

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه هرمزگان

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

گروه شیلات

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته شیلات - گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

عنوان پایان نامه:

القای تخم ریزی در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca* (L.)

توسط هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور

استاد راهنما:

دکتر میر مسعود سجادی

اساتید مشاور:

دکتر بهرام فلاحتکار - مهندس ایرج عفت پناه کمایی

نگارش:

اسما گلمرادی زاده

تقدیم به:

پدرم

تکیه گاه امن سختی ها و سستی هایم به پاس تک تک زحمات و محبت های بی دریغش

مادرم

ستاره امید بخش زندگیم به پاس مهربانی و صبوری های بی بدیش

خواهران و برادرانم

گرمی بخش قلبم به پاس همراهی همیشگی شان

استاد بزرگوارم جناب دکتر میر مسعود سجادی

اسوه علم و دانشم به پاس آموختن درست اندیشیدن و تفکر خلاق

چکیده:

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور بر میزان پاسخ مولدین به القای هورمونی، همآوری کاری (تعداد تخمک استحصال شده)، شاخص های لقاح (درصد لقاح، چشم زدگی و تخم گشایی) در ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca* (L.) و کیفیت اسپرماتوزوآ (تراکم، مدت زمان تحرک، درصد تحرک اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت) در مولدین نر صورت گرفت. علاوه بر این تاثیر استفاده از هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور بر سطح استروئیدهای جنسی (تستوسترون، پروژسترون و استرادیول)، شاخص های استرس (کورتیزول، کلوگز و لاکتات) و میزان کلسیم پلاسمای خون مولدین ماده بررسی شد. طی آزمایش تاثیر پنج تیمار شامل اول (شاهد): سرم فیزیولوژی 0/9٪، دوم: عصاره هیپوفیز به میزان 4 mg/kg BW، سوم: عصاره هیپوفیز به میزان 6 mg/kg BW، چهارم: گنادوتروپین به میزان 400IU/kg BW و پنجم: گنادوتروپین به میزان 700 IU/kg BW برای ماده ها و نصف مقادیر ذکر شده برای نرها مورد بررسی قرار گرفت (n=6). مولدین ماده به طور میانگین پس از 10 الی 20 ساعت و مولدین نر 28 الی 34 ساعت پس از تزریق نهایی تخم ریزی نمودند. نتایج نشان داد از لحاظ تعداد مولدین تخم ریزی کرده، شاخص های لقاح بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی دار وجود داشت ($P<0/05$). همچنین از لحاظ همآوری، زمان تخم ریزی، سطوح استروئیدهای جنسی، شاخص های استرس، میزان کلسیم خون، تراکم اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$). در حالی که از لحاظ مدت زمان و درصد تحرک اسپرماتوزوآ تیمارهای آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی دار نشان داد ($P<0/05$). در آزمایش کنونی تیمار پنجم (گنادوتروپین انسانی به میزان 350 IU/kg BW) از لحاظ مدت زمان و درصد تحرک اسپرماتوزوآ نسبت به سایر تیمارهای آزمایش بالاتر بود ($P<0/05$). با توجه به مجموع نتایج حاصل از بررسی شاخص های ذکر شده در پژوهش کنونی می توان گفت که هورمون گنادوتروپین انسانی به میزان 400IU/kg BW، 700IU/kg BW و عصاره هیپوفیز کپور به میزان 350 IU/kg BW جهت القا تخم ریزی در مولدین ماده و گنادوتروپین انسانی به میزان 350 IU/kg BW برای تولید اسپرماتوزوآ با کیفیت بالا در مولدین نر ماهی سوف معمولی مناسب می باشند.

کلمات کلیدی: ماهی سوف معمولی (*Sander lucioperca* (L.)، القای هورمونی، شاخص های لقاح، اسپرماتوزوآ، استروئیدهای جنسی.

تشکر و قدردانی

در آغاز حمد و سپاس خود را تقدیم ایزد مهربان، آفریننده آسمان ها و زمین می نمایم که به من لذت آموختن علم و دانش را عطا فرمود تا بدین وسیله فرصتی یابم که پروردگار و جهان هستی را بهتر بشناسم.

بر خود لازم می دانم از زحمات و حمایت های پدر و مادر عزیزم، خواهران و برادرانم سپاس گزاری نمایم چرا که بی حمایت های آنان پیشرفت در علم و دانش برایم میسر نبود.

از زحمات، راهنمایی های خردمندان و دلسوزانه استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر میرمسعود سجادی که صبورانه مرا در تک تک مراحل این پایان نامه یاری نمودند تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین از اساتید محترم مشاور جناب آقای دکتر بهرام فلاحی کار و جناب آقای مهندس ایرج عفت پناه کمایی به خاطر تمامی زحماتشان صمیمانه سپاس گزارم. بدین وسیله بر خود لازم می دانم از جناب آقایان مهندس مکننت خواه، جلالی، رسولی، کریمی و دیگر کارشناسان محترم و پرسنل زحمت کش مرکز تکثیر و بازسازی ذخائر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور (سیاهکل) بویژه آقای مهندس مکننت خواه تشکر و قدردانی نمایم.

از زحمات آقایان مهندس ملکی، خواجه نوری و نویری که در مراحل آزمایشگاهی این تحقیق من را یاری نمودند سپاس گزارم. از یاری و دلگرمی های همیشگی دوستان عزیز و مهربانم خانم ها مهندس فاطمه ده بزرگی و لیلا جانفزا صمیمانه قدردانی می نمایم. همچنین از دوستانم خانم ها سمیه سعادت زاده و آسیه سلیمانی راد و از مساعدت و همراهی سرکار خانم مهندس حدیث منصور طائی و جناب آقای مهندس محمود عظیمی راد نیز کمال تشکر و قدردانی را می نمایم.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

مقدمه 2

فصل دوم: کلیات و مرور منابع

2- طرح مسأله 10

2-1- سوف ماهیان 10

2-1-1- مشخصات گونه سوف معمولی *Sander lucioperca* 11

2-1-2- اهمیت اقتصادی و میزان صید سوف معمولی 12

2-1-3- ویژگی های زیستی و بوم شناختی ماهی سوف 14

2-1-3-1- پراکنش ماهی سوف 14

2-1-3-2- زیستگاه ماهی سوف 15

2-1-3-3- مهاجرت ماهی سوف 15

2-1-3-4- تکثیر و تولید مثل ماهی سوف 16

2-1-4-3-1- اهداف تکثیر و تولید مثل 16

2-1-4-3-2- زیست شناسی تولید مثل 16

2-1-4-3-3- روش های تکثیر ماهی سوف 17

- 17 تکثیر طبیعی 1-3-4-3-1-2
- 18..... تکثیر نیمه مصنوعی 2-3-4-3-1-2
- 20 تکثیر مصنوعی 3-3-4-3-1-2
- 21 استفاده از عوامل هورمونی در القای تخم ریزی 2-2
- 23 عصاره هیپوفیز کپور 1-2-2
- 24 گنادوتروپین انسانی 2-2-2
- 25 استروئیدهای جنسی در ماهیان و عملکرد آن ها 3-2
- 25 کنترل هورمونی فرایند اسپرم زایی 1-3-2
- 26 کنترل هورمونی زرده سازی و بلوغ نهایی تخمک 2-3-2
- 28..... شاخص های استرس 4-2
- 28..... کورتیزول 1-4-2
- 29..... گلوکز 2-4-2
- 29..... لاکتات 3-4-2
- 29 شاخص های کیفیت اسپرماتوزوآ 5-2
- 32 تراکم، تحرک، مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ و درصد اسپرماتوکریت 1-5-2
- 33..... عوامل موثر بر کیفیت اسپرم در ماهیان 2-5-2
- 34..... عوامل موثر بر مولدین 1-2-5-2
- 34 دما و دوره نوری محیط نگه داری 1-1-2-5-2
- 35 تغذیه مولدین 2-1-2-5-2

35 3-1-2-5-2 آلودگی آب و غذا
35 4-1-2-5-2 استرس در مولدین
36 5-1-2-5-2 سن مولدین و فصل تولید مثل
36 6-1-2-5-2 بیماری
37 6-2 جمع بندی
37 1-6-2 اهمیت موضوع و توجیه موضوع تحقیق
38 2-6-2 خلاء (های) تحقیقاتی موجود
39 3-6-2 سؤال های اصلی تحقیق
39 4-6-2 فرضیه (های) قابل آزمون
40 5-6-2 اهداف
41 6-6-2 سابقه تحقیق
41 1-6-6-2 سابقه در ایران
42 2-6-6-2 سابقه در سایر کشورها
43 7-6-2 کاربرد احتمالی نتایج ناشی از تحقیق

فصل سوم: مواد و روش ها

46 1-3 ماهی
47 2=3 تعیین جنسیت
48 3-3 کیفیت آب حوضچه های نگه دارنده مولدین
50 4-3 طرح آزمایش و تیمار بندی

- 51 3-5- تعیین مرحله رسیدگی جنسی مولدین با استفاده از بافت شناسی تخمدان
- 53 3-6- القای هورمونی مولدین
- 53 3-6-1- آماده سازی عوامل تزریق
- 42 3-6-2- بیهوش کردن مولدین
- 54 3-6-3- تزریق هورمون
- 55 3-6-4- لقاح و انتقال به انکوباتورهای
- 59 3-6-4-1- محاسبه هماوری و درصد لقاح
- 61 3-6-4-2- محاسبه درصد چشم زدگی
- 61 3-6-4-3- محاسبه درصد تخم گشایی
- 62 3-7- خون گیری
- 63 3-8- اندازه گیری شاخص های خون
- 63 3-8-1- آماده سازی پلاسما
- 64 3-8-2- تعیین مقادیر استروئیدهای جنسی
- 64 3-8-3- تعیین مقادیر شاخص های استرس

- 64 1-3-8-3 تعیین غلظت کورتیزول
- 65 2-3-8-3 تعیین مقدار گلوکز
- 67 3-3-8-3 تعیین میزان لاکتات
- 69 4-8-3 تعیین غلظت کلسیم
- 69 9-3-9 سنجش پارامترهای کیفیت اسپرماتوزوآ
- 69 1-9-3 تعیین تراکم اسپرماتوزوآ
- 70 2-9-3 اندازه گیری درصد تحرک اسپرماتوزوآ
- 70 3-9-3 تعیین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ
- 70 4-9-3 سنجش درصد اسپرماتوکریت
- 71 10-3 تجزیه و تحلیل آماری

فصل چهارم: نتایج

- 73 4- نتایج
- 73 1-4-1 تعیین مرحله رسیدگی جنسی مولدین با استفاده از بافت شناسی تخمدان
- 74 2-4-2 القای هورمونی مولدین
- 74 1-2-4-1 پاسخ مولدین به هورمون

772-2-4- مدت زمان تخم ریزی پس از تزریق
773-2-4- مدت زمان استحصال اسپرم پس از تزریق
773-4- شاخص های لقاح
771-3-4- تعداد تخمک استحصال شده (هماوری)
792-3-4- درصد لقاح
791-2-3-4- درصد لقاح در مرحله بلاستولا
802-2-3-4- درصد لقاح در مرحله گاسترولاسیون
813-3-4- درصد چشم زدگی
824-3-4- درصد تخم گشایی
844-4- پارامترهای کیفیت اسپرماتوزوآ
841-4-4- تراکم اسپرماتوزوآ
842-4-4- مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ
843-4-4- درصد اسپرماتوکریت
854-4-4- درصد تحرک اسپرماتوزوآ

87 4-5-5- شاخص های خون
87 4-5-1- استروئیدهای جنسی
87 4-5-1-1- استروئیدهای جنسی در مولدین ماده
91 4-5-1-1- استروئیدهای جنسی در مولدین نر
93 4-5-2- شاخص های استرس
93 4-5-2-1- شاخص های استرس در مولدین ماده
96 4-5-2-1- شاخص های استرس در مولدین نر
98 4-5-4- میزان کلسیم در مولدین ماده

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

102 5- بحث
102 5-1- القای هورمونی مولدین
104 5-2- شاخص های لقاح
106 5-3- پارامترهای کیفیت اسپرماتوزوآ
110 5-4- شاخص های خون
110 5-4-1- استروئیدهای جنسی

113 2-4-5 شاخص های استرس
114 4-4-5 میزان کلسیم در مولدین ماده
115 5-5 نتیجه گیری
117 6-5 پیشنهادها
119 منابع

فهرست جدول ها

عنوان صفحه

- 3-1- زیست سنجی مولدین نر ماهی سوف معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش 49
- 3-2- زیست سنجی مولدین ماده ماهی سوف معمولی در تیمارهای مختلف آزمایش 49
- 3-3- شاخص های کیفیت آب حوضچه نگه داری مولدین ماهی سوف معمولی 50
- 3-4 - شاخص های کیفیت آب در طی دوره انکوباسیون ماهی سوف معمولی 56
- 3-5- روش آماده سازی و مقادیر شاهد، استاندارد و نمونه پلاسما بمنظور اندازه گیری سطوح گلوکز پلاسما خون 66
- 3-6- روش آماده سازی مقادیر شاهد ، استاندارد و نمونه پلاسما به منظور اندازه گیری سطوح لاکتات پلاسما خون 68
- 4-1 - نتایج حاصل از درصد جوابدهی مولدین ماده ماهی سوف معمولی به تزریق هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور در تیمارهای مختلف 76
- 4-2- نتایج حاصل از درصد جوابدهی مولدین نر ماهی سوف معمولی به تزریق هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور در تیمارهای مختلف 76
- 4-3- نتایج حاصل از هماوری کاری ماهی سوف معمولی در تیمارهای مختلف 78

- 4-4- نتایج حاصل از شاخص های تراکم ، درصد اسپرمتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرمتوزوآ در تیمارهای مختلف در ماهی سوف معمولی.....86
- 4-5- نتایج حاصل از مقادیر استروئید های جنسی (تستوسترون، پروژسترون و استرادیول) در تیمارهای مختلف در مولدین ماده معمولی بین تزریق اول و دوم..... 88
- 4-6- نتایج حاصل از مقادیر استروئید های جنسی (تستوسترون، پروژسترون و استرادیول) در تیمارهای مختلف در مولدین ماده ماهی سوف معمولی پس از تخم کشی.....90
- 4-7- نتایج حاصل از مقادیر استروئید های جنسی (تستوسترون، پروژسترون و استرادیول) در تیمارهای مختلف در مولدین نر ماهی سوف معمولی..... 92
- 4-8- نتایج حاصل از شاخص های استرس (کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در تیمارهای مختلف در مولدین ماده ماهی سوف معمولی بین تزریق اول و دوم.....94
- 4-9- نتایج حاصل از شاخص های استرس (کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در تیمارهای مختلف در مولدین ماده ماهی سوف معمولی پس از تخم کشی..... 94
- 4-10- نتایج حاصل از شاخص های استرس (کورتیزول، گلوکز و لاکتات) در تیمارهای مختلف در مولدین در مولدین نر ماهی سوف معمولی 97
- 4-11- نتایج حاصل از مقدار کلسیم در مولدین ماده ماهی در تیمارهای مختلف بین تزریق اول و دوم..... 99
- 4-12- نتایج حاصل از مقدار کلسیم در مولدین ماده ماهی در تیمارهای مختلف پس از تخم کشی.....100

فهرست شکل ها

عنوان.....	صفحه
1-2- نمای ظاهری گونه سوف معمولی.....	12
2-2- لانه تخم گذاری شده توسط ماهی سوف معمولی.....	19
3-2- تنظیم هورمونی تولید اسپرم و فرآیند تحرک اسپرم.....	26
4-2- کنترل هورمونی فرآیند زرده سازی و بلوغ نهایی تخمک در تخمدان ماهیان.....	27
1-3- حوضچه های نگهداری مولدین ماهی سوف معمولی.....	47
2-3- مولدین نر و ماده ماهی سوف معمولی.....	47
3-3- تفاوت ناحیه تناسلی در مولدین ماده و نر ماهی سوف معمولی.....	48
4-3- خروج تخمدان از ناحیه شکمی ماهی سوف معمولی به منظور تعیین رسیدگی تخمک و بافت شناسی تخمدان.....	52
5-3- آماده سازی محلول هورمون ها جهت تزریق مولدین ماهی سوف معمولی.....	53
6-3- تزریق هورمون در عضلات باله سینه ای مولدین ماهی سوف معمولی.....	54
7-3- دوختن منفذ تناسلی مولدین ماده ماهی سوف معمولی پس از تزریق دوم به منظور جلوگیری از تخلیه تخم ها در کف حوضچه.....	55

- 3-8- تخم های استحصال شده از مولدین ماده ماهی سوف معمولی القا شده توسط هورمون گنادوتروپین انسانی و عصاره هیپوفیز کپور 57
- 3-9- شستشو تخم های لقاح یافته ماهی سوف معمولی جهت رفع چسبندگی تخم ها 57
- 3-10- انتقال تخم های لقاح یافته ماهی سوف معمولی به انکوباتور های ویس 58
- 3-11- آب گیری انکوباتورهای ویس 58
- 3-12- هم زدن ویس های حاوی تخم لقاح یافته ماهی سوف معمولی با استفاده از پر 59
- 3-13- نمونه برداری از انکوباتورهای حاوی تخم لقاح یافته ماهی سوف معمولی به منظور تعیین درصد لقاح، چشم زدگی و تخم گشایی 59
- 3-14- مرحله بلاستولای پیشرفته (5 ساعت پس از لقاح) در جنین ماهی سوف معمولی 60
- 3-15- مرحله گاسترولاسیون (48 ساعت پس از لقاح) در جنین ماهی سوف معمولی 60
- 3-16- مرحله چشم زدگی (8 تا 9 روز پس از لقاح) در جنین ماهی سوف معمولی 60
- 3-17- مرحله تخم گشایی و خروج لارو از تخم (10 تا 11 روز پس از لقاح) در جنین ماهی سوف معمولی 61
- 3-18- نحوه خون گیری از مولدین ماهی سوف معمولی 62
- 3-19- آماده سازی پلاسمای خون مولدین ماهی سوف معمولی 63
- 4-1- تخمک ماهی سوف معمولی قبل از القای هورمونی در مرحله چهارم رسیدگی 74

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
1-2- نمودار میزان رهاسازی بچه ماهیان سوف معمولی به سواحل جنوبی دریای خزر طی سال های 1369-1387	14
1-4- نتایج حاصل از درصد لقاح ماهی سوف معمولی در مرحله بلاستولا (5 ساعت پس از لقاح) در تیمارهای مختلف	80
2-4- نتایج حاصل از درصد لقاح ماهی سوف معمولی در مرحله گاسترولاسیون (48 ساعت پس از لقاح) در تیمارهای مختلف	81
3-4- نتایج حاصل از درصد چشم زدگی (8 تا 9 روز پس از لقاح) ماهی سوف معمولی در تیمارهای مختلف	82
4-4- نتایج حاصل از درصد تخم گشایی (10 تا 11 روز پس از لقاح) ماهی سوف معمولی در تیمارهای مختلف	83

فصل اول

مقدمه

1- مقدمه

خانواده سوف ماهیان¹ بزرگترین خانواده از راسته سوف ماهی شکلان² می باشند (Nelson, 2006). چهار گونه از خانواده سوف ماهیان جهت آبی پروری مناسب تشخیص داده شده اند که شامل دو گونه آمریکای شمالی به نام های سوف زرد³ و سوف چشم مات⁴ و دو گونه اروپایی - آسیایی به نام های سوف معمولی⁵ و سوف حاج طرخان⁶ می باشند (Kestemont and Melard, 2000). دو گونه سوف چشم مات و سوف معمولی از لحاظ پرورشی دارای اهمیت بالاتری می باشند و بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (Lynch et al., 1982; Brown and Barrows, 2002). ماهی سوف معمولی بیشترین میزان رشد را در بین خانواده سوف ماهیان و ماهیان آب شیرین مناطق معتدله دارد (Steffens et al., 1996). این گونه به آب های داخلی چندین کشور اروپایی مانند هلند، ترکیه، فرانسه، ایتالیا، اسپانیا، سوئد و فنلاند و بخش هایی از آفریقای شمالی (تونس، مصر و ...) معرفی شده است (Hamza et al., 2007). ماهی سوف معمولی در اکثر رودخانه هایی که به دریای خزر منتهی می شوند زیست می نماید و

¹ Percidae

² Perciformes

³ *Perca flavescens*

⁴ *Sander vitreum*

⁵ *Sander lucioperca*

⁶ *Perca fluviatilis*