magiran.com

بیوتکنیک نوین تکثیر مصنوعی ماهی ازون‌برون *Acipenser stellatus* در ایران

محمود بهمنی[۱]؛ رضوان‌ا... کاظمی[۲]؛ محمد پوردهقانی[۳]؛ علی حلاجیان[۴]؛ یعقوب وهابی[۵]؛ محمود محسنی[۶]؛ رضا ملکزاد[۷]؛ سهراب دژندیان[۸] و حسین محمدی پرشکوهی[۹]

mahmoudbahmani@yahoo.com

۸،۶،۴،۳،۲،۱ - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت
صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

۹،۷،۵- مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی، رشت، سد سنگر

تاریخ ورود: فروردین ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۴

چکیده

بمنظور شناسایی شاخص‌های مناسب فیزیولوژی تکثیر و رفع معضلات موجود در تکثیر مصنوعی ماهیان ازون‌برون، بکارگیری فرمولاسیون جدید از GnRH و ترکیب تلفیقی آنتی‌دوپامین دامپریدون از طریق روشی نوین و برای اولین بار در کشور به انجام رسید. ۶۰ عدد مولد ازون‌برون صید شده از صیدگاههای رودخانه سفیدرود در استان گیلان شامل ۴۰ عدد مولد ماده و ۲۰ عدد مولد نر از طریق تزریق یک مرحله‌ای در مولدین نر و دو مرحله‌ای در مولدین ماده (بصورت کنترل بیوفیزیولوژیک) مورد مطالعه قرار گرفتند.

جهت افزایش ویسکوزیته محلول تزریقی در فرآیند جذب، پس از تزریق عضلانی در دومین پلاک پشتی از پروپیلن گلایکل(PG) استفاده شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل مقادیر ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن از GnRH همراه با مقادیر ۱ و ۲ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن دامپریدون برحسب درجه رسیدگی مولدین بود.

شاخص قطبیت (PI) رسیدگی جنسی در مولدین ماده با استفاده از تعیین موقعیت هسته زایشی (GV) و در مولدین نر براساس کیفیت گناد (testis) و اسپرماتوزوئیدها انجام پذیرفت. شاخص رسیدگی جنسی (GV) در مولدین ماده مورد بررسی در محدوده ۳/۶۴ الی ۱۴/۳ بود.

magiran.com

نتایج حاصل مبین آن است که کاهش سطوح استرس در مراحل صید، حمل و نقل، نگهداری و دستکاری و انتخاب مولدین با مورفولوژی مطلوب، امکان افزایش توان تولید مثلی در مولدین را موجب خواهد شد.

تحلیل یافته‌ها حاکی از آن است که مولدین نر در مقادیر ۲۰ و ۳۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن از GnRH بترتیب همراه با مقادیر ۱ و ۲ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن دامپریدون و مولدین ماده در مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن از GnRH بهمراه مقدار ۲ میلیگرم بر کیلوگرم دامپریدون در صورت دارا بودن شرایط مناسب فیزیولوژیک از جمله شاخص زیستی کنترل مهاجرت هسته زایشی تا بروز پدیده GVBD مناسبترین شرایط جهت اوولاسیون، اسپرم‌دهی و در نتیجه تکثیر مصنوعی را برحسب وضعیت مطلوب درجه حرارت آب دارا می‌باشند.

با توجه به یافته‌های حاصل در صورت دارا بودن کیفیت مورفولوژیک و فیزیولوژیک مناسب در مولدین، امکان جایگزینی فرمولاسیون جدید GnRH با ماده تلفیقی دامپریدون که طی مطالعات حاضر بدست آمده است براساس دستورالعملی جدید با راندمان بالا وبعنوان جایگزین علمی بسیار مناسب برای عصاره هیپوفیز و سایر آنالوگهای گنادوتروپینی جهت انجام تکثیر مصنوعی در ماهیان مولد ازون‌برون در مراکز تکثیر و پرورش تاسماهیان، توصیه می‌گردد.

لغات کلیدی: بیوتکنیک تکثیر مصنوعی، ازون برون، *Acipenser stellatus*، آنتاگونیست دوپامین، دامپریدون

مقدمه

ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) یکی از گونه‌های مهم تجاری تاسماهیان دریای خزر محسوب شده که در دریاهای خزر، سیاه و آزوف پراکنش داشته ولی محیط زیست اصلی آن دریای خزر می‌باشد.

در دریای خزر دو اکوتیپ از ماهی ازون‌برون مشاهده می‌شود. نوع شمال دریای خزر یا *A. stellatus stellatus* و نوع جنوب دریای خزر یا *A. stellatus natio cyrensis* که اصطلاحاً نوع کورا نامیده می‌شود. این دو اکوتیپ از نظر مورفولوژی کاملاً مشابه بوده و شاخص‌ترین تفاوت آنها، فاصله پشت چشمی (post-orbital) است. همچنین از لحاظ سن بلوغ، میزان رشد و هماوری و زمان تخمریزی با یکدیگر متفاوتند (Holcik, 1989).

جمعیت‌های بزرگتر و اصلی ماهی ازون‌برون در دریای خزر متمرکز شده و وارد رودخانه‌های ولگا، اورال، ترک، سولاک، سامور و کورا (Berg, 1948 Cited in: Holcik, 1989) و نیز رودخانه‌های سفیدرود و گرگانرود می‌شوند (Rostami, 1961Cited in: Holcik, 1989). با این وجود ماهی ازون‌برون در دریاهای آزوف، سیاه و Aegean نیز زندگی نموده و از طریق این دریاها به داخل رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند (Holcik, 1989).

از تحقیقات مرتبط با فیزیولوژی تکثیر در ماهیان خاویاری در داخل کشور می‌توان به مطالعات امینی (۱۳۷۴) ؛ حاجی‌زاده (۱۳۷۵) ؛ بهمنی و همکاران (۱۳۷۶) ؛ بهمنش (۱۳۷۶) ؛ امینی و همکاران (۱۳۷۶) ؛

magiran.com

پورکاظمی و همکاران (۱۳۷۶) ؛ Bahmani و همکاران (۲۰۰۰) ؛ نوروزی و همکاران (۱۳۸۱) و Bahmani و همکاران (۲۰۰۲) اشاره نمود.

از تحقیقات بعمل آمده و فعالیت‌های انجام شده مرتبط با فیزیولوژی تکثیر در ماهیان خاویاری در خارج از کشور می‌توان به مطالعات Dettlaff & Ginsburg (1954) ؛ Goncharov *et al.*, 1976 ؛ Conte *et al.*,1988 ؛ Dettlaff *et al.*, 1993 ؛ Lescheid *et al.*, 1995 ؛ Moberg *et al* ., 1995 ؛ Faulkner& Moberg, 1997 ؛ Williot, 1997 ؛ Webb *et al.*, 1999 ؛ همچنین گلوباکووا (۱۹۹۳) اشاره نمود.

آنچه مسلم است هدف اصلی از انجام این تحقیق رفع مشکلات اساسی موجود در تکثیر مصنوعی ماهی ازون‌برون در کشور و دستیابی به الگوهای مناسب کاربردی در زمینه فیزیولوژی تکثیر این گونه ارزشمند از طریق مطالعه شاخص‌های بیوفیزیولوژیک آن می‌باشد. لازم به توضیح است که تاکنون هیچگونه سابقه تحقیقی در ارتباط با انجام مطالعات تخصصی مرتبط در زمینه تولید GnRH اختصاصی تاسماهیان و ارائه فرمولاسیون و بیوتکنیک جدید تکثیر و اصول بکارگیری مثبت آن بویژه در گونه ازون‌برون بانجام نرسیده و دستاوردهای حاصل برای اولین بار در این پژوهش مورد تجزیه و تحلیل و انتشار (عبدالحی، ۱۳۸۱؛ Bahmani *et al.*, 2002) قرارگرفت. بطوریکه نتایج بدست آمده موجب ارائه فرمولاسیون و ارتقای مراحل تولید انواع اختصاصی GnRH (تاسماهیان) در کشور توسط مرکز ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی کشور و در نهایت منجر به تولید کیت‌های تخصصی GnRH توسط بخش خصوصی در داخل کشور بمنظور تکثیر ماهیان خاویاری گردید.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری بهار ۱۳۸۱ انجام شد. مولدین ازون‌برون بطور عمده توسط دام‌های گوشگیر(gill nets) و یا پره‌های کششی (beach seine) در ناحیه ۲ شیلات ایران صید گردیدند. ماهیان پس از پلاک‌گذاری توسط کامیونت‌های مخصوص حمل مولدین به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی انتقال داده شدند. ماهیان مولد ماده که مراحل زرده‌سازی را پشت سر گذاشته یا مولدین نر که در مرحله آمادگی رسیدگی جنسی قرار داشتند، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند.

ثبت شاخص‌های زیستی مولدین با استفاده از روش‌های معمول زیست‌سنجی از طریق اندازه‌گیری طول، با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتیمتر، وزن بدن با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۱ گرم و تعیین سن با استفاده از روش اولین شعاع سخت باله سینه‌ای به انجام رسید.

به منظور تفکیک جنسیت و نگهداری مولدین از روش سوک (تایگون) و بیوپسی استفاده گردید. بطوریکه مولدین پس از صید از طریق سوک مورد ارزیابی کیفی واقع شدند و رقم‌بندی اولیه آنها به انجام رسید. در طی نگهداری مولدین و جهت ارزیابی کمی روند رشد گناد نیز از روش سوک استفاده گردید.

به منظور شناسایی مراحل رسیدگی جنسی در ماهیان ماده از روش معاینه و تعیین موقعیت هسته زایشی یا GV در اووسیت‌ها (Dettlaff & Ginzburg, 1954) استفاده گردید بطوریکه تعداد ۵ تا ۸ عدد از اووسیت‌ها بعنوان نمونه بمدت ۳ تا ۵ دقیقه در آب جوشانده شده و سپس با خنک کردن

magiran.com

نمونه‌ها، نسبت به تعیین موقعیت هسته (GV) اقدام شد. در این ارتباط برش اووسیت در راستای محور جانوری- گیاهی با استفاده از تیغ معمولی در زیر استریومیکروسکوپ انجام و موقعیت GV از طریق رابطه زیر بدست آمد:

$$PI = \frac{a}{b} \times ۱۰۰$$

در این فرمول، P بعنوان شاخص قطبیت (Polarization Index) یا شاخص دسته‌بندی (Classificatio Index)، a بعنوان مسافت بین GV و غشای سلولی (اووسیت) و b بعنوان قطر تخمک در محور جانوری- گیاهی می‌باشد (کهنه‌شهری و آذری تاکامی، ۱۳۵۳؛ Conte *et al.*, 1988).

در ماهیان نر نیز به منظور تعیین دقیق مراحل رسیدگی جنسی از روش‌های مرسوم بافت‌شناسی استفاده گردید. در صورت نیاز به مطالعات میکروسکوپی، پس از تثبیت نمونه‌ها در محلول بوئن، مراحل آماده‌سازی بافت، آبگیری، شفاف‌سازی، پارافینه نمودن، قالبگیری، تهیه برش و رنگ‌آمیزی انجام پذیرفت (بهمنی و کاظمی، ۱۳۷۷؛ بهمنی و همکاران، ۱۳۸۱).

با توجه به اینکه بخش اعظم مولدین مناسب بمنظور استفاده در امر بازسازی ذخایر تاسماهیان در اختیار کارگاه قرار گرفتند، دیگر مولدین که دارای شرایط رسیدگی جنسی متفاوتی بودند جهت مطالعه در این تحقیق اختصاص داده شدند. مولدین ضمن انتقال و نگهداری در استخرهای کورانسکی مجتمع یا وان سوئدی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان تحت تیمارهای انتخابی مورد مطالعه قرار گرفتند و عملیات تکثیر مصنوعی آنها به روش مرسوم انجام پذیرفت (کهنه‌شهری وآذری تاکامی، ۱۳۵۳؛ Conte *et al.*, 1988).

در این مطالعه از GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) بعنوان عامل محرک بلوغ نهایی در مولدین ازون‌برون از طریق تزریق Intramuscular در عضله دومین پلاک پشتی استفاده گردید.

به منظور دستیابی به الگو و تولید ساختار جدیدی از ترکیب مؤثر GnRH در ماهیان خاویاری، با کمک مرکز ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی کشور، مطالعه در زمینه دستیابی به بهترین فرمولاسیون GnRH صورت پذیرفت. بدین منظور مراحل مطالعه و تست فرمولهای پیشنهادی در این پروژه، جهت کسب موفقیت در ارائه فرمولاسیون مناسب GnRH در تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون، پروتکل بشرح زیر طراحی و بانجام رسید:

بدین منظور تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون در قالب روشی نوین از تزریق دو مرحله‌ای قابل کنترل با استفاده از GnRH با ویسکوزیته بالا (از طریق استفاده از پروپیلن گلایکل) با مقادیر ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن و ترکیب تلفیقی آنتی دوپامین (دامپریدون) با مقادیر ۱ و ۲ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن در تعداد ۶۰ عدد مولد ازون‌برون شامل ۲۵ عدد مولد ماده (و ۱۵ مولد بعنوان شاهد) و ۱۲ عدد مولد نر (و ۸ مولد بعنوان شاهد) با حجم کلی محلول تزریقی به میزان ۲ میلی لیتر استفاده شد. تزریق به مولدین ماده بصورت دو مرحله‌ای ۱۰:۹۰ و تزریق به مولدین نر بصورت یک مرحله‌ای و همزمان با دومین تزریق مولدین ماده انجام پذیرفت.

جهت مطالعه و تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از انجام آزمایشات نیز از روشهای آماری ANOVA و t-test در برنامه‌های Excell و SPSS (12) استفاده گردید.

magiran.com

نتایج

دستاوردهای حاصل را می‌توان براساس شاخص‌های مورد مطالعه در مولدین ازون‌برون (نر - ماده) ارزیابی نمود. بطوریکه در تبیین بهترین نوع و مکان تزریق به مولدین، بویژه با توجه به ایجاد افزایش ویسکوزیته در محلول تزریقی GnRH و دامپریدون از طریق استفاده از پروپیلن گلایکل بمنظور افزایش زمان مورد نیاز در پروسه جذب محلول و فعال‌سازی محور H-P-G، تزریق عضلانی در محدوده اولین و دومین پلاک پشتی بعنوان بهترین گزینه انتخاب شد.

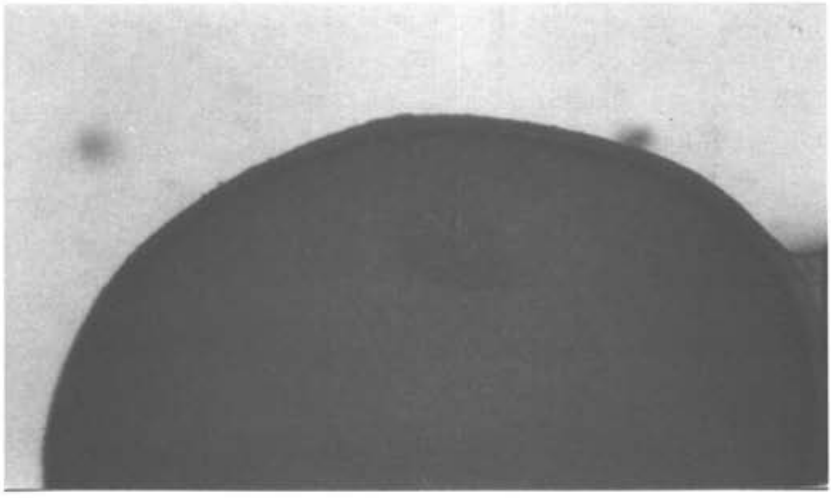
وضعیت برخی شاخص‌های زیستی و غیرزیستی مورد مطالعه در مولدین ماده ازون‌برون در جدول یک ارائه شده است.

جدول ۱: برخی شاخص‌های زیستی و غیر زیستی مولدین ماده ازون برون

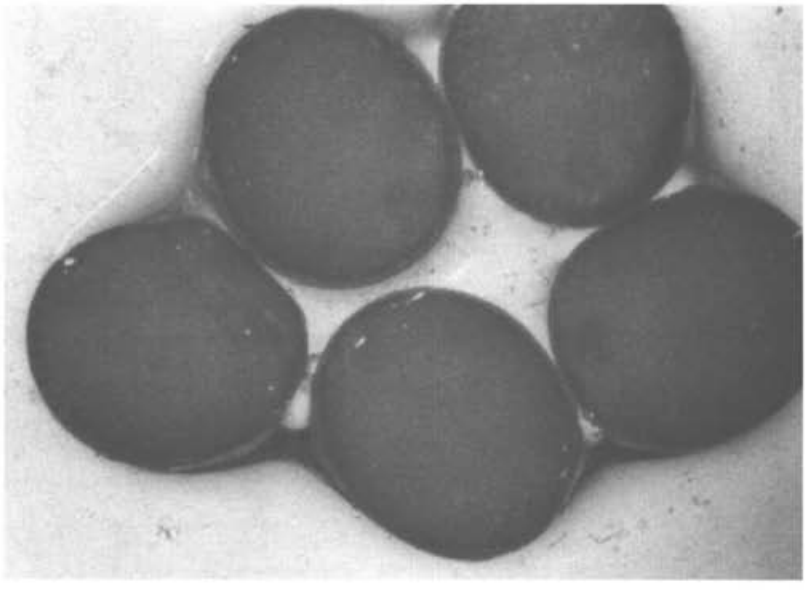
میزان / شاخص	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف از معیار
طول چنگالی (سانتیمتر)	۱۱۷	۱٤٤	۱۲۹/۰۲	۱/۰۹
وزن کل (کیلوگرم)	۷	۱۵	۱۰/۵۳	۰/۳
وزن کل تخمک (گرم)	۱۰۰۰	۲۹۰۰	۱۹۲۳/۰۸	۷۳/۸
سن (سال)	۱۰	۱٦	۱۲/۷۵	۰/۲۱٦
تعداد در گرم تخمک	۸۲	۱۲۹	۹٦/۲۳	۱/۹
درصد لقاح	٦	۹۰	۵۳/۳۷	۵/۰٦
هماوری مطلق	۱۱۲۸۰۰	۲٤۹٤۰۰	۱۸۰۳۸٤/٦۲	۵٤۲۰/۹
دمای آب در زمان تزریق (درجه سانتیگراد)	۱٦	۲۱	۱۸/۸۸	۰/۳
GSI	۱٤	۲۵/۵	۱۸/۱۳۱	۰/٤۱

جهت تعیین شاخص رسیدگی جنسی در مولدین ماده، پس از نمونه‌برداری محدود از بافت گناد که توسط سوک (تایگون) از بخش جانبی بدن مولدین به انجام رسید، نسبت به تعیین موقعیت GV اقدام شد. از آنجائیکه تعیین میزان حساسیت فیزیولوژیک به تزریق، در مولدین ازون‌برون بویژه در جنس ماده بسیار حائز اهمیت است، موقعیت GV و میکروپیل تخمک مولدین در مراحل مختلف زمانی قبل و بعد از تزریق ترکیب تلفیقی GnRH مورد مطالعه قرار گرفت. بطوریکه در شکل های ۱ تا ۴ روند مهاجرت GV بمنظور تشخیص روند رسیدگی جنسی و زمان تزریق GnRH نشان داده شده است.

magiran.com

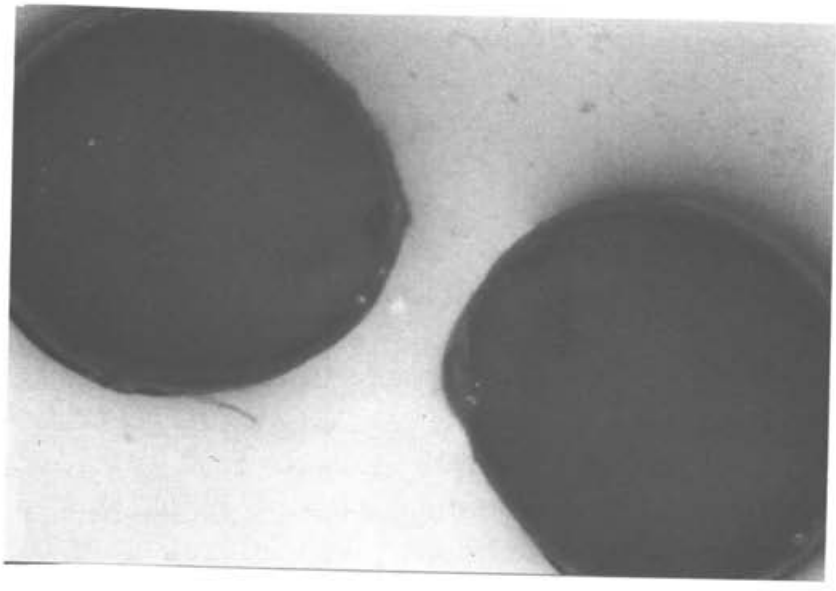


شکل ۱: موقعیت GV و میکروپیل در تخمک ازون برون (لنز ۶/۳ × - استریومیکروسکوپ)

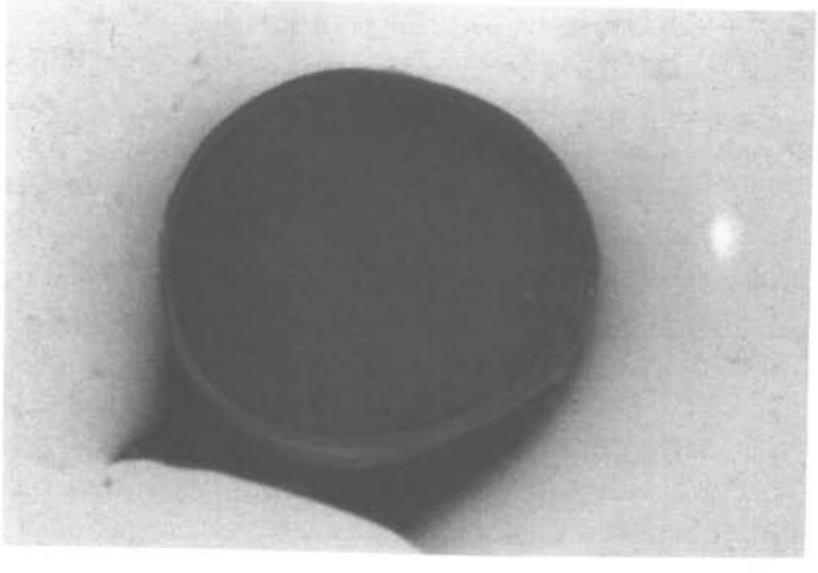


شکل ۲: موقعیت GV در تخمکهای ازون برون ، ۶ ساعت پس از تزریق اول
(لنز ۲ × - استریومیکروسکوپ)

magiran.com



شکل ۳ : موقعیت GV و میکروپیل در تخمک های ازون برون ، ۱۲ ساعت پس از تزریق اول
(لنز ۳ × - استریومیکروسکوپ)



شکل ٤ - موقعیت GV در تخمک ازون برون، ٦ ساعت پس از تزریق دوم
(لنز ۳/۵ × - استریومیکروسکوپ)

magiran.com

نکته قابل توجه در این مطالعه، تعیین زمان دومین مرحله تزریق در مولدین ماده است که دقیقاً منطبق با روند مهاجرت GV در تخمک می‌باشد. بطوریکه ابداع روش بررسی مرحله‌ای از طریق نمونه‌برداری *in vivo* تخمک‌ها که تحت فرآیند تحریک هیپوتالامیکی تخمدان بوده‌اند این امکان را میسر نمود. خصوصیات فیزیولوژی تکثیر در مولدین ماده ازون‌برون در جدول ۲ ارائه شده است.

یافته‌های حاصل براساس جدول ۲ مبین آن است که در گروه کنترل که تحت تیمار GnRH قرار نگرفته‌اند هیچگونه تغییری در روند رسیدگی جنسی رخ نداده است. همچنین از آنجا که مولدین مورد مطالعه در این تحقیق از بین مولدین انتقال داده شده به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی انتخاب شده بودند، شرایط مولدین به گونه‌ای بود که مراحل مختلف رسیدگی جنسی (GV در محدوده ۳/۶۴ تا ۱۴/۳) در آنها مشاهده گردید. با توجه به روش صید که بطور عمده توسط دام گوشگیر بانجام رسید و بطور حتم مدت زمانی مولدین درگیر با دام بودند ضمن مشخص بودن آثار مشبک دام بر بدن برخی مولدین و التهاب پوستی فراوان در آنها، این گروه از مولدین با شرایط ظاهری یا GV نامطلوب (محدوده بالای GV) شناسایی شدند. بدین جهت در پروتکل تکثیر به موارد فوق بعنوان عوامل مؤثر در موفقیت تزریق GnRH و شرایط فیزیولوژی تولید مثل مولدین توجه گردید. بطوریکه درصد موفقیت تکثیر در مولدین ماده با شرایط نامناسب در مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن از ۱۲/۵ درصد، ۵۷/۱۴ درصد و ۸۰ درصد متفاوت بود ولی در مولدین با شرایط مورفولوژیک و GV مناسب در مقادیر مذکور، موفقیت در تکثیر به میزان ۱۰۰ درصد، ۵۰ درصد و ۱۰۰ درصد بدست آمد. این در حالی است که نتیجه حاصل در تیمار با مقدار ۱۵ میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن مربوط به تعداد محدودی مولد (n=۲) بوده است.

مقایسه مولدین تحت تیمار هیپوفیز در کارگاه مبین موفقیت قابل ملاحظه در تکثیر مولدین ازون‌برون با GnRH بود. در مولدین نر جهت تعیین شاخص رسیدگی نهایی جنسی نمونه‌برداری از طریق سوک (تایگون)، سوند و یا حرکت چرخشی بدن و نمونه‌برداری از اسپرم برای بررسی شرایط کمی و کیفی آن بانجام رسید. پس از کسب اطمینان از کیفیت اسپرم نسبت به انجام عملیات اسپرم‌گیری، لقاح و تکثیر مصنوعی اقدام شد.

از آنجاکه گناد نر در ماهیان ازون‌برون دارای ساختمان لوبولی می‌باشد، ورود مرحله رسیدگی جنسی به فاز IV منجر به نازک شدن جدار کانالهای اسپرم‌بر (Semen canal) و آمادگی آنها برای بازشدن و خروج مواد تناسلی می‌گردد. از اینرو تزریق مولدین نر ازون‌برون بصورت یک مرحله‌ای و همزمان با دومین مرحله تزریق مولدین ماده بانجام رسید. خصوصیات فیزیولوژی تکثیر در مولدین نر ازون‌برون در جدول ۳ ارائه شده است.

یافته‌های حاصل براساس جدول ۳ مبین آن است که در گروه کنترل که تحت تیمار GnRH قرار نگرفته‌اند هیچگونه تغییر در فیزیولوژی تولیدمثل مولدین ایجاد نشده و امکان اسپرم دهی میسر نگردید. این در حالی است که در گروه مولدین با شرایط مناسب مورفولوژیک و فیزیولوژیک، پدیده اسپرم‌دهی به خوبی بوقوع پیوست.

magiran.com

جدول ۲: خصوصیات فیزیولوژی تکثیر در مولدین ماده ازون‌برون

مقدار GnRH (میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن)	مقدار دامپریدون (میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن)	تعداد مولدین در گروه کنترل (بدون تزریق)	درصد موفقیت تکثیر در گروه کنترل	تعداد مولدین سالم و مناسب تزریق	تعداد مولدین با شرایط ظاهری یا GV نامطلوب	تعداد مولدین با بازدهی مناسب	درصد موفقیت از کل مولدین تزریقی (مطلوب و نامناسب)	درصد موفقیت براساس مولدین منتخب مناسب
۱۰	۲	۵	۰	٤	۳	٤	۵۷/۱٤	۱۰۰
۱۵	۲	۵	۰	۲	٦	۱	۱۲/۵	۵۰
۲۰	۲	۵	۰	٦	٤	۸	۸۰	۱۰۰

جدول ۳: خصوصیات فیزیولوژی تکثیر در مولدین نر ازون‌برون

مقدار GnRH (میکروگرم به کیلوگرم وزن بدن	مقدار دامپریدون (میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن)	تعداد مولدین در گروه کنترل (بدون تزریق)	درصد موفقیت تکثیر در گروه کنترل	تعداد مولدین سالم و مناسب تزریق	تعداد مولدین با شرایط ظاهری نامطلوب	درصد موفقیت از کل مولدین تزریقی (مطلوب و نامناسب)	درصد موفقیت براساس مولدین منتخب مناسب
۲۰	۱	٤	۰	٤	۲	٦٦/٦	۱۰۰
۳۰	۲	٤	۰	٦	۰	۱۰۰	۱۰۰

magiran.com

بحث

مطالعات انجام شده توسط Dettlaff & Ginsburg (1954) در ماهیان ازون‌برون نشان داده که همزمان در تخمدان رشد یافته در مرحله IV رسیدگی جنسی، اووسیت‌های کوچک در مراحل آغازین رشد نیز قابل مشاهده می‌باشند.

نگهداری ماهی ازون‌برون در زمانهای مختلف، تزریق هورمونی آنها با تیمارهای مختلف و تزریق مکرر ماهی در فصل تکثیر از مسائل ضروری می‌باشند. تحقیقات نشان داده که ۷ ساعت پس از تزریق هورمون با غلظت، کم فرآیند رسیدگی جنسی در ازون‌برون آغاز می‌شود. تشخیص دقیق غلظت هورمون تزریقی در تزریق اول و دوم کار بسیار مشکلی است. فاصله زمانی بین دو تزریق، مقدار مؤثر تزریق و ... به وضعیت فیزیولوژیک ماهی ماده و رسیدگی جنسی گناد بستگی دارد (بارانیکووا، ۱۳۷۹). نتایج حاصل از بررسی حاضر نیز مؤید نتیجه فوق می‌باشد بطوریکه ضرورت کنترل مرحله‌ای مهاجرت GV در موفقیت تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون باثبات رسید.

بنابراین ضرورت ایجاب نمود تا با ابداع روشی جدید امکان مطالعه روند تکامل نهایی تخمک در بدن مولدین ماده در شرایط *in vivo* نیز مد نظر و مورد ارزیابی قرار گیرد. از اینرو در مراحل زمانی مختلف از طریق سوک (تایگون) اقدام به نمونه‌برداری از تخمکها گردید و در زمان مناسب که حداکثر میزان مهاجرت GV تحقق یافته بود نسبت به تزریق دوم اقدام شد.

از مهمترین مواد فارماکولوژیک بلوکر دوپامین قابل استفاده در تکثیر ماهیان می‌توان به بوتیروفنون‌ها نظیر هالوپریدول، فنوتیازین‌ها نظیر کلروپرومازین (بهمنی، ۱۳۷۸ب) و همچنین پیموزاید، متوکلوپرامید، فلوفنازین و دامپریدون اشاره نمود. مطالعات انجام شده مبین آن است که مؤثرترین (از نظر Potency) و به صرفه‌ترین (از نظر اقتصادی) آنتاگونیست دوپامین که در تکثیر ماهیان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد، دامپریدون می‌باشد (Treves-Brown, 2000).

اگرچه سابقه استفاده از آنتاگونیست‌های دوپامین به روش لینپه (Linpe) در ماهیان استخوانی حاکی از اثرات مؤثر دامپریدون با مقادیر ۱ و ۵ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن، رزرپین (Reserpine) با مقدار ۵ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن و همچنین پیموزاید (Pimozide) با مقادیر ۱ و ۱۰ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن بوده است (Treves-Brown, 2000). مطالعه اثرات فارماکوپه مواد شیمیایی سنتتیک نیز مبین آن است که بهترین الگوی بکارگیری ترکیبات شیمیایی آنتاگونیست دوپامین، استفاده از حداقل میزان آنها به جهت کاهش اثرات جانبی (Side effects) می‌باشد. از اینرو در مطالعه حاضر از حداقل مقدار دامپریدون به میزان ۱ و ۲ میلیگرم به کیلوگرم وزن بدن استفاده شد.

از جمله ترکیبات هورمونی که جهت القای مصنوعی تکثیر در ماهیان مولد از آنها استفاده بعمل می‌آید می‌توان به انواع GnRH، Ovaprim، LHRH، PMSG، Nerestin، CG مانند hCG، GnRHهای دامی(Receptal و Fertagil)، Buserelin (Superfact)، Synarel، Zoladex، Lupron، Surfagon، گنادولیبرین‌ها (Luliberin)، گستاژن‌ها، کورتیکوستروئیدها و ... اشاره نمود. امروزه ثابت شده بکارگیری ساختارهای مشابه

magiran.com

GnRH در گروههای ماهیان راندمان تکثیر را بنحو قابل ملاحظه‌ای افزایش خواهد داد. از اینرو در این پژوهش نیز طی فازهای مطالعاتی بعمل آمده در سالهای ۱۳۷۹ و ۱۳۸۰ نسبت به استفاده از فرمولاسیون مناسب از ترکیب تلفیقی GnRH در سال ۱۳۸۱ اقدام گردید (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳).

نتایج حاصل در فاز اول این مطالعه نشان داد که بمنظور دستیابی به فرمولاسیون مناسب از GnRH مورد نیاز در تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون، ضرورت استفاده از مقادیر مناسب GnRH و همچنین جهت مهار فعالیت نورونهای دوپامینرژیک تأثیرگذار بر فعالیت نوروفیزیولوژیک و نورواندوکرینی محور HPG، استفاده از ترکیبات مناسب آنتی دوپامینی ضرورت دارد. آب مقطر نیز اگرچه در این فاز، حلال مناسبی برای GnRH تشخیص داده شد ولی استفاده از آن از نظر عملکرد بیوفیزیولوژیک در سرعت اثرگذاری بر محور HPG مناسب نمی‌باشد. از اینرو استفاده از پروپیلن گلایکل بعنوان جایگزینی مناسب که با ویسکوزیته بالا فعالیت فرآیند جذب را بطئی و تأثیر آن را بیشتر خواهد نمود باثبات رسید.

با توجه به شرایط فیزیولوژیک ساختار بیضه در مولدین نر در مرحله چهارم رسیدگی جنسی، امکان استحصال اسپرم از طریق تحریک اولیه GnRH مشهود بود. ولی با توجه به ماهیت ترکیب تزریقی امکان همزمان‌سازی پدیده‌های اوولاسیون در مولدین ماده و اسپرم‌دهی در مولد نر دور از دسترس بنظر رسید، از اینرو نتایج حاصل در فاز اول مطالعه منجر به بروز تغییرات اساسی در فرمولاسیون GnRH متناسب با ساختار زیستی مورد نیاز در تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون گردید (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳).

بارانیکووا (۱۳۷۹) مطلوبترین شاخص GSI در تاسماهیان را برای مولدین ماده نژاد زمستانه بین ۱۰ تا ۱۶ درصد و برای نژاد بهاره بین ۲۲ تا ۲۵ درصد اعلام نمود بطوریکه در مطالعه حاضر محدوده GSI از ۱۴ تا ۲۵/۷ و میانگین ۰/۴۱±۱۸/۱۳۱ بوده است.

از آنجا که هماوری مطلق علاوه بر امکان پیش‌بینی کمیت فرآیند تکثیر مصنوعی بعنوان یکی از شاخص‌های مناسب فیزیولوژی تکثیر در مولدین محسوب می‌شود، مقایسه هماوری مطلق مولدین ماده ازون‌برون مورد مطالعه در محدوده وزنی ۷ تا ۱۵ کیلوگرم مبین حداقل ۱۱۲۸۰۰ و حداکثر ۲۴۹۴۰۰ عدد می‌باشد. در حالیکه بررسی‌های Holcik (1989) هماوری ماهیان ازون‌برون در محدوده وزنی ۱۰ تا ۱۵ کیلوگرم را بمیزان ۸۰ هزار تا ۱۸۰ هزار تخم و در ماهیان در محدوده وزنی ۱۵ تا ۲۰ کیلوگرم را بمیزان ۱۵۰ هزار عدد نشان داد. این یافته می‌تواند بعنوان شاخصی مهم در تبیین الگوهای بیوفیزیولوژیک اکوتیپ‌های ازون‌برون مد نظر قرار گرفته و نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

نتایج حاصل از بررسی‌های بعمل آمده روی مولدین ازون‌برون در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری ایران (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳) و رودخانه دانوب (Cristea *et al.*, 2000) حاکی از وجود حداقل دو اکوتیپ فیزیولوژیک از این گونه می‌باشد. بطوریکه شناخت وضعیت رسیدگی جنسی مولدین ماده و اعمال مدیریت صحیح در امر تکثیر مصنوعی آنها موجب تقویت سیستم ایمنی و کاهش سطوح استرس در آنها شده و بسیار حائز اهمیت است (بهمنی و همکاران، ۱۳۷۸ج).

magiran.com

تاسماهیان در مرحله چهارم رسیدگی جنسی که اواخر زرده‌سازی است (زرده‌سازی از مرحله دوم رسیدگی جنسی شروع و تا مرحله چهارم رسیدگی جنسی ادامه می‌یابد)، هم توان زندگی در دریا را دارند و هم قادرند به رودخانه مهاجرت نمایند. میکروپیل‌ها نیز در این مرحله در تخمک قابل مشاهده می‌باشند (بارانیکووا، ۱۳۷۹).

از اینرو بنظر می‌رسد برغم پیش‌بینی عدم امکان موفقیت در تکثیر مصنوعی مولدین ازون‌برون در مرحله مهاجرت کرانه‌ای (Littoral migratory)، می‌توان با توجه به مرحله رسیدگی جنسی و اعمال روشهای مناسب با متدولوژی متکی بر شاخص‌های فیزیولوژی تولیدمثل (بویژه در مولدین ماده) نظیر چنانچه در این بررسی حاصل شد، از مولدین صید شده در دریا نیز با موفقیت در فرآیند تکثیر مصنوعی استفاده نمود.

بنابراین بنظر می‌رسد مهمترین عوامل مؤثر در فراهم‌سازی شرایط مناسب جهت تکثیر مصنوعی موفق در مولدین ازون‌برون شامل کسب آمادگی لازم فیزیولوژی تولیدمثل (برحسب اکوتیپ‌های فیزیولوژیک)، وجود شرایط هیدروبیولوژیک مناسب زیست محیطی و کاهش سطوح آلودگی‌ها، امکان تأمین مولدین از مهاجرین به رودخانه (سفیدرود) یا اطراف آن، به حداقل رساندن سطوح استرس‌های صید، حمل و نقل، نگهداری و دستکاری، بکارگیری مؤثرترین محرک گنادوتروپینی متناسب با ساختار دکاپپتیدی گنادوتروپین تاسماهیان و اعمال اصول صحیح مدیریت تکثیر می باشد.

بررسی‌های بعمل آمده نشان داده است که در صورت انتخاب مولدین مناسب جهت تکثیر مصنوعی، بکارگیری محرکهای مناسب جایگزین هیپوفیز نقش مهمی را در موفقیت و افزایش راندمان تکثیر ایفا می‌کند.

وقتی به ماهیان، هیپوفیز تزریق می‌شود یاخته‌های تولیدکننده هورمونهای گنادوتروپین تحریک شده و بلافاصله سطوح گنادوتروپین‌های خون افزایش می‌یابد. اندازه‌گیری گنادوتروپین‌های هیپوفیز نشان داد که در این حالت فقط مقدار کمی از آنها مصرف می‌شود در حالیکه وقتی از آنالوگهای GnRH استفاده شود هورمونهای هیپوتالاموس روی سلولهای گنادوتروپینی هیپوفیز اثر گذاشته، تمام هورمونهای گنادوتروپین تولید شده در هیپوفیز ماهی را به مصرف می‌رسانند (بارانیکووا، ۱۳۷۹). یکی از مزایای استفاده از هورمونهای گنادوتروپینی (GnRH)، مشخص بودن ساختار مولکولی و امکان ساخت صنعتی آنها و آنالوگهای Superactive هورمونهای گنادوتروپینی می‌باشد.

از آنجا که ساختار هورمونهای گنادوتروپین ماهیان استخوانی و خاویاری با یکدیگر تفاوت دارند گیرنده‌های هورمونی آنها نیز متفاوت خواهد بود به همین دلیل اختلاف زیادی جهت پاسخ به GnRH در ماهیان استخوانی و خاویاری قابل مشاهده است (بارانیکووا، ۱۳۷۹). بررسی‌های بعمل آمده در طی سه فاز مطالعه فرمولاسیون GnRH مناسب با ساختار زیستی تاسماهیان نیز منجر به دستیابی بهترین الگوی فرمولاسیون GnRH گردید.

magiran.com

امینی (۱۳۷۴) در بررسی امکان استفاده از هورمون GnRH دامی در حالت تلفیق با متوکلوپرامید بعنوان آنتاگونیست دوپامین نشان داد که بین گروههای مولدین مورد تزریق با GnRH و متوکلوپرامید در خصوص درصد جوابدهی مولدین اختلاف معنی داری وجود نداشت.

بهمنش (۱۳۷۶) دربررسی امکان استفاده توأم از هیپوفیز تاسماهیان و کپورماهیان و LHRH-A درتکثیر مصنوعی ماهی ازون‌برون نشان داد که مولدین تزریق شده با LHRH-A نسبت به دیگر تیمارها از وضعیت مطلوبتری برخوردار بودند.

نتایج حاصل از مطالعات دیگر محققان مانند Goncharov *et al.*, 1976 در مقایسه اثرات بیولوژیک گنادوتروپین‌ها در ماهی ازون‌برون، Dettlaff *et al.*, 1993 در تاسماهیان، Lescheid *et al.*, 1995 در بررسی مطالعه ساختاری GnRH پستانداران در تاسماهی روسی، Faulkner & Moberg (1997) تحریک ترشح گنادوتروپین تاسماهی سفید تحت شرایط کوتاه مدت استرس و گلوباکووا (۱۹۹۳) در بررسی روش‌های تزریق و تنظیم هورمونی بویژه نقش GnRH و شاخص‌های نوروفیزیولوژیک بلوغ در ماهیان خاویاری مبین تأثیرات مثبت GnRH در افزایش توانایی تکثیر مصنوعی و احراز شرایط مناسب تولیدمثلی مولدین ماهیان خاویاری است.

بنظر می‌رسد به جهت فراهم شدن امکان تولید GnRH مشابه با ساختار دکاپپتیدی تاسماهیان در کشور (مرکز ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی) از یکطرف و دستیابی به فرمولاسیون و مقدار مناسب ترکیب تلفیقی GnRH با آنتاگونیست دوپامینی دامپریدون در سه فاز مطالعه (سالهای ۱۳۷۹ الی ۱۳۸۱ در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری) از طرف دیگر، بعنوان اولین پژوهش کاربردی در طراحی بیوتکنیک نوین در تکثیرمصنوعی مولدین ازون‌برون به اثبات رسید (عبدالحی، ۱۳۸۱؛ بهمنی و همکاران، ۱۳۸۳؛ Bahmani *et al.*, 2002).

خوشبختانه براساس دستاوردهای حاصل از این پژوهش، کیت تجاری GnRH در بخش خصوصی کشور نیز تولید گردید.

تشکر و قدردانی

از کلیه عزیزانی که طی مراحل اجرایی پروژه از حمایتهای بیدریغ آنان بهره‌مند شدیم، بویژه مدیریت‌های محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی کشور، مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی، اداره کل شیلات گیلان، نواحی ۱ و ۲ (وقت) شیلات و اداره کل تکثیر ماهی و بازسازی ذخایر شیلات ایران قدردانی می‌گردد.

magiran.com

منابع

امینی، ک. ، ۱۳۷۴. بررسی امکان استفاده از هورمون GnRH در حالت تلفیق با یک ماده آنتاگونیست دو پامین در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون. پایاننامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی شمال تهران. ۶۰ صفحه.

امینی، ک. ؛ بهمنی، م. ؛ محسنی، م. ؛ کامرانجو، ق. ؛ دونسکایا، پ. ؛ روگوف، م. آ. ، ۱۳۷۶. گزارش مقدماتی پروژه ارزیابی بیولوژیک و فیزیولوژیک کیفیت تاسماهیان مولد (قره‌برون و شیپ). انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. ۸ صفحه.

بارانیکووا، ا. ، ۱۳۷۹. فیزیولوژی و بیوشیمی تاسماهیان. گزارش دوره آموزشی (تهیه کنندگان: کاظمی، ر. ؛ بهمنی، م. ؛ پورکاظمی، م. ؛ تیزکار، ب.). انتشارات مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۲۱ صفحه.

بهمنش، ش. ، ۱۳۷۶. بررسی امکان استفاده توأم از هیپوفیز تاسماهیان و کپور ماهیان و هورمون(LHRHa) در تکثیر مصنوعی ماهی ازون برون *Acipenser stellatus* و مقایسه آن با روشهای مرسوم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۳۵ صفحه.

بهمنی، م. ؛ کاظمی، ر. ؛ لطفی نژاد، ح. ؛ علیزاده، م. ؛ دونسکایا، پ. و. و پیسکونووا، ل. ، ۱۳۷۶. گزارش مقدماتی پروژه ارزیابی کیفی تاسماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. ۱۴ صفحه.

بهمنی، م. ، ۱۳۷۷. بررسی فیلوژنیک و سیستماتیک تاسماهیان. مجله علمی شیلات ایران. سال هفتم. شماره ۲. صفحات ۹ تا۳۰ .

بهمنی، م. و کاظمی، ر. ، ۱۳۷۷. مطالعه بافت‌شناسی در تاسماهیان جوان پرورشی. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱، سال هفتم. صفحات ۱ تا ۱۶.

بهمنی، م. ، ۱۳۷۸الف. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر بر محورهای HPI,HPG، سیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی. رساله دکترای تخصصی. ۲۷۴ صفحه.

بهمنی، م. ، ۱۳۷۸ب. کاربرد ویژگی‌های زیستی ماهیان در آبزی‌پروری از نقطه نظر فیزیولوژی تولید مثل. ارائه شده در هشتمین کنفرانس زیست‌شناسی ایران. دانشگاه رازی کرمانشاه. ۱۴ صفحه.

بهمنی، م. ؛ عریان، ش. ؛ پورکاظمی، م. ؛ وثوقی، غ. ، ۱۳۷۸. اثرات اکوفیزیولوژیک استرس بر سیستم ایمنی سلولار در مولدین تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). ارائه شده در چهاردهمین کنگره بین‌المللی فیزیولوژی و فارماکولوژی. دانشگاه تهران. ۲ صفحه.

بهمنی، م. ؛ کاظمی، ر. ؛ امینی، ک. ؛ محسنی، م. ؛ دونسکایا، پ. و پیسکوونوا، ل.ن. ، ۱۳۸۱. گزارش نهایی پروژه ارزیابی کیفی تاسماهیان چندین ساله در شرایط پرورش مصنوعی. پروژه مشترک با انستیتو کاسپنیرخ روسیه. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. ۷۷ صفحه.

magiran.com

بهمنی، م. ؛ کاظمی، ر. ؛ وهابی، ی. ؛ حلاجیان، ع. ؛ ملکزاده، ر. ؛ محسنی، م. ؛ مجازی امیری، ب. ، ۱۳۸۳. گزارش نهایی پروژه مطالعه فیزیولوژیک جهت بررسی نارسائیها در القای تکثیر مصنوعی ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) . انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. ۹۱صفحه.

پورکاظمی، م. ؛ بهمنی، م. ؛ برادران نویری، ش. ؛ نوروز فشخامی، م. ؛ پروانه، ا. ؛ وهابی، ی. ؛ امینی، ک. ؛ گراسکین، پ. ؛ رومانوف، آ. آ. ؛ متالوف، گ. و آکسیونوف، پ. ، ۱۳۷۶. گزارش مقدماتی پروژه بررسی اصول فیزیولوژیک انتخاب مولدین (نر و ماده) مناسب برای باز تولید مصنوعی ماهی ازون‌برون. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. ۲۶ صفحه.

حاجی‌زاده کپته، ع. ، ۱۳۷۵. اندازه‌گیری هورمونهای FSH، LH، استروژن و پروژسترون در ماهی ازون برون جهت بدست آوردن بهترین زمان تزریق. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۱۸صفحه.

عبدالحی، ح. ، ۱۳۸۱. بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری و ارزیابی بیوتکنیک مراکز تکثیر ماهیان خاویاری در سالهای ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۱. ارائه شده در دومین همایش ملی- منطقه‌ای ماهیان خاویاری، رشت. صفحات ۳ تا ۶.

کهنه شهری، م. و آذری تاکامی، ق. ، ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۹۹ صفحه.

گلوباکووا، آ.ای. ، ۱۹۹۳. کاربرد فیزیولوژی ماهی در آبزی‌پروری. ترجمه : ف. حیدرپور و م. بهمنی، ۱۳۸۰. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۷۲ صفحه.

نوروزی، م. ؛ عریان؛ ش. ؛ بهمنی، م. ، ۱۳۸۱. مطالعه مقایسه‌ای تأثیر تزریق هیپوفیز گلیسرینه بر کیفیت تکثیر مصنوعی مولدین ماده تاسماهی ایرانی. ارائه شده در دومین همایش ملی- منطقه‌ای ماهیان خاویاری، رشت. صفحات ۲۳۵ تا ۲۳۸.

Bahmani, M. ; Oryan, S. ; Pourkazemi, M. and Vosoughi, G. , 2000. Ecophysiological indicators of stress in female persian sturgeon *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fishereis Sciences. Vol. 2, No. 1, pp.37-45.

Bahmani, M. ; Kazemi, R. ; Pourdehghani, M. ; Malekzadeh, R. ; Hallajan, A. ; Dejandian, S. ; Mohseni, M. ; Mostafavi, H. and Amiri Mojazi, B. , 2002. New approach on the biotechinque of artificial breeding in *Acipenser stellatus* with the combined action of GnRH and dopamine antagonist. International Conference Modern Problems of the Caspian Sea, devoted to 105th anniversary of KaspNIRKH. December 5-6, 2002, Astrakhan, Russia. 2P.

magiran.com

Conte, F.S. ; Doroshov, S.I. ; Lutes, P.B. and Strange, E.M. , 1988. Hatchery manual for the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* with Application to other north American. Acipenseridae. U.S. Fish and Wildlife Service Regions.

Cristea, V.E. ; Oprea, L. ; Grecu, I. and Talpe, M. , 2000. Histological researches on gonads maturation of the *Acipenser stellatus* females in the lower Dabube basin. Symposium Caviar and closing session of INCO (IC 15 CT 69-1005) 53P.

Dettlaff, T.A. and Ginsburg, A.S. , 1954. The embryonic development of Acipenserid fishes (stellate, Russian and giant sturgeon) with reference to the problems of their breeding. Izdatelstvo Akad Nauk SSr. Moscow.

Dettlaff, T.A. ; Ginsburg, A.S. and Schmalhausen, O.I. , 1993. Sturgeon fishes, Developmental biology and aquaculture, Springer-Verlag. 300P.

Faulkner, I.N. and Moberg, G.P. , 1997. Effects of short term management stress on the ability of GnRHa to induce gonadotropin secretion in male white sturgeon, *Acipnser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 159, pp.159-168.

Goncharov, B.F. ; Burzawa–Gerard, E. and Fontaine, Y.A. , 1976. Comparative study of the biological action of purified gonadotropins of the starred sturgeon (*Acipenser stellatus*) and the carp (*Cyprinus carpio*). Sov. J. Dev. Biol. Vol. 7, pp.68-72.

Holcik, J. , 1989. The freshwater fishes of Europe. Vol. 1., Part II. General introduction to fishes, Acipenseriformes. Aula-Verlag Wisbaden, 469P.

Lescheid, D.W. ; Powell, J.F.F. ; Fischer, W.H. ; Park, M. ; Craig, A. ; Bukovskaya, O. ; Barannikova, I.A. and Sherwood, N.M. , 1995. Mammalian gonadotropin–releasing hormone (GnRH) identified by primary structure in Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedti*. Regulatory peptides. Vol. 55, 299-309.

Lukyanenko, V.I. ; Vasilev, A.S. ; Lukyanenko, V.V. and Khabarov, M.V. , 1999. On the increasing threat of extermination of the unique Caspian sturgeon populations and the urgent measures required to save them. Journal of Appl. Ichthyol., Vol. 15, pp.99-102

Moberg, G.P. ; Watson, J.G. ; Doroshov, S. ; Papkoff, H. ; Pavlick, R.J. , 1995. Physiological evidence for two sturgeon gonadotropins in *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 135, pp.27-39.

magiran.com

Treves-Brown, K.M. , 2000. Applied fish pharmacology. Kluwer Academic Publ., pp.220-240.

Webb, M.A.H. ; Van Eenennam, J.P. ; Doroshov, S.I. and Moberg, G.P. , 1999. Preliminary observation on the effects of holding temperature on sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture. Vol. 176, pp.315-329.

Williot, P. , 1997. Effects in incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) induced by sturgeon gonadotropin preparation of 17α, 20β-Dihydroxyprogesterone. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 118c, No. 3, pp. 285-293.

magiran.com

A new method for artificial breeding of *Acipenser stellatus*

Bahmani M.[1] ; Kazemi R. [2] ; Pourdehghani M. [3] ; Halajian A. [4] ; Vahabi Y. [5] ; Mohseni M. [6] ; Malekzad R. [7] ; Dejhandian S. [8] and H.M. Parashkouhi[9]

mahmoudbahmani@yahoo.com

1,2,3,4,6,8- Dr. Dadman International Sturgeon Research Institute, P.O.Box: 41635-3464 Rasht, Iran

5,7,9 – Shahid Behshti Aquaculture Center for Sturgeon Fish, Rasht, Sad Sangsar

Received: March 2003 Accepted: December 2005

Keywords: Artificial breeding, *Acipenser stellatus*, Domperidone

Abstract

A new formulation of GnRH and synthetic compound of anti-dopamine domperidone was used for the first time in Iran to determine suitable physiological indexes for reproduction and to resolve the present problems of artificial reproduction in stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. The study was conducted on 60 breeder Acipensers including 40 female and 20 male specimens. The fish were caught at stations in the vicinity of the SefidRud River in Guilan Province. Male spawners were treated using single injection method while females received dual injection (Bio-physiological control).

Propylene glycole (PG) was administered after the muscular injection near the second dorsal scute to increase the viscosity of the solution during absorption. Depending on the stage of sexual maturity in the fish, GnRH at doses of 5, 10, 15, 20, 30 µg / kg BW was used in combination with a dose of 1 or 2 mg / kg of domperidone.

The position of GV was used as an index to determine sexual maturity in females while in males sexual maturity was determined on the basis of testis and sperm quality. The female fish showed GV in a range of 3.64 to 14.30. The results indicated that reduction of stress during catch, transportation, maintenance and handling and selection of breeders with suitable morphology will result in increased reproduction success.

It was also found that male breeders given a dose of 20 and 30 µg / kg BW GnRH along with 1 and 2 mg / kg of domperidone respectively were the most successful in spermiation. For female breeders, those received a dose of 10, 15 and 20 µg / kg BW GnRH along with 2 mg / kg of domperidone exhibited the most suitable conditions in ovulation. These females responded well to artificial breeding provided they possessed GV in the range of 3.64 to 14.30 depending on the water temperature until the germinal vesicle broke down (in vivo).

Alleviating stress during capture, handling, transport and confinement, selecting breeders with suitable morphology and identifying correct stage of sexual maturity are the factors that help achieve higher production by substituting GnRH with a combination of GnRH and domperidone. Therefore, this compound is recommended as a suitable substitute for pituitary extract and other gonadotrophic analogues in the artificial breeding of *Acipenser stellatus*.