

## بررسی خصوصیات مورفولوژی تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در جنوب غرب دریای خزر

• شهریور بارادران نویری

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان(رشت)

• علیرضا علیپور

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان(رشت)

• محمد پورکاظمی

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان(رشت)

تاریخ دریافت: آبان‌ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: شهریور‌ماه ۱۳۸۵

Email: sbn170@yahoo.com

### چکیده

بررسی‌های انجام شده بر روی اسپرم ۲۱ مولد نر تاسماهی ایرانی مشخص نمود که میانگین طول سر، عرض سر، طول کل، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در این ماهیان به ترتیب معادل  $۹/۴۸$  میکرون،  $۱/۸۰$  میکرون،  $۶۲/۳۰$  میکرون،  $۲/۹۲ \times 10^9$  ml و  $۰/۱۱$  است و بین اندازه‌های سنجش شده در نرهای مختلف تفاوت‌های معنی‌دار وجود داشت. بین میزان تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در این ماهی، یک همبستگی قوی ( $۷۸/۷۵ = r^2$ ) دیده شد. خصوصیات مورفولوژیک مورد مطالعه در اسپرم این ماهی (طول سر، عرض سر و طول کل اسپرم) نسبت به اسپرم فیل‌ماهی حوضه جنوبی دریای خزر، بزرگ‌تر بود. همچنین بررسی‌ها نشان داد که بین تراکم اسپرم با طول تازک، طول کل ماهی مولد و ضریب چاقی آنها، رابطه معنی‌داری وجود ندارد.

کلمات کلیدی: مورفولوژی اسپرم، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت، تاسماهی ایرانی

Pajouhesh &amp; Sazandegi: No 75 pp: 138-144

**Morphological characteristics, sperm density and spermatocrit of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) along the west southern part of the Caspian sea.**

By: Baradaran Noveiri, S. International Sturgeon Research Institute (Rasht)

Alipour, A., International Sturgeon Research Institute (Rasht)

Pourkazemi, M., International Sturgeon Research Institute (Rasht)

Sperm morphological study on 21 Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) showed that the mid sperm length, sperm width, total length of sperm, sperm density and spermatocrit were 9.48  $\mu\text{m}$ , 1.8  $\mu\text{m}$ , 62.3  $\mu\text{m}$ ,  $2.92 \times 10^6/\text{ml}$  and 11% respectively and there were significant differences between male characteristics. The statistics showed a significant relationship between sperm density and spermatocrit ( $r^2=78.75$ ). All of the morphological features in this species were greater than the beluga sperm characters. There were no significant relationship between sperm density with flagellar length, total length of sperm, fish total length and weight and condition factor in the Persian sturgeon.

**Key Words:** Sperm morphology, Sperm density, Spermatocrit, Persian sturgeon**مقدمه**

هرگونه وجود داشته باشد (۴).

وجود یک همبستگی قوی بین تراکم اسپرم<sup>۲</sup> و اسپرماتوکریت<sup>۳</sup> در گونه‌هایی از آزادماهیان، سوف ماهیان و کپور ماهیان به اثبات رسیده (۱۴، ۱۳، ۲) و در ماهیان خاویاری حوضه جنوبی دریای خزر نیز مطالعاتی در این خصوص صورت گرفته است (۲، ۵). اما در مورد رابطه تراکم یا اسپرماتوکریت اسپرم استحصالی با اندازه اسپرم‌ها یا با اندازه ماهی مولد مورد نظر اطلاعاتی در دست نیست.

در این مطالعه، به بررسی اندازه‌های مختلف اسپرم تاسماهی ایرانی (*A. persicus*) پرداخته و چگونگی ارتباط این اندازه‌ها، با طول و وزن مولدین، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت و درجه حرارت، مورد بحث قرار می‌گیرد.

مطالعات کمی در مورد مورفولوژی<sup>۱</sup> اسپرم ماهیان خاویاری در مقایسه با سایر ماهیان صورت گرفته است (۱۰، ۹). سر اسپرم این ماهیان به شکل مخروطی بوده و بیشترین پهنا را در قسمت انتهای سر در محل اتصال به تازک دارد (۱). اطلاعات اندکی در مورد جزئیات اندازه اسپرم ماهیان خاویاری از گونه‌های فیل ماهی (*Huso huso*), تاسماهی روسي (*A. gueldenstaedti*), ازون برون (*A. stellatus*), تاسماهی اروپا (*A. sturio*), تاسماهی سفید (*A. transmontanus*) (۸)، تاسماهی دریاچه‌ای (*A. fulvescens*) (۹) و پاروپوزه سفید (*Scaphirhynchus albus*) (۱۰) گزارش شده است. اما به نظر می‌رسد که تفاوت‌های جمعیتی و محلی نیز در مولدین

**مواد و روش‌ها**

اسپرم ۲۱ عدد مولد نر تاسماهی ایرانی منتقل شده به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت، از تاریخ ۸۲/۱/۱۹ لغایت ۸۲/۳/۲۱ مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری ۱۸-۲۶ ساعت پس از تزریق عصاره هیپوفیز ماهیان خاویاری به میزان ۲mg/kg وزن بدن مولدین، با فشار شکمی انجام شد. اسپرم استحصال شده از مولدین مختلف (در محدوده ۵۰-۲۱۰ میلی لیتر) بلافصله به یخچال معمولی منتقال یافته و سریعاً توسط میکروسکوپ (Nikon Eclips E600) مجهز به دوربین عکاسی SONY EXWave-HAD Japan با کمک نرم‌افزار ۲۰۰۰ Biocom Visiol و با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر مورد عکسبرداری و بیومتری (با دقت  $\pm 0.1$  میکرون) قرار گرفتند. برای محاسبه عرض سر، قسمت قاعده مخروطی سر، که بیشترین پهنا را در محل اتصال به تازک دارد، اندازه گیری شد. تراکم اسپرم‌ها به

طور همزمان، با لام هموسیتومتر Neubauer با دقت  $\pm 0.025\text{ mm}$  طور همزمان، با لام هموسیتومتر Neubauer با دقت  $\pm 0.025\text{ mm}$  پس از رقیق‌سازی به نسبت ۱:۲۰۰ مورد محاسبه قرار گرفت. هر نمونه اسپرم اولیه به طور مجزا دو بار رقیق سازی شده و از هر نمونه رقیق شده ۳ نمونه تصادفی بررسی شد. محاسبه اسپرماتوکریت نیز با استفاده از لوله‌های موئینه میکروهماتوکریت استاندارد و پس از سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. طول و وزن مولدین و دمای آب در روز تکثیر نیز ثبت گردید. ضربی چاقی<sup>۴</sup> با استفاده از فرمول  $K = WL \times 100$  محاسبه شد (۱۴). کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۰۰ با ضربی اطمینان ۹۵٪ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**نتایج**

نتایج حاصل از زیست‌سنگی اسپرم مولدین مختلف، تعداد اسپرم‌ها و

جدول شماره ۱: میانگین مشخصات زیست سنجی اسیرهای تازه استحصال شده از مولدین مختلف و سایر موارد سنجش شده در تاسماهی ایرانی ( $\pm$  SD)

نشان می دهد کلیه خصوصیات مورفومتریک بررسی شده در اسپرم این ماهی نسبت به اسپرم فیلماهی بزرگتر است. در بین افراد یک گونه تنوع وسیعی از نظر اندازه سر، تازک و تراکم اسپرم‌ها دیده می‌شود (۱۱) که می‌تواند به دلیل تنوع در رسیدگی گنادها، تعدد دفعات اسپرم‌گیری (۵)، تغذیه ماهی، موقعیت زمانی اسپرم‌گیری در فصل تکثیر (۱۵)، شرائط صید و نحوه اسپرم‌گیری باشد (۱۲).

تعیین تراکم اسپرم در ماهیان به کمک سه روش شمارش مستقیم سلولی، تعیین اسپرماتوکریت و تخمین تراکم با استفاده از جذب نوری مایع اسپرم امکان پذیر است (۵). در این میان، از روش شمارش سلولی به کمک هموسیتومتر به عنوان یک روش استاندارد برای تعیین تراکم اسپرم استفاده می‌شود (۱۵، ۱۳).

وجود رابطه مثبت بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در ماهیان

سایر مشخصات سنجش شده در جدول ۱ آمده است. همچنین میانگین و انحراف معیار مشخصات سنجش شده کل نمونه‌های مورد بررسی و دامنه‌های آنها در جدول ۲ آمده است. نتایج آماری مقایسه افراد مولدین نشان می‌دهد که در عرض سر اسپرم ( $p=0.001$ )، طول سر اسپرم ( $F=11/89$ ،  $P=0.001$ )، طول تازک ( $F=11/44$ ،  $P=0.001$ ) و طول کل اسپرمها ( $F=11/11$ ،  $P=0.001$ ) بین مولدین اختلاف معنی دار وجود دارد.

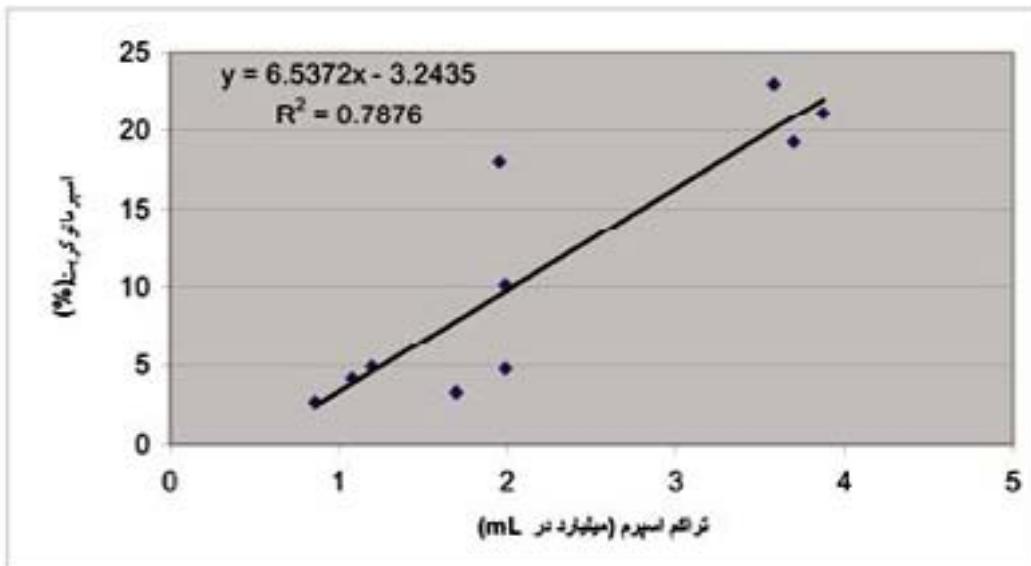
اطلاعات بدست آمده یک همبستگی قوی بین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم را در تاسماهی ایرانی نشان می‌دهد ( $r=0.78/0.7572$ ) که مشخصات این رابطه در نمودار شماره ۱ آمده است. نتایج بررسی‌ها و مقایسه‌های آماری اطلاعات بدست آمده در مورد روابط بین عوامل مختلف مورد بررسی نیز در جدول شماره ۳ خلاصه شده است (۶).

جدول شماره ۲: میانگین، انحراف معیار و دامنه مشخصات بررسی شده در اسپرم‌های تازه تاسماهی ایرانی

دامنه	Mean±SD میانگین	مشخصه مورد بررسی
۱/۶۲۴ - ۲/۰۲۶	۱/۸۰۳۷ ± ۰/۲۴۴۶	عرض سر ( $\mu\text{m}$ ) $n=851$
۰/۷۲۰ - ۱/۰۴۶۲	۰/۰۸۸۴ ± ۰/۰۷۱۶	طول سر ( $\mu\text{m}$ ) $n=851$
۰/۶۶۲ - ۰/۵۹	۰/۵۲ ± ۰/۰۱۵۹ ± ۰/۰۴۴۴	طول تازک ( $\mu\text{m}$ ) $n=851$
۰/۵۵ - ۰/۳۸۲ - ۰/۰۶۹ - ۰/۰۱۵	۰/۶۲ ± ۰/۰۴۱ ± ۰/۰۵۹۵۶	طول کل ( $\mu\text{m}$ ) $n=851$
۰/۰۰۸۶۰ - ۰/۰۵۹۰	۰/۰/۹۲۷۶ ± ۰/۰۰۸۲۲	تراکم ( $\times 10^4/\text{ml}$ ) $n=17$
۰/۰۰۲۵۷ - ۰/۰۰۲۳۰	۰/۰/۱۱۰۸۷ ± ۰/۰۰۸۲۹۶	اسپرماتوکریت $n=10$
۰/۰/۷۴۶۶ - ۰/۰۳۰۸۸	۰/۰/۴۵۴۸۹ ± ۰/۰۰۸۷۴۹	ضرب چاقی $n=21$

*Oncorhynchus mykiss*, *O.kisutch*, *Salmo salar*, *Coregonus clupeaformis*, *Perca flavescens*, *Siganus guttatus*, *Gadus (Hippoglossus hippoglossus)* (۱۴)، هالیبوت اقیانوسی (*morhua* (*A.stellatus*)) (۱۶)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ازون برون (۲) به اثبات رسیده است. این رابطه مثبت قبلاً در تاسماهی ایرانی گزارش شده و مشخص گردید که تراکم اسپرم در اسپرم‌گیری اول، با دفعات بعدی تفاوت معنی دار داشته و بیشترین تراکم اسپرم در اسپرم‌گیری اول دیده می‌شود (۵). در بررسی حاضر، رابطه تراکم اسپرم

اندازه طول سر، عرض سر و طول کل اسپرم فیلماهی، تاسماهی روسی، تاسماهی اروپا، ازون برون، تاسماهی سفید (۸)، تاسماهی دریاچه‌ای و پاروپوزه سفید (۹، ۱۰)، قبل از اینکه شده است (جدول ۴). اندازه طول سر، عرض سر و طول کل اسپرم فیلماهی حوضه جنوبی دریای خزر نیز به ترتیب معادل  $۰/۷۶۹$ ،  $۰/۱۳۳$ ،  $۰/۰۳۳$  و  $۰/۰۰۳$  میکرون گزارش شده است (۳). میانگین طول سر، عرض سر، طول تازک و طول کل اسپرم در تاسماهی ایرانی بررسی شده در این تحقیق به ترتیب برابر با  $۰/۰۰۸۱$ ،  $۰/۰۰۸۰$  و  $۰/۰۰۸۲$  میکرون بود که



نمودار شماره ۱: رابطه اسپرماتوکریت با تراکم اسپرم در تاسماهی ایرانی

### سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از مساعدت‌های صمیمانه جناب آقای مهندس محمدعلی آخوندزاده، ریاست محترم وقت مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت و همکاران محترم بخش تکثیر آن مرکز و جناب آقای مهندس رضوان... کاظمی، مسئول محترم بخش فیزیولوژی استیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری رشت و کلیه همکاران این بخش تشکر نمایند. همچنین از راهنمایی‌های ارزنده دکتر Roland Billard و پروفسور CNRS Jacky Cosson تاریخ طبیعی پاریس قدردانی بعمل می‌آید.

### پاورقی‌ها

- 1- Morphology
- 2- Sperm density
- 3- Spermatocrit
- 4- Condition factor

### منابع مورد استفاده

- ۱- آذری تاکامی، ق. و کنهنه‌شهری، ۱۳۵۳.م؛ تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۶۸ صفحه.
- ۲- اسلامبولچی، ش.؛ ۱۳۷۷؛ تخمین تراکم اسپرم ماهی کپور معمولی، آمور و ازونبرون با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری. پایان‌نامه کارشناسی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۵۰ صفحه.
- ۳- برادران نویری، ش.؛ علیپور، ع. و پورکاظمی، م.؛ بررسی تاثیر انجماد

این ماهی با اسپرماتوکریت یک همبستگی مثبت قوی را نشان داد (نمودار ۱). همچنین بررسی‌ها حاکی است که رابطه معنی‌داری بین تراکم اسپرم با طول تاژک، طول کل اسپرم، طول کل و ضربی چاقی مولدین تاسماهی ایرانی وجود ندارد (جدول ۳). عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین اسپرماتوکریت با طول، سن و ضربی چاقی در ماهی *G.morhua* (۱۴) و همچنین رابطه منفی بین تراکم اسپرم با روزهای سپری شده از شروع فصل تکثیر در ماهی باس دریائی *O.mykiss* (Dicentrarchus labrax)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)، لای Sparus (۱۱)، ماهی کپور معمولی (*Tinca tinca*) و *C. carpio* (۱۱) (*Tinca tinca auratus* نیز گزارش شده است (۱۴)).

تجزیه و تحلیل‌ها نشان می‌دهد که در تاسماهی ایرانی طول کل ( $r^2 = 0.70$ ,  $p = 0.2455$ ,  $n = 21$ ) و وزن ( $r^2 = 0.39$ ,  $p = 0.3886$ ,  $n = 21$ ) و ضربی چاقی مولدین ( $r^2 = 0.20$ ,  $p = 0.5393$ ,  $n = 21$ ) ارتباطی با طول اسپرم‌های استحصالی نداشته و اختلافات بیومتریک مشاهده شده بین اسپرم نرهای مختلف را باید در ارتباط با سایر شرایط فیزیولوژیک ماهی مورد بررسی قرار داد.

هر چند که تخمین تراکم اسپرم در ماهیان، به کمک تعیین اسپرماتوکریت تقریب بسیار خوبی از تراکم اسپرم‌های استحصالی را ارائه می‌دهد، اما به نظر می‌سد اهمیت عواملی همچون درصد تحرک اسپرم‌ها، مدت زمان تحرک و نوع حرکت اسپرم‌ها، که در لفاح نقش کلیدی داشته و با این روش قابل ارزیابی نیستند، کاربرد این روش را محدود می‌نماید. عدم وجود همبستگی بین تراکم و اسپرم و تراکم آن در اسپرم تاسماهی ایرانی (۵) می‌تواند تائیدی بر این موضوع باشد.

جدول شماره ۳: میزان همبستگی عوامل مختلف زیست سنجی اسپرم تاسماهی ایرانی، مولدین، تراکم و اسپرماتوکریت آنها در نمونه‌های مورد بررسی

$r^2(%)$	میزان همبستگی	عوامل مورد بررسی
۵۱/۳۲	متوسط	طول سر اسپرم و طول کل اسپرم
۹۸/۷۵	بسیار قوی	طول تازک و طول کل اسپرم
۴۴/۰۷	متوسط	طول سر اسپرم و طول تازک
۱۷/۱۲	بسیار ضعیف	طول سر اسپرم و عرض سر اسپرم
۵۱/۸۰	متوسط	طول کل ماهی و وزن ماهی
۱۲/۰۵	بسیار ضعیف	طول کل ماهی و طول کل اسپرم
۱۰/۳۷	بسیار ضعیف	وزن ماهی و طول کل اسپرم
۷۸/۷۸	قوی	تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت
۹/۷۷	بسیار ضعیف	تراکم اسپرم و درجه حرارت آب
۲۱/۰۲	ضعیف	طول کل ماهی و تراکم اسپرم
۳۷/۱۴	ضعیف	طول کل اسپرم و تراکم اسپرم
۱/۱۲	بسیار ضعیف	طول کل اسپرم و ضریب چاقی
۰/۱۵	بسیار ضعیف	تراکم اسپرم و ضریب چاقی
۱۹/۳۲	بسیار ضعیف	طول سر اسپرم و اسپرماتوکریت
۱/۱۸	بسیار ضعیف	ضریب چاقی و اسپرماتوکریت

جدول ۴: مشخصات ریخت‌شناسی اسپرم در چند گونه از ماهیان خاویاری

منبع	طول کل اسپرم (میکرون)	عرض سر اسپرم (میکرون)	طول سر اسپرم (میکرون)	نام گونه ماهی خاویاری
آذربایجانی و کهن‌شهری، ۱۳۵۳	۴۷	۱/۸	۶/۳	<i>A.stellatus</i>
آذربایجانی و کهن‌شهری، ۱۳۵۳	۴۹/۵	۱/۸	۴/۵	<i>A.sturio</i>
آذربایجانی و کهن‌شهری، ۱۳۵۳	۵۸	۱/۹	۸/۹	<i>A.gueldenstaedti</i>
آذربایجانی و کهن‌شهری، ۱۳۵۳	۵۵	۱/۱	۷/۴	<i>Huso huso</i>
برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۲	۵۱/۰۳	۱/۳۳	۷/۶۹	<i>Huso huso</i>
Dettlaff et al., ۱۹۹۳	۴۲	۱/۵	۷	<i>A.transmontanus</i>
Dilauro et al., ۲۰۰۰	۵۰	-	۷	<i>A.fulvescens</i>
Dilauro et al., ۲۰۰۱	۳۷	-	۶	<i>Salbus</i>
پژوهش حاضر	۶۲/۳۰	۱/۸۰	۹/۴۸	<i>A.persicus</i>

۵ - علوی، س.م.و. ۱۳۸۱؛ مطالعه تطبیقی حرک اسپرمازوای تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و قابلیت لقاحی آن بین آب شیرین و محلول‌های نمکی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. ۱۰۲ صفحه.

۶ - نصفت، م. ۱۳۷۸؛ اصول و روش‌های آماری. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دهم. صص. ۱۶۴-۱۷۴.

۷- Ciereszko,A. and Dabrowski,K. 1993; Estimation of sperm concentration on rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique.

بر مورفولوژی و اندازه اسپرم فیلم‌های دریای خزر (*Huso huso*). اولین کنگره سراسری زیست‌شناسی سلوی و تکوینی، دانشگاه تهران، ۲۲-۲۳ شهریور ۱۳۸۲

خلاصه مقالات، ص. ۳۸.

۴ - برادران نویری، ش.؛ علیپور، ع. و پور‌کاظمی، م. ۱۳۸۳؛ خصوصیات مورفومتریک، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در اسپرم ازون برون (*Acipenser stellatus*). اولین همایش علمی پژوهشی علوم شیلاتی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۲۵-۲۶ آذر ۱۳۸۳. کتابچه مقالات ص. ۴۳-۴۸.

- Aquaculture,109:367-373.
- 8- Dettlaff,T.A; Ginsburg, A.S and Scmalhausen, O.I. 1993; Sturgeon fishes, developmental biology and aquaculture. Springer-Verlag,pp.57-64.
- 9- DiLauro, M.N. ; Kaboord, W.S. and Walsh, R.A. 2000; Sperm-cell ultrastructure of North American sturgeon. III. The lake sturgeon (*Acipenser fulvescens* Rafinesque,1817; Can.J.Zool. 78(3):438-447.
- 10- DiLauro,M.N.; Walsh,R.A; Peiffer,M. and Bennett,R.M. 2001; Sperm-cell ultrastructure of North American sturgeon. IV. The pallid sturgeon (*Schaphirhynchus albus* Forbes and Richardson,1905; Can.J.Zool. 79(5):802-808.
- 11- Dreanno,C.; Squet,M.; Fauvel,C.; Lecoz,R.; Dorange,G.; Quemener,L. and Billard, R. 1999; Effects of the aging process on the quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) semen. J. Ichthyol.15:176-180.
- 12- Kopeika,E.F.; Wiliot,P. and Goncharov,B.F.2000; Cryopreservation of atlantic sturgeon *Acipenser sturio* L.,1758; sperm: First results and associated problems. Bol.Inst. Esp.Oceanogr.16(1-4):167-173.
- 13- Liley,N.R; Tamkee,P.; Tsai,R. and Hoysak, D.J. 2002; Fertilization and dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of male age, social experience and sperm concentration and motility on in vitro fertilization. Can.J. Fish. Aquat.Sci.59:144-152.
- 14- Rakitin,A; Ferguson,M.M. and Trippel,E.A. 1999; Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season. Aquaculture, 170:349-358.
- 15- Suquet,M.; Omnes.MH.; Normant,Y. and Fauvel.C. I992; Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*; Aquaculture, 101:177-185.
- 16- Tvedt.H.B.; Berifey,T.J. ;Martin-Robichaud,D.J. and Power,J. 2001; The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture, 194:191-200.

