مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

استفاده از پرتودهی در تولید جمعیت تمام ماده ماهیان آزاد و خاویاری

غلامرضا شاه حسینی*[۱]، علیرضا نیسی[۱]، مهدی سلطانی[۲] ، علی طاهری میر قائد[۲]، سید ولی حسینی[۳]
پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای - پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای [۱]، دانشکده دامپزشکی - دانشگاه تهران[۲]، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی- دانشگاه تهران[۳]
• نویسنده مسئول: gshahhosseini@nrcam.org

چکیده: همواره آبزی پروری با مشکلات ناشی از بلوغ زود هنگام جنسی روبرو بوده است. برای حل این مشکلات استفاده از جمعیت های تک جنس می‌تواند مفید باشد. تولید جمعیت تمام‌ماده در آزاد ماهیان به علت افزایش شاخص های رشدی و در ماهیان خاویاری به علت افزایش تولید خاویار از اهمیت زیادی برخوردار است. از جمله روش‌های تولید جمعیت تک جنس ماده استفاده از تکنیک‌های نر سازی (روش غیر مستقیم)، ماده سازی (روش مستقیم) و ماده زایی می‌باشد. استفاده از هورمو نهای جنسی با روش مستقیم و غیر مستقیم با محدودیت‌هایی از جمله منع مصرف و زمانبر بودن روبرو می‌باشد. یکی از روش های تولید جمعیت تک جنس ماده استفاده تکنیک ماده زایی با استفاده از پرتوهای یونساز و غیر یونساز می‌باشد. در ماده زایی ابتدا با استفاده از پرتوتابی ژنوم اسپرم تخریب می شود. در اینجا اسپرم تنها نقش فعال‌کننده سلول تخمک را در زمان لقاح ایفا می‌کند. در مرحله بعد برای ایجاد یک موجود دیپلوئید از شوک فیزیکی و یا شیمیایی استفاده می‌کنیم. در آزاد ماهیان با توجه به سیستم تولید مثلی XX ماده و XY نر می‌توان تولید یک جمعیت تمام ماده کرد. با توجه به سیستم تولید مثلی ZZ نر و ZW ماده در ماهیان خاویاری استفاده از تکنیک ماده زایی منجر به وجود آمدن درصدی ماهیان خاویاری ابرماده می گردد. تولید جمعیت ابر ماده در مورد ماهیان خاویاری به دلیل تولید جمعیت تمام ماده در نسل بعد ارزشمند می‌باشد.

کلید واژه: بلوغ زودرس،هورمون، نرسازی، پرتو دهی، ماده زایی

Use of irradiation in all female fish population (salmonids and sturgeon)

G. Shahhosseini [1]*, A. Neissi[1], M. Soltani[2], A. Taheri Mirghaed[2], Seyed Vali Hosseini[3]
Nuclear Agriculture Research School – Nuclear Science and Technology Research Institute[1], Faculty of Veterinary Medicine - University of Tehran[2], Faculty of Agriculture and Natural Recourses - University of Tehran[3]
* gshahhosseini@ nrcam.org

Abstract: Aquaculture has been affected by the problems of early sexual maturation. Use of gynogenesis and androgenesis for production of mono-sex population can be useful to resolve these problems. Production of all female population in salmonids and sturgeon is great importance. Use of masculinization and gynogenesis techniques is useful for production of single-sex population. Application of sexually hormones by use of direct and indirect methods is encountered by a lot of problems such as long time duration. Use of irradiation is One way to producing a single sex population (gynogenesis and androgenesis). In gynogenesis sperm's genome will be damage and sperm have played only activator role. In the next step diploid inducing will happen by use of physical shock (temperature and pressure). Producing of all female population of Salmonids is possible according to reproductive system (XX females and XY male). In sturgeon according to reproductive system (ZW females and ZZ male) super-female population will induce by use of gynogenesis technique.

Keywords: Early Sexual Maturation, Hormone, Masculinization, Irradiation, Gynogenesis

بلوغ زودرس جنسی

با افزایش تقاضا برای تولید غذا از طریق آبزی پروری، پرورش ماهیان اهمیت خاصی پیدا می کند [۱]. همواره این صنعت مهم با مشکلاتی نظیر بلوغ زودرس جنسی روبرو بوده است، که این می تواند سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی، کندی رشد، حساسیت نسبت به بیماری‌ها و غیره شود. کاهش رشد بدن در بسیاری از ماهیان تحت تأثیر پدیده بلوغ جنسی می‌باشد [۲]، زیرا انرژی که باید صرف تولید گوشت شود، صرف توسعه اندام های تولیدمثلی، آشکارسازی صفات ثانویه جنسی و رفتارهای تولید مثلی می‌شود. از جمله راهکارهای حل این معضلات استفاده از روش های تک جنسی کردن ماهیان می باشد. دربعضی از ماهیان نظیر آزاد ماهیان پدیده بلوغ جنسی در جنس نر خیلی زودتر از جنس ماده به وقوع می‌پیوندد [۳] و امکان بالغ شدن این جنس در طی عملیات پرورش بسیار بالا می باشد که این به ضرر پرورش دهنده است. در حالی که جنس ماده در این دوره به ندرت بالغ می‌شود [۴]. لذا استفاده از جمعیت های تمام ماده که به طرق مختلف تولید شده باشند، باعث افزایش بازده تولید می گردد [۵]. از دیگر مزایای تولید جمعیت های تمام ماده، استفاده از آن‌ها به عنوان گله مولد است چرا که در مولد سازی و تکثیر انبوه تعداد مولد ماده بیشتری، نسبت به مولدین نر مورد نیاز است. ایجاد جمعیت ماده در ماهیان خاویاری با هدف افزایش میزان خاویار به عنوان یک کالای استراتژیک صورت می گیرد [۶]. روشهایی زیادی از جمله استفاده از تیمار هورمونی (مستقیم و غیر مستقیم) و همچنین پرتودهی (ماده زایی) برای تولید جمعیت تمام ماده ماهیان استفاده می گردد.

تولید جمعیت تک جنس

استفاده از هورمون برای تولید جمعیت تمام ماده

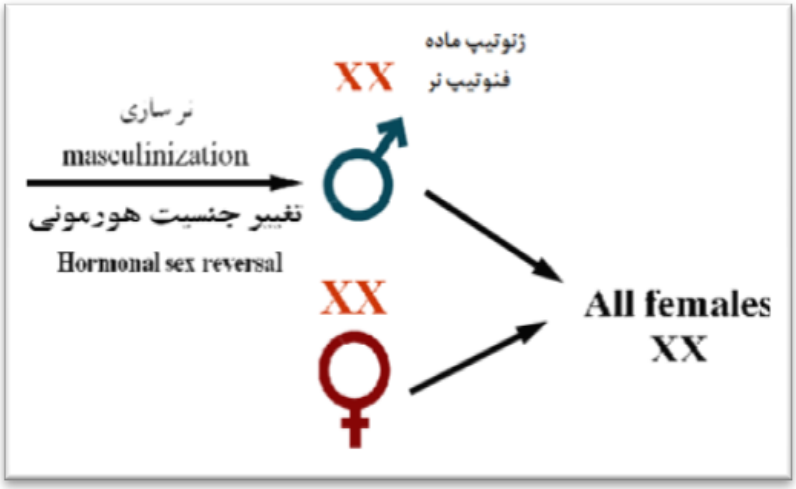
استفاده مناسب از هورمونهای جنسی برای تولید یک جمعیت تک جنس ماهی بستگی به عوامل زیادی از جمله زمان استفاده، دوره استفاده، گونه ماهی، شرایط محیطی و ... دارد [۴]. مقدار و زمان استفاده از تیمار هورمونی بستگی به زمان تمایز جنسی در گونه ماهی دارد. در بعضی از گونه ها مانند ماهیان زنده زا که تمایز جنسی قبل از تفریخ اتفاق می افتد، استفاده از تیمارهای هورمونی قبل از تفریخ صورت می گیرد [۷] و در برخی دیگر گونه های دیگر مانند آزاد ماهیان تمایز جنسی بعد از تفریخ صورت می گیرد در این استفاده از تیمار هورمونی در این زمان صورت می گیرد. از استروئید های جنسی مخصوصاً β۱۷- استرادیول برای تولید جمعیت تمام ماده اتفاده می شود [۴]. معمولاً میزان هورمون مورد استفاده در مورد ماهیان گوشتخوار (آزادماهیان) کمتر از گونه های گیاه‌خوار (کپورماهیان) می باشد [۴].

استفاده مستقیم از هورمون

از راه های تولید جمعیت تمام ماده (ماده‌سازی) استفاده از تیمار مستقیم هورمونی می‌باشد [۴] با استفاده از ۳ روش غوطه‌وری، تزریق و خوراکی می‌توان به طور مستقیم از هورمون ها جهت ایجاد جمعیت تمام ماده استفاده کرد. اما ماهیان ماده ای که به وسیله تیمار هورمونی تولید می شوند از لحاظ قانونی در بسیاری از کشورها با توجه به اثرات مضرر هورمون ها در مصارف انسانی دارای محدودیت می باشد و مصرف کنندگان نیز تمایلی به مصرف این محصولات ندارند [۸].

استفاده غیر مستقیم از هورمون

یکی دیگر از راه های تولید جمعیت تمام ماده استفاده از تیمار غیر مستقیم هورمونی یا نرسازیی است [۸]. در این روش جمعیت های مورد استفاده برای مولد سازی در مراحل اولیه تکامل بوسیله هورمون های آندروژنی تیمار می‌شوند، مولدینی که به این شکل تولید می‌شوند از لحاظ عملکرد فنوتیپی مانند نرها هستند ولی از نظر ژنوتیپی ماده XX می‌باشند. اسپرم این ماهیان تنها حامل کروموزوم های X می باشد که در ترکیب با تخمک ماده های معمولی تولید جمعیت تمام ماده می نماید. برای استحصال مواد تناسلی به نرهایی که بدین طریق تولید شده‌اند نرهای تغییر جنسیت یافته یا Neomale می‌گویند [۸]. اما استفاده از تیمار غیر مستقیم هورمونی نیز بسیار زمان بر و همیشه موفقیت آمیز نمی‌باشد. از طرفی در این روش ین ماهیان، مولد باید کشته شوند [۷].



ماده زایی

جهت انجام ماده زایی در ماهیان ابتدا تخریب ژنوم اسپرم با استفاده از از پرتودهی اسپرم صورت می‌گیرد، سپس توسط شوک فیزیکی و یا شیمیایی القای دیپلوئیدی در ماهیان برای تولید جمعیت تک جنس صورت می‌گیرد [۷]. نقش اسپرم در لقاح با استفاده از این روش تنها به عنوان یک عامل فعال‌کننده در جهت خروج گویچه قطبی دوم می‌باشد. برای عدم خروج گویچه قطبی دوم و القا دیپلوئیدی از شوک فیزیکی (معمولا دمایی) استفاده می‌گردد. شوک‌های فیزیکی مورد استفاده در این روش معمولاً شامل شوک فشار و دمایی(سرما و گرما) می‌باشد [۹]. پرتوهایی جهت غیرفعال سازی محتوی ژنتیکی اسپرم در آزمایش‌های ماده زایی، می‌توان در دو گروه پرتوهای یونساز با انرژی زیاد (گاما و ایکس) و پرتوهای غیر یونساز با انرژی کم (UV) تقسیم بندی کرد. برخلاف دیگر جانوران سیستم توارث کروموزومی در ماهیان بسیار پیچیده بوده است، به طوری که تا کنون ۹ سیستم توارث جنسیت در آنها گزارش شده است [۱۰]. درصد موفقیت در ماده زایی در گونه‌های مختلف ماهی با توجه به سیستم توارث کروموزومی دارای تفاوت می‌باشد.

پرتودهی

استفاده از پرتوهای یونساز

پرتوهای یونساز، دسته ای از فوتونهای پر انرژی هستند که پس از برخورد با اتم یا مولکول موجب برداشتن الکترونها از لایه های انرژی آنها شده و این اتمها یا مولکولها را به یونهای مثبت تبدیل می نمایند. تاکنون دو دسته از پرتوهای یونساز یعنی پرتو گاما و اشعه ایکس در جهت از بین بردن مواد ژنتیکی در ماده زایی مورد استفاده قرار گرفته است.

۱- **پرتو گاما:** پرتوی گاما فوتونهای پر انرژی با طول موج بسیار کوتاه است، که در دامنه امواج الکترو مغناطیسی بعد از اشعه ایکس، با طول موج ۰/۱ تا ۰/۰۰۰۵ نانومتر قرار گرفته اند. پرتو گاما از واکنشهای تجزیه هسته ای حاصل می گردد. منبع تولید این پرتو معمولا کبالت (Co^{60}) و سزیم (Cs^{137}) می باشد.

۲- **پرتو ایکس:** در طیف الکترومغناطیسی، اشعه ایکس پس از پرتو ماوراءبنفش قرار دارد. طول موج آن از ۰/۰۱ تا ۱ نانومتر می باشد. این اشعه در ماشینهای خاصی بوسیله بمباران تنگستن یا مولیبدن بوسیله الکترون تولید می شود. شدت پرتوهای یونیزان بر اساس واحد Rad که معادل جذب تابش ۰/۰۱ ژول به ازای کیلوگرم بافت بیان می‌گردد. واحد دیگر آن گری(Gy) است که معادل یک ژول به ازای کیلوگرم بافت می‌باشد.

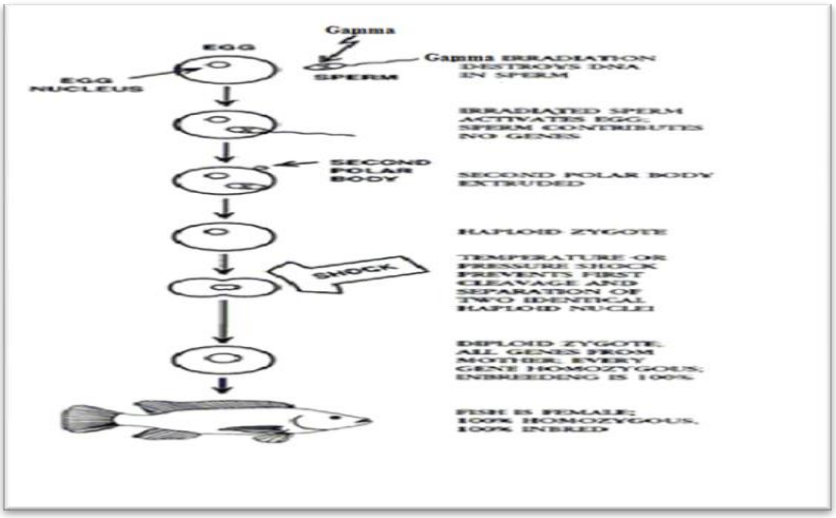
مکانیسم پرتو های یونساز در تخریب ژنوم اسپرم

یکی از راه‌های القای جمعیت تمام ماده در آزاد ماهیان عقیم سازی اسپرم با استفاده از پرتو گاما ساتع شده از کبالت ۶۰ و یا سزیم ۱۳۷ می‌باشد [۹]. تأثیر پرتو گاما بر محتوی وراثتی اسپرم ماهی را می توان بدین شرح توضیح داد که در اثر فرآیند یونیزاسیون در سلول رادیکالهای مثبت و الکترونهای آزاد تولید می گردد. رادیکالها و الکترونها هر دو ناپایدار و فعال هستند. معمولاً الکترونهای آزاد مولکولهای آب را پلاریزه کرد و به الکترونهای هیدراته تبدیل می‌نمایند. از طرف دیگر رادیکالهای ایجاد شده با اکسیژن مولکولی واکنش داده که این تشکیل رادیکال پراکسی می‌نماید. ژنوم اسپرم در اثر برخورد ذرات پرتو شکسته شده و به قطعاتی تبدیل می گردد. بعلاوه رادیکالهای فعال حاصل از فرآیند یونیزه کردن نیز با DNA واکنش نشان می دهند.

ماده زایی در آزاد ماهیان

بر اساس اطلاعات موجود سیستم توارث کروموزومی در آزاد ماهیان از سیستم XY تبعیت می نمایند که در آن جنس نر هتروگامت یا XY و جنس ماده هوموگامت یا XX می باشد [۱۰]. در گونه هایی که ماده‌ها هوموگامت هستند، برای تولید جمعیت تمام ماده از ژینوژنز استفاده می شود [۱۱, ۱۲]. برای القای ماده زایی از روش های مختلفی از جمله شیمیایی و فیزیکی استفاده می گردد. روشهای فیزیکی شامل استفاده از پرتوتابی در تولید جمعیت تمام ماده می باشد. بنابر این در آزاد ماهیان برای تولید ماهیان تمام ماده ابتدا ژنوم اسپرم تخریب گردیده و فقط از ژنوم مادری استفاده می گردد. در این خانواده از طریق شوک فیزیکی و یا شیمیایی زودهنگام (میوتیک) می‌توان مانع خروج گویچه قطبی دوم شده که این منجر به تولید افراد XX یا تمام ماده می‌شود [۱۳]. روش دیگر برای این خانواده استفاده از تکنیک ماده زایی میتوتیک با استفاده از شوک دیرهنگام است [۱۳]. با توجه به اینکه تلفات در این روش زیاد می‌باشد معمولاً از این روش جهت لاین‌سازی استفاده می گردد.

روش های فیزیکی ایجاد شوک شامل فشار و دما (سرمایی و گرمایی) و مواد شیمیایی شامل استفاده از فرمالین، کلشی‌سین و ... می‌باشد.



ماده زایی در ماهی خاویاری

دستکاری کروموزومی در بسیاری از گونه‌های ماهی با اهداف مختلفی گزارش شده است. در پرورش ماهیان خاویاری هدف اصلی از دستکاری کروموزومی تولید خاویار می‌باشد. با توجه به کاهش جمعیت طبیعی ماهیان خاویاری تولید جمعیت تمام ماده این ماهی برای تولید خاویار دارای اهمیت می‌باشد [۱۴]. استفاده از تکنیکهای ماده زایی و تغییر جنسیت این گونه از ماهیان می‌تواند مورد توجه آبزی‌پروران قرار گیرد [۱۵].

گونه های مختلف ماهی خاویاری دارای ۲نوع سیستم تعیین جنسیت XY نر و XX ماده و یا ZW ماده و ZZ نر می‌باشند. برای آن دسته از ماهیان خاویاری که دارای سیستم تعیین جنسیت ZW ماده و ZZ نر می‌باشند، حداقل ۵۰ درصد از نسل القا یافته با روش ماده زایی ماده خواهند شد که این با لقاح طبیعی تفاوتی ندارد. اهمیت کار در این است که در ماده زایی این گونه از ماهیان جمعیت سوپر ماده WW تولید خواهد شد، که تولید این جمعیت با این سیستم تولید مثلی برای ما ارزش زیادی دارد [۱۶]. در صورت رسیدن جمعیت مولد سوپر ماده WW ماهیان خاویاری به سن بلوغ و تولید مثل می‌توان با لقاح این ماهیان با ماهی نر معمولی ZZ در نسل بعد به یک جمعیت تمام ماده دست پیدا کرد که این از نظر اقتصادی به دلیل اهمیت خاویار ارزشمند می‌باشد [۱۰, ۱۶].

نتیجه گیری

اگرچه استفاده از انرژی هسته ای در علوم فنی، پزشکی و کشاورزی از سابقه بیشتری برخوردار است لیکن این امر در علوم شیلاتی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. شایان ذکر است که القای این گونه روشها در علوم شیلاتی بسیار حائز اهمیت بوده و منجر به تولید جمعیتهای تک جنس می گردد. از مهمترین مزایای ایجاد جمعیت تک جنس به روش ماده‌زایی ایجاد لاینهای همخون، تولید جمعیت تمام ماده دارای رشد بیشتری (قزل آلای رنگین کمان) و در ماهیان خاویاری منجر به تولید

خاویار بیشتر می‌گردد. در مجموع به نظر می‌رسد با استفاده از تکنیک های هسته ای می‌توان به افزایش تولید آبزی پروری دست پیدا کرد.

References:

۱.FAO. *org.statistics*. 2006.
۲ .Johnstone, R., et al., *Sex reversal rainbow trout.* Aquaculture, 1979. **18**: p. 13-19.
۳ .Bye, V.J. and R.F. Lincoln, *Commercial methods for the control of, sexual maturation in rainbow trout (Salmo gairdneri R.).* Aquaculture ۱۹۸۶. ۵۷:, p. 299-309.
۴ .Pandian, T.J. and S.G. Sheela, *Hormonal induction of sex reversal in fish.* Aquaculture, 1995. **138**: p. 1-22.
۵ .Sheehan, R., et al., *Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout.* Trans. Am. Fish. Soc, 1999. **128** :p. 491-498.
۶ .Logan, S.H., W.E. Johnston, and S.I. Doroshov, *Economics of joint production of sturgeon (Acipenser transmontanus Richardson) and Roe for Caviar.* Aquaculture 1995. **130**(299-316.(
۷ .Kato, K., et al., *Viability, growth and external morphology of meiotic- and mitotic gynogenetic diploids red sea bream, Pagrus major.* Journal of Applied Ichthyology, 2001. **17**: p. 97-103.
۸ .Benfey, T.J., *Use of all-female and triploid salmonids for aquaculture in Canada.* Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, 1996. **96-2**: p. 6-8.
۹ .Kato, K., et al., *Viability, growth and external morphology of meiotic- and mitotic gynogenetic diploids red sea bream, Pagrus major.* Journal of Applied Ichthyology, 2001. **17**: p. 97-103.
۱۰ .Devlin, R.H. and Y. Nagahama, *Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences.* . Aquaculture, 2002. **208**: p. 191-364.
۱۱ .Quillet, E., et al., *The potential of brown trout (Salmo trutta L.) for mariculture in temperate waters.* Agric Sci, 1992. **6**: p. 63-76.
۱۲ .Komen, J., et al., *Gynogenesis in common carp (Cyprinus carpio) in Growth, phenotypic variation and gonad differentiation in normal and methyl testosterone treated homozygous clones and F1 hybrids.* Aquaculture ۱۹۹۳. ۱۱۱:, p. 271-280.
۱۳ .Fopp-Bayat, D., *Verification of meiotic gynogenesis in Siberian sturgeon (Acipenser baeri) using microsatellite DNA and cytogenetical markers.* J. Fish. Biol, 2007. **77**: p. 478-485.
۱۴ .Fopp-Bayat, D., *Meiotic gynogenesis revealed not homogametic female sex determination system in Siberian sturgeon (Acipenser baeri Brandt).* Aquaculture, 2010. **305**: p. 174-177.
۱۵ .Van Enennaam, A.L., et al., *Evidence of female heterogametic genetic sex determination in white sturgeon.* J. Hered, 1 :۹۰ .۹۹۹p. 231-233.
۱۶ .Fopp-Bayat, D., R. Kolman, and P. Woznicki, *Induction of meiotic gynogenesis in sterlet (Acipenser ruthenus).* Aquaculture 2007. **264**: p. 54-58.