دانشکده منابع‌طبیعی

گروه شیلات

تاثیر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

از:

ساره قیاسی

استاد راهنما:

دکتر بهرام فلاحتکار

اساتید مشاور:

مهندس علیرضا عباسعلیزاده

دکتر کنراد دابروسکی

اسفند ۱۳۹۱

تقدیم به:

چشمان منتظر مادرم

دستان پر مهر پدرم

تلاش بی پایان استادم

تقدیر و سپاس

در آغاز حمد و سپاس خود را تقدیم ایزد مهربان میکنم.

کمال تشکر و قدردانی را از استاد گرانقدرم دکتر فلاحتکار که با راهنمایی ها و نظرات ارجمندشان سختی راه را برایم هموار ساختند دارم.

از مشاورین محترم جناب آقای مهندس عباسعلیزاده که شرایط حضورم را در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی ایجاد نمودند و پروفسور دابروسکی که از نقطه نظرات ارزنده و راهنمایی های ارزشمندشان در انجام پایان نامه برخوردار شدم کمال تشکر را دارم. از جناب آقای دکتر خاراو دکتر ستاری که داوری این پایان نامه را پذیرفتند کمال تشکر را دارم. از آقای ملکی که در اندازه گیری آنالیزهای خون و هورمون ها به ما یاری رساندند بسیار متشکرم. از جناب آقای مهندس عفت پناه به جهت فراهم نمودن امکان حضور بنده و استفاده از تجهیزات مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر دکتر یوسفپور جهت تکثیر ماهیان کمال تشکر را دارم. از هم فکری های بی دریغ و مساعدت های همیشگی آقایان مهندس پوردهقان، علیزاده، حصیرباف و مهندس مکنت خواه قدردانی می کنم. از آقای خلیلی به جهت هماهنگی جهت ارسال نمونه ها به کشور ترکیه، دکتر ارسلان از دانشگاه آتاتورک در ترکیه به جهت اندازه گیری تیامین در تخم، دکتر اسماعیلی به جهت تهیه ملکل ویتامینه و جناب دکتر زمانی فرد به جهت همکاری های علمی صمیمانه سپاس گزارم.

از همکلاسی های خوبم آقایان مهندس ماهان سلمرودی، علی حمیداوغلی و خانم ها زهرا محمودی، شادی پسکی و صدیقه محمدزاده که همیشه در کنارم بودند صمیمانه تشکر می کنم.

از دوستان خوبم آقایان مهندس مهدی فریدی، خیام دل افکار، رامین محمدعلی ها و مهران ارشادی و خانم ها سکینه شیروان، سپیده کهنسال، عادله حیدری و سمانه پورسعید به جهت کمک در تزریق و تکثیر ماهیان بسیار سپاسگزارم.

از دوستان عزیز و هم اتاقی های گرامی ام خانم ها مهندس فاطمه نادری، فاطمه ذاکر، سمانه رضایی، مریم اصغریان، فاطمه طاری، نداقربانزاده و مرضیه عباسی که در تمام لحظات سخت و پرتنش همراهم بودند سپاس گزارم.

از حامیان همیشگی ام خانواده دلسوزم به خاطر تمام حمایت هایشان با تمام وجود قدردانی می کنم.

سارہ قیاسی

اسفند ۹۱

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

چکیده فارسی.....ر

چکیده انگلیسی.....ز

فصل اول: مقدمه، کلیات و مرور منابع

۱- مقدمه و کلیات.....۲

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۱-۱- ضرورت انجام تحقیق.....۵

۱-۱-۲- فرضیات.....۶

۱-۱-۳- اهداف.....۶

۱-۲- کلیات.....۷

۱-۲-۱- ماهیان خاویاری.....۷

۱-۲-۲- استرلیاد.....۸

۱-۲-۲-۱- سیستماتیک.....۸

۱-۲-۲-۲- خصوصیات ریخت شناسی.....۹

۱-۲-۲-۳- خصوصیات زیستی.....۹

۱-۲-۲-۴-تولید مثل.....۱۰

۱-۲-۳- تاریخچه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری.....۱۰

۱-۲-۴- ویتامین ها.....۱۲

۱-۲-۶- تیامین یا ویتامین B_1.....۱۳

۱-۲-۵-۱- خصوصیات ساختار شیمیایی.....۱۳

۱-۲-۵-۲- مکانیسم عمل در بدن.....۱۴

۱-۲-۵-۳- علایم کمبود و سندروم EMS.....۱۵

۱-۲-۵-۴- حد نیاز در ماهیان.....۱۷

۱-۲-۵-۵- ارزیابی بالینی..... ۱۸
۱-۲-۵-۶- منابع و حفاظت..... ۱۸
۱-۲-۵-۷- آنتی متابولیت و غیر فعال کننده ها..... ۱۹
۱-۲-۵-۷-۱- تیامیناز ۱۹
۱-۲-۵-۷-۲- آمپرولیوم..... ۲۰
۱-۲-۴- اهمیت ویتامین ها در بلوغ و تولید مثل ماهیان..... ۲۱
۱-۳- مرور منابع و سابقه تحقیق..... ۲۳

فصل دوم: مواد و روش ها

۲- مواد و روش ها..... ۲۹
۲-۱- تهیه ماهیان مورد مطالعه..... ۲۹
۲-۲- شرایط نگهداری ماهی..... ۲۹
۲-۳- طراحی آزمایش..... ۳۰
۲-۴- تهیه جیره های آزمایشی..... ۳۱
۲-۵- محاسبه تیامین جیره..... ۳۳
۲-۶- تزریق تیامین..... ۳۳
۲-۷- تعیین شاخص های رشد..... ۳۴
۲-۸- تعیین شاخص GV..... ۳۵
۲-۹- جمع آوری نمونه ها..... ۳۶
۲-۹-۱- خونگیری و تعیین پارامترهای خونی..... ۳۶
۲-۹-۱-۱- تعیین شاخص های هماتولوژی..... ۳۷
۲-۹-۱-۱-۱- تعیین میزان هموگلوبین (Hb)..... ۳۷
۲-۹-۱-۱-۲- تعیین میزان هماتوکریت (Hct)..... ۳۸
۲-۹-۱-۱-۳- شمارش تعداد یاخته های قرمز (RBC)..... ۳۹
۲-۹-۱-۱-۴- تعیین شاخص های خونی..... ۴۰

۲-۹-۱-۱-۵- شمارش یاخته های سفید (WBC)..... ۴۱
۲-۹-۱-۱-۶- تعیین درصد افتراقی یاخته های سفید..... ۴۱
۲-۹-۲- تعیین غلظت استروئیدهای جنسی..... ۴۱
۲-۹-۲-۱- اندازه گیری تستوسترون..... ۴۲
۲-۹-۲- ۲- اندازه گیری استرادیول..... ۴۲
۲-۹-۳- اندازه گیری گلوکز -۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH)..... ۴۳
۲-۹-۴- اندازه گیری مقدار تیامین در تخم..... ۴۴
۲-۹-۴-۱- انتقال نمونه ها جهت آنالیز تیامین در تخم..... ۴۴
۲-۹-۴-۲- چگونگی اندازه گیری میزان تیامین ۴۴
۲-۱۰- تکثیر ماهیان..... ۴۶
۲-۱۰- ۱- القای تولید مثل..... ۴۶
۲-۱۰- ۱-۲- عملیات لقاح..... ۴۷
۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری داده ها..... ۴۹

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج..... ۵۱
۳-۱- پارامتر های رشد..... ۵۱
۳-۱-۱- نتایج بیومتری اول..... ۵۱
۳-۱-۲- نتایج بیومتری دوم..... ۵۲
۳-۱-۳- نتایج بیومتری سوم..... ۵۳
۳-۱-۴- نتایج بیومتری چهارم..... ۵۴
۳-۱-۵- نتایج بیومتری پنجم..... ۵۵
۳-۱-۶- نتایج بیومتری کل دوره..... ۵۶
۳-۲- شاخص های هماتولوژی..... ۵۷
۳-۲-۱- شاخص های خونی..... ۵۸

۳-۲-۲- درصد افتراقی یاخته های سفید ۵۹
۳-۳- گلوگز-۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH) ۶۰
۳-۴- استروئیدهای جنسی ۶۱
۳-۵- شاخص قطبیت هسته (PI) ۶۲
۳-۶- میزان تیامین در تخم ۶۳
۳-۷- شاخص های تولید مثل ۶۴

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴- بحث ۶۶
۴-۱- شاخص های رشد ۶۶
۴-۲- پارامترهای هماتولوژی ۶۸
۴-۳- شاخص قطبیت هسته ۷۱
۴-۳- گلوکز -۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH) ۷۲
۴-۴- استروئید های جنسی ۷۴
۴-۵- تیامین در تخم ۷۶
۴-۶- عملکرد تولید مثلی ۷۹
۴-۷- نتیجه گیری نهایی ۸۱
۴-۸- پیشنهادها ۸۳

منابع

۵- فهرست منابع ۸۶

فهرست جداول

عنوان.....صفحه

جدول ۱-۱- حد نیاز به تیامین در گونه های مختلف ماهی بر اساس اطلاعات موجود در NRC (1993).....۱۸

جدول ۲-۱- اجزا تشکیل دهنده جیره تهیه شده در تحقیق حاضر.....۳۲

جدول ۲-۲- آنالیز تقریبی جیره مورد استفاده در تحقیق حاضر (n=۳).....۳۲

جدول ۳-۱- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد یک ماه پس از شروع آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار n=۱۵).....۵۱

جدول ۳-۲- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد ۲ ماه پس از شروع آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۵۲

جدول ۳-۳- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد ۳ ماه پس از شروع آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۵۳

جدول ۳-۴- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد ۴ ماه پس از شروع آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۵۴

جدول ۳-۵- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد ۵ ماه پس از شروع آزمایش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار n=۱۵).....۵۵

جدول ۳-۶- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های رشد مولدین استرلیاد در کل دوره پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار n=۱۵).....۵۶..

جدول ۳-۷- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های هماتولوژیک ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۹ =n).....۵۷

جدول ۳-۸- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص یاخته های قرمز ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۹ =n).....۵۸

جدول ۳-۹- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر درصد افتراقی یاخته های سفید ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۹ =n).....۵۹

جدول ۳-۱۰- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز (G6PDH) ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه

پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۹ =n).....۶۰
جدول ۳-۱۱- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر استروئید های جنسی ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۶۱
جدول ۳-۱۳- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر میزان تیامین (هیدروکلراید، پیروفسفات، مونوفسفات و تیامین کل) در ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۶۳
جدول ۳-۱۳- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص های تولید مثلی ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه پرورش. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۱۵ =n).....۶۴

فهرست نمودارها

عنوان.....**صفحه**

نمودار ۲-۱- نوسانات دمای آب در طی دوره پرورش..... ۳۰

نمودار۳-۱- اثر سطوح مختلف تیامین تزریقی و تغذیه ای بر شاخص قطبیت هسته در مولدین ماهی استرلیاد پس از ۵ ماه نگهداری. داده ها به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده اند (برای هر تیمار ۹ =n)..... ۶۲

عنوان ..... **صفحه**

شکل ۱- ۱- استرلیاد *Acipenser ruthenus* (Linnaeus, 1758) ۹

شکل ۱-۲- ساختار مولکولی تیامین هیدروکلراید ۱۳

شکل ۳-۱- ساختار مولکولی تیامیناز ۱۹

شکل ۱-۴- ساختمان شیمیایی آمپرولیوم هیدروکلراید ۲۰

شکل ۲-۱- نمایی از تانک ها و محل پرورش در تحقیق حاضر ۲۹

شکل ۲-۲- تزریق تیامین در محوطه شکمی مولدین ماهی استرلیاد در مطالعه حاضر ۳۴

شکل ۲-۳- الف- سوند زنی به ماهی استرلیاد جهت اخذ نمونه تخمک، ب- برش تخمک از ناحیه قطب حیوانی، ج- موقعیت هسته نسبت به قطب حیوانی و گیاهی و برآورد فاصله (Chapman and Van Eenennaam, 2007) ۳۶

شکل ۲-۴- خونگیری از سیاهرگ وریدی ماهیان استرلیاد مورد مطالعه ۳۷

شکل ۲-۵- دستگاه اسپکتوفتومتری استفاده شده جهت اندازه گیری میزان هموگلوبین در تحقیق حاضر ۳۸

شکل۲-۶- دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت جهت اندازه گیری هماتوکریت ۳۹

شکل ۲-۷- دستگاه گاماکانتر مورد استفاده جهت اندازه گیری هورمون های جنسی ۴۳

شکل ۲-۸- دستگاه اتو آنالایزر جهت اندازه گیری گلوکز -۶- فسفات دهیدروژناز ۴۴

شکل ۲-۱۰- تزریق هورمون $LHRH\text{-}A_2$ به مولدین ماهی استرلیاد ۴۶

شکل۲-۱۰- مراحل تکثیر ماهیان الف- بیهوشی، ب- معاینه، ج- تخم کشی اولیه، د- سزارین، تخم کشی نهایی ه- بخیه شکاف سزارین، و- تزریق اکسی تتراسایکلین ۴۸

چکیده

(عنوان) **تاثیر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی ماهی استرلیاد (*Acipenser_ruthenus*)**

(نام دانشجو) ساره قیاسی

مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی در ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) انجام گردید. تعداد ۶۰ ماهی (۸/۹ ± ۶۹۷/۸ گرم) در ۱۲ تانک فایبر گلاس در چهار تیمار (سه تکرار) توزیع شدند. تیمار اول با جیره ای حاوی ۱۰ mg/kg جیره خشک تیامین هیدروکلراید (T_{f10}) و سه تیمار دیگر با جیره ای حاوی ۱ g/kg آمپرولیوم هیدروکلراید (به عنوان آنتی تیامین) در جیره خشک یک نوبت در روز به مدت ۵ ماه قبل از تخم ریزی تغذیه شدند. به سه تیمار تغذیه شده با آمپرولیوم با دوزهای صفر (T_{i0})، ۵ (T_{i5}) و ۵۰ (T_{i50}) mg/kg وزن بدن در سه نوبت (روز ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰) تیامین تزریق شد. در انتهای هر ماه، ماهیان بیومتری شده و پارامترهای رشد مانند وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن (BWI) و افزایش وزن روزانه (ADG) بررسی شدند که اختلاف معنی داری در پارامتر های رشد بین تیمار ها دیده نشد ($P>۰/۰۵$). در انتهای دوره (۵ ماه) شاخص های هماتولوژیک اندازه گیری شد. شاخص های هموگلوبین (Hb)، تعداد گلبول های قرمز(RBC)، تعداد گلبول های سفید (WBC)، لنفوسیت، نوتروفیل ، ائوزینوفیل و مونوسیت در بین تیمار ها اختلاف معنی داری نداشتند ($P>۰/۰۵$). میزان هماتوکریت بین تیمار ها اختلاف معنی دار داشت ($P<۰/۰۵$). در حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) و میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$) ولی کمترین میزان میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در تیمار T_{i5} مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). همچنین شاخص قطبیت هسته (PI) در سه مرحله (روز صفر، ۷۵ و ۱۵۰) اندازه گیری شدکه اختلاف معنی داری در تیمار های مختلف نشان نداد ($P>۰/۰۵$). نتایج حاصل از اندازه گیری گلوکز شش فسفات دهیدروژناز (G6PDH) نشان داد اختلاف معنی داری در بین گروه های مختلف آزمایشی وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). میزان هورمون استرادیول اختلاف معنی داری در بین تیمار ها نداشت ($P>۰/۰۵$) و هورمون تستوسترون تحت تاثیر تیامین تزریق شده بود ($P<۰/۰۵$). میزان تیامین هیدروکلراید (THCL)، تیامین پیروفسفات (TPP) و تیامین کل در تخم افزایش معنی داری در تیمار ها T_{i50} نسبت به تیمار کنترل نشان داد ($P<۰/۰۵$) و در تیامین مونو فسفات (TMP) اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). هماوری کاری، هماوری نسبی و زمان پاسخ به تزریق تفاوت معنی داری نداشت ($P>۰/۰۵$) اما تعداد تخمک در گرم تحت تاثیر میزان تیامین بود ($P<۰/۰۵$). با توجه به تحقیق حاضر، به نظر می رسد تیامین می تواند بر برخی از پارامتر های فیزیولوژیک و تولیدی مثلی اثر بگذارد و یک ماده موثر در تولید مثل ماهیان خاویاری می باشد که نیاز به مطالعات کاملتری دارد.

کلید واژه: ویتامین B_1، تولید مثل، کیفیت تخم، فیزیولوژی، استرلیاد

Abstract

(Title) **Effect of thiamine on physiological changes and reproductive performance of sterlet sturgeon *(Acipenser ruthenus*)**

(Author) Sareh Ghiasi

The present study aimed to investigate the effect of thiamine on physiological changes and reproductive performance of sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). A total of 60 fish (698.7 ± 8.9 g) were distributed in 12 fiberglass tanks with four treatments (each of three replicates). one treatment with a diet containing 10 mg thiamine/kg (T_{f10}) in dry diet, and the 3 other treatments with a diet containing 1gr/kg amprolium hydrochloride(a thiamin antagonist) in diet once a day for 5-month before spawning. thiamine hydrochloride was injected to treatments fed amprolium with three doses at 0 (T_{i0}), 5 (T_{i5}) and 50 (T_{i50}) mg/kg body weight at three different stages (day 30, day 90 and day 150). At the end of each month, fish were weighed and growth parameters such as final weight (FW), weight gain (WG), specific growth rate (SGR), body weight increase (BWI), average daily growth (ADG) and were determined and there are no significant differences in treatment ($p>0.05$). At the end of the 5 months period, hematological parameters were measured. Hb, RBC, WBC, lymphocytes, neutrophils, eosinophils and monocytes were not significantly different among the treatments ($p>0.05$), but Hct was significantly ($p<0.05$). The mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH) were not significantly different ($p>0.05$), but lower value of mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) was observed in fish treated with 5 mg thiamine ($p<0.05$). Through examination of the polarization index at different stages (day 0, 75 and 150), the results showed no significant difference in different treatment ($p>0.05$). The results of glucose 6 phosphate dehydrogenase (G6PDH) measurements showed there are no significant differences in different treatments ($p>0.05$). Estradiol levels were not significantly different ($p>0.05$) and testosterone was affected by injection of thiamine ($p<0.05$). Thiamine hydrochloride (THCL), thiamine pyrophosphate (TPP) and total thiamine in eggs showed increase significantly in T_{i50} compared the control ($p<0.05$) and no significant difference observed in thiamine mono-phosphate (TMP) ($p>0.05$). Working fecundity, relative fecundity and response time of injection was not significantly different ($p>0.05$) and number of egg in per g have significantly different in treatment ($p<0.05$). According to this study, it seems that thiamine can affect some physiological and reproductive parameteres features of brood stock and is effective material in reproductive sturgeon, which needs to be specified in further studies.

Key words: Vitamin B1, reproduction, egg quality, physiology, sterlet sturgeon

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

تاسماهیان یا ماهیان خاویاری به علت کیفیت بالای گوشت و ارزش غذایی خاویار جز گرانترین و با ارزش ترین ماهیان محسوب می شوند. اما به دلایل مختلفی از جمله صید بیش از حد، مدیریت ضعیف صید، عدم حفاظت، آلودگی های شدید زیست محیطی و ساخت سد روی رودخانه ها، محیط زیست و محل تولید مثل آنها با محدودیت رو به رو شده است و جمعیت آنها در سراسر جهان رو به کاهش است (Birestein, 1993; Pourkazemi et al., 1999; Billard et al., 2001; Hurvitz et al., 2007) به طوری که بسیاری از آنها در فهرست گونه های در معرض خطر قرار گرفته است (IUCN, 2012).

ماهی استرلیاد یکی از گونه های با ارزش ماهیان خاویاری می باشد که شرایط زیستی و رسیدگی جنسی کوتاه تر نسبت به سایر ماهیان خاویاری این ماهی را به عنوان یک الگوی مناسب جهت مطالعات بیولوژیک، تغذیه ای و دستکاری های کروموزومی در بین سایر تاسماهیان معرفی کرده است (Piros et al., 2002; Lahnsteiner et al., 2004; Williot et al., 2005). این ماهی در سال ۱۳۸۴ وارد ایران شد و تکثیر مصنوعی آن در دست انجام است.

امروزه در بحث آبزی پروری به ویژه در ارتباط با گونه های در حال انقراض مانند ماهیان خاویاری توجه به کیفیت تکثیر و پرورش لارو و بچه ماهی به منظور بازسازی ذخایر و بهبود شرایط رشد در محیط های مصنوعی امری اجتناب ناپذیر است. بنابراین می بایست با در نظر گرفتن حداقل تعداد مولدین موجود و در دسترس، بالاترین میزان تولید را ایجاد نمود که این امر در مراحل مختلف تولید، تکثیر و پرورش بچه ماهیان قابل انجام است (Williot et al., 2005). تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از سال ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت چشمگیری داشته است. با توجه به اینکه همیشه فعالیتی در آبزی پروری موفق خواهد بود که یک پرورش دهنده به بیوتکنیک تکثیر و پرورش آن گونه اشراف کامل داشته باشد، علی رغم پیشرفت های خوبی که طی چند سال اخیر در مورد پرورش تاسماهیان صورت گرفته، لیکن اطلاعات کافی در مورد نیاز های تغذیه ای و ویتامینی آن ها وجود ندارد (Moreau et al., 1999; Hung and Deng, 2002; Tatina et al., 2010) و این فقدان اطلاعات منجر به محدودیت تکثیر و پرورش این ماهیان شده است. به علاوه سیکل تولید مثلی در ماهیان خاویاری بر خلاف بسیاری از ماهیان استخوانی دارای مراحلی است که بعضاً برای تکمیل برخی از این مراحل، مدت زمان طولانی تری لازم

است. به گونه ای که سن بالای بلوغ، طولانی بودن رسیدگی جنسی، توقف بسیار زیاد در مرحله پیش زرده سازی[1] و طولانی بودن عبور از این مرحله به مرحله زرده سازی[2]، از عواملی هستند که تکثیر مصنوعی این ماهیان را در محیط پرورشی محدود می سازد (Birestein, 1993).

نقش تغذیه در بلوغ ماهیان یکی از عوامل حایز اهمیت است بطوریکه تغذیه به عنوان یک عامل خارجی موثر در محیط داخلی آبزیان با تاثیر بر هیپوتالاموس و به دنبال آن ترشح هورمون های آزاد کننده و تاثیر این هورمون ها بر روی هیپوفیز باعث تولید هورمون های گنادوتروپینی شده که این هورمون ها با تحریک ترشح سایر هورمون ها، روند زرده سازی را در سلول های کبدی تسریع می نماید (حسین زاده صحافی، ۱۳۸۰). همچنین هماوری و اندازه تخم با کیفیت جیره غذایی که مولدین از آن تغذیه می شوند تغییر می یابد به طوری که مولدینی که در محدودیت غذایی قرار داده می شوند تخم های کمتر و کوچکتر تولید می کنند (Blom and Izquierdo and Fernandez-Palacios, 1997; Fernandez-Palacios et al., 1998; Dabrowski, 1995). یکی از پارامترهای تعیین کننده موفقیت در تولید مثل، کیفیت تخم است که متاثر از کمبود مواد غذایی در جیره مولدین می باشد و بر میزان باروری اثر می گذارد. همچنین مطالعات بسیاری نشان می دهد که ریز مغذی ها نقش مهمی در بلوغ و تولید مثل ماهیان دارند (Berglund, 1995; Izqueirdo et al., 2001; Watanabe and Vassallo, 2003; Nyina-Wamwiza et al., 2012; Bittencourt et al., 2012).

یک جیره مناسب برای مولدین حاوی مواد مختلفی است که از مهمترین و ضروری ترین آنها ریز مغذی ها و خصوصا" ویتامین ها می باشند. ویتامین ها ترکیبات آلی پیچیده ای هستند که با وجود نیاز بسیار کم بدن، عوارض ناشی از کمبود آنها به سرعت در جانور ظاهر می گردد (Morito et al., 1986). با توجه به مطالعات تغذیه ای اندک در ماهیان خاویاری، اطلاعات کافی در زمینه نیازمندی های ویتامینی برای این ماهیان در دسترس نیست و در اکثر موارد از مکمل های آزاد ماهیان استفاده می شود. از جمله ویتامین های بسیار مهم در مجموع مکمل های ویتامینی، ویتامین های گروه B هستند که معمولا" به همراه سایر ویتامین های مورد نیاز ماهی به جیره اضافه می شوند. از این خانواده می توان به ویتامین B_1 یا تیامین[3] اشاره نمود که اولین

۱- Previtellognic

۲-Vitelloginic

۱-Thiamine

ویتامین کشف شده از گروه B بوده و جز ویتامین های محلول در آب می باشد. ماهیان قادر به سنتز تیامین نبوده و لذا این ویتامین فقط از طریق غذا قابل دسترسی است. مقدار تیامینی که برای سلامت طبیعی ماهی مورد نیاز است بسیار ناچیز می باشد (Morito, 1986). بطوریکه اطلاعات موجود در NRC (1993) این میزان را mg/kg ۱۵- ۱ جیره برای ماهیان تعیین کرده است.

تیامین به عنوان یک کوآنزیم در مراحل متابولیک سلولی و در متابولیسم طبیعی کربوهیدرات، چربی و زنجیره های آمینو اسید شرکت می کند (Morris and Devis; 1995, Brown et al., 1998) و معمولا نقش حیاتی مستقل از نقش کوآنزیمی در اعمال عصبی ایفا می نماید. همچنین حضور این ویتامین در متابولیسم تبدیل پیروات به استیل کوآ و در نهایت تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) موثر است (Shenkin, 2008). کمبود تیامین در اثر ناکافی بودن این ویتامین و گاهی حضور یا افزایش مواد آنتی ویتامینی در جیره ماهیان به وجود می آید که منجر به تخریب یا بی اثر شدن آن می شوند. از آنتی تیامین ها می توان به آنزیم تیامیناز اشاره کرد که باعث تجزیه و تخریب تیامین می گردد. بیان شده در ماهیانی که منابع شگ ماهیان موجود در دریاچه ها را به صورت خام استفاده می کنند کمبود تیامین در آنها مشاهده می شود (Honeyfield et al., 2005). ماده دیگری که باعث ایجاد کمبود تیامین می شود آمپرولیوم[۱] است، این ماده از لحاظ شکل ساختمانی مشابه تیامین بوده به طوریکه حضور آمپرولیوم در جیره ماهیان باعث بروز علایم کمبود تیامین می شود (Fynn-Aikins et al., 1998) .کمبود تیامین می تواند در ماهیان علایمی نظیر بی اشتهایی و رشد ضعیف (Halver, 1972) و به دنبال آن علایم عصبی مانند حساسیت به شوک های ناگهانی و سندروم چرخش تنه در مار ماهی (Hashimoto et al., 1970) ایجاد کند و زمانی که کمبود تیامین ادامه پیدا کند ماهیان دچار عدم تعادل و بی نظمی شده و سرانجام می میرند (Masumoto et al., 1987). مطالعات جدید گویای این امر هستند که حضور تیامین در مراحل ابتدایی زندگی بسیار حیاتی بوده و میزان تیامین موجود در تخم با افزایش مرگ و میر در لارو آزاد ماهیان ارتباط دارد (Amcoff et al., 1998; Ftizsimon et al., 2007; Lee et al., 2009). کمبود تیامین در ماهیان مولد قبل از فصل تولید مثل باعث کم شدن میزان این ویتامین در تخم های تولید شده می شود (Weigand et al., 2011). کاهش میزان تیامین در تخم باعث بروز نوعی سندروم به نام مرگ و میر زودرس شده[۲] (EMS) و گفته می شود زمانیکه

۱-Amprolium
۲-Early Mortality Syndrome

میزان تیامین در تخم *Salvelinus namaycush* به زیر ۰/۸ nmol/g برسد علایم سندروم بروز می کند (Brown et al., 2005). این سندروم در زمان تفریخ تخم و همزمان با جذب کیسه شنا باعث بروز تلفات عمده ای شده که این تلفات تا ۹۶/۶ درصد نیز می رسد (Ketola et al., 2000).

با توجه به کاهش روز افزون ذخایر ماهیان خاویاری، توجه به شناخت اثرات ریزمغذی هایی مانند ویتامین ها حایز اهمیت است. در مراحل مختلف انکوباسیون و پرورش لارو ماهیان خاویاری میزان قابل توجهی از تلفات رخ می دهد به طوریکه بر اساس گزارش های مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری در تاسماهی ایرانی حدود تلفات در مرحله تخم ۲۲/۰۷ تا ۵۷ درصد، لاروی ۱۳/۳۰ تا ۴۷/۳۶ درصد و بچه تاسماهیان ایرانی بین ۲۹/۳۰ تا ۶۷/۹۰ درصد بوده است (شناور ماسوله، ۱۳۸۸). بطوریکه عوامل مختلفی از جمله کمبودهای ویتامینه در مولدین می تواند از دلایل آن باشد. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه ای در خصوص اثر تیامین در ماهیان خاویاری صورت نگرفته است و نظر به اهمیت آن در بهبود کیفیت تخم و لارو، این تحقیق به بررسی مشکلات ناشی از کمبود تیامین و اثرات آن بر عملکرد تولید مثلی و تغییرات فیزیولوژیک در ماهی استرلیاد با استفاده از تغذیه ماهیان با آنتی تیامین و تزریق دوره ای تیامین می پردازد تا با آگاهی از اثرات مثبت این ویتامین در تولید مثل ماهیان در فصل تکثیر و اعمال مدیریت صحیح منجر به بهبود هر چه بیشتر عملکرد تولید مثلی مولدین و در نهایت افزایش بقای تخم و لارو این ماهیان با ارزش گردد.

۱-۱-۱- ضرورت انجام تحقیق

مدیریت صحیح مولدین در زمان تخمریزی، تولید تخم و لارو با کیفیت جهت بازسازی ذخایر و پرورش بچه ماهی را در پی دارد. در بسیاری از گونه ها از جمله ماهیان خاویاری به علت کیفیت مناسب تر مولدین و حفظ تنوع ژنتیکی برای رهاسازی بیشتر مولدین برای تکثیر از محیط های طبیعی صید شوند. مولدین در این محیط ها از ماهیانی تغذیه می کنند که دارای تیامیناز بوده و باعث تخریب تیامین و کاهش آن در بدن می شود و این کاهش، اثرات منفی بر کیفیت لارو های بوجود آمده خواهد داشت (Rinchard et al., 2011). با توجه به اینکه تیامین در بدن سنتز نمی شود و هیچ مدیریت تغذیه ای نمی توان بر مولدین وحشی صید شده از محیط های طبیعی داشت، به نظر می رسد جهت افزایش محتوی تیامین بدن نیاز است روش هایی غیر از تغذیه به کار برده شود. مطالعات صورت گرفته نشان می دهد تزریق تیامین به مولدین قبل از تولید مثل باعث بروز اثرات مثبت و تغییرات فیزیولوژیک درآنها می شود (Borjeson et al., 1999; Amcoff et al., 2000; Ketola et al., 2000; Fitzsimons et al., 2005). بنابراین درک صحیح از ارتباط ماده و محدوده دوز مناسب آن می تواند راهکاری مناسب در جهت

استفاده از این ویتامین در تولید مثل گونه های مختلف ماهیان خاویاری و ارائه به مراکز تکثیر و پرورش این ماهیان باشد. با توجه به اهمیت این ماهیان به عنوان سرمایه ملی، کاهش تلفات تخم و لارو و افزایش کارایی انکوباسیون یک امر بدیهی و ضروری می باشد. همچنین به علت محدودیت مولدین وحشی و ویژگی های ماهی استرلیاد به عنوان یک مدل بیولوژیک، در مطالعه حاضر این ماهی به عنوان گونه مورد مطالعه در تحقیق حاضر در نظر گرفته شد.

۱-۱-۲- فرضیات

۱- شاخص های رشد با میزان تیامین دریافتی از طریق جیره و تزریق در مولدین ارتباط دارد.

۲- میزان تیامین در تخم تحت تاثیر میزان تیامین تزریقی یا تغذیه ای در مولدین است.

۳- تغییرات شاخص های هماتولوژیک تحت تاثیر میزان تیامین قرار دارند.

۴- استروئید های جنسی تحت تاثیر تغییرات تیامین هستند.

۵- میزان تیامین بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون اثر گذار است.

۱-۱-۳- اهداف

هدف کلی

بررسی اثرات تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی ماهی استرلیاد

اهداف جزیی

۱- تعیین محدوده دوز مناسب تزریق تیامین که باعث بروز اثرات مثبت در مولدین می شود

۲- امکان افزایش بقا در تخم و لارو در نتیجه افزایش تیامین تخم

۳- بررسی عملکرد تیامین بر شاخص های فیزیولوژیک و رشد در ماهی

۴- بهبود عملکرد تولیدمثلی ماهی استرلیاد با استفاده از تزریق تیامین یا استفاده از تیامین در جیره

۱-۲- کلیات

۱-۲-۱- ماهیان خاویاری