بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی گطان (*Barbus xanthopterus*)

سید عبدالصاحب مرتضوی‌زاده[1]*؛ جلیل معاضدی[2]؛ محمد یونس‌زاده فشالمی[3]؛ الهام جرفی[4]

saheb.mortezavi@gmail.com

١- مرکز آبزی پروری جنوب کشور، اهواز صندوق پستی: ٨٦٦-٦١٦٤٥

٢- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ٦١١٦-١٤١٥٥

تاریخ دریافت: اردیبهشت ١٣٨٩ تاریخ پذیرش: شهریور ١٣٨٩

چکیده

ماهی گطان از جمله ماهیان با ارزش و اقتصادی خوزستان است که در بخشهایی از منابع آبی استان خوزستان و منابع آبی واقع در مناطق مرزی با عراق زیست می‌کند. به منظور دستیابی به تعیین بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی گطان (برای تولید انیوه) پروژه تکثیر آن در سال ١٣٨۴ انجام شد. در این تحقیق ٢٣ عدد مولد ماده با میانگین (± انحراف استاندارد) وزن و طول کل بترتیب ٠/۴۵ ± ٣/٨۵ کیلوگرم و ٢١±۶۴/٩۵ سانتیمتر بررسی شد. نسبت جنسی نر به ماده ٢:١ در نظر گرفته شد. درجه حرارت مناسب تخمریزی ٢۴/۵-٢١ درجه سانتیگراد ثبت گردید. جهت القای اوولاسیون از عصاره غده هیپوفیز به میزان ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی استفاده گردید و تزریق بصورت ٢ مرحله‌ایی با فاصله زمانی ١٢-١٠ ساعت با نسبت ١٠:٩٠ انجام گرفت و تزریق در مولدین نر همگام با تزریق دوم مولدین ماده به میزان ٢ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام شد که ٨٧ درصد مولدین ماده گطان به مرحله تخمریزی رسیدند. دوره پنهان (Latency period) ١٧-١۵ ساعت متغیر بود. طول دوره انکوباسیون تخم ماهی گطان در دمای ٢۵-٢٣ درجه سانتیگراد معادل ۶٠-۵٩ ساعت بود.تخمهای ماهی گطان چسبندگی کمی داشته و در هر گرم آن ٣٢±۴٨٠ تخم تازه استحصال شده و ٢۵±٢٨٧ تخم آب جذب کرده وجود داشت. میانگین (± انحراف استاندارد) درصد لقاح ٣/١±٧٧/٢٢، درصد تخم‌گشایی ١/٨٩±٨١/٢ و بازماندگی لارو ٢±٨٣/۴ درصد در مولدین دو بار تزریق محاسبه گردید. میانگین (± انحراف استاندارد) اندازه تخم خشک و تخم آب جذب کرده ماهی گطان ۴۵±١٢۴٨ میکرون و ١٢۵±٢١٠٠ میکرون بود. برای برطرف کردن چسبندگی و شستشوی تخمها از مایع لقاح به مدت زمان ١٠ دقیقه استفاده گردید که در نتیجه این کار ۶۶٠ هزار لارو تولید شد و در استخرهای خاکی به منظور پرورش ذخیره‌سازی گردید.

لغات کلیدی: گطان، *Barbus xanthopterus*، تکثیر، مولدین، تخم‌ریزی

*نویسندهٔ مسئول

مقدمه

ماهی گطان (*Barbus xanthopterus* Heckel, 1843) از گونه‌های مهم خانواده کپور ماهیان می‌باشد که در رودخانه‌های مهم دجله، فرات، کارون و کرخه یافت می‌شود (Coad, 1995). مطالعات انجام شده توسط نجف‌پور و همکاران (۱۳۷۶) نشان داد که عمده پراکنش ماهی گطان در محدوده هورالعظیم، رودخانه کرخه تا سد حمیدیه و رودخانه اروند می‌باشد. ماهی گطان از ماهیان مرغوب و موردپسند منطقه محسوب می‌شود و سالانه مقداری از صید به کشورهای منطقه خلیج فارس صادر می‌شود (اسکندری و همکاران، ۱۳۷۸). اطلاعات اخذ شده از منطقه نشان داد که زمانی این ماهی یکی از منابع اصلی درآمد مردم این منطقه بوده است و فراوانی صید بحدی بود که در فصل صید فعالیتها تعطیل و مردم به صید این گونه مبادرت می‌نمودند ولی در دهۀ ۷۰ بدلیل صید با ادوات ممنوعه مانند سم، مواد منفجره و غیره فراوانی آن رو به کاهش نهاد تا با وقوع خشکسالی‌های اخیر و احداث سد عظیم کرخه در رودخانه کرخه که مانع رسیدن آب به قسمت سفلی رودخانه و هورالعظیم گردید، عملاً فراوانی آن بشدت کاهش یافته بطوری که صید آن در سال ۱۳۷۹ بصورت اتفاقی و بسیار نادر انجام گرفت (مرتضوی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۴).

مطالعات انجام شده در رابطه با این گونه در عراق شامل مطالعه سن و رشد (Jivar, 1974)، مقایسه استخوان‌شناسی این گونه با ماهی بنی (Qasim & Niazi, 1975)، تخمریزی مصنوعی و تکثیر در نوزادگاه (Boleslaw, 1982) و تولید مثل و پرورش گطان (Pyka *et al*., 2001) می‌باشد. در ارتباط با گونه‌های دیگر باربوسها فعالیت‌هایی از جمله توسعه لاروی و جنینی در ماهی شیربت (Sahinoz *et al*., 2007) و بیولوژی عمومی تولید مثل ماهی بنی در تالاب هویزه (Al Mukhtar *et al*., 2006) انجام گردیده است.

با توجه به اهمیت گونۀ گطان مرکز آبزی‌پروری جنوب کشور در پی شناسایی خصوصیات بیولوژی (اسکندری و همکاران، ۱۳۷۷) اقدام به بررسی تکثیر مصنوعی این گونه نمود. مهمترین هدف این طرح تحقیقاتی، ارائه بیوتکنیک تکثیر مصنوعی در جهت تولید بچه ماهی و رهاسازی در منابع آبی جهت بازسازی ذخایر این گونه بود.

این تحقیق در سال ۱۳۸۴ در مرکز آبزی‌پروری جنوب کشور انجام گرفت. براساس مطالعات انجام گرفته محل صید این گونه

مواد و روش کار

بطور عمده در منطقۀ هورالعظیم و قسمت سفلی رودخانه کرخه حد فاصل سد حمیدیه تا هورالعظیم تعیین گردید. مولدین به دو روش استفاده از وان فایبرگلاس مجهز به کپسول اکسیژن و Packing (انتقال توسط کیسه‌های پلاستیکی) به مرکز آبزی‌پروری جنوب کشور منتقل و در استخرهای خاکی نگهداری شدند. پس از بررسی ظاهری در مولدین ماده برحسب شاخص‌های ظاهری (متورم شدن شکم، قرمز شدن مجرای تناسلی) ۲۳ عدد مولد ماده گطان با میانگین (± انحراف استاندارد) وزنی و طولی بترتیب ۰/۴۵±۳/۸۵ کیلوگرم و ۲۱±۶۴/۹۵ سانتیمتر به تانکهای ۴ تنی که مجهز به سیستم هوادهی و چرخش آب بود، انتقال داده شدند. مولدین نر بدلیل پایین بودن سن از نظر جثه، کوچکتر از مولدین ماده گطان بودند. در تانکهای ۴ تنی نگهداری شدند. در اثر دستکاری و استرس‌های ناشی از جابجایی تعدادی از مولدین نر فاقد اسپرم بودند. به همین دلیل برای رفع مشکل، نسبت جنسی نر به ماده ۲:۱ در نظر گرفته شد.

عملیات تکثیر در اواخر اسفند و با رسیدن دمای آب به حدود ۱۹ درجه سانتیگراد شروع شد. از غده هیپوفیز برای تحریک رسیدگی جنسی با مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد. ماهیان قبل از تزریق با مقدار ۲۰۰ppm ماده بیهوشی اتیلن گلیکول مونوفنیل (فنوکسی اتانل) در زمان کمتر از ۵ دقیقه بیهوش شدند (Leroy Creswell, 2000). تزریق هیپوفیز بصورت عضلانی انجام گرفت. تزریق به صورت دو مرحله با فاصله زمانی ۱۰ ساعت انجام گرفت. براساس مشاهدات ظاهری مانند نرمی شکم، وضعیت رفتاری ماهی و پس از اطمینان از وقوع اوولاسیون در ماهیان (پس از ۱۰ ساعت به مدت هر ۳۰ دقیقه یکبار ماهیان کنترل شدند) ماهیان ماده صید گردیدند و تزریق در مولدین نر همگام با تزریق دوم مولدین ماده به میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گرفت.

پس از تشخیص زمان تخمریزی با کنترل مولدین، تخم‌کشی بصورت مصنوعی (دستی) انجام گرفت. تخمهای لقاح یافته هر مولد به انکوباتورهای ویس انتقال داده شدند. از روش خشک جهت لقاح در این آزمایش استفاده گردید. اندازه‌گیری قطر تخم استحصال شده با میکروسکوپ و میکرومتر، اندازه‌گیری تعداد تخم در یک گرم با ترازوی دیجیتالی Metler با دقت ۰/۰۰۱ گرم انجام گرفت. نرخ تخمریزی و درصد بازماندگی لارو براساس

روش Kulikovsky و همکاران (١٩٩٦) تعیین گردید. درصد لقاح ٢۴ ساعت پس از لقاح در مرحله گاسترولاسیون (NACA, 1986) مشخص گردید دوره پنهان براساس روش Drori و همکاران (١٩٩۴) تعیین گردید. تجزیه و تحلیل اطلاعات، با کمک نرم‌افزار آماری SPSS برای میانگین و انحراف معیار (SE) هریک از شاخص‌ها استفاده شد.

نتایج

در این بررسی موفقیت تکثیر، دوره پنهان و شاخص‌های تکثیر بررسی شد (جدول ١). از ٢٣ عدد مولد ماده در نمونه‌هایی که مشمول روش ترزیق دو مرحله‌ای بودند، ٢٠ عدد به ترزیق هورمون هیپوفیز جواب مثبت دادند (موفقیت تخمریزی ٨٧ درصد). میانگین (± انحراف استاندارد) دوره پنهان ١۶/٨٨±٠/٢١ ساعت در این ماهیان به ثبت رسید، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی، میزان تخم به گرم در هر ماهی و درصد بازماندگی لارو بترتیب ٧٧/٢٢±٣/١ درصد، ٨١/٢±١/٨٩ درصد، ١٢۴±١٧/٩٣ عدد و ٨٣/۴±٢ درصد بود. میانگین (± انحراف استاندارد) میزان تخم در گرم بصورت تازه استحصال شده ۴٨٠±٣٢ عدد و اندازه تخم تازه استحصال شده ١٢۴٨±۴۵ میکرون بود. میانگین (± انحراف استاندارد) میزان تخم در گرم بصورت آبکشیده ٢٨٧±٢۵ عدد و اندازه تخم آبکشیده ٢١٠٠±١٢۵ میکرون ثبت گردید. تخم ماهی گطان از نوع نیمه چسبنده می‌باشد. زمان شستشوی تخمها حدود ١٠ دقیقه در نظر گرفته شد. طول دوره انکوباسیون در دمای ٢۵-٢٣ درجه سانتی‌گراد ۶٠-۵٩ ساعت بود و لاروها بتدریج پوسته تخم را پاره کرده و از تخمها خارج شدند. پس از ۶۶ ساعت از زمان تخم‌گشایی لاروها دهان باز نموده و تغذیه فعال شروع گردید.

جدول ١: نتایج حاصله از تحریک هورمونی والقاء تخمریزی مولدین ماده گطان به روش تزریق دو مرحله‌ای با هیپوفیز (فروردین ماه ١٣٨٤)

تعداد نمونه	موفقیت تخمریزی (درصد)	دوره پنهان (ساعت)	تعداد تخم تازه استحصال شده درگرم (عدد)	تعداد تخم آبکشیده در گرم (عدد)	اندازه تخم تازه استحصال شده (میکرون)	اندازه تخم آبکشیده (میکرون)	درصد لقاح	درصد تخم‌گشایی	بازماندگی لارو (درصد)
٢٣	٨٧	١۶/٨٨±٠/٢١	۴٨٠±٣٢	٢٨٧±٢۵	١٢۴٨±۴۵	٢١٠٠±١٢۵	٧٧/٢٢±٣/١	٨١/٢±١/٨٩	٨٣/۴±٢

بحث

اکثر کپور ماهیان در شرایط اسارت به مرحله تخمریزی نمی‌رسند (Yaron, 1995 ;Mylonas *et al*., 2009). در این ماهیان پس از طی فرآیند زرده‌سازی، مرحله گامتوژنز و اوولاسیون بخوبی طی نمی‌شود (Mylonas & Zohar, 2007). ضرورت استفاده از تحریک کننده‌های تخمریزی برای مثال هیپوفیز، HCG و GnRHa در کپور ماهیان به اثبات رسیده است (Peter *et al*.,1988 ;Weil *et al*., 1986). ماهی گطان بدون تزریق هورمون به مرحله رسیدگی کامل جنسی و انجام تخمریزی نرسید ولی به تزریق عصاره غده هیپوفیز جواب مثبت نشان داد و ماهیان توانایی تخمریزی پیدا کردند. در این تحقیق موفقیت تخمریزی در ماهیان گطان در روش دو مرحله‌ای بالا بود که این نتایج با تحقیقات Al Hazzaa و Hussein (٢٠٠٣) روی ماهی حمری (*Barbus lutes*) مشابه بود. اکثر محرکهای خارجی در بعضی گونه‌های کپور ماهیان پس از تحریک دوم نقش القائی دارند ولی در بعضی گونه‌ها از جمله کپور ماهیان چینی القاء رسیدگی جنسی تک مرحله‌ای می‌باشد (Al Hazzaa & Hussein, 2003). در تحقیقی که روی مولدین بنی انجام گرفت، درصد لقاح و درصد تخم‌گشایی در نوع دو بار تزریق با هیپوفیز بترتیب ۶٣/٣٣ درصد و ۶/ ٧۶ مشاهده شد (محمدیان و همکاران، ١٣٨٨). همچنین در بررسی تخمریزی ماهی کپور معمولی با تزریق عصاره هیپوفیز در دو مرحله مشاهده شد که ۴٣ درصد مولدین ماده به تزریق ٣ میلی‌گرم هیپوفیز برای هر کیلوگرم وزن، جواب مثبت دادند (Dorafshan *et al*., 2003) که میزان این شاخص‌ها کمتر از مولدین گطانی بود که در این تحقیق بررسی شد، در حالی که در تزریق دو مرحله‌ای با استفاده

از هیپوفیز در کپور معمولی، ۹۰ درصد ماهیان جواب مثبت دادند (Arabaci & Sari, 2004).

براساس منابع موجود، مدت زمان دوره پنهان در کپور معمولی ۱۴-۱۲ساعت (Arabaci & Sari, 2004) و ۱۲-۱۰ ساعت (Dorafshan *et al*., 2003)، ماهی سفید ۵۶ ساعت (Heyrati *et al*., 2007) و ماهی بنی ۲۴/۲۵ساعت (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸) می‌باشد در حالی که این مدت زمان در گطان ۱۶ ساعت مشاهده شد که نزدیک به کپور معمولی و از ماهی بنی و ماهی سفید کمتر می‌باشد. به نظر می‌رسد دلیل این تفاوت را می‌توان در نوع گونه و دما جستجو کرد، تکثیر ماهی گطان در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد انجام گردید ولی تکثیر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) در دمای ۱۵-۷ درجه سانتیگراد صورت می‌گیرد (Heyrati *et al*., 2007).

نتایج بدست آمده در تعیین بیوتکنیک تکثیر ماهی گطان، می‌تواند در توسعه بازسازی ذخایر این گونه و همچنین تکثیر و پرورش آن مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از ریاست محترم مرکز آبزی پروری جنوب کشور و معاون تحقیقاتی ایشان جناب آقایان دکتر جاسم غفله مرمضی و مهندس اسکندری و همچنین سایر همکاران در بخش آبزی‌پروری که در انجام این پروژه همکاری کردند، تشکر وقدردانی می‌نماییم.

منابع

اسکندری، غ.؛ صفی‌خانی، ح.؛ دهقان، س.؛ امیری‌نیا، س.؛ اسماعیلی، ف.؛ میاحی، ی.؛ شکیبا، غ. و کر، د.، ۱۳۷۷. بررسی بیولوژی ماهی گطان*Barbus xanthopeterus* در جنوب رودخانه کرخه و هورالعظیم در خوزستان. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز آبزی‌پروری جنوب کشور. ۹۱ صفحه.

محمدیان، ت.؛ کوچنین، پ.؛ نیکو، س.؛ شیخ‌الاسلامی، م.؛ بیتا، م.؛ اسکندری،غ. و ابهری، ح.، ۱۳۸۸. مقایسه تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون به روش لینپه، با عصاره هیپوفیز ماهی کپور معمولی بر شاخص‌های تولید مثلی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی ایران، دوره پنجم، شماره ۱، صفحات ۷۰ تا ۸۰.

مرتضوی‌زاده، س.ع.؛ معاضدی، م.؛ شریفیان، م. و بساک کاهکش، ف.، ۱۳۸۴. بررسی امکان تکثیر مصنوعی ماهی گطان (Barbus *xanthopterus*). موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۳۴ صفحه.

نجف‌پور، ن.؛ المختار، م.؛ نیک‌پی، م.؛ اسکندری، غ.؛ میاحی، ی. و شکیبا،غ.، ۱۳۷۶. شناسایی برخی از ماهیان آب شیرین استان خوزستان. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات شیلات استان خوزستان. ۹۵ صفحه.

Al Hazzaa R. and Hussein A., 2003. Initial observation in Himiri (*Barbus lutes* Heckel) propagation. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 3:41-45.

Al Mukhtar M.A., Al Noor S.S. and Saleh J.H. 2006. General reproduction biology of Bunnei (*Barbus sharpeyi* Gunther, 1874) in Al Huwaizah Marsh, Basra-Iraq. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science, 6:149-153.

Arabaci M. and Sari M., 2004. Induction of ovulation in endemic pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi*), living in the highly alkaline Lake Van, using GnRHa([D-Ser(tBu)6,Pro9-Net]-GnRH) combined with haloperidol. Aquaculture, 238:529–535.

Boleslaw A.V., 1982. Artificial spawning and greending of hatchling of *Barbus xanthopterus*. Four Congress of European Ichthyologist.

Coad B.W,, 1995. Aprovisional annotated check list of the freshwater fishes of Iran. Journal of Bombay Natural History Society, 76(1):86-105.

Dorafshan S., Mostafavi H. and Amiri B.M., 2003. Induction of spawning in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitaryextract and GnRH analogue in combination with Domperidone. Iranian Journal of Biotechnology, 1:213–217.

Drori S., Ofir M., Sivan B.L. and Yaron Z., 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metho-clopramide: Analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture, 119:393-407.

Heyrati F.P., Mostafavi H., Toloee H. and Dorafshan S., 2007. Induced spawning of kutum (Kamenskii, 1901) using (D-Ala^6 , Pro^9 – Net) GnRHa combined with domperidone. Aquaculture, 265:288-293.

Kulikovsky Z., Martin F.J.B and Yaron Z., 1996. A comparison of two spawning inducing agent for common carp. Israel Journal Aquaculture, Bamidgeh,48:108-111.

Leroy Creswell R., 2000. Aquaculture Desk. Reference. Florida Aqua Farm Inc. 206P.

Qasim H. and Niazi A.M., 1975. The osteology of *Barbus xanthopterus* and *B. shamori* with special reference to their lateral center. Baghdad, Iraq. 6(1):73-77.

Jivar S., 1974. Age and growth rate of *Barbus xanthopterus*, *Barbus grypus*, *Barbus luteus* and *Aspius vorax* in lakes of middle Iraq. Forth Congress of European Ichthyological, Hamburg.

Mylonas C.C., Fostier A. and Zanuy S., 2009. Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. Aquaculture, 197:99-136.

Mylonas C.C. and Zohar Y., 2007. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. Review. Fish Biology and Fisheries. 10:463-491.

NACA, 1989. Intergrated fish farming in China. NACA Tech. Manual 7, Bongkok, Thailand. 359P.

Pyka J., Bartel R., Szczerbowski A. and Epler P., 2001. Reproduction of gattan (*Barbus xanthopterus*), shabbout (*Barbus grypus*) and bunni (*Barbus sharpeyi*) and rearing stocking material of these species. Archives of Polish Fisheries, 9(Suppl.1):235-246.

Peter R.E., Lin H.R. and Van Der Kraak G., 1988. Induced ovulation and spawning in cultured fresh water fish in China: Advanced in application of GnRH analogue and dopamine antagonists. Aquaculture, 74:1–10.

Sahinoz E., Dogu Z. and Aral E., 2007. Embryonic and pre-larval development of shabbout (*Barbus grypus* H.). The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh. 59(4):235-238.

Yaron Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in carp. Aquaculture, 129:49-73.

Weil C., Fostier A. and Billard R., 1986. Induced spawning (ovulation & spermiation) in carp & related species. *In:* (R. Billard and J. Marcel eds.), Aquaculture of Cyprinids. INRA, Paris, France. pp.119-137.

Determination of artificial propagation biotechnic of *Barbus xanthopterus*

Mortezavi Zadeh S.A.[(1)]*; Moazedi J. [(2)]; Yooneszadeh Feshalami M.[(3)] and Jorfi E.[(4)]

saheb.mortezavi@gmail.com

1,3,4- South Aquaculture Research Center, P.O. Box: 61645-866 Ahwaz, Iran

2-Iranian Fisheries Research Organization, P.O. Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: May 2010 Accepted: September 2010

Keywords: Aquaculture, Propagation, Broodstock, Spawning

Abstract

This project was carried out in the year 2003 in Khuzestan province waters to determine the best artificial propagation techniques for mass production of *Barbus xanthopterus*. The fish is one of the most valuable and economic species in the area. The propagation was started in late March and continued till late April while suitable temperature was 21-24.5˚C. A number of 23 female broodstock with mean weight and length 3.85±0.45kg and 64.95±21cm respectively with a sex ratio of 2:1 male to female were used in the process. The amount of hypophysis injection was 4mg/kg weight of fish and two injections with 10-12 h interval to 10:90 were undertaken. Spawning success was 87% in broodstock. Latency period was 15-17h and the incubation duration was 59-60h in 23-25˚C.The fish eggs has a low stickiness and the count of dry and water-absorbed eggs were 480±32 and 287±25g, respectively. In the twice-injected broodstock, the fertilization rate was 77.22±3.1%, the hatching rate was 81.2 ±1.89% and the survival rate was 83.4±2%. Size of the dry and water-absorbed eggs was 1248±45 and 2110±125, respectively. Washing time with fertilization liquid was 10 min for removing stickiness. In the end, 660 thousand larvae were produced and released to earthen ponds for culture.

*Corresponding author