

مقایسه برخی خصوصیات اسپرم شناختی فیل ماهی (*Huso huso* Linnaeus, 1768) پرورشی و وحشی*زهرا مددی^۱، حسین خارا^۲، محمدرضا ایمانپور^۳، سیداکبر علیمحمدی^۴و سیده یلدا بنی اسماعیلی^۱^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، آگروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان،
^۲ آگروه شیلات، دانشگاه علوم کاورزی و منابع طبیعی گرگان،^۳ مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی گرگان

چکیده

طی این مطالعه که به مدت ۳ ماه از اسفند ۱۳۷۶ تا اردیبهشت ۱۳۸۷ در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی گرگان صورت پذیرفت، خصوصیات حرکتی (طول دوره تحرک و درصد تحرک اسپرم)، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم در ۱۱ مولد وحشی و ۱۲ مولد پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)، درصد تحرک اسپرم (درصد)، تراکم اسپرم ($\times 10^9$) و اسپرماتوکریت (درصد) در فیل ماهی وحشی به ترتیب ۳۳۹/۰۹±۲۳/۱۱، ۸۳/۶۴±۲/۰۱، ۱۵/۲۲±۳/۴۶ و ۵/۸۸±۱/۳۶ و در فیل ماهیان پرورشی به ترتیب ۱۹۹/۳۵±۲۹/۰۲، ۷۴/۲۲±۲/۴۰، ۸/۳۷±۰/۲۴ و ۳/۲۱±۰/۲۹ اندازه‌گیری شد. بررسی‌ها نشان داد که بین طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک در فیل ماهیان وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت فیل ماهیان وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، درصد تحرک اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، فیل ماهی پرورشی و وحشی (*Huso huso* Linnaeus, 1768)

مقدمه

دریای خزر انجام شده و با توجه به اینکه امکان مهاجرت این ماهیان به رودخانه، در حال حاضر مهیا نیست و از طرف دیگر صید تعداد مولدین کافی مورد نیاز در کارگاه‌های تکثیر مورد تضمین نمی‌باشد، در نتیجه پرورش این ماهیان، به‌خصوص جهت تأمین مولد مورد نیاز کارگاه‌های تکثیر تنها راه نجات نسل این ماهی پرارزش به‌نظر می‌رسد.

اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده تأثیرگذار است و در هچری‌های در مقیاس تجاری، اسپرم از نظر کمی و کیفی ناکافی است (۱۴). همچنین دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند (۱۵). برای این کار باید بیومارکرهای

فیل ماهی از ماهیان استخوانی - غضروفی متعلق به خانواده تاسماهیان^۱ جنس *Huso* و با نام علمی *Huso huso* Linnaeus, 1758 می‌باشد. این گونه یکی از ماهیان با ارزش و منحصر به فرد در دنیا است که به علت مرغوبیت خاویار آن در میان تاسماهیان و همچنین طعم خوب و کیفیت مناسب گوشت، مصرف کنندگان بسیاری را به خود اختصاص داده است.

در حال حاضر، بازسازی ذخایر فیل ماهیان و دیگر گونه‌های ماهیان خاویاری از طریق تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه‌ماهیان در رودخانه‌های حوزه جنوبی

* - مسئول مکاتبه: sh.madadi61@yahoo.com



با ادرار و فضولات و یا خون مخلوط نشود، جمع‌آوری شد (۹) و به سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری شامل ۳ میلی‌لیتر هوا (به‌علت تنفس سلولی اسپرم) و ۲ میلی‌لیتر سمن انتقال یافت. سرنگ‌های حاوی سمن، در فلاسک یخ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (طول دوره تحرک، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم) منتقل گردید.

برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره حرکت اسپرم از میکروسکوپ مجهز به دوربین CCD^۱ و متصل به رایانه استفاده شد (۶). برای این کار سمن فیل ماهی با نسبت سمن به آب ۱:۲۰۰۰ رقیق شده و پارامترهای حرکتی اسپرم بلافاصله (با تأخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی که ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها غیر متحرک شوند توسط دوربین متصل به میکروسکوپ ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد.

جهت اندازه‌گیری مدت زمان حرکت اسپرم، زمان از لحظه فعال شدن تا زمانی که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری شد (۱۶). در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe premiere هر ثانیه حرکتی اسپرم به ۱۲ قطعه عکس تبدیل شد و پس از مقایسه عکسها با یکدیگر درصد اسپرم متحرک اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، پس از سانتریفوژ کردن لوله‌های میکرو محتوی سمن در دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه، درصد اسپرم به پلاسمای سمن تعیین گردید (۷).

تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از

کیفی اسپرم (طول دوره تحرک، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثرند، مشخص شود (۱۴). در تولید تجاری ماهی، ارزیابی سریع کیفیت سمن برای افزایش کارایی لقاح مصنوعی مورد توجه است و حداکثر کیفیت اسپرم به‌دست آمده در مکان‌های تجاری، امری حیاتی و مهم برای تولیدکنندگان به‌حساب می‌آید. ماهیان مولد، تفاوت‌هایی از نظر پارامترهای اسپرم شناختی با یکدیگر دارند و با توجه به اینکه پارامترهای ذکر شده روی کیفیت اسپرم و در نهایت درصد لقاح تأثیرگذار هستند، لزوم تحقیقات بیشتر در این زمینه امری اجتناب‌ناپذیر است (۱۴).

با توجه به موارد ذکر شده و از آنجایی که تاکنون، مطالعاتی در رابطه با کیفیت اسپرم فیل ماهی پرورشی و مقایسه آن با اسپرم فیل ماهی وحشی انجام نگرفته است، این تحقیق با تکیه بر اهداف زیر صورت پذیرفته است:

- ۱- ارزیابی کیفیت اسپرم (طول دوره تحرک، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم) فیل ماهی پرورشی و وحشی
- ۲- مقایسه کیفیت اسپرم فیل ماهی پرورشی و وحشی

مواد و روش‌ها

از اسفند ۱۳۷۶ تا اردیبهشت ۱۳۸۷، اسپرم ۱۱ مولد وحشی و ۱۲ مولد پرورشی فیل ماهی نر با سن و وزن به ترتیب $15 \pm 1/86$ ، 8 ± 0 و $72 \pm 7/98$ ، $32 \pm 3/43$ در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان با استفاده از سرنگ تایگون جمع‌آوری گردید. از آنجا که اسپرم تاسماهیان به محض تماس با آب شیرین فعال می‌شود (۳)، قبل از جمع‌آوری سمن، بدن و منفذ تناسلی ماهیان با دستمال کاغذی خشک گردید و سپس با سرنگ تایگون و با فشار آرام به ناحیه شکمی به گونه‌ای که



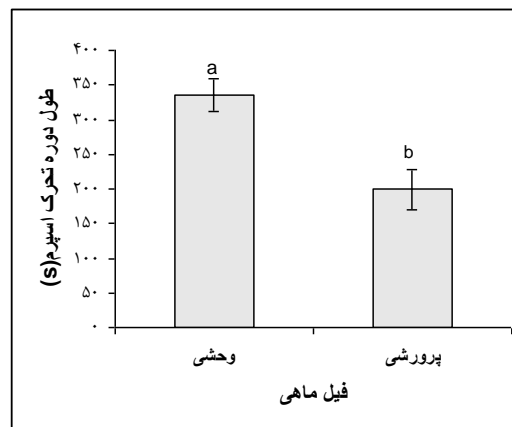
درصد تحرک اسپرم‌های به‌عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شد.

نتایج

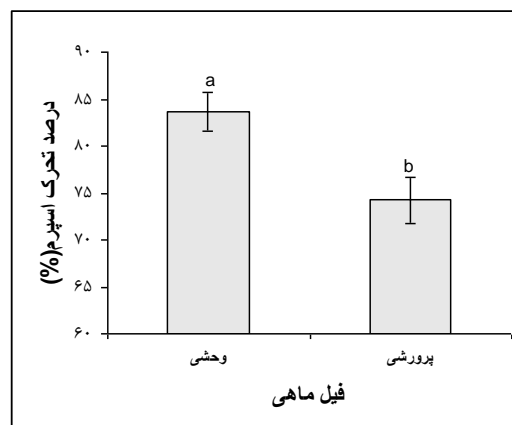
مطابق شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم در فیل ماهیان وحشی و پرورشی در سطح ۱ درصد معنی‌دار و این مقادیر در فیل ماهیان وحشی بیشتر از فیل ماهیان پرورشی بود. اما تفاوت درصد اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم در فیل ماهیان وحشی و پرورشی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

میکروسکپ فاز کنتراستزمینه سیاه (Phase Contrast Microscopy) با درشت‌نمایی ۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد ($\times 10^9$) در هر میلی‌لیتر سمن نوشته شد.

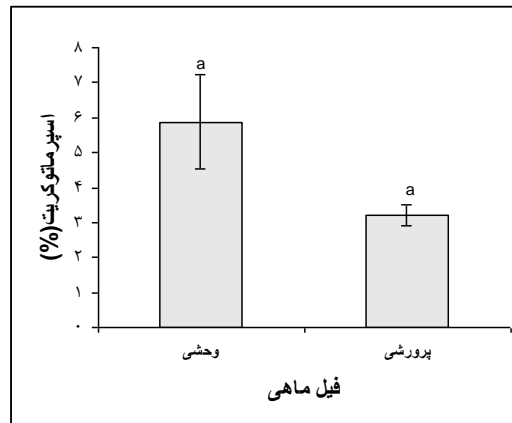
شیوه نمونه‌برداری در این تحقیق به‌صورت تصادفی بود و برای بررسی مقایسه پارامترهای اسپرم‌شناختی بین فیل ماهی وحشی و پرورشی از آزمون T استفاده شد. برای این کار ماهیان وحشی و پرورشی به‌عنوان متغیر مستقل و پارامترهای اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک و



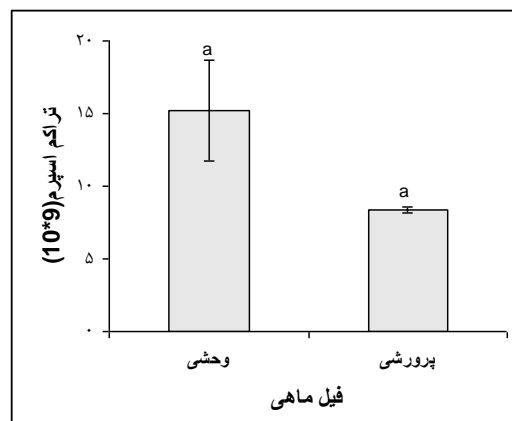
شکل ۱- مقایسه طول دوره تحرک اسپرم در فیل ماهیان وحشی و پرورشی



شکل ۲- مقایسه درصد تحرک اسپرم در فیل ماهیان وحشی و پرورشی



شکل ۳- مقایسه اسپرماتوکریته در فیل ماهیان وحشی و پرورشی



شکل ۴- مقایسه تراکم اسپرم در فیل ماهیان وحشی و پرورشی

درصد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم پارامترهایی هستند که تعیین کننده توانایی اسپرم برای موفقیت لقاح می باشد (۱۰). در مقیاس تجاری کیفیت و کمیت اسپرم ناکافی بوده و این موضوع لقاح موفق را در گونه های تجاری پرورشی نخواهد داد، در نتیجه درصد تحرک اسپرم مطمئن ترین عامل برای بررسی کیفیت اسپرم است (۵). این تحقیق با مطالعات Rideout و همکاران (۲۰۰۴) که گزارش کردند تفاوت معنی داری در درصد تحرک اسپرم در ۶۰-۲ دقیقه پس از فعال سازی اسپرم در بین هادداک *Melanogrammus aeglefinus* وحشی و پرورشی وجود ندارد، همخوانی نداشت. ولی این محققان تفاوت معنی داری را در درصد تحرک اسپرم

بحث و نتیجه گیری

ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت های نر و مطالعه اثر آلاینده های زیست محیطی روی موفقیت تولید مثل در ماهیان صورت می پذیرد (۱۴). همچنین ارزیابی سریع کیفیت اسپرم می تواند انتخاب مولد مناسب را برای به دست آوردن اسپرم با کیفیت مناسب تسهیل نماید که در نتیجه آن نسل بهتری حاصل خواهد شد. برای این کار باید بیومارکرهای کیفی اسپرم (طول دوره تحرک، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریته و تراکم اسپرم) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثرند مشخص شود (۱۴).

پرورشی $9/1 \times 10^9$ و در مولدین وحشی $13/3 \times 10^9$ اسپرماتوزوا در میلی لیتر بود، همخوانی نداشت. یکی از روش‌های بررسی تراکم اسپرم تعیین درصد اسپرماتوکریت است که میزان سلول‌های موجود در یک حجم مشخصی از اسپرم می‌باشد. میزان متوسط اسپرماتوکریت در فیل ماهی، تاسماهی ایرانی و ازون برون به ترتیب $5/1$ ، $10/85$ و $9/7$ درصد گزارش شده است (۱). در پژوهش حاضر متوسط اسپرماتوکریت مولدین وحشی و پرورشی به ترتیب $5/88$ و $3/21$ درصد بود که اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود نداشت که با مطالعات Rideout و همکاران (۲۰۰۴) که گزارش کردند اسپرماتوکریت بین هاداک *Melanogrammus aeglefinus* وحشی و پرورشی تفاوت معنی‌داری ندارد، همخوانی داشت. در بررسی‌های انجام شده توسط سیفی و همکاران (۱۳۸۸) اختلاف معنی‌داری بین درصد تحرک اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت مولدین کپور *Cyprinus carpio* وحشی و پرورشی گزارش شد و در مولدین پرورشی بالاتر از مولدین وحشی بود که با تحقیقات حاضر همخوانی نداشت. گرچه اغلب فرض بر این است که نتایج بررسی‌های انجام شده بر مولدین پرورشی را می‌توان به مولدین وحشی تعمیم داد، اما مطالعات کمی برای بررسی این فرضیه صورت گرفته است. با بررسی‌های انجام شده روی خصوصیات اسپرم‌شناختی بین هاداک وحشی و پرورشی، با وجود اینکه تفاوت در اندازه مولدین وجود داشت و مولدین وحشی طول بزرگتری نسبت به مولدین پرورشی داشتند، تفاوتی بین این دو گروه مشاهده نشد. نتیجه اینکه عدم وجود تفاوت در پارامترهای اسپرم‌شناختی هاداک وحشی و پرورشی این اجازه را می‌دهد که اطلاعات به دست آمده از این دو گروه را با یکدیگر ترکیب کرده و حتی می‌توان مطالعات انجام شده روی

در بین این دو گروه در لحظه صفر پس از فعال‌سازی اسپرم گزارش کرده‌اند که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت.

تراکم اسپرم در ماهیان نر به‌عنوان شاخص زیستی مطرح می‌باشد و به نوع گونه بستگی دارد. اختلاف زیادی بین تراکم اسپرم در گونه‌های مختلف وجود دارد. تراکم اسپرم در ماهیان بین 2×10^6 تا $6/5 \times 10^{10}$ عدد در هر میلی لیتر گزارش شده است و میانگین آن در ماهیان استخوانی از ماهیان خاویاری بیشتر می‌باشد (۴). متوسط تراکم اسپرم در فیل ماهی $1/08 \times 10^9$ ، تاسماهی ایرانی $2/047 \times 10^9$ ، ازون برون $2/93 \times 10^9$ عدد سلول نر در هر سانتیمتر مکعب است (۱). در تحقیق حاضر بین متوسط تراکم اسپرم در فیل ماهیان وحشی $15/22 \times 10^9$ و ماهیان پرورشی $8/37 \times 10^9$ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در فیل ماهیان وحشی بیشتر از فیل ماهیان پرورشی بود که از این نظر با مطالعات Primavera و Quintio (۲۰۰۰) همخوانی نداشت. بررسی‌های آنها نشان داد که در ماهیان پرورشی تراکم اسپرم کمتر و نسبت اسپرم‌های مرده و غیرعادی (ناهنجار) در مقایسه با ماهیان وحشی بیشتر است. همچنین این تحقیق با مطالعات انجام شده روی کیفیت اسپرم ماهی دم زرد مدیترانه‌ای *Seriola dumerili* پرورشی و وحشی توسط Garcia و Diaz (۱۹۹۵) همخوانی نداشت.

Rideout و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که تراکم اسپرم در مولدین هاداک *Melanogrammus aeglefinus* وحشی و پرورشی اختلاف معنی‌داری ندارد که با تحقیق حاضر همخوانی داشت. همچنین تحقیق حاضر با مطالعات Miranda و همکاران (۲۰۰۵) که با بررسی روی ماهی *Odontesthes bonariensis* وحشی و پرورشی، گزارش کردند که تراکم اسپرم در مولد



اختلاف معنی داری وجود داشت. این اختلاف نشان می دهد، فیل ماهیان وحشی نسبت به فیل ماهیان پرورشی دارای کیفیت و کمیت اسپرم بالاتری هستند و می توانند جهت لقاح مصنوعی مؤثرتر باشند.

مولدین پرورشی را به مولدین وحشی تعمیم داد (۱۳).

نتایج این تحقیق نشان می دهد که در بین پارامترهای اسپرم شناختی درصد تحرک اسپرم و طول دوره تحرک اسپرم بین فیل ماهیان وحشی و پرورشی

منابع

- ۱- علیپور جورشری، ع. ۱۳۸۴. بررسی مرفومتريک، تراکم، تحرک، کیفیت اسپرم تاسماهیان (تاسماهی ایرانی، اوزون برون، فیل ماهی) در مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد لاهیجان، ۶۷ صفحه.
- ۲- سیفی، ت. ۱۳۸۸. اثرات هورمون های اوپریم، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی کپور *Cyprinus carpio* وحشی و پرورشی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۳۰ صفحه.
3. Billard, R. and Cosson, J., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J. Exp. Zool 261, 122-131.
4. Billard, R. and Cosson, J., Perches, G. and Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture 124, 95-112.
5. Bozkurt, Y. 2006. The relationship between body condition, sperm quality parameters and fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advances 5 (4), 284-288.
6. Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L. and Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. Journal of Fish Biology 56(6). Pp. 1348-1367.
7. Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Leily, N.R. and Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masculinize coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture 249 (1), 459-468.
8. Garcia, A. and Diaz, M.V., 1995. Culture of *Seriola dumerilii*. Cah. Options Méditerran. 16:103-114.
9. Kortet, R., Vainikka, A., Rantala, A.J. and Taskinen, J., 2004. Sperm quality, secondary sexual characters and parasitism in roach (*Rutilus rutilus*). Biol. J. Linn. Soc. 81, 111-117.
10. Krol, J., Glogowski, J., Demska-zakes, K. and Hliwa, P., 2006. Quality of semen and histological analysis of testes in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. during a spawning period. Czech J. Anim. Sci. 51(5), 220-226.
11. Miranda, L.A., Cassarà, M.C. and Somoza, G.M., 2005. Increase in milt production by hormonal treatment in the pejerrey fish *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes 1835). Aquaculture Research 36 (15), 1473-1479.
12. Primavera, J.H. and Quintio, E.T., 2000. Runt-Deformity syndrome in cultured giant tiger prawn *Penaeus Monodon*. Journal of Crustacean Biology 20, 796-802.
13. Rideout, R.M., Trippel, E.A., and Litvak, M.K., 2004. Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock. Journal of Fish Biology 65, 319-332.
14. Rurangwa, E.; Kime, D.E., Ollivier, F. and Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234(1), 1-28.
15. Tekin, N., Secer, S., Akcay, E. and Bozkurt, Y., 2003. Cryopreservation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Bamidgeh 55(3), 208-212.
16. Turner, E. and Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. Journal of Fish Biology 60, 1570-1579.



Comparison of some spermatological parameters between wild and cultured beluga sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1768)

***Z. Madadi¹, H. Khara², M.R. Imanpour³, S.A. Alimohammadi⁴,
S.Y. Baniesmaeli¹**

¹MS Graduated in Fisheries, Islamic Azad University, Lahijan Branch, ²Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Lahijan Branch, ³Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources, ⁴Reproduction, Rearing and Restocking of Sturgeon Center of Shahid Marjani, Gorgan

Abstract

In the present study sperm motility parameters (sperm motility duration, sperm motility percentage), spermatocrit and sperm concentration have been investigated in 11 wild fish and 12 cultured fish during three months from March to May in 2007 in Shahid Marjani Sturgeons Propagation and Culture center. Sperm motility duration (s), sperm motility percentage (%), spermatocrit (%) and sperm density ($\times 10^9$) in wild and cultured Beluga Sturgeon were 339.09 ± 23.11 , $83.64 \pm 2/01$, 5.88 ± 1.36 , 15.22 ± 3.46 and 199.35 ± 29.02 , 74.22 ± 2.4 , 3.21 ± 0.29 , 8.37 ± 0.24 respectively. Measured parameters showed significant differences between cultured and wild Beluga Sturgeon in sperm motility duration and sperm motility percentage but there were no significant differences in spermatocrit and sperm concentration. According to the results, the differences between cultured and wild Beluga Sturgeon in sperm motility duration and sperm motility percentage showed that, quality and quantity of sperm were higher in wild Beluga Sturgeon and they can be more efficient than cultured individuals.

Keywords: Spermatocrit; Sperm concentration; Sperm motility percentage; Sperm motility duration; Wild and cultured Beluga Sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1768)

* Corresponding Author; Email: sh.madadi61@yahoo.com

