

زی فن تکثیر مصنوعی ماهی سفید (*Rutilus frisii*) فرم پاییزه دریای خزر

علیرضا ولی پور^{*}، علی اصغر خانی پور^۱

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۶۱

تاریخ پذیرش: ۱۰ آبان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱ تیر ۱۳۹۴

چکیده

ماهی سفید مهمترین ماهی استخوانی در منطقه جنوبی دریای خزر بوده و در سالیان اخیر جمعیت فرم پاییزه آن به شدت کاهش یافته و در خطر انقراض قرار گرفته است. این تحقیق به منظور دستیابی به زی فن تکثیر مصنوعی و احیای نسل فرم پاییزه ماهی سفید در دریای خزر به انجام رسید. مولدین از کانال کشتیرانی گمرک تا ورودی رودخانه نهنک روگا در تالاب انزلی صید گردیدند. مولدین جهت سازگاری و رسیدگی کامل گنادهای جنسی در دو شرایط شامل قفس های شناور مستقر در تالاب انزلی و استخرهای خاکی نگهداری شدند. نسبت نرها به ماده‌ها ۱ به ۱/۴ و حداقل و حداکثر وزن مولدین ماده به ترتیب ۱۴۵۰ و ۳۱۰۰ گرم با میانگین ۱۸۵۰ و مولدین نر به ترتیب ۶۷۰ و ۱۹۰۰ با میانگین ۱۱۶۵ گرم ثبت شد. مولدین نر و ماده به ترتیب با میزان ۲-۳ و ۴-۵ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن با غده هیپوفیز تزریق گردیدند. میانگین هم آوری مطلق، کاری و نسبی مولدین به ترتیب 16809 ± 88565 ، 14008 ± 73805 و 12056 ± 48670 عدد بود. لقاح به روش خشک انجام شد، میانگین درصد تخم‌های لقاح یافته $3/2 \pm 97/3$ درصد و طول دوره انکوباسیون در دمای بین ۱۴ تا ۱۶ درجه سانتی گراد ۷ تا ۱۰ روز به طول انجامید. لاروها به صورت فوق متراکم (۳ میلیون در هکتار) در استخرهای خاکی ۵۰۰ متر مربعی غنی شده از موجودات زنده غذایی انتقال یافته و با استفاده از غذای دستی به مدت ۳ تا ۴ ماه تغذیه شده و در اندازه‌های ۱ تا ۲ گرمی و به تعداد ۱/۸ میلیون عدد جهت بازسازی ذخایر به تالاب انزلی رهاسازی شدند.

کلمات کلیدی: ماهی سفید، فرم پاییزه، زی فن، تکثیر مصنوعی، دریای خزر.

مقدمه

ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزر مهمترین ماهی استخوانی و با توجه به ارزش غذایی بالا، کیفیت عالی گوشت و لذیذ بودن، مورد توجه ساحل نشینان مردم کشور ما می باشد. این ماهی از خانواده کپور ماهیان و گونه ای منحصر بفرد در دریای خزر است (عباسی و همکاران، ۱۳۷۸). پراکنش عمده ماهی سفید در دریای خزر، مناطق جنوبی و جنوب غربی این دریا است و به طور کلی بیشترین تراکم ذخایر و صید ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزر است (Valipour and Khanipour, 2009).

ماهی سفید پس از مهاجرت به دریا، مراحل تغذیه و رشد خود را در دریا سپری می نماید و پس از رسیدن به سن بلوغ جنسی برای تولید مثل و تکثیر طبیعی وارد محیط های آب شیرین تالاب انزلی و رودخانه های منتهی به دریای خزر می گردد (رضوی، ۱۳۷۴). مطالعات نشان داد که این ماهی دارای دو فرم مهاجرتی پائیزه و بهار می باشد (Valipour and Khanipour, 2009).

ماهی سفید مهاجر پائیزه، در صورت مناسب بودن شرایط معمولاً از اوایل مهرماه از دریا و از طریق کانال کشتیرانی، شروع به مهاجرت به تالاب انزلی می کند، در این مرحله ابتدا ماهیان نر و سپس ماده ها وارد می گردند. این گروه معمولاً دوره ی زمستان گذرانی را در گستره ی آبی تالاب به خصوص تالاب مرکزی، ابتدای تالاب غرب و منطقه شیجان در تالاب شرق در مناطق عمیق سپری می کنند و سپس با گرم تر شدن هوا، در اواخر زمستان به رودخانه هایی که پوشش گیاهان حاشیه ای مثل نی و لوئی دارند مهاجرت می نمایند و بروی آنها عملیات تکثیر را به انجام می رسانند. به همین

دلیل این فرم از ماهی سفید را گیاه دوست یا فیتوفیلوس می گویند. اما در حال حاضر جمعیت اصلی ماهی سفید در دریای خزر متعلق به فرم بهار است که بیش از ۹۸ درصد ذخایر را تشکیل می دهد (رضوی صیاد، ۱۳۷۴). در حال حاضر رهاسازی سالانه میلیون ها عدد بچه ماهی سفید فرم بهار نقش اساسی در احیاء ذخایر آن داشته و صید بیش از ۹ هزار تن از آن توسط بیش از ۹ هزار نفر صیاد بیش از ۶۰ درصد کل صید ماهیان استخوانی را به ماهی سفید فرم بهار اختصاص داده است (Valipour et al., 2009). درحالی که به جهت عدم تکثیر مصنوعی و نداشتن برنامه بازسازی ذخایر فرم پائیزه، جمعیت این فرم با ارزش از ماهی سفید بر اثر عوامل مختلفی از جمله صید بی رویه، آلودگی های مختلف زیست محیطی و از بین رفتن مکان های مناسب تخم ریزی رو به کاهش شدید نهاده و حتی در خطر انقراض نسل قرار گرفته است (خانی پور و ولی پور، ۱۳۸۹). مطالعات ولی پور و حقیقی (۱۳۷۸ الف و ب) در خصوص بررسی صید ماهیان تالاب انزلی نشان داد که در سالیان اخیر میزان صید این فرم بسیار اندک و ناچیز بوده است.

یکی از مهمترین مشکلات در آبرزی پروری کپور ماهیان به دست آوردن گامت های با کیفیت مناسب است (Horvath et al., 1997). به همین دلیل هورمون های زیادی برای تحریک گامت ها در کپور ماهیان اقتصادی استفاده می شود. یکی از معمول ترین هورمون های به کار برده شده عصاره غده هیپوفیز می باشد (Yaron et al., 1984; Thalathiah et al., 1988). مشکلات اشاره شده برای تخم ریزی مصنوعی در ماهیان وحشی به ویژه صید شده از جمعیت های طبیعی بیشتر است (Kucharczyk et al., 2005).

برای این منظور از ۵ قفس شناور به ابعاد $4 \times 4 \times 2$ متر با چهار چوب فلزی و جنس بدنه ی بافته ی نایلونی بدون گره با اندازه چشمه ۲۰ و ۲۵ میلی متر استفاده شد. این قفس ها در منطقه مناسبی در تالاب انزلی با سرعت جریان آب ملایم، حداقل عمق ۲ متری، اکسیژن محلول بالای ۷ میلی گرم در لیتر، pH حدود ۷/۸ به صورت شناور مستقر شد، و مولدین نر و ماده بر اساس ظاهر تولید مثلی شامل برجستگی های اپیتلیال و اندازه دور شکم و نرمی شکم به نسب ۲ به ۱ به تعداد ۲۴ عدد در هر قفس نگهداری شدند.

ب- نگهداری در استخرهای خاکی

بخشی از ماهیان مولد بلافاصله پس از صید در تالاب انزلی با امکانات مناسب حمل و نقل مولدین به استخرهای خاکی ایستگاه تحقیقات شیلاتی سفیدرود انتقال یافتند و در دو شرایط؛ یکی به تفکیک نر و ماده (با تراکم ۴۰ عدد در ۶ استخر) و دیگری به صورت مختلط با نسبت ۳ به ۲ (نر به ماده) (با تراکم ۵۰ عدد در ۴ استخر) ۵۰۰ متر مربعی نگهداری شدند. مولدین مختلط در انتهای دوره در اوایل اسفند ماه از یکدیگر تفکیک شده و مورد نگهداری قرار گرفتند.

تکثیر مصنوعی مولدین و انکوباسیون

تخم ها

تمامی مولدین نگهداری شده در استخرهای خاکی در اواخر بهمن ماه با توجه به شرایط دمایی، مورد هورمون ترایی به منظور القاء تخم ریزی قرار گرفتند، غده هیپوفیز ماهی کپور به میزان ۳-۲ و ۴-۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن به ترتیب به مولدین نر و ماده (به تعداد ۷۰ عدد) در ناحیه باله سینه ای تزریق شد (Woynarovich and Horváth, 1984). علاوه بر

عموماً، مقالاتی که روش های تخم ریزی مصنوعی کپور ماهیان وحشی را تشریح نماید و به اطلاعات زیست-شناسی و زی فن مراحل تکثیر مصنوعی آنها اشاره کند اندک است (Kucharczyk et al., 1997c; Babiak et al., 2005; Kucharczyk et al., 1998).

در خصوص ماهی سفید فرم پاییزه نیز هیچگونه اطلاعات مدونی در خصوص زیست شناسی تولید مثل و یا زی فن تکثیر مصنوعی آن وجود ندارد و این تحقیق برای اولین بار در این زمینه در کشور به انجام رسیده و با توجه به اهمیت و ضرورت، این پروژه با هدف تعیین بیونرماتیو تکثیر و پرورش ماهی سفید فرم پائیزه و ارائه آن به سازمان شیلات ایران جهت بازسازی و افزایش ذخایر، در پژوهشکده آبرزی پروری آب های داخلی کشور (بندر انزلی) به اجراء درآمد.

مواد و روش ها

صید مولدین

در این تحقیق برای صید مولدین از ابزارهای صید مختلفی شامل تور گوشگیر شناور دو جداره (طول ۳۰ متر، عرض ۳ متر با چشمه ۳ سانتی متر) و تور پیاله ای (طول ۱۰۰ متر، عرض ۴ متر با چشمه ۳ سانتی متر) ستفاده شد. مکان صید مولدین در مسیر اصلی مهاجرت کانال کشتیرانی گمرگ تا ورودی رودخانه نهنگ روگا در تالاب انزلی انتخاب گردید. زمان صید از ۶ صبح الی ۱۷ بعداز ظهر و در یک دوره سه ماهه از ۱۰ مهر ماه لغایت اوایل دی ماه بود.

نگهداری مولدین

الف: نگهداری در قفس های شناور در محیط

طبیعی تالاب

تزریق یک مرحله‌ای در ۱۳ درصد موارد (۹ عدد مولد) تزریق دو مرحله‌ای نیز پس از ۱۰-۱۲ ساعت بعد از تزریق اول انجام گردید. تخم‌ها و اسپرم از طریق فشار دادن ناحیه شکمی با دست خارج شده، لقاح تخم‌ها به روش خشک و نسبت نر به ماده در تکثیر ۱:۱ بود. پس از اضافه کردن آب تخم‌ها آبیگری نموده و برای رفع

چسبندگی تخم‌های آبیگری شده، شستشوی تخم‌ها حدود ۴۵ دقیقه تا یک ساعت به طول انجامید. وزن تخمک (به میلی گرم)، هم آوری مطلق و هم آوری نسبی قبل از لقاح و هم آوری کاری تخم‌ها در مراحل مختلف انکوباسیون اندازه گیری شد (به نقل از ولی پور و عبدالملکی، ۱۳۷۹).

$$\text{وزن خشک تخمدان (گرم)} \times \text{میانگین تعداد در گرم تخمک در سه نمونه} \\ \text{میانگین وزن سه نمونه (گرم)} = \text{هم آوری مطلق (عدد تخم در ماهی)}$$

$$\text{وزن بدن ماهی (کیلوگرم)} / \text{هم آوری مطلق} = \text{هم آوری نسبی (عدد در کیلوگرم وزن ماهی ماده)} \\ (\text{درصد لقاح} \times \text{تعداد کل تخمک‌های استحصال شده} = \text{هم آوری کاری (عدد تخم لقاح یافته)})$$

پرورش لاروها

دو هفته قبل از معرفی لاروها، استخرهای خاکی شخم زده شدند، با آهک به میزان یک تن در هکتار ضد عفونی گشتند و از طریق کوددهی با کود حیوانی (گاوی) به میزان ۱/۵ تن در هکتار غنی سازی گردیدند. غنی شدن استخرهای خاکی از طریق صفحه سکشی تعیین شد. نمونه برداری و بررسی تراکم جمعیتی پلانکتون‌ها با استفاده از منابع (Michael 1990) و Boney (1989) و شناسایی پلانکتونی نیز با استفاده از (Maosen, 1983 ; Krovichinsky and Smirnov, 1993) انجام شد.

۴ تا ۵ روز پس از تخم گشایی لاروها به صورت متراکم و با تراکم ۳ میلیون عدد در هکتار به استخرهای خاکی غنی شده از موجودات غذایی انتقال یافتند و با استفاده از غذای میکروپلت با ۴۰ درصد پروتئین (شرکت مهدانه) به مدت سه ماه تغذیه شدند (جدول ۲). در دوره‌ی پرورش جهت تامین شرایط بهینه از نظر اکسیژن و دما از آب رسانی (آب چاه) و

تخم‌های لقاح یافته پس از آبیگری به میزان حدود یک کیلوگرم در هر انکوباتور ویس با حجم آبی ۸ لیتر کشت شدند. درصد لقاح تخم، درصد تخم چشم زده و درصد تخم گشایی و درصد خروج لارو از تخم در مراحل مختلف دوره انکوباسیون تعیین شد (آذری تاکامی، ۱۳۶۳). پس از تفریخ تخم‌ها، لاروهای حاصله وارد انکوباتورهای ۲۰۰ لیتری زوک شده و با شیر خشک (از نوع BIOMIL 1) به میزان ۳ پیمانه برای هر انکوباتور هر ۳ ساعت در میان تغذیه شدند.

$$100 \times \frac{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخم‌های استحصال شده}} = \text{درصد لقاح (باروری)}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد تخم‌های چشم زده}}{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}} = \text{درصد چشم زدگی}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد کل لاروهای حاصله}}{\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته ذخیره شده}} = \text{درصد تخم گشایی (درصد تفریخ)}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد لارو دارای تغذیه}}{\text{تعداد کل تخم‌های لقاح یافته}} = \text{درصد تبدیل تخم لقاح یافته به لارو با تغذیه}$$

روش‌های استاندارد (AOAC, 1984) اندازه‌گیری شدند.

دمای آب در زمان نگهداری مولدین حداکثر ۱۸ درجه در آبان ماه و حداقل آن ۸ درجه سانتی گراد در اواخر دی ماه بود و در دوره پرورش بچه ماهیان در استخرها از حدود ۱۲ درجه در اسفند به بالای ۳۰ درجه سانتی گراد در تیر و مرداد رسید. میزان اکسیژن محلول در زمان نگهداری مولدین بیش تر از ۷ میلی گرم در لیتر و در دوره پرورش بچه ماهیان بیشتر از ۴ میلی گرم اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری برخی دیگر از عوامل شیمیایی نیز حاکی از وجود شرایط بهینه رژیم شیمیایی در آب استخرها بود (جدول ۱). میزان pH به طور میانگین 7.8 ± 0.3 بوده و از حداکثر ۸/۲ بالاتر نرفته و از حداقل ۷/۵ پائینتر نیامد. میزان نیتريت و آمونیاک با میانگین 0.07 ± 0.028 و 0.11 ± 0.0733 نیز کمتر از آستانه خطر آن بود.

دستگاه‌های هواده (ایرجت) در استخرها استفاده گردید. غذادهی به صورت روزانه در دو نوبت صبح و عصر و در حد سیری انجام گرفت. غذای میکروپلیت در ابتدا به صورت مستقیم و پس از طی مرحله لاروی برای بچه‌ماهیان به صورت خمیری داده شد.

رها سازی بچه ماهیان

بچه ماهیان حاصله از پرورش مصنوعی در استخرهای حاکی پس از تقریباً ۳ ماه و رسیدن به اوزان ۱-۲ گرم با استفاده از پره استخری با چشمه یک سانتی متر صید شده و در اواخر خرداد ماه به تالاب انزلی رها سازی گردیدند.

اندازه‌گیری عوامل فیزیکی و شیمیایی

در تمامی مراحل انجام این تحقیق از زمان صید مولدین تا تکثیر و انکوباسیون تخم‌ها و پرورش بچه ماهیان دمای آب و برخی از عوامل شیمیایی نظیر pH، نیتريت، آمونیاک، نیترات، فسفات با استفاده از

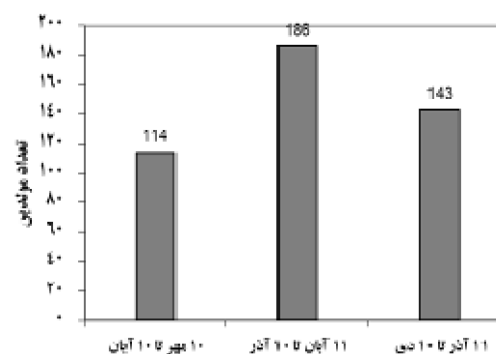
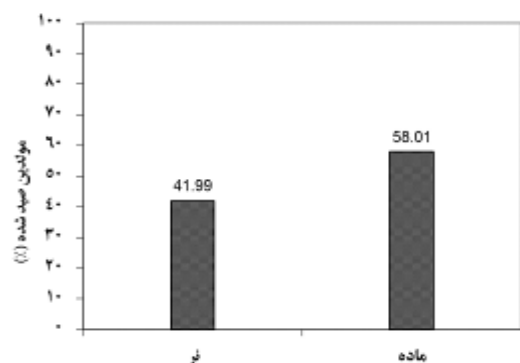
جدول ۱: عوامل شیمیایی آب استخرهای پرورشی بچه‌ماهیان سفید پائیزه

شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب	pH	NO ₂ (mg/l)	NO ₃ (mg/l)	NH ₄ (mg/l)	PO ₄ (mg/l)
حداکثر	۸/۲	۰/۰۹۸	۰/۰۷۴	۰/۸۹۰	۰/۱۸۴
حداقل	۷/۵	۰/۰۰۳	۰/۰۱۰	۰/۶۰۷	۰/۰۴۳
میانگین	۷/۸	۰/۰۲۸	۰/۰۴۰	۰/۷۳۳	۰/۱۰۳

پائیزه صید شد که جنس ماده غالب بوده و نسبت نرها به ماده‌ها ۱ به ۱/۴ به دست آمد (شکل ۲). اندازه طولی و وزنی مولدین صید شده در جدول ۳ و رابطه بین طول و وزن به تفکیک جنس در شکل‌های ۳ و ۴ آورده شده است.

نتایج

اولین صید مولدین در تاریخ ۱۰ مهرماه صورت گرفت. به تدریج بر میزان مهاجرت و صید مولدین افزوده شد، حداکثر میزان صید در اواخر آبان تا اواسط آذر بود. صید مولدین فرم پاییزه تا ۱۰ دی ماه ادامه یافت و پس از آن متوقف شد (شکل ۱). در دوره تقریباً ۴ ماهه صیادی ۴۴۳ مولد نر و ماده ماهی سفید



شکل ۱: فراوانی صید مولدین ماهی سفید پائیزه در طول دوره صید شکل ۲: درصد فراوانی مولدین ماهی سفید پائیزه به تفکیک جنسیت

جدول ۲: مواد تشکیل دهنده جیره غذایی مورد استفاده برای تغذیه لاروها

ردیف	مواد غذایی	واحد	مقدار
۱	ماده خشک	درصد	90 ± 2
۲	پروتئین خام	درصد	40 ± 2
۳	چربی خام	درصد	> 12
۴	فیبر خام	درصد	> 5
۵	خاکستر	درصد	> 13
۶	کربوهیدرات	درصد	30 ± 2
۷	انرژی ناخالص (خام)	Kcal/kg	4200 ± 100
۸	اسید لینولئیک	درصد	۱/۱
۹	کلسیم	درصد	۲-۳
۱۰	فسفر	درصد	۱/۵-۲
۱۱	پتاسیم	درصد	۱
۱۲	سدیم	درصد	۱
۱۳	آرژنین	درصد	۳/۵
۱۴	لیزین	درصد	۳/۸
۱۵	متیونین	درصد	۱/۳
۱۶	سیستین	درصد	۱/۳
۱۷	ویتامین A	IU/kg	۳۵۰۰
۱۸	ویتامین E	IU/kg	۳۵۰
۱۹	ویتامین D	IU/kg	۲۸۰۰
۲۰	تیامین (B1)	Mg/kg	۱۲
۲۱	ریبوفلاوین (B2)	Mg/kg	۲۲
۲۲	پیریدوکسین (B6)	Mg/kg	۱۵
۲۳	سیانوکوبالامین (B12)	Mg/kg	۰/۰۳
۲۴	کولین	Mg/kg	۴۸۰۰
۲۵	ازت آزاد	Mg/100g	> 60

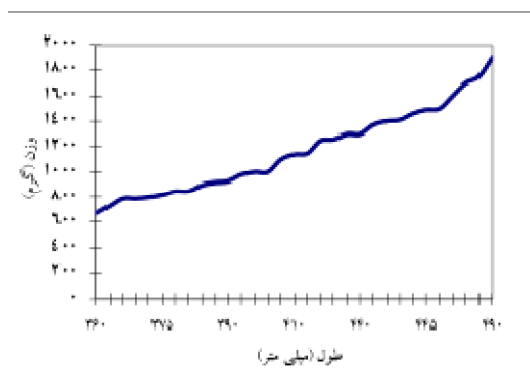
منبع غذا: شرکت مهدانه، جاده کرج، کلاک جنب اتوبان، شرکت خوراک دام و طیور

نتایج نشان داند که ماهی سفید فرم پائیزه در هر دو شرایط (تالاب و استخر خاکی) به رسیدگی کامل جنسی دست یافتند و از نظر زمان رسیدگی جنسی و مرحله تولید مثلی تفاوتی با یکدیگر ندارند. مولدین بر اساس زمان صید از تالاب انزلی، به مدت ۲ ماه (از دی

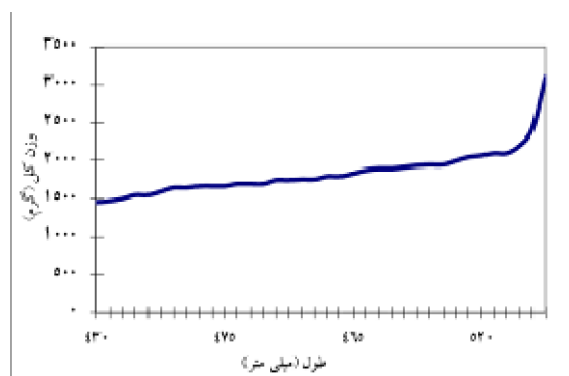
تا اسفند) تا ۴/۵ ماه (از اواسط مهر تا اسفند) در استخرهای خاکی نگهداری شدند. تکثیر مصنوعی مولدین فرم پائیزه از اوایل اسفند شروع شده و حداکثر آن در اواسط اسفند اتفاق افتاد.

جدول ۳: اندازه طولی و وزنی مولدین صید شده

اندازه مولدین فرم پائیزه		وزن مولدین (گرم)		طول مولدین (میلی متر)	
میانگین $\pm$ انحراف معیار	مولدین ماده	مولدین نر	مولدین ماده	مولدین نر	مولدین نر
	$1850 \pm 304/2$	$1165 \pm 332/6$	$478/5 \pm 33/4$	$414/7 \pm 37$	
حداکثر	۳۱۰۰	۱۹۰۰	۶۲۵	۴۹۰	
حداقل	۱۴۵۰	۶۷۰	۴۳۰	۳۶۰	



شکل ۴: رابطه طول و وزن ماهیان سفید مولد نر فرم پائیزه



شکل ۳: رابطه طول و وزن ماهیان سفید مولد نر فرم پائیزه

نتایج نشان دادند که تقریباً ۱۰ درصد مولدین در زمان تکثیر در اوایل اسفند فوق رسیده شده و حدود ۸ درصد هم اصلاً به رسیدگی جنسی نرسیدند (شکل ۵). در بین ۶۹ عدد مولد ماده‌ی هورمون‌تراپی شده ۵۹/۴ درصد مولدین در یک مرحله تزریق و پس از ۱۰-۱۲ ساعت، حدود ۱۳ درصد آنها نیز در دو مرحله پس از تزریق و بعد از ۷ تا ۸ ساعت پس از تزریق دوم غده هیپوفیز به آمادگی لازم جهت تخم‌ریزی را یافتند، و حدود ۲۷/۶ درصد از مولدین ماده نیز به تزریق

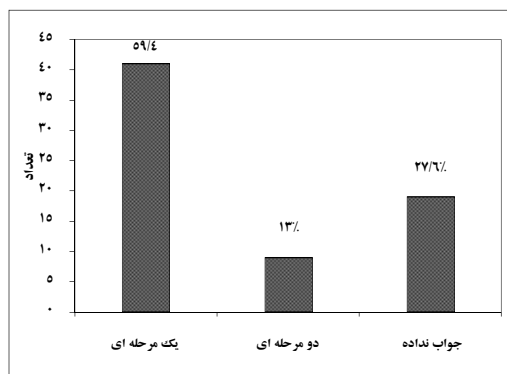
هورمون پاسخ مثبت ندادند (شکل ۶). بیش از ۱۰ درصد مولدین نر نیاز به تزریق هورمون نداشته و مستعد اسپرم‌گیری بودند اما سایر مولدین نر تنها با یک مرحله تزریق شرایط لازم برای اسپرم‌دهی را پیدا کردند. به طور کلی لقاح تخم‌ها در این مرحله بیش از ۳/۲ $\pm$ ۹۷/۳ درصد بود. جدول ۴ تعداد هم‌آوری تخم‌ها را نشان می‌دهد. چنانچه مشخص است میانگین هم‌آوری مطلق، کاری و نسبی مولدین به ترتیب $1680.9 \pm$ ، $1400.8 \pm$ و $7380.5 \pm$ و 48670 ± 12056 عدد،

معنی داری با یکدیگر نداشته ($P > 0.05$) و به صورت یکجا آورده شد.

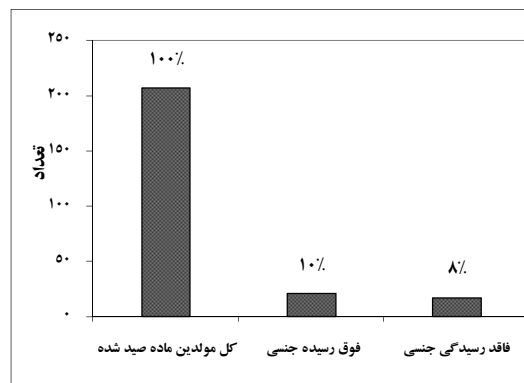
حداکثر ۱۱۶۴۶۶، ۹۷۰۵۵ و ۶۴۳۴۶ و حداقل نیز ۶۷۱۸۳، ۵۵۹۸۶ و ۳۱۹۶۳ عدد شمارش شد. همچنین هم آوری مولدین یکبار و دوبار تزریق شده اختلاف

جدول ۴: هم آوری تخم‌های ماهی سفید فرم پاییزه

مولدین	وزن کل (گرم)	وزن تخمک (میلی گرم)	هم آوری مطلق	هم آوری کاری	هم آوری نسبی
میانگین	۱۸۵۹	۱/۶۲	۸۸۵۶۵	۷۳۸۰۵	۴۸۶۷۰
حداکثر	۲۲۶۶	۱/۸۶	۱۱۶۴۶۶	۹۷۰۵۵	۶۴۳۴۶
حداقل	۱۴۹۷	۱/۲۳	۶۷۱۸۳	۵۵۹۸۶	۳۱۹۶۳
انحراف معیار	۲۵۷	۰/۲۰	۱۶۸۰۹	۱۴۰۰۸	۱۲۰۵۶



شکل ۴: مولدین ماده هورمون تراپی شده برای تکثیر مصنوعی



شکل ۵: فراوانی مولدین ماده فوق رسیده و فاقد رسیدگی جنسی در زمان تکثیر مصنوعی

رنگدانه دار شده و آماده معرفی به استخرهای خاکی گردیدند. تنوع موجودات پلانکتونی در استخرهای پرورشی زیاد بوده و به طور کلی تعداد ۵۰ جنس از ۵ شاخه فیتوپلانکتون و ۱۶ جنس از ۳ شاخه زئوپلانکتون شناسایی شدند. در بین فیتوپلانکتون‌ها میانگین بیشترین و کمترین فراوانی را به ترتیب *Cyclotella* و *Gyrosigma* و در بین زئوپلانکتون نیز به ترتیب جنس‌های *Anuraeopsis* و *Daphnia* به خود اختصاص دادند.

جدول ۵ نتایج اندازه‌گیری درصد لقاح تخم‌ها در زمان‌های مختلف بعد از لقاح و طی دوره انکوباسیون

در دوره انکوباسیون با وجود رفع چسبندگی، تخم‌های فرم پاییزه معمولاً به جدار شیشه انکوباتور چسبیده که در برخی موارد حدود ۱۵ تا ۱۸ ساعت به طول می‌انجامد. در این دوره زمانی نایستی با هیچ وسیله نظیر پر مرغ یا غیره نسبت به جدا کردن تخم‌ها از جداره ظرف اقدام نمود. تخم‌ها عمدتاً ۳ روز پس از لقاح چشم زده و دوره ی انکوباسیون در دمای آب ۱۶-۱۴ درجه سانتی گراد ۷-۱۰ روز به طول انجامید. لاروها پس از خروج از تخم به مدت ۵ تا ۷ روز در انکوباتورهای زوج نگهداری شدند و بعد از جذب کیسه زرده و تغذیه با شیر خشک، تبدیل به لاروهای

در نهایت تعداد بیش از ۲/۲ میلیون عدد لارو تولید شده و بچه ماهیان به تعداد حدود ۱/۸ میلیون عدد به وزن بالای ۱ گرم رسیده و بیش از ۹۶ درصد آنها در این وزن رهاسازی شدند. بزرگترین و کوچکترین بچه ماهیان به ترتیب ۴/۶ و ۰/۲۱ گرم پس از ۳ ماه پرورش اندازه گیری شدند. بزرگترین بچه ماهی در ادامه روند رشد پس از ۵ ماه ۲۱ گرم و کوچکترین ۳/۲ گرم بود. درصد ماندگاری لاروها در دوره پرورش به طور میانگین بیش از ۸۱ درصد بود (جدول ۶).

را نشان می دهد. چنانچه مشاهده می گردد میانگین درصد تخم های لقاح یافته در کل دوره تا قبل از چشم زدن بیش از ۷/۳ ± ۹۱/۵ درصد بوده و حداکثر و حداقل آن نیز به ترتیب ۱۰۰ و ۷۹/۳ برآورد شد. میانگین درصد تخم های چشم زده ۳ روز پس از لقاح بیش از ۱۵/۱ ± ۹۲/۷ درصد بوده و در انکوباتورهای مختلف مورد بررسی حداکثر و حداقل آن به ترتیب ۱۰۰ و ۶۵/۷ درصد بود.

جدول ۵: تغییرات درصد لقاح تخم ها در مراحل مختلف انکوباسیون

درصد لقاح تخم ها	حداکثر	میانگین ± انحراف معیار	حداقل
لقاح تخم ها ۱۰ ساعت بعد از لقاح	۹۹/۲	۹۰/۶ ± ۸/۸	۷۹/۳
لقاح تخم ها ۷۲ ساعت بعد از لقاح	۱۰۰	۹۱/۵ ± ۷/۳	۸۴
تخم های چشم زده	۱۰۰	۹۲/۷ ± ۱۵/۱۳	۶۵/۷

پرورشی برداشت شده و رهاسازی گشتند، تعداد باقی مانده رشد بسیار سریع تری را به جهت کاهش تراکم در استخرها به دست آوردند و به اوزان میانگین بالای ۵ گرم رسیدند.

رشد بچه ماهیان از اواسط فروردین تا خرداد به تدریج افزایش یافته و به وزن میانگین بیش از یک گرمی رسیدند (جدول ۷). چنانچه ملاحظه می شود از آنجایی که بیشتر بچه ماهیان در خرداد ماه از استخرهای

جدول ۶: تعداد لاروها و بچه ماهیان سفید پائیزه تولید شده و درصد ماندگاری آنها در دوره پرورش (۱۱ استخر)

استخر ۵۰۰ متر مربعی	لارو تولید شده (عدد)	بچه ماهی تولید شده (عدد)	درصد ماندگاری بچه ماهی
میانگین ± انحراف معیار	۲۰۱۴۱۹ ± ۱۳۲۵۶	۱۶۳۲۳۱ ± ۱۰۲۴۵	۸۱/۳۸ ± ۷/۵۹
حداکثر	۲۱۹۲۸۷	۱۸۱۶۴۰	۹۲/۴۲
حداقل	۱۷۲۱۸۱	۱۵۰۸۷۶	۷۱/۸۰
کل تولید	۲۲۱۵۶۱۳	۱۷۹۵۵۳۷	

جدول ۷: تغییرات وزن بچه ماهیان پرورشی در دوره پرورش

ماه	دمای آب (سانتی گراد)	میانگین وزن ± انحراف معیار	حداکثر	حداقل
فروردین	۱۸/۳ ± ۲/۳	۰/۱۵ ± ۰/۰۵	۰/۵۳	۰/۰۴
اردیبهشت	۱۹/۸۴ ± ۲/۴	۰/۲۵ ± ۰/۰۷	۰/۷۰	۰/۰۸
خرداد	۲۶/۵۲ ± ۱/۷	۱/۰۵ ± ۰/۲۳	۴/۵۹	۰/۲۱
مرداد	۲۷/۶۳ ± ۲/۵	۵/۵۰ ± ۴/۲۰	۲۱	۳/۲۰

بحث

بر اساس یافته‌های این تحقیق مولدین فرم پائیز از دهه اول پائیز در دمای آب حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد به تالاب انزلی وارد شدند و از آنجایی که در اواخر دی ماه کاهشی در صید مولدین مشاهده شد با فرض خاتمه مهاجرت این فرم، فعالیت‌های صیادی نیز متوقف گردید. در حالی که تکثیر مصنوعی فرم بهار ماهی سفید از دهه سوم اسفند آغاز و تا دهه دوم اردیبهشت ادامه می‌یابد (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴)، در واقع با افزایش دمای آب از حدود ۱۲ درجه سانتی‌گراد شروع و تا حدود ۱۸ درجه سانتی‌گراد خاتمه می‌یابد. یکی از ویژگی‌های ماهی سفید فرم پائیزه اندازه مولدین صید شده بود، به طوری که مولدین مربوطه از وزن بالاتری نسبت به فرم بهار برخوردار بودند. مولدین نر و ماده فرم پائیزه به ترتیب $332/6 \pm 1165$ و $304/2 \pm 1850$ گرم با حداکثر ۳۳۰ گرم بوده در حالی که افراد فرم بهار از ۶۹۲ و ۱۲۹۰ گرم در سال ۱۳۷۳ به ۵۷۳ و ۹۳۲ گرم در سال ۱۳۷۷ (سبحانی ثانی، ۱۳۷۷) رسیدند.

چنانچه در نتایج اشاره شد نسبت مولدین نر به ماده صید شده در این تحقیق ۱ به ۲ بود. در حالی که نسبت نر به ماده در رودخانه‌های مهاجرپذیر فرم بهار متفاوت بوده و از ۳/۲۵ به ۱ تا ۶/۶ به ۱ متغیر گزارش شده است. علت این تغییر به دلیل استقرار دام‌های گوشگیر غیر مجاز با چشمه‌های غیر استاندارد در فصل مهاجرت ماهیان جهت تولید مثل در محل مصب یا دهانه رودخانه‌ها، صید ماهیان ماده به دلیل وزن و اندازه درشت‌تر نسبت به ماهیان نر گزارش شد (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴).

در این تحقیق مشاهده گردید از آنجایی که مولدین از مهر ماه به تدریج به آب شیرین در تالاب انزلی

مهاجرت می‌نمایند به تدریج نیز به مراحل رسیدگی جنسی خود نزدیک می‌شوند، به طوری که مولدین نر واجد مشخصات ظاهری رسیدگی جنسی بوده و مولدین ماده نیز نزدیک به مرحله ۴ رسیدگی جنسی قرار داشتند. در حالی که مولدین فرم بهار در این زمان هیچیک از شواهد مربوطه را به همراه ندارند. در هر صورت با اینکه بسیاری از مولدین نر پائیزه در زمان تولید مثل در اوایل اسفند ماه آماده اسپرم‌گیری بودند ولی برای حصول بیشترین میزان اسپرم‌گیری به میزان ۲ تا ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با غده هیپوفیز تزریق شدند. با این وجود کمتر از ۱۵ درصد مولدین نر به تولیدمثل و تزریق هورمون جواب ندادند که بایستی در این خصوص بررسی‌های مناسبی صورت پذیرد. گزارشات نشان می‌دهند که در ماهیان انتقال یافته به مراکز تکثیر درصد جوابدهی مولدین نر بهار بین حداکثر ۷۸ درصد در ماهیان رودخانه خشک‌رود و حداقل ۱۵ درصد در ماهیان رودخانه ناورد متغیر است (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴). در خصوص مولدین ماده پائیزه بیش از ۸۲ درصد آنها پس از تزریق به تخم‌ریزی جواب داده به طوری که بیش از ۶۷ درصد آنها در یک مرحله و بیش از ۱۵ درصد آنها نیز در دومرحله پس از تزریق هورمون به القاء تخم‌ریزی پاسخ مثبت داده‌اند. البته حدود ۱۰ درصد مولدین ماده پائیزه نیز در زمان تولیدمثل در اسفند ماه فوق رسیده بوده و تخم‌ها در آنها در حال جذب و دژنره شدن بودند. بنابراین بایستی دقت نمود که زمان تخم‌ریزی جمعیتی از فرم پائیزه بسته به شرایط جوی حتی می‌تواند قبل از اسفند ماه یعنی در بهمن ماه باشد و از دهه اول بهمن ماه نسبت به بازرسی و هورمون‌تراپی آنها به ویژه مولدینی

که زودتر به تالاب انزلی وارد شده‌اند، برای القاء تخم‌ریزی اقدام کرد.

در مطالعه مشابه کپور ماهیان هندی در دو مرحله با غده هیپوفیز تزریق شدند، به طوری که تزریق مرحله اول ماده‌ها به میزان ۲ تا ۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و پس از ۶ ساعت در مرحله دوم ماده‌ها به میزان ۵ تا ۸ و نرها ۲ تا ۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تاثیر مناسبی بر القاء تخم‌ریزی آن‌ها داشته و تخم‌ریزی ۳ تا ۶ ساعت پس از دومین تزریق اتفاق افتاد (Woynarovich and Horváth, 1984). همچنین Nasim (۲۰۰۸) نشان داد که تزریق ۱۲ و ۴ میلی گرم عصاره‌ی غده هیپوفیز بر کیلوگرم وزن بدن به ماهی *Notopterus notopterus* به ترتیب در ماده‌ها و نرها تخم‌ریزی بهتری را به همراه دارد. Chakraborty (۲۰۰۴) نیز ثابت نمود که تزریق ۶ و ۲ میلی گرم عصاره‌ی غده هیپوفیز بر کیلوگرم وزن بدن به ماهی *P. sarana* به ترتیب در ماده‌ها و نرها تخم‌ریزی بهتری را ایجاد می‌کند. در برخی از ماهیان دز بالای غده هیپوفیز تاثیر بهتری داشته است. استفاده از ۶۰ و ۱۱۰ میلی گرم عصاره‌ی غده هیپوفیز بر کیلوگرم وزن بدن در ماهی ماده *Mastacembelus pancalus* به ترتیب در اولین و دومین مرحله تزریق با فاصله زمانی ۶ ساعت نتایج بهتری در اوولاسیون، لقاح و قابلیت هچ شدن داشته است (Rahman, 2011). همچنین Farid و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که *Mastacembelus aculeatus* در ۹۰ میلی گرم عصاره‌ی غده هیپوفیز بر کیلوگرم وزن بدن تخم‌ریزی بهتری را نشان می‌دهد.

دمای آب یکی از مهم‌ترین عوامل زیست محیطی تاثیر گذار بر توسعه و رشد ماهیان می‌باشد (Herzig and Winkler 1986; Bye, 1990). مولدین فرم پائیزه

بسته به زمان ورود به آب شیرین هنوز کاملاً به رسیدگی جنسی نرسیده و می‌بایستی دوره‌ای را از مهرماه تا بهمن ماه سپری نموده و طی مراحل رسیدگی جنسی نهایی، آمادگی لازم برای تکثیر را پیدا کنند. در واقع ماهیان فرم پائیزه‌ای که فوق رسیده شدند، چون جدا از مولدین نر نگهداری شده بودند با وجود آمادگی برای تخم‌ریزی به جهت عدم حضور جنس نر تخم‌های خود را رهاسازی نکرده و بنابراین احتمالاً تخم‌ها دژنره شده و در مرحله جذب قرار گرفتند. نتایج مشابهی توسط Romagosa et al. (2001); Miranda et al. (1995) و Romagosa (1998) در ماهی *Pseudoplatystoma fasciatum* و Resende et al. (1995) در گونه‌های وحشی مشابه به‌دست آمد. بنابراین برای افزایش میزان جوابدهی مولدین ماده فرم پائیزه بایستی در اوایل دوره آنها را با یکدیگر و در اواخر دوره جدا از یکدیگر نگهداری نمود و به صورت مستمر مولدین را از نظر آمادگی تخم‌ریزی مورد بازبینی قرار داد.

با توجه به عدم وجود اختلاف بین شرایط نگهداری مولدین در تالاب انزلی و استخرهای خاکی می‌توان مولدین را بلافاصله پس از صید به استخرهای خاکی منتقل نمود که دشواری‌های نگهداری در قفس در تالاب را نیز نخواهد داشت. بنابراین تخم‌ریزی در محیط‌های مصنوعی همچون استخرهای خاکی و بتنی به عنوان یک مزیت در تکثیر مولدین پائیزه تلقی می‌گردد.

درصد لقاح تخم‌ها به عوامل مختلفی از جمله نوسانات درجه حرارت آب، تفاوت در اندازه مولدین نر و ماده، تراکم یا حجم کم کار در روزهای مختلف تکثیر، نحوه اختلاط تخم و اسپرم و غیره بستگی دارد.

به طور کلی میزان درصد لقاح تخم در ماهی سفید بسیار بالا بوده و هم در فرم بهاره (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴) و هم فرم پائیزه متوسط درصد لقاح تا ۹۷ درصد گزارش شد. یکی از نکات مهم در دوره انکوباسیون تخم‌ها اینست که پس از لقاح تخم‌ها و رفع چسبندگی با آب معمولی و انتقال تخم‌ها به انکوباتورها در چند ساعت اولیه انکوباسیون، تخم‌ها به جداره شیشه انکوباتور می‌چسبند. در این زمان نبایستی تخم‌ها را به صورت مکانیکی (با پر مرغ و ...) از جداره شیشه جدا کرد، چراکه تخم‌ها به خودی خود همراه با جریان آب به تدریج از جداره جدا شده و سیال می‌گردد. البته لازم است در خصوص به‌کارگیری محلول‌های شستشوی مناسب برای رفع کامل چسبندگی تخم‌ها در آینده تحقیق نمود.

مطالعات انجام شده توسط آذری تاکامی (۱۳۶۳) نشان داد که میانگین هم‌آوری مطلق و نسبی ماهی سفید فرم بهاره در سال ۱۳۵۲ به ترتیب 5250 ± 74500 و 820 ± 57600 عدد تخم بود. در حالی که کازرونی منفرد (۱۳۷۴) نتیجه گرفت که میزان هم‌آوری نسبی در سال ۱۳۷۴ به طور میانگین به 39000 عدد تخم به ازای هر مولد ماده کاهش یافته است. اما بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق هم‌آوری مطلق و نسبی ماهی سفید فرم پائیزه به ترتیب 16809 ± 88565 و 12056 ± 48670 عدد تخم به‌دست آمد که به فرم بهاره سال‌های قبل از تکثیر مصنوعی نزدیک است. همچنین وزن هر تخم در ماهی سفید فرم بهاره معادل $1/8 - 1/2$ میلی گرم گزارش شد (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴) که مشابه با نتایج حاضر است. به علاوه در نتایج بررسی حاضر مشاهده می‌گردد که تعداد تخم در هر گرم وزن تخمدان حدود $31/2 \pm 334$ عدد به‌دست آمده که با

مولدین ماهی سفید سال ۱۳۵۲ با حدود $6/85 \pm 309$ عدد (آذری تاکامی، ۱۳۶۳) نزدیک می‌باشد. بنابراین گرچه در اندازه وزنی تخم بین دو فرم تفاوت قابل توجه‌ای ایجاد نشده، ولی می‌توان نتیجه گرفت که در طی سالیان متمادی به تدریج از میزان هم‌آوری فرم بهاره کاسته شده که می‌تواند ناشی از عدم توجه به بهگزینی در تکثیر این فرم باشد و بایستی توجه نمود که تکثیر مصنوعی ماهی سفید فرم پائیزه در سالیان آتی دستخوش تغییرات مشابه نشده و موجبات کاهش هم‌آوری آن فراهم نگردد. همچنین لازم است تا نمودار دما-ساعت-درجه رسیدگی مولدین، انکوباسون، جذب کیسه زرده لارو جهت ادامه و تکمیل تحقیق انجام گیرد.

معمولاً در شرایط معمولی تراکم پرورش را بین ۱ تا حداکثر ۲ میلیون عدد در هکتار در نظر می‌گیرند (کازرونی منفرد، ۱۳۷۴). اما در این تحقیق با توجه به ایجاد شرایط شکوفایی پلانکتونی و غنی‌سازی استخرها از موجودات زنده غذایی با استفاده از رژیم کوددهی مناسب، استفاده از غذای دستی میکروپلیت با ۴۰٪ پروتئین، دستگاه‌های هواده و افزایش میزان اکسیژن محلول به ویژه در هنگام شب تا سپیده صبح، جلوگیری از ورود موجودات شکارچی، لاروها با تراکم بیش از ۳ میلیون در هکتار پرورش یافتند. منابع علمی مختلفی نیز تراکم بالای پرورش لارو ماهیان را گزارش نمودند. تراکم پرورش لارو نوعی گربه ماهی به نام *C. gariepinus* بیش از ۲/۷ میلیون عدد در هکتار بوده است (Campbell et al., 1995). Hecht و همکاران (۱۹۸۸) در آفریقای جنوبی لاروهای گربه ماهی آفریقایی را حتی با تراکم 2000 fry/m^2 (معادل ۲۰ میلیون در هکتار) پرورش داده و ۵۰۰-

خزر. مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری رشت. ۲۴ صفحه.

۴. عباسی، ک.، ولی‌پور، ع.، طالبی حقیقی، د.، سرپناه، ع.، نظامی، ش.، ۱۳۷۸. اطلس ماهیان ایران (آب‌های داخلی گیلان). مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، بندرانزلی. ۱۱۳ صفحه.

۵. کازرونی منفرد، م.، ۱۳۷۴. بررسی نرم‌اتو تکثیر مصنوعی ماهی سفید در رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای خزر. سمینار کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی. ۴۴ صفحه.

۶. ولی‌پور، ع.، طالبی حقیقی، د.، ۱۳۷۸ الف. روند تغییرات صید ماهیان در تالاب انزلی در سال‌های ۷۱ تا ۷۵. مجله علمی شیلات ایران، ۸(۴)، ۷۳-۸۸.

۷. ولی‌پور، ع.، طالبی حقیقی، د.، ۱۳۷۸ ب. بررسی تلاش صید و میزان برداشت ماهیان اقتصادی در تالاب انزلی. مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، بندرانزلی، ۱۲۴ صفحه.

۸. ولی‌پور، ع.، عبدالملکی، ش.، ۱۳۷۹. روش‌های مطالعه زیست‌شناسی ماهیان. تالیف (Biswas (1993). مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، ۲۰۸ صفحه.

9. AOAC, 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th edn (ed). AOAC, Arlington, VA, 1141 p.
10. Babiak I., Glogowski J., Kujawa R., Kucharczyk D., Mamcarz A., 1998. Cryopreservation of asp, *Aspius aspius* (L.) sperm. Progr. Fish-Cult., 6, 146-148.
11. Boney, A.D., 1989. Phytoplankton. Edward annoid. British Library Cataloguing Publication data. 118p.
12. Bye, V.J., 1990. Temperate marine teleosts. In AD Munro, AP Scott, TJ Lam, eds. Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. Boca Raton, FL: CRC Press, 125-144.
13. Campbell, D., Obuya, S., Spoo, M., 1995. A simple method for small scale propagation of *Clarias gariepinus* in Western Kenya, Field Document No. 2, FAO/TCP/KEN/4551, 27 pp.
14. Chakraborty, B.K., 2004. Studies on the artificial propagation, larval rearing and culture

800fingerlings/m2 (معادل ۵ تا ۸ میلیون در هکتار) ماهی انگشت قد را برداشت نمودند. درصد ماندگاری بچه ماهیان سفید پائیزه پرورشی در استخرها در این تحقیق رضایت بخش بود به طوری که بیش از $81/38 \pm 7/59$ درصد از لاروهای معرفی شده باقی مانده و به بچه ماهیان بالای یک گرمی تبدیل شدند.

داده‌های حاصل از این تحقیق در اختیار شیلات ایران قرار گرفته و با قرار گرفتن تکثیر و پرورش مصنوعی ماهی سفید فرم پائیزه در دستور کار سالانه ی بازسازی ذخایر سازمان شیلات ایران در سال‌های آینده، زمینه ی جلوگیری از انقراض نسل، حفظ بانک ژنی فرم پائیزه، بازسازی ذخیره ی این فرم در دریای خزر، افزایش میزان تولید و صید ماهی سفید از دریای خزر و بهبود اقتصاد شیلاتی منطقه فراهم خواهد شد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت‌های مالی برنامه محیط‌زیست دریای خزر (CEP) و موسسه تحقیقات شیلات ایران انجام شده و از تمامی همکاران ساعی پژوهشکده آبرزی پروری در مراحل مختلف اجراء و به ویژه صیادان پرتلاش منطقه تالاب انزلی سپاسگزاریم.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، ۱۳۶۳. اصول تکثیر و پرورش ماهی؛ وزارت کشاورزی، شماره ۶۴/۱۵۴، ۱۵۲ صفحه.
۲. رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۴. ماهی سفید. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، تهران، ۱۶۵ صفحه.
۳. سبحانی ثانی، م.، ۱۳۷۷. بررسی مقایسه‌ای بیوتکنیک تکثیر ماهی سفید در رودخانه‌های حوزه جنوبی دریای

- doses on artificial propagation of Guchibaim, *Mastacembelus pancalus* (Hamilton). J. Bangladesh Agril. Univ. 9(2), 305–310.
27. Resende, E.K., Catella, A.C., Nascimento, F.L., *et al.*, 1995. Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil, Corumbá, MS. EMBRAPA – CPAP, Boletim de Pesquisa, 02, 75p.
 28. Romagosa E., 1998. Desenvolvimento gonadal (morfologia: ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1969) em cativeiro.. 221f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
 29. Romagosa, E., Narahara, M.Y., Borella, M.I., *et al.*, 2001. Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. Boletim do Instituto de Pesca, 27, 113-121.
 30. Thalathiah, S., Ahmad, A.O., Zaini, M.S., 1988. Induced spawning techniques practised at Batu Berendam, Melaka, Malaysia. Aquaculture, 74, 23–33.
 31. Valipour, A., Khanipour, A.A., Sayyad Bourani, M., 2008. The first restocking of autumn form kutum *Rutilus frisii kutum*, in Iranian coastal of Caspian Sea. World Aquaculture 2008, Korea, Busan, May, 19-23.
 32. Valipour, A., Khanipour, A.A., 2009. Kutum, *Rutilus frisii kutum*, The Jewel of the Caspian Sea. Published by Iranian Fisheries Research Organisation. Caspian Environment Program (CEP). <http://www.caspianenvironment.org>. Book. 95 p.
 33. Valipour, A., Khanipour, A.A., Behmanesh, Sh., Sayyad Bourani, M., 2009. Mahi Sefid (kutum), *Rutilus frisii kutum*, Introducing as a Suitable Fish Species for Aquaculture in IRAN. Aquaculture Europe 2009. Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway, 15-17.
 34. Woynarovich, E., Horváth, L., 1984. The artificial propagation of warm-water finfishes, A manual for extension. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 1984. FAO Fisheries Technical Paper, (201), 183 p.
 35. Yaron, Z., Bogomolnaya, A., Levavi, B., 1984. A calibrated carp pituitary extract as a spawning – inducing agent. Rosental H., Sarig S. (eds.): Research on Aquaculture, 8, 151–168.
 - of local Sarpunti, *Puntius sarana*. Ph.D Thesis submitted to Fisheries Management Department, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, 111 p.
 15. Farid, S.M., Miah, M.I., Habib, M.A.B., Rahman, M.M., 2008. Effect of pg doses on artificial propagation of Tarabaim, *Macrognathus aculeatus* (Bloch). Progress. Agric., 19(2), 111-118.
 16. Hecht, T., Uys, W., Britz, P.J., 1988. The culture of sharptooth catfish *Clarias gariepinus* in Southern Africa. South African National Scientific Programmes Report No. 153, 133 p.
 17. Herzig, A., Winkler, H., 1986. The influence of temperature on embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chmento* and *Vimba vimba*. Journal of Fish Biology., 28, 171-181
 18. Horvath, L., Szabo, T., Burke, J., 1997. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Pol. Arch. Hydrobiol., 44, 221–226.
 19. Krovchinsky, N., Smirnov, N., 1994. Introduction of cladocera. The Instituion of Water and Environmental Managment. London, 129 P.
 20. Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Wyszomirska, E., 1997c. Induced spawning in rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.). Polskie Archiwum Hydrobiologii journal. 44, 207–211.
 21. Kucharczyk, D.R., Kujawa, R., Mamcarz, A., Targonska-Dietrich, K., Wyszomirska, E., Glogowski, J., Babiak, I., Szabo, T., 2005. Induced spawning in bream (*Abramis brama* L.) using pellets containing GnRHCzech J. Anim. Sci., 50(3), 89–95
 22. Maosen, H., 1983. Fresh Water Plankton Illustration. Agriculture publishing house. 85 P.
 23. Michael, P., 1990. Echological Metod for Field and Laboratory investigation. Department Of biology Purdue Uviversity. USA. McGraw-Hill Publishing. NEW DELHI. pp 1 - 50.
 24. Miranda, A.C.L., Bazzoli, N., Rizzo, E., *et al.*, 1999. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural. Tissue & Cell, 31, 480-488.
 25. Nasim, I., 2008. Standardization of PG doses on artificial propagation of endangered foli fish, *Notopterus notopterus* (Pallas). M.S. Thesis submitted to Department of Fisheries Management, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, 35 p.
 26. Rahman, M.M., Miah, M.I., Hasan, K.R., Farid, S.M., 2011. Effect of pituitary gland