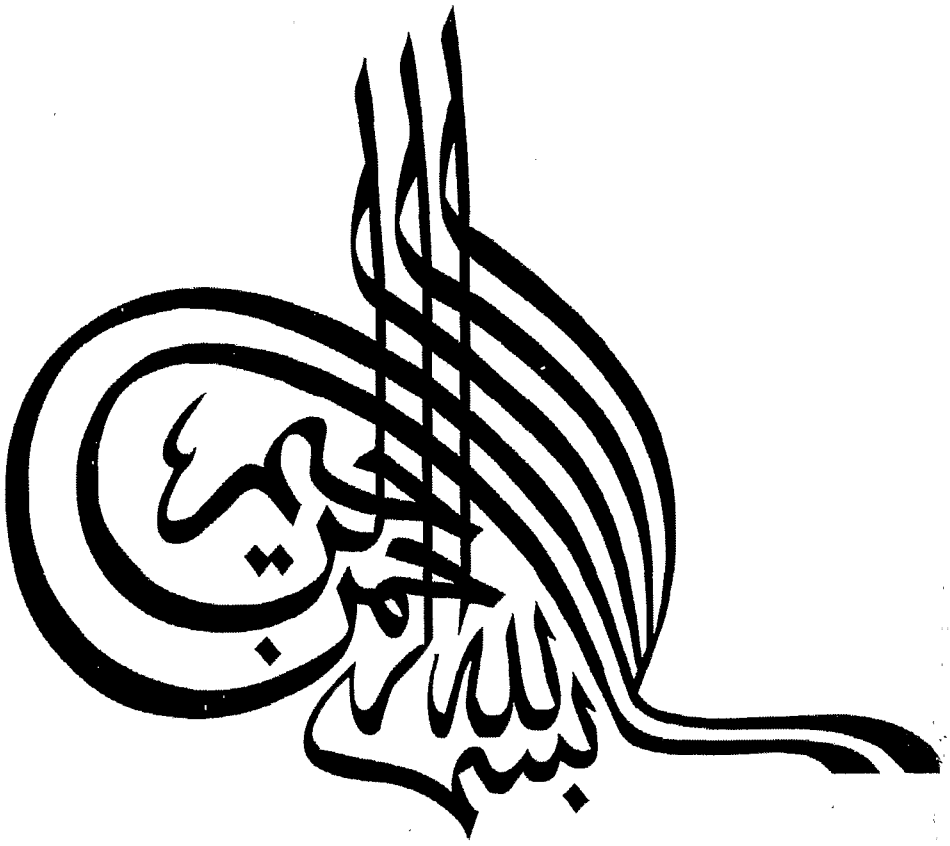


١١٨٢٥٤

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی منابع طبیعی (شیلات)

اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی کیفیت اسپرم در ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)*

پژوهش و نگارش:

وحید زادمجید

استاد راهنما:

دکتر محمدرضا ایمانپور

اساتید مشاور:

دکتر محمد سوداگر و دکترعلی شعبانی

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

۱۳۸۸/۶/۱

خرداد ۱۳۸۸

۱۱۸۲۵۴

به نام خدا

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده شیلات و محیط زیست، مرتع و آبخیزداری

صورتجلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی کارشناسی ارشد آقای **وحید زادمجید** به شماره دانشجویی **۸۵۲۱۰۱۳۱۰۱** رشته شیلات با عنوان:

اثرات تزریق هورمونهای GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی کیفیت اسپرم درماهی قرمز *(gibelio auratus Carassius)*

در ساعت ۱۰-۸/۵ روز دوشنبه مورخه ۸۸/۰۳/۲۵ در محل سالن اجتماعات شهید مطهری دانشگاه و با حضور اعضای هیات داوران به شرح ذیل تشکیل و با نمره به عدد ۱۹,۹ با حروف پذیرفته شد.

اعضای هیات داوران:	مرتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما	دکتر محمد رضا ایمانپور	
۲- استاد مشاور اول	دکتر محمد سوداگر	
۳- استاد مشاور دوم	دکتر علی شعبانی	
۴- عضو هیات داوران	دکتر سید عباس حسینی	
۵- عضو هیات داوران	دکتر وحید تقی زاده	
۶- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه	دکتر فیروز صمدی	

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

تعهدنامه پژوهشی

نظر به این که چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان‌نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **وحید زادمجید** دانشجوی رشته **شیلات** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

امضاء

وحید زادمجید

۸۸/۵/۸

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa+ دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی کیفیت اسپرم در تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)* مورد بررسی قرار گرفت. هورمون‌های GnRHa+دامپریدون، HCG وعصاره هیپوفیز با دوزهای تزریقی (۱۰ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، ۱۵۰۰IU/Kg و ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌ترتیب) مورد استفاده قرار گرفتند. pH سمن در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت ($P <$ ۰/۰۱)، به گونه‌ای که در تیمار دوم (GnRHa) و چهارم (هیپوفیز) بالاترین pH مشاهده شد. درصد اسپرم‌های متحرک در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار با یکدیگر داشت ($P <$ ۰/۰۱)، در تیمار دوم و چهارم بالاترین درصد تحرک مشاهده شد، در صورتی که بین طول دوره حرکت اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵). بین میانگین اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۵) به گونه‌ای که در تیمار چهارم بالاترین درصد اسپرماتوکریت مشاهده شد. همچنین بین تراکم اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱)، در تیمار چهارم بالاترین تراکم اسپرم مشاهده شد. بین حجم اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P <$ ۰/۰۵)، به گونه‌ای که در تیمار دوم و چهارم بالاترین حجم اسپرم مشاهده شد. بین غلظت یون سدیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۵)، به‌طوری‌که غلظت یون سدیم در تیمار چهارم نسبت به سایر تیمارها پایین‌تر بود. بین غلظت یون پتاسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱)، بالاترین مقدار یون پتاسیم در تیمار اول (شاهد) اندازه‌گیری شد، اما بین غلظت یون‌های کلسیم و منیزیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵). بین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجودداشت ($P <$ ۰/۰۵)، به گونه‌ای که بالاترین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمار سوم (HCG) مشاهده شد. همچنین بین میزان کلسترول در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱)، و بالاترین میزان کلسترول در تیمارهای سوم و چهارم اندازه‌گیری شد. در این تحقیق مشاهده شد هورمون‌های GnRHa و عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای اسپرم شناختی داشتند در صورتی که هورمون HCG تأثیر معنی‌داری روی ترکیبات بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز داشت.

واژه‌های کلیدی: ماهی قرمز، GnRH+ دامپریدون، HCG؛ عصاره هیپوفیز، پارامترهای اسپرم شناختی، پارامترهای بیوشیمیایی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

کلیات ۱

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- فرضیات و اهداف ۳

فصل دوم

۲-۱ مروری بر مطالعات انجام شده ٦

۲-۲- ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی ماهی قرمز ٦

۲-۳- مشکلات تولید مثلی ماهیان پرورشی ۷

۲-٤- تکثیر القایی ماهیان ۸

۲-٥- محرک‌های محیطی ۸

۲-٦- تحریک هورمونی اوولاسیون و اسپرمیشن در ماهیان ۸

۲-۷- سطوح مختلف فقدان هورمونی در ماهیان ۱۰

۲-۸- اسپرم ماهیان ۱۱

۲-۹- هورمون درمانی در ماهیان ۱۳

۲-۹-۱- هورمون‌های گنادوتروپین GTH خالص ..... ۱٤.

۲-۹-۲- پروستا گلاندین‌ها ۱٤

۲-۹-۳- هیپوفیز و نقش آن در تولید مثل ۱٥

۲-۹-٤- هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین در ماهیان و آنالوگ‌های آن (GnRHa) ۱۷

۲-۹-٥- HCG و نقش آن در تولید مثل ۱۸

فصل سوم

مواد و روش‌ها ۲۱

۳-۱- مواد ۲۱

۳-۲- روش‌ها ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۲-۱- زمان و محل اجرای طرح ۲۲
۳-۲-۲- تامین ماهی مولد ۲۳
۳-۲-۳- اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم شناختی ۲٤
۳-۲-۳-۱- آنالیز حرکتی ۲٤
۳-۲-۳-۲- اندازه‌گیری اسپرماتوکریت ۲٤
۳-۲-۳-۳- اندازه‌گیری تراکم اسپرم ۲٥
۳-۲-۳-٤- اندازه‌گیری حجم اسپرم دهی ۲٥
۳-۲-٤- اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیائی پلاسمای اسپرمی ۲٥
۳-۲-٤-۱- اندازه‌گیری پی- اچ پلاسمای منی ۲٦
۳-۲-٤-۲- اندازه‌گیری یون کلسیم پلاسمای اسپرمی ۲۷
۳-۲-٤-۳- اندازه‌گیری یون منیزیم پلاسمای اسپرمی ۲۸
۳-۲-٤-٤- اندازه‌گیری گلوکز وکلسترول پلاسمای اسپرمی ۲۸
۳-۲-٤-٥- اندازه‌گیری پروتئین کل پلاسمای اسپرمی ۲۹
۳-۲-٤-٦- اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم پلاسمای اسپرمی ۳۰
۳-۲-٥- روش تجزیه و تحلیل ۳۱

فصل چهارم

نتایج ۳۳
٤-۱- برخی از خصوصیات زیست سنجی ماهیان مولد ۳۳
٤-۲- پارامترهای اسپرم شناختی ۳٥
٤-۲-۱- طول دوره تحرک اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک ۳٥
٤-۲-۲- اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم ۳٦
٤-۲-۳- حجم اسپرم ۳۸
٤-۳- پارامترهای بیوشیمیایی سمن ٤۰
٤-۳-۱- پی- اچ ٤۰

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٣-٢- غلظت یون سدیم ٤١
٤-٣-٢- غلظت یون پتاسیم ٤٢
٤-٣-٣- غلظت یون کلسیم ٤٣
٤-٣-٤- غلظت یون منیزیم ٤٥
٤-٣-٥- غلظت گلوکز ٤٦
٤-٣-٦- کلسترول ٤٧
٤-٣-٧- پروتئین کل ٤٨

فصل پنجم

بحث و نتیجه‌گیری ٥١
٥-١- پارامترهای اسپرم شناختی ٥١
٥-٢- پارامترهای بیوشیمیایی سمن ٥٦
٥-٣- نتیجه گیری نهائی ٥٩
٥-٤- پیشنهادات ٦٠
٥-٤-١- پیشنهادات اجرایی ٦٠
٥-٤-٢- پیشنهادات پژوهشی ٦٠
منابع ٦١

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱- مرکز تحقیقات آبزی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ۲۲
شکل ۳-۲- محل تزریق هورمون ۲۳
شکل ۳-۳- میکروسکوپ فازکنتراست مجهز به دوربین CCD ومتصل به رایانه ۲٤
شکل ۳-٤- دستگاه هماتوکریت خوان (راست) و دستگاه سانتریفیوژ (چپ)..... ۲۵
شکل ۳-۵- اسپکتروفتومتر UV/VIS ۲٦
شکل ۳-٦- فلیم فتومتر ۳۰
نمودار ٤ -۱- مقایسه میانگین طول ماهی (سانتیمتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ۳٤
نمودار ٤ -۲- مقایسه میانگین وزن ماهی (گرم) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ۳٤
نمودار ٤ -۳- مقایسه میانگین طول دوره حرکت (ثانیه) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ۳٦
نمودار ٤ -٤- مقایسه میانگین در صد اسپرم‌های متحرک (درصد) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ۳٦
نمودار ٤ -۵- مقایسه میانگین اسپرماتوکریت (درصد) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ۳۸
نمودار ٤ -٦- مقایسه میانگین تراکم اسپرم ($\times 10^9$) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ۳۸
نمودار ٤ -۷- مقایسه میانگین حجم اسپرم (سی سی) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ۳۹
نمودار ٤ -۸- مقایسه میانگین پی-اچ مایع سمینال بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ٤۰
نمودار ٤ -۹- مقایسه میانگین یون سدیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ٤۲
نمودار ٤ -۱۰- مقایسه میانگین یون پتاسیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ٤۳
نمودار ٤ -۱۱- مقایسه میانگین یون کلسیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ٤٤
نمودار ٤ -۱۲- مقایسه میانگین یون منیزیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز..... ٤۵
نمودار ٤ -۱۳- مقایسه میانگین میزان گلوکز (میلی گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ٤۷
نمودار٤ -۱٤- مقایسه میانگین میزان کلسترول (میلی گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ٤۸
نمودار٤ -۱۵- مقایسه میانگین میزان پروتئین کل (گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز ٤۹

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- مواد مصرفی مورد استفاده در تحقیق ۲۱

جدول ۳-۲- مواد غیرمصرفی مورد استفاده در تحقیق ۲۲

جدول ۳-۳- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری یون کلسیم مایع اسپرمی ماهی قرمز ۲۷

جدول ۳-٤- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری یون منیزیم مایع اسپرمی ماهی قرمز ۲۸

جدول ۳-۵- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری گلوکز و کلسترول مایع اسپرمی ماهی قرمز ۲۸

جدول ۳-٦- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری پروتئین کل مایع اسپرمی ماهی قرمز ۲۹

جدول ٤-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین طول (سانتی‌متر) و وزن(گرم) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ۳۳

جدول ٤-۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه) و درصد اسپرم متحرک (درصد) بین تیمارهای مختلف ماهی قرمز ۳۵

جدول ٤-۳- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اسپرماتوکریت (٪) و تراکم اسپرم ($\times 10^{9}$) بین تیمارهای مختلف ماهی قرمز ۳۷

جدول ٤-٤- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین حجم اسپرم (سی سی) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ۳۹

جدول ٤-۵- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین پی-اچ بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤۰

جدول ٤-٦- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین یون سدیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤۱

جدول ٤-۷- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین یون پتاسیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤۲

جدول ٤-۸- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین یون کلسیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤٤

جدول ٤-۹- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین یون منیزیم (میلی‌مول درلیتر) بین تیمارهای مختلف

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

مولدین ماهی قرمز ٤٥
جدول ٤-١٠- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین میزان گلوکز (میلی گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤٦
جدول ٤-١١- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین میزان کلسترول (میلی گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤٧
جدول ٤-١٢- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین میزان پروتئین کل (گرم دردسی لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز ٤٩

۱

کلیات

۱-۱- مقدمه

سابقه آبزی پروری دربسیاری ازجوامع بشری به چندین قرن می‌رسد اما فقط درچند دهه اخیر شیوه‌های سنتی گذشته به شیوه‌های مدرن صنعتی تغییر یافته‌اند که منجر به تولید انبوه و متراکم آبزیان در واحد سطح گشته است (کریل، ۱۹۸۷). یکی از مهمترین موانع و مشکلات توسعه آبزی پروری تجاری که پیش نیاز اغلب تحقیقات آبزی پروری بویژه بهبود خصوصیات ژنتیکی و بهگزینی مولدین و همچنین تحقیقات فیزیولوژی آبزیان می‌باشد، کنترل تولیدمثل آبزیان درشرایط اسارت است. دلیل این امر، غیر قابل اعتماد و پیش‌بینی بودن جمع‌آوری لارو یا گامت از محیط‌های تخم‌ریزی طبیعی آبزیان در فصول تخم‌ریزی واسپرم‌ریزی می‌باشد که نوعی نقص در مسیر صنعتی شدن آبزی پروری است. لذا اگر بتوان تولید مثل آبزیان پرورشی را تحت کنترل مدیریتی در آورد و در زمان‌های قابل پیش‌بینی اقدام به تکثیر آنها نمود، علاوه‌بر مزایای اقتصادی فراوان که برای آبزی پروری دارد، می‌توان برنامه‌های بهبود ژنتیکی جهت افزایش نرخ رشد، بازماندگی و عوامل کیفی فرآورده‌های استحصالی را اجرا نمود (تورگارد، ۱۹۹۵). متأسفانه بسیاری از ماهیان که در شرایط اسارت نگهداری می‌شوند اختلالاتی در سیستم تولید مثلی آنها بروز می‌نماید. در ماهیان ماده اغلب تخمک‌ها به مراحل نهایی

رسیدگی جنسی (F.O.M)[1] نرسیده و اوولاسیون[2] و تخم‌ریزی در آنها صورت نمی‌گیرد (زوهر، ۱۹۸۸). در حالی‌که در ماهیان نر حجم و کیفیت اسپرم تولیدی کاهش می‌یابد (بیلارد، ۱۹۸۷). دستکاری برخی از فاکتورهای محیطی همانند دما، دوره‌های نوری، شوری، عمق و جنس بسترهای تخم ریزی می‌تواند ماهیان را وادار به تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی نماید (زوهر و همکاران، ۱۹۸۹). لیکن استفاده از هورمون‌های محرک تنها راه کنترل تولیدمثل می‌باشد، اگرچه از هورمون‌های القاءکننده تولید مثل اغلب برای ماهیانی استفاده می‌شود که در شرایط کارگاهی قادر به تولید مثل نیستند اما مزایای فراوان بکارگیری این روش‌ها برای گونه‌های قابل تکثیر در شرایط اسارت مانند آزاد ماهیان سبب توسعه بیش از پیش تکنیک‌های هورمون درمانی در ماهیان گشته است (درافشان و همکاران، ۱۳۸۱).

یکی از مهمترین مشکلات در پرورش کپور ماهیان به‌دست آوردن گامت‌های با کیفیت بالا است کیفیت بالای گامت‌ها در تولید لاروهای با کیفیت مناسب در تفریخگاه‌های ماهی بسیار موثر است و می‌تواند راندمان لقاح و تکثیر مصنوعی در ماهیان را افزایش دهد (تکین و همکاران، ۲۰۰۳). از طرفی دیگر ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش‌های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت‌های نر و مطالعه اثر آلاینده‌های زیست محیطی روی موفقیت تکثیر در ماهیان صورت می‌پذیرد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰٤). سمن یا میلت از اسپرماتوزوآ و پلاسمای منی تشکیل شده است، پلاسمای منی دارای ترکیباتی است که بعضی از این ترکیبات از اسپرماتوزا نگهداری می‌کنند و بعضی دیگر رابط بین سیستم تولید مثل و اسپرماتوزا هستند (سایرزکو و همکاران، ۲۰۰۰). پلاسمای منی محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزئید بوجود می‌آورد که خود توسط بیضه و لوله‌های اسپرم بر ساخته می‌شود. در پستانداران ترکیبات پلاسمای منی به خوبی مطالعه شده است در حالی که مطالعه روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه‌های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیر آلی (یون‌ها)، ترکیبات آلی و آنزیم می‌باشد. ترکیبات غیر آلی شامل یون‌های (K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} و. . .) است که نقش ممانعت کنندگی و تحریک کنندگی حرکت سلول اسپرم را دارند. دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کاررفته کمک کند به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص باشد (تکین و همکاران، ۲۰۰۳). برای این کار می‌بایست بیومارکرهای کیفی اسپرم که مستقیماً روی توانایی لقاح موثرند،

1- Final oocyte maturation
2- Ovulation

مشخص شود. این پارامترها شامل اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت و چندین مولفه دیگر (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰٤). به‌طوری‌که در آزاد ماهیان جهت ارزیابی کیفیت اسپرم نسبت بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (بیلارد، ۱۹۸۷؛ آس و همکاران، ۱۹۹۱؛ هارالد و همکاران، ۲۰۰۱). مطالعه روی خصوصیات منی برای فهم پروسه های بیوشیمیایی پایه که در طی حرکت اسپرم و لقاح صورت می‌گیرد لازم است (لینهارد و همکاران، ۱۹۹۱). دانش امروزی در مورد ترکیبات پلاسمای منی و دیگر مایعات بیولوژیکی، می‌تواند در تولید محیط‌های نگهدارنده تخمک و تولید رقیق کننده‌ها برای افزایش طول دوره نگهداری و فعالیت اسپرم مفید باشد (سکر و همکاران، ۲۰۰٤). اما ارتباط بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در گونه‌های اندکی مورد مطالعه قرار گرفته است (علوی و همکاران، ۲۰۰٦).

۱-۲- فرضیات و اهداف

فرضیات:

۱- هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی حجم و تراکم اسپرم در ماهی قرمز اثر گذارند.

۲- هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای حرکتی (درصد و طول دوره حرکت) اسپرم در ماهی قرمز اثر گذارند.

۳- هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی ترکیبات یونی (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیوم) و پارامترهای بیوشیمیائی آلی (پروتئین کل، کلسترول و گلوکز) مایع منی در ماهی قرمز اثر گذارند.

٤- هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز روی pH مایع اسپرمی ماهی قرمز تأثیر دارند.

اهداف:

۱- تعیین اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز بر حجم و تراکم اسپرم در ماهی قرمز.

۲- تعیین اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز بر درصد و طول دوره حرکت اسپرم در ماهی قرمز.

۳- تعیین اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز بر ترکیبات یونی (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیوم) و پارامترهای بیوشیمیائی آلی (پروتئین کل، کلسترول و گلوکز) مایع منی در ماهی قرمز.

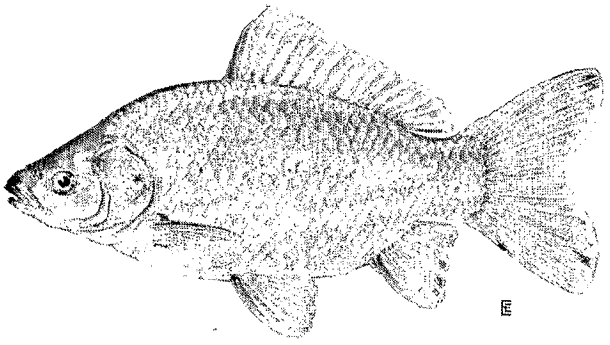
٤- تعیین اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa + دامپریدون، HCG و عصاره هیپوفیز بر pH مایع اسپرمی در ماهی قرمز.

۲

۲-۱- مروری بر مطالعات انجام شده

۲-۲- ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی ماهی قرمز

ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)* از خانواده کپور ماهیان *(Cyprinidae)* می‌باشد و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* است. ماهی قرمز در محیط طبیعی در آبهای ساکن و یا آبهای تقریباً ساکن با سرعت ناچیز که پوشیده از گیاهان آبزی و دارای بستر نرم می‌باشد زندگی کرده و غالبا به همراه ماهیان برکه‌ای (*Carassius carassius*) دیده می‌شود (وثوق و مستجیر، ۱۳۷۳). ماهی قرمز از نظر تنوع گونه‌ای بسیار متنوع و از گونه‌های زیادی تشکیل شده است همچنین بیشترین طرفداران این ماهی‌ها در ژاپن و چین هستند. سرسختی، مقاومت و زیبایی این ماهی‌ها باعث شده است روز به روز طرفداران بیشتری پیدا کنند و کارشناسان پرورش ماهی با استفاده از علم ژنتیک و وراثت، نژادها و گونه‌های جدیدی را تولید کرده‌اند. تا کنون حدود ۱۰۰ نوع ماهی طلایی بوجود آمده است، که فقط چند گونه از آنها به ایران آورده شده‌اند که تمام آنها با موفقیت تکثیر و پرورش یافته‌اند، از این ماهی نژادهای فراوانی گرفته شده است. از آن جمله می‌توان به دم چادری، سر شیری، سر مرواریدی، چشم تلسکوپی و چندین گونه دیگر اشاره کرد. ماهی قرمز با فرهنگ و عقاید مردم در سراسر جهان عجین شده و یک ماهی بسیار مهم به لحاظ اقتصادی می‌باشد. تکثیر و پرورش این ماهی به تأمین ماهی کوچک مورد نیاز سفره هفت سین نوروزی و نیز برای علاقمندان به نگهداری آکواریم، چندین سال است که رونق یافته ونیاز به آن هر سال بیشتر می‌شود (ایمانپور و کمالی، ۱۳۸۵).



Kingdom:	Animalia
Phylum:	Chordata
Class:	Actinopterygii
Order:	Cypriniformes
Family:	*Cyprinidae*
Genus:	*Carassius*
Species:	*C. auratus*
Subspecies:	*C. a. auratus/C. a. gibelio*

این ماهی قادر به سازش با محیط های مختلف می‌باشد، چنانچه در رودخانه‌هایی که در اثر کمبود اکسیژن و آلودگی، ماهیان قزل‌آلا قادر به زندگی نبوده و از بین می‌روند، ماهی قرمز می تواند زیست داشته باشد و به زندگی خود نیز ادامه دهد. این ماهی در هوای سرد زمستان خود را در بستر رود مخفی کرده، به خواب زمستانی فرو می‌رود وحتی اگر محیط آبی، خشک شود، در لجن به زندگی خود ادامه خواهد داد. مواد غذایی ماهی قرمز شامل گیاهان آبزی، جانوران کفزی و حشرات می‌باشد. زمان تخم‌ریزی بر حسب دمای آب بین ماه‌های اردیبهشت تا تیر ماه است، تولیدمثل این گونه در مناطق عریض و کم عمقی که پوشیده از گیاهان آبزی است انجام می‌گیرد. بهترین درجه حرارت آب برای تخم‌ریزی ۲۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد و حداقل آن ١٤ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. تخم‌ها به رنگ نارنجی روشن و چسبناک بوده و به گیاهان آبزی می‌چسبند. هم‌آوری مطلق این ماهیان حدود ۳۰۰ هزار عدد تخم بوده و قطر تخم‌ها حدود یک میلی‌متر می‌باشند، که برحسب دمای آب پس از ۷-۳

روز شکفته و تبدیل به لارو خواهند شد (وثوق و مستجیر، ۱۳۷۳). در شرایط تکثیر مصنوعی میزان پاسخگویی به هورمون در ماهیان قرمز وابستگی زیادی به فاکتورهای محیطی (دما و دوره نوری) و تا حدی شرایط فیزیکی ماهی دارد. به‌طورکلی موفقیت در تکثیر ماهی قرمز وابستگی بسیار زیادی به شرایط نگهداری مولدین در اسارت و فاکتورهای محیطی دارد و ماهیانی که در محیط آکواریم و یا دور از دوره نورانی طبیعی نگهداری شوند نسبت به تزریق هورمون پاسخ بسیار ضعیفی از خود نشان می‌دهند (ایمانپور و کمالی، ۱۳۸۵).

۲-۳- مشکلات تولید مثلی ماهیان پرورشی

ماهیان نیز همانند بسیاری از دیگر جانوران، هنگامی که در شرایط اسارت نگهداری شوند برخی مشکلات و اختلالات تولید مثلی در آنها بروز می‌نماید. به نظر می‌رسد این مشکلات در نتیجه استرس‌های وارد شده در شرایط اسارت و همچنین عدم وجود شرایط طبیعی تولید مثل پدیدار گردد (زوهر، ۱۹۸۹؛ سامپتر، ۱۹۹٤؛ یارون، ۱۹۹۵). اختلالات پدید آمده در سیستم تولید مثل ماهیان با گذشت زمان به تدریج کاهش می‌یابند، به‌عبارت دیگر ماهیان به نوعی خود را با شرایط اسارت تطبیق داده و تولید مثل خود را از سر می‌گیرند. مشکلات تولید مثلی در ماهیان ماده و نر را می‌توان به سه گروه تقسیم کرد (زوهر و میلوناس، ۲۰۰۱).

اولین و جدی‌ترین مشکل بوجود آمده در برخی از ماهیان بدین صورت می‌باشد که در شرایط اسارت به‌طورکلی گامتوژنزیز وارد مرحله زرده سازی[1] و اسپرماتوژنزیز[2] نمی‌گردد. مشکل دوم عدم بلوغ نهایی اووسیت‌ها می‌باشد. در این گروه زرده‌سازی به‌طور کامل صورت می‌گیرد، اما قبل از شروع فصل تکثیر تخمک‌های این ماهیان پیش از ورود به مرحله بلوغ نهایی اووسیت‌ها باز جذب می‌گردند (لارسن و همکاران، ۱۹۹۷). مشکل تولید مثلی ذکر شده در این گروه در واقع عمومی‌ترین مشکل تولید مثلی در آبزی پروری می‌باشد (زوهر و میلوناس، ۲۰۰۱). سومین مشکل عدم تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی ماهیانی است که گامت‌های آنها به‌طور نرمال مراحل زرده‌سازی، بلوغ نهایی، اوولاسیون و اسپرمیشن را طی نموده‌اند، و اگر تزریق هورمونی در این مرحله صورت نگیرد، تولیدات جنسی در طی ماه‌های آتی باز جذب می‌گردند (لام، ۱۹۸۲).

1- Vitellogenesis
2- Spermatogenesis

۲-٤- تکثیر القایی ماهیان:

تکثیر القایی برای غلبه بر مشکلات تولیدمثلی ماهیان در شرایط اسارت انجام می‌گیرد. برای رسیدن به این هدف از دو گروه از محرک‌ها بهره می‌برند. گروه اول محرک‌های محیطی و گروه دوم دستکاری‌هایی است که توسط هورمون‌ها در سیستم غدد درون ریز[1] ماهیان انجام می‌گیرد (لام، ۱۹۸۲).

۲-۵- محرک های محیطی:

از مهم ترین محرک‌های محیطی می‌توان به دما، دوره‌های نوری، چرخه ماهانه[2]، باران‌های موسمی، جریان‌های سیلابی، بسترهای تخم‌ریزی، شوری، کیفیت آب، فورمون‌ها وسایر موارد اشاره کرد. در کپورماهیان با استفاده از تغییرات دما تا حدود زیادی می‌توان زمان تولیدمثل آنها را تغییر داد. در آزادماهیان نیز می‌توان از دوره‌های روشنایی برای تکثیر خارج از فصل مولدین استفاده نمود. محرک‌های محیطی از طریق سیستم‌های عصبی پیام‌های ویژه‌ای را به هیپوتالاموس ماهیان ارسال می‌نمایند که با تجزیه و تحلیل آنها در مغز، ماهیان شرایط محیطی مناسب برای تخم‌ریزی را تشخیص داده و در زمانی که شرایط مساعد جهت رشد و بقاء لارو و نوزادان آنها وجود دارد اقدام به تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی می‌نمایند (لام، ۱۹۸۲).

۲-٦- تحریک هورمونی اوولاسیون و اسپرمیشن در ماهیان:

به‌منظور توسعه آبزی پروری در آینده مدیریت تکثیر آبزیان ضروری بنظر می‌رسد. پرورش بسیاری از ماهیان باله دار هنوز متکی بر صید تخم یا لارو آنها از محیط طبیعی می‌باشد. به‌منظور ادامه رشد بخش آبزی پروری، مدیریت تولید سلول‌های جنسی در محیط پرورشی ضروری است. گام مهم بعدی برای تکثیر ماهی جهت مطلوب کردن مدیریت و فن‌آوری پرورش مولدین، همزمان سازی استحصال سلول‌های جنسی از جنس نر و ماده می‌باشد. این عمل باعث کاهش هزینه، ساده کردن جمع‌آوری سلول‌های جنسی و انکوباسیون تخم‌ها می‌گردد. متاسفانه، حتی اگر بسیاری از گونه‌های ماهیان باله‌دار را بتوان اهلی نمود، چندین مشکل در زمینه تکثیر این ماهیان وجود دارد که نیاز به

1- Endocrinal System
2- Lunar cycle