

بررسی مقایسه‌ای اثر هورمون‌های اوآپاس (Ovapas) و اوالین (Ovulin) بر
کارایی تکثیر و برخی شاخص‌های خونی و هورمونی ماهی ماده کپور دریای خزر
(*Cyprinus carpio* var. Sazan)

محمدحسن کریمی^۱، مجید محمدنژاد^{۲*}

DOI: 10.22124/japb.2023.23455.1488

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۱

چکیده

در این بررسی کارایی تکثیر و برخی از شاخص‌های خونی و هورمون‌های جنسی ماهی ماده کپور دریای خزر در اثر تزریق هورمون‌های اوآپاس و اوالین مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور ۲۴ قطعه ماهی مولد نر و ماده مورد تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم از هورمون‌های اوآپاس و اوالین طی تزریق‌های یک مرحله‌ای و دو مرحله‌ای قرار گرفتند. نتایج نشان داد با تزریق هورمون‌های اوالین و اوآپاس بیشترین درصد لقاح، تخم‌گشایی و بازماندگی لارو در تزریق دو مرحله‌ای اوآپاس و کمترین آنها در تزریق یک مرحله‌ای اوآپاس بود ($P < 0/05$). تزریق هورمون‌ها بر گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین و هماتوکریت و لنفوسیت مولدین ماده تأثیری نداشت ($P > 0/05$)، اما تعداد نوتروفیل‌ها در تزریق دو مرحله‌ای اوآپاس در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0/05$). همچنین میزان گلوکز و کورتیزول سرم در تمام تیمارها در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش یافت ($P < 0/05$). به طوری که بیشترین افزایش کورتیزول در تزریق دو مرحله‌ای اوالین و کمترین افزایش در تزریق دو مرحله‌ای اوآپاس بود. اما تأثیری بر کلسیم، سدیم و پروتئین کل مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان هورمون‌های جنسی استرادیول، پروژسترون و تستوسترون در هر چهار تیمار پس از تزریق هورمون‌ها افزایش یافت ($P < 0/05$). به طوری که میزان استرادیول در تزریق یک مرحله‌ای اوالین و میزان پروژسترون و تستوسترون در تزریق دو مرحله‌ای اوآپاس بیشتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$). نتایج این بررسی نشان داد که تزریق دو مرحله‌ای اوآپاس باعث بهبود عملکرد تکثیر در ماهی ماده کپور دریای خزر می‌شود.

واژگان کلیدی: اوالین، اوآپاس، تکثیر، خون، ماهی کپور دریای خزر.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، واحد بندرگز، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرگز، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، واحد بندرگز، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرگز، ایران.

* نویسنده مسئول: majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir

مقدمه

بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی در غدد جنسی عمل می‌کنند (Mananos et al., 2008). تحریک رسیدگی نهایی اووسیت در ماهیان به وسیله شاخص‌های هیپوتالاموسی نشان داد که به کارگیری یک آنتی‌دوپامین با هورمون‌های القا کننده باعث بالا رفتن کیفیت تخم، موفقیت تخم‌ریزی، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی لارو می‌شود (Beirao et al., 2019). تاثیر هورمون‌های گنادوتروپینی بر فرآیند گامت‌زایی و تولیدمثل در ماهیان استخوانی از طریق هورمون‌های استروئیدی صورت می‌گیرد. بررسی روند تغییرات استروئیدهای جنسی در مراحل مختلف تکامل از جمله شاخص‌های مناسب برای تعیین الگوی تولیدمثل در ماهیان است (Barannikova et al., 2005). با استفاده از هورمون‌های مصنوعی، مقادیر ثابتی از هورمون به مولدین عرضه می‌شود. با توجه به پیشرفت‌هایی که در امر القای تولیدمثل در آبزیان صورت گرفته است، تعدادی هورمون مصنوعی نیز عرضه شده است که پاسخ مناسبی را در القای تولیدمثل در ماهیان داشته‌اند (Mohammadnejad et al., 2022).

استفاده از روش‌های غیرسنتی برای افزایش بازده تولیدمثل موجودات، مدتی است که مورد توجه دانشمندان مختلف قرار گرفته است (Shourbela et al., 2020). تکثیر مصنوعی ماهیان، حلقه اول زنجیره تکثیر و پرورش مصنوعی ماهیان بوده و از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. لازمه تکثیر مصنوعی کاربرد مواد مناسب از جمله هورمون‌های مناسب برای تحقق رسیدگی نهایی، تخم‌گذاری و تخم‌ریزی است (Fu et al., 2019). رسیدگی نهایی و تخم‌گذاری فرآیندی فیزیولوژیکی است که به موجب آن سیستم تولیدمثلی توانایی خود را برای تولید گامت‌های بارور تقویت می‌کند. بیداری سیستم تولیدمثلی در رسیدگی نهایی و تخم‌گذاری با تغییرات تکاملی که در سیستم عصبی مرکزی رخ می‌دهد شروع می‌شود و نتیجه آن ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) است. با ترشح GnRH از هیپوتالاموس، محور هیپوفیز- گناد که نقش مهمی را در تنظیم گامت‌زایی دارد، فعال می‌شود و غده هیپوفیز، گنادوتروپین را آزاد می‌کند. گنادوتروپین هورمونی است که گامت‌زایی را تنظیم می‌کند. اما گنادوتروپین‌ها به طور مستقیم عمل نکرده بلکه با القای

برای القای رسیدگی نهایی، تخمک‌گذاری و تکثیر مصنوعی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. اوالین یک عامل القا کننده ساختگی جدید است که به لحاظ تجاری عرضه شده و به شکل آماده توسط شرکت داروسازی Ningbo Sansheng چین تولید می‌شود. این هورمون حاوی آنالوگ دامپریدون (Domperidone، ترکیب مهار کننده دوپامین) و S-GnRH است (Maradun et al., 2018). القای موفقیت‌آمیز هورمون اوالین در القای تکثیر و ایجاد ماهیانی با درصد بازماندگی بالا در گربه‌ماهی *Clarias gariepinus* توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است (Ayoola et al., 2012; Ukwe and Abu, 2016; Mamndeyati et al., 2018; Maradun et al., 2019). ضمن این که در داخل کشور نیز مطالعاتی درباره تعیین بهترین غلظت تزریق هورمون اوالین در تکثیر مصنوعی ماهی ماده کپور دریای خزر با بررسی برخی از شاخص‌های خونی و هورمون‌های استروئیدی توسط Mohammadnejad (۲۰۲۲ الف) و تاثیر هورمون اوالین بر برخی از شاخص‌های خون‌شناختی، بیوشیمیایی، هورمونی سرم خون و شاخص‌های اسپرم‌شناختی مولدین نر ماهی کپور دریای خزر توسط Mohammadnejad و

ماهی کپور دریای خزر (*Cyprinus carpio* var. Sazan) یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های آبی اقتصادی دریای خزر است. این گونه جزء گونه‌های شاخص و منحصر به فرد دریای خزر به شمار می‌رود که به دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیست‌گاه‌ها و مناطق تخم‌ریزی، در معرض خطر انقراض قرار گرفته و بقای نسل این گونه دچار تهدید جدی شده است (Mohammadnejad, 2022a). از این رو، بازسازی ذخایر آن به روش‌های مختلف تکثیر مصنوعی امری ضروری و اجتناب ناپذیر است. به همین دلیل سازمان شیلات ایران اقدام به تکثیر و بازسازی ذخایر این ماهی با روش‌های مختلف تکثیر مصنوعی و نیمه مصنوعی در مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی در استان‌های شمالی کشور و از جمله مرکز بازسازی ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی سیجوال در بندر ترکمن استان گلستان کرده است. در این مرکز در طی سالیان گذشته از هورمون‌های متفاوتی از جمله هیپوفیز، اوپریم، اواریم و اوالین برای تکثیر ماهی کپور دریای خزر استفاده شده است. در حال حاضر و طی چند سال گذشته نیز کارشناسان تکثیر مرکز بیشتر از هورمون اوالین استفاده کرده‌اند. هورمون اوالین یکی از هورمون‌هایی است که

استخوانی مرکز سیجوال در بندرترکمن استان گلستان انجام پذیرفت. برای انجام این پژوهش از مولدین نر و ماده ماهی کپور دریای خزر (*Cyprinus carpio var. Sazan*) نگهداری شده در استخرهای پرورشی خود کارگاه استفاده شد. بدین منظور تعداد ۲۴ قطعه ماهی مولد نر و ماده از استخرهای پرورشی صید و به سالن تکثیر مرکز منتقل شدند. پس از انتقال ماهیان مولد به سالن تکثیر، برای کاهش استرس، ماهیان مورد نظر یک تا دو هفته در داخل وانهای پرورشی نگهداری شدند. در ادامه زیست‌سنجی ماهیان انجام و وزن و طول ماهیان اندازه‌گیری و ثبت شد و سن ماهیان نیز تعیین شد. میانگین وزن، طول و سن ماهیان مورد بررسی به ترتیب برابر $۱۱۸۴/۳۸ \pm ۱۸۵/۵۸$ گرم، $۴۶/۲۵ \pm ۱/۳۹$ سانتی‌متر و $۴/۸۷ \pm ۰/۲۹$ سال بود (جدول ۱).

میزان شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب مانند دما، اکسیژن و pH نیز به وسیله دستگاه‌های مخصوص اندازه‌گیری و ثبت شد. میانگین دما، pH و اکسیژن آب مورد استفاده برای تکثیر به ترتیب برابر با $۲۰/۶۳ \pm ۰/۱۸$ سانتی‌گراد، $۷/۹ \pm ۰/۲$ و $۶/۱ \pm ۰/۳$ میلی‌گرم در لیتر بود.

همکاران (۲۰۲۲) انجام پذیرفت. از طرف دیگر اخیراً در کشور هورمونی به نام اوپاس (Ovapas) که یکی از هورمون‌های مصنوعی است و منحصرأ توسط شرکت دانش بنیان پروتئین آرایه سامان (پاس) ایران تولید می‌شود، نیز برای تکثیر ماهی کپور معرفی شده است. این هورمون حاوی آنالوگ رها کننده گنادوتروپین (GnRHa) و دامپریدون است. GnRH موجود در این محصول موجب ترشح گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز ماهی می‌شود. هم‌زمان مهارکننده دوپامین (دامپریدون) موجب از بین رفتن اثرات مهاری بر رهایش GnRH می‌شود. از آنجایی که این هورمون توسط یک شرکت دانش‌بنیان در کشور تولید می‌شود و به منظور حمایت از این شرکت‌ها، در این مطالعه به مقایسه عملکرد این هورمون با هورمون اوالین ساخت کشور چین بر کارایی تکثیر و برخی شاخص‌های خونی و هورمون‌های جنسی ماهی کپور دریای خزر پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این مطالعه در بهار سال ۱۴۰۱ در کارگاه تکثیر و بازسازی ذخایر ژنتیکی ماهیان

جدول ۱: مشخصات کپور ماهیان ماده در تیمارهای مختلف در شروع آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	میانگین کل
وزن (کیلوگرم)	۱۱۷۷/۵۰ \pm ۱۸۲/۵۰ ^{ab}	۵۱۰/۰۰ \pm ۴۱۰/۰۰ ^b	۱۷۰۰/۰۰ \pm ۱۲۰/۰۰ ^a	۱۳۵۰/۰۰ \pm ۲۰/۰۰ ^{ab}	۱۱۸۴/۳۸ \pm ۱۸۵/۵۸
طول (سانتی متر)	۴۳/۵۰ \pm ۱/۵۰	۴۳/۰۰ \pm ۰/۰۰	۴۹ \pm ۴/۲۴	۴۹/۵۰ \pm ۳/۵۳	۴۶/۲۵ \pm ۱/۳۹
سن (سال)	۴/۵۰ \pm ۰/۵۰	۴/۰۰ \pm ۰/۰۰	۶ \pm ۰/۰۰	۵/۰۰ \pm ۰/۰۰	۴/۸۷ \pm ۰/۲۹

حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

تزریق هورمون

هورمون اوپاس نیز توسط شرکت سازنده مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی ماده بود. طبق دستور العمل شرکت سازنده در شرایط طبیعی معمولاً یک یا دو بار تزریق این هورمون برای رسیدگی تخمک‌ها کافی است. به این ترتیب که مولدین با وزن بالای ۴ کیلوگرم نیاز به دو نوبت تزریق (تزریق اول ۱۰ درصد و تزریق دوم ۹۰ درصد از میزان غلظت تزریق) با فاصله حدود ۱۰ ساعت داشتند و در بیشتر مولدین کمتر از ۴ کیلوگرم معمولاً یک نوبت تزریق کافی بود. از این رو، در این مطالعه تزریق‌های یک مرحله‌ای و دو مرحله‌ای با میزان غلظت ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن ماهی از هورمون‌های اوپاس و اوالین به روش تزریق زیر باله سینه‌ای در مولدین ماهی کپور دریای خزر مطابق جدول ۲ مورد بررسی قرار گرفت.

عملیات هورمون‌تراپی و تکثیر به وسیله تزریق هورمون‌های اوپاس (پاس، ایران) و اوالین (Ningbo Sansheng، چین) انجام پذیرفت. هورمون‌های مورد استفاده در این پژوهش به صورت تجاری و از طریق شرکت‌های خصوصی خریداری شد و مورد استفاده قرار گرفت. قبل از انجام عملیات تکثیر و انجام تزریق هورمون و خون‌گیری ابتدا ماهیان مولد به وسیله پودر گل میخک (۲ گرم در ۱۰ لیتر آب) بیهوش شدند (Coyle et al., 2004). سپس آماده سازی هورمون‌های مورد استفاده انجام و تزریق صورت پذیرفت. برای هورمون اوالین طبق توصیه شرکت سازنده، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ماهی ماده و نصف این مقدار در ماهی نر تزریق شد (Maradun et al., 2018). همچنین غلظت پیشنهادی

جدول ۲: تیمارهای به کار رفته در مطالعه حاضر

تیمار	مشخصات
تیمار ۱	تزریق یک مرحله‌ای هورمون اوپاس به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماده
تیمار ۲	تزریق دو مرحله‌ای هورمون اوپاس به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماده
تیمار ۳	تزریق یک مرحله‌ای هورمون اوآلین به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماده
تیمار ۴	تزریق دو مرحله‌ای هورمون اوآلین به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ماده (روش مورد استفاده در مرکز سیجوال)

درون وان‌های پرورشی صید و خشک شدند و استخراج تخم‌ها به روش مالشی و از طریق فشار بر داخل شکم و خروج تخم‌ها از طریق منفذ تناسلی انجام شد. تخمک‌های استخراج شده وزن و به داخل تشت‌های مخصوص لقاح ریخته شدند. در ادامه اسپرم ماهیان نر نیز به همین روش استخراج و به تخمک‌ها اضافه شدند. روش لقاح خشک بود و از پر قو برای هم زدن و لقاح تخمک و اسپرم استفاده شد. همچنین برای از بین بردن چسبندگی تخم‌ها از محلول لقاح یا کاربامید نیز استفاده شد. تخم‌های لقاح یافته به داخل انکوباتورهای زوج انتقال یافتند و تا زمان تخم‌گشایی در داخل آنها نگهداری شدند.

شاخص‌های کارایی تکثیر شامل تعداد تخم، درصد لقاح (F)، درصد تخم‌گشایی (H) و درصد بازماندگی لارو (SR) از رابطه‌های ۱ تا ۳ محاسبه شدند (Biswas, 1993; Horvath et al., 2015).

پس از تزریق هورمون با انگشت شست کمی ناحیه تزریق ماساژ داده شد تا هورمون تزریق شده در زیر باله یکنواخت پخش شود. فاصله زمانی تزریق اول و دوم ۱۲ ساعت و در روش تزریق یک مرحله‌ای هم‌زمان با تزریق دوم ماهیان بود. ماهیان مولد نر نیز با میزان ۰/۲۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم وزن بدن یک مرحله و هم‌زمان با تزریق دوم ماهیان ماده از هر هورمون تزریق شدند. تعداد ماهیان مورد استفاده در هر تیمار ۳ عدد ماهی نر و ۳ عدد ماهی ماده بود.

عملیات تکثیر

پس از پایان مراحل هورمون‌تراپی و بعد از ۱۰ الی ۱۲ ساعت بعد از تزریق دوم و بعد از بررسی رسیدگی و آمادگی تخمک‌ها و اسپرم‌ها عملیات تخم‌کشی و لقاح انجام پذیرفت (Ghafari and Falahatkar, 2016). برای این منظور ماهیان ماده پس از کنترل رسیدگی از

رابطه ۱:

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

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

رابطه ۲:

$$H(\%) = (L_H / E_F) \times 100$$

L_H : تعداد لاروهای متولد شده؛ E_F : تعداد تخم‌های لقاح یافته.

رابطه ۳:

$$SR(\%) = (L / E_T) \times 100$$

L : تعداد لاروهای زنده؛ E_T : تعداد کل تخم‌ها.

بررسی شاخص‌های خونی

برای بررسی شاخص‌های خونی و هورمونی، نمونه‌گیری از خون ماهیان در دو مرحله صورت پذیرفت. مرحله اول قبل از تزریق و مرحله دوم ۱۰ الی ۱۲ ساعت بعد از تزریق بود. برای خون‌گیری، ابتدا بیهوش کردن ماهیان با پودر گل میخک به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام و سپس خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری انجام پذیرفت (Mohammadnejad et al., 2022). نمونه‌های خون پس از ریختن در لوله‌های آزمایش مخصوص، بلافاصله در محفظ حاوی یخ قرار داده شدند. در ادامه لوله‌های حاوی خون برای بررسی شاخص‌های خون‌شناسی مانند تعداد گلبول‌های سفید (WBC)

و قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hct) به آزمایشگاه خون‌شناسی کاوش (شهرستان گرگان) ارسال شدند (Hayatbakhsh et al., 2014; Ejraei et al., 2015).

برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و هورمونی، سرم نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در مدت ۵ دقیقه، جداسازی شده و مقادیر هر کدام از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون شامل میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، کلسیم، سدیم و کورتیزول (Shirmohammadli et al., 2020) و هورمون‌های جنسی استرادیول، پروژسترون و تستوسترون به وسیله دستگاه اتوآنالیزر تعیین شد (Rinchar et al., 1993).

تجزیه و تحلیل آماری

پس از جمع‌آوری اطلاعات، برای بررسی آماری و تجزیه و تحلیل کلیه متغیرها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. نتایج نشان داد که توزیع کلیه داده‌ها در هر یک از متغیرهای یاد شده از توزیع نرمال برخوردار بود. بنابراین به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way)

نتایج به دست آمده بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک طرفه به منظور مقایسه شاخص‌های مورد بررسی نشان داد که از لحاظ میانگین تعداد تخم استحصال شده از مولدین ماده بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P < 0/05$). میانگین تعداد تخم در گرم در تیمار ۳ به صورت معنی‌داری بیش از تیمارهای دیگر بود و کمترین میانگین تعداد تخم در تیمار ۲ مشاهده شد ($P < 0/05$). میانگین درصد لقاح به صورت معنی‌داری در تیمار ۲ بیش از تیمارهای دیگر بود و کمترین درصد لقاح در تیمار ۱ مشاهده شد ($P < 0/05$). میانگین درصد تخم‌گذاری لارو در تیمار ۲ به صورت معنی‌داری بیش از تیمارهای دیگر بود و کمترین درصد آن در تیمار ۱ مشاهده شد ($P < 0/05$).

(ANOVA) و پس از انجام آزمون از آزمون همگنی واریانس‌ها (Test of Homogeneity of Variances) برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. همچنین برای مقایسه آماری هر یک از متغیرها در مولدین، قبل و پس از تزریق از آزمون T مستقل (Independent Samples T Test) استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۶ و در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0/05$) انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

نتایج کارایی تکثیر در مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳: مقایسه کارایی تکثیر در مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر در تیمارهای مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص‌های تکثیر	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
وزن تخمدان (گرم)	۱۶۲/۵۰ \pm ۲۷/۵۰ ^{ab}	۱۳۱/۰۰ \pm ۷/۰۰ ^b	۲۳۶/۰۰ \pm ۱۶/۰۰ ^a	۱۸۰/۵۰ \pm ۱/۵۰ ^{ab}
تعداد تخم (عدد)	۱۰۷۷/۵۰ \pm ۵۷/۵۰ ^{ab}	۱۳۷۷/۵۰ \pm ۶۷/۵۰ ^b	۱۰۸۳/۰۰ \pm ۲۷/۰۰ ^a	۱۲۲۸/۰۰ \pm ۸۳/۰۰ ^{ab}
لقاح (درصد)	۸۲/۰ \pm ۱/۰ ^c	۸۸/۵ \pm ۰/۵ ^a	۸۴/۵ \pm ۰/۵ ^{bc}	۸۶/۵ \pm ۰/۵ ^{ab}
تخم‌گذاری (درصد)	۷۳/۰ \pm ۱/۴۱ ^c	۸۱/۰ \pm ۴/۱۰ ^a	۷۴/۵ \pm ۲/۱۲ ^{bc}	۷۸/۰ \pm ۱/۴۱ ^{ab}
بازماندگی لارو (درصد)	۶۱/۰ \pm ۲/۰۰ ^b	۷۲/۵ \pm ۱/۵۰ ^a	۶۷/۰ \pm ۲/۰۰ ^{ab}	۷۱/۵ \pm ۱/۵۰ ^a

حروف انگلیسی غیرهمنام در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0/05$).

ماهیان در مرحله بعد و قبل از تزریق در هیچکدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در میزان لنفوسیت خون ماهیان مولد ماده در تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. نتایج آزمون دانکن نشان داد که میزان لنفوسیت در مرحله قبل و پس از تزریق در تیمار ۴ و در مرحله پس از تزریق در تیمارهای ۲ و ۴ به شکل معنی‌داری کمتر از تیمارهای دیگر بود. همچنین بین میزان لنفوسیت خون ماهیان در مرحله بعد و قبل از تزریق در هیچکدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در میزان نوتروفیل خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. نتایج آزمون دانکن نشان داد که میزان نوتروفیل خون در مرحله قبل از تزریق در تیمار ۴ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود و در مرحله پس از تزریق میزان این شاخص در تیمارهای ۲ و ۴ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود. همچنین میزان نوتروفیل خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق در تیمار ۲ به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0/05$).

میانگین درصد بازماندگی لاروها در تیمار ۲ به صورت معنی‌داری بیش از تیمارهای دیگر بود و کمترین درصد بازماندگی لاروها در تیمار ۱ مشاهده شد ($P < 0/05$; جدول ۳). نتایج به دست آمده از تزریق هورمون‌های اوالین و اوپاس بر تغییرات برخی از شاخص‌های خون‌شناسی مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر در جدول ۴ نمایش داده شده است. بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. همچنین طبق آزمون T بین میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت ماهیان در مرحله بعد و قبل از تزریق در هیچکدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). مقایسه میزان گلبول‌های سفید خون ماهیان مولد ماده در تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد. اما نتایج آزمون دانکن نشان داد که میزان گلبول‌های سفید در مرحله قبل و پس از تزریق در تیمار ۲ به شکل معنی‌داری کمتر از تیمارهای دیگر بود. همچنین بین میزان گلبول‌های سفید خون

جدول ۴: شاخص‌های خون‌شناسی مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر قبل و بعد از تزریق هورمون‌های اوایلین و اوایاس (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	تیمار ۱		تیمار ۲		تیمار ۳		تیمار ۴	
	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق
گلبول قرمز ($10^6/\mu\text{L}$)	۰/۱۸۳	۰/۱۷۳	۰/۲۰۴	۰/۱۷۸	۰/۱۹۰	۰/۱۸۱	۰/۲۰۹	۰/۱۸۵
	$\pm 0/004$	$\pm 0/001$	$\pm 0/005$	$\pm 0/005$	$\pm 0/005$	$\pm 0/002$	$\pm 0/014$	$\pm 0/008$
هموگلوبین (g/dL)	۱۱/۳۵	۷/۸۵	۸/۹۰	۶/۷۵	۱۰/۵۰	۷/۷۵	۱۱/۸۵	۸/۹۰
	$\pm 0/35$	$\pm 0/35$	$\pm 0/10$	$\pm 0/65$	$\pm 0/50$	$\pm 0/55$	$\pm 0/65$	$\pm 0/20$
هماتوکریت (%)	۲۷/۵	۱۷/۵	۲۷/۵	۱۷/۵	۲۶/۵	۲۱/۵	۳۲/۰	۲۶/۰
	$\pm 2/5$	$\pm 2/5$	$\pm 2/5$	$\pm 3/5$	$\pm 1/5$	$\pm 0/5$	$\pm 2/0$	$\pm 1/0$
گلبول سفید ($10^2/\mu\text{L}$)	۷۳/۰۰	۴۵/۵۰	۳۶/۵۰	۲۹/۲۵	۷۰/۰۰	۵۲/۰۰	۶۰/۰۰	۴۵/۰۰
	$\pm 8/00^a$	$\pm 7/50^{ab}$	$\pm 5/50^b$	$\pm 7/25^b$	$\pm 4/00^a$	$\pm 5/00^a$	$\pm 8/00^a$	$\pm 6/00^{ab}$
لنفوسیت (%)	۹۲/۰۰	۸۵/۵۰	۸۱/۰۰	۵۰/۰۰	۸۶/۳۵	۸۲/۰۰	۶۳/۵۰	۵۵/۰۰
	$\pm 1/50^a$	$\pm 13/50^a$	$\pm 1/00^{ab}$	$\pm 2/00^b$	$\pm 5/35^{ab}$	$\pm 10/00^a$	$\pm 8/50^b$	$\pm 6/00^b$
نوتروفیل (%)	۸/۰۰	۱۴/۵۰	۱۹/۰۰	۵۰/۰۰	۱۳/۶۵	۱۸/۰۰	۳۶/۵۰	۴۵/۰۰
	$\pm 1/50^b$	$\pm 3/50^b$	$\pm 1/00^{ab}$	$\pm 0/00^{a*}$	$\pm 5/35^b$	$\pm 5/00^b$	$\pm 8/50^a$	$\pm 6/00^{ab}$

حروف غیرهمنام کوچک در ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها و علامت «*» نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در قبل و بعد از تزریق است ($P < 0/05$).

اما در تیمار ۱ میزان تری‌گلیسرید سرم خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل کاهش داشت ($P < 0/05$ ؛ جدول ۵). میزان کلسترول سرم خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و بعد از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد. اما در تیمار ۳ میزان کلسترول در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل کاهش داشت ($P < 0/05$ ؛ جدول ۵).

در باره شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون، نتایج مقایسه میزان گلوکز سرم خون ماهیان مولد ماده در تیمارهای مختلف در مرحله قبل و بعد از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری را نشان نداد. اما طبق آزمون آماری صورت گرفته در کلیه تیمارها میزان گلوکز سرم خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0/05$ ؛ جدول ۵). در میزان تری‌گلیسرید سرم خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و بعد از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد.

جدول ۵: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر قبل و بعد از تزریق هورمون‌های اوآلین و اوپاس (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	تیمار ۱		تیمار ۲		تیمار ۳		تیمار ۴	
	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق
گلوکز (mg/dL)	۵۴/۰	۹۱/۵	۵۹/۰	۷۸/۰	۴۶/۵	۷۳/۵	۵۷/۰	۸۲/۵
	$\pm ۹/۰$	$\pm ۱۲/۵^*$	$\pm ۲۳/۰$	$\pm ۲۰/۰^*$	$\pm ۱/۵$	$\pm ۱/۵^*$	$\pm ۵/۰$	$\pm ۵/۵^*$
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۱۱۱/۰	۶۴/۰	۷۶/۰	۶۲/۰	۷۷/۰	۵۸/۰	۱۰۴/۵	۸۱/۵
	$\pm ۱۲/۰^*$	$\pm ۱/۰$	$\pm ۳۴/۰$	$\pm ۲۳/۰$	$\pm ۱۴/۰$	$\pm ۱۶/۰$	$\pm ۱۶/۵$	$\pm ۴/۵$
کلسترول (mg/dL)	۲۰۷/۰	۱۵۱/۰	۱۷۸/۰	۱۴۸/۰	۲۴۰/۰	۱۵۰/۵	۲۰۸/۵	۱۷۳/۰
	$\pm ۵۸/۰$	$\pm ۴۷/۰$	$\pm ۴۳/۰$	$\pm ۳۷/۰$	$\pm ۵۵/۰^*$	$\pm ۵۰/۵$	$\pm ۶۵/۵$	$\pm ۷۲/۰$
کلسیم (mg/dL)	۱۲/۴۹	۱۱/۰۹	۱۱/۵۳	۱۰/۹۷	۱۵/۱۷	۱۲/۳۸	۱۱/۶۴	۱۰/۱۰
	$\pm ۲/۸۱$	$\pm ۳/۳۹$	$\pm ۱/۵۳$	$\pm ۱/۰۴$	$\pm ۴/۴۹$	$\pm ۱/۷۷$	$\pm ۱/۹۴$	$\pm ۰/۴۸$
سدیم (mEq/L)	۱۴۳/۴۰	۱۴۷/۸۵	۱۴۴/۸۰	۱۵۲/۳۰	۱۴۵/۲۵	۱۵۴/۵۵	۱۴۹/۰۵	۱۵۷/۴۵
	$\pm ۱/۵۰$	$\pm ۰/۸۵$	$\pm ۳/۳۰$	$\pm ۳/۰۰$	$\pm ۳/۲۵$	$\pm ۱/۵۵$	$\pm ۳/۲۵$	$\pm ۱/۲۵$
پروتئین کل (mg/dL)	۳/۳۰	۲/۶۵	۳/۱۰	۲/۴۰	۳/۵۵	۲/۳۵	۳/۱۵	۲/۳۰
	$\pm ۰/۴۰$	$\pm ۰/۵۵$	$\pm ۰/۳۰$	$\pm ۰/۰۰$	$\pm ۰/۲۵$	$\pm ۰/۰۵$	$\pm ۰/۰۵$	$\pm ۰/۰۲$
کورتیزول (μ g/dL)	۸/۰۵	۱۳/۳۰	۵/۹۰	۹/۲۰	۷/۷۵	۱۴/۴۰	۶/۳۵	۱۷/۶۰
	$\pm ۰/۷۵$	$\pm ۲/۶۰^{ab*}$	$\pm ۱/۶۰$	$\pm ۰/۷۰^{b*}$	$\pm ۱/۸۵$	$\pm ۳/۷۰^{ab*}$	$\pm ۲/۴۵$	$\pm ۱/۳۰^{a*}$

حروف غیرهمنام کوچک نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها و علامت «*» نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در قبل و بعد از تزریق است ($P < ۰/۰۵$).

میزان کلسیم، سدیم و پروتئین کل سرم خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و بعد از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد. همچنین بین میزان کلسیم، سدیم و پروتئین کل سرم خون ماهیان در مرحله بعد و قبل از تزریق در هیچکدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). مقایسه میزان کورتیزول سرم خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری را نشان نداد. اما در مرحله بعد از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. نتایج نشان داد که میزان کورتیزول در تیمار ۴ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود و کمترین میزان کورتیزول در تیمار ۲ مشاهده شد. اما در هر چهار تیمار تزریق، میزان کورتیزول سرم در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < ۰/۰۵$; جدول ۵).

نتایج تاثیر تزریق هورمون‌های اوپاس و اوالین بر تغییرات هورمون‌های جنسی مولدین ماده کپور دریای خزر در جدول ۶ آورده شده است. میزان استرادیول سرم خون ماهیان مولد ماده بین تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد. میزان استرادیول در مرحله قبل از تزریق در تیمارهای ۲ و ۴ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود و در مرحله پس از تزریق میزان این هورمون در تیمار ۳ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود. همچنین در هر چهار تیمار میزان پروژسترون سرم خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0.05$).

جدول ۶: میزان هورمون‌های جنسی مولدین ماده ماهی کپور دریای خزر قبل و بعد از تزریق هورمون‌های اوپاس و اوالین (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص	تیمار ۱		تیمار ۲		تیمار ۳		تیمار ۴	
	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق	قبل تزریق	بعد تزریق
استرادیول (pg/mL)	۸۴/۹۵	۵۱۸/۴۵	۱۸۳/۰۰	۹۸۹/۹۵	۱۰۹/۸۵	۴۰۵۳/۵۰	۱۵۵/۱۵	۶۸۹/۱۰
	$\pm 41/05^b$	$\pm 441/55^{b*}$	$\pm 79/00^a$	$\pm 399/05^{ab*}$	$\pm 69/15^{ab}$	$\pm 396/65^{a*}$	$\pm 103/85^a$	$\pm 578/90^{b*}$
پروژسترون (ng/mL)	۰/۰۵	۳/۲۳	۰/۱۵	۷/۵۳	۰/۳۰	۳/۶۲	۰/۱۵	۴/۲۵
	$\pm 0/00^b$	$\pm 0/62^{b*}$	$\pm 0/10^a$	$\pm 1/08^{a*}$	$\pm 0/15^a$	$\pm 1/40^{b*}$	$\pm 0/10^a$	$\pm 1/55^{b*}$
تستوسترون (ng/dL)	۱۰۲/۹	۷۵۸/۰	۲۶۰/۰	۳۴۰۵/۰	۲۱۲/۶	۱۲۲۴/۰	۱۱۴/۰	۱۱۱۷/۵
	$\pm 51/1^b$	$\pm 162/0^{c*}$	$\pm 14/0^a$	$\pm 226/5^{a*}$	$\pm 170/4^a$	$\pm 204/0^{b*}$	$\pm 81/0^b$	$\pm 123/0^{b*}$

حروف غیرهمنام کوچک در ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها و علامت «*» نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در قبل و بعد از تزریق است ($P < 0.05$).

هورمون‌های مصنوعی در تکثیر آبزیان روز به روز در حال افزایش است که جایگزین هورمون هیپوفیز شده و نتایج مثبتی داشته است (Ibrahim et al., 2019). پژوهشگران گزارش کردند که هورمون‌های مصنوعی (مانند اوالبین) به طور موفقیت آمیزی سبب القای تخم‌ریزی در ماهیان می‌شوند (Maradun et al., 2018) که با نتایج مطالعه جاری مشابهت دارد، چرا که تزریق هورمون اوالبین باعث تخم‌ریزی در ماهی کپور دریای خزر شد. همچنین تزریق هورمون مصنوعی اوپاس نیز باعث القای تخم‌ریزی در ماهی کپور شد. هر یک از هورمون‌های القا کننده تخم‌ریزی مزیت خود را دارند و استفاده از هر یک از آنها به انتخاب، هزینه، در دسترس بودن و اولویت پرورش‌دهندگان و تکثیرکنندگان ماهی بستگی دارد (Ukwe and Abu, 2016). از این رو، باید کارایی هر هورمون به صورت جداگانه بر تولیدمثل ماهیان و در شرایط مختلف تکثیر بررسی شود (Mohammadnejad, 2022a). به همین دلیل در مطالعه جاری نیز کارایی دو هورمون اوپاس و اوالبین در تکثیر ماهی کپور دریای خزر مورد مقایسه قرار گرفت. البته همان طور که قبل بیان شد هورمون اوپاس برای اولین بار توسط یک شرکت دانش بنیان ایرانی تولید شده

میزان تستوسترون سرم خون ماهیان مولد ماده در تیمارهای مختلف در مرحله قبل و پس از تزریق اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد. نتایج نشان داد که میزان تستوسترون در مرحله قبل از تزریق در تیمار های ۲ و ۳ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار ۱ و ۴ بود و در مرحله پس از تزریق در تیمار ۲ به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود. کمترین میزان هورمون تستوسترون نیز در تیمار ۱ مشاهده شد. همچنین در کلیه تیمارها میزان تستوسترون سرم خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0.05$; جدول ۶).

بحث

موارد استفاده از هورمون‌های مصنوعی و غیرمصنوعی در ماهیان مختلف گزارش شده است و تزریق هورمون برای تحریک تخم‌ریزی در گونه‌های بسیاری از ماهیان در آبی‌پروری انجام می‌شود (Zohar and Mylonas, 2001; Rainis and Ballestrazzi, 2005). برای دستیابی به شاخص‌های تولیدمثلی مطلوب، نیاز به بهره‌گیری از یک القا کننده موثر در تخم‌ریزی با غلظت مناسب تزریقی است (Mohammadnejad, 2022a). استفاده از

هستند و توسط زیست‌شناسان ماهی در بسیاری از نقاط جهان استفاده می‌شود (Gabriel et al., 2015; Ejraei et al., 2011). ویژگی‌های خون‌شناختی و بیوشیمیایی خون ماهی می‌تواند برای پایش و ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی و وضعیت سلامت ماهی بسیار عالی و مفید باشد (Svetina et al., 2002). ثابت شده است که شاخص‌های خونی ماهیان تحت تاثیر حالات مختلف تغذیه‌ای، زیستی و فیزیولوژی می‌تواند دست‌خوش تغییر شود (Mohammadnejad, 2022a). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که تغییرات در شاخص‌های خونی به گونه ماهی، سن و چرخه بلوغ جنسی بستگی دارد (Ejraei et al., 2015). بنابراین از آنجایی که تغییر فراسنجه‌های سلولی و بیوشیمیایی خون در آبزیان تحت تاثیر متغیرهایی از جمله هورمون‌تراپی قرار دارد، بنابراین بررسی مقایسه‌ای شاخص‌های خونی در ماهیان اهمیت خاصی دارد و از یان رو باید اثرات هورمون‌تراپی در ماهیان بر روی شاخص‌های خونی آنها مورد مطالعه قرار گیرد (Heydari et al., 2014; Mohammadnejad et al., 2022). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق هورمون‌های اوالین و اوپاس بر برخی از شاخص‌های خون‌شناسی مولدین ماده ماهی

است و تاکنون مطالعه‌ای از این هورمون بر روی ماهیان صورت نپذیرفته است تا بتوان نتایج این پژوهش را با آن مورد مقایسه قرار داد. از این رو، عمده بحث بر روی مقایسه عملکرد این هورمون با اوالین است. نتایج بررسی شاخص‌های کارایی تکثیر ماهی کپور دریای خزر در مطالعه حاضر نشان داد که تزریق هورمون‌های اوالین و اوپاس بر تعداد تخم و درصد لقاح تاثیرگذار بود ($P < 0.05$) به طوری که بیشترین درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی لارو در تزریق دو مرحله‌ای اوپاس و کمترین آن در تزریق یک مرحله‌ای اوپاس بود ($P < 0.05$). نتایج این بررسی نشان می‌دهد که هرچند هر دو هورمون با هر دو روش باعث القای موفق تخم‌ریزی در ماهی شدند، اما روش دو مرحله‌ای تزریق هورمون اوپاس باعث عملکرد بهتر در شاخص‌های تکثیر ماهی کپور شد. البته نتایج این مطالعه با پیشنهاد شرکت سازنده که تزریق دو مرحله‌ای را فقط برای ماهیان بالای ۴ کیلوگرم بیان کرده بود همسو نبود و این مطالعه نشان داد که بهتر است برای ماهیان زیر ۴ کیلوگرم هم تزریق به صورت دو مرحله‌ای انجام پذیرد.

شاخص‌های خون‌شناختی ابزار مهمی برای بیان تغییرات فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی

اوالین بر تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، مولدین ماده کپور دریای خزر هیچ تاثیری ندارد (Mohammadnejad, 2022a).

تولیدمثل عاملی است که بر محیط داخلی بدن ماهی تاثیر می‌گذارد. بنابراین، توجه زیادی به مطالعه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی در طول تولیدمثل می‌شود (Svoboda et al., 2001). مطالعه تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی مانند تغییر در سطوح هورمون‌های جنسی و الکترولیت‌های سرم خون از جمله موارد مرتبط با فیزیولوژی تولیدمثل است که نقش مهمی در مطالعات پایه و کاربردی دارد (Judyccka et al., 2019). نتایج این بررسی نشان داد تزریق هورمون‌های اوالین و اوپاس تاثیری بر تغییر کلسیم، سدیم و پروتئین کل نداشت ($P > 0.05$). در ضمن تاثیر خاصی بر میزان کلسترول و تری‌گلیسرید نداشت ($P > 0.05$) و فقط در تزریق یک مرحله‌ای اوالین میزان کلسترول و در تزریق یک مرحله‌ای اوپاس میزان تری‌گلیسرید در مرحله بعد از تزریق نسبت به مرحله قبل کاهش داشت ($P < 0.05$). اما میزان گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهیان در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل در تمام تیمارها افزایش داشت

کپور دریای خزر از جمله گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت، گلبول‌های سفید و لنفوسیت هیچ تاثیری نداشت ($P > 0.05$). اما باعث تغییراتی در میزان نوتروفیل خون ماهی شد ($P < 0.05$)، به طوری که در تزریق دو مرحله‌ای در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0.05$). نوتروفیل از گرانولیست‌های غالب خون ماهیان است، به طوری که ۲ تا ۲۵ درصد کل گلبول‌های سفید را تشکیل می‌دهد. در قزل‌آلای چشمه‌ای (*Salvelinus fontinalis*) مقدار نوتروفیل بین ۵ تا ۹ درصد و در قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) تا ۲۵ درصد کل گلبول‌های سفید خون را تشکیل می‌دهد. نوتروفیل‌ها در عفونت‌های حاد مانند بیماری‌های عفونی در خون افزایش می‌یابند (Kazemi et al., 2010). در مطالعه جاری میزان نوتروفیل پس از تزریق تا ۵۰ درصد افزایش یافت. البته با توجه به این که ماهیان این پژوهش از نظر ظاهری سالم بودند و مطالعات عفونی هم انجام نشد، دلیلی برای این افزایش میزان نوتروفیل یافت نشد که قطعاً باید در مطالعات آتی بیشتر و دقیق‌تر مورد بررسی قرار گیرد. همچنین نتایج مشابه بررسی حاضر نشان داد که تزریق غلظت‌های مختلف هورمون

و ماده کپور دریای خزر (Mohammadnejad, 2022a,b; Mohammadnejad et al., 2022). از طرفی دیگر مطالعات ثابت کرده است که میزان شاخص‌های استرس مانند گلوکز و کورتیزول در زمان بلوغ و تولیدمثل در ماهی کپور دریای خزر افزایش می‌یابد (Mohammadnejad, 2021) که با نتایج مطالعه جاری مطابقت دارد. از آنجایی که کورتیزول در ماهیان استخوانی بر عملکرد تولیدمثل و رشد گامت اثر می‌گذارد و به عنوان کورتیکوستروئید مهمی که طی فصل تخم‌ریزی تولید می‌شود؛ می‌تواند ایمنی ماهیان را سرکوب کند (Odhiambo et al., 2020)، اندازه‌گیری آن می‌تواند کمک شایانی به مدیریت تکثیر ماهیان کند. هر چقدر استرس ایجاد شده در اثر تزریق هورمون مورد استفاده کمتر باشد موفقیت بیشتر عملیات تکثیر را در پی خواهد داشت. در مطالعه جاری مشخص شد که تزریق هر دو هورمون و در هر دو مرحله تزریق باعث ایجاد استرس در ماهی مولد کپور می‌شود، اما کمترین میزان استرس وارده بر مولدین در تزریق دو مرحله‌ای اوپاس بوده است که نشان دهنده عملکرد بهتر این هورمون در کاهش استرس بر ماهی در مقایسه با تزریق دو مرحله‌ای هورمون اولین است.

($P < 0/05$). به طوری که بیشترین افزایش کورتیزول در تزریق دو مرحله‌ای اولین و کمترین افزایش در تزریق دو مرحله‌ای اوپاس بود. مشابه نتایج مطالعه حاضر تزریق غلظت‌های ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶ و ۰/۷ میلی‌لیتر در کیلوگرم وزن بدن هورمون اولین در ماهی ماده بالغ کپور دریای خزر نشان داد که با تزریق غلظت‌های مختلف هورمون اولین میزان گلوکز و کورتیزول در تمامی تیمارها افزایش یافت. اما بر خلاف مطالعه جاری میزان تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، کلسیم و سدیم در تمامی غلظت‌ها کاهش یافت (Mohammadnejad, 2022a). نوسان شاخص‌های بیوشیمیایی خون از جمله تغییر سطح گلوکز به عنوان شاخص‌های زیستی که تحت تاثیر عوامل محیطی مانند صید، دستکاری، حمل و نقل، نگهداری، تراکم بالا، خواص فیزیکی و شیمیایی آب و غیره قرار می‌گیرند، دارای اهمیت بسزایی هستند (Bahmani, 1999; Hosseini Fard et al., 2013). با افزایش کورتیزول میزان گلوکز خون نیز سریعاً افزایش می‌یابد (Bahmani, 1999). اکثر مطالعات صورت گرفته درباره تزریق هورمون در ماهیان مختلف بیان‌گر ایجاد استرس در ماهیان مورد تزریق بوده است، از جمله تزریق غلظت‌های مختلف هورمون اولین در ماهیان نر

هر چهار تیمار در مرحله بعد از تزریق به طور معنی‌داری نسبت به مرحله قبل افزایش داشت ($P < 0.05$). در مطالعات مشابه و همسو با این مطالعه در اثر تزریق غلظت‌های مختلف هورمون اوالین میزان هورمون‌های جنسی تستوسترون، استرادیول و پروژسترون در مولدین نر (Mohammadnejad et al., 2022) و ماده (Mohammadnejad, 2022a) ماهی کپور دریای خزر افزایش یافت. ضمن این که در مطالعه حاضر در مرحله پس از تزریق میزان هورمون استرادیول در تزریق یک مرحله‌ای هورمون اوالین و میزان پروژسترون و تستوسترون در تزریق دو مرحله‌ای هورمون اوپاس به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0.05$) که نشان دهنده تاثیرگذاری بهتر هورمون اوپاس نسبت به اوالین بر هورمون‌های جنسی مولدین ماده کپور دریای خزر است.

در مجموع، نتایج بررسی حاضر نشان داد که هر دو هورمون اوالین و اوپاس باعث القای تخم‌ریزی در ماهی ماده کپور دریای خزر می‌شوند. اما مقایسه عملکرد دو هورمون مورد استفاده در این مطالعه و روش تزریق نشان داد که تزریق دو مرحله‌ای هورمون اوپاس عملکرد بهتری را بر شاخص‌های تکثیر، هورمون‌های

در ماهیان مانند مهره‌داران دیگر، فرایند تولیدمثل تحت کنترل آهنگ زیستی داخلی و نیز عوامل محیطی است. مهم‌ترین مسیر ارتباطی بین سیستم عصبی مرکزی و اندام‌های جنسی (گنادها)، سیستم هورمونی است. بنابراین مطالعه هورمون‌های درون‌ریز و محور مغز، هیپوفیز و گنادها نقش اساسی در درک تولیدمثل در ماهیان دارد (Guedes-Alonso et al., 2017). در ماهیان استخوانی رشد و رسیدگی تخمک‌ها شامل مراحل مختلفی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلفی مانند هورمون‌های گنادوتروپین، پروژسترون، تستوسترون و استرادیول هستند (Mosha, 2018). در ماهیان استخوانی هورمون‌های پروژسترون، استرادیول و تستوسترون سبب رشد و رسیدگی اووسیت‌ها می‌شوند و این اعمال را تحت کنترل دارند (Bosak Kahkesh et al., 2010). مطالعات مختلف حاکی از افزایش میزان هورمون‌های استروئیدی در اثر تزریق هورمون است (Mohammadnejad et al., 2022). نتایج بررسی تغییرات هورمون‌های جنسی مولدین ماده کپور دریای خزر در اثر تزریق هورمون‌های اوپاس و اوالین در این مطالعه نشان داد که میزان استرادیول، پروژسترون و تستوسترون در

تشکر و قدردانی

جنسی و کاهش استرس در مولدین ماده کپور داشت. از طرفی دیگر، با توجه به این که هورمون اواپاس ساخت یک شرکت دانش بنیان در داخل کشور است، از این رو پیشنهاد می شود سازمان شیلات ایران از این هورمون در تکثیر ماهی کپور دریای خزر در مراکز بازسازی ذخایر خود استفاده کند.

از جناب آقایان مهندس شکیبیا و مهندس عبدالجبار قزل رئیس و کارشناس ارشد محترم مرکز تکثیر بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی سیجوال نهایت تشکر را داریم.

منابع

- Ayoola S., Kuton P. and Chukwu S. 2012.** Comparative study of piscine and non-piscine pituitary extract and ovulin for inducing spawning in catfish (*Clarias gariepinus*). African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 12(6): 6809–6822. doi: 10.18697/ajfand.54.10850
- Bahmani M. 1999.** Survey on ecophysiological stress via HPI and HPG axis of immune system and reproductive process in Iranian sturgeon (*Acipenser persicus*) (In Persian). Ph.D. Thesis, Azad Islamin niversity, Iran. 274P.
- Barannikova I.A., Bayunova L.V., Kolmakov N.N. and Semenkova T. 2005.** The dynamics of steroid hormones in blood under hormonal stimulation of maturation in the Northern dvina sterlet (*Acipenser ruthenus*) (In Russian). Voprosy Ichthyologii, 45: 131–139.
- Beirao J., Boulais M., Gallego V., O'Brien J.K., Peixoto S., Robeck T. and Cabrita E. 2019.** Sperm handling in aquatic animals for artificial reproduction. Theriogenology, 133: 161–178. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.05.004
- Biswas S.P. 1993.** Manual of methods in fish biology. South Asian Publishers, India. 157P.
- 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.
- Coyle S.D., Durborow R.M. and Tidwell J. H. 2004.** Anesthetics in Aquaculture. SRAC Publication, 3900: 6P.
- Ejraei F., Ghiasi M. and Khara H. 2015.** Evaluation of hematological and plasma indices in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, with reference to age, sex, and hormonal treatment. Archives of Polish Fisheries, 23: 163–170. doi: 10.1515/aopf-2015-0019
- Fu B., Yu X., Tong J., Pang M., Zhou Y., Liu Q. and Tao W. 2019.** Comparative transcriptomic analysis of hypothalamus-pituitary-liver axis in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) with differential growth rate. Journal of BMC, 20: 1–8 (328). doi: 10.1186/s12864-019-5691-4
- Gabriel U.U., Akinrotimi O.A. and Eseimokumo F. 2011.** Haematological responses of wild Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* after acclimation to captivity. Journal of Biological Sciences, 4: 225–230.

- Ghafari T. and Falahatkar B. 2016.** The effect of age on reproductive indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Development*, 9(1): 67–79.
- Guedes-Alonso R., Sosa-Ferrera Z., and Santana-Rodriguez J.J. 2017.** Determination of steroid hormones in fish tissues by microwaveassisted extraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 237: 1012–1020. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.065
- Hayatbakhsh M.R., Khara H., Movahed R., Sayadborani M., Daghig Rohi J. Ahmadnezhad M., Rahbar M. and Sajedi Rad A. 2014.** Haematological characteristics associated with parasitism in bream, *Abramis brama orientalis*. *Journal of Parasit Diseases*, 38: 383–388. doi: 10.1007/s12639-013-0256-y
- Heydari I., Khara H. and Vahabzadeh H. 2014.** Effect of sex and hormone therapy on some blood cellular and biochemical factors in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Renewable Natural Resources Research*, 4(4): 15–23.
- Horvath L., Tamas G., Coche A.G., Kovacs E., Moth-Poulsen T. and Woynarovich A. 2015.** Training manual on the artificial propagation of carps. Food and Agriculture Organization, Hungary. 32P.
- Hosseini Fard S.M., Ghobadi S., Khodabakhsh A. and Razaghi Mansour M. 2013.** The effect of different levels of soybean meals and avizyme enzyme supplement on hematological and biochemical parameters of serum in rainbow trout. *Iranian Veterinary Journal*, 9(3): 43–53.
- Ibrahim J.Z., Ovie S.O., Maradun H.F., Asuwaju F.P., Mohammed Y.S., Sahabi A.M. and Umar F. 2019.** Breeding response of *Clarias gariepinus* induced with pituitary gland and synthetic hormone (Ovulin) and the effect on growth performance of its hybrid in New Bussa, Nigeria. *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences*, 4(3): 1–7.
- Judycka S., Nynca J. and Ciereszko A. 2019.** Opportunities and challenges related to the implementation of sperm cryopreservation into breeding of salmonid fishes. *Theriogenology*, 132: 12–21. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.022
- Kazemi R., Pourdehghani M., Yousefi Jordehi A., Yarmohammdi M. and Nasri Tajan M. 2010.** *Physiology of Aquatic Circulatory System and Applied Techniques of Fish Hematology (In Persian)*. Bazrgan, Iran. 194P.

- Mamndeyati U.N., Otebe J.A., Ibagye O.M. and Agatsa T.D. 2018.** Effect of varying dosage of Ovulin on the breeding performance of *Clarias gariepinus* in improvised hatchery tanks in Benue State University, Makurdi, Benue State, Nigeria. Trends in Science and Technology Journal, 3(1): 230–233.
- Mananos E., Duncan N. and Mylonas C.C. 2008.** Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. P: 3–80. In: Cabrita E., Robles V. and Herraes M.P. (Eds.). Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. CRC Press, USA. doi: 10.1201/9780849380549
- Maradun H.F., Argungu L.A., Abubakar M.Y., Umar F., Kasim LI. and Sahabi A.M. 2019.** Effect of different doses of ovulin hormone suspended in saline on the induced breeding performance of African catfishes *Clarias anguillaris* and *Clarias gariepinus* in Sokoto, Nigeria. Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research, 3(4): 1–8. doi: 10.9734/ajfar/2019/v3i430042
- Maradun H.F., Umar F., Ibrahim A., Mubarak A., Zarau I.J. and Muhammad S.A. 2018.** Effect of different doses of ovulin hormone on the induced breeding performance of *Clarias gariepinus*. Journal of Animal and Veterinary Sciences, 5(1): 1–5.
- Mohammadnejad M. 2021.** Comparison of some hematological, biochemical and hormonal factors of blood serum in *Cyprinus carpio* broodstocks. Journal of Fisheries Science and Technology, 10(3): 313–324.
- Mohammadnejad M. 2022a.** Determining the best dose of Ovulin hormone injection in artificial reproduction of *Cyprinus carpio* by examining some blood factors and steroid hormones. Journal of Applied Ichthyological Research, 10(2): 41–50. doi: 10.22034/jair.10.2.41
- Mohammadnejad M. 2022b.** The changes in stress indices and some steroid hormones of *Cyprinus carpio* broodstocks in different stages of artificial reproduction. Journal of Aquaculture Development, 16(1): 117–133. doi: 10.52547/aquadev.16.1.117
- Mohammadnejad M., Enayat Gholampour T., Shakiba M.M., Ghezel A. and Aghaei Moghaddam A. 2022.** The effect of ovulin hormone on some hematological, biochemical, hormonal and sperm parameters of male broodstocks of carp (*Cyprinus carpio*) in the Caspian Sea. Aquatic Physiology and Biotechnology, 10(1): 91–116. doi: 10.22124/JAPB.2021.19636.1424

- Mosha S.S. 2018.** Recent comparative studies on the performance and survival rate of African catfish (*Clarias gariepinus*) larval produced under natural and synthetic hormones: A review. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 9(3): 1–6. doi: 10.4172/2155-9546.1000528
- Odhiambo E., Angienda P., Okoth P. and Onyango D. 2020.** Stocking density induced stress on plasma cortisol and whole blood glucose concentration in Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) of Lake Victoria, Kenya. *International Journal of Zoology*, 2020: 1–8 (9395268). doi: 10.1155/2020/9395268
- Rainis S. and Ballestrazzi R. 2005.** The control of reproduction in finfish species through GnRH treatments. *Italian Journal of Animal Science*, 4(4): 345–353. doi: 10.4081/ijas.2005.345
- Rinchar J., Kestemont P., Kuhn E.R. and Foster A. 1993.** Seasonal changes in plasma levels of steroid hormones in an asynchronous fish the gudgeon *Gobio gobio*. *General Comparative Endocrinology*, 92(2): 168–187. doi: 10.1006/gcen.1993.1153
- Shirmohammadli H.M., Mohammadnejad M. and Alami Rostami S. 2020.** The relationship between weight and changes in some of the hematologic and biochemical indices of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Animal Environment*, 12(2): 233–238. doi: 10.22034/AEJ.2020.106911
- Shourbela R.M., Tohamy H.G. and El-Hawarry W.N. 2020.** Induced spawning of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) after pre-spawning prophylactic disinfection; The breeding performance and tissue histopathological alterations a, e under scope. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(1): 309–324. doi: 10.22092/IJFS.2018.115523
- Svetina A., Matasin Z., Tofant A., Vucemilo M. and Fuan N. 2002.** Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50(4): 459–467. doi: 10.1556/AVet.50.2002.4.8
- Svoboda M., Kouoil J., Hamaekova J., Kalab P., Savina L., Svobodova Z. and Vykusova B. 2001.** Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre- and postspawning period. *Acta Veterinaria Brno*, 70(3): 259–268. doi: 10.2754/avb200170030259
- Ukwe I.O.K. and Abu O.M.G. 2016.** Evaluation of efficacy and cost effectiveness of ovulin and ovaprim hormones for spawning of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Fisheries Sciences*, 10(4): 52–63.

- Zohar Y. and Mylonas C. C. 2001.** Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: From hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99–136. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00584-1



Research Paper

Comparative study of Ovapas and Ovulin hormones effect on reproduction efficiency and some blood and hormonal indices of *Cyprinus carpio* var. Sazan

Mohammad Hasan Karimi¹, Majid Mohammadnejad^{2*}

DOI: 10.22124/japb.2023.23455.1488

Received: December 2022

Accepted: January 2023

Abstract

In this study, reproduction efficiency and some blood indices and sex hormones of female *Cyprinus carpio* var. Sazan were studied due to the injection of Ovapas and Ovulin hormones. For this purpose, 24 male and female broodstocks were injected with 0.5 mL/kg of Ovapas and Ovulin hormones during one and two stages. The results of the reproductive efficiency indices showed that the injection of Ovapas and Ovulin hormones had an effect on the number of eggs, fertilization percentage, hatching rate and larval survival percentage ($P < 0.05$), so that the highest fertilization percentage, hatching rate and larval survival percentage were in two-stage injection of Ovapas and the lowest in one-stage injection of Ovapas ($P < 0.05$). The injection of Ovapas and Ovulin hormones had no effect on female broodstocks red and white blood cells, hemoglobin, hematocrit and lymphocytes ($P > 0.05$). However, the number of neutrophils in the two-stage injection of Ovapas increased significantly in the post-injection stage compared to the previous stage ($P < 0.05$). Also, the levels of serum glucose and cortisol increased significantly in the post-injection phase compared to the previous phase in all treatments ($P < 0.05$). Thus, the highest increase in cortisol was in the two-stage injection of Ovulin and the lowest in the two-stage injection of Ovapas. But no effect has seen on calcium, sodium and total protein ($P > 0.05$). In addition, the amount of sex hormones estradiol, progesterone and testosterone increased in all four treatments after the injection of hormones ($P < 0.05$). Thus, the amount of estradiol in one-stage injection of Ovulin and the amount of progesterone and testosterone in two-stage injection of Ovapas were higher than other treatments ($P < 0.05$). The results of this study showed that two-stage injection of Ovapas improves reproductive performance in female broodstocks of *Cyprinus carpio* var. Sazan.

Key words: *Ovulin, Ovapas, Reproduction, Blood, Cyprinus carpio* var. Sazan.

1- M.Sc. Student in Fisheries, Department of Fisheries, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University, Bandar Gaz, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Bandar Gaz Branch, Islamic Azad University, Bandar Gaz, Iran.

*Corresponding Author: majid_m_sh@bandargaziau.ac.ir