وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

امکان تولید نتاج تمام ماده در تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با استفاده از گاینوژنزیز و اسپرم هترولوگ

مجری:
محمد حسن‌زاده صابر

شماره ثبت
٦١١٤٥

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/پروژه: امکان تولید نتاج تمام ماده در تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با استفاده از گاینوژنزیز و اسپرم هترولوگ
کد مصوب: ۹۸۰۰۶۲-۰۰۱-۱۲-۳۲-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: محمد حسن‌زاده صابر
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -
نام و نام خانوادگی مجری: محمد حسن‌زاده صابر
نام و نام خانوادگی همکار(ان): شهروز برادران نویری، محمد پورکاظمی، محمد علی یزدانی ساداتی، مهتاب یارمحمدی، هوشنگ یگانه راسته کناری، محمد رضا نوروزفشخامی، محمد پوردهقانی پیشکناری، جلیل جلیل پور رودکلی، تورج رئوفی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان گیلان
تاریخ شروع: ۱۳۹۶/۱/۱
مدت اجرا: ۳ سال و ۶ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۰
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: امکان تولید نتاج تمام ماده در تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با استفاده از گاینوژنزیز و اسپرم هترولوگ

کد مصوب : ۹۸۰۰۶۲-۰۰۱-۱۲-۳۲-۲

شماره ثبت (فروست) : ۶۱۱۴۵ تاریخ : ۱۴۰۰/۱۲/۴

با مسئولیت اجرایی جناب آقای محمد حسن‌زاده صابر دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست‌فناوری و فرآوری آبزیان در تاریخ ۱۴۰۰/۱۱/۱۰ 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 بین‌المللی ماهیان خاویاری مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱-مقدمه ۲
۱-۱- تعریف ماده زایی (گاینوژنزیز) ۴
۱-۱-۱-گاینوژنزیز طبیعی ۴
۱-۱-۲-گاینوژنزیز القایی (مصنوعی) ۵
۱-۲- دلایل استفاده از اسپرم هترولوگ ۱۰
۱-۳- چگونگی تشخیص ماهیان دیپلوئید گاینوژنتیک ۱۱
۱-۵- روشهای ارزیابی کیفی اسپرم با DNA غیرفعال شده توسط اشعه UV ۱۳
۱-۶- فرضیه ها/ پیش فرض ها ۱۳
۱-۷- اهداف اصلی ۱۴
۲- مروری بر پیشینه پژوهش ۱۵
۳- مواد و روش ها ۱۹
۳-۱- مولدین ۱۹
۳-۲- تهیه مایع سمینال و رقیق سازی اسپرم ۲۰
۳-۳- تخریب DNA در اسپرم با تابش اشعه UV ۲۱
۳-۴- بررسی میزان تحرک اسپرم ۲۲
۳-۵- عملیات لقاح و شوک سرمایی ۲۳
۳-۶- پرورش لارو و بچه ماهی ۲۵
۳-۷- ارزیابی ژنتیکی ۲۵
۳-۷-۱- استخراج DNA ۲۶
۳-۷-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۷
۳-۷-۳- طرز تهیه ژل پلی اکریلامید ۶٪ و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره ۲۸
۳-۷-۴- ثبت تصاویر ۲۹
۳-۸- مقایسه مشخصات ظاهری تاسماهی سیبری گاینوژنتیک و دورگه ها ۲۹
۳-۹- آنالیز آماری ۲۹
۴- نتایج ۳۰
۴-۱- درصد تحرک اسپرم تازه و اسپرم UV داده شده ۳۰

۴-۲- درصد لقاح و تفریخ در تیمارهای هاپلوئید به منظور تعیین بهترین تیمار اشعه..... ۳۱
۴-۳- درصد لقاح و تفریخ در تیمارهای گاینوژنتیک وتاثیر شوک سرما..... ۳۲
۴-۴- ارزیابی ژنتیکی نتاج گاینوژنتیک و والدین آنها..... ۳۴
۴-۵- نتایج حاصل از مقایسه مشخصات ظاهری تاسماهی سیبری، تاسماهی ایرانی و دورگه ها..... ۳۷
۵- بحث..... ۴۲
۶- نتیجه گیری..... ۴۹
پیشنهادها..... ۵۰
منابع..... ۵۱
چکیده انگلیسی..... ۶۰

چکیده

تاسماهی سیبری *(Acipenser baerii)* در تقسیم بندی IUCN به عنوان گونه در معرض خطر انقراض (EN) دسته بندی شده و ماده زایی (گاینوژنزیز) به منظور تولید جنس ماده به واسطه ارزش اقتصادی خاویار مورد توجه پرورش دهندگان می باشد. این مطالعه با هدف ایجاد جنس ماده تاسماهی سیبری با استفاده از القای گاینوژنزیز و اسپرم هترولوگ، صورت گرفت. اسپرم هترولوگ تاسماهی ایرانی *(Acipenser persicus)* در معرض اشعه UV با شدت ۴۷۳ میکروووات/سانتی متر مربع و مدت زمان ۱۸۰ ثانیه (دوز ۸۵۱۴ ژول بر متر مربع) قرار گرفت و تخریب DNA اسپرم با موفقیت انجام شد. پس از این مدت زمان در معرض قرارگیری اسپرم تحت اشعه UV، میزان تحرک اسپرم ۴۰ درصد، میزان لقاح در تخم های هاپلوئید ۳۸/۳ درصد (هیبرید شاهد ۶۲ درصد) و میزان تفریخ در تخم های هاپلوئید ۰/۶ درصد در مقایسه با اسپرم هیبرید شاهد (۴۰/۵ درصد) ارزیابی شد. در ترکیب این اسپرم با تخمک تاسماهی سیبری و در معرض قرارگیری تخم لقاح یافته در شوک سرمایی ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه، ۱۰ دقیقه بعد از فعالیت، نتاج گاینوژنتیک تاسماهی سیبری ایجاد گردید. در این حالت میزان لقاح ۴۴/۵ درصد و میزان تفریخ ۱۹/۸ درصد افزایش یافت که نشان دهنده رعایت شرایط استاندارد تاثیر شوک سرمایی در دیپلوئیدسازی نتاج هاپلوئید و القای موفق گاینوژنزیز می باشد. وراثت پذیری نتاج گاینوژنتیک با استفاده از مارکرهای میکروستلایت (*Afu-68*، *Afug-9*، *Afug-63*، *Afug-112*، *Afug-122* و *Afug-195*) نشان داد که این فرزندان دارای الگوی اللی صرفاً مادری می باشند. در این بررسی، آنالیز نشانگرهای فنوتیپی (مورفومتریک و مریستیک) در دورگه های حاصل از تاسماهی سیبری ماده و تاسماهی ایرانی نر نشان دادند که دورگه ها حد واسط والدین خود می باشند، اما اگر اسپرم در معرض اشعه UV قرار نگیرد و فعال ژنتیکی باشد، دورگه ای تشکیل خواهد شد که نتاج دورگه، از ماهیان گاینوژنتیک در صورت داشتن مهارت کافی قابل تشخیص می باشند. با دستیابی به بیوتکنیک تولید اسپرم با DNA غیرفعال شده تاسماهی ایرانی، امکان جلوگیری از خطر انقراض و حفاظت از سایر تاسماهیان در معرض خطر انقراض، به وسیله القای گاینوژنزیز فراهم گردیده است.

واژگان کلیدی: تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*)، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ، گاینوژنزیز، اسپرم هترولوگ.