

افزایش راندمان تکثیر مصنوعی مولدین تاسماهی ایرانی با استفاده از پارامترهای خونی

*مهدی گل آقائی درزی^۱، سیدمحمدوحیدفارابی^۱، رضا صفری^۱، عبدالحمید آذری^۱

پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

ساری، ایران

Golaghaei1352@gmail.com

چکیده

در سال‌های اخیر عوامل متعددی از قبیل صید بی‌رویه، احداث سد، آلودگی آب دریا و رودخانه‌های محل تخم‌ریزی طبیعی، سبب کاهش شدید جمعیت ماهیان خاویاری دریای خزر شده‌است. لذا تولید حاصل از فعالیت‌های آبی‌پروری و تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری افزایش یافته‌است. برخلاف روند معمول فعلی، تنها از روی درصد سیالیت تخمک‌ها و قطبیت هسته تخمک، نمی‌توان در مورد آمادگی کامل مولد برای طی موفقیت‌آمیز مراحل بعدی تکثیر مصنوعی قضاوت درستی ارائه نمود. از این رو هدف مقاله حاضر، بکارگیری مقادیر فاکتورهای خونی مولدین همراه با معیار روش‌های معمول، برای تعیین آمادگی کامل مولد و افزایش راندمان تکثیر مصنوعی مولدین تاسماهی ایرانی می‌باشد. لذا تعداد ۳۰ قطعه ماهی مولد تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) انتخاب و شاخص‌های خونی شامل میانگین گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت، آلبومین سرم و گلبول سفید به همراه وضعیت تخمدان و تخمک‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

واژگان کلیدی: تکثیر مصنوعی، مولد تاسماهی، قره برون، فاکتورهای خونی، بیومتری

Journal of Aquatic
Caspian Sea (J.A.C.S.)

بیان مسئله

تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از گونه‌های مهم اقتصادی دریای خزر می‌باشد که جهت تخم‌ریزی طبیعی به رودخانه‌های مناسب مهاجرت می‌نماید. در دهه‌های اخیر فعالیت‌های انسانی مشکلات زیادی را در این مسیر بوجود آورده که باعث نامناسب شدن رودخانه‌ها برای مهاجرت و تخم‌ریزی طبیعی ماهیان خاویاری و تغییرات زیاد در خصوصیات فیزیولوژیک و سیستم تولیدمثل و رفتار مهاجرتی، دینامیک حرکت و ترکیب جمعیتی آنها گردیده‌است (Barannikova, 1997؛ آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۷۶؛ پورکاظمی، ۱۳۷۶). در نتیجه نیاز مراکز تکثیر مصنوعی به مولدین مهاجر از طریق صید در رودخانه‌ها، تامین نشده و ناچاراً استفاده از ماهیان صید شده از سواحل دریا رایج گردیده است.

از قرن ۱۹ به بعد جمعیت ماهیان خاویاری با افت چشمگیری مواجه شد و امروزه همه ماهیان خاویاری جزو گونه‌های پرخطر انقراض در آبزیان آب شیرین قرار گرفته‌اند (Wuertz et al., 2018). برخلاف کاهش میزان صید طبیعی ماهیان خاویاری، تولید حاصل از فعالیت‌های آبی‌پروری ماهیان خاویاری از دهه ۱۹۹۰ بشدت افزایش پیدا کرده‌است (Bronzi and Rosenthal, 2014). در حال حاضر کشور چین در مقیاس جهانی، تولید بیش از ۵۵ درصد گوشت ماهیان خاویاری را به خود اختصاص داده‌است و کشور روسیه و اتحادیه اروپا در رده‌های بعدی قرار دارند (FAO, 2020).

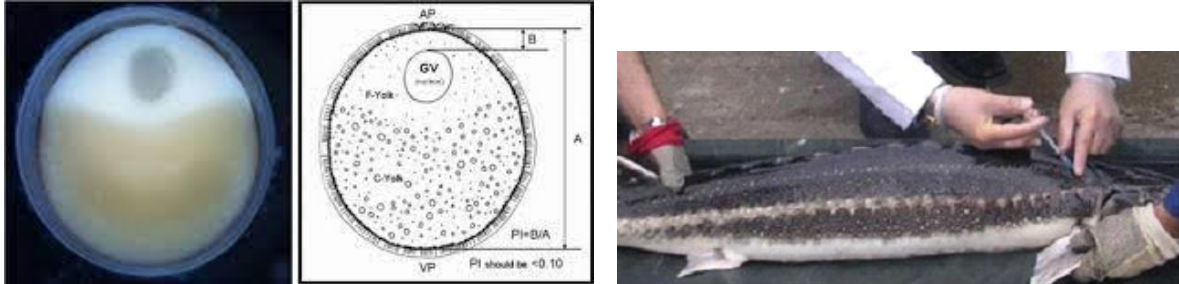
در حال حاضر به منظور ارزیابی استعداد و آمادگی اولیه مولدین مناسب در تکثیر مصنوعی، استفاده از روش اندازه‌گیری قطبیت هسته تخمک (GV, Germinal Vesicle) متداول می‌باشد (آذری و همکاران ۱۳۷۶؛ امینی ۱۳۷۶). اما با وجود یکسان بودن روش کار و شرایط تکثیر مصنوعی و نیز مناسب بودن قطبیت هسته تخمک (GV)، مواردی از تفاوت‌های آشکار در درصد لقاح و درصد تلفات در مراحل انکوباسیون و مراحل اولیه لاروی مشاهده شده‌است (فلاح‌تکار، ۱۳۷۷). تست فیزیکی جهت رسیدگی شاخص سیال شدن و حرکت تخمک‌ها از مواردی است که مورد توجه قرار می‌گیرد. سیستم پرورش، کیفیت آب، شدت تغذیه، رژیم غذایی و دما ممکن است باعث تاخیر در بلوغ و کاهش کارایی و دقت در تعیین جنسیت گردد (Wuertz et al., 2018). از سوئی دیگر بین ترکیب بیوشیمیایی تخمک و کیفیت تکثیر مصنوعی ارتباط وجود دارد و ترکیب تخمک می‌تواند در بهبود آن مؤثر باشد. در شرایط نامناسب محیطی، هماهنگی بین رسیدگی نهایی و اوولاسیون تخمک‌های ماده به راحتی مختل شده که این امر سبب آسیب دیدگی تخمک‌ها و کاهش کیفیت راندمان تکثیر می‌گردد (Dettlaff et al., 1993).

تعداد گلبول‌های سفید و ترکیب آن یکی از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی، وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد. از زمان شروع صید تا قبل از عملیات تخم‌کشی و اسپرم‌گیری، مولدین در شرایط مشابه استرس‌زا قرار دارند که این شرایط بر سلول‌های خونی تأثیرگذار بوده و باعث کاهش غلظت گلبول‌های قرمز خون و تعداد سلول‌های لنفوسیت و منوسیت و افزایش سلول‌های نوتروفیل می‌گردد. میانگین تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین با افزایش وزن و سن در ماهی قره‌برون افزایش می‌یابد که راهنمای خوبی در بررسی اثرگذاری بر رسیدگی جنسی می‌باشد (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۹). از این رو هدف مقاله ترویجی حاضر، بکارگیری مقادیر فاکتورهای خونی مولدین همراه با سایر روش‌های معمول از قبیل درصد سیالیت تخمک‌ها و قطبیت هسته تخمک (GV) و میزان آلبومین برای تعیین آمادگی کامل مولد و انجام موفقیت‌آمیز مراحل بعدی تکثیر مصنوعی می‌باشد.

معرفی دستاورد یا راهکار

مطالعه حاضر، حاصل بررسی بر روی تعداد ۳۰ قطعه ماهی مولد با شاخص قطبیت مناسب هسته تخمک (GV) به میزان ۲/۸ ± ۶/۱ درصد می‌باشد (شکل ۱). مولدین از سواحل جنوب شرقی دریای خزر در سال ۱۳۹۵ صید شدند. مولدین برای

هورمون‌تراپی و تحریک رسیدگی جنسی حداکثر به مدت یک یا دو روز در حوضچه های کورینسکی و در دمای آب ۱۷ تا ۲۰ درجه سانتیگراد در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجائی ساری نگهداری گردیدند و به هر یک از مولدین مقدار ۴۵ میلی‌گرم عصاره غده هیپوفیز (شکل ۲) تزریق شد (Dettlaff et al., 1993).



شکل ۲. تعیین قطبیت هسته در تخمک

شکل ۱. تزریق هورمون سنتتیک به ماهی

ابتدا همه مولدین بر اساس میزان درصد لقاح تخم و رسیدن تخم‌ها به مرحله‌ی گاسترولا گروه‌بندی شدند. گروه اول با درصد گاسترولای کمتر از پنجاه درصد (که از فرایند تکثیر مصنوعی دور گذاشته می‌شوند). گروه دوم با درصد گاسترولای بالاتر از پنجاه درصد پس از پایان تقسیمات جنینی و خروج لارو تقسیم‌بندی شدند (شکل ۳).



شکل ۳. بررسی تقسیمات سلولی تخم

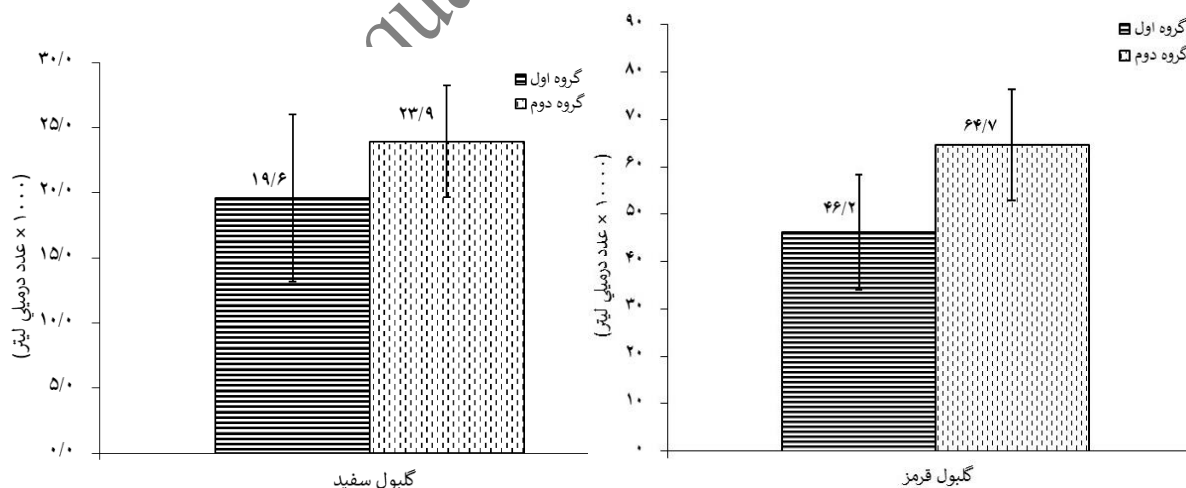
میانگین سن و طول مولدین حاضر به ترتیب برابر ۱۶/۶۸ سال و ۱۷۴/۳۹ سانتیمتر بدست آمد که از نظر آماری در دو گروه یکسان بدست آمد ($P > 0.05$). اما متوسط سنی و طول بدن مولدین صید شده بیشتر از متوسط سن و طول سایر ماهیان صید شده در صیدگاه‌ها (به ترتیب برابر ۱۶/۳۷ سال و ۱۵۳/۲۲ سانتیمتر) بود. به لحاظ میانگین درصد سیالیت تخمک‌ها، وزن کل تخمک و وزن هر تخمک در دو گروه از مولدین یکسان بود ($P > 0.05$). در مولدین گروه اول میانگین وزنی کل تخمک ۴/۸۸ کیلوگرم و میانگین درصد سیالیت کل تخمک ۷۸/۸ درصد بوده که نسبت به میانگین آن در گروه دوم به ترتیب ۵/۶۴ کیلوگرم و ۸۹/۲ درصد کمتر می‌باشد. میانگین وزنی تخمک (R) در گروه اول ۲۰/۷ میلی‌گرم بوده که از میانگین وزنی تخمک در گروه دوم ۱۹/۷ میلی‌گرم کمتر می‌باشد. در این بررسی با خون‌گیری از ساقه دمی میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت، آلبومین سرم و گلبول سفید در مولدین گروه دوم اندازه‌گیری شد (شکل ۴).



شکل ۴. خون‌گیری از ساقه دمی مولدین

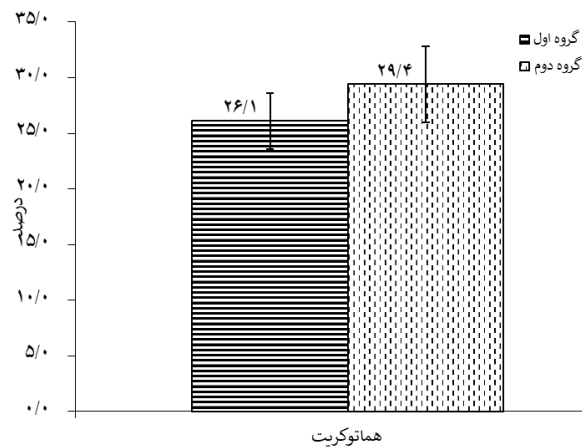
میانگین مقادیر گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت، آلبومین سرم و گلبول سفید در گروه دوم بیشتر از میانگین آن در گروه اول بود. بطوری که دو گروه از لحاظ میانگین گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت (شکل ۵ تا ۸) دارای تفاوت آماری بودند ($P < 0/05$). میانگین آلبومین در گروه دوم (۲۵/۳ میلی گرم در لیتر) کمی بیشتر از گروه اول (۲۲/۷ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد. اما دو گروه از نظر میزان میانگین آلبومین دارای اختلاف معنی داری نبودند ($P > 0/05$). ولی میانگین میزان نوتروفیل گروه اول از گروه دوم بالاتر بوده است.

با بررسی پارامترهای خونی معین شد که بین گلبول قرمز (RBCs) با درصد تخم سیال ($r = 0/41$ ، $P < 0/05$) و وزن تخمک غیرسیال ($r = -0/45$ ، $P < 0/05$) و درصد هیچ تخمها ($r = -0/48$ ، $P < 0/05$) همبستگی وجود داشته است. همچنین بین درصد گاسترولا با تعداد گلبول قرمز ($r = 0/55$ ، $P < 0/01$)، با میزان هموگلوبین ($r = 0/45$ ، $P < 0/05$) و با درصد هماتوکریت ($r = 0/46$ ، $P < 0/05$) همبستگی مشاهده شد. همچنین بین تعداد گلبول قرمز (RBCs) و تعداد گلبول سفید (WBCs) همبستگی مثبت گردید ($r = 0/55$ ، $P < 0/05$)، ولی بین گلبول سفید با درصد لقاح و درصد گاسترولا همبستگی دیده نشده است ($P > 0/05$). اما باید توجه داشت که میانگین تعداد گلبول سفید در مولدین گروه دوم بیشتر از گروه اول بوده است.

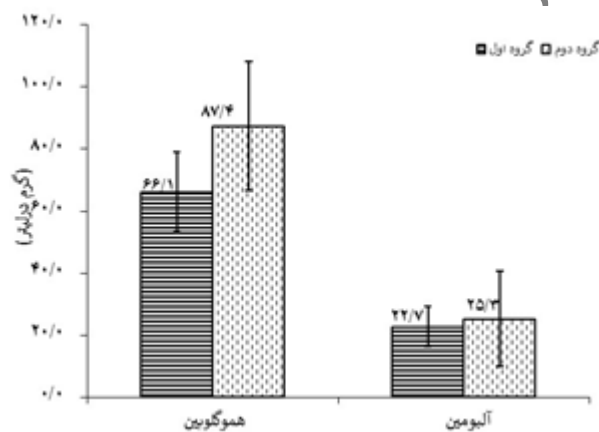


شکل ۶. مقایسه میزان گلبول سفید در دو گروه مولدین

شکل ۵. مقایسه میزان گلبول قرمز در دو گروه مولدین



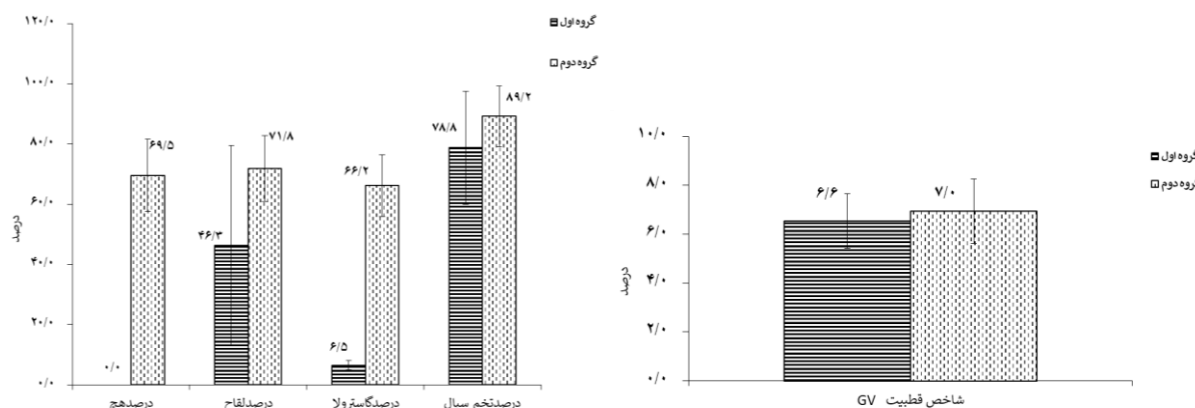
شکل ۷. مقایسه میزان هماتوکریت در دو گروه مولدین



شکل ۸. مقایسه میزان آلبومین و هموگلوبین در دو گروه مولدین

در این تحقیق میانگین شاخص قطبیت هسته در گروه اول ۰/۶۶٪ و در گروه دوم ۰/۷٪ بوده که به لحاظ آماری بین این دو گروه اختلاف معنی داری ($P>0/05$) مشاهده نگردید. درصد تخم سیال با میزان درصد لقاح مرتبط بوده ($r=0/67$ ، $P<0/01$) ولی در مراحل بعدی پیشرفت رشد جنین در مرحله گاسترولا غیر مرتبط بوده است ($P>0/05$). این موضوع نشانگر آن است که صرفاً نباید به تست فیزیکی و سیالیت بسنده نمود. در مولدینی که وزن تخمک آنها بیشتر بوده است، آلبومین سرم نیز در آنها بیشتر بوده ($r=0/39$ ، $P<0/01$) که به تبع آن ذخیره غذایی برای تخم لقاح یافته و لارو بیشتر خواهد شد، ولی ارتباطی بین وزن تخمک و آلبومین سرم با درصد لقاح و گاسترولا دیده نشده است ($P>0/05$). از طرفی میزان آلبومین سرم با وزن تخم غیرسیال و موقعیت GV دارای همبستگی منفی (به ترتیب $r = -0/36$ و $r = -0/37$) می باشد ($P<0/05$). یعنی مولدینی که میزان آلبومین آنها بیشتر است، میزان تخم غیرسیال آنها کمتر و عدد شاخص قطبیت هسته تخمک (GV) آنها کوچک تر می باشد. بین عدد شاخص قطبیت هسته تخمک (GV) و میزان آلبومین سرم با درصد لقاح همبستگی وجود نداشته است

($P>0/05$) ولی بطور کلی مولدینی که تخمک آنها دارای میانگین عدد شاخص قطبیت هسته تخمک (GV) کوچک تر و آلبومین بیشتری داشتند، درصد لقاح بالاتری در آنها مشاهده شد (شکل های ۹ و ۱۰).



شکل ۱۰. درصد تخم سیال، هج، لقاح و گاسترولا در دو گروه مولدین

شکل ۹. مقایسه شاخص قطبیت هسته (GV) در دو گروه مولدین

توصیه ترویجی

محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن بر مقادیر متابولیت های خونی ماهیان تأثیر می گذارد. لذا تعداد گلبول های قرمز و سایر فاکتورهای خونی در ارتباط با گونه ماهیان و استرس های محیطی و حرارتی تغییر می کند. از آنجایی که فقط از روی درصد سیالیت تخمک ها و شاخص قطبیت هسته (GV) و میزان آلبومین نمی توان در مورد آمادگی کامل مولد برای طی موفقیت آمیز مراحل بعدی تکثیر مصنوعی قضاوت درستی ارایه نمود، لذا توجه به میزان فاکتورهای خونی مولدین در توانایی پاسخ آن به تحریکات خارجی نیز ضروری می باشد. بر اساس مطالعه حاضر، بررسی روابط فاکتورهای خونی همراه با شاخص قطبیت هسته (GV) و میزان سیالیت تخمک ها می توانند به عنوان راهنمایی های سودمند در ارزیابی مناسب وضعیت آبزبان از لحاظ آمادگی مولد برای تکثیر مصنوعی مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاران محترم پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، همکاران و کارشناسان مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری برای فراهم نمودن بستر این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

- آذری تاکامی، ق.، پوستی، ا. و ابراهیمی، ع.، ۱۳۷۶. بررسی تشخیص استعداد تولید مثل در مولدان تاسماهی ایران. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۱ (۳ و ۴): ۹۷-۱۱۱.
- امینی، ک.، دونسکایا، پ.، و روگوف، م.، ۱۳۷۶. گزارش مقدماتی پروژه ارزیابی بیولوژیکی و فیزیولوژیکی کیفیت تاسماهیان مولد. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری رشت. ۱۶ صفحه.
- بهمنی، م.، کاظمی، ر.، یوسفی جوردی، ا.، یزدانی ساداتی، م.ع.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، دژندیان، س.، و محسنی، م.، ۱۳۸۹. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی، بررسی امکان تکثیر مصنوعی شیپ و تاسماهی ایرانی پرورشی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۸۰ صفحه.

-پورکاظمی، م.، ۱۳۷۶. نگرشی بر وضعیت تاسماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران، ۶ (۳): ۱۳-۲۲.
 -فلاح‌تکدار، ب.، ۱۳۷۷. مطالعه رابطه بین فاکتورهای خونی و کیفیت مولدین تاسماهی روسی (چالباش) جهت تکثیر مصنوعی، پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس. ۱۲۸ صفحه.

-Barannikova, I.A., 1997. Sex steroid concentration in blood serum of Sturgeons and its specific cytosol binding in brain in different stages of migratory cycle. Paper presented at the 3th International Symposium Of sturgeon, Italy.

-Bronzi, P. and Rosenthal, H., 2014. Present and future sturgeon and caviar production and marketing A global market overview. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(6). <https://doi.org/10.1111/jai.12628>.

-Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., and Schmalhausen, O.I., 1993. *Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture*. Springer-Verlag Press, Berlin, Heidelberg, Germany. 300p.

-FAO, 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome. Available at <http://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>.

-Wuertz, S., Güralp, H., Pšenička, M. and Chebanov, M., 2018. *Sex Control in Aquaculture*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.550p.

Journal of Aquatic Caspian Sea