فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال ششم، شماره اول، بهار ۱۳۹۷

تعیین ارتباط بین کمیت و کیفیت اسپرم با درصد لقاح و تفریخ تخم حاصل از تلاقی فردی در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) وحشی

علی حلاجیان[۱،۲]، حسین علی عبدالحی[۳]*، عبدالاحد شادپرور[۴]، مهتاب یارمحمدی[۵]، محمد علی یزدانی ساداتی[۶]

تاریخ دریافت: اسفند ۹۵ تاریخ پذیرش: تیر ۹۶

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین نقش اسپرم در درصد لقاح و تفریخ تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به انجام رسید. بدین جهت، بین اسپرم سه مولد نر با تخمک‌های سه مولد ماده در یک طرح فاکتوریل ۳×۳ تلاقی انجام شد. ابتدا، درصد تحرک و تراکم اسپرم، درصد اسپرماتوکریت، pH و اسمولاریته اسپرم و همچنین تعداد میکروپیل، قطر و تعداد تخمک در هر گرم بررسی شد. سپس یک میلی‌لیتر اسپرم از هر مولد نر با ۱۰۰ گرم تخمک از هر مولد ماده لقاح داده شد. به این ترتیب ۹ تیمار F1M1 ، F1M2، F1M3، F2M1، F2M2، F2M3، F3M1، F3M2 و F3M3 ایجاد شد (هر تیمار با سه تکرار). تعیین درصد لقاح ۵ ساعت پس از لقاح و تخم گشایی پس از گذشت ۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که متوسط تعداد میکروپیل ماده‌ها به ترتیب ۶، ۸ و ۹ عدد و تحرک اسپرم نرها به ترتیب ۵۰، ۶۰ و ۸۰ درصد بود. تیمار F3M3 بالاترین درصد لقاح و نرخ تفریخ لارو و تیمار F3M1 کمترین درصد لقاح و تیمار F1M1 پایین‌ترین نرخ تفریخ را داشت. نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های اسپرم مولدین نر نشان داد که تراکم بالای اسپرم با تعداد میکروپیل تخمک جهت افزایش درصد لقاح، ارتباط نداشت و اختلاف معنی‌داری بین تعداد میکروپیل و شاخص‌های اندازه‌گیری شده در اسپرم با درصد لقاح مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بر اساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون ارتباط بین تراکم اسپرم با درصد لقاح (r = -۰/۶۰۳، P<۰/۰۱) و نرخ تفریخ (r = -۰/۱۷۵، P<۰/۰۱) منفی بود. بین تعداد میکروپیل با درصد لقاح (r = ۰/۵۷۴، P<۰/۰۱) و بین اسمولاریته با درصد لقاح (r = ۰/۵۱۱، P<۰/۰۱) و نرخ تفریخ لارو (r=۰/۲۸۸، P<۰/۰۱) ارتباط مثبت وجود داشت. با توجه به تعداد زیاد میکروپیل تخمک در ماهیان خاویاری، برای افزایش درصد لقاح باید تراکم اسپرم آن کم ولی کیفیت، مدت زمان و تحرک اسپرم آن زیاد باشد.

واژگان کلیدی: *تاس‌ماهی ایرانی، اسپرم، تخمک، درصد لقاح، درصد تفریخ.*

۱- دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
۲- کارشناس ارشد شیلات بخش فیزیولوژی و بیوشیمی، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۳- استادیار بخش بیوتکنولوژی و ژنتیک، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
۴- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۵- استادیار بخش بیوتکنولوژی و ژنتیک، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
۶- دانشیار بخش آبزی‌پروری، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
* نویسنده مسئول: hossein_abdolhay@yahoo.com

مقدمه

تاس‌ماهیان از ماهیان غضرفی- استخوانی دوران اولیه هستند که حدود ۲۰۰ میلیون سال پیش از ماهیان استخوانی جدا شدند (Berg, 1948) که با سازگاری و تحمل تغییرات اکوسیستم محیط زیست، توانسته‌اند نسل خود را حفظ کنند. این ماهیان به خاطر گوشت لذیذ و خاویار، بسیار مورد توجه جهانیان هستند و از نظر تجاری و اقتصادی اهمیت به سزایی دارند. اما شرایط نامناسب آب و هوایی از یک سو و روند رو به رشد دخالت و دستکاری‌های انسان در اکوسیستم‌های طبیعی همچون صیدهای قاچاق و غیراستاندارد، احداث سد و استفاده‌های زیاد صنعتی و کشاورزی از آب رودخانه‌های مهم مسیر مهاجرت تاس‌ماهیان از سوی دیگر، موجب کاهش نسل آن‌ها شده است (پورکاظمی، ۱۳۷۶). همچنین افزایش تقاضا و صید بیش از حد ماهیان در محیط‌های طبیعی باعث کاهش شدید ذخایر آن‌ها شده است و با توجه به وضعیت صید، پیش‌بینی می‌شود که تا سال ۲۰۵۰ بیش از ۹۰ درصد ماهیان از چرخه حیات خارج شوند (Ochokwu et al., 2015).

در حال حاضر ۲۷ گونه از انواع تاس‌ماهیان در آب‌های نیمکره شمالی وجود دارد و جزء ماهیانی هستند که قدیمی‌ترین سابقه حیات را دارا هستند. ۵ گونه با ارزش آن از جمله تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بومی سواحل جنوبی، در دریای خزر زیست می‌کنند که بیشترین فراوانی با حدود ۶۵ درصد رتبه نخست صید در طی سال‌های ۱۳۹۱- ۱۳۸۸را نسبت به سایر گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر به خود اختصاص داده‌اند (افرائی بندپی و همکاران، ۱۳۹۳). اما متاسفانه جمعیت آن‌ها هر ساله رو به کاهش است. به طوری که از ۱۴۴/۴ میلیون قطعه در سال ۱۹۷۶ به کمتر از ۳۸/۷۹ میلیون قطعه در سال ۲۰۰۵ رسید (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۷). آمار صید و بهره‌برداری از تاس‌ماهی ایرانی دریای خزر از ۵۶۰ تن در سال ۱۳۷۱ به ۷/۸ تن در سال ۱۳۹۳ رسید که حاکی از شرایط بحرانی و حتی وجود خطر انقراض این گونه است. به طوری که بعضی از گونه‌های تاس‌ماهیان در لیست قرمز IUCN (گونه‌های در حال انقراض) قرار دارند (توکلی و همکاران، ۱۳۹۲).

یکی از مراحل مهم در بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری مربوط به رشد و نمو جنین پس از تلاقی اسپرم و تخمک است. بنابراین، تکثیر مصنوعی یکی از راهکارهای حفاظتی در

جهت جلوگیری از انقراض نسل این ماهیان است.

تخمک ماهیان با چند لایه احاطه شده است. این پوشش یک غشای پروتئینی است که از سلول‌های ویژه‌ای منشا می‌گیرد. این غشا محافظ تخمک و جنین در حال رشد است. بعد از تشکیل این لایه‌ها، منافذی در قسمت قطب حیوانی سطح تخمک بنام میکروپیل (Micropyle) ایجاد می‌شود که اسپرم از این طریق برای بارور کردن تخمک به داخل آن نفوذ می‌کند. این منافذ در سطح تخمک ماهیان استخوانی یک عدد است ولی در تخمک ماهیان خاویاری بیش از یک عدد و تا ۵۷ عدد در تخمک تاس‌ماهیان (حلاجیان، ۱۳۷۸) گزارش شده است.

لقاح یکی از حساس‌ترین مراحل تکثیر است که در طی آن اسپرم با تخمک تماس پیدا کرده، جنین (تخم) را ایجاد می‌کند. به همین دلیل کارشناسان تکثیر ماهیان خاویاری با امکانات موجود کارگاهی خود تلاش زیادی برای رسیدن به درصد لقاح بالاتر و افزایش بازماندگی تخم در دوره انکوباسیون دارند، زیرا تنها تخم‌های طبیعی در شرایط و امکانات فعلی قادر به رشد و نمو و تولید لارو سالم هستند (نظری و همکاران، ۱۳۸۴). برای ارزیابی کیفیت و کمیت اسپرم از شاخص‌های تراکم و درصد تحرک اسپرم ماهی استفاده می‌شود (Tekin et al., 2003) و این موفقیت به توانایی اسپرم، میزان اسپرم آزاد شده در زمان و موقعیت انتشار آن بستگی دارد (Gage et al., 1995). به همین دلیل برای به حداکثر رساندن درصد لقاح باید نسبت اسپرم به تخمک، روش لقاح، اندازه و سن مولدین به ویژه مولدین نر بررسی شود (Chechun et al., 1994; Chereguini et al., 1999).

به جرات می‌توان گفت مطالعه‌ای درباره تلاقی فردی یک نر با چند ماده برای تعیین و مقایسه درصد لقاح تخم حاصل از آن‌ها بر روی تاس‌ماهیان صورت نگرفته است و مطالعات صورت گرفته درباره تعیین درصد لقاح تخم تاس‌ماهیان می‌توان تنها به مقایسه انکوباتور یوشچنکو با انکوباتورهای آستر، آذرخش، ویس، تراف و یوشچنکو تغییر یافته (طاهری، ۱۳۷۷؛ فارابی و همکاران، ۱۳۸۴؛ بخت‌آزما و همکاران، ۱۳۸۶)، بررسی مشخصات اسپرم تخلیه شده پی در پی تاس‌ماهی ایرانی (Alavi et al., 2006)، بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در تاس‌ماهی ایرانی (نظری و همکاران، ۱۳۸۴)، تاثیر pH، نسبت رقیق‌سازی، یون‌ها و اسمولاریته بر روی حرکت اسپرماتوزوآ

در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) (شالویی و همکاران، ۱۳۸۸) و بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفریخ در تاس‌ماهی ایرانی (دادرس و همکاران، ۱۳۹۰) اشاره کرد.

از آنجایی که دوره رسیدگی جنسی این گونه از ماهیان طولانی است و معمولا بین ۸ تا ۱۲ سال به طول می‌انجامد تا برای اولین بار تخم‌ریزی کند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸) و با توجه به اهمیت ماهیان خاویاری و تکثیر مصنوعی آن‌ها، بررسی و تعیین درصد لقاح و بازماندگی تخم این ماهیان در مرحله انکوباسیون امری ضروری به نظر می‌رسد. به همین دلیل این مطالعه با هدف بررسی تعیین ارتباط بین اسپرم با درصد لقاح و تفریخ تخم تاس‌ماهی ایرانی وحشی در یک طرح فاکتوریل حاصل از تلاقی یک نر با چند ماده انجام شد و انتخاب تاس‌ماهی ایرانی وحشی در این مطالعه به دلیل بومی بودن و فراوانی آن نسبت به سایر گونه‌ها در سواحل جنوبی دریای خزر بوده است. هدف این است که با اجرای پژوهش حاضر، بتوان مناسب‌ترین مولدین را که در افزایش درصد لقاح و به دنبال آن افزایش درصد تفریخ در مرحله انکوباسیون، نقش داشتند، شناسایی کرد و لاروهای آن مولدین را به عنوان گله‌های مولد نسل آینده پرورش و لاروهای سایر مولدین را به عنوان ماهیان گوشتی پرورش داد. این امر باعث کاهش برخی از هزینه‌های نگهداری در طول پرورش از جمله هزینه غذا و همچنین ایجاد فضای مناسب پرورش با خارج کردن ماهیان گوشتی از سیستم پرورشی می‌شود.

مواد و روش‌ها

صید و انتقال مولدین

شش قطعه از مولدین تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) وحشی (سه مولد ماده و سه مولد نر) که از طریق دام‌های گوش‌گیر در سواحل جنوبی دریای خزر (سواحل استان گیلان) در اسفند سال ۱۳۹۴صید شده بودند با استفاده از چان‌های برزنتی مجهز به کپسول اکسیژن توسط کامیون به استخرهای کورانسکی مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در سد سنگر رشت انتقال داده شدند. در طول نگهداری برای ایجاد آرامش و کاهش استرس ناشی از انتقال، مولدین نر و ماده به صورت مجزا نگهداری می‌شدند.

زیست‌سنجی مولدین

عملیات تکثیر در فروردین ۱۳۹۵ انجام

شد. قبل از عملیات تکثیر مصنوعی از مولدین زیست‌سنجی به عمل آمد و طول کل، طول چنگالی و طول سینه با استفاده از متر پارچه‌ای بر حسب سانتی‌متر، وزن مولدین با تراز بر حسب کیلوگرم و سن آن‌ها با استفاده از شعاع سخت باله سینه‌ای (پرافکنده حقیقی، ۱۳۸۷) مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین موقعیت هسته

شاخص قطبیت تخمک مولدین نیز با استفاده از فرمول Dettlaff و همکاران (۱۹۹۳) تعیین شد. برای این منظور تخمک هر مولد به کمک سوک از تخمدان استخراج و به مدت ۳-۲ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس محور قطب حیوانی و گیاهی با تیغ تیز برش و موقعیت هسته (GV) تخمک محاسبه شد.

هورمون تراپی

پس از مناسب بودن موقعیت هسته تخمک مولدین، برای تحریک مولدین و آمادگی برای اسپرم‌دهی و اوولاسیون از هورمون LHRH-a2 با تزریق عضلانی استفاده شد. به این ترتیب که غلظت تزریقی در ماده‌ها به میزان ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی و در دو مرحله تزریق صورت گرفت، در مرحله اول ۱۰ درصد هورمون و در مرحله دوم ۹۰ درصد هورمون به فاصله ۱۲-۱۰ ساعت بعد از تزریق اول، تزریق شد. ولی غلظت تزریقی در نرها به میزان ۴ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی و تزریق آن در یک مرحله، همزمان با تزریق مرحله دوم ماده‌ها انجام شد.

تعیین کمیت و کیفیت مواد تناسلی

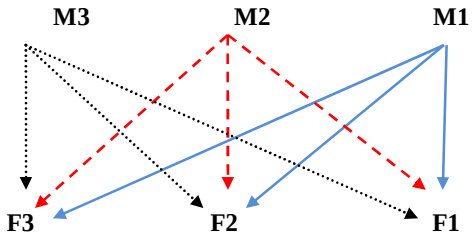
قبل از انجام عملیات تکثیر، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از اسپرم هر مولد برداشته شد و در آزمایشگاه میزان اسمولاریته با استفاده از اسمومتر انجمادی دیجیتالی (Nr.9610003 Type-13، Rebling، آلمان) بر حسب میلی‌اسمول بر لیتر، درصد تحرک اسپرم با میکروسکوپ نوری (Nikon، ژاپن)، تراکم اسپرم (در میلی‌متر مکعب) با لام هموسیتومتر در بزرگنمایی ۴۰۰× و در رقت ۱۰ درصد (Kopeika and Kopeika, 2008)، pH مایع اسپرمی با استفاده از دستگاه اکسی- pHمتر دیجیتال (PT-10، Sartorius، فرانسه) و درصد اسپرماتوکریت با استفاده از میکروسانتریفیوژ (D78532، Tuttlingen، آلمان) با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه (Williot et al., 2002) اندازه‌گیری شد. همچنین پس از سیال شدن و استحصال

تخمک و گرفتن مایعات تخمدانی، وزن کل تخمک استحصالی، تعداد در گرم و قطر تخمک اندازه‌گیری و تعداد میکروپیل تخمک هر مولد (حلاجیان، ۱۳۷۸) مورد بررسی قرار گرفت.

عملیات تکثیر

پس از بررسی آزمایشگاهی کمی و کیفی اسپرم و تخمک، از هر مولد ۳۰۰ گرم تخمک برای انجام تکثیر در این مطالعه برداشته و در سه لگنچه (هر لگنچه حاوی ۱۰۰ گرم تخمک) ریخته شد. تکثیر مصنوعی بر اساس روش مرسوم مراکز تکثیر ماهیان خاویاری به روش نیمه خشک انجام شد و به میزان ۱ میلی‌لیتر اسپرم در هر لگنچه حاوی تخمک ریخته و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. برای رفع چسبندگی تخم‌ها از گل رس و سپس شستشو با آب به مدت ۴۰ دقیقه استفاده شد. آنگاه تخم ماهی هر لگنچه به طور مساوی در ۳ پاکت انکوباتور (به عنوان تکرار) با دبی آب ۰/۵-۰/۳ لیتـر در ثانیـه (بر حسب نیاز آب در مراحل مختلف رشد و نمو جنینی) ریخته شد. انکوباتور مورد استفاده در مطالعه حاضر از دو جعبه فلزی که در داخل یکدیگر قرار گرفته بودند تشکیل شده بود. جعبه خارجی ثابت و دارای ابعاد ۷۳×۶۵×۲۷ سانتی‌متر و جعبه داخلی آن متحرک و دارای ابعاد ۶۶×۵۶×۲۱ سانتی‌متر بود.

عملیات تکثیر بر اساس طرح فاکتوریل ۳×۳ با تلاقی فردی یک نر با ۳ ماده بود. بر همین اساس این پژوهش شامل ۹ تیمار به ترتیب F1M1، F1M2، F1M3، F2M1، F2M2، F2M3، F3M1، F3M2 و F3M3 بود (هر تیمار با ۳ تکرار). مطابق شکل ۱ برای انجام تکثیر، ۱ میلی‌لیتر اسپرم از نر اول (M1) با ۱۰۰ گرم تخمک از ماده اول، ۱ میلی‌لیتر دیگر از اسپرم این نر با ۱۰۰ گرم تخمک از ماده دوم و ۱ میلی‌لیتر اسپرم دیگر از این مولد نر با ۱۰۰ گرم تخمک از ماده سوم مخلوط شد. بدین ترتیب عملیات تکثیر سایر نرها نیز همانند نر اولی برای سایر تخمک‌های دریافتی از ماده‌ها بود.



شکل ۱: طرح فاکتوریل ۳×۳ تلاقی مولدین تاس‌ماهی ایرانی ماده با نر وحشی. تخمک‌های یک ماهی ماده با اسپرم ۳ ماهی نر به طور جداگانه لقاح داده شد. M: نر؛ F: ماده.

درصد لقاح و تفریخ

پس از گذشت ۵ ساعت از لقاح، درصد لقاح آن‌ها تعیین شد. برای این منظور مقداری از تخم‌های موجود هر تیمار با ساچوک ویژه به صورت تصادفی برداشته و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و به آزمایشگاه انتقال داده شد تا در زیر لوپ درصد لقاح تخم‌ها تعیین شد. در این روش تنها تخم‌هایی که دارای ۴ سلول بودند به عنوان تخم طبیعی (تخمک لقاح یافته با یک اسپرماتوزوئید) محاسبه شد و بقیه تخم‌ها که شامل پلی‌اسپرمی، تقسیمات سلولی ناقص، تخم‌های سفید شده و پاره به عنوان تخم غیرطبیعی بودند، از کل تخم‌های مورد آزمون کم و بدین طریق درصد لقاح تعیین شد. در نهایت درصد لقاح طبق رابطه ۱ سنجیده شد (Bromage and Cumaranataunga, 1988).

رابطه ۱:

$$F(\%) = (E_F / E_T) \times 100$$

F: درصد لقاح؛ E_F: تخم‌های لقاح یافته سالم؛ ET: کل تخمک‌های مورد آزمایش.

در طول دوره انکوباسیون تخم‌های آلوده به قارچ از انکوباتورها جمع‌آوری می‌شد. متوسط دمای آب انکوباسیون از زمان لقاح تا تفریخ ۱۸/۲±۱/۳۴ درجه سانتی‌گراد بود. تفریخ پس از گذشت ۶ روز (۱۰۹ درجه- روز) رخ داد. نرخ تفریخ لاروها با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Hanjavanit et al., 2008).

رابطه ۲:

$$H_R(\%) = (N_L / N_{FE}) \times 100$$

H_R: نرخ تفریخ لارو؛ N_L: تعداد لاروهای تفریخ شده ؛ N_{FE}: تعداد تخم‌های لقاح یافته.

شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب

شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب انکوباتورها شامل دما و اکسیژن محلول (HACH، آمریکا)

و pH (330i/SET، WTW، آلمان) روزانه به طور همزمان در هر پاکت انکوباتور که از یک منبع تامین آب، تغذیه می‌شدند، اندازه‌گیری شد.

بررسی‌های آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری درصد لقاح و تفریخ از آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد و برای بررسی وجود یا عدم وجود همبستگی بین شاخص‌ها از آزمون ضریب همبستگی پیرسون در نرم‌افزار SPSS 20 تحت ویندوز استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ نتایج زیست‌سنجی مولدین تاس‌ماهی ایرانی وحشی (*Acipenser persicus*) و جدول‌های ۲ و ۳ شاخص‌های اندازه‌گیری شده تخمک‌ها و اسپرم‌های هر مولد مورد آزمایش را نشان می‌دهد.

جدول ۱: زیست‌سنجی مولدین تاس‌ماهی ایرانی صید شده از دریای خزر

جنسیت	وزن کل (Kg)	طول کل (cm)	طول چنگالی (cm)	دور سینه (cm)	سن (سال)
ماده ۱ (**F1**)	۱۶	۱۵۷	۱۴۵	۳۱/۵	۱۵
ماده ۲ (**F2**)	۲۸	۱۹۱	۱۷۵	۳۳/۵	۱۸
ماده ۳ (**F3**)	۳۰	۱۸۱	۱۶۲	۳۰	۱۷
نر ۱ (**M1**)	۱۳	۱۴۱	۱۲۸	۲۲/۵	۱۴
نر ۲ (**M2**)	۱۵	۱۴۴	۱۳۱	۲۳	۱۴
نر ۳ (**M3**)	۱۲	۱۵۰	۱۳۸	۲۵	۱۳

جدول ۲: شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مولدین ماده تاس‌ماهی ایرانی (میانگین ± انحراف معیار)

ماهی ماده	وزن کل تخمک (Kg)	تعداد تخمک در هر گرم	قطر تخمک (mm)	تعداد میکروپیل	GV (٪)
F1	۲/۸	۵۴±۴/۰۷	۳/۲±۰/۰۹	۶±۱/۴	۸/۶
F2	۴/۲	۵۲±۴/۸۵	۳/۵±۰/۱	۸±۱/۷	۸/۸
F3	۴/۲	۴۹±۳/۷	۳/۵±۰/۱	۹±۱/۵	۸/۹

GV (Germinal Vesicle): موقعیت هسته.

جدول ۳: شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مولدین نر تاس‌ماهی ایرانی

ماهی نر	pH مایع اسپرمی	اسپرماتوکریت (٪)	تحرک اسپرم (٪)	اسمولاریته اسپرم (mOsm/L)	مدت تحرک (ثانیه)	کیفیت تحرک اسپرم	تراکم اسپرم (Cell/mL)
M1	۹/۳۵	۱۱	۵۰	۱۵۴	۱۹۵	متوسط	۳/۳۵۶×۱۰^۹
M2	۹/۶۷	۱۰	۶۰	۱۴۶	۱۱۰	متوسط	۲/۵۵۰×۱۰^۹
M3	۹/۴	۸	۸۰	۱۹۳	۲۶۰	خوب	۱/۰۵۱×۱۰^۹

نتایج بررسی شاخص‌های فیزیکوشیمیای اندازه‌گیری شده آب انکوباتورها از زمان لقاح تا تفریخ شدن لاروها در مدت ۶ روز نشان داد که حداقل، حداکثر و متوسط دمای آب به ترتیب ۱۷، ۲۰/۱ و ۱۸/۲±۱/۳۴ درجه سانتی‌گراد، حداقل، حداکثر و متوسط اکسیژن محلول آب به ترتیب ۶/۳، ۹/۵ و ۸/۱±۱/۰۹ میلی‌گرم در لیتر و حداقل، حداکثر و متوسط pH آب به ترتیب ۶/۸، ۷/۹ و ۷/۵±۰/۴۱ برای تمامی تیمارها بود.

جدول ۴ نتایج و مقایسه درصد لقاح و نرخ تفریخ لاروهای به دست آمده از مولدین مختلف را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تلاقی بین یک نر با سه ماده نشان داد که متوسط بیشترین درصد لقاح و نرخ تفریخ به ترتیب با ۹۲/۹۷±۰/۵ و ۷۳/۲۹±۱۳/۸۹ مربوط به نر شماره ۳ بود.

نتایج آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین درصد لقاح و شاخص‌های اسپرم اشاره شده در جدول ۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بر اساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون بین تراکم اسپرم با درصد لقاح (P<۰/۰۱ ،r=-۰/۶۰۳) و نرخ تفریخ (r=-۰/۱۷۵، P<۰/۰۱) ارتباط منفی مشاهده شد.

بین تعداد میکروپیل با درصد لقاح (P<۰/۰۱ ،r =۰/۵۷۴)، بین اسمولاریته با درصد لقاح (P<۰/۰۱ ،r =۰/۵۱۱) و نرخ تفریخ (P<۰/۰۱ ،r =۰/۲۸۸) ارتباط مثبت وجود داشت. همچنین بر اساس آزمون مذکور بین pH اسپرم با درصد لقاح (r =۰/۰۱۵، P<۰/۰۱) ارتباط مثبت و ضعیف و با نرخ تفریخ (P<۰/۰۱ ،r = -۰/۲۸۲) ارتباط منفی وجود داشت.

جدول۴: درصد لقاح و نرخ تفریخ لارو در تاس‌ماهی ایرانی وحشی (میانگین ± انحراف معیار)

تلاقی نرها با ماده‌ها		درصد لقاح	متوسط کل درصد لقاح	نرخ تفریخ (٪)	متوسط کل نرخ تفریخ (٪)
M1	F1	۸۷	۸۵/۸۷±۶/۷	۴۲/۵۷	۶۸/۰۲±۲۲/۲۲
	F2	۹۲		۸۳/۶	
	F3	۷۸/۶		۷۷/۹	
M2	F1	۹۱/۲	۸۸/۶۷±۴/۵	۴۵/۶۸	۵۹/۵۴±۲۲/۶
	F2	۹۱/۴		۴۷/۳۳	
	F3	۸۳/۴		۸۵/۶۳	
M3	F1	۹۳/۲	۹۲/۰±۹۷/۵	۵۹/۶	۷۳/۲۹±۱۳/۸۹
	F2	۹۲/۳		۷۲/۹	
	F3	۹۳/۴		۸۷/۳۹	

بحث

کیفیت اسپرم نه تنها باعث بارور شدن تخمک می‌شود بلکه به جنین اجازه رشد و نمو طبیعی را نیز می‌دهد در حالی که کیفیت تخمک فقط سبب توسعه و توانایی باروری یک جنین طبیعی می‌شود. بنابراین جمعیت ماهیان در محیط‌های دریایی و پرورشی، وابستگی کامل به تخمک و اسپرم با کیفیت ماهیان دارد. تخمک و اسپرم نامرغوب به عنوان یکی از عوامل محدود کننده در گسترش آبزی‌پروری به شمار می‌آیند (Ochokwu et al., 2015). در حال حاضر نگرانی‌هایی در مورد کیفیت تخمک و اسپرم جمع‌آوری شده و اثر آن بر روی درصد لقاح و تفریخ وجود دارد. بنابراین، ارزیابی کیفیت تخمک و اسپرم امری ضروری است تا افزایش بهره‌وری از لقاح مصنوعی حاصل شود (Ochokwu et al., 2015). تراکم اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان، بستگی به خالی شدن پی در پی اسپرم، سن و وزن ماهی نر دارد (Ingermann et al., 2002).

عوامل محیطی و ژنتیکی، تغذیه، کیفیت غذا، تغییرات بین فردی، سن، وزن و طول ماهی، فصل، استرس، آلودگی (قارچی و باکتریایی)، جذب مواد مغذی و شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب مانند pH، شوری، درجه حرارت و اکسیژن محلول از عوامل موثر در

سنجش کیفیت اسپرم (حرکت اسپرم، طول اسپرم ، حجم و تراکم اسپرم) و تخمک (تعداد، وزن و قطر تخمک) هستند. بنابراین می‌توان گفت که کیفیت مواد تناسلی ماهی نقش اساسی در توانایی افزایش درصد لقاح و توسعه تخم‌های طبیعی را دارد که به دنبال آن با تولید لاروهای مقاوم همراه خواهد بود (Coban et al., 2011). بر همین اساس ارزیابی کمی و کیفی شاخص‌های موثر بر فعالیت اسپرم، در جهت افزایش کارایی تکثیر مصنوعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Alavi et al., 2004). در این راستا تراکم اسپرم از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین کننده موفقیت لقاح است و می‌تواند یک عامل کلیدی در میزان موفقیت تکثیر ماهی به شمار آید (Krol, et al., 2006).

در این پژوهش مولد نر ۱ (M1) با تراکم اسپرم ۳/۳۵۶×۱۰^{۹} در میلی‌متر مکعب که با مولدین ماده لقاح داده شده بود با ۶/۷±۸۵/۸۷ درصد، کمترین درصد لقاح را نسبت به سایر نرها داشت در صورتی که مولد نر ۳ (M3) با تراکم اسپرم ۱/۰۵۱×۱۰^{۹} در میلی‌متر مکعب با ۰/۵±۹۲/۹۷ درصد لقاح و ۱۳/۸۹±۷۳/۲۹ درصد تفریخ بیشترین سطح را نسبت به سایر نرها به خود اختصاص داد. در مطالعه صورت گرفته توسط دادرس و همکاران در سال ۱۳۹۰ با بررسی تراکم اسپرم ۱۱ مولد نر تاس‌ماهی ایرانی وحشی گزارش شد که بین تراکم اسپرم با درصد لقاح و بین تراکم اسپرم با نرخ تفریخ یک رابطه منفی وجود دارد. نظری و همکاران (۱۳۸۴) با بررسی ارتباط تراکم اسپرم و درصد لقاح ۱۶ ماهی نر با ۱۶ ماهی ماده تاس‌ماهی ایرانی وحشی گزارش کردند که در افزودن اسپرم یک ماهی نر واحد به یک ماهی ماده واحد، با افزایش تراکم اسپرم درصد لقاح منواسپرمی کاهش و درصد لقاح پلی‌اسپرمی افزایش معنی‌داری پیدا کرد. پژوهش حاضر همسو با مطالعات صورت گرفته توسط دادرس و همکاران (۱۳۹۰) و نظری و همکارانش (۱۳۸۴) است، به طوری که بین تراکم اسپرم با درصد لقاح و نرخ تفریخ همبستگی منفی وجود داشت و مولد نری که دارای تراکم اسپرم بیشتری نسبت به سایر نرها بود، کمترین درصد لقاح و نرخ تفریخ را به همراه داشت. بر اساس گزارش‌های Ottesen و همکاران (۲۰۰۹) تعداد اسپرماتوزوآ ممکن است دارای یک همبستگی معنی‌دار با میزان موفقیت لقاح باشد، اما همیشه نمی‌توان آن را روشی مناسب برای پیش‌بینی توان باروری اسپرم در ماهی هالیبوت اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) دانست.

در سطح تخمک تاس‌ماهیان میکروپیل‌های متعددی وجود دارد به عنوان مثال حلاجیان و همکاران (۱۳۷۸) وجود ۹-۸ میکروپیل را در تخمک تاس‌ماهی ایرانی گزارش کردند. از این رو، افزایش تراکم اسپرم در تکثیر تاس‌ماهیان، به علت وجود میکروپیل‌های متعدد در سطح تخمک، امکان ورود همزمان چند اسپرم به داخل تخمک را فراهم می‌کند و باعث پلی‌اسپرمی شدن تخم می‌شود (آذری تاکامی، ۱۳۸۸) که به دنبال آن کاهش درصد لقاح و نرخ تفریخ رخ می‌دهد. پژوهش حاضر نیز همسو با این مطالعات این پژوهشگران است، به طوری که ماهی نر سوم با تراکم اسپرم پایین‌تر، درصد لقاح و نرخ تفریخ بالاتری نسبت به سایر مولدین داشت.

متوسط تعداد میکروپیل موجود در تخمک تاس‌ماهی ایرانی در ماده‌های F1، F2 و F3 در مطالعه حاضر، به ترتیب ۶، ۸ و ۹ عدد در هر تخمک بود. ماده‌ها در آمیزش با نر، تنها با مولد نر ۳ (M3) که تراکم اسپرم کمتری نسبت به سایر نرها داشت، نشان داد که تیمارهای F1M3، F2M3 و F3M3 دارای بیشترین درصد لقاح در بین سایر نرهای آمیزش داده شده بودند (جدول ۴). متاسفانه مطالعه‌ای درباره اثر تعداد میکروپیل با شاخص‌های اسپرم در افزایش یا کاهش درصد لقاح صورت نگرفته است تا بتوان نتایج آن را با پژوهش حاضر مقایسه کرد.

Alavi و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر pH بر میزان تحرک اسپرم مولدین نر تاس‌ماهی ایرانی گزارش کردند که تعیین میزان pH اولیه اسپرم در تاس‌ماهی ایرانی برای بررسی ظرفیت لقاح اسپرم تازه می‌تواند بسیار مفید باشد. دادرس و همکاران در سال ۱۳۹۰ گزارش کردند که میانگین pH اسپرم تاس‌ماهی ایرانی ۸/۴۱ بود و بین pH اسپرم (در محدوده ۹/۰۹-۷/۵) با درصد لقاح و نرخ تفریخ ارتباط مثبت وجود دارد. در پژوهش حاضر نیز pH اسپرم تاس‌ماهی ایرانی بین ۹/۶۷-۹/۳۵ (میانگین ۹/۴۷) بود و نتایج آن همسو با نتایج ارائه شده توسط دادرس و همکاران (۱۳۹۰) بود و اما در مورد ارتباط بین pH اسپرم با نرخ تفریخ عکس هم بود که می‌تواند به دلیل تعداد مولدین مورد بررسی و بالا بودن حداکثری pH اسپرم (با توجه به دامنه pH) باشد. مشخص شده است که کاهش pH به ۷/۵ در اسپرم ماهی کاد اقیانوسی (*Gadus morhua*) کاهش شدیدی در درصد تحرک و سرعت سلول‌های اسپرماتوزوآ ایجاد می‌کند (Frommel et al., 2010). اما با

افزایش pH اسپرم تاس‌ماهی ایرانی از ۷/۵ تا ۹/۰۹، افزایش درصد لقاح (۴۱ به ۹۵ درصد) و نرخ تفریخ (از ۳۲ به ۸۲ درصد) مشاهده شد (دادرس و همکاران، ۱۳۹۰)، در مطالعه حاضر نیز pH اسپرم ۹/۴ در نر M3 با میزان لقاح ۹۲/۳ تا ۹۳/۴ درصد و نرخ تفریخ ۵۹/۶ تا ۸۷/۳۹ درصد، نسبت به نرهای دیگر بیشتر بود، به طوری که افزایش و کاهش pH اسپرم از ۹/۴ با کاهش میزان لقاح و نرخ تفریخ همراه بود.

اسمولاریته باعث القا در حرکت اسپرماتوزوآ می‌شود (Cosson, 2004). در آزاد ماهیان حرکت اسپرماتوزوآ تحت تاثیر غلظت یون پتاسیم است ولی در تاس‌ماهیان یون پتاسیم به همراه اسمولاریته شاخص‌های کلیدی هستند که حرکت اسپرماتوزوآ را کنترل می‌کنند (شالویی و همکاران، ۱۳۸۸). در دیگر ماهیان آب شیرین و دریایی اسمولاریته کنترل کننده حرکت اسپرماتوزوآ است، به طوری که اسمولاریته بالا در کپورماهیان و اسمولاریته پایین در ماهیان دریایی از حرکت اسپرماتوزوآ جلوگیری می‌کند (Alavi and Cosson, 2006). شالویی و همکارانش در سال ۱۳۸۸ با بررسی تاثیر pH، نسبت رقیق‌سازی، یون‌ها و اسمولاریته بر روی حرکت اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ، گزارش کردند که اسمولاریته ۹۴-۶۸ میلی‌اسمول در لیتر تا اندازه‌ای از حرکت اسپرماتوزوآ جلوگیری کرد، اما اسپرماتوزوآ در فشار اسمزی ۱۳۳ میلی‌اسمول در لیتر و بالاتر بی‌حرکت بود. همچنین آن‌ها بیان داشتند که اسمولاریته بالا باعث بی‌حرکتی اسپرم‌ها می‌شود (شالویی و همکاران، ۱۳۸۸)، ولی مطالعه حاضر عکس نظرات این پژوهشگران را نشان داد، به طوری که میزان اسمولاریته اسپرم مولدین نر M1، M2 و M3 در مطالعه حاضر به ترتیب ۱۵۴، ۱۴۶ و ۱۹۳ میلی‌اسمول در لیتر بود و نر M3 با بالاترین مقدار اسمولاریته بیشترین درصد لقاح و نرخ تفریخ را داشت. البته شالویی و همکارانش (۱۳۸۸) تنها مقادیر بهینه یون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم)، pH و میزان بافری محلول فعال کننده (تریس، تریس اسیدی و هپس)، همچنین نسبت رقیق‌سازی و اسمولاریته اسپرم را اندازه‌گیری کردند.

تفاوت‌های موجود در نتایج پژوهش‌های انجام شده درباره لقاح را نمی‌توان تنها به کیفیت اسپرم مرتبط دانست، چرا که در امر لقاح ویژگی‌های کمی و کیفی تخمک نیز به اندازه اسپرم حائز اهمیت است و تخمک خود تحت تاثیر چندین فاکتور زیستی و غیرزیستی

از جمله اندازه مولد ماده، تاثیرات ژنتیکی، تغذیه مولدین، مدیریت، تعداد سوراخ‌های میکروپیل، اندازه و قطر تخمک است (Brooks et al., 1997). بر همین اساس مطابق جدول ۴ تلاقی نر M3 با ماده F3 نسبت به سایر مولدین بیشترین درصد لقاح و بالاترین نرخ تفریخ را داشت.

با توجه به اطلاعات به دست آمده در مطالعه حاضر می‌توان گفت کیفیت و کمیت خوب مواد تناسلی (تخمک و اسپرم) همچون تعداد میکروپیل، قطر و تعداد تخمک در گرم، درصد و مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم، اسمولاریته و pH اسپرم نقش مهمی در کارایی تکثیر مصنوعی تاس‌ماهی ایرانی داشت، به طوری که در اثر تلاقی مولدی با تخمک دارای تعداد میکروپیل متوسط با مولد نر دارای تراکم اسپرم بالا با درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم کم، کاهش درصد لقاح رخ داد، ولی در اثر تلاقی مولدی با تخمک دارای تعداد میکروپیل متوسط با مولد نر دارای تراکم اسپرم کم ولی با مدت زمان و درصد تحرک اسپرم زیاد، کارایی تکثیر با بالارفتن درصد لقاح همراه بود.

منابع

آذری تاکامی ق. ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۱ص.

افرائی بندپی م.ع.، طالشیان ح.، بهروز خوش‌قلب م.ر.، پورغلام ر.، کیمرام ف.، پرافکنده ف.، فضلی ح. و اسدالهی م. ۱۳۹۳. برخی از خصوصیات زیستی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) در سواحل جنوبی دریای خزر (آب‌های مازندران). مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۷(۴): ۴۳۸ -۴۵۳.

بخت‌آزما ن.، نظامی ش.ع.، خارا ح. و طلوعی م.ح. ۱۳۸۶. اثر انواع انکوباتورها (یوشچنکو، ویس، تراف و یوشچنکو تغییر یافته) بر میزان تفریخ و مدت زمان انکوباسیون تخم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علوم زیستی، ۴: ۲۶-۱۵.

پرافکنده حقیقی ف. ۱۳۸۷. تعیین سن در آبزیان. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۴۶ص.

پورکاظمی م. ۱۳۷۶. نگرشی بر وضعیت تاس‌ماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران، ۶(۳): ۲۲-۱۳.

پورکاظمی م.، بهمنی م.، پرندآور ح.، مهدی‌نژاد ک.، توکلی م.، محسنی م.، کاظمی ر.، شناور ع.ر.، فشخامی م.ر. و زارع ق. ۱۳۸۷. گزارش نهایی برنامه راهبردی تحقیقات محصولی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۴۰۶ص.

توکلی م.، خوشقلب م.، کر د.، قدیرنژاد س.ح.، فدایی ب.، جوشیده ه.، حلاجیان ع.، حدادی مقدم ک.، پرندآور ح.، کیمرام ف.، مقیم م.، پرافکنده ف.، فضلی ح.، قاسمی ش.، بندانی غ.ع.، آزادبخش ع.، لاریجانی م.، پژند ذ.، تبار ع.، باقرزاده ف.، تقوی ا. ۱۳۹۲. گزارش نهایی ارزیابی ذخایر ماهیان خاویاری در حوضه جنوبی دریای خزر در سال‌های ۹۱-۱۳۸۸. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، موسسه تحقیقات تاس‌ماهیان دریای خزر. ۸۹ص.

حلاجیان ع.، پورکاظمی م.ک.، کلباسی م.ر. و امینی ک. ۱۳۷۸. بررسی تعداد میکروپیل در تخمک سه گونه از تاس ماهیان جنوب دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۸(۱): ۴۸-۳۵.

دادرس ح.، نظامی ش.ع.، خارا ح . و برادران نویری ش. ۱۳۹۰. بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفریخ در تاس‌ماهی ایرانی. مجله علمی پژوهشی بیولوژی دریا، ۳(۹): ۱۹-۱۳.

شالویی ف.، شعبانی ع.، ایمانپور م.ر.، بهاره شعبانپور ب. و باغفلکی م. ۱۳۸۸. تاثیر pH، نسبت رقیق‌سازی، یون‌ها و اسمولاریته بر روی حرکت اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ

(*Acipenser nudiventris*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶: ۸۸-۸۱.

طاهری س.ع. ۱۳۷۷. مقایسه انکوباتور آستر با یوشچنکو با تاکید بر گونه قره‌برون. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۸۰ص.

فارابی س.م.و.، طاهری س.ع. و ندری ح. ۱۳۸۴. مقایسه کارایی انکوباتورهای یوشچنکو مدل روسی با آذرخش مدل ایرانی، در انکوباسیون تخم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). پژوهش و سازندگی، ۷۴: ۹-۱.

نظری ر.م.، عبدالحی ح.، تقی خواه‌نیا ا.، نوری ح.ع. و سهراب‌نژاد م. ۱۳۸۴. بررسی ارتباط بین تراکم اسپرم و درصد لقاح در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(۱): ۲۵-۱۷.

Alavi S.M.H. and Cosson J. 2006. Sperm motility in fishes: II. Effects of ions and osmollaity. Cell Biology International, 30: 1–14.

Alavi S.M.H., Cosson J. and Kazemi R. 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. Journal of Applied Ichthyology, 22: 400–405.

Alavi S.M.H., Karami M., Mojazi amiri B. and Akhoundzadeh M. 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon: Effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. Reproduction, 128: 819–828.

Berg S.L. 1948. Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. IPST. Jerusalem 1962, 1(504): 52–62.

Bromage N.R. and Cumaranataunga R.C. 1988. Egg production in the rainbow trout. P: 63–139. In: Muir J.F. and Robert R.J. (Eds.). Recent Advances in Aquaculture, Vol. 39. Springer, Germany.

Brooks S., Tyler C.R. and Sumpter J.P. 1997. Egg quality in fish: What makes a good egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries, 7: 387–416.

Chechun T.Y., Pantaleeva N.O. and Samoded A.Y. 1994. Seasonal and age-related qualitative and quantitative changes in sperm production in steelhead *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Ichthyology, 34(2): 78–89.

Chereguini O., Garcia De La Banda I., Rasines I. and Fernandez A. 1999. Artificial fertilization in turbot *Scophthalmus maximus*: Different methods and determination of the optimal sperm-egg ratio. Aquaculture Research, 30: 319–324.

Coban D., Kamac H.O., Cuneyt S., Yildırim S., Arda G., Korkut A.Y., Saka S. and Firat K. 2011. Effect of some morphometric characteristics on egg quality in common dentex, *Dentex dentex* (Linnaeus, 1758). Turkish Journal

of Fisheries and Aquatic Sciences, 11: 425–431.

Cosson J. 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. Aquaculture International, 12: 69–85.

Dettlaff T.A., Ginsburg A.S. and Schmalhausen O.I. 1993. Sturgeon Fishes, Developmental Biology and Aquaculture. Springer, Germany. 300P.

Frommel Y., Stiebens V., Clemmesen C. and Havenhand J. 2010. Effect of ocean acidification on marine fish sperm (Baltic cod: *Gadus morhua*). Biogeosciences Discuss, 7: 5859–5872.

Gage M.J.G., Stockley P. and Parker G.A. 1995. Effects of alternative male mating strategies on characteristics of sperm production in the Atlantic salmon (*Salmo salar*): Theoretical and empirical investigations. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 350: 391–399.

Hanjavanit C., Kitancharoen N. and Rakmanee C. 2008. Experimental infection of aquatic fungi on eggs of African catfish (*Clarias gariepinus* Burch). KKU Science Journal, 36: 36–43.

Ingermann R., Holcomb L., Robinson M. and Cloud J.G. 2002. Carbon dioxide and pH effect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). The Journal of Experimental Biology, 205: 2885–2890.

Kopeika E. and Kopeika J. 2008. Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. P: 345–396. In: Alavi S.M.H., Cosson J., Coward K. and Rafiee G. (Eds.). Fish Spermatology. Alpha Scientific Ltd, Oxford, U.K.

Krol J., Glogowski J., Demska-Zakes K. and Hiwa P. 2006. Quality of semen and histological analysis of testes in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. during a spawning period. Czech Journal of Animal Science, 51(5): 220–226.

Ochokwu I.J., Apollos T.G. and Oshoke J.O. 2015. Effect of egg and sperm quality in successful fish breeding. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science, 2: 48–57.

Ottesen O.H., Babiak I. and Dahle G. 2009. Sperm competition and fertilization success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 286: 240–254.

Tekin N., Secer S., Akcay E., Bozkurt Y. and Kayam S. 2003. The effect of age on spermato-logical properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792). Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 27: 37–44.

Williot p., Arlati G., Chebanov M., Gulyas T., Kasimov R., Kirschbaum F., Patriche N., Pavlovskaya L.P., Poliakova L.,

Pourkazemi M., Kim Y., Zhaung P. and Zholdasova I.M. 2002. Conservation and broodstock management, status and management of Eurasian sturgeons: An overview. International Review of Hydrobiology, 87(5-6): 483–506.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 6, No. 1, Spring 2018

The relationship between the quantity and quality of sperm with the percentage of fertilization and hatching rate of the eggs obtained from the individual crossing in wild Persian sturgeon (*Acipenser persicus*)

Ali Hallajian[1,2], Hossein Ali Abdolhai[3]*, Abdul Ahed Shadparvar[4], Mahtab Yarmohammadi[5], Mohammad Ali Yazdani Sadati[6]

Received: March 2017 Accepted: July 2017

Abstract

This study was done to determine the role of sperm on the fertilization and hatching rates in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). For this purpose, the sperms of three males fertilized ova of three females using 3×3 factorial design. Sperm motility and density, spermatocrit percent, sperm pH and osmolarity and ovum number per grams, micropyle number and diameter were measured. 1mL of sperm from each male was fertilized 100g of ova from each female. Therefore, 9 treatments including F1M1, F1M2, F1M3, F2M1, F2M2, F2M3, F3M1, F3M2 and F3M3 were designed (triplicate). The percentage of fertilization was determined 5 hours after fertilization and hatching rate was determined after 6 days. The results showed that the average number of micropyle pores in ova were 6, 8 and 9, respectively in Acipenser persicus. The sperm motility was 50, 60 and 80 percent, respectively. F3M3 treatment showed the highest percentage of fertilization and larvae hatching rate. F3M1 treatment had the lowest percentage of fertilization and F1M1 treatment had the lowest hatching rate. The results of measuring male sperm parameters showed that the high density of sperm with the number of ovum micropyles to increase fertilization, was unrelated and there was no significant difference between fertilization rate with the number of micropyles and measured parameters in sperms ($P>0.05$). Based on the Pearson correlation coefficient relationship, there were negative between sperm density with fertilization ($r = -0.603$, $P<0.01$) and hatching ($r = -0.175$, $P<0.01$) rates. There was a positive relationship between the number of micropyle and fertilization rate ($r = 0.574$, $P<0.01$) and between the osmolarity and fertilization ($P <0.01$, $r = 0.511$) and hatching ($P <0.01$, $r = 0.288$) rates. Due to the large numbers of micropyle in sturgeon eggs, to increase the percentage of fertilization rate, sperm density should be low but motility duration and quality should be high.

Key words: Acipenser persicus, *Sperm, Ovum, Fertilization Rate, Hatching Rate.*

1- Ph.D. Student in Propagation and Rearing of Aquatic Animal, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
2- M.Sc. in Fisheries, Physiology and Biochemistry Department, International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
3- Assistant Professor in Biotechnology and Genetics Department, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
4- Professor in Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
5- Assistant Professor in Biotechnology and Genetics Department, International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
6- Associate Professor in Aquaculture Department, International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
*Corresponding Author: hossein_abdolhay@yahoo.com