

بررسی تأثیرات یون‌ها در کیفیت اسپرماتوزوآئی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

لاله شیدایی^{*}، عباسعلی زمینی^۲، حبیب وهاب زاده^۳، شهروز برادران نویری^۴

۱، ۲ و ۳-دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۴-موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، بخش ژنتیک، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ پذیرش: ۴ آبان ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۱۳ تیر ۱۳۹۱

چکیده

با توجه به کاهش ذخایر ماهیان خاویاری در دریای خزر و لزوم استفاده بیشتر از مواد تناслی استحصالی از مولدین، اسپرم مولدین نر که در بیضه حالت غیر متحرک دارد با ورود به محیط آبی تحرک می‌یابد. این فعالیت تحت تأثیر فاکتورهای محیطی نظیر درجه شوری و علاوه بر pH وغیره می‌باشد، که پیش نیاز و لازمه تحرک اسپرم است. طی این تحقیق که در فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۸ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و موسسه ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت انجام پذیرفت، مواد تناслی استحصالی از ۴ مولد نر در ۵ تیمار مختلف شوری صفر گرم در هزار ،۰/۶ گرم در هزار (شاهد)، ۲ گرم در هزار ،۴ گرم در هزار و ۶ گرم در هزار بررسی شدند. میزان یون‌های سدیم، پاتاسیم و کلسیم محلول‌های مورد استفاده و مایع سمتیال اسپرم مولدین نر اندازه‌گیری شد. درصد تحرک اسپرم در تیمار شوری صفر گرم در هزار ،۰/۶ گرم در هزار (شاهد)، ۲ گرم در هزار و ۶ گرم در هزار به ترتیب ۰/۰۰، ۰/۰۵، ۰/۰۷۵، ۰/۰۷۷، ۰/۰۷۸، ۰/۰۷۳ درصد و زمان تحرک اسپرم به ترتیب ۰/۰۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۲۹۵، ۰/۰۳۹۱، ۰/۰۳۳۳ درصد تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف شوری، اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($P \leq 0/05$).

کلمات کلیدی: تاس ماهی ایرانی، تحرک اسپرم، مایع سمتیال، شوری، یون.

* عهده دار مکاتبات (✉). Laleh_sheidayi@yahoo.com

فعال می‌شود (Alavi, et al., 2002). بنابراین تعیین Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , ..., pH و اسمولاریته بسیار مهم بوده و پیش Alavi and Cosson, (2002; Billard, et al., 1995 نیاز و لازمه تحرک اسپرم است) (در چنین شرایطی غشاء سلول دپلاریزه شده و روی توانایی تاثرک اسپرم برای حرکت تأثیر گذاشته و موجب تحرک حرکت می‌شود (Morisawa, et al., 1983). در میان عوامل بالا دو فاکتور اصلی تحرک اسپرم و ظرفیت آن را کنترل می‌کنند، این فاکتورهای کلیدی، محتوای پتانسیم در Alavi, et al., (Stoss, 1983) و تاس‌ماهیان (Salmوننیده (Billard, et al., 1995a, 1995b) و ماهیان دریایی (Perchech, et al., 1995a, 1995b) و ماهیان دریایی (Krasznai, et al., 2003) خارجی برای شروع فعالیت اسپرم در سالموننیده (Billard, et al., 1995b; Christen, et al., 1987)، کپور‌ماهیان (Krasznai, et al., 2000) و ماهیان خاوياری (Linhart, et al., 2002) ضروری است. افروden کلرید سدیم به پلاسمای سینیال موجب تحرک اسپرم می‌شود (Marshal, et al., 1993). با افزایش بیش از حد یون سدیم، طول دوره تحرک و تعداد اسپرماتوزوآئی متوجه کاهش خواهد یافت (Morisawa, et al., 1983). وجود یون‌های سدیم، کلسیم و منیزیم می‌تواند اثر منفی یون پتانسیم را خنثی نماید که در این بین نقش یون‌های دو ظرفیتی بیشتر است (Cosson, et al., 1999). بسیاری از محققین معتقدند که مناسب‌ترین محیط کشت برای فعال‌سازی اسپرماتوزوآئی این دسته از ماهیان در آب شیرین یا آب Beljajev, 1957; Drabkina, 1961; Ivlev, 1940; Toth, et al., لب شور (بیش از ۲٪) پیدا می‌شود ().

مقدمه

تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* ماهی رودکوچ (Anadramous)، متعلق به جنس *Acipenser* و خانواده *Acipenseridae* است، که پراکنش وسیعی در آب‌های ساحلی دریای خزر دارد (Alavi, et al., 2004a). میزان ذخایر این ماهیان به علت از بین‌رفتن زیستگاه طبیعی، کاهش تکثیر طبیعی، تخریب اکوسیستم و مهم‌تر از همه صید بی‌رویه کاهش یافته است (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۵۳). میزان صید و استحصال تاس‌ماهیان دریای خزر از ۲۸۵۰۰ تن گوشت و ۳۰۰۰ تن خاویار در سال ۱۹۸۵ به کمتر از ۵۰۰ تن گوشت و ۱۰/۵ تن خاویار در سال ۲۰۰۳ رسیده است. هر چند تعداد تاس‌ماهی ایرانی صید شده از سال ۱۹۹۳ تا ۲۰۰۲ روند صعودی داشته است و از سوی دیگر رها کرد بچه تاس‌ماهیان از ۲ میلیون عدد به ۲۰ میلیون افزایش داشته، ولی در مجموع صید قانونی تاس‌ماهیان دریای خزر روند نزولی داشته است (پورعلی و همکاران، ۱۳۸۶). در این بین لقاح یکی از حساس‌ترین مراحل تکثیر طبیعی و یا مصنوعی است که در طی آن اسپرماتوزوئیدهای تحریک شده در تماس با تخمک‌ها قرار گرفته و مقدمات تشکیل تخم را فراهم می‌آورند. روش‌های مناسب لقاح و نگهداری سلول‌های جنسی به منظور افزایش کارایی تکثیر مصنوعی در ماهیان امری ضروری است (Billard and Cosson, 1992). کیفیت اسپرم که مهم‌ترین مشخصه آن تحرک است یک پارامتر کلیدی تعیین‌کننده قابلیت لقاح سمن Billard and Cosson, 1992; Lahnsteiner, et al., 1996 است (). اسپرماتوزوآئی تاس‌ماهیان مانند سایر ماهیان استخوانی در بیضه و دستگاه تناسلی غیر متوجه است و تنها بعد از رهاسازی در محیط خارجی

استفاده شد. محلول‌های مورد نظر شوری صفر گرم در هزار، ۰/۶ گرم در هزار، ۲ گرم در هزار، ۴ گرم در Alavi, et al., 2002; ۶ گرم در هزار (Cosson, et al., 2000) در ۵ ظرف آماده شد و در آزمایشگاه انجماد اسپرم موسسه ماهیان خاویاری دکتر دادمان به بررسی کیفیت اسپرم پرداخته شد. پس از استحصال اسپرم بلافصله اسپرم هر مولد را به آزمایشگاه انتقال داده تا در محلول‌های مختلف سنجش شود. درصد اسپرم‌های متخرک بلافصله بعد از فعال شدن صد درصد به صورت چشمی انجام شد (Alavi and Cosson, 2006). اسپرم هر مولد با رقیق سازی ۱۳۰۰ توسط هر کدام از محلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری با عدسی ۴۰ مورد بررسی قرار گرفت (Noveiri, et al., 2005). مدت زمان تحرک اسپرم تا زمانی که ۱۰۰ درصد میزان سلول‌ها متوقف شوند در نظر گرفته شد (Alavi and Cosson, 2006) و توسط زمان سنج بر حسب ثانیه به صورت چشمی ثبت گردید. میزان یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم مایع سمینال اسپرم مولدهای نر و همچنین محلول‌های مورد استفاده با روش کلریمتريک اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان یون‌های سدیم و پتاسیم از Flame photometer و جهت اندازه‌گیری کلسیم از اتو آنالیز تکنیکال استفاده شد (Alavi and Cosson, 2005). تمام آزمایشات در ۳ تکرار صورت پذیرفت و میانگین ۳ تکرار برای هر نمونه به عنوان شاخص در نظر گرفته شد.

آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار SPSS ، آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت و نمودارها با استفاده از نرم افزار SPSS رسم گردید.

Linhart, et al., 1997; Tanasijcuk and Vonokov, 1955, ۱۹۵۶) یا درجه شوری بالاتر از ۴-۳٪ تا ۸٪ را برای تحرک اسپرماتوزوآی ماهی مناسب دانسته‌اند. مطالعه تأثیر فاکتورهای محیطی روی کیفیت اسپرم می‌تواند در پایه‌ریزی محلول‌های فعال کننده یا بازدارنده جهت اصلاح لقادح مصنوعی یا انجماد اسپرم بسیار حائز اهمیت باشد (Alavi, et al., 2009). در این تحقیق سعی شد تا با بررسی میزان شوری و غلظت یون‌ها، اثرات و نوسانات آن بر کارایی تکثیر، بهترین دامنه برای موفق‌ترین تکثیر در تاس ماهی ایرانی به دست آید و در جهت بهینه‌سازی تکثیر و افزایش درصد لقادح استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۸ در مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی و موسسه ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت انجام پذیرفت. تیمارهای مختلف شوری صفر (آب مقطر) گرم در هزار، ۲ گرم در هزار، ۴ گرم در هزار و ۶ گرم در هزار از ترکیب آب دریا در ساحل کیاشهر (با شوری ۱۳/۵ گرم در هزار) با آب کارگاه به دست آمد. از آب کارگاه با شوری ۰/۶ گرم در هزار به عنوان شاهد استفاده شد. تنظیم شوری توسط شوری سنج VITAL ساخت ژاپن صورت گرفت. از میان ماهیان صید شده مولدهای متناسب انتخاب شدند. آن‌گاه اسپرم ماهیان، استحصال و جهت بررسی خصوصیات اسپرم مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق از ۴ مولد نر بامیانگین وزنی $۱۳/۰\pm ۰/۴۸$ کیلوگرم و میانگین طولی $۱۵۵/۸۷\pm ۷/۲۸$ سانتی‌متر

معنی دار آماری وجود داشت ($P \leq 0.05$) و نتایج آزمون دانکن نشان داد که هر تیمار در گروهی مجزا قرار داشته و با هم اختلاف معنی دار آماری دارند ($P \leq 0.05$). بین میانگین سدیم در تیمارهای مختلف شوری اختلاف شوری اختلاف معنی دار آماری به دست آمد ($P \leq 0.01$) و آزمون دانکن نیز نشان داد که آب مقطر و شوری ۲، ۴ و ۶ گرم در هزار هر کدام در گروه مجزا قرار داشته و با هم اختلاف معنی دار آماری دارند. شاهد نیز با شوری ۴ و ۶ گرم در هزار دارای اختلاف معنی دار آماری می باشد ($P \leq 0.05$).

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی یون های پتابسیم، کلسیم و سدیم در تیمارهای مختلف شوری و مایع سمینال ۴ مولد نر تاس ماهی ایرانی در جدول های ۱ و ۲ نشان داده شده است. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه بین میانگین پتابسیم در تیمارهای مختلف شوری اختلاف معنی دار آماری وجود داشت ($P \leq 0.01$). همچنین آزمون دانکن نشان داد که آب مقطر و شاهد در یک گروه و تیمارهای دیگر هر کدام در گروهی مجزا قرار داشته و با هم اختلاف معنی دار آماری دارند ($P \leq 0.05$). بر اساس آزمون تجزیه واریانس یکطرفه بین میانگین کلسیم در تیمارهای مختلف شوری اختلاف

جدول ۱: میانگین یون های پتابسیم، کلسیم و سدیم در تیمارهای مختلف شوری (میلی مول در لیتر)

تیمار	S.E. \pm میانگین یون سدیم	S.E. \pm میانگین یون کلسیم	S.E. \pm میانگین یون پتابسیم
آب مقطر	$1/75 \pm 0.25^a$	0.01 ± 0.01^a	0.10 ± 0.00^a
شاهد (آب کارگاه)	$22/50 \pm 13/50^{ab}$	$1/51 \pm 0.01^b$	0.15 ± 0.05^a
شوری ۲	$39/00 \pm 1/00^b$	$2/31 \pm 0.01^c$	0.30 ± 0.00^b
شوری ۴	$64/00 \pm 2/00^c$	$3/11 \pm 0.01^d$	0.70 ± 0.00^c
شوری ۶	$89/00 \pm 1/00^d$	$3/58 \pm 0.00^e$	1.10 ± 0.00^d

جدول ۲: پتابسیم، کلسیم و سدیم مایع سمینال اسپرم مولدین نر

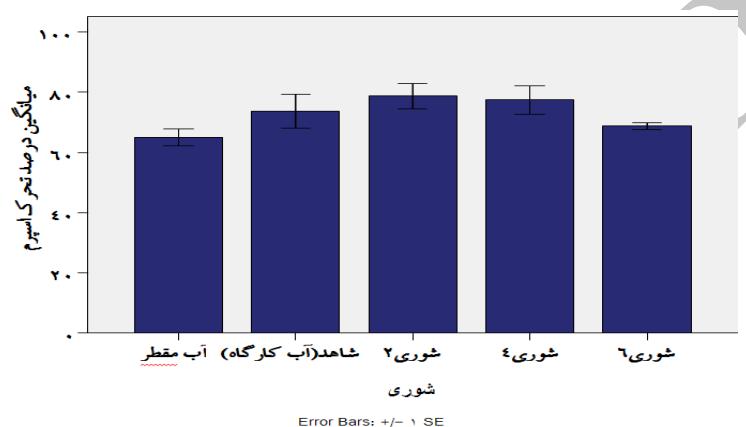
فاکتور	S.E. \pm میانگین
سدیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	$87/40 \pm 12/84$
کلسیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	0.76 ± 0.14
پتابسیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	$6/80 \pm 1/27$

درصد، شاهد $73/75 \pm 5/54$ درصد، شوری ۲ گرم در هزار $78/75 \pm 4/27$ درصد، شوری ۴

با توجه به نتایج آزمون تجزیه واریانس یکطرفه میانگین درصد تحرک اسپرم در آب مقطر

شوری ۲ گرم در هزار بود به طوری که با تیمار آب مقطر اختلاف معنی‌دار داشته ($P \leq 0.05$)، ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان نداد. همچنین سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند (شکل ۱).

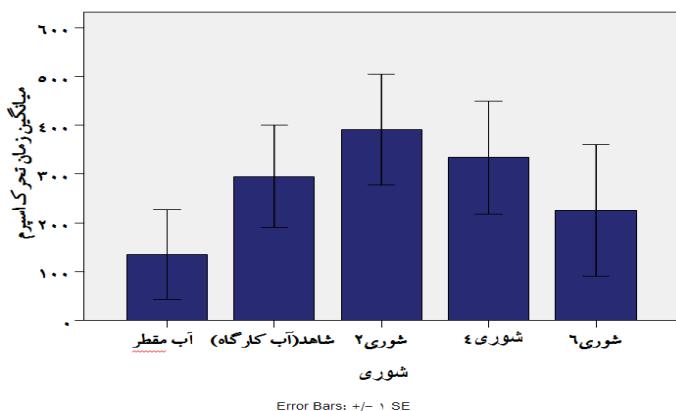
گرم در هزار $77/50 \pm 4/79$ درصد و شوری ۶ گرم در هزار $68/75 \pm 1/25$ درصد اندازه‌گیری شد که بین درصد تحرک اسپرم در شوری ۲ گرم در هزار و آب مقطر اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. آزمون دانکن نیز بیانگر افزایش درصد تحرک اسپرم در



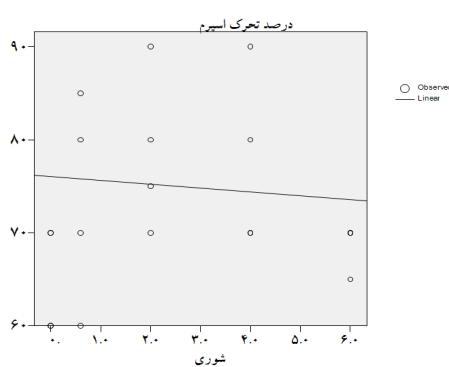
شکل ۱: مقایسه میانگین درصد تحرک در تیمارهای شوری

ضریب همبستگی پیرسون (r) بین شوری و درصد تحرک اسپرم برابر با 0.108 می‌باشد، که با توجه به مقدار $P (0.767)$ ضریب همبستگی در سطح فراتر از 0.767 درصد معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$) (شکل ۳). ضریب همبستگی پیرسون (r) بین شوری و زمان تحرک اسپرم برابر با 0.287 بود که با توجه به مقدار $P (0.422)$ ضریب همبستگی در سطح فراتر از 0.422 درصد معنی‌دار است ($P > 0.05$) (شکل ۴).

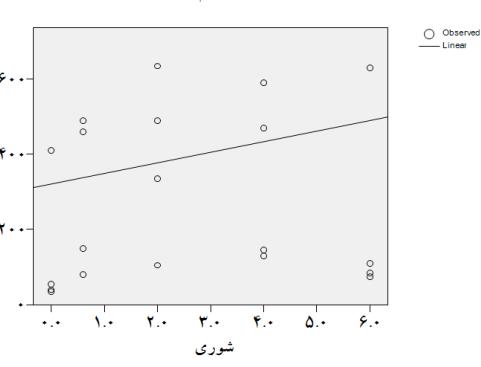
با توجه به نتایج آزمون تجزیه واریانس یکطرفه میانگین زمان تحرک اسپرم در آب مقطر $135/00 \pm 91/76$ ثانیه، شاهد $295/00 \pm 105/08$ ثانیه، شوری ۲ گرم در هزار $391/25 \pm 113/38$ ثانیه، شوری ۴ گرم در هزار $333/75 \pm 115/96$ ثانیه و شوری ۶ گرم در هزار $225/00 \pm 135/20$ ثانیه مشاهده شد و آزمون دانکن نشان داد که بین میانگین زمان تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف شوری اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P > 0.05$). اما بیشترین زمان تحرک اسپرم در شوری ۲ مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میانگین زمان تحرک در تیمارهای شوری (ثانیه)



شکل ۴: ارتباط بین شوری و میانگین درصد تحرک اسپرم



شکل ۳: ارتباط بین شوری و میانگین زمان تحرک اسپرم

آن با لقاد (Rurangowa, *et al.*, 2004)، هنگامی که گامت‌ها رها می‌شوند شوری در لقاد بسیار تأثیرگذار می‌باشد خصوصاً زمانی که نسبت اسپرم به تخمک اندک باشد.

Toth و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که در غلظت ۴۰ میلی مول و بالاتریون سدیم از فعالیت اسپرم تاس‌ماهی دریاچه‌ای (*Acipenser fulvescens*) جلوگیری می‌شود. Linhart و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که در تاس‌ماهی سیبری (*A. baeri*) عدم تحرک اسپرم در حضور ۰/۱ میلی مول پتابسیم مشاهده شد. علوی (۱۳۷۹) گزارش کرد که با توجه به

بحث

کنترل شوری و غلظت یون‌ها بر تکثیر و پرورش ماهی به ویژه ارتباط آن با بقاء، درجه خروج از تخم، کارایی تغذیه و تأثیرات آن بر رشد امری ضروری است (بیلارد و دپشی، ۲۰۰۱). تأثیرات سینزیتیک بین یون‌ها می‌تواند تحرک اسپرم را توسط ظرفیت غشایی کنترل نماید (Cosson, *et al.*, 1999; Linhart, *et al.*, 2002). شوری در ماهیان آب شیرین همانند مایع تحمدانی تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد (Turner and Montgomerie, 2002; Urbach, *et al.*, 2005) و با توجه به ارتباط بین درصد تحرک اسپرم و سرعت

ماهیان و کپور ماهیان که به میزان کم یا صفر Na^+ خارج سلولی حساس هستند، می‌باشد (Alavi, et al., 2004b). از آن جایی که یون کلسیم نقش مهمی در زنجیره واکنش لقاحی در تخم‌ها به عنوان بارور، پاسخ به عمل لقاح و فعال‌سازی آنزیم‌ها ایفا می‌کند (Yamamoto, 1961) کاهش آن می‌تواند به کاهش نیروی دافعه در غشاء انجامیده و منافذ غشایی را افزایش دهد در نتیجه تخم آب بیشتری را جذب نموده و یون کلسیم که یون مورد نیاز برای واکنش آکروزومی کورتیکال و لقاح است را توسط قانون انتشار دفع نماید (Alavi, et al., 2003). فعل و انفعالات بین یون‌ها می‌تواند حساسیت اسپرم به یون Na^+ و تأثیرات بازدارندگی K^+ را کاهش دهد. بنابراین یک رابطه مستقیم بین خصوصیات بیوشیمیایی سمینال پلاسمای قابلیت لقاحی اسپرم وجود دارد و پارامترهای متفاوتی نظریه ترکیبات یونی، خصوصیات غشاء را تعديل می‌نمایند و به دلیل تغییرات یونی درون یاخته‌ای اسپرم متحرک می‌شود. بنابراین تحرک اسپرم ناشی از ترکیب یونی محیط است (Alavi, et al., 2005) که در راستای نتایج تحقیق حاضر بوده و شوری ۲ گرم در هزار با محتوای یونی ذکر شده جهت تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی ایرانی می‌تواند در نظر گرفته شود. با گسترش جهانی تکثیر و پرورش ماهیان، نیاز به گامت‌های مؤثر و کافی افزایش یافته و موفقیت تولید مثل بستگی به فراهم بودن گامت‌ها با کیفیت بالا است. لذا در مراکزی چون مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی که از آب رسوب‌گیری شده استفاده می‌شود، باید حداقل حدود مناسب عوامل طبیعی تعیین شود (Androsov, et al., 1990).

طبق نتایج حاصله

بالا بودن یون پتاسیم موجود در پلاسمای منی نیاز به رقیق‌سازی آن با آب حاوی یون کلسیم به میزان مورد نیاز است در حقیقت افزایش یون کلسیم خارج سلولی می‌تواند اثر آنتاگونیستی در مقابل یون پتاسیم داشته باشد. Cosson و همکاران (۲۰۰۰) پارامترهای تحرک اسپرم را در پدل فیش (*Polyodon spathula*) و تاس‌ماهی (*Scaphirhynchus platorynchus*) Shovelnose بررسی نمودند و دریافتند که ۹۰ تا ۱۰۰ درصد تحرک اسپرماتوزوآی پدل فیش در آب مقطر با مدت زمان ۴-۶ دقیقه و ۸۰ تا ۹۵ درصد تحرک اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی Shovelnose با مدت زمان ۲-۳ دقیقه می‌باشد و در هر دو گونه بعد از رقیق‌سازی در محلول نمکی ۲۰ میلی‌مول Tris-HCl و ۲۰ میلی‌مول با NaCl در اکثریت نمونه‌ها صد درصد تحرک اسپرم به دست آمد و مدت زمان تحرک اسپرم بالاتر از ۹ دقیقه در پدل فیش و ۵ دقیقه در تاس‌ماهی Shovelnose حاصل شد و آسیب کمتری به سلول‌های اسپرم در مقایسه با آب مقطر به دست آمد.

با توجه به نتایج حاصله در تحقیق انجام شده بیشترین میزان درصد تحرک اسپرم (۷۸/۷۵ درصد)، زمان تحرک اسپرم (۳۹۱/۲۵ ثانیه) در شوری ۲ گرم در mM/l Ca^{2+} , $0/۳ \text{ mM/l K}^+$ و همکاران (Alavi, et al., 2004a) ماکریم تحرک اسپرم و زمان تحرک اسپرم تاس‌ماهی ایرانی را در غلظت بافری $0/۲ \text{ mM/l Na}^+$, $2/۳ \text{ mM/l Ca}^{2+}$, ۳ mM/l Na^+ , $۰/۲ \text{ mM/l K}^+$ در میزان تحرک اسپرم باعث تحرک اسپرم تاس‌ماهیان و کنترل آن شده و اسپرماتوزوآی تاس‌ماهیان به میزان بالای Na^+ خارج سلولی حساس است که این یافته مخالف با نتایج مربوط به اسپرماتوزوآی آزاد

- The 2nd National-Regional Symposium on Sturgeon, International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran, pp. 128–130.
6. Alavi, S. M. H., Cosson, J., 2002. Sperm motility in fishes: (III) Mechanisms of activation of the motility of spermatozoa. 26th Annual Larval Fish Conference, July 22-26, Bergen, Norway, p. 29.
 7. Alavi, S. M. H., Cosson, J., Karami, M., Mojazi Amiri, B., Akhoundzadeh, M. A., 2004a. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: Effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction*, 128, pp. 819-828.
 8. Alavi, S. M. H., Cosson, J., Karami, M., Abdolhay, H., Amiri, B. M., 2004b. Chemical composition and osmolality of seminal fluid of *Acipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility. *Aquaculture Research*. 35, pp. 1238–1243.
 9. Alavi, S. M. H., Cosson, J., 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquaculture Research*.36, pp. 841-550.
 10. Alavi, S. M. H., Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes (II) effect of ions and osmolality. *A review. cell biology international* 30, pp. 1-14.
 11. Alavi, S. M. H., Rodina, M., Policar, T., Linhart, O., 2009. Relation between semen characteristics and body size in *Barbus barbus* L. (Teleost: Cyprinidae) and effects of ions and osmolality on sperm motility. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 153, pp. 430-437.
 12. Androsov, S. A., Nepmnyashchii, L. I. Bondarenko, N. V., 1990. Results of rearing sturgeon in systems with the closed cycle water supply. Rubn Khoz(6), pp. 69-70.
 13. Beljajev, E. V., 1957. Nekotoryje osobennosti fizjologii spermy i jaic ryb . – Tr, Mosk. Techn. In-ta Rybn. Promysl. Ch-va, 8, pp. 271-277.
 14. Billard, R., Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *J Exp Zool.* 296, pp.122-131.

شوری ۲ گرم در هزار راهکار مناسبی جهت افزایش کارایی تکثیر تاس ماهی می باشد و در کارگاههای تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری با هدف افزایش کارایی تکثیر توصیه می شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری کارشناسان مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی و مسئولین محترم موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان تشکر می نهایم.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، کهنه شهری، م.، ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۹۸ ص.
۲. پورعلی، ح. ر.، بهمنی، م.، یزدانی، م. ع.، شکوریان، م.، ۱۳۸۶. بررسی رشد و بقای لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) تحت تأثیر غذای کنسانتره. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. همایش ملی منابع شیلاتی دریای خزر، ۲ ص.
۳. بیلارد، ر.، دپشی، ز.، ۲۰۰۱. مروری بر جنین شناسی ماهی. ترجمه مجید عابدی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد قایم شهر. ۱۸۴ صفحه.
۴. علوی، م. ۰. ۰. ۱۳۷۹. مطالعه تطبیقی مدت حرکت تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در آب ساکن انکوباسیون و محلول های تقویت کننده. پژوهه کارشناسی. دانشگاه تهران. دانشکده منابع طبیعی کرج. ۴۸ صفحه.
5. Alavi, S. M. H., Amiri, B. M., Cosson, J., Pourkazemi, M., Karami, M., 2002. A preliminary investigation on motility of *Acipenser persicus* spermatozoa: a comparative study between freshwater and saline solutions at different dilution rate.

15. Billard, R., Cosson, J., Perche, G., Linhart, O., 1995a. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 124, pp. 95-112.
16. Billard, R., Cosson, J., Crim, L. W., Suquet, M., 1995b. Sperm physiology and quality. In *Brood Stock Management and Egg and Larval Quality*, Eds NR Bromage & RJ Roberts. Oxford: Blackwell Science. Pp. 25-52.
17. Christen, R., Gatti, J. L., Billard, R., 1987. Trout sperm motility: The transient movement of trout sperm is related to changes in the concentration of ATP following the activation of the flagellar movement. *European Journal of Biochemistry* 166, pp. 667-671. [Web of Science][Medline].
18. Cosson, J., Billard, R., Cibert, C., Suquet, M., 1999. Ionic factors regulating the motility of the sperm. In: Gagnon C, editor. *The male gamete: from basic to clinical application*. Cache Rive Press. pp. 161-86.
19. Cosson, J., Linhart, O., Mims, S. D., Shelton, W. L., Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. *Journal of Fish Biology* 56, pp. 1-20.
20. Drabkina, B. M. 1961. Vlijanije vody razlicnoj solenosti na vyzivaemost soermy, ikry i licinok osteria. – Dokl. AN SSSR, 138, pp. 492-495.
21. Ivlev, V. S., 1940. Vlijanije solenosti na oplodotvorenje i razvitje ikry nekotorych kaspiskich poluprochodnykh ryb. – Zool. Zurn., 19: 471-478.
22. Krasznai, Z., Marian, T., Izumi, H., Damjanovich, S., Balkay, L., Tron, L., Morisawa, M., 2000. Membrane hyperpolarization removes the inactivation of Ca²⁺ channels, leading to Ca²⁺ influx and subsequent initiation of sperm motility in the common carp. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 2052-2057.
23. Krasznai, Z., Morisawa, M., Krasznai, Z. T., Morisawa, S., Inaba, K., Bazsane, Z. K. et al., 2003. Gadolinium, a mechano-sensitive channel blocker, inhibits osmosis-initiated motility of sea- and freshwater fish sperm, but does not affect human or ascidian sperm motility. *Cell Motil Cytoskeleton*; 55, pp. 232-43.
24. Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R. A., 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *J Fish Physiol Biochem*; 15, pp. 167-179.
25. Linhart, O., Cosson, J., Mims, S. D., Shelton, W. L., Rodina, M., 2002. Effects of ions on the motility of fresh and demembranated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. *Reproduction*, 124, pp. 713-719.
26. Makejeva, A. P., Belova, N. V., 1975. Producirovanije i kacestvo spermy pri iskusstvennom razvedeniju rastitelnojadnykh ryb. - Rybn. Ch-vo, nr 7, pp. 17-20.
27. Marshal, W.S., Bryson, S. E., Idler, D. R., 1993. Gonadotropin action on brood trout sperm duct epithelium: ion transport stimulation mediated by cAMP and calcium. *Gen Comp Endocrinol*. 90, pp. 232-42.
28. Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., Yasuda, K., 1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *J. Exp. Biol.* 107, 95-103.
29. Noveiri, S. B., Alipour, A., Pourkazemi, M., 2005. Sperm morphometry, density and spermaocrit study in Persian sturgeon(*Acipenser persicus*). *J. Appl. Ichthyol.* 22 (Suppl. 1), pp. 380-383.
30. Perche, G., Cosson, J., Andre, F., Billard, R. 1995a. Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. *Aquaculture*, 129, pp. 133-147.
31. Perche, G., Jeulin, C., Cosson, J., Andre, F., Billard, R., 1995b. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. *J Cell Sci*; 108, pp. 747-53.
32. Rurangowa, E., Kime, D. E., Ollevier, F., Nash, J. P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm

- quality in culture fish. Aquaculture.234, pp.1-28.
33. Stoss, J., 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan pHysiology. W.S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, (Eds). Academic Press New York Fish pHysiology IXB. pp. 305-350.
34. Tanasijcuk, V. S., Vonokov, I. K., 1955. Vlijanje vody raznoj solenosti na spermu, ikru, licinok i malkov sudaka Lucioperca lucioperca(Linne).- Vopr. Ichtiol., 5, pp. 39-47.
35. Tanasijcuk, V. S., Vonokov, I. K., 1956. Vlijanje vody raznoj solenosti na spermu, ikru, vobly i lesca severnoga Kaspija.- Trudy VNIRO, 32, pp. 284-292.
36. Toth, G. P., Ciereszko, A., Christ, S. A., Dabrowski, K., 1997. Objective analysis of sperm motility in the lake sturgeon, *Acipenser fluvescens*: Activation and inhibition conditions. Aquaculture, 154, pp. 337-348.
37. Turner, E., Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. J Fish Biol; 60, pp.1570–9.
38. Urbach, D., Folstad, I., Rudolfsen, G., 2005. Effects of ovarian fluid on sperm velocity in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Behav Ecol Sociobiol; 57, pp. 438–44.
39. Yamamoto, Z., 1961. The pHysiology of fertilization in fish egg. International Review of cytology 12, pp. 361-405.