

تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان، *Schizothorax zarudnyi* با استفاده از هورمون های سنتتیک

احمد قرایی^{۱*}، عبدالعلی راهداری^۲، مصطفی غفاری^۱

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

۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۲

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۱۹

چکیده

در این تحقیق امکان تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان با استفاده از هورمون های القایی تکثیر (ovaprim[®] و hCG) به منظور دستیابی به بیوتکنیک تکثیر مصنوعی بررسی شد. تعداد ۴۴ قطعه مولد ماده و ۵۳ قطعه مولد نر به ترتیب با میانگین وزنی 1328 ± 45 و $632 \pm 17/6$ گرم صید شده از چاه نیمه های سیستان انتخاب و بطور تصادفی در ۵ گروه تیماری تقسیم شدند. گروه های تیماری شامل: ۱- مولدین دریافت کننده هورمون ovaprim که در چهار مرحله به ترتیب با دوزهای ۲، ۵، ۵ و ۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی ماده و مولدین نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها به میزان ۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند، ۲- مولدین دریافت کننده ترکیبی از هورمون های ovaprim و hCG در سه مرحله به ترتیب با دوزهای ۲، ۵ و ۵ میلی لیتر و ۲۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین المللی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی ماده و مولدین نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها به میزان ۳ میلی لیتر ovaprim و ۱۵۰۰ واحد hCG به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند، ۳- مولدین دریافت کننده ترکیبی از هورمون های ovaprim و hCG در چهار مرحله به ترتیب با دوزهای ۲، ۵، ۵، ۳ میلی لیتر و ۲۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰ و ۳۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی ماده تزریق گردیدند. مولدین نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها به میزان ۳ میلی لیتر ovaprim و ۲۰۰ واحد hCG به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شدند، ۴- مولدین دریافت کننده هورمون hCG در سه مرحله به ترتیب با دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰ و ۸۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی ماده تزریق شدند. مولدین نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها به میزان ۵۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید. ۵- مولدین شاهد که به این مولدین محلول کلرید سدیم به میزان ۳ میلی لیتر به ازای وزن بدن آنها تزریق شد. نتایج به دست آمده نشان داد که بین گروه دریافت کننده ovaprim با گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$) و ovaprim می تواند بعنوان یک القاء کننده مناسب جهت تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان عمل نماید.

واژگان کلیدی: ماهی سفیدک، *Schizothorax zarudnyi*، تکثیر مصنوعی، هورمون های سنتتیک.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: agharaei551@gmail.com

۱. مقدمه

ماهیان زیرخانواده Schizothoracinae که متعلق به خانواده کپورماهیان می‌باشند به لحاظ داشتن دو سری فلس بزرگ در دوطرف مجرای تناسلی و مخرج از بقیه ماهیان متمایز هستند و بومی فلات مرکزی آسیا محسوب می‌شوند (Chen and Chen, 2001). ماهی سفیدک سیستان (*Schizothora x zarudnyi*, Nikolskii, 1897) بومی جنوب شرق ایران (تالاب هامون) می‌باشد. این ماهی در گویش محلی منطقه سیستان ماهی سفیدک و وطنی خوانده می‌شود و بیش از هر ماهی دیگری مورد پسند مردم می‌باشد. در محیط طبیعی این ماهی در دمای ۱۴ تا ۱۸ درجه سانتیگراد و هنگام جریانهای سیلابی رودخانه هیرمند تخم ریزی می‌کند. خشکسالی‌های پی‌درپی و ورود گونه‌های غیربومی مانند کپورماهیان چینی به تالاب هامون باعث شد تا به تدریج از جمعیت این ماهی کاسته شود و هم‌اکنون پراکنش آن محدود به مخازن چاه نیمه‌های سیستان می‌باشد.

از آنجا که ماهی سفیدک در اسارت به طور طبیعی تخم‌ریزی نمی‌کند، بنابراین جهت حفظ این گونه ارزشمند باید از تکنیک‌های هورمونی برای القای تخم‌ریزی مصنوعی بهره برد. یکی از مشکلات بسیار اساسی در بحث آبی‌پروری کپورماهیان بدست آوردن گامتهایی با کیفیت مناسب می‌باشد (Kulikovsky et al., 1997; Horvath et al., 1996). به همین دلیل آزمایشات هورمونی زیادی جهت تحریک و القاء رسیدگی گامتها در گونه‌های تجاری کپورماهیان انجام شده است. یکی از معمولترین موادی که در القای تخم‌ریزی بکار می‌رود عصاره هیپوفیز است که در برخی موارد گنادوتروپین جفت انسانی (hCG) هم به آن افزوده می‌شود (Kucharzyk et al., 1997a). همچنین القای اوولاسیون کپورماهیان با استفاده از آنالوگ سنتتیک هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) همراه با ضدوپامین های قوی نتایج قابل قبولی به همراه داشته است (Barth et al., 1997). مشکل اشاره شده در تخم‌ریزی مصنوعی کپورماهیان

وحشی که اکثراً از محیطهای طبیعی صید می‌شوند، ملموس‌تر است. از آنجا که بسیاری از ذخایر وحشی کپورماهیان منقرض می‌شوند، نیاز به توسعه سریع تکنیکهای تکثیر این ماهیان تحت شرایط کنترل شده وجود دارد.

براساس تجارب بدست آمده از تفریخگاه های کپورماهیان به خصوص در مورد گونه های وحشی، یکی از مشکلات اصلی عدم انجام اوولاسیون می باشد (Kucharzyk, 2002). روشهای مختلفی برای القای تخم‌ریزی مصنوعی ماهیان بکار رفته‌اند. از بین عصاره هیپوفیز، گنادوتروپین جفت انسانی (hCG)، گنادوتروپین (GTH)، هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) و آنالوگهای GnRH، استفاده از GnRH و آنالوگهای آن نسبت به فرآورده‌های GTH مزایای بیشتری دارند. GnRH قادر است تحریک متوازن تری در رخدادهای تولیدمثلی ایجاد نموده و ارتباط متقابل بهتری بین این رخدادهای و سایر اعمال فیزیولوژیکی ایجاد کند. این کار بطور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق آزادسازی سایر هورمون های ضروری جهت رسیدگی نهایی موفق اووسیت و تخم‌ریزی در ماهیان انجام می‌شود (Zohar and Mylonas, 2001). هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) محرک اصلی آزاد شدن هورمون محرک فولیکول (FSH= GTHI) و هورمون آزاد کننده (LH= GTHII) در ماهیان استخوانی می‌باشد (Van Der Kraak et al., 1998). علاوه بر نقش تحریک کنندگی هیپوتالاموس که به آن اشاره شد، در ماهیان استخوانی هیپوتالاموس نقش دیگری هم دارد که کنترل یا بازدارندگی ترشح LH می‌باشد. این فاکتور بازدارنده ترشح گنادوتروپین، دوپامین نامیده می‌شود (Peter et al., 1986). دوپامین مستقیماً مانع آزاد شدن LH در بسیاری از ماهیان استخوانی مانند ماهی طلایی (Carassius auratus; Peter et al., 1991)، کپور معمولی (Cyprinus carpio; Billard et al., 1983)، مارماهی اروپایی (Anguilla anguilla; Dufour et al., 1988)، گربه ماهی (Claris gariepinus; De

Argyrosomus hololepidotus, (and Talbot 1992) و *Sillago ciliata* (Battaglène and Talbot, 1994) استفاده گردیده است. در کپورماهیان hCG به تنهایی معمولاً موثر نیست. (Kucharczyk et al. 1997a,b) و تنها در گونه های محدودی مانند rudd نتایج بدست آمده رضایت بخش بوده است (Kucharczyk et al, 1997c). مقدار دوز hCG مورد استفاده بسیار متفاوت بوده است؛ از 300 IU Kg⁻¹ تا 4000 IU Kg⁻¹ (Battaglène, 1996) (Battaglène, Selosse 1996, Kucharczyk et al., 1997c). بعلاوه تزریق توام hCG و عصاره هیپوفیز در بسیاری از کپورماهیان موثر بوده است.

با توجه به این که در زمینه بیوتکنیک تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان در کشور تنها یک گزارش وجود دارد که از تعداد ۱۳ مولد تزریق شده فقط یک مولد تخم ریزی نموده است (Aquaculture development in Sistan-) (Baluchestan, 2006)، و در خارج کشور نیز تکثیر مصنوعی این گونه گزارش نشده است؛ هدف از این مطالعه تکثیر مصنوعی این ماهی به منظور تعیین بهترین نوع و دوز موثر هورمون های سنتتیک جهت رسیدن به حداکثر تخم دهی، کارآیی لقاح و تولید لارو می باشد.

۲. مواد و روش ها

تعداد ۴۴ قطعه مولد ماده ماهی سفیدک با وزن تقریبی 45 ± 1328 گرم و ۵۳ قطعه مولد نر با وزن تقریبی $17/6 \pm 632$ گرم از چاه نیمه های سیستان توسط تور گوشگیر صید و به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی زهک (سیستان) منتقل و با شرایط استخرهای پرورشی سازگار شدند. در بهمن ماه همزمان با شروع فصل رسیدگی جنسی، مولدین به طور مداوم مورد بررسی قرار می گرفتند و مولدین ماده ای که دارای شکم برآمده، منفذ تناسلی قرمز و برجسته و ماهیان نری که یا در روی پوزه آنها برجستگی های جنسی با دست قابل لمس بود و یا با

(Leeuw et al., 1986) و تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*; Levavi-Sivan et al., 1995) می گردد. معمولاً رسیدگی نهایی اووسیت و تخم ریزی در این گونه ها بعد از تیمار آنها با ترکیبی از GnRH و یک ضد دوپامین حاصل می گردد.

دو تا از هورمون های مترشحه از هیپوفیز به نام های FSH و LH همراه با هورمون محرک تیروئید و گنادوتروپین جفت انسانی ساختاری تقریباً مشابه داشته و هورمون های گلیکوپروتئین خوانده می شوند (Pierce and Parsons, 1981). فعالیت زیستی هورمون های گنادوتروپین به چند عامل بستگی دارد: طول مدت دوره های که هورمون در چرخه حضور دارد (نیمه عمر)، پیوند با گیرنده های ویژه و فعالیت مکانیسم های انتقال سیگنال درون سلولی که منجر به پاسخ بیولوژیکی می گردد (Hearn and Gomme 2000). نیمه عمر هورمون های گنادوتروپین در جریان خون اساساً بوسیله درجه گلیکولیزاسیون تعیین می گردد. همین امر یکی از دلایل اصلی استفاده از هورمون جفت انسانی در درمان هورمونی انواع نقص های تولیدمثلی از جمله در پروتوکل های القای تخم ریزی ماهی می باشد. هورمون جفت انسانی (hCG) بالاترین درجه گلیکولیزاسیون را در بین هورمون های گنادوتروپین دارد و نسبت به هر نوع گلیکوپروتئین دیگری بیشترین مقاومت در برابر تجزیه داشته و بنابراین مدت اثر آن طولانی تر است. هورمون جفت انسانی با گیرنده های مشابه LH پیوند برقرار می کند. همین امر مهمترین دلیلی است که استفاده از hCG را بعنوان یک درمان هورمونی جهت القای تخم ریزی در ماهی توجیه می کند، زیرا hCG می تواند وظایفی مشابه LH ایفا و بنابراین تخمک ریزی و اسپرم ریزی را در ماهیان تحت اسارت القا می کند (Cabrita et al., 2008).

hCG به تنهایی معمولاً برای گونه های دریایی که در یک فصل چندین بار تخم ریزی می کنند از قبیل *Pagrus auratus* (snapper) (Battaglène)

انجام آزمایشات از دو نوع هورمون؛ ovaprim و hCG استفاده شد به طوری که هر میلی لیتر از ovaprim مصرفی دارای ۲۰ میکروگرم آنالوگ GnRH آزادماهیان و ۱۰ میلی گرم ضد دوپامین دامپریدون (domperidone) بود. ماهیان در هنگام دستکاری (علامتگذاری، تزریق هورمون، بررسیهای پس از آن و تخم کشی) با استفاده از عصاره گل میخک بیهوش گردیدند. سپس مطابق جدول ۱ مولدین تحت تزریق در دوزهای مختلف طی دفعات متفاوت قرار گرفتند.

فشار ملایم به شکم مقداری اسپرم از آنها خارج می شد از استخر حاکی پرورشی انتخاب و به سالن تکثیر منتقل شدند. ماهیان نر و ماده در سالن تکثیر وزن کشی و علامتگذاری شده و در حوضچه های مجزا به مدت ۲۴ ساعت جهت سازگاری با شرایط سالن تکثیر و رفع استرس نگهداری می شدند.

در این تحقیق ماهیان مولد به پنج گروه (گروههای یک، دو و سه هر کدام تعداد ۱۲ قطعه مولد ماده و ۱۵ قطعه مولد نر و گروههای چهار و پنج (کنترل) هر کدام تعداد ۴ قطعه مولد ماده و ۴ قطعه مولد نر مطابق جداول ۱ و ۲ تقسیم شدند. برای

جدول ۱. میانگین وزنی و طولی مولدین ماده گروههای مختلف

گروه	۱	۲	۳	۴	۵
میانگین وزنی (گرم)	۱۳۷۵±۱۰۸/۸۴	۱۴۶۳/۳۳±۷۲/۸۱	۱۲۵۷/۵±۷۲/۶۵	۱۰۵۰±۸۶/۶۰	۱۲۷۰±۱۳۶/۵۶
میانگین طولی (سانتیمتر)	۵۰/۶۷±۱/۲۶	۵۰/۷۵±۰/۹۷	۴۸/۵۸±۰/۷۸	۴۵/۷۵±۱/۸۸	۴۹±۲/۱۹

جدول ۲. میزان و دفعات تزریق مولدین ماده شیزوتوراکس با استفاده از هورمون های ovaprim و hCG

گروهها	نوع هورمون	واحد	دوز تزریق به ازای هر کیلوگرم وزن زنده				تعداد ماهی	فاصله دو تزریق (ساعت)
			نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم		
۱	Ovaprim	ml/kg	۲	۵	۵	۳/۰	۱۲	*۲۴
۲	Ovaprim	ml/kg	۲	۵	۵	۰	۱۲	۲۴
	hCG	IU/kg	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۰		
۳	Ovaprim	ml/kg	۲	۵	۵	۳/۰	۱۲	۲۴
	hCG	IU/kg	۲۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۳۰۰		
۴	hCG	IU/kg	۴۰۰	۸۰۰	۸۰۰	۰	۴	۲۴
۵ (کنترل)	NaCl	ml/kg		۳/۰			۴	

*به استثنای فاصله تزریق سوم و چهارم که ۱۲ ساعت بوده است.

مشاهده شده در ظاهر مولدین مانند شل شدن شکم و بیرون آمدگی منفذ تناسلی زمان بررسی کوتاهتر (تا ۴ ساعت) می گردید. ماهیانی که اوولاسیون در آنها اتفاق افتاده بود و تخم با فشار اندک از بدن آنها خارج می شد انتخاب و با روش لقاح خشک تخم گیری (حجم تخم خشک اندازه گیری می گردید) و لقاح انجام گرفت. رفع چسبندگی به مدت نیم ساعت با آب

کلیه ماهیان نر همزمان با تزریق مرحله دوم ماده ها تزریق شدند (جدول ۲). سپس ماهیان نر به یک حوضچه گرد واقع در سالن تکثیر منتقل شدند. جریان ملایم آب بصورت مدور برقرار گردید و جهت جلوگیری از بیرون پریدن ماهیان روی حوضچه با توری پوشانده شد. بعد از تزریق مرحله دوم ماهیان هرچند ساعت بررسی می شدند. بر اساس تغییرات

چشم زدگی وارد ترفاف شده و تا مرحله جذب کیسه زرده در این انکوباتورها قرار داشتند. در پایان درصد تبدیل تخم چشم زده بواسطه تعداد لارو بدست آمده، تعیین شد.

معمولی انجام و سپس تخم ها به انکوباتورهای ویس منتقل و تا مرحله چشم زدگی در این انکوباتورها نگهداری شدند. در پایان مرحله چشم زدگی شمارش تخم های چشم زده صورت گرفته و درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده تعیین شد. تخمها از مرحله

جدول ۳. میزان و دفعات تزریق مولدین نر شیزوتوراکس با استفاده از هورمون های ovaprim و hCG

تعداد ماهی	دوز تزریق به ازای هر کیلوگرم وزن زنده	واحد	نوع هورمون	گروهها
۱۵	۳/۰	ml/kg	ovaprim	۱
۱۵	۳/۰	ml/kg	ovaprim	۲
	۱۵۰۰	IU/kg	hCG	
۱۵	۳/۰	ml/kg	ovaprim	۳
	۲۰۰	IU/kg	hCG	
۴	۵۰۰	IU/kg	hCG	۴
۴	۳/۰	ml/kg	NaCl	۵

بود. تخم ها در دمای ۱۷/۳ درجه سانتیگراد پس از ۱۳۵ ساعت به مرحله چشم زدگی رسیده، سپس تخم های چشم زده به ترفافهای کالیفرنایی منتقل شدند. هیچ تخم ها در دمای ۱۸/۳ تا ۱۸/۵ درجه سانتیگراد پس از حدود ۲۴ تا ۴۸ ساعت کامل شد. سینی های ترفاف برداشته شده و تعداد تخم های مرده هر مولد شمارش و براساس آن میزان لارو حاصل از هر مولد شمارش شد.

در گروه دو نسبت تخمیزی، هماوری کاری، هماوری نسبی، درصد تبدیل تخم خشک به چشمزده و تخم چشمزده به لارو محاسبه شد. از ۱۲ قطعه مولد موجود در این گروه، تعداد ۳ قطعه مولد به درمان جواب دادند که از این بین فقط در یک مولد تخمکریزی به صورت کامل انجام گردید. علاوه بر پایین بودن پارامترهای تخمیزی از جمله نسبت تخمیزی، سایر مولدین هم بعد از دریافت هورمون دچار تغییرات نامطلوبی از قبیل تیرگی شدید رنگ بدن، متورم شدن بیش از حد شکم در ناحیه حد فاصل باله سینه ای و باله مخرجی گشته و فشار ناحیه شکمی موجب خروج خون از منفذ تناسلی و خروج

به منظور تجزیه و تحلیل دادهها و تعیین سطوح اختلاف بین گروههای تیماری از آزمون آنالیز یک طرفه واریانس (ANOVA) ($P < 0.05$) و برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون توکی در محیط نرم افزار SPSS ویرایش دهم استفاده شد.

۳. نتایج

در گروه یک بیشترین نسبت تخمیزی، هماوری کاری، هماوری نسبی، درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده و تخم چشم زده به لارو نسبت به سایر گروهها بدست آمد که دارای اختلاف معنی داری با گروههای دیگر بود ($P < 0.05$) ولی دوره پنهان در این گروه طولانی تر از سایر گروهها بود. همچنین حجم تخم دهی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از گروه دوم کمتر و از گروه سوم بیشتر بود (جدول ۴). تخمک های بدست آمده در این گروه بزرگتر از سایر گروهها و در نتیجه تعداد تخمک در هر میلی لیتر کمتر از سایر گروهها بود. کیفیت ظاهری تخمک بدست آمده خوب و تخم کشتی راحت و آسان مولدین و خالی شدن کامل شکم حاکی از اوولاسیون نسبتاً کامل آنها

حاکی از تاثیر هورمون باشد مشاهده نشد و وضعیت مولدین کاملاً مشابه با قبل از انجام تزریق بود. در گروه کنترل در طی دوره تیمار هیچ گونه تغییری در مولدین مشاهده نشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق موفقیت تخمیریزی که با شاخصهای ماهیان تخمیریزی کرده و نسبت تخمیریزی ارائه شده است نشان می دهد که میزان این شاخص ها در گروه اول بیشتر از سایر گروهها است (جدول ۳) به طوری که ۸۳ درصد از ماهیان تزریق شده تخمیریزی کرده اند. در این گروه از ovaprim استفاده شد که ترکیبی از GnRH آزادماهیان و ضددوپامین دامپریدون می باشد (به ترتیب ۲۰ میکروگرم و ۱۰ میلی گرم در هر میلی لیترا). آنالوگهای GnRH حاوی ضد دوپامینهای قوی، معمولاً در تحریک گونه های وحشی و پرورشی بسیار موثر هستند (Kulikovsky et al., 1996, Barth et al., 1997). در کپورماهیان، عمل بازدارندگی دوپامین بر ترشح LH بسیار قوی است و استفاده از داروهای ضد دوپامینی به صورت ترکیبی با آنالوگهای GnRH جهت القای اوولاسیون مولدین ضروری است (Peter et al., 1986; Zohar and Mylonas, 2001; Mikolajczyk et al., 2003). استفاده از داروهای ضد دوپامینی برای تقویت عمل تحریک کنندگی GnRH یا آنالوگهای آن و القای اوولاسیون در ماهی، روشی معروف و متداول در آبی پروری سراسر دنیا به ویژه آسیا و اروپای مرکزی می باشد (Peter et al., 1986; Peter and Yu, 1997). از سالهای نخست دهه ۱۹۸۰ که پدیده بازدارندگی دوپامینی ترشح گنادوتروپین در ماهی کشف شد (Chan et al., 1984) تاکنون، گزارش های زیادی در زمینه استفاده از آنالوگهای مختلف GnRH و داروهای مختلف ضددوپامینی در القای نهایی رسیدگی جنسی و تخمیریزی گونه های بسیار متعددی از ماهیان منتشر شده است (Peter et al., 1986a; Sokolowska et al., 1988; Lin et al., 1988).

تخم بصورت توده ای و همراه با لخته خون می گشت. مدت زمان به هوش آمدن و برگشت به حالت عادی پس از بیهوشی بسیار طولانی تر از گروه یک بود. تخم بدست آمده از سه مولد مذکور دارای رنگ متمایل به سفید خامه ای بود که با رنگ تخم مولدین گروه یک (متمایل به نارنجی) متفاوت بوده و همچنین مایع تخمدانی آبکی بود. علیرغم پایین بودن شاخص های تخمیریزی، کوتاهترین دوره پنهان مربوط به ماهیان این گروه بود. تخمها در دمای ۱۸/۲ درجه سانتیگراد پس از ۱۴۴ ساعت به مرحله چشم زدگی رسیده، سپس تخمهای چشم زده به ترافهای کالیفرنایی منتقل شدند. هیچ تخمها در دمای ۱۹/۵ درجه سانتیگراد پس از حدود ۲۲ تا ۳۵ ساعت کامل شد. سینی های تراف برداشته شده و تعداد تخمهای مرده هر مولد شمارش و براساس آن میزان لارو حاصل از هر مولد شمارش شد.

در گروه سه نسبت تخمیریزی، همآوری کاری، همآوری نسبی، درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده و تخم چشم زده به لارو بدست آمد. از ۱۲ قطعه مولد موجود در این گروه، تعداد ۵ قطعه مولد به درمان جواب دادند که از این بین فقط در یک مولد تخمک ریزی به صورت کامل انجام گردید. تخمکشی از بقیه مولدین به سختی، در یک مورد توام با خونریزی و در یک مورد توام با بیرون زدگی یک چشم همراه بود. تخمها در دمای ۱۷/۴ درجه سانتیگراد پس از ۱۲۵ ساعت به مرحله چشم زدگی رسیده، سپس تخمهای چشم زده به ترافهای کالیفرنایی منتقل شدند. هیچ تخمها در دمای ۱۷/۲۵ پس از حدود ۷۲ ساعت کامل شد. سینی های تراف برداشته شده و تعداد تخمهای مرده هر مولد شمارش و براساس آن میزان لارو حاصل از هر مولد شمارش شد.

در گروه چهار پس از انجام تزریقات مراحل مختلف و با گذشت چندین ساعت از زمان آخرین تزریق هیچ گونه تغییری در وضعیت مولدین که

معنی دار و اختلاف بین سایر گروهها قابل ملاحظه نبود.

اندازه تخم یکی از پارامترهای کیفیت تخم محسوب می شود. معمولاً تخم هایی بزرگتر دارای کیسه زرده بزرگتری هستند که باعث بقای افزونتر لارو می گردد (Blaxter, 1969). اندازه تخم تحت تاثیر عوامل مختلفی می باشد که عمدتاً عبارتند از: وضعیت تغذیه‌ای مولد مادر، اندازه و سن مولد مادر، نوع تخم ریزی (تخم کشی، طبیعی، القا شده و غیره) یا زمان تخم ریزی (ابتدا، وسط یا پایان فصل تخم ریزی) (Bromage and Roberts, 1994). با توجه به نبود اختلاف قابل ملاحظه در اندازه تخم ها بین گروه های تیماری و به ویژه مشخص نبودن سن مولدین نمی توان علت اختلاف اندک مشاهده شده را تفسیر نمود. ولی آنچه که مسلم است این است که تخمک های گروه یک از نظر رنگ و مایع تخمدانی همراه شان کاملاً با گروه دو متفاوت بودند. رنگ تخمک های گروه یک زرد متمایل به ارغوانی یا قرمز بودند در حالیکه تخمکهای گروه دو متمایل به سفید و گروه سه حد واسط دو گروه فوق به طوریکه در اولین مشاهده تفاوت فاحش رنگ ظاهری تخمک های گروه یک که شبیه به تخمکهای ماهی در هنگام کالبدگشایی بود نمایان بود. مایع تخمدانی گروه یک نیز غلیظ و با گروه دو که کاملاً آبکی بود به وضوح تفاوت داشت. علاوه بر اینها تخم کشی در گروه یک به آسانی انجام شد و تغییرات منفی در ماهی مشاهده نشد در حالیکه در گروه های دو و سه و به ویژه گروه دو تغییرات منفی شدیدی در بدن ماهی رخ داد و تخم کشی نیز همراه با خونابه و خروج لخته ای تخم همراه بود. با توجه به انتخاب تصادفی مولدین نمی توان این نتایج را به نوع مولد یا زمان تخم کشی ارتباط داد و همه نتایج و شواهد حاکی از آن است که hCG با دوز بالا عامل بروز این تغییرات منفی در ماهی بود چرا که در تیمار چهار که فقط از hCG ولی با دوز پایین استفاده شد هیچ گونه تغییرات منفی در ماهی بروز نکرد ضمن اینکه هیچ مولدی تخم نداد.

براساس تحقیقات گسترده بر روی کپورماهیان، Peter و همکاران (1998) روشی موسوم به روش "لینپه" را تعریف نمودند که در این روش آنالوگ LH-RH با یک ضدووپامین ترکیب می شود. ovaprim بر اساس همین روش ساخته شده است. Nandesha و همکاران (1990b) پاسخ مثبت مریگال به ovaprim با دوز ۳ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم را گزارش دادند که نشان دهنده توانایی این دارو برای القای تخم ریزی است. دوز هورمونی توصیه شده برای کپور ها ۳ تا ۴/۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم می باشد (Nandeeshha *et al.*, 1993).

درصد لقاح معمولاً نشان دهنده درصد تخمهای لقاح یافته می باشد که براساس درصد تخمهای دارای جنین محاسبه می گردد و به همین منظور از تخمهای شناور درون انکوباتورها نمونه برداری می شود. با اینحال، در برخی از ماهیان مانند توربوت^۱ و هالیبوت^۲ اطلس^۲ درصد لقاح از شمارش تخمهای در حال رشد و نمو جنینی که در مرحله ۸ سلولی هستند با کسر تخم های غیرشناور بدست می آید (Kjorsvik *et al.*, 2003, Brown *et al.*, 2006). با توجه به اینکه دوره تخم گشایی در ماهی سفیدک طولانی (۱۴۰ تا ۱۷۰ ساعت) می باشد و در تمام این مدت احتمال مرگ تخمها به علل مختلف وجود دارد و از طرفی نمونه برداری و شمارش تخم های لقاح یافته درون انکوباتورها بازگو کننده تخمهایی که در نهایت چشم زده و تبدیل به لارو می شدند نیست، در مرحله چشم زدگی، درصد تخم خشکی که تبدیل به چشم زده شده اند، تعیین شد. در واقع تخمهای مرده و چشم زده به راحتی قابل تشخیص و تفکیک بودند و بنابراین معیار خوبی از نتیجه لقاح می باشد. این درصد در گروه یک بیشترین (بالای ۸۸ درصد) و در گروه دو کمترین مقدار را داشت. البته اختلاف بین گروه یک با کنترل

1. Turbot
2. Atlantic halibut

هورمون های گنادوتروپین خارجی یک پروسه منفرد می باشد (Kucharczyk et al., 2005).

در مورد حجم اسپرم نیز مشخص شد که حجم اسپرم ماهی سفیدک در این تحقیق پس از دریافت هورمون افزایش یافت، به طوریکه قبل از دریافت هورمون خروج میل از بدن به سختی و به میزان اندکی صورت می گرفت ولی پس از دریافت هورمون فشار بسیار ملایم شکم ماهی منجر به خروج مقدار قابل توجهی میل شد. حجم اسپرم جمع آوری شده از ماهی سوف اوراسیایی (*Perca fluviatilis* L.) (Dabrowski et al., 1998)، سوف زرد (Kucharczyk et al., 1994) و کپور معمولی هم پس از القاء بوسیله هورمون به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. افزایش یافتن حجم و کیفیت اسپرم نه تنها برای تکثیر مصنوعی هر گونه در شرایط هچری بلکه برای هر نوع برنامه بازسازی ذخایر مانند ایجاد بانک ژنی یا انجمادسازی اسپرم مهم می باشد (Glogowski et al., 1997). البته به نظر می رسد که تاثیرات کمی و کیفی هورمون ها بر اسپرم این ماهی نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری دارد.

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می دهد که امکان القاء موثر تولیدمثل کنترل شده ماهی سفیدک با بکار بردن القای هورمونی مناسب وجود دارد. همچنین این مطالعه موید مناسب بودن ovaprim برای تحریک تولیدمثل ماهی سفیدک می باشد. زیرا این هورمون از مزایای متعددی برخوردار است: با توجه به محدود بودن تعداد مولدین ماهی سفیدک، هورمونی برای القای تخمیزی مناسب تر می باشد که بیشترین نسبت تخمیزی، لقاح، تولید لارو و بطورکلی بالاترین شاخصهای تولیدمثل را بدنبال داشته باشد. نتایج این تحقیق حاکی از برخورداری ovaprim از این مزایا می باشد. همچنین هورمون مذکور از قیمت مناسبی برخوردار بوده و تهیه آن نسبتاً آسان می باشد. به علاوه هورمون مذکور

Basu و همکارانش (2000) کارایی غده هیپوفیز و ovaprim را به عنوان مواد القاکننده در ماهی *claris batrachus* مطالعه کردند. آنها اظهار نمودند که استفاده از ovaprim تاثیر بهتری از نظر درصد لقاح و تفریح دارد. به طوریکه در این ماهی القا با استفاده از ovaprim باعث ۸۰٪ لقاح و ۶۰٪ تفریح تخم ها شد، در حالیکه القا با استفاده از عصاره غده هیپوفیز باعث ۴۵٪ لقاح و ۲۵٪ تفریح تخم ها گردید (Basu et al., 2000). اشکال مختلفی از GnRH که گاهی از منابع مختلفی مانند پستاندارن، ماهی و جوجه بدست می آید وجود دارند که فعالیت های متفاوتی را بروز می دهند. مهمترین تفاوتی که مشاهده شده مربوط به دوره پنهان بوده است. کوتاهترین زمان بین زمان تزریق و اوولاسیون هنگامی مشاهده شده است که CPE همراه با hCG استفاده شده که درست برعکس زمانی بوده که ovapel (هر پلت ovapel با وزن متوسط حدود ۲۵ میلی گرم داراری آنالوگ GnRH پستانداری به میزان ۱۸-۲۰ میکروگرم و ضد دوپامین متوکلوپرامید به میزان ۱۰-۸ میلی گرم می باشد) بکار رفته است (Kucharczyk et al., 2005). در این تحقیق نیز کوتاهترین زمان دوره پنهان مربوط به گروه دو می باشد که از ترکیب ovaprim و hCG با دوز بالا استفاده شده است و در واقع وجود hCG موجب کوتاهتر شدن دوره پنهان شده است (جدول ۳). در واقع تنها نکته مثبت hCG کوتاهتر کردن دوره پنهان بود که با توجه به پایین بودن سایر پارامترهای تولیدمثل این مزیت بر معایب زیاد آن که قبلاً اشاره شد فائق نمی آید. وجود اختلاف در دوره پنهان در مورد ماهیان ماده ای که با CPE و GnRH درمان شده اند در مقالات زیادی گزارش شده است. علت این امر شاید به این دلیل است که آزاد شدن GnRH از هیپوفیز و پاسخ تخمدانی به هورمون های آزاد کننده یک فرآیند متوالی است در حالیکه در ماهی تزریق شده با عصاره هیپوفیز کپور پاسخ تخمدانی به

جدول ۴. اثر دوزهای مختلف دو نوع هورمون ovaprim و hCG بر برخی پارامترهای تخم‌ریزی ماهی سفیدک

ردیف	تعداد ماده	تعداد تخم‌ریزی ماده	وزن ماده (گرم)	نسبت تخم‌ریزی ^۱ (%)	هماوری کاری (عدد تخمک)	هماوری نسبی (عدد تخمک) ^۲	حجم تخم خشک (ml)	کل حجم تخم خشک (ml)
۱	۱۲	۱۰	۱۳۷۵±۱۰۸/۸	۸۳/۳	۳۹۵۳۱/۲۵±۷۸۰۲/۳ ^a	۴۷۹۶/۲۶ ^a	۲۵/۰۹ ^a	۱۷۲۵
۲	۱۲	۳	۱۴۶۳±۷۲/۸	۲۵	۱۸۲۶۵/۵±۹۷۰۴/۶۹ ^b	۶۲۸۲/۵۲ ^b	۲۸/۲۱ ^a	۷۳۸
۳	۱۲	۵	۱۲۵۷/۵±۷۲/۶	۴۱/۶	۱۵۶۸۲/۳۳±۵۹۸۲/۳ ^b	۴۸۲۸/۱۸ ^b	۱۹/۰۲ ^a	۶۵۸
۴	۴	۰	۱۰۵۰±۸۶/۶	۰
۵	۴	۰	۱۲۷۰±۱۳۶/۵	۰

وزن ماده، هماوری کاری، هماوری نسبی و حجم تخم خشک بصورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین ارائه شده اند. میانگین هایی که با حروف مشابه نشان داده شده اند اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند (P > 0.05).

ادامه جدول ۴. اثر دوزهای مختلف دو نوع هورمون ovaprim و hCG بر پارامترهای مختلف تخم و لارو ماهی سفیدک

ردیف	تخم خشک (عدد در هر میلی لیتر)	قطر تخم خشک (میلی لیتر)	دوره پنهان (ساعت)	تبدیل تخم خشک به چشم زده (%)	تبدیل تخم چشم زده به لارو (%)	تخم خشک (عدد در هر میلی لیتر)
۱	۲۷۵	۱/۷۲ ± ۰/۱۰۴	۳۶/۲۰ ± ۳/۷۷ ^a	۸۸/۹۷ ± ۰/۹ ^a	۸۱/۹۳ ± ۱/۱۵ ^a	۳۴۱۲۰ ± ۴۵۶۲/۸۴ ^a
۲	۲۹۷	۱/۴۵ ± ۰/۱۰۲	۱۲/۳۳ ± ۰/۶۶ ^b	۷۳/۱۹ ± ۲/۰۴ ^b	۷۵/۶۷ ± ۰/۱۹ ^b	۴۰۳۸۳/۳۳ ± ۴۵۰۸/۳۵ ^b
۳	۲۸۶	۱/۵۷ ± ۰/۱۲۴	۳۲/۸۰ ± ۲/۲۰ ^b	۷۵/۲۶ ± ۳/۹ ^b	۷۱/۰۳ ± ۱/۰۳ ^b	۲۰۶۰۰ ± ۴۰۰۸/۱۴ ^b
۴
۵

قطر تخم خشک، دوره پنهان، درصد تبدیل تخم خشک به چشم زده، درصد تبدیل چشم زده به لارو و تعداد لارو بدست آمده از هر مولد ماده بصورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین ارائه شده اند. میانگین هایی که با حروف مشابه نشان داده شده اند اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند (P > 0.05).

شیرزایی، دهمرده کمک، اسدی، سندگل و سایر عزیزان که در این تحقیق همکاری داشته اند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

به صورت محلول آماده مصرف می‌باشد و برخلاف برخی از روش‌های دیگر القای تخم‌ریزی مانند تهیه عصاره هیپوفیز از نظر زمانی و نیروی انسانی مقرون به صرفه می‌باشد.

منابع

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

Barth T., Kouril J., Hamackova J., Velek J., Barthova J., Hulowa I., Jezek, J., Pospisek J. 1997. Induced ovulation and artificial stripping

تقدیر و تشکر

نگارندگان از مدیرکل محترم شیلات سیستان، معاونین، کارشناسان و پرسنل محترم آن اداره کل و مرکز تکثیر و پرورش ماهیان بومی سیستان، مهندسان تقی نجفی، مرتضی جهانتاب، افسانه نوری- جنگی، رضا ناصحی، مجید مرادی و آقایان ویرانگرد،

- Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ramseyer, L., Culver, D., Kestemont, P. 1994. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture* 12: 171-180.
- De Leeuw, R., Goos, H.J.T.H., Van Oordt, P.G.W.J. 1986. The dopaminergic inhibition of the gonadotropin-releasing hormone induced gonadotropin release: an in vitro study with fragments and cell suspensions from pituitaries of African catfish, *Claris gariepinus* (Burchell). *Gen. Comp. Endocrinol.* 63: 171-177.
- Dufour, S., Lopez, E., Le Menn, F., Le Belle, N., Baloché, S., Fontaine, Y.A. 1988. Stimulation of gonadotropin release and ovarian development by administration of gonadoliberin agonist and of dopamine antagonist in female silver eel pretreated with estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.* 70: 20-30.
- Glogowski, J., Babiak, I., Kucharczyk, D., Luczynski, M. 1997. The effect of individual male variability on cryopreservation of bream (*Abramis brama* L.) sperm. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 44: 281-285.
- Hearn, M.T.W., Gomme, P.T. 2000. Molecular architecture and biorecognition processes of the cystine knot protein superfamily: part I. The glycoprotein hormones, *J. Mol. Recog.* 13: 223.
- Kjørsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 227: 9-13.
- Kucharczyk, D. 2002. Artificial spawning, androgenesis of chosen cyprinids (in Polish). *Dissertations and monographs* 63, Wyd. UWM, Olsztyn. 80 pp.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Luczynski, M., Glogowski, J., Babiak, I., Wyszomirska, E. 1997a. Induced spawning in bream. *Abramis brama* (L.), using carp pituitary extract and hCG. *Aquacult. Res.*, 28: 139-144.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Wyszomirska, E. 1997b. Artificial spawning in bream (*Abramis brama* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.* 44: 201-205.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Wyszomirska, E. 1997c. Induced spawning in rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.* 44: 207-211.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E. 1998. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* in tench (*Tinca tinca* L.) and other freshwater fish species by means of GnRH analogues. Czech experiences 1980-1996. A minireview. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 44: 183-190.
- Basu D., Rana G.C., Mondal B.K., Sengupta, K.K., Dhar, P.K. 2000. Studies on the comparative efficacy of ovaprim, hCG and Piscine pituitary gland in Induced Breeding of *Clarias batrachus* (Lin). *Fishing Chimes* 19: 103-104.
- Battaglione, S.C. 1996. Hormone-induced ovulation of sand whiting (*Sillago ciliata*). *Asian Fisheries Sci.* 9: 169-176.
- Battaglione, S.C., Talbot, R.B. 1992. Induced spawning and larval rearing of snapper, *Pagrus auratus* (Pisces, Sparidae), from Australian waters. *New Zealand, J. Marine Freshwater Res.* 26: 179-183.
- Battaglione, S.C., Talbot, R.B. 1994. Hormone induction and larval rearing of mulloway. *Argyrosomus hololepidotus* (Pisces, Sciaenidae). *Aquaculture* 126: 73-81.
- Battaglione, S.C., Selosse, P.M. 1996. Hormone-induced ovulation and spawning of captive and wild broodfish of the catadromous Australian bass, *Macquaria novemaculeata* (Steindachner), (Percichthyidae). *Aquacult. Res.* 27: 191-204.
- Billard, R., Alagarswami, k., Peter, R.E., Breton, B. 1993. Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la sécrétion gonadotrope hypophysaire, l'ovulation et la spermiation chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). *C. R. Acad. Sci.* 296: 181-184.
- Blaxter, J.H.S. 1969. Development eggs and larvae, in *Fish Physiology*, Hoar, W.S., Randall, D.J. (eds). Academic Press, New York, 177.
- Bromage, N.R., Roberts, R.J. 1994. Broodstock management and egg and larval quality, Blackwell Science, Oxford, p. 424.
- Brown, N.P., Shields, R.J., Bromage, N.R. 2006. The influence of water temperature on spawning patterns and egg quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 261: 993-1002.
- Cabrita, E., Robles, V., Paz Herráez, p. 2008. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. Taylor and Francis Group. P. 574.
- Chen, Z., Chen, Y. 2001. Phylogeny of the specialized Schizothoracinae Fishes (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). *Zool. stud.* 40: 147-157.

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

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

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

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

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

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

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

L., using FSH+LH with pimozide or metoclopramide. *Aquaculture Res.* 29:131-136.

Kucharczyk, D., 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 GnRH. *Czech journal of animal science* 50: 89-95.

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

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

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

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

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

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

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