



مهر آتوزم و رشد تولید ۱۴۰۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی



موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

معاونت علمی و فناوری
شبکه دانش کشاورزی

سلسله برنامه‌های ویدیو کنفرانس انتقال دانش به‌روز در گستره ملی بخش کشاورزی

عنوان:

کاربرد هورمون‌های سنتتیک در تکثیر ماهیان

سخنران:

محدثه احمدنژاد

عضو هیأت علمی پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور (بندرانزلی)

۱۷ دی ۱۴۰۲ - ساعت: ۱۰



* رشد روزافزون جمعیت و نیاز فزاینده بشر به غذا

* ایجاد امنیت غذایی، اشتغالزایی، رونق اقتصادی

* محدود بودن ذخایر طبیعی آبزیان

اهمیت پرورش ماهی و لزوم توسعه آبرزی پروری پایدار



چرا پرورش ماهی در دنیا در حال گسترش است؟

به دلیل افزایش تقاضای جهانی برای ماهی

طی سه دهه گذشته، آبرزی پروری سریع ترین زیربخش تولید مواد غذایی در جهان

بیش از نیمی از ماهی هایی که توسط انسان ها مصرف می شود از طریق صنعت پرورش ماهی تولید می شود

با رشد مستمر جمعیت جهان، عرضه غذا و خوراک باید تا سال ۲۰۵۰ تا ۷۰ درصد افزایش یابد



نقش مهم تکثیر ماهیان، در تولید و توسعه صنعت پرورش ماهی



برای توسعه اقتصاد تکثیر و پرورش آبزیان، ضروریست تا تعداد گونه های آبی بیشتر اهل شده و به صنعت آبی پروری معرفی شوند.

یکی از نیازهای اولیه برای اهلی سازی گونه و ایجاد صنعت آبی پروری پایدار، توانایی کنترل تولیدمثل ماهیان در شرایط اسارت و استحصال تخم و اسپرم با کیفیت از به منظور دستیابی به محصول خوش رشد و بازارپسند است.



با دستکاری در شرایط محیطی مانند دوره نوری، دمای

آب یا بستر تخم ریزی



چگونه می توان تولید مثل ماهی را کنترل نمود؟



آیا شبیه سازی شرایط محیطی تولید مثل برای تمام گونه های ماهیان در اسارت امکانپذیر است؟



* شرایط اکولوژیکی و زیستی برخی از ماهی ها بخوبی شناخته شده نیستند.
* بسیاری از ماهیان در محیط هایی تخم ریزی می کنند که شبیه سازی آنها نظیر فراهم نمودن پارامترهای زیست محیطی مورد نیاز برای باروری طبیعی آنها (نظیر: مهاجرت برای تخم ریزی، عمق، هیدرولیک رودخانه و ...) عملی و یا امکانپذیر نمی باشد و تقریباً غیر ممکن است.



لذا تکثیر ماهیان از طریق القای هورمونی، تنها روش قابل اعتماد برای القای تولید مثل در آنهاست



استفاده از هورمون‌های سنتتیک در فرآیند تکثیر ماهیان، چرا؟ بهبود عملکرد تکثیر، رشد و توسعه ماهیان

چرا ماهیان را وادار به تخم ریزی می‌کنیم؟



- تولید ماهیان هیبرید (دورگه)،
- تولید ماهیان عقیم (پلی پلوئیدی)
- همزمان نمودن تخم ریزی (Synchronous)
- تولید انبوه بچه ماهی
- تولید ماهی خارج از فصل تولید مثل

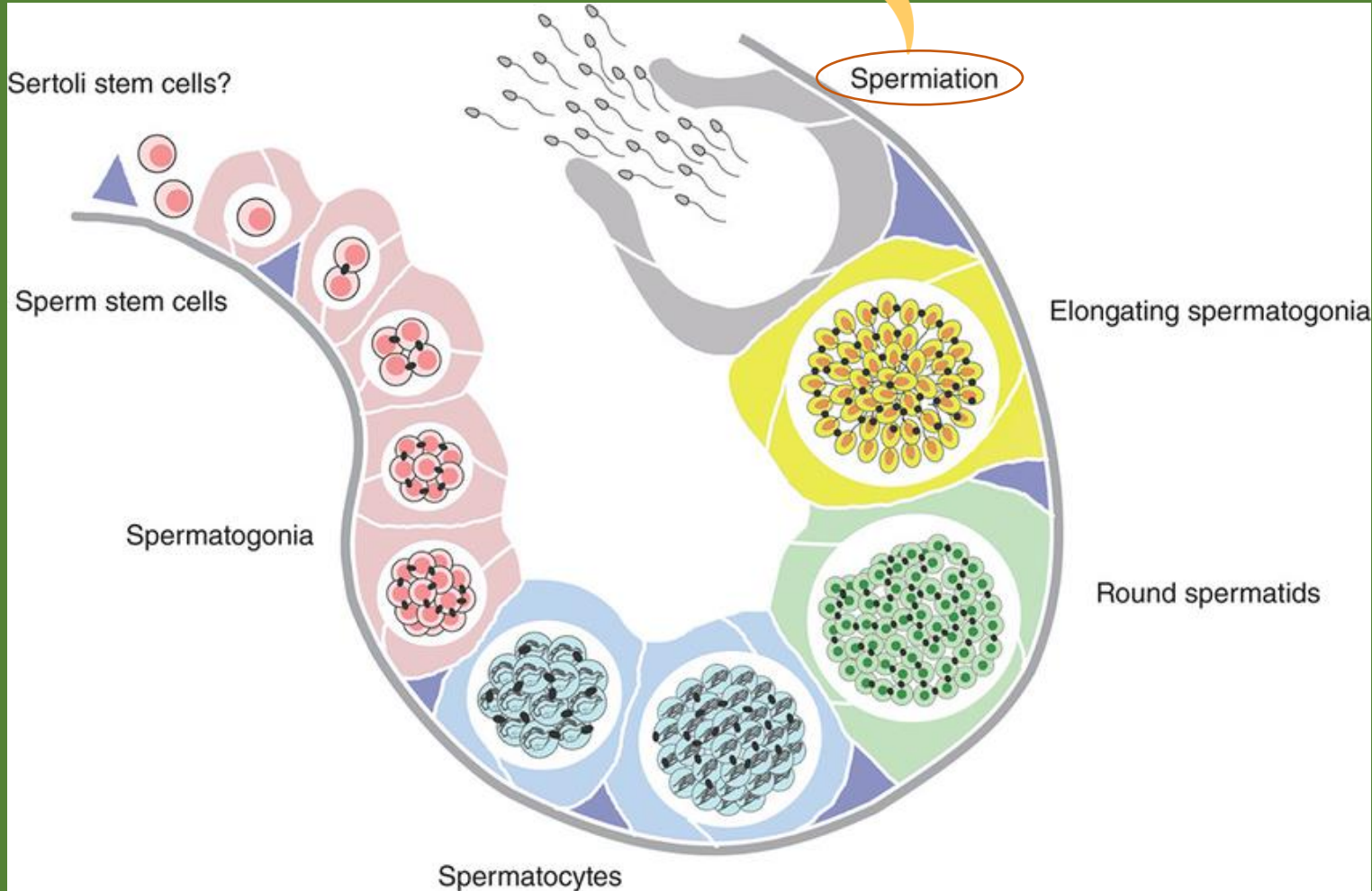


گامتوژنز و رسیدگی نهایی در ماهیان نر

تکثیر مصنوعی در ماهیان نر:
القای اسپرمیوژنز و تولید مایع اسپرمی

مرحله اول: اسپرماتوژنز (Spermatogenesis)

مرحله دوم: اسپرمیشن (Spermiation)



القای اسپرم ریزی در ماهیان نر در کدام مواقع لازم است؟



- توقف مرحله رهاسازی اسپرم
- ماهیان وحشی یا ماهیانی که اهلی پذیری آنها کم است
- زمانی که شرایط پرورش ماهی با اکوبیولوژی گونه مناسب نباشد
- برای تحت کنترل در آوردن زمان و شیوه رهاسازی اسپرم ها در موارد زیر:

الف) همزمان سازی تولید اسپرم مولدین نر با تخمک گذاری مولدین ماده

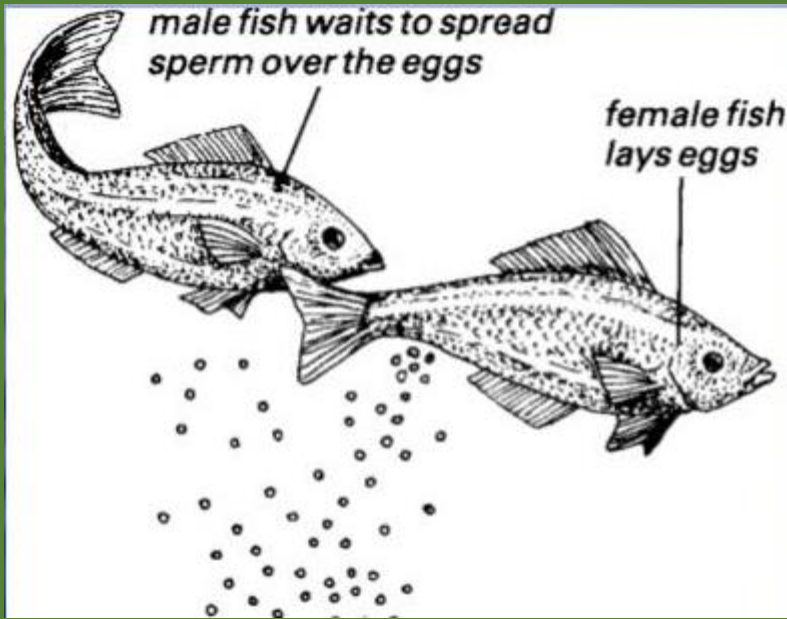
ب) تهیه اسپرم با کمیت و کیفیت مناسب برای برنامه های اصلاح نژادی با هدف انتخاب ژنتیکی

ج) انجماد اسپرم ذخایر ژنتیکی مهم



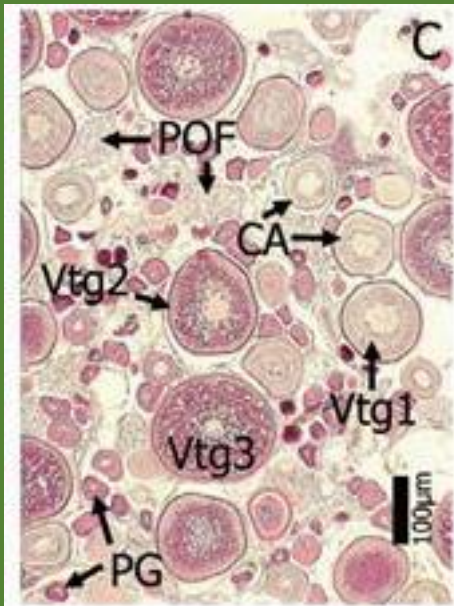
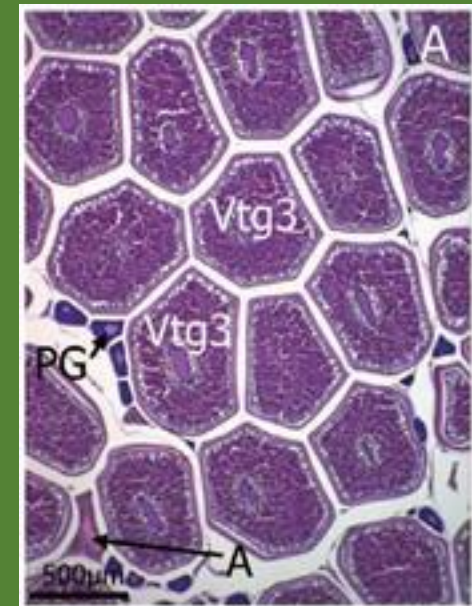
گامتوژنز و رسیدگی نهایی در ماهیان ماده

اهمیت استراتژی اووژنز ماهیان مختلف، در تکثیر مصنوعی و انتخاب نوع هورمون تراپی



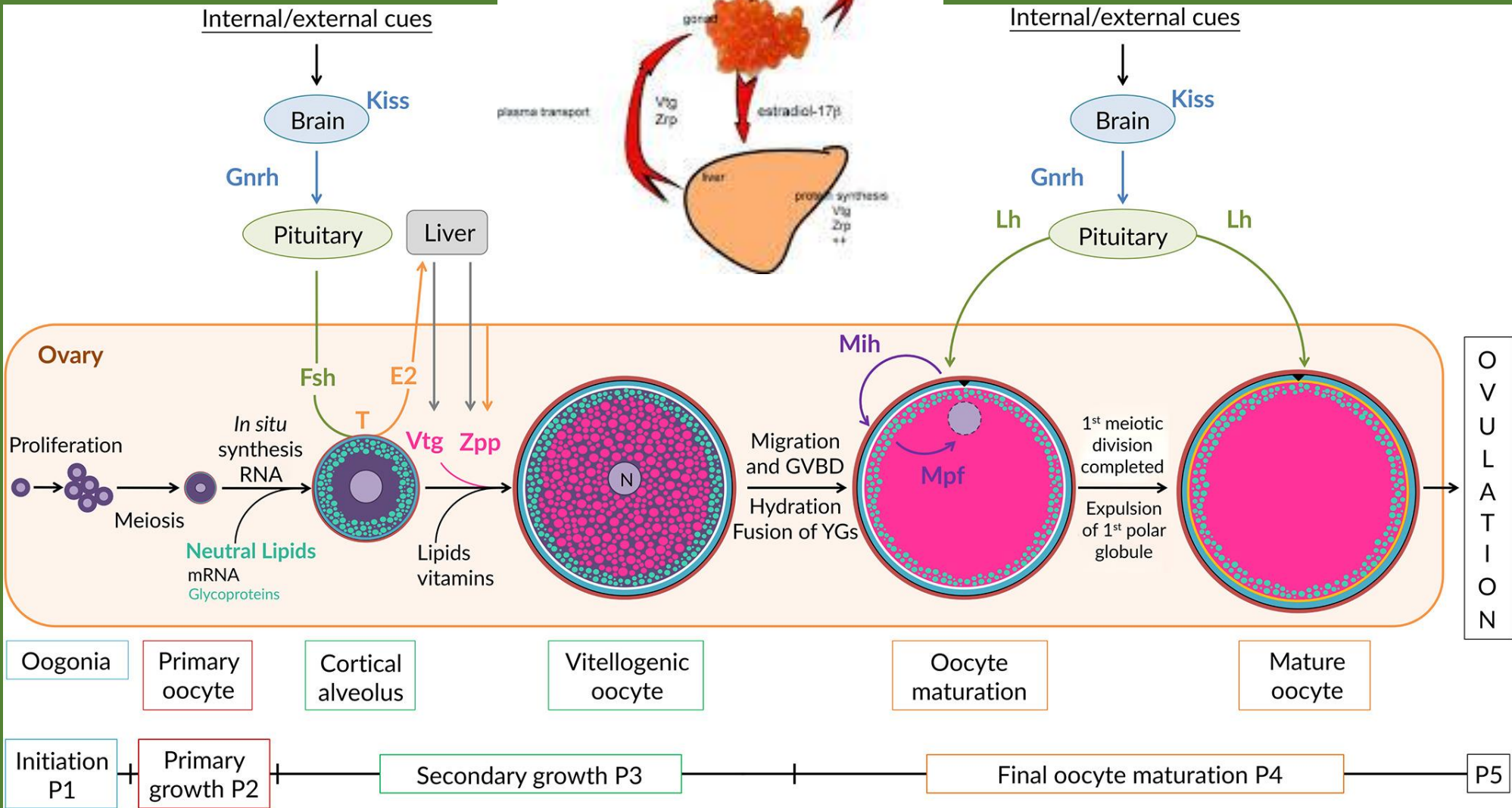
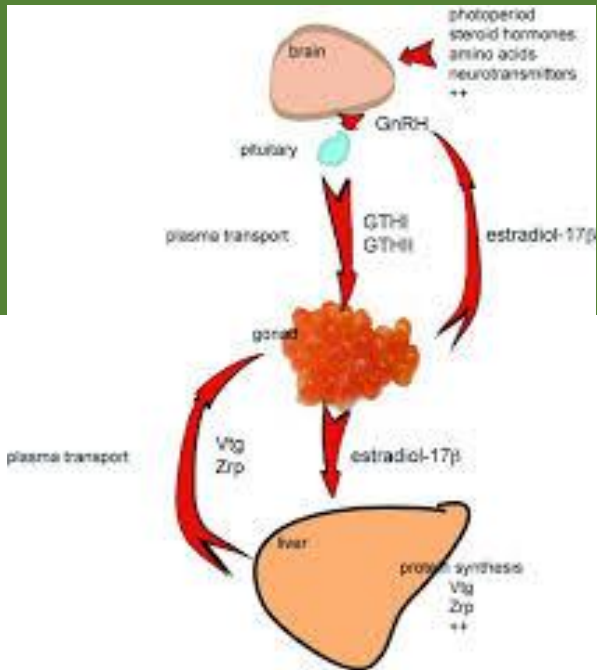
تقسیم بندی ماهیان ماده از نقطه نظر بلوغ تخمک، تخمک گذاری و تخم ریزی

الف) ماهی هایی که فقط یک بار در طول فصل تولیدمثلی تخم ریزی می کنند (تخم ریزی همزمان synchronous و تخم ریزی همزمان یک دسته ای single-batch synchronous)



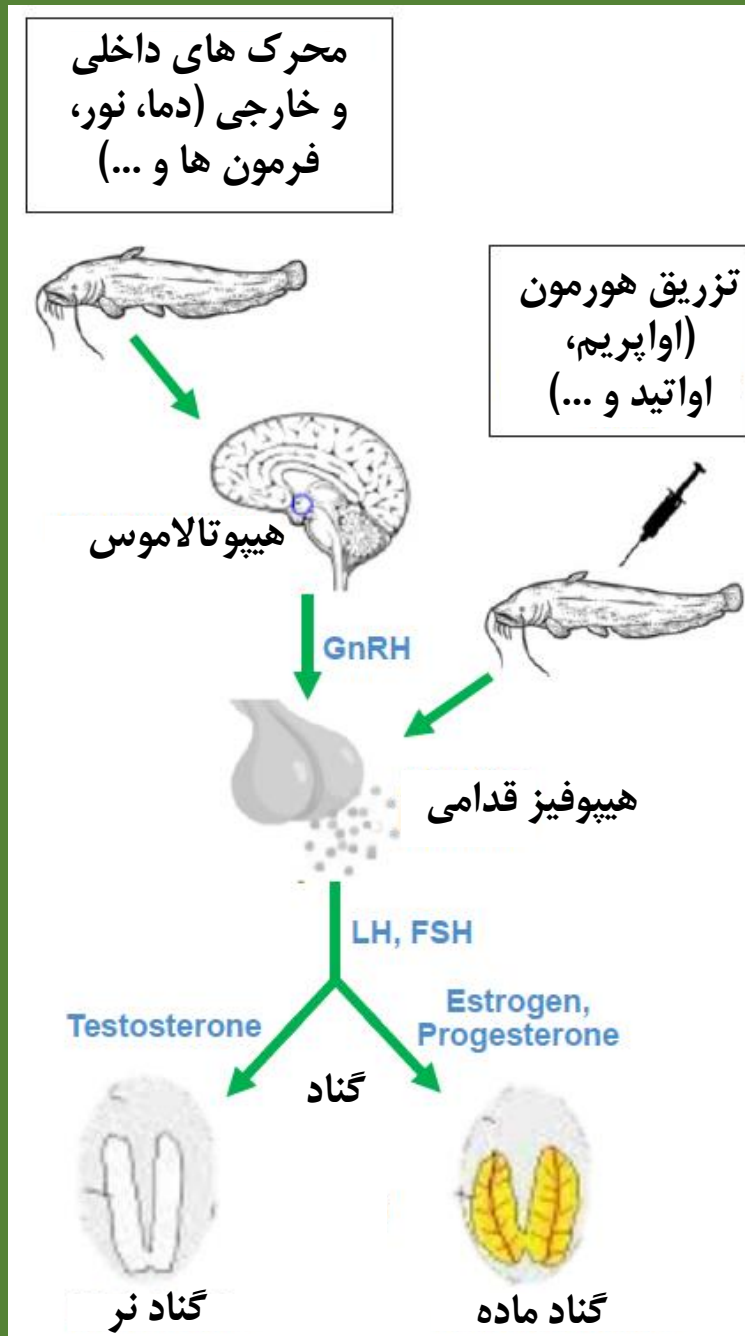
ب) ماهیانی که چندین بار تخم ریزی می کنند (تخم ریزی همزمان چنددسته ای و تخم- multiple-batch synchronous ریزی ناهمزمان asynchronous)

گامتوژنز و رسیدگی نهایی در ماهیان ماده



تنظیم هورمونی گامتوژنز و رسیدگی نهایی

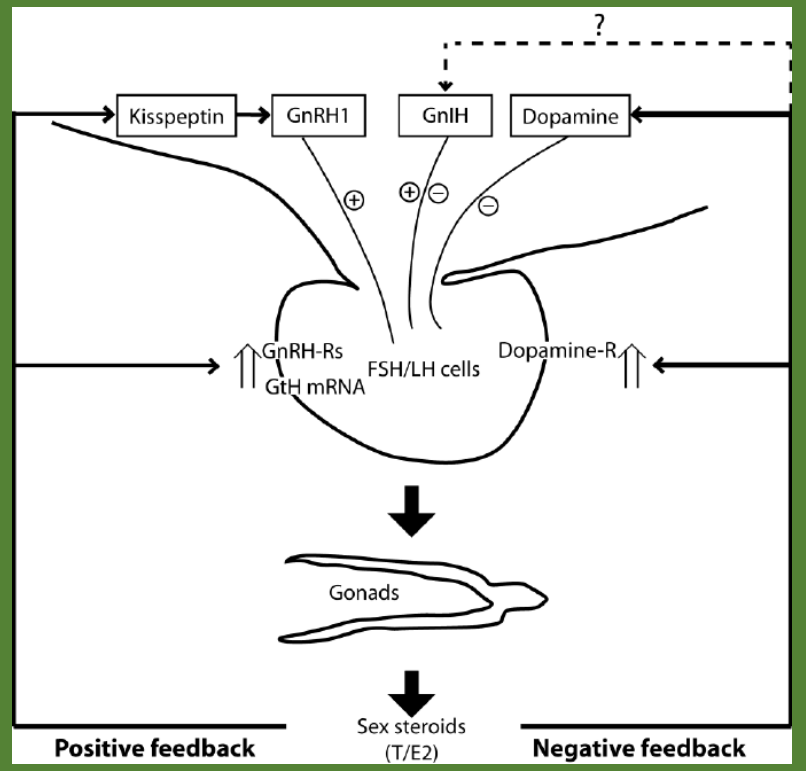
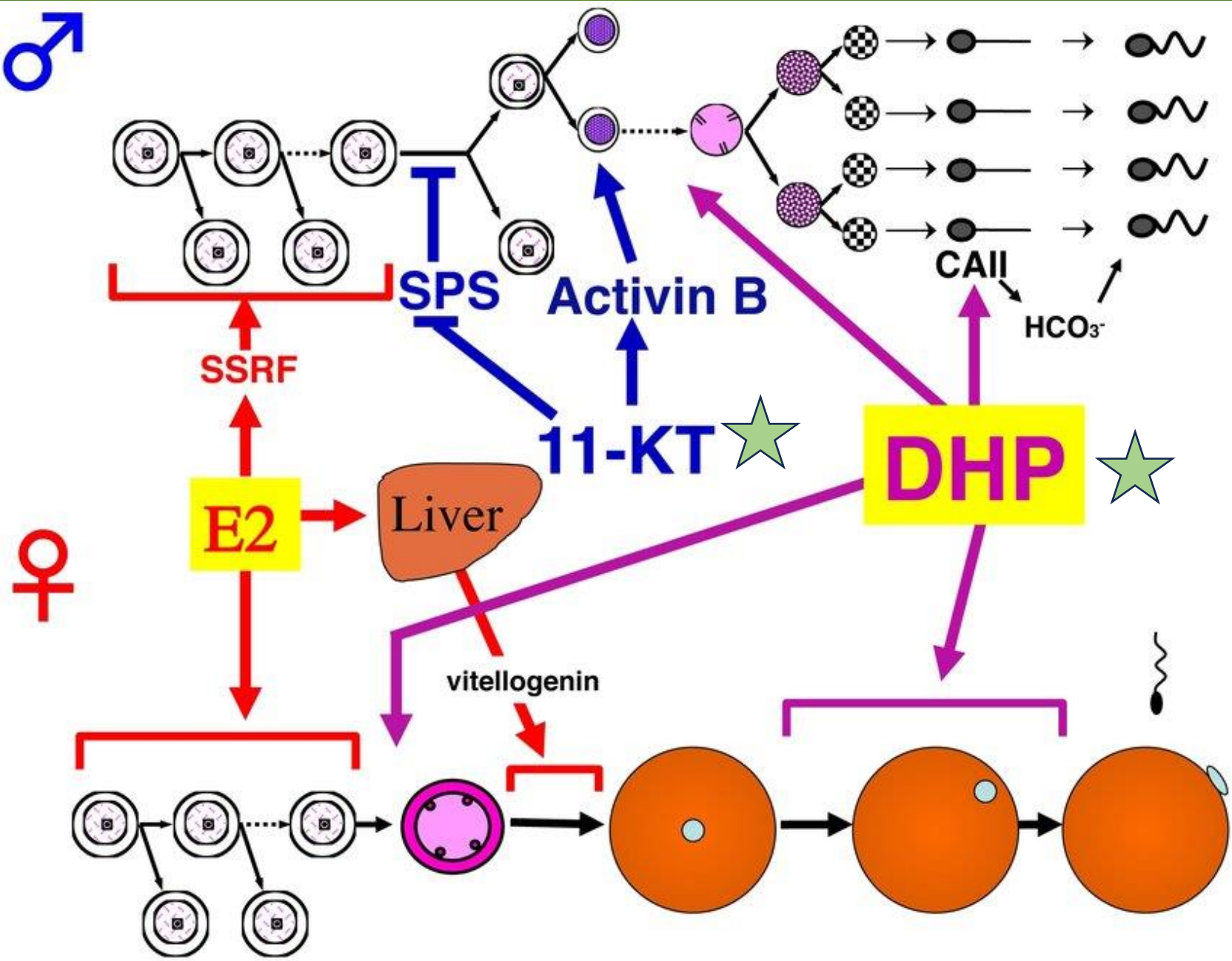
محور هیپوتالاموس-هیپوفیز - گناد HPG



GnRH = Gonadotropin-hormone releasing hormone; LH = Luteinising hormone; FSH = Follicle stimulating hormone

Zamri et al., 2022

تنظیم هورمونی گامتوزنز و رسیدگی نهایی



نوروترانسمیترهای دخیل در تنظیم تولید مثل ماهی

مونوآمینها

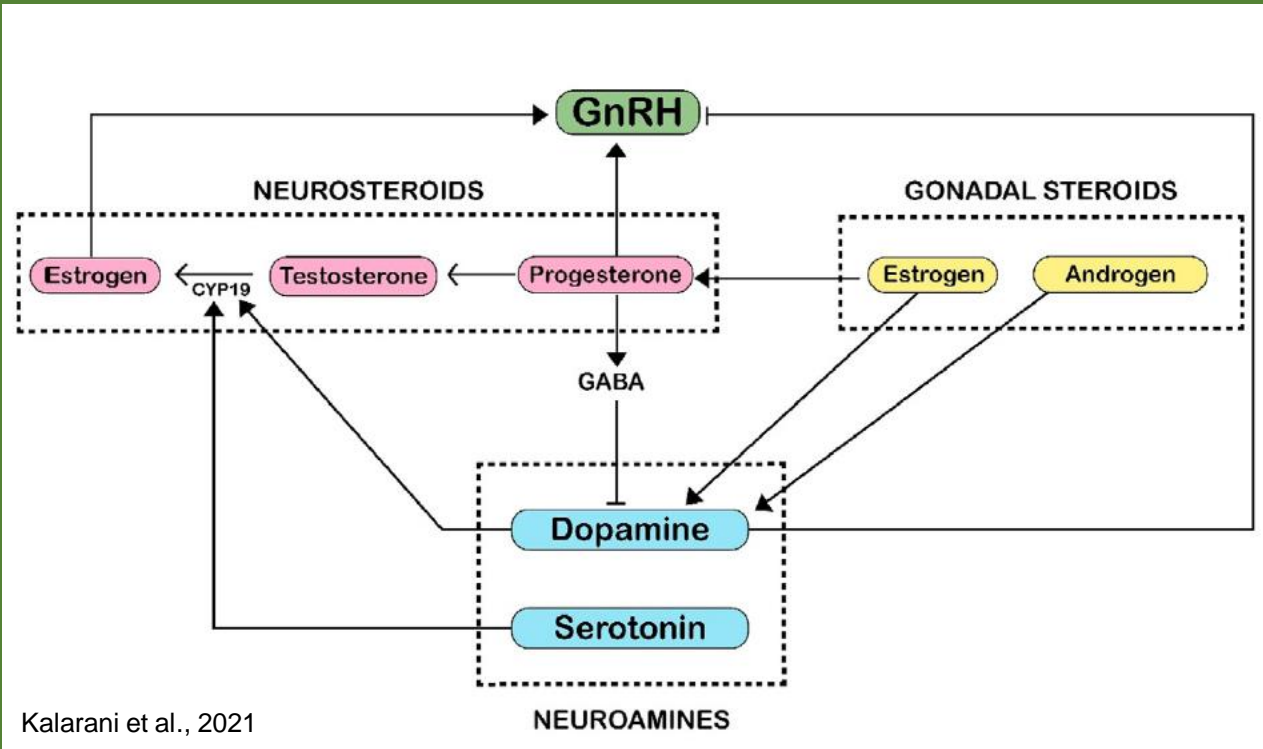
دوپامین: بازدارنده ترشح LH، تاثیر بر گیرنده های D2،
نوراپی نفرین: تاثیر بر گیرنده های α و تحریک ترشح GnRH، تاثیر بر گیرنده های شبه $\alpha 1$ و تحریک ترشح LH
سروتونین: اثر تحریک ترشح LH از طریق گیرنده های سروتونینی در سطح هیپوفیز

آمینواسیدها

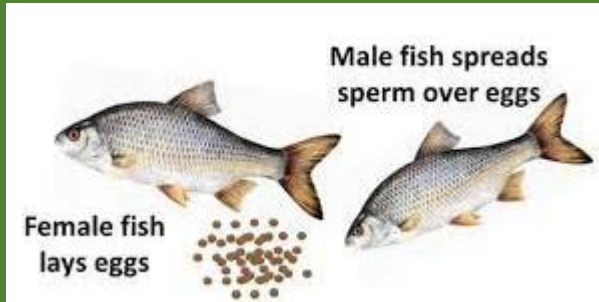
گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA): تحریک ترشح LH
تورین: افزایش سطح سرمی LH
گلوتامات: تقویت پاسخ به GnRH در سطح هیپوفیز

نوروپپتیدها

نوروپپتید Y: دخیل در آزاد سازی LH در سطح هیپوفیز
اپیوئیدها (انکفالین و بتاندورفین): القای ترشح GnRH
Kisspeptins: تحریک ترشح GnRH
و GnRH



Kalarani et al., 2021



شناسایی شرایط مناسب برای رسیدگی جنسی و تولید گامت‌های باکیفیت اولین گام برای مدیریت تکثیر مولدین

عوامل موثر در موفقیت تکثیر:

– عوامل درونی (جنسیت، سن، وراثت و ...)

– عوامل محیطی (استفاده برای دستکاری در زمان تخم ریزی، استحصال گامت‌های سالم و کاهش استرس‌های ناشی از القاء تخم‌ریزی)

عوامل محیطی موثر در تکثیر، کیفیت تخم و نوزادان:

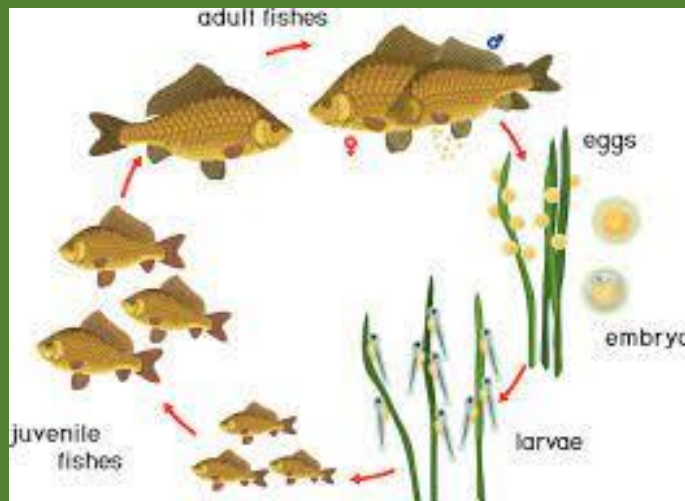
دما: افزایش دما در تکثیر ماهیان سردابی و کاهش دما در تکثیر ماهیان گرمابی پاسخ تخمدان به گنادوتروپین‌ها را به تاخیر می‌اندازد

شوری: در ماهی آزاد، که در آب‌های شیرین تخم‌ریزی می‌کند و در دریا زندگی می‌کند ممکن است قسمتی از تخمک گذاری آنها در آب دریا مهار و

هیدراتاسیون تخمک مختل شود اما در بسیاری از گونه‌های یوری‌هالین (دارای قدرت تحمل آب شور)، القاء تخم‌ریزی در شوری‌های مختلف می‌تواند

موفقیت آمیز باشد

اندازه مخزن، حجم و یا عمق آب و تراکم ماهی: غالباً در ماهیان پرورشی



تعاملات اجتماعی: تاثیر فرمون‌ها در رفتارهای جنسی و تخم‌ریزی طبیعی مولدین

نسبت جنسی نر به ماده: مساوی یا بیشتر از ۱

*رایج ترین روش تعیین مرحله رسیدگی جنسی در مزارع پرورش ماهی

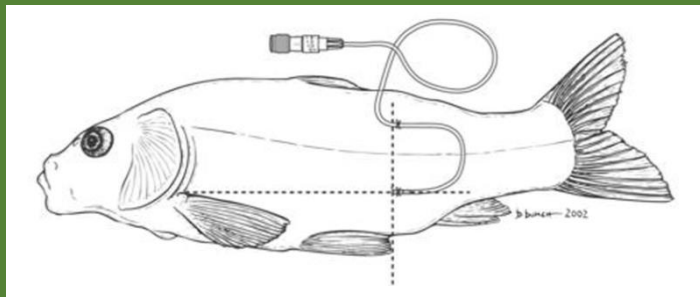
نر: وارد آوردن فشار آرام به شکم برای استحصال مقداری از مایع اسپرمی
مثالی از یک شاخص اسپرمیشن با مقیاس از ۰ تا ۳

۰ = عدم رها سازی اسپرم

۱ = پس از چندین تلاش با فشار شکم تنها یک قطره اسپرم آزاد شود

۲ = اسپرم به راحتی بعد از اولین فشار به شکم رها شود

۳ = مقادیر فراوان اسپرم با کوچکترین فشار شکمی روان شوند



ماده : نمونه برداری از تخمدان (بیوپسی با کاتاتر)

تعیین مرحله رسیدگی تخمدان:

(الف) اندازه گیری قطر متوسط یا بزرگترین قطر تخمک

(ب) تعیین موقعیت هسته (GV)

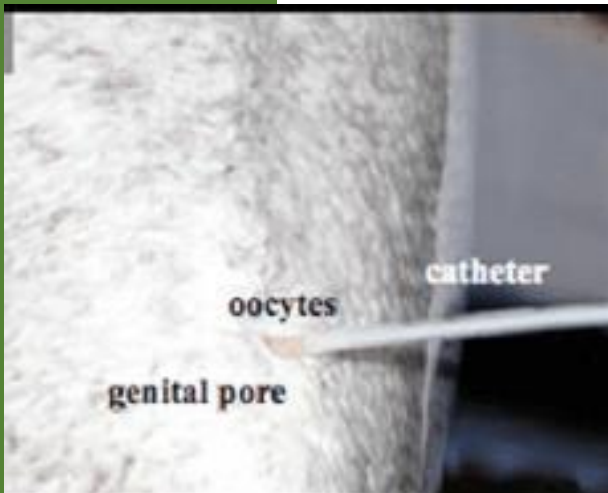
(ج) تشخیص شروع بهم پیوستن و تجمع قطرات چربی

روش های دیگر ارزیابی مرحله رسیدگی جنسی:

تعیین سطح ویتلوژنین پلاسما در ماده ها

تعیین سطح هورمون های استروئید جنسی در نر و ماده

نمونه برداری و بافت شناسی گناد





تخم‌های سالم

عدم تکمیل توسعه گناد

عدم رهاسازی گامت
(تخمک و اسپرم)

اختلالات تولید مثلی

شایع ترین اختلالات

در جنس نر:

- تولید کم مایع اسپرمی و یا اسپرم، در طول دوره اسپرمیشن

- در برخی گونه‌هایی که در وان خودبخود تخم ریزی می‌کنند:

تولید مایع اسپرمی غلیظ حاوی اسپرم‌های فاقد تحرک..... کاهش ظرفیت باروری اسپرم و کاهش درصد لقاح

- در برخی ماهی‌ها: کاهش مقدار مایع اسپرمی تولید شده در اثر سطح بسیار کم LH پلازما در طول دوره اسپرمیشن

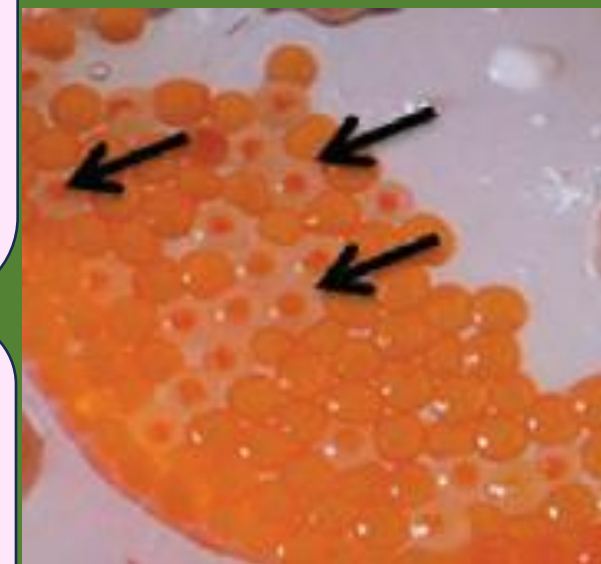
در جنس ماده:

- اختلال در مرحله ویتلوژنز بدلیل استرس ناشی از اسارت

- تکمیل ویتلوژنز اما عدم بلوغ تخمک و عدم تخم ریزی در اثر یک اختلال عملکردی در رهاسازی LH از هیپوفیز

- اختلال در مرحله تخم ریزی (آزادماهیان پرورشی)

- فوق رسیدگی تخمک‌ها در محوطه شکمی



تخم‌های فوق رسیده

وجود اختلالات تولید مثلی در شرایط اسارت

چرا در محیط های پرورشی، ماهیان دچار نارسایی های تولید مثلی می شوند؟

عوامل محیطی و اجتماعی که ماهی وحشی تحت تاثیر آنها قرار دارد با ماهی پرورشی فرق می کند.



استرس ناشی از اسارت



اختلال در محور HPG

کاهش کمیت و کیفیت اسپرم

اندازه کوچک تخمک

عدم تکمیل رسیدگی نهایی تخمک

عدم تخمک گذاری

عدم تخم ریزی

کندی یا تاخیر در گامتوژنز

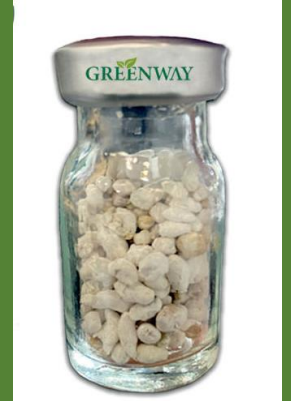
سطوح پایین هورمون های جنسی

توسعه هورمون ها برای تکثیر مصنوعی ماهیان

عصاره هیپوفیز کپور CPE

گنادوتروپین جفت انسان hCG

آنالوگ هورمون آزاد کننده گنادوتروپین
آزاد کننده ماهی آزاد (GnRH)



آنالوگ هورمون آزاد کننده
هورمون زرده ساز (LHRH)



هورمون های تجاری

mGnRH+metoclopramid



Ovopel

sGnRHa+ metoclopramide



Dagin

mGnRH_a



LHRH-A2

sGnRH_a + domperidone



Ovaprim

sGnRH_a + domperidone



Ovulin

mGnRH-a + domperidone



Aquaspawn

GnRH_a + domperidone



Ovatide

GnRH_a + domperidone



OvaPas

هورمون های دوپامین و آنتاگونیست های (GnRH)

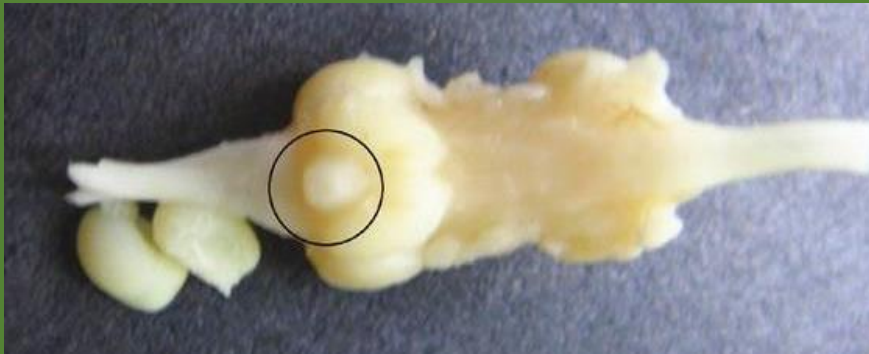
هورمون های دوپامین و آنتاگونیست های (GnRH)

عصاره هیپوفیز کپور CPE



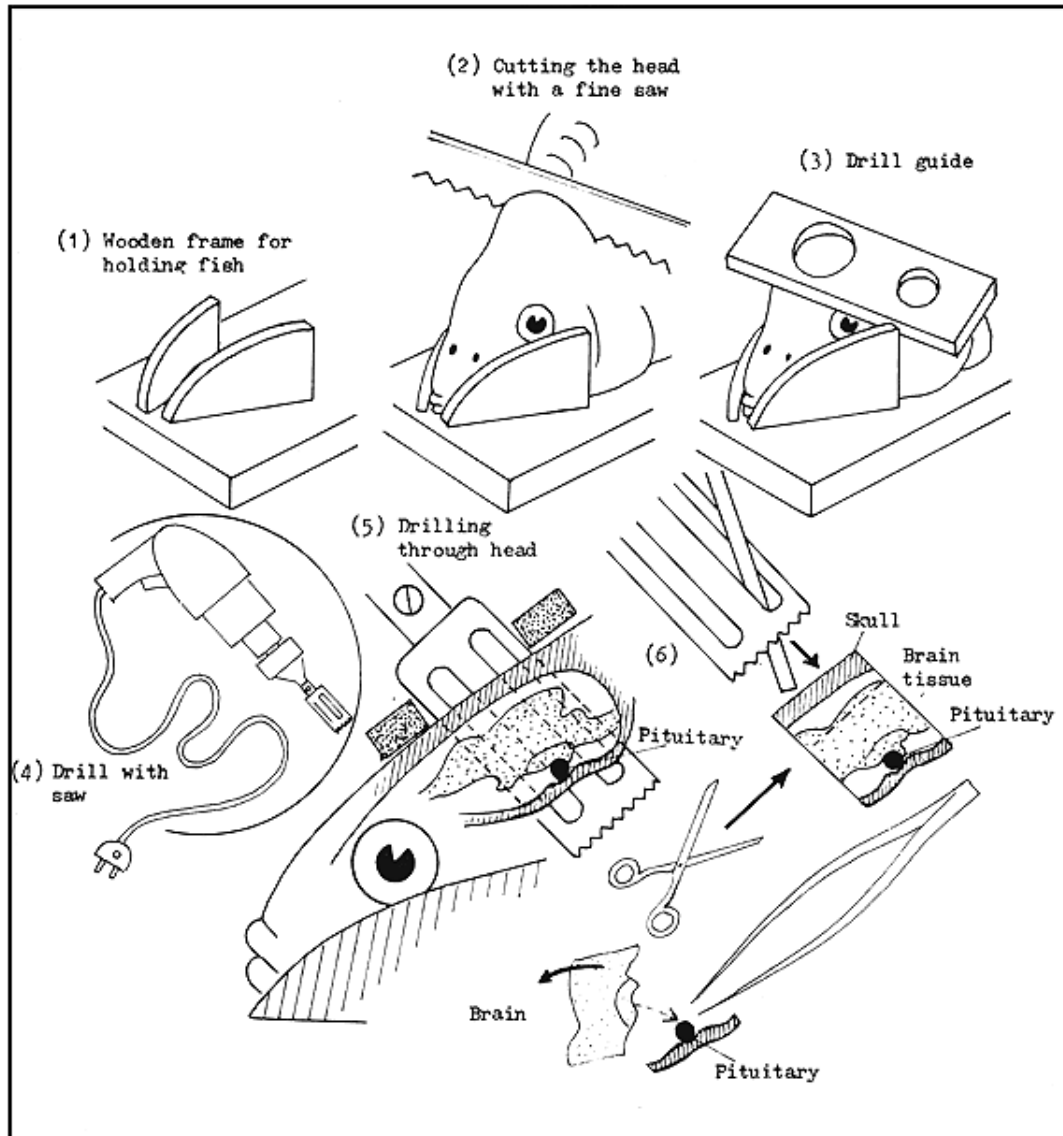
- استفاده از هیپوفیز و عصاره آن برای القاء تخم‌ریزی در ماهیان در دهه ۱۹۳۰ در برزیل آغاز شد.

* در کشور ما از عصاره هیپوفیز، نخست برای تخم‌کشی مصنوعی از ماهیان پرورشی گرم‌آبی استفاده شد (فریدپاک، ۱۳۶۱).



* بیشترین هورمون مورد استفاده برای القای تخم‌ریزی در ماهی‌ها در سراسر جهان (تکثیر کپور معمولی، کپور اصلی هندی و کپور چینی)

عصاره هیپوفیز کپور CPE



• مزایا:

• - دسترسی آسان

• - نگهداری آسان

• معایب:

• - به دست آوردن CPE دشوار، وقت گیر و ناکارآمد است،

• - وجود ناخالصی

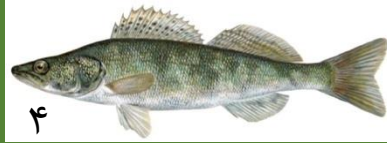
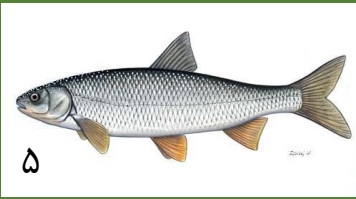
• - در گونه های مختلف، محتویات GTH هیپوفیز متفاوت است

• - انتقال بیماری ها از اهداکننده به ماهی گیرنده

• - هزینه زیاد برای خرید آن

• - کاهش ارزش اقتصادی ماهی اهدا کننده بعد از استحصال

غده هیپوفیز



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
<p>(۱) فریدپاک (۱۳۶۱) - سیفی و همکاران (۱۳۹۰)؛</p> <p>(۲) فلاحتکار و امینی (۱۳۸۲)؛</p>	<p>(۱) تحریک تخم ریزی-تحریک اسپرم سازی، اسپرم ریزی و افزایش کیفیت اسپرم</p> <p>(۲) بهبود شاخص های رسیدگی مولدین ماده نسبت به نرها</p>	<p>(۱) کپور معمولی (<i>Cyprinus carpio</i>)؛</p> <p>(۲) ماهی چالباش (<i>Acipenser gueldenstaedti</i>)؛</p>	<p>عصاره هیپوفیز</p>
<p>(۳) محمد نظری و همکاران (۱۳۸۰) - نوروزی و همکاران (۱۳۸۴)؛</p>	<p>(۳) مطلوبیت در شاخص های تکثیر، ارتباط مستقیم هورمونهای جنسی با درصد لقاح - تاثیر مثبت گلیسیرین در تکثیر مصنوعی با عصاره هیپوفیز</p>	<p>(۳) مولدین تاس ماهی ایرانی (<i>Asipenser persicus</i>)؛</p>	
<p>(۴) گلمرادی زاده و همکاران (۱۳۸۹)؛</p>	<p>(۴) القاء تخم ریزی در مولدین ماده با تزریق ۶ iu/kg BW</p>	<p>(۴) سوف سفید (<i>Sander lucioperca</i>)؛</p>	
<p>(۵) ولی پور و خانی پور (۱۳۹۴)؛</p>	<p>(۵) موفقیت در تخم ریزی با تزریق ۲-۳ mg/kg BW طی یک مرحله، در ۶۰٪ و در دو مرحله، در ۱۳٪ از مولدین، موفقیت در اسپرم ریزی تمام مولدین نر با تزریق ۴-۵ mg/kgBW طی یک مرحله</p>	<p>(۵) ماهی سفید فرم پاییزه (<i>Rutilus frisii</i>)؛</p>	

گنادوتروپین جفت انسان hCG



Zamri et al., 2022

Clarias gariepinus



Zamri et al., 2022

Clarias batrachus



Zamri et al., 2022

Heteropneustes fossilis



قلیچی و همکاران، ۱۳۸۶

Mugil cephalus



سیفی و همکاران، ۱۳۹۰

Cyprinus carpio



راهداری، ۱۳۸۹

Schizothorax zarudnyi

از خانواده هورمون های گلیکوپروتئینی است که در خون و ادرار زنان باردار توسط **Aschheim** و **Zondex** در سال ۱۹۲۷ کشف شد.



مزایا:

- خلوص شیمیایی بالا تضمین کننده اثربخشی آن
- قیمت ارزان
- نیمه عمر زیاد و پایداری بیشتر در خون

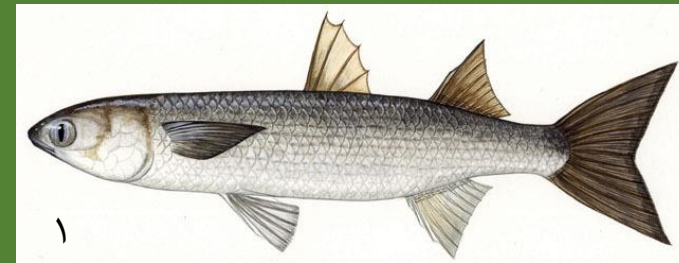
موارد استفاده:

* در دنیا:

تقویت رسیدگی نهایی تخمک و تخم ریزی موفقیت آمیز (بسیاری از گونه های گربه ماهیان)

* در ایران:

تکثیر مصنوعی کفال خاکستری *Mugil cephalus*، کپور معمولی *Cyprinus carpio*، ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi*



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
<p>(۱) قلیچی و همکاران (۱۳۸۶)؛</p> <p>(۲) زکریا پور (۱۳۸۹) -</p> <p>سیفی و همکاران (۱۳۹۰)؛</p> <p>(۳) گلمرادی زاده و همکاران (۱۳۸۹) -</p> <p>Falathkar et al., 2017</p>	<p>(۱) القاء تخم ریزی</p> <p>(۲) عدم موفقیت نسبی در تخم ریزی نسبت به اوپریم - عدم موفقیت در اسپرم ریزی در مقایسه با اوپریم و عصاره هیپوفیز</p> <p>(۳) القاء تخم ریزی در مولدین ماده با تزریق ۴۰۰ iu/kg و ۷۰۰ BW و تولید اسپرم در مولدین نر با تزریق ۳۵۰ iu/kgBW بهترین پاسخ در ماده ها با ۲۰۰iu/kg در تزریق اول و ۴۰۰iu/kg در تزریق دوم و در نرها با ۲۰۰iu/kg طی یک تزریق</p>	<p>(۱) کفال خاکستری <i>Mugil cephalus</i></p> <p>(۲) کپور معمولی</p> <p>(۳) سوف سفید</p>	<p>HCG</p>

هورمون های سنتتیک آزاد کننده ی گنادوتروپین (GnRH)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Native peptides										
Mammal (mGnRH)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	Tyr-	Gly-	Leu-	Arg-	Pro-	Gly-NH ₂
Sea bream (sbGnRH)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	Tyr-	Gly-	Leu-	<u>Ser-</u>	Pro-	Gly-NH ₂
Salmon (sGnRH)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	Tyr-	Gly-	<u>Trp-</u>	<u>Leu-</u>	Pro-	Gly-NH ₂
Chicken II (cGnRH II)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	<u>His-</u>	Gly-	<u>Trp-</u>	<u>Gln-</u>	Pro-	Gly-NH ₂
Synthetic agonists										
Mammal (mGnRHa)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	Tyr-DAla-	Leu-	Arg-	Pro-	NEt	
Salmon (sGnRHa)	pGlu	-His-	Trp-	Ser-	Tyr-DArg-	Trp-	Leu-	Pro-	NEt	

در اوایل دهه ۱۹۷۰ در هیپوتالاموس پستانداران شناسایی شد
یک دکاپپتید (تجزیه خیلی سریع و دفع از بدن در کمتر از ۲۳ دقیقه)

تولید نوع سنتتیک بنام GnRHa به شکل صنعتی
در مقابل تجزیه آنزیمی پایدار است (نیمه عمر بالایی داشته و میتواند
ترشح GnH را برای مدت زمان زیادی تحریک نماید)

توالی اسید آمینه های چهار GnRH مربوط به GnRH بدن پستانداران، جوجه
و دو گونه ماهی و دو آگونیست سنتتیک فعال (GnRHa) که در موقعیت ۶، اسید
امینه D و در موقعیت ۱۰ یک گروه اتیل آمید (NEt) را جایگزین نموده اند.

مزایا

- مشخص بودن ساختار مولکولی
- امکان ساخت صنعتی آنها و آنالوگ های فوق فعالشان
- عدم تحریک پاسخ ایمنی در بدن ماهی
- تولید به شکل خالص (کاهش انتقال بیماری)
- تشابه ساختاری در اکثر ماهیان (قابل استفاده در بیشتر ماهی ها)
- اصلاح اختلالات هورمونی درون ریز مسبب نقص در مراحل بلوغ تخمک، اوولاسیون و تخم ریزی
- عمل در سطح بالاتر از محور HPG (سبب تحریک ترشح LH همان گونه، تحریک منظم تر
محورهای درون ریز تولید مثلی، سازگاری بهتر با سایر هورمون ها و فرایندهای فیزیولوژیک دخیل
در بلوغ تخمک، تخم ریزی و اسپرم ریزی (پرولاکتین، هورمون رشد و هورمونهای تیروئیدی)



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
(۱) پیکان حیرتی و همکاران (۱۳۸۰) - دُرافشان و همکاران (۱۳۸۱)؛	(۱) تاثیر مثبت در اسپرم دهی	(۱) قزل آلی رنگین کمان (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)؛	آنالوگ های GnRH (GnRHa)
(۲) زاد مجید و همکاران (۱۳۸۸)؛	(۲) تاثیر معنی دار بر شاخص های کیفیت اسپرم در نژاد های ساده و چهاردم دم چادری ماهی قرمز نسبت به نژادهای دم چادری و چهاردم	(۲) ماهی قرمز (<i>Carassius auratus</i>) (<i>gibelio</i>)؛	
(۳) یونس زاده فشالمی و همکاران (۱۳۸۸)؛	(۳) القاء اوولاسیون در ۷۱٪ مولدین و وجود اختلاف معنی دار در استروئید های جنسی و کورتیزول در مولدین اووله شده و اووله نشده	(۳) اوزون برون ماده <i>Acipenser stellatus</i>	

Luteinizing Hormone – Releasing Hormone analogue (des-Gly10, [D-Ala6] LH-RH Ethylamide)

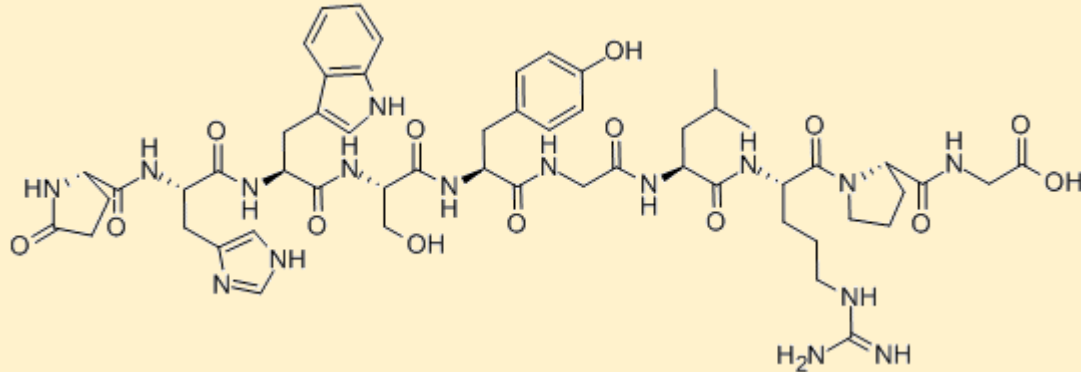
آنالوگ هورمون آزاد کننده هورمون جسم زرد (LHRHa)



یک آنالوگ مصنوعی از یک دکاپتید هیپوتالاموسی است که گنادوتروف های هیپوفیز را تحریک به ترشح LH می نماید

القای تخم ریزی در گونه های دریایی (milkfish, rabbitfish, sea bass, and mullet) با یکبار تزریق LHRHa

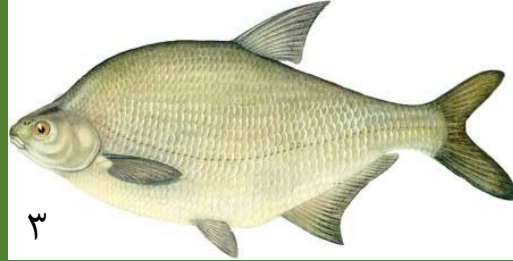
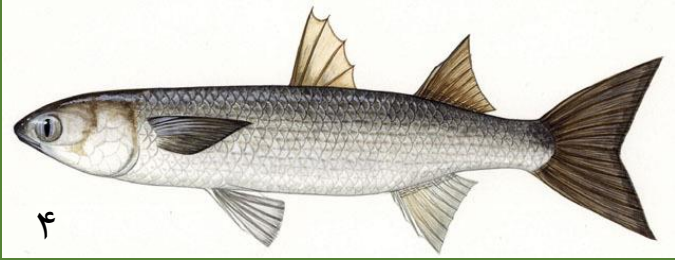
عدم تاثیر تزریق این هورمون به تنهایی برای چند گونه از ماهیان آب شیرین، از جمله خانواده کپور ماهیان (silver carp, common carp, mud carp, black carp, grass carp, and loach)



مزایای LHRHa

تکرار پذیری بدون از دست دادن کارایی و توانایی تولید LHRHa به شکل خالص پایدار بالا

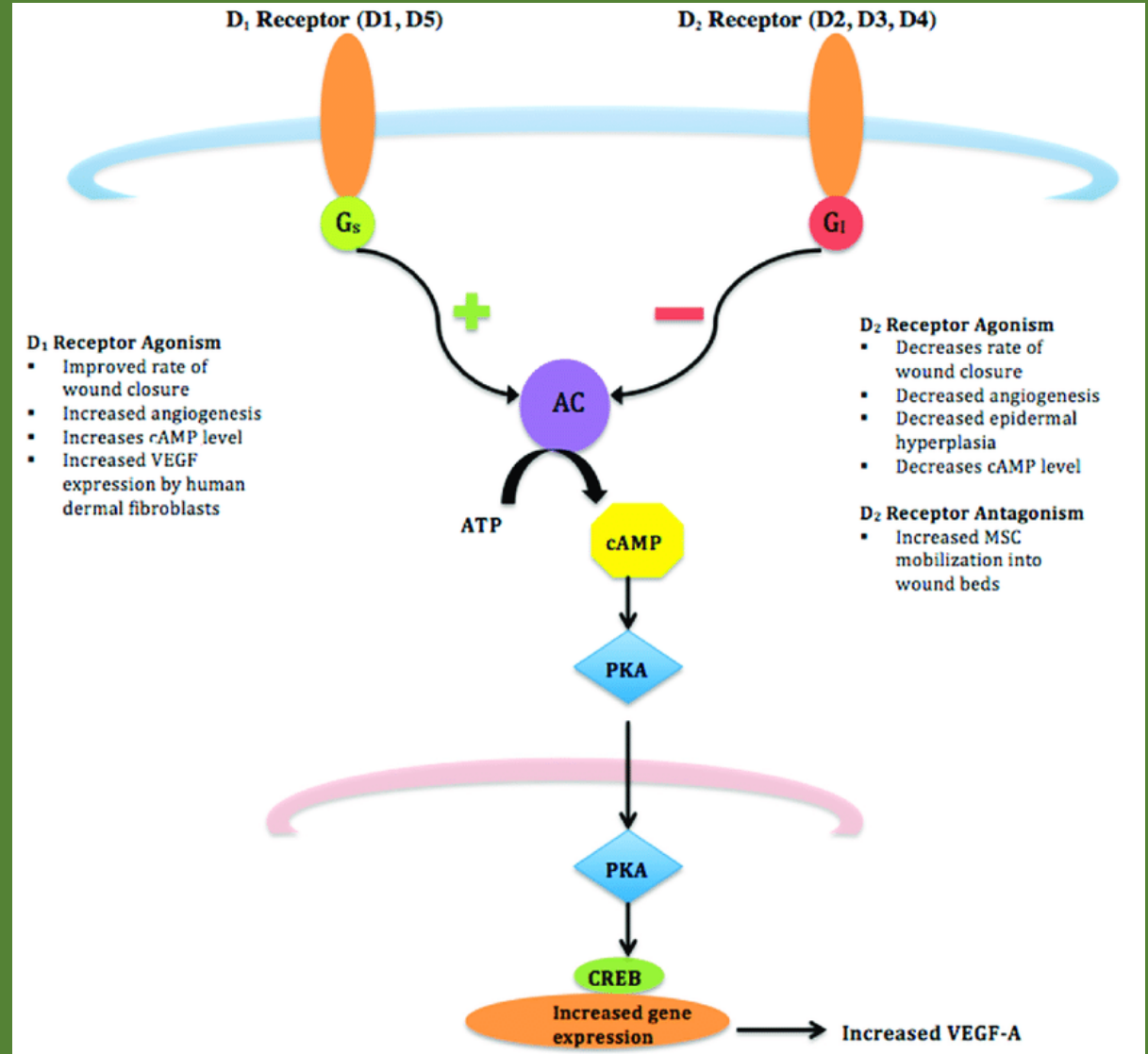
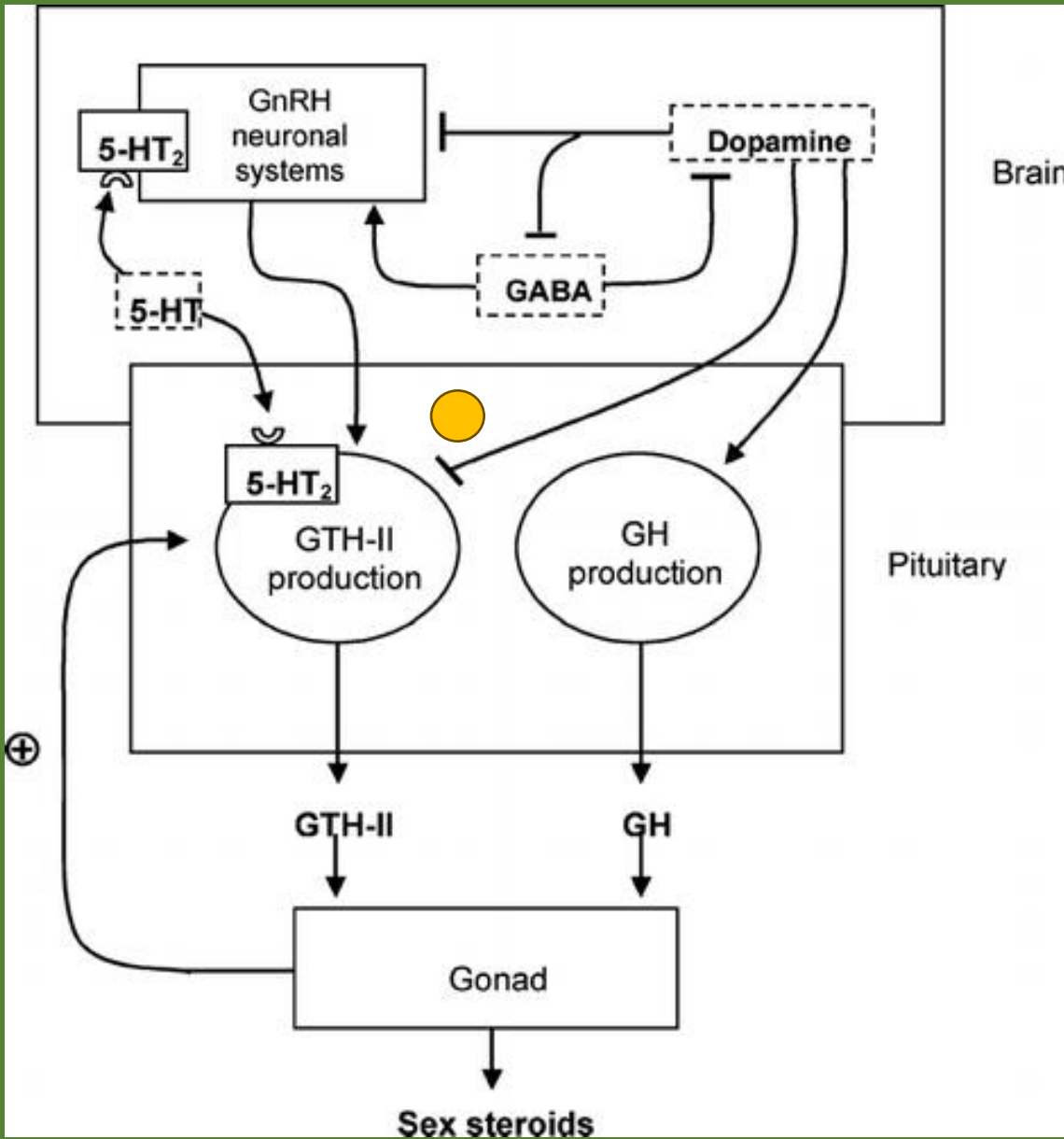
بنابراین، آنالوگ های مصنوعی LHRHa به طور فزاینده ای برای القای تخم گذاری و تخم ریزی در ماهیان استخوانی استفاده می شوند زیرا این هورمون با دوز دقیق بسیار پایدار است.

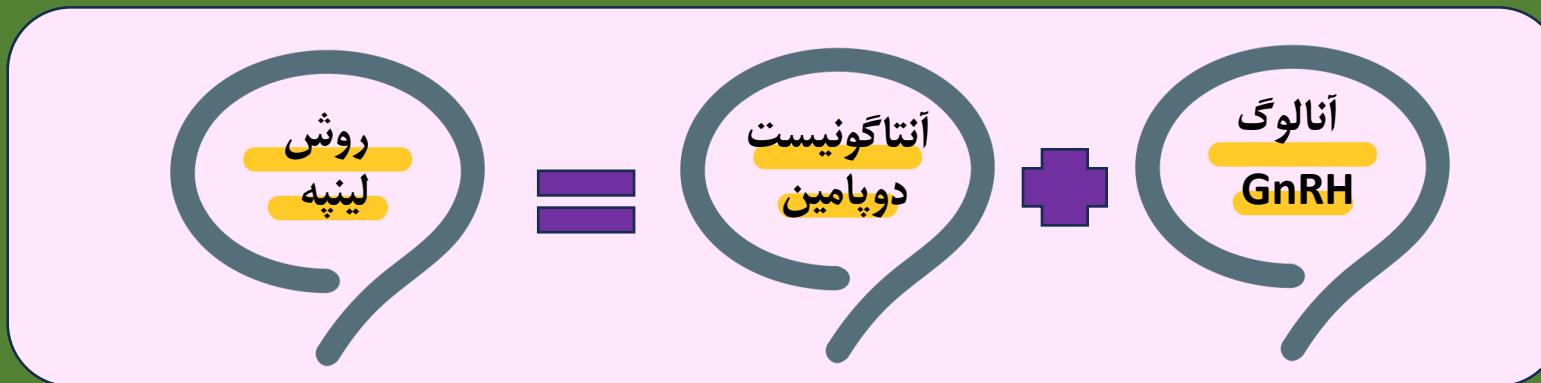


منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
(۱) بهمنش (۱۳۸۱)؛ (۲) نظری و ملانلوکرد کلایی (۱۳۸۷)؛	(۱) اثرات مطلوب در تحریک رسیدگی تخم ها و اوولاسیون و اسپرم ریزی (۲) تکثیر مصنوعی ۱۰۰٪ با دوزهای ۳/۵، ۷ و ۸ $\mu\text{g}/\text{kg}$	(۱) ازون برون <i>Acipenser stellatus</i> (۲) تاس ماهی ایرانی <i>Asipenser persicus</i>	LHRHa
(۳) کوهی لای و همکاران (۱۳۸۹)؛ (۴) قلیچی و همکاران (۱۳۸۶)؛ (۵) Aramli et al., 2013	(۳) غلظت بهینه ۳ $\mu\text{g}/\text{ml}$ موثر بر اوولاسیون و تخم ریزی (۴) موفقیت در تخم ریزی در تزریق دو مرحله ای (۵) افزایش هورمون های تستوسترون، ۱۱ کتو تستوسترون و P4 در اسپرم ریزی	(۳) ماهی سیم (۴) کفال خاکستری (۵) تاس ماهی ایرانی <i>Asipenser persicus</i> (۶) <i>(Abramis brama orientalis)</i>	LHRHa ₂

دوپامین ممانعت کننده تکثیر

آنتاگونیست های دوپامین: متوکلوپرامید، دامپریدون، پیموزاید و کلرپرومازین





* موثر برای کپور نقره ای، کپور معمولی، کپور گلی، کپور سیاه، کپور علفخوار و لوچ است

* روش Linpe موثر است و استرس را در مولدین کاهش می دهد زیرا فقط به یک تزریق نیاز دارد.

تزریق داخل صفاقی یا عضلانی برای همگام سازی و افزایش تخم ریزی ماهی

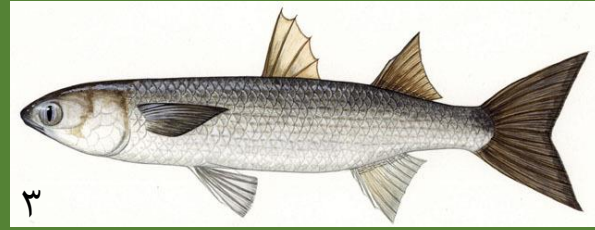
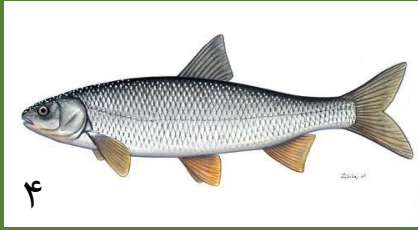


sGnRHa + domperidone

Ovaprim



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
<p>(۱) امینی (۱۳۷۴) - بهمنی و همکاران (۱۳۸۴)؛</p> <p>(۲) محمدیان و همکاران (۱۳۸۸)؛</p>	<p>(۱) عدم نیاز به متوکلوپرامید در ترکیب با GnRH جهت القاء تخم ریزی - موفقیت در تکثیر مولدین نر در مقادیر ۲۰ و ۳۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ از GnRH به ترتیب همراه با مقادیر ۱ و ۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$ دامپریدون و مولدین ماده در مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ از GnRH همراه ۲ mg/kg دامپریدون</p> <p>(۲) مناسب بودن ترکیب GnRH با دامپریدون برای تکثیر مصنوعی</p>	<p>(۱) ازون برون</p> <p>(۲) ماهی بنی (<i>Barbus sharpeyi</i>)؛</p>	<p>ترکیب GnRH با الف: (متوکلوپرامید) ؛ و یا با ب: (دامپریدون)</p>



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
<p>(۱) کاشانی ثابت و همکاران (۱۳۸۳)؛</p> <p>(۲) قبادی (۱۳۸۳)؛</p>	<p>(۱) پاسخ دهی ۱۰۰٪ با ترکیب ۱۵ mg/kg LHRHa و ۲µg متوکلوپرامید</p> <p>(۲) استفاده از پیموزاید به تنهایی یا در ترکیب با LHRHa باعث کاهش LH شد بنابراین پیموزاید تاثیری بر پیشرفت رسیدگی جنسی نداشت</p>	<p>(۱) فیتوفاگ (<i>Hypophthalmichthys</i>)</p> <p>(۲) کپور معمولی</p>	<p>ترکیب LHRHa با الف: (متوکلوپرامید و دامپریدون) ؛ و یا با ب: (پیموزاید)</p>
<p>(۱) میر هاشمی رستمی و همکاران (۱۳۸۴)؛</p> <p>(۲) Ahmadnezhad et al., 2013</p>	<p>(۱) بهتر بودن وضعیت مولدین تیمار شده با روش چند تزریقی از ترکیب LHRHa₂ با دامپریدون نسبت به مولدین تیمار شده با روش تزریق یک مرحله ای</p> <p>(۲) افزایش بازدهی تکثیر در تزریق با ترکیب LHRHa₂ و پیموزاید در مقایسه با LHRHa₂ به تنهایی با در ترکیب با کلرپرومازین</p>	<p>(۱) کفال خاکستری</p> <p>(۲) ماهی سفید</p>	<p>ترکیب LHRHa₂ با الف: (دامپریدون) ؛ و یا با ب: (پیموزاید و کلرپرومازین)</p>



منبع	نتیجه	گونه ماهی	هورمون
<p>(۱) سیفی و همکاران (۱۳۹۰) - زکریا پور (۱۳۸۹)؛ (۲) راهداری (۱۳۸۹)؛ (۳) خداینده شلمانی و همکاران (۱۳۹۳)؛ (۴) خوال و همکاران (۱۳۹۳)؛</p>	<p>(۱) تحریک اسپرم سازی و اسپرم ریزی و افزایش کیفیت اسپرم-موفقیت در تخم ریزی (۲) موفقیت در تکثیر مصنوعی (۳) کارایی بهتر اوپریم در مقایسه با عصاره هیپوفیز در القاء تخم ریزی (۴) مناسب ترین غلظت تزریقی اوپریم برای تکثیر مصنوعی ۱۰ و ۲۰ iu/kg BW بود</p>	<p>(۱) کپور معمولی (۲) ماهی سفیدک سیستان (Schizothorax zarudnyi)؛ (۳) ماهی آمو (Ctenopharyngodon idella)؛ (۴) اردک ماهی (Esox lucius)؛</p>	<p>اوپریم Ovaprim</p>

همگام سازی تخم ریزی ها و کاهش زمان انتظار و شکست تخم ریزی



GnRHa + domperidone

مدت کوتاهی پس از تزریق باعث بلوغ تخمک در ماهی ماده و تحریک تولید و بلوغ اسپرم در ماهی نر می شود و نتایج آن به سرعت قابل مشاهده است. همگام سازی تخم ریزی در استخر پرورش ماهی یکی از نتایج مهم تزریق این محصول است. در شرایط عادی معمولاً یک یا دو تزریق از این محصول کافی است.

آنالوگ هورمون آزاد کننده (LHRH-A2)

توانایی همگام سازی تخم ریزی ها و کاهش زمان انتظار و شکست تخم ریزی ماهی هدف: برای ماهی کپور نقره ای، ماهی کپور و ماهیان خاویاری سیبری مناسب و مطلوب است.

پودر پایدار حاوی GnRHa برای القای تخم ریزی در ماهیان گرمابی (کپور، ماهی سفید و شیزوتراکس) ویژگی های هورمون سی پاس برای ماهی سی باس آسیایی *calcarifer Lates* هورمون تراپی برای حدود ۱۳۰-۱۴۰ مولد سی باس با وزن تقریبی ۲ کیلوگرم. دوز تزریق: ۱۰ الی ۱۵ میکروگرم به ازای کیلوگرم (در دو نوبت تزریق با فاصله ۲۴ ساعت). بعد از حدود ۸ الی ۱۲ ساعت بعد تزریق دوم تخم ریزی به مدت ۲-۳ روز متوالی. هماوری نسبی شیلاتی ۳۳۰.۰۰۰ تخم به ازای یک کیلوگرم مولد. درصد تخم لقاح یافته ۸۵-۹۰ درصد.



هورمون القای تخم ریزی در ماهیان سردابی (قل آلا)

عوامل موثر بر انتخاب هورمون و دوز برای تخم ریزی ماهی

گونه ماهی : نیاز متفاوت گونه‌های مختلف ماهی به هورمون‌ها و دوزهای متفاوت (مثال: کپور و گربه ماهی را می‌توان با استفاده از عصاره هیپوفیز و یا GnRH تحریک کرد، در حالی که ماهی قزل‌آلا و ماهی آزاد به هورمون‌های سنتتیک مانند آنالوگ‌های هورمون آزاد کننده هورمون جسم زرد (LHRHa) یا آنالوگ‌های هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRHa) نیاز دارند)

سن و اندازه ماهی: نیاز به دوز کمتر هورمون برای ماهی‌های جوان‌تر و کوچک‌تر در مقایسه با ماهی‌های مسن‌تر و بزرگ‌تر

نتیجه تخم ریزی مطلوب : درمان‌های هورمونی مختلف منجر به درجات متفاوتی از موفقیت لقاح، کیفیت تخم و میزان بقای لاروها می‌شوند.

در دسترس بودن و هزینه هورمون‌ها : برخی از هورمون‌ها در مناطق خاص یا برای گونه‌های خاص به راحتی در دسترس یا مقرون به صرفه اند.

روش های مختلف هورمون تراپی در ماهیان

الف) روش های سریع استفاده از هورمون

۱- تزریق به صورت سوسپانسیون به دو روش:

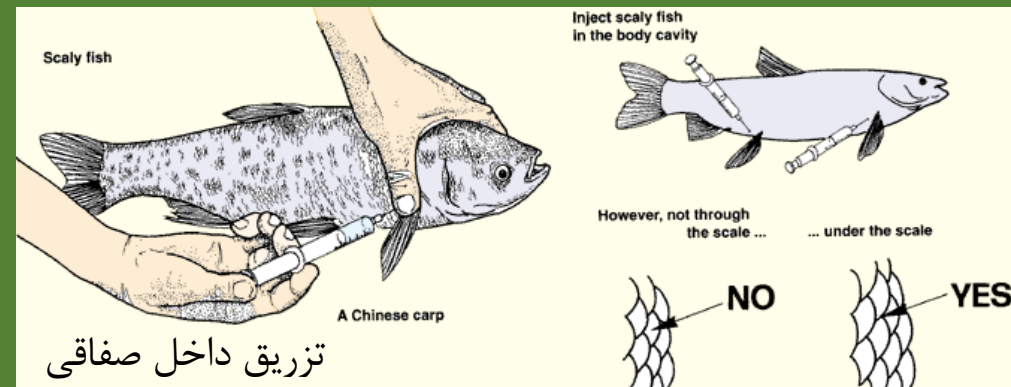
الف) داخل صفاقی (در حفره ی بدن) در بخش شکمی ماهی زیر باله ی شکمی یا باله ی سینه ای،

ب) تزریق عضلانی معمولاً در بخش پشتی بدن ماهی بالای خط جانبی و زیر بخش قدامی باله ی پشتی.

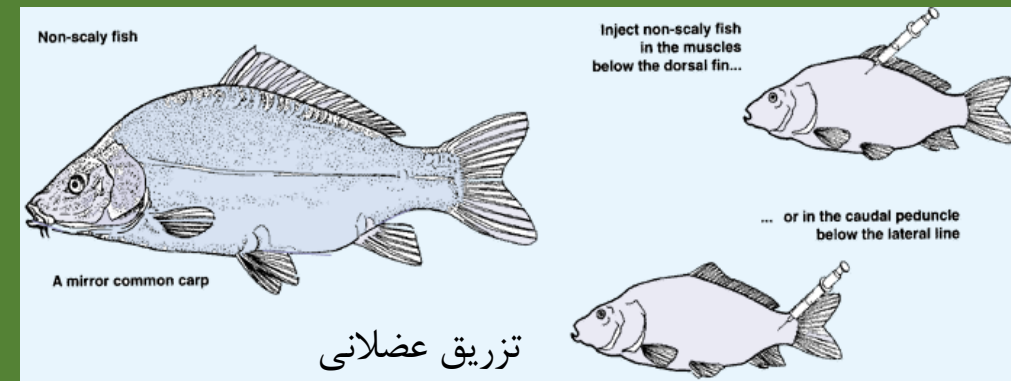
۲- بکار بردن هورمون در آب آکواریوم

۳- غوطه وری ماهی در حمام آب ساکن حاوی هورمون (این روش معمولاً برای گونه هایی مانند اکثر آزاد ماهیان مورد استفاده قرار می گیرد که فرآیند تمایز جنسی در آنها کمی بعد از تخم گشایی به وقوع می پیوندد).

ب) روش کند: درمان غذایی، کپسول هورمونی، پلت های کلسترولی.



تزریق داخل صفاقی



تزریق عضلانی



هدف از هورمون تراپی در تکثیر ماهیان

هدف از هورمون تراپی در ماهیان پرورشی نر: افزایش تولید مایع اسپرمی و تکمیل اسپرماتوژنز (اسپرمیوژنز و اسپرمیشن)

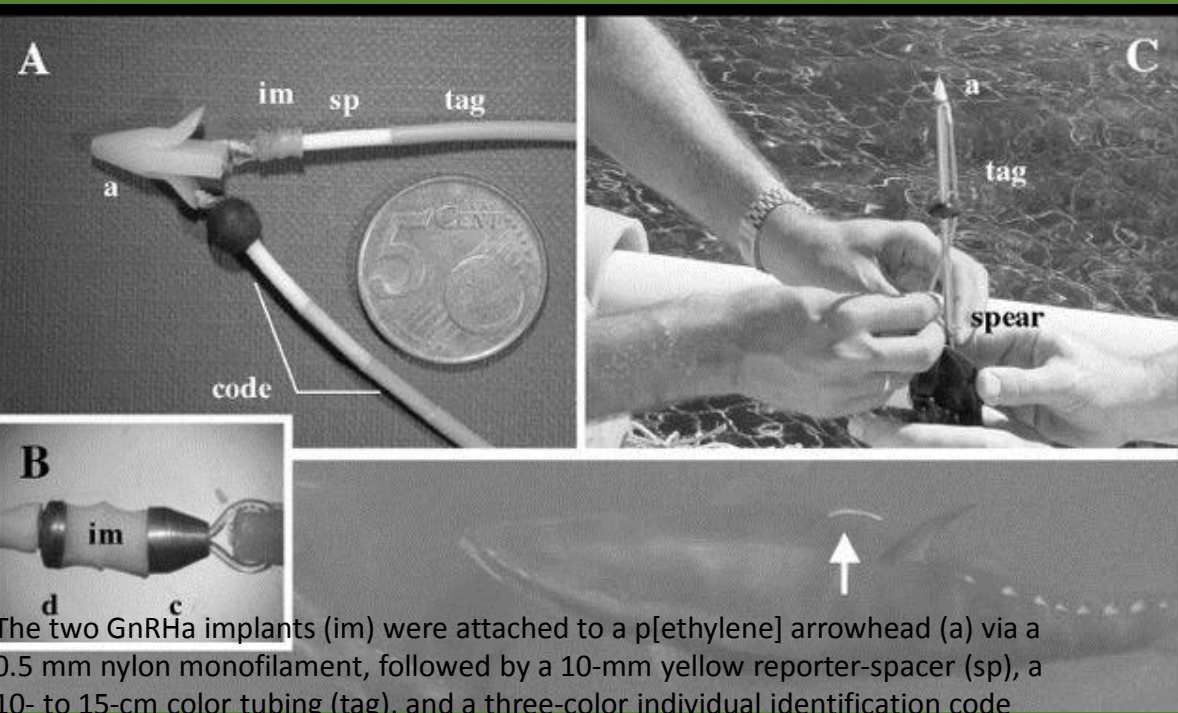


هدف از هورمون تراپی در ماهیان ماده
(الف) برای تحریک و یا تکمیل ویتلوژنز و تکمیل درمانی برای بلوغ تخمک و اوولاسیون؛
(ب) فقط برای القای بلوغ تخمک OM و تخمک‌گذاری (اوولاسیون)

بدلیل وجود تفاوت در مدل توسعه تخمدانی و نوع تخم ریزی در انواع ماهی ها هورمون تراپی در هر یک از آنها متفاوت است

در ماهیان دارای تخم‌ریزی همزمان (synchronous) و تخم‌ریزی همزمان یک‌دسته‌ای (single-batch synchronous) : روش یک یا دوبار تزریق هورمون

در ماهیان دارای تخم‌ریزی همزمان چنددسته‌ای (multiple-batch synchronous) و تخم‌ریزی ناهمزمان (asynchronous): روش کاشت هورمون



The two GnRH α implants (im) were attached to a p[ethylene] arrowhead (a) via a 0.5 mm nylon monofilament, followed by a 10-mm yellow reporter-spacer (sp), a 10- to 15-cm color tubing (tag), and a three-color individual identification code

مزایا و معایب روش های تزریق و کاشت

روش کاشت

معایب

-انجام سخت تر
-گران قیمت تر

مزایا

-کاهش استرس به مولدین
-کاهش آسیب به مولدین نادر
-بالا بودن سطح LH برای طولانی مدت
-یکبار دستکاری
-موثر در تمام ماهیان تست شده

روش تزریق

معایب

-افزایش کوتاه مدت LH
-نیاز به تزریقات متعدد
-عدم تاثیر در بسیاری از ماهیان

مزایا

روش انجام آسان
ارزان قیمت تر

انواع روش های کاشت (سیستم های رهش)

پلت های کلستروله

پلت های سریع

مقدار کلسترول پلت $> 95\%$
 90% از محتوای GnRH، در 24 ساعت آزاد می شود

پلت های کند

مقدار کلسترول پلت $< 95\%$
 20% از محتوای GnRH، در 24 ساعت اول و 20% دیگر طی 5 هفته بعد آزاد می شود

مقدار GnRH در هر پلت: 20-25 میکروگرم

- محل کاشت:
محوطه صفاقی
بافت عضلانی

روش کاشت:
جراحی ریز
با ایمپلنتر

پلت های کلستروله

پلت های کوپلیمر EVAc

پلت های ریز کره ای زیست تجزیه پذیر

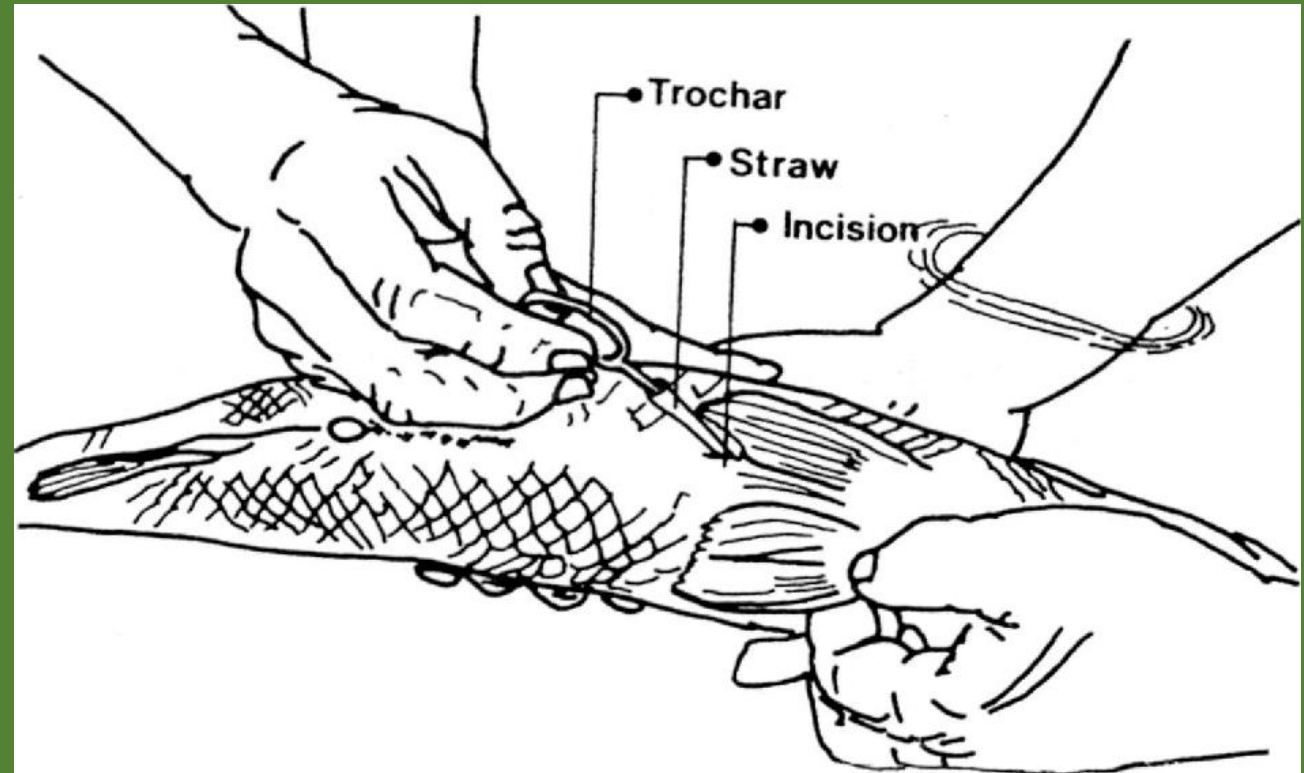
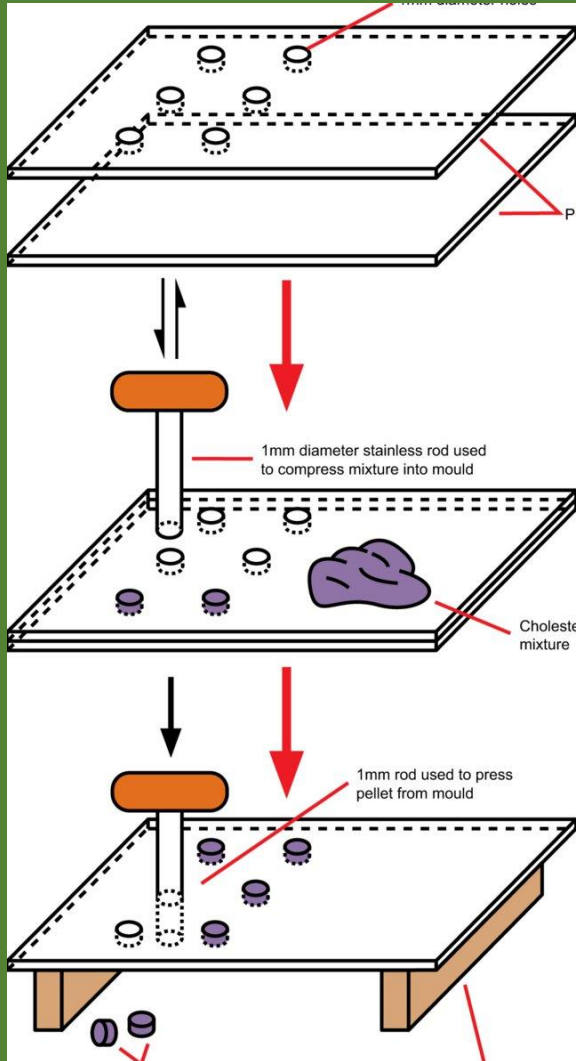
مزایا

- ارزان
- قابل ساخت در مراکز تکثیر
- سادگی روش استفاده
- عدم ضرر دارویی
- قابل نگهداری در دمای اتاق به مدت 4 ماه

معایب

- نوسان مقدار آزاد شدن هورمون از هر پلت به پلت دیگر
- احتمال تاثیر گذاری محتوای کلسترولی پلت به دلیل پیش ساز بودن هورمون های استروئیدی

پلت های کلستروله



کاشت پلت حاوی هورمون در بدن ماهی باس دریایی

روش ساخت پلت های کلسترولی
حاوی هورمون

پلت های کوپلیمر EVAc

Ethylene-vinyl acetate copolymer

معایب

- نیاز به تخصص و تجهیزات برای تولید (نمی توان در مراکز تکثیر ساخت)

- نگرانی در ایجاد پاسخ ایمنی در بدن ماهی نسبت به آلبومین سرم گاوی موجود در پلت

مزایا

- کاربرد آسان که به ماهی آسیب نمی زند

- ماندگاری ۳ سال در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد

پلت های لاستیکی حاوی:
پلیمر
اینولین
آلبومین سرم گاوی
GnRH_a

طول : ۲ mm
قطر: ۲-۳ mm
وزن یک پلت: ۵-۱۵mg

روش کاشت: با
ایمپلنترهای سرنگ مانند

دوز : ۲۰-۲۵ میکروگرم
مدت آزاد سازی هورمون:
حدود ۱۵ روز

Biodegradable microspheres

معایب

ساخت سخت تر

نیاز به تجهیزات برای ساخت

مزایا

به شکل مایع نیز قابل تهیه اند

برای ماهی های از ۱۰ گرم تا ۱۰ کیلوگرم قابل استفاده اند

برای مولدین زینتی هم مناسب اند

پلت ها :
پلیمرهای

Polyanhydrides

کره های ریز **GnRH** با
قطر: ۲۰۰-۵ میکرون

قابل ساخت به روش
تبخیر حلال

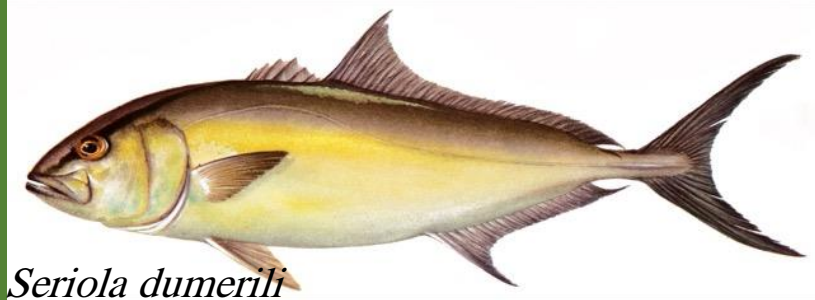
مدت آزاد سازی هورمون:
تا ۸ هفته

گونه هایی که کاشت هورمون در آنها انجام شده است



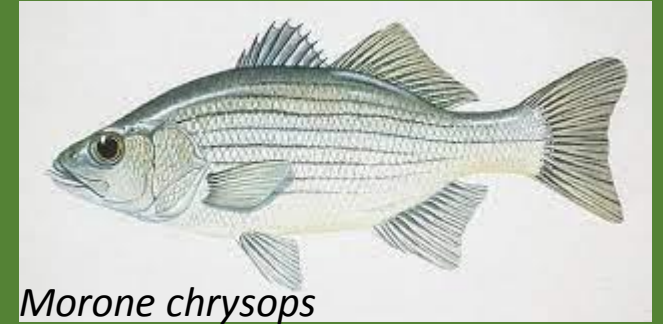
Lates calcarifer

باراموندی



Seriola dumerili

آمبرجک بزرگ



Morone chrysops

باس سفید



Acipenser persicus

تاس ماهی ایرانی



Epinephelus marginatus

هامور

روش کاشت هورمون دارای تکنیک پیچیده ای است و نیاز به تجهیزات اختصاصی دارد
از لحاظ اقتصادی قابل توصیه برای همه ماهیان نیست
در مواقعی که در برخی گونه ها پاسخی به دنبال نداشته باشد می تواند مورد استفاده قرار گیرد

جمع بندی

تکثیر ماهیان از طریق القای هورمونی در موارد زیر انجام پذیر است:
برای مولدینی که در شرایط اسارت تولید مثل نمی کنند یا عملکرد تولیدمثلی آنها کم است
به منظور همزمانی رسیدگی جنسی در نرها و ماده ها
برای ماهیانی که شرایط اکولوژیک و شرایط زیستی تولید مثل طبیعی آنها به خوبی شناخته نشده است
برای ماهیانی که فراهم نمودن شرایط محیطی لازم برای تولید مثل طبیعی آنها امکان پذیر نیست
برای همزمان نمودن تخم ریزی در ماهیانی که تخمک های آنها بصورت دسته دسته بالغ می شوند
برای تولید ماهیان در خارج از فصل تولید مثل

برای اجرای موفق تکثیر مولدین، شناسایی شرایط مناسب برای رسیدگی جنسی و تولید گامت‌های باکیفیت، آشنایی با فرایند تولید مثل در بدن ماهی و ارزیابی روند رسیدگی جنسی و آشنایی با انواع اختلالات تولید مثلی از اهمیت خاصی برخوردارند.
تکثیر از طریق القای هورمونی عمدتاً به دو روش تزریق و کاشت هورمون انجام می شود
روش تزریق به دلیل ارزان بودن و آسان تر بودن بیشتر رایج است
عصاره هیپوفیز رایج ترین هورمون تزریقی در مراکز پرورش ماهی دنیاست اما تزریق هورمون های سنتتیک بدلیل خلوص و عمل در سطح بالاتر در محور HPG در تکثیر ماهیان بویژه با تخم ریزی همزمان موثرترند.
در برخی ماهیان دوپامین تاثیر بازدارنده بر ترشح هورمون های بالادست محور HPG دارد که در روش لینه با ترکیب یک بازدارنده اثر دوپامین همراه با هورمون سنتتیک روش القای هورمونی را بهبود بخشیدند.
برای ماهیانی که تخم‌ریزی همزمان چنددسته ای و یا تخم‌ریزی ناهمزمان دارند روش کاشت موثرتر است زیرا در این روش سطح LH به مدت طولانی تری در بدن بالانگه داشته می شود.



سپاس



مهر تو زم و رشد تو لید^{۱۴۰۲}

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی



موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

معاونت علمی و فناوری
شبکه دانش کشاورزی

سلسله برنامه‌های ویدیو کنفرانس انتقال دانش به‌روز در گستره ملی بخش کشاورزی

عنوان:

کاربرد هورمون های سنتتیک در تکثیر ماهیان

سخنران:

محدثه احمدنژاد

عضو هیأت علمی پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشور (بندرانزلی)

۱۷ دی ۱۴۰۲ - ساعت: ۱۰