

تکثیر مصنوعی سیاه‌ماهی رازی (*Capoeta razii*) با استفاده از Ovaprim™

حامد عبدالله پور، نغمه جعفری، میلاد کریم زاده، بهرام فلاحتکار*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران.

*نویسنده مسئول: falahatkar@guilan.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۱۵

چکیده

در این مطالعه، ۱۷ قطعه مولد سیاه‌ماهی رازی ماده (۹۰/۱±۴/۵ گرم) و ۱۴ قطعه سیاه‌ماهی رازی نر (۷۴/۸±۲/۱ گرم) (*Capoeta razii*) از رودخانه شلمانرود استان گیلان با استفاده از تور ماشک در فصل تولیدمثل صید و در شرایط کنترل‌شده نگهداری شدند. بعد از تطابق با شرایط سالن، ۱۰ قطعه از مولدین ماده و ۷ قطعه از مولدین نر با ۰/۵ میلی‌لیتر هورمون اوپریم (۲۰ میکروگرم آنالوگ GnRH ماهی آزاد و ۱۰ میلی‌گرم دامپریدون در میلی‌لیتر) به ازای کیلوگرم وزن بدن در زیر محل قاعده باله سینه‌ای و در یک مرحله تزریق شدند. همچنین ۷ قطعه مولد ماده و نر سیاه‌ماهی رازی تزریق نشدند (تیمار کنترل). چک کردن ماهیان هر ۶ ساعت یک‌بار انجام گرفت و پس از ۲۵/۹±۰/۸ ساعت ماهیان ماده به تزریق پاسخ مثبت نشان دادند؛ درحالی‌که در گروه کنترل هیچ تخم‌ریزی مشاهده نشد. تمامی مولدین نر مورد آزمایش به هورمون‌تراپی پاسخ مثبت نشان دادند و اسپرم‌ریزی ۲۴/۸±۰/۷ ساعت بعد از تزریق صورت گرفت، درحالی‌که در گروه کنترل هیچ اسپرم‌ریزی مشاهده نشد. بعد از تخم‌کشی و اسپرم‌گیری، پارامترهای اسپرم‌شناختی و عملکرد تولیدمثلی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین وزن تخمک استحصالی از هر ماده ۴/۲±۰/۲ گرم و تعداد تخمک ۴۴۵/۰±۲۳/۷ در هر گرم گزارش شد. هماوری مطلق و نسبی به ترتیب ۱۸۳/۷±۱۸۶۹/۷ عدد و ۲۲/۴±۳/۹ تخمک به ازای هر گرم وزن بدن ثبت گردید. بررسی داده‌های اسپرم‌شناختی حاصل از این مطالعه نشان از زمان تحرک ۱۲/۰±۷۲/۰ ثانیه، میزان تحرک ۸۰/۷±۳/۲ درصد، تراکم اسپرم ۹۱/۴±۱/۴ درصد و میزان اسپرماتوکریت ۲۶/۳±۵/۳ درصد داشت. بعد از لقاح، نرخ لقاح ۸۶/۵±۱/۸ درصد، نرخ تخم‌گشایی ۸۸/۵±۱/۸ درصد و میانگین تعداد لارو به ازای هر مولد ۱۶۶۲/۸±۱۷۳/۶ قطعه ثبت شد. نتایج این مطالعه نشان داد که یک‌بار تزریق اوپریم منجر به تحریک رسیدگی جنسی در سیاه‌ماهی رازی نر و ماده در شرایط اسارت می‌گردد و می‌تواند در مراکز تکثیر با هدف بازسازی ذخایر و تولید انبوه بچه‌ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تکثیر مصنوعی، شرایط اسارت، اوپریم، نرخ لقاح، پارامترهای اسپرم‌شناختی.

مقدمه

جمعیت رو به رشد جهان، روی آوردن انسان‌ها به منابع غذایی جدید به‌خصوص منابع پروتئینی حیوانی را به‌صورت امری اجتناب‌ناپذیر درآورده و در این راستا آبی‌پروری بخش مهمی از این پروتئین‌های حیوانی را تولید می‌کند و از طرف دیگر لزوم اشتغال‌زایی در این حوزه را پررنگ‌تر می‌نماید. از این‌رو، توسعه آبی‌پروری از اهمیت زیادی برخوردار است. به‌منظور توسعه بخشیدن به صنعت آبی‌پروری نیاز است تا تعداد گونه‌های بیشتری جهت تنوع‌بخشی به این صنعت معرفی گردد.

سیاه‌ماهی رازی (*Capoeta razii*) یکی از گونه‌های بومی ایران و غالب در رودخانه‌های حوضه

دریای خزر محسوب می‌شود و از سردترین نواحی در غرب تا گرم‌ترین نواحی در شرق حوضه دریای خزر پراکنش دارد (Samaei et al., 2009; Malvandi et al., 2014). علاوه بر اهمیت بوم‌شناختی، به دلیل طعم و کیفیت مطلوب گوشت بخش زیادی از صید ورزشی را شامل می‌شود (عبدلی، ۱۳۷۸؛ Kiabi et al., 1999).

سیاه‌ماهی رازی یکی از گونه‌های مهاجر آب شیرین است و فعالیت‌های مخرب انسان‌ها مانند صید بی‌رویه، سدسازی، برداشت بی‌رویه شن و ماسه و ورود پساب‌های آلوده منجر به تخریب زیستگاه‌های تخم‌ریزی و مسدود شدن مسیرهای مهاجرت شده و کاهش فراوانی و تنوع زیستی را به دنبال داشته است

(Fluker *et al.*, 2014).

هورمون‌های آزادکننده گنادوتروپین‌ها و هورمون کوریونیک گنادوتروپین انسانی اشاره کرد (حسین‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). در بسیاری از کپورماهیان، دوپامین به‌عنوان یک عامل ممانعت‌کننده تکثیر نقش مهمی در جلوگیری از آزادسازی گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز دارد و یا توانایی GnRH تزریق‌شده را برای افزایش رهاسازی LH از طریق حساسیت گیرنده‌های سلولی در سطح هیپوفیز به‌شدت کاهش می‌دهد. بنابراین در راستای هموار کردن راه عملی برای استفاده مؤثر از ترکیبات آنتی دوپامین و هورمون‌های القاکننده، مواد ترکیبی از آن‌ها به‌صورت آماده تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرد (حسین‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). اوپریم به‌عنوان یک ترکیب مؤثر در القای اوولاسیون و اسپرم‌ریزی معرفی شده است که به‌منظور تسهیل در تزریق در مایع استریل قرار دارد. این ماده حاوی آنالوگ GnRH ماهی آزاد (sGnRH) و مهارکننده نوروترانسمیتر دوپامین (دامپریدون) می‌باشد. از مزایای این ترکیب می‌توان به کوتاه کردن فصل تکثیر، همزمان کردن زمان‌های تخم‌ریزی، افزایش تولیدات جنسی در ماهیان نر و ماده و در نتیجه افزایش نرخ لقاح و تخم‌گشایی اشاره کرد (Zohar, 1989). در کشور ایران استفاده از این محصول در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، ماهی ماش (*Leuciscus aspius*) ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)، ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) و اردک‌ماهی (*Esox lucius*) گزارش شده که موفقیت در تکثیر ماهیان را به دنبال داشته است. (راهداری، ۱۳۸۹؛ زکریا پور، ۱۳۸۹؛ فلاحتکار و همکاران، ۱۳۸۹؛ سیفی و همکاران، ۱۳۹۰؛ خدابنده و همکاران، ۱۳۹۳؛ خوال و همکاران، ۱۳۹۳؛ عقیلی و همکاران، ۱۳۹۷)، اما نکته حائز اهمیت در تکثیر مولدین کاهش استرس است تا بتوان به دنبال آن کیفیت تخمک‌های تولیدی را بالا برد. تزریق هورمون به‌عنوان یک عامل استرس‌زا در مولدین مطرح است زیرا با دستکاری همراه است (Clearly *et al.*, 2002)، بنابراین

حفظ تنوع و ذخایر ژنتیکی گونه‌های بومی یکی از مهم‌ترین اهداف شیلات می‌باشد که نیازمند تکثیر مصنوعی این گونه در شرایط کنترل‌شده است. تولید بچه ماهی در شرایط کنترل‌شده، نقش مهمی در حمایت جمعیتی گونه مورد نظر ایفا می‌کند و به‌عنوان ابزاری کارآمد برای مدیریت محیط‌های آبی است (Cejko *et al.*, 2018). علاوه بر این، معرفی گونه‌های بومی در دستگاه‌های پرورشی با ایجاد تنوع گونه‌ای در امر تکثیر و پرورش ماهیان، دستیابی به افزایش تولید در واحد سطح مزارع و افزایش درآمد می‌تواند منجر به تنوع سبد غذایی گردد اما این امر مستلزم اهلی سازی گونه‌های بومی است تا با استفاده از تکثیر مصنوعی بتوان تخمک و اسپرم با کیفیتی استحصال کرد. علاوه بر این، اگرچه با روش‌های مختلفی مانند دست‌کاری در شرایط محیطی از جمله دوره نوری، دمای آب و یا بسترهای تخم‌ریزی می‌توان برخی از ماهیان را برای تخم‌ریزی آماده کرد، اما در بسیاری از ماهیان این امر امکان‌پذیر نیست.

موفقیت رسیدگی تولیدمثلی و ایجاد گامت‌های قابل بقا بستگی به این امر دارد که همه اجزای تولیدمثلی در طول این چرخه از گامت‌زایی تا تخم و اسپرم‌ریزی به‌درستی عمل کنند. بسیاری از گونه‌های ماهیان به دلیل شرایط نامناسب در محیط اسارت قادر به تولیدمثل نمی‌باشند که می‌تواند مرتبط با تغذیه نامناسب، استرس ناشی از اسارت و فراهم نبودن شرایط مساعد تخم‌ریزی باشد (Zohar and Mylonas, 2001) و در واقع اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و تخم‌ریزی در شرایط اسارت به‌صورت کامل انجام نمی‌گیرد. در نتیجه، هورمون‌تراپی به‌عنوان یک ابزار مؤثر در القای رسیدگی جنسی و دستیابی به گامت‌ها با کمیت و کمیت بالا در شرایط کنترل‌شده مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ترکیبات مختلفی برای القای تخم و اسپرم‌ریزی در ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به عصاره غده هیپوفیز، آنالوگ‌های

و پرورش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان منتقل و در شرایط کنترل شده نگهداری شدند. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. منبع تأمین آب از چاه با دمای $17/2 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، غلظت اکسیژن $6/3 \pm 0/8$ میلی‌گرم در لیتر و $7/6 \pm 0/4$ pH بود. تطابق ماهیان با شرایط سالن و غذادهی با غذای اسکریتینگ (ورونا، ایتالیا؛ ۴۲ درصد پروتئین، ۱۴ درصد لیپید، ۳ درصد فیبر و ۱۶/۵ درصد خاکستر) به مدت ۲ هفته انجام شد. بعد از آن ۱۰ قطعه از مولدین ماده و ۷ قطعه از مولدین نر برای تزریق و ۷ قطعه مولد ماده و ۷ قطعه مولد نر به‌عنوان تیمار کنترل به‌صورت تصادفی انتخاب شدند.

القای تولیدمثل: جهت القای رسیدگی جنسی، ماهیان با پودر گل میخک با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند (فرضی و فلاحکار، ۱۳۹۷). سپس اوپریم (ترکیبی از ۲۰ میکروگرم آنالوگ GnRH ماهی آزاد و ۱۰ میلی‌گرم آنتی‌دوپامین دامپریدون در میلی‌لیتر؛ Syndel, Nanaimo, Canada) به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم وزن ماهی (فرضی و فلاحکار، ۱۳۹۷) در یک نوبت به محل قاعده باله سینه‌ای با استفاده از سرنگ انسولین (شرکت سها، تهران، ایران) تزریق گردید. تزریق به ماهی‌های نر و ماده به‌صورت همزمان انجام گرفت.

اندازه‌گیری شاخص‌های تولیدمثلی و

اسپریم‌شناختی: در طی دوره بعد از تزریق، چک کردن ماهیان هر ۶ ساعت یکبار انجام شد. مدت‌زمان رسیدگی از زمان تزریق هورمون تا زمان ظهور علائم اوولاسیون و اسپرم‌ریزی محاسبه و بعد از آن، تخمک و اسپرم‌گیری از ماهیان بعد از خشک کردن منفذ تناسلی با مالش محوطه شکمی انجام شد. جمع‌آوری اسپرم با استفاده از سرنگ‌های ۲ میلی‌لیتری (بدون سوزن) صورت گرفت. در ماهیان ماده وزن تخمک استحصالی، تعداد تخمک در گرم، همآوری مطلق و نسبی و در ماهیان نر پارامترهای اسپرم‌شناختی شامل میزان تحرک، مدت زمان

کاهش دفعات دستکاری ماهیان می‌تواند در بالا بردن کیفیت تخمک‌ها نقش بسزایی ایفا کند. علاوه بر کیفیت تخمک‌های استحصالی، اسپرم نیز نقش مهمی در موفقیت تولیدمثل ایفا می‌کند. در آبی‌پروری مدرن، ارزیابی پارامترهای اسپرم‌شناختی یکی از ابزارهای کاربردی و مهم برای سنجش لقاح مصنوعی است، زیرا مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثر است.

در برخی ماهیان گزارش شده است که تحریک هورمونی برای جمع‌آوری اسپرم در فصل تولیدمثل ضروری نیست، با این حال بدون تحریک هورمونی اغلب میزان و کیفیت پایین اسپرم نمایان می‌گردد که سبب کاهش نرخ لقاح می‌شود. هورمون‌تراپی می‌تواند سبب کاهش این مشکلات شده و تحرک و تراکم اسپرم را افزایش دهد (Vermeirssen *et al.*, 2004; Peñaranda *et al.*, 2010). در نتیجه، نیاز به بررسی‌های اسپرمی بیشتری برای توانایی یک‌گونه جدید برای پرورش وجود دارد و بهتر است که قبل از لقاح خصوصیات اسپرم ماهی نر مشخص شود. بنابراین لزوم حفظ تنوع گونه‌ای ذخایر ماهی و معرفی آن‌ها به آبی‌پروری مدرن نیازمند تلاش مراکز تکثیر و پرورش جهت دستیابی به مواد تناسلی باکیفیت و تکثیر مصنوعی ماهیان تحت شرایط کنترل شده است تا از این طریق به ادامه توسعه نسل این گونه‌ها کمک نمود. مطالعه حاضر با هدف تکثیر مصنوعی سیاه ماهی با استفاده از یکبار تزریق اوپریم انجام شده است تا با بهینه‌سازی تولید در محیط کنترل شده به بازسازی ذخایر و پرورش این گونه کمک کند و بتوان اقدام به تولید انبوه این ماهی کرد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط نگهداری: در این مطالعه، ۱۷ مولد سیاه ماهی رازی ماده ($90/1 \pm 4/5$ گرم) و ۱۴ مولد سیاه ماهی رازی نر ($74/8 \pm 2/1$ گرم) از رودخانه شلمانرود استان گیلان در طول فصل تولیدمثل توسط تور ماشک صید (فروردین ماه)، به سالن تکثیر

نهایت تخم‌ها به‌منظور ادامه مراحل رشد و نمو انکوباسیونی به ظروف پلاستیکی (با حجم دو لیتر) دارای سنگ هوا منتقل شدند. در طی دوره انکوباسیونی دمای آب $17/5 \pm 2/3$ درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن محلول $6/9 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد. در انتها، پارامترهای تولیدمثلی با استفاده از رابطه‌های زیر مورد محاسبه قرار گرفت (Pankhurst *et al.*, 1996):

نرخ لقاح (%) = (تعداد تخم‌های لقاح یافته / تعداد کل تخم‌ها) $\times 100$

نرخ تخم‌گشایی (%) = (تعداد تخم‌های تخم‌گشایی شده / تعداد کل تخم‌های لقاح یافته) $\times 100$

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار اکسل (Microsoft office, Excel, Version 2016) استفاده شد و میانگین \pm انحراف معیار پارامترهای ثبت شده به‌عنوان آمار توصیفی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج مربوط به اثر اوپریم بر پارامترهای تخم‌ریزی مولدین ماده سیاه ماهی رازی در جدول ۱ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، تمامی مولدین ماده به تزریق اوپریم پاسخ مثبت نشان دادند، درحالی‌که در مولدین بدون تزریق هیچ‌گونه تخم‌ریزی مشاهده نگردید. مدت‌زمان پاسخ ماهیان ماده بعد از تزریق از ۲۲ تا ۳۰ ساعت متغیر بود، اما به‌طور میانگین $25/0 \pm 9/8$ ساعت طول کشید تا مولدین به القای هورمونی پاسخ دهند. بعد از تخم‌گیری از مولدین ماده، میانگین وزن تخمک استحصالی از هر مولد $4/0 \pm 2/2$ گرم (۵-۳/۵ گرم) و تعداد تخمک $445/23 \pm 0/7$ در هر گرم تخم گزارش شد. همچنین همآوری مطلق و نسبی به ترتیب $1869/7 \pm 183/7$ عدد و $22/4 \pm 3/9$ تخم به ازای گرم وزن مولد ثبت شد.

نتایج مربوط به پارامترهای اسپرم شناختی مولدین نر سیاه ماهی رازی در جدول ۲ نشان داده

تحرك، تراکم اسپرم و درصد اسپرماتوکریت مطابق فرمول‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت:

همآوری مطلق (عدد تخمک) = وزن تخمک \times تعداد تخمک در یک گرم

همآوری نسبی (عدد تخمک به وزن مولد) = همآوری مطلق / وزن مولد

اسپرماتوکریت (%) = (میزان اسپرم / پلاسمای مایع منی) $\times 100$

در این مطالعه، میزان تحرك و تراکم اسپرم به روش تخمین چشمی با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus BX51, Tokyo, Japan) با بزرگنمایی $400\times$ مورد بررسی قرار گرفت. زمان تحرك اسپرم‌ها بلافاصله بعد از مخلوط شدن و از لحظه تماس با آب مقطر تا زمانی که تقریباً ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها از حرکت ایستادند با استفاده از کرنومتر محاسبه شد (Alavi *et al.*, 2010). برای محاسبه اسپرماتوکریت از لوله‌های موئینه حاوی مایع منی که یک طرف آن توسط خمیر هماتوکریت مسدود شده استفاده شد. بعد از آن نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت 3500 g سانتریفیوژ و حجم اسپرم‌ها با استفاده از خط‌کش مخصوص مورد محاسبه قرار گرفت (فلاح‌تکار و همکاران، ۱۳۹۷).

جهت باروری تخمک‌ها از روش لقاح خشک استفاده شد، بدین ترتیب که تخمک‌ها به یک ظرف پلاستیکی خشک انتقال یافته و سپس اسپرم‌های چک شده از دو ماهی نر روی تخمک‌های مولدین ریخته شد. بعد از پنج دقیقه مخلوط کردن و جهت فعال کردن بیشتر اسپرم و در نتیجه لقاح موفق، مقداری آب به ظرف لقاح اضافه گردید. جهت جلوگیری از چسبندگی تخم‌ها عملیات شستشو بعد از لقاح به مدت تقریباً پانزده دقیقه انجام گرفت، به این ترتیب که تخم‌های لقاح یافته با اضافه کردن آب در چند مرحله شستشو داده شد و با اضافه کردن آب و تخلیه آن ضمن رفع چسبندگی تخم‌ها، اسپرم‌های مرده نیز خارج گردید. بعد از آن، عمل جذب آب توسط تخم‌ها در مدت ۲ ساعت انجام گرفت و در

جدول ۱ - اثر اوپریم بر پارامترهای تخم‌ریزی مولدین ماده سیاه ماهی رازی (*Capoeta razii*).

شماره ماهی	وزن مولد (g)	مدت زمان رسیدگی (ساعت)	وزن تخمک (g)	تعداد تخمک در گرم	هماوری مطلق (عدد تخمک)	هماوری نسبی (عدد تخمک به وزن مولد)
۱	۷۹	۲۶	۴	۵۱۰	۲۰۴۰	۲۵/۸
۲	۶۳	۲۵	۵/۵	۵۵۰	۳۰۲۵	۴۸
۳	۶۳	۲۴	۵/۲	۴۹۰	۲۵۴۸	۴۰/۴
۴	۹۸/۴	۲۸	۴/۹	۴۴۰	۲۱۵۶	۲۱/۹
۵	۱۲۱	۲۷	۴	۴۸۰	۱۹۲۰	۱۵/۸
۶	۱۲۰	۲۳	۳/۵	۳۹۰	۱۳۶۵	۱۱/۳
۷	۸۵	۲۲	۳	۵۰۰	۱۵۰۰	۱۷/۶
۸	۸۲	۲۹	۳/۶	۴۰۰	۱۴۴۰	۱۷/۵
۹	۱۰۰	۲۵	۳/۷	۳۹۰	۱۴۴۳	۱۴/۴
۱۰	۱۱۰	۳۰	۴/۲	۳۰۰	۱۲۶۰	۱۱/۴
میانگین \pm						
انحراف معیار						
	۹۲/۱ \pm ۶/۷	۲۵/۹ \pm ۰/۸	۴/۲ \pm ۰/۲	۴۴۵ \pm ۲۳/۷	۱۸۶۹/۷ \pm ۱۸۳/۷	۲۲/۴ \pm ۳/۹

* مولدین سیاه ماهی ماده با میانگین وزن $۸۷/۲ \pm ۶$ گرم تخم‌ریزی نکردند.جدول ۲ - اثر اوپریم بر پارامترهای اسپرم‌شناختی مولدین نر سیاه ماهی رازی (*Capoeta razii*).

شماره ماهی	وزن مولد (گرم)	مدت زمان رسیدگی (ساعت)	میزان تحرک (%)	مدت زمان تحرک (ثانیه)	تراکم اسپرم (%)	اسپرمتوکریت (%)
۱	۶۰	۲۳	۷۰	۳۹	۹۰	۵۲
۲	۷۰	۲۴	۹۰	۴۴	۹۵	۲۴
۳	۸۰	۲۶	۹۰	۷۳	۹۰	۱۹
۴	۸۰	۲۷	۷۰	۱۱۹	۹۰	۱۵
۵	۸۰	۲۵	۸۰	۱۱۲	۹۵	۱۲
۶	۸۰	۲۷	۸۰	۶۲	۸۵	۲۵
۷	۸۰	۲۲	۸۵	۵۵	۹۵	۳۷
میانگین \pm						
انحراف معیار						
	۷۵/۷ \pm ۳	۲۴/۸ \pm ۰/۷	۸۰/۷ \pm ۳/۱	۷۲ \pm ۱۲/۰	۹۱/۴ \pm ۱/۴	۲۶/۳ \pm ۵/۳

* مولدین سیاه ماهی نر با میانگین وزن $۷۴ \pm ۳/۳$ گرم اسپرم‌ریزی نکردند.

شده است. در مطالعه حاضر، تمامی مولدین نر به تزریق اوپریم پاسخ مثبت نشان دادند. به‌طور میانگین $۲۴/۰ \pm ۸/۷$ ساعت طول کشید تا مولدین نر به القای هورمونی پاسخ دهند. میزان تحرک اسپرم از ۷۰ تا ۹۰ درصد بین ماهیان نر متغیر بود و میانگین $۸۰/۳ \pm ۷/۱$ درصد ثبت شد. مدن زمان تحرک نیز از ۳۹ تا ۱۱۹ ثانیه تفاوت داشت و میانگین $۷۲ \pm ۱۲/۰$ ثانیه ثبت گردید. همچنین اوپریم توانست تراکم اسپرمی $۹۱/۴ \pm ۱/۴$ درصد و اسپرمتوکریت

نتایج مربوط به پارامترهای تولیدمثلی مولدین سیاه ماهی رازی در جدول ۳ نشان داده شده است. نرخ لقاح تخم‌ها بین ۷۵ تا ۹۵ درصد متغیر بود و میانگین $۸۶/۵ \pm ۱/۸$ درصد ثبت گردید. نرخ تخم‌گذاری بین ۸۰ تا ۹۵ درصد متغیر بود و میانگین $۸۸/۱ \pm ۵/۸$ درصد ثبت شد. طبق بررسی‌ها، میانگین

جدول ۳ - اثر اوپریم بر پارامترهای تولیدمثلی مولدین سیاه ماهی رازی (*Capoeta razii*).

شماره ماهی	نرخ لقاح (%)	نرخ تخم‌گذاری (%)	تعداد لارو به ازای مولد
۱	۹۰	۹۵	۱۹۳۸
۲	۸۵	۹۰	۲۷۲۲
۳	۹۵	۹۰	۲۲۹۳
۴	۹۰	۸۵	۱۸۳۲
۵	۸۵	۹۰	۱۷۲۸
۶	۸۰	۸۵	۱۱۶۰
۷	۷۵	۹۵	۱۴۲۵
۸	۸۵	۹۵	۱۳۶۸
۹	۹۰	۸۰	۱۱۵۴
۱۰	۹۰	۸۰	۱۰۰۸
میانگین ± انحراف معیار			
	۸۶/۵ ± ۱/۸	۸۸/۵ ± ۱/۸	۱۶۶۲/۸ ± ۱۷۳/۶

تخم‌ریزی در مولدین وحشی کپورماهیان وجود دارد (Zarski et al., 2008 a, b; Targońska et al., 2011). در مطالعه حاضر $25/9 \pm 0/8$ ساعت بعد از تزریق طول کشید تا تخم‌ریزی انجام شود که کوتاه‌تر از مدت زمان رسیدگی در مطالعه فرضی و فلاحتکار (۱۳۹۷) بود. در گونه *Capoeta trutta* مدت زمان رسیدگی $12/70 \pm 7/74$ ساعت بعد از یکبار تزریق اوپریم گزارش شده است (Zadmajid et al., 2017). همچنین در مطالعه Zarski و همکاران (۲۰۰۹) و Targońska و همکاران (۲۰۱۱) مدت زمان رسیدگی برای کپورماهیان سر مخروطی (*Leuciscus leuciscus*) ۲۹، *Leuciscus idus* ۳۷ و ماش ماهی ۴۰ ساعت ثبت شده است. به نظر می‌رسد که مرحله جنسی، دفعات تزریق و گونه ماهی می‌تواند دلیل اصلی تفاوت مدت‌زمان رسیدگی جنسی در سیاه ماهی رازی باشد. در مطالعه حاضر وزن تخمک به‌دست‌آمده به ازای هر مولد $4/2 \pm 0/2$ گرم)، همآوری مطلق $(1869/7 \pm 183/7)$ عدد) و نسبی $(22/4 \pm 3/9)$ عدد تخمک به ازای وزن مولد) در مقایسه با مطالعه فرضی و فلاحتکار (۱۳۹۷) که قبلاً روی سیاه ماهی انجام شده پایین‌تر بود. القای تخم‌ریزی در ماهی *Chondrostoma nasus* منجر به همآوری $36/8 \pm 4/3$ عدد تخمک به ازای وزن هر مولد گردید (Zarski et al., 2008). در مطالعه

تعداد لارو به ازای هر مولد $1668/2 \pm 173/6$ عدد محاسبه گردید.

بحث

تولیدمثل در ماهیان می‌تواند در سه سطح هیپوتالاموس، هیپوفیز و گناد کنترل شود. بنابراین روش‌های مختلفی برای تنظیم هورمونی ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. توسعه و به‌کارگیری هورمون-تراپی برای رفع نقص‌های تولیدمثلی در ماهیان این امکان را فراهم می‌کند تا علاوه بر امکان تولیدمثل، بهبود کارایی تولیدمثل هم به دنبال داشته باشد، زیرا بسیاری از ماهیان به دلیل عواملی مانند استرس و عدم تأمین نیازهای طبیعی آن‌ها قادر به تکمیل رسیدگی جنسی و تخم و اسپرم‌ریزی در شرایط اسارت نیستند (Zohar and Mylonas, 2001). در مطالعه حاضر، القای تولیدمثل سیاه‌ماهی رازی در محیط اسارت با استفاده از $0/5$ میلی‌لیتر اوپریم به ازای کیلوگرم وزن بدن مورد بررسی قرار گرفت تا با استفاده از این ماده عملکرد تولیدمثلی در ماهیان مورد بررسی قرار گیرد.

پیش از این، القای رسیدگی جنسی در سیاه ماهی رازی ماده با استفاده از اوپریم طی دو مرحله انجام شده است (فرضی و فلاحتکار، ۱۳۹۷). گزارش‌های زیادی از اثر مثبت اوپریم در القای اوولاسیون و

می‌بخشد (Mylonas *et al.*, 1997). نتایج مشابه در کپورماهیان سر مخروطی، سس ماهی (*Barbus barbus*) و اردک ماهی بعد از تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر (Jamróz *et al.*, 2008; Cejko *et al.*, 2012,) (2014, 2018) و سفیدک سیستان بعد از تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر اوپریم (عرب‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۳) گزارش شده است.

تحرك اسپرم به‌عنوان یکی از شاخص‌های کیفی مهم اسپرم است که توانایی بارور کردن تخم‌ها را منعکس می‌کند (Rurangwa *et al.*, 2004). در این مطالعه به ترتیب میانگین درصد تحرک و زمان تحرک 80.7 ± 3.1 درصد و 72 ± 0.12 ثانیه ثبت شد. گزارش شده که اوپریم روی تحرک اسپرم اثرات بسزایی دارد. نکته حائز اهمیت طول عمر و درصد تحرک بالای اسپرم سیاه‌ماهی است که می‌تواند موفقیت تولیدمثلی و بارور کردن تخمک‌ها را افزایش دهد. درصد و مدت‌زمان تحرک در گونه‌های مختلف کپور ماهیان مقادیر متفاوتی را نشان می‌دهد؛ زمان تحرک در ماهی طلائی (*Carrasius auratus*) ۳۶ ثانیه (صابری اصل و همکاران، ۱۳۹۷)، در *Capoeta damascina* ۸۰ ثانیه (Zadmajid *et al.*, 2018) و در سفیدک سیستان ۵۷ ثانیه (عرب‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۳) ثبت شده است. همچنین میزان تحرک در کپور معمولی ۷۷ درصد (سیفی و همکاران، ۱۳۹۰)، در ماهی طلائی ۹۳ درصد (صابری اصل و همکاران، ۱۳۹۶)، *Leuciscus idus* ۸۰ درصد (Jamróz *et al.*, 2008) و ماش ۶۱ درصد (Cejko *et al.*, 2008) گزارش شده است. تراکم اسپرم نیز به‌عنوان یک فاکتور مهم در تولیدمثل مطرح است، زیرا بارور کردن تعداد بیشتری از تخمک‌ها را امکان‌پذیر می‌کند (Cejko *et al.*, 2012). در مطالعه حاضر، تراکم اسپرم به میزان 91.4 ± 1.4 درصد بود. تراکم بالا در کپورماهیان تیمار شده با اوپریم ($10^7 \times 19$ در میلی‌لیتر) نسبت به هورمون‌های دیگر گزارش شده است (سیفی و همکاران، ۱۳۹۰، صابری اصل و همکاران، ۱۳۹۶). نتایج پارامترهای اسپرم شناختی

حاضر میانگین وزن مولدین $92/1 \pm 6/7$ گرم بود درحالی‌که در مطالعه فرضی و فلاحتکار (۱۳۹۷) $228/23 \pm 97/25$ گرم گزارش شد. بنابراین تفاوت در وزن مولدین می‌تواند در بروز چنین اختلافاتی اثرگذار باشد. پاسخ صد درصدی مولدین سیاه‌ماهی در مطالعه حاضر همسو با مطالعات صورت گرفته روی گونه‌های جنس *Capoeta* است (فرضی و فلاحتکار، ۱۳۹۷؛ Zadmajid *et al.*, 2017). این موفقیت در دستیابی به تخمک‌ها مرتبط با اثر تحریکی اوپریم روی ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی مانند LH است که توانسته رسیدگی نهایی را در ماهیان القا کند (Breton *et al.*, 1990).

برای استفاده کارآمدتر روش‌های تولیدمثلی، لقاح مصنوعی، تخم‌گشایی موفق و انجماد اسپرم نیاز به مایع منی با کیفیت مناسب است. مطالعه حاضر، اولین مطالعه جهت بررسی القای رسیدگی جنسی سیاه‌ماهی رازی نر با استفاده از تحریک هورمونی است. مطالعه حاضر نشان داد که مولدین نر وحشی در محیط اسارت قادر به رسیدن به مرحله به اسپرم-ریزی نیستند و تحریک هورمونی برای دستیابی به اسپرم مولدین نر سیاه ماهی رازی توصیه می‌گردد. با توجه به جواب‌دهی صد درصدی مولدین نر بعد از تزریق، می‌توان گفت که هورمون اوپریم اثرات مثبتی روی القای رسیدگی جنسی سیاه ماهی رازی نر دارد و اسپرم‌گیری در آن‌ها با موفقیت انجام شده است. اثرات مثبت اوپریم روی القای رسیدگی جنسی کپورماهیان نر مختلفی گزارش شده است. Zadmajid و همکاران (۲۰۱۸) از اوپریم برای بررسی القای رسیدگی جنسی ماهی *Capoeta damascina* استفاده کردند و نشان دادند که یک تزریق از اوپریم منجر به القای رسیدگی جنسی و استروئیدوزن در این ماهی گردیده است. ثابت شده است که هورمون اوپریم اثر محرک روی تولید گنادوتروپین‌های درونی دارد، روی هیپوفیز اثرات خود را اعمال می‌کند و به دنبال آن حجم اسپرم و رهاسازی اسپرماتوزوآ به درون لوله اسپرم‌بر را بهبود

گامت‌های زنده و با کیفیت بالا مناسب و کارا است. بنابراین تزریق یک مرحله‌ای ۰/۵ میلی‌لیتر هورمون اوپریم به ازای کیلوگرم وزن سیاه‌ماهی با اثر مثبت روی هیپوفیز می‌تواند موجب اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و القای تخم‌ریزی در سیاه‌ماهی گردد. نکته حائز اهمیت در این مطالعه دستیابی به گامت‌های نر و ماده در یک تزریق با اوپریم بدون تکرار کردن تزریق است. این نکته در ماهیانی که از محیط وحشی صید می‌گردند و ممکن است به محیط اسارت حساسیت نشان دهند بسیار مهم و کاربردی است. با توجه به نرخ لقاح و تخم‌گشایی بالا و در دسترس بودن، اوپریم می‌تواند در مراکز تکثیر برای بازسازی ذخایر و تولید انبوه بچه ماهی این گونه مورد استفاده قرار گیرد. توصیه می‌گردد که مطالعات مربوط به نوسانات هورمونی مولدین، انتوزنی و پرورش لاروی در تحقیقات آینده با هدف بازسازی ذخایر و یا تولید انبوه سیاه‌ماهی در دستور کار قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان و همچنین آقای مهندس حسینعلی زمانی به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات کارگاهی و آزمایشگاهی در این تحقیق تشکر می‌گردد.

منابع

جاسم‌نژاد، ا.، معبودی، ح.، عسکری ساری، ا.، بساک کاهکش ف. ۱۳۹۵. مقایسه تأثیر هورمون اوپریم و عصاره غده هیپوفیز ماهی کپور بر شاخص‌های تولیدمثلی ماهی فیتوفاگ (*Hipophthalmichthys molitrix*). نشریه فن آوری های نوین در توسعه آبی‌پروری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، ۴: ۱۰-۱.

حسین‌زاده، ه.، احمدنژاد، م.، یلقی، س. ۱۳۹۸. مروری بر هورمون‌های مورد استفاده در آبی‌پروری و انواع روش‌های تجویز هورمونی در ایران. علوم آبی‌پروری پیشرفته، ۳: ۳۴-۱۷.

خدابنده شلمانی، ل.، معبودی، ح.، عسکری سنجابی، م.، بساک کاهکش، ف.، یونس‌زاده، م. ۱۳۹۳. مقایسه تأثیر

در این مطالعه نشان داد که هورمون اوپریم قادر است که اسپرم‌سازی و اسپرم‌ریزی در سیاه‌ماهی نر را تحریک کند که در مدیریت مولدین و دستیابی به اسپرم‌های با کیفیت و در نتیجه موفقیت در لقاح اثربخش می‌باشد.

در مطالعه حاضر، مولدین تحریک شده با اوپریم تخم‌هایی با نرخ بالای لقاح ($86/5 \pm 1/8$ درصد) و تخم‌گشایی ($88/5 \pm 1/8$ درصد) را تولید کردند. نرخ لقاح و تخم‌گشایی بالا در کیورماهیان تیمار شده با اوپریم گزارش شده است (راهداری، ۱۳۸۹؛ جاسم-نژاد و همکاران، ۱۳۹۵؛ Shoaib *et al.*, 2014; Zadmajid *et al.*, 2017). نتایج گویای این امر است که ۰/۵ میلی‌لیتر اوپریم اثر بهینه‌ای در افزایش کمیت و کیفیت تخم ایجاد می‌کند، از طرف دیگر نرخ لقاح تا حد زیادی توسط کیفیت تخمک و اسپرم تحت تأثیر قرار می‌گیرد (سیفی و همکاران، ۱۳۹۰). با توجه به اثر مثبت اوپریم روی اوولاسیون و اسپرم‌ریزی سیاه‌ماهی رازی، نرخ لقاح نیز در این گونه مقادیر بالایی را نشان داد. در بسیاری از موجودات مایع تخمدانی نقش قابل‌توجهی بر روی نرخ لقاح، تخم‌گشایی، کیفیت تخم و همچنین بقای لارو دارد (Zadmajid *et al.*, 2019). بنابراین پیشنهاد می‌گردد مطالعات تکمیلی در خصوص اثرات اوپریم بر پارامترهای بیوشیمیایی و یونی مایع تخمدانی صورت گیرد تا مکانیسم دقیق عملکرد این هورمون بر پارامترهای لقاح و تخم‌گشایی مشخص گردد. در این مطالعه تعداد لاروها برابر با $1662/8 \pm 173/6$ به ازای هر مولد بود. عملکرد مثبت اوپریم بر بهبود عملکرد لقاح، تخم‌گشایی و میزان بالای لاروهای تولیدی گویای نقش مهم اوپریم بر عملکرد لاروی سیاه‌ماهی می‌باشد که می‌تواند در تولید بچه ماهیان با کیفیت نقش بسزایی ایفا نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه ثابت کرد که القای سیاه‌ماهی صید شده از محیط طبیعی با اوپریم برای استحصال

- Linnaeus 1758) صید شده از دریا و مولدین دریایی پرورش یافته در استخرهای حاکی روی برخی خصوصیات تولیدمثلی. فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۱۰: ۱۷۶-۱۷۱.
- فرضی ر.، فلاحتکار ب. ۱۳۹۷. القای رسیدگی جنسی سیاه ماهی با استفاده از اوپریم. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده، ۹: ۷۸-۷۱.
- فلاحتکار ب.، اکبری نرگسی ع.، گروهی د.، عفت پناه ا. ۱۳۹۷. اثر OvaprimTM و hCG بر القای تولیدمثل مولدین ماده سوف حاجی طرخان (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758). نشریه علوم آبی پروری، ۶: ۲۲-۱۴.
- فلاحتکار ب.، عفت پناه ا.، مکنث خواه ب.، طلوعی م.، کوچارچیک د. ۱۳۸۹. تکثیر مصنوعی ماش ماهی (*Aspius aspius taneatus*) با استفاده از القای هورمونی Ovaprim و عصاره غده هیپوفیز. دهمین همایش علمی-پژوهشی دانشگاه گیلان.
- Alavi S., Rodina M., Hatef A., Stejskal V., Policar T., Hamáčková J., Linhart O. 2010. Sperm motility and monthly variations of semen characteristics in *Perca fluviatilis* (Teleostei: Percidae). *Czech Journal of Animal Science* 55, 174-182.
- Breton B., Weil C., Sambroni E., Zohar Y. 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRH_a on GtH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 91, 373-383.
- Cejko B.I., Krejszef S., Źarski D., Judycka S., Targońska K., Kucharczyk D. 2018. Effect of carp pituitary homogenate (CPH) and sGnRH_a (Ovaprim) on northern pike (*Esox lucius*) spermiation stimulation and its effect on quantity and quality of sperm. *Animal Reproduction Science* 193, 217-225.
- Cejko B.I., Kucharczyk D., Targońska K., Kubiak D., Sarosiek B., Glogowski J. 2008. Quality parameters and selected biochemical markers of asp, *Aspius aspius* (L.), semen obtained after hormonal stimulation with Ovaprim or Ovopel. *Fisheries and Aquatic Life* 16, 179-188.
- Cejko B.I., Targońska K., Kowalski R.K., Źarski D., Sarosiek B., Kucharczyk D., Glogowski J. 2012. The effectiveness of hormonal preparations (Ovopel, Ovaprim, آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون به روش لینپه با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی بر شاخص های تکثیر ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*). مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۸: ۷۶-۶۹.
- خوال ع.، دزندیان س.، ماهی صفت ف.، امیری سندسی ا.، شریفیان م. ۱۳۹۳. تعیین دوز مناسب تزریق هورمون اوپریم (Ovaprim) جهت افزایش راندمان تکثیر مصنوعی اردک ماهی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳: ۱-۱۵.
- راهداری ع. ۱۳۸۹. بررسی القای تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک (*Schizothorax zarudnyi*) سیستان با استفاده از هورمون های سنتتیک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، ۱۷۶ صفحه.
- زکریا پور ر. ۱۳۸۹. مقایسه هورمون های HCG و Ovaprim در القای رسیدگی جنسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۱۲۵ صفحه.
- سیفی ت.، ایمانپور م.، جعفری و.، مخدومی چ. ۱۳۹۰. مقایسه اثرات تزریق هورمون های اوپریم، hCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی مولدین نر کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه شیلات، ۶۴: ۵۵-۶۳.
- صابری اصل ا.، تقی زاده و.، ایمانپور م. ۱۳۹۷. مقایسه اثرات هورمون های اوپریم، HCG و عصاره هیپوفیز ماهی باربوس روی پارامترهای اسپرم شناختی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*). توسعه آبی پروری، ۱۲: ۷۴-۶۳.
- عبدلی ا. ۱۳۷۸. ماهیان آب های داخلی ایران. انتشارات موزه طبیعت و حیات وحش، ۲۷۲ صفحه.
- عرب نژاد س.، قرایی ا.، غفاری م.، راهداری ع. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات کیفی اسپرم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در پاسخ به القای هورمونی. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی، ۲۷: ۶۱۱-۶۱۷.
- عقیلی، ک.، یگانه، س.، امینی، ک. ۱۳۹۷. اثرات سن و وزن مولدین ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)

- hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 146, 277-290.
- Peñaranda D.S., Pérez L., Gallego V., Jover M., Tveiten H., Baloché S., Dufour S., Asturiano J.F. 2010. Molecular and physiological study of the artificial maturation process in European eel males: from brain to testis. *General and Comparative Endocrinology* 166, 160-171.
- Rurangwa E., Kime D.E., Ollevier F., Nash J.P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234, 1-28.
- Samaee S.M., Patzner R.A., Mansour N. 2009. Morphological differentiation within the population of Siah Mahi, *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) in a river of the south Caspian Sea basin: a pilot study. *Journal of Applied Ichthyology* 25, 583-590.
- Shoaib M., Nasir M., Kareem A. 2014. Effect of ovaprim on reproductive performance of fresh water carp, *Cirrhinamrigala* (F. Hamilton, 1822). *International Journal of Biological Research* 2, 129-134.
- Targońska K., Kucharczyk D., Żarski D., Mamcarz A., Falahatkar B. 2011. Optimization of artificial reproduction of Asp, *Aspius aspius* (L.) under controlled conditions. *Polish Journal of Natural Sciences* 26, 151-157.
- Vermeirssen E.L., de Quero C.M., Shields R.J., Norberg B., Kime D.E., Scott A.P. 2004. Fertility and motility of sperm from Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in relation to dose and timing of gonadotropin-releasing hormone agonist implant. *Aquaculture* 230, 547-567.
- Zadmajid V., Bashiri S., Sharafi N., Butts I.A.E. 2018. Effect of hCG and Ovaprim™ on reproductive characteristics of male Levantine scraper, *Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842). *Theriogenology* 115, 45-56.
- Zadmajid V., Mirzaee R., Hoseinpour H., Vahedi N., Butts I.A.E. 2017. Hormonal induction of ovulation using Ovaprim™ [(D-Arg6,Pro9NET)-sGnRH+domperidone] and its impact on embryonic development of wild-caught Longspine scraper, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *Animal Reproduction Science* 187, 79-90.
- Zadmajid V., Myers J.N., Sørensen S.R., LHRH a, hCG and CPE) in stimulating spermiation in dace *Leuciscus leuciscus* (L.). *Journal of Applied Ichthyology* 28, 873-877.
- Cejko B.I., Żarski D., Judycka S., Kucharczyk D., Sarosiek B., Kowalski R.K. 2014. Effect of two commercial preparations containing different GnRH analogues with dopamine antagonists on barbel *Barbus barbus* (L.) sperm quantity and quality. *Aquaculture International* 22, 97-109.
- Cleary J.J., Battaglione S.C., Pankhurst N.W. 2002. Capture and handling stress affects the endocrine and ovulatory response to exogenous hormone treatment in snapper, *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider). *Aquaculture Research* 33, 829-838.
- Fluker B.L., Kuhajda B.R., Harris P.M. 2014. The effects of riverine impoundment on genetic structure and gene flow in two stream fishes in the Mobile River basin. *Freshwater Biology* 59, 526-543.
- Jamróz M., Hakuć-Błażowska A., Kucharczyk D., Kwiatkowski M., Targońska K., Żarski D., Mamcarz A. 2008. The impact Ovaprim administration on the results of out-of-season and in season reproduction of ide (*Leuciscus idus*) under controlled conditions. In: Z. Zakęś, J., Wolnicki, K., Demska-Zakęś, R., Kamiński, D. Ulikowski (Eds.). *Biotechnology in aquaculture* Wyd. IRS, Olsztyn. pp: 159-164 (in Polish).
- Kiabi B.H., Abdoli A., Naderi M. 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. *Zoology in the Middle East* 18, 57-65.
- Malvandi H., Sari A.E., Aliabadian M. 2014. Mercury contamination in Khrumulia (*Capoeta capoeta*) from the Cheshme Kile and Zarrin Gol Rivers in Iran and human health risk assessment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 93, 472-477.
- Mylonas C.C., Gissis A., Magnus Y., Zohar Y. 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHα delivery system. *Aquaculture* 153, 301-313.
- Pankhurst N., Purser G., Van Der Kraak, G., Thomas, P., Forteach, G. 1996. Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive

- Butts I.A.E. 2019. Ovarian fluid and its impacts on spermatozoa performance in fish: A review. *Theriogenology* 132, 144-152.
- Żarski D., Kucharczyk D., Targońska K., Jamróz M., Krejszeff S., Mamcarz A. 2009. Application of Ovopel and Ovaprim and their combinations in controlled reproduction of two reophilic cyprinid fish species. *Polish Journal of Natural Sciences* 4, 235-244.
- Żarski D., Kucharczyk D., Kwiatkowski M., Targońska K., Kupren K., Krejszeff S., Jamróz M., Hakuć-Błażowska A., Kujawa R., Mamcarz A. 2008a. The effect of stocking density on the growth and survival of larval asp, *Aspius aspius* (L.), and European chub, *Leuciscus cephalus* (L.), during rearing under controlled conditions. *Fisheries and Aquatic Life* 16, 371-381.
- Żarski D., Targońska K., Ratajski S., Kaczkowski Z., Kucharczyk D. 2008b. Reproduction of nase, *Chondrostoma nasus* (L.), under controlled conditions. *Fisheries and Aquatic Life* 16, 355-362.
- Zohar Y. 1989. Endocrinology and fish farming: Aspects in reproduction, growth, and smoltification. *Fish Physiology and Biochemistry* 7, 395-405.
- Zohar Y., Mylonas C.C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. In: E.M. Donaldson., C.S. Lee. (Eds.). *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture* Elsevier. Netherlands. pp: 99-136.

Artificial reproduction of Razi Siah Mahi (*Capoeta razii*) using Ovaprim™**Hamed Abdollahpour, Naghmeh Jafari, Milad Karimzadeh, Bahram Falahatkar***Fisheries Department, Faculty of Natural Resource, University of Guilan, Sowmeh Sara,
Guilan, Iran.

*Corresponding author: falahatkar@guilan.ac.ir

Received: 2020/12/5

Accepted: 2021/7/10

Abstract

In this study, 17 females (90.1±4.4 g) and 14 males (74.8±2.1 g) broodstock of Razi Siah Mahi (*Capoeta razii*) were captured by cast net from Shalmanroud River in Guilan Province during the reproduction season and kept in controlled condition. After the adaptation to hatchery condition, 0.5 mg Ovaprim (20 µg sGnRH analogue and 10 mg domperidone per ml) per kg body weight (BW) was injected in the basal pectoral fin region to 10 females and 7 males at one stage. Moreover, other 7 females and 7 males were not injected (as control). All fish were checked 6 h interval and female fish showed positive response to hormone induction 25.9±0.8 h following the injection; while no spawning was observed in control group. All males showed positive response to hormone-therapy and spermiation was observed after 24.8±0.7 h, while no spermiation was observed in control group. After spawning and spermiation, spermatological parameters and reproductive performance were evaluated. The average of obtained oocyte weight and the number of oocytes were determined as 4.2±0.2 g and 445.0±23.7 oocyte g⁻¹, respectively. Absolute and relative fecundities were calculated as 1869.7±183.7 and 22.4±3.9 oocyte per g BW, respectively. The examination of spermatological parameters showed motility time 72.0±12.0 s, motility rate 80.7±3.2%, sperm density 91.4±1.4% and spermatocrit 26.3±5.30%. After insemination, fertilization rate, hatching rate and the number of larvae per spawner were recorded as 86.5±1.8%, 88.5±1.8%, and 1662.8±173.6 larva, respectively. The results of this study showed that Ovaprim successfully induced maturation in female and male *Capoeta razii* at a single dose in captivity and it can be used in hatcheries for stock rehabilitation and mass production of fry.

Keywords: Artificial reproduction, Captivity condition, Ovaprim, Fertilization rate, Spermatological parameters.