دراسة أولى حول استخدام مستحضر الاوفابرم OVAPRIM في التلقيح الاصطناعي لاسماك الكارب الاعتيادي *CYPRINUS CARPIO* المستزرع في محافظة البصرة

مصطفى احمد المختار ، ساجد سعد النور* ، مصطفى سامي فداغ و تقي عبد الكريم

قسم الفقريات البحرية - مركز علوم البحار- جامعة البصرة

* قسم الأسماك- كلية الزراعة- جامعة البصرة – بصرة

الملخص

استخدم المستحضر الذي يحمل الاسم التجاري الاوفابرم (OVAPRIM) في التلقيح الاصطناعي لاسماك الكارب الاعتيادي و قورنت نتائجه مع استخدام مستخلص الغدة النخامية . المستحضر مركب من مثيل الهرمون المحرض لجونادوتروبين اسماك السلمون (sGnRHa) اضافة الى مادة Domperidone المضادة للدوبامين. تم العمل في مفقس اسماك مركز علوم البحار/ جامعة البصرة. حقنت مجموعة من اسماك الكارب الاعتيادي بجرعة واحدة من الاوفابرم مقدارها 0.5 مل ، و مجموعة اخرى بجرعتين من مستخلص الغدة النخامية لاسماك الكارب الاعتيادي. أظهرت النتائج تفوق استخدام المستحضر الجديد في المواصفات المدروسة لنتائج التلقيح الصناعي ، حيث ارتفع معدل وزن البيوض المستحصلة بالتمسيد و ارتفع معدل نسبة وزن البيوض الى وزن الجسم (11.97% للاوفابرم مقابل 7.245% من وزن الجسم لمستخلص الغدة النخامية). عند استخدام الاوفابرم اعطت جميع الاسماك البيوض بشكل سريان سريع ، بينما كانت 50% من الاسماك كذلك في حالة الغدة النخامية. كذلك ارتفع معدل التخصيب (95% مع الاوفابرم و 86.25% مع الغدة النخامية) كما ارتفع معدل الفقس (93.75% للاوفابرم مقابل 83.75% للغدة النخامية). هذا وقد اظهر التحليل الاحصائي فروقا معنوية بمستوى عالي ($P>0.01,0.05$) في نسبة الاخصاب و فروقا معنوية اعتيادية ($P>0.1$) في نسبة الفقس. اضافة الى المعاملات المذكورة فقد وجد بشكل عملي ان استخدام الاوفابرم يوفر الجهد و يسهل ادارة عمليات المفقس نتيجة استخدام جرعة واحدة لحث السرء. كما كانت كلفة استخدام المستحضر اقل من كلفة استخدام مستخلص الغدة النخامية في وقت الدراسة.

المقدمة:

تمتد عملية استزراع الاسماك في العراق الى النصف الثاني من القرن الماضي ، عند انشاء مزرعة الزعفرانية حيث كانت بدايات استزراع اسماك الكارب في القطر. تركزت الطرق المستعملة في التلقيح الاصطناعي منذ ذلك التاريخ على التقانات المنقولة من دول اوربا الشرقية وبالتحديد روسيا و هنغاريا و بولندا. اعتمدت هذه الطرق على التقانات المتوفرة في ذلك الوقت و المتمثلة باستخدام مستخلص الغدة النخامية في التكثير الصناعي لاسماك الكارب الصيني و الاسماك العراقية (علي و اخرون، 1986)، وذلك في المحاولات التي اجريت في السنوات بين عامي1973 و 1986 ، أوضحت هذه الدراسة طريقة التلقيح الاصطناعي لاسماك البني و الكطان و الشبوط. من الدراسات الاخرى التي اهتمت بالتكثير الاصطناعي للاسماك العراقية دراسة فاركا امرا و جابك (1988) حول تكثير البني *(Brbus sharpeyi)* و الكطان *(Barbus xanthopterus)* و الشبوط *(Barbus grypus)*. كذلك دراسة الناصح (AL-Nasih 1992) حول تكثير اسماك البني في الزعفرانية. ودراسة (Pyka *et al*., 2001) حول تكثير الكطان و الشبوط و البني ونسب بقاء اليرقات بعد الفقس و الحضانة. عرضت دراسة فاركا امرا و جابك (1988) نتائج نجاح التلقيح الصناعي لاسماك البني و الكطان و الشبوط باستخدام مستخلص الغدة النخامية بنسبة 10%من الجرعة الكلية في الحقنة الاولى، و 90% في الحقنة الثانية بعد مرور 12 ساعة من الحقنة الاولى. في جميع هذه الدراسات و العمليات التي تجرى على انواع الكارب كانت تستخدم فقط الغدة النخامية لحث السرء. فيما تطورت خلال هذه الفترة عملية الحث الاصطناعي للسرء باستخدام بدائل الغدة النخامية. حيث استخدم الجونادوتروبين البشري الكوريوني Human Chorionic Gonadotropin (HCG) او الهرمونات المحرضة للجونادوتروبين Gonadotropin-Releasing Hormones (GnRH) هذه الطرق اما تعطي الجونادوتروبين او البيبتيدات الشبيهة بالجونادوتروبين (GTH- Like Peptides)، او تستحث تحرير الجونادوتروبينات الذاتية من الغدة النخامية و التي تقوم بدورها في حث النضج النهائي (Rottmann, *et.al*.). في الوقت الحاضر هناك العديد من مثيلات الجونادوتروبينات (GTH Analogs) اصبحت تستخدم لحث السرء بشكل واسع في تكثير انواع عديدة من الاسماك (Zohar,*et al*.,1990). منها استخدام مثيل الهرمون المحرض للجونادوتروبين

لاسماك السالمون (Salmon Gonadotropin Releasing Hormones - sGnRH) . هذا الهرمون هو اساس المنتج المسمى تجاريا(OVAPRIM). دخل الاوفابرم الى الاسواق خلال الثمانينات من القرن الماضي ولاقى نجاحا في العديد من انواع الاسماك في المياه الباردة و المعتدلة (Syndel Inc.2004a ; Powell, *et. al.*1998; Nandeesha,et.al.1990 a)

جاءت هذه التجربة لمعرفة امكانية استخدام هذا المستحضر في ظروف محافظة البصرة وعلى اسماك شائعة الاستخدام، ومن ثم التهيئة لاستخدامه مستقبلا مع الاسماك المحلية.

طريقة العمل:

تمت التجربة في مفقس الاسماك التابع لمركز علوم البحار خلال الفترة 10 مارس – 3 نيسان 2004. انتخبت بعض اناث و ذكور اسماك الكارب الاعتيادي*Cyprinus carpio* من بعض مزارع الاسماك في محافظة البصرة وكان مدى الاوزان المستخدمة هو 1250-2000 غرام. حقنت مجموعة من الاناث و الذكور بجرعة واحدة من مستحضر الاوفابرم المنتج من قبل شركة SyndelLaboratories, Vancover B.C مقدارها 0.5 مل / كيلو غرام من وزن السمكة، حسب توصيات الشركة المنتجة. وقت الحقن كان ليلا عند الساعة 20 او 21 اعتمادا على ظروف العمل. العينة الضابطة لاسماك الكارب الاعتيادي حقنت بمستخلص الغدة النخامية و بجرعتين للاناث، الاولى تحضيرية بمقدار 0.3 ملغم/كلجم من وزن الجسم مذابة في مللتر واحد من المحلول الفسيولوجي السمكي، اما الجرعة الثانية التكميلية فهي 3.0 ملغم/كلجم من وزن الجسم مذابة في مللتر واحد من المحلول. تعطى الذكور جرعة واحدة (2 ملغم/كلجم من وزن الجسم) وتحقن مع الحقنة الثانية للاناث. تعطى الحقنة الاولى من الغدة النخامية عند الساعة 20 او 21 و الحقنة الثانية بعد 12 ساعة من الحقنة الاولى. في كلا المعاملتين تتم مراقبة الاسماك المحقونة للتاكد من حصول الاباضة ، وتجرى عملية التمسيد بعد 8- 12 ساعة من الانتهاء من المعاملة الهرمونية للحصول على المنتجات الجنسية للاناث و الذكور و انجاز التلقيح الاصطناعي. مستخلص الاوفابرم المستخدم يحوي على 10 ملغم/مل من ال Domperidone هذه المادة هي مادة مضادة للدوبامين . Dopamine antagonist كما يحوي على 20مايكروغرام/مل من مثيل هرمون محرض جونادوتروبين اسماك السالمون (sGnRH) وبالتركيب التالي:

9 Pro،Leu8،Trp 7،(D-Arg 6 LH-RH) -Ne $_t$

جميع الاسماك حقنت بالهرمون في منطقة العضلات Intramuscularly . تم وزن الاسماك ووزن البيوض الناتجة. كما حسبت نسبة الإخصاب و نسبة الفقس. نسبة الاخصاب حسبت بعد ان تترك البيوض للتطور لمدة 3-4 ساعة ثم تحسب نسبة البيض التي تبدأ بعملية الانقسام. بعد ذلك تترك البيوض في المفقسات وعندما يمتص كيس المح تحسب نسبة الفقس (Liley *et al*.2002) . استخدم اختبار t لمقارنة النتائج المجموعتين على اساس طريقة تحليل تصميم المجاميع غير المرتبطة Analysis of uncorrelated group design (شيلفر 1984).

النتائج و المناقشة

عند مقارنة نتائج حث السرء باستخدام مستخلص الغدة النخامية (جدول 1) ونتائج الحث بمستحضر الاوفابرم(جدول2) نلاحظ وجود فرق مهم بينهما. كان معدل وزن الأسماك المستخدم مع الحقن بمستخلص الغدة النخامية أعلى منه من معدل وزن الأسماك المحقون بالاوفابرم(وكانت هذه الفروقات غير معنوية إحصائيا). فيما ارتفع معدل وزن البيض المستحصلة بشكل ملاحظ مع استخدام الاوفابرم حيث كان 185 غرام مع الاوفابرم مقابل 130 غرام مع مستخلص الغدة النخامية، وهي فروقات غير معنوية احصائياً ايضاً. هذه النتيجة يعكسها أيضا معدل نسبة وزن البيض إلى وزن الجسم حيث ارتفعت مع الاوفابرم إلى 11.97 % مقابل 7.245 % مع مستخلص الغدة النخامية، ولم تكن هذه الظروف معنوية احصائيا. لقد وجدت هذه النتيجة في الكثير من أنواع الأسماك ((Syndel2004a) حيث ارتفعت كمية السرء الناتج عند استخدام الاوفابرم في اغلب الأنواع. هذه الظاهرة يمكن ان تعزى إلى عدة امور منها ان الاوفابرم هو هرمون محرض للجونادوتروبين مما يجعل السمكة تنتج هرمون الجونادوتروبين بشكل طبيعي يتناسب مع احتياجها و قابليتها ، بينما مع الغدة النخامية فان الحث يكون عن طريق إعطاء الجونادوتروبين بشكل مباشر.

عند ملاحظة نجاح عملية حث السرء بعد انتهاء المعاملة بالهرمون (والتي تتميز بخروج البيض على شكل تيار سريع مستمر حر)، نجد أن هناك اختلاف كبير في درجة النجاح. في الاسماك المعاملة بمستخلص الغدة النخامية كان هناك 50% فقط من الإناث أعطت سرء بشكل سريان سريع و حر مع الضغط البسيط على البطن،في حالات أخرى كان البيض يخرج بصعوبة و بشكل متكتل ربما نتيجة الوصول الى فوق النضج،في حالة أخرى أعطت السمكة البيض في فترة اقل من 12 ساعة بعد الحقنة

الأولى وحصلت عملية إلقاء السرء القيام بعملية خياطة الفتحة التناسلية. عند استخدام الاوفابرم فان جميع الأسماك المعاملة أعطت البيض بسهولة وعلى شكل سريان سريع وكان البيض منفرد بشكل جيد وغير متكتلة. ان النجاح استخدام الاوفابرم وعدم التكتل يؤدي الى نتائج افضل لعملية الغسل وعدم الحاجة الى وقت اضافي للغسل وكذلك الى عدم التصاق البيض عند وضعها في آنية الفقس. ان سريان البيض بسرعة يقلل من الضغط المسلط لاخراج البيض و بالتالي الى عدم تكسر قسم منه، الامر الذي قد يؤدي الى تثبيط الإخصاب. لقد ارتفعت نسبة الإخصاب في الأسماك المعاملة بالاوفابريم الى معدل 95%، بينما هي 86.25% مع مستخلص الغدة النخامية ، وكانت هذه الفروقات معنوية إحصائيا بمستوى عالي ($P>0.01, 0.05$). وهذا قد يرتبط مع سهولة خروج البيض سابقة الذكر (Rottmann 1991). ارتفع معدل الفقس باستخدام الاوفابرم وبلغ 93.75%، بينما كان 83.75% مع مستخلص الغدة النخامية وهي فروقات ذات معنوية احصائية ($P>0.1$).هذه النتيجة وجدت ايضاً في دراسات اخرى حيث يرجع هذا الى جودة البيض المنتج باستخدام الاوفابرم (Nandeesha *et al.* 1990a). جميع هذه المعاملات المدروسة توضح ان استخدام الاوفابرم أعطى نتائج متفوقة عن استخدام مستخلص الغدة النخامية في اسماك الكارب الاعتيادي. إضافة الى النتائج التي تم ذكرها فقد وجد من ناحية إدارة الفقس ان استخدام الاوفابرم يوفر في الجهد و الكادر و تقليل الجهد العملياتي في الإدارة من مبيت و غذاء ونقل و مراقبة...الخ. ان حقن الاسماك بمرحلة واحدة له العديد من الفوائد اهما التقليل من تداول الاسماك وعدم الحاجة الى إخراجها من الماء لمرتين على الاقل، الامر الذي يعني تقليل فترة بقاء السمكة خارج الماء و الذي يعتبره البعض من العوامل المهمة في نجاح حث السرء (Rottmann *et al.* 1991). كذلك فان الحقن بمرحلة واحدة يقلل من احتمالية طرح السرء بعد الحقنة الاولى وقبل اعطاء الحقنة الثانية و خياطة السمكة، وهذا ما حصل مع السمكة التي بوزن 1850غم (جدول 1). ان الحقن بجرعة واحدة يقلل من نسبة وصول الأسماك الى مرحلة فوق النضج نتيجة لطول فترة المعاملة الهرمونية 20-24 ساعة في حالة الغدة النخامية، بينما هي 8-12 ساعة في حالة الاوفابرم. ان عدم وصول الأسماك الى مرحلة فوق النضج يرفع من إمكانية الحصول على سرء سريع مستمر.

لقد وجد من الناحية الاقتصادية ان سعر استخدام الاوفابرم لوحدة الوزن اقل من سعر استخدام مستخلص الغدة النخامية (خلال فترة أجراء التجربة) لنفس وحدة

الوزن. حيث كانت كلفة مستخلص الغدة النخامية يتراوح بين 1.05-1.5 دولار/كلغم من وزن الأنثى (على اساس سعر 350 دولار للغرام الواحد من الغدة النخامية المجففة و بجرعة 3-4 ملغم/كلغم)، اما الاوفابرم فيصل سعر الجرعة الى 0.91 دولار/كلغم عند استخدام عبوات بحجم 100 مللتر (Syndel2004b). لقد عانى التلقيح الاصطناعي في العالم من جملة مشاكل تعتمد بالاساس على استخدام الغدة النخامية، حيث كانت هناك اختلافات كبيرة في النتائج المستحصلة رغم ثبات التقانات المستخدمة. وهذا يرجع بشكل أساسي الى درجة نقاوة و صلاحية الغدة النخامية المستخدمة الذي يعتمد على توقيت استخراجها من الاسماك الواهبة وطريقة الحفظ و الفاصل الزمني بين الاستخراج و الاستفادة. الصعوبة الاكبر عمليا في استخدام مستخلص الغدة النخامية تاتي من عملية الحقن على جرعتين، مما يزيد من تدوال الامات و العمالة و الجهد المطلوبين (Rottmann *et al.* 1991).

النتيجة العامة للبحث يمكن القول باننا نوصي بتواصل الدراسات استخدام المستحضرات الجديدة بدلا من الغدة النخامية في القطر وتشجيع الابحاث على انواع الاسماك الاخرى و خاصة الاسماك المحلية.

شكر وتقدير:

نتوجه بالشكر و التقدير للدكتور مالك حسن علي و الدكتور حامد خلف احمد على لمساعدتهم في الحصول على مستحضر الاوفابرم من الشركة المصنعة. كذلك نتوجه بالشكر إلى شركة Syndal International على توفيرها عينات مجانية لاستخدامها في البحث.

جدول(1): يبين نتائج حث السرء للإناث باستخدام مستخلص الغدة النخامية

وزن الامات (غم)	وزن البيض (غم)	حالة البيض	نسبة وزن البيض/ وزن الجسم	نسبة الإخصاب	نسبة الفقس
1500	140	سريان سريع	9.3	85	80
1450	10	تخرج بصعوبة	0.69	85	80
1850	120	اعطت بعد 12 ساعة من الحقنة الاولى	6.49	85	80
2000	250	سريان سريع	12.5	90	95
المعدل(±SD) 1700 (26.7±)	130 (9.8±)	50% سريان سريع	7.24 (5.01±)	86.25 (2.5 ±)	83.75 (7.5±)

جدول (2): يبين نتائج حث السرء للاناث باستخدام مستخلص الاوفابريم

وزن الامات (غم)	وزن البيض (غم)	حالة سريان البيض	نسبة وزن البيض/وزن الجسم	نسبة الإخصاب (%)	نسبة الفقس (%)
1700	120	سريان سريع	7.06	95	90
1850	240	سريان سريع	12.97	95	95
1700	120	سريان سريع	7.06	95	95
1250	260	سريان سريع	20.8	95	95
المعدل (±SD) 1625 (25.9±)	185 (7.5 ±)	100% سريان سريع	11.97 (6.5 ±)	95 (0.0 ±)	93.75 (2.5 ±)

المصادر:

امـرا، فاركـا و جابـك،فراس مجيـد(1988) تقنيــة التكثيــر الاصــطناعي لثلاثــة اصـناف مـن الاسـماك العراقيـة البنـي ((Barbus sharpeyi و الكطــان ((Barbus xanthopterus والــشبوط ((Barbus grypus . بحث غير منشور.

علي،عطـا الله محيـسن و عبـد الحـسن جميـل سلمان و مصدق دلفي علي و عادل عبـد الاحـد سـعيد و ليلـى هرمـز فريـد (1986) دراســة امكانيــة تكثيــر الاســماك الاقتــصادية العراقيــة اصطناعيا. دراسة غير منشورة.

شيلفر، س .وليام (1984) الاحصاء للعلوم الحياتيـة. ترجمـة احمد عبـد الـرحيم و سـيف الـدين منـسي خطـار- وزارة التعليم العـالي- جامعـة البـصرة ص 3

REFERENCES:

AL-Nasih, M.H. (1992) Preliminary observation related to the culture of *Barbus sharpeyi*(Bunni). J. Aqua.Trop., 7: 69-78.

Liley, N.R.;P.Tamkee,R.Tasal and D.J.Hoysak(2002) Fertilization dynamics in rainbow trout *Concorhynchus* : effects of male age, social experience and sperm concentration and motility on in vitro fertilization. Can. J. Fish. Aqut. Sci. , 54:144-152.

Nandeesha,M.C.;S.K.Das;D.E.N athaniel and T.J.Varghes (1990) Breeding of Carps With Ovaprim in India. The Asian Fisheries Society,Indian branch, Special pub.No.4.

Nandeesha, M.C; K. G. Rao. ;R. N. Jayanna; N. C. Parker; T. J. Varghese

P.Keshavanath and H.P.C.Shetty (1990b) Induced spawning of Indian major carps through single application of Ovaprim-C.In Hirano,R. and Hanyu,(Edit) The Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.991 P.

Powell, J. F. F.; Bracket, J. and Battag-liak, J. (1998) Induced and syn-chronized spawning of captive broodstock using Ovaplant and Ovaprim, Proc. Aquaculture Assoc. of Canada.
31Jan-4Feb 1998, St.John's Nflnd. Canada.

Pyka,J.;Bartel,R.;Szczerbowski,J.A. ;Epler, P. (2001) Reproduction Gattan (*Barbusxanthopterus*, Hecke) ,Shabbout(*Barbus grypus*, Heckel) and Bunni(*Barbus sharpeyi*, Gunther) and rearing stocking material of these species. Archives of Polish Fisheries, Olsztyn (Arch.ryb.pol., 9,(1): 235-246.

Rottmann,R.W.; J. V. Shreman and F. A. Chapman(1991) Hormonal control of reproduction in fish for induced spawning . South Regional Aquaculture Center Publication. SRAC Publication No424.

Syndel International Inc.,(2004a) Selected Ovaprim field results. Vancover, British Colombia, Canada, info@syndel.com.

Syndel International Inc.,(2004b). Cost benefits using Ovaprim. Vancover,British Colombia, Canada, info@syndel. com.

Zohar, Y.; Goren ,A.; Fridkin, M. and Koch, Y. (1990) Degradation native Salmon GnRH, Mammalian LHRH and their analogs in the Pituitary, Kidney and liver. Gen. Comp. Endocrinol.,79:306-331

FIRST STUDY ON THE USAGE OF OVAPRIM FOR THE INDUCED SPAWNING OF COMMON CARP (CYPRINUS *CARPIO*) IN BASRAH - IRAQ

MUSTAF A. ALMUKHTAR* ; SAJD S. ALNOOR ; M. S. FADAGH* AND TAQI ABDULKAREEM***

** Marine Science Center ** Collage of Agriculture*

Abstract

The synthetic hormonal product Ovaprime was used for the induced spawning of *Cyprinus carpio* , in comparson with the Pituitary gland extract. The study was done in Basrah univ. Marine Sience Center freshwater fish hatchery. The Ovaprime is an Analog of Gonadotropine releasing hormone of salmon (sGnRHa) as well as Domperidone as Dopamine Antagonist. The first fish group of *C.carpio* was injected with 0.5 ml of Ovaprime in one dose , while the second (control) group was injected with PG extract in two dose (0.3mg/kg as a first & 3.0 mg/Kg as a second dose). The results showed that the usage of Ovaprime gives better results than PG extract in the performing parameters of induced spawning. Average Ova weight provided by hand stripping was higher in Ovaprime treatment. The average ova weight per body weight was also higher in Ovaprime (11.97%) compaired with 7.245% for PG, but these results were not statisticaly significant . With Ovaprime all the fishes had free flowing Ova while half of the fishes had free flowing ova in PG injected fishes. Fertilization rate was higher (95%) with Ovaprime, and this was highly significant differences from PG. Hatching rate was increased by Ovaprime to reach 93.75% while it was 83.75% for PG,it was also significant differences. In addition to that it was seen that the usage of Ovaprime is more practical in the hatchery management work..also It was found that Ovaprime is cheapest than the usage of PG extraction during the study period.