir)

