



تأثیر نر عقیمی (Sterile Male) حاصل از پرتو گاما در بچه ماهی آزاد دریای خزر

Salmo trutta caspius بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه

غلامرضا، شاه حسینی*؛ علیرضا، نیسی؛ مرضیه، حیدریه؛ جمشید، امیری مقدم

سازمان انرژی اتمی- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای- پژوهشکده کاربرد پرتوها

چکیده:

اسپریم از مولد نر ماهی آزاد استحصال شده، سپس توسط کبالت ۶۰ با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ آگری مورد پرتودهی قرار گرفت. از اسپرم‌های پرتوخورده و شوک دمایی (۲۸ درجه سانتی‌گراد) برای لقاح با تخمک ماهی ماده و القای، نر عقیمی استفاده شد. پس از طی مراحل مختلف انکوباسیون و جذب کیسه زرده ماهیان تیمارهای مختلف با تراکم ۵۰ قطعه بچه ماهی آزاد به ۱۸ مخزن ۱۰۰ لیتری فایبر گلاس بیضی شکل وارد شدند. تاثیر، نر عقیمی بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* در یک دوره پرورشی ۲ ماهه پس از تفریح تخم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که هیچ کدام از دوزهای استفاده شده تاثیر بر رشد و ترکیبات شیمیایی لاشه ماهی آزاد در مراحل اولیه زندگی ندارد. کلید واژه: ماهی آزاد، پرتو گاما، نر عقیمی، شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه

مقدمه:

ماهی آزاد دریای خزر یکی از ۹ زیر گونه قزل آلاهی قهوه‌ای (*Salmo trutta*) می‌باشد [۱] این ماهی از گونه های بومی و مهاجر دریای خزر می‌باشد [۱] و دارای ارزش اقتصادی بالایی است [۲، ۳]. در ۲۰ سال گذشته جمعیت این ماهی به علت آلودگی رودخانه ها، ماهیگیری غیر مجاز و تخریب بستر تخم‌ریزی کاهش یافته است [۴]. با افزایش تقاضا برای تولید غذا از طریق آبی پروری، پرورش ماهیان سردآبی از جمله ماهی آزاد از اهمیت خاصی برخوردار بوده و طبق آمار، تولید و پرورش این ماهیان در جهان به بیش از ۵۵۰/۴۷۳ هزار تن در سال رسیده است [۵]. مشکلات این صنعت مهم نظیر بالا بودن هزینه های مربوط به پرورش، بالا بودن ضریب تبدیل غذایی، کندی رشد، حساسیت نسبت به بیماری ها، بالا بودن تلفات دوره پرورش و غیره است. در این راستا امروزه دستکاری کروموزومی گونه های مختلف آبزیان به عنوان یک روش مفید در بهبود ویژگی های ژنتیکی ماهیان بسیار رایج می باشد [۶].

پدیده بلوغ جنسی در بسیاری از ماهیان از جمله ماهی آزاد دریای خزر باعث کاهش رشد بدن می شود [۷]. زیرا انرژی که باید صرف تولید گوشت شود، صرف توسعه اندام های تولیدمثلی و بروز صفات ثانویه جنسی و رفتارهای تولید مثلی می شود. در ماهی آزاد دریای خزر پدیده بلوغ جنسی در جنس نر خیلی زودتر از



جنس ماده به وقوع می پیوندد [۸, ۹]. لذا استفاده از جمعیت های تمام ماده که به طرق مختلف تولید شده باشند، باعث افزایش بازده تولید می گردد [۱۰]. علاوه با توجه به اینکه افزایش رشد میتواند ناشی از خطای آزمایش و تجمع کل چربی بدن باشد [۱۱]. برای مشخص شدن رشد واقعی ترکیبات کل لاشه ماهی باید اندازه گیری شود.

یکی از راه های القای جمعیت تمام ماده در آزاد ماهیان عقیم سازی اسپرم با استفاده از پرتو گاما ساع شده از کبالت ۶۰ و یا سزیم ۱۳۷ می باشد [۱۲]. در این بررسی از انرژی حاصل از پرتوهای گاما (ساع شده از کبالت ۶۰) جهت تغییر جنسیت ژنومیک نر عقیمی (sterile male) در ماهی آزاد دریای خزر استفاده شد. هدف اصلی از این پژوهش بررسی رشد و کیفیت لاشه ماهی آزاد، نر عقیمی شده توسط کبالت ۶۰ در مراحل اولیه زندگی (۲ ماه اول) می باشد.

مواد و روشها:

مولد ماهی آزاد (۳ ساله) با متوسط وزن ۵۰۰ گرم، از مرکز تحقیقات ماهی تنکابن خریداری به محل تحقیقات آبیان کشاورزی هسته ای منتقل و به مدت دو هفته به محیط جدید سازگار شدند.

جهت انجام آزمایشات مربوط به نر عقیمی (sterile male) ماهیان آزاد دریای خزر، اسپرم مولدین نر توسط اشعه گاما با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری پرتو دهی گردید. در مرحله بعد لقاح به صورت خشک با مخلوط نمودن تخمک و اسپرم (با نسبت ۱-۰/۵ میلی لیتر اسپرم برای هر ۱۰۰۰ قطعه تخمک) انجام شد.

به منظور دیپلوئید نمودن جنین های هاپلوئید، تخم های لقاح یافته ۱۰ دقیقه بعد از لقاح، به مدت ۱۰ دقیقه تحت تاثیر شوکهای حرارتی (حمام آب گرم با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد) قرار گرفتند. بمنظور بررسی شرایط اپتیمال لقاح اسپرم و تخمک یک گروه شاهد در نظر گرفته شده که پس از لقاح با تخمک و اسپرم نرمال، بدون استفاده از شوک حرارتی می باشد (شاهد).

بعد از تکثیر جهت تکمیل فرایند شوک دهی ادامه تکامل مراحل جنینی تا زمان تفریح و جذب کیسه زرده تخم ها به انکوباتور پرورش تخم ماهی منتقل شدند. پس از طی دوره انکوباسیون تخم ها، سپس لاروهای هیچ شده (تفریح شده) بعد از شروع شنای فعال توسط خوراک تجاری مخصوص ماهی آزاد رنگین کمان غذایی شدند.

طرح آزمایش:

بلافاصله بعد از جذب کیسه زرده (شنای فعال)، تعداد ۹۰۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) برای بررسی شاخص های رشدی و کیفیت لاشه از انکوباتور به تانکهای ۱۰۰ لیتری منتقل شدند.



در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲ ماه پرورشی تحت ۶ تیمار شامل: (تیمار اول تیمار شاهد)، (تیمار (۲) تیمار (۴۵۰)، (تیمار (۳)، تیمار (۶۰۰)، (تیمار (۴) تیمار (۷۵۰)، (تیمار (۵) تیمار (۹۰۰) و (تیمار (۶)، تیمار (۱۰۵۰) در نظر گرفته شد. میزان غذادهی ۴ بار در روز و تا حد سیری بود. در شروع آزمایش ۵۰ قطعه بچه ماهی دارای میانگین وزن 0.15 ± 0.021 گرم که از نظر ظاهری فاقد هر گونه عامل بیماری بود به هر واحد آزمایشی اضافه شد.

هر واحد آزمایشی از یک تانک فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری آب تشکیل شده بود که توسط یک هواده مرکزی به صورت شبانه روزی هوا دهی می‌شد. جریان آب در هر تانک به صورت شبانه روز برای کلیه واحدهای آزمایشی در برقرار بود.

نمونه برداری از ماهیان و اندازه گیری شاخص های رشد:

پس از شروع شنای فعال (جذب کیسه زرده) ماهیان توسط خوراک استارتر مخصوص لارو غذادهی شدند. لاروهای تیمارهای آزمایشی در ابتدا و انتهای دوره پرورشی وزن کشی و (وزن اولیه (Wi)، وزن انتهایی (Wf)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، نرخ کارایی پروتئین (PER)، نرخ کارایی غذا [۱۳] و درصد بقا [۱۴] طبق فرمول های زیر میزان محاسبه شد:

$$100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}) = \text{درصد افزایش وزن}$$

$$100 \times (\text{مدت زمان آزمایش} / \text{لگاریتم وزن اولیه} - \text{لگاریتم وزن نهایی}) = \text{نرخ رشد ویژه}$$

$$(\text{افزایش وزن کسب شده (گرم)} / \text{کل غذای خورده شده (گرم)}) = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$(\text{غذای خورده شده (گرم)} / \text{افزایش وزن کسب شده (گرم)}) = \text{FER (نرخ کارایی غذا)}$$

$$(\text{پروتئین خورده شده (گرم)} / \text{افزایش وزن کسب شده (گرم)}) = \text{PER (نرخ کارایی پروتئین)}$$

$$100 \times (\text{تعداد ماهیان در شروع آزمایش} / \text{تعداد ماهیان زنده در آخر آزمایش}) = \text{درصد بقا}$$

آنالیز تقریبی لاشه:

به منظور کنترل ترکیب شیمیایی لاشه ماهیان، نمونه ای از هر تیمار (شامل ۱۰ عدد بچه ماهی آزاد) جهت تعیین پروتئین خام، چربی خام، ماده خشک و خاکستر آماده سازی شد. نمونه ها ابتدا در دما $70^{\circ}C$ به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و درصد پروتئین خام $(N \times 6.25)$ به روش کلدال و با استفاده از دستگاه (۲۳۰۰، Sweden) چربی به روش سوکسله و خاکستر با سوزاندن نمونه ها در کوره الکتریکی با درجه حرارت $550^{\circ}C$ به مدت ۱۲ ساعت تعیین شد [۱۱].

تجزیه و تحلیل آماری داده ها:

نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف بررسی شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه انجام و سطح معنی دار بودن در بین تیمارها از طریق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید. تجزیه و تحلیل آماری به وسیله نرم افزار SPSS ۱۷ در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر شاخص‌های رشدی (وزن اولیه (Wi)، وزن انتهایی (Wf)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، نرخ کارایی پروتئین (PER)، نرخ کارایی غذا (FER) و درصد بقا وجود ندارد ($p > 0.05$) (جدول ۱). در تحقیق مشخص شد که، نر عقیمی اثری روی رشد ماهی سیم دریایی قبل از بلوغ ندارد ولی در زمان بلوغ به علت استفاده از انرژی برای رشد گنادها و بلوغ زودتر ماهی جنس نر نسبت به جنس ماده، جنس نر رشد کمتری را نشان داد که این با نتایج ما همخوانی دارد [۱۲]. نر عقیمی در ماهی کپور معمولی توسط هورمون تاثیر معنی داری روی رشد لارو ماهی کپور داشت [۱۵]. علت این افزایش رشد میتواند ناشی از استفاده از تیمارهای هورمونی در این مطالعه تیمارها باشد [۱۵]. تا کنون مطالعه‌ای روی تاثیر اثر، نر عقیمی روی فاکتورهای رشدی ماهی آزاد دریای خزر با وجود اهمیت این گونه از نظر اقتصادی انجام نشده است. رشد گناد ماهی آزاد نر در سال دوم و رشد گناد در ماهی آزاد ماده از سال سوم زندگی به بعد اتفاق می‌افتد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که، نر عقیمی روی شاخص‌های رشدی در مراحل اولیه زندگی ماهی آزاد تاثیری نداشته و با توجه به سایر مطالعات روی گونه‌های مشابه از جمله ماهی قزل آلا رنگین گمان [۱۰]، میتوان عنوان کرد رشد گنادها در ماهی آزاد نر زودتر از ماهی آزاد ماده اتفاق می‌افتد. با توجه به اینکه زمان عرضه ماهی آزاد به بازار مصرف از سال دوم پرورش به بعد می‌باشد لذا با توجه به افزایش رشد ماهی ماده نسبت به جنس نر، نر عقیمی از نظر آبی‌پروری و ارزش اقتصادی می‌تواند به صرفه باشد.

جدول ۱: مقایسه میانگین شاخص‌های (وزن اولیه (Wi)، وزن انتهایی (Wf)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، نرخ کارایی پروتئین (PER) و نرخ کارایی غذا (FER) و بقا (%S) در ماهی آزاد تحت تیمارهای آزمایشی

(۱)	(۲)	(۳)	(۴)	(۵)	(۶)
Wi	۰/۱۴±۰/۰۴ ^a	۰/۱۴±۰/۰۳ ^a	۰/۱۶±۰/۰۱۱ ^a	۰/۱۵±۰/۰۱۷ ^a	۰/۱۷±۰/۰۲۱ ^a
Wf	۲/۳۱±۰/۲۸ ^a	۲/۳۳±۰/۲۲ ^a	۲/۲۵±۰/۳۵ ^a	۲/۳۱±۰/۲۸ ^a	۲/۲۲±۰/۳۵ ^b
fcr	۱/۲۲±۰/۱۸ ^a	۱/۱۳±۰/۱۶ ^a	۱/۱۵±۰/۲۲ ^a	۱/۱۲±۰/۳۳ ^a	۱/۱۴±۰/۳۴ ^a
sgr	۳/۳۳±۰/۲۳ ^a	۳/۱۹±۰/۲۷ ^a	۳/۱۷±۰/۳۱ ^a	۳/۲۱±۰/۲۶ ^a	۳/۲۷±۰/۱۸ ^a
FER	۰/۸۳±۰/۰/۱۲ ^a	۰/۸۳±۰/۰/۲۳ ^a	۰/۸۷±۰/۰/۱۰ ^a	۰/۸۳±۰/۰/۱۲ ^a	۰/۸۷±۰/۰/۱۰ ^a

0.38 ± 0.015^a	0.37 ± 0.043^a	0.38 ± 0.017^a	0.38 ± 0.015^a	0.37 ± 0.043^a	0.38 ± 0.017^a	PER
$99 \pm 1/42^a$	$98/66 \pm 2/30^a$	$99/33 \pm 1/15^a$	$98/39 \pm 1/07^a$	$98/66 \pm 2/30^a$	$98/33 \pm 1/15^a$	/بقا

مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهی آزاد، نر عقیمی شده با دوزهای مختلف اعداد (\pm میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$)

آنالیز تقریبی لاشه

نتایج حاصله از آنالیز تقریبی لاشه نشان داد که هیچ اختلاف معنی داری بین خاکستر، پروتئین، چربی و ماده خشک بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر وجود ندارد ($p > 0.05$) (جدول ۲). هدف از اندازه‌گیری ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان در این دوره پرورشی بررسی ترکیبات کل لاشه و مقایسه آن با شاخص‌های رشدی در دوره پرورشی بین تیمارهای مختلف آزمایشی بود.

جدول ۲: مقایسه میانگین تجزیه تقریبی لاشه (ماده خشک (DM)، پروتئین، چربی، خاکستر (Ash) و انرژی) ماهی آزاد در تیمارهای آزمایشی

(۶)	(۵)	(۴)	(۳)	(۲)	(۱)	
$28/91 \pm 0/45^a$	$28/09 \pm 0/54^a$	$28/91 \pm 0/45^a$	$28/91 \pm 0/45^a$	$30/81 \pm 0/47^b$	$28/91 \pm 0/45^a$	DM
$53/03 \pm 1/49^a$	$52/68 \pm 0/37^a$	$53/03 \pm 1/49^a$	$53/03 \pm 1/49^a$	$54/37 \pm 0/79^a$	$53/03 \pm 1/49^a$	پروتئین
$30/47 \pm 1/60^a$	$29/67 \pm 1/33^a$	$30/47 \pm 1/60^a$	$29/67 \pm 1/33^a$	$33/73 \pm 0/50^b$	$29/67 \pm 1/33^a$	چربی
$13/06 \pm 0/83^a$	$13/00 \pm 0/17^a$	$13/06 \pm 0/83^a$	$13/00 \pm 0/17^a$	$13/50 \pm 0/81^a$	$13/00 \pm 0/17^a$	Ash

مقایسه میانگین ترکیبات لاشه در ماهی آزاد، نر عقیمی شده با دوزهای مختلف اعداد (\pm میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$).

با مقایسه این نتایج (ترکیبات لاشه ماهی) با نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد عدم معنیداری ترکیبات بیوشیمیایی لاشه بین تیمارهای مختلف آزمایشی منطقی به نظر می‌رسد. با توجه به تغییرات فیزیولوژیکی ماهیان در مراحل تولید مثل مانند افزایش رشد گنادهای جنسی ماده و نر میتوان برای کارهای بعدی شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه ماهی آزاد نر عقیمی نر عقیمی (Sterile Male) شده مورد بررسی قرار بگیرد.

References:

1. Quillet, E., et al., *The potential of brown trout (Salmo trutta L.) for mariculture in temperate waters*. Agric Sci, ۱۹۹۲. ۶: p. ۶۳-۷۶.
2. Yousefian, M., *Stock Identification and Genetic Variation at Microsatellite Loci of Caspian Sea Salmon (Salmo trutta caspius)*. World Journal of Fish and Marine Sciences, ۲۰۱۰. ۲(۶): p. ۵۰۸-۵۱۲.



۳. Kiabi, B.H., A. Abdoli, and M. Naderi, *Status of fish fauna in the south Caspian basin of Iran*. *Zoology in the Middle East*, ۱۹۹۹. ۱۸: p. ۵۷-۶۵.
۴. Abedian-Kenari, A., et al., *Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (Salmo trutta caspius Kessler, ۱۸۷۷)*. *Aquaculture Nutrition*, ۲۰۱۳. ۱۹: p. ۵۴-۶۳.
۵. Vannuccini S. *FAO, F.I., Data and Statistics Unit Food and and A.O.o.t.U.N.A.a.f.f.f.s. overviewpdf.*
۶. Omoto, N., et al., *Sex ratio of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (Huso huso female X Acipenser ruthenus male)*. *Aquaculture* ۲۰۰۵. ۲۴۵ :p. ۳۹-۴۷.
۷. Johnstone, R., et al., *Sex reversal rainbow trout*. *Aquaculture*, ۱۹۷۹. ۱۸: p. ۱۳-۱۹.
۸. Bye, V.J. and R.F. Lincoln, *Commercial methods for the control of, sexual maturation in rainbow trout (Salmo gairdneri R.)*. *Aquaculture*, ۱۹۸۶. ۵۷: p. ۲۹۹.۳۰۹-
۹. Pandian, T.J. and S.G. Sheela, *Hormonal induction of sex reversal in fish*. *Aquaculture*, ۱۹۹۵. ۱۳۸: p. ۱-۲۲.
۱۰. Sheehan, R.J., et al., *Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout*. *Trans. Am. Fish. Soc*, ۱۹۹۹. ۱۲۸: p. ۴۹۱-۴۹۸.
۱۱. AOAC, *Official Methods of Analyses, ۱۵th edition*. Association of Official Analytical Chemists ed. K. Helrich ۱۹۹۰: Inc., Arlington, VA.
۱۲. Kato, K., et al., *Viability, growth and external morphology of meiotic- and mitotic gynogenetic diploids red sea bream, Pagrus major*. *Journal of Applied Ichthyology*, ۲۰۰۱. ۱۷: p. ۹۷-۱۰۳.
۱۳. Bai, S.C., *Requirements of ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rockfish, Sebastes schlegeli (Hilgendorf)*. *Ascorbic acid in aquatic organisms. status and perspectives*, ۲۰۰۱: p. ۶۹.
۱۴. Misra, C.K., et al., *Effect of long term administration of dietary [beta]-glucan on immunity, growth and survival of Labeo rohita fingerlings*. *Aquaculture*, ۲۰۰۶. ۲۵۵: p. ۸۲-۹۴.
۱۵. Komen, J., et al., *Gynogenesis in common carp (Cyprinus carpio) in Growth, phenotypic variation and gonad differentiation in normal and methyltestosteronetreated homozygous clones and F^۱ hybrids*. *Aquaculture*, ۱۹۹۳. ۱۱۱: p. ۲۷۱-۲۸۰.