مجله شیلات
سال دوم، شماره چهارم، زمستان ۸۷

اثرات سختی کل بر میزان درصد لقاح تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus*

سمیه سعیدی‌ساعدی[۱]، حبیب وهاب‌زاده[۲]، عباسعلی زمینی[۳]، محمدحسین طلوعی[۴] و جلیل جلیل پور[۵]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، [۲،۳]استاد یار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، [۴]رئیس مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی، رشت، [۵]کارشناس بخش بیماری‌های آبزیان انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت
Email: S_SaeediSaedi@yahoo.com

چکیده

تحرک اسپرم ماهی به‌عنوان شاخص قابلیت لقاح آن بستگی به یون کلسیم و یون منیزیم دارد. زیرا این دو یون در کنار هم برای شروع تحرک اسپرم در ماهیان آب شیرین ضروری هستند. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر سختی و فاکتور یونی روی درصد لقاح تخم‌های تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در سختی‌های مختلف بود. بنابراین مواد تناسلی استحصالی از یک مولد به روش نیمه خشک در ٤ تیمار مختلف (۲۰، ۱۵۰، ۳۰۰ (شاهد) و ۳٦۰ میلی‌گرم بر لیتر) با سه تکرار لقاح یافتند. تخم‌ها جهت انکوباسیون به انکوباتورهای شیشه‌ای گلدانی منتقل شدند. درصد لقاح هر ٤ تیمار اندازه‌گیری شد. آنالیز آب ٤ تیمار برای تعیین میزان یون کلسیم و منیزیم انجام شد. نتایج حاصله نشان داد که میزان سختی مناسب از ۲۰ تا ۳٦۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌تواند باشد به شرط آنکه تعادل یونی در آب مورد استفاده وجود داشته باشد. البته همین نتایج نشان داد که غلظت کلسیم مورد نیاز در زمان لقاح تاس ماهی ایرانی ۵ تا ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر و میزان غلظت منیزیم مورد نیاز ۱ تا ٤۸ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، سختی کل، درصد لقاح

مقدمه

تاس ماهی ایرانی (قره برون) با نام علمی *Acipenser persicus* فراوان‌ترین گونه ماهیان خاویاری در حوضه جنوبی دریای خزر، می‌باشد (۷). با توجه به ارزش اقتصادی و شیلاتی ماهیان خاویاری از جمله تاس‌ماهی ایرانی برای کشورمان (۷) باید تمهیداتی در جهت بهبود شرایط تکثیر مصنوعی فراهم آید تا با حصول تعداد زیاد تخم تلفات بعدی کارگاه‌ها نیز که گاه غیر سهوی و به‌دلیل ایجاد شرایط مصنوعی فراهم می‌آید، جبران گردد. زیرا تعداد زیاد تخم سالم و به تبع آن تعداد نوزادان سالم و کافی کلید موفقیت در پایدار ی هر گونه از ماهیان است (٤).

از آنجا که تمام مراحل تکثیر و لقاح در محیط آب انجام می‌گیرد؛ کیفیت آب و کنترل ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی آن از عوامل مهم در موفقیت تکثیر بوده و تابعی از منابع تامین کننده آن (چشمه، رودخانه، چاه) می‌باشد. وجود املاح فراوان در آب محیط مناسب‌تری را نسبت به آبهای سبک جهت پرورش فراهم می‌سازد و سختی نامناسب روی باروری تخم‌ها و حتی رشد آنها تأثیرگذار است و ممکن است در تکثیر خلل ایجاد نماید (۱۸). لذا شناسایی دقیق پارامترهایی نظیر سختی، برنامه‌های مدیریتی را آسان‌تر می‌نماید (۱).

یکی از عوامل مهم و کلیدی در فرایند لقاح، تحرک اسپرماتوزوآ می‌باشد که می‌تواند سبب افزایش کارایی لقاح گردد (۳ و ۹). مطالعات نشان داده است که یون کلسیم در کنار یون منیزیم برای شروع تحرک اسپرم در ماهیان آب شیرین ضروری است (۹). آغاز تحرک اسپرم احتمالا به‌علت تغییر در پتانسیل غشا بعد از رقیق‌سازی

Archive of SID

www.SID.ir

بوسیله آب و کاهش غلظت پتاسیم می‌باشد که به دنبال آن کانال‌های کلسیم باز شده یون کلسیم به درون سلول راه می‌یابد (۳).

بررسی مقایسه‌ای تحرک اسپرم تاس ماهی ایرانی و قابلیت لقاحی آن در آب شیرین و محلول‌های نمکی نشان از حساسیت زیستی اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی به یون‌های کلسیم و منیزیم دارد (٦)، زیرا مهمترین فاکتورهای القاء و تجدید مدت زمان تحرک می‌باشند (۳). همچنین یون کلسیم نقش مهمی در واکنش‌های زنجیره‌ای باروری در تخم‌های ماهی بعنوان محرک و بارور (۲۵) و تحقق واکنش اکروزومی و از همه مهمتر ادغام گامت‌ها (١٤) ایفا می‌کند. چنان که مشاهدات نشان داده است که در حضور منیزیم زائده آکروزومی شکل می‌گیرد، ولی لقاح انجام نمی‌شود. به همین دلیل یون کلسیم قابل جایگزینی با یون منیزیم نمی‌باشد (١٦).

اگر شرایطی ایجاد گردد که از ورود یون کلسیم به داخل سلول جلوگیری شود، تحرک اسپرم متوقف می‌گردد (۲۲). علاوه براین، غلظت بیش از اندازه یون کلسیم نیز باعث کاهش قابلیت لقاحی اسپرم می‌شود.

لذا به‌منظور بهبود فرایند لقاح و کنترل تولید مثل در سطوح آبزی پروری اقتصادی، زیست‌شناسی حفاظت و بازسازی ذخایر و تاثیر فاکتور یونی روی تحرک اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی، بررسی اثرات سختی کل روی درصد لقاح تخم‌های تاس‌ماهی ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در فروردین ماه سال ۱۳۸۷ در مرکز تکثیر وپرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنگر در ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان رشت انجام گرفت.

مرحله اول: تهیه آب با سختی‌های مختلف: تعیین سختی بر اساس روش Venkateswalu (۱۹۹۹) و روش تهیه سختی‌ها بر اساس روش Booth (۲۰۰۸) بود. عملیات با اندازه‌گیری سختی آب کارگاه به‌عنوان شاهد آغاز شد. سه تیمار دیگر بر اساس تیمار شاهد (سختی ۳۰۰ میلی-گرم بر لیتر) به‌ترتیب ذیل تهیه شد:

ابتدا دستگاه سختی‌گیر با کاربرد اسمز معکوس (نوعی از دستگاه تصفیه آب خانگی با ۵ مرحله فیلترکننده که در هر مرحله با پالایش مواد سمی، بو، طعم و مواد شیمیایی موجب کاهش سختی و تنظیم یونی آب می‌گردد) مدل Lan shan c/no.1-140 تایوان به شیر سالن تکثیر متصل شد و سختی آب حاصل بعنوان تیمار اول (با سختی ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) در نظر گرفته شد. سپس با افزودن آب سختی‌گیری شده به آب کارگاه به میزان مساوی آب با سختی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان تیمار دوم تهیه شد. سختی ۳٦۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز با حل یک گرم کربنات کلسیم ($CaCo_3$) با ۳ لیتر آب کارگاه حاصل گردید.

از pH متر پرتابل (دیجیتال) (مدل Hanna آلمان) برای اندازه‌گیری و کنترل میزان تغییرات در زمان افزودن کربنات کلسیم استفاده شد. از همه تیمارها یک لیتر محلول تهیه و در ظروف پلاستیکی نگهداری شد. سپس یک نمونه از این آبها به آزمایشگاه جهت آنالیز و تعیین سختی دقیق فرستاده شد. علت انتخاب این دامنه وسیع از سختی، قدرت تحمل بالای ماهیان خاویاری در زمان پرورش (۵۰ تا ٤۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ($CaCo_3$) (٢٤) و همچنین انتخاب سختی‌ها از هر یک از دامنه‌ها (سبک، نیمه سخت، سخت و خیلی سخت) بود (۲۸).

مرحله دوم- لقاح: از آنجا که دما یک فاکتور اساسی در مدت زمان تحرک اسپرم می‌باشد (۱۰) لذا همه آب‌های از پیش آماده و پیش از شروع عملیات لقاح با آب کارگاه هم دما شدند. درجه حرارت آب کارگاه ١٦ درجه سانتی‌گراد بود.

لقاح به روش نیمه خشک در ۱۲ ظرف دارای بر چسب میزان سختی بطور همزمان و توسط مواد تناسلی حاصل از یک مولد ماده (به‌طول ۱/۷۰متر، وزن ۳۰ کیلوگرم، ۱۵ سال سن که از رودخانه سفید رود صید شده بود و وضعیت ظاهری خوب و سالم با تخمک‌های

Archive of SID

www.SID.ir

مناسب داشت) و یک نر انجام شد. در هر ظرف ۱۰۰ گرم تخمک ریخته شد سپس یک سی‌سی اسپرم (با غلظت مناسب، با تعداد $۱۰/٤\times۱۰^{٦}$ میلی‌متر مکعب اسپرم و ۸۵ درصد تحرک حاصل از یک مولد نر) توسط سرنگ ۱۰سی‌سی و همزمان ۲۰۰ سی‌سی از آبهای تهیه شده به آن‌ها افزوده شد. بعد از رفع چسبندگی توسط گل رس و شستشوی کامل تخم‌ها، تخم‌ها به انکوباتور شیشه‌ای گلدانی منتقل شدند و سپس جریان آب، دما (با ترمومتر)، اکسیژن محلول (با اکسیژن متر مدل WTW 33i ساخت آلمان) و pH (توسط pH متر پرتابل مدل Hanna) بررسی شد.

مرحله سوم- درصد لقاح: ٤ ساعت پس از لقاح بصورت تصادفی با یک بشر پلاستیکی اقدام به نمونه‌برداری از هر یک از تیمارها و تکرارها بطور جداگانه شد و تثبیت تخمک‌ها در ۱۲ قوطی فیلم حاوی فرمالین ٤ درصد فیکس شدند و به جهت بررسی آزمایشگاه انتقال یافتند. در آزمایشگاه ابتدا در ظروف پتری دیش تخم‌های لقاح نیافته (پروتوژنز) از تخم‌های لقاح یافته جدا شدند. سپس در زیر میکروسکوپ معمولی (مدل Nikon xn Japon) با عدسی شماره ٤ تخم‌های لقاح یافته بررسی شدند تا تخم‌های با تقسیمات طبیعی از پلی‌اسپرمی‌ها جدا شوند. تخم‌های مشکوک نیز برای اطمینان به‌وسیله استریومیکروسکوپ بررسی شدند. تخم‌های با تقسیمات چهارتایی شمارش شدند و درصد لقاح هر یک از تیمارها و تکرارهای آنها اندازه‌گیری شد (۵). ۲۰ ساعت بعد (بسته شدن بلاستوپور) نیز درصد لقاح ثانویه تیمارها محاسبه گردید.

در این تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA)، آزمون دانکن و آزمون T-Test با درجه اطمینان ۹۵ درصد برای تجزیه وتحلیل آماری استفاده شد. از نرم‌افزارSPSS نسخه ١٤ برای آنالیز داده‌ها و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

آنالیز آب: در این آنالیز مقادیر pH، یون کلسیم و یون منیزیم برای هر تیمار بطور جداگانه بدست آمد (جدول ۱). کلسیم، منیزیم و سختی کل بر حسب میلی گرم بر لیتر $CaCo_3$ اندازه‌گیری شد. چنانچه مشاهده می‌شود با افزایش سختی pH، Ca^{2+} و Mg^{2+} روند افزایشی را نشان داده و بیشترین میزان pH در تیمار با سختی ۳٦۰ میلی‌گرم بر لیتر نمایان شد. میزان Ca^{2+} از حدود ۵ میلی‌گرم بر لیتر تا ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای دامنه نسبتا وسیعی می‌باشد. میزان Mg^{2+} نیز کمتر از ۱ میلی‌گرم بر لیتر تا حدود ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود ولی هیچگاه به صفر نرسید.

جدول ۱- مقادیر pH، یون کلسیم، یون منیزیم و سختی کل تیمارهای ٤ گانه مورد مطالعه

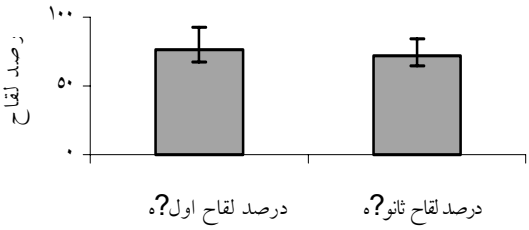
pH	Ca^{++}	Mg^{++}	سختی کل با تیتراسیون (mg/l)
۷/٦۹	٤/۸۰	۰/۹٦	۲۰
۷/۹۰	۳۲/۸۰	۳٤/۵٦	۱۵۰
۸/۰۹	٦۰/۹۲	٤۰/۵۰	۳۰۰
۹/۹۹	٦٤/۱۳	٤۸/۰۰	۳٦۰

درصد لقاح: میانگین درصد لقاح اولیه و درصد لقاح ثانویه در ٤ سختی ۲۰، ۱۵۰، ۳۰۰ (شاهد)، ۳٦۰ میلی‌گرم بر لیتر مشخص نمود، درصد لقاح اولیه و ثانویه در دو سختی ۲۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشابه بوده و نسبت به دو تیمار دیگر با سختی ۳٦۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از مبزان بیشتری برخوردار بوده‌اند. همچنین تفاوت سطح تراز بین درصد لقاح اولیه و ثانویه در دو سختی ۲۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم مشابه و بیشتر از دو سختی ۱۵۰ و ۳٦۰

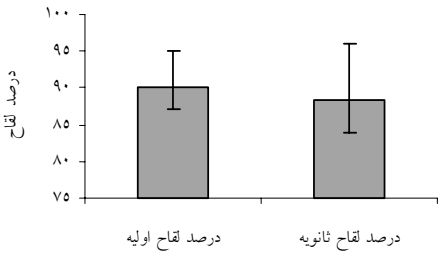
Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌گرم بر لیتر بود براساس آزمون T-Test به‌منظور مقایسه درصد لقاح اولیه و درصد لقاح ثانویه در چهار سختی ۲۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر $CaCo_3$ در



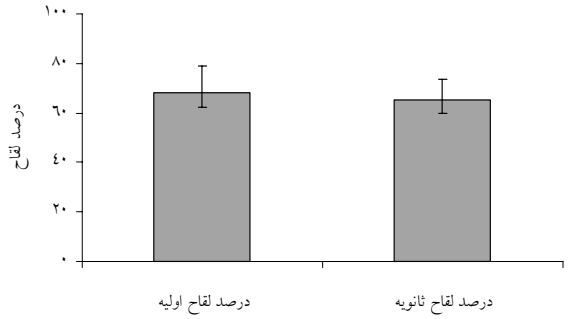
ر؟مقا؟ درصد لقاح اول؟ه و ثانو؟ه در سخت؟ ۳۶۰



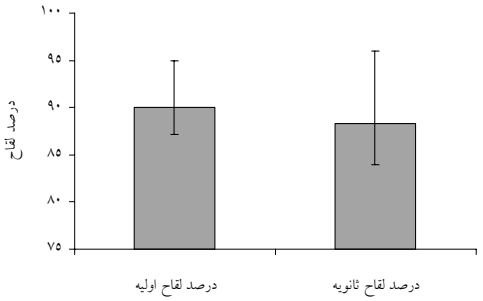
نمودار۳: مقایسه درصد لقاح اولیه و ثانویه در سختی ۳۰۰

درصد لقاح اولیه در سختی‌های ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و ۳۰۰ میلی‌گرم برلیتر با میانگین ۵±۹۰ نسبت به سختی ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر (۹/۲±۷۶/۶۶) و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (۳±۶۸/۳۳) از میزان بیشتری برخوردار بودند. همچنین بر اساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA، میزان مقایسه درصد لقاح اولیه، در چهار سختی اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند ($P>$۰/۰۵).

درصد لقاح ثانویه نیز در سختی‌های ۲۰ و ۳۰۰ هیچکدام از سختی‌های مذکور بین درصد لقاح اولیه و ثانویه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ($P>$۰/۰۵) شکل ۱ تا ٤).

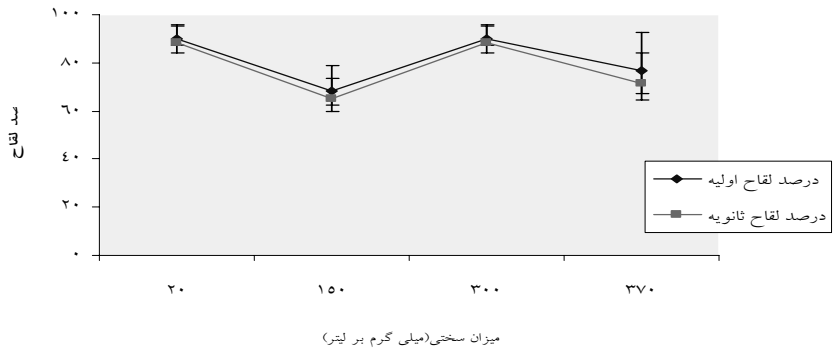


نمودار۲: مقایسه درصد لقاح اولیه و ثانویه در سختی ۱۵۰



نمودار۱: مقایسه درصد لقاح اولیه و ثانویه در سختی ۲۰

میلی‌گرم بر لیتربا میانگین ۷/۶۳±۸۸/۳۳ نسبت به سختی ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱۲/۵۸±۷۱/۶۶) و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (۸/۶۶±۶۵) از میزان بیشتری برخوردار بودند (شکل ۵) و بر اساس آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و به‌منظور مقایسه درصد لقاح ثانویه، در چهار سختی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ($P>$۰/۰۵). در کل بین درصد لقاح اولیه و درصد لقاح ثانویه انطباق با حداقل تفاوت از لحاظ تراز دیده می‌شود.



نمودار۵ – مقایسه در صد لقاح اولیه و ثانویه در سختی های مختلف

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

اکثر ماهی‌ها از جمله تاس ماهی ایرانی فعالانه به دنبال شرایط مناسب برای زندگی خود و نوزادان خود هستند. این موضوع به واسطه خصوصیات ذاتی و رفتاری آنها در طی تکامل گونه‌ها شکل گرفته است. لذا برای رسیدن به محیطی با شرایط قابل تحمل خود گاهی صدها کیلومتر را طی می‌کنند تا محل‌های تخم‌ریزی مناسبی را پیدا کنند (۲۱).

اطلاع از شرایط موردنیاز برای تکامل طبیعی و لقاح گونه‌های مختلف خاویاری برای تصحیح و سازماندهی عملیات در همه مراحل تکثیر ضروری است. اطلاعات مفصلی درباره چنین شرایطی را می توان از مشاهدات در محل‌های تخم‌ریزی طبیعی، از مطالعه بر روی اثرات مختلف شرایط محیطی در مقادیر مختلف و یا اثرات متقابل فاکتورها و آزمایشات طراحی شده یا شرایط تکثیر مصنوعی بدست آورد (۲).

از آنجا که مطالعات سختی‌های فیزیولوژی ماهی در سختی‌های مختلف (خصوصا بالا) و همچنین افزودن یون کلسیم (افزودن نمک‌های آن) بر کارایی لقاح قابل تأمل است (۲۹) لذا اهمیت انجام این تحقیق به اثبات رسید.

مطالعات گذشته نشان داده یون دوظرفیتی کلسیم نقش مهمی در مراحل بیولوژیکی ماهیان از جمله ماهیان خاویاری دارد (۱۰) و مهمترین فاکتور جهت القاء و تجدید مدت زمان تحرک اسپرم می‌باشد (۳) همچنین یون کلسیم در کنار یون منیزیم برای شروع تحرک اسپرمی و آغاز لقاح ضروری است (۹). با شروع تحرک اسپرم، غلظت یون کلسیم در داخل سلول (بیش از دو برابر مقدار اولیه داخل سلول) افزایش می‌یابد (۲۲) لذا در این زمان ورود یون کلسیم از محیط خارج به داخل که احتمالا توسط مکانیزم هورمونی و انتقال فعال سلولی تنظیم می‌شود (۱۳)، ضروری می‌گردد. این امر با انتشار یون کلسیم از بافت نگهدارنده اعصاب داخلی به داخل سیتوزول و انتشار آن به اطراف سلول‌های نیازمند کلسیم (۲۳) فراهم می‌شود. افزایش غلظت یون کلسیم داخل سلولی با تشکیل سریع و آرام بلوک‌های دائمی از پلی اسپرمی جلوگیری می‌کند. در ضمن رها شدن یون‌های کلسیم باروری تخم‌ها را با افزایش تنفس سلولی و با شروع فرو رفتن در شکاف افزایش می‌دهد (۲۰).

بنابراین وجود یون کلسیم در محلول رقیق کننده اسپرم برای شروع فعالیت اسپرم در ماهیان استخوانی و شروع فعالیت ساختار آکروزومی در ماهیان خاویاری ضروری است (۱۵).

حال اگر مقدار کلسیم مورد نیاز در محیط موجود نباشد یا کاهش یابد، می‌تواند به کاهش نیروی دافعه در غشاء انجامیده و خلل و فرج‌های غشائی را افزایش داده در نتیجه تخم آب بیشتری را جذب نماید و یون کلسیم که یون مورد نیاز برای واکنش اکروزومی کورتیکال و لقاح است را بر اساس قانون انتشار دفع نموده (۲۵) و باعث اختلال فرایند لقاح خواهد شد و ممکن است این اختلال باعث کاهش میزان لقاح شود، به این معنی که لقاح فقط برای تعدادی از تخم‌ها که یون کلسیم دریافت نموده‌اند، محقق می‌گردد. Billard و همکاران (۱۹۹۲) نیز عدم تحرک اسپرم تاس ماهی سیبری را در حضور بیش از ۲ میلی‌مول کلسیم گزارش نمودند (۳).

البته باید توجه نمود که افزایش میزان یون کلسیم باید متناسب با افزایش مواد شیمیایی دیگر باشد، زیرا حتی در حضور مقادیر بالایی از یون کلسیم کاهش درصد لقاح به دلیل وجود مقادیر زیاد یون پتاسیم محتمل است (۹)، این موضوع در عملیات لقاح مصنوعی در سختی ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز مشاهده شد. در این آب میزان کلسیم اگرچه زیاد و در حد ٦٤ میلی‌گرم در لیتر است و انتظار درصد لقاح بالاتری نسبت به آب کارگاه بود، اما در عمل درصد لقاح پایین و در حد ۷٦ درصد اندازه‌گیری شد. البته میزان pH بالا (۹) و ناخالصی کربنات کلسیم نیز می‌تواند به‌عنوان دلایلی بر این کاهش درصد باشند. در واقع این سختی نامناسب می‌تواند روی باروری تاثیر بگذارد. لذا اکثر ماهی‌ها می‌توانند با شرایط سختی محیط

Archive of SID

www.SID.ir

سازگار شوند اما در فرایند تولید مثل با مشکل مواجه خواهد شد (۱۰).

با توجه به قدرت سازگاری وسیع ماهیان خاویاری که از استراتژی تولیدمثل و خصوصیات مواد تناسلی آنها می‌باشد (۱۲) و با توجه به قدرت تحمل ماهیان خاویار از جمله تاس‌ماهی سیبری تا ۲ میلی‌مول بر لیتر، اختلاف معنی‌داری بین درصدهای لقاح در دامنه‌های انتخابی نباید جلوه‌گر شود.

نتایج این پژوهش نشان داده است که یون منیزیم نیز بعنوان یون دو ظرفیتی خنثی‌کننده اثر آنتی‌سینرژیک یون پتاسیم بر تحرک اسپرم تاس‌ماهی ایرانی همچون تاس‌ماهی سیبری (۱۹) و تاس‌ماهی دریاچه‌ای (۲۶) می‌تواند نقش مهمی در فعالیت لقاح مصنوعی ماهیان خاویاری ایفا نماید. چنان که در سختی پایین (سبک) و معادل ۲۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار منیزیم معادل ۰/۹۶ میلی‌گرم بر لیتر و مقدار کلسیم معادل ٤/۸۰ درصد لقاح تقریبا مشابهی با آب کارگاه حاصل آمد. یکی از دلایل می‌تواند ناشی از خاصیت تنظیم یونی دستگاه سختی‌گیر با کاربرد اسمز معکوس باشد. زیرا با وجود فیلتر پنج مرحله‌ای و قدرت تصفیه‌کنندگی بالای آن، این دستگاه طوری طراحی شده که یون‌های ضروری را بتواند حفظ کرده و از مخاطرات آن بکاهد. دلیل دیگر می‌تواند شفافیت این آب نسبت به آب کارگاه نیز باشد. بنابراین به‌دلیل وجود حساسیت زیستی سلول به یون منیزیم (٦)، این یون نیز می‌تواند در کنار یون کلسیم بر روی قابلیت لقاحی اسپرم تاثیر داشته باشد.

Billard و همکاران (۱۹۹۲) نقش منفی این یون را در غلظت‌های بالا، در صورتی که غلظت یون‌های کلسیم و سدیم در محلول رقیق‌کننده مواد تناسلی کم باشد را ثابت نمودند که این نتیجه در عملیات لقاح در آب با سختی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با مقدار منیزیم معادل ۳٤/٥٦ و میزان کلسیم معادل ۳۲/۸۰ مشاهده شد و اثر منفی آن به صورت درصد لقاح بسیار پایین (٦۸ درصد) نمایان شد. این مسئله ممکن است به‌دلیل تخریب پروتئین تنظیم‌کننده فعالیت انرژی خواه کانال‌های یونی سدیم-پتاسیم در سطح غشاء سیتوپلاسمی اسپرم باشد (٦).

مقدار یون‌های دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم در پلاسمای منی تاس‌ماهی ایرانی بیشتر از سایر گونه‌هاست. این امر بیان می‌دارد که خصوصیات یونی پلاسمای منی یک خصوصیت خاص گونه‌ای می‌باشد (۳). با توجه به این خصوصیت و با توجه به سازگاری بالای این گروه از ماهیان، احتمال تطبیق‌پذیری مواد تناسلی نیز با محیط قوی‌تر می‌گردد. ولی این مطابقت نیازمند صرف انرژی است که باید در زمان تولید مثل صرف تولید تخم و اسپرم با کیفیت خوب و مناسب شود. از آنجا که هر یاخته در فرایند انتقال انرژی به منیزیم نیاز دارد و فرایند انتقال فسفات واکنش اصلی انتقال انرژی در کوتاه مدت در یاخته است، لذا نیاز به منیزیم نکته ثابت شده‌ای است (۱۰).

اسپرم تاس ماهیان به غلظت بالای یون‌های دو ظرفیتی کلسیم و منیزیم (۰/۸ میلی‌مول در لیتر) حساسیت زیستی نشان می‌دهد و میزان ۱ میلی‌مول بر لیتر برای شروع فعالیت اسپرم در تاس‌ماهی سیبری گزارش شده است (۹)، لذا با توجه به نتیجه حاصله از این تحقیق و با توجه به پژوهش علوی (۱۳۸۱)، خصوصیت پلاسمای منی تعیین‌کننده دامنه تحمل ماهیان خاویاری است و این فرضیه را که آنها خصوصیات یونی مواد تناسلی خود را با محیط تخم‌ریزی (مکانی که در آن برای تکثیر مصنوعی صید می‌شوند) خود منطبق می سازند، قویتر می‌سازد.

بنابراین با توجه به تفاوت غلظت یونی در ماهیان خاویاری، دامنه سختی بدست آمده برای تاس‌ماهی ایرانی برای سایرین صدق نخواهد کرد مگر در مورد ماهیانی که دارای مکان تخم‌ریزی یکسانی از لحاظ ویژگی‌های شیمیایی چون سختی باشند. به‌عنوان مثال در مورد فیل‌ماهی که عملیات بطور آزمایشی روی آن در همین زمان در مرکز شهید بهشتی (توسط نگارنده) صورت گرفت (با سه تیمار۲۰ و ۱۵۰ و ۳۰۰) نتایج حاصله همانند تاس‌ماهی ایرانی بود، چنان‌که درصد لقاح حاصله در دو سختی۲۰ و ۳۰۰ تقریبا مساوی و برابر ٤٥ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

بود و در مورد سختی ۱۵۰ بازهم درصد لقاح پایین (۱۶ درصد) بود که این نتیجه ثابت‌کننده فرضیه ارائه شده و تصدیقی برای صحت عملکردی این تحقیق بوده است. درصد لقاح بسیار پایین در این ماهی تنها به کیفیت تخم و مولدین آنها مربوط است.

با توجه به مطالعات گذشته، آبهای خیلی سبک ۱۰-۰ میلی‌گرم بر لیتر $CaCo_3$ و خیلی سخت بالای ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر $CaCo_3$ برای تکثیر نامناسب‌اند (۲۴) و درون این محدوده که تحقیق حاضر در آن صورت گرفته نیز باید ضمن رعایت تعادل یونی، دما و pH نیز مد نظر قرار گیرد. تمام موارد ذکر شده بخصوص تعادل یونی در کارآمدی لقاح و مراحل بعدی آن نقش دارد. زیرا محتوای یونی آب محیط برای تکثیر و پرورش ماهی لازم و مهم است (۲۸) که نتایج این تحقیق لزوم آن حتی در مرحله پیش از لقاح یعنی در زمان رسیدگی جنسی نیز ثابت شد.

بنابراین غلظت سختی در زمان لقاح اگرچه در دامنه وسیع ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تا ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، اما با توجه به میانگین درصد لقاح بالاتر از لحاظ عددی و سطح تراز تقریبا مساوی درصد لقاح اولیه و ثانویه در سختی‌های ۲۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، این دو سختی مناسب‌تر ارزیابی می‌شوند که این مطلب در مورد سختی ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌علت تصفیه و تنظیم یونی دستگاه سختی‌گیر و در مورد سختی ۳۰۰ میلی‌گرم به‌دلیل تطابق با شرایط محیطی مورد نیاز که در ابتدای بحث بدان اشاره شد، می‌باشد، بر این اساس اگر تعادل یونی و تناسب بین یون‌ها به‌خصوص یون‌های کلسیم و منیزیم وجود داشته باشد میزان (غلظت) کلسیم مورد نیاز از ۵ میلی‌گرم بر لیتر تا حدود ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر خواهد بود

در نتیجه موفقیت آمیزترین دامنه برای لقاح استفاده از آب رودخانه یا مکانی است که ماهی مراحل نهایی رسیدگی جنسی خود را در آن می‌گذراند و اگر همراه با ارتقای سطح کیفی تصفیه باشد از نتایج بهتری بر خوردار خواهیم شد.

بنابراین نتایج این تحقیق نشان داد که ماهیان خاویاری علاوه بر برتری‌هایی چون طولانی بودن قابلیت لقاح اسپرم و تخم در آب، دامنه وسیع درجه حرارت تخم‌ریزی، یوری‌هالین شدن زود هنگام بچه‌ماهیان جوان، طیف وسیع تغذیه‌ای، حفاظت بچه ماهیان جوان تولید شده از شکارچیان بوسیله پلاک‌های استخوانی، انعطاف‌پذیری اکولوژیکی و همچنین بالا بودن هم‌آوری، قطر زیاد تخمک و امکان استحصال همزمان تعداد زیادی از جنین‌های در حال تکامل (۱۷) که در تحقیقات گذشته به اثبات رسیده (۲)، در طی تکامل و حیات خود قادر به سازگاری با سختی‌های مختلف (در دامنه وسیع ۲۰ تا ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر ($CaCo_3$) می‌باشند، همانطور که در طول حیات خود قادر به تحمل سختی از ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ($CaCo_3$) هستند (۲۴)، به شرط آنکه سایر عوامل در حد مناسب تحمل آنها باشد. این عوامل نیز به فاکتور انسانی و فعالیت‌های آن در چرخه طبیعت باز می‌گردد.

تشکر و قدردانی

در پایان از کلیه عزیزانی که صادقانه ما را در این تحقیق یاری رساندند، به‌ویژه پرسنل بخش اکولوژی و بهداشت و بیماری‌های انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و پرسنل مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

۱-اسماعیلی‌ساری. ع.، ۱۳۸۳. هیدروشیمی بنیان آبزی پروری، انتشارات اصلانی. ۲۴۹ صفحه.

۲-دتلاف. ت.آ، گینزبرگ. آ.س.، و اشمالهاوزن، آ.آ.، ۱۹۹۳. تکثیر وپرورش ماهیان خاویاری، ترجمه رجب محمدنظری، حسین عبدالحی، نورمحمد مخدومی، ۱۳۸۵. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، مدیریت آموزش و ترویج. ۴۲۲ صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

۳-علوی، س.م.ه.، ۱۳۸۱. مطالعه تطبیقی تحرک اسپرماتوزوءای تاس‌ماهی ایرانی و قابلیت لقاحی آن بین آب شیرین و محلول نمکی، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد.

٤- فرید پاک، ف.، ۱۳۸۵. دستورالعمل اجرایی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان گرمابی، انتشارات علمی آبزیان. صفحه ۳۰۵.

۵-کهنه شهری. م.، و آذری تاکامی، ق.، ۱۳۵۳. تکثیر وپرورش ماهیان خاویاری، انتشارات دانشگاه تهران. ۲۵۵ صفحه.

٦-گلدمن، ه.چ.آر. و الکساندر، جی.، ۱۹۸۲. دریاچه‌شناسی، ترجمه محمد دانش، ۱۳۸۳. انتشارات نشر دانشگاهی.

۷-وثوقی، غ.، و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه.

8.Androsov S.A., Nepmnyashchii L.I., and Bondarenko N.V., 1990. Results of rearing sturgeon in systems with the closed cycle water supply.Rybn Khoz(6):69-70.

9.Billard, R., and Cosson, M.P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish of Exp. Zool. 296: 122-131.

10.Booth, G., 1993. Carbonate hardness,www.thekrib.com

11.Chapman R., and Hall, M., 1992. Water quality assessments. Published on behalf of UNESCO United Nations Educational, scientific and cultural organization London. New York. Tokyo.

12.Coward K., Bromage N.R., Hibbitt O., and Parington J., 2002. Reviews in fish Biology and Fisheries, 12, 1: 33-58(26).

13.Darszon A., Beltran C., Felix R., Nishigaki T., and Trevino, C.L., 2001 Ion transport in sperm signaling. Dev. Biol., 240:1-14.

14.Dettlaff T.A., 1962. Cortical changes in Acipenserid eggs during fertilization and artifical activation. J. Embryol Exp. Morphol, 10:1-26.

15.Dettlaff T.A., Ginsburg A.S., and Schmalhausen, O.I., 1993. Developmental Biology and Aquaculture.

16.Dettlaff T.A., Skoblina, M.N., and Davydova, S.I., 1968. Intercellular influences during oocyte maturation in Acipenserid fishes In: Tumanishvili GD(Ed) symposium Intercellular interactions in differentiation and growth. Abstracts, Tbilisi, pp: 5-6

17.Dettlaff T.A., and Ginsburg A.S., 1964. Acrosomal reaction in Acipenserid fishes and the role of calcium ion in gamete fusion.Doki Akad Nauk SSSR 153:1461-1464.

18.Eaton A.D., Clesceri L.S., and Greenberg A.E., 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Waste water ,19th ed.American public Health Association, Washington, pp:3-15

19.Galis, J.L., Fedrigo, E., Jatteau P., Bon punt E., and Billard, R., 1991. Siberian sturgeon spermatozoa Effects of dilution, pH, Osmotic pressure, sodium and potassium ions on motility. In P.Willot (Ed), Acipenser, Cemagref, Bordeaux, pp: 143-151.

20.Gilkey, J.C, Jaffe, L.F., Ridgway, E.G., and Reynolds, G.T., 1978. Developmental biology.

21.Khoroshko, P.N. 1968. Ecology and efficiency of reproduction of sturgeon in the lower Volga flow. The Author's Abstract of the candidate Dissertation .GosNIORKh, Astrakhan.

22.Krasznai Z., Marian T., Izumi H., Dumjanovich S., Balkay, L.,Tron L., and Morisawa M., 2000. Membrane hyper polarization removes inactivation of Ca^{++} channels leading to Ca^{++} influx and initiation of sperm motility in common carp.Biophysics, 97:2052-2067.

23.Leung A.F., and Mc Cormic L.M., 1997. J. of Biol. Physics, 23, 2: 67-72(6).

24.Mims S.D., Lazur A., Shelton W.L., Gomelsky B., and Chapman, F., 2002. Species profile production of sturgeon, Southern Regional aquaculture center.

25.Silva L.V.F., Golombieski, J.I., and Baldisserotto, B., 2003. Incubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations, Departamento de fisiologia,Universidade Fedral de Santa Maria, Rs, Brazil, J. Aquaculture. 215, 1-4:103-108.

26.Toth G.P., Ciereszko, A., Christ, S.A., and Dabrowski, K., 1997. Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon, Acipenser fluvescens: Activation and inhibition conditions. Aquaculture. 154:337-348.

27.Van der Velden J.A., Spanings F.A.T., Flik, G., and Bonga, S.E.W., 1991. Early stages of carp (*Cyprinus carpio*) depend on ambient for their development. J. Experimental Biology 158,431-438.

28.Venkateswalu, K.S., 1996. Water chemistry, www.mongabay.com.

29.Yamamoto, T., 1961. The physiology of fertilization in fish egg. International Review of Cytology 12: 361-405.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of total hardness in fertilization rate of *Acipenser persicus*

S. Saeedi Saedi[1], **H. Vahabzadeh**[2], **A.A. Zamini**[3], **M. H. Tolouei**[4] **and J. Jalilpour**[5]
[1, 2, 3] Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University, Lahijan Branch, [4]Shahid Beheshti Artifical Propagation and Pisciculture Center of Sturgeon, Rasht, [5]Dr. Dadman International Institute of Sturgeon, Rasht
Email:S_SaeediSaedi@yahoo.com

Abstract

Fish sperm motility as a fertilization potential index depends on Ca2+ and Mg2+ ions. Because start of sperm motility in fresh water fishes needs both Ca2+ and Mg2+ ions. The objective of this study was to assess the effect of water hardness and Ionic factor on the fertilization percent of *Acipenser persicus* spawns in various water hardness. Therefore,the exploited gametes have been fertilized from a producer in four treatment batches (20, 150, 300 (control group) and 360 mg/l) with three replicates by semi-dry method. The eggs were transferred to glass potted (vase) incubators for incubation. The percent of fertilization on each of the four batches was measured. Water analyses have been performed to determine the amount of Calcium and Magnesium ions. The results show that the appropriate rate of hardness can be 20 to 360 mg/l, provided that there should be ionic balance in the water. However, same results show that the concentration of the required Calcium at the time of *Acipenser persicus* fertilization is about 5 to 70 mg/l and the required Magnasium this time is about 1 to 48 mg/l.

Keywords: Persian sturgeon (*Acipenser Persicus*), Total Hardness, Fertilization rate

Archive of SID

www.SID.ir