CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

راهکارهای مولد سازی و تکثیر مصنوعی لارو ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) در شرایط اسارت

منصور طرفی موزان‌زاده*[۱]، مجتبی ذبایح نجف‌آبادی[۱]، حسین هوشمند[۱]، مینا آهنگرزاده[۱]، عبدالرحیم اصولی[۱]، حمید سقاوی[۱]، شاپور مهرجویان[۱]، سیدرضا سیدمرتضایی[۲]، سیدجواد حسینی ملایری[۱]، محمود حافظیه[۲]، همایون حسین‌زاده صحافی[۲]

*Mansour.torfi@gmail.com

۱- پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۲

چکیده

تحقیق حاضر در ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) در سال ۱۳۹۶ آغاز شد. هدف از این تحقیق تولید مولدین زایا و دستیابی به بیوتکنیک تکثیر لارو و تولید بچه ماهی باس دریایی آسیایی بود. در این راستا، بچه ماهیان نژاد تایلندی در سه سال متفاوت وارد ایستگاه شدند و پرورش آنها تا مرحله پیش مولد انجام شد. بعد از گذشت چهار سال از این پروژه، گله‌هایی از پیش مولدین ماده ۳ و ۴ ساله و پیش‌مولدین نر ۱/۵ ساله تولید شد و در تابستان سال ۱۴۰۱ این مولدین با روش تکثیر مصنوعی توسط تزریق هورمون تکثیر شدند. در خوزستان فصل تکثیر از اوایل خرداد ماه لغایت اواخر شهریور ماه در دمای ۳۴-۲۸ درجه سانتی‌گراد است. تخم‌ریزی ماهیان ۴۰-۳۶ ساعت بعد از تزریق در نیمه شب اتفاق می‌افتد. از هورمون LHRH-α2 به صورت تزریق درون ماهیچه‌ای برای تکثیر مصنوعی این گونه استفاده شد. میزان درصد لقاح، تخم گشایی و زنده‌مانی لارو ۳ روزه ماهی باس دریایی آسیایی در ماه‌های مختلف متفاوت و به‌ترتیب ۹۲-۷۸، ۹۳-۸۲ و ۸۵-۷۵ درصد بود. از بهمن ماه سال ۱۴۰۱ لغایت تیر ماه سال ۱۴۰۲، ۲۰۸ عدد مولد زایا به پنج بخش خصوصی در استان خوزستان و هرمزگان برای تولید انبوه بچه ماهی این گونه اهداء شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که رعایت اصول ایمنی زیستی مهم‌ترین اصل در اجرای برنامه‌های مولدسازی، اهلی‌سازی ماهیان دریایی جدید، پرورش و برنامه‌های بهگزینی است. همچنین گونه باس دریایی آسیایی، از پتانسیل بسیار زیادی جهت تکثیر در شرایط اسارت و تولید انبوه بچه ماهی برخوردار است و می‌تواند به عنوان گونه اصلی ماهی دریایی به برنامه‌های کوتاه مدت برای توسعه پرورش ماهیان در قفس در آبهای جنوب کشور کمک کند.

لغات کلیدی: القاء هورمونی، تکثیر مصنوعی، پرورش لارو، ماهی باس دریایی آسیایی، غذای زنده

*نویسنده مسئول

مقدمه

حدود یک دهه است که ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) به صنعت آبزی پروری کشور معرفی شده و مورد استقبال قرار گرفته است. این گونه دریایی، از گونه‌های مهم و تجاری آبزی‌پروری جنوب شرق آسیاست که به میزان زیادی در استرالیا، مالزی، تایلند و اندونزی پرورش داده می‌شود (Schipp *et al.*, 2007). این گونه از توانایی سازگار شدن با شرایط پرورش در استخرهای خاکی و قفس‌های دریایی در محیط‌های دریایی، لب شور و آب شیرین برخوردار است (Mozanzadeh *et al.*, 2021). این ماهی یک گونه کاتادروموس، یوری هالین و هرمافرودیت از نوع پروتاندروس (پیش نر) است. مقاومت و تحمل بالا نسبت به تراکم و تغییرات محیطی، هماوری بالا در جنس ماده (۳۲-۲/۳ میلیون عدد تخم)، تکثیر نسبتاً ساده، تغذیه آسان با غذای دستی (پلت) و سرعت بالای رشد (بین شش ماه الی دو سال، به وزن ۳۵۰ گرم تا ۳ کیلوگرم می‌رسد)، از جمله خصوصیات مهم باس دریایی آسیایی است که این ماهی را به عنوان یک گزینه مطلوب در آبزی‌پروری مطرح کرده است (Schipp *et al.*, 2007). ماهی باس دریایی آسیایی به عنوان اولین گونه منتخب جهت توسعه صنعت آبزی‌پروری در قفس‌های دریایی در جنوب کشور مطرح است. در دنیا میزان تولید این گونه از ۱۱۰ هزار تن فراتر رفته است و پیش‌بینی می‌شود، سالانه ۵ درصد به این تولید افزوده شود. در سال‌های اخیر مرحله لاروی این گونه (۱۰ میلی‌گرم-۲۵-۳۰ روز بعد از تخم گشایی) از شرکت Mainstream (استرالیا) وارد کشور شده و بعد از گذراندن مرحله نرسری و رسیدن به وزن ۵۰ گرم، به صورت محدود در برخی از استان‌های ساحلی جنوب کشور در استخرهای خاکی و قفس‌های دریایی پرورش داده شده است و نتایج نسبتاً خوبی از لحاظ تولید در واحد سطح و بازماندگی گرفته‌اند. این گونه در شرایط پرورشی بعد از ۲ سال به بلوغ جنسی نر می‌رسد (Athauda *et al.*, 2012; Athauda and Anderson, 2014) و در ۵-۴ سالگی تغییر جنسیت می‌دهد درحالی‌که در طبیعت، در ۴-۳ سالگی به بلوغ می‌رسد و از سن ۸-۶ سالگی تغییر جنسیت می‌دهد (Guiguen *et al.*, 1994). دما و شوری اثر مستقیم بر رسیدگی جنسی ماهی باس دریایی آسیایی دارند (Athauda and Anderson, 2014). مولدین، علائم خارجی آشکاری از مراحل توسعه گنادها نشان نمی‌دهد و باید از طریق بیوپسی و سوند تعیین جنسیت انجام شود. تخم‌ریزی باس دریایی آسیایی در دریا انجام می‌گیرد. تخم‌ها، جنین ها، لاروها و ماهیان انگشت‌قد ابتدا در مرداب‌های ساحلی و خوریات رشد کرده و ماهیان جوان در پایان فصل به بالادست رودخانه مهاجرت می‌کنند. گزارش شده است که میزان هماوری نسبی ماهی باس دریایی ۱۷۰-۱۱۰ هزار عدد تخم به ازاء هر کیلوگرم بوده است (Kailasam *et al.*, 2007). همچنین این محققین نشان دادند که تزریق مولدین ماده در دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد با هورمون LHRH-α به میزان ۷۰-۳۵ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم و مولدین نر به میزان ۳۵-۳۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم، تکثیر شدند. تخم‌ریزی ۳۵-۳۲ ساعت بعد از تزریق اتفاق افتاد و درصد لفاح ۸۰-۴۰ درصد و درصد تخم گشایی ۹۰-۲۵ درصد بود. همچنین مطالعات در ماهی باس دریایی آسیایی نشان داده است که حداقل اندازه تخمک برای واکنش به تزریق هورمونی LHRH-α حدود ۴۰۰ میکرومتر است که منجر به تخم‌ریزی بعد از ۴۰-۳۰ ساعت می شود و اندازه‌های کمتر از این مقدار، واکنش تخم‌ریزی را به‌دنبال نخواهد داشت (Nacario, 1987; Almendras *et al.*, 1988). برای ادامه و رشد پایدار صنعت پرورش این گونه در کشور لازم است که وابستگی این صنعت به واردات بچه ماهیان از خارج رفع گردد. لذا، لازم است که در راستای مولدسازی این گونه در کشور و ایجاد گله مولدین، اقداماتی صورت گیرد. تحقیق حاضر، با توجه به توان و تجربه ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) انجام شد تا گله‌های مولدین این گونه در کشور تولید شود. در این مقاله به نکات مهم در مولدسازی ماهی باس دریایی آسیایی و تولید لارو این گونه به طور مختصر اشاره خواهد شد.

مواد و روش کار

شرایط اکولوژیک محل اجرای پروژه

این پروژه در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۳۹۶ به مدت ۵ سال انجام شد. فضای لازم جهت مولدسازی ماهی باس دریایی آسیایی شامل تانک‌های فایبر گلاس ۵ تنی و تانک‌های بتنی ۶۰ تنی بود. ایستگاه در منطقه خشک و بیابانی واقع شده است و دارای تابستان‌های بسیار گرم که دمای آب به ۳۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد و زمستان‌های بسیار سرد با دمای حداقلی ۱۴ درجه سانتی‌گراد است. شوری آب در این منطقه ۴۶-۵۰ واحد در هزار بوده و اسیدیته آب هم در دامنه ۸/۴-۸ متغیر است.

تهیه بچه ماهی

بچه ماهی باس دریایی آسیایی نژاد تایلندی، از یک کارگاه تکثیر در چوئبده آبادان تأمین شد. بدین منظور، در مردادماه سال ۱۳۹۶ تعداد ۵۰۰ عدد از بچه ماهیان تکثیر شده در چوئبده آبادان با وزن اولیه حدود ۱۰ گرم تهیه شدند. همچنین دو سری دیگر بچه ماهی در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ به تعداد ۵۰۰ عدد در هر سال خریداری شده و در تانک‌های ۵ متر مکعبی ذخیره‌سازی شدند. بعد از ورود بچه ماهیان به ایستگاه، به منظور ضد عفونی آنها را به لحاظ انگل‌های خارجی به مدت یک ساعت با آب شیرین حمام داده شدند.

پرورش بعد از ورود بچه ماهیان به ایستگاه ماهیان با جیره فرموله پلت که عمدتاً از شرکت ۲۱ بیضا با محتوی پروتئینی ۴۵-۴۸ درصد و میزان چربی ۱۸-۱۵ درصد خریداری شده، تغذیه شدند. ماهیان بر اساس اندازه و زی‌توده با پلت‌های غذایی بر اساس جدول ۱ تغذیه شدند. دفعات غذادهی بر اساس اندازه بدن از روزانه ۶ نوبت در روز برای اندازه‌های ۱-۱۰ گرم تا ۱ بار در روز برای وزن‌های بیش از یک کیلوگرم تجویز شد.

جدول ۱: درصد غذادهی روزانه (Glencross, 2006).

Table 1. Daily feeding percentage (Glencross, 2006).

Fish weight (g)	1-10	10	50	100	500	1000	2000	4000
Feeding rate (percentage)	8-10	6	4	2.1	1.2	1	0.8	0.5
Pellet size (mm)	1	2	4	7	10	10	10	10
Feeding frequency	6	6	3	2	2	1	1	1

پرورش ماهیان تا وزن ۵۰ گرم در تابستان به طور عمده در تانک‌های پلی‌اتیلنی ۵ مترمکعبی صورت گرفت و زیست‌سنجی ماهیان انجام شد. میزان تعویض آب در این تانک‌ها روزانه ۵۰-۲۵ درصد بود. اما پرورش ماهیان با وزن بالای ۵۰ گرم در تانک‌های ۶۰ تنی بتنی با تراکم ۵-۲ عدد در مترمکعب با توجه به وزن، پرورش داده شدند. آب تانک‌های بتنی هر ۴ روز یک‌بار به طور کامل تعویض شده و کف تانک شستشو می‌شد. سیستم پرورش در تانک‌های ۵ و ۶۰ متر مکعبی به صورت آب جاری بود که در تانک‌های ۵ مترمکعبی به میزان تقریباً ۱ لیتر در دقیقه و در تانک‌های ۶۰ متر مکعبی به میزان تقریبا ۵-۳ لیتر در دقیقه تنظیم شده بود. آب ایستگاه، در ابتدا با کلر ۱۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت با هوادهی شدید ضد عفونی شده و خنثی کردن آن با تیوسولفات ۵ میلی گرم در لیتر انجام شد. در صورت مشاهده علائم بیماری، مراتب به بخش بهداشت و بیماری‌های پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور جهت درمان اعلام می‌شد.

زمستان‌گذرانی

ماهی باس دریایی آسیایی بسیار به سرما حساس است و در دمای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد، تلفات می‌دهند. انجام زمستان‌گذرانی از اوایل آذر ماه لغایت اواخر فروردین ماه به مدت تقریباً ۵ ماه به مدت ۵ سال پیاپی با استفاده از بخاری‌های تیتانیومی ۳۰۰۰ وات برای حفظ دما در دامنه ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد، استفاده گردید. تعویض آب طی این مدت بسیار کاهش یافته بود و میزان غذادهی در این شرایط به نیم درصد وزن بدن و تعویض آب هم به صورت ۳

روز در میان انجام می‌شد. به دلیل زی‌توده بسیار زیاد ماهیان به‌خصوص در سال‌های سوم و چهارم، اجرا پروژه تراکم نگهداری ماهیان در تانک‌ها به میزان ۷-۴ کیلوگرم به ازاء هر مترمکعب افزایش یافت. افزایش تراکم، نوسانات دمایی در طول زمستان‌گذرانی (به دلیل خرابی بخاری‌ها و قطع برق یا بروز اشکال در سیستم برق رسانی) و کاهش میزان غذادهی منجر به بروز استرس و تضعیف بدن ماهیان می‌شد. لذا، طی زمستان‌گذرانی از مکمل‌های ویتامین به‌خصوص ویتامین C و ویتامین‌های محلول در چربی در جیره استفاده می‌شد. دوره نوری در زمان زمستان‌گذرانی به صورت مصنوعی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. در بالای هر تانک ۵ مترمکعبی از یک لامپ کم مصرف ال ای دی ۳۰ وات استفاده شد. در طول زمستان‌گذرانی به دلیل حساسیت بالای ماهیان، کارشناسان رفتار تغذیه‌ای و شنای آنها را به طور روزانه بررسی می‌کردند. در صورت بروز بی‌حالی و کم اشتهایی در یک ماهی در یک مخزن، ۸۰ درصد آب تانک خالی شده و جمعیت بررسی می‌شد و از سطح پوست و آبشش ماهی بی‌حال با استفاده از یک لام تر نمونه‌برداری انجام می‌شد. همچنین سطح بدن ماهی به‌خصوص زخم‌ها در ناحیه شکم و مخرج، بررسی و عکس‌برداری شده و تمامی اطلاعات به بخش بهداشت و بیماری‌های پژوهشکده جهت اقدام مقتضی گزارش داده می‌شد. جهت بررسی رسیدگی جنسی از سال سوم ماهیان پس از بیهوشی با محلول ۲-فنوکسی اتانول ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر با مالش ناحیه شکمی به سمت منفذ تناسلی و استفاده از سوند برای اندازه‌گیری قطر تخمک معاینه شدند.

به دلیل شرایط اکولوژیک خاص ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) و شوری آب بسیار زیاد در منطقه (بیش از ۴۵ واحد در هزار) و تغییرات دمایی شدید از زمستان‌گذرانی سال سوم، اقدام به تغییر شرایط محیطی نگهداری ماهیان شد که شامل مراحل ذیل بود:

- کاهش شوری آب: جهت آماده‌سازی پیش‌مولدین، آنها به مدت ۳ ماه قبل از فصل تکثیر در شوری ۲۵ واحد در هزار نگهداری شدند و در فصل تکثیر شوری آب به ۳۰ واحد در هزار افزایش یافت.
- تعییر رژیم نوری: ابتدا رژیم نوری روز کوتاه به مدت ۳ ماه اجرا شد که شامل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بود و به‌تدریج در فصل تکثیر به روز بلند شامل ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی افزایش یافت.
- تثبیت دمای آب در دامنه ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد در طول پرورش و نگهداری پیش مولدین
- کاهش تراکم نگهداری به میزان ۲-۱ کیلوگرم به ازاء هر مترمکعب
- افزایش تعویض آب روزانه به میزان ۵۰ درصد

تکثیر

از اردیبهشت ماه سال ۱۴۰۱ و پس از گذراندن مرحله زمستان‌گذرانی، رسیدگی جنسی پیش مولدین انجام شد. از مولدین سالم با بدنی بدون فلس‌ریزی، چشمانی شفاف، بدون خونریزی و لکه‌های خونی در سطح بدن به‌خصوص در ناحیه منافذ تناسلی، بدون پوسیدگی باله و بدون خونریزی هنگام بررسی با سوند و با وزن مناسب، برای تکثیر استفاده شد. بعد از بررسی‌های به‌عمل آمده جمعیت‌های ۳ و ۴ ساله، فاقد جنس نر بودند و جمعیت ۱/۵ ساله دارای ماهیان نابالغ با وزن کمتر از یک کیلوگرم بودند. بدین‌ترتیب، ماهیان نابالغ با استفاده از هورمون‌تراپی به لحاظ جنسی رسیدند و دارای اسپرم شدند و حجم منی در آنها با استفاده از هورمون افزایش یافت. از هورمون LHRH-α2 به صورت تزریقی برای تحریک رسیدگی جنسی و افزایش حجم اسپرم در ماهیان نابالغ استفاده شد. سپس این ماهیان به همراه پیش‌مولدین ماده‌ای که اندازه تخمک آنها بیش از ۴۵۰ میکرومتر بود، برای تکثیر مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۱).

شکل ۱: تزریق هورمون LHRH-α در فاصله‌ی بین باله پشتی و خط جانبی مولد ماده باس دریایی آسیایی

Figure 1: Injection of LHRH-α hormone in the space between the dorsal fin and lateral line of female Asian sea bass brooder.

جهت بررسی هر دوز هورمون و روش تزریق به صورت هفتگی، هر تیمار در ۳ تکرار در ۳ تانک ۵ تنی انجام شد. در ابتدا نسبت جنسی نر به ماده به صورت ۲ به ۱ بود، اما با افزایش تعداد نرهای رسیده با روش هورمون‌تراپی این نسبت به ۳ به ۱ افزایش یافت و بهترین دوز هورمون و روش هورمون تراپی به صورت هفتگی در ۳ تکرار انجام شد. از هورمون LHRH-α_2 چینی به میزان ۵۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم برای هر دو جنس نر و ماده با یک تزریق استفاده شد. تزریق ماهیان در ساعت ۱۰ الی ۱۱ صبح صورت می‌گرفت. بعد از ۴۰-۳۶ ساعت تخم‌ریزی صورت گرفت و به دلیل دمای زیاد آب و هچ تخم‌ها در کوتاه‌مدت، مرحله جمع‌آوری تخم از ساعت ۲ شب صورت انجام شد. طی شروع دوره تخم‌ریزی، آب ورودی مخازن آزمایشی بعدازظهر (۱۷:۰۰) بسته می‌شد. به طور کلی، رفتار تخم‌ریزی ماهی باس دریایی آسیایی از غروب تا نیمه شب رخ می‌دهد. تخم‌های جمع‌آوری شده با تراکم ۱۰۰ عدد در لیتر در تانک‌های ۳۰۰ لیتری به همراه یک هوادهی ضعیف جهت هچ، انکوباسیون شدند. تخم‌های جمع‌آوری شده با محلول بتادین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند و بعد انکوباسیون در دمای ۳۳-۲۸ درجه سانتی‌گراد با توجه به ماه (خرداد لغایت مهر ماه) صورت می‌گرفت. بعد از ضدعفونی تخم‌ها، آنها به استوانه مدرج یک لیتری انتقال یافته و بعد از ۳-۲ دقیقه که میزان تخم‌های سالم و خراب مشخص شد، تخم‌های شناور برای انکوباسیون به تانک‌های ۳۰۰ لیتری انتقال یافتند. هچ تخم‌ها با توجه به دما به مدت ۱۸-۱۲ ساعت به‌طول انجامید. بعد از هچ، لاروها ازتانک‌های انکوباسیون به تانک‌های پرورش لارو ۵ تنی انتقال یافتند. جهت بررسی میزان لقاح، تعداد ۱۰۰ عدد از تخم‌های شناور در استوانه مدرج برداشته شده و تقسیم سلولی در آنها بررسی شدند و بدین‌ترتیب درصد لقاح مشخص گردید. تخم‌ها در یک توری قیفی‌شکل (با اندازه مش ۳۰۰ میکرومتر) که در زیر خروجی مخزن قرار می‌گرفت، جمع‌آوری می‌شدند. مواد زایدی که در زمان تخلیه شدن با تخم‌های جمع آوری شده مخلوط شده بود، با یک توری (۱۰۰۰ میکرومتر) غربال شده و به آرامی به یک استوانه مدرج ۱ لیتری منتقل شدند و به مدت ۵ دقیقه برای جداسازی تخم‌های شناور (تخم‌های نرمال) و تخم‌های غوطه ور (ناهنجار) باقی می‌ماندند. تخم‌های شناور (۳۰ میلی‌لیتر) از هر مخزن در سه سطل ۲۰ لیتری ذخیره می‌شدند که هر سطل حاوی ۱۰ میلی‌لیتر تخم بود. تخم‌ها تا سه روز پس از هچ شدن لارو، در سطل‌ها انکوبه شدند. سطل‌ها حاوی آب دریایی ضدعفونی شده (۲۱-۲۰ درجه سانتی‌گراد) با هوادهی ملایم بودند. این روش‌ها به مدت سه روز برای هر مخزن (۳ روز×۳ مخزن×۳ سطل= ۲۷ نمونه برای هر تیمار) انجام شد. پس از آن، سه نمونه از ۱۰۰ تخمک شناور از هر سطل با استفاده از میکروسکوپ برای تعیین تخمک‌های بارور شده با تقسیم سلولی در مقایسه با تخم‌های بارور نشده بدون تقسیم سلولی بررسی شدند. علاوه‌براین، سه نمونه از ۱۰۰ تخم بارور شده از هر سطل به سه بشر ۱ لیتری مجهز به هوادهی ملایم برای محاسبه میزان تخم‌گشایی و بازماندگی لارو سه روزه منتقل شدند. درصد تخم گشایی با تقسیم تعداد کل لاروها به تعداد کل تخم‌های بارور شده، محاسبه شد. سه روز پس از تخم‌گشایی، میزان بازماندگی لارو سه روزه با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

میزان بازماندگی لارو = (تعداد کل لارو زنده / تعداد کل لاروهای هچ شده) × ۱۰۰

موفقیت لقاح = (تعداد کل تخم با تقسیم سلولی / تعداد کل تخم انکوبه شده) × ۱۰۰

نگهداری و پرورش لارو

جهت پرورش لارو ماهی باس دریایی آسیایی ابتدا تانک‌های بتنی ۱۰-۵ مترمکعبی با آب ۳۰ واحد در هزار، آبگیری شده و با کلر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ضد عفونی و به‌شدت هوادهی شدند تا کلر پرانی صورت گیرد. قبل از انتقال لاروها به داخل تانک، آب تانک با ۵ میلی‌گرم در لیتر تیوسولفات سدیم، کلر پرانی شد. پس از آن جلبک *Nannochloropsis* به میزان ۵۰۰-۲۰۰ هزار سلول در هر سی‌سی به آن اضافه شد. سپس هوادهی درون تانک بسیار ملایم شد. لارو ماهی باس دریایی با تراکم ۵۰ عدد در هر لیتر در تانک‌ها ذخیره‌سازی شدند. غذادهی لاروها از روز دوم بعد از انتقال به تانک‌ها، با غذای زنده روتیفر آغاز شد.

جهت تغذیه لارو ها در روزهای ۱۵-۲ از روتیفر مخلوط به همراه میکروجلبک *Nannochloropsis* و در روزهای ۲۵-۱۲ از ناپلی آرتمیا استفاده شد. تعداد روتیفر در هر میلی‌لیتر از ۱۰ الی ۳۰ عدد در میلی‌لیتر و تعداد ناپلی آرتمیا از ۱ الی ۵ عدد در میلی‌لیتر افزایش یافت. در روزهای ۳۵-۲۵ مرحله شروع تغذیه با جیره ی خشک با استفاده از جیره غذایی میکرو ۴۰۰-۲۰۰ میکرومتر به همراه زی‌توده بالغ آرتیما و فیله چرخ شده ماهی هرز، انجام گرفت. جهت کاهش همجنس‌خواری از روز ۱۵ سورت لاروها آغاز شد. همچنین کاهش تراکم لاروها به نصف از روز ۱۵ انجام شد و تراکم لاروها به ۱۵ عدد در لیتر کاهش یافت. همچنین در روز ۳۵ (متامورفوز لارو به مرحله فرای)، دومین کاهش تراکم از ۱۵ عدد به ۷ عدد انجام گردید. عملیات سورت به صورت ۳ روز یکبار از روز ۱۵ انجام شد و با افزایش سن ماهی سورت ماهیان به یک‌هفته یک‌بار افزایش یافت. با افزایش سن ماهی، اندازه غذای فرموله افزایش یافت و از سن ۵۰-۳۵ از غذای ۱۰۰۰-۵۰۰ میکرومتر استفاده شد.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

برای بررسی عملکرد تکثیر مولدین با تیمار هورمونی LHRH-α2، داده‌های مربوط به درصد لقاح، درصد هچ و درصد زنده مانی لاروها تا ۳ روز بعد از لقاح به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شد.

نتایج

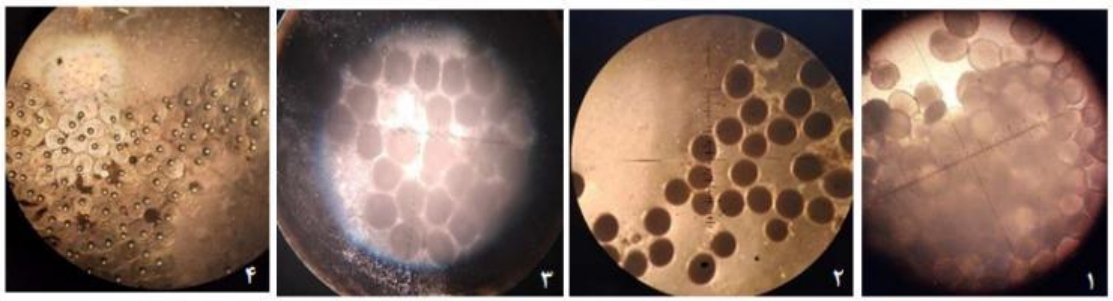
تکثیر

با تغییر در رژیم غذایی، تراکم نگهداری و شرایط محیطی ماهیان در نمونه‌برداری اردیبهشت ماه سال ۱۴۰۱ اکثر پیش مولدین ۶-۳ کیلوگرم دارای تخمک‌های اولیه (Oogonia) یا در مرحله دوم رسیدگی جنسی بودند. اما در این نمونه‌برداری تنها یک جنس نر رسیده دیده شد. در نمونه برداری بعدی در اوایل خرداد ماه، در جمعیت های پیش مولد ۳ و ۴ ساله مشخص شده است که تقریباً تمامی جمعیت تغییر جنسیت داده‌اند و تکامل جنسی آنها به مرحله بینابینی نر به ماده یا رسیدگی جنسی ۳ با قطر تخمک ۴۰۰-۳۵۰ میکرومتر دیده شد. همچنین در برخی از پیش مولدین، تخمک‌هایی با قطر ۵۵۰-۴۸۰ میکرومتر نیز مشاهده شد (شکل ۲). از ماهیان نابالغ ۱/۵ ساله که در سال ۱۳۹۹ به جمعیت اضافه شده بودند، استفاده شد. متوسط وزن این ماهیان ۷۰۰-۳۵۰ گرم بود. در بررسی‌های اولیه با فشار ناحیه شکم به مخرج، اکثراً فاقد مایع منی بودند یا به اندازه نوک سوزن در مجاری تناسلی آنها مایع منی دیده شد. پیش‌مولدین ماده و نر با نسبت ۱ به ۲ در سه تانک ۵ تنی با یک تزریق هورمون LHRH-α2 تکثیر شدند. در مراحل بعدی، نسبت نر به ماده افزایش یافت و به ۳ به ۱ رسید که سبب افزایش درصد لقاح به بیش از ۹۰ درصد گردید. معمولاً بعد از تزریق هورمون، تخمک‌ها آبگیری شده و شکم مولد ماده متورم می‌گردد و ۴۰-۳۶ ساعت بعد از تزریق، تخم‌ریزی صورت می‌گیرد (شکل ۳). میزان درصد لقاح، تخم‌گشایی و زنده‌مانی لارو سه روزه ماهی باس دریایی آسیایی در ماه‌های مختلف متفاوت بوده و به‌ترتیب ۹۲-۷۸ درصد، ۹۳-۸۲ درصد و ۸۵-۷۵ درصد بود (شکل ۴).

تکامل جنینی

تخم‌ریزی ماهیان معمولاً ۳۶ ساعت بعد از اولین تزریق صورت می‌گرفت و طی ساعات ۱۱-۹ شب تخم‌ریزی انجام می‌شد. ماهی باس دریایی آسیایی در صورت فراهم شدن محیط مناسب در حین پرورش به لحاظ تغذیه‌ای، تغییرات نوری[1]، دما و شوری به طور طبیعی در تانک‌ها و در قفس‌های شناور تخم‌ریزی می‌کند. تخم‌های بارور شده پلاژیک هستند و قطر آنها حدود ۸۰۰-۷۵۰ میکرومتر است. تکامل جنینی حدود ۱۴-۱۰ ساعت و در دمای ۳۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد. تقسیم سلولی طی زمان ۳۹ دقیقه پس از باروری آغاز می شود (جدول ۲). جنین در حال تکامل، مراحل بلاستولا[2]، گاسترولا[3] و مورولا[4] را به‌ترتیب طی حدود ۵/۵، ۷-۶/۵، ۹-۸/۵ ساعت پس از باروری پشت سر می‌گذارد.

[1] Photoperiod
[2] Blastula
[3] Gastrula
[4] Morula

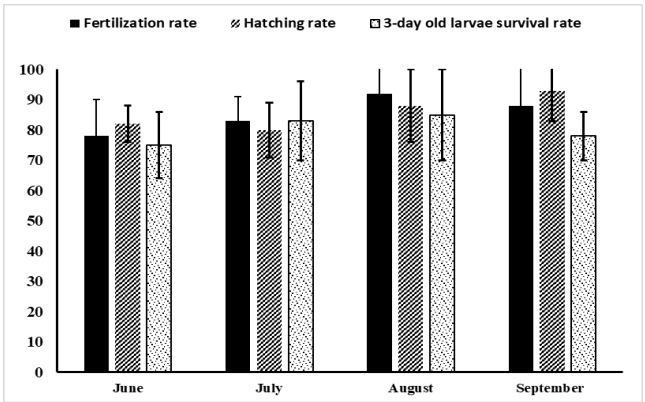


شکل ۲: مراحل رسیدگی جنسی تخمک در مراحل: ۱- اندازه قطر تخمک کمتر از ۱۰۰ میکرومتر. ۲- آغاز فرآیند زرده سازی و افزایش قطر تخمک با شروع فصل تکثیر، اندازه قطر تخمک ۳۰۰-۱۵۰ میکرومتر. ۳- پایان فرآیند زرده سازی و تمایز سیتوپلاسم، اندازه قطر تخمک ۵۲۰-۴۵۰ میکرومتر و مولد آماده تزریق هورمون است. ۴- آبگیری کامل تخمک ۲۴ ساعت بعد از تزریق هورمون، اندازه قطر تخمک ۷۸۰-۷۵۰ میکرومتر. واکوئل‌های چربی و قطره چربی کاملاً متمایز و تخمک آماده لقاح است.

Figure 2: Sexual maturity of the egg stages: 1- The diameter of the egg is less than 100 µm; 2- The beginning of the process of vitellogenesis and the increase in the diameter of the egg with the beginning of the reproduction season, the size of the egg diameter is 150 to 300 µm; 3- The end of the process of vitellogenesis and differentiation of cytoplasm, the diameter of the egg is 450 to 520 µm and the brooder is ready for hormone injection; 4- Complete hydration of the egg 24 hours after the injection of hormones, the diameter of the egg is 750 to 780 µm. Lipid vacuoles and fat droplets are completely differentiated and the egg is ready for fertilization.

شکل ۳: برآمدگی شکم در مولد ماده باس دریایی آسیایی بعد از تزریق هورمون (راست)، تخم های لقاح یافته و شناور در استوانه مدرج (چپ)

Figure 3: Abdominal bulge in female Asian sea bass brooder after hormone injection (right), floating fertilized eggs in graduated cylinder (left)



شکل ۴: درصد لقاح، تخم‌گشایی و بازماندگی لارو ۳ روزه در ماه‌های مختلف (دما ۳۳-۲۸ درجه سانتی‌گراد) در ماهی باس دریایی آسیایی

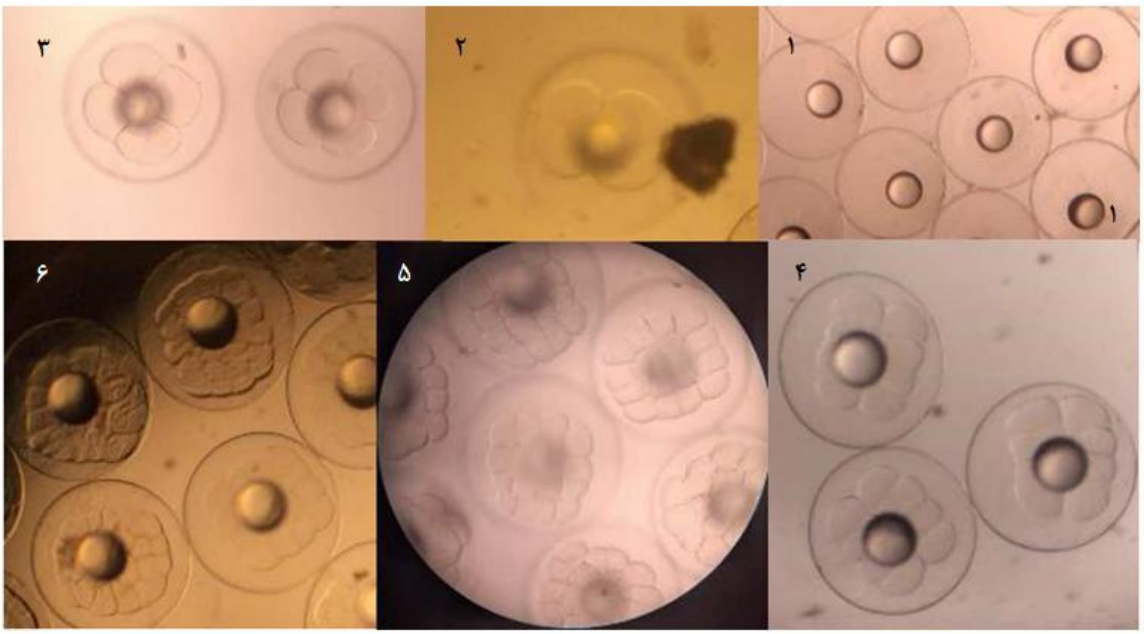
Figure 4: Percentage of fertilization, hatching and survival of 3-day larvae in different months (temperature 28-33°C) in Asian sea bass

جدول ۲: زمان بندی مراحل توسعه جنینی در ماهی باس دریایی آسیایی در دمای ۳۱-۳۰ درجه سانتی‌گراد

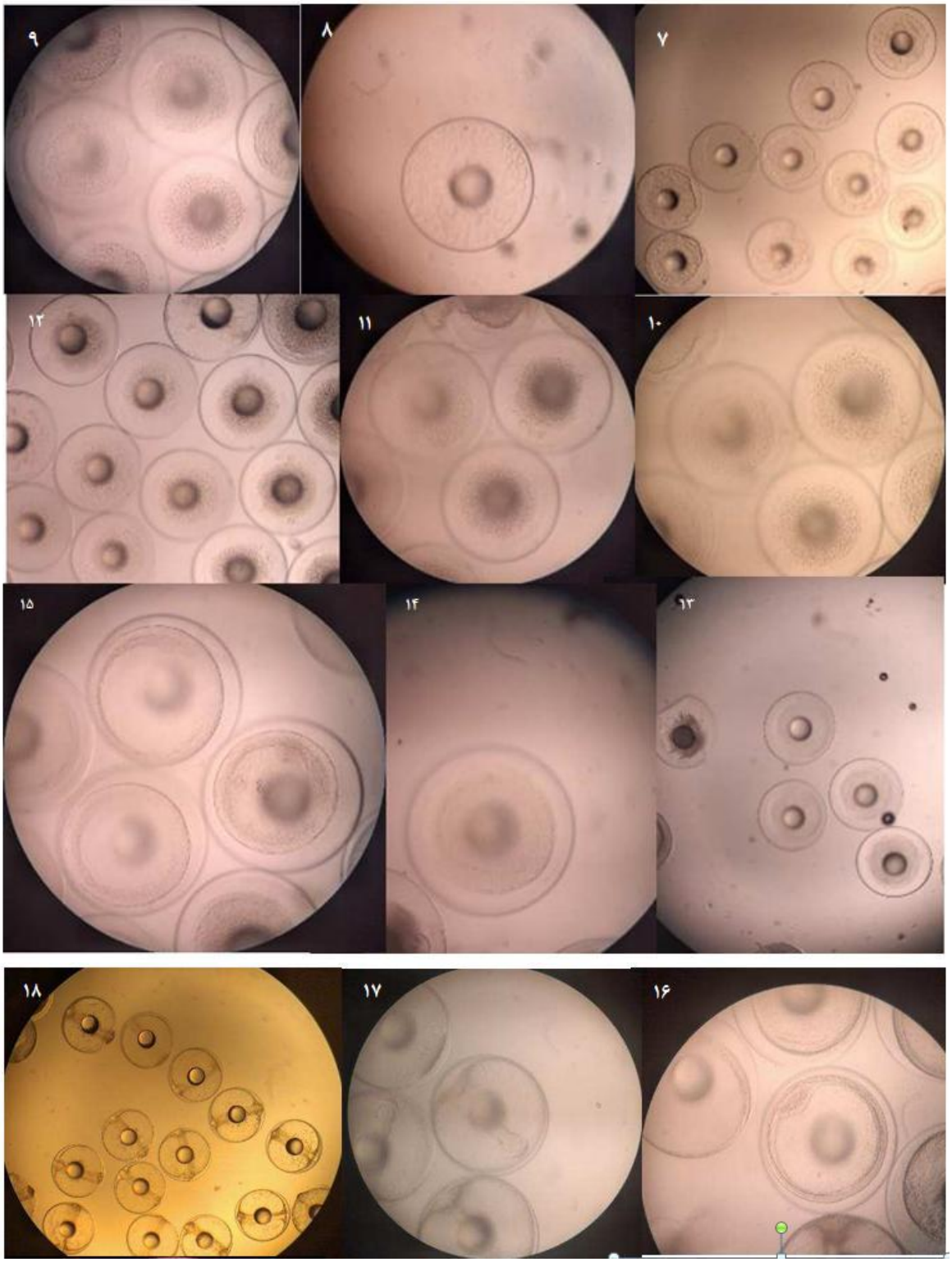
Table 2: Timing of embryonic development stages in Asian sea bass at 31-30ºC

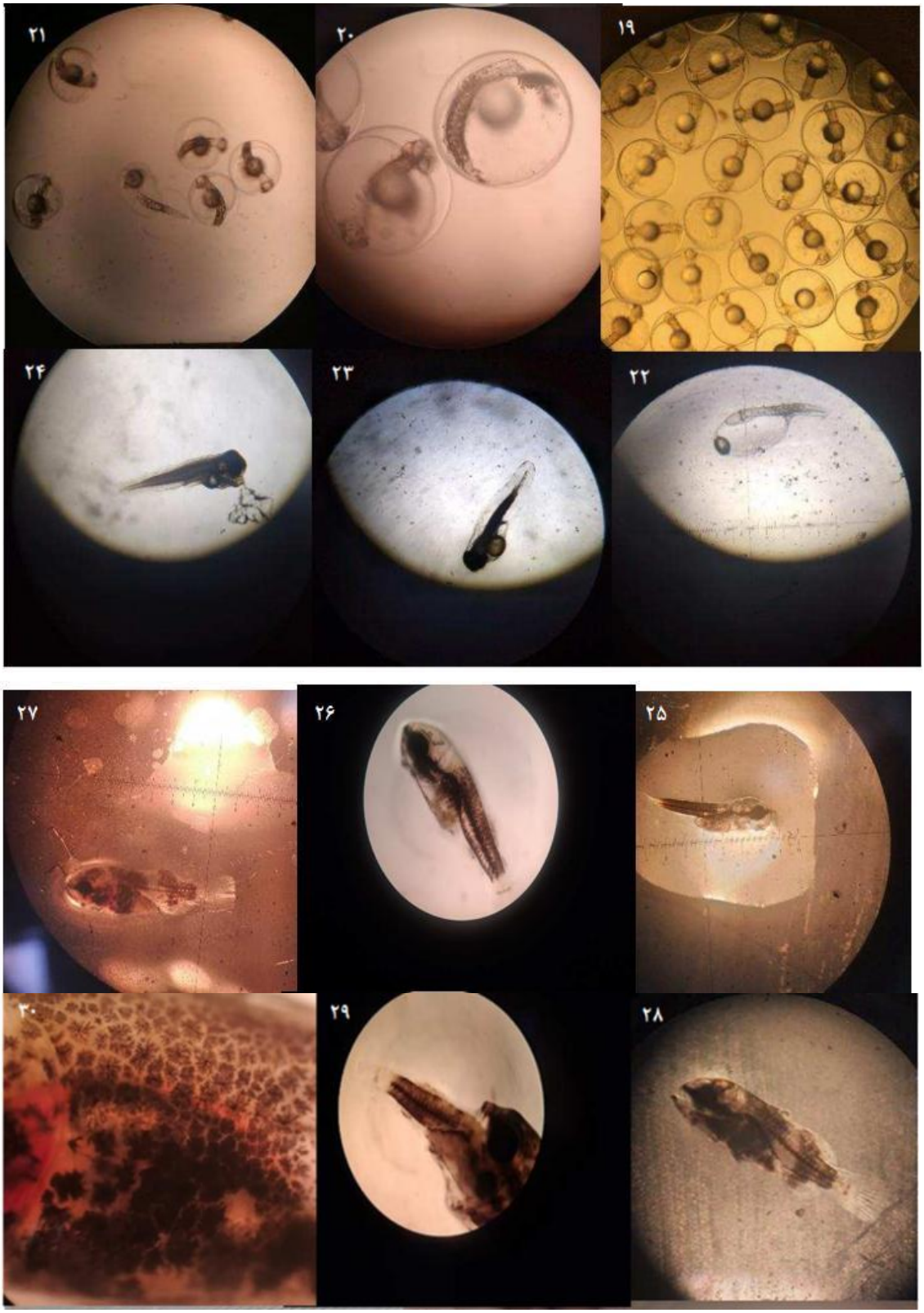
Developmental stage	Time after fertilization (minute)
First cell division stage	39
4-cell division stage	45
8-cell division stage	54
16-cell division stage	60
32-cell devision stage	71
64-cell devision stage	81
Formation of embryonic ring	200
Formation of embryonic shield	212
50% Epiboly	291
Optic lobe formation	343
Start of heartbeat	568
Hatching	622

جنینی که به‌تازگی وزیکول چشمی[1] در آن شکل گرفته، با توجه به دما طی مدت ۷-۶ ساعت پس از باروری مشاهده می‌شود. حرکات انقباضی جنین حدود ۹ ساعت بعد از باروری آغاز می‌شود و تخم‌گشایی[2] و بیرون آمدن لارو از تخم نیز ۱۱-۱۰ ساعت پس از باروری رخ می‌دهد. لاروهای تازه از تخم بیرون آمده در ماهی باس دریایی آسیایی دارای طول کل تقریبی ۱۵۰۰ میکرومتر هستند. تغذیه داخلی لاروهای این ماهی از زرده و گلبول چربی است. تقریباً ٪۸۵ از زرده در ۱۶ ساعت اول پس از تخم‌گشایی بازجذب می شود. بازجذب کامل زرده ۷۲ ساعت بعد از تخم‌گشایی[3] انجام می شود. بازجذب گلبول چربی در زمان جذب کامل زرده، آغاز شده و ظرف ۱۴۵-۱۲۰ ساعت پس از تخم‌گشایی، به طور کامل ناپدید می‌شود (شکل ۵).



[1] Eye vesicle
[2] Hatching
[3] Post-hatch (PH)


۹
۸
۷
۱۲
۱۱
۱۰
۱۵
۱۴
۱۳
۱۸
۱۷
۱۶


۲۱
۲۰
۱۹
۲۴
۲۳
۲۲
۲۷
۲۶
۲۵
۳۰
۲۹
۲۸

شکل ۵: به ترتیب از چپ به راست: - ۱-تخم لقاح یافته قبل از شروع تقسیمات سلولی (۳۰ دقیقه) ۲-مرحله اولین تقسیم سلولی (۳۹ دقیقه) ۳-مرحله تقسیم ۴ سلولی (۴۵ دقیقه) ۴- مرحله تقسیم ۸ سلولی (۵۴ دقیقه) ۵- مرحله تقسیم ۱۶ سلولی (۶۱ دقیقه) ۶- مرحله تقسیم ۳۲ سلولی (۷۲ دقیقه) ۷- مرحله تقسیم ۶۴ سلولی (۸۰ دقیقه) ۸- مرحله تقسیم ۱۲۸ سلولی (۸۸ دقیقه) ۹- مرحله تقسیم ۲۵۶ سلولی (۹۶ دقیقه) ۱۰- مرحله تقسیم ۵۱۲ سلولی (۱۱۵ دقیقه)، ۱۱- مرحله تقسیم تقریباً ۱۰۰۰ سلولی (۱۳۲ دقیقه) ۱۲- آغاز گاسترولاسیون (دقیقه ۱۹۰) ۱۳- تشکیل حلقه‌ی رویانی (۲۰۰ دقیقه) ۱۴- تشکیل سپر رویانی (۲۱۲ دقیقه) ۱۵-۵۰ درصد اپی بولی (۲۹۰ دقیقه) ۱۶- توسعه‌ی بلاستودرم (۳۱۲ دقیقه) ۱۷- طویل شدن جنین (۳۳۴ دقیقه) ۱۸- تشکیل لوب بینایی (۳۶۰ دقیقه) ۱۹- تشکیل ۱۵ سومیت (۴۰۰ دقیقه) ۲۰- آغاز تپش قلب (۵۷۰ دقیقه) ۲۱- تخم گشایی (۶۲۰ دقیقه) ۲۲- لارو یک روزه ۲۲- لارو ۲ روزه (کیسه زرده در حال جذب) ۲۳- لارو ۳ روزه (بازگشایی دهان) ۲۴- لارو ۵ روزه (روده پر از روتیفر) ۲۵- لارو ۷ روزه (تشکیل رنگدانه های پوستی) ۲۶- لارو ۱۰ روزه (شکل گیری تمامی باله‌ها) ۲۷- لارو ۱۳ (تغذیه با ناپلی آرتمیا) ۲۸- لارو ۱۵ روزه (آغاز همجنس خواری) ۲۸- رنگدانه های ملانینی سطح پوست در دوره لاروی ۲۹- آغاز متامورفوز در لارو ۲۲ روزه و کاهش رنگدانه ها ملانینی ۳۰- بچه ماهی بند انگشتی ۳۰-۲۵ روزه ۳۱- بچه ماهی انگشت قد ۳۲-۴۰ روزه.

Figure 5: from left to right: 1- Fertilized egg before the start of cell divisions (30 minutes) 2- Stage of the first cell division (39 minutes) 3- Stage of 4-cell division (45 minutes) 4- Stage of 8-cell division (54 minutes) 5- 16-cell division stage (61 minutes) 6- 32-cell division stage (72 minutes) 7- 64-cell division stage (80 minutes) 8- 128-cell division stage (88 minutes) 9- 256-cell division (96 minutes) 10- 512-cells division stage (115 minutes), 11- 1000-cells division stage (132 minutes) 12- start of gastrulation (190 minutes) 13- formation of embryonic ring (200 minutes) 14- formation of embryonic shield (212 minutes) 50-15% of epiboly (290 minutes) 16- Blastoderm development (312 minutes) 17- Embryo elongation (334 minutes) 18- Optic lobe formation (360 minutes) 19- Formation of 15 somites (400 minutes) 20- Start of heartbeat (570 minutes) 21- Egg hatching (620 minutes) 22- Day-old larva 22- Day-2 larva (yolk sac absorbing) 23- Day-3 larva (mouth opening) 24- Day-5 larva (gut full of rotifer) 25- 7-day larva (formation of skin pigments) 26- 10-day larva (formation of all fins) 27- 13-day old larva (feeding with Artemia nauplii) 28- 15-day larva (beginning of homophagy) 28- Surface melanin pigments skin in the larval period 29- The beginning of metamorphosis in the 22-day-old larva and the reduction of melanin pigments. 30- 25-30 day old fingerlings. 31- 32-40 day old fingerlings

بحث

از بین پارامترهای محیطی، دما و شوری نقش بسیار مهمی بر رسیدگی جنسی و تغییر جنسیت ماهی باس دریایی آسیایی داشت درحالی‌که در ماهی باس اروپایی دوره نوری نقش مهمی در رسیدگی جنسی این گونه دارد (Carrillo and Bromage, 1989). همچنین افزایش شدید دمای آب منجر به تغییر نسبت جنسی نر به ماده در جمعیت‌های ماهی باس دریایی آسیایی شده است (Ospina-Alvarez and Piferrer, 2008). در مطالعه Athauda و همکاران (۲۰۱۲) ماهیان در آب با شوری ۳۰ واحد در هزار با دماهای متفاوت ۲۲، ۲۵، ۲۸، ۳۱ و ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. وزن اولیه ماهیان ۸۵۳ گرم بود. بیشترین وزن ماهیان بعد از ۱۴ هفته در ماهیان پرورش یافته در دمای ۳۱ درجه سانتی‌گراد و کمترین وزن متعلق به ماهیان پرورش‌یافته در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. بیشترین توسعه گنادی و تغییر جنسیت نر به ماده در دمای ۳۱ درجه و بعد از آن در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد به‌طوری‌که در دمای ۳۱ درجه سانتی‌گراد بیش از ۵۰ درصد بافت بیضه نر تحلیل رفته و به تخمدان تبدیل شده و در دمای ۲۸ کمتر از ۵۰ درصد بافت بیضه به تخمدان تبدیل

شده بود. در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد بافت بیضه در حال اضمحلال و بافت تخمدان در حال شکلگیری بود. در دماهای ۲۲ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد فقط بافت بیضه در ماهیان دیده شد. در این مطالعه میزان هورمون 11-Ketotestosterone در تمامی تیمارها در سطح غیر قابل اندازه‌گیری بود. در مطالعه‌ای دیگر، Athauda و Anderson (۲۰۱۴) اثرات توأمان شوری و دما را بر رسیدگی جنسی و تغییر جنسیت ماهی باس دریایی آسیایی بررسی نمودند. در این مطالعه از ماهیان جوان با وزن ۱۰۰۰-۷۰۰ گرم استفاده شد. این مطالعه دارای ۲ نوع آب شیرین و شور (۳۰ واحد در هزار) و ۳ دمای ۲۴، ۲۹ و ۳۴ درجه سانتی‌گراد بود. بیشترین وزن ماهیان در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد در شوری ۳۰ بعد از ۱۸ هفته بود و کمترین وزن ماهیان در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در آب شیرین بود. تغییر جنسیت بیشتر در ماهیان پرورش یافته در شوری ۳۰ و دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد دیده شد به طوری‌که بیش از ۵۰ درصد بافت بیضه به تخمدان تبدیل شده بود. اما در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در آب شیرین و شور، بافت بیضه تغییر نکرده بود. در این مطالعات، مشخص شد که افزایش دما به سمت ۳۴ درجه سانتی‌گراد سبب تحریک تغییر جنسیت در ماهی باس دریایی آسیایی می‌شود، اما تغییر جنسیت در ماهیان نگهداری شده در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد دیده نشد. همچنین شوری آب به‌تنهایی نمی‌تواند سبب بلوغ یا تغییر جنسیت در ماهی باس دریایی آسیایی شود بلکه بر همکنش دما و شوری بر بلوغ جنسی و تغییر جنسیت این گونه، اثرگذار است. به‌علاوه، افزایش فعالیت آنزیم Aromatase در مغز منجر به شروع فرآیند تغییر جنسیت ماهی باس دریایی آسیایی در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد می‌شود. همچنین میزان هورمون Estradiol در پلاسما ماهی باس دریایی آسیایی به‌تدریج با افزایش دما افزایش می‌یابد که سبب تغییر جنسیت در این گونه می‌گردد.

استفاده از هورمون LHRH-α در در تسریع رسیدگی نهایی تخمک‌ها و تخم‌ریزی در بسیاری از ماهیان دریایی مورد استفاده قرار گرفته است (Mylonas and Zohar 2007). مطالعات زیادی در ماهی باس دریایی آسیایی نشان داده است که تزریق این هورمون با دوز ۷۰-۱۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم با یک تزریق درون‌ماهیچه‌ای در ماهیان بالغ منجر به تخم‌ریزی می‌گردد (Lim *et al.*, 1986; Nacario, 1987; Almendras *et al.*, 1988). ظاهراً، تزریق دوز بالای هورمون LHRH-α منجر به بالا نگه داشتن سطح گنادوتروپین در سطح پلاسما و تخم‌ریزی در یک یا چند روز متوالی در ماهی باس دریایی آسیایی می‌گردد. با وجو داین، بهترین دوز برای تکثیر ماهی باس دریایی آسیایی در مطالعات مختلف متفاوت است و کاهش این دوز برای تکثیر منجر به صرفه‌جویی در هزینه‌های تکثیر خواهد شد. مولدین ماده با تخمک با اندازه ۵۲۰ میکرومتر به‌سرعت در مدت ۲۴ ساعت به هورمون LHRH-α با دوز ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم واکنش نشان می‌دهند و تخم‌ریزی می کنند (Nacario, 1987). بنابراین، رسیدگی تخمک‌ها و اندازه اولیه تخمک در پاسخ تخم‌ریزی ماهی باس دریایی آسیایی به هورمون، بسیار مهم است. Garcia (۱۹۸۹) اثرات دوزهای مختلف LHRH-α با دوزهای ۰، ۱، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ را بر مولدین ماده باس دریایی آسیایی با متوسط وزن ۵-۲/۲ کیلوگرم و قطر متوسط تخمک ۴۵۰ میکرومتر آزمایش نمود. ماهیان نر نیز هورمون LHRH-α را با دوز ۵۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم دریافت کردند. میزان درصد تخم‌ریزی با افزایش دوز هورمون افزایش یافت، اما بیشترین میزان تخم ریخته شده معادل ۵۰۰ هزار تخم به ازاء هر کیلو گرم در ماهیان تزریق شده با ۱۰ میکروگرم هورمون به ازاء هر کیلوگرم حاصل شد. همچنین درصد لقاح با افزایش دوز هورمون افزایش یافت و بیشترین درصد لقاح معادل ۹۸ درصد و بیشترین تخم‌گشایی معادل ۵۸ درصد در ماهیان تزریق شده با دوز ۱۰۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم به‌دست آمد. همچنین در این مطالعه مشخص شد که ماهیان با قطر تخمک ۳۹۰-۳۰۰ میکرومتر، به تزریق هورمون پاسخ نمی‌دهند. ماهیان با قطر تخمک ۴۹۰-۴۰۰ میکرومتر به طور ۱۰۰ درصد به تزریق هورمون بعد از ۳۶-۳۰ ساعت پاسخ داده و ماهیان با قطر تخمک ۵۵۰-۵۰۰ میکرومتر بعد از ۹-۸ ساعت به تزریق هورمون پاسخ دادند. ۱۰۰ درصد ماهیانی که دارای قطر تخمک ۵۵۰-۵۰۰ میکرومتر بودند، بدون تزریق هورمون (فقط با تزریق سرم نمکی ۰/۹ درصد) بعد از ۲۶-۲۴ ساعت تخم‌ریزی نمودند.

نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که تزریق دوزهای بالای LHRH-α منجر به تخم‌ریزی به مدت ۳ روز متوالی می‌گردد. نتایج مطالعه پروژه حاضر نشان داد که حداقل اندازه تخمک برای تزریق هورمون، ۴۵۰ میکرومتر است و بهترین دوز هورمون LHRH-α2 برای هر دو جنس نر و ماده، ۵۰ میکروگرم به ازاء هر کیلوگرم بود که سبب بالاترین میزان لقاح و تخم‌ریزی شد. اما در مطالعه Garcia (۱۹۸۹) حداقل اندازه تخمک برای تزریق هورمون، حدود ۴۰۰ میکرومتر اعلام شده بود. بنابراین، هورمون LHRH-α از طریق تحریک هورمون گنادوتروپین و آستروئیدهای جنسی تخمدان منجر به رسیدگی نهایی در تخمک می‌شود و تخم‌ریزی را در مولدین ماده تحریک می‌کند. در پروژه حاضر نیز تزریق هورمون در ساعات ۹ الی حداکثر ۱۱ صبح صورت می‌گرفت. مدت زمان لازم برای تخم‌ریزی بعد از تزریق هورمون[1] به عوامل مختلفی از جمله نوع هورمون، دوز هورمون، رسیدگی جنسی ماده، روش به‌کارگیری هورمون و دما بستگی دارد. باید به این نکته اشاره کرد که ماهی باس دریایی آسیای به طور طبیعی در طول شب تخم‌ریزی می‌کند. تخم‌ریزی ماهیان مولد باس دریایی آسیایی تا حد زیادی قابل پیش‌بینی است و حدود ۴-۳ روز قبل یا بعد از مرحله‌ای که ماه در ربع اول خود قرار دارد، معمولاً در شب رخ می‌دهد (Toledo *et al.*, 1991). علت تخم‌ریزی ماهیان دریایی در طول شب، کاهش خطر خورده شدن لارو و تخم به‌وسیله شکارچیان در طول روز است. این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که پاسخ گنادها به تزریق هورمون به ساعات خاصی در طول روز، بسیار متفاوت است.

نتایج پروژه حاضر نشان داد که رعایت اصول ایمنی زیستی مهم‌ترین اصل در اجرای برنامه‌های مولدسازی، اهلی‌سازی ماهیان دریایی جدید منتخب تکثیر و پرورش و برنامه‌های بهگزینی است. همچنین گونه باس دریایی آسیایی، از پتانسیل بسیار زیادی جهت تکثیر در شرایط اسارت و تولید انبوه بچه ماهی برخوردار است و می‌تواند به عنوان گونه اصلی ماهی دریایی به برنامه‌های کوتاه‌مدت برای توسعه پرورش ماهیان در قفس در آبهای جنوب کشور کمک کند. با وجود این، ایجاد تنوع زیستی در آبزی‌پروری با دستیابی به زیست فناوری تکثیر و تولید انبوه بچه ماهیان گونه‌های بومی دریایی در برنامه‌های میان‌مدت جهت پایداری تولید ماهیان دریایی در قفس باید مد نظر قرار گیرد. همچنین استفاده از القاء هورمون های پپتیدی دیر رهش و رسیدگی به بلوغ جنسی زودرس و یا تغییر جنسیت زودرس برای اجرای برنامه‌های بهگزینی و تأمین مولد زایای مورد نیاز کشور برای گونه ماهی باس دریایی آسیایی پیشنهاد می‌گردد. از بهمن ماه سال ۱۴۰۱ لغایت تیر ماه سال ۱۴۰۲، ۲۰۸ عدد مولد زایا به پنج بخش خصوصی در استان خوزستان و هرمزگان برای تولید انبوه بچه ماهی این گونه اهداء شد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از پشتیبانی آقایان مقدسی زاده، آقای پژند، آقای رفاقت و دکتر یونس زاده فشالمی در طول دوره مولد سازی، تکثیر و نمونه برداری از ماهیان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Almendras, J.M., Duenas, C., Nacario, J., Sherwood, N.M. and Crim, L.W., 1988. Sustained hormone release III. Use of gonadotropin-releasing hormone analogues to induce multiple spawning in seabass, *Later calcarifer*. *Aquaculture*, 74:97–111. DOI:10.1016/0044-8486(88)90090-7.

Athauda, S. and Anderson, T.A., 2014. Effect of temperature and salinity on sex inversion in Asian Seabass (*Lates calcarifer*): relationship with plasma sex steroids concentration and aromatase activity of gonad and brain. *Aquaculture Research*, 2012, 45:787–797. DOI:10.1111/are.12018.

[1] Latency period

Athauda, S., Anderson, T.A. and de Nys, R., 2012. Effect of rearing water temperature on protandrous sex inversion in cultured Asian Seabass (*Lates calcarifer*). *General and Comparative Endocrinology*, 175:416–423. DOI:10.1016/j.ygcen.2011.11.040.

Carrillo, M. and Bromage, N., 1989. The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 81:351–366. DOI:10.1016/0044-8486(89)90159-2.

Garcia, L.M.B., 1989. Spawning response of mature female sea bass, Lates calcarifer (Bloch), to a single injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue: effect of dose and initial oocyte size. *Journal of Applied Ichthyology*, 5, 177–184. DOI:10.1007/BF00005126.

Guiguen, Y., Cauty, C., Fostier, A., Fuchs, J. and Jalabert, B., 1994. Reproductive cycle and sex inversion of the seabass, *Lates calcarifer*, reared in sea cages in French Polynesia: histological and morphometric description. *Environmental Biology of Fishes*, 39:231-247. DOI:10.1007/BF00005126.

Kailasam, M., Thirunavukkarasu, A.R., Selvaraj, S., and Stalin, P., 2007. Effect of delayed initial feeding on growth and survival of Asian sea bass *Lates calcarifer* (Bloch) larvae. *Aquaculture*, 271:298–306. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.05.005.

Lim, L.C., Heng, H.H. and Lee, H.B., 1986. The induced breeding of Sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) in Singapore. *Singapore Journal of Primary Industries*, 14:81-95.

Mozanzadeh, M.T., Safari, O., Oosooli, R., Mehrjooyan, S., Najafabadi, M.Z., Hoseini, S.J., Saghavi, H. and Monem, J., 2021. The effect of salinity on growth performance, digestive and antioxidant enzymes, humoral immunity and stress indices in two euryhaline fish species: yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 534:736329. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.736329.

Mylonas, C.C. and Zohar, Y., 2007. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. In: The Fish Oocyte. Springer, Dordrecht, pp. 437–474.

Nacario, J.F., 1987. Releasing hormones as an effective agent in the induction of spawning in captivity of sea bass (*Lates calcarifer*). In.: Copland, J.W. and Grey, D.L. (eds) Management of wild and Cultured Sea bass barramundi (*Lates calcarifer*)., Darwin, Northern Territory, Australia, pp. 126-1 28.

Ospina-Alvarez, N. and Piferrer, F., 2008. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS ONE*, 3e2837. DOI:10.1371/journal.pone.0002837.

Schipp, G., Bosmans, J. and Humphrey, J., 2007. Barramundi Farming Handbook. Department of Primary Industry, Fisheries and Mines, Northern Territory Government, 71 P.

Toledo, J.D., Marte, C.L. and Castillo, A.R., 1991. Spontaneous maturation and spawning of seabass *Lates calcarifer* in floating net cages. *Journal of Applied Ichthyology*, 7:217–220. DOI:10.1111/j.1439-0426.1991.tb00599.x.

Broodstocking and propagation techniques of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) larvae under captivity conditions

Torfi Mozanzadeh M.[1*]; Zabayeh Najafabadi M.[1]; Hoshmand H.[1]; Ahangarzadeh M.[1]; Oosooli A.[1]; Saghavi H.[1]; Mehrjooyan Sh.[1]; Seyed Mortezaei S.R.; Hoseini Malayeri S.J.[1]; Hafezieh M.[2]; Hosseinzadeh Sahafi H.[2]

[*]Mansour.torfi@gmail.com

1- Aquaculture Research Center -South of Iran, Iranian Fisheries Science Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahwaz, Iran
2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

The present research was started in 2016 at Bandar Imam Khomeini Marine Fish Research Station. The aim of this project was to produce fertile broodstock and achieve the biotechnique of larval propagation and fry production of the Asian sea bass. In this regard, the Thai fry strain were introduced in the station over three different years and their breeding was done until the pre-breeding stage. After four years, 3- and 4-year-old female pre-brooders and 1.5-year-old male pre-brooders were produced, and in the summer of 2022, these brooders were propagated by artificial reproduction method through injecting. In Khuzestan, the reproduction season begins from June to the end of September at a temperature between 28 and 34 ºC. The fish spawning occurs between 36 and 40 h after injection at midnight. The LHRH-α2 hormone was injected intramuscularly for the artificial reproduction of this species. The percentage of fertilization, hatching, and survival of 3-day-old larvae of Asian sea bass in different months varied between 78-92%, 82-93%, and 75-85%, respectively. From February 2022 to July 2023, 208 brooders were donated to 5 private hatchery sectors in Khuzestan and Hormozgan provinces for the mass seed production of this species. The results of the current project showed that the establishment of biosecurity is the most important principle in the implementation of breeding programs, domestication of new marine fish candidates, and selective breeding programs. Also, Asian sea bass has great potential for reproduction in captivity and mass fry production, and it can help short-term programs for the development of marine cage culture in the southern waters of Iran.

Keywords: Hormone induction, Artificial propagation, Larviculture, Asian seabass, Livefeed

[*]Corresponding author