

## بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی (قره برون)

*Acipenser persicus* Borodin, 1897

رجب محمدنظری<sup>۱</sup>، حسین عبدالحی<sup>۲</sup>، الهه تقی خواهنیا<sup>۳</sup>، حسینعلی نوری<sup>۱</sup> و مهدی سهراب نژاد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> مجتمع تکثیر پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری، <sup>۲</sup> معاونت تکثیر و پرورش، شرکت سهامی شیلات ایران، <sup>۳</sup> گروه شیلات، دانشکده منابع

طبیعی ساری، <sup>۴</sup> دانشکده منابع طبیعی نور، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۱/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۸۲/۵/۵

### چکیده

برای بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی (قره برون)، تراکم مختلف اسپرم به تخمکهای ماهی اضافه گردید. نتایج افزودن اسپرم ۱۶ ماهی نر به تخمک ۱۶ ماهی ماده نشان داد میانگین تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم (منو اسپرمی) در تراکم‌های  $0/2, 0/5, 1, 2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $57/7, 58/4, 59$  و  $61/4$  درصد می‌باشد و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود ندارد ( $P > 0/05$ ). میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های  $0/2, 0/5, 1, 2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $4/7, 10/3, 15/6$  و  $17/6$  درصد می‌باشد که اختلاف گروه اول با گروه چهارم معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0/05$ ) یعنی تنها با افزایش میزان اسپرم تا حدود ده برابر گروه اول، درصد تخم پلی اسپرمی افزایش معنی‌دار می‌یابد. نتایج افزودن اسپرم یک ماهی نر واحد به یک ماهی ماده واحد (با سه تکرار در هر تراکم اسپرم) نشان داد میانگین تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم (منو اسپرمی) با تراکم‌های  $0/2, 0/5, 1, 2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $55/7, 52/9, 41/7$  و  $32/7$  درصد می‌باشد که اختلاف ۲ تراکم اول با ۲ تراکم دوم معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ). میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های  $0/2, 0/5, 1, 2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $2/8, 11, 29/5$  و  $30/9$  درصد است که اختلاف دو گروه اول با دو تراکم دوم معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ). همانطور که نتایج نشان می‌دهند با افزایش شدید و بیش از نیاز تراکم اسپرم درصد لقاح منو اسپرمی کاهش و درصد لقاح پلی اسپرمی افزایش معنی‌دار پیدا می‌کنند که دلایل آنرا باید در تعدد میکروبیل‌های تخمک ماهیان خاویاری جستجو کرد ولی کل تخم‌های لقاح یافته (منو اسپرمی و پلی اسپرمی) تفاوت معنی‌داری ندارند.

واژه‌های کلیدی: تاسماهی ایرانی، منو اسپرمی، پلی اسپرمی، تراکم اسپرم و میکروبیل

تمامی دانسته‌های خود را جهت افزایش لقاح به کار می‌برند تا بتوانند با حداقل مصرف ماهی، امکانات، مواد محرك ماهیان و ...، حداقل بازدهی را به دست آورند و در این راستا برای رسیدن به درصد لقاح بالاتر تلاش می‌کنند زیرا تنها تخم‌های لقاح یافته طبیعی در شرایط

### مقدمه

لقاح یکی از حساس‌ترین مراحل تکثیر (تکثیر مصنوعی یا طبیعی) است که در طی آن اسپرم‌اتوزوئیدهای فعال شده، در تماس با تخمک قرار گرفته و مقدمات لقاح و تشکیل تخم را فراهم می‌کنند. تکثیرکنندگان ماهی



قابل توصیه نبوده و دقت خاصی به تراکم اسپرم در هنگام لفاح مصنوعی مبذول گردد.

از طرف دیگر، به عنوان یک اصل، قابلیت لفاح تخمک اوله شده به تدریج کاهش و سپس از بین می‌رود. چه هنگامی که در حفره شکمی ماهی باقی بماند یا در مایع تخمدانی نگهداری شود، چه هنگامی که با آب تماس بگیرد، اگر تخمک ماهیان استخوانی با آب تماس بگیرد، قابلیت لفاح خود را سریع از دست می‌دهد، به عنوان مثال در اردک ماهی (*Esux lucius*) بعد از گذشت یک دقیقه، در کبور ماهیان ۴۰ تا ۶۰ ثانیه بعد، در *O. Tschawytscha* *Oncorhynchus keta* و *Coregonus albula* قابلیت لفاح خود را در آب از دست می‌دهند (دلال و همکاران، ۱۹۹۳).

برخلاف ماهیان استخوانی مذکور، بعضی از تخمک‌های تاسماهیان (بخصوص تاسماهی روسی و ازون برون)، بعد از گذشت چندین ساعت از تماس آنها با آب قابل لفاح هستند، ولی درصد لفاح شروع به کاهش خواهد کرد (دلال و همکاران، ۱۹۹۳). اسپرماتوزوئید *Oncorhynchus gorbuscha* ماهیان استخوانی مثل *Abramis* *Coregonus lavaretus* *Salmo trutta* *Cyprinus* *Carassius carassius* *brama* *carpio* و بسیاری گونه‌های دیگر تنها ۱-۳ دقیقه بعد از تماس با آب شیرین قابلیت لفاح دارند (دلال و همکاران، ۱۹۹۳). برخلاف ماهیان استخوانی در تاسماهی روسی نشان داده شده است که حرکت رو به جلو اکثر اسپرماتوزوئیدهای موجود معمولاً در طی ۵-۱۰ دقیقه بعد از تماس با آب از بین می‌رود، ولی تعداد کمی از اسپرماتوزوئیدها تا ۲۰-۶۰ دقیقه و حتی چندین ساعت حرکت سریع رو به جلو دارند (گینز برگ، ۱۹۸۷).

اسپرماتوزوئید ماهیان استخوانی مثل *Salmo trutta* *Oncorhynchus gorbuscha* *Abramis brama* *Coregonus lavaretus*

محیطی مناسب قادر به رشد و نمو و تولید لارو طبیعی خواهند بود.

تخمک اکثر ماهیان دارای یک میکروپیل بوده و اسپرماتوزوئید تنها از طریق یک میکروپیل موجود وارد تخمک می‌شود، ولی تخمک‌های ماهیان خاویاری دارای میکروپیل‌های متعددی می‌باشند، به عنوان مثال تخم تاسماهی ایرانی دارای ۷/۷ (حلاجیان و همکاران، ۱۳۷۷)، تاسماهی روسی و ازون برون ولگا به ترتیب ۷/۹ و ۵/۱ (پادوشکا<sup>۱</sup>، ۱۹۹۳) تخمک تاسماهی روسی دریای سیاه ۱ تا ۵۳ (متوسط بیش از ۲۵) (دللاف و همکاران<sup>۲</sup>، ۱۹۹۳) در ماهی استرلیاد ۵ تا ۱۳ (دللاف و همکاران، ۱۹۹۳) و در تاسماهی سفید ۳ تا ۱۵ میکروپیل (کر و کلارک<sup>۳</sup>، ۱۹۸۲) است.

در ماهیانی که تخمک آنها دارای یک میکروپیل است، در هنگام لفاح مصنوعی، هر چقدر مقدار اسپرماتوزوئید بیشتر باشد (در محدوده مشخصی از غلظت اسپرم)، احتمال لفاح طبیعی بالاتر می‌رود (پدیده پلی اسپرمی بصورت بسیار محدود در ماهیانی که یک میکروپیل دارند هم دیده می‌شود (امینی، ۱۳۸۰)، ولی در ماهیان خاویاری چنین نیست (ریکوبراتسکی و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۱؛ دلال و همکاران، ۱۹۹۳) و به علت تعدد میکروپیل علاوه بر لفاح طبیعی (یک اسپرمی)، احتمال وقوع لفاح غیرطبیعی (چند اسپرمی) وجود دارد، که تنها تخم‌های لفاح یافته با یک اسپرم در شرایط محیطی مناسب تکامل یافته و می‌توانند نوزاد طبیعی تولید نمایند ولی تخم‌های لفاح یافته با چند اسپرم، لاروهای طبیعی تولید نمی‌کنند، زیرا این نوع تخمهایا در مراحل تکاملی مختلف مثل گاسترولا، و اندامزایی تلف می‌شوند یا اینکه نوزادانی دارای ناهنجاری‌های مختلف تولید می‌کنند که قابلیت ادامه حیات ندارند. بنابراین برخلاف اکثر ماهیان به کارگیری تراکم بالای اسپرماتوزوئید، در ماهیان خاویاری



- 1- Padushka
- 2- Dettlaff et al.
- 3- Clark & Cherr
- 4- Recoubratsky et al.

مقدار ۱۰۰ گرم تخمک آماده لقاح از هر مولد ماده، به داخل ۴ لگنچه ریخته شد. اسپرم یک ماهی مولد نر واحد، با تراکم‌های  $0/2$ ،  $1$ ،  $0/5$  و  $2$  میلی‌لیتر، ابتدا طبق روش رایج در صد میلی‌لیتر آب رقیق و سپس به ۴ لگنچه حاوی تخمک اضافه شدند و طبق روش رایج لقاح یافتند (این عمل ۱۶ بار در ۱۶ ماهی ماده و ۱۶ ماهی نر تکرار گردید).

روش دوم: اسپرم یک ماهی نر واحد با تراکم‌های  $0\text{--}2$  میلی‌لیتر (سه تکرار)،  $0\text{--}5$  میلی‌لیتر (سه تکرار)،  $1\text{--}2$  میلی‌لیتر (سه تکرار) و  $2\text{--}5$  میلی‌لیتر (سه تکرار) پس از رفیق شدن در  $100\text{--}100$  میلی‌لیتر آب به  $12$  ظرف که هر یک حاوی  $100$  گرم تخمک یک ماهی مولد ماده واحد بودند. اضافه و طبق روش رایج لفاح داده شدند.

روش لفاح و از بین بردن چسبندگی: هر کدام از تراکم‌های مختلف اسپر ابتدا به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و به خوبی به هم زده، سپس به لگنچه‌های حاوی ۱۰۰ گرم تخمک افزوده شدند. بعد از حدود ۳ دقیقه به

هم زدن، آب حاوی اسپرم از محیط خارج و محلول ۱۰ درصد گل رس به تخمک اضافه و در طی ۴۰ تا ۵۰ دقیقه چسبندگی تخمک‌ها بر طرف و به انکوباتورهای یوش چنکو منتقل شدند.

تعیین درصد لفاح: بعد از گذشت حدود ۳ ساعت در حرارت ۱۸-۲۰ درجه، حدود ۱۲۰-۱۰۰ عدد از تخمهای به صورت اتفاقی از تمامی انکوباتورها خارج و در فرمایین ۱۰ درصد تثیت شدند و در زیر لوب، درصد لفاح آنها به روش توصیه شده توسط دلال و همکاران (۱۹۹۳) تعیین گردید. در این روش در مرحله تقسیم دوم میتوز، فقط تخمهای دارای ۴ سلول به عنوان تخم طبیعی (تخمک لفاح یافته با یک اسپر ماتوزوئید) محسوبه و بقیه شامام: (تخمهای یمل، اسپر می، تحریک شده و نشده و باره،

بسیاری گونه‌های دیگر تنها ۱-۳ دقیقه بعد از تماس با آب شیرین قابلیت لقاح دارند (دلال و همکاران، ۱۹۹۳). برخلاف ماهیان استخوانی در تسامه‌هی روسی نشان داده شده است که حرکت رو به جلو اکثر اسپرماتوزوئیدهای موجود معمولاً در طی ۵-۱۰ دقیقه بعد از تماس با آب از بین می‌رود، ولی تعداد کمی از اسپرماتوزوئیدها تا ۶۰-۲۰ دقیقه و حتی چندین ساعت حرکت سریع رو به جلو دارند (کیزز برگ، ۱۹۸۷).

علوی و همکاران (۲۰۰۱) هم مطالعه‌ای بررسی طول دوره زمانی تحرک اسپرم تاسماهی ایرانی در محیط‌های مختلف انجام دادند. گینزبرگ (۱۹۸۷) مطالعاتی درباره مشکلات مربوط به لفاح پلی اسپرمی و واکنش کورتیکالی تخمک در طی لفاح انجام داد.

با توجه به موارد بالا و اهمیت به کارگیری تراکم مناسب در هنگام لقاح مصنوعی ماهیان خاویاری با هدف افزایش کارایی تکثیر مصنوعی از طریق بالا بردن احتمال لقاح مناسپر می و بررسی روش های کاهش مقدار لقاح پلی اسپرمی، مطالعه زیر بروی ارتباط بین تراکم اسperm و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی (قره برون) انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد: در فصل بهار سال ۱۳۸۱، همزمان با تکثیر مصنوعی، اسپرم ۱۷ عدد ماهی نر و تخمک ۱۷ عدد ماهی ماده تاسماهی ایرانی دارای شاخص قطبی شدن مناسب هسته (۸-۵ درصد)، لگنچه، خاک رس، انکوباتور یوش چنکو، فرمالین، لوب پرای پرسی مورد استفاده قرار گرفت.

## روش‌ها:

برای بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاد از دو دوش استفاده گردید:

روش اول: از میان ماهیان صید شده، مولدین مناسب انتخاب شدند و طبق روش‌های رایج مورد تزریق قرار گرفتند. بعد از اوپلاسیون و آمادگی مولدین ماده، ماهیان بیرای تخمک کشی به سالن تکثیر منتقل و طبق روش‌های

نتایج افزودن اسپرم یک ماهی نر واحد با تراکم‌های متفاوت به تخمک‌های یک ماهی ماده واحد (با سه تکرار در هر تراکم اسپرم) نشان داد (جدول ۲)، میانگین تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم (منواسپرمی) با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$ ،  $1$  و  $2$  میلی‌لیتر، به ترتیب  $55/7$ ،  $52/9$ ،  $41/7$  و  $32/7$  درصد می‌باشد (SEM به ترتیب  $4/6$ ،  $3/4$  و  $1/9$ ) بود که اختلاف  $2$  تراکم اول با  $2$  تراکم دوم معنی‌دار است ( $P<0/05$ ). میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$  و  $2$  میلی‌لیتر، به ترتیب  $29/5$ ،  $29/0$  و  $30/9$  درصد است (SEM به ترتیب  $0/4$ ،  $0/4$ ،  $3/1$  و  $6/4$  بود) که اختلاف دو تراکم اول با  $2$  تراکم دوم معنی‌دار می‌باشد (دو تراکم اول با  $2$  تراکم دوم معنی‌دار می‌باشد  $P<0/05$ ، ولی میانگین کل تخم‌های لقاح یافته (مجموع منواسپرمی و پلی اسپرمی) در تراکم‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ( $P>0/05$ ) و به ترتیب  $58/5$ ،  $63/9$  و  $71/2$  درصد بود (SEM به ترتیب  $4/2$ ،  $4/2$  و  $5/8$  بود). میانگین تخم‌های لقاح نیافته هم به ترتیب  $41/3$ ،  $35/6$  و  $28/4$  درصد بود (SEM به ترتیب  $4/2$ ،  $2$ ،  $6$  و  $3/9$  بود) که اختلاف آنها معنی‌دار نمی‌باشد ( $P>0/05$ ).

## بحث

در تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری تماس تخمک‌ها با اسپرماتوزوئید به وسیله روش لقاح نیمه خشک انجام می‌شود که طی آن مقدار  $10$  میلی‌لیتر اسپرم بعد از بررسی تحرک اسپرماتوزوئید در  $1$  لیتر آب رقيق‌سازی و به یک کیلوگرم تخمک اضافه می‌گردد و هر سانتی‌متر مکعب اسپرم ماهیان خاویاری حاوی معمولاً  $1$  میلیارد اسپرماتوزوئید است (دلال و همکاران، ۱۹۹۳).

همانطور که در نتایج روش اول اشاره شد، افزودن اسپرم  $16$  ماهی نر به تخمک  $16$  ماهی ماده، با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$ ،  $1$  و  $2$  میلی‌لیتر، منجر به وقوع لقاح منواسپرمی به ترتیب با درصدهای  $57/7$ ،  $58/4$ ،  $59$  و  $61/4$  شد و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و دلیل اصلی معنی‌دار

به عنوان تخم غیرطبیعی محسوب شد و درصد لقاح تعیین گردید.

## بررسی آماری

جهت مقایسه و بررسی اختلاف میانگین درصدهای مختلف لقاح در تراکم‌های مختلف اسپرم، از آنالیز واریانس و تست دانکن از برنامه SPSS تحت ویندوز استفاده شد.

## نتایج

بررسی نتایج افزودن اسپرم  $16$  ماهی نر به تخمک ماده (جدول ۱) نشان داد، میانگین تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم (منواسپرمی) با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$  و  $2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $57/7$ ،  $58/4$  و  $59$  و  $61/4$  درصد می‌باشد (که با وجود افزایش جزیی لقاح منواسپرمی با افزایش تراکم اسپرم) اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود SEM (Std. Error of Mean) ( $P>0/05$ ) ندارد (به ترتیب  $8/2$ ،  $8/6$  و  $5/8$  بود) و میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$  و  $2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $4/7$ ،  $4/3$ ،  $10/3$ ،  $15/6$  و  $17/6$  درصد است (SEM به ترتیب  $1/2$ ،  $1/2$ ،  $3/2$  و  $3/7$  بود) که افزایش پلی اسپرمی با افزایش تراکم اسپرم تنها اختلاف گروه چهارم با گروه اول معنی‌دار است ( $P<0/05$ ) یعنی افزایش لقاح پلی اسپرمی در تراکم  $2$  میلی‌لیتر با  $2$  میلی‌لیتر معنی‌دار است.

۴۰

میانگین تخم‌های لقاح نیافته در لقاح با تراکم‌های  $0/2$ ،  $0/5$ ،  $1$  و  $2$  میلی‌لیتر به ترتیب  $31/1$ ،  $37/5$ ،  $25/3$  و  $20/8$  درصد است که اختلاف آنها معنی‌دار نیست (SEM به ترتیب  $8/8$ ،  $6/5$ ،  $9/6$  و  $6/4$  بود). میانگین تخم‌های لقاح یافته (مجموع تخم‌های لقاح یافته با یک و چند اسپرم) هم به ترتیب  $62/5$ ،  $67/9$ ،  $74/7$  و  $79/1$  درصد بود که اختلاف آنها هم معنی‌دار نیست (SEM به ترتیب  $8/8$ ،  $7/5$ ،  $9/5$  و  $6/4$  بود).





جدول ۱- درصد لفاح حاصله از تلگنی تخمک ۱۶ مولده ماده و اسبروم ۱۶ مولد نر تأسیاهی ایرانی در تراکم های مختلف اسبروم (اعداد به درصد بیان شده اند).

ردیف	نام اسپرم	تعداد اسپرم	غذای اسپرم	لطفاً نیافته										شماره ماهی	ml ب		
				۰/۰	۰/۵	۱	۱/۰	۱/۵	۲	۲/۰	۲/۵	۳	۳/۰				
۱	۹۷/۰	۹۶/۷	۸۲/۸	۹۰/۷	۷۰	۰/۹	۷/۱	۹/۰	۱۹/۸	۱۰/۲	۱۰/۷	۰/۳	۷۲/۷	۸۲/۱	۰/۰/۱		
۲	۹۱/۰	۹۳/۷	—	۹۲	۱/۰	۷۳	—	۷/۹	۱۷/۱	۲۴/۲	۲۴/۲	—	۷۹/۰	—	۸۷/۳		
۳	۹۰/۸	—	۷۶/۱	۸	۹/۱	—	۲۹/۲	۲۶/۲	۲۳/۰	—	۰	۶۶/۷	۷۷/۳	—	۷۰/۱		
۴	۸۹/۸	۹۰/۳	۵/۳	۱۰/۱	۱۰/۲	۷۹/۷	۶۹/۷	۲/۸	۳/۷	۲	۱/۰	۸۰/۲	۶۸/۳	۰/۰/۹	۳		
۵	۹۲/۲	۸۷/۴	۱۰/۸	۹۰/۷	۸۷/۲	۹۱/۰	۸۹/۱	۰	۷/۸	۲/۷	۹/۲	۱۳/۸	۶۳/۹	۰/۰/۷	۰		
۶	۹۸/۰	۱۰/۰	۹۷/۸	۹۵/۸	۱/۰	۲/۱	۳/۲	۰/۰/۲	۶۰/۰	۱۷/۹	۱۷/۹	۳/۳/۰	۲۴/۰	۷۱	۸۷/۹		
۷	۸۰/۱	۹۰/۰	۷۸/۷	۷۸/۷	۱/۳/۰	۲۹/۰	۲۰/۷	۱۱/۳	۲/۲	۷/۳	۷/۱	۸۱/۹	۷۴/۲	۷۲/۲	۷		
۸	۸۰/۱	۷۸/۷	۶۴/۳	۱/۳/۱	۱/۳/۱	۲۹	۱۷/۴	۱۷/۴	۳۰/۷	۳/۹	۷/۷	۷/۱	۸۰/۲	۷۳/۲	۷۹/۰	۸	
۹	۹۹/۱	۹۷/۳	۱۰/۰	۹۷/۳	۰/۰	۰/۰	۰	۰/۰/۲	۳۷/۲	۳/۲/۲	۳/۲/۲	۰/۰/۲	۳۱/۱	۰/۰/۸	۹۱/۹	۹	
۱۰	۳۲	۵۰/۷	۳۳/۰	۸/۲	۶/۲	۶/۲	۶/۲	۷/۰/۰	۹/۱/۰	۸	۱۲/۷	۰/۱	۱/۱	۲/۱	۷/۶	۷/۶	
۱۱	۸۷/۷	۲۲/۷	۱۷/۰	—	۱۷/۰	۵/۱/۳	۷۷/۳	۸/۱/۵	—	۳۷/۰	۱۱/۴	۷/۱	۲۲/۱	۷/۱/۲	۷/۱/۳	۱۰	
۱۲	۹۲/۰	۸۳/۲	—	۱۷/۰	۷/۰	۱۷/۰	—	۳۷/۰	۱۲/۹	۱۲/۹	۱/۰	۷/۰/۲	۱۲/۲	۱۰/۰/۴	—	۱۱	
۱۳	۷۹/۲	۱۷/۲	—	۷۸/۲	۲۰/۷	۲۰/۷	—	۳۱/۸	۹/۹	۷/۷	—	۷/۰/۰	۱۲/۲	۱۰/۰/۴	—	۱۲	
۱۴	۸۸	۹۰/۷	۹۰/۰	—	۱۲	۳/۳	۹/۰	—	۲۹/۳	۱۲/۱	۱۲/۱	۰/۰/۱	۰/۰/۷	۰/۰/۵	۰/۰/۷	۱۳	
۱۵	۸۷/۰/۸	۷۸/۲	۷۸/۲	—	۱۰/۱	۳/۲/۱	۲۰/۸	۰/۰/۸	—	۱۷/۲	۷/۲	—	۷/۰/۲	۱۹/۷	۷۰/۰/۴	—	۱۴
۱۶	۹۲/۲	۹۱/۳	۹۷	—	۷/۷	۸/۷	۸/۷	—	۱۱/۰	۰/۰/۲	۸/۱	—	۸/۰/۸	۸/۰/۹	۸/۰/۹	—	۱۵
۱۷	۹۴/۱	۷۸/۲	۷۷/۰	۷۷/۰	۷۰/۸	۷۰/۸	۷۰/۸	۳۱/۱	۳۷/۰	۱۰/۷	۱۰/۷	۱/۰/۳	۱/۱/۴	۰/۰/۳	۰/۰/۷	۱۶	
۱۸	۷	۷/۰	۹/۰	۸/۸	۷/۳	۷/۳	۷/۳	۹/۱	۷/۰	۱/۰/۲	۱/۰/۲	۰/۰/۲	۱/۱/۲	۱/۱/۲	۰/۰/۷	۰/۰/۷	۱۷
۱۹	۹۰/۱	۲۲/۳	۲۲/۰	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۳۷/۲	۱۸

جدول ۲- درصد لقاح حاصله از تلاقی تخمک یک ماهی مولد ماده با اسپرم یک ماهی مولد نر تسامه‌ای ایرانی (هر تراکم دارای سه تکرار بود).

تراکم اسپرم (میلی لیتر)	لقاح منواسپرمی (درصد)	لقاح پایی اسپرمی (درصد)	مجموع لقاح پایی + منواسپرمی (درصد)	لقاح نیافرمه (درصد)
۰/۲	۵۵/۷±۸	۲/۸±۰/۷	۵۸/۵±۷	۴۱/۳±۷
۰/۵	۵۲/۹±۵	۱۱±۵	۶۳/۹±۱۰	۲۵/۶±۱۰
۱	۴۱/۷±۲	۲۹/۵±۶	۷۱/۲±۲	۲۸/۴±۳
۲	۳۲/۷±۵	۲۰/۹±۱۱	۶۳/۷±۶	۳۷/۲±۶

در رابطه با کیفیت تخمک، بهمنی (۱۳۷۹) عقیده دارد، ایجاد استرس در ماهیان مولد ماده و عدم دستیابی آنها به شرایط فیزیولوژیک طبیعی مناسب تکثیر، با کاهش سطوح پروژسترون در مولدین ماده مواجه می‌شود و با توجه به اینکه عملکرد استروئیدهای جنسی دخیل در پدیده تولید مثل دچار وققه می‌گردد بنابراین، پاسخ مولدین حتی در قبال تزریق دوزهای بالای آگونیست‌های گندوتروپینی یا عصاره هیپوفیز نیز متوقف خواهد شد.

نظری و همکاران (۱۳۸۰) و نظری (۱۳۸۰) عقیده دارند به علت شرایط حاکم بر دریای خزر و بر هم خوردن اکوسیستم آن، روش‌های صید مولدین مورد استفاده در تکثیر مصنوعی (روش دامگستری)، باقی ماندن طولانی مدت ماهیان و تلاش زیاد آنها در دامها و قرار گرفتن در معرض استرس شدید در این مرحله و مرحله حمل و نقل خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان مولد تغییری می‌یابد و عواقب آن در کاهش بازدهی مولدین ماده و تکثیر مصنوعی ظاهر می‌گردد.

دللاف و همکاران (۱۹۹۳) در بررسی‌های خود در تسامه‌ایان به این نتیجه رسیدند که در شرایط نامناسب محیطی، هماهنگی بین رسیدگی نهایی و اوولاسیون تخمک‌های مولدین ماده به راحتی بر هم زده شده و در نتیجه تخمک‌های نرسیده قبل از GVBD اووله شده و از طرف دیگر تخمک‌های رسیده بعد از GVBD ممکن است مابین فولیکول‌ها باقی مانده، منجر به آسیب دیدگی تخمک‌ها و کیفیت تکثیر پائین شوند، کیفیت تخم بستگی

بودن این اختلاف با وجود به کارگیری تراکم‌های مختلف اسپرم، تعدد میکروپیل تخمک‌ها، طولانی بودن قابلیت لقاح اسپرم‌اتوزوئیدهای ماهیان خاویاری است. از طرف دیگر به علت اینکه اسپرم ۱۶ ماهی نر به تخمک ۱۶ ماهی ماده اضافه گردید و به طور قطع تراکم اسپرم‌اتوزوئید در ۱۶ عدد کاملاً یکسان نبوده است یعنی متغیر بودن تراکم اسپرم‌اتوزوئید منجر به متغیر شدن نسبت مناسب بین اسپرم و تخمک می‌شود.

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شد در بعضی از ماهیان درصد لقاح منواسپرمی در ۴ تراکم اسپرم (با وجود اختلاف در تراکم اسپرم تا حد ۱۰ برابر یا ۱۰۰ درصد) لقاح تخمک کاملاً نزدیک به هم می‌باشد که مربوط به کیفیت مناسب تخمک و اسپرم و حالات فیزیولوژیک مناسب مولد ماده است که تخمک‌ها بلا فاصله بعد از ورود اولین اسپرم‌اتوزوئید واکنش کورتیکالی کرده و مانع از ورود اسپرم‌اتوزوئید اضافی (پلی اسپرمی) می‌شوند (ماهی شماره ۱، ۳، ۱۵ و ۱۶)، ولی در تعدادی از ماهیان مولد ماده با وجود قابلیت لقاح مناسب تخمک، واکنش کورتیکالی به دلایل مختلف به موقع انجام نشده یا تراکم اسپرم‌اتوزوئید اسپرم ماهی نر مورد استفاده خیلی زیاد بوده و درصد لقاح منواسپرمی در غلظت‌های پائین اسپرم، مناسب ولی در غلظت‌های بالای اسپرم، لقاح منواسپرمی کاهش ولی پلی اسپرمی شدیداً افزایش یافته است (ماهی شماره ۹، ۱۴ و ۱۶). در تعدادی از ماهیان نیز، با وجود مناسب بودن کیفیت اسپرم، به علت نامناسب بودن کیفیت تخمک درصد لقاح در حد پائینی قرار داشت (ماهیان شماره ۱۰ و ۱۱).

۲۲





بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در ناساهم ایرانی (قریبون) ۰/۵ و ۰/۵ میلی لیتر اسپرم، منواسپرمی ۵۵/۷ و ۵۲/۹ درصد بود و به همان ترتیب لقاح پلی اسپرمی هم اندک یعنی ۲/۸ و ۱۱ درصد بود که کل لقاح (مجموع منو و پلی اسپرمی) آنها هم به ترتیب ۵۸/۵ و ۶۳/۷ درصد بود که اختلاف معنی داری با هم نداشتند، ولی در تراکم های ۱ و ۲ میلی لیتر اسپرم، لقاح منواسپرمی با کاهش معنی دار ۴۱/۷ و ۳۲/۷ درصد و لقاح پلی اسپرمی با افزایش معنی دار به ۲۹/۵ و ۳۰/۹ درصد رسید که نشان دهنده آن بود کاهش لقاح منواسپرمی در تراکم های ۱ و ۲ میلی لیتری اسپرم با افزایش پلی اسپرمی ارتباط داشته و تراکم بالای اسپرم باعث افزایش لقاح پلی اسپرمی گردیده است. نکته جالب اینکه کل لقاح (مجموع منو و پلی اسپرمی) در ۴ تراکم مختلف اسپرم، اختلاف معنی داری با هم نداشتند که حاکی از آن است قابلیت لقاح تخمک در تراکم های مختلف اسپرم یکسان بوده و فقط نوع لقاح متفاوت بوده است (به ترتیب ۵۸/۵، ۵۸/۹، ۶۳/۹، ۷۱/۲ و ۶۳/۷ درصد).

تجزیه و تحلیل نتایج نشان می دهد حالات فیزیولوژیک مولدین و کیفیت تخمک تخمک نقش تعیین کننده ای را در تحقق لقاح داشته و در صورت مناسب بودن کیفیت تخمک، در غلظت های متفاوت اسپرم قابلیت لقاح خواهد داشت که دلیل اصلی آن در تعدد میکروپیل و ماندگاری طولانی تر اسپرماتوزوئید ماهیان خاویاری می باشد. از طرف دیگر به علت متفاوت بودن غلظت اسپرم ماهیان نر مختلف (از ۹ - ۱ میلیارد در سانتی متر مکعب) غلظت مناسب اسپرماتوزوئید که قابل توصیه برای کاربرد باشد، متفاوت خواهد بود. بنابراین، ضرورت دارد کارشناسان تکثیر مصنوعی به تراکم اسپرماتوزوئید هر ماهی مولد نر برای جلوگیری از لقاح پلی اسپرمی توجه نمایند و در ماهیان دارای اسپرم های بسیار غلیظ، از تراکم های کمتر (حتی تا یک پنج دوز رایج) استفاده نمایند تا از احتمال وقوع لقاح پلی اسپرمی کاسته شود (یعنی ۵ - ۵ میلی لیتر اسپرم در ازای هر کیلوگرم تخمک)، ولی در مورد ماهیان دارای اسپرم های متوسط، حداقل تراکم اسپرم در هیچ شرایطی از ۱۰ میلی لیتر اسپرم در ازای هر کیلوگرم تخمک تجاوز ننماید.

به شرایط اولیه مولدین، درجه حرارت نگهداری و زمان استحصال تخمک ها دارد.

در تعدادی از ماهیان نیز، با افزایش تراکم اسپرم، درصد لقاح افزایش یافت (ماهیان شماره ۴، ۷ و ۸) که دلیل آن می تواند به تراکم اسپرم افزایش ماهی نر مورد استفاده باشد، یعنی قابلیت لقاح تخمک بالا بوده و عامل محدود کننده تراکم اسپرم افزایش ماهی نر مورد کمتر بودن تراکم اسپرم افزایش اسپرم ماهی نر مورد استفاده با افزایش تراکم اسپرم، درصد لقاح نیز افزایش یافته است. از طرف دیگر، با افزایش تراکم اسپرم، لقاح پلی اسپرمی افزایش یافت (به ترتیب ۴/۷، ۱۰/۳، ۱۵/۶ و ۱۷/۶) که می تواند مربوط به تعدد میکروپیل در ماهیان خاویاری و ورود همزمان اسپرم افزایش قبل از واکنش کورتیکالی مرتبط باشد و در مورد بعضی از ماهیان مربوط به کیفیت تخم ها و با تأخیر انجام یافتن واکنش کورتیکالی باشد.

کل لقاح (مجموع لقاح منواسپرمی و پلی اسپرمی) در تراکم های مختلف اختلاف معنی داری نداشتند و به ترتیب ۷۹/۱ و ۷۴/۷، ۶۷/۹، ۶۲/۵ درصد بود، که نشان دهنده آن است به علت تعدد میکروپیل تخمک ماهیان خاویاری، در صورت مناسب بودن کیفیت تخمک در تراکم های پائین اسپرم افزایش هم با وجود اختلاف شدید تا ۱۰ برابر تراکم اسپرم (لقاح انجام خواهد شد ولی با افزایش تراکم اسپرم درصد لقاح پلی اسپرمی افزایش خواهد یافت.

ولی بررسی رابطه بین تراکم اسپرم و درصد لقاح به روش دوم همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود نتایج متفاوتی را نشان داد که علت اصلی آن یکسان بودن کیفیت تخمک (از یک مولد ماده استحصال شده بود) و تراکم و کیفیت اسپرم (از یک مولد نر استحصال شده بود) می باشد.

همانطور که قبل اذکر شد لقاح منواسپرمی در تراکم های ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۵ میلی لیتر به ترتیب ۵۵/۷، ۵۲/۹، ۴۱/۷ و ۳۲/۷ درصد و لقاح پلی اسپرمی به ترتیب ۲/۸، ۱۱، ۲۹/۵ و ۳۰/۹ درصد بود که اختلاف دو گروه اول و دوم با دو گروه سوم و چهارم معنی دار بود. در تراکم های

ضابطی و خانم مهندس زهرا تشکری که در تایپ و  
ویراستاری همکاری داشته‌اند، تشکر نمایند.

## تشکر و قدردانی

نگارندگان لازم می‌دانند از آقایان مهندس مقدسی، علیرضا

## منابع

۱. امینی، ف. ۱۳۸۰. بیولوژی کپور علفخوار. چاپ اول، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۹۶ صفحه.
۲. بهمنی، م. ۱۳۷۹. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر محورهای HPG-HPI-Sیستم ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاسماهی ایرانی. رساله دکتری (Ph.D) دانشگاه آزاد اسلامی ( واحد علوم و تحقیقات). ۲۷۷ صفحه.
۳. حلاجیان، ع. م. پورکاظمی، م. کلیاسی، و. ک. امینی. ۱۳۷۷. بررسی تعداد میکروپیل در تخمک تاسماهی ایرانی دریای خزر. اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. ص. ۵۴.
۴. نظری، ر.م. یوسفیان، ب. مجازی امیری و م. سلطانی. ۱۳۸۰. بررسی رابطه بین مقادیر هورمون‌های استرونیدی جنسی و کیفیت تکثیر مصنوعی در تاسماهی ایرانی. فصلنامه علمی پژوهش و سازندگی، جلد ۱۴، شماره ۵۱. ص. ۵۰-۵۷.
۵. نظری، ر. م. ۱۳۸۰. بررسی رابطه بین برخی ترکیبات بیوشیمیایی تخمک و سرم خون با مراحل رسیدگی جنسی در تاسماهی ایرانی. رساله دکتری (Ph.D). دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس. ۸۴ صفحه.
6. Alavi, S.M.H., and B. Mojazi Amiri. 2001. Comparative study on motility of Persian sturgeon *Acipenser persicus* spermatozoan diluted in fresh water and saline solutions-Abstract of 4th International Symposium on Sturgeon USA. AQ23.
7. Cherr, G.N., and W.H. Clark. 1982. Fine structure of the envelope and micropyles in the eggs of the White sturgeon, *Acipenser transmontanus*, Dev Growth Differ 24:341-352.
- 8-Dettlaff, T.A., A.S. Ginsburg, and O.I. Schmalhausen. 1993. Sturgeon Fishes, developmental biology and aquaculture, Springer, Verlag Berlin Heidelberg printed in Germany. P: 300.
9. Ginsburg, A.S. 1987. Egg cortical reaction during fertilization and its role in block to polyspermy. Sov. Sci Rev Physiol. Gen Biol 1: 307-375.
10. Podushka, S.B. 1993. The variability of the number of micropyles in eggs of Volga Stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. Journal of Ichthyology. 33(4). P: 152-155.
11. Podushka, S.B. 1993. The variability of the number of micropyles in eggs of Volga Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedti*. Journal of Ichthyology. 33(9). P: 129-131.
12. Recoubratsky, A.V., A.S., Grunina V.A., Barmintsef O.S. Chudinov, and A.B., Abramova. 2001. RAPD-PCR evidence of dispermic origin of diploid androgenetic sturgeons-Abstract of 4th International Symposium on Sturgeon USA. AQ46.



---

## Study on the relationship between sperm density and fertilization rate in Persian sturgeon (*Acipenser persicus Borodin 1897*)

---

R.M. Nazari<sup>1</sup>, H. Abdolhy<sup>2</sup>, E.Ta ghikhahnia<sup>3</sup>, H. Nouri<sup>1</sup> and M. Sohrabnezhad<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Rajaii Sturgeon Fish Farm, <sup>2</sup>Deputy of Aquaculture-Iranian Fisheries Company, <sup>3</sup>Dept. of Fisheries, Mazandaran University, <sup>4</sup>Dept. of Fisheries, Tarbiat Modarres University, Nour, Iran.

---

---

### Abstract

In order to determine relationship between sperm density and fertilization rate in Persian sturgeon, different density of sperm have used. Results of first method showed that: with different densities of sperm 0.2, 0.5, 1 and 2 ml, rate of monospermic fertilization were 57.7, 58.4, 59 and 61.4% respectively, that there were no significance difference ( $P > 0.05$ ), rate of polyspermic fertilization were 4.7, 10.3, 15.6 and 17.6% respectively. Results of second method showed that: with different densities of sperm 0.2, 0.5, 1 and 2 ml, rate of monospermic fertilization were 55.7, 52.9, 41.7 and 32.7% respectively, that there were significance difference between two first densities and others ( $P > 0.05$ ), rate of polyspermic fertilization were 2.8, 11, 29.5 and 30.9% respectively, that there were significance difference between two first densities and others ( $P > 0.05$ ). As mentioned above with increasing of sperm densities, rate of monospermic fertilization decreased and rate of polyspermic fertilization increased that it is related to presence of many micropiles on the oocytes of sturgeons.

**Keywords:** *Acipenser persicus*; Density of sperm; Monospermic; Polyspermic and Micropile

