بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) در حوضه آبی سیستان

عبدالعلی راهداری[1*]؛ احمد قرایی[1]؛ مصطفی غفاری[1]؛ تقی نجفی[2]

۱- گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل

۲- گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

*نویسنده مسئول: Rahdari57@yahoo.com

چکیده:

ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) یک گونه‌ی با ارزش و اقتصادی متعلق به خانواده‌ی کپورماهیان و در کشور ایران بومی حوضه سیستان می باشد. در این تحقیق امکان تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان با استفاده از هورمون ovaprim به منظور دستیابی به بیوتکنیک تکثیر مصنوعی بررسی شد. تعداد ۱۲ قطعه مولد ماده و ۱۵ قطعه مولد نر به ترتیب با میانگین وزنی ۱۰۸/۸۴±۱۳۷۵ و ۱۷/۶±۶۳۲ گرم صید شده از چاه نیمه های سیستان، انتخاب شدند. جهت القای تخم‌ریزی هورمون ovaprim در چهار مرحله (فاصله زمانی بین تزریق های اول تا سوم ۲۴ ساعت و بین سوم و چهارم ۱۲ ساعت) با دوزهای ۰/۲، ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی ماده و مولدهای نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها به میزان ۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند که ۸۳/۳ درصد مولدها به مرحله تخم‌ریزی رسیدند. میزان هم‌آوری‌کاری مولدهای ماده ۷۸۰۲±۳۹۵۳۱/۲۵ بود. طول دوره پنهان(زمان بین اولین تزریق تا اوولاسیون) ۱۲/۰۵±۶۰/۱۵ ساعت و طول دوره انکوباسیون بسته به دمای آب(۱۴ تا ۱۸/۵ درجه سانتیگراد) ۱۲۰ تا ۱۴۰ ساعت بود. هم‌آوری نسبی، حجم تخم خشک به ازای هر ماهی ماده(سی سی)، تعداد تخم خشک در هر سی سی، درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده، درصد تبدیل تخم چشم زده به لارو و تعداد لارو بدست آمده از هر ماهی ماده به ترتیب ۴۷۹۶/۲۶±۲۸۴۱۰/۶۱، ۲۵/۰۹±۱۷۲/۵، ۰/۹±۸۸/۹۷، ۱/۱۵±۸۱/۹۳ و ۴۵۲۶/۸۴±۳۴۱۲۰ بود. لاروهای بدست آمده پس از رسیدن به طول ۸ تا ۱۰ میلیمتر که حدود دو سوم کیسه زرده خود را جذب نموده اند به استخرهای خاکی غنی شده منتقل شدند.

واژگان کلیدی: ماهی سفیدک سیستان، تخم‌ریزی، هورمون ovaprim، هم‌آوری.

مقدمه

ماهی سفیدک (*Schizothorax zarudnyi*, Nikolskii, 1897) (شکل ۱) در منطقه سیستان در مخازن چاه نیمه (Bianco and Banarescu, 1982) وجود دارد و فی‌الواقع متعلق به فون ماهیان تالاب هامون می‌باشد. محل زیست ماهی سفیدک، دریاچه (نظیر هامون)، بسترهای نی‌ایی (نیزارها) و چاله‌ها و گودی‌ها می‌باشد (Annandale and Hora, 1920) و گونه‌ای درون رود کوچ (potamodromous) می-باشد که در ماه‌های اسفند و فروردین در صورت جاری نبودن آب‌های رودخانه ای و عدم امکان مهاجرت از دریاچه، تخم های ماهی دوباره جذب بدن می شوند. بلوغ جنسی پس از چهار سالگی اتفاق می افتد. حداکثر اندازه اووسیت در ماههای اسفند تا فروردین می باشد که در این هنگام دمای آب‌های منطقه سیستان معمولاً ۱۴-۱۸ درجه می‌باشد و شاخص گنادوسوماتیک به بیشترین مقدار یعنی ۹/۶-۷/۹ می رسد (Zabihy *et al*., 2004؛ Zabihi,2006).

این ماهی در گویش محلی " سفیدک" و "وطنی" خوانده می‌شود و بیش از هر ماهی دیگری مورد پسند مردم می‌باشد. در محیط طبیعی این ماهی در دمای ۱۴ تا ۱۸ درجه سانتیگراد و هنگام جریانهای سیلابی رودخانه هیرمند تخم ریزی می‌کند. خشکسالی‌های پی-درپی و ورود گونه های غیربومی مانند کپورماهیان چینی به تالاب هامون باعث شد تا به تدریج از جمعیت این ماهی کاسته شود و هم اکنون پراکنش آن محدود به مخازن چاه نیمه‌های سیستان می‌باشد.

شکل ۱) ماهی مولد سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)

از آنجا که ماهی سفیدک در اسارت به طور طبیعی تخم‌ریزی نمی‌کند، بنابراین جهت حفظ این گونه‌ی ارزشمند باید از تکنیک‌های هورمونی برای القای تخمریزی مصنوعی بهره برد. یکی از مشکلات بسیار اساسی در بحث آبزی‌پروری کپورماهیان بدست آوردن گامتهایی با کیفیت مناسب می‌باشد (Kulikovsky *et al.*,1996; Horvath *et al.*, 1997). به همین دلیل آزمایشات هورمونی زیادی جهت تحریک و القاء رسیدگی گامتها در گونه‌های تجاری کپورماهیان انجام شده است. استفاده از آنالوگ صنعتی (سنتتیک) هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) همراه با ضددوپامین های قوی در القای تخم‌ریزی برخی ماهیان نتایج قابل قبولی به همراه داشته است (Barth *et al.*, 1997). مشکل اشاره شده در تخم‌ریزی مصنوعی کپورماهیان وحشی که اکثراً از محیطهای طبیعی صید می‌شوند، ملموس‌تر است. از آنجا که بسیاری از ذخایر وحشی کپورماهیان منقرض می‌شوند، نیاز به توسعه سریع تکنیکهای تکثیر این ماهیان تحت شرایط کنترل شده وجود دارد.

براساس تجارب بدست آمده از تخم سراهای کپورماهیان به خصوص در مورد گونه های وحشی، یکی از مشکلات اصلی عدم انجام اوولاسیون می‌باشد (Kucharczyk, 2002). روش‌های مختلفی برای القای تخم‌ریزی مصنوعی ماهیان بکار رفته‌اند. از بین عصاره هیپوفیز، گنادوتروپین جفت انسانی (HCG)، گنادوتروپین (GTH)، هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) و آنالوگهای GnRH، استفاده از GnRH و آنالوگهای آن نسبت به فرآورده‌های GTH مزایای بیشتری دارند. GnRH قادر است تحریک متوازن‌تری در رخدادهای تولیدمثلی ایجاد نموده و ارتباط متقابل بهتری بین این رخدادها و سایر اعمال فیزیولوژیکی ایجاد کند. این کار بطور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق آزادسازی سایر هورمون‌های ضروری جهت رسیدگی نهایی موفق اووسیت و تخمریزی در ماهیان انجام می-شود (Zohar and Mylones, 2001). هورمون آزادکننده گنادوتروپین(GnRH) محرک اصلی آزاد شدن هورمون محرک فولیکول (FSH=GTHI) و هورمون آزاد کننده (LH=GTHII) در ماهیان استخوانی می‌باشد (Van Der Kraak *et al.*,

1998). علاوه بر نقش تحریک کنندگی هیپوتالاموس که به آن اشاره شد، در ماهیان استخوانی هیپوتالاموس نقش دیگری هم دارد که کنترل یا بازدارندگی ترشح LH می‌باشد. این فاکتور بازدارنده ترشح گنادوتروپین، دوپامین نامیده می‌شود (Peter *et al.*,1986). دوپامین در بسیاری از ماهیان استخوانی مانند طلاماهی[11] (Peter *et al.*,1991)، کپور معمولی[12] (Billard *et al.*,1983)، مارماهی اروپایی[13] (Dufour *et al.*,1988)، گربه ماهی[14] (De Leeuw *et al.*,1986) و تیلاپیا[15] (Levavi-Sivan *et al.*,1995) مستقیماً مانع آزاد شدن LH می‌گردد. معمولاً رسیدگی نهایی اووسیت و تخم‌ریزی در این گونه‌ها بعد از تیمار آنها با ترکیبی از GnRH و یک ضد دوپامین حاصل می‌گردد.

با توجه به اهمیت تولید بچه ماهی این گونه جهت حفظ ذخایر طبیعی و در آینده پرورش آن، ارائه بیوتکنیک تکثیر مصنوعی امری ضروری می‌باشد که در این مطالعه به آن پرداخته می‌شود.

مواد و روش کار

تعداد ۱۲ قطعه مولد ماده (با میانگین وزنی و طولی،به میزان ۱۰۸/۸۴±۱۳۷۵گرم و ۱/۲۶±۵۰/۶۷سانتیمتر) و ۱۵ قطعه مولد نر با وزن تقریبی ۱۷/۶ ± ۶۳۲ گرم از چاه نیمه های سیستان توسط تور گوشگیر صید و به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی زهک (سیستان) منتقل و با شرایط استخرهای پرورشی سازگار شدند. در بهمن ماه همزمان با شروع فصل رسیدگی جنسی، مولدها به طور مداوم مورد بررسی قرار گرفتند و مولدهای ماده ای که دارای شکم برآمده، منفذ تناسلی قرمز و برجسته و ماهیان نری که یا در روی پوزه آنها برجستگی های جنسی با دست قابل لمس بود و یا با فشار ملایم به شکم مقداری اسپرم از آنها خارج می شد از استخر خاکی پرورشی انتخاب و به سالن تکثیر منتقل شدند. ماهیان نر و ماده در سالن تکثیر وزن کشی و علامت‌گذاری شده و در حوضچه های مجزا به مدت ۲۴ ساعت جهت سازگاری با شرایط سالن تکثیر و رفع استرس نگهداری شدند.

در این تحقیق برای انجام آزمایشات از هورمون Ovaprim استفاده شد. هر میلی لیتر از این هورمون دارای ۲۰ میکروگرم آنالوگ GnRH آزادماهیان و ۱۰ میلی گرم ضد دوپامین دامپریدون (Domperidone) بود. ماهیان در هنگام دستکاری (علامتگذاری، تزریق هورمون، بررسیهای پس از آن و تخم کشی) با استفاده از عصاره‌ی گل میخک بیهوش گردیدند. مولدهای ماده در چهار نوبت به ترتیب با دوزهای ۰/۲، ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند که فواصل زمانی بین تزریق‌های اول تا سوم ۲۴ ساعت و فاصله زمانی بین تزریق سوم و چهارم ۱۲ ساعت بود.

ماهیان نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها با دوز ۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن فقط در یک مرحله تزریق شدند. سپس ماهیان نر و ماده به یک حوضچه گرد واقع در سالن تکثیر منتقل شدند. جریان ملایم آب به‌صورت مدور برقرار گردید و برای جلوگیری از بیرون پریدن ماهیان روی حوضچه با توری پوشانده شد. بعد از تزریق مرحله دوم ماهیان هرچند ساعت بررسی می شدند.

11-*Carassius auratus*
12-*Cyprinus carpio*
13-*Anguilla anguilla*
14-*Claris gariepinus*
15-*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*

بر اساس تغییرات مشاهده شده در ظاهر مولدها مانند شل شدن شکم و بیرون آمدگی منفذ تناسلی زمان بررسی کوتاهتر (تا ۴ ساعت) می گردید. ماهیانی که اوولاسیون در آنها اتفاق افتاده بود و تخم با فشار اندک از بدن آنها خارج می‌شد انتخاب و با روش لقاح خشک تخم‌گیری (حجم تخم خشک اندازه گیری می-گردید) و لقاح انجام گرفت. رفع چسبندگی به مدت نیم ساعت با آب معمولی (آب سالن تکثیر) انجام و سپس تخم‌ها به انکوباتورهای ویس منتقل و تا مرحله چشم زدگی در این انکوباتورها نگهداری شدند. در پایان مرحله چشم زدگی شمارش تخم های چشم زده صورت گرفته و درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده تعیین شد. تخم‌ها از مرحله چشم زدگی وارد تراف شده و تا مرحله جذب کیسه زرده در این انکوباتورها قرار داشتند. در پایان درصد تبدیل تخم چشم زده بواسطه تعداد لارو بدست آمده، تعیین شد.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش دهم استفاده شد.

نتایج:

کیفیت ظاهری تخمک بدست آمده خوب و تخم کشی راحت و آسان مولدها و خالی شدن کامل شکم حاکی از اوولاسیون نسبتاً کامل آنها بود. تخم ها در دمای ۱۷/۳ درجه سانتیگراد پس از ۱۳۵ ساعت به مرحله چشم زدگی رسیده، سپس تخم های چشم زده به ترافهای کالیفرنیایی منتقل شدند. تخم گشایی در دمای ۱۸/۳ تا ۱۸/۵ درجه سانتیگراد پس از حدود ۲۴ تا ۴۸ ساعت کامل شد. سینی های تراف برداشته شده و تعداد تخم های مرده هر مولد شمارش و براساس آن میزان لارو حاصل از هر مولد شمارش شد.

بحث:

در این تحقیق موفقیت تخم‌ریزی که با شاخص ماهیان تخم‌ریزی کرده و نسبت تخم‌ریزی بدست آمده ۸۳ درصد بود که از هورمون ovaprim استفاده شد. این هورمون صنعتی ترکیبی از GnRH آزادماهیان و ضد-دوپامین دامپریدون بوده است (به ترتیب ۲۰ میکروگرم و ۱۰ میلی گرم در هر میلی لیتر). آنالوگهای GnRHa حاوی ضد دوپامین‌های قوی، معمولاً در تحریک گونه-های وحشی و پرورشی بسیار موثر هستند (Kulikovsky et al., 1996, Barth *et al*., 1997). در کپورماهیان، عمل بازدارندگی دوپامین بر ترشح LH بسیار قوی است و استفاده از داروهای ضد دوپامینی به صورت ترکیبی با آنالوگهای GnRH جهت القای اوولاسیون مولدها ضروری است (Peter *et al*.,1986; Zohar and Mylonas, 2001; Mikolajczyk *et al*., 2003). استفاده از داروهای ضد دوپامینی برای تقویت عمل تحریک کنندگی GnRH یا آنالوگهای آن و القای اوولاسیون در ماهی، روشی معروف و متداول در آبزی پروری سراسر دنیا (Peter *et al*., 1986; Peter and Yu, 1997) بویژه آسیا و اروپای مرکزی می‌باشد. از سالهای نخست دهه ۱۹۸۰ که پدیده بازدارندگی دوپامینی ترشح گنادوتروپین در ماهی (Chan *et al*.,1984) کشف شد تاکنون، گزارش های زیادی در زمینه استفاده از آنالوگ‌های مختلف GnRH و داروهای مختلف ضددوپامینی در القای نهایی رسیدگی جنسی و تخم‌ریزی گونه‌های بسیار متعددی از ماهیان منتشر شده است (Peter *et al*.,1986a; Sokolowska et al.,1988; Lin et al.,1988). براساس تحقیقات گسترده بر روی کپورماهیان، Peter و همکاران (1988) روشی موسوم به روش "لینپه" را تعریف نمودند که در این روش آنالوگ LH-RH با یک ضددوپامین ترکیب می‌شود. ovaprim بر اساس همین روش ساخته شده است. Nandesha و همکاران (1990b) پاسخ مثبت مریگال به ovaprim با دوز ۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم را گزارش دادند که نشان دهنده توانایی این دارو برای القای تخمریزی است. دوز هورمونی توصیه شده برای کپور ها ۰/۳ تا ۰/۴

میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم می‌باشد (Nandeesha *et al.*,1993).

درصد لقاح معمولاً نشان‌دهنده درصد تخم‌های لقاح یافته می‌باشدکه براساس درصد تخم‌های دارای جنین محاسبه می‌گردد و به‌همین منظور از تخم‌های شناور درون انکوباتورها نمونه برداری می‌شود. با اینحال، در برخی از ماهیان مانند توربوت[16] و هالیبوت اطلس[17] درصد لقاح از شمارش تخمهای در حال رشد و نمو جنینی که در مرحله ۸ سلولی هستند با کسر تخم های غیرشناور بدست می‌آید (Kjorsvik *et al.*, 2003, Brown *et al.*, 2006). با توجه به اینکه دوره تخم-گشایی در ماهی سفیدک طولانی (۱۴۰ تا ۱۷۰ ساعت) می‌باشد و در تمام این مدت احتمال مرگ تخم‌ها به علل مختلف وجود دارد و از طرفی نمونه برداری و شمارش تخم های لقاح یافته درون انکوباتورها بازگو کننده تخمهایی که در نهایت چشم زده و تبدیل به لارو می شدند نیست، در مرحله چشم زدگی، درصد تخم خشکی که تبدیل به چشم‌زده شده اند، تعیین شد. در واقع تخمهای مرده و چشم زده به راحتی قابل تشخیص و تفکیک بودند و بنابراین معیار خوبی از نتیجه لقاح می باشد(جدول ۴).

Basu و همکارانش (2000) کارایی غده هیپوفیز و ovaprim را به عنوان مواد القاءکننده در ماهی *claris batrachus* مطالعه کردند. آنها اظهار نمودند که استفاده از ovaprim تاثیر بهتری از نظر درصد لقاح و تخم گشایی دارد. به‌طوریکه در این ماهی القاء با استفاده از ovaprim باعث ٪۸۰ لقاح و ٪۶۰ تفریخ تخم ها شد، در حالیکه القا با استفاده از عصاره‌ی غده‌ی هیپوفیز باعث ٪۴۵ لقاح و ٪۲۵ تخم گشایی تخم ها گردید (Basu *et al.*,2000). اشکال مختلفی از GnRHa که گاهی از منابع مختلفی مانند پستانداران، ماهی و جوجه بدست می‌آید وجود دارند که فعالیت های متفاوتی را بروز می‌دهند.

در مورد حجم اسپرم نیز مشخص شد که حجم اسپرم ماهی سفیدک در این تحقیق پس از دریافت هورمون افزایش یافت، به طوریکه قبل از دریافت هورمون خروج مایع اسپرمی از بدن به سختی و به میزان اندکی صورت می گرفت ولی پس از دریافت هورمون فشار بسیار ملایم شکم ماهی منجر به خروج مقدار قابل توجهی مایع اسپرمی شد. حجم اسپرم جمع‌آوری شده از ماهی سوف اوراسیایی (*Perca fluvaitilis* L.) (Kucharczyk *et al.*,1998)، سوف زرد (Dabrowski *et al.*,1994) و کپور معمولی هم پس از القاء بوسیله هورمون به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است.

افزایش یافتن حجم و کیفیت اسپرم نه تنها برای تکثیر مصنوعی هرگونه در شرایط هچری بلکه برای هرنوع برنامه بازسازی ذخایر مانند ایجاد بانک ژنی یا انجمادسازی اسپرم مهم می باشد (Glogowski *et al.*,1997). البته به نظر می رسد که تاثیرات کمی و کیفی هورمون ها بر اسپرم این ماهی نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری دارد.

نتیجه گیری:

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که امکان القاء مؤثر تولیدمثل کنترل شده ماهی سفیدک با بکار بردن القای هورمونی مناسب وجود دارد. همچنین این مطالعه مؤید مناسب بودن Ovaprim برای تحریک تولیدمثل ماهی سفیدک می‌باشد. زیرا این هورمون از مزایای متعددی برخوردار است: با توجه به محدود بودن تعداد مولدهای ماهی سفیدک، هورمونی برای القای تخم‌ریزی مناسب‌تر می‌باشد که بیشترین نسبت تخم‌ریزی، درصد لقاح، تولید لارو و بطورکلی بالاترین شاخص‌های تولیدمثلی را به‌دنبال داشته باشد.

16-Turbot (*Scophthalmus maximus L.*)
17-Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*)

نتایج این تحقیق حاکی از برخورداری Ovaprim از این مزایا می‌باشد. همچنین هورمون مذکور از قیمت مناسبی برخوردار بوده و تهیه آن نسبتاً آسان می‌باشد. به علاوه هورمون مذکور به صورت محلول آماده مصرف می‌باشد و برخلاف برخی از روش‌های دیگر القای تخم-ریزی مانند تهیه عصاره هیپوفیز از نظر زمانی و نیروی انسانی مقرون به صرفه می‌باشد.

تقدیر و تشکر:

نگارندگان از مدیرکل محترم شیلات سیستان، معاونین، کارشناسان و پرسنل محترم آن اداره کل و مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی سیستان، مهندسان مرتضی جهانتاب، افسانه نوری‌جنگی، رضا ناصحی، مجید مرادی و آقایان ویرانگرد، شیرزایی، دهمرده‌کمک، اسدی، سندگل و سایر عزیزان که در این تحقیق همکاری داشته اند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

جدول ۴: اثر هورمون ovaprim بر برخی پارامترهای تخم‌ریزی ماهی سفیدک

تعداد ماده تزریق شده	تعداد ماده تخم-ریزی کرده	وزن ماده (گرم)	نسبت تخمریزی[1](٪)	هم‌آوری کاری (عدد تخمک)	هم‌آوری نسبی (عدد تخمک) [2]	حجم تخم خشک به ازای هر ماده (ml)	کل حجم تخم خشک (ml)
۱۲	۱۰	۱۳۷۵±۱۰۸/۸	۸۳/۳	۳۹۵۳۱/۲۵±۷۸۰۲/۳۰[a]	۴۷۹۶/۲۶[a] ۲۸۴۱۰/۶۱±	۱۷۲/۵ ± ۲۵/۰۹[a]	۱۷۲۵

وزن ماده، هم‌آوری کاری، هم‌آوری نسبی و حجم تخم خشک بصورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین ارائه شده اند.

۱ نسبت تخمریزی: تعداد ماهیان تخم ریزی کرده پس از تزریق تقسیم بر تعداد کل ماهیان تزریق شده.

۲ هم‌آوری نسبی: تعداد کل تخمها تقسیم بر وزن بدن ماهی ماده بر حسب کیلوگرم

ادامه جدول ۴: اثر هورمون ovaprim بر پارامترهای مختلف تخم و لارو ماهی سفیدک

تعداد تخم خشک (عدد در هر میلی لیتر)	قطر تخم خشک (میلی لیتر)	دوره پنهان (ساعت)	تبدیل تخم خشک به چشم زده (٪)	تبدیل تخم چشم زده به لارو (٪)	لارو بدست آمده از هر ماده (عدد)
۲۷۵	۱/۷۲ ± ۰/۱۰۴	۳۶/۲۰ ± ۳/۷۷[a]	۸۸/۹۷±۰/۹[a]	۸۱/۹۳ ± ۱/۱۵[a]	۳۴۱۲۰ ± ۴۵۶۲/۸۴[a]

منابع

Annandale, N. and Hora, S. L. 1920. The fish of Seistan. Records of the Indian Museum, 18:151-203, pls. XV-XVII (includes:- Appendix. Note on the fisheries of the delta of the Helmand and on the use of shaped rafts of bulrushes in India and Seistan, by N. Annandale).

Aquculture Development in Sistan-Baluchestan Project financed by Italian Cooperation, 2006. Technical report, artificial reproduction of *Schizothorax zarudnyi*, methodological approach, Zabol/Zahedan, Italian Ministry of Foreign Affairs.

Barth T., Kouril J., Hamackova J., Velek J., Barthova J., Hulowa I., Jezek, J. and Pospisek J. 1997. Inducovulation and artificial stripping in tench *(Tinca tinca L.) and other freshwater* fish species by means of GnRH analogues. Czech experiences 1980-1996. *A minireview. Pol. Arch. Hydrobiol*., 44: 183-190.

Basu D., Rana G.C., Mondal B.K., Sengupta, K.K. and Dhar, P.K. 2000. Studies on the comparative efficacy of ovaprim, HCG and Piscine pituitary gland in Induced Breeding of *Clarias batrachus* (Lin). *Fishing Chimes*, 19 (10, 11): 103-104.

Battaglene, S.C. 1996. Hormone-induced ovulation of sand whiting (*Sillago ciliata*). Asian Fisheries Sci. 9: 169-176.

Battaglene, S.C. and Talbot, R.B. 1992. Induced spawning and larval rearing of snapper, *Pagrus auratus* (*Pisces, Sparidae*), from Australian waters. New Zealand, *J. Marine Freshwater Res*. 26: 179-183.

Battaglene, S.C. and Talbot, R.B. 1994. Hormone induction and larval rearing of mulloway. *Argyrosomus hololepidotus* (Pisces, Sciaenidae). *Aquacult*.126: 73-81.

Battaglene, S.C. and Selosse, P.M. 1996.Hormone-induced ovulation and spawning of captive and wild broodfish of the catadromous Australian bass, *Macquaria novemaculeata* (*Steindachner*), (*Per cichthyidae*). *Aquacult. Res.* 27: 191-204.

Bianco, P. G. and Banarescu, P. 1982. A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes). *Cybium*, 6(2):75-96.

Billard, R., Alagarswami, k., Peter, R.E. and Breton, B. 1993. Potentialisation par le pimozide des effects du LHRH-A sur la sécrétion gonadotropine hypophysaire, l'ovulation et la spermition chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). C. R. *Acad. Sci. (Paris)* 296: 181-184.

Blaxter, J.H.S. 1969. Development eggs and larvae, in *Fish Physiology*, Hoar, W.S. and Randall, D.J., Eds., Academic Press, New York, 177.

Bromage, N.R. and Roberts, R.J 1994. Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell Science, Oxford, p. 424.

Brown, N.P., Shields, R.J. and Bromage, N.R. 2006. The influence of water temperature on spawning patterns and egg quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L*.), *Aquaculture*, 261, 993.

Cabrita, E., Robles, V. and Paz Herráez, p. 2008. Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species. Taylor & Francis Group. P. 574.

Chen, Z. and Chen, Y. 2001. Phylogeny of the specialized Schizothoracinae Fishes (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). *Zoological studies* 40(2): 147-157.

Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ramseyer, L., Culver, D. and Kestemont, P. 1994. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (Perca flavercens). *Aquaculture* 12: 171–180.

De Leeuw, R., Goos, H.J.T.H. and Van Oordt, P.G.W.J. 1986. The dopaminergic inhibition of the gonadotropin-releasing

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A. and Wyszomirska, E. 1998. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using FSH+LH with pimozide or metoclopramide. *Aquacult. Res.* 29:,131–136.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Targonska-Dietrich, K., Wyszomirska, E., Glogowski, J., Babiak, I. and Szabo, T. 2005. Induced spawning in bream (Abramis brama L.) using pellets containing GnRH. *Czech jornal of animal science* 50: 89-95.

Kulikovsky, Z., Martin, F.J.B. and Yaron, Z. 1996. A comparison of two spawning-inducing agents for common carp. Isr. *J. Aquacult. – Bamidgeh* 48: 108-111.

Levavi-Sivan, B., Ophir, M. and Yaron, Z. 1995. Possible sites of dopaminergic inhibition of gonadotropin release from the pituitary of a teleost fish, tilapia. Mol. *Cell. Endocrinal.* 109: 87-95.

Lin, H.R., Van der Kraak, G., Zhou, X.J., Liang, J.Y., Peter, R.E., Rivier, J.E. and Vale, W.W. 1988. Effects of [D-Arg6, Trp7, Leu8, Pro9, Net]-LHRH (sGnRH-A) and [D-Ala6, Pro9, NEt]-LHRH (LHRH-A) in combination with pimozide or domperidone on gonadotropin release and ovulation in the Chinese loach and common carp. Gen. Comp. *Endocrinol*. 69: 31–40.

Mikolajczyk, T., Chyb, J., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Enright, W.J., Epler, P., Filipiak, M. and Breton, B. 2003. Attempts to induce an LH surge and ovulation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) by differential application of a potent GnRH analogue, azagly-nafarelin, under laboratory, commercial hatchery and natural conditions. *Aquaculture* 223: 141–157.

Nandeesha, M.C., Bhandraswami, G., Patil, J. G. Vargheset, J., Kamal, S. and Keshavanath, P. 1993. Preliminary results on induced spawning of pond varied mahseer, *Tor Khudri J. Aqua. Trop*. 8: 55-60.

hormone induced gonadotropin release: an in vitro study with fragments and cell suspensions from pituitaries of African catfish, *Claris gariepinus* (Burchell). Gen. Comp. *Endocrinal*. 63: 171-177.

Dufour, S., Lopez, E., Le Menn, F., Le Belle, N., Baloche, S. and Fontaine, Y.A. 1988. Stimulation of gonadotropin release and ovarian development by administration of gonadoliberin agonist and of dopamine antagonist in female silver eel pretreated with estradiol. Gen. Comp. *Endocrinal*. 70: 20-30.

Glogowski, J., Babiak, I., Kucharczyk, D. and Luczynski, M. 1997. The effect of individual male variability on cryopreservation of bream (*Abramis brama* L.) sperm. Pol. *Arch. Hydrobiol*. 44: 281–285.

Hearn, M.T.W. and Gomme, P.T. 2000. Molecular architecture and biorecognition processes of the cystine knot protein superfamily: part I. The glycoprotein hormones, *J. Mol. Recog.* 13: 223.

Kjørsvik, E., Hoehne-Reitan, K. and Reitan, K.I. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus L.*). *Aquaculture* 227: 9-13.

Kucharczyk, D. 2002. Artificial spawning and androgenesis of chosen cyprinids (in Polish). Dissertations and monographs 63, Wyd. UWM, Olsztyn. 80 pp.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Luczynski, M., Glogowski, J., Babiak, I. and Wyszomirska, E. 1997a. Induced spawning in bream. *Abramis brama* (L.), using carp pituitary extract and HCG. *Aquacult. Res*., 28: 139-144.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A. and Wyszomirska, E. 1997b. Artificial spawning in bream (*Abramis brama* L.). Pol. *Arch. Hydrobiol*. 44: 201-205.

Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A. and Wyszomirska, E. 1997c. Induced spawning in rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.*). Pol. Arch. Hydrobiol*. 44: 207-211.

Sokolowska, M., Mikolajczyk, T., Epler, P., Peter, R.E., Piotrowski, W. and Bieniarz, K. 1988. The effects of reserpine and LHRH or salmon GnRH analogues on gonadotropin release, ovulation and spermiation in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Reprod. Nutr*. Dev. 28: 889–897.

Van Der Kraak, G., Chang, J.P. and Janz, D.M. 1998. Reproduction. In: Evans, D.H. (Ed.), The physiology of Fishes. CRC Press, 465-488.

Zabihi, M. 2006. Some aspects of reproductive biology of *Schizothorax zarudnyi*. Iranian Fisheries Research Organization, Agriculture Research and Education Organization, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Zabol. http://en.ifro.ir (abstract).

Zabihy, M., Pourkazemi, M., Kazemi, R. and Kamalai, A. 2004. Determination spawning season and changes in reproductive cycle of *Schizothorax zarudnyi* and condition factor in Hamoon Lake. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4):41-56. In Farsi.

Zarski, D., Kucharczyk, D., Targonska, K., Jamroz, M., Krejszeff, S. and Mamcarz, A. 2009. Application of ovopel and ovaprim and their combination in controlled reproduction of two reophilic cyprinid fish species. *Pol. J. Natur. Sc*. 24(4): 235-244.

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

Penaz, M. and Gajdusek, J. 1979. Early development of bream, *Abramis brama* from the water reservoir Mostiste, CSSR. *Folia Zool*. 28: 347–360.

Peter, R.E. and Yu, K.L. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Rev. Fish Biol. Fish.* 7: 173– 197.

Peter, R.E., Sokolowska, M., Nahorniak, C.S., Rivier, J.E. and Vale, W.W. 1986. Comparison of [D-Arg6, Trp7, Leu8, Pro9 NEt]-luteinizing hormone-releasing hormone (sGnRH-A), and [D-Ala6, Pro9 NEt]-luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH-A), in combination with pimozide, in stimulating gonadotropin release and ovulation in the goldfish, Carassius auratus. *Can. J. Zool*. 65: 987–991.

Peter, R.E., Chang, J.P., Nahorinak, C.S., Omeljaniuk, R.J., Sokolowska, M., Shih, S.H. and Billard, R. 1986. Interactions of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. Rec. Prog. *Horm. Res*. 42: 513-548.

Peter, R.E., Trudeau, V.L., Sloley, B.D., Peng, C. and Nahorinak, C.S. 1991. Actions of catecholamines, peptides and sex steroids in regulation of gonadotropin-II in the goldfish. In: Scott A.P., Sumpter J.P., Kime D.E., Rolfe M.S. (Eds.), Proc. 4th Symp. Reprod. Physiol. Fish. Fish Symp., vol. 91, p. 30. Sheforld.

Pierce, J.G. and Parsons, T.F. 1981. Glycoprotein hormones: structure and function, Annu. Rev. *Biochem*. 50: 465.

Biotechnics of artificial propagation in *Schizothorax zarudnyi*

A. Rahdari[1], A. Gharaei[1], M Ghaffari[1], T. Najafi[2]

1- Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
Rahdari57@yahoo.com

Abstract

The snow trout (*Schizothorax zarudnyi*) is a valuable and commercial species belong to cyprinidae and native to Sistan basin. The present study evaluated the induce spawning in snow trout using synthetic hormones (ovaprim) in order to achieve biotechnic of artificial propagation. Wild broodstocks (females and males: 1375 ± 108.84, 632 ± 17.6 g respectively) selected from Chanimeh reservoirs (Sistan, Iran). The females treated with quadruplet injections (0.2, 0.5, 0.5 and 0.3 ml Ovaprim/kg B.W). The distance between first, second and third injections were 24 h and between third and fourth was 12h. The males were injected at the time of the second females' injections (with 0.3 ml Ovaprim/kg B.W.) The results showed spawning rate and mean working fecundity were 83.3% and 39531±7802, respectively. The latency period (time between first injection and ovulation) was 60.15±12.05 h, incubation period was 120 to 140 h (depend on water temperature (14 to 18.5º C)). Relative fecundity, volume of dry egg (ml), number of dry egg per each milliliter, conversion percentage of dry egg to eyed egg, conversion percentage of eyed egg to larvae and number of larvae from each female was 28410.61 ± 4796.26, 172.5 ± 25.09, 275, 88.97 ± 0.9, 81.93 ± 1.15 and 34120 ± 4526.84, respectively.

Obtained Larvae after reaching a length of 8 to 10 mm, who had absorbed their yolk sac for about two-thirds were transferred to fertilized earthen ponds.

Key words: *Schizothorax zarudnyi*, artificial reproduction, Synthetic hormones, Sistan