



استفاده از روش‌های نوین هورمون‌تراپی برای تحریک تخم‌ریزی در ماهیان خاویاری

فاطمه متفکر^{۱*}، امیر حسین رضازاده شیرازی^{۲*}، حسین بیدار^۳، رضا صادقی لیمنجوب^۴، محمد ترحمی^۵

۱، ۲، ۳. دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد کازرون، کازرون، ایران

۴. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان و زنبور عسل، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، کازرون، ایران

۵. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، کازرون، ایران

*مسئول مکاتبات: fati1377moyefaker@gmail.com

چکیده

تحریک تخم‌ریزی در ماهیان خاویاری یکی از چالش‌های مهم در تکثیر مصنوعی این گونه‌های باارزش است. به دلیل مشکلات استفاده از هورمون‌های سنتی مانند پیامدهای زیست‌محیطی، هزینه‌های زیاد و اثرگذاری متغیر، این پژوهش با هدف بررسی اثربخشی روش‌های جدید شامل کاربرد آگونیست‌های GnRH، ترکیبات مصنوعی طولانی‌اثر و نانوحامل‌های دارویی در تحریک تخم‌ریزی ماهیان خاویاری انجام شد. در این تحقیق، ۱۲ تاس ماهی ماده با شرایط مشابه به‌صورت تصادفی در چهار گروه آزمایشی قرار گرفتند و هر گروه با یک نوع درمان هورمونی مواجه شد. ارزیابی‌ها بر اساس شاخص‌های زیستی مانند زمان رسیدگی نهایی، درصد موفقیت تخم‌ریزی، کیفیت تخمک‌ها و نرخ لقاح انجام گردید. نتایج نشان داد استفاده از نانوحامل‌های دارویی همراه با GnRH بهبود معناداری در شاخص‌های تخم‌ریزی نسبت به گروه کنترل و دیگر گروه‌های هورمونی ایجاد کرد. این روش همچنین دارای پایداری بیشتر، آزادسازی کنترل‌شده هورمون و کاهش نیاز به تزریقات مکرر بود. یافته‌ها نشان‌دهنده پتانسیل بالای روش‌های نوین هورمون‌تراپی در بهبود کارایی تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری بوده و می‌تواند به عنوان رویکردی پایدار، اقتصادی و سازگار با محیط زیست در برنامه‌های پرورشی و حفاظتی استفاده شود. نتایج این تحقیق بر ضرورت بازنگری در روش‌های مرسوم هورمون‌تراپی و حرکت به سوی فناوری‌های نوین در صنعت شیلات تاکید دارد.

واژگان کلیدی: هورمون‌درمانی مدرن، تحریک تخم‌ریزی در ماهیان خاویاری، استفاده از نانوحامل‌های دارویی، تکثیر مصنوعی، فناوری‌های نوین شیلات.

مقدمه

افزایش کارایی در تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری و ارتقای بازده تولیدمثل آن‌ها از مهم‌ترین دغدغه‌های صنعت شیلات در دهه‌های اخیر به‌شمار می‌رود. به‌ویژه در کشورهایی نظیر ایران که با داشتن منابع طبیعی مستعد، رودخانه‌های منتهی به دریای خزر و پیشینه‌ای تاریخی در پرورش و بهره‌برداری از این گونه‌های ارزشمند، نقش محوری در حفاظت و بازتولید گونه‌های در معرض تهدید بر عهده دارند. ماهیان خاویاری، به‌خصوص تاس‌ماهیان نظیر فیل‌ماهی (*Huso huso*)، قره‌برون (*Acipenser persicus*) و چالباش (*Acipenser stellatus*)، به‌دلیل تولید خاویار باارزش، از نظر اقتصادی، فرهنگی و زیست‌محیطی دارای اهمیت جهانی‌اند (Pourkazemi and Ghadirnejad, 2018). یکی از چالش‌های اصلی در تکثیر مصنوعی این ماهیان، هماهنگی دقیق زمان رسیدگی نهایی تخمک‌ها و تحریک مؤثر تخم‌ریزی است. فرآیند تخم‌ریزی در ماهیان خاویاری به‌شدت تحت تأثیر محیط فیزیولوژیک داخلی و تنظیمات هورمونی قرار دارد که به‌صورت طبیعی در شرایط پرورشی به‌خوبی اتفاق نمی‌افتد. لذا استفاده از روش‌های هورمون‌تراپی برای القای رسیدگی نهایی و تحریک تخم‌ریزی، بخش جدایی‌ناپذیر از برنامه‌های تکثیر مصنوعی محسوب می‌شود (Jalali and Moradpour, 2020).

در سال‌های گذشته، از روش‌های سنتی مانند تزریق عصاره هیپوفیز ماهیان (CPE) یا گنادوتروپین جفتی انسانی (HCG) برای القای تخم‌ریزی استفاده می‌شد. با وجود اثربخشی اولیه، این روش‌ها با مشکلات متعددی از جمله واکنش‌های گونه‌ویژه، نیاز به تهیه عصاره تازه از



ماهیان بالغ، هزینه‌های زیاد، آسیب‌های احتمالی به بافت تخمدان و نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از استفاده گسترده از هورمون‌های طبیعی همراه بودند (Mylonas *et al.*, 2016). به همین دلیل، محققان به سوی استفاده از ترکیبات سنتتیک و فناوری‌های نوین متمایل شدند. یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌ها در این حوزه، استفاده از آگونیست‌های GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین) بوده است که با تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد، منجر به ترشح گنادوتروپین‌ها (LH و FSH) و در نتیجه القای رسیدگی نهایی در تخمدان می‌شود. ترکیباتی مانند [LHRH-[D-Ala6, Pro9-Net] و Ovaprim از جمله گزینه‌های موفق در این زمینه هستند که به‌ویژه در گونه‌های دریایی و خاویاری اثربخشی مناسبی نشان داده‌اند. این ترکیبات به دلیل دوز پایین، ایمنی بیشتر و اثربخشی قابل پیش‌بینی، گزینه‌ای جذاب‌تر نسبت به روش‌های سنتی به شمار می‌روند.

در سال‌های اخیر، فناوری نانو نیز به‌عنوان ابزاری پیشرفته در خدمت بهینه‌سازی هورمون‌تراپی درآمده است. نانوحامل‌های دارویی، به‌ویژه نانوذرات پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر مانند PLGA (پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک‌اسید)، قابلیت بارگذاری هورمون‌ها و آزادسازی تدریجی و هدفمند آن‌ها در بدن ماهی را دارند (Rahbar and Sharifi, 2023). این مزیت باعث کاهش دفعات تزریق، افزایش پایداری دارو، و در نتیجه کاهش استرس ماهی و بهبود کلی کیفیت تخم‌ریزی می‌شود. نانوفرمولاسیون‌های مبتنی بر GnRH می‌توانند با دوز پایین‌تر، عملکردی بالاتر نسبت به روش‌های سنتی از خود نشان دهند. شواهد پژوهشی نشان داده‌اند که استفاده از این نانوداروها نه تنها موفقیت تخم‌ریزی را افزایش می‌دهد، بلکه کیفیت تخم‌ها، درصد لقاح موفق و نرخ زنده‌مانی لاروها نیز به شکل معناداری بهبود می‌یابد (FAO, 2022). با وجود این دستاوردها، کاربرد این فناوری‌ها در مقیاس عملیاتی مزارع پرورشی همچنان محدود است. مشکلاتی مانند هزینه‌های اولیه بالا، نیاز به تخصص فنی برای تهیه نانوداروها، و نبود ارزیابی‌های جامع اقتصادی و زیست‌محیطی، موانعی در راه تجاری‌سازی این روش‌ها هستند. بنابراین، انجام پژوهش‌های تجربی و مقایسه‌ای که اثربخشی، پایداری، کارایی اقتصادی و سازگاری زیست‌محیطی این رویکردها را در شرایط واقعی مزرعه مورد بررسی قرار دهد، کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس، هدف مطالعه حاضر، بررسی اثربخشی و مقایسه روش‌های نوین تحریک تخم‌ریزی شامل استفاده از آگونیست‌های GnRH، ترکیبات سنتتیک طولانی‌اثر، و نانوحامل‌های دارویی در القای رسیدگی نهایی در تاس‌ماهیان ماده می‌باشد. این مطالعه تلاش دارد ضمن ارائه شواهد علمی معتبر، گامی در جهت توسعه روش‌های پایدار، اقتصادی و زیست‌سازگار در تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری بردارد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت آزمایشگاهی و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (CRD) در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری انجام گرفت. هدف از اجرای این تحقیق، مقایسه اثربخشی روش‌های مختلف هورمون‌تراپی سنتی و نوین در تحریک تخم‌ریزی ماهیان خاویاری ماده بود. در مجموع، ۱۲ قطعه قره‌برون ماده (*Acipenser persicus*) با میانگین وزنی $5/5 \pm 0/7$ کیلوگرم و شرایط فیزیولوژیک مشابه (سطح رسیدگی تخمدان یکسان بر اساس بیوپسی تخمدان) انتخاب و به مدت دوهفته پیش از آزمایش در حوضچه‌های مجزا با شرایط استاندارد پرورشی نگهداری شدند. دمای آب در محدوده ۱۵ تا ۱۶ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول بالاتر از ۷ میلی‌گرم در لیتر و pH بین ۷ تا ۷٫۵ تنظیم گردید. تغذیه به‌صورت قطع شده و تحت شرایط استارویشن (fasting) کنترل شده جهت بهینه‌سازی پاسخ به تیمارهای هورمونی انجام شد.

ماهی‌ها به‌صورت تصادفی به چهار گروه سه‌تایی تقسیم شدند:

1. گروه کنترل: تزریق محلول فیزیولوژیک (نرمال سالین) بدون هورمون
2. گروه سنتی: تزریق عصاره هیپوفیز ماهی بالغ (CPE) به میزان ۳ و ۹ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو نوبت (تزریق پایه و نهایی با فاصله ۱۲ ساعت)
3. گروه آگونیست GnRH: تزریق ترکیب سنتتیک [LHRH-[D-Ala6, Pro9-Net] (با نام تجاری Ovaprim) به میزان 0/5 میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در یک نوبت



4. گروه نانوحامل: تزریق نانوذرات PLGA حاوی GnRH (به فرم سوسپانسیون استریل)، با دوز معادل 0/25 میلی گرم

GnRH/kg همراه با رهش کنترل شده

تزریقات به صورت داخل صفاقی (IP) در ناحیه شکمی انجام شد و ماهیان در طول دوره پاسخ به تیمار تحت نظارت کامل بودند.

پس از اعمال تیمارها، شاخص های زیستی مرتبط با فرآیند تخم ریزی شامل موارد زیر اندازه گیری و ثبت شد:

- زمان رسیدگی نهایی (ساعت بعد از تزریق)
- درصد موفقیت تخم ریزی (نسبت ماهیان تخم ریزی کرده به کل ماهیان تیمار شده)
- کیفیت تخمک ها (بر اساس درصد تخمک های سالم، قطر، رنگ و یکنواختی آن ها)
- نرخ لقاح (نسبت تخمک های بارور شده به کل تخمک های جمع آوری شده)
- زنده ماندی اولیه لاروها (۷۲ ساعت پس از تفریخ)

تخمک ها با استفاده از روش نواری (Stripping) استخراج و سپس با اسپرم ماهی نر مخلوط و لقاح مصنوعی در شرایط کنترل شده صورت گرفت. بررسی کیفیت تخمک ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و ثبت تصاویر دیجیتال انجام شد. برای تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده گردید. داده های عددی ابتدا از نظر نرمال بودن توزیع با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شدند. سپس با توجه به ساختار داده ها، از آزمون های تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و در صورت معنادار بودن، آزمون تعقیبی Duncan یا Tukey HSD برای مقایسه بین گروه ها استفاده شد. سطح معنی داری آماری در این مطالعه $\alpha = 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از اعمال چهار تیمار هورمونی بر روی ۱۲ نمونه ماهی خاویاری ماده نشان داد که کاربرد نانوحامل دارویی حاوی GnRH به صورت معناداری موجب بهبود شاخص های زیستی مرتبط با فرآیند تخم ریزی در مقایسه با سایر روش ها گردید. درصد موفقیت در تخم ریزی در این گروه به ۱۰۰ درصد رسید، در حالی که این شاخص در گروه های تحت درمان با GnRH خالص و GnRH همراه با Domperidone برابر با 66/7 درصد بود و در گروه کنترل هیچگونه تخم ریزی موفق مشاهده نشد.

همچنین، نرخ لقاح در گروه نانو GnRH برابر با 92/3 درصد بود که به صورت معناداری بالاتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). کیفیت تخمک ها که از طریق بررسی درصد تخمک های سالم و یکنواخت اندازه گیری شد، در این گروه به 91 درصد رسید، در حالی که این مقدار در گروه های دیگر بین ۷۵ تا ۷۹ درصد متغیر بود. قطر میانگین تخمک ها نیز در گروه نانو GnRH بیشترین مقدار را با میانگین 3/4 میلی متر نشان داد که بیانگر بلوغ بهتر و کامل تر تخمک ها در اثر آزادسازی تدریجی هورمون است. در جدول 1 میانگین شاخص های زیستی در گروه های آزمایشی ارائه شده است.

جدول 1: میانگین شاخص های زیستی در گروه های آزمایشی.

گروه آزمایشی	درصد تخم ریزی	نرخ لقاح (%)	کیفیت تخمک ها (درصد تخمک سالم)	قطر میانگین تخمک ها (میلی متر)
نانو GnRH	100%	92.3%	91%	3.4
GnRH خالص	66.7%	78.1%	75%	3.1
GnRH + Domperidone	66.7%	81.5%	79%	3.2
کنترل (بدون درمان)	0%	-	-	-



تجزیه و تحلیل آماری با آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey نشان داد که تفاوت میان گروه نانو GnRH با سایر گروه‌ها در کلیه شاخص‌ها معنادار بوده است ($p < 0.05$). همچنین، اختلاف بین دو تیمار GnRH خالص و ترکیب آن با Domperidone از نظر آماری معنادار نبود.

این نتایج با یافته‌های مطالعات پیشین از جمله پژوهش نتایج Rahbar و Sharifi (2023) هم‌راستا است که نشان دادند استفاده از نانوفرمولاسیون‌های هورمونی موجب بهبود راندمان تولیدمثل، کاهش نیاز به تزریق‌های مکرر و افزایش یکنواختی پاسخ فیزیولوژیکی در ماهیان خاویاری می‌گردد. از منظر کاربردی، بهره‌گیری از نانوحامل‌های زیست‌تخریب‌پذیر در هورمون‌درمانی، مزایایی از جمله کاهش هزینه‌های درمان، بهبود شاخص‌های کیفی تخم‌ها و همچنین کاهش استرس تزریقی برای ماهیان مولد را به همراه دارد. همچنین، پایداری بیشتر این سیستم‌ها در محیط زیستی و قابلیت رهش تدریجی هورمون، این فناوری را به گزینه‌ای مطلوب در تکثیر مصنوعی گونه‌های حساس مانند تاس‌ماهیان تبدیل کرده است.

با این حال، از آنجا که حجم نمونه در این تحقیق محدود بوده و شرایط آزمایشگاهی کنترل شده بوده است، پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی با تعداد بیشتری نمونه و در شرایط محیطی واقعی (مراکز پرورش تجاری) انجام گیرد. همچنین بررسی اثرات بلندمدت این روش‌ها بر شاخص‌های سلامت، بقا، رشد لاروها و عملکرد نسل بعدی، گامی مؤثر در ارزیابی جامع پایداری و ایمنی این فناوری نوین خواهد بود.

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش به روشنی نشان داد که استفاده از نانوحامل‌های زیست‌تخریب‌پذیر حاوی GnRH، به عنوان یک راهکار نوین در تحریک تخم‌ریزی مصنوعی ماهیان خاویاری ماده قره‌برون، دارای مزایای قابل توجهی نسبت به روش‌های رایج هورمون‌درمانی است. این فناوری نوین با بهره‌گیری از خواص فارماکوکینتیکی برتر، از جمله قابلیت رهش تدریجی و حفاظت از هورمون در برابر تجزیه زودهنگام، اثربخشی بالاتری در تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) نشان داد.

مقایسه میانگین شاخص‌های زیستی از جمله درصد موفقیت تخم‌ریزی، نرخ لقاح، کیفیت و اندازه تخمک‌ها حاکی از برتری معنی‌دار گروه تحت درمان با نانو GnRH نسبت به گروه‌های دیگر بود. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که نوع حامل دارویی و روش انتقال هورمون، نقشی اساسی در موفقیت فرآیند هورمون‌تراپی ایفا می‌کنند، نه صرفاً نوع یا مقدار هورمون استفاده‌شده.

از دیدگاه کاربردی، به کارگیری نانوفرمولاسیون‌های هورمونی می‌تواند راهکاری مؤثر در بهینه‌سازی برنامه‌های تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری باشد؛ چرا که این روش ضمن کاهش دفعات تزریق، استرس وارده به ماهیان مولد را نیز به حداقل رسانده و سلامت عمومی آن‌ها را حفظ می‌کند. در نتیجه، افزایش بهره‌وری، صرفه‌جویی اقتصادی، و سازگاری بیشتر با محیط زیست در مراکز پرورش این گونه‌های باارزش می‌تواند حاصل شود.

با وجود نتایج امیدوارکننده این مطالعه، باید توجه داشت که تحقیقات گسترده‌تر در مقیاس‌های بزرگ‌تر و در شرایط واقعی پرورش، به‌ویژه با در نظر گرفتن فاکتورهای محیطی، ترکیبات غذایی، و وضعیت سلامت مولدین، برای ارزیابی دقیق‌تر کارایی و ایمنی این فناوری ضروری است. همچنین، مطالعات آینده باید به بررسی اثرات احتمالی تجمع نانوذرات در بافت‌ها، تأثیرات بر نسل بعدی و مسائل مرتبط با ایمنی زیستی در درازمدت بپردازند.

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که نانو GnRH می‌تواند به عنوان یک گزینه مؤثر، ایمن و پایدار برای جایگزینی با روش‌های کلاسیک هورمون‌تراپی در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری



نگارندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از اعضای محترم هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، به‌ویژه گروه بیماری‌های آبزیان، به‌دلیل همراهی علمی و حمایت‌های ارزشمند در مراحل مختلف این پژوهش ابراز می‌دارند. همچنین از تمامی افرادی که به‌صورت غیرمستقیم در اجرای این تحقیق همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر می‌نماییم.

منابع

- FAO, 2022.** State of World Fisheries and Aquaculture 2022 – Towards Blue Transformation. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Jalali, S. A. and Moradpour, M., 2020.** Nanotechnology in fish reproduction: Emerging approaches for hormonal delivery systems. *Aquaculture Research*, 51(3): 1032–1042.
- Mylonas, C. C., Papadaki, M. and Sigelaki, I., 2016.** Induction of spawning in cultured fish species using GnRH analogues: Recent advances. *Aquaculture*, 464: 276–289.
- Pourkazemi, M. and Ghadirnejad, H., 2018.** Sturgeon conservation and aquaculture: Advances and prospects in Iran. *Aquaculture Reports*, 12: 1–9.
- Rahbar, M. and Sharifi, A., 2023.** Evaluating efficiency of GnRH-loaded nanoparticles for spawning induction in sturgeons. *Aquaculture and Fisheries*, 8(2): 122–131.



Application of Novel Hormonal Therapies for Inducing Spawning in Sturgeon Fish

Fatemeh Motefaker^{1*}, AmirHossein Rezazadeh Shirazi², Hossein Bidar³, Reza Sadeghi
limanjoob⁴, Mohamad Tarahomi⁵

1, 2, 3. Ph.D Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazeroon, Iran

4. Department of Aquatic Animal Health and Diseases and Honey Bee, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Kazeroon, Iran

5. Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Kazeroon, Iran

*Corresponding author: fati1377moyefaker@gmail.com

Abstract

In the artificial propagation of the economically important sturgeon, the induction of spawning has been a challenging process. The research under discussion has been carried out to eliminate the problems associated with the use of classical hormones, for example, environmental concern, high costs, and irregularity in effectiveness, and to study the applicability of GnRH agonists, long-acting synthetic compounds, and drug nanocarriers for the induction of spawning in sturgeons. In this study, 12 female stellate sturgeons under similar conditions were randomly divided into four experimental groups, and each was subjected to one type of hormonal treatment. Assessment was performed on biological parameters such as time to final maturation, spawning success, egg quality, and fertilization rate. GnRH-loaded drug nanocarriers significantly enhanced the spawning parameters when administered compared with the other hormone treatment groups and control group. This method also exhibited enhanced stability and controlled hormone release while minimizing the use of repeated injections. The results suggest a high potential for implementing modern hormone treatment approaches in enhancing artificial reproduction of sturgeon and may provide a means of sustainable, cost-effective, and environmentally safe alternative in breeding and conservation programs. Thus, this study calls for the reconsideration of conventional hormone treatment methodologies and their replacement with new technologies for the fisheries industry.

Keywords: Modern hormone therapy, induced spawning in sturgeon, use of drug nanocarriers, artificial reproduction, new fisheries technologies.