

بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی (قره برون) *Acipenser persicus* Borodin, 1897

رجب محمدنظری^۱، حسین عبدالحی^۱، الهه تقی‌خواه‌نیا^۲، حسینعلی نوری^۱ و مهدی سهراب نژاد^۳
^۱مجمع تکثیر پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری، ^۲معاونت تکثیر و پرورش، شرکت سهامی شیلات ایران، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی ساری، ^۳دانشکده منابع طبیعی نور، دانشگاه تربیت مدرس
تاریخ دریافت: ۸۱/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۵/۵

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 ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۵۷/۷، ۵۸/۴، ۵۹ و ۶۱/۴ درصد می‌باشد و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود ندارد ($P > 0/05$). میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۴/۷، ۱۰/۳، ۱۵/۶ و ۱۷/۶ 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 ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۵۵/۷، ۵۲/۹، ۴۱/۷ و ۳۲/۷ 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 ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۲/۸، ۱۱، ۲۹/۵ و ۳۰/۹ 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 میکروپیل‌های 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 میکروپیل

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

تمامی دانسته‌های خود را جهت افزایش لقاح به کار می‌برند تا بتوانند با حداقل مصرف ماهی، امکانات، مواد محرک ماهیان و ...، حداکثر 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



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

از طرف دیگر، به عنوان یک اصل، قابلیت لقاح تخمک اووله 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 لقاح خود را سریع از دست می‌دهد، به عنوان مثال در اردک ماهی (*Esux lucius*) بعد، از گذشت یک دقیقه، در کپور ماهیان ۴۰ تا ۶۰ ثانیه بعد، در *O. Tschawytscha* *Oncorhynchus keta* و *Coregonus albula* در عرض چند دقیقه، تخمک‌ها قابلیت لقاح خود را در آب از دست می‌دهند (دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳).

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

اسپرماتوزوئید ماهیان استخوانی مثل *Salmo trutta*، *Oncorhynchus gorgbuscha*، *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 و لگا به ترتیب ۷/۹ و ۵/۱ (پادوشکا^۱، ۱۹۹۳). تخمک تاسماهی روسی دریای سیاه ۱ تا ۵۳ (متوسط بیش از ۲۵) (دتلاف و همکاران^۱، ۱۹۹۳) در ماهی استرلیاد ۵ تا ۱۳ (دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳) و در تاسماهی سفید ۳ تا ۱۵ میکروپیل (کر وکلارک^۲، ۱۹۸۲) است.

در ماهیانی که تخمک آنها دارای یک میکروپیل است، در هنگام لقاح مصنوعی، هر چقدر مقدار اسپرماتوزوئید بیشتر باشد (در محدوده مشخصی از غلظت اسپرم)، احتمال لقاح 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^۳، ۲۰۰۱؛ دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳) و به علت تعدد میکروپیل علاوه بر لقاح طبیعی (یک اسپرمی)، احتمال وقوع لقاح غیرطبیعی (چند اسپرمی) وجود دارد، که تنها تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم در شرایط محیطی مناسب تکامل یافته و می‌توانند نوزاد طبیعی تولید نمایند ولی تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم، لاروهای طبیعی تولید نمی‌کنند، زیرا این نوع تخم‌ها یا 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.



رایج تخم‌کشی گردیدند. همزمان اسپرم ماهیان استحصال و از لحاظ تراکم و تحرک مورد آزمایش قرار گرفتند، اسپرم ۱۶ عدد ماهی نر به صورت جداگانه به تخمک ۱۶ عدد ماهی به ترتیب زیر اضافه گردید:

مقدار ۱۰۰ گرم تخمک آماده لقاح از هر مولد ماده، به داخل ۴ لگنچه ریخته شد. اسپرم یک ماهی مولد نر واحد، با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ 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 ۰/۲ میلی‌لیتر (سه تکرار)، ۰/۵ میلی‌لیتر (سه تکرار)، ۱ میلی‌لیتر (سه تکرار) و ۲ میلی‌لیتر (سه تکرار) پس از رقیق شدن در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب به ۱۲ ظرف که هر یک حاوی ۱۰۰ گرم تخمک یک ماهی مولد ماده واحد بودند اضافه و طبق روش رایج لقاح داده شدند.

روش لقاح و از بین بردن چسبندگی: هر کدام از تراکم‌های مختلف اسپرم ابتدا به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و به خوبی به هم‌زده، 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 برطرف و به انکوباتورهای یوش چنکو منتقل شدند.

تعیین درصد لقاح: بعد از گذشت حدود ۳ ساعت در حرارت ۲۰-۱۸ درجه، حدود ۱۲۰-۱۰۰ عدد از تخم‌ها، به صورت اتفاقی از تمامی انکوباتورها خارج و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند و در زیر لوپ، درصد لقاح آنها به روش توصیه شده توسط دتلاف و همکاران (۱۹۹۳) تعیین گردید. در این روش در مرحله تقسیم دوم میتوز، فقط تخم‌های دارای ۴ سلول به‌عنوان تخم طبیعی (تخمک لقاح یافته با یک اسپرماتوزوئید) محاسبه و بقیه شامل: تخم‌های پلی اسپرمی، تحریک شده و نشده و پاره،

Cyprinus carpio، *Carassius carassius* بسیاری گونه‌های دیگر تنها ۳-۱ دقیقه بعد از تماس با آب شیرین قابلیت لقاح دارند (دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳). برخلاف ماهیان استخوانی در تاسماهی روسی نشان داده شده است که حرکت رو به جلو اکثر اسپرماتوزوئیدهای موجود معمولاً در طی ۱۰-۵ 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 (گینز برگ، ۱۹۸۷).

علوی و همکاران (۲۰۰۱) هم مطالعه‌ای بر روی طول دوره زمانی تحرک اسپرم تاسماهی ایرانی در محیط‌های مختلف انجام دادند. گینزبرگ (۱۹۸۷) مطالعاتی درباره مشکلات مربوط به لقاح پلی اسپرمی و واکنش کورتیکالی تخمک در طی لقاح 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 منواسپرمی و بررسی روش‌های کاهش مقدار لقاح پلی اسپرمی، مطالعه زیر بر روی ارتباط بین تراکم اسپرم 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 (۵-۸ درصد)، لگنچه، خاک رس، انکوباتور یوش چنکو، فرمالین، لوپ برای بررسی مورد استفاده قرار گرفت.

روش‌ها:

برای بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح از دو روش استفاده گردید:

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



به‌عنوان 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 ۱۶ ماهی نر به تخمک ۱۶ ماهی ماده (جدول ۱) نشان داد، میانگین تخم‌های لقاح یافته با یک اسپرم (منواسپرمی) با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۵۷/۷، ۵۸/۴، ۵۹ و ۶۱/۴ درصد می‌باشد (که با وجود افزایش جزئی لقاح منواسپرمی با افزایش تراکم اسپرم) اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود ندارد ($P > 0/05$) (SEM, Std. Error of Mean) به ترتیب ۸/۲، ۸/۶، ۶ و ۵/۸ (بود) و میانگین تخم‌های لقاح یافته با چند اسپرم (پلی اسپرمی) با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۴/۷، ۱۰/۳، ۱۵/۶، ۱۷/۶ درصد است (SEM) به ترتیب ۱/۲، ۳/۲، ۴/۳ و ۳/۷ (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 ۰/۲ میلی‌لیتر با ۲ میلی‌لیتر معنی‌دار است.

میانگین تخم‌های لقاح نیافته در لقاح با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر به ترتیب ۳۷/۵، ۳۱/۱، ۲۵/۳، ۲۰/۸ درصد است که اختلاف آنها معنی‌دار نیست ($P > 0/05$) (SEM) به ترتیب ۸/۸، ۹/۶، ۷/۵ و ۶/۴ (بود). میانگین تخم‌های لقاح یافته (مجموع تخم‌های لقاح یافته با یک و چند اسپرم) هم به ترتیب ۶۲/۵، ۶۷/۹، ۷۴/۷، ۷۹/۱ درصد بود که اختلاف آنها هم معنی‌دار نیست ($p > 0/05$) (SEM) به ترتیب ۸/۸، ۹/۵، ۹/۵ و ۶/۵ و ۶/۴ (بود).



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 ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر، به ترتیب ۵۵/۷، ۵۲/۹، ۴۱/۷ و ۳۲/۷ درصد می‌باشد (SEM) به ترتیب ۴/۶، ۳، ۱/۹ و ۳/۳ (بود) 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 ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر، به ترتیب ۲/۸، ۱۱، ۲۹/۵ و ۳۰/۹ درصد است (SEM) به ترتیب ۰/۴، ۳/۱، ۳/۸ و ۶/۴ (بود) که اختلاف دو تراکم اول با ۲ 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 ۵۸/۵، ۶۳/۹، ۷۱/۲ و ۶۳/۷ درصد بود (SEM) به ترتیب ۴/۲، ۵/۸، ۲/۱ و ۳/۹ (بود).

میانگین تخم‌های لقاح نیافته هم به ترتیب ۴۱/۳، ۳۵/۶، ۲۸/۴ و ۳۶/۲ درصد بود (SEM) به ترتیب ۴/۲، ۶، ۲ و ۳/۹ (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 ۱۰ میلی‌لیتر اسپرم بعد از بررسی تحرک اسپرماتوزوئید در ۱ لیتر آب رقیق‌سازی و به یک کیلوگرم تخمک اضافه می‌گردد و هر سانتی‌متر مکعب اسپرم ماهیان خاویاری حاوی معمولاً ۹-۱ میلیارد اسپرماتوزوئید است (دتلاف و همکاران، ۱۹۹۳).

همانطور که در نتایج روش اول اشاره شد، افزودن اسپرم ۱۶ ماهی نر به تخمک ۱۶ ماهی ماده، با تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر، منجر به وقوع لقاح منواسپرمی به ترتیب با درصد‌های ۵۷/۷، ۵۸/۴، ۵۹ و ۶۱/۴ شد و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و دلیل اصلی معنی‌دار

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

| تراکم اسپرم (میلی لیتر) | لقاح منواسپرمی (درصد) | لقاح پلی اسپرمی (درصد) | مجموع لقاح پلی + منواسپرمی (درصد) | لقاح نیافته (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 | ۳۵/۶±۱۰ |
| ۱ | ۴۱/۷±۳ | ۲۹/۵±۶ | ۷۱/۲±۳ | ۲۸/۴±۳ |
| ۲ | ۳۲/۷±۵ | ۳۰/۹±۱۱ | ۶۳/۷±۶ | ۳۶/۲±۶ |

در رابطه با کیفیت تخمک، بهمینی (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 می شود و با توجه به اینکه عملکرد استروئیدهای جنسی دخیل در پدیده تولید مثل دچار وقفه می گردد بنابراین، پاسخ مولدین حتی در قبال تزریق دوزهای بالای آگونیست های گنادوتروپینی یا عصاره هیپوفیز نیز متوقف خواهد شد.

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

دتلوف و همکاران (۱۹۹۳) در بررسی های خود در تاسماهیان به این نتیجه رسیدند که در شرایط نامناسب محیطی، هماهنگی بین رسیدگی نهایی و اوولاسیون تخمک های مولدین ماده به راحتی بر هم زده شده و در نتیجه تخمک های نرسیده قبل از GVBD^۱ اووله شده و از طرف دیگر تخمک های رسیده بعد از GVBD ممکن است مابین فولیکول ها باقی مانده، منجر به آسیب دیدگی تخمک ها و کیفیت تکثیر پائین شوند، کیفیت تخم بستگی

بودن این اختلاف با وجود به کارگیری تراکم های مختلف اسپرم، تعدد میکروپیل تخمک ها، 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 می شود.

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 می باشد که مربوط به کیفیت مناسب تخمک و اسپرم و حالات فیزیولوژیک مناسب مولد ماده است که تخمک ها بلافاصله بعد از ورود اولین اسپرماتوزوئید واکنش کورتیکالی کرده و مانع از ورود اسپرماتوزوئید اضافی (پلی اسپرمی) می شوند (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 غلظت های پائین اسپرم، مناسب ولی در غلظت های بالای اسپرم، لقاح منواسپرمی کاهش ولی پلی اسپرمی شدیداً افزایش یافته است (ماهی شماره ۶، ۹ و ۱۴). 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 ۵، ۱۰ و ۱۱).



۰/۲ و ۰/۵ میلی‌لیتر اسپرم، منواسپرمی ۵۵/۷ و ۵۲/۹ درصد بود و به همان ترتیب لقاح پلی‌اسپرمی 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 معنی‌داری با هم نداشتند، ولی در تراکم‌های ۱ و ۲ میلی‌لیتر اسپرم، لقاح منواسپرمی با کاهش معنی‌دار ۴۱/۷ و ۳۲/۷ درصد و لقاح پلی اسپرمی با افزایش معنی‌دار به ۲۹/۵ و ۳۰/۹ درصد رسید که نشان‌دهنده آن بود کاهش لقاح منواسپرمی در تراکم‌های ۱ و ۲ میلی‌لیتری اسپرم با افزایش پلی‌اسپرمی 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 معنی‌داری با هم نداشتند که حاکی از آن است قابلیت لقاح تخمک در تراکم‌های مختلف اسپرم یکسان بوده و فقط نوع لقاح متفاوت بوده است (به ترتیب ۵۸/۵، ۶۳/۹، ۷۱/۲ و ۶۳/۷ درصد).

تجزیه و تحلیل نتایج نشان می‌دهند حالات فیزیولوژیک مولدین و کیفیت تخمک نقش تعیین‌کننده‌ای را در تحقق لقاح داشته و در صورت مناسب بودن کیفیت تخمک، در غلظت‌های متفاوت اسپرم قابلیت لقاح خواهند داشت که دلیل اصلی آن در تعدد میکروپیل و ماندگاری طولانی‌تر اسپرماتوزوئید ماهیان خاویاری می‌باشد. از طرف دیگر به علت متفاوت بودن غلظت اسپرم ماهیان نر مختلف (از ۹-۱ میلیارد در سانتی‌متر 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 اسپرم‌های بسیار غلیظ، از تراکم‌های کمتر (حتی تا یک پنجم دوز رایج) استفاده نمایند تا از احتمال وقوع لقاح پلی اسپرمی کاسته شود (یعنی ۵-۲ میلی‌لیتر اسپرم در ازای هر کیلوگرم تخمک)، ولی در مورد ماهیان دارای اسپرم‌های متوسط، حداکثر تراکم اسپرم در هیچ شرایطی از ۱۰ میلی‌لیتر اسپرم در ازای هر کیلوگرم تخمک تجاوز ننماید.

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

در تعدادی از ماهیان نیز، با افزایش تراکم اسپرم، درصد لقاح افزایش یافت (ماهیان شماره ۴، ۷ و ۸) که دلیل آن می‌تواند به تراکم اسپرماتوزوئید ماهی نر مورد استفاده باشد، یعنی قابلیت لقاح تخمک بالا بوده و عامل محدود کننده تراکم اسپرماتوزوئید بوده است که به علت کمتر بودن تراکم اسپرماتوزوئید 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 می‌تواند مربوط به تعدد میکروپیل در ماهیان خاویاری و ورود همزمان اسپرماتوزوئید قبل از واکنش کورتیکالی مرتبط باشد و در مورد بعضی از ماهیان مربوط به کیفیت تخم‌ها و با تأخیر انجام یافتن واکنش کورتیکالی باشد.

کل لقاح (مجموع لقاح منواسپرمی و پلی اسپرمی) در تراکم‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشتند و به ترتیب ۶۲/۵، ۶۷/۹، ۷۴/۷ و ۷۹/۱ درصد بود، که نشان‌دهنده آن است به علت تعدد میکروپیل تخمک ماهیان خاویاری، در صورت مناسب بودن کیفیت تخمک در تراکم‌های پائین اسپرماتوزوئید 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 می‌شود 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) می‌باشد.

همانطور که قبلاً ذکر شد لقاح منواسپرمی در تراکم‌های ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر 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 معنی‌دار بود. در تراکم‌های



تشکر و قدردانی

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

نگارندگان لازم می‌دانند از آقایان مهندس مقدسی، علیرضا

منابع

۱. امینی، ف. ۱۳۸۰. بیولوژی کپور غلفخوار. چاپ اول، موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۹۶ صفحه.
۲. بهمنی، م. ۱۳۷۹. بررسی اکوفیزیولوژیک استرس از طریق اثر محورهای HPG, HPI سیستم 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. کلباسی، و ک. امینی. ۱۳۷۷. بررسی تعداد میکروویل در تخمک تاسماهی ایرانی دریای خزر. اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری. ص ۵۴.
۴. نظری، ر. م. م. یوسفیان، ب. مجازی امیری و م. سلطانی. ۱۳۸۰. بررسی رابطه بین مقادیر هورمون‌های استروئیدی 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. Gibsburg, 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. Nazari¹, H. Abdolhy², E. Ta ghikhahnia³, H. Nouri¹ and M. Sohrabnezhad⁴

¹Rajaii Sturgeon Fish Farm, ²Deputy of Aquaculture-Iranian Fisheries Company, ³Dept. of Fisheries, Mazandran University, ⁴Dept. 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

