

القای تخم‌ریزی ماهیان به روش کاشت هورمون

عبدالعلی راهداری^۱، بهرام فلاحتکار^{۲*}

*falahatkar@guilan.ac.ir

۱-گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران

۲-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

چکیده

تزریق آنالوگ‌های GnRH به ماهی موجب آزاد شدن هورمون آزاد کننده (LH) از هیپوفیز می‌شود، که این هورمون باعث تحریک و تسریع رسیدگی جنسی گنادی می‌شود. استفاده از این آنالوگ‌ها در ماهیان ماده موجب تحریک رسیدگی نهایی اووسیت، اوولاسیون و سرانجام تخم‌ریزی می‌شود. روش سنتی استفاده از GnRHa ها تزریق درون عضلانی یا درون صفاقی می‌باشد. بسته به عواملی مانند نوع GnRHa، گونه ماهی و دمای آب اگر یک مرحله تزریق GnRHa انجام شود مدت زمانی که LH در بیشترین حد (پیک) باشد ۷۲-۱۲ ساعت خواهد بود. در بعضی از گونه‌ها همین اثر کوتاه مدت یک بار تزریق کافی است تا ۳-۲ روز بعد از تزریق، ماهی به تخم‌ریزی برسد. اما در مورد ماهی‌هایی با سیستم تخم‌ریزی غیرهمزمان، نیاز به تزریقات بیشتر است، ولی تزریقات چندگانه برای مولدین خطرناک و استرس‌زا هستند و در درازمدت اثرات بازدارنده تولیدمثلی دارند. بنابراین، می‌توان از روش‌های دیگری نظیر سیستم‌های پیوسته رهش استفاده نمود. وارد کردن GnRHa از طریق سیستم‌های رهش به بدن ماهی (فقط یک مرحله) موجب می‌شود GnRHa به طور مداوم به جریان خون وارد شود و در نتیجه به طور مداوم غده هیپوفیز برای آزادسازی LH تحریک شود، که می‌تواند چند هفته طول بکشد. بنابراین، در سیستم پیوسته رهش وارد کردن یک مرتبه‌ای پلت‌های هورمونی جایگزین تزریق چند مرتبه‌ای می‌شود. امروزه سیستم‌های مختلفی از رهش وجود دارد که در این مقاله به انواع مختلف آن، چگونگی آماده سازی و روش‌های کاشت هورمونی در ماهیان و امکان کاربرد آن در مورد برخی ماهیان ایران پرداخته می‌شود.

کلمات کلیدی: کاشت، هورمون، تخم‌ریزی، GnRH.

مقدمه

ماهی‌ها از لحاظ نمو تخمدانی به سه گروه همزمان^۱، همزمان گروهی^۲ و غیرهمزمان^۳ تقسیم‌بندی می‌شوند، که البته گروه همزمان گروهی خود به دو گروه دیگر شامل single-batch (فقط یک بار رسیدگی اووسیت‌ها و اوولاسیون انجام می‌شود) مانند باس راه راه *Morone saxatilis* و قزل آلاهی رنگین کمان) و multiple-batch (چند بار اوولاسیون را در یک دوره کوتاه چند هفته‌ای طی می‌کنند، مانند باس دریایی اروپایی *Sciaenops ocellatus* و عنبرماهی بزرگ *Seriola dumerili*) تقسیم‌بندی می‌شوند. در گروه غیرهمزمان ماهیانی مانند سیم دریایی سرطلایی *Sparus aurata*، شانک سرخ *Pagrus pagrus* و سیم دریایی قرمز *Pagrus major* قرار دارند. روش القای تخم‌ریزی برای دو گروه همزمان و single-batch group-synchronous تزریق هورمون است ولی روش القا برای دو گروه multiple-batch group-synchronous و غیر همزمان کاشت هورمون^۴ است. تزریق همان روش ساده‌ای است که فرآورده هورمونی را با سرنگ‌های معمولی به ماهی تزریق می‌کنند. در روش تزریق، هورمون ظرف مدت کوتاهی (۴۸-۱۲ ساعت) در اختیار ماهی قرار می‌گیرد (مانند تزریق برخی داروها به انسان). در روش کاشت، هورمون موجود در پلت به مدت طولانی (یک هفته تا گاهی ماه) در اختیار ماهی قرار می‌گیرد، به همین دلیل، عنوان "سیستم‌های آهسته رهش" به آنها اطلاق می‌شود، زیرا هورمون به آهستگی آزاد و در اختیار ماهی قرار می‌گیرد. از آنجا که در سیستم‌های مذکور هورمون به تدریج آزاد می‌شود، برای ماهیانی که نمو تخمدانی غیرهمزمان دارند بسیار مناسب هستند چون تخم‌های موجود در تخمدان به تدریج و غیرهمزمان مراحل رسیدگی را طی می‌کنند (Mylonas and Zohar, 2001).

مهم‌ترین دلیل فیزیولوژیک استفاده از روش کاشت این است که هورمون آزاد کننده گنادوتروپین^۵ طی یک دوره طولانی مدت آزاد می‌شود، در نتیجه برای مدت طولانی سطح LH^۶ پلاسما بالا نگه داشته می‌شود. بالا بودن مقدار LH برای

چندین بار اوولاسیون و تخم‌ریزی درازمدت ضروری است که با سیستم آهسته رهش محقق می‌شود. در کشورهای مختلف روش کاشت در حال انجام است و استفاده از این روش به دلایل متعدد در ایران هم باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد، چراکه اولاً وجود ماهیان دریایی بسیار با ارزش جنوب ایران مانند تن ماهیان، خامه ماهی، هامور، دلفین ماهی یا گالیت، صبیتی، صافی، شانک، باس آسیایی (باراموندی)، سوکلا (کوبیا)، سیم دریایی قرمز، کفشک ماهی ها و گونه‌های متعدد دیگر که برخی از این ماهی ها به تزریق جواب می‌دهند ولی در بسیاری از این ماهیان مانند تن ماهیان القای تخم‌ریزی با کاشت میسر می‌شود. ثانیاً مسائل احتمالی که معمولاً دست اندرکاران تکثیر مصنوعی در مورد تزریق‌های هورمونی متعدد از آنها غفلت می‌کنند؛ از قبیل بررسی نشدن عواقب احتمالی تزریقات چندانگانه (آسیب بافتی و مانند آن)، قوانین و مقررات مربوط به سلامت و بهداشت غذای مصرفی انسان (برخی فرآورده‌های هورمونی با خودشان ترکیبات دامپزشکی دارند که مصرف چنین ماهیانی که با این روش تکثیر شده اند در اتحادیه اروپا و آمریکا ممنوع بوده و عواقب احتمالی ناشناخته دارند).

در عمل نیز کاشت نسبت به تزریقات متعدد مزایایی از قبیل کاهش مقدار استرس وارد شده به مولدین به علت دستکاری کمتر ماهی، کاهش احتمال آسیب به مولدینی که تعدادشان بسیار محدود و نادر است و بالا بودن مقدار هورمون در گردش برای مدت زمانی بیشتر دارد. مقایسه دو روش کاشت و تزریق در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱ مقایسه روش کاشت و تزریق هورمون در ماهی

روش کاشت		روش تزریق	
مزایا	عیب	مزیت	معایب
افزایش LH	انجام آن سخت	آسان و	افزایش LH
طولانی مدت	تر و گران قیمت تر است.	ارزان	کوتاه مدت
فقط نیاز به یک مرحله کاشت است.		است.	است.
در همه ماهی های تست شده موثر است.		نیاز به تزریقات متعدد است.	
		در بسیاری از ماهی ها موثر نیست.	

¹ Synchronous

² Group synchronous

³ Asynchronous

⁴ Hormone implant

⁵ Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

⁶ Luteinizing hormone (LH)

انواع سیستم های رهش^۱پلت های کلستروله^۲

جهت ساخت این نوع پلت ها دو روش وجود دارد:

(۱) روش Lee و همکاران (۱۹۸۶):

آنالوگ LHRH (مثلاً ۴ میلی گرم) در حجم کوچکی از اتانول ۵۰٪ (۰/۴-۰/۶ میلی لیتر) حل و کاملاً با ۳۸۰ میلی گرم کلسترول مخلوط می شود، بعد به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد خشک و سپس، با ۲۰ میلی گرم کره کاکائو مخلوط می شود. مخلوط به دست آمده در آن قرار داده می شود تا مقداری شکل و حالت بگیرد. مقدار کره کاکائو در مخلوط نهایی تقریباً ۵٪ خواهد بود که به لحاظ فیزیکی ویژگی های مناسبی برای پلت فراهم می کند. اگر مقدار کره کمتر از ۵٪ باشد، پلت حاصل شکننده و اگر بیشتر از ۵٪ باشد، خیلی نرم شده و امکان شکل گیری آن نخواهد بود.

روشی که بدان اشاره شد، برای ساخت ۱۵ پلت استوانه ای با مشخصات ۲۰ میلی گرم وزن متوسط، ۲/۴ میلی متر قطر و ۵ میلی متر طول مورد استفاده قرار می گیرد. هر پلت به طور متوسط حاوی ۲۰۰ میکروگرم آنالوگ LHRH می باشد.

(۲) روش Sherwood و همکاران (۱۹۸۸):

در این روش پلتی درست می شود که LHRHa آن سریع تر آزاد می گردد. به این صورت که کره کاکائو حذف و به جای آن کلسترول با سلولز جایگزین می گردد. در اینجا، عامل تعیین کننده مقدار آزاد شدن هورمون از پلت، نسبت کلسترول به سلولز می باشد: در پلت های «سریع» (مقدار کلسترول پلت کمتر از ۹۵٪ می باشد) ۹۰٪ محتوای GnRHa طی ۲۴ ساعت آزاد می شود. در پلت های «کند» (مقدار کلسترول پلت بیشتر از ۹۵٪ می باشد) ۲۰٪ محتوای GnRHa طی ۲۴ ساعت اول و ۲۰٪ دیگر در ۵ هفته بعد آزاد می شود. پلت های کند برای ماهیانی که رسیدگی نهایی تخمدان آنها طی چند روز اتفاق می افتد و یا ماهیانی که طی چند روز تخم ریزی دارند بسیار موثر می باشند.

مقدار GnRHa بارگذاری شده در هر پلت ۲۵-۲۵۰ میکروگرم و محل کاشت آن درون محوطه صفاقی^۳ یا درون بافت

عضلانی^۴ است. روش کاشت پلت، انجام جراحی ریز^۵ یا استفاده استفاده از ایمپلنتر^۶ می باشد.

مزایای پلت های کلسترول عبارتند از: (۱) ارزان هستند، (۲) قابل ساخت در مراکز هستند، البته ساخت تعداد زیاد آنها نیاز به نیروی انسانی زیادی دارد، (۳) نحوه استفاده از آنها ساده است، (۴) با توجه به طبیعی بودن ترکیبات پلت، برای ماهی مضر نیستند، (۵) پلت های GnRHa در دمای اتاق حداقل به مدت ۴ ماه بدون از دست دادن خاصیتشان قابل نگهداری هستند.

معایب پلت های کلسترول: (۱) نوسان زیاد مقدار آزاد شدن هورمون از پلتی به پلت دیگر، (۲) کلسترول یک مولکول زیستی فعال و پیش ساز ساخت هورمون استروئیدی هست که احتمالاً بر عملکرد گنادی می تواند تاثیر بگذارد.

کاشت به روش Ethylene-vinyl acetate copolymer (EVAc)

این نوع پلت ها کوپلیمر تجزیه ناپذیر اتیلن و مونومرهای استات وینیل هستند.

روش ساخت: پلیمر حلال را به مخلوطی از اینولین (تهیه شده از گل کوکب) و آلبومین سرم گاوی و مقدار مورد نیاز GnRHa به شکل پودر اضافه می کنند. حلال تبخیر شده و ماده جامد اسفنجی شکل حاوی پلیمر و اینولین و آلبومین سرم گاوی و GnRHa باقی می ماند. این مخلوط به صورت پلت های لاستیکی استوانه ای با طول ۲ میلی متر و قطر ۳-۲ میلی متر (وزن هر پلت ۱۵-۵ میلی گرم) ساخته و به روش عضلانی با ایمپلانترهای سرنگ مانند با دوز ۲۵-۲۵۰ میکروگرم در بدن ماهی کشت می شوند.

مدت آزادسازی هورمون GnRHa در این روش حدود ۱۵ روز است. می توان آزادسازی GnRHa را با اتخاذ روش هایی به شرح زیر تا ۵ هفته به درازا کشاند: (۱) با دستکاری در درصد نسبت اینولین به آلبومین مورد استفاده، (۲) با تغییر ساختار هندسی ایمپلنت ها (۳) با استفاده از پوششی که نفوذپذیری آن قابل کنترل و روش ساخت راحت باشد و در یک مرحله یک گروه شامل ۵۰۰-۲۰۰ ایمپلنت را می توان ساخت. بنابراین

^۴ Intramuscularly

^۵ Small incision

^۶ Syringe-type applicator

^۱ Delivery systems

^۲ Cholesterol pellets

^۳ Intraperitoneally

هزینه ها و تغییرات میزان GnRHa در کاشت‌ها کاهش می‌یابد.

مزایای روش EVAc: (۱) کاربردی آسان داشته و به ماهی آسیبی نمی‌زند و (۲) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ سال قابل نگهداری است.

معایب روش EVAc: (۱) تولید آن نیاز به تخصص و ابزار خاصی داشته و نمی‌توان آن را در مزرعه ساخت، (۲) یک نگرانی در این روش پاسخ ایمنی ماهی به آلبومین سرم گاوی است.

کاشت به روش کره‌های ریز قابل تجزیه زیستی^۱

این نوع پلت‌ها، پلیمرهای polyanhydrides هستند. کره‌های ریز تجزیه‌پذیر GnRH با قطر ۵ تا ۲۰۰ میکرون به روش تبخیر حلال قابل ساخت هستند. برخی از انواع آن تا ۸ هفته محتوای GnRH خود را آزاد می‌کنند. از مزایای مهم این نوع پلت‌ها این است که به شکل مایع هم قابل تهیه هستند، بنابراین برای ماهیانی با اندازه‌های مختلف (از ماهی ۱۰ گرم تا ۱۰ کیلوگرم) قابل استفاده هستند. به همین دلیل برای مولدین ماهیان زینتی نیز مناسب هستند. البته در مقایسه با دو روش قبل ساخت آنها بسیار سخت تر و نیاز به تجهیزات دارد.

گونه‌هایی که کاشت هورمون در آنها انجام شده است:

در ماهی‌هایی که نمو تخمدانی غیرهمزمان دارند کاشت هورمون موجب چندین بار رسیدگی اووسیت و اوولاسیون شده است. مثلاً در باس سفید (*M. chrysops*) (Mylonas et al., 1997) و آمبرجک بزرگ *Seriola dumerili* موجب دو بار تخم‌ریزی ظرف مدت سه روز شده (Mylonas et al., 2004)، در ماهی باراموندی (*Lates calcarifer*) پنج بار تخم‌ریزی طی ۷ روز (Almendras et al., 1988)، در ماهی *Latris lineata* موجب ۵ بار اوولاسیون طی ۲ هفته (Morehead et al., 1998)، در باس دریایی سیاه (*Centropomus striata*) باعث ۱ تا ۴ بار اوولاسیون طی ۷ روز (Watanabe et al., 2003) و در ماهی هامور (*Epinephelus marginatus*) موجب ۷ بار اوولاسیون طی ۱۰ روز شده است (Marino et al., 2003). در ماهی‌های مذکور نمو تخمدانی از نوع multiple-batch group synchronous می‌باشد. این ماهی‌ها در یک سال با فواصل

زمانی نامنظم چند بار تخم‌ریزی می‌کنند. در این ماهی‌ها استفاده از سیستم‌های رهش نسبت به تزریق ترجیح داده می‌شود. با این حال، بیشترین پتانسیل برای استفاده از سیستم‌های رهش در ماهی‌هایی می‌باشد که نمو ناهمزمان تخمدانی دارند. در این نوع ماهی‌ها تناوب اوولاسیون و تخم‌ریزی به صورت روزانه یا تقریباً روزانه می‌باشد.

در ماهی سیم دریایی سرطلایی اگر از تزریق یک مرتبه‌ای استفاده شود فقط ۲۰ درصد مولدین تخم‌ریزی روزانه خواهند داشت ولی اگر از سیستم رهش GnRH استفاده شود بیش از ۷۰ درصد مولدین تخم‌ریزی می‌کنند (Zohar et al., 1995). در مورد استفاده از کاشت هورمون در کپورماهیان کارهای بسیار کمی صورت گرفته است. حتی در لای ماهی هنگامی که از سیستم کاشت پلت حاوی GnRHa استفاده شده، نسبت به روش تزریق هورمون، مقدار اسپرم‌دهی کاهش پیدا کرده است. نوع تخمدان و استفاده از روش و نوع القای هورمونی در گونه‌های مختلف نتایج متفاوتی را به دنبال دارد. بنابراین، در اینگونه ماهیان استفاده از روش‌های تزریق سنتی پاسخ مطلوب تری را به دنبال ندارد.

تجرباتی از کاشت هورمون در ایران

در ایران نیز مواردی از کاشت هورمون با اهداف مختلفی صورت گرفته است، البته استفاده از روش کاشت صرفاً جهت القای تخم‌ریزی بسیار کم صورت گرفته است (جدول ۲).

¹ Biodegradable microspheres

جدول ۲: تجارب کاشت هورمون در ماهیان ایران

گونه ماهی	هورمون	هدف	دلیل استفاده	نتیجه	منبع
هامور خال نارنجی (<i>Epinephelus coioides</i>)	۱۷ متیل تستوسترون	آلفا تغییر جنسیت ماهی (ماده به نر)	هرما فرودیت بودن ماهی هامور و مشکل امکان تهیه ماهی مولد نر از طبیعت	تغییر جنسیت ماهی	معاذی، ۱۳۹۳
فیل ماهی (<i>Huso huso</i>)	تری یدوتیرونین (T3)	بررسی اثرات کاشت هورمون T3 بر عملکرد فیزیولوژیک فیل ماهیان ماده پرورشی	اثرات متنوع هورمون‌های تیروئیدی بر رشد و متابولیسم ماهیان استخوانی	پارامترهای فیزیولوژیک و رشد بدنی ماهی را تحت تأثیر قرار داد.	پورسعید و همکاران، ۱۳۹۲
فیل ماهی	۱۷ بتا-استرادیول	بررسی اثر ایمپلنت هورمون استرادیول بر روند توسعه گنادی فیل ماهیان پرورشی سه ساله در مرحله پیش زرده سازی	روند بلوغ طولانی در ماهیان خاویاری	تغییر در تخمک اتفاق افتاد ولی به دلیل رشد کند تخمک و مدت محدود استفاده از هورمون (۱۹۰ روز) اختلاف معناداری مشاهده نشد.	رعنای اخوان و همکاران، ۱۳۹۳
ماهی قرمز (<i>Carassius auratus</i>)	LHRHa	ارزیابی اثرات روش های مختلف ایمپلنت و تزریق بر خصوصیات زیست شناختی منی	تحریک اسپرمیشتن و تغییرات هورمون تستوسترون در تکثیر خارج از فصل ماهی قرمز	داری بر برخی ترکیبات منی، اسپرمیشتن و هورمون تستوسترون در تکثیر خارج از فصل ماهی مولد نر قرمز داشت.	احمدی فر و همکاران، ۱۳۹۵
تاسماهی ایرانی (<i>Acipenser persicus</i>)	LHRHa	بررسی اثر LHRHa بر رسیدگی اووسیت- ها و تخم‌ریزی	روند بلوغ طولانی در ماهیان خاویاری	جنسی با دوز ۱۰ و ۱۵ میکروگرم LHRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایمپلنت 11-KT به مدت دو ماه مقادیر هورمون‌های 11-KT و T سرم، اندازه اووسیت و بیان ژن- های <i>foxl2</i> و <i>fshr</i> را افزایش داد، ولی منجر به توسعه تخمندانی نشد.	Amini et al., 2012
فیل ماهی	۱۱-کتوتستوسترون (11-KT)	بررسی اثرات 11-KT بر بیان ژن‌ها در تخمندان	روند بلوغ طولانی در ماهیان خاویاری	راهداری، ۱۳۹۷	
تاسماهی	تیروکسین (T4)	بررسی اثرات T4 بر	اثرات متنوع	T4 تزریق شده به	Abdollahpour et al., 2018 & 2019

گونه ماهی	هورمون	هدف	دلیل استفاده	نتیجه	منبع
(<i>Acipenser ruthenus</i>)		تولیدمثل تاسماهی	هورمون‌های	مولدین ماده موجب	
		ماده استرلیاد و رشد	تیروئیدی بر رشد و	تغییرات بیوشیمیایی	
		و نمو لاروهای حاصل	متابولیسم ماهیان	و متابولیک بر	
		شده	استخوانی	مولدین شده و اثر	
				محرک بر درصد تخم	
				گشایی، بقا و رشد	
				لاروهای حاصله	
				داشت.	
ماهی	طلائی	طراحی و تولید		GnRH	
(<i>Carassius auratus</i>)	GnRH	هورمون	دستیابی به ترکیب	تأثیر مثبتی بر	Mohammadzadeh et al., 2020
	GnRH	نوترکیب	جدید جهت القای	رسیدگی نهایی	
	GnRH	جایگزینی با	رسیدگی جنسی	جنسی ماهی داشت.	
		های قبلی			

روش‌های آهسته رهش هر چند به لحاظ تکنیکی پیچیدگی

خاص خود را دارند و به لحاظ اقتصادی قابل توصیه برای همه ماهیان نمی باشند، ولی در مواردی که روش تزریق فاقد کارایی است و با توجه به روند رسیدگی جنسی برخی گونه‌ها، پاسخی را در ماهی موردنظر به دنبال ندارد، می تواند مورد توجه قرار گیرد. در ایران، تاسماهیان و باربوس ماهیان می‌توانند گزینه‌های اصلی برای مطالعه سیستم آهسته رهش در القای رسیدگی جنسی باشند.

پیشنهادهای

- ۱- آزمایش روش کاشت هورمون برای ماهیان با ارزش جنوب ایران و سایر ماهیانی که با روش تزریق القا نمی‌شوند.
- ۲- شناسایی بهترین نوع و دوز هورمونی برای تحریک تولید و ترشح LH و القای رسیدگی نهایی اووسیت، اوولاسیون، تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی گونه‌های مختلف
- ۳- بررسی میزان آزادسازی GnRH پلت‌ها در آزمایشات کاشت گونه‌های مختلف
- ۴- به‌کارگیری روش‌های مهندسی ژنتیک و سلولی-مولکولی جهت تولید پلت‌های آهسته رهش با کیفیت بالا

منابع

روشن‌های آهسته رهش هر چند به لحاظ تکنیکی پیچیدگی خاص خود را دارند و به لحاظ اقتصادی قابل توصیه برای همه ماهیان نمی باشند، ولی در مواردی که روش تزریق فاقد کارایی است و با توجه به روند رسیدگی جنسی برخی گونه‌ها، پاسخی را در ماهی موردنظر به دنبال ندارد، می تواند مورد توجه قرار گیرد. در ایران، تاسماهیان و باربوس ماهیان می‌توانند گزینه‌های اصلی برای مطالعه سیستم آهسته رهش در القای رسیدگی جنسی باشند.

۱- آزمایش روش کاشت هورمون برای ماهیان با ارزش جنوب ایران و سایر ماهیانی که با روش تزریق القا نمی‌شوند.
۲- شناسایی بهترین نوع و دوز هورمونی برای تحریک تولید و ترشح LH و القای رسیدگی نهایی اووسیت، اوولاسیون، تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی گونه‌های مختلف
۳- بررسی میزان آزادسازی GnRH پلت‌ها در آزمایشات کاشت گونه‌های مختلف
۴- به‌کارگیری روش‌های مهندسی ژنتیک و سلولی-مولکولی جهت تولید پلت‌های آهسته رهش با کیفیت بالا

۱- آزمایش روش کاشت هورمون برای ماهیان با ارزش جنوب ایران و سایر ماهیانی که با روش تزریق القا نمی‌شوند.
۲- شناسایی بهترین نوع و دوز هورمونی برای تحریک تولید و ترشح LH و القای رسیدگی نهایی اووسیت، اوولاسیون، تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی گونه‌های مختلف
۳- بررسی میزان آزادسازی GnRH پلت‌ها در آزمایشات کاشت گونه‌های مختلف
۴- به‌کارگیری روش‌های مهندسی ژنتیک و سلولی-مولکولی جهت تولید پلت‌های آهسته رهش با کیفیت بالا

- 134-139.
- Abdollahpour, H., Falahatkar, B., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. and Van Der Kraak, G., 2019.** Hormonal and physiological changes in Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* treated with thyroxine. *Aquaculture*, 507: 293-300.
- Almendras, J.M., Duenas, C., Nacario, J., Sherwood, N.M. and Crim, L.W., 1988.** Sustained hormone release. III. Use of gonadotropin releasing hormone analogues to induce multiple spawnings in sea bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 74:, 97-111.
- Amini, K., Siraj S.S., Mojazi Amiri B., Mirhashemi Rostami S.A., Sharr A. and Hossienzadeh H., 2012.** Evaluation of LHRH-a acute release implantation on final maturation and spawning in not-fully matured broodstocks of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11: 440-459.
- Lee, C.S., Tamaru, C.S. and Kelley, C.D., 1986.** Technique for making chronic-release LHRH-a and 17 α -ethyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*, 59: 161-168.
- Marino, G., Panini, E., Longobardi, A., Mandich, A., Finoia, M.G., Zohar, Y. and Mylonas, C.C., 2003.** Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) with a sustained-release GnRH_a implant. *Aquaculture*, 219: 841-858.
- Mohammadzadeh, S., Moradian, F., Yeganeh, S., Falahatkar, B. and Milla, S., 2020.** Design, production and purification of a novel recombinant gonadotropin-releasing hormone associated peptide as a spawning inducing agent sturgeon *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture*, 497: for fish. Protein Expression and Purification. 166: ????. Doi:10.1016/j.pep.2019.105510.
- Morehead, D.T., Pankhurst, N.W. and Ritar, A.J., 1998.** Effect of treatment with LHRH analogue on oocyte maturation, plasma sex steroid levels and egg production in female striped trumpeter *Latris lineata* (Latrididae). *Aquaculture*, 169: 315-331.
- Mylonas, C.C., Magnus, Y., Gissis, A., Klebanov, Y. and Zohar, Y., 1997.** Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *Journal of Fish Biology*, 51: 234-250.
- Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Papadaki, M. and Divanach, P., 2004.** Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRH_a implants. *Aquaculture*, 237: 141-154.
- Mylonas, C.C. and Zohar, Y., 2007.** Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish, in: *The Fish Oocyte: from Basic Studies to Biotechnological Applications*, Babin, P.J., Cerdá, J., and Lubzens, E. (Eds.), Kluwer Academic Publishers, pp. 437-474.
- Sherwood, N.M., Crim, L.W., Carolsfeld, J. and Walters, S.M., 1988.** Sustained hormone release. I. Characteristics of in vitro release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-A) from pellets. *Aquaculture*, 74: 75-86.
- Watanabe, W.O., Smith, T.I.J., Berlinsky, D.L., Woolridge, C.A., Stuart, K.R., Copeland, K.A. and Denson, M.R., 2003.** Volitional spawning of black sea bass *Centropristis striata* induced with pelleted luteinizing hormone releasing hormone-analogue. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 319-331.

Zohar, Y., Harel, M., Hassin, S. and Tandler, A., 1995. Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science, Oxford, pp. 94-117.

Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture, 197: 99-136.

Induced-spawning of fish by hormone implantation

Rahdari A.¹; Falahatkar B.^{2*}

*falahatkar@guilan.ac.ir

1-Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran

2- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

Abstract

Injection of gonadotropin-releasing hormone analogues (GnRHs) produces luteinizing hormone (LH) from pituitary that stimulates gonadal maturation. In female fish, these analogues drive the final oocyte maturation, ovulation and finally spawning. Traditionally, they have been injected either intramuscularly or intraperitoneally. Depending on GnRH type, fish species and water temperature, one-step administration causes the peak of LH within 12-72 hours. In some fishes, this short-time effect of injection is enough for spawning during 2-3 days following the injection. However, asynchronous fishes need more injections but, multiple hormone injections are stressful and harmful and in the long-term, they inhibit reproduction. Therefore, sustained-release delivery systems can be used. A single application of GnRHa-delivery system enters GnRHa into the blood stream continuously, resulting pituitary stimulation for releasing LH that may take several weeks. Therefore, in delivery system, multiple injections can be replaced by single injection. There are different delivery systems includes: cholesterol pellets, ethylene-vinyl acetate implants, and biodegradable microspheres. This paper discusses the methods of hormonal implantation and possibility of its application in some Iranian fishes.

Keywords: Implantation, Hormone, Spawning, GnRH.