Archive of SID

بررسی امکان تکثیر مصنوعی مولدین پرورشی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

سید امین میرهاشمی رستمی[۱]؛ کوروش امینی[۲]؛ مریم جرجانی[۳]؛ حالت قلی قزل[۴] و عبدالقیوم شافعی[۵]

Rostamy_a@yahoo.com

۱،۲،۳ و۵- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان صندوق پستی: ۱۳۹

۴ -کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی، صندوق پستی: ۱۱۵-۴۹۳۱۵

تاریخ ورود: آذر ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۴

چکیده

در این پژوهش، امکان تکثیر مصنوعی مولدین پرورشی نه ساله کفال خاکستری بررسی گردید. هشت سری آزمایش تکثیر مصنوعی در طول ۳ ماه (آبان ماه الی اسفند ماه ۱۳۸۲) انجام شد. برای مولدین آزمایشهای ۱ تا ۵ روش دو تزریقی به فاصله زمانی ۲٤ ساعت بکار برده شد. تزریق مقدماتی توسط CPH و تزریق نهایی توسط هورمونهای $LHRH-A_2$ همراه دمپریدون (Domperidone) یا CPH با HCG صورت پذیرفت. مولدین ماده آزمایشات ۶ تا ۸، ابتدا از طریق روش تزریق تدریجی روزانه به مدت ۵ روز به میزان ۵۰۰ واحد بین‌الملل به ازای هر کیلوگرم وزن بدن HCG دریافت کردند و به مولدین نر علاوه بر HCG هورمون ۱۷ - آلفا-MT به میزان ۵ تا۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد و سپس با روش دو تزریقی هورمونها این مولدین تحریک گردیدند. نتایج نشان دادند که مولدین نر واقع در مرحله ۲+ و ۳+ هر دو گروه تزریق (دو تزریقی ـ چند تزریقی) که به آنها هورمون HCG تزریق شد نسبت به مولدینی که هورمون ۱۷ - آلفا- MT دریافت کردند، از راندمان بهتری برخوردار بودند بطوریکه از یک مولد گاهی در آزمایشات تکثیر مصنوعی ۲ تا ۶ بار استفاده گردید. در هشت سری آزمایش تحریک مصنوعی مولدین ماده، ۲۷ عدد مولد بکار گرفته شد که ۲۲ عدد اقدام به تخمریزی نمودند (یک میلیون تا ۲/٦ میلیون تخم). تخم هشت مولد لقاح یافته بود و درصد لقاح ۱۰ تا ۹۵ و درصد تخمه گشایی ۰/۰۰۸ تا ۸۸/۹ درصد برآورد گردید. همچنین از این تعداد پولد، شش سری لارو از ۱۱۷ تا ۲ میلیون عدد تولید شد. بهترین زمان جهت تکثیر مصنوعی این ماهی آذر ماه برآورد گردید، میانگین قطر تخمکها در این ماه $\geq$ ٦۰۰ میکرون اندازه‌گیری شد. در بررسی‌های آماری بین دو گروه مولدین دو تزریقی و چند تزریقی از لحاظ میانگین قطر تخمکهای مولدین قبل از تزریق اولیه، درصد تخمه گشایی و تعداد لاروهای تولید شده اختلاف معنی‌داری در سطح اعتماد ۹۵٪ ($p < 0.05$ One-Way-T-student) مشاهده گردید که حاکی از بهتر بودن وضعیت مولدین چند تزریقی از نظر بازده تکثیر مصنوعی می‌باشد.

لغات کلیدی: کفال خاکستری، *Mugil cephalus* ، تکثیر مصنوعی، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کفال خاکستری یکی از ماهیان استخوانی با ارزش تجاری بسیار مهم می‌باشد که پراکنش آن در آبهای ساحلی بین عرض‌های جغرافیایی ۴۰ درجه شمالی و جنوبی گزارش شده است (Tamaru *et al*., 1993). به دلیل شرایط مناسب جهت پرورش، مقاومت زیاد در برابر دامنهٔ وسیعی از درجه حرارت و شوری، ضریب رشد خوب، ضریب تبدیل غذایی مناسب و بازارپسندی عالی بعنوان یکی از بهترین گونه‌های پرورشی ماهیان دریایی در سراسر جهان به شمار می‌آید.

از طرف دیگر، وجود منابع آب شور و لب شور فراوان در نواحی ساحلی شمال و جنوب و نیز استانهای مرکزی و همچنین زمین‌های نامرغوب و کم‌بازده از نظر کشاورزی که برای پرورش این گونه مناسب تشخیص داده شده است، کشورمان را از نظر وجود منابع طبیعی جهت پرورش این گونه ماهی ممتاز جلوه می‌دهد.

با توجه به تلاشهای فراوانی که در کشورهای مختلف جهت دستیابی به فن‌آوری مطمئن جهت تکثیر مصنوعی این ماهی در دو دههٔ قبل صورت گرفته است، با این وجود پرورش این گونه در اکثر نقاط دنیا تاکنون وابسته به جمع‌آوری بچه ماهیان از آبهای ساحلی می‌باشد (مانند هنگ‌کنگ، تایوان، فلسطین و مصر). اگر چه فن‌آوری مناسبی برای تحریک هورمونی مولدین نر و ماده این ماهی وجود داشته، ولی جهت دستیابی به فن‌آوری زیستی دقیق تکثیر مصنوعی این گونه در شرایط کشورمان، پژوهش بیشتر ضروری به نظر می‌رسد (Tamaru *et al*., 1993).

فصل تولید مثل این گونه در ماههای سرد سال (آذر ماه تا اسفند ماه) می‌باشد (Tamaru *et al*., 1993).

در اکثر کشورها، جهت دستیابی به مولدین نر و ماده این ماهی، مولدین بالغ را اغلب به هنگام مهاجرت تولید مثلی از مصب به قسمتهای باز دریا صید کرده و سپس آنها را وارد چرخه تکثیر مصنوعی می‌نمایند، ولی در این پژوهش از مولدین پرورشی حاصل شده از ۲۰ هزار بچه ماهی وارد شده از هنگ کنگ استفاده گردید (قانعی تهرانی، ۱۳۸۰). با اینکه این گونه در شرایط پرورش در استخرها، می‌تواند به بلوغ کامل برسد (مولدین نر و ماده) ولی گزارشی مبنی بر تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی در این شرایط مشاهده نشده است (Tamaru *et al*., 1993) .

استفاده از انواع هورمونها برای کنترل فعالیت تولید مثلی ماهیان استخوانی هم اکنون یکی از اعمال پذیرفته شده در آبزی پروری می‌باشد(Lam, 1982 ; Donaldson & Hunter, 1983) . در این راستا عوامل متعددی همانند ترکیب و فرمولاسیون هورمونی، میزان حداقل و مؤثر هورمون، نحوهٔ استفاده آن، چگونگی رسیدگی مولدین، مدت زمان بکارگیری هورمون و شرایط محیطی به هنگام استفاده از هورمون دخالت دارند. بطور خلاصه، در شرایط محیطی مساعد (از نظر تنظیم شوری، درجه حرارت و کیفیت آب پرورشی) به هنگام مدیریت مولدسازی، به همراه یکسری عوامل محرک محیطی و تغییرات

www.SID.ir

Archive of SID

فیزیولوژیک که در اندامهای درونی مولدین انجام می‌گیرد، سبب افزایش سطوح هورمون‌های مؤثر در رشد و نمو گنادهای جنسی می‌شود. در شرایط پرورشی، مرحله رسیدگی نهایی و اوولاسیون صورت نگرفته و علت آن هم می‌تواند کمبود هورمونهای گنادوتروپین در این شرایط باشد. یک روش مرسوم و مؤثر جهت تشدید و افزایش سطوح هورمونی، که بطور طبیعی در مولدین اتفاق می‌افتد، تزریق عضلانی یا صفاقی است. به همین جهت پژوهش حاضر با این فرضیه انجام گرفت که آیا می‌توان با بکارگیری هورمونهای مرسوم که در آبزی‌پروری استفاده می‌شوند، اقدام به تحریک رسیدگی نهایی مولدین و اوولاسیون و اسپرم‌ریزی آنان کرد و سپس بتوان به فن‌آوری زیستی استفاده از هورمونها جهت تکثیر مصنوعی ماهی کفال خاکستری و تولید لارو در شرایط کشورمان دست یافت؟

مواد و روش کار

مولدین پرورشی نه سالهٔ کفال خاکستری در مرکز میگوی گمیشان واقع در شمال شهرستان گمیشان جهت این پژوهش انتخاب گردیدند. در اواخر خرداد از ذخیرهٔ مولد موجود، ۳۰۰ عدد مولد نر و ماده انتخاب شده و به دو استخر خاکی ۰/۵ هکتاری با تراکم ۱۵۰ عدد در هر استخر با نسبت جنسی ۲:۱ ماده به نر منتقل شدند. مولدین مورد نظر تا نیمهٔ آبان ماه با غذای دستی تغذیه شدند. تعویض آب و هوادهی استخرها برحسب نیاز رعایت گردید. سپس قبل از اینکه دمای آب استخر به زیر بیست درجه سانتیگراد کاهش یابد، تعداد ۷۶ عدد مولد ماده و ۴۹ عدد مولد نر انتخاب و به یک استخر گلخانه‌ای ۵۰۰ مترمربعی که شرایط دمایی و دورهٔ نوری و هوادهی آن کاملاً کنترل می‌شد، منتقل شدند. جهت محاسبات مقدار هورمون و نمونه‌گیری از گنادها، مولدین ابتدا توسط تور پره صید شدند سپس از لحاظ ریخت‌شناسی و سلامت ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت اندازه‌گیری عوامل زیستی موردنظر، طول با متر پارچه‌ای با دقت سانتیمتر و وزن با ترازوی دیجیتال AND با دقت یک گرم استفاده گردید. مولدین مناسب و سالم در ظرف یونولیتی ۴۰ لیتری حاوی بیهوش‌کننده ۲ - فنوکسی اتانول با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند و پس از اندازه‌گیری طول و وزن و نمونه‌برداری از گنادها به تانکهای بهبودی ۳۰۰ لیتری با هوادهی مداوم منتقل گشتند. برای مولدین نر، میزان رسیدگی بیضه‌ها به وسیله میزان ترشح اسپرم با مالش ملایم محفظه شکمی به سمت منفذ تناسلی تعیین گردید. کمیت اسپرم خارج شده از گنادوپور توسط علامت مثبت مشخص شد. بدین ترتیب که اگر در اثر مالش اسپرمی خارج نمی‌شد ماهی نر با علامت منفی (-) و در غیر اینصورت با توجه به میزان اسپرم خارج شده (جزئی یا فراوان) بین طبقه ۱+ تا ۳+ طبقه‌بندی می‌شدند. سعی گردید در چرخه تکثیر مصنوعی از مولدین نر ۲+ و ۳+ استفاده گردد (Liu & Kelley, 1994). رسیدگی جنسی مولدین ماده با اندازه‌گیری و بررسی تخمکهای استحصالی که توسط سوند پلاستیکی (بطول ۳۰سانتیمتر و قطر داخلی۱ میلیمتر با دو سوراخ در سر آن) نمونه‌برداری شدند. میانگین قطر تخمکهای تثبیت شده در فرمالین ۱۰ درصد از اندازه‌گیری یکصد عدد توسط لوپ روسی (MBC)

www.SID.ir

Archive of SID

مجهز به عدسی مدرج چشمی با دقت ۱۰± میکرون تعیین گردید. مولدینی که میانگین قطر تخمک آنها ۶۰۰ میکرون یا بیش از آن بود، بعنوان مولدین کاملاً رسیده انتخاب و وارد چرخه تکثیر مصنوعی شدند (Kuo *et al.*, 1973 ; Greeley *et al.*, 1987 ; Tamaru *et al.*, 1991).

مولدین ماده کاملاً رسیده، بعداز سازگاری کامل با شرایط تفریخگاه، پس از زیست سنجی و علامتگذاری در ظرف یونولیتی ۴۰ لیتری بیهوش شده و آماده تزریق شدند. در آزمایشهای ۱ تا ۵ تزریق از روش دو تزریقی (Lee *et al.*, 1987) انجام گرفت. فواصل بین دو تزریق اولیه و نهایی ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. زمان تزریق معمولاً ساعت ۹ تا ۱۰ صبح انتخاب گردید. از هورمونهای $LHRH-A_2$ (محصول کشور چین)، HCG، CPH (تهیه داخل کشور) و نیز دامپریدون بعنوان عامل ضد دوپامین و محلول کلسیم همراه با LHRH استفاده گردید. برحسب نیاز (در مورد مولدینی که در معرض استرس بودند)، به همراه هورمون از ویتامین‌های C و ب- کمپلکس نیز استفاده گردید (جدول ۱). پس از آماده‌سازی هورمون‌ها، تزریق توسط سرنگ پزشکی با شماره سوزن ۲۳ بصورت عضلانی در دو سه ردیف فلس زیر اولین باله پشتی صورت گرفت. در آزمایشات ۶ تا ۸ به روش تزریق تدریجی روزانه به مدت ۵ روز توسط هورمون HCG به میزان ۵۰۰ واحد بین المللی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید.

مولدین نر انتخاب شده نیز پس از سازگاری با شرایط تفریخگاه، زیست‌سنجی، علامتگذاری و بیهوش‌شدند و توسط سرنگ انسولین ۲ سی‌سی مانند مولدین ماده تزریق شدند. تزریق مولدین نر نیز همزمان با تزریق نهایی مولدین ماده صورت گرفت. هورمونهای مورد استفاده با توجه به شرایط رسیدگی جنسی مولدین نر غالباً HCG به میزان IU ۱۰۰۰ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای مولدین مرحله ۳+ تا ۵۰۰۰ واحد بین الملل برای مولدین مرحله ۲+ و یا ۱۷ - آلفا-MT ، ۱۰میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای مولدین مرحله ۲+ و ۳+ و برحسب نیاز نیز $LHRH-A_2$ ۱۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای مولدین مرحله ۲+ و ۳+ بود. برای تزریق تدریجی مولدین نر، روزانه به مدت حداقل ۵ روز هورمون HCG (به میزان IU۵۰۰ تا ۵۰۰۰ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با توجه به شرایط رسیدگی جنسی مولد نر) و ۱۷- آلفا-MT به میزان ۵ تا ۱۰میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده گردید.

مولدین پس از تزریق، در تانکهای نگهداری مولدین ۳ تنی بتونی پوشیده شده با پلاستیک مشکی با هوادهی به مدت ۶ تا ۸ ساعت نگهداری شدند. سپس مولدین به تانکهای تخمریزی مشابه تانکهای قبلی با هوادهی نسبتاً شدید با نسبت جنسی ۲:۱ ماده به نر منتقل شدند. دمای آب و شوری در سالن تفریخگاه بترتیب ۲۴ تا ۲۶ درجه سانتیگراد و ۳۲ در هزار ثابت نگهداشته شد.

پس از تخمریزی تعداد یکصد عدد تخم در زیر میکروسکوپ جهت تعیین درصد لقاح بررسی شدند فرمول (۱). تخم‌های لقاح یافته (شکل۳) در این زمان براحتی توسط اولین شکاف جنینی قابل تشخیص بودند. همچنین قطر تخمهای لقاح یافته نیز اندازه‌گیری گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

فرمول (۱):

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{تعداد تخم های لقاح یافته} \times ۱۰۰}{\text{تعداد تخم های بررسی شده}}$$

سپس تخم‌ها با آهستگی توسط تور دستی جمع‌آوری شده و با تراکم حدود ۵۰۰ عدد تخم در هر لیتر (Tamaru *et al.*, 1993) در تانکهای انکوباسیون ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. شوری آب ۳۲ قسمت در هزار، دمای آن ۲۴ تا ۲۶ درجه سانتیگراد و هوادهی نیز بطور مداوم در تانکها صورت گرفت. جهت تعیین درصد تخمه‌گشایی، از فرمول (۲) پس از کامل شدن تخمه‌گشایی تخم‌ها در تانک انکوباسیون استفاده گردید.

فرمول (۲):

$$\text{درصد تخمه‌گشایی} = \frac{\text{تعداد کل لاروهای تخمه‌گشایی شده} \times ۱۰۰}{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته ذخیره شده}}$$

تعداد تخم‌ها و همچنین لاروها نیز از روش حجمی (Tamaru *et al.*, 1993) اندازه‌گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری بین میانگین قطر تخمکها، درصد تخمه‌گشایی و تعداد لارو تولیدی گروه دو تزریقی و چند تزریقی از روش آماری (One-Way T-student) استفاده گردید.

نتایج

نمودارهای ۱ تا ۴ توزیع فراوانی وزنی و طولی مولدین ماده و نر را در دورهٔ تکثیر مصنوعی نشان می‌دهد. در توزیع فراوانی مولدین نر مطابق نمودار۱، بیشترین درصد فراوانی وزنی در طبقه ۱۵۰۰ تا ۱۸۰۰ گرم به میزان ۴۲/۵ درصد و بیشترین درصد فراوانی طولی در طبقه ۵۶ تا ۵۸ سانتیمتر به میزان ۴۷/۵ درصد می‌باشد. همچنین براساس نمودار ۱، بیشترین درصد فراوانی وزنی مولدین ماده در طبقه ۲۴۰۰ تا۲۷۰۰ گرم به میزان ۲۹/۵ درصد و بیشترین درصد فراوانی طولی در طبقه ۵۸ تا ۶۱ سانتیمتر به میزان ۲۹/۶ درصد بود.

نمودار ۵، تغییرات قطر تخمکها را در طول شش ماه نشان می‌دهد. مطابق این نمودار، همانطور که مشاهده می‌شود، میزان قطر تخمکها در آذرماه ≥۶۰۰ میکرون می‌باشد، لذا از آنها می‌توان جهت تکثیر مصنوعی استفاده نمود (شکل۱). همچنین نتایج مشاهدات و بررسی‌ها نشان می‌دهند که در منطقه گمیشان قبل از رسیدن قطر تخمکها به اندازه ≥۶۰۰ میکرون، دمای آب زیر ۲۰ درجه سانتیگراد تنزل پیدا می‌کند که این کاهش درجه حرارت به همراه کاهش دوره نوری باعث بازجذب زود هنگام تخمکها و همچنین کاهش یا توقف اسپرم‌دهی مولدین نر می‌شود. لذا با انتقال تعدادی از مولدین به استخر گلخانه‌ای که در حرارت ۲۱ تا ۲۴ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۰ تا ۱۲ ساعت در شبانه‌روز در آن تحت کنترل قرار گرفت، نه تنها از بازجذب گامتهای جنسی ممانعت بعمل آمد، بلکه گلخانه توانست مدت زمان نگهداری گامتهای جنسی توسط مولدین را در شرایط بهینه به ۳ ماه به درازا بکشاند. در حالیکه در این مدت در اثر استرس‌های محیطی وارده به مولدین موجود در فضای باز استخر همانند

www.SID.ir

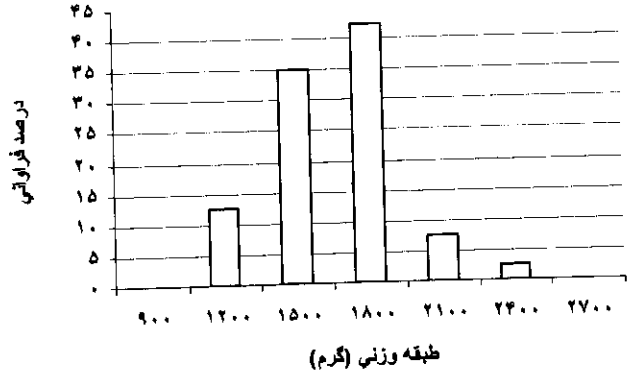
Archive of SID

سالهای قبل (قانعی و همکاران، ۱۳۸۰) تخمکها و اسپرماتوزوئیدها کیفیت خود را به مقدار زیادی از دست داده بودند (شکل۲).

جدول ۱ اطلاعات مربوط به فعالیت تکثیر مصنوعی مولدین ماده کفال خاکستری را در سال ۱۳۸۲ نشان می‌دهد. در تزریق مقدماتی مولدین هر دو گروه (دو تزریقی – چند تزریقی) منحصراً از هورمون CPH به میزان ۲۵ تا ۴۰ میلیگرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد. نتایج نشان داد که این هورمون می‌تواند در تحریک اولیه جهت شروع رسیدگی نهایی (شروع جذب آب تخمکها و اوولاسیون) نقش مؤثر خود را ایفا نماید. هرچند بسیاری از مولدین پس از دریافت هورمون در مرحله تزریق نهایی اقدام به تخمریزی نمودند، ولی همان طور که ملاحظه می‌شود نتایج حاصل از مولدینی که پس از ۲۴ ساعت پس از تزریق نهایی، مجدداً در تزریق نهایی ثانویه، هورمون (اکثراً $LHRH-A_2$ به میزان(۵ تا ۱۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کردند، از نظر معیارهای تکثیر شرایط بهتری را نشان دادند.

در بررسی مولدین نر ۲+ و ۳+ در هر دو روش تزریق، نتایج نشان داد هورمون HCG عملکرد بهتری نسبت به هورمون ۱۷- آلفا -MT در رسیدگی مولدین نر دارا می‌باشد، بطوریکه مولدین تزریق شده توسط هورمون HCG گاهی ۲ تا ۶ بار در آزمایش تکثیر مصنوعی مورد استفاده قرار گرفتند (یک مولد شش بار ، ۶ مولد دو بار و ۵ مولد چهار بار).

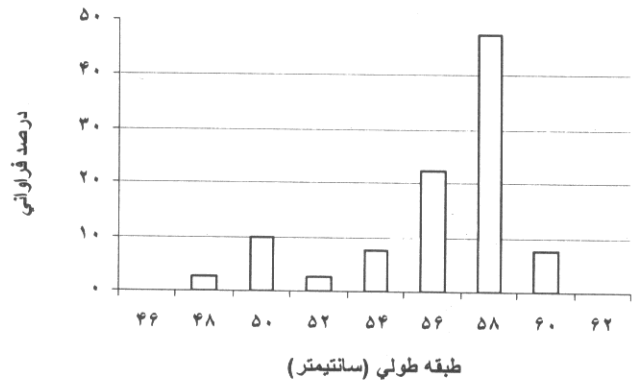
در بررسی‌های آماری بین دو گروه مولدین دو تزریقی و چند تزریقی از لحاظ میانگین قطر تخمکهای مولدین قبل از تزریق اولیه، درصد تخمه‌گشایی و تعداد لاروهای تولید شده اختلاف معنی‌داری در سطح اعتماد ۹۵ درصد (One- Way T-student $p<0.05$) مشاهده گردید.



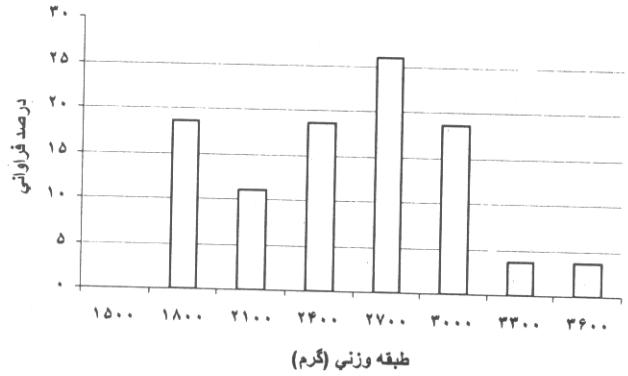
نمودار ۱: توزیع فراوانی وزنی مولدین نر کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

www.SID.ir

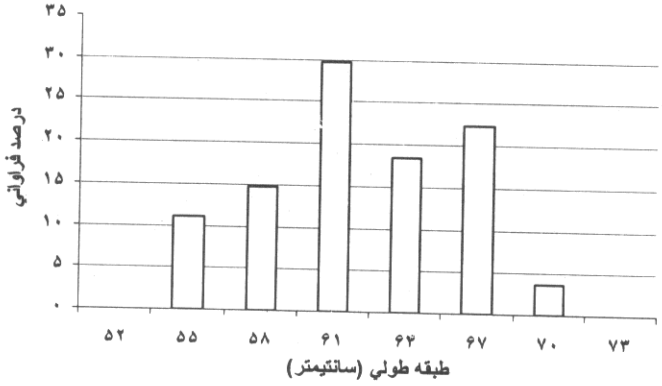
Archive of SID



نمودار ۲: توزیع فراوانی طولی مولدین نر کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)



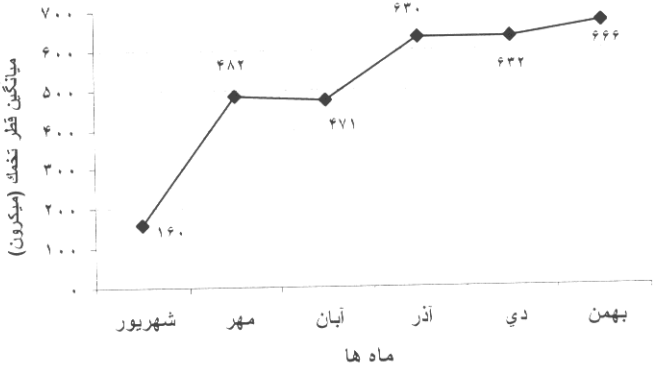
نمودار ۳: توزیع فراوانی وزنی مولدین ماده کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)



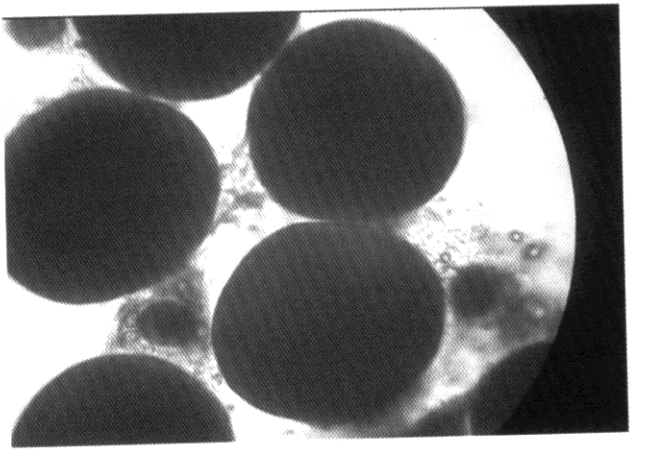
نمودار ۴: توزیع فراوانی طولی مولدین ماده کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

www.SID.ir

Archive of SID



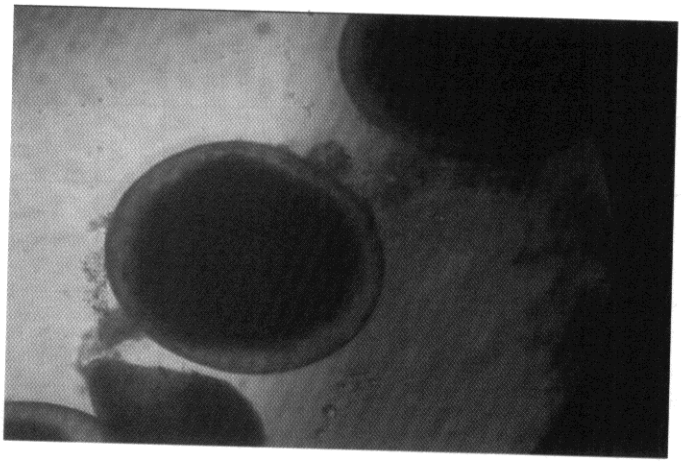
نمودار ۵: تغییرات قطر تخمک مولدین کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در طول ماههای شهریور تا بهمن ۱۳۸۲ در منطقه گمیشان



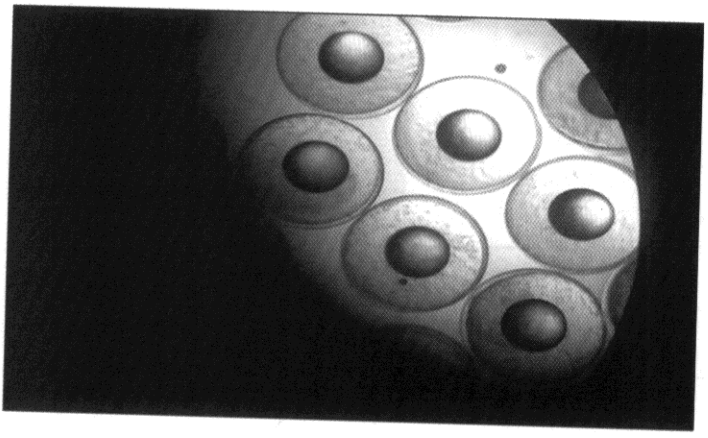
شکل ۱: تخمک کفال خاکستری در زیر میکروسکوپ قبل از تزریق مقدماتی (×۴۰)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: تخمک کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در حال تحلیل (۴۰×)



شکل ۳: تخمک تازه لقاح یافته کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) با یک قطره چربی (۴۰×)

www.SID.ir

جدول ۱: اطلاعات مربوط به تحریک هورمونی (رئش دو تزریقی) و برخی پارامترهای تکثیر مصنوعی مولدین ماده کفال خاکستری *Mugil cephalus*

شماره آزمایش	تعداد مولد (عدد)	مشخصات مولد		مقدار تزریق هورمون و مواد افزودنی (ماهی / مولد)			LP (ساعت)	D1 (میکرون)	D2/D3 (میکرون)	وضعیت تخمریزی	وضعیت لقاح (درصد)	تعداد تخم	تعداد لارو	درصد تخمه‌گشایی لارو
		طول کل (سانتیمتر)	وزن کل (گرم)	تزریق اولیه	تزریق نهایی۱ (بعد از ۲۴ ساعت)	تزریق نهایی ۲ (بعد از ۲۴ ساعت)								
۱	۲	۶۲	۲۶۰۰	CPH =۱۰۵mg	LHRH-A2=300µg DOMP=25mg	تزریق نگردید	۲۱/۳	۷۰۱	۴۰۵/۹۵۶	کامل	بدون لقاح	۱۰۰۰۰۰۰	-----	
		۶۶	۳۰۰۰	CPH= ۷۵mg	CPH=75mg HCG=50000 IU	LHRH-A2=150µg DOMP=25mg	۲۶/۳	۷۰۷	۴۳۷/۹۵۷	کامل	بدون لقاح	۱۲۰۰۰۰۰	-----	
۲	۳	۵۹	۲۵۰۰	CPH =۶۵mg	CPH=60mg HCG=65000 IU	تزریق نگردید	-----	۶۸۵	-----	تلفات	تلفات	تلفات	-----	
		۶۰/۵	۲۲۰۰	CPH =۶۰mg	LHRH-A2=450µg DOMP=20mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	-----	۶۹۹	-----	تلفات	تلفات	تلفات	-----	
		۶۲	۲۱۰۰	CPH =۸۰mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	تزریق نگردید	۲۴	۶۹۹	اندازه‌گیری نگردید	بسیار ناچیز	بدون لقاح	بسیار ناچیز	-----	
۳	۱	۵۴	۱۸۰۰	CPH =۵۰mg	LHRH-A2=200µg DOMP=15mg	LHRH-A2=400µg DOMP=20mg	۱۹/۳	۷۰۴	اندازه‌گیری نگردید	نیمه‌تخمریزی	بدون لقاح	۱۰۰۰۰۰۰	-----	
۴	۳	۷۰	۳۵۰۰	CPH =۹۰mg	LHRH-A2=400µg DOMP=30mg	LHRH-A2=400µg DOMP=20mg	۲۷/۳	۶۹۷	اندازه‌گیری نگردید	کامل	بدون لقاح	شمرده نشد	-----	
		۶۵	۲۹۰۰	CPH =۷۵mg	LHRH-A2=350µg DOMP=25mg	تزریق نگردید	-----	۶۸۵	-----	از چرخه خارج شد	از چرخه خارج شد	-----	-----	
		۶۲	۲۵۰۰	CPH =۷۵mg	LHRH-A2=500µg DOMP=25mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	۸	۶۰۴	۳۴۷/۸۵۰	کامل	بدون لقاح	شمرده نشد	-----	
۵	۲	۵۹/۵	۲۲۰۰	CPH =۷۰mg	CPH=60mg HCG=65000 IU	تزریق نگردید	۲۰/۳	۶۴۲	۳۸۸/۸۹۴	تقریبا کامل	۷۰	۲۰۰۰۰۰۰	۱۱۷	۰/۰۰۸
		۵۸	۱۷۰۰	CPH =۵۵mg	LHRH-A2=300µg DOMP=17mg	LHRH-A2=200µg	۱۰/۴۵	۶۴۲	اندازه‌گیری نگردید	کامل	بدون لقاح	شمرده نشد	-----	

میانگین قطره قطره جریی تخم مورد نظر = D3 میانگین قطر تخمها بعد از تخمریزی = D2 میانگین قطر تخمکها قبل از تزریق اولیه = D1 مدت زمان آخرین تزریق هورمونی تا تخمریزی = LP

Archive of SID
www.SID.ir

ادامه جدول ۱:

شماره آزمایش	تعداد مولد (عدد)	مشخصات مولد		مقدار تزریق هورمون و مواد افزودنی (ماهی / مولد)			LP (ساعت)	D1 (میکرون)	D2/D3 (میکرون)	وضعیت تخمریزی	وضعیت لقاح (درصد)	تعداد تخم	تعداد لارو	درصد تخمه‌گشایی لارو
		طول کل (سانتیمتر)	وزن کل (گرم)	تزریق اولیه	تزریق نهایی۱ (بعد از ۲۴ ساعت)	تزریق نهایی ۲ (بعد از ۲۴ ساعت)								
۶	۶	۶۱	۲۰۰۰	CPH =۶۰mg	CPH=50mg HCG=50000 IU	تزریق نگردید	۲۶	۶۸۰	۳۹۵/۹۵۹	نیمه‌تخمریزی	بدون لقاح	شمرده نشد	———	
		۶۲/۵	۳۵۰۰	CPH= ۷۵mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	تزریق نگردید	۱۵	۶۶۲	۴۰۵/۹۰۸	کامل	۶۳	۲۰۰۰۰۰۰	۴۵۶۰۰۰	
		۵۲/۵	۱۶۰۰	CPH=۵۰ mg	LHRH-A2=200µg DOMP=16mg	CPH=40mg HCG=40000 IU	۱۹	۶۷۵	اندازه‌گیری نگردید	کامل	۵۰	۲۱۰۰۰۰۰	۵۱۰۰۰۰	
		۶۰	۲۲۰۰	CPH= ۷۵mg	CPH=55mg HCG=55000 IU	تزریق نگردید	۲۲/۳	۶۷۴	۳۸۹/۹۱۶	کامل	۹۵	۲۰۰۰۰۰۰	———	
		۵۵	۲۲۰۰	CPH= ۹۰mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	LHRH-A2=150µg DOMP=25mg	۱۶/۳	۶۳۱	اندازه‌گیری نگردید	کامل	۵۰	۱۹۵۰۰۰۰	———	
		۵۶	۲۰۰۰	CPH= ۶۰mg	CPH=50mg HCG=50000 IU	LHRH-A2=150µg DOMP=25mg	۴۰	۶۶۸	اندازه‌گیری نگردید	بسیار ناچیز	بدون لقاح	بسیار ناچیز	———	
۷	۵	۶۶	۲۵۰۰	CPH =۶۵mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	تزریق نگردید	———	۷۸۱	اندازه‌گیری نگردید	سوراخ تناسلی بسته	سوراخ تناسلی بسته	———	———	
		۶۲/۵	۲۹۰۰	CPH =۴۰mg	CPH=75mg HCG=75000 IU	تزریق نگردید	———	۷۰۷	اندازه‌گیری نگردید	تلفات	تلفات	تلفات	———	
		۵۸	۱۷۰۰	CPH =۷۵mg	CPH=45mg HCG=35000 IU	تزریق نگردید	۲۱	۶۸۴	۳۸۲/۹۲۰	کامل	۱۰	۲۰۰۰۰۰۰	۳۰۰۰۰	۱۵
		۵۷	۱۸۰۰	CPH =۷۰mg	تزریق نگردید	تزریق نگردید	۲۱	۶۵۸	اندازه‌گیری نگردید	کامل	بدون لقاح	۱۵۰۰۰۰۰	———	
		۶۱	۲۲۰۰	CPH =۸۰mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	LHRH-A2=150µg DOMP=20mg	۱۲/۳	۶۷۲	اندازه‌گیری نگردید	نیمه‌تخمریزی	بدون لقاح	۱۲۰۰۰۰۰	———	
۸	۵	۵۹	۲۵۰۰	CPH =۱۰۰mg	LHRH-A2=250µg DOMP=20mg	LHRH-A2=300µg DOMP=20mg	۲۹/۵	۶۶۹	اندازه‌گیری نگردید	تقریبا کامل	بدون لقاح	۱۰۰۰۰۰۰	———	
		۶۵/۶	۳۲۰۰	CPH =۱۰۰mg	CPH=55mg HCG=15000 IU	LHRH-A2=200µg DOMP=20mg	۲۵/۲۵	۶۱۹	۳۶۲/۸۹۳	کامل	۹۰	۲۶۰۰۰۰۰	۲۰۰۰۰۰۰	۸۵/۵
		۵۹	۲۹۰۰	CPH =۹۰mg	CPH=75mg HCG=60000 IU	تزریق نگردید	۳۰	۶۱۲	اندازه‌گیری نگردید	نیمه‌تخمریزی	بدون لقاح	شمرده نشد	———	
		۶۲	۲۶۰۰	CPH =۱۰۰mg	LHRH-A2=500µg DOMP=20mg	تزریق نگردید	۲۷/۵	۶۲۶	اندازه‌گیری نگردید	نیمه‌تخمریزی	بدون لقاح	شمرده نشد	———	
		۶۲	۳۰۰۰	CPH =۱۲۰mg	LHRH-A2=600µg DOMP=20mg	LHRH-A2=150µg	۱۲	۶۵۹	۳۸۹/۹۲۸	کامل	۹۰	۲۵۰۰۰۰۰	———	۸۸/۹

میانگین قطر قطره چربی تخم مورد نظر = D3 میانگین قطر تخمها بعد از تخمریزی = D2 میانگین قطر تخمکها قبل از تزریق اولیه = D1 مدت زمان آخرین تزریق هورمونی تا تخمریزی = LP

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در شرایط طبیعی، کاهش دوره نوری و درجه حرارت، مولدین کفال خاکستری را تحریک به شروع مرحله زرده‌سازی تخمک می‌نماید (Lee *et al.*, 1992). این مرحله معمولاً ۲ تا ۲/۵ ماه بطول می‌انجامد که در پایان آن اندازه تخمک ≥۶۰۰ میکرون می‌باشد پس از آن فرایند بلوغ و رسیدگی نهایی گنادها در شرایط پرورش متوقف می‌گردد (Tamaru *et al.*, 1993).

از بررسی مستمر تغییرات رشد و نمو تخمکها در شرایط گمیشان مشخص گردید مولدین قبل از رسیدن به شرایط رسیدگی کامل تخمک (≥۶۰۰ میکرون اندازه میانگین قطر تخمکها) با برودت آب محیط پرورش مواجه می‌شوند. این شوک حرارتی می‌تواند باعث کاهش کیفیت گامتهای جنسی شده و مانع از حفظ شرایط بلوغ گردد و همچنین می‌تواند دورهٔ زمانی فصل تولید مثل مولدین را کاهش دهد (Kuo,1993).

نتایج این پژوهش نشان داد که از طریق فراهم کردن شرایط محیطی مناسب مخصوصاً از نظر درجه حرارت و دوره نوری می‌توان فصل تولید مثل این ماهی را به مدت ۳ ماه به درازا کشاند و از کاهش کیفیت گنادهای جنسی مولدین نر و ماده جلوگیری نمود. به طوری که مشاهده شده است مولدین موجود در استخر های فضای باز که با سرمای زیاد مواجه بودند در مدت کمتر از دو ماه کاملا کیفیت گناد های خود را از دست می‌دهند (قانعی تهرانی،۱۳۸۰)

ماهیان مولد کفال خاکستری می‌توانند در شرایط پرورش در استخر به بلوغ کامل برسند، ولی تاکنون گزارشی مبنی بر تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی این ماهیان در شرایط پرورشی ارائه نشده است (Tamaru *et al.*, 1993).

مولدین ماده بالغ که دارای تخمکهای بزرگتر از ۶۰۰ میکرون از لحاظ قطر تخمک می‌باشند، جهت تخم‌ریزی موفقیت‌آمیز نیاز به تحریک هورمونی دارند (Shehadeh *et al.*, 1979). نتیجه اینکه، مولدین نر و ماده مورد آزمایش با وجود بلوغ کامل، هرگز بطور خودبخودی اقدام به تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی ننموده، بلکه ثابت شده است که جهت تخمریزی و اسپرم‌ریزی آنها نیاز به تحریک هورمونی دارند.

تاکنون مؤثرترین روش برای تحریک هورمونی مولدین کفال خاکستری جهت تخم‌ریزی بکارگیری روش دو تزریقی شامل یک تزیق اولیهٔ گنادوتروپین (HCG , CPH) و پس از ۲۴ ساعت انجام تزریق نهایی توسط $LHRH\text{-}A_2$ گزارش شده است (Tamaru *et al.*, 1993) . جدول ۱ نشان می‌دهد که استفاده از هورمون CPH در مرحله تزریق مقدماتی توانسته است نقش خود را جهت شروع رسیدگی نهایی تخمکها ایفا نماید.

Lee و همکاران در سال ۱۹۸۷ گزارش نمودند که مولدین بالغ کفال با میانگین قطر تخمک بیش از ۶۰۰ میکرون با بیش از ۲۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن CPH تزریق شده و همچنین LHRH-A جهت تزریق نهایی با بیش از ۲۰۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تخم‌ریزی موفقیت‌آمیزی را در مدت زمان ۱۱/۵ تا ۲۰ ساعت (با دو تزریق) و ۳۴ تا ۵۰ ساعت (با ۳ تزریق) بعد

www.SID.ir

Archive of SID

از تزریق نهایی داشتند. به همین ترتیب بررسی نتایج آزمایشهای تکثیر مصنوعی حاضر نشان می‌دهد که استفاده از هورمون $LHRH\text{-}A_2$ به همراه دامپریدون و یا ترکیب هورمونی HCG و CPH و تزریق نهایی توانسته نقش مؤثری را ارائه دهد بطوریکه از ۲۷ مولد بکارگرفته شده، ۲۲ عدد پس از دریافت مقدار نهایی اولیه و ثانویه اقدام به جذب آب و به تبع آن اوولاسیون نموده و در نهایت تخم‌ریزی موفقیت‌آمیزی داشته باشند.

Tamaru و همکاران در سال ۱۹۹۳، اظهار نمودند که اگر چه معمولا CPH بعنوان گنادوتروپین در تحریک اولیه مولدین مورد استفاده واقع می‌شود ولی بکار بردن هورمون HCG بعلت استاندارد بودن توان زیستی آن به واحدهای بین‌المللی، از توجیه بالاتری برخوردار می‌باشد. همچنین تیمار CPH/ LHRH-A مطمئن‌ترین و مقرون به صرفه‌ترین تیمار در تحریک هورمونی این ماهی می‌باشد و هورمون HCG می‌تواند در این روش جایگزین CPH گردد ولی این جایگزینی هزینه بیشتری را در برمی‌گیرد (Lee *et al.*, 1988).

Zaki و همکاران در سال ۱۹۹۸ طی تحقیق در کشور مصر گزارش نمودند که مولدین ماده کفال خاکستری که طی ۱۰ تزریق به فاصله زمانی ۵ روز میزان ۵۰۰ واحد بین ا لمللی به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی هورمون HCG دریافت کردند، رشد اووسیت و مرحله زرده‌سازی آنان کاملاً تحریک شده بود. نتایج پژوهش این محققین نشان می‌دهد که مکانیسم عمل HCG از طریق افزایش فعالیت ترشح سلولهای اپیتلیال فولیکولی و افزایش سنتز هورمونهای جنسی استروئیدی می‌باشد که به تبع آن موجب افزایش رشد اووسیت‌ها در مولدین ماده کفال می‌گردد. نتایج آزمایشات اخیر صورت گرفته در مرکز گمیشان مؤید این نکته می باشد، مولدین (نروماده) که روزانه به مدت هفت روز هورمون HCG دریافت نمودند نسبت به سایر مولدین نتایج بهتری را ارائه دادند.

از مطالب ارائه شده چنین استنباط می‌گردد که هرچه زمان دریافت هورمونها توسط مولدین طولانی‌تر و میزان جذب آنها تدریجی‌تر باشد، تأثیر فیزیولوژیک آنها بر محور هیپوتالاموس، هیپوفیز، گنادها مؤثرتر واقع شده و در نتیجه شاهد راندمان بهتری از نظر عوامل زیستی تکثیر مصنوعی این گونه خواهیم بود.

تشکر و قدردانی

از ریاست وقت مؤسسه تحقیقات شیلات جناب آقای دکتر رضوانی و نیز جناب آقای دکتر متین‌فر ریاست محترم بخش آبزی‌پروری مؤسسه به دلیل توجه ویژه و همچنین حمایتهای بی‌دریغ و همه جانبه‌شان نهایت سپاسگزاری می‌شود.

همچنین از کلیهٔ همکاران محترم آقایان محمد بینایی، محمد صلواتیان، یوسف ایری، حسین پیری، جمشید الیاسی، احمد طبری، رضا عسگری و بهروز منصوری تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

از جناب آقای دکتر ستهی از کشور هندوستان و پروفسور تامارو از کشور آمریکا که تلاش و همکاری آنان فراموش نشدنی است، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

قانعی تهرانی، م. ، ۱۳۸۰. مولدسازی و تکثیر مصنوعی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). وزارت جهاد کشاورزی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۰۴ صفحه.

Donaldson, E.M. and Hunter, G.A. , 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in culture fish. *In*: W.S. Hoar and D.J. Randall (ed.), Fish Physiology, Vol. 98. Academic Press, New York, USA. pp.351-403.

Greeley, M.S. Jr. ; Calder, D.R. and Wallace, R.A. , 1987. Occyte growth and development in the striped mullet, *Mugil cephalus*, during seasonal ovarian recrudescence: relationship of fecundity and size at maturity. Fishery Bul. Vol. 85, No. 2, pp.187-200.

Kuo, C.M. ; Nash, C.E. and Shehadeh, Z.H. , 1973. Induced spawning of captive grey mullet *(Mugil cephalus)* females by injection of human chorionic gonadotrophin. Aquaculture, Vol. 1, pp.429-432.

Kuo, C.M. , 1993. Manipulation of ovarian maturation and spawning in grey mullet *Mugil cephalus* Linnaeus. The Third Indian Fisheries Forwn proceedings. Pantnagar, pp.81-88.

Lam, T.J. , 1982. Application of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci., Vol. 39, pp.111-137.

Lee, C.S. ; Kelley, C.D. and Tamaru, C.S. , 1988. The cost and effectiveness of CPH, HCG and LHRH-A on the induced spawning of grey mullet, *Mugilcephalus*. Aquaculture, Vol. 73, pp.341-347.

Lee, C.S. ; Tamaru, C.S. ; Kelly, C.D. ; Moriwakeandnd, A. and Miyamoto, G.T. , 1992. The effect of salinities on the induction of spawning and fertilization in the striped mullet, *Mugil cephalus*. Aquaculture, Vol. 102, pp.289-296.

Lee, C.S. ; Tamaru, C.S. ; Miyamoto, G.T. and Kelley, C.D. , 1987. Induced spawning of grey mullet (*Mugli cephalus*) by LHRH-a. Aqaculture, Vol. 62, pp.327-336.

Liu, K.M. and Kelley, C.D. , 1994. The oceanic institute hatchery manual series striped mullet (*Mugil cephalus*). The Oceanic institute, Honolulu, Hawaii. 96825P.

www.SID.ir

Archive of SID

Shehadeh, Z.H. ; Kuo, C.M. and Milisen, K.K. , 1979. Induced Spawning of grey mullet, *Mugil cephalus* L., with fractionated salmonpituitary extract. Journal of Fish Biol., Vol. 5, pp.471-478.

Tamaru, C.S. ; Fitz Gerald, W. and Sato, V. , 1993. Hatchery manual for the artificial propagation of striped mullet (*Mugil cephalus* L). Guam aquaculture development and training center technical report. 177P.

Tamaru, C.S. ; Kelly, C.D. ; Lee, C.S. ; Aida, K. ; Hanyu, I. and Goetz, F. , 1991. Steroid profiles during maturation and induced spawning of the striped mullet (*Mugil cephalus*). Aquaculture, Vol. 95, pp.149-168.

Zaki, M.I. ; Mousa, M. ; Kamel, S. and Banhawy, E.L. , 1998. Effects of exogenous hormone injection on growth and maturation of *Mugil cephalus* oocytes in captivity. National Institute of Oceanography and Fisheries. Ein Shams University, Faculty of Science, Egypt. Vol. 12, pp.149-161.

www.SID.ir

Archive of SID

An investigation on artificial reproduction of *Mugil cephalus*

Mirhashem Rostamy S.A.[1] ; Amini K.[2] ; Joorjany M.[3] ; Ghazel H.Gh.[4] and Shafaee A.[5]

Rostamy_a@yahoo.com

1,2,3,5- Inland Waters Aquatics Stocks Research Center, P.O.Box: 139 Goorgan, Iran

4- Shahid Marjani Sturgeon Rearing Center,

Received: November 2004 Accepted: June 2005

Keywords: *Mugil cephalus*, Artificial breeding, Iran

Abstract

Cultured nine years old breeder *M. cephalus* specimens were subjected to eight artificial breeding treatments from December till February 2003. In treatments 1-5, breeders received two injections of CPH and LHRH–A_2 coupled with Domperidone or a mixture of CPH and HCG in an interval of 24 hours. Female breeders in treatments 6-8 received a gradual daily injection of 500 IU HCG per kilogram of body weight for 5 days. Male breeders in treatments 6-8 were given 5-10mg of MT-α-17 in addition to HCG and then subjected to two injections similar to that of treatments 1-5.

Results showed that male breeders in stages +2 and +3 of all treatments that had received HCG produced more milt than those injected with MT-α-17, such that each male was used 2-6 times for milting purposes. Of 27 female breeders, 22 spawned 1-2.6 million eggs among which eight females' eggs were fertilized 10-95%. Hatching rate was between 0.008 to 88.9% and a maximum of 2 million larvae were produced.

The best time for artificial breeding is December when mean egg width is ≥600 microns. Statistical analysis of egg width, hatching rate and larvae production showed a significant difference between treatments 1-5 and 6-8 ($p<0.05$). This proved the supremacy of multiple injections including HCG for artificial breeding of *Mugil cephalus*.

www.SID.ir