## تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه 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، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع، و اکتشافات و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب تقی سیفی دانشجوی رشته شیلات مقطع فوق لیسانس تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آنرا قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضا

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی خصوصیات اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی کپور (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) وحشی و پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز با دوزهای تزریقی ( ۰/۵ میلی لیتر، ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی و ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به ترتیب) مورد استفاده قرار گرفتند. حجم اسپرم‌دهی و میزان اسپرماتوکریت در بین هورمونوتراپی، ماهی وحشی و پرورشی و اثر متقابل آنها اختلاف معنی‌داری داشت ($P <$ ۰/۰۱) به‌طوری که بیشترین میزان آنها در تیمار تزریقی عصاره هیپوفیز و هورمون اوواپریم کپورهای پرورشی برای حجم اسپرم‌دهی و تیمار اوواپریم کپور پرورشی برای اسپرماتوکریت مشاهده شد. تراکم اسپرم و همچنین طول دوره تحرک در بین هورمونوتراپی، ماهی پرورشی و وحشی ($P <$ ۰/۰۱) و اثر متقابل آنها ($P <$ ۰/۰۵) تفاوت معنی‌داری داشتند، به‌گونه‌ایی که بیشترین میزان آن در تیمارهای تزریقی هورمون اوواپریم و عصاره هیپوفیز کپورهای پرورشی برای تراکم اسپرم و تیمار عصاره هیپوفیز کپور پرورشی برای طول دوره تحرک اندازه‌گیری شد. از نظر میزان درصد اسپرم‌های متحرک در بین تیمارهای مختلف، در هورمونوتراپی و ماهی وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱)، ولی در مورد اثر متقابل آنها تفاوتی مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵) و بیشترین میزان درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار عصاره هیپوفیز کپور پرورشی مشاهده شد. میزان pH میلت در بین هورمونوتراپی و ماهی وحشی و پرورشی اختلاف معنی داری داشت ($P <$ ۰/۰۱) ولی اثر متقابل آنها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P >$ ۰/۰۵) و بیشترین میزان آن در تیمار هیپوفیز و اوواپریم کپور وحشی مشاهده شد. همچنین در میزان کلسیم و منیزیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری بین هورمونوتراپی و اثر متقابل هورمونوتراپی و نوع ماهی وجود نداشت ($P <$ ۰/۰۵)، اما در بین ماهیان وحشی و پرورشی تفاوت وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱) و میزان این دو در تیمارهای گروه کپور وحشی بیشتر از گروه کپورهای پرورشی مشاهده شد. در ارتباط با یون‌های سدیم و پتاسیم، بین هورمونوتراپی و نوع ماهی و اثر متقابل هورمونوتراپی با نوع ماهی وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P <$ ۰/۰۱) و بیشترین میزان آنها در گروه شاهد کپور وحشی اندازه‌گیری شد. یون کلر هم بین هورمونوتراپی، نوع ماهی و اثر متقابل هورمونوتراپی با نوع ماهی وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری وجود داشته است ($P <$ ۰/۰۱) و گروه شاهد کپور پرورشی کمترین میزان را دارا بود. میزان کلسترول، گلوکز و پروتئین کل بین هورمونوتراپی، ماهی وحشی و پرورشی و اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌داری داشت ($P <$ ۰/۰۱) و بیشترین میزان مشاهده شده این پارامترها به ترتیب در گروه شاهد وحشی، شاهد پرورشی و تیمار تزریقی HCG کپور وحشی بوده است. در کل نتایج این تحقیق نشان داد که بین پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی ماهی کپور پرورشی و وحشی تفاوت وجود دارد و هورمون‌های متفاوت اثر متفاوتی روی این پارامترها دارند. همچنین عصاره هیپوفیز و هورمون اوواپریم نسبت به HCG روی پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی کپور وحشی و پرورشی مؤثرترند.

واژه‌های کلیدی: ماهی کپور، اوواپریم، HCG، هیپوفیز، پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


**فصل اول: مقدمه و کلیات**

۱- ۱- مقدمه ..... ۲

۱-۲- فرضیات ..... ۵

۱-۳- اهداف ..... ۵

**فصل دوم: مرور منابع**

۲-۱- ویژگیهای زیستی و تولیدمثلی ماهی کپور معمولی ..... ۷

۲-۲- ارزش اقتصادی ..... ۹

۲-۳- فیزیولوژی اسپرم و نحوه ساخت آن ..... ۱۰

۲-۴- فیزیولوژی تولیدمثلی ماهیان ..... ۱۴

۲-۵- اهمیت تکثیر مصنوعی ..... ۲۱

۲-۶- تفاوت‌های کیفیت سمن بین ماهیان وحشی و پرورشی ..... ۲۲

۲-۷- معرفی هورمون‌های مورد استفاده ..... ۲۳

۲-۷-۱- غده هیپوفیز ..... ۲۳

۲-۷-۲- هورمون اوواپریم (دومپریدون + sGnRHa) ..... ۲۵

۲-۷-۳- هورمون HCG ..... ۲۶

**فصل سوم: مواد و روش‌ها**

۳ -۱- مواد ..... ۳۱

۳-۲- روشها ..... ۳۳

۳-۲-۱- زمان و محل اجرای طرح ..... ۳۳

۳-۲-۲- تامین ماهی مولد ..... ۳۴

۳-۲-۳- اندازه گیری پارامترهای اسپرم شناختی ..... ۳۵

۳-۲-۳-۱- آنالیز حرکتی ..... ۳۵

۳-۲-۳-۲- اندازه گیری اسپرماتوکریت ..... ۳۷

۳-۲-۳-۳- اندازه گیری تراکم اسپرم ..... ۳۸

۳-۲-۳-۴- اندازه گیری حجم اسپرم دهی ..... ۳۸

۳-۲-۴- اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیائی پلاسمای اسپرمی ..... ۳۹

۳-۲-۴-۱- اندازه گیری یون کلسیم پلاسمای اسپرمی ..... ۴۰

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


۳-۲-۴-۲- اندازه گیری یون منیزیم پلاسمای اسپرمی ..... ۴۱
۳-۲-۴-۳- اندازه گیری یون کلر پلاسمای اسپرمی..... ۴۲
۳-۲-۴-۴- اندازه گیری گلوکز وکلسترول پلاسمای اسپرمی ..... ۴۳
۳-۲-۴-۵- اندازه گیری پروتئین کل پلاسمای اسپرمی ..... ۴۴
۳-۲-۴-۶- اندازه گیری سدیم و پتاسیم پلاسمای اسپرمی..... ۴۵
۳-۲-۴-۷- اندازه‌گیری پی- اچ پلاسمای منی ..... ۴۶
۳-۲-۵- شیوه تجزیه و تحلیل..... ۴۷
۳-۲-۶- روش تجزیه و تحلیل..... ۴۸

**فصل چهارم: نتایج**

۴-۱- برخی از خصوصیات زیست سنجی ماهیان مولد کپور..... ۴۹
۴-۱-۱- طول مولدین..... ۴۹
۴-۱-۲- وزن مولدین ..... ۵۱
۴-۲- پارامترهای اسپرم‌شناختی ..... ۵۳
۴-۲-۱- درصد اسپرم‌های متحرک ..... ۵۳
۴-۲-۲- طول دوره تحرک اسپرم ..... ۵۵
۴-۲-۳- تراکم اسپرم ..... ۵۷
۴-۲-۴- اسپرماتوکریت ..... ۵۹
۴-۲-۵- حجم اسپرم‌دهی ..... ۶۱
۴-۳- پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرم..... ۶۳
۴-۳-۱- پی- اچ..... ۶۳
۴-۳-۲- غلظت یون سدیم..... ۶۵
۴-۳-۳- غلظت یون کلر..... ۶۷
۴-۳-۴- غلظت یون پتاسیم..... ۶۹
۴-۳-۵- غلظت یون کلسیم..... ۷۱
۴-۳-۶- غلظت یون منیزیم ..... ۷۳
۴-۳-۷- غلظت کلسترول..... ۷۵
۴-۳-۸- غلظت گلوکز ..... ۷۷

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**


۴-۳-۹- پروتئین کل ..... ۷۹

**فصل پنجم: بحث ونتیجه گیری**

۵-۱- پارامترهای اسپرم شناختی ..... ۸۴

۵-۲- پارامترهای بیوشیمیایی سمن ..... ۸۸

۵-۳- نتیجه گیری کلی ..... ۹۴

۵-۴- پیشنهادات ..... ۹۵

۵-۴-۱- پیشنهادات اجرایی ..... ۹۵

۵-۴-۲- پیشنهادات پژوهشی ..... ۹۶

منابع ..... ۹۷

**فهرست اشکال و نمودارها**

**عنوان** **صفحه**


شکل۲-۱- ماهی کپور معمولی ..... ۸
شکل۲-۲- گامتوژنزیز در ماهیان ..... ۱۱
شکل۳-۱- هورمون HCG، اوواپریم و غده هیپوفیز ..... ۳۲
شکل۳-۲- مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری ..... ۳۳
شکل۳-۳- محل تزریق هورمون ..... ۳۵
شکل۳-۴- میکروسکوپ فازکنتراست مجهز به دوربین CCD و متصل به رایانه ..... ۳۶
شکل۳-۵- دستگاه سانتریفیوژ و دستگاه هماتوکریت خوان ..... ۳۷
شکل۳-۶- اسپکتروفتومتر UV/VIS ..... ۳۹
شکل۳-۷- دستگاه فلیم فتومتر ..... ۴۵
نمودار۴ -۱- میانگین‌های طول ماهی (سانتیمتر) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۵۱
نمودار۴ -۲- میانگین‌های وزن ماهی (گرم) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۵۳
نمودار۴ -۳- میانگین‌های درصد اسپرم‌های متحرک (٪) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۵۵
نمودار۴ -۴- مقایسه میانگین طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۵۷
نمودار۴ -۵- میانگین‌های تراکم اسپرم ($\times ۱۰^{۹}$) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۵۹
نمودار۴ -۶- میانگین‌های اسپرماتوکریت (٪) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۶۱
نمودار۴ -۷- میانگین‌های حجم اسپرم‌دهی (میلی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۶۳
نمودار۴ -۸- میانگین‌های پی- اچ پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۶۵
نمودار۴ -۹- میانگین‌های سدیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۶۷

**فهرست اشکال و نمودارها**

**عنوان** **صفحه**

نمودار۴ -۱۰- میانگین‌های کلر (میلی‌اکی‌والان در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۶۹
نمودار۴ -۱۱- میانگین‌های پتاسیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۷۱
نمودار۴ -۱۲- میانگین‌های کلسیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۷۳
نمودار۴ -۱۳- میانگین‌های منیزیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۷۵
نمودار۴ -۱۴- میانگین‌های کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۷۷
نمودار۴ -۱۵- میانگین‌های گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۷۹
نمودار۴ -۱۶- میانگین‌های پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف هورمونوتراپی و مولدین نر ماهی کپور وحشی و پرورشی ..... ۸۱

**فهرست جداول**

**عنوان** **صفحه**


جدول۳-۱- مواد مصرفی مورد استفاده در تحقیق ..... ۳۱
جدول۳-۲- مواد غیرمصرفی مورد استفاده در تحقیق ..... ۳۲
جدول۳-۳- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری یون کلسیم مایع اسپرمی .... ۴۰
جدول۳-۴- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری یون منیزیم مایع اسپرمی .... ۴۱
جدول۳-۵- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری کلر مایع اسپرمی ..... ۴۲
جدول۳-۶- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه گیری گلوکز و کلسترول مایع اسپرمی ..... ۴۳
جدول۳-۷- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه‌گیری پروتئین‌کل مایع اسپرمی .... ۴۴
جدول۴-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین طول (سانتیمتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۵۰
جدول۴-۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های طول وزن (گرم) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۵۲
جدول۴-۳- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های درصد اسپرم‌های متحرک (٪) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی ..... ۵۴
جدول۴-۴- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۵۶
جدول۴-۵- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های تراکم اسپرم ($\times ۱۰^{۹}$) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۵۸
جدول۴-۶- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های اسپرماتوکریت (٪) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۶۰
جدول۴-۷- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های حجم اسپرم‌دهی (میلی‌لیتر) بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۶۲
جدول۴-۸- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های پی- اچ پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۶۴
جدول۴-۹- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های یون سدیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۶۶

**فهرست جداول**

**عنوان** **صفحه**

جدول۴-۱۰- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های یون کلر (میلی‌اکی‌والان در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۶۸
جدول۴-۱۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های یون پتاسیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۷۰
جدول۴-۱۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های یون کلسیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۷۲
جدول۴-۱۳- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های یون منیزیم (میلی مول در لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۷۴
جدول۴-۱۴- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۷۶
جدول۴-۱۵- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۷۸
جدول۴-۱۶- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر) پلاسمای اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی کپور ..... ۸۰

## ۱-۱-مقدمه

رشد و گسترش آبزی پروری تجاری، به تکثیر مصنوعی وابسته است. نمونه هورمون‌های جدید اجازه بهبود روش‌ها برای کنترل تولیدمثل گونه‌هایی که در طول سال‌های متمادی گسترش موفّقی داشتند را داده است. همچنین در مورد گونه‌هایی که ویژگی‌های تولیدمثلی آنها به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند، برای مثال برخی کپور ماهیان (کوچارزیک، ۲۰۰۲؛ سزابو و همکاران، ۲۰۰۲؛ کرجسزف و همکاران، ۲۰۰۸) و یا گونه‌های تحت حفاظت (فیلیپارت، ۱۹۹۵؛ کامینسکی و همکاران، ۲۰۰۴) می‌شود از هورمون‌های جدید برای مطالعه روی آنها استفاده کرد. افزایش اثرات مفید کنترل تولیدمثلی به لحاظ تجاری و کاربردی، انگیزه را برای تحقیقات بیشتر در مورد بهینه سازی روش‌های آن فراهم می‌کند (کوچارزیک، ۲۰۰۲).

از بزرگترین مشکلات توسعه آبزی پروری تجاری، کنترل تولیدمثل آبزیان درشرایط اسارت است. دلیل این امر، غیر قابل اعتماد بودن جمع آوری لارو یا گامت از محیط‌های تخم‌ریزی طبیعی آبزیان در فصول تخم ریزی 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 پیش بینی اقدام به تکثیر آنها

نمود، علاوه بر 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)

رسیدگی جنسی در برخی گونه‌های ماهیان در شرایط اسارت رخ نمی‌دهد، که می‌تواند به سبب استرس یا عدم رعایت نیازهای ماهیان برای کامل کردن فرایند تولیدمثلی در شرایط پرورشی باشد (زوهر و میلوناس، ۲۰۰۱). از جمله این مشکلات در ماهیان ماده به این صورت می‌باشد که، اغلب تخمک‌ها به مراحل نهایی رسیدگی جنسی(F.O.M)[۱] نرسیده و اوولاسیون[۲] و تخم‌ریزی در آنها صورت نمی‌گیرد (زوهر، ۱۹۸۸). در حالیکه در ماهیان نر حجم و کیفیت اسپرم تولیدی کاهش می‌یابد (بیلارد و همکاران، ۱۹۸۷). در نتیجه آن، تزریقات هورمونی برای القاء تخمریزی بسیاری از گونه های ماهیان در امر تکثیر و پرورش ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (زوهر و میلوناس، ۲۰۰۱).

غده هیپوفیز به طور گسترده جهت القای تولید مثل در کپور ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، و به نحو مؤثری عمل اسپرم‌ریزی را در کپور ماهیان تحریک می‌کند همچنین GnRH[۳] به همراه یک آنتی دوپامین سال‌هاست که به دلیل قیمت مناسب نسبت به هیپوفیز جهت تزریق ماهیان مولد استفاده می‌گردد (زوهر و میلوناس، ۲۰۰۱). HCG[۴] هم مانند GnRH سنتتیک (GnRHa) برای تحریک تولید مثل ماهی به کارگیری می‌شود (کوچارزیک، ۲۰۰۲).

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

[۱] Final oocyte maturation
[۲] Ovulation
[۳] Gonadotropin releasing hormone
[۴] Human Chorionic Gonadotropin

دهه‌های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیر آلی (یون‌ها)، ترکیبات آلی و آنزیم می-باشد. 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 (تکین و همکاران، ۲۰۰۳).

در صنعت آبزی‌پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیشتر می‌باشد این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها موثر است. از آنجا که اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده اثرگذار است و در هچری‌های تجاری، میلت از نظر کمی و کیفی ناکافی است، استفاده از تکنیک‌هایی جهت افزایش درصد و طول دوره حرکتی اسپرم موجب افزایش راندمان تولید خواهد شد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین مطالعه روی خصوصیات منی برای فهم پروسه‌های بیوشیمیایی پایه که در طی حرکت اسپرم و لقاح صورت می‌گیرد لازم است (لینهارت و همکاران، ۱۹۹۱). بعلاوه، دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند. به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص گردد (تکین و همکاران، ۲۰۰۳). برای این کار می‌بایست بیومارکرهای کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، اسمولاریتی، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثرند مشخص شود (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴).

ارتباط بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در گونه‌های کمی مورد مطالعه قرار گرفته است (علوی وکوسون، ۲۰۰۶). بعلاوه، هرچند اغلب فرض می‌شود که نتایج مطالعات روی تولیدمثل ماهیان پرورشی را می‌توان به تولیدمثل ذخایر وحشی آن تعمیم داد ولی مطالعات اندکی این فرضیه را مورد آزمایش قرار دادند (ریدوت و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به موارد ذکر شده فرضیات و اهداف این تحقیق در ادامه ارائه شده است:

## ۱-۲- فرضیات

۱. پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن کپور معمولی وحشی و پرورشی تفاوت دارد.
۲. ترکیبات بیوشیمیایی سمن کپور وحشی و کپور پرورشی تحت تاثیر هورمونهای HCG، هیپوفیز و اوواپریم با هم تفاوت دارند.
۳. ترکیبات اسپرم شناختی سمن کپور وحشی و کپور پرورشی تحت تاثیر هورمونهای HCG، هیپوفیز و اوواپریم با هم تفاوت دارند.

## ۱-۳- اهداف

۱. تعیین اختلاف بین پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در کپور وحشی و پرورشی.
۲. تعیین اثر تزریق هورمون‌های HCG، هیپوفیز و اوواپریم روی ترکیبات بیوشیمیایی سمن کپور وحشی و پرورشی.
۳. تعیین اثر تزریق هورمون‌های HCG، هیپوفیز و اوواپریم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی سمن کپور وحشی و پرورشی.

## ۲-۱- ویژگیهای زیستی و تولیدمثلی ماهی کپور معمولی

ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 از خانواده کپورماهیان است که دارای ۲۱۰ جنس و ۲۰۱۰ گونه می‌باشد. پراکنش این ماهی در دریای خزر، رودخانه تجن و تمام حوزه‌های آبریز ایران با بیشینه طول ۱۵۰ (میانگین ۳۸) سانتی‌متر است. دندان حلقی سه‌ردیفی (۱,۲,۳-۳,۲,۱) دارد و سطح بدن از فلس‌های درشت پوشیده شده است. در این گونه سر بزرگ و پوزه کند می‌باشد. باله پشتی خیلی طویل و باله مخرجی کوتاه است. دو زوج سبیلک دارد و زوجی که روی آرواره پایین قرار دارد، طویل‌تر است. در دمای کمتر از ۷ درجه سانتی‌گراد به صورت دسته‌جمعی به خواب زمستانی فرو می‌رود. این ماهی در آب شیرین زندگی می‌کند و آب‌های گرم و پوشیده از گیاه را دوست دارد (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲).

شکل۲-۱- ماهی کپور معمولی

| | |
|---|---|
| Kingdom: | Animalia |
| Phylum: | Chordata |
| Class: | Actinopterygii |
| Order: | Cypriniformes |
| Family: | Cyprinidae |
| Genus: | *cyprinus* |
| Species: | *C.carpio* |
| E. name: | Common carp |

ماهی کپور معمولی دارای سه جمعیت تالابی، مصبی و پرورشی در ایران بوده به طوری که دو جمعیت وحشی تنها در حوزه دریای خزر زیست می‌کند، ولی جمعیت پرورشی آن امروزه در اغلب استان‌های کشور و پشت سدها وجود دارد (کود، ۱۹۹۵؛ عبدلی، ۱۳۷۸). کپور وحشی دارای بدنی کشیده می‌باشد و تعداد فلس روی خط جانبی ۴۰ – ۳۳ عدد است و بندرت به طول ۱۰۰ سانتی‌متر و وزن ۳۰ – ۲۵ کیلو-گرم می‌رسند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳). جنس نر نسبت به جنس ماده جثه کوچکتری دارد. سن این گونه-ها بندرت از ۲۰ سال تجاوز کرده و از نظر غذایی جزء ماهیان همه چیز خوار محسوب می‌شوند که از تنوع غذایی نسبتاً وسیعی (موجودات ریز بستر آب، کرم‌ها، سخت پوستان، نوزاد حشرات و حتی فضولات حیوانی و گیاهی، لاشه حیوانات، تخم ماهیان و نوزادان خود) برخوردار هستند (کازانچف، ۱۹۸۱؛ وینفلد و نلسون، ۱۹۹۱).

جمعیت مصبی نیمه مهاجر (دریازی) بوده و جمعیت تالابی بومی رودخانه‌ها و تالاب‌هاست (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳). زمان تخمریزی کپور بر حسب درجه حرارت آب از اردیبهشت تا تیرماه است. در این هنگام روی بدن و باله‌های سینه‌ای و سر ماهیان نر دانه‌های مروارید شکل (epitelial) ظاهر می‌شود. تخم‌ریزی در نقاطی از رودخانه که دارای آب ساکن و آرام و دارای گیاهان آبزی بسیار است صورت می-گیرد. درجه حرارت لازم برای تخمریزی ۲۰ – ۱۸ درجه سانتی‌گراد است. در پرورش ماهی کپور عامل درجه حرارت از اهمیت برخوردار است. بهترین دما برای رشد ماهی کپور۲۰ درجه سانتی‌گراد است. ماهیان نر در اواخر ۳ سالگی و ماده‌ها در سه یا چهار سالگی به حد بلوغ می‌رسند (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳).

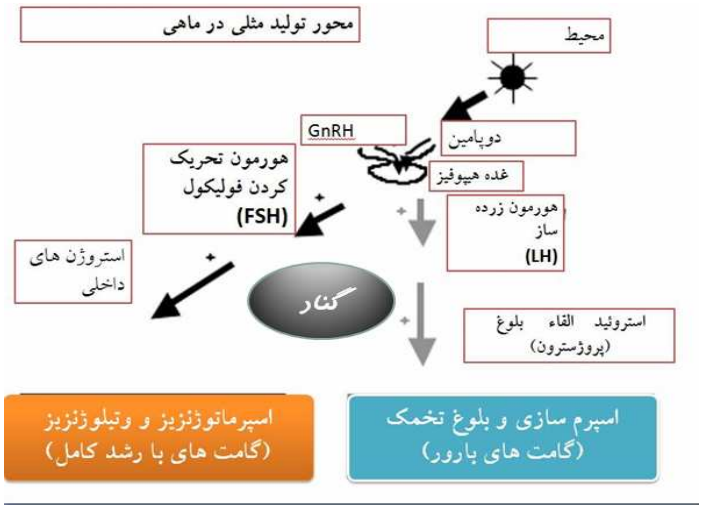
**۲-۲- ارزش اقتصادی**:

ماهی کپور یکی از مهمترین ماهیان پرورشی بشمار می‌رود و صید سالانه آن تقریباً به ۲۰۰ هزار تن بالغ می‌گردد. پرورش ماهی کپور به علت صرفه اقتصادی و گوشت خوشمزه آن در اغلب کشورها از

اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳). کپور معمولی وحشی هم، درصد قابل توجهی از صید ماهیان استخوانی را در سواحل دریای خزر تشکیل داده و مشخص می‌گردد که جایگاه مهمی را در رژیم غذایی مردم بومی این مناطق دارد (غنی نژاد و عبدالملکی، ۱۳۷۹). در هر حال تراکم جمعیتی این ماهی ارزشمند در دریا در طی سال‌های اخیر کاهش یافته و در نتیجه نیاز به باز سازی ذخایر آن بیشتر احساس می‌شود.

### ۲-۳- فیزیولوژی اسپرم و نحوه ساخت آن

فرایند گامتوژنزیز در ماهیان نر به دو بخش جدا تقسیم می‌شود (شکل۲-۱). بخش اول اسپرماتوژنزیز است که شامل تکثیر اسپرماتوگونیا، تکثیر اسپرماتوسیت اولیه با چندین تقسیمات میوز، تولید اسپرماتوسیت ثانویه با تقسیمات میوزی و تمایز اسپرماتید آن‌ها است. این فرایند با اسپرماتوزوآی دارای دم کامل می‌شود که به آن اسپرمیوژنزیز می‌گویند (شولز و میورا، ۲۰۰۲؛ ویزیانو و همکاران، ۲۰۰۸). بخش دوم اسپرم‌ریزی است که طی آن اسپرماتوزوآهایی که در طول فصل تکثیر تولید می‌شوند از مجاری بیضه به محیط بیرون آزاد می‌شوند. به استثنا گربه ماهیان، خروج منی بطور خودبخودی در ماهیان اتفاق می‌افتد (ویویروس و همکاران،۲۰۰۲؛ منسور و همکاران، ۲۰۰۴)، به گونه‌هایی که با فشار ملایم به ناحیه شکمی ماهیان اسپرم-کشی صورت می‌گیرد. در طبیعت همزمانی در تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی ماهیان ماده و نر تحت تاثیر فرومون‌ها صورت می‌گیرد (استیسی، ۲۰۰۳).




**شکل۲-۲- گامتوژنزیز در ماهیان**

اسپرماتوژنزیز و اسپرم‌ریزی ممکن است بطور موفّق به صورت جدا صورت گیرند و همچنین ممکن است در فصل تکثیر بیضه‌ها فقط حاوی اسپرماتوزوآ باشند (ملیسون و همکاران، ۱۹۹۴؛ بیلارد، ۱۹۸۶). با این وجود در بیشتر گونه‌ها بین این دو فرایند هم پوشانی قابل ملاحظه‌ایی وجود داشته و اسپرماتوژنزیز و اسپرمیشن در طی فصل تکثیر با هم اتفاق می‌افتند (جکسون و سالیوان، ۱۹۹۵؛ راینیس و همکاران، ۲۰۰۳).

معمولاً در طول فصل تکثیر دوره تولیدمثلی در ماهیان نر (اسپرمیشن) طولانی‌تر از دوره تولیدمثلی ماهیان ماده است. در نتیجه یک ماهی نر می‌تواند تخم‌های چندین ماهی ماده را در محیط وحشی بارور سازد. بعلاوه، یک ماهی ماده ممکن است با بیش از یک نر لقاح داشته باشد که این کار را می‌تواند بوسیله تخم‌ریزی با چند نر در یک مرحله یا، تخم‌ریزی با چند نر در چند مرحله تجربه کند (پترسون و جاروی، ۲۰۰۱). این رفتار نر و ماده باعث تضمین موفّقیت تکثیر طرفین شده و سبب حفظ تنوع ژنتیکی در جمعیت وحشی می‌شود (میلوناس و همکاران، ۲۰۰۹).

مشابه پستانداران، ارتباط درون سلولی نزدیکی بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های جرم سل در حین اسپرماتوژنزیز ماهی وجود دارد (لویر و همکاران، ۱۹۹۵؛ د. مونتگولفیر و همکاران، ۲۰۰۷) که در انتهای چرخه تولیدمثلی ماهی نر، این ارتباط اسپرماتیدها با سلول‌های سرتولی ضعیف می‌شود (لویر و همکاران،

۱۹۹۵)، همچنین در برخی ماهیان اسپرمیشن با مرگ حداقل برخی از سلول‌های سرتولی همراه است (شولز و همکاران، ۲۰۰۵).

از نقطه نظر ریخت شناسی اسپرمیشن ماهی با تخریب اسپرماتوسیت‌ها و آزاد شدن اسپرماتوزوآ در مجاری اسپرم[1] تعریف می‌شود. این فرایند با تولید مایع سمینال که منجر به جذب آب بیضه‌ها می‌شود همراه است (شولز و میورا، ۲۰۰۲). در برخی گونه‌ها بویژه گربه ماهیان[2] ترشح‌های سمینال وزیکول در مایع سمینال شرکت کرده و در تداوم و تثبیت بقاء اسپرم شرکت می‌کند (چودهاری و جوی، ۲۰۰۷). در حین اسپرمیشن، میلت‌های تولید شده (یعنی مایع سمینال حاوی اسپرماتوزوآ) ممکن است بوسیله اسپرم-کشی دستی جمع‌آوری شوند (ورمیرسن و همکاران، ۲۰۰۰). البته در برخی ماهیان اسپرم‌کشی دستی میلت مشکل می‌باشد (ویویروس و همکاران، ۲۰۰۱). ولی در بیشتر موارد جذب آب میلت به اندازه‌ایی است که امکان اسپرم‌ریزی را به اسپرماتوزوآ داده و برای بارور سازی قابل استفاده می‌سازد (ورمیرسن و همکاران، ۲۰۰۰).

غالب روش‌های القائی اسپرمیشن بکارگرفته شده در آبزی پروری، برای القاء اسپرماتوژنزیزها که یک فرایند طولانی بوده که چندین روز یا هفته به طول می‌انجامد طراحی نشده است، بلکه عمدتاً برای القاء اسپرمیوژنزیز و تولید مایع سمینال که باعث خروج مقادیر هرچه بیشتر اسپرماتوزوآی تولید شده از اسپرماتوسیت‌ها از بیضه است طراحی شده است (میلوناس و همکاران، ۱۹۹۷bو ۱۹۹۸).

در برخی موارد، هنگامی‌که اسپرمیشن کاملاً متوقف می‌شود از روش القاء اسپرمیشن استفاده می‌شود. این پدیده (عدم انجام اسپرمیشن) ممکن است در ماهیانی که به خوبی به شرایط پرورشی عادت نکردند یا در هنگامی‌که شرایط نگه‌داری مولد با شرایط زیست گونه متناسب نیست، رخ دهد. همچنین ممکن است کنترل اسپرمیشن به منظور همزمان‌سازی تولید اسپرم با اوولاسیون ماده برای مدیریت مناسب مولدین، مورد

[1] sperm ducts
[2] siluriform

نیاز باشد و در آخر، اسپرم بایستی در موقعی مناسب با مقدار و کیفیت مناسب خصوصاً در طرح‌های بزرگ تکثیر برای مقاصد انتخاب ژنتیکی یا مقدار کافی انجماد اسپرم به منظور حفظ منابع ژنتیکی مطلوب، در دسترس باشد (میلوناس و همکاران، ۲۰۰۹).

در اغلب گونه‌های ماهیان آب شیرین که لقاح خارجی دارند، اسپرم در داخل دستگاه تناسلی نر و پلاسمای سمینال بی حرکت است (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴ ). اسمولاریته و ترکیبات پلاسمای سمینال از حرکت اسپرم در داخل مجاری دستگاه تناسلی ماهی جلوگیری می‌کند. حرکت اسپرم بعد از رهاسازی اسپرماتوزوا در محیط آبی طی تکثیر طبیعی و یا بعد از رقیق شدن در تکثیر مصنوعی تحریک می‌شود (علوی و کوسون، ۲۰۰۶). اسپرم ماهیان در گونه‌های مختلف از لحاظ الگوی حرکتی با یکدیگر تفاوتهایی دارند (بیلارد، ۱۹۷۸). فشار اسمزی، میزان یون پتاسیم، ساکاروز و پلاسمای سمینال با pH<۷ فاکتورهای عمده ممانعت کننده حرکت اسپرم در آزاد ماهیان و فشار اسمزی عامل کنترل کننده اصلی حرکت اسپرم در کپور ماهیان است (موریساوا و همکاران، ۱۹۸۳). واضح است که پارامترهای داخل سلولی مثل غلظتcAMP[1] (کریستین و همکاران، ۱۹۸۷) غلظت یون‌ها به‌خصوص کلسیم (موریساوا، ۱۹۸۵)، pH، پارامترهای داخل سلولی مثل درجه حرارت (بیلارد و همکاران، ۱۹۸۶)، روی توانایی و مدت زمان حرکت اسپرم ماهیان موثر است. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که غلظت یونها (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و. . . ) و اسمولاریته و pH در یک محدوده مشخص باشد، چرا که وجود این عوامل برای شروع حرکت اسپرم ضروری است، به این صورت که غشاء سلول را دپلاریزه کرده و روی تاژک اسپرم تاثیر گذاشته و موجب تحریک حرکت می‌شوند (کوسون و همکاران، ۲۰۰۰). اسپرم گونه‌های ماهیان آب شیرین معمولاً کمتر از ۲ دقیقه حرکت دارد و در بسیاری موارد حداکثر فعالیت کمتر از ۳۰ ثانیه است (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴ ). مدت زمان کوتاه حرکت اسپرم در ماهیان در نتیجه تخریب اسمتیکی به علت تحرک اسپرم‌ها در محیط آب و یا ناکافی بودن ذخیره انرژی صورت می‌گیرد (لانستینر و همکاران، ۱۹۹۷).

[1]Adenosine mono phosphate