

امکان دورگه‌گیری گویی (*Poecilia reticulata*) و پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) و بررسی شاخص‌های رشد و تولید مثلی لاروهای حاصله

علیرضا سردارآبادی^{۱*}، محمد سوداگر^۱، عباس‌علی حاجیبگلو^۱

۱-دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، گروه تکثیر و پرورش آبزیان

*m.sc.alireza.sardar@gmail.com

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

چکیده

از اواخر قرن نوزدهم، مطالعات زیادی راجع به دورگه‌گیری در ماهیان انجام شده است. دورگه‌گیری یکی از روش‌های کاربردی اصلاح‌نژاد در آبزیان جهت افزایش توان تولید، افزایش نرخ رشد، دستکاری نسبت جنسی در لاروها، تولید نوزادان عقیم، بهبود کیفیت گوشت، افزایش مقاومت نسبت به بیماری‌ها و برای بهبود صفات دیگری که منجر به بالابردن سودآوری ماهی می‌شود. از آن‌جا که ماهی‌های زینتی به دلیل زیبایی ظاهری و گونه‌های متفاوت خود همواره مورد توجه قرار داشته‌اند و مطالعات کمی نیز بر روی آن‌ها انجام شده‌است، لذا در این آزمایش امکان دورگه‌گیری بین ماهی گویی و پلاتی و همچنین بررسی شاخص‌های رشد و تولید مثلی زاده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از لارو گویی و پلاتی با سن تقریبی ۴ هفته استفاده شد. تعداد ۳۶ قطعه گویی با نسبت جنسی ۱:۲ ماده به نر و ۳۶ قطعه پلاتی با نسبت جنسی ۱:۲ ماده به نر داخل ۱۲ اکواریوم قرار گرفتند. ماهی‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار شامل گویی نر پلاتی ماده، گویی ماده پلاتی نر، گویی نر گویی ماده، پلاتی نر پلاتی ماده تقسیم‌بندی شده و با جیره غذایی بیومار تغذیه شدند. امکان دورگه‌گیری بین ماهیان گویی و پلاتی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آزمایش نشان داد که در تیمارهایی که انتظار ایجاد دورگه وجود داشت هیچ بارداری مشاهده نشد و لاروی حاصل نیامد.

کلمات کلیدی: دورگه، هیبرید، ماهی گویی، ماهی پلاتی، آکواریوم

مقدمه

با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان، علم ژنتیک به عنوان ابزاری در راستای افزایش تولید در واحد سطح در اختیار بشر قرار گرفته است، به طوری که امروزه دانش ژنتیک و اصلاح نژاد، نقش موثری در افزایش تولید دام و آبزیان ایفا می کند. هیبریدگیری یکی از روش های بسیار موثر در معرفی گونه های جدید برای افزایش تولید، افزایش درصد بازماندگی، مقاومت نسبت به بیماری ها، سازگار شدن با محیط های پرورش و ایجاد تغییر در ساختار تولیدمثل می باشد. این روش اصلاح نژادی را می توان به تلاقی افراد متفاوت از لحاظ ژنتیکی اطلاق کرد که به صورت آمیزش درون گونه ای و یا بین گونه ای رخ دهد (Allendorf et al., 2001). آمارها نشان می دهند که بیش از ۲۵٪ از گونه های گیاهی و ۱۰٪ از گونه های جانوری در طبیعت هیبرید هستند (Mallet, 2005).

ماهی گوپی با نام علمی *Poecilia reticulata* جزء خانواده ماهی های زنده زای می باشد. تنوع رنگ و زیبایی این ماهی از یک سو و مقاومت بالا نسبت به تغییرات پارامترهای فیزیکی و شیمیایی و سهولت تکثیر و پرورش از سوی دیگر باعث شده این ماهی طرفداران زیادی در سراسر جهان پیدا کند. نرها در مقایسه با ماده ها کوچک تر و رنگی بوده و دارای گونوپودیوم و باله های بلندتر هستند. ماده ها رنگ کدر دارند و باله دمی آن ها مقداری رنگی است و دارای لکه بارداری می باشند. در شرایط طبیعی، خانواده ی پوئسیلیده در سن ۱۰-۱۲ هفتگی به بلوغ جنسی می رسند (Milton and Arthington, 1983). جنس نر تا حدودی ویژگی قلمرو طلبی داشته و در هر گروه معمولاً یک نر غالب دیده می شود. معمولاً در جنس نر رقابت بر سر جفت نیز مشاهد می شود (Frank et al., 1998). معمولاً جنس ماده با نری جفت گیری می کند که خصوصیات ثانویه جنسی برجسته تری از لحاظ اندازه جثه، رنگ و طول باله ها داشته باشد (Janson and Basolo, 2003). ماهیان گوپی همانند بسیاری از اعضای خانواده پوئسیلیده همه چیزخوار بوده و می توانند از منابع گیاهی (مانند جلبک ها)، سخت پوستان کوچک و حشرات آبی تغذیه کنند (Rodriguez, 1997; Arthington, 1989). ماهی گوپی از گونه های گرمسیری بوده و دمای بهینه برای آن بین ۲۴-۳۰ درجه سانتی گراد می باشد (Liley and Seghers, 1975). همچنین این ماهی زنده زای آب شیرین متعلق به آب های پست و بومی شمال شرقی آمریکای جنوبی و جزایر واقع در

دریای کارائیب شرقی می باشد (Dussault and Kramer, 1981).

ماهی پلاتی با نام علمی *Xiphophorus maculatus* از جمله ماهیان تخم گذار زنده زای بوده و دارای لقاح داخلی می باشد. جنس ماده در هر دوره زایمان می تواند تا ۹۰ عدد لارو تولید کند. همانند ماهیان گوپی، جنس نر ماهی پلاتی دارای رفتار تحاجمی و قلمرو طلبی و سیستم چند همسری است. نر غالب معمولاً هنگام جفت گیری شنای مارپیچی شکل و رفتار های عاشقانه از خود نشان می دهد. جنس ماده در شرایط طبیعی معمولاً تمایل به جفت گیری با نری را دارد که دارای الگوی رنگی متفاوتی با بدن خود ماده باشد (Borowsky and Kallman, 1972). این ماهی همه چیزخوار است و در شرایط طبیعی معمولاً از انواع کرم ها، حشرات، سخت پوستان کوچک و مواد گیاهی تغذیه می کند (Milton and Arthington, 1983). بین اندازه بدن و میزان همآوری یک رابطه خطی وجود دارد. به طور کلی ماده های بالغ با جثه بزرگتر توانایی تولید لارو بیشتری در هر دوره از زایمان را دارند. ارتباط غذایی بین مولد ماده و جنین وجود ندارد و جنین در طول تکامل مراحل جنینی فقط از ذخایر زرده استفاده می کند.

مواد و روش ها

اجرای این تحقیق و آزمایشات مربوط در یک کارگاه تکثیر و پرورش خانگی که از روشنایی کافی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) و سیستم تهویه مناسب برخوردار بود، صورت گرفت. از آنجا که ماهی گوپی و پلاتی ماده قادر هستند اسپرم دریافتی از جنس نر را برای ماه ها ذخیره سازی کنند (Tavolga, 1949)، به منظور انجام این آزمایش اقدام به خرید لارو های ۳ تا ۵ روزه گوپی و پلاتی گردید. با توجه به اینکه تعداد ۳۶ قطعه ماهی گوپی و ۳۶ قطعه ماهی پلاتی بالغ آماده به تکثیر با نسبت جنسی ۲:۱ ماده به نر مورد نیاز بود؛ پس از بررسی های به عمل آمده، با در نظر گرفتن تلفات احتمالی تعداد ۳۰۰ عدد بچه ماهی گوپی و پلاتی خریداری شد. برای پیشگیری از استرس و جهت اطمینان بیشتر از یکسان بودن شرایط فیزیکی و شیمیایی آب، هنگام انتقال ماهی های خریداری شده به کارگاه عمل هم دمایی و یکسان سازی شرایط آب صورت گرفت، همچنین از آن جا که امکان آلوده بودن ماهی های خریداری شده وجود داشت، حدود ۶ ساعت قبل از انتقال ماهی ها به آکواریوم مولدین از مواد ضد عفونی کننده استفاده به عمل آمد.

جدول ۱: تیمارهای به کار گرفته شده در این پژوهش

تیمار مورد آزمایش	
تیمار ۱	تعداد ۲ قطعه گوپی نر و ۴ قطعه پلاتی ماده
تیمار ۲	تعداد ۲ قطعه پلاتی نر و ۴ قطعه گوپی ماده
تیمار ۳	تعداد ۲ قطعه گوپی نر و ۴ قطعه گوپی ماده
تیمار ۴	تعداد ۲ قطعه پلاتی نر و ۴ قطعه پلاتی ماده

نتایج

رفتار جنسی: پس از معرفی ماهی‌ها به آکواریوم جدید، رفتارهای جنسی فقط در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد.

بازماندگی و لاروهای تولید شده: مطابق جدول ۲ بیش‌ترین لارو تولید شده مربوط به تیمار ۴ بوده که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p > 0.05$) و بیش‌ترین بازماندگی لارو مربوط به تیمار ۳ بوده که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۴ نداشت ($p < 0.05$).

جدول ۱ بازماندگی و لاروهای تولید شده طی دوره تکثیر و پرورش

متغیر	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
تعداد لارو	-	-	$18 \pm 2/31^b$	$22 \pm 4/11^a$
بازماندگی لاروها	-	-	$95/18 \pm 0/56^a$	$93 \pm 0/42^a$
بازماندگی والدین	$91/71 \pm 0/71^b$	$86/83 \pm 0/22^c$	$97/43 \pm 0/35^a$	$72/01 \pm 0/38^d$

حروف انگلیسی مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($p > 0.05$). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشند.

بحث

هیبریدگیری بین دو ماهی گوپی و پلاتی امکان‌پذیر نبوده و در پایان دوره آزمایش در تیمار ۱ و ۲ هیچ لاروی مشاهده نشد. همچنین در مدت زمان انجام آزمایش در تیمارهای ۱ و ۲ هیچ گونه رفتار تولیدمثلی بین دو گونه مشاهده نشد. به علت زنده‌زا بودن این ماهی‌ها، برای ایجاد نسل دورگه نمی‌توان مشابه با دیگر آزمایش‌های انجام شده بر روی ماهی‌های تخم‌گذار، از روش‌های معمول هیبریدگیری استفاده نمود. همچنین باتوجه به زنده‌زایی و لقاح داخلی در این خانواده به علت اینکه عمل لقاح داخل شکم ماهی ماده انجام می‌گیرد و تخم‌های احتمالی حاصله در دسترس موجود نمی‌باشد نمی‌توان مانند ماهی تخم‌گذار با قاطعیت دلیل ناموفق بودن این آزمایش را ذکر کرد. برای مثال لیندر در طی مطالعاتی بیان

برای جلوگیری از لقاح زود هنگام، پس از مشخص شدن جنسیت بلافاصله جنس نر و ماده جداسازی گردیدند و تا رسیدن به سن بلوغ به صورت مجزا نگهداری شدند. پس از بالغ شدن، ماهی‌ها بر اساس تیمارهای در نظر گرفته شده به آکواریوم معرفی شدند. انتخاب ماهی‌ها به صورت کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. تعداد ۱۲ عدد آکواریوم با ابعاد $40 \times 40 \times 40$ برای انجام این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، پراکنش تیمار و تکرارها به صورت تصادفی انجام شد. آکواریوم‌ها توسط یک پمپ هوای مرکزی به طور یکسان هوادهی می‌شدند. هر آکواریوم به یک بخاری، دماسنج و یک زایشگاه مجهز بود. جهت عمل کلرزدایی آب مصرفی به مدت ۴۸ ساعت همراه با هوادهی نگهداری شد. قبل از انتقال مولدین، برای اطمینان از عدم وجود مشکل و یکسان بودن شرایط تمامی آکواریوم‌ها، کلیه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه‌گیری شد، سپس مولدین به آکواریوم‌ها منتقل شدند. جهت تغذیه مولدین روزانه سه بار از غذای بیومار (فرانسه) به میزان ۳ درصد از وزن بدن و برای لاروهای تازه متولد شده در یک دوره ۱۰ روزه با شیرخشک و تخم‌مرغ آب‌پز به مقدار کم استفاده شد. برای جلوگیری از بروز بیماری‌های قارچی و انگلی هر سه هفته یک بار از داروهای ضد قارچی و ضد باکتری استفاده شد (چنگیزی و همکاران، ۱۳۸۷).

به منظور جلوگیری از آلودگی محیط و ایجاد شرایط مطلوب در محیط پرورش بچه ماهی‌ها، به طور روزانه مدفوع و ضایعات غذایی به کمک سیفون کردن خارج می‌گردید. علاوه بر این دیواره داخلی و کف آکواریوم‌ها بصورت هفتگی تمیز می‌شدند. روزانه ۱۰٪ از آب آکواریوم از طریق سیفون کردن خارج و به منظور جلوگیری از نوسانات دما از آب جایگزین که هم‌دما با آب درون آکواریوم بود استفاده شد. با توجه به اهمیت پارامترهای محیطی در پرورش ماهی به‌طور روزانه دما اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید.

پس از اندازه‌گیری شاخص‌های کمی، ابتدا نرمال بودن داده با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف بررسی شده و در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA در سطح احتمال ($p < 0.05$) و با کمک نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی ابتدا نرمال بودن داده با استفاده از تست کروسکال‌والیس بررسی شده و در صورت نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه بین تیمارهای آزمایشی از آزمون من‌ویتنی استفاده شد.

- Allendorf, F.W., Laery, R.F., Spruell, P. and Wenburg, J.K., 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. Trends in ecology and evolution, 16: 613-622.
- Arthington, A.H., 1989. Diet of *Gambusia affinis holbrooki*, *Xiphophorus helleri*, *Xiphophorus maculatus* and *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) in streams of south-eastern Queensland, Australia. Asian Fish. Sci. 2: 193-212.
- Berglund, A., 1995. Many mates make male pipefish choosy. Behaviour. 132: 213-218.
- Borg, A.A., Forsgren, E. and Amundsen, T., 2006. Seasonal change in female choice for male size in the two-spotted goby. Anim Behav. 72: 763-771.
- Coleman, S.W., Patricelli, G.L. and Borgia, G., 2004. Variable female preferences drive complex male displays. Nature. 428: 742-745.
- Dussault, G.V. and Kramer, D.L., 1981. Food and feeding behaviour of the guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). Can. J. Zool. 59: 684-701.
- Fawcett, T.W. and Johnstone, R.A., 2003. Mate choice in the face of costly competition. Behav Ecol. 14: 771-779.
- Forsgren, E., 1992. Predation risk affects mate choice in a gobiid fish. Am Nat. 140: 1041-1049.
- Hale, R.E., 2008. Evidence that context-dependent mate choice for parental care mirrors benefits to offspring. Anim Behav. 75: 1283-1290.
- Hedrick, A.V. and Dill, L.M., 1993. Mate choice by female crickets is influenced by predation risk. Anim Behav. 46: 193-196.
- Holveck, M.J. and Riebel, K., 2010. Low-quality females prefer low-quality males when choosing a mate. Proc R Soc. B 277: 153-160.
- Jirotkul, M., 1999. Operational sex ratio influences female preference and male-male competition in guppies. Anim Behav. 58: 287-294.

کرده است که تمامی تخم‌های حاصل از هیبریداسیون دو گونه از سوف ماهیان در مرحله گاسترولا از بین رفتند (Linder, 1958). از این رو تنها میتوان حدس‌ها و احتمالات موجود را بیان کرد.

دلایل احتمالی ناموفق بودن آزمایش: به دلیل لقاح داخلی در این گونه‌ها صورت نگرفتن لقاح می‌تواند دلایل متفاوتی داشته باشد. برای مثال اندازه اندام‌های تناسلی در ماهی و مورد پسند قرار نگرفتن جفت‌ها برای یکدیگر. در این رابطه می‌توان اشاره کرد که تنوع در انتخاب جفت می‌تواند پاسخی به عوامل درونی انتخاب‌گر مانند: سن یا تجربه فرد انتخاب کننده (Kodric-Brown and Nicoletto, 2001; Coleman et al., 2004 Uetz and Norton, 2007) و یا خصوصیت و طبیعت او (Holbeck and Riebel, 2010) باشد و به همان اندازه نیز ممکن است عوامل محیطی مانند تراکم ماهی (Shine et al., 2006)، رابطه‌ی نزدیک جفت‌های انتخاب شده (Simcox et al., 2005)، نسبت جنسی موثر (Berglund, 1995; Jirotkul, 1999)، رقابت برای جفت‌یابی (Fawcett and Johnstone, 2003)، خطر شکار شدن (Forsgren, 1992; Hedrick and Dill, 1993)، کیفیت زیستگاه (Reynolds and Jones, 1999; Hale, 2008) و حتی فصل (Qvarnström et al., 2000; Borg et al., 2006) بر روی انتخاب جفت موثر باشد. همچنین امکان دارد که مشکل از تفاوت در ساختار سوراخ میکروپیل و اندازه اسپرم دو گونه باشد. همچنین این امکان وجود دارد که چون این دو ماهی متعلق به دو جنس متفاوت می‌باشند لقاح موفقیت آمیز نبوده است. این احتمال هم وجود دارد که لقاح انجام گرفته باشد اما نوزادان در مرحله‌ی گاسترالاسیون از بین رفته باشند. طبق گزارش‌های لیندر (۱۹۵۸)، اکثر اوقات هیبریدها در مرحله‌ی گاسترالاسیون از بین می‌روند (لیندر، ۱۹۵۸). به‌طور کلی این آزمایش نشان داد که در این شرایط هیبرید گیری به‌صورت طبیعی بین ماهیان پلاتی و گویی انجام نمی‌پذیرد.

منابع

چنگیزی، ر.، متین فر، ع.، جمیلی، ش. و غیاثوند، ز.، ۱۳۸۷. مقایسه شاخص‌های تکثیر ماهی زینتی سیکلاید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) در نسبت‌های جنسی و دوره‌های نوری متفاوت. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. ۷۸: ۱۳۶-۱۴۳.

- Kodric-Brown, A. and Nicoletto, P.F., 2001.** Age and experience affect female choice in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Am Nat.* 157: 316-323.
- Liley, N.R. and Seghers, B.H., 1975.** Factors affecting the morphology and behaviour of guppies in Trinidad. In: Baerends GP, Beer.
- Linder Allan, D., 1958.** Behavior and hybridization of two species of *Etheostoma* (Percidae). *Trans. Kans. Acad. Sci.* 61: 195-212.
- Mallet, J., 2005.** Hybridization as an invasion of the genome. *Trends Ecol Evol.* 20: 229- 237.
- Milton, D.A. and Arthington, A.H., 1983.** Reproductive biology of *Gambusia affinis holbrooki* Baird and Girard, *xiphophorus helleri* (Gunther) and *X. maculatus* (Heckel) (pisces: poeciliidae) in Queensland, Australia. *Journal of Fish Biology.* 23: 23-41.
- Qvarnström, A., Pärt, T. and Sheldon, B.C., 2000.** Adaptive plasticity in mate preference linked to differences in reproductive effort. *Nature.* 405: 344-347.
- Reynolds, J.D. and Jones, J.C., 1999.** Female preference for preferred males is reversed under low oxygen conditions in the common goby (*Pomatoschistus microps*). *Behav Ecol*, 10: 149-154.
- Rodriguez, C.M., 1997.** Phylogenetic analysis of the tribe *Poeciliini* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Copeia.* 4: 663-679.
- Shine, R., Webb, J.K., Lane, A. and Mason, R.T., 2006.** Flexible mate choice: a male snake's preference for larger females is modified by the sizes of females encountered. *Anim Behav*, 71: 203-209.
- Simcox, H., Colegrave, N., Heenan, A., Howard, C. and Braithwaite, V.A., 2005.** Contextdependent male mating preferences for unfamiliar females. *Anim Behav.* 70: 1429-1437.
- Tavolga, W.N., 1949.** Embryonic development of the platyfish *Platypoecilus*, the Sword-tail *Xiphophorus* and their hybrids. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 94: 167-227.
- Uetz, G.W. and Norton, S., 2007.** Preference for male traits in female wolf spiders varies with the choice of available males, female age and reproductive state. *Behav Ecol Sociobiol.* 61: 631-641.