

یافته علمی کوتاه زی فن نوین تکثیر مصنوعی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در ایران

- ❖ **تکاور محمدیان***: استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
- ❖ **مالک سیلاوی**: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران.
- ❖ **احمدرضا حسینی**: کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران.
- ❖ **بختیار حیدری**: دکتری حرفه‌ای گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
- ❖ **مهرداد مصباح**: دانشیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
- ❖ **سراج بیتا**: دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت آبزیان، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) از خانواده کپور ماهیان و ماهیان بومی استان خوزستان است. تکثیر مصنوعی این ماهی با استفاده از عصاره غده هیپوفیز ماهی کپور انجام می‌شود. با توجه به مشکلات تکثیر مصنوعی این ماهی در ایران، هدف از این مطالعه دستیابی به زی فن (بیوتکنیک) نوین تکثیر ماهی بنی در ایران است. در این تحقیق تأثیر هورمون $LHRH-\alpha_2$ همراه عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی (CPE) به روش تزریق در ماهیان مولد بنی بررسی شد. نتایج نشان داد که درصد لقاح در تیمار چهارم (۶ میکروگرم/کیلوگرم هورمون $LHRH-\alpha_2$ در تزریق مرحله اول، ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم غده هیپوفیز در مرحله دوم و ۳ میلی‌گرم غده هیپوفیز در مرحله نهایی) با $84/89 \pm 55$ دارای بیشترین مقدار بود. بیشترین اثر نرخ تخم‌ریزی در تیمار سوم و چهارم به ترتیب ۷۵ و ۷۰ درصد حاصل شده که دارای بالاترین مقدار در نرخ جواب‌دهی مولدین ماده بنی بوده است. در گروه ۲ با درصد لقاح پایین‌تر بیشترین میزان هم‌آوری کاری (41212 ± 2389) مشاهده شد. شاخص تولیدمثلی درصد هج نیز در تمامی گروه‌های آزمایشی بالا به دست آمد. نتایج حاکی از آن بود که روش تزریق سه‌مرحله‌ای از لحاظ عملکردی می‌تواند برای تکثیر مصنوعی ماهی بنی مناسب باشد.

واژگان کلیدی: تحریک تخم‌ریزی، زی فن تکثیر مصنوعی، شاخص تولیدمثلی، عصاره هیپوفیز کپور، ماهی بنی، هورمون $LHRH-\alpha_2$.

۱. مقدمه

ماهی بنی از جمله گونه‌های با ارزش اقتصادی و مقاوم نسبت به شرایط نامساعد محیطی است، به طوری که در آب‌های راکد و گرم که میزان اکسیژن آن‌ها کم است به راحتی زندگی می‌کند. پراکنش ماهی بنی وسیع است و در کشورهای عراق، مصر، ترکیه و سوریه یافت می‌شود. استفاده از روش‌ها و آلات صید مخرب از یک سو و آلودگی آب‌ها از سوی دیگر بقای نسل این ماهی با ارزش و اقتصادی را به شدت به خطر انداخته است و چنانکه این روند ادامه یابد نسل این ماهی منقرض خواهد شد. بدین منظور سالانه میلیون‌ها بچه‌ماهی انگشت‌قد که نتیجه تکثیر مصنوعی این گونه است تولید می‌شود. بخش اعظم این بچه‌ماهیان از طریق شیلات خوزستان در هور شادگان و هورالعظیم، رودخانه‌های استان خوزستان و دریاچه‌های سد کرخه و دز رها می‌شوند (Mohammadian et al., 2009). بچه‌ماهیان تولیدشده، حاصل تکثیر مصنوعی با عصاره هیپوفیزند. موفقیت در استفاده از GnRHa خالص یا در ترکیب با آنتی‌دوپامین در تحریک تخم‌ریزی ماهیان گوناگون از سوی محققان مختلف بررسی شده است (Zohar, 1995; Peter et al., 1995; Szabo et al., 2002; Arabaci, 2004; Paykan-herati, 2005). تخم‌ریزی مصنوعی ماهی بنی به وسیله هورمون‌تراپی امکان‌پذیر شده است (Mohammadian et al., 2009) و تا سال ۱۳۸۹، تکثیر مصنوعی موفقیت‌آمیز آن فقط با تزریق عصاره غده هیپوفیز در محل کارگاه توسعه ماهیان بومی سوسنگرد (تنها مرکز تکثیر مصنوعی ماهیان بومی در ایران) می‌گرفت. تا به

حال در خصوص کیفیت اثر سیستم‌های a_۲-Luteinizing Hormone (LHRHa) و آدرنورژیک Releasing Hormone Analogue در مولدین ماهی بنی در ارتباط با تغییرات میزان هورمون‌های هیپوفیزی از جمله GTHI (Gonadotropin Hormone) در این ماهیان اطلاعات قابل ملاحظه‌ای در کشور وجود ندارد. از آنجا که آگونست (GnRH) Gonadotropin Releasing Hormone در القای اوولاسیون و تخم‌ریزی مولدین ماهیان مناسب است، بنابراین اثر LHRHa در القای تخم‌ریزی در انواع ماهیان مهم شیلاتی امری ضروری به شمار می‌رود. بنابراین، در این تحقیق سعی شده است کیفیت آثار هورمون LHRH-A در ترکیب هیپوفیز به منظور رسیدگی جنسی مولدین ماده با تأکید بر سنجش عوامل ظاهری و فیزیولوژیک حاصل از تخم‌ریزی بررسی و مطالعه شود. برای انجام این پروژه در واقع از نسل پنجم یا ششم نتایج ماهیان بنی که از هورالعظیم صید شده بودند استفاده شد. تغذیه آن‌ها با غذای فرموله‌شده ویژه ماهی بنی به میزان ۳ تا ۵ درصد وزن بدن به صورت روزانه در دو وعده انجام شد. تعداد ۱۰۰ ماهی ماده بنی با میانگین وزن حدود ۱۵۰۰ گرم بدون در نظر گرفتن ماهیان نر استفاده شد. ابتدا ماهیان از استخرهای پرورشی حاکی صید، به سالن تکثیر جا به جا و بلافاصله با محلول بیهوشی دی اتیلن گلیکول فنیل اتر با دوز ۳۰۰ ppm آرام شدند. پس از توزین با ترازوی برقی، هورمون تهیه‌شده را با دوز از قبل تعیین‌شده تزریق کردند و پس از آن به حوضچه نگهداری و آرامش در سالن انکوباسیون که آب همراه هوادهی در آن‌ها جریان داشت، منتقل شدند. برای القا یا تحریک ماهیان ماده

جداگانه‌ای نگهداری شدند و کلیه مشخصات آن‌ها در یک فرم مخصوص ثبت شد. برای اطلاعات هر تیمار جدول ویژه‌ای تهیه و نتایج، تحلیل‌ها و کارهای آماری آن‌ها تبیین شد. پس از اطمینان از رسیدگی کامل و سیال بودن تخمک‌ها (به وسیله ساعت-درجه و بررسی چشمی) ماهیان مولد ماده به وسیله ساچوک دستی صید و در وان حاوی محلول بیهوش‌کننده قرار داده شدند. پس از تخم‌کشی ماهیان و انجام لقاح، تخم‌های متورم و آبکشیده به انکوباتور منتقل شدند (Zohar and Mylonas, 2001). در هر انکوباتور ویس یا شیشه‌ای ۸ یا ۱۰ لیتری مقدار ۵۰۰-۷۰۰ میلی‌لیتر تخم آبکشیده قرار داده شد. مدت زمان انکوباسیون با توجه به درجه حرارت آب سالن بین سه تا چهار روز طول کشید. در این آزمایش برای لقاح از روش خشک استفاده شد. نرخ تخم‌ریزی (تعداد ماهی‌های تخم‌ریزی کرده به تعداد ماهی‌های ماده تزریق شده) و درصد تخم‌گشایی لارو بر اساس روش kulikovsky و همکارانش (۱۹۹۶) تعیین شد. درصد لقاح ۲۴ ساعت بعد و زمانی که تخم‌ها در مرحله گاسترولاسیون بودند (مقدار تخم‌های لقاح‌یافته/تعداد کل تخم‌ها (لقاح‌یافته + لقاح‌نیافته) تعیین شد (Razavi, 1985).

بنی به رسیدگی جنسی و سیال کردن تخمک‌ها از هورمون LHRH-A2 ساخت کشور چین (LHRH - $[D-Ala^6 - des - GLY^{10}]_m$ ethylamide) و غده هیپوفیز استفاده شد. برای اجرای این مطالعه ۴ تیمار تزریقی و یک تیمار شاهد به کار رفت. تزریق تیمار شاهد فقط با استفاده از سرم فیزیولوژی به صورت سه‌مرحله‌ای (۱ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم)، همزمان با دیگر تیمارها انجام شد. در این مطالعه، برای بررسی میزان اثر به کارگیری هورمون LHRH-A2 همراه عصاره غده هیپوفیز روی رسیدگی مواد تناسلی (تخمک‌ها) و آزاد و سیال شدن آن‌ها و تهیه جدول زی فن تکثیر این گونه، تزریق محلول القای رسیدگی جنسی در سه مرحله به شرح زیر صورت گرفته است: در مرحله نخست القا یا تزریق، فقط از هورمون LHRH-A2 و در مراحل دوم و سوم به ترتیب پس از ۲۴ و ۱۲ ساعت پس از تزریق مرحله دوم، عصاره غده هیپوفیز استفاده شد. در هر ۵ تیمار، به ماهیان مولد نر بنی نیز عصاره غده هیپوفیز همزمان با مرحله سوم یا نهایی مولدین ماده بنی به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدنشان تزریق شد. جدول تزریق تیمارها به تفصیل در زیر آمده است. ماهی‌های هر تیمار در یک حوضچه آرامش

جدول ۱. تزریق تیمارها

شماره تیمار	مرحله اول	مرحله دوم	مرحله سوم
۱	LHRH-a ₂ ۱۰ μg/kg	۵ mg/kg غده هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده هیپوفیز
۲	LHRH-a ₂ ۸ μg/kg	۵ mg/kg غده هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده هیپوفیز
۳	LHRH-a ₂ ۶ μg/kg	۵ mg/kg غده هیپوفیز	۳/۵ mg/kg غده هیپوفیز
۴	LHRH-a ₂ ۶ μg/kg	۵ mg/kg غده هیپوفیز	۳ mg/kg غده هیپوفیز
کنترل منفی	سرم فیزیولوژی	سرم فیزیولوژی	سرم فیزیولوژی

جدول ۲. میانگین نتایج شاخص‌های تولیدمثلی ماهی بنی تیمارها

شماره تیمار	تعداد	نرخ جوابدهی	درصد وزن تخم به وزن بدن	هم‌آوری کاری	درصد لقاح	درصد هج
۱	۲۰	٪۶۵	۸,۲۱±۰,۵	a۳۴۹۱۸±۲۲۱۹	۷۱,۹۲±۰,۲۸	۸۱,۴۰±۰,۳۳
۲	۲۰	٪۴۰	۹,۶۹±۰,۵	b۴۱۲۱۲±۲۳۸۹	۶۹,۲۰±۰,۵۸	۸۱,۲۸±۰,۴۵
۳	۲۰	٪۷۵	۹,۲۸±۰,۴	a۴۰۶۱۴±۱۸۲۳	۸۰,۲۶±۰,۴	۸۷,۰۰±۱,۰۵
۴	۲۰	٪۷۰	۶,۸۰±۰,۵	a۲۸۸۳۳±۲۳۴۵	۸۴,۸۹±۰,۵۵	۸۷,۵۷±۰,۸۹
۵	۲۰	۰	۰	۰	۰	۰

دوره پنهان (زمان بین انجام اولین تزریق و اوولاسیون) نیز بر اساس روش Droti و همکارانش (۱۹۹۴) تعیین شد. برای بررسی معنی‌دار بودن اختلاف مشاهده شده در نتایج شاخص‌های تولیدمثلی تیمارها، از آزمون دانکن به منظور مقایسه میانگین‌ها در کمترین حد اهمیت یعنی $P < 0/05$ استفاده شد. نتایج به صورت $\text{Means} \pm \text{S.E.N}$ مطابق روش Kulikovsky و همکاران (۱۹۹۶) شد. ماهیان استفاده شده در این مطالعه در شرایط و وضعیت یکسان و در مرحله پیش از تخم‌ریزی قرار داشتند. نتایج به طور خلاصه در جدول ۲ آمده است.

ماهی بنی از جمله ماهیانی است که در سال‌های اخیر اقدام به تکثیر مصنوعی آن شده است و با توجه به شرایط محیط‌زیست آن به تحقیق بیشتری روی تکنولوژی تکثیر مصنوعی گونه مورد نظر نیاز است. در ایران عصاره غده هیپوفیز (C.P.E) به منزله تنها عامل برای تحریک تخم‌ریزی در ماهی بنی استفاده می‌شود که میزان غلظت استفاده شده آن mg/kg ۴/۵b.w است که به صورت رایج در مرکز تکثیر و پرورش ماهی بنی به کار می‌رود. همچنین، Arabaci و همکاران (۲۰۰۴) روی کپور معمولی، Billard در سال ۱۹۹۰ با استفاده از عصاره غده هیپوفیز روی کپور علف‌خوار به تحریک تخم‌ریزی در این ماهیان

اقدام کردند. این القاکننده تولیدمثلی به تنهایی دارای اثر تحریک‌کنندگی پایین در ماهیان مولد بنی است (Mohammadian et al, 2009). در مطالعه حاضر، با توجه به بررسی هورمون‌های استروئیدی جنسی در فصل تولیدمثل ماهی بنی به منظور امکان موفقیت کامل در رسیدگی نهایی تخمک‌ها و تخم‌کشی دستی، استفاده از عصاره غده هیپوفیز در ترکیب با هورمون LHRH-a_2 به روش سه‌تزریقه برای اولین بار در کشور بررسی شده است. نتایج مؤثرتر ۳ تزریق نسبت به روش ۲ و یک تزریق هورمون آنالوگ GnRH را مربوط به کوتاه‌بودن نیمه عمر فعال آن یا متوسط زمان فعالیت آنالوگ GnRH می‌دانند (Zohar, 1989) که علت آن آنزیم سیتوزولی در هیپوفیز، کلیه و کبد ماهیان است (Zohar and Mylonas, 2001). دوره پنهان یا مدت زمان بین تزریقات تا هنگام تخم‌کشی در این مطالعه برای تمام تیمارها ۵۰ ساعت است. دوره پنهان نسبت به روش تزریق دومرحله‌ای تقریباً دو برابر است، اما به دلیل دستیابی به مقادیر فراوان تخمک و نرخ جوابدهی بسیار زیاد در گروه‌ها و تهیه زیاد لارو ماهی، از لحاظ اقتصادی باارزش‌تر است. در مطالعه Mohammadian و همکاران (2009) روی ماهی بنی به روش تزریق دومرحله‌ای، آنالوگ GnRH ($25/25 \pm 22$ ساعت) دوره پنهان

است. بالاترین نسبت نرخ تخم‌ریزی در گروه سوم مشاهده می‌شود. هورمون LHRH-A2 در صورتی که همراه عصاره غده هیپوفیز به صورت تزریق سه‌مرحله‌ای در تکثیر ماهی بنی استفاده شود، آثار بیشتری روی بلوغ نهایی تخمک‌ها دارد و در نتیجه تعداد ماهی ماده بیشتری از بین ماهیان تیمار شده، تخم‌ریزی موفق خواهند داشت. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Nazari و همکاران (2008) در تکثیر تاس‌ماهی ایرانی (قره‌برون) که با استفاده از هورمون LHRH-a₂ نشان دادند با تزریق مقادیر ۳/۵، ۷ و ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم از وزن بدن به ترتیب ۸۰ و ۱۰۰ درصد ماهی‌ها تخم‌ریزی کرده‌اند، هماهنگی دارد (Nazari et al., 2008). میانگین نسبت تخم به وزن بدن حاصل شده در این بررسی ۸/۵ درصد است که بالاترین آن مربوط به گروه دوم ۹/۶۹±۰/۵ درصد است. از تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص شد که بین گروه‌های ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P < 0.05$), اما این گروه‌ها با گروه چهارم اختلاف دارند. نسبت‌های مشابهی از سوی Mohammadian و همکاران (2009) در بررسی تأثیر آنالوگ GnRH روی شاخص‌های تولیدمثلی ماهی بنی حاصل و مشخص شد که نسبت تخم به وزن بدن در روش هیپوفیزاسیون ۸/۴۱ و در آنالوگ GnRH (روش لینه) ۱۱/۸۶ درصد است. در این مطالعه متوسط هم‌آوری کاری حاصل شده بین تمام گروه‌ها ۳۶۳۹۴ است. دلیل افزایش هم‌آوری کاری در تیمار با هورمون همراه عصاره هیپوفیز به روش سه‌تزیقه احتمالاً می‌تواند به علت تأثیر LHRH-a₂ روی ترشح استروئیدهای پروژسترونی مانند ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون باشد که به بلوغ نهایی

کوتاه‌تری را نسبت به روش هیپوفیز (۲۵/±۲۴/۲۵ ساعت) دارد، همان‌طور که Aizen و همکاران (۲۰۰۵) روی کفال خاکستری به چنین نتیجه مشابهی رسیدند. این در حالی است که دوره پنهان در تزریق آنالوگ‌های GnRH عموماً از لحاظ زمانی طولانی‌تر از تزریق به روش هیپوفیز است (Paykan et al, 2005). نتایجی که Drori و همکاران (۱۹۹۴) و Kulikovsky و همکاران (۱۹۹۶) و Derafshan و همکاران (2003)، روی کپور معمولی انجام دادند مشابه نتایج Paykan-Heyrati و همکاران (۲۰۰۵)، روی ماهی سفید دریای خزر بود. نتیجه دوره پنهان این ماهیان در تزریق به آنالوگ‌های GnRH از لحاظ زمانی طولانی‌تر از روش هیپوفیزاسیون به دست آمد. علت را می‌توان به فعالیت و اثر آنالوگ GnRH در سطوح بالاتر محور تناسلی نسبت داد، در حالی که C.P.E روی گنادها اثر می‌گذارد (Donaldson, et al, 1983). دلیل دیگر را می‌توان به علت استفاده از پروپیلن گلیکول به‌منزله حلال برای آنالوگ GnRH نسبت داد که سبب آزادسازی تدریجی این هورمون در سیستم گردش خون می‌شود (Zohar, 1989). Sato و همکاران (۱۹۹۵) توضیح دادند که عصاره هیپوفیز سالمون (SPE) محلول در روغن پنبه سبب افزایش تدریجی GtH می‌شود که بالاترین حد افزایش آن ۲۴ ساعت است، اما بر خلاف آن SPE محلول در نمک سریعاً سبب افزایش میزان GtH می‌شود که بالاترین حد آن ۳ ساعت بعد از تزریق است. طولانی‌تر بودن دوره پنهان در این تحقیق را احتمالاً می‌توان به فیزیولوژی ماهی بنی نسبت داد. در تحقیق حاضر متوسط نرخ تخم‌ریزی در تیمارها (به جزء تیمار شاهد) ۶۳ درصد

Mohammadian و همکاران (۲۰۰۹)، مشخص شد که در اثر استفاده از آنالوگ GnRHa (ovafact) همراه دامپریدون در تکثیر ماهی بنی به منظور تحریک اوولاسیون و تخم‌ریزی، درصد لقاح ۸۴/۶۵ درصد و در گروه وزنی بیش از ۹۵۰ گرم به روش لینه هچ (تخم‌گشایی) ۷۷/۶۶ درصد حاصل شد که با روش هیپوفیز برای لقاح ۶۳/۳۳ و هچ ۷۶/۶۶ درصد اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) داشت که با مطالعه حاضر از این لحاظ مطابقت دارد. با توجه به ضرورت تولید انبوه در زمینه تکثیر و پرورش آبزیان (به‌منزله فعالیت تجاری) به صرفه‌جویی در هزینه‌های این نوع فعالیت‌ها نیاز است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمارکردن بنی با LHRH-a₂+CPE در تزریق سه‌مرحله‌ای به افزایش جواب‌دهی مولدین و تخم‌ریزی موفق و استحصال تخم با کمیت و کیفیت مطلوبی منجر می‌شود، به طوری که اکثر گروه‌های تیماری از میزان بالایی در شاخص‌های تولیدمثلی برخوردارند.

(FOM) کامل تخمک‌ها منجر می‌شود. دلیل دیگر این افزایش را می‌توان به تعداد بیشتر گیرنده‌های GnRH روی هیپوفیز و گناد ماهیان نسبت داد. GnRH اختصاصاً سبب آزادسازی GtH می‌شود، اما هنگام تزریق عصاره غده هیپوفیز، بسیاری از هورمون‌های آنتی‌گنادال وارد سیستم تولیدمثلی ماهی می‌شوند (Arabaci et al, 2004). در تحقیق حاضر حداقل و حداکثر مقادیر درصد لقاح حاصل‌شده بین تیمارها به ترتیب، ۶۹/۲ و ۸۴/۸۹ درصد است. همچنین، در مطالعه حاضر درصد بازماندگی بسیار بالایی تخم در مدت زمان انکوباسیون و درصد تخم‌گشایی (هچ) در تیمارها نسبتاً عالی به دست آمد. دلیل این برتری می‌تواند به کیفیت بسیار خوب تخمک حاصل‌شده مربوط باشد، زیرا فقط تخمک با کیفیت عالی می‌تواند درصد لقاح، هچ و بازماندگی بالایی داشته باشد. همچنین در بررسی حاضر به دلیل استفاده از نوع هورمون با دوز مناسب برای ماهی بنی، تخمک باکیفیت (شفاف، گرد، بزرگ و کامل از لحاظ بلوغ نهایی) حاصل شد. بر اساس مطالعات

References

- [1]. Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Rosenfeld, H., 2005. Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *Aquaculture* 142, 212-221.
- [2]. Arabaci, A., Sari, M., 2004. Induction of ovulation in endemic pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi*), living in the highly alkaline Lake Van, using GnRH_a ([D-Ser (tBu)₆, Pro⁹-Net]-GnRH) combined with haloperidol. *Aquaculture* 238, 529-535.
- [3]. Arabaci, M., Cagirgan, H., Sari, M., 2004. Induction of ovulation in ornamental common carp (Koi, *Cyprinus carpio* L.) using LHRH_a ([D-Ser (tBu)₆, Pro-Net]-LHRH) combined with haloperidol and carp pituitary extract. *Aquaculture Research* 35, 10-14.
- [4]. Billard, R., 1990. The major carps and other cyprinids. In: Nash, C.E. (Ed.), *World animal Sciences CIIX, production of Aquatic Animals (Fishes)*. Elsevier Science Publication. pp. 21-55. Chapter 2.
- [5]. Derafshan, S., Amiri, B.M., Hajizadeh, A., Mostafavi, H., Pakanherati, F., 2003. Induce spawning in *oncorhynchus mykiss* by GnRH Analogue. *Journal of Iran fisheries* 11, 23-29.
- [6]. Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.), *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B: Reproduction. Academic Press, Orlando, Florida, 351-403.
- [7]. Drori, S., Ofir, M., Levi-sivan, B., Yaron, Z., 1994. Spawning induction in common carp, *Cyprinus carpio*, using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramid: analysis of profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture* 119, 393-407.
- [8]. Kulikovsky, Z., Martin, F.J.B., Yaron, Z., 1996. A comparison of two spawning inducing agent for common carp. *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 48, 108-111.
- [9]. Mohammadian, T., Kuchenin, P., 2009. Comparison of the effectiveness ova-fact hormone and carp pituitary extract on gonadal maturation in *Barbus sharpeyi*. *Iranian veterinary journal*, 5th year 2, 71-80.
- [10]. Nazari, R., Modanlo-Kordkalaei, M., 2008. Survey of application LHRH-A₂ Hormone in artificial reproduction of *Acipenser persicus*. *Journal of Iran fisheries* 2(4)
- [11]. Paykan-Heyrati, F., Amiri, B.M., Hajizadeh, A., Mostafavi, H., Dorafshan, S., 2005. Induced spawning of Kutum, *Rutilus frisii Kutum* by GnRH analogue. *Aquaculture* 256, 288-293.
- [12]. Peter, R.E., Sokolowska, M., Nahorniak, C.S., Rivier, J.E., Vale, W.W., 1987. Comparison of {D-Arg Trp Leu Pro} NET sGnRH-A, and {D-Ala, Pro Net} LHRH-A, in combination with pimozide in stimulating gonadotropin release and ovulation in the goldfish, *Carrassius auratus*, *Can. Journal of Zoology*, Vol. 65. pp. 987-991.
- [13]. Razavi, S. (1985). *Rutilus frisii kutum*. Iranian Fisheries Research Institute. PP. 32-36.
- [14]. Sato, N., Kawazoe, I., Shiina, Y., Furukuwa, K., Suzuki, T.Y., Aida, K., 1995. A novel method of hormone administration for inducing gonadal maturation in fish. *Aquaculture* 135, 51-58.
- [15]. Szabo, T., Medgyasszay, C., Horvath, L., 2002. Ovulation in nase (*Chondrosomoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH_a combined with DOM. *Aquaculture* 203, 389-395.
- [16]. Yaron, Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in carp. *Aquaculture* 129, 49-73.

-
- [17].Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulation of spawning induction in cultured fish from hormone to gene. *Aquaculture* 197, 99-139.
- [18].Zohar, Y., 1989. Fish reproduction, its physiology and artificial manipulation. In: Shilo, M.C., Sargi, S.H., *Fish culture in warm water systems, problems and trends*.CRC Press. pp. 65-119.