PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

آیین نامه چاپ رساله های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار رساله های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ رساله‌ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل **رساله دکتری ایمان سوری نژاد** در رشته **شیلات** گرایش **تکثیر و پرورش آبزیان** است که در سال **۱۳۸۹** در **دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس** به راهنمایی جناب آقای **دکتر محمدرضا کلباسی** و مشاوره جناب آقای **دکتر پائولینو مارتینز** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰% بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب **ایمان سوری نژاد** دانشجوی رشته **شیلات مقطع دکتری تخصصی** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی:

ایمان سوری نژاد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه می باشد، باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم دریایی

رساله برای دریافت درجه دکتری تخصصی (PhD)
رشته شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

ارزیابی تاثیر رقابت اسپرم هنگام لقاح مخلوط گامت مولدان ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* بر میزان تنوع ژنتیکی نسل F_1

نگارنده
ایمان سوری نژاد

استاد راهنما
دکتر محمدرضا کلباسی

استاد مشاور
دکتر پائولینو مارتینز

تیر ۱۳۸۹

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تقدیم به

پدر عزیز و مادر صبورم

و

همسر مهربانم

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تشکر و قدردانی

اول سپاس خدای را که زور شنا ختش را به قلب ما تابانید و شکر ش را بر وجودمان الهام تو مو هبه پایان دانش به پروردگار یش را، برما گشود و مارا به وادی پر فیض تو حیفا صانه اش راهبر ی نمود و از هلاک در ورطه ا نکار و شک باز مانی حداشت قر حصیل علم و دانش را به بنده خو یش عطا فرمود به حکم ادب بر خود لازم م ازمقام عزیزا فی که طی مراحل مختلف این تحقیق یار یم نمود قدردا فی نما یم:

ارشاد راهنمای گرانقدر جناب آقای دکتر محمد رضا کاویانی که تحقیق در زمینه علوم شیلا قی را از ایشان فرا گرفتم تو فیق روز افزون ایشان و خانواده محترمشان را از درگاه خداوند مهربان آرزومندم.

ارشاد مشاور گرامی جناب دکتر هرانت یازو لیه نومار تینز از دانشگاه U S C کشور اسپانیا که در سایی ها ی بی شک مدرون مساعدت ها و پشتیبا نی های علمی و مادی گرانمرده ا یشان بود.

ارشاد محترم ناظر جناب آقای دکتر عبدکه ریم دهدار طبیان که تحصیل و تحقیق در مراحل کارشناسی ارشد و دکترا در دانشگاه رو یی پا سخگوی سؤالا تم بودند امیدوارم در سایه ایزد منان موفق و سلامت باشند.

ارشاد محترم ناظر جناب آقای دکتر محمد رضا یی که در حال انجام تحقیقات واره انظرات سودمندشان در بهبود کیفی رسالت فاده نمود سلامتی و تو فیق روز افزون ایشان و خانواده محترمشان را از درگاه ایزد منان خواستارم.

ارشاد محترم ناظر جناب آقای دکتر منوچهر متخاری یا دشان را در بدو ورود به دانشگاه داشتم و در بهره مراحل تحصیل و تحقیق، بهره وارده از راهنمایی های ارزنده شان برخوردار بودم. از درگاه خداوند متعال خواهان بهروزی و شادکامی ایشان و خانواده محترمشان در تمامی مراحل زندگی می باشم.

ارشاد محترم ناظر جناب آقای دکتر حمید رضا فرجزاده منشادی کاری قبول زحمت فرموده و داوری تحقیق حاضر را برعهده گرفتند از نظرات ارزشمند ایشان در بدو طراحی پیشنهاد رساله صمیمانه قدردانی می نمایم و تو فیق روز افزون ایشان و خانواده محترمشان را از خداوند منان خواستارم.

رئیس محترم دانشکده جناب آقای دکتر عباس اسماعیلی و معاون محترم آموزشی جناب آقای سید مجید پورفرامرزی نیز در فراهم آوردن امکانات تحصیل و تحقیق.

مهندس رضوانی رئیس و سایر کارکنان محترم کارگاه تکثیر و پرورش آزادماهیان شهید باهنر کلاردشت.

دوست عزیز جناب آقای دکتر سالار دامنشان که در مدت انجام تحقیق حاضر از راهنمایی ها و تجارب ارزنده ایشان بهره مند بودم.

خانم مهندس زهرا قاسمی و آقایان سید علی جوهری، عباس زمانی رضا طرشکلائی و علوم دریایی و همچنین اویس ایزدی و تالیا پوسانا سانچز، ماریا پورتلا، رونیا گومز و مونیکا اترو کارشناسان محترم گروه ژنتیک دانشکده دامپزشکی دانشگاه U S C کشور اسپانیا.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

ارزیابی تاثیر رقابت اسپرم هنگام لقاح مخلوط گامت مولدان ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* بر میزان تنوع ژنتیکی نسل F_1

بازسازی صحیح ذخایر طبیعی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* نیازمند توجه جدی به حفظ تنوع ژنتیکی آلوین‌های تولید شده در شیوه فعلی تکثیر مصنوعی مولدان است که به صورت لقاح مخلوط گامت‌ها و با افزودن مایع منی دو تا چهار مولد نر بر روی مخلوط تخمک همین تعداد مولد ماده انجام می شود. در حال حاضر اطلاعی در خصوص چگونگی تأثیر شیوه لقاح مخلوط گامت‌ها بر اندازه جمعیت مؤثر N_e (Effective population size) در مولدان که پارامتری مهم در حفظ تنوع ژنتیکی نسل بعد می باشد در دست نیست. در تحقیق حاضر نسبت N_e به تعداد واقعی مولدان مورد استفاده N_b (Actual number of breeders) در شیوه مرسوم لقاح مخلوط گامت‌ها در قالب تیمار اول و دوم با تعداد چهار مولد ماده و به ترتیب با تعداد دو و چهار مولد نر بررسی شد. در تیمارهای سوم و چهارم میزان N_e/N_b در لقاح مخلوط چهار مولد نر مختلف با حجم مساوی مایع منی و چهار مولد ماده با تعداد مساوی تخمک مورد بررسی قرار گرفت. در تیمار پنجم نیز میزان N_e/N_b در لقاح مخلوط شش مولد نر و دو مولد ماده با تعداد اسپرم و تخمک مساوی بررسی گردید. همچنین سه تیمار شاهد با لقاح یک به یک مولدان در نظر گرفته شد و آنالیز ردیابی بر روی مجموعاً ۲۴۵۰ آلوین انجام پذیرفت.

ردیابی والدین و نسل F_1 با استفاده از نرم افزارهای FAP (Family Assignment Program) و CERVUS پس از بررسی اولیه تنوع ژنتیکی نه لوکوس ریزماهواره در مولدان و انتخاب سه لوکوس Str ۵۸، Str ۷۳ و Str ۵۹۱ که دارای بیشترین میزان تنوع ژنتیکی بودند، انجام شد. شناسایی و استفاده از لوکوس های ریزماهواره دارای بیشترین تنوع ژنتیکی، عدم وجود آلل های خاموش و وجود آلل های یگانه در هر سه لوکوس ریزماهواره مورد استفاده در مولدان منجر به انتساب ۹۴-۱۰۰ درصد از آلوین‌های تولید شده به شیوه لقاح مخلوط در همه تیمارها به والدین خود شد که بیانگر میزان بالای قدرت ردیابی والدین در تکنیک اتخاذ شده می باشد. مشارکت نامتعادل مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در شیوه فعلی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد باعث کاهش N_e/N_b به ۰/۷۸ در تیمار اول و ۰/۵۳ در تیمار دوم و در نتیجه کاهش معنی دار تنوع ژنتیکی در آلوین‌ها گردید (p <۰/۰۵). یکسان نمودن حجم مایع منی و یکسان نمودن تعداد اسپرم مورد استفاده به ازای هر مولد نر و استفاده از تعداد مساوی تخمک به ازای هر مولد ماده منجر به مشارکت متعادل مولدان در بارورسازی تخمک‌ها نگردید و اختلافات زیادی خصوصاً در میزان مشارکت مولدان نر در تولید آلوین‌ها در تیمارهای سوم، چهارم و پنجم مشاهده شد. میزان N_e/N_b در تیمارهای سوم، چهارم و پنجم به ترتیب ۰/۸۴، ۰/۵۱ و ۰/۶۵ محاسبه گردید که کاهش معنی دار تنوع ژنتیکی در آلوین‌ها را به دنبال داشت (p <۰/۰۵). در تیمارهای شاهد میزان N_e/N_b به حدود ۰/۹۹ افزایش یافت و تنوع ژنتیکی آلوین‌ها کاهش معنی داری نسبت به مولدان نشان نداد (p >۰/۰۵).

به نظر می رسد پدیده رقابت اسپرم عامل اصلی عدم مشارکت یکسان مولدان نر شرکت کننده در فرایند تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر به شیوه لقاح مخلوط گامت‌ها باشد. آنالیز همبستگی پارامترهای اسپرم با میزان مشارکت مولدان نر رابطه مثبت و معنی داری را بین مدت زمان تحرک اسپرم و تعداد آلوین‌های تولید شده توسط مولدان نر نشان داد، در حالیکه رابطه بین میزان اسپرماتوکریت و رابطه بین غلظت اسپرم با میزان مشارکت مولدان نر منفی بود. همچنین همبستگی بسیار معنی دار میزان اسپرماتوکریت با غلظت اسپرم، استفاده از پارامتر میزان اسپرماتوکریت را به عنوان یک روش ساده و سریع برای نشان دادن غلظت اسپرم در ماهی آزاد دریای خزر امکان پذیر می سازد.

اتخاذ شیوه لقاح مخلوط در تکثیر مصنوعی ماهی آزاد باعث کاهش N_e/N_b در مولدان می شود و راهکار مناسبی برای حفظ تنوع ژنتیکی آلوین‌های تولید شده که برای بازسازی ذخایر استفاده می شوند نخواهد بود. افزایش N_e/N_b در تکثیر مصنوعی مولدان ماهی آزاد باید از طریق متعادل‌تر نمودن میزان مشارکت مولدان خصوصاً مولدان نر در ترکیب ژنتیکی آلوین‌های ایجاد شده عملی گردد که این موضوع نیازمند انجام اصلاحاتی در الگوی لقاح مولدان در مراکز تکثیر می باشد. با توجه به نتایج تیمارهای شاهد به نظر می رسد الگوی لقاح یک به یک مولدان نر و ماده گزینه مناسبی برای حفاظت از تنوع ژنتیکی ماهی آزاد دریای خزر و بازسازی صحیح ذخایر ارزشمند آن باشند.

واژه های کلیدی: لقاح مخلوط، اندازه جمعیت مؤثر، رقابت اسپرم، تنوع ژنتیکی، ماهی آزاد دریای خزر، *Salmo trutta caspius*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فهرست جدول‌ها	ز
فهرست نمودارها	ح
فهرست شکل‌ها	ط
فصل ۱: مقدمه و اهداف تحقیق	
۱-۱ مقدمه	۱
۱-۲ ضرورت انجام تحقیق	۶
۱-۳ اهداف تحقیق	۷
۱-۴ سؤالات اصلی تحقیق	۸
۱-۵ فرضیه ها	۸
فصل ۲: کلیات و مروری بر منابع	
۲-۱ ماهی آزاد دریای خزر	۹
۲-۲ شیوه لقاح مخلوط گامت‌ها در تکثیر مصنوعی ماهیان	۱۰
۲-۳ اثرات ژنتیکی اتخاذ شیوه لقاح مخلوط گامت‌ها در تکثیر مصنوعی	۱۱
۲-۴ پارامترهای مؤثر بر موفقیت عمل لقاح در شرایط رقابت اسپرم	۱۳
۲-۵ مهندسی ژنتیک در آبزی پروری	۱۵
۲-۵-۱ نشانگرهای مولکولی DNA	۱۷
۲-۵-۱-۱ نشانگرهای ریزماهواره	۱۷

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۲-۵-۱-۲ کاربردها و مزایای نشانگرهای ریزماهواره	۱۸
۲-۵-۲ ظهور تکنیک ردیابی والدین و فرزندان (Parentage assignment)	۲۰
۲-۵-۳ روش های آنالیز ردیابی والدین و فرزندان	۲۴
۲-۵-۳-۱ ردیابی والدین و فرزندان بر اساس روش حذف	۲۴
۲-۵-۳-۲ ردیابی والدین و فرزندان بر اساس روش احتمال حداکثر	۲۶
۲-۵-۴ برنامه های کامپیوتری برای آنالیز ردیابی والدین و عملکرد آنها	۲۷
فصل ۳: مواد و روش‌ها	
۳-۱ مواد	۲۹
۳-۱-۱ مواد مصرفی	۲۹
۳-۱-۱-۱ انجام عمل لقاح و انکوباسیون تخم‌ها، سنجش پارامترهای اسپرم	۲۹
۳-۱-۱-۲ نمونه برداری از آلوین‌ها و استخراج DNA	۳۰
۳-۱-۱-۳ آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)	۳۰
۳-۱-۱-۴ الکتروفورز محصول PCR	۳۱
۳-۱-۱-۵ تعیین ژنوتیپ	۳۱
۳-۱-۲ مواد غیر مصرفی (وسایل و تجهیزات)	۳۱
۳-۱-۲-۱ انجام عمل لقاح و انکوباسیون تخم‌ها، سنجش پارامترهای اسپرم	۳۱

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۳-۱-۲-۲ نمونه برداری از آلوین‌ها و استخراج DNA، تعیین کمیت DNA	۳۱
۳-۱-۲-۳ آزمایش PCR، الکتروفورز محصول PCR و تعیین ژنوتیپ	۳۲
۳-۲ روش‌ها	۳۲
۳-۲-۱ سنجش پارامترهای کیفی اسپرم	۳۳
۳-۲-۱-۱ سنجش غلظت اسپرم	۳۳
۳-۲-۱-۲ سنجش میزان اسپرماتوکریت	۳۴
۳-۲-۱-۳ سنجش مدت زمان تحرک اسپرم	۳۴
۳-۲-۲ الگوی لقاح مولدان در تیمارهای اول و دوم	۳۵
۳-۲-۳ الگوی لقاح مولدان در تیمار سوم	۳۵
۳-۲-۳-۱ الگوی لقاح مولدان در تیمار شاهد اول	۳۶
۳-۲-۴ الگوی لقاح مولدان در تیمار چهارم	۳۷
۳-۲-۴-۱ الگوی لقاح مولدان در تیمار شاهد دوم	۳۷
۳-۲-۵ الگوی لقاح مولدان در تیمار پنجم	۳۸
۳-۲-۵-۱ الگوی لقاح مولدان در تیمار شاهد سوم	۳۹
۳-۲-۶ دوره انکوباسیون تخم‌ها تا مرحله جذب کیسه زرده	۴۰
۳-۲-۷ نمونه برداری از آلوین‌ها	۴۰
۳-۲-۸ استخراج DNA	۴۱
۳-۲-۹ تعیین کمیت DNA استخراج شده با دستگاه NanoDrop	۴۲

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۳-۲-۱۰ واکنش زنجیره ای پلیمراز	۴۳
۳-۲-۱۱ الکتروفورز محصولات حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز	۴۵
۳-۲-۱۱-۱ نحوه ساختن ژل آگارز یک درصد	۴۵
۳-۲-۱۱-۲ نحوه تزریق و الکتروفورز محصولات PCR	۴۶
۳-۲-۱۲ تعیین ژنوتیپ مولدان و آلوین‌ها	۴۶
۳-۲-۱۲-۱ روش استفاده از دستگاه توالی یاب جهت تعیین ژنوتیپ محصولات واکنش	۴۷
۳-۲-۱۳ محاسبه پارامترهای تنوع ژنتیکی	۴۹
۳-۲-۱۴ آنالیز ردیابی والدین و فرزندان	۵۰
۳-۲-۱۵ محاسبه اندازه جمعیت مؤثر	۵۲
۳-۲-۱۶ پردازش آماری داده ها	۵۲
فصل ۴: نتایج	
۴-۱ سنجش پارامترهای کیفی اسپرم مولدان مورد استفاده	۵۴
۴-۱-۱ سنجش غلظت اسپرم	۵۴
۴-۱-۲ سنجش میزان اسپرماتوکریت	۵۵
۴-۱-۳ سنجش مدت زمان تحرک اسپرم	۵۵
۴-۲ درصد لقاح و میزان تفریخ	۵۵
۴-۳ بهینه سازی شرایط تکثیر DNA	۵۶
۴-۴ تعیین ژنوتیپ نمونه ها در نرم افزار GeneMapper	۵۷

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۴-۵ خروجی نرم افزار ردیابی والدین و فرزندان	۵۸
۴-۶ محاسبه پارامترهای تنوع ژنتیکی و قدرت ترکیبی ردیابی در مولدان	۵۹
۴-۷ میزان مشارکت مولدان ماهی آزاد در تولید آلوین‌ها در تیمارهای مورد تحقیق	۶۰
۴-۸ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان در تولید آلوین‌ها در تیمارها	۶۶
۴-۹ مقایسه تنوع ژنتیکی مولدان و آلوین‌های تولید شده	۶۷
۴-۱۰ همبستگی پارامترهای اسپرم با میزان مشارکت مولدان نر	۷۰
۴-۱۱ همبستگی میزان اسپرماتوکریت با غلظت اسپرم	۷۲
فصل ۵: بحث و پیشنهادها	
۵-۱ پارامترهای کیفی اسپرم	۷۳
۵-۲ ردیابی والدین و فرزندان	۷۵
۵-۳ میزان مشارکت مولدان در تولید آلوین‌ها و پدیده رقابت اسپرم	۷۸
۵-۳-۱ تیمارهای اول و دوم به شیوه متداول کارگاه	۷۸
۵-۳-۲ تیمارهای سوم و چهارم با حجم مساوی مایع منی و تعداد مساوی تخمک	۸۰
۵-۳-۳ تیمار پنجم با تعداد مساوی اسپرم و تخمک	۸۴
۵-۳-۴ تیمارهای شاهد	۸۵
۵-۳-۵ مشارکت مولدان ماده در تولید آلوین‌ها	۸۷
۵-۴ همبستگی میزان اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم با میزان مشارکت مولدان نر	۸۸
۵-۵ همبستگی مدت زمان تحرک اسپرم با میزان مشارکت مولدان نر	۸۹

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۵-۶ اتخاذ شیوه لقاح مناسب در تکثیر مصنوعی ماهی آزاد	۹۰
۵-۷ جمع‌بندی	۹۴
۵-۸ پیشنهادها	۹۶
۵-۸-۱ پیشنهادهای مستخرج از رساله	۹۶
۵-۸-۲ پیشنهادهای پژوهشی	۹۷
فهرست مراجع	۹۸

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱ شمای کلی الگوی لقاح مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تیمارهای مختلف تحقیق ۳۹

جدول شماره ۳-۲ لوکوس‌های ریزماهواره استفاده شده برای تعیین ژنوتیپ مولدان ماهی آزاد ۴۴

جدول شماره ۳-۳ برنامه اجرایی دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر DNA به روش ریزماهواره ۴۵

جدول ۴-۱ تخمین پارامترهای تنوع ژنتیکی در مولدان ماهی آزاد دریای خزر ۶۰

جدول ۴-۲ میزان موفقیت ردیابی، دامنه مشارکت مولدان نر و ماده، اندازه جمعیت مؤثر N_e و
تعداد واقعی مولدان مورد استفاده N_b در تیمارهای اصلی و شاهد تحقیق ۶۱

جدول ۴-۳ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در تیمار اول ۶۶

جدول ۴-۴ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در تیمار دوم ۶۶

جدول ۴-۵ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در تیمار سوم ۶۶

جدول ۴-۶ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در تیمار چهارم ۶۷

جدول ۴-۷ میزان تفاوت در مشارکت ترکیبی مولدان نر و ماده در تولید آلوین‌ها در تیمار پنجم ۶۷

جدول ۴-۸ مقایسه پارامترهای تنوع ژنتیکی در مولدان و آلوین های تولید شده ماهی آزاد دریای
خزر با سه لوکوس منتخب ریزماهواره در تیمارهای اول تا پنجم و تیمارهای شاهد ۶۹

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۴-۱ (الف) غلظت اسپرم (تعداد در میلی لیتر مایع منی)، (ب) میزان اسپرماتوکریت (درصد)، (ج) مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه) در مولدان ماهی آزاد دریای خزر ۵۶

نمودار ۴-۲ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین‌ها در تیمار اول ۶۱

نمودار ۴-۳ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین‌ها در تیمار دوم ۶۲

نمودار ۴-۴ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین ها در تیمار سوم ۶۳

نمودار ۴-۵ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین ها در تیمار چهارم ۶۳

نمودار ۴-۶ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین ها در تیمار پنجم ۶۴

نمودار ۴-۷ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین‌ها در تیمار شاهد اول ۶۵

نمودار ۴-۸ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین ها در تیمار شاهد دوم ۶۵

نمودار ۴-۹ مشارکت مولدان ماهی آزاد دریای خزر در تولید آلوین ها در تیمار شاهد سوم ۶۵

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱ (الف) تخم‌کشی و (ب) اسپرم‌کشی از مولدان ماهی آزاد دریای خزر ۳۲

شکل ۳-۲ نحوه شمارش اسپرم در لام هماسیتومتر ۳۴

شکل ۳-۳ دستگاه میکروسانتریفیوژ برای برای سنجش میزان اسپرماتوکریت ۳۴

شکل ۳-۴ (الف) استفاده از سبز مالاشیت برای جلوگیری از قارچ زدگی (ب) آلوین‌های تفریخ شده ۴۰

شکل ۳-۵ (الف) آون چرخان جهت هضم بافت باله در دمای ۵۶ درجه سانتیگراد و (ب) دستگاه ترموسایکلر مدل MJ research PTC-100 ۴۲

شکل ۳-۶ دستگاه NanoDrop جهت تعیین کمیت DNA استخراج شده ۴۳

شکل ۳-۷ الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از ژل آگارز یک درصد ۴۵

شکل ۳-۸ (الف) دستگاه توالی یاب خودکار ABI PRISM® 3730 (Applied Biosystems) و (ب) استفاده از نرم افزار GeneMapper برای امتیازدهی به آلل‌ها ۴۷

شکل ۳-۹ (الف) نمای بیرونی و (ب) نمای داخلی دستگاه Spin ۴۸

شکل ۴-۱ (الف) نمونه‌ای از تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR برای لوکوس Str ۷۳ قبل و (ب) بعد از بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۵۶

شکل ۴-۲ (الف) نمونه ای از ژنوتیپ والد نر در لوکوس Str ۵۸، (ب) ژنوتیپ والد ماده در لوکوس Str ۵۸، (ج) ژنوتیپ آلوین تولید شده از والدین نر و ماده در لوکوس Str ۵۸ ۵۷

شکل ۴-۳ (الف) نمونه ای از ژنوتیپ والد نر در لوکوس Str ۷۳، (ب) ژنوتیپ والد ماده در لوکوس Str ۷۳، (ج) ژنوتیپ آلوین تولید شده از والدین نر و ماده در لوکوس Str ۷۳ ۵۷

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۴ (الف) نمونه ای از ژنوتیپ والد نر در لوکوس Str ۵۹۱، (ب) ژنوتیپ والد ماده در لوکوس Str ۵۹۱، (ج) ژنوتیپ آلوین تولید شده از والدین نر و ماده در لوکوس Str ۵۹۱ ۵۸

شکل ۴-۵ (الف) خلاصه ای از داده‌های خروجی اولیه نرم افزار CERVUS و (ب) نرم افزار FAP در خصوص والدین پیشنهادی در یکی از تیمارهای تحقیق ۵۹

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فصل ۱

مقدمه و اهداف تحقیق

۱-۱ مقدمه

فرایند اهلی سازی حیوانات یا گیاهان که به سازگاری های القاء شده در آنها توسط انسان در موقعیت های اسارت یا نیمه اسارت اطلاق می شود معمولاً با تغییرات ژنتیکی همراه است (Snyder و همکـاران، ۱۹۹۶). به طور عمومی از دیدگاه ژنتیکی، فرایند اهلی سازی اغلب کاهش قابل توجه تنوع ژنتیکی در یک گونـه را به دنبال دارد (Horreo و همکاران، ۲۰۰۸). تنوع ژنتیکی یک شاخص مهم تنوع زیسـت شـناختی بـوده و توانایی سازگاری و مقاومت را در برابر شرایط زیان آور و تغییر یافته زیست محیطـی بـرای جوامـع فـراهم می‌نماید (Moran و همکاران، ۲۰۰۵).

مشکلی که عموماً در ارتباط با تکثیر و پرورش گونه های اهلی سازی شـده هماننـد آزادماهیـان و سایر گونه هایی که برای بازسازی ذخایر طبیعی استفاده می شوند وجود دارد، کاهش میزان تنوع ژنتیکـی است (Horreo و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش میزان تنوع ژنتیکی منجر به اثرات بالقوه مضر روی ویژگی‌های عملکردی مختلف از جمله بازماندگی و رشد در ماهیان می گردد (Sekino و همکـاران، ۲۰۰۳) و اسـتفاده

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

از این ماهیان برای بازسازی ذخایر، کاهش تنوع ژنتیکی در جوامع طبیعی، افزایش میزان آمیزش خویشاوندی و در نهایت انقراض نسل آنها را به دنبال خواهد داشت (Evans و همکاران،۲۰۰۴؛ Machado-Schiaffino و همکاران، ۲۰۰۷).

صرف نظر از اینکه تولید تخم ماهی برای اهداف تجاری یا جهت بازسازی ذخایر طبیعی باشد، اندازه جوامع مولد آبزیان اهلی سازی شده معمولاً در مقایسه با جوامع طبیعی کوچک است. این جوامع کوچک اغلب فقط مقدار کمی از کل تنوع ژنتیکی اجداد وحشی خود را دارا بوده و بنابراین ایجاد جوامع مولدان پایه در مراکز تکثیر مصنوعی تأثیر مهمی بر حفظ میزان تنوع ژنتیکیِ لازم برای برنامه های آینده حفاظت و بازسازی ذخایر خواهد داشت (Frost و همکاران، ۲۰۰۶).

میزان انتقال تنوع ژنتیکی در یک جمعیت از یک نسل به نسل بعدی بر اساس اندازه جمعیت مؤثر[1] (Ne) تعریف می شود (Koljonen و همکاران، ۲۰۰۲). اندازه جمعیت مؤثر، تعداد مولدانی است که در یک برنامه تکثیر از میان تمامی مولدان مورد استفاده[2] (N_b)، در تشکیل لاروها مشارکت می کنند. با محاسبه این عامل، مدیران مراکز تکثیر مصنوعی مولدان از میزان انتقال تنوع ژنتیکی مولدان به نسل F_1 آگاهی می یابند (Jackson و همکاران، ۲۰۰۳). در مراکز تکثیر اندازه جمعیت مؤثر به‌دلیل پارامترهای مرتبط با محیط مصنوعی آن (که بر بازده تکثیر مؤثر است) اغلب پایین تر از تعداد واقعی مولدان است (Brown و همکاران، ۲۰۰۵). به عبارت دیگر تمامی مولدان مورد استفاده ممکن است در انتقال صفات خود به نسل بعد به میزان یکسان مشارکت ژنتیکی نداشته باشند. این پارامترها که شامل تعداد کم جمعیت پایه (Henrik و همکاران, ۲۰۰۷) و نسبت جنسی و مشارکت نامتعادل والدین در تشکیل فرزندان (Porta و همکاران، ۲۰۰۶) به‌خصوص میزان مشارکت متغیر جنس نر (Bekkevold و همکاران، ۲۰۰۲؛ Frost و همکاران، ۲۰۰۶) می باشد، مشارکت مولدان را در تولید مثل و ترکیب ژنتیکی لاروهای حاصل،

[1] Effective population size
[2] Actual number of breeders

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نسبت به تعداد کل مولدان مورد استفاده کاهش می دهد. در این صورت همهٔ مولدان استفاده شده، در تولید لاروها به یک میزان مشارکت ژنتیکی نمی نمایند و در نتیجه میزان تنوع ژنتیکی در نسل F_1 کاهش خواهد یافت (Brown و همکاران، ۲۰۰۵؛ Machado- Schiaffino و همکاران، ۲۰۰۷).

بخشی از تفاوت های قابل مشاهده در میزان موفقیت لقاح مولدان گوناگون، ناشی از اختلافات زیاد در میزان مشارکت والدین به‌خصوص جنس نر می باشد (Bekkevold و همکاران، ۲۰۰۲؛ Frost و همکاران، ۲۰۰۶). مشارکت نابرابر مولدان نر در باروری تخمک‌ها و تولید فرزندان، احتمالاً به واسطه پدیده رقابت اسپرم (Sperm competition) رخ می دهد که در نهایت می تواند منجر به کاهش تنوع ژنتیکی گردد (Campton، ۲۰۰۴؛ Wedekind و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین بررسی بیشتر در مورد نقش احتمالی رقابت اسپرم در تعیین اندازه جمعیت مؤثر می تواند موضوع مهمی برای تحقیقات باشد (Frost و همکاران، ۲۰۰۶). بسیاری از آزاد ماهیان در مراکز تفریخگاهی به منظور اجرای برنامه های بازسازی ذخایر و حفاظت از تنوع ژنتیکی یا در جهت برداشت تجاری، مورد تکثیر مصنوعی قرار می گیرند؛ لذا ماهیان بالغ در طی فصل تکثیر از رودخانه ها صید شده و تخم کشی و اسپرم کشی می گردند. گامت‌های به‌دست آمده اغلب به شیوهٔ لقاح مخلوط استفاده می شوند، بدین صورت که تخمک چندین مولد ماده با مایع منی چندین مولد نر در یک ظرف مخلوط می گردد (Campton، ۲۰۰۴). این شیوه اگرچه ممکن است احتمال موفقیت عمل لقاح را افزایش داده و در عین حال تعداد مورد نیاز نیروی کار را برای مدیران کاهش دهد، اما شیوهٔ لقاح مخلوط گامت‌ها که هنوز فرایندی معمول در بسیاری از تفریخگاه‌ها می باشد منجر به رقابت اسپرم در ماهیان با لقاح خارجی می شود (Wedekind و همکاران، ۲۰۰۷). رقابت اسپرم بدین معنی است که در هنگام بارورسازی تخمک‌ها اسپرم دو یا تعداد بیشتری مولد نر برای لقاح تخمک‌ها با هم به رقابت بپردازند. از لحاظ تئوری، لقاح دادن مخلوط تخمک‌های استحصال شده از مولدان ماده با مایع منی دو یا تعداد بیشتری مولد نر باید تنوع ژنتیکی را افزایش دهد اما به نظر می رسد در عمل چنین اتفاقی

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com