وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

عنوان:

بررسی امکان تولید
بستر بزرگ (Big Bester)

مجری:
شهروز برادران نویری

شماره ثبت
۵۱۷۳۷

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

عنوان طرح/پروژه : بررسی امکان تولید بستر بزرگ (Big Bester)
کد مصوب: ۸۹۰۸۵-۱۲-۸۶-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : شهروز برادران نویری
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : شهروز برادران نویری
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : محمد پورکاظمی ، علیرضا علیپور، محمد حسن زاده صابر، محمد علی یزدانی ساداتی، رضوان‌اله کاظمی، علی حلاجیان، حسین محمدی پرشکوه، محمدرضا نوروز فشخامی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : مریم صالحی
محل اجرا : استان گیلان
تاریخ شروع : ۸۹/۷/۱
مدت اجرا : ۴ سال و ۶ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۶
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح /پروژه: بررسی امکان تولید بستر بزرگ (Big Bester)

کد مصوب : ۸۹۰۸۵-۱۲-۸۶-۲

شماره ثبت (فروست) : ۵۱۷۳۷ تاریخ : ۹۶/۳/۱۰

با مسئولیت اجرایی جناب آقای شهروز برادران نویری دارای مدرک تحصیلی دکتری در رشته تکثیر و پرورش می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۹۵/۶/۲۴ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱- آبزی پروری جهانی ۲
۱-۲- اهمیت ماهیان خاویاری و وضعیت آن در جهان ۳
۱-۳- وضعیت ماهیان خاویاری در ایران ۴
۱-۴-آبزی پروری ماهیان خاویاری در جهان ۵
۱-۵- آبزی پروری ماهیان خاویاری در ایران ۷
۱-۶- انواع دورگه های ماهیان خاویاری ۸
۱-۷- اهداف پروژه ۹
۲- مواد و روشها ۱۰
۲-۱- زمان و مکان اجرای تحقیق ۱۰
۲-۲- تعیین جنسیت دورگه های بستر موجود ۱۰
۲-۳- مولدین مورد استفاده ۱۲
۲-۴- نگهداری ماهیان بستر مولد تا سن رسیدگی جنسی ۱۲
۲-۵- استحصال تخمک و اسپرم از مولدین ۱۳
۲-۶- انجماد اسپرم مولدین نر ۱۳
۲-۷- عملیات لقاح ۱۴
۲-۸- پرورش بچه ماهیان ۱۵
۲-۹- زیست سنجی و ثبت شرایط فیزیکی- شیمیائی آب ۱۷
۲-۱۰- تجزیه و تحلیل های آماری ۱۷
۳- نتایج ۱۹
۳-۱- نتایج ثبت فاکتورهای غیر زیستی آب ۱۹
۳-۲- نتایج لاپراسکوپی مولدین بستر ۲۲
۳-۳- نتایج رشد مولدین بستر موجود ۲۳
۳-۴- نتایج لقاح با استفاده از تخمک فیلماهیان مورد استفاده ۲۳
۴- بحث ۲۹
پیشنهادها ۳۳
منابع ۳۴
چکیده انگلیسی ۳۷

چکیده

کاهش صید مولدین، تکثیر مصنوعی و تعداد بچه ماهیان خاویاری رهاسازی شده به دریا طی سالهای اخیر سبب گردیده تا آبزی پروری انواع گونه ها و دورگه های با ارزش تاسماهیان به عنوان رویکرد اصلی جایگزین صید، بطور جدی مورد بررسی قرار گیرد.

در این پروژه برای اولین بار در کشور با استفاده از مولد دورگه بستر نر و فیلماهی ماده ، دورگه بستر بزرگ تولید شد. بدین منظور از اسپرم دو مولد بستر نر با میانگین وزنی ۱۶۸۲ ± ۷۳۵۰ کیلوگرم برای لقاح تخمک فیلماهی ماده ۵۴ کیلوگرمی استفاده شد. بچه ماهیان بستر بزرگ تولید شده و فیلماهیان شاهد ، پس از جذب کیسه زرده ابتدا با غذای زنده آرتمیا و سپس دافنی تغذیه شده و به مرور با غذای کنسانتره (شامل ۵۰- ۴۸٪ پروتئین، ۱۷-۱۵٪ چربی) سازش یافته و مورد پرورش قرار گرفتند.

نتایج بدست آمده نشان می دهد که نگهداری و تغذیه ماهیان بستر تولید شده تا سن رسیدگی جنسی (۹-۷ سال) با جیره غذائی بکار رفته به خوبی امکان پذیر بوده و امکان استحصال تخمک و اسپرم سالم از مولدین تولید شده (F1) به وجود آمده است. همچنین تعیین جنسیت و مرحله رسیدگی جنسی مولدین بستر با استفاده از روش لاپراسکوپ با دقت بالا به انجام رسید.

مقایسه آماری نشان می دهد که وزن بچه ماهیان بستر بزرگ در مقایسه با وزن بچه فیلماهیان طی ماههای اول و دوم با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$). در سن سه ماهگی بچه فیلماهیان رشد وزنی بیشتری نسبت به بچه ماهیان بستر بزرگ نشان دادند ($P > 0.05$). در فاصله زمانی ۳ ماهگی تا ۵ ماهگی ، روند رشد بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ نسبت به بچه فیلماهیان سریعتر بوده و وزن بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ از مورد مشابه در بچه فیلماهیان بیشتر است ($P > 0.05$). همچنین مقایسه های رشد طولی این دو گروه حاکی از آن است که در هیچ دوره زمانی بعد از تولید این ماهیان ، تفاوت معنی داری بین طول بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ و بچه فیلماهیان هم سن وجود ندارد ($P < 0.05$).

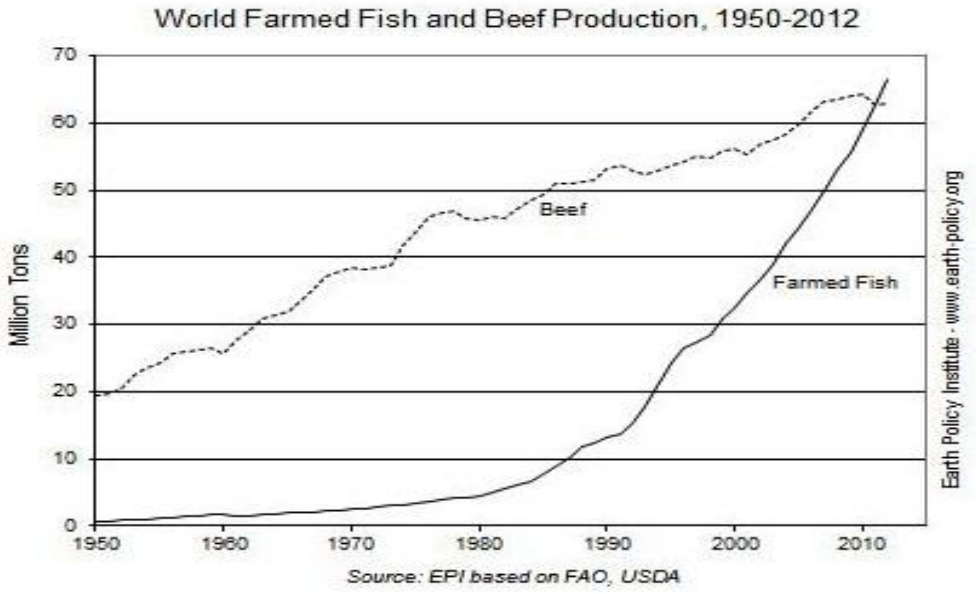
اجرای این پروژه نشان داد که با تولید انبوه بستر ، رسیدگی جنسی آنها از سن ۷ سالگی آغاز شده و می توان از مواد تناسلی آنها جهت تولید دورگه بستر بزرگ استفاده کرد.

کلمات کلیدی : فیلماهی، بستر، دورگه گیری، بستر بزرگ، آبزی پروری، ایران

۱- مقدمه

۱-۱- آبزی پروری جهانی

پرورش ماهی، سریع الرشد ترین بخش در صنایع تولید غذا در سال های اخیر بوده است (FAO, 2007). به گونه ای که تعداد گونه های ماهیان پرورشی جهان از تعداد ۲۸ گونه در سال ۱۹۸۰ ، به ۶۷ گونه در سال ۲۰۰۵ رسیده است و تناژ پرورش طی این سال ها به دو برابر افزایش یافته است (FAO, 2005). مقایسه درصد افزایش تولید موارد غذایی مختلف در چهار دهه اخیر (۲۰۱۰ – ۱۹۷۰) حاکی است که افزایش تولید در این سال ها برای گوشت گاو ۱/۳ ٪ ، برای تخم مرغ ۳/۲ ٪ ، برای شیر ۱/۵ ٪ ، برای گوشت ماکیان ۵ ٪ ، برای گوشت گوسفند ۱/۸ ٪ و برای گوشت ماهی ۸/۴ ٪ بوده است. همچنین مقایسه آمار تولید ماهیان پرورشی در سال های اخیر نشان می دهد که میزان پرورش ماهیان از مقدار ۴۷/۳ میلیون تن در سال ۲۰۰۶ به ۶۶/۳ میلیون تن در سال ۲۰۱۲ رسیده است (www.worldoceanreview.com). این موضوع به خصوص از آن نظر حایز اهمیت ویژه است که تولید جهانی گوشت قرمز در سال ۲۰۱۲ حدود ۶۳ میلیون تن بوده است. به عبارت دیگر در سال ۲۰۱۲ برای نخستین بار در تاریخ ، میزان تولید جهانی ماهیان پرورشی از مقدار تولید جهانی گوشت قرمز سبقت گرفت(نمودار شماره ۱). آمار نشان می دهد که سال ۲۰۱۳ برای نخستین بار در تاریخ، تولید و مصرف ماهیان پرورشی از میزان صید جهانی فراتر رفت (www.earthpolicy.org). یکی از مهمترین عوامل تاثیر گذار بر این روند افزایشی تولید، افزایش تعداد گونه ها ، بهبود روشهای تولید، درک دقیق تر پیچیدگی های بلوغ، آمادگی جنسی و استراتژی تکثیر انواع مختلف ماهیان ، بخصوص گونه هایی که در اسارت تکثیر نمی کردند ، بود. طبق برآوردهای سازمان خواربار جهانی، صید منابع وحشی از دریاها در حال حاضر به حد بیشینه خود رسیده و دیگر نمی تواند جوابگوی نیاز رو به افزایش غذاهای دریائی باشد. بطوری که اگر مصرف سرانه فعلی آبزیان جهان ثابت بماند، تا سال ۲۰۵۰ میلادی باید حدود ۸۰ میلیون تن تولید آبزیان از طریق آبزی پروری به تولید جهانی اضافه گردد (FAO, 2004).



نمودار شماره ۱ : مقایسه میزان جهانی تولید ماهیان پرورشی و گوشت گاو در فاصله زمانی ۲۰۱۲ – ۱۹۵۰

۲-۱- اهمیت ماهیان خاویاری و وضعیت آن در جهان

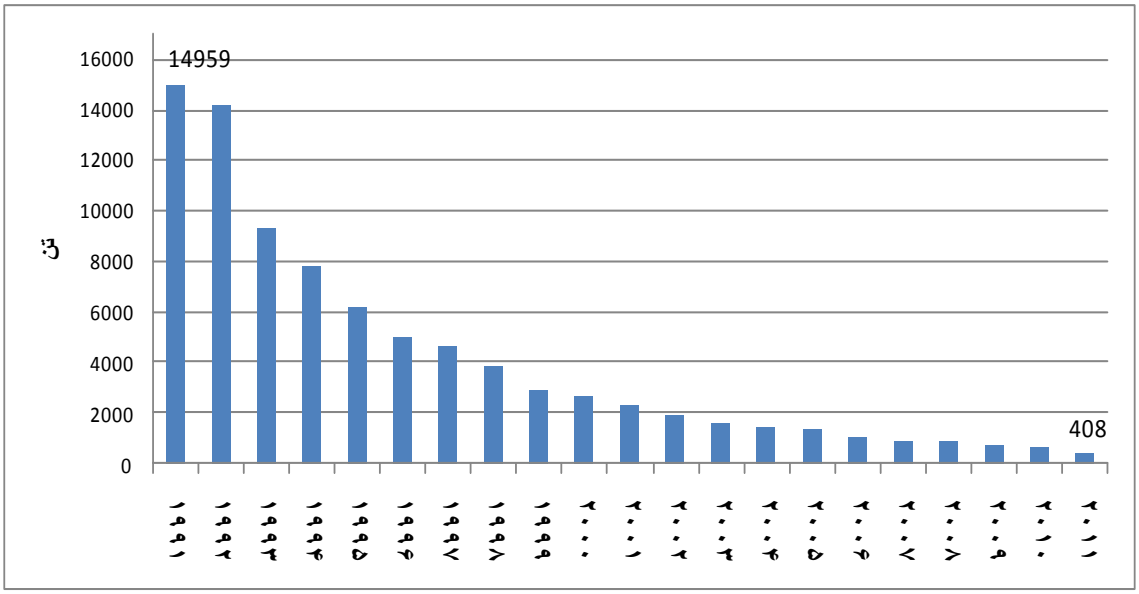
ماهیان خاویاری دریای خزر، با سابقه بقای ۲۰۰ میلیون ساله(Holcik, 1989) ، بعنوان فسیلهای زنده و گونه های با ارزشی هستند که هم از لحاظ تنوع زیستی و هم از نظر اقتصادی، جایگاه بسیار ارزشمندی در جهان و کشورمان دارند. این ماهیان از یک طرف در اشتغال و اقتصاد حاشیه نشینان دریای خزر تاثیر بسزایی دارند و از سوی دیگر طی سالها میزان قابل توجهی از درآمد شیلات را تامین می کردند.

تولید خاویار طبیعی طی یک قرن گذشته ، در همه کشورهای حاشیه دریای خزر دارای نوسانات بسیاری بوده است اما میزان آن طی ۲۵ سال گذشته بطور کلی دارای سیری نزولی بوده است (پورکاظمی، ۱۳۷۶ & Ivanov ; Vlasenko, 2001). این امر به دلیل اثر فعالیت های مختلف انسانی از جمله از بین بردن بستر رودخانه های محل زیست و تخمریزی طبیعی این ماهیان (پورکاظمی، ۱۳۷۶; Alavi et al., 2012; Billard & Lecointre, 2001)، سد سازی بر روی رودخانه ها (Lenhardt et al., 2004 ; Chebanov & Billard, 2001) ، نظارت کمرنگ بر صید بی رویه (رضوانی گیل کلائی، ۱۳۷۷) ، افزایش بار آلاینده های صنعتی، نفتی، کشاورزی و شهری به دریا (Williot et al., 2002) ، کاهش تکثیر مصنوعی و تعداد بچه ماهیان رهاسازی شده به دریا، کمبود مولدین مناسب ، همزمان با افزایش تقاضای مصرف در دهه اخیر شتاب بیشتری گرفته است (Chebanov & Billard, 2001).

بر اساس آمار ارائه شده میزان صید این ماهیان از ۱۶/۳ هزارتن در سال ۱۹۹۰ با ۹۷/۷ درصد کاهش، به مقدار ۳۸۰ تن در سال ۲۰۰۹ رسیده است. سهم ایران از کل صید در سال ۲۰۰۹ برابر ۴۱/۶ درصد بوده است (بهروز خوش قلب، ۱۳۹۳). بر اساس آخرین آمار ارائه شده توسط سازمان FAO که در سال ۲۰۱۴ ارائه شده است

میزان صید ماهیان خاویاری جهان نیز از ۱۴۹۵۹ تن در سال ۱۹۹۱ با ۹۷/۶ درصد کاهش به ۳۵۵ تن در سال ۲۰۰۹ کاهش یافته است. نمودار شماره ۲، روند کاهش صید طی سالهای ۱۹۹۱ الی ۲۰۱۱ را نشان می دهد.

به همین علت، کلیه گونه های ماهیان خاویاری که محل زیست طبیعی آنها در دریای خزر و حوضه آبریز اطراف آن می باشد، در فهرست ماهیان در معرض خطر سازمان IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) قرار گرفته اند (IUCN, 2015). همچنین اسامی این ماهیان از سال ۱۹۹۷ میلادی در فهرست های مختلف کنوانسیون بین المللی نظارت بر تجارت گونه های گیاهی و جانوری در معرض خطر (Convention on International Trading in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (CITES) قرار گرفته است (Ivanov & Vlasenko, 2001 ; Raymarkers, 2002;). به همین دلیل صید تجاری ماهیان خاویاری به مدت ۵ سال توسط کشورهای حاشیه دریای خزر تعطیل اعلام شده و صید فقط جهت بازسازی ذخائر صورت می گیرد.. براساس آخرین تصمیمات اتخاذ شده در این کنوانسیون ، هر پنج گونه ماهیان خاویاری دریای خزر شامل فیلماهی(*Huso huso*)، تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*)، تاسماهی روسی (*A.gueldenstaedti*) ، شیپ (*A.nudiventris*) و ازون برون (*A.stellatus*) در گروه جانوران شدیداً در معرض خطر (Critical Endangered) قرار گرفته اند (IUCN, 2015).

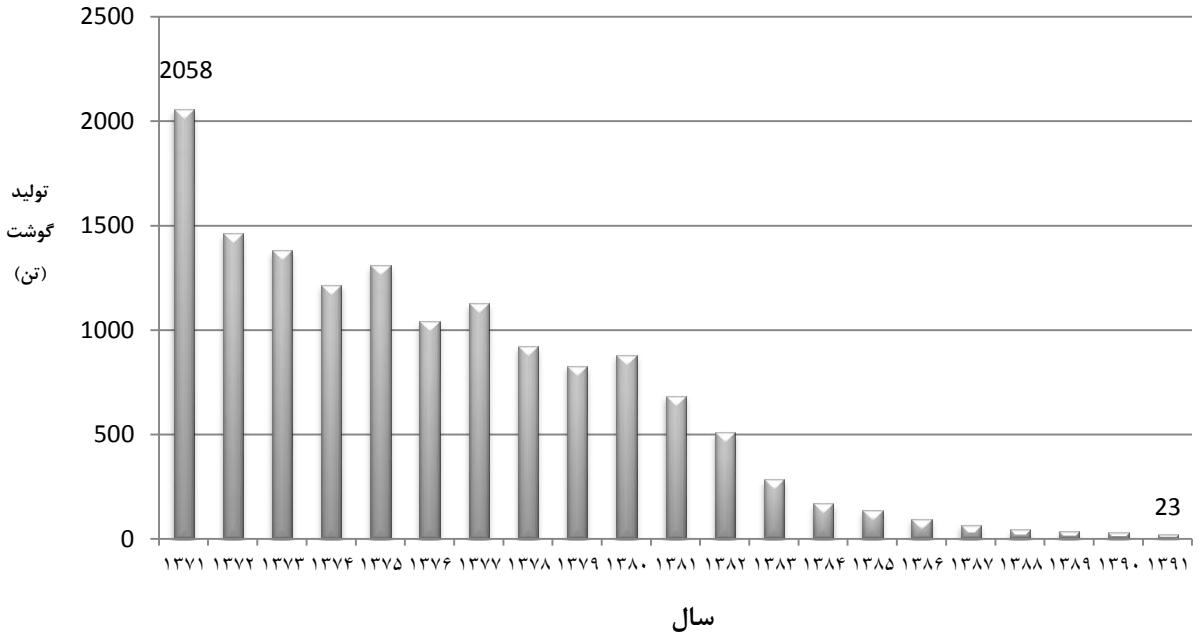


نمودار شماره ۲ : میزان صید ماهیان خاویاری در جهان طی سالهای ۲۰۱۱-۱۹۹۱ (FAO, 2014)

۳-۱- وضعیت ماهیان خاویاری در ایران

میزان صید ماهیان خاویاری در آبهای ایران نیز بر اساس آمار موجود از سال۱۳۷۱ با مقدار ۲۰۵۸ تن (گوشت) با کاهشی معادل ۹۹ ٪ به ۲۳ تن (گوشت) در سال ۱۳۹۱ رسید (نمودار شماره ۳).

همچنین بیشترین میزان تولید خاویار ایران مربوط به فصل بهره برداری ۶۵- ۱۳۶۴ بوده است که در طی آن حدود ۳۰۵ تن خاویار از کل گونه های ماهیان خاویاری استحصال شد. این میزان استحصال خاویار در سال ۱۳۹۱ با کاهشی معادل ۹۹/۲ ٪ ، به ۲/۲ تن کاهش یافت.



نمودار شماره ۳ : روند کاهش صید ماهیان خاویاری (گوشت) طی سالهای ۹۱-۱۳۷۱ در آبهای ایران

چنانچه میزان کاهش استحصال خاویار طی ده ساله اخیر یعنی فاصله زمانی سالهای ۱۳۸۱ الی ۱۳۹۱ در نظر گرفته شود این میزان کاهش اسف بار تر بوده و حاکی از کاهشی معادل به میزان ۹۶/۷ درصد می باشد. این موضوع نشان دهنده روند شدید کاهش ذخایر طی ۱۰ سال گذشته نسبت به دهه های قبل است.

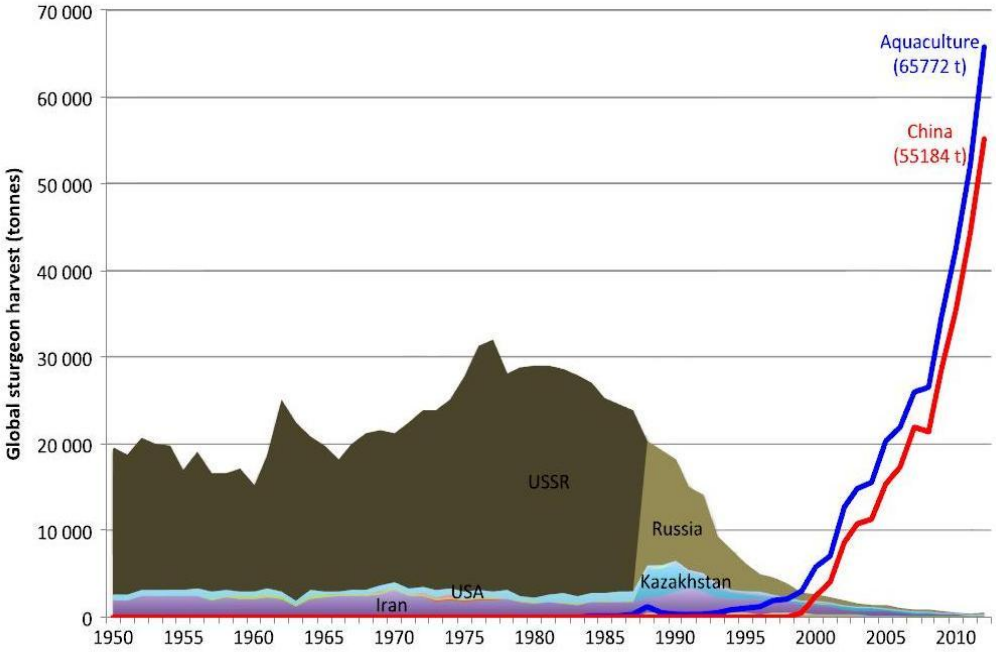
۴-۱- آبزی پروری ماهیان خاویاری در جهان

بسیاری از کشورهائی که از نعمت وجود ماهیان خاویاری در آبهای طبیعی خود برخوردار هستند، تکنیک های تکثیر وپرورش این ماهیان را به عنوان عملی ترین راهکار کاهش فشار صیادی بر ذخائر طبیعی خود انتخاب و ترویج کرده اند (Kotenev et al., 2001).

از طرف دیگر حتی کشورهائی که این ماهیان در فون طبیعی آبهای آنها دیده نمی شود ، به دلیل افزایش تقاضای بازار و قیمت بالای محصولات مختلف ماهیان خاویاری (Logan *et al.*, 1995) ، با وارد کردن

گونه های مختلف یا دورگه های سریع الرشد آنها، پا به عرصه رقابت با سایر تولید کنندگان گذاشته اند (Bronzi et al., 1999; Burtzev, 1999).

نیاز بازارهای جهانی و ورود انواع گونه های خاویاری به کشورهای مختلف جهان از یکطرف و کاهش خاویار طبیعی دریای خزر از طرف دیگر سبب شد تا آبزی پروری تاسماهیان در جهان ، رشد فزاینده ای در دو دهه اخیر داشته باشد. هم اکنون بیش از ۳۲ کشور درزمینه پرورش ماهیان خاویاری در جهان مشغول به فعالیت هستند و بالغ بر ۶۵ هزارتن گوشت و صد تن خاویار پرورشی در جهان تولید می شود (نمودار شماره ۴)(Bronzi and Resenthal., 2014). پرورش ماهیان خاویاری از سال ۱۹۸۴ تا سال ۲۰۱۱ از رشد فزاینده ای برخوردار بوده و از ۲۰۰ تن به بیش از ۶۵ هزار تن رسیده است.



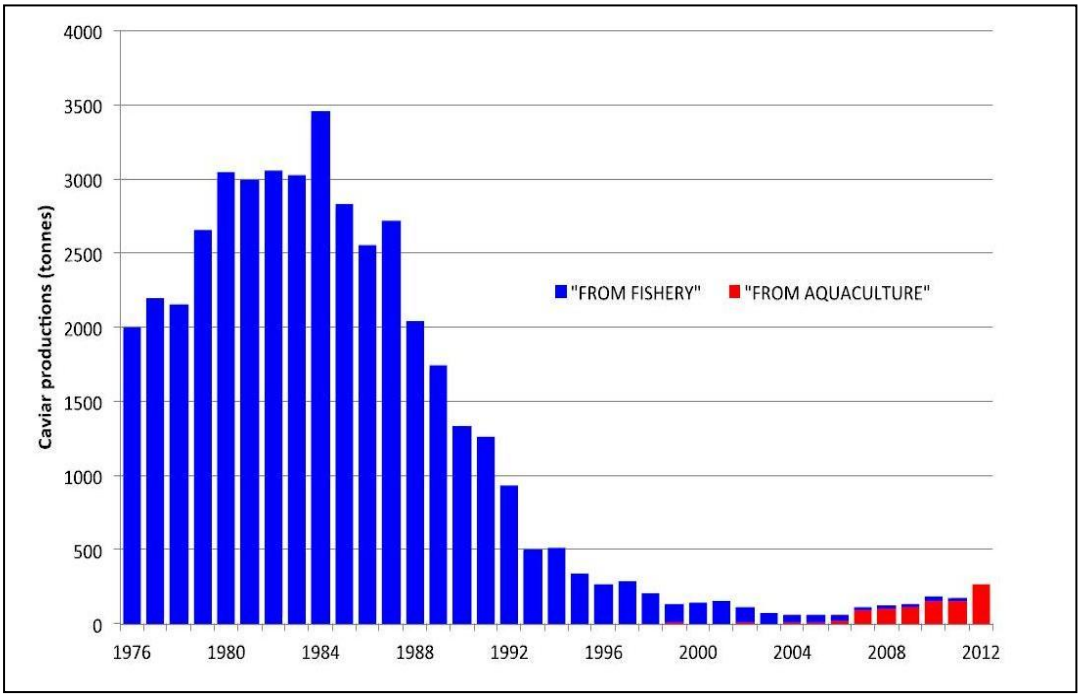
نمودار شماره ۴ : مقایسه سالانه میزان صید و پرورش تاسماهیان در جهان طی سالهای مختلف

(Bronzi and Resenthal., 2014)

از سوی دیگر، همزمان با کاهش شدید تولید خاویار طبیعی در جهان طی سالهای ۱۹۸۴ تا ۲۰۰۶، شاهد رشد تولید خاویار پرورشی توسط کشورهای مختلف می باشیم (نمودار شماره ۵).

از بین ۳۲ کشور فعال در زمینه تولید پرورشی گوشت و خاویار در جهان، هم اکنون کشورهای روسیه ، چین و ایتالیا به ترتیب با تعداد ۳۵۰، ۱۳۵ و ۵۰ مزرعه فعال در رتبه های نخست جهان قرار دارند. کشور عزیزمان، ایران نیز طبق آمار موجود در رده چهاردهم جهانی قرار دارد. این مورد بدون در نظر گرفتن مزارعی است که پس از اخذ موافقت های قانونی، هم اکنون در حال آماده سازی زیرساختهای لازم می باشند و هنوز در آمار چرخه تولید قرار نگرفته اند (Bronzi and Resenthal., 2014).

در حال حاضر ۲۲ گونه از انواع تاسماهیان (۱۲ گونه اصلی و ۱۰ گونه هیبرید) در بیش از ۳۲ کشور جهان پرورش داده می شود در بین کشورهای اروپایی، روسیه ،ایتالیا ، فرانسه و آلمان از مهمترین کشورهای تولیدکننده گوشت و خاویار پرروشی محسوب می شوند. در قاره آمریکا، ایالات متحده از تولیدکنندگان عمده خاویار پرورشی محسوب می گردد. هرچند تعدادی از کشورهای آمریکای مرکزی و جنوبی همچون اروگوئه، شیلی و آرژانتین نیز مزارع پرورش خاویاری احداث نمودند. در بین کشورهای آسیایی، جمهوری خلق چین با پرورش ۱۷ گونه از ماهیان خاویاری و دورگه ها بعنوان بزرگترین پرورش دهنده ماهیان خاویاری مطرح بوده و کشورهای ویتنام، ارمنستان ، جمهوری اسلامی ایران و قزاقستان با تفاوتهای اندک در رده های بعدی قرار گرفته اند (Bronzi and Resenthal., 2014).



نمودار شماره ۵ : مقایسه سالانه میزان تولید خاویار طبیعی و پرورشی تاسماهیان در جهان طی سالهای مختلف (آبی: خاویار طبیعی، قرمز: خاویار پرورشی) (Bronzi and Resenthal., 2014)

۵-۱-آبزی پروری ماهیان خاویاری در ایران

هرچند که سابقه تکثیر ماهیان خاویاری در ایران به چند دهه قبل باز می گردد (آذری تاکامی ،۱۳۸۵ ; برادران نویری، ۱۳۸۰)، اما از فعالیت های پرورش بازاری و مولد سازی تاسماهیان چند سالی بیشتر نمی گذرد (یوسفپور، ۱۳۷۰: پورعلی فشتمی و همکاران، ۱۳۸۳: محسنی و همکاران، ۱۳۸۴ : علیزاده، ۱۳۸۶). پرورش گونه های جدید وسریع الرشد این ماهیان، چنانچه با نظارت بر راهکارهای عملی و فنی و حمایت ها و مراقبت های مورد نیاز همراه باشد، می تواند باب جدیدی را در صنعت پررونق و سودآور آبزی پروری آنها

بگشاید. در ایران، با توجه به تجارب پرورش تاسماهیان از سال ۱۳۶۹ و بدلیل کاهش ذخایر طبیعی ماهیان خاویاری در دریای خزر، توسعه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری به منظور تولید گوشت و خاویار در دستور کار قرار گرفته است. اعتقاد بر این است که توسعه تکثیر مصنوعی و پرورش این ماهیان در شرایط کنترل شده همزمان با گسترش عملیات حفظ و حراست مولدین طبیعی در دریا، از جمله راهکارهای جبران کمبود صید می باشد.

طبق آمار ارائه شده از سوی سازمان شیلات ایران هم اکنون بیش از ۴۵ واحد مزرعه پرورش ماهیان خاویاری با مجوز رسمی در ۱۱ استان کشور مشغول به فعالیت هستند و جمع تولید گوشت این مزارع کمتر از ۴۰۰ تن در سال است. تعدادی از مزارع سردآبی کشور نیز بطور موردی مشغول پرورش ماهیان خاویاری می باشند (جدول ۱).

جدول ۱: آمار تعداد مزارع و ظرفیت تولید پرورش ماهیان خاویاری در کشور

استان	تعداد مزرعه	ظرفیت تولید (تن)
گیلان	۱۲	۵۳۵
مازندران	۸	۲۸۵
گلستان	۲	۵۵
فارس	۴	۱۸۵
خوزستان	۵	۳۵۰
کرمانشاه	۳	۱۵۰
قزوین	۴	۱۲۰
مرکزی	۳	۸۰
یزد	۲	۳۰
قم	۱	۳۰
آذربایجان شرقی	۱	۳۰
جمع کل	۴۵	۱۸۵۰

۶-۱-انواع دورگه های ماهیان خاویاری

دورگه گیری یکی از روشهای بسیار موثر در معرفی گونه های جدید برای افزایش تولید در آبزی پروری، افزایش درصد بازماندگی، مقاومت به بیماریها،عادت پذیری نسبت به محیطهای پرورشی و تغییر در ساختار تولید مثل می باشد. اما باید متذکر شد که دورگه گیری لزوماً منجر به تولید موجود جدید با خصوصیات مطلوب نمی گردد (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۵). امکان تولید ماهیان خاویاری دورگه طبیعی، به دلیل مشترک بودن بستر های رودخانه های محل تخمریزی تاسماهیان و همزمانی تکثیر طبیعی در برخی از رودخانه ها، وجود دارد

(Berg,1948). دورگه های قابل پرورش در سیستمهای مختلف آبزی پروری جهان را می توان به دو دسته کلی دورگه های زایا و دورگه های عقیم تقسیم بندی نمود. در هر دوی این دستجات دورگه هایی وجود دارند که به فراخور شرایط پرورش، محل جغرافیایی، دمای سالانه منطقه و بازارپسندی مصرف کنندگان مورد توجه آبزی پروران همان منطقه قرار گرفته اند. در بین تاسماهیان ، دورگه های طبیعی شامل (کالوگا × تاسماهی آمور)، (فیلماهی× شیپ)، (فیلماهی× تاسماهی روسی)، (فیلماهی× ازون برون)، (استرلیاد× تاسماهی روسی)، (تاسماهی روسی× ازون برون)، (استرلیاد × ازون برون)، (استرلیاد × تاسماهی سیبری) گزارش شده و تخمین زده شده است که حدود یک درصد از دورگه های طبیعی در رودخانه ولگا بارور باشند (Burtsev, 1995). از انواع دورگه های غیر طبیعی در بین انواع ماهیان خاویاری که توسط انسان تولید شده اند نیز می توان به دورگه های تاسماهی سیبری× تاسماهی اروپایی، تاسماهی سیبری× تاسماهی آدریاتیک، تاسماهی سیبری× تاسماهی چینی، تاسماهی سیبری× تاسماهی روسی ، تاسماهی آدریاتیک× تاسماهی سفید و فیلماهی× استرلیاد اشاره نمود که مورد اخیر از جمله دورگه های زایا می باشد (Burtsev, 1995, Congiu *et al*., 2001).

۷-۱- اهداف پروژه

در راستای اجرای این پروژه دستیابی به اهداف ذیل مورد نظر قرار گرفت :

۱- نگهداری و تغذیه ماهیان بستر تولید شده تا سن رسیدگی جنسی با جیره غذائی مناسب

۲- تعیین جنسیت ماهیان دورگه بستر تولید شده از پروژه تولید ماهی دورگه بستر

۳- استحصال خاویار و اسپرم از مولدین بستر موجود

۴- تولید ماهی دورگه بستر بزرگ به کمک مولدین موجود بستر و فیلماهی

۲- مواد و روشها

۲-۱- زمان و مکان اجرای تحقیق

عملیات اجرائی این تحقیق با نگهداری تغذیه ماهیان دورگه بستر تولید شده در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر(رشت) (از این به بعد به نام موسسه آورده خواهد شد) (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۶) در سال ۱۳۸۹ آغاز گردید و بررسی های مختلف و زیست سنجی ماهیان موجود و دورگه های تولید شده تا شهریور ماه سال ۱۳۹۴ ادامه یافت.

ماهیان دورگه بستری که قرار بود بعنوان مولد در سالهای تکثیر بعد مورد استفاده قرار گیرند در حوضچه های بتنی بخش تکثیر و پرورش موسسه (تصویر شماره ۱) نگهداری شدند.

عملیات تکثیر در فصول تکثیر سالهای ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ نیز با استفاده از تخم مولدین فیلماهی صید شده انجام گرفت اما به دلیل کیفیت نامناسب تخمهای استحصالی ، هیچیک از تخمهای لقاح یافته قابلیت تفریخ پیدا نکردند. با توجه به عدم دسترسی به مولدین ماده فیلماهی مناسب طی سه سال، عملیات موفقیت آمیز تکثیر و دورگه گیری فیلماهی ماده × استرلیاد نر، در فروردین سال ۱۳۹۴ در موسسه صورت گرفت و لاروهای تولید شده ، به منظور حفظ بقا و سهولت غذا دهی به سالن ونیروی مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر تاسماهیان شهید دکتر بهشتی (رشت) منتقل شدند.

۲-۲- تعیین جنسیت دورگه های بستر موجود

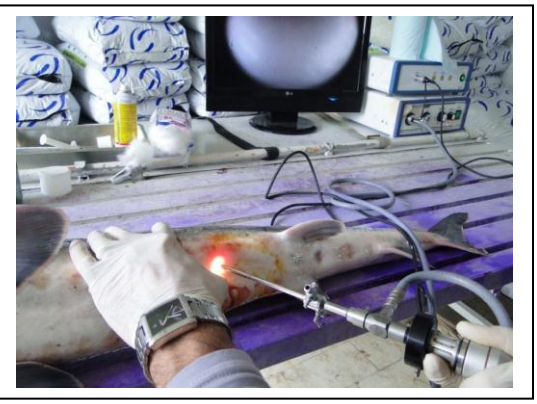
پس از هماهنگی های لازم با همکاران بخش فیزیولوژی موسسه و به منظور تشخیص نهایی ماهیان موجود ، از ماهیان بستر لاپراسکوپی بعمل آمد. برای این منظور، ماهیان ابتدا با استفاده از پودر گل میخک به میزان ۳۰۰ گرم در متر مکعب بیهوش گردیدند(تصویر شماره ۲). سپس منطقه مورد نظر جهت ایجاد برش با بتادین ضدعفونی شده (تصویر شماره ۳) و یک برش یک سانتی متری در محوطه شکمی ایجاد شد (تصویر شماره ۴). در این مرحله پروب دستگاه پس از ضد عفونی کردن با الکل از طریق برش ایجاد شده وارد محوطه شکمی گردید(تصویر شماره ۵) و تعیین جنسیت و تشخیص مرحله رسیدگی جنسی این مولدین بصورت زنده و با استفاده از تصاویر روی مانیتور دستگاه لاپراسکوپ صورت گرفت (تصویر شماره ۶).

تصویر شماره ۱ : نمایی از حوضچه های بتنی نگهداری مولدین بستر

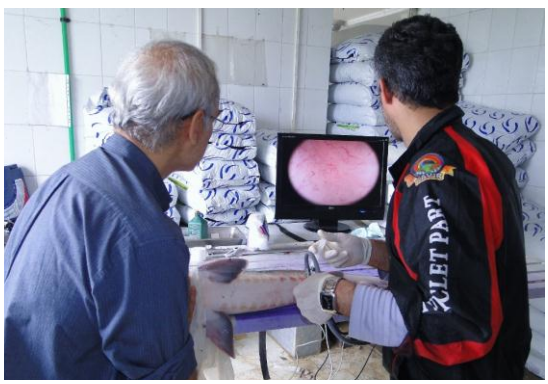
تصویر شماره ۲ : مولد بستر نر پس از بیهوشی با پور گل میخک

تصویر شماره ۳ : ضدعفونی کردن موضع برش جهت لاپراسکوپی

تصویر شماره ۴ : برش ایجاد شده جهت ورود پروب دستگاه لاپراسکوپ



تصویر شماره ۵ : وارد کردن پروب بداخل بدن مولدین



تصویر شماره ۶ : بررسی وضعیت داخل گنادها بر روی مانیتور

۳-۲- مولدین مورد استفاده

جهت تامین مولد فیلماهی ماده ، مکاتبات متعددی به نواحی شیلاتی سه استان گیلان، مازندران و گلستان صورت گرفت . طی این مدت مولد فیلماهی مناسب جهت اجرای عملیات لقاح در دسترس نبود. طی سالهای ۱۳۹۱، ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ از ۳ عدد مولد فیلماهی (یک عدد فیلماهی در هر سال) تخم گیری بعمل آمده و آزمایش لقاح با اسپرم بستر در مورد آنها به مرحله اجرا درآمد. مشخصات این مولدین بشرح جدول ۲ بود (جدول۲) .

جدول ۲ : مشخصات مولدین فیلماهی که لقاح آنها موفقیت آمیز نبود.

سال	وزن مولد (kg)	وزن تخمک استحصالی (kg)	تعداد تخمک در گرم
۱۳۹۱	۷۳	۱۱/۹	۴۷
۱۳۹۲	۴۲	۵/۵	۴۳
۱۳۹۳	۴۸	تخمکها شیر شدند	-

همچنین فیلماهی ماده ای که لقاح آن با اسپرم بستر نر با موفقیت انجام شد با مشخصات ذیل ثبت گردید (جدول ۳) :

جدول ۳ : مشخصات فیلماهی ماده که در آزمایش لقاح موفقیت آمیز مورد استفاده قرار گرفت.

سال	وزن مولد (kg)	وزن تخمک استحصالی (kg)	تعداد تخمک در گرم
۱۳۹۴	۵۴	۶/۵	۵۵

مشخصات مورفومتریک و اسپرماتولوژیک مولدین بستری که اسپرم استحصالی آنها جهت آزمایش لقاح مورد استفاده قرار گرفت بشرح جدول ۴ بود.

جدول ۴ : مشخصات مورفومتریک و اسپرماتولوژیک مولدین بستر مورد استفاده (n= ۲) .

مولد	طول ماهی (cm)	وزن ماهی (g)	تراکم اسپرم	حجم اسپرم (ml)
بستر نر ۱	۱۰۵	۶۱۶۰	$۳/۳۹۹ \pm ۰/۰۸ \times ۱۰^{۹}$ / ml	۱۴۵
بستر نر ۲	۱۱۸	۸۵۴۰	$۱/۵۶ \pm ۰/۰۶ \times ۱۰^{۹}$ / ml	۱۸۰

۴-۲ - نگهداری ماهیان بستر مولد تا سن رسیدگی جنسی

طی ماههای اجرای پروژه ، بسترها ی موجود که قبلاً در بررسی های مقدماتی تعداد ۲۰ عدد از نمونه های بزرگتر آنها مورد بیوپسی گناد و تعیین جنسیت قرار گرفته بودند، به دلیل افزایش وزن و کمبود جا (در وانهای فایبر گلاس ۴ تنی) به حوضچه های بتنی(۸ تنی) انتقال داده شدند. تعداد ۲۳ عدد از ماهیان باقیمانده دیگر که به علت وزن کمتر ، مورد بیوپسی و تعیین جنسیت قرار نگرفته بودند نیز ، پس از صید از استخر خاکی و در

جریان انتقال به حوضچه های بتنی مورد زیست سنجی قرار گرفتند. تعویض آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر به میزان ۲۰ لیتر در دقیقه بود. پلاکهای الصاقی به ماهیان نیز با انتقال به حوضچه های بتنی با پلاکهای بزرگتر و جدید تعویض گردیدند (تصویر شماره ۷).

۵- ۲- استحصال تخمک و اسپرم از مولدین

جهت تعیین میزان آمادگی مولدین ، فیلماهیان ماده مورد نظر ابتدا با بررسی منطقه تناسلی مورد ارزیابی اولیه قرار گرفتند. (Williot *et al*., 2005; Dettlaff *et al*., 1993). سپس در زمان آمادگی کامل مولد(فروردین ۱۳۹۴)، القای اوولاسیون با کمک تزریق هورمون LHRH-a به میزان ۳ µg / kg صورت گرفت. مولدین بستر نر نیز با دوز مشابه مورد تزریق همین هورمون قرار گرفتند (Nazari *et al*., 2010) (تصویر شماره ۸).

استحصال مواد تناسلی با سرکشی مدام از مولدین ، در ساعات بعد انجام گرفت. اسپرم گیری با کمک سرنگ متصل به لوله پلاستیکی بدون اختلاط با ادرار و مواد دفعی و استحصال تخمک به کمک باز کردن مجرا و فشار شکمی انجام شد(کهنه شهری و آذری تاکامی ، ۱۳۵۳; Williot et al., 2005) (تصاویر شماره ۹ و ۱۰).

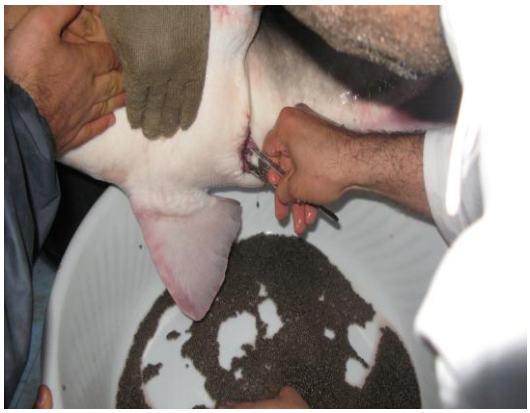
۶- ۲- انجماد اسپرم مولدین نر

به منظور نگهداری و حفظ اسپرم استحصالی از مولدین بستر نر جهت استفاده احتمال در سالهای بعد، در یک مورد اقدام به انجماد اسپرم شد. در این روش اسپرم استحصالی با استفاده از محلول انجماد تعریف شده برای اسپرم ماهی استرلیاد شامل :30 mM sucrose + 1 mM KCl + 25 mM Tris + 10% methanol ، به نسبت ۱:۱ رقیق شده و به روش سرمادهی دستی طی ۲۵ دقیقه در ۳ سانتی متری ازت مایع منجمد شد و در ازت مایع (۱۹۶- درجه سانتی گراد) نگهداری گردید (تصویر شماره ۱۱).

تصویر شماره ۷ : تعویض پلاکهای مولدین با پلاکهای جدید

تصویر شماره ۸ : مرحله تزریق هورمون به مولدین

تصویر شماره ۹ : استحصال اسپرم از مولد نر بستر با استفاده از لوله پلاستیکی استریل



تصویر شماره ۱۰ : استحصال تخمک از فیلماهی

تصویر شماره ۱۱ : انجماد اسپرم بستر به روش سرمادهی دستی

تصویر شماره ۱۲ : آبگیری از تخمکها قبل از لقاح

۷-۲- عملیات لقاح

قبل از انجام لقاح ، تخمکهای استحصالی به کمک پارچه تنظیف آبگیری شده (تصویر شماره ۱۲) و مورد توزین دقیق قرار گرفتند (تصویر شماره ۱۳). جهت انجام لقاح ، از اسپرم استحصالی به میزان ml/kg ۱۰ تخمک استفاده شد(تصویر شماره ۱۴). پس از انجام لقاح تخم فیلماهی با اسپرم استحصالی بستر، تخمهای لقاح یافته، به مدت یک ساعت (کهنه شهری و آذری تاکامی ، ۱۳۵۳) و به آرامی با مخلوط آب و گل هم زده شدند تا چسبندگی آنها رفع شود (Williot *et al.*, 2005). پس از طی این مدت تخمهای لقاح یافته به منظور طی مراحل جنینی به انکوباتوهای یوشچنکو در مجتمع منتقل گردیدند (تصویر شماره ۱۵).

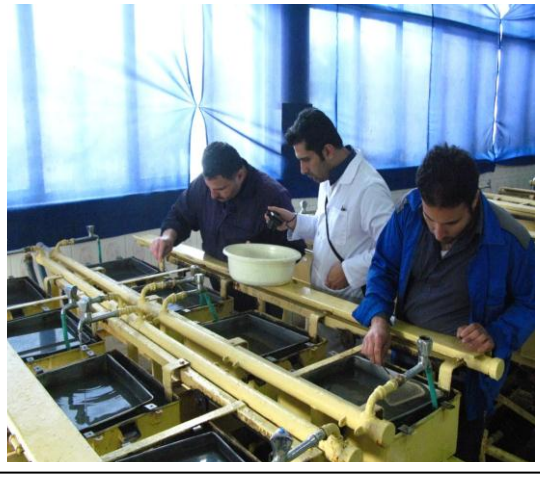
۸-۲- پرورش بچه ماهیان

ماهیان دورگه بستر موجود با استفاده از رژیم غذائی کنسانتره ساخته شده در انستیتو شامل ۵۰- ۴۸٪ پروتئین ، ۱۷- ۱۵٪ چربی و mj/kg ۱۹- ۱۸/۵ انرژی ، به میزان اشباع (۱۰- ۸ ٪ وزن بدن) مورد تغذیه قرار گرفتند. غذادهی به میزان ۳-۲٪ وزن بدن و ۲ بار در روز انجام گرفت (محسنی و همکاران، ۱۳۸۴) . لاروهای دورگه بستر بزرگ پس از تفریخ شمارش شدند (تصویر شماره ۱۶) . درصد لقاح پس از ۴ ساعت (مرحله لقاح) ، ۲۴ ساعت (گاسترولاسیون) و ۷۲ ساعت (مرحله نورولاسیون) با نمونه برداری از تخمها و تعیین نسبت تخمهای لقاح یافته به نمونه گرفته شده (آذری تاکامی، ۱۳۸۸)سنجش گردید(تصویر شماره ۱۷). لاروهای بدست آمده با رعایت سازگارسازی با دمای محیط جدید (تصویر شماره ۱۸) به حوضچه های گرد سالن ونیرو مجتمع منتقل گردیدند (تصویر شماره ۱۹). سپس بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ پس از جذب کیسه زرده در ابتدا با آرتمیا و سپس با دافنی مورد تغذیه قرار گرفتند(تصویر شماره ۲۰) . این بچه ماهیان پس از انتقال از ونیرو به وانهای فایبرگلاس موسسه ، بتدریج به غذای کنسانتره سازگار گردیدند(تصویر شماره ۲۱).

تصویر شماره ۱۳ : توزین تخمکهای استحصالی از مولد فیلماهی

تصویر شماره ۱۴ : مرحله لقاح تخمکهای فیلماهی با اسپرم بستر نر

تصویر شماره ۱۵ : انتقال تخمهای لقاح یافته به انکوباتورهای یوشچنکو



تصویر شماره ۱۶ : بررسی روزانه انکوباتور ها به منظور شمارش لاروهای حاصله

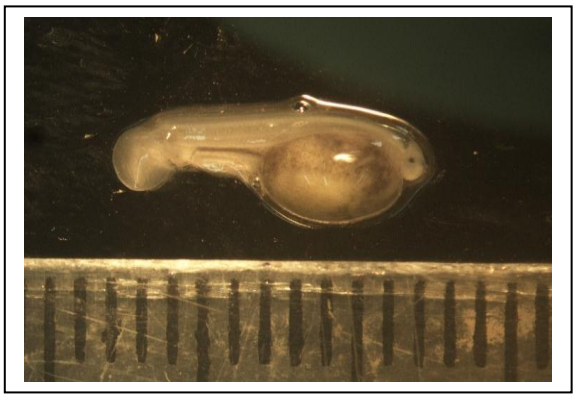
تصویر شماره ۱۷ : نمونه برداری جهت تعیین درصد لقاح

تصویر شماره ۱۸ : سازگار سازی لاروها با دمای جدید در مرحله انتقال به ونیرو

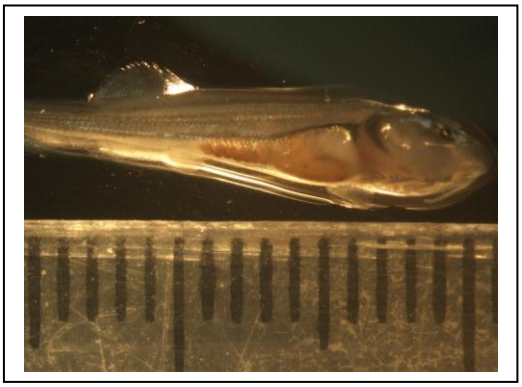
تصویر شماره ۱۹ : نگهداری و تغذیه لاروها در حوضچه های گرد ونیرو

تصویر شماره ۲۰ : تغذیه لاروها با آرتمیا

تصویر شماره ۲۱ : تغذیه بچه ماهیان با غذای کنسانتره



تصویر شماره ۲۲ : زیست سنجی لاروها در مرحله قبل از جذب کامل کیسه زرده



تصویر شماره ۲۳ : زیست سنجی لاروها بعد از جذب کیسه زرده

تصویر شماره ۲۴ : زیست سنجی بچه ماهیان بستر بزرگ

۹-۲- زیست سنجی و ثبت شرایط فیزیکی- شیمیائی آب

ماهیان دورگه بستر بزرگ تولید شده بطور مرتب مورد زیست سنجی قرار گرفتند. بچه ماهیان بستر بزرگ نیز دریک ماهه اول رشد ماهانه ۳ بار و پس از آن ماهانه یک بار مورد سنجش وزنی و طولی قرار گرفتند(تصاویر شماره ۲۲ و ۲۳) . تعداد بچه ماهیان مورد بررسی تا سن یک ماهگی ۳۰ عدد و از آن به بعد ۲۰ عدد در هر تکرار بود (Piper et al., 1982 ;Fajfer et al., 1999) (تصویر شماره ۲۴).

فاکتورهای دما ، اکسیژن محلول و pH به کمک مولتی متر(مدل Multi 340i , WTW ، آلمان) ۳ بار در ماه اندازه گیری و ثبت گردید (تصویر شماره ۲۵).

۱۰-۲ - تجزیه و تحلیل های آماری

کلیه سنجش های انجام شده در سه تکرار انجام گردیده و میانگین تکرارها به عنوان شاخص آن مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین به منظور اجتناب از خطای آزمایشی همه اندازه گیری ها توسط یک مشاهده کننده

صورت پذیرفت. تجریه تحلیل آماری با استفاده از آزمون T-test در سطح اعتماد ۹۵ % ، توسط نرم افزار SPSS 14.0 انجام گرفت. همچنین ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2007 انجام شد.

تصویر شماره ۲۵ : سنجش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب حوضچه ها

۳-نتایج

۱-۳- نتایج ثبت فاکتورهای غیر زیستی آب

نتایج اندازه گیری درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین ماهی بستر بصورت ماهانه در سالهای مختلف (جدول ۵) و بصورت ماهانه در کل دوره اجرای پروژه (جدول ۶) آمده است. همچنین منحنی تغییرات دمایی ، اکسیژن محلول و pH کل دوره بررسی نیز به منظور مقایسه سریعتر در نمودارهای مربوطه آورده شده است (نمودار شماره ۶) .

جدول ۵ : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۸۹)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
مهر ۸۹	۲۱/۱ ± ۱/۶	۴/۹۷ ± ۰/۱۷	۷/۰ ± ۰/۱
آبان ۸۹	۱۶/۵۹ ± ۱/۷	۶ ± ۰/۴۳	۷/۱۲ ± ۰/۳
آذر ۸۹	۸/۹۴ ± ۱/۱	۶/۹ ± ۰/۵۱	۷/۲۳ ± ۰/۵
دی ۸۹	۹/۳ ± ۱/۸	۷/۴۱ ± ۰/۳۷	۷/۳۳ ± ۰/۲
بهمن ۸۹	۹/۰۷ ± ۱/۳	۷/۲۸ ± ۰/۴۳	۷/۲ ± ۰/۱
اسفند ۸۹	۱۲/۶ ± ۱/۷	۵/۵۴ ± ۰/۶۵	۷/۲۳ ± ۰/۲

جدول ۵ (ادامه): نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۹۰)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین ۹۰	۱۴/۳۲ ± ۵/۵	۵/۵۴ ± ۰/۶۵	۷/۱۱ ± ۰/۲
اردیبهشت ۹۰	۱۷/۱۵ ± ۱/۸	۶/۴۵ ±۰/۴۵	۷/۰۴ ± ۰/۳
خرداد ۹۰	۲۱/۵۳ ±۱/۱۸	۶/۵۶ ± ۰/۹	۷/۰۹ ± ۰/۴
تیر ۹۰	۲۳/۱۱ ± ۱/۷	۶/۴۵ ± ۰/۱۸	۶/۵۸ ± ۰/۳
مرداد ۹۰	۲۵/۶۸ ± ۲/۱	۶/۵۶ ± ۰/۳	۷/۷۵ ± ۰/۳
شهریور ۹۰	۲۳/۱۲ ± ۰/۸۲	۶/۶۶ ± ۰/۲۴	۷/۰ ± ۰/۱
مهر ۹۰	۲۰/۹ ±۰/۳	۶/۷۸ ± ۱/۳	۷/۲ ± ۰/۳
آبان ۹۰	۱۴/۲۵ ±۰/۷	۷/۲ ± ۰/۵۲	۷/۱۸ ± ۰/۲۵
آذر ۹۰	۸/۸ ±۱/۳	۷/۸۳ ± ۰/۴	۷/۶۸ ± ۰/۱
دی ۹۰	۸/۹۶ ±۰/۷۵	۶/۶ ± ۱	۷/۵ ± ۰/۱۸
بهمن ۹۰	۸/۹ ±۰/۳	۷ ±۰/۱۶	۷/۶۲ ± ۰/۲
اسفند ۹۰	۱۲/۶ ±۰/۹	۹/۲ ±۰/۵	۷/۳۵ ± ۰/۳۱

جدول ۵ (ادامه) : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۹۱)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین ۹۱	۱۴/۱ ±۲/۱	۸/۳۲ ± ۰/۴۳	۷/۰ ± ۰/۱۲
اردیبهشت ۹۱	۱۸/۵ ±۱/۵	۷/۵ ± ۰/۵	۷/۲۲ ± ۰/۷
خرداد ۹۱	۲۳/۸ ±۱/۴	۶/۲ ± ۰/۹	۷/۵۱ ± ۰/۳۸
تیر ۹۱	۲۵/۱ ± ۱	۵/۳۴ ± ۰/۴	۷/۷۵ ± ۰/۳
مرداد ۹۱	۲۶/۲ ±۱/۶	۵/۱ ± ۰/۶۶	۷/۸۷ ± ۰/۵
شهریور ۹۱	۲۳/۵ ±۲/۸	۷/۲ ± ۰/۴۵	۷/۲۵ ± ۰/۱
مهر ۹۱	۲۱/۲ ± ۲/۱	۸/۳ ± ۱/۲	۷/۱۳ ±۰/۲۴
آبان ۹۱	۱۷/۰ ± ۲	۷/۶۴± ۱/۳۷	۷/۶۵ ± ۰/۶
آذر ۹۱	۱۰/۸ ±۲/۴	۷/۹± ۰/۸	۷/۳۳ ± ۰/۸
دی ۹۱	۸/۶۶ ± ۲/۱	۷/۱ ±۰/۲۸	۷/۱ ± ۰/۳
بهمن ۹۱	۱۱/۳ ± ۳/۸	۷/۳۸ ± ۰/۶	۶/۸۶ ± ۰/۳
اسفند ۹۱	۱۵/۸ ± ۱	۵/۲۲ ± ۱	۷/۰۵ ± ۰/۵

جدول ۵ (ادامه) : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۹۲)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین ۹۲	۱۴/۹ ± ۰/۹	۶/۷۷ ±۰/۳۶	۶/۹ ± ۰/۶
اردیبهشت ۹۲	۲۰/۱ ± ۳/۴	۵/۴ ± ۰/۷	۷/۲۱ ± ۰/۳۷
خرداد ۹۲	۲۰/۴ ± ۰/۸	۵/۶ ± ۰/۳۲	۷/۶۲ ± ۰/۴
تیر ۹۲	۲۱/۷ ± ۰/۵	۶/۲۶ ± ۰/۵۹	۷/۲۵ ± ۰/۱
مرداد ۹۲	۲۱/۹ ± ۰/۷	۶/۳ ± ۰/۷۶	۷/۲ ± ۰/۶
شهریور ۹۲	۲۳/۷ ± ۱/۳	۵/۶۵ ± ۰/۳۳	۷/۱۸ ± ۰/۲۵
مهر ۹۲	۲۰/۱ ± ۳/۵	۵/۲۶ ± ۰/۵۹	۷/۶ ± ۰/۶۱
آبان ۹۲	۱۵/۹ ± ۰/۶	۵/۱ ± ۱/۲	۷/۳۹ ± ۰/۳۲
آذر ۹۲	۱۳/۰ ± ۰/۹	۶/۵ ± ۱/۸	۷/۰ ± ۰/۱۹
دی ۹۲	۱۱/۷ ± ۰/۶	۶/۸۳ ± ۰/۶۴	۶/۷۸ ± ۰/۴
بهمن ۹۲	۱۱/۱ ± ۱/۶	۷/۰۷ ± ۰/۵۵	۷/۱۳ ± ۰/۸
اسفند ۹۲	۱۳/۸ ± ۰/۴	۷/۰ ± ۰/۹	۷/۹ ± ۰/۶

جدول ۵ (ادامه) : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۹۳)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین ۹۳	۱۴/۳ ± ۲/۴	۷/۲± ۰/۸۶	۷/۵۷ ± ۰/۳
اردیبهشت ۹۳	۱۹/۱ ± ۰/۸	۵/۴۵ ± ۰/۶۲	۷/۵ ± ۰/۴۲
خرداد ۹۳	۲۱/۴ ± ۰/۸	۶/۱ ± ۰/۹۲	۷/۲ ± ۰/۴
تیر ۹۳	۲۴/۰۳ ± ۰/۸	۶/۲۳ ± ۰/۷۶	۷/۶ ± ۰/۴۹
مرداد ۹۳	۲۵/۹ ± ۰/۵۸	۵/۹۳ ± ۰/۸۲	۷/۱۰ ± ۰/۲
شهریور ۹۳	۲۴/۸ ± ۰/۳	۷/۱۳ ± ۰/۱	۶/۵ ± ۰/۸
مهر ۹۳	۱۹/۹ ± ۱/۹	۸/۱۲ ± ۰/۵	۷/۳۶ ± ۰/۱۶
آبان ۹۳	۱۴/۶ ± ۲/۱۶	۸/۵ ± ۰/۶	۷/۴۵ ± ۰/۱۸
آذر ۹۳	۱۲/۸ ± ۰/۴۶	۸/۹۳ ± ۰/۴	۷/۴۸ ± ۰/۳۵
دی ۹۳	۱۳/۴ ± ۰/۵۳	۷/۲ ± ۰/۴	۷/۳۶ ± ۰/۲۱
بهمن ۹۳	۱۲/۹ ± ۰/۹	۷/۹ ± ۰/۲۵	۷/۳۸ ± ۰/۰۶
اسفند ۹۳	۱۰/۸ ± ۰/۹۸	۸/۱ ± ۰/۳	۷/۱۳ ± ۰/۱

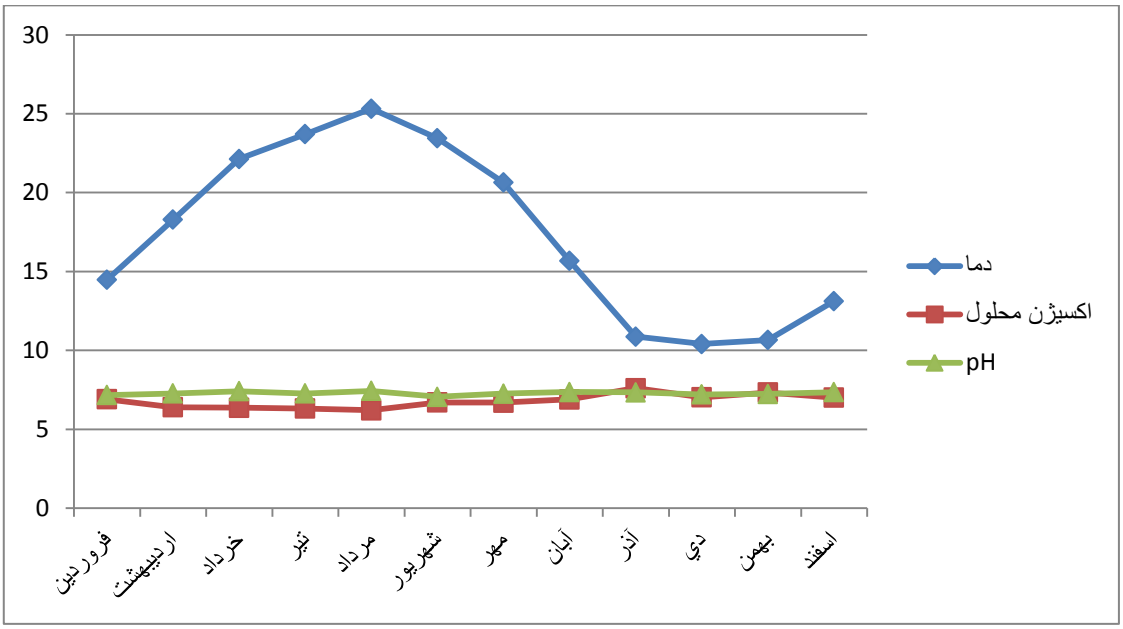
جدول ۵ (ادامه) : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (سال ۱۳۹۴)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین ۹۴	۱۴/۷۳ ± ۲/۱	۶/۷۱ ± ۰/۳۷	۷/۲۸ ± ۰/۱۹
اردیبهشت ۹۴	۱۶/۶ ± ۱/۶	۷/۲۱ ± ۰/۵۳	۷/۳۶ ± ۰/۵۲
خرداد ۹۴	۲۳/۵ ± ۱/۵	۷/۴ ± ۰/۹	۷/۶۱ ± ۰/۴
تیر ۹۴	۲۴/۶ ± ۰/۹	۷/۳ ± ۰/۴۷	۷/۱۵ ± ۰/۳۵
مرداد ۹۴	۲۶/۹ ± ۱/۱	۷/۱۶ ± ۰/۳	۷/۲۱ ± ۰/۵۱
شهریور ۹۴	۲۲/۱ ± ۱/۸	۶/۹۲ ± ۰/۵۶	۷/۳۸ ± ۰/۵۱

جدول ۶ : نتایج اندازه گیری ماهانه درجه حرارت ، میزان اکسیژن محلول و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر (کل دوره اجرای زمانی پروژه ۱۳۹۴- ۱۳۸۹)

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
فروردین	۱۴/۴۷ ± ۰/۳۳	۶/۹۱ ± ۱/۰۰	۷/۱۷ ± ۰/۲۶
اردیبهشت	۱۸/۲۹ ± ۱/۴۶	۶/۴ ± ۰/۹۷	۷/۲۷ ± ۰/۱۷
خرداد	۲۲/۱۳ ± ۱/۴	۶/۳۷ ± ۰/۶۷	۷/۴۱ ± ۰/۲۵
تیر	۲۳/۷ ± ۱/۳۴	۶/۳۲ ± ۰/۶۹	۷/۳۱ ± ۰/۳۸
مرداد	۲۵/۳۲ ± ۱/۹۶	۶/۲۱ ± ۰/۷۶	۷/۴۳ ± ۰/۳۶
شهریور	۲۳/۴۴ ± ۰/۹۸	۶/۷ ± ۰/۶۳	۷/۰۶ ± ۰/۳۴

تاریخ / فاکتور	درجه حرارت (°C)	اکسیژن (mg/L)	pH
مهر	۲۰/۶۴ ± ۰/۵۹	۶/۶۸ ± ۱/۵۵	۷/۲۷ ± ۰/۲۶
آبان	۱۵/۶۷ ± ۱/۲۱	۶/۸۹ ± ۱/۳۵	۷/۳۶ ± ۰/۲۱
آذر	۱۰/۸۶ ± ۲/۰۲	۷/۶۱ ± ۰/۹۵	۷/۳۴ ± ۰/۲۶
دی	۱۰/۴ ± ۲/۰۶	۷/۰۳ ± ۰/۳۲	۷/۲۱ ± ۰/۲۸
بهمن	۱۰/۶۵ ± ۱/۶۸	۷/۳۳ ± ۰/۳۶	۷/۲۴ ± ۰/۲۸
اسفند	۱۳/۱۲ ± ۱/۸۴	۷/۰۱ ± ۱/۶۸	۷/۳۵ ± ۰/۳۲



نمودار شماره ۶ : منحنی تغییرات دما (°C)، اکسیژن محلول (mg/L) و pH آب حوضچه های نگهداری مولدین بستر در کل دوره زمانی پروژه (۱۳۹۴- ۱۳۸۹)

۲-۳-نتایج لاپراسکوپی مولدین بستر

طی پاییز سال ۱۳۹۰ از مجموع ۳۹ دورگه بستر موجود، ، تعداد ۳۶ عدد مورد بررسی های لاپراسکوپی قرار گرفته و بقیه ماهی ها بدلیل کوچک تر بودن جثه دستکاری نشدند. بررسی های لاپراسکوپی مولدین بستر موجود در موسسه نشان داد که در کل از این ۳۶ مولد بررسی شده ، تعداد ۲۱ عدد ماده (تصویر شماره ۲۶) و ۱۵ عدد نر (تصویر شماره ۲۷) می باشند. مراحل رسیدگی جنسی ماهیان بستر در جدول ۷ آمده است (جدول ۷). این بررسی ها همچنین نشان داد که علیرغم مشاهده شدن تخمک ها در مولدین ماده و کیسه های حاوی اسپرم در مولدین نر، در محوطه شکمی تعداد زیادی از ماهیان بستر واکوئلهای چربی دیده شده که نشاندهنده چربی بیش از حد نیاز در جیره غذایی و نامناسب بودن تغذیه این ماهیان مولد است.

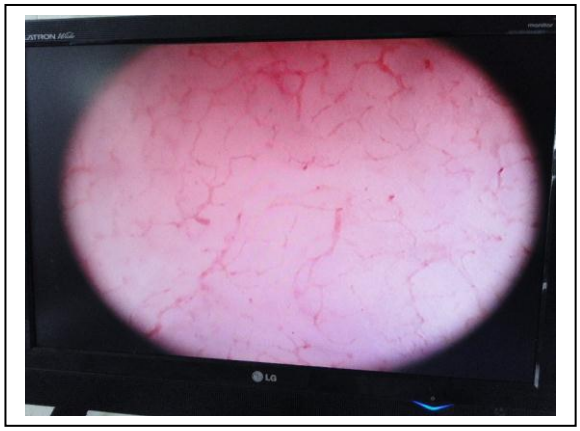
جدول ۷: مراحل رسیدگی جنسی ماهیان بستر نر و ماده

نر ها (n = ۱۵)		ماده ها (n = ۲۱)	
تعداد	مرحله رسیدگی	تعداد	مرحله رسیدگی
۳	مرحله II - مرحله III	۳	مرحله I
		۶	مرحله II
۹	مرحله III	۴	مرحله II - مرحله III
		۳	مرحله III
۳	مرحله IV	۲	مرحله III - مرحله IV
		۳	مرحله IV

۳-۳- نتایج رشد مولدین بستر موجود

مقایسه چگونگی رشد مولدین بستر با توجه با آخرین زیست سنجی انجام شده از تمامی مولدین در سال ۱۳۹۰(۶ + سالگی)، حاکی است که میانگین افزایش طول و وزن مولدین بستر ماده طی یکسال (۹۱ - ۹۰) به ترتیب معادل ۴/۲۶ سانتی متر و ۰/۵۳۰ کیلوگرم بوده است. همچنین افزایش طول و وزن مولدین بستر نر طی همین سال به ترتیب معادل ۴/۴۹ سانتی متر و ۰/۶۲۰ کیلوگرم بود. این مولدین به دلیل ارزش بالا و رسیدن به رسیدگی جنسی در سالهای بعد زیست سنجی نشدند.

تصویر شماره ۲۶ : تصویر تخمکهای بستر ماده به کمک لاپراسکوپ



تصویر شماره ۲۷ : تصویر کیسه های اسپرمی بستر نر به کمک لاپراسکوپ

۴-۳- نتایج لقاح با استفاده از تخمک فیلماهیان مورد استفاده

طی سالهای اجرای پروژه، با توجه به کمبود مولدین فیلماهی صید شده از مناطق از یک طرف و ضرورت اجرای پروژه از سوی دیگر، در پنج مرحله اقدام به آزمایش لقاح تخمکهای استحصالی از مولدین صید شده در دسترس با استفاده از اسپرم مولدین بستر شد. نتایج این آزمایش ها بشرح ذیل می باشد.

آزمایش اول (۱۳۹۰) : این آزمایش در زمستان سال ۱۳۹۰ و با استفاده از یک فیلماهی وحشی صورت گرفت. به جهت عدم جواب دهی مولد فیلماهی ماده به تزریق و به منظور هدر نرفتن اسپرم با ارزش استحصالی از مولد نر بستر ، اقدام به یک مرحله انجماد آزمایشی اسپرم بستر گردید.
آزمایش دوم (۱۳۹۱) : با مناسب شدن دمای آب در زمستان ۱۳۹۱، پس از بررسی های بعمل آمده از مولدین بستر نر ، همزمان با آمادگی یک نمونه فیلماهی ماده اقدام به تزریق و استحصال اسپرم از مولدین مورد نظر شد. در این مرحله به دلیل عدم اطمینان از مناسب بودن تخمک و بررسی مقایسه ای، اقدام به نمونه گیری از اسپرم یک عدد فیلماهی مولد جهت انجام لقاح گردید. خصوصیات اسپرم بدست آمده از بستر و مولدین نر فیلماهی شاهد بشرح جدول ۸ بود.

جدول ۸ : خصوصیات اسپرماتولوژیک مولدین نر بستر و فیلماهی مورد استفاده در آزمایش دوم

	زمان تحرک (S)	درصد تحرک (٪)	تراکم (cell × 109)	pH	اسپرماتوکریت (٪)	اسمولاریته (mOsm.kg -1)	حجم استحصالی (ml)
بستر	۴۵۵	۹۰	۲/۴۱۵	۷/۶۷	۸	۱۵۲	۹۰
فیلماهی	۳۲۶	۷۰	۱/۰۲	۸/۱	۲/۵	۱۸۱	۴۱۰

از این اسپرمها برای لقاح تخمک فیلماهی ماده با وزن ۷۳ کیلو گرم استفاده شد. تخمک در گرم این مولد ماده ۴۷ عدد و وزن کل تخمک استحصالی ۱۱/۹ کیلو گرم بود. از این تخمک ها به اندازه یکسان ۲۰۰ گرم برای لقاح با اسپرم بستر و لقاح شاهد استفاده شد. میانگین درصد لقاح در آزمایش فوق الذکر بشرح جدول ۹ بود .

جدول ۹ : میانگین درصد لقاح شاهد و بستر بزرگ در آزمایش دوم

درصد لقاح	فیلماهی (شاهد)	بستر بزرگ
۴ ساعت بعد	۶۶ ± ۵	۸۳ ± ۲/۸
۷۲ ساعت بعد (نورولاسیون)	۵/۲ ± ۰/۵	۹/۸ ± ۰/۲

سیفون کردن تخمهای تلف شده در آزمایش تیمار و شاهد بطور همزمان انجام گردید ، ولی متاسفانه هیچگونه لاروی پس از طی مراحل نورولاسیون بدست نیامد. این درحالی است که بازماندگی لاروها در شاهد نیز بسیار پایین (۲۵۰ گرم لارو از حدود ۱۱/۵ کیلوگرم تخمک فیلماهی) بود . نمونه اسپرم مازاد مولد نر بستر این آزمایش نیز با سیستم سرمادهی دستی مورد انجماد و نگهداری قرار گرفت.
آزمایش سوم (۱۳۹۲) : در دی ماه ۹۲ یک مورد لقاح تخمک فیلماهی (به وزن ۴۲ کیلوگرم با میزان تخمک کل ۵/۵ کیلوگرم و تخمک در گرم ۴۳ عدد) با اسپرم منجمد شده استرلیاد انجام گرفت. در این

آزمایش برای لقاح ۷۰ گرم تخمک فیلماهی از ۶ پایوت حاوی اسپرم (معادل یک میلی لیتر اسپرم تازه) استفاده شد. انجماد زادایی با کمک حمام آب گرم ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام گرفت. دمای آب انکوباسیون در مراحل بعدی ۱۲ درجه سانتی گراد ثبت گردید. نتیجه لقاح شاهد (فیلماهی ماده با فیلماهی نر) معادل ۸۷٪ بود. اما پس از اتمام دوره انکوباسیون از لقاح شاهد ، تنها ۳۰۰۰ لارو تفریخ گردید. این موضوع نشانه نامناسب بودن شرایط مولد ماده و تخمکهای استحصالی به منظور لقاح می باشد. تعداد کل لاروهای حاصله بستر بزرگ در این آزمایش نیز ۱۲ عدد بود که همگی پس از ۴۸ ساعت تلف شدند.

آزمایش چهارم (۱۳۹۳) : طی سه ماهه اول سال۱۳۹۳، با بررسی در بین فیلماهیان موجود مشخص شد که امکان تخم دهی از یک فیلماهی وجود دارد. با توجه به اسپرم دهی استرلیادهای نر در زمستان گذشته و احتمال آمادگی یک عدد فیلماهی ماده ، تلاش گردید که از مولدین نر مجدداً اسپرم گیری شود تا در صورت استحصال تخمک ، از اسپرم تازه استفاده شود. با توجه به اینکه این مولدین قبلاً یک بار مورد تزریق هورمون قرار گرفته بودند، استحصال اسپرم از این ماهیان میسر نشد. در ضمن فیلماهی مورد نظر نیز از حیث تکثیر غیرقابل استفاده تشخیص داده شد و تخم های آن شیر شدند. به جهت احتمال آمادگی یک عدد فیلماهی دیگر که در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر تاسماهیان شهید بهشتی نگهداری می شد، با این مرکز مکاتبه گردید که متاسفانه ماهی مورد نظر نیز به مرحله تخم دهی نرسید.

آزمایش پنجم (۱۳۹۴) : در فروردین ماه ۱۳۹۴، با آمادگی یک مولد فیلماهی اقدام به تزریق هورمون به ۴ مولد بستر نر گردید تا در صورت جوابدهی مولد ماده عملیات لقاح انجام شود. از این تعداد مولد بستر تعداد ۲ مولد آماده اسپرم دهی بودند که نمونه اسپرم آنها استحصال گردید. مشخصات اسپرماتولوژیک این دو نمونه اسپرم و همچنین مشخصات تخمک فیلماهی ماده بشرح جدول ۱۰ بود. از کل تخمک استحصالی از فیلماهی ، مقدار ۵۰۰ گرم به منظور انجام آزمایش لقاح با نمونه اسپرم استحصالی مولدین بستر نر (هر کدام ۲۵۰ گرم) استفاده قرار گرفت.

جدول ۱۰ : مشخصات اسپرماتولوژیک و تخمک مولدین بستر نر و فیلماهی ماده

مولد	طول ماهی (cm)	وزن ماهی (g)	تراکم اسپرم/ تخمک در گرم	حجم اسپرم(ml)/ وزن تخمک (g)
بستر نر ۱	۱۰۵	۶۱۶۰	$۳/۳۹۹ \pm ۰/۰۸ \times ۱۰^{۹}$ / ml	۱۴۵
بستر نر ۲	۱۱۸	۸۵۴۰	$۱/۵۶ \pm ۰/۰۶ \times ۱۰^{۹}$ / ml	۱۸۰
فیلماهی ماده	۱۶۳	۵۴۰۰۰	۵۵	۶۵۰۰

درصد لقاح حاصل از این آزمایش برای اسپرم هر یک از مولدین نر، محاسبه و در جدول ۱۱ آمده است.

جدول ۱۱: درصد لقاح نمونه اسپرم مولدین بستر با تخمک فیلماهی

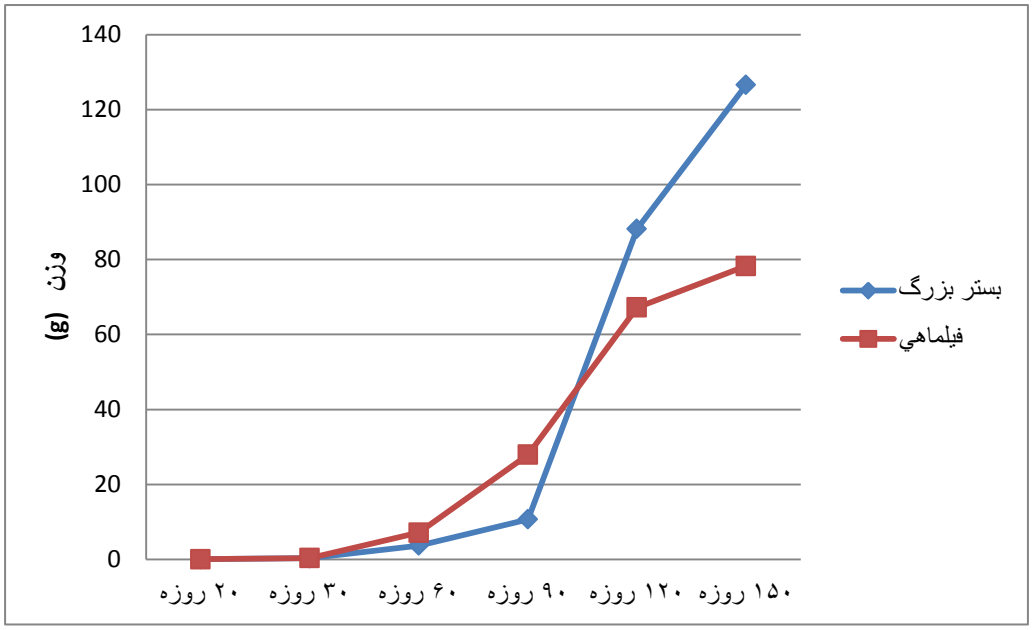
مولد	درصد لقاح (۴ ساعته)	درصد نورولاسیون (۷۲ ساعته)
بستر نر ۱	۶۹/۶ ± ۳	۲۷/۹ ± ۵/۲
بستر نر ۲	۸۸/۱ ± ۲/۴	۳۶/۶ ± ۶/۴

با مراقبت و تغذیه بچه ماهیان تفریخ شده، شاهد رشد روزانه آنها بوده و نتایج زیست سنجی ماهانه آنها تا زمان ارایه گزارش بشرح جدول ۱۲ ثبت گردید. همچنین جهت مقایسه بهتر روند افزایش وزنی و طولی بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ در مقایسه با بچه فیلماهیان هم سن خود به ترتیب در نمودارهای شماره ۷ و ۸ آمده است. همچنین نمونه دورگه بستر بزرگ تولید شده با فیلماهی شاهد (۵ ماهه) در تصویر شماره ۲۸ آمده است.

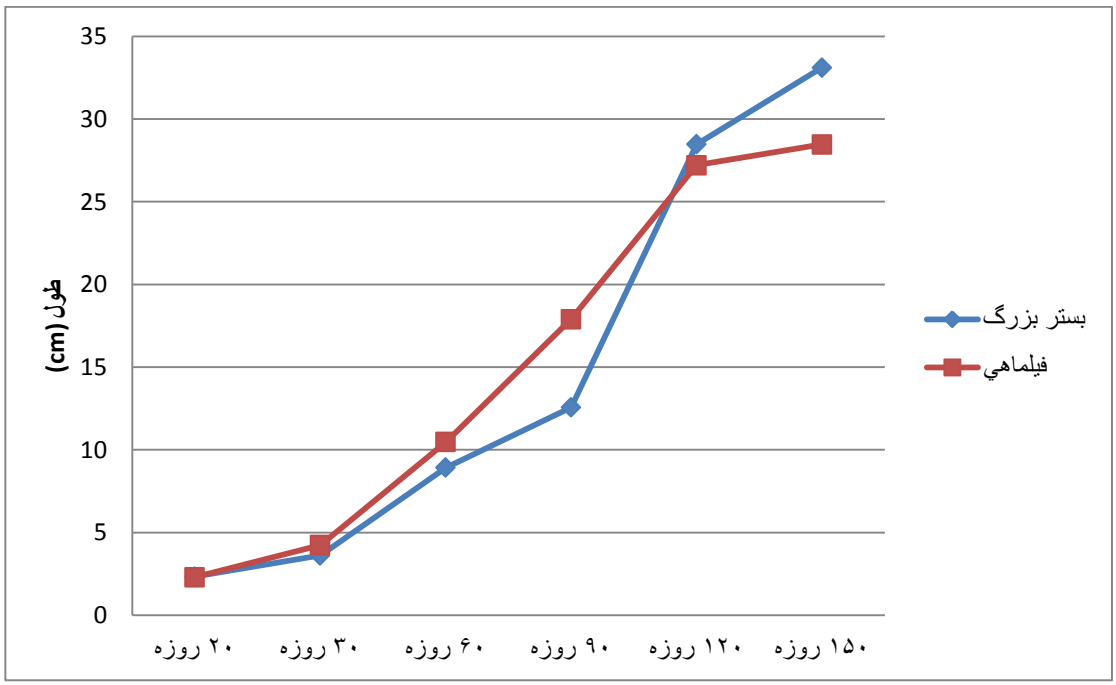
جدول ۱۲: مقایسه چگونگی رشد بچه ماهیان بستر بزرگ در مقایسه با فیلماهی شاهد هم سن خود تا سن ۱۵۰ روزگی

(حروف انگلیسی هم ارز نشاندهنده عدم وجود تفاوت معنی دار است $p< 0.05$)

سن ماهی	بچه ماهیان بستر بزرگ		بچه ماهیان فیلماهی شاهد	
	وزن (g)	طول (cm)	وزن (g)	طول (cm)
۲۰ روزه	۰/۰۶۵ ^{a} ± ۰/۰۱	۲/۳۳ ^{A} ± ۰/۲	۰/۰۷ ^{a} ± ۰/۰۱	۲/۳ ^{A} ± ۰/۳
۳۰ روزه	۰/۳۵۱ ^{a} ± ۰/۳۲۰	۳/۶۱ ^{A} ± ۰/۲۵	۰/۳۸ ^{a} ± ۰/۴	۴/۲۴ ^{A} ± ۰/۳۳
۶۰ روزه	۳/۷۱ ^{a} ± ۲/۵۴	۸/۹۲ ^{A} ± ۱/۵۵	۷/۱۸ ^{a} ± ۲/۴۹	۱۰/۴۷ ^{A} ± ۱/۵۸
۹۰ روزه	۱۰/۷۲ ^{b} ± ۲/۳۱	۱۲/۵۶ ^{A} ± ۴/۳۳	۲۷/ ۹۶ ^{a} ± ۱۲/۵	۱۷/۹ ^{A} ± ۲/۶۶
۱۲۰ روزه	۸۸/ ۲ ^{a} ± ۲۵/۴	۲۸/ ۴۷ ^{A} ± ۴/۷۷	۶۷/۲۲ ^{b} ± ۲۰/۸	۲۷/۲۱ ^{A} ± ۳/۵۵
۱۵۰ روزه	۱۲۶/ ۶ ^{a} ± ۵۴/۶	۳۳/۱۱ ^{A} ± ۵/۳	۷۶/۸۳ ^{b} ± ۱۳/۷	۲۸/۴۶ ^{A} ± ۳/۱۷



نمودار شماره ۷ : مقایسه افزایش وزن (g) بچه ماهیان بستر بزرگ در مقایسه با فیلماهی شاهد هم سن خود تا سن ۱۵۰ روزگی



نمودار شماره ۸ : مقایسه افزایش طول (cm) بچه ماهیان بستر بزرگ در مقایسه با فیلماهی شاهد هم سن خود تا سن ۱۵۰ روزگی

تصویر شماره ۲۸ : مقایسه رشد بستر بزرگ (بالا) با فیلماهی (پایین) هم سن (۵ ماهه)

۴- بحث

توسعه آبزی پروری بدون شک یکی از گسترده ترین فنون تولید غذای سالم و فراورده های آن طی ده سال گذشته بوده است (FAO, 2014). شناسایی، تولید و معرفی انواع گونه های زود بازده که ضمن کارایی بیشتر تولید، بازگشت سرمایه را در مدت زمان کوتاه تری تضمین می کند ، از جمله تلاشهای محققین جهان در این راستا می باشد.در این راستا، با توجه به کاهش بسیار شدید ذخایر طبیعی تاسماهیان در منابع آبی جهان بخصوص طی ده ساله اخیر (Bronzi and Rosenthal, 2014)، رویکرد افزایش تولید بسمت آبزی پروری این ماهیان با ارزش تغییر یافته است (Erkan, 2011) به گونه ای که تعداد زیادی از کشورهایی که این ماهیان بطور طبیعی در منابع آبی آنها دیده نمی شود با وارد کردن انواع گونه های قابل پرورش در شرایط آب و هوایی خود ، وارد این بازار پر رونق شده اند (Bronzi and Rosenthal, 2014).

ماهی خاویاری بستر، دورگه ای بین جنسی (intragenic) است که حاصل تلاقی تخمک فیلماهی (*Huso huso*) ماده و اسپرم استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) نر می باشد (Omoto *et al*., 2005a ; Omoto *et al*., 2005b) که برای نخستین بار در سال ۱۹۸۲ توسط Nikoljukin در روسیه تولید شد. این دورگه خاویاری به دلیل برخورداری از رشد مناسب تر نسبت به والد نر خود (استرلیاد) ، رسیدگی جنسی سریعتر نسبت به والد ماده خود (فیلماهی) (Burtsev *et al*., 1993) ، توانائی زیستن در آب شیرین، قابلیت سازش با غذای دستی، سرعت رشد بالا و همچنین قدرت باروری مناسب (Mojazi Amiri *et al*. 1999) ، هم اکنون یکی از گزینه های پرورش تاسماهیان در آبزی پروری مونوکالچر و پلی کالچر(Pyka & Kolman, 2001) جهان بشمار می آید (Steffens *et al*., 1990; Chebanov & Billard, 2001; Omoto *et al*., 2001). این دورگه از جمله دورگه های زایای تاسماهیان است که نسل اول و دوم آن قابلیت باروری داشته و می توان از مولدین آن برای انواع تکثیرهای دورن و برون گونه ای در مراکز تکثیر تاسماهیان استفاده نمود (Kozlov, 1993). بستر بزرگ (Big bester) از جمله دورگه های نسل دوم ماهیان بستر است که نتیجه لقاح اسپرم مولدین بستر نر با تخمکهای فیلماهی ماهد می باشد.

نتایج بدست آمده از اجرای پروژه نشان داد که ماهیان بستر موجود ، قابلیت سازگاری با شرایط پرورشی معمول را داشته و به خوبی از جیره غذایی بکار رفته تغذیه می کنند. این تغذیه هر چند در مقاطع زمانی محدودی به علت کمبود بودجه بطور کامل در اختیار این ماهیان قرار نگرفت اما نشان داد که این ماهیان با تغذیه از این جیره می توانند به رسیدگی جنسی رسیده و تخمک و اسپرم مناسب با قابلیت باروری داشته باشند. از آنجایی که تولید ماهیان خاویاری دورگه بستر از جمله فعالیتهای موفق موسسه طی سنوات گذشته بوده، بدلیل نوپا بودن تولید این دورگه در کشور ، نگهداری و سلامت این ماهیان طی مدت زمان طولانی (ده سال) یکی از موفقیت های این پروژه است.

امکان تعیین جنسیت و تعیین مرحله رسیدگی جنسی ماهیان بستر موجود یکی دیگر از اهدافی بود که این پروژه به دنبال آن بود. با اجرای روش لاپراسکوپی بکار رفته در این پروژه، اولاً قابلیت این تکنیک در تعیین جنسیت

این ماهیان به اثبات رسید. ثانیاً به دلیل غیر تهاجمی بودن این روش با استفاده از یک برش حدود یک سانتی متری در محوطه شکمی، امکان بازگشت (recovery) سریع مولدین به شرایط سلامت قبلی به وجود آمده و استحصال تخمک و اسپرم این مولدین امکان پذیر گردید. گرد بودن سر پروب بکار رفته در این روش علاوه بر افزایش سرعت حرکت پروب در داخل بدن ، امکان زخمی شده تخمکها و کیسه های حاوی سلولهای جنسی نر در محوطه شکمی مولدین را بسیار کاهش می دهد. روش معمول بیوپسی از گنادها ، علاوه بر افزایش خطر ابتلا به بیماریهای عفونی به دلیل برش بزرگ تر و لزوم بخیه کردن موضع، موجب برش و زخمی شدن گنادها شده و امکان استحصال مواد تناسلی سالم در آینده را کاهش خواهد داد. این مورد تاییدی است بر مناسب بودن و کارایی روش لاپراسکوپی گنادهای مولدین بستر که می تواند در آینده به عنوان یک روش سالم و بدون خطر در مورد این ماهی بکار رود.

بررسی گنادهای مولدین به روش لاپراسکوپی همچنین نشان داد که علیرغم مشاهده شدن تخمک ها در مولدین ماده (تصویر شماره ۲۶) و کیسه های حاوی اسپرم در مولدین نر (تصویر شماره ۲۷)، در محوطه شکمی تعداد زیادی از ماهیان بستر واکوئلهای چربی دیده می شود که می تواند نشاندهنده وجود چربی بیش از حد نیاز یا نامناسب بودن جیره غذایی در تغذیه این ماهیان مولد باشد که طی دوره های زمانی قبل از لاپراسکوپی و به دلیل عدم ارسال بودجه درخواستی و لزوم استفاده از جیره غذایی حداقل صورت گرفته است.

از آنجایی که استحصال اسپرم سالم و متحرک با قابلیت لقاح دادن تخمک ها یکی از مهمترین اهداف این پروژه بوده است، با نگهداری و تغذیه مناسب مولدین موجود ، در فصل تکثیر استحصال اسپرم از این ماهیان با موفقیت صورت گرفت. این موضوع اولاً نشان دهنده سلامت دستگاه تولید مثلی مولدین موجود بوده و حاکی از آن است که هورمون بکار رفته توانایی و کارایی لازم جهت القا و آماده نموده مولدین بستر برای استحصال اسپرم و تخمک را دارد. استفاده از هورمون سنتتیک LHRH-a2 در القای رسیدگی جنسی مولدین تاسماهیان ، تنظیم دقیق تر زمانی ، کارایی موثرتر، استفاده از هورمون کمتر و قدرت اثر بیشتر قبلاً به اثبات رسیده است (Amini et al., 2012 ; Ńazari et al., 2010). کاربرد این هورمون در مرحله القای رسیدگی جنسی مولدین بستر نشان داد که قابلیت های شمرده شده در مورد کارایی این هورمون در مورد سایر تاسماهیان ، در مورد دورگه بستر نیز صدق می کند.

استحصال تخمک و اسپرم سالم و با قابلیت لقاح مناسب از مولدین بستر موجود، نشان داد که این مولدین با توجه به روش نگهداری بکار رفته برای سالهای متوالی قابلیت تکثیر خود را حفظ کرده اند و نسل اول آنها (F1) زایا بوده و امکان تکثیر آنها وجود دارد.

در مواردی که پس از تزریق و استحصال اسپرم از مولدین بستر ، از فیلماهی ماده تخمک مناسب لقاح بدست نیامد، به جهت حفظ اسپرم با ارزش این دورگه در یک مورد اقدام به انجماد آزمایشی اسپرم آن شد. روش بکار رفته در این آزمایش با استفاده از محلول رقیق کننده عمومی اسپرم ماهیان خاویاری بوده و سرمادهی تدیجی

نمونه های رقیق شده به روش سرمادهی دستی و در آزمایشگاه انجام گردید. نتایج بدست آمده پس از یکسال نگهداری در ازت مایع از این نمونه ها نشان داد که این اسپرمها همچنان قابلیت تحرک خود را حفظ کرده و امکان استفاده از آنها حداقل پس از گذشت یکسال وجود دارد. نگهداری نمونه اسپرمهای منجمد شده برای سالهای بعد به دلیل عدم ارسال اعتبار درخواستی پروژه میسر نگردید.

تولید موفقیت آمیز دورگه بستر بزرگ در این پروژه نشان داد که کیفیت اسپرمهای بکار رفته، نسبت مصرفی اسپرم به تخمک ، شرایط لقاح ، انکوباسیون، تفریخ ، نگهداری لاروها و تغذیه بچه ماهیان همگی کارایی لازم را دشته و این روش کار می تواند در آینده جهت تولید دورگه بستر بزرگ مورد استفاده مراکز تکثیر و پرورش تاسماهیان قرار گیرد.

از آنجا که از اسپرم دو مولد بستر نر در این پروژه استفاده شد و هر یک از نمونه اسپرم ها در دو تکرار مختلف جهت لقاح بکار رفت بررسی مقایسه ای دو نمونه اسپرم بکار رفته نیز انجام گرفت. بررسی آماری نشان می دهد که بستر نر بزرگتر حجم اسپرم دهی بالاتری داشته اما تراکم اسپرم در نمونه منی آن کمتر از اسپرم استحصالی از مولد بستر کوچکتر بوده است (جدول ۱۰) ($P < 0.05$). علیرغم بالاتر بودن معنی دار تراکم اسپرم در مایع سمینال مولد بستر شماره ۲ ($۱۰^{۹}$ / ml × ۰/۰۶± ۱/۵۶) در مقایسه با مولد بستر شماره ۱ ($۱۰^{۹}$ / ml × ۰/۰۸± ۳/۳۹۹) ، در صد لقاح بدست آمده از این مولد (۲/۴ ± ۸۸/۱) نسبت به درصد لقاح بستر شماره ۱ بیشتر بوده است (۳ ± ۶۹/۶) ($P < 0.05$)(جدول ۱۱). همچنین درصد نورولاسیون در تخمهای لقاح یافته این مولد (۶/۴ ± ۳۶/۶) نیز از مورد مشابه در بستر مولد شماره ۱ (۵/۲ ± ۲۷/۹) بیشتر بوده است ($P < 0.05$)(جدول ۱۱). این موضوع نشان می دهد که کیفیت اسپرم در این ماهی صرفاً به تعداد اسپرم در واحد حجم وابسته نیست و عوامل دیگری همچون مدت زمان تحرک ، درصد تحرک و سایر قابلیت های زیستی، تحرک و لقاح در اسپرم این ماهیان می تواند در نتیجه نهایی لقاح و درصد کارایی تکثیر تاثیر گذار باشد. همچنین چنانچه آزمایشات صورت گرفته طی اجرای پروژه نشان داد ، قابلیت استحصال تخمک های سالم و مناسب از مولدین ماده نیز عامل مهم دیگری است که در میزان موفقیت لقاح در این دورگه گیری بسیار موثر است.

مقایسه آماری نتایج حاصل از زیست سنجی ماهیان دورگه بستر بزرگ با فیلماهیان شاهد هم سن خود نشان می دهد که وزن بچه ماهیان بستر بزرگ در مقایسه با وزن بچه فیلماهیان طی ماههای اول و دوم با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$). اما این مورد در سن سه ماهگی به نفع میانگین وزنی بچه فیلماهیان تغییر می کند ($P > 0.05$). از این زمان به بعد یعنی تا ۵ ماهگی ، روند رشد بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ نسبت به بچه فیلماهیان سریعتر بوده به گونه ای که در پایان ۵ ماهگی تفاوت معنی داری بین اوزان این دوگروه دیده شده و وزن بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ از مورد مشابه در بچه فیلماهیان بیشتر است ($P > 0.05$). همچنین مقایسه های رشد طولی این دو گروه حاکی از آن است که در هیچ دوره زمانی بعد از تولید این ماهیان ، تفاوت معنی داری بین طول بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ و بچه فیلماهیان هم سن وجود ندارد ($P < 0.05$).

در جمع بندی کلی می توان اذعان نمود که نگهداری و تغذیه ماهیان بستر تولید شده تا سن رسیدگی جنسی با جیره غذائی بکار رفته در این پروژه به خوبی امکان پذیر بوده و امکان استحصال تخمک و اسپرم سالم از مولدین تولید شده (F1) به وجود آمده است. همچنین تولید ماهی دورگه بستر بزرگ با استفاده از اسپرمهای بدست آمده با قابلیت سازگاری با غذای کنسانتره مرحله اجرا در آمد. اجرای این پروژه نشان داد که می توان با تولید انبوه بستر ، آنها را به سن بلوغ رسانده و از مواد تناسلی آنها جهت تولید دورگه بستر بزرگ استفاده کرد.

پیشنهادها

اجرای پروژه های دورگ گیری نیازمند آمادگی هر دو گونه مورد نظر جهت عملیات تکثیر می باشد. از آنجا که یکی از دغدغه های اصلی اجرای این پروژه نیز تامین مولد فیلماهی ماده بود، پیشنهاد می شود جهت اجرای بهینه این نوع مطالعات ، در اختیار بودن مولدین از هر دو جنس در برنامه ریزی اصلی کار قرار گیرد.

پژوهشی :

۱- به منظور دسترسی به تعداد بیشتری از بچه ماهیان، بستر بزرگ، تکرار آزمایش لقاح اجرا شده در این پروژه با تعداد مولدین بیشتر می تواند شرایط مقایسه ای بهتری در آینده فراهم نماید.

۲- تکمیل آزمایش های مربوط به انجماد بهینه و نگهداری طولانی مدت اسپرم با ارزش مولدین بستر نر، با توجه به تعداد اندک آنها می بایست مورد توجه قرار گرفته و می تواند یکی از راهکارهای امکان افزایش تولید دورگه بستر بزرگ در آینده باشد.

اجرایی :

۱- نگهداری مولدین به منظور استحصال مواد تناسلی از اصولی پیروی می کند که تغذیه مناسب با بهترین جیره از جمله یکی از موارد کلیدی در این مورد است. از آنجا که تامین اعتبارات لازم پیشنهادی و درخواستی در طول مدت زمان اجرای پروژه در مواردی با مشکل مواجه گردید، پیشنهاد می شود در بحث تکثیر هر گونه از تاسماهیان به این موضوع مهم توجه ویژه مبذول گردد. تغذیه با کیفیت بالاتر ، حداقل از حدود سه ماه قبل از آغاز فصل تکثیر، سبب استحصال تخمک و اسپرم با کیفیت بالاتر خواهد شد.

۲- بچه ماهیان دورگه بستر بزرگ با مشکلات زیادی از جمله کمبود مولد، عدم کفایت تکثیر مولدین در دسترس، کمبود بودجه جهت تغذیه بهینه تولید و نگهداری شدند. لذا پیشنهاد می شود این ماهیان به منظور بررسی های مقایسه ای بهتر در مدت زمان طولانی تر (تا مرحله رسیدگی جنسی) مورد توجه خاص قرار گیرند.

منابع

- آذری تاکامی، ق. ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۱ صفحه
- برادران نویری، ش. ۱۳۸۰. پرورش تاسماهیان. انتشارات حق شناس، رشت، ۱۱۵ صفحه.
- برادران نویری، ش. ۱۳۸۶. گزارش تولید اولین ماهی بستر (فیلماهی ماده × استرلیاد نر) در ایران. دنیای آبزیان، سال ۵، شماره ۱۱، ص ص .۱۷-۱۶.
- بهروز خوش قلب، م.ر. ۱۳۹۳. بررسی آماری و زیست شناسی ماهیان خاویاری . گزارش نهایی پروژه، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور . ۲۲۳ صفحه.
- پورعلی فشتمی، ح.ر: زاهدی فر، م.: محسنی، م. : علیزاده، م. و صادقی، م.۱۳۸۳. پرورش بچه فیلماهی (*Huso huso*) در سواحل جنوبی دریای خزر با استفاده از آب لب شور. گزارش نهائی پروژه. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۸۳/۱۸۱ ۵۵ صفحه.
- پور کاظمی، م. ۱۳۷۶. نگرشی بر وضعیت تاسماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخائر آن. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال ششم، ص ص ۲۲-۱۳.
- پورکاظمی، م.: محسنی، م.: نوروز فشخامی، م.ر.: طاهری، س.ع.: چکمه دوز،ف.: برادران نویری، ش.: یارمحمدی، م.ک حسن زاده،م.: حلاجیان، ع.: کاظمی،ر. و بهمنی،م. ۱۳۸۵. مقایسه صفات مورفومتریک، مریستیک و رشد دورگه های حاصل از تلاقی فیلماهی (*Huso huso*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات ایران، سال پانزدهم، شماره ۱، ص ص .۶۶-۵۱.
- رضوانی گیل کلائی، س. ۱۳۷۷. بررسی قابلیت های پرورش ماهیان خاویاری، هشتمین همایش ملی شیلات ایران، ۲۸-۲۶ بهمن ۱۳۷۷، دانشگاه تهران، خلاصه مقالات، ص ص ۵۰-۴۹.
- علیزاده، م. ۱۳۸۶. بررسی امکان پرورش فیلماهی (*Huso huso*) در استخرهای خاکی آب لب شور. گزارش نهائی پروژه. مو سسه تحقیقات شیلات ایران. ۵۷ صفحه.
- کهنه شهری، م. و آذری تاکامی، ق. ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۹۰ صفحه.
- محسنی ، م. ; بهمنی، م. پورعلی، ح. کاظمی، ر. آق تومان، و. و پورکاظمی، م. ۱۳۸۴. تشکیل و پرورش گله های مولد از مولدین پرورش یافته در کارگاههای پرورش ماهی (فاز اول: بیو تکنیک پرورش گوشتی فیلماهی (*Huso huso*) در آب شیرین). گزارش نهائی پروژه. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. ۸۴/۱۰۲۳۹ ۱۳۳ صفحه.
- یوسفپور، ح.۱۳۷۰. پرورش ماهیان خاویاری در آب شیرین. کنفرانس ملی تکثیر و پرورش آبزیان. شرکت سهامی شیلات ایران. مجموعه مقالات، ص ص:۸۴-۶۵.

- Alavi, S.M.H.; Rodina, M.; Gela, D.and Linhart, O.2012.Sperm biology and control of reproduction in sturgeon: (II) testicular development, sperm maturation and seminal plasma characteristics. Rev. Fish Biol. Fisher., 22:695–717.
-Amini, K.; Siraj, S. S.; Mojazi Amiri, B.; Mirhashemi Rostami, S.A.; Sharr, A.; Hossienzadeh, H. 2012. Evaluation of LHRH-a acute release implantation on final maturation and spawning in not-fully matured broodstocks of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 11(3): 440-459.
-Berg, L.S. 1948. Freshwater fishes of the U.S.S.R. and the neighboring countries.USSR Academy of Science.505 p.
- Billard, R. & Lecointre, G.2001. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Rev.Fish Biol.Fish. 48:1164-1178.
-Bronzi, P. and Rosenthal, H. 2014. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: A global market overview. J. Appl. Ichthyol., 30: 1536–1546.
- Burtzev, I.A. 1999. The history of global sturgeon aquaculture. J.Appl. Ichthyol. 15(4-5): 325.
- Chebanov, M. & Billard, R.2001. The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquat.Living Resour., 14: 375-381.
- Congiu, L.; Dupanoloip,I.; Patarnello,T.; Fontana,F; Rossi,R.; Arlati,G. and Zone,I. 2001. Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon. Molecular Ecology, 10:2355-2359.
- Dettlaff, T.A.; Ginsburg, A.S. & Schmalhausen, O.I.1993. Sturgeon Fishes: Developmental biology and aquaculture, Springer-Verlag, Berlin.300 pp.
- Erkan, E. 2011. A glance on sturgeon farming potential of Turkey. Int. Aquat. Res., 3: 117-124.
- Fajfer, S.; Meyers, L.; Willman, G.; Carpenter, T. & Hansen, M,J. 1999. Growth of juvenile Lake sturgeon reared in tanks in three densities. North Am. J. Aquacul. 61:331-335.
- FAO, 2004 Global aquaculture outlook: an analysis of global aquaculture production forcasts to 2020.FAO Fisheries Circular,C100, Rome, Italy
-FAO,2005.Aquaculture production: quantities 1970-2005, Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit, FISHSTAT Plus: Universal software for fishery statistical time series, Version 2.3. 2000.
-FAO,2007.The State of World Fisheries and Aquaculture 2006, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries and Aquaculture Department, Rome, (www.fao.org/docrep/fao/009/a0699e/a0699e.pdf).
-FAO, 2014. Fisheries and aquaculture software. FishStatJ - software for fishery statistical time series. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 28 November 2013. [Cited 10 June 2014]. http://www.fao.org/fishery/statistics/ software/fishstatj/en
- Holcik, J.1989. The freshwater fishes of Europe, Vol.I. Part II. Acipenseriformes, Aula-Verlag, Weisbaden, 470 p.
-IUCN, 2015. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 15 June 2015.
- Ivanov, V.P. & Vlasenko, A.D.2001. The relic fish of the Caspian Sea, The sturgeons. Fish Farm. Fish., 1: 20-21.
-Kotenev, B.N.; Burtsev, I.A.; Nokolaev, A.I. & Dergalyova, J.T. 2001. The strategy of sturgeons preservation. Fish Farm.Fish. 1:13.
- Kozlov, V.I.1993. Sturgeon farming, VNIRO, Moscow, 64 p.
- Lenhardt, M.; Finn, R.N.; Cakic, P.; Kolarevic, J.; Krpo-Cetkovic, J.; Radovic, I. & Fyhn, H.J.2004. Analysis of the post-vitellogenic oocytes of the three species of the Danube Acipenseridae: beluga (Huso huso), Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) and starlet (*Acipenser ruthenus*). Bel.J. Zool., 134(1):77-80.
- Logan, S.H.; Johnstone, W.E. & Doroshov, S.I.1995. Economics of joint production of sturgeon (Acipenser transmontanus Richardson) and roe for caviar. Aquaculture, 130:299-316.
- Mojazi Amiri, B.; Moebayashi, M.; Omoto, N.; Adachi, S. and Yamauchi, K. 1999. In vitro oocyte maturation and ovulation in females and spermiation in males of a hybrid sturgeon, bester. Iran.J.Fish.Sci. 1:59-65.
-Nazari, R.M.; Modanloo, M.; Ghomi, M.R. and Ovissipor, M.R. 2010. Application of synthetic hormone LHRH-A2 on the artificial propagation of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Aquaculture International, 18(5):837–841.
- Omoto,N.; Meabayashi,M.; Adachi,S.;Arai,K. & Yamauchi,K.2005a.The influence of oocyte maturational stage on hatching and triploidy rates in hybrid (bester) sturgeon, *Huso huso* × *Acipenser ruthenus*. Aquaculture, 245 (1-4):287-294.

- Omoto, N.; Meabayashi,M.; Adachi,S.;Arai,K. & Yamauchi,K.2005b.Sex ratio of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female × *Acipenser ruthenus* male). Aquaculture, 245 : 39-47.
- Omoto, N.; Meabayashi,M.; Mitsuhashi,E.; Yoshitomi,K.; Adachi,S. & Yamauchi,K. 2001. Histological observations of gonadal sex differentiation in the F2 hybrid sturgeon, the bester. Fish.Sci. 67: 1104-1110.
- Piper, R.G.; McElwain, I.B.; Orme, L.E.; McCraren.J.P. Fowler, L.G. & Leonard, J.R. 1982. Fish hatchery management, 5th edition, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C., 517 pp.
- Raymarkers, C. 2002. Conservation and broodstock management. International trade in sturgeon and paddlefish species, The effect of CITES listing. Intern. Rev. Hydrobiol., 87(5-6): 525-537.
- Steffens, W.; Jahnichen,H. & Fredrich,F. 1990.Possibilities of sturgeon culture in central Europe.Aquaculture, 89:101-122.
-Williot,p.; Arlati,G.; Chebanov, M.; Gulyas,T.; Kasimov,R.; Kirschbaum, F.; Patriche,N.; Pavlovskaya,L.P.; Poliakova, L.; Pourkazemi,.; Kim,Y.; Zhaung,P.& Zholdasova,I.M. 2002. Conservation and broodstock management, Status and management of Eurasian sturgeons: An overview. Intern. Rev. Hydrobiol., 87(5-6): 483-506.
-Williot, P.; Brun, R.; Rouault, T.; Pelard, M.; Mercier, D. & Ludwig.A. 2005. Artificial spawning in cultured starlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites. Aquaculture, 246: 263-273.
- www.earthpolicy.org
- www.fishbase.org
- www.worldoceanreview.com

Abstract:

Aquaculture of sturgeon species and their hybrids is being considered as an important substitution for sturgeon catch due to highly decrease of natural populations, artificial propagation and fingerling release in the sea.
In this study, big bester, a new hybrid sturgeon (female beluga × male bester) was produced for the first time in IRAN. Sperm of 7350 ± 1682 kg male bester was used to fertilize the eggs of one 54 kg female *Huso huso*. The fries of big bester and control trestment of beluga were fed by artificial concentrated food (48-50% protein and 15-17% fat) after egg yolk absorbance, a period of feeding on *Artemia* and *Daphnia*.
Results showed that rearing and feeding of bester broods was efficient to reach the fish to maturation stage and there is an opportunity to collect qualified ova and sperm from F1 generation. Meanwhile sex determination and maturity assessment of gonads were successfully done via laparoscopy method.
The comparison of produced big bester fingerlings with control beluga fingerling showed that the weigth of big bester fingerlings has not significant difference with beluga's ($p< 0.05$) at the age up to 2 months.At 3 months of age, beluga fingerlings showed higher weight ($p>0.05$), but there are faster growth rate in big bester fingerlings from 3 months of age up to 5 months ($p> 0.05$) in comparison with belugs fingerlings. Meanwhile no statistically significant difference was found between length of big bester and beluga fingerlings among any age.
The results of current study showed the potential of rearing male bester to produce matured broods and collection of their sperm for big bester production.

Keywords: beluga, bester, hybridization, big bester, aquaculture, Iran

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – International Sturgeon Research Institute

---

Project Title: Big bester production probability study
Approved Number: 2-86–12–89085
Author: Shahrouz Baradaran Noveiri
Project Researcher: Shahrouz Baradaran Noveiri
Collaborator(s)*:* M. Pourkazemi, M. Hassanzade Saber, M.A. Yazdani Sadati, R. Kazemi, H. Mohammadi Parashkuh, M.R. Nowrouz fashkhami, A.R. Alipor, A. Hallajiyan
Advisor(s): -
Supervisor: M. Salehi
Location of execution: Guilan province
Date of Beginning: 2011
Period of execution : 4 years and 6 months
Publisher: Iranian Fisheries Science Research Institute
Date of publishing: 2017

All Right Reserved. No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute - International Sturgeon Research Institute

Project Title:

Big bester production probability study

Project Researcher:

Shahrouz Baradaran Noveiri

Register NO.
51737