Archive of SID

مقایسه اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز بر کیفیت اسپرم تولیدی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

تقی سیفی[۱]، محمدرضا ایمانپور[۲*]، ولی‌ا... جعفری[۳] و چنگیز مخدومی[۴]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[۲] دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[۳] استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[۴] مربی مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی شهید رجایی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۰، تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۱۷)

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی مولدین نر کپور پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. میزان حجم اسپرم‌دهی و درصد اسپرم‌های متحرک در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۱$)، به‌طوری که بیشترین میزان حجم اسپرم‌دهی در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم (۴/۰۴ ± ۱۲/۷۸ و ۴/۹۶ ± ۱۲/۰۰ میلی-لیتر، به ترتیب) و بالاترین مقدار درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار هیپوفیز مشاهده شدند (۱/۷۹٪ ± ۸۷/۴۲). بین میزان اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۱$) و بیشترین میزان اسپرماتوکریت در تیمار اوواپریم مشاهده شد (۱/۲۶ ± ۸۰/۸۶). تراکم اسپرم در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) به‌گونه‌ایی که در تیمارهای اوواپریم و هیپوفیز بیشتر از بقیه بود ($۲/۳۸ \times ۱۰^{۹}$ ± ۰/۱۸ و $۲/۲۹ \times ۱۰^{۹}$ ± ۰/۱۴، به ترتیب). طول دوره تحرک اسپرم هم در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$) و بیشترین میزان آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد (۷/۶۹ ± ۷۴/۸۰ ثانیه). میانگین pH در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$) و بیشترین آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد (۰/۱۵ ± ۸/۳۶). نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق هورمون‌های اوواپریم و غدّه هیپوفیز در مقایسه با هورمون HCG موجب افزایش کیفیت پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی کپور معمولی پرورشی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: ماهی کپور، اوواپریم، HCG، هیپوفیز، پارامترهای اسپرم شناختی

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۱-۱۷۸۷۹۰۲ فاکس: ۰۱۷۱-۲۲۴۵۸۸۶ E-mail: mrimanpoor@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماهی کپور معمولی (Cyprinus *carpio* Linnaeus, 1758) از خانواده کپورماهیان است. این خانواده دارای ۲۱۰ جنس و ۲۰۱۰ گونه می‌باشد. پراکنش این ماهی در دریای خزر، رودخانه تجن و تمام حوزه‌های آبریز ایران با بیشینه طول ۱۵۰ (میانگین ۳۸) سانتی‌متر مشاهده شده است (Sattari *et al.*, 2003). در بسیاری از ماهیان اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و تخم‌ریزی در شرایط پرورشی به صورت کامل صورت نمی‌گیرد و برای القای تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی و همزمانی آزادسازی گامت‌ها در کارگاه‌های پرورش ماهی از تزریق هورمون استفاده می‌شود (Zohar and Mylonas, 2001). یکی از مهمترین مشکلات در تکثیر مصنوعی کپور ماهیان بدست آوردن گامت‌هایی با کیفیت بالا از ماهیان تزریق شده می‌باشد. کیفیت اسپرم معمولا بوسیله درصد تحرک و مدت زمان حرکت رو به جلوی اسپرم ارزیابی می‌گردد (Billard, 1992).

در صنعت آبزی‌پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیشتر می‌باشد این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها موثر است. از آنجا که اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده اثر گذار است و در هچری‌های در مقیاس تجاری، سمن از نظر کمی و کیفی ناکافی است، استفاده از تکنیک‌هایی جهت افزایش درصد و طول دوره حرکتی اسپرم موجب افزایش راندمان تولید خواهد شد (Rurangwa *et al.*, 2004). همچنین دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند. به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص باشد (Tekin *et al.*, 2003). برای این کار می‌بایست بیومارکرهای کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثرند مشخص شود (Rurangwa *et al.*, 2004).

القاء هورمونی تولیدمثل بطور گسترده در آبزی پروری جهت تحریک رسیدگی جنسی (اوولاسیون و اسپرمیشن) در گونه‌هایی که به‌طور خودبخودی در محیط اسارت رسیده نشدند، یا برای همزمانی اوولاسیون برای اهداف کاربردی در برخی گونه‌های دیگر استفاده می‌شود (Bobe and Labbé, 2010). غده هیپوفیز به طور گسترده جهت القای تولید مثل در کپور ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، و به نحو مؤثری عمل اسپرم‌ریزی را در کپور ماهیان تحریک می‌کند. همچنین GnRH به همراه یک آنتی دوپامین سال‌هاست که به دلیل قیمت مناسب نسبت به هیپوفیز جهت تزریق به ماهیان مولد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zohar and Mylonas, 2001). اوواپریم مخلوطی از هورمون مصنوعی آزاد کننده گنادوتروپین آزاد ماهیان (sGnRHa[1]) و یک ضد دوپامین دومپریدون[2] است (Leelapatra, 1988; Nandeesha *et al.*, 1990; Goudie *et al.*, 1992). هورمون HCG[3] به منظور بلوغ در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این هورمون توسط جفت انسان ساخته و در ادرار خانم‌های باردار وجود دارد (Glen *et al.*, 2003). تزریق هورمون‌های مختلف به ماهیان می‌تواند روی کیفیت پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهیان اثر داشته باشد به‌گونه‌ایی که در برخی موارد کیفیت آن افزایش می‌یابد (Lim *et al.*, 2004).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی (طول دوره حرکت اسپرم، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت، حجم اسپرم‌دهی، تراکم اسپرم و pH) در مولدین نر کپور معمولی می‌باشد و از آنجا که تاثیر این هورمون‌ها روی کیفیت اسپرم ماهی کپور معمولی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفت است، لزوم انجام این مطالعه بیشتر احساس می‌شود.

۱- Salmon Gonadotropin Releasing Hormone analog

۲- Dompridon

۳- Human Chorionic Gonadotropin

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

این تحقیق در طی ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد ۱۳۸۸ صورت گرفت. مولدین نر کپور پرورشی از مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری تهیه شدند. برای این کار تعداد ۲۰ مولد نر کپور پرورشی سه ساله (با میانگین طولی ۱/۴۹ ± ۵۱/۶۵ سانتی‌متر و میانگین وزنی ۱۶۹/۶۸ ±۲۶۹۱/۵۰ گرم) آماده و توسط هیپوفیز، اوواپریم و HCG تزریق شدند و با شاهد که تنها توسط سرم فیزیولوژی تزریق شده بود مقایسه گردیدند (۴ تیمار). در هر تیمار ۵ مولد نر کپور پرورشی تزریق شدند. به گروه اول عصاره هیپوفیز کپور معمولی به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (Zohar and Mylonas, 2001) در قاعده باله سینه‌ایی و در محل صفاق تزریق گردید (Rottman *et al.*, 1991) به گروه دوم هورمون اوواپریم به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید و به گروه سوم HCG به‌میزان ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم تزریق به عمل آمد (Zohar and Mylonas, 2001). پس از گذشت ۱۲ ساعت از تزریق با HCG و ۲۴ ساعت از تزریق با اوواپریم و عصاره هیپوفیز، نمونه‌های منی با دقت بدون اینکه با آب، ادرار و یا خون آلوده شوند، جمع آوری شدند. بعد از اطمینان از فعال بودن اسپرم، نمونه‌های جمع آوری شده در سرنگ‌های استریل و در مجاورت هوا ($\frac{2}{3}$ حجم سرنگ از هوا پر شده بود) بوسیله فلاسک محتوی یخ، در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و pH) منتقل گردید (Secer *et al.*, 2004).

برای اندازه‌گیری مدت زمان تحرک اسپرم از میکروسکوپ فاز کنتراست[1] استفاده شد (Cosson *et al.*, 2000). سمن با رقیق کننده (آب مقطر) به نسبت ۱ به ۲۰۰۰ در میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی گراد) رقیق گردید و حرکت اسپرم با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم توسط دوربین CCD متصل به میکروسکوپ ثبت شد و تا زمانی که صد درصد اسپرم‌ها از تحرک باز ایستادند با دوربین تصویربرداری شد. نرم افزار مورد استفاده ASUS بود. در ادامه با استفاده از نرم افزار Adobe premeier هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد (Turner and Montgomerie, 2002). جهت اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، لوله های موئینه محتوی سمن که یک سمت آن با خمیر مخصوص لوله‌های هپارینه مسدود شده بود در دستگاه سانتریفیوژ[2] قرار داده شد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس درصد اسپرم به پلاسمای سمن اندازه‌گیری شد (Fitzpatrick *et al.*, 2005). برای اطمینان از هر ماهی ۳ الی ۵ لوله موئینه محتوی سمن تهیه شد و از میانگین داده‌ها استفاده شد. تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکپ فازکنتراست زمینه سیاه با درشت نمایی۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد $10^9\times$ در هر میلی لیتر سمن نوشته شد. با استفاده از سرنگ انسولین حجم اسپرم‌دهی ماهیان اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری pH، نمونه‌ها درون ویال های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد، و ابتدا در دور۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه و در ادامه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Linhart *et al.*, 1991). بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای منی که در قسمت بالای ویال قرار دارد (سوپر نتنت)[3] به درون ویال‌های جدید انتقال داده و pH بوسیله پی.اچ متر (pH-462 ,Iran, T.S.CO)[4] اندازه‌گیری شد. در تجزیه آماری این کار، شیوه نمونه برداری به‌صورت تصادفی و در قالب

۱- Leica usa مجهز به دوربین پاناسونیک wv-cp 240 japan

۲- Sigma 1-13 England

۳- Supernatant

۴- Tajhizat sanjesh company

www.SID.ir

Archive of SID

طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های بدست آمده در ارتباط با مدت زمان و درصد حرکت اسپرم، حجم اسپرم‌دهی، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم و pH مایع اسپرمی در چهار گروه تزریق عصاره هیپوفیز، هورمون اوواپریم، HCG و شاهد با کمک آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد (P <۰/۰۵) توسط آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 16 با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

مقایسه میانگین طول دوره تحرک اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور معمولی پرورشی در جدول ۱ نشان داده شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود بین میانگین طول دوره حرکت اسپرم در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۱)، و بیشترین میزان آن در تیمار هیپوفیز مشاهده شد. همچنین بین درصد اسپرم‌های متحرک در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی تفاوت معنی-داری وجود داشت (P <۰/۰۱)، که بیشترین میزان درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار هیپوفیز مشاهده شد. بعلاوه مطابق جدول ۱ بین میزان حجم اسپرم‌دهی در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۱)، به طوری که بیشترین میزان حجم اسپرم-دهی در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شد. در میزان تراکم اسپرم در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P <۰/۰۵)، و بیشترین میزان تراکم اسپرم در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شدند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌های اسپرماتوکریت بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور معمولی پرورشی در جدول ۱ نشان داده شده است. مطابق این جدول بین میزان اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۱)، و بیشترین میزان اسپرماتوکریت در تیمار اوواپریم مشاهده شد. مطابق جدول ۲، pH در بین تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری داشت (P <۰/۰۱) به‌طوری که بیشترین میزان pH در گروه هیپوفیز مشاهده شد. همچنین نمودارهای مربوط به پارامترهای اسپرم‌شناختی و پی- اچ سمن ماهی کپور پرورشی تحت تاثیر تزریق عصاره هیپوفیز، هورمون‌های اوواپریم و HCG در شکل ۱ نشان داده شده است.

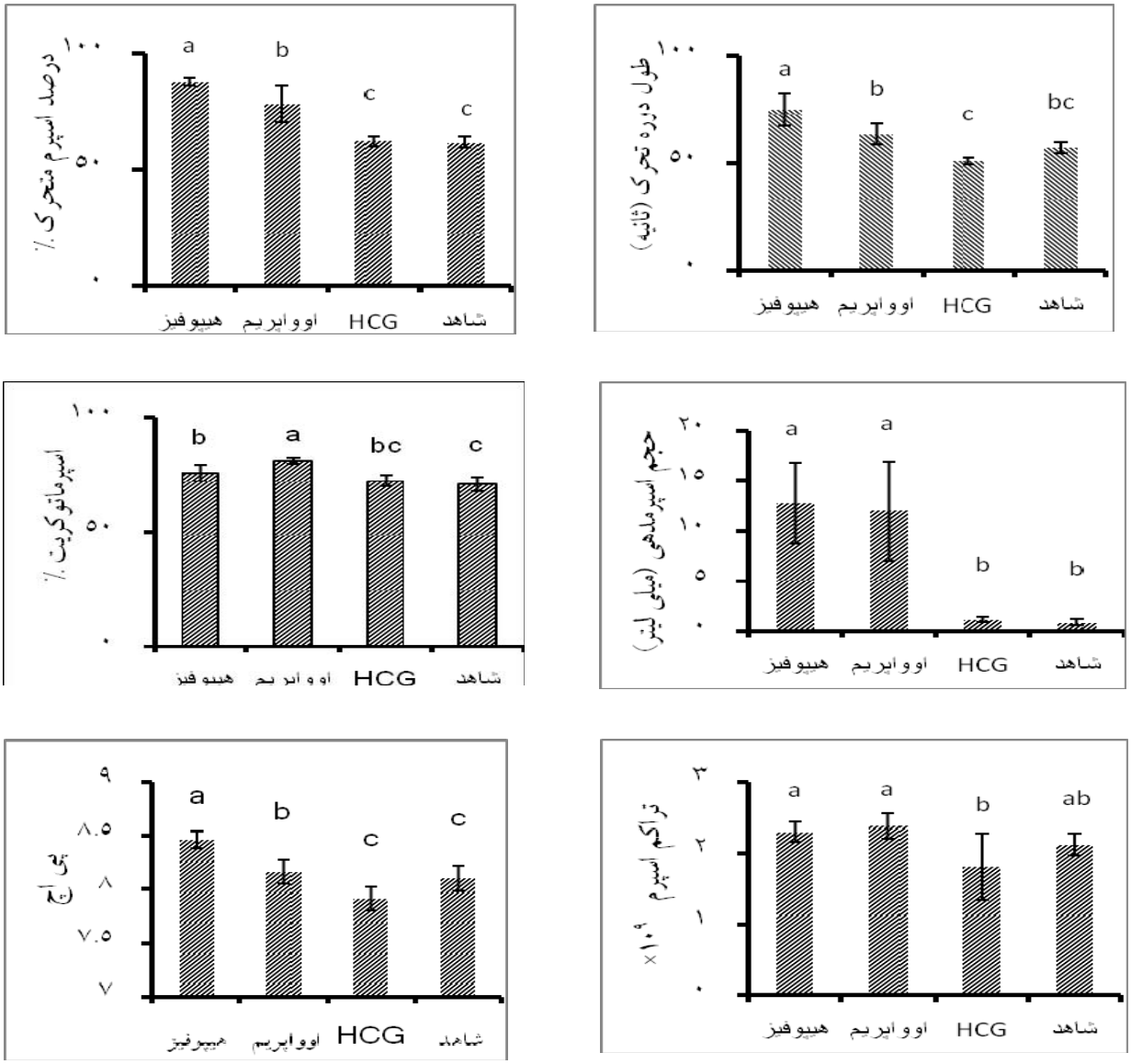
جدول ۱- مقایسه میانگین‌های داده‌های (انحراف معیار± میانگین) پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی کپور معمولی پرورشی در بین تیمارهای مختلف

تیمار	تیمار ۱ هیپوفیز	تیمار ۲ اوواپریم	تیمار ۳ HCG	تیمار ۴ شاهد
طول دوره تحرک (ثانیه)	۷۴/۸۰ ± ۷/۶۹^{a}	۶۳/۴۰ ± ۵/۰۲^{b}	۵۰/۸۰ ± ۱/۶۴^{c}	۵۷/۲۰ ± ۲/۵۸^{bc}
درصد اسپرم متحرک	۸۷/۴۲ ± ۱/۷۹^{a}	۷۷/۸۸ ± ۷/۶۲^{b}	۶۲/۰۵ ± ۲/۱۶^{c}	۶۱/۴۳ ± ۲/۳۷^{c}
حجم اسپرم (cc)	۱۲/۷۸ ± ۴/۰۴^{a}	۱۲/۰۰ ± ۴/۹۶^{a}	۱/۱۱ ± ۰/۲۵^{b}	۰/۸۶ ± ۰/۲۹^{b}
تراکم اسپرم $\times 10^{9}$	۲/۲۹ ± ۰/۱۴^{a}	۲/۳۸ ± ۰/۱۸^{a}	۱/۸۱ ± ۰/۴۷^{b}	۲/۱۲ ± ۰/۱۵^{ab}
اسپرماتوکریت (درصد)	۷۵/۷۳ ± ۳/۵۴^{b}	۸۰/۸۶ ± ۱/۲۶^{a}	۷۲/۲۸ ± ۲/۳۸^{bc}	۷۰/۸۵ ± ۳/۱۰^{c}
پی - اچ	۸/۳۶ ± ۰/۱۵^{a}	۸/۲۰ ± ۰/۱۲^{b}	۷/۹۴ ± ۰/۰۵^{c}	۸/۰۴ ± ۰/۱۱^{c}

حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- نمودارهای مربوط به پارامترهای اسپرم‌شناختی و pH سمن ماهی کپور پرورشی تحت تاثیر هورمون‌های مختلف حروف انگلیسی مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد (داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است).

بحث و نتیجه‌گیری

برای استفاده کارآمدتر روش‌های تولید مثلی، تکثیر القایی، لقاح مصنوعی، تفریخ موفق و انجماد اسپرم نیاز به سمن با کیفیت خوب می‌باشد (Agarwal and Raghuvanshi, 2009). ولی رسیدگی جنسی در برخی گونه‌های ماهیان در شرایط اسارت رخ نمی‌دهد که علت آن به شرایط محیطی یا شرایط پرورشی که در آن به سبب استرس یا عدم رعایت نیازهای طبیعی آن‌ها برای کامل کردن اعمال تولیدمثلی است بر می‌گردد (Metwally and Fouad, 2008). در چنین شرایطی به دلیل کاهش هورمون‌های استروئیدی عملکرد تولیدمثلی ماهیان مختل می‌شود، در نتیجه با کمک دستکاری‌های هورمونی می‌توان از طریق افزایش هورمون‌های جنسی همچون تستوسترون و ۱۱ کتو تستوسترون این مشکل را حل کرد (Lim *et al.*, 2004).

www.SID.ir

Archive of SID

درصد اسپرم‌های متحرک و طول دوره تحرک اسپرم از مهمترین بیومارکرهای کیفی اسپرم به‌شمار می‌روند (Billard *et al.*, 1995). طبق نتایج این تحقیق بین طول دوره تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی-داری مشاهده شد (P <۰/۰۱) که بیشترین میزان آن در گروه هیپوفیز اندازه‌گیری شد که نشان می‌دهد عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی طول دوره حرکت اسپرم ماهی کپور معمولی پرورشی دارد. احتمالاً هورمون هیپوفیز نسبت به هورمون‌های اوواپریم و HCG بهتر توانسته است اسپرمیشن و قابلیت حرکتی اسپرم را در ماهی کپور معمولی تحریک نماید. در تحقیق حاضر میان درصد اسپرم‌های متحرک در تیمارهای مختلف ماهی کپور معمولی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۱) و بیشترین میزان آن در گروه هیپوفیز مشاهده شد. که با نتایج Zadmajid *et al.*, 2008 و Lahnsteiner *et al.*, 1996 مطابقت دارد. در کپور ماهیان بین pH پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های متحرک همبستگی خطی و مثبتی وجود دارد (Lahnsteiner *et al.*, 1996). با توجه به نتایج این تحقیق بین حجم اسپرم‌دهی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P <۰/۰۱)، به‌طوری که در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم نسبت به تیمارهای HCG و شاهد حجم اسپرم‌دهی بالاتری داشتند که با مطالعات Zadmajid *et al.*, 2008 مطابقت دارد. کاربرد هورمون HCG روی حجم اسپرم‌دهی در گونه مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) تأثیر کمی نشان داده است (Ohta and Tanaka, 1997) در این تحقیق نیز در نتیجه تزریق هورمون HCG حجم اسپرم‌دهی کپور معمولی نسبت به سایر هورمون‌های بکاربرده شده کمتر بوده است. از طرفی طی مطالعاتی که Krol *et al.*, 2009 روی اسملت اروپایی انجام دادند، مشاهده کردند که هورمون اوواپریم نسبت به هورمون اووپل (mGnRHa+metaclopramide) تاثیر مثبت معنی‌داری روی حجم اسپرم‌دهی داشته است. نتایج بدست آمده در تحقیقات مختلف هم نشان داد که HCG اثر تحریکی روی تولید اسپرم در ماهی اسملت ندارد (Krol *et al.*, 2009). همچنین مطالعات نشان داد که عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی حجم اسپرم‌دهی کپور معمولی (*C.carpio*) دارد (Clemens and Grant, 1965). هورمون GnRH از طریق تأثیر بر غده هیپوفیز باعث افزایش GTH و در نتیجه افزایش حجم اسپرم‌دهی می-شود (Lim *et al.*, 2004). بین تراکم اسپرم در تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور معمولی پرورشی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P <۰۵) و بیشترین میزان آن هم در تیمارهای هیپوفیز و اوواپریم مشاهده شد. در این مطالعه مشاهده شد که HCG نسبت به سایر هورمون ها تاثیر کمی روی تراکم اسپرم دارد، که با مطالعات صورت گرفته توسط Zadmajid *et al.*, 2008 همخوانی دارد. عموماً تراکم اسپرم برای ارزیابی کیفت اسپرم استفاده می‌شود و ارتباط معنی‌داری بین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم وجود دارد همچنین بین تراکم اسپرم و موفقیت لقاح هم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (Harald et al, 2001). بیشترین میزان اسپرماتوکریت هم در تیمار اوواپریم مشاهده شد که از تیمارهای هیپوفیز و HCG و شاهد بیشتر بوده که با نتایج Viveiros et al, 2002 مطابقت دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون هیپوفیز سبب افزایش pH مایع سمینال ماهی کپور معمولی پرورشی شده است که با نتایج Zadmajid *et al.*, 2008 مطابقت دارد. آنچه سبب افزایش pH در مجرای اسپرم‌بر می‌شود، افزایش هورمون ۱۷ آلفا – ۲۰ بتا – دی هیدروکسی – ۴ پرگنن – ۳ و ۱ (17 α,20β-DP) است که در نهایت موجب افزایش cAMP در اسپرم شده و زمینه شروع حرکت اسپرم را فراهم می‌کند (Miura *et al.*, 1991). pH مهمترین مشخصه پلاسمای سمینال می‌باشد که روی پتانسیل حرکت اسپرم در کپور ماهیان مؤثر است (Billard *et al.*, 1995).

نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون اوواپریم و عصاره هیپوفیز نسبت به هورمون HCG و گروه شاهد تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در ماهی کپور

www.SID.ir

Archive of SID

معمولی پرورشی دارند و به‌طور موفقیت آمیزی فرایند اسپرم‌سازی و اسپرم‌ریزی را در این گونه تحریک می‌کند.

سپاسگزاری

از مسئولین و پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی و ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری که اینجانب را در انجام این تحقیق یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

- Zadmajid, V., Imanpoor, M.R., Sudagar, M., Shabani, A., 2008. Comparison the injection effects of GnRHa, HCG and pituitary extract on Spermatological parameters in goldfish (*Carassius auratus*). J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 15(1), 1- 9.
- Sattari, M., Shahsavari, D., Shafii, S., 2003. Ichthyology (2) systematics. Haghshenas press, 502 pp.
- Agarwal, N.K., Raghuvanshi, S.K., 2009. Spermatocrit and sperm density in snowtrout (Schizothorax richardsonii): Correlation and variation during the breeding season. Aquaculture 291, 61–64.
- Billard, R., 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamic of gametogenesis, biology and preservation of gametes. Aquqculture 100, 263-298.
- Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture 124, 95-112.
- Bobe J., Labbé C., 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology 165, 535–548.
- Clemens, H.P., Grant, F.B., 1965. The seminal thinning response in carp *Cyprinus carpio* and rainbow trout *Salmo gairdneri* after injections of pituitary extracts. Copeia 1965, 174–177.
- Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. Journal of Fish Biology 56, 1348-1367.
- Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Leily, N.R., Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization succsess of masulinized coho salmon *oncorhynchus kisutch*. Aquaculture 249, 459-468.
- Glen, V.D.K., John, P., Jans, D.M., 2003. The physiology of fishes, Reproduction: 465-480.
- Goudie, C.A., Simco, B.A., Davis, K.B., Parker, N.C., 1992. Reproductive performance of pigmented and albino female channel catfish induced to spawn with HCG or Ovaprim. Journal of the World Aquaculture Society 23, 138-145.
- Harald, B.T., Tillmann, J.B., Deborah, J.M.R., Joanne, P., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture 194, 191–200.
- Król, J., Kowalski, R.K., Hliwa, P., Dietrich, G.J., Stabiński, R., Ciereszko, A., 2009. The effects of commercial preparations containing two different GnRH analogues and dopamine antagonists on spermiation and sperm characteristics in the European smelt Osmerus eperlanus (L.). Aquaculture 286, 328–331.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A., 1996. Motility of spermatozoa of Alburnus alburnus (*Cyprinidae*) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. Fish Physiol.Biochem 15, 167– 179.
- Leelapatra, W., 1988. Carp culture in Thailand with particular emphasis on induced spawning. In Proceedings of the Aquaculture International Congress and Exposition, Vancouver. Pp. 331-337.

www.SID.ir

Archive of SID

- Lim, H.K., Pankhurst, N.W., Fitzgibbon, Q.P., 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder (*Rhombosolea tapirina)*. Aquaculture 240, 505–516.
- Linhart, O., Slechta, V., Slavik, T., 1991. Fish sperm composition and biochemistry. Bull Inst Zool Acad Sin Monogr. 16, 285–311.
- Metwally, M.A.A., Fouad, I.M., 2008. Some Biochemical Changes Associated with Injection of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) with Oviaprim and Pregnyl for Induction of Artificial Spawning. Global Veterinaria 2(6), 320-326.
- Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1991. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. Journal of Experimental zoology 261, 359-363.
- Nandeesha, M.C., Rao, K.G., Jayanna, R.N., Parker, N.C., Varghese, T.J., Keshavanath, P., Shetty, H.P.C., 1990. Induced spawning of Indian major carps through single application of Ovaprim-C. In: The Second Fisheries Forum. (Eds. Hirano, R. and Hanyu, I.), Asian Fisheries Society, Manila, Phillippines. 991 pp.
- Ohta, H., Tanaka, H., 1997. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin HCG and11-ketotestosterone after a single injection of HCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguilla japonica.* Aquaculture 153, 123–134.
- Rottmann, R.w., Shireman, J.V., Chapman, F.A., 1991. Determining sexual maturity of broodstock for induced spawning of fish. SRAC publication 423, 1-4.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Olllevier, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234, 1-28.
- Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., 2004. correlation between biochemical and spermatological parametersin rainbow trout (*Oncorhynchus my*kiss). Bamidgeh 56, 274-280.
- Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y., 2003. Cryopreservation of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss*. Bamidgeh 55, 208-212.
- Turner, E., Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhance sperm movement in Arctic charr. Journal of Fish Biology 60, 1570-1579.
- Viveiros, A.T.M., Fesehaye, Y., ter Veld, M., Schulz, R.W., Komen, J., 2002. Hand-stripping of semen and semen quality after maturational hormone treatments, in African catfish Clarias gariepinus. Aquaculture 213, 373–386.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture 197, 99–136.

www.SID.ir

Archive of SID

The injection effects of ovaprim, HCG and pituitary extract hormons on Sperm quality in cultured common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

T.Seifi[1], M.R. Imanpoor[2], V.Jafari[3] and C.Makhdomi[4]
[1] M.Sc. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resourses, I.R. Iran
[2] Associate Prof., Gorgan University of Agricultural Sciecnes and Natural Respurces, I.R. Iran
[3] Assistant Prof., Gorgan University of Agricultural Sciecnes and Natural Respurces, I.R. Iran
[4] M.Sc. shahid Rajaii Warm Water Fishes Breeding and Cultivation Center, Sari, I.R. Iran
(Received: 10 May 2010, Accepted: 08 March 2011)

Abstract

In this study the effects of ovaprim, HCG and pituitary extract injection on spermatological parameters was compared in cultured common carp *(C.carpio)* males. There was a significant difference about milt volume and percentage of motile spermatozoa among treatments ($p<0.01$) as the highest value of milt volume observed in pituitary extract and ovaprim treatments (12.78±4.04 and 12.00±4.96 ml, respectively) and the highest value percentage of motile spermatozoa observed in pituitary extract treatment (87.42±1.79 %). There was a significant difference of spermatocrit among treatments ($P<0.01$), and the highest value of spermatocrit observed in treatment of ovaprim (80.86±1.26). There were significant difference of sperm density among treatments ($p<0.05$) as the highest value of sperm density observed in treatments of ovaprim and pituitary extract (2.38±0.18 and 2.29±0.14 $\times 10^9$, respectively). There were significant difference of motility duration among treatments too ($P<0.01$) and the highest of motility duration of spermatozoa observed in treatment of pituitary extract (74.80±7.69 s). There were a highly significant difference of seminal plasma pH average among treatments ($P<0.01$), as the highest value of pH observed in pituitary extract treatment (8.36±0.15). The present study showed that hormonal ovaprim and pituitary extract injection at compare with HCG more effective on spermatological parameters quality in cultured common carp.

Keywords: Common carp; Ovaprim; HCG; Pituitary extract; Spermatological parameters

*Corresponding author: Tel: +98 911 1787902 , Fax: +98 171 2245886 , E-mail: mrimanpoor@yahoo.com

www.SID.ir