# اثر تیمارهای هورمونی بر تخم‌ریزی و کیفیت لارو تولیدی ماهی شانک باله زرد عربی (*Acanthopagrus arabicus*)

سعید خرمیان[۱]، پریتا کوچنین*[۱] ، وحید یاوری[۱]، امیرپرویز سلاطی[۱]

*pkochanian@gmail.com

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

## چکیده

در مطالعه حاضر به منظور ارتقاء بازده تولید ماهی شانک باله زرد عربی (*Acanthopagrus arabicus*) به عنوان یکی از گونه های مناسب برای پرورش در قفس اثر تزریق هورمون های HCG، $LHRH-A_2$، عصاره هیپوفیز کپور و ترکیبی از هیپوفیز کپور و $LHRH-A_2$ بر روی مولدین ماده مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای هورمونی و گروه کنترل در سه تکرار انجام شد که در هر تکرار ۳۰ قطعه ماهی با نسبت جنسیت ۱ به ۱ وجود داشت. میانگین وزن نرها و ماده ها به ترتیب ۳۱۰ و ۶۷۵ گرم بود. در هر تکرار ماهیان ماده دو بار با دوز مشابه در فاصله زمانی ۲۴ ساعت تزریق شدند. تخم ریزی در تمامی تانک ها اتفاق افتاد. همه تیمارهای هورمونی سبب شدند تخم ریزی زودتر و در بازه زمانی کوتاه تری اتفاق بیافتد. هماوری نسبی در تیمار هورمون ترکیبی به طور معنی داری از بقیه تیمارها بالاتر بود و گروه کنترل و HCG کمترین هماوری نسبی را داشتند ($p<۰/۰۵$). درصد تخم های شناور در تیمارهای مختلف و گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد. هم چنین بازماندگی لاروها در روزهای ۱۰ و ۳۵ بین تیمارهای هورمونی با گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت. در این مطالعه چالش گرسنگی روی لاروهای سه روزه انجام شد، به طوری که درصد بازماندگی لاروها در ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت بعد از شروع چالش محاسبه شد. درصد بازماندگی لاروها بعد از شروع چالش گرسنگی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نشان نداد. این مطالعه نشان داد که در القای تخم ریزی ماهی شانک زرد باله عربی، تزریق ترکیب هورمونی $LHRH-A_2$ و CPE نسبت به هر کدام از این هورمون ها به تنهایی و هورمون HCG در ارتقاء کمیت تخم ها بدون تاثیر بر کیفیت آن ها موثرتر است.

**لغات کلیدی:** القای تخم ریزی، گنادوتروپین، عملکرد تخم ریزی، تیمار هورمونی، شانک باله زرد عربی

*نویسنده مسئول

## مقدمه

جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۹ میلیارد نفر می رسد در حالیکه ٪۲۲ از این افراد زیر ۴۰ سال هستند (Heilig *et al*., 2013). این افزایش جمعیت یک تهدید برای امنیت غذایی در آینده است، یکی از راهها برای حل این تهدید بدون شک آبزی‌پروری است (Godfray *et al*., 2010). بین همه صنایع تولید غذا در جهان پرورش ماهی پرشتاب ترین آنهاست. مطابق با این رشد سریع، تنوع گونه‌هایی که پرورش می یابند نیز در حال افزایش هستند (Cabrita *et al*., 2009). در برنامه توسعه شیلات ایران سهم ماهیان دریایی در افزایش تولید در حدود ۱/۲ درصد در نظر گرفته شده است. اما با توجه به رشد جمعیت و افزایش روز افزون تقاضا و بازار پسندی ماهیان دریایی در داخل و خارج از کشور، بنظر می‌رسد که تولید ماهیان دریایی با توجه به وسعت مناطق دریایی ایران می‌تواند سهم بیشتری را بخود اختصاص دهد. در راستای هدف توسعه صنعت آبزی‌پروری، خانواده شانک ماهیان از مهمترین ماهیان دریایی با ارزش اقتصادی، با قابلیت پرورش و افزایش تولیدات می باشد (مرمضی و اسکندری، ۱۳۹۰؛ Karimi *et al*., 2014). شانک باله زرد عربی در قفس های شناور دریایی رشد مناسبی دارد (Ahmad *et al*., 2018). با عنایت به اهمیت گونه های دریایی با قابلیت توسعه صنعت آبزی‌پروری و نیاز تحقیقاتی کشور در خصوص مطالعات کاربردی، در این مطالعه ماهی شانک زرد باله عربی (*A. arabicus*) گونه ای از خانواده شانک ماهیان، به عنوان گونه مورد مطالعه در نظر گرفته شد. قبلاً این گونه به عنوان شانک باله زرد (*A. latus*) شناخته می‌شد. اما در مطالعات جدید چهار گونه از شانک باله زرد (*A. latus*) جدا شده‌اند: *A. latus* (شرق آسیا)، *A. longipinnis* (شمال خلیج بنگال)، *A. arabicus* (خاورمیانه ایران و پاکستان)، *A. morrisoni* (شمال غرب استرالیا) و *A. sheim* (خلیج فارس) (Iwatsuki, 2013; Siddiqui *et al*., 2014). گونه غالب شانک باله زرد در آبهای ساحلی ایران *A. arabicus* است (Esmaeili *et al*., 2014; Doustdar *et al*., 2018).

مطالعات نشان می‌دهد یکی از راهکارهای القاء تخم‌ریزی، افزایش عملکرد تولید و بازماندگی لاروها در کارگاههای تکثیر تجاری ماهیان آب شور و شیرین، بکارگیری هورمون‌های دخیل در تولید مثل جهت آماده سازی مولدین است (Zaki *et al*., 2007). هیپوفیز از سال ۱۹۳۰ در تحریک تولید مثل و وادار کردن ماهی به تخم ریزی مورد استفاده قرار گرفته است. هیپوفیز استخراجی از ماهیان بالغ و آماده تولید مثل به طور موفقی برای تکثیر گونه‌های مختلفی از ماهیان استفاده شده است (Hossain *et al*., 2006; Barrero *et al*., 2008; Dhara and Saha, 2013)، اما فعالیت های غیر قابل پیش بینی این هورمون، تهیه هیپوفیز و تنوع در موفقیت استفاده از عصاره هیپوفیز (Dunham *et al*., 2000; Zohar and Mylonas, 2001) استفاده از گنادوتروپین انسانی(HCG) را رواج داد. دسترسی آسان و اثر بخشی قابل قبول این هورمون در القای تخم ریزی تعداد زیادی از گونه های ماهی سبب کاربرد بیشتر این هورمون شده است (Haniffa and Sridhar, 2002; Sahoo *et al*., 2007). اما قیمت بالا و عدم کارایی این هورمون برای برخی از گونه ها، محققان را وادار به تکثیر با هورمون های آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH یا LHRH) کرد (Peter *et al*., 1988). LHRH و آنالوگ های آن به تنهایی یا در ترکیب با هورمون های دیگر، سال‌های زیادی است که جهت القاء تخم ریزی ماهیان استفاده می‌شوند (Zohar and Mylonas, 2001).

مطالعه حاضر با هدف مقایسه عملکرد تخم ریزی ماهی شانک باله زرد عربی هنگام تزریق هورمون های یاد شده و ترکیب‌های دو تایی از آنها به طور همزمان انجام شد. نتایج بدست آمده از این آزمایش اطلاعات بنیادین در زمینه القاء تخم ریزی و بالا بردن کیفیت تخم‌ها در محیط اسارت ایجاد می‌کند که می‌تواند برای تکثیر این ماهی و سایر ماهیان با قرابت گونه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش کار

### صید و نگهداری مولدین

این مطالعه با همکاری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و شرکت آبزی پروری درنا مهر قشم انجام پذیرفت. محل انجام آزمایش در کارگاه تکثیر شرکت آبزی پروری و گردشگری درنا مهر قشم واقع در جزیره قشم و زمان شروع آن سال ۱۳۹۴ بود. مطالعه با جمع‌آوری مولدین وحشی از دریا حدود شش ماه قبل از فصل تکثیر شروع شد. مکان دقیق صید بخش شمال غربی جزیره قشم حوالی جنگل های حرای روستای گوران بود. مولدین با تورهای گوشگیر شناور، قلاب و گرگور از خرداد تا تیر ماه ۹۴ صید و به محل کارگاه منتقل شدند. ماهیان تازه صید شده ابتدا در مخازن ۸ مترمکعبی بتونی مستطیل شکل مجهز به هوادهی واقع در سالن سرپوشیده انتقال یافتند. یک تا دو هفته طول می کشید تا ماهیان تازه صید شده به شرایط جدید عادت و شروع به غذا خوردن کنند. غذادهی به صورت دستی و با ماهی مرکب، میگو، ساردین و صدف تا حد سیری ماهیان انجام گرفت. ماهیان هر تانک از نظر رفتار تغذیه ای، مدت زمان شروع و پایان تغذیه و میزان اشتها در هر وعده غذایی، سلامت ظاهری هنگام تغذیه، علائم و بیماری و بدشکلی ظاهری و هر نوع علائم غیر طبیعی مورد بررسی قرار می گرفت. تعویض آب در این مرحله از نظر زمانی ۲۴ ساعته با دبی ۱۲ لیتر در دقیقه انجام شد و منبع تامین آب، چاه آب شور کنار دریا بود. شرایط نوری طبیعی شبانه روزی و از طریق پنجره های تعبیه شده روی دیوارهای سالن تامین می شد. ۱۴ روز قبل از شروع آزمایش ماهیان تعیین جنسیت شدند. نرها در این مرحله از طریق فشار قسمت شکمی و خارج شدن آزاد مایع اسپرمی قابل تشخیص بودند. اما جنسیت و وضعیت تکامل اووسیت ماده ها از طریق نمونه برداری از تخمدان مشخص شد. به این صورت که بوسیله داخل کردن یک سوند پلاستیکی انعطاف پذیر از راه منفذ تناسلی نمونه کوچکی از اووسیت های تخمدان برداشته شد (Black and Black, 2013). پس از تعیین جنسیت، ماهیان مولد نر و ماده با نسبت جنسی ۱ به ۱ به مخازن تخم ریزی مدور انتقال یافتند (Abu-Rezq *et al*., 2013). در هر مخزن تخم ریزی تعداد ۳۰ قطعه ماهی (۱۵ نر و ۱۵ ماده) قرار داده شد. مخازن تخم ریزی استخرهایی دایره‌ای شکل با رنگ زمینه مشکی و با حجم آبگیری ۶ متر مکعب بودند. میانگین وزن برای ماهیان ماده و نر بترتیب ۱۲۷±۶۷۵ و ۶۵±۳۱۰ گرم بود. در تانک تخم ریزی ماهیان یک بار در روز تا حد سیری با خوراک مشابه (میگو ، اسکوئید ، ماهی و صدف) برای همه تیمارها غذا دهی می شدند.

### تزریق هورمون

تیمارهای هورمونی بکار رفته در این مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. این آزمایش در ۵ تیمار که هر تیماری شامل ۳ تکرار بود انجام گرفت. تزریق ها در بافت ماهیچه ای و دقیقاً در فاصله بین خط جانبی و باله پشتی جایی که ارتفاع بدن ماهی از همه جا بیشتر است، انجام شد (Abu-Rezq *et al*., 2013). در هر تکرار ماهیان ماده دو بار با دوز مشابه در فاصله زمانی ۲۴ ساعت تزریق شدند. میزان تزریق هورمون ها به صورت HCG ( ۱۰۰۰ واحد بین المللی/کیلوگرم)، $LHRH\text{-}A_2$ (۲۰ میکروگرم/کیلوگرم)، CPE (۰/۹ میلی گرم/کیلوگرم)، Mix (CPE ۰/۳ میلی گرم/کیلوگرم+$LHRH\text{-}A_2$ ۱۰ میکروگرم/کیلوگرم) بود. در گروه کنترل نیم میلی لیتر محلول نمک کلرید سدیم ۰/۷ درصد تزریق شد. هورمون گنادوتروپین انسانی (HCG) محصولی از شرکت IBSA سوییس بود. $LHRH\text{-}A_2$ (D-Ala6 GnRH Pro9-Net) تزریق شده به مولدین ساخت شرکت چینی Sansheng بود. غده های خشک شده هیپوفیز کپور متعلق به شرکت ایرانی آبزیان آسیا بودند.

**جدول ۱: تیمارهای هورمونی بکار رفته برای القای تخم ریزی مولدین ماده شانک باله زرد (*A. arabicus*)**

**Table 1: Hormonal treatments used to induce spawning in *A. arabicus***

| نام تیمار | ماده مورد استفاده | میانگین وزن ماهیان ماده تیمار شده (گرم) | دوز تزریق | فاصله تزریق (ساعت) | تعداد تزریق |
|---|---|---|---|---|---|
| HCG | HCG | ۶۴۲±۲۰۲ | واحد بین ۱۰۰۰ المللی/کیلوگرم | ۲۴ | ۲ |
| LHRH | LHRH-$A_2$ | ۶۷۲±۱۷۷ | ۲۰ میکروگرم/کیلوگرم | ۲۴ | ۲ |
| CPE | عصاره هیپوفیز کپور | ۶۲۸±۱۸۹ | ۰/۹ میلی گرم/کیلوگرم | ۲۴ | ۲ |
| MIX | LHRH-$A_2$+CPE | ۶۶۸±۱۹۵ | ۰/۳CPE و ۱۰میلی گرم LHRHمیکروگرم | ۲۴ | ۲ |
| Cntrl | آب نمک | ۶۵۶±۱۷۰ | ۰/۵ میلی لیتر نمک ۰/۷ درصد | ۲۴ | ۲ |

## تخم ریزی و جمع آوری تخم

معمولا تخم ریزی در شب و ساعات اولیه بامداد انجام می‌شد. تخم‌های ریخته شده به همراه آب از طریق لوله سر ریز به درون توری جمع‌آوری تخم هدایت می‌شد. کنترلی بر دمای آب وجود نداشت. در طول مدت تخم‌ریزی شوری ۱±۳۵ قسمت در هزار، دما ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، pH ۰/۱ ± ۷/۹ و اکسیژن محلول ۰/۷۵ ± ۶/۷۵ قسمت در میلیون در نوسان بود. برای ثبت شروع تخم ریزی جهت محاسبه دوره رسیدگی، توری جمع کنند تخم هر کدام از استخرها هر دو ساعت یکبار چک می شد. این فاصله زمانی به ساعت برای هر کدام از استخرهای به طور جداگانه ثبت شد. هماوری نسبی از تقسیم تعداد کل تخم های ریخته شده به وزن ماده‌هایی که این تخم‌ها را ریخته‌اند، در هر تکرار (n=۳) محاسبه شد (Zakeri *et al.*, 2009). در استوانه های مدرج تخم های مرده و لقاح نیافته که سنگین‌تر بودند، در پایین و تخم‌های زنده و لقاح یافته در بالا تجمع می‌یافت. با توجه به درجه‌بندی استوانه مدرج حجم مجموع تخم‌های مرده و زنده ثبت شد و درصد تخم های زنده و شفاف محاسبه گردید (Abu-Rezq *et al.*, 2013).

## انکوباسیون و پرورش لارو

تخم‌های زنده برای طی مرحله انکوباسیون به داخل استوانه های پارچه ای معلق در هراستخری انتقال می یافت. سه روز بعد از تفریخ و تقریبا همزمان با جذب کامل کیسه زرده لاروها از استوانه های پارچه‌ای به داخل استخر مستطیل شکلی با حجم ۸ متر مکعب که قبلاً با آب پر شده بود و به آنها جلبک اضافه شده بود، رهاسازی می‌شد. تراکم اولیه لاروها در این استخرها ۳۰ عدد در لیتر بود (Abu-Rezq *et al.*, 2013). پرورش لاروها در این مطالعه مطابق روش Abu-Rezq و همکاران (۲۰۰۸) و تولید غذای زنده (جلبک، روتیفر و آرتمیا) مطابق روش Abu-Rezq و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد. طول مدت این مطالعه تا ۳۵ روزگی لاروها بود. سایر پارامترهایی که در این مطالعه محاسبه شد شامل اندازه گیری نرخ بقاء بعد از انجام چالش گرسنگی بر لاروهای ۳ روزه در ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت بعد از شروع چالش و درصد بازماندگی لاروها در ۱۰ و ۳۵ روز بعد از تفریخ بود.

## روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آنالیز واریانس یک طرفه جهت بررسی اختلاف بین میانگین متغیرها درون تیمارها انجام شد. پس از مشاهده تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ در آزمون ANOVA از پس آزمون توکی برای مقایسات چندگانه استفاده شد. داده‌های این مطالعه به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شدند. برای محاسبات آماری در این مطالعه از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ استفاده شد.

## نتایج

در جدول ۲ نتایج مربوط به دوره رسیدگی، تعداد روزهای تخم ریزی، هماوری نسبی، درصد تخم های شناور و بازماندگی لاروها در ۱۰ و ۳۵ روز بعد از تفریخ در تیمارهای مختلف هورمونی نشان داده شد. اندازه‌گیری درصد بقاء با شروع چالش گرسنگی بعد از جذب کیسه زرده روی لاروهای ۳ روزه در ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت بعد از شروع چالش در جدول ۳ ارائه شده است.

**جدول۲. دوره رسیدگی، تعداد روزهای تخم ریزی، هماوری نسبی، درصد تخم های شناور، بازماندگی لاروها در ۱۰ و ۳۵ روز بعد از تفریخ در تیمارهای مختلف هورمونی ماهی شانک باله زرد عربی (*A. arabicus*)**

**Table 2: Latency period, spawning days, relative fecundity, buoyant egg percentage and survival rate in 10 and 35 days post-hatching in different Hormonal treatments in *A. arabicus***

| نام تیمار | تعداد روزهای تخمریزی | درصد تخم شناور | هماوری نسبی ×۱۰۰۰ | دوره رسیدگی (ساعت) | بازماندگی ۳۵ روزگی (درصد) | بازماندگی ۱۰ روزگی (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| HCG | ۱۲/۲±۲/۱۲$^{b}$ | ۵۹/۳۵±۱۶ | ۱۲۰۹±۲۱۱$^{cd}$ | ۵۰/۶۶±۱/۱۵$^{c}$ | ۱۳/۸۲±۲/۹۳ | ۴۴/۲±۳/۵ |
| LHRH | ۱۴/۳۳±۰/۵۷$^{b}$ | ۴۸/۱۸±۱۸/۸ | ۱۶۱۳±۳۲۰$^{b}$ | ۸۱/۶۶±۳/۵$^{b}$ | ۱۴/۸۷±۶/۳ | ۴۱/۳۲±۴/۲۲ |
| CPE | ۱۵/۳۳±۰/۵۷$^{b}$ | ۵۱/۴۳±۱۹/۲ | ۱۴۳۰±۲۱۴$^{bc}$ | ۹۶±۱۳/۸$^{bc}$ | ۱۶/۴۲±۶/۵ | ۴۳/۸۵±۴/۲۷ |
| MIX | ۱۲/۳۳±۰/۵۷$^{b}$ | ۵۴/۲۵±۱۷/۸ | ۲۱۶۲±۵۱۰$^{a}$ | ۶۷/۳۳±۱۴/۴۶$^{bc}$ | ۱۴/۸۵±۴/۲۵ | ۴۵/۷۵±۸/۰۵ |
| CNTRL | ۲۷/۶۶±۲/۵۱$^{a}$ | ۵۳/۳۷±۱۳/۴۱ | ۹۹۸±۱۳۵$^{d}$ | ۱۷۷/۳۳±۲۹$^{a}$ | ۱۵/۷۷±۴/۰۸ | ۴۵ ± ۵/۸۲ |

در یک ستون با حروف مشابه اختلاف معنی دار وجود ندارد ($p>0.05$).

**جدول۳. میانگین درصد بازماندگی با گذشت ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت از شروع چالش گرسنگی روی لاروهای ۳ روزه ماهی شانک باله زرد عربی (تعداد=۳).**

**Table 3: Mean Survival rate after 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours from starting starvation challenge in 3 days post-hatching larvae in *A. arabicus* (n=3)**

| تیمار | ۱۲ساعت | ۲۴ساعت | ۳۶ساعت | ۴۸ساعت | ۶۰ ساعت | ۷۲ساعت |
|---|---|---|---|---|---|---|
| HCG | ۸۸/۳ ± ۱۰/۱۷ | ۶۶/۰۴ ± ۱۱/۲۲ | ۴۵/۹۴ ± ۸/۴۷ | ۳۰/۶ ± ۶/۶۳ | ۱۶/۵۷ ± ۶/۵۷ | ۶/۰۵ ± ۵/۲۷ |
| LHRH | ۹۰/۵۹ ± ۴/۵۷ | ۷۳/۹۱ ± ۴/۴۴ | ۵۰/۷۳ ± ۶/۵ | ۳۳/۱۱ ± ۵/۴۶ | ۱۳/۹۷ ± ۶/۴۷ | ۵/۹۸ ± ۵/۰۸ |
| CPE | ۹۲/۴۴ ± ۳/۲ | ۷۰/۶۵ ± ۴/۵۴ | ۵۱/۴۲ ± ۵/۰۳ | ۳۰/۸۹ ± ۴/۹۲ | ۱۲/۸۵ ± ۵/۹۵ | ۴/۹۰ ± ۳/۲۸ |
| MIX | ۹۳/۰۷ ± ۳/۳۷ | ۷۰/۹۴ ± ۴/۳۶ | ۵۲/۹۷ ± ۵/۷ | ۳۳/۶۵ ± ۷/۷۷ | ۱۷/۲۰ ± ۵/۴۴ | ۶/۰۴ ± ۴/۹۲ |
| CNTRL | ۹۳/۱۶ ± ۴/۴۶ | ۶۸/۱۹ ± ۸/۱۶ | ۴۷/۲۳ ± ۱۰/۵۱ | ۲۸/۹۵ ± ۶/۶۶ | ۱۷/۳۴ ± ۴/۷۸ | ۷/۵۵ ± ۴/۱۳ |
| *P VALUE* | ۰/۰۶۱ | ۰/۰۵۳ | ۰/۰۸۷ | ۰/۱۰۸ | ۰/۲۰۱ | ۰/۰۶ |

## بحث

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که تزریق هورمون برای تخم ریزی ماهی شانک باله زرد عربی الزامی نیست به این مفهوم که این ماهی به صورت طبیعی و بدون نیاز به هورمون هم تخم ریزی می کند، این مسئله با مطالعه Zakeri و همکاران (۲۰۰۹) بر گونه مشابه مطابقت دارد.

گروه کنترل در نهایت ۴ روز دیرتر از آخرین تیمار (LHRH) و ۷ روز بعد از شروع آزمایش تخم ریزی کرد. در واقع، دیرتر تخم ریزی کردن گروه کنترل می‌تواند به دلیل کمبود سطح گنادوتروپین ها (GtH) در پلاسمای ماهیان این گروه باشد که در این مرحله به شدت برای بلوغ نهایی تخم و اوولاسیون ضروری است (Richter *et al*., 1987). بین تیمارهای هورمونی در مجموع تیمار LHRH دوره رسیدگی طولانی‌تری نسبت به سایر تیمارها داشت. طولانی بودن این دوره در هورمون LHRH و کلا GnRH ها یکی از معایب استفاده از این هورمون ها در القای تخم ریزی در تکثیر مصنوعی ماهیان است که این مسئله توسط محققین زیادی گزارش و شرح داده شده (Peter *et al*., 1988 ; Brzuska and Adamek.,

(1999; Brzuska and Grzywaczewski., 1999). تیمار HCG کوتاه ترین دوره رسیدگی را داشت. مدت زمان جوابدهی (Latency) در تیمار با عصاره هیپوفیز کپور (CPE) در مقایسه با تیمار با هورمون $LHRH-A_2$ کوتاه تر بود. علت آن توسط محققینی در مطالعات مختلف به این صورت توضیح داده شده است که $LHRH-A_2$ دارای اثر روی هیپوفیز مولدین است در حالیکه عصاره هیپوفیز دارای اثر مستقیم گنادی است که احتمالاً دوره رسیدگی طولانی‌تر در ماهیان تحت تیمار با $LHRH-A_2$ به آن مربوط می شود.

در این مطالعه هماوری نسبی در مولدینی که با هورمون ترکیبی ($LHRH-A_2$ + CPE) تزریق شده بودند، به طور معنی داری از بقیه تیمارها بالاتر بود. گزارشی از استفاده این ترکیب هورمونی در خانواده اسپاریده وجود ندارد. اما مطالعاتی بر همین ترکیب هورمونی در خانواده کپورماهیان و ماهی بنی توسط محمدیان و همکاران (۱۳۹۳) انجام گرفته است که نتایج آن با مطالعه حاضر مشابه است. مولدینی که با $LHRH-A_2$ القاء به تخم‌ریزی شده بودند، تعداد تخم بیشتری نسبت به آنهایی که با HCG القاء شده بودند، تولید کردند این هم منطبق بر نتیجه ای است که El-Hawarry و همکاران (۲۰۱۶) بر گربه ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) بدست آوردند. تزریق هورمون در این مطالعه دوره تخم‌ریزی را کوتاه‌تر کرد بطوریکه تیمارهای هورمونی ۱۵-۱۱ روز تخم‌ریزی کردند در حالیکه تکرارهای گروه کنترل ۳۰-۲۵ روز تخم‌ریزی کردند. در ماهی common dentex (*Dentex dentex*) در محیط اسارت تخم‌ریزی بدون نیاز به تزریق هورمون انجام می پذیرد. اما با روش‌های القای هورمونی تخم‌ریزی تیمارهای مختلف همزمان می‌شود و کمیت و کیفیت گامت ها افزایش می یابد بطوریکه برای مثال، استفاده از هورمون GnRH منجر به القاء بلوغ نهایی تخمک و ۱۰ برابر شدن هماوری شد (Pavlidis, 2000). در القاء تولید مثل شانک باله زرد (*A. latus*) صید شده از طبیعت اواپریم در دوز ۰/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم sGnRH) موثرتر از تزریق HCG (در دوزهای مختلف تا ۱۰۰۰ واحد بر کیلوگرم) بود. از نظر هماوری، درصد لقاح و تفریخ بکار گیری ۰/۵ میلی لیتر به کیلوگرم اواپریم موثرترین راه برای القاء تخم‌ریزی در ماهی *A. latus* می باشد (Leu and Chou, 1996).

یکی از علت‌های پایین بودن شاخص هماوری نسبی در این مطالعه در ماهیانی که با HCG یا عصاره هیپوفیز تزریق شده‌اند (در شاخص هماوری نسبی تیمارHCG با CPE اختلاف معنی داری وجود نداشت) می‌تواند بروز واکنش های ایمنی شناختی باشد که با ایجاد پادتن علیه هورمون های محرک غدد جنسی، کارایی تزریق را کاهش می دهد. در حالیکه اندازه نسبتاً کوچک آنالوگ‌های GnRH باعث می‌شود که هنگام استفاده از آنها واکنش‌های ایمنی شناسی تحریک نشود (ستاری، ۱۳۸۱). ماهیان مولد بنی ماده با وزن بیش از یک کیلوگرم در فصل تولید مثل به دلیل وجود شاخص ایمنی سرمی ایمنوگلبولین M نسبت به ماهیان کوچکتر و نرها از توانایی ایمنی بالاتر در مواجه با استرس، دستکاری‌های و انواع عوامل بیماری‌زا برخوردارند. به دنبال این عامل مهم، ماهی از توان بدنی و بازماندگی بالا و احتمالاً از توان تولید مثلی بسیار خوبی برخوردار است (خدادادی و همکاران، ۱۳۸۸). ممکن است ماهیان شانک ماده (که به دلیل هرمافرودیت پیش نر بودن وزن های بالایی دارند) مانند بسیاری از ماهیان در فصل تولید مثل مانند ماهی بنی به هورمون های CPE و HCG واکنش های ایمنی شناختی قوی‌تری داشته باشند و این هورمون‌ها تاثیر مناسبی بر آنها نداشته باشد. در این مطالعه ماهی شانک باله زرد عربی اختلاف معنی داری را در درصد تخم شناور برای هورمون های مختلف و گروه کنترل نشان نمی‌داد.

نرخ بقاء از دیگر پارامترهایی است که کیفیت لاروهای ماهی تولیدی را بررسی می‌کند (Salami *et al*., 1994). کیفیت تخم یک فاکتور اصلی در تعیین درجه موفقیت تفریخ و نرخ بازماندگی لارو ماهیان است (Kjorsvik *et al*., 1990) در این مطالعه هیچ اختلاف معنی داری بین نرخ بقاء لاروهای تیمارهای مختلف و گروه کنترل در ۱۰ و ۳۵ روز بعد از لقاح مشاهده نشد.

در زمان تغییر از تغذیه داخلی (endogenous) به تغذیه خارجی (exogenous) مقداری از زرده هنوز باقی مانده

است که ترکیبات آن در طول مدت زنده مانی لارو خیلی مهم است. گرسنگی یکی از دلایل اصلی تلفات در طول زمانی است که لارو از تغذیه داخلی به خارجی می رود (Bailey *et al*., 1995) مقدار و ترکیب زرده بقای لارو را در زمان گرسنگی (starvation) تحت تاثیر قرار می دهد پس بقاء لارو به کیفیت تخم بستگی دارد ( Kucharczyk *et al*., 1997). عدم غذادهی لارو ماهیان بعد از جذب کیسه زرده (Starvation challenge) می تواند راهی برای تخمین کیفیت تخم باشد. چالش گرسنگی در مطالعه حاضر هیچ تفاوت معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نمی داد (کیفیت تخم های تولیدی از تیمارهای مختلف مشابه است).

تمامی هورمون‌ها شامل HCG، LHRH، CPE و ترکیب هورمونی (LHRH + CPE) بکار رفته در این آزمایش برای القاء تخم‌ریزی و ترغیب ماهیان ماده به تکمیل بلوغ نهایی اووسیت و تخمگذاری سریعتر و بیشتر و در نتیجه کوتاه کردن بازه زمانی تخم‌ریزی موثر بودند. اما تاثیر هورمون های مختلف بر پارامترهای تولید مثل با هم متفاوت بود. این بررسی نشان داد استفاده از هورمون ترکیبی (LHRH-$A_2$+CPE) نسبت به هر کدام از آن هورمون‌ها به تنهایی و هورمون HCG در ارتقاء پارامترهای تولید مثلی و افزایش کمیت تخم های بدون تاثیر بر کیفیت آنها و لاروهای تولیدی در ماهی شانک زرد باله عربی مزیت های بیشتری دارد.

## منابع


**خدادادی، م.، انصاری، م.، پیغان، ر.، محمدی، غ. و رئیسی، م.، ۱۳۸۸.** بررسی برخی پارامترهای سرمی مولدین ماهی بنی(*Barbus sharpeyi*) در فصل تولید مثل. مجله علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۸(۲): ۳۸-۴۳

**ستاری، م.، ۱۳۸۱.** ماهی شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر، ۴۲۵ صفحه

**محمدیان، ت.، سیلاوی، م.، حسینی، ا.، روحانی، س.، محمدی، ا. و حیدری، ب.، ۱۳۹۳.** مقایسه تاثیر تزریق ۳ مرحله ای هومون LHRH-$\alpha_2$+PG با تزریق ۲ مرحله ای عصاره هیپوفیز بر عملکرد تولید مثل ماهی بنی. مجله دامپزشکی ایران، ۱۰(۱): ۹۵-۸۵

**مرمضی، ج. غ. و اسکندری، غ.، ۱۳۹۰.** برنامه توسعه پنجم ماهیان دریایی شیلات ایران. موسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور. ۱۰۸ صفحه

**Abu-Rezq, T.S., Al-Shimmari, J. and Dias, P., 1997.** Live food production using batch culture and chemostat systems in Kuwait. *Journal of Hydrobiology*, 358, 173-8.

**Abu-Rezq, T., Al-Abdul-Elah, K., El-Dakour, S. and Al-Marzouk, A., 2008**. Final Report. The production of intergeneric hybrids from shaem and sobaity: Comparison of growth and survival performances. Aquaculture, Fisheries and Marine Sciences Division, Kuwait Institute for Scientific Research, Kuwait. KISR 9409: 1- 173.

**Abu-Rezq, T., Al-Abdul-Elah, K., El-Dakour, S. and Al-Marzouk, A., 2013.** Hybridization and Larval Rearing of *Sparidentex hasta* x *Acanthopagrus latus* and Reciprocals. *The Open Marine Biology Journal*, 7: 1-7

**Ahmad, N., Siddiqui, P.J.A., Mir Khan, K., Ali, A., Khokhar, F. and Amir, S.A., 2018.** Feeding frequency influences the growth performance of yellowfin seabream (*Acanthopagrus arabicus*) in cage culture. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, DOI: 10.22092/ijfs.2018.119513.

**Bailey, K. M., Canino, M. F., Napp, J. M., Spring S. M. and Brown, A. L., 1995.** Contrasting years of prey levels, feeding conditions and mortality of larval walleye pollock *Theragra chalcogramma* in the western Gulf of Alaska. *Marine Ecology Progress Series*, 119:11–23. DOI:10.3354/meps119011

**Barrero, M., Small, B.C., D'Abramo, L.R., Waldbieser, G.C., Hanson, L.A. and Kelly, A. M., 2008**. Effect of carp pituitary extract and luteinizing hormone releasing analog hormone on reproductive indices and spawning of 3-year-old channel catfish. *North American Journal of Aquaculture*, 70 (2): 138–146. DOI: 10.1577/A06-072.1

**Black, B. J. and Black, M., 2013.** Efficacy of two exogenous hormones (GnRHa and HCG) for induction of spontaneous spawning in captive yellowfin bream, *Acanthopagrus australis* (Sparidae) and influence of sex ratio on spawning success. *Aquaculture*, 416-417: 105-110. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.08.036

**Brzuska, E. and Adamek, J., 1999**. Artificial spawning of European catfish, *Silurus glanis* L.: stimulation of ovulation using LHRH-a,Ovaprim and carp pituitary extract. *Aquaculture Research*, 30 (1): 59–64. DOI: 10.1046/j.1365-2109.1999.00301.x

**Brzuska, E. and Grzywaczewski, R., 1999**. Artificial spawning of carp *Cyprinus carpio* L.: differences between the effects on reproduction in females of Israeli strain Dor-70 and its cross-breed treated with carp pituitary and Ovopel. *Aquaculture Research*, 30 (8): 559–570. DOI: 10.1046/j.1365-2109.1999.00350.x

**Cabrita, E., Robles, V. and Herráez, M.P., 2009**. Sperm quality assessment. In: Cabrita, E.,Robles, V., Herráez, M.P. (Eds.), Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. Biology Series. CRC Press (Taylor and Francis Group), Boca Raton, Florida, USA, 93–148. DOI: 10.1201/9780849380549

**Dhara, K. and Saha, N.C., 2013.** Controlled breeding of Asian catfish *Clarias batrachus* using pituitary gland extracts and ovaprim at different temperatures, latency periods and their early development. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 4 (4): 186.

**Doustdar, M., Kaymaram, F., Seifali, M., Jamili, S. and Bani, A., 2018.** Stock identification of Arabian yellow fin sea beream (*Acanthopagrus arabicus*) using shape of otolith in the Northern Persian Gulf and Oman sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18 (11): 60-70 DOI: 10.22092/ijfs.2018.116366

**Dunham, R.A., Lambert, D.M., Argue, B.J., Ligeon, C., Yant, D.R. and Liu, Z., 2000.** Comparison of manual stripping and pen spawning for production of channel catfish _ blue catfish hybrids and aquarium spawning of channel catfish. *North American Journal of Aquaculture*, 62 (4): 260–265. DOI: 10.1577/1548-8454(2000)062<0260:COMSAP>2.0.CO;2

**El-Hawarry, W.N., Abd El-Rahman, S.H. and Shourbela, R.M., 2016.** Breeding response and larval quality of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) using different hormones/hormonal analogues with dopamine antagonist. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42: 231-239. DOI: 10.1016/j.ejar.2016.06.003

**Esmaeili, H.R., Masoudi, M. and Mehraban, H.R., 2014**. Assignment of Acanthopagrus population in the Persian Gulf drainage system of Iran to *Acanthopagrus arabicus* Iwatsuki, 21013, Perciformes: Sparidae. *Iranian Society of Ichthyology*, 1 (1): 23-28 DOI: 10.22034/iji.v1i1.49

**Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M. and Toulmin, C., 2010.** Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967): 812-818. DOI: 10.1126/science.1185383

**Haniffa, M.A.K. and Sridhar, S., 2002**. Induced spawning of spotted murrel (*Channa punctatus*) and catfish (*Heteropneustes fossilis*) using human chorionic gonadotropin and synthetic hormone (ovaprim). Veterinarski Arhiv, 72 (1): 51–56.

**Heilig, G.K., Gerland, P., Andreev, K., Li, N., Gu, D., Spoorenberg, T., Ravinuthala, S., Hossain, M.B., Rahman, M.M., Sarwer, M.G., Ali, M.Y., Ahamed, F., Rahman, S., Fulanda, B., Rahman, M.M., Subba, B.R. and Hossain, M.Y., 2013.** Comparative study of carp pituitary gland (PG) extract and synthetic hormone ovaprim used in the induced breeding of stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Siluriformes: Heteropneustidae). *Our Nature*, 10 (1): 89–95.

**Hossain, M.Y., Ahmed, Z.F., Leunda, P.M., Jasmine, S., Oscoz, J., Miranda, R. and Ohtomi, J., 2006.** Condition, length–weight and length–length relationships of the Asian striped catfish Mystus vittatus (Bloch, 1794) (*Siluriformes: Bagridae*) in the Mathabhanga river, southwestern Bangladesh. *Journal of Applied Ichthyology*, 22 (4): 304–307. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2006.00803.x

**Iwatsuki, Y., 2013**. Review of the *Acanthopagrus latus* complex (Perciformes: Sparidae) with descriptions of three new species from the Indo-West Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*, 83: 64–95. DOI: 10.1111/jfb.12151

**Karimi, S., Kochanian, P., Salati, A.P. and Gooraninejad, S., 2014.** Plasma sex steroids and gonadosomatic index variations during ovarian development of female wild yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*). *Ichthyological Reserch*, 61: 68-75. DOI: 10.1007/s10228-013-0378-3

**Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990**. Egg quality in fishes. In: Blaxter, J.H.S., Southward, A.J. (Eds.), Advances in Marine Biology. Academic Press Ltd., New York, 71–113.

**Kucharczyk, D., Luczynski, M., Kujawa, R. and Czerkies, P., 1997.** Effect of

temperature on embryonic and larval development of bream (*Abramis brama* L.). *Aquatic Science*, 59: 214–224. DOI: 10.1007/BF02523274

**Leu, M.Y. and Chou, Y.H., 1996.** Induced spawning and larval rearing of captive yellowfin porgy, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). Aquaculture, 143: 155–166. DOI: 10.1016/0044-8486(96)01272-0

**Pavlidis, M., 2000.** Recent advances in reproductional aspects of *Dentex dentex*. *Cahiers Options M´editerran´eennes*, 47:169–175.

**Peter, R.E., Lin, H.R. and Van Der Kraak, G., 1988.** Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74(1): 1–10. DOI: 10.1016/0044-8486 (88)90080-4

**Richter, C.J.J., Viveen, W.J.A.R., Eding, E.H., Sukkel, M., Rothuis, A.J., Van Hoof, M.F.P.M., Van Den Berg, F.G. and Van Oordt, P.G.W.J., 1987.** The significance of photoperiodicity, water Temperature and an Inherent Endogenous Rhythm for the production of viable eggs by the African catfish *Clarias gariepinus*., *Aquaculture*, 63(1987) 169-185. DOI: 10.1016/0044-8486(87)90057-3

**Sahoo, S.K., Giri, S.S., Chandra, S. and Sahu, A.K., 2007**. Spawning performance and egg quality of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction. *Aquaculture*, 266(1): 289–292. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.006

**Salami, A.A., Fagbenro, O.A., Edibite, L. and Fagbemiro, S.O., 1994.** Induced spawning of the African catfish *Clarias gariepinus* using non-piscine pituitary extracts. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): 166–168. DOI: 10.1111/ j.1749-7345.1994.tb00816.x

**Siddiqui, P.J., Ali amir, SH. and Masroor, R., 2014.** The sparid fishes of Pakistan, with new distribution records. Zootaxa 3857(1). Mangolia Press. DOI: 10.11646/ zootaxa.0000.0.0

**Zakeri, M., Marammazi, J.G., Kochanian, P., Savari, A., Yavari, V. and Haghi, M., 2009.** Effects of protein and lipid concentrations in broodstock diets on growth, spawning performance and egg quality of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*). *Aquaculture*, 295: 99-105. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009 .06.026

**Zaki, M.I., Aziz, F.K. and El-Absawy, M.E., 2007**. Induce spawning and larval rearing of Gilthhead sea bream (*Sparus aurata*) collected from fish farms. *Egyptian Journal of Aquaculture Research*, 33 (1) 418-433.

**Zohar, Y. and Mylonas, C.C., 2001.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197 (1): 99–136. DOI: 10.1016/B978-0-444-50913-0.50009-6

# Effects of different hormones on induced spawning and larval quality of Arabian yellowfin seabream *Acanthopagrus arabicus*

Khoramian S.[1]; Kochanian P.[1*]; Yavari V.[1]; Salatie A.P.[1]

[*]pkochanian@gmail.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

**Abstract**

Arabian yellowfin sea bream (*Acanthopagrus arabicus)* is a candidate for cage culture. In this study to improve spawning performance (in quality and quantity) the effects of using human chorionic gonadotropin (HCG), Luteinizing hormone-releasing hormone analogues (LHRH-$A_2$), carp pituitary extract (CPE) and a combination of CPE plus LHRH-$A_2$ in females were investigated. The hormone treatments and control were tested in triplicates. Each replicate was stocked with 30 fish with a sex ratio of 1:1 and the average weights were 675g and 310g for females and males, respectively. In each trial, females were injected twice with the same dose in 24 hours between of either. Spawning occurred in all tanks and the use of all hormones successfully induced spawning in a shorter time. Relative fecundity was found to be significantly elevated in the mix treatment ($p<0.05$). Fish in the control group and HCG treatment showed the lowest relative fecundity. Buoyant egg percentage was not significantly affected by different hormones. Results of survival rate percentage in 10 and 35 DPH did not show any significant different between treatments and control group ($p>0.05$). Starvation challenge was designed for 3 DPH larvae. Survival rate of larvae in 12, 24, 36, 48, 60, 72 hours after starting challenge did not differ significantly among treatments ($p>0.05$). The present study revealed the best spawning performance of *A. arabicus* was achieved at a combination of CPE plus LHRH-$A_2$, This hormone combination increases the quantity of produced eggs without affecting their quality.

**Keywords:** Induce spawning; Arabian yellowfin seabream, Hormone treatment, Spawning performance, Gonadotropins.

[*]Corresponding author