بررسی برخی خصوصیات ریخت شناسی و تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق اسپرماتوکریت، شمارش عددی و طیف سنجی

چکیده

یکی از عوامل موثر در بهبود کیفیت تکثیر ماهیان خاویاری کیفیت و کمیت گامت‌های نر می‌باشد. این مطالعه به‌منظور بررسی کمی اسپرماتوزوئید در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق شمارش عددی با لام هماسیتومتر، درصد اسپرماتوکریت و طیف سنجی در طول موج‌های ۳۷۰، ۴۰۰، ۴۵۰، ۵۰۰، ۵۵۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ نانومتر انجام گرفت. در بررسی مورفومتریک سلول اسپرم تاس‌ماهی ایرانی میانگین طول کل ۴/۱۵± ۶۴/۶۹ میکرون، میانگین طول دم ۴/۱۷±۵۵/۲۵ میکرون، میانگین طول سر ۰/۴۸±۹/۴۴ و میانگین عرض سر ۰/۳۳±۲/۴۷ میکرون بدست آمد. بر اساس آزمون آماری همبستگی بین عرض سر و طول سر با طول کل اسپرم در گونه‌های مورد نظر دیده نشده و ارتباط بین این عوامل ضعیف برآورد گردید. میانگین تراکم اسپرم در این بررسی ۱۰۹× ۱/۳۶۹ ± ۲/۰۴۷ اسپرم در میلی‌لیتر و میزان درصد اسپرماتوکریت ۶/۵۳± ۱۰/۸۵ درصد اندازه‌گیری شد. در روش طیف سنجی، نتایج نشان داده شد که با افزایش طول موج میزان جذب کاهش می‌یابد. در تمام طول موج‌های مورد بررسی، بین تراکم اسپرم و میزان جذب، همبستگی بالایی مشاهده شد. براساس آزمون ضریب همبستگی در تاس‌ماهی ایرانی، طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به سایر طول موج‌ها از همبستگی بیش‌تری برخودار بود. همچنین بین درصد اسپرماتوکریت و میزان جذب در طول موج‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده و طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به سایر طول موج‌ها همبستگی بیش‌تری را نشان داد. این یافته نشان داد که بین عوامل اسپرماتوکریت، تراکم و جذب نوری در اسپرم تاس‌ماهی ایرانی همبستگی معنی‌داری دیده شده و هر یک از این روش‌ها می‌تواند در بررسی غلظت اسپرم این ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی، اسپرم، تراکم، اسپرماتوکریت، طیف سنجی، *Acipenser persicus*.

علیرضا علیپور[۱]*
شهروز برادران نویری[۲]
محمدرضا نوروز فشخامی[۳]
قباد آذری تاکامی[۴]
حبیب وهاب‌زاده[۵]

۱. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، کارشناس ارشد بخش ژنتیک، رشت، ایران
۲، ۳. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، مربی پژوهشی، رشت، ایران
۴. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، استاد پژوهشی، رشت، ایران
۵. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران

***مسئول مکاتبات:**
alireza_alipour123@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۳۰

مقدمه

از مجموع ۲۷ گونه از تاس‌ماهیان جهان، تعداد کثیری از آن‌ها به طور جدی در معرض خطر انقراض می‌باشند (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۸۳). به دلیل شرایط نامساعد اکولوژیک و با توسعه جوامع بشری و اثرات سوء فعالیت‌های انسانی نظیر صید بی‌رویه، تخریب محل‌های تخم‌ریزی و ... نسل تعداد برخی از آن‌ها با خطرانقراض روبرو شده است (Cherepanov *et al.*, 1993). تحقیق و مطالعه هرچه بیش‌تر در مورد مواد تناسلی باعث افزایش دانش ما از ویژگی‌های کمی و کیفی سلول‌های جنسی و ویژگی فردی و نژادی تکثیر گونه‌ها می‌شود (اسلامبولچی، ۱۳۷۸). دستیابی به منی با کیفیت خوب و مقدار کافی در زمان مورد نظر و همچنین مدیریت بر آن، شاخص تعیین کننده‌ای در موفقیت تکثیر مصنوعی در مراکز تکثیر و پرورش ماهی می‌باشد. غلظت اسپرم در منی یکی از فاکتورهای مهم در تعیین کیفیت آن است، اما هنوز رابطه آن با دیگر فاکتورهای کیفی همانند تحرک و قابلیت باروری اسپرم به درستی مشخص نشده است (علوی، ۱۳۸۱). غلظت اسپرم در ماهیان با روش استفاده از لام هماسیتومتر (نعمت‌اللهی، ۱۳۷۲; اسلامبولچی، ۱۳۷۸ ;Suquet

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

et al., 1992; Ciereszko and Dabrowski, 1993 ;)، به کارگیری روش طیف سنجی (اسپکتروفتومتری) (اسلامبولچی، ۱۳۷۸; علوی، ۱۳۸۱ ;Ciereszko and Dabrowski, 1993) و اندازه‌گیری اسپرماتوکریت (Suquet *et al.*,1992) تعیین می‌شود.

تعداد یاخته‌های اسپرم در منی به همراه ویژگی‌های دیگری نظیر میزان تحرک و شکل ظاهری مناسب، از مهم‌ترین عوامل در تعیین کیفیت مواد تناسلی مولدین نر و در نتیجه پیش‌بینی نتیجه حاصل از لقاحی است که اسپرماتوزوئیدهای ماهی در آن شرکت داشته‌اند. همچنین تخمین تراکم اسپرم، برای ذخیره‌سازی آن نیز حائز اهمیت است (Cierszko and Dabrowsk, 1993).

با توجه به این که کمیت مناسب گامت جنس نر، یکی از عوامل موثر در افزایش کارایی لقاح است، در این تحقیق خصوصیات کمی اسپرم گونه تاس‌ماهی ایرانی از طریق طیف سنجی، بررسی اسپرماتوکریت و شمارش عددی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، اسپرم ماهیان خاویاری از مولدین مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی در فصل تکثیر تامین گردید. کلیه عملیات آزمایشگاهی و مراحل اندازه‌گیری در آزمایشگاه انجماد اسپرم بخش ژنتیک و آزمایشگاه فیزیولوژی انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری انجام شد.

این بررسی بر روی ۲۰ عدد ماهی مولد نر تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) انجام گرفت. مولدین مورد استفاده در این تحقیق در فصل تکثیر تاس‌ماهیان (اسفند تا خرداد ماه) و در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴ از حاشیه جنوبی دریای خزر در سواحل استان گیلان صید شده و به منظور تکثیر به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی منتقل شدند. مولدین نر و ماده به‌طور جداگانه در استخرهای بتونی مخصوص (کورانسکی) رها شده و به منظور کاهش استرس و سازگاری با محیط جدید به مدت چند روز از این مولدین مراقبت شد.

به منظور القای رسیدگی جنسی، مولدین نر صید شده به میزان ۳–۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مورد تزریق هیپوفیز قرار گرفته (Dettlaff *et al.*, 1993) و پس از ۲۴–۱۵ ساعت با توجه به میزان درجه حرارت آب، اسپرم استحصال گردید. برای اسپرم‌گیری از مولدین با وزن کم، ابتدا محوطه مجرای تناسلی و شکمی، با پارچه کاملاً خشک شده و با فشار در ناحیه کمر ماهی، اسپرم از منفذ تناسلی با فشار در ظرف آلومینیومی جمع آوری شد. برای استحصال اسپرم از مولدین نر بزرگ‌تر از سرنگ ۵۰ میلی‌لیتری متصل به تیوپ پلاستیکی (Tygon) استفاده شد.

اسپرم‌های آلوده شده به مواد دفعی و ادرار یا خون مورد آزمایش قرار نگرفتند (Linhart *et al.*, 1995). اسپرم استحصالی درون ظروف دردار خنک ریخته شده و بلافاصله به یخچال آزمایشگاه اسپرم بخش ژنتیک انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری در دمای ۵+ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

هر یک از نمونه اسپرم‌های جمع‌آوری شده به سه روش زیر مورد بررسی قرار گرفت:

۱. شمارش اسپرم با استفاده از لام هماسیتومتر: جهت تعیین تراکم اسپرماتوزوئید تعداد اسپرم در حجم مشخص از لام هماسیتومتر استفاده شد (هاشمی، ۱۳۷۵). برای این منظور ابتدا لام هموسیتومتر با الکل کاملاً تمیز و سپس خشک گردید. آن‌گاه ۱۰ میکرولیتر اسپرم با ۲۹۹۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شده و خوب هم زده شد تا اسپرم‌ها به‌طور یکنواخت پخش گردند. پس از گذشت ۱۵ دقیقه که تحرک اسپرم‌ها کاملاً متوقف شد، یک قطره از اسپرم رقیق شده، با بزرگ‌نمایی ۲۰۰× در زیر میکروسکوپ شمارش شد.

تعیین میزان اسپرماتوکریت: برای بررسی اسپرماتوکریت هریک از نمونه مایع منی، از لوله‌های موئینه مخصوص استاندارد (با قطر داخلی ۱/۲–۱ میلی‌متر) استفاده شد. سنجش اسپرماتوکریت پس از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه (Williot *et al.*, 2000) و برای هر نمونه با سه تکرار انجام گرفت. تعیین تراکم اسپرم به روش طیف‌سنجی: در این بررسی‌ها اندازه‌گیری غلظت اسپرم از روش طیف سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CE2040 انجام گردید. نمونه اسپرم‌ها پس از رقیق‌سازی به نسبت ۱:۳۰۰ در محفظه‌های استوانه‌ای مخصوص ریخته شدند. دامنه طول موج اندازه‌گیری شده در این بررسی برای تعیین بهترین طول موج نوری، طول موج‌های ۳۷۰، ۴۰۰، ۴۵۰، ۵۰۰، ۵۵۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ نانومتر

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

انتخاب گردید (Linhart *et al.*, 2000)، همچنین از یک محلول ۰/۷ درصد نمک طعام به عنوان شاهد (محلول بلانک) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری مشخصات ریخت‌شناسی اسپرم پس از رقیق سازی اسپرم با آب معمولی به نسبت ۱:۵۰۰ یک میلی‌لیتر محلول رنگ‌آمیزی گیمسا ۵ درصد به آن اضافه شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه هر یک از سلول‌های اسپرم به کمک میکروسکوپ نوری مدل NIKON_E6000 که متصل به کامپیوتر و مجهز به دوربین عکاسی مدل EXWAVE HAD با نرم افزار BIOCOM سنجش شد. داده‌های بدست آمده به کمک نرم افزار SPSS و اکسل مورد تفسیر و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

میانگین سنجش تراکم اسپرم در ۲۰ نمونه جمع‌آوری‌شده از تاس‌ماهی‌ایرانی با استفاده از لام هماسیتومتر، $۱۰^{۹}\times$۱/۳۶۹±۲/۰۴۷ عدد سلول در هر سانتی‌متر مکعب محاسبه شد. حداقل و حداکثر تراکم اسپرم، در نمونه‌های مورد بررسی به ترتیب معادل $۱۰^{۹}\times$ ۰/۷۷ سلول در هر سانتی‌متر مکعب (نمونه ۱۴) و $۱۰^{۹}\times$۵/۷۹ سلول در هر سانتی‌مترمکعب (نمونه ۱۲) محاسبه گردید (جدول ۱). میانگین میزان اسپرماتوکریت بدست آمده در ۲۰ نمونه اسپرم ۶/۵۳±۱۰/۸۵ درصد محاسبه شد. حداقل میزان اسپرماتوکریت در نمونه ۱۴ با ۴ درصد و حداکثر آن در نمونه ۱۲ با ۲۸/۵ درصد برآورد گردید (جدول ۱).

نتایج حاصل از بررسی میزان تراکم اسپرم در تاس‌ماهی ایرانی به نسبت ۱: ۳۰۰ با روش طیف سنجی (اسپکتروفتومتری) و براساس شدت جذب نور در طول موج‌های مختلف در جدول ۲ آمده است. پس از بررسی مورفومتریک و اندازه‌گیری بخش‌های مختلف سلول اسپرم در نمونه‌های استحصالی مقادیر ذیل محاسبه گردید. میانگین طول سر، دم و طول کل و همچنین عرض سر اسپرم در نمونه‌های جمع‌آوری شده به ترتیب ۰/۴۸ ± ۹/۴۴، ۴/۱۷ ± ۵۵/۲۵ ۴/۱۵ ± ۶۴/۶۹ و ۰/۳۳ ± ۲/۴۷ میکرون بدست آمد (جدول ۳).

جدول ۱: کیفیت، تراکم اسپرم و میزان اسپرماتوکریت در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در سال ۱۳۸٤

نمونه	تعداد اسپرماتوزوا $۱۰^{۹}\times$ (سلول/میلی‌لیتر)	درصد اسپرماتوکریت	کیفیت اسپرم	شماره نمونه	تعداد اسپرماتوزوا $۱۰^{۹}\times$ (سلول/میلی‌لیتر)	درصد اسپرماتوکریت	کیفیت اسپرم (محاسبه چشمی)
۱	۲/۶۱	۱۵	خوب	۱۱	۱/۵۰	۶/۵	متوسط
۲	۱/۱۴	۸/۵	خوب	۱۲	۵/۷۹	۲۸/۵	خوب
۳	۱/۸۵	۹	خوب	۱۳	۰/۳۸	۴/۷۵	متوسط
۴	۱/۷۲	۸/۲۵	خوب	۱۴	۰/۷۷	۴	ضعیف
۵	۱/۵۵	۸/۷۵	خوب	۱۵	۱/۳۱	۶	خوب
۶	۰/۸۴	۵	متوسط	۱۶	۵/۲۹	۲۵	خوب
۷	۱/۹۷	۱۲	خوب	۱۷	۲/۶۰	۱۴	متوسط
۸	۱/۷۰	۹	متوسط	۱۸	۲/۸۷	۱۶	خوب
۹	۰/۹۸	۵/۵	متوسط	۱۹	۲/۵۹	۱۱/۵	متوسط
۱۰	۲/۰۱	۱۳/۷۵	متوسط	۲۰	۱/۴۸	۶	متوسط

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

جدول ۲: طول موج و میزان جذب نوری اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در روش طیف سنجی با نسبت ۳۰۰ : ۱ در طول موج‌های مختلف در سال ۱۳۸٤

طول موج / نمونه	۳۷۰	٤۰۰	٤٥۰	٥۰۰	٥٥۰	٦۰۰	۷۰۰
۱	۰/۶۸۰	۰/۶۷۲	۰/۶۴۰	۰/۶۱۲	۰/۵۶۴	۰/۵۳۳	۰/۴۶۲
۲	۰/۳۲۲	۰/۳۱۵	۰/۲۹۹	۰/۲۸۵	۰/۲۷۱	۰/۲۶۱	۰/۲۲۷
۳	۰/۴۵۵	۰/۴۳۸	۰/۴۱۹	۰/۳۸۳	۰/۳۶۲	۰/۳۴۲	۰/۲۸۸
٤	۰/۴۷۵	۰/۴۵۰	۰/۴۲۲	۰/۴۰۸	۰/۳۸۲	۰/۳۴۷	۰/۳۰۱
٥	۰/۳۷۵	۰/۳۶۳	۰/۳۴۹	۰/۳۳۰	۰/۳۱۴	۰/۳۰۹	۰/۲۶۴
٦	۰/۲۱۸	۰/۲۱۱	۰/۱۹۹	۰/۱۸۶	۰/۱۶۸	۰/۱۵۸	۰/۱۳۸
۷	۰/۴۶۲	۰/۴۴۰	۰/۴۱۴	۰/۴۰۰	۰/۳۶۷	۰/۳۳۹	۰/۳۰۱
۸	۰/۵۲۳	۰/۴۹۴	۰/۴۷۰	۰/۴۲۰	۰/۳۹۹	۰/۳۶۷	۰/۳۲۰
۹	۰/۲۳۸	۰/۲۴۷	۰/۲۲۸	۰/۲۱۸	۰/۲۰۹	۰/۱۹۱	۰/۱۶۵
۱۰	۰/۴۶۸	۰/۴۵۹	۰/۴۴۹	۰/۴۲۲	۰/۴۰۶	۰/۳۸۱	۰/۳۳۸
۱۱	۰/۳۹۰	۰/۳۸۵	۰/۳۵۷	۰/۳۴۰	۰/۳۱۵	۰/۲۹۴	۰/۲۵۱
۱۲	۱/۱۰۰	۱/۰۶۸	۱/۰۲۸	۰/۹۹۱	۰/۹۵۸	۰/۹۲۰	۰/۸۴۸
۱۳	۰/۱۰۵	۰/۱۰۰	۰/۰۹۸	۰/۰۹۱	۰/۰۸۵	۰/۰۷۷	۰/۰۶۸
۱٤	۰/۱۸۶	۰/۱۷۷	۰/۱۶۹	۰/۱۶۰	۰/۱۴۸	۰/۱۳۷	۰/۱۱۷
۱٥	۰/۳۶۶	۰/۳۵۳	۰/۳۴۰	۰/۳۱۶	۰/۲۹۳	۰/۲۶۸	۰/۲۳۴
۱٦	۱/۰۲۰	۱/۰۰۰	۰/۹۵۶	۰/۹۱۶	۰/۸۸۴	۰/۸۳۴	۰/۷۵۴
۱۷	۰/۶۵۹	۰/۶۳۳	۰/۶۱۵	۰/۵۷۴	۰/۵۴۷	۰/۵۱۰	۰/۴۵۲
۱۸	۰/۷۵۰	۰/۷۲۶	۰/۶۹۹	۰/۶۶۹	۰/۶۲۷	۰/۵۸۹	۰/۵۲۲
۱۹	۰/۵۶۱	۰/۵۳۲	۰/۵۰۶	۰/۴۹۴	۰/۴۶۸	۰/۴۳۳	۰/۳۹۰
۲۰	۰/۳۴۶	۰/۳۴۳	۰/۳۲۰	۰/۲۹۶	۰/۲۸۵	۰/۲۶۲	۰/۲۲۷

در بررسی تراکم اسپرم با میزان جذب نوری در طول‌موج‌های ۳۷۰ تا۷۰۰ نانومتر بیش‌ترین جذب در طول موج ۳۷۰ نانومتر مشاهده شد که می‌تواند به عنوان بهترین طول موج برای اندازه‌گیری تراکم اسپرم به روش طیف سنجی مورد استفاده قرار گیرد (جدول۲). براساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون بین تعداد اسپرم (تراکم) در طول موج‌های مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نمی‌شود. ولی با توجه به میزان r و R^2 بدست آمده در طول موج ۷۰۰ نانومتر، نسبت به سایر طول موج‌ها از وضعیت بهتری برخوردار بوده است. معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی بین تراکم اسپرم و جذب نوری در طول موج‌های مختلف در جدول ۴ ارائه شده است.

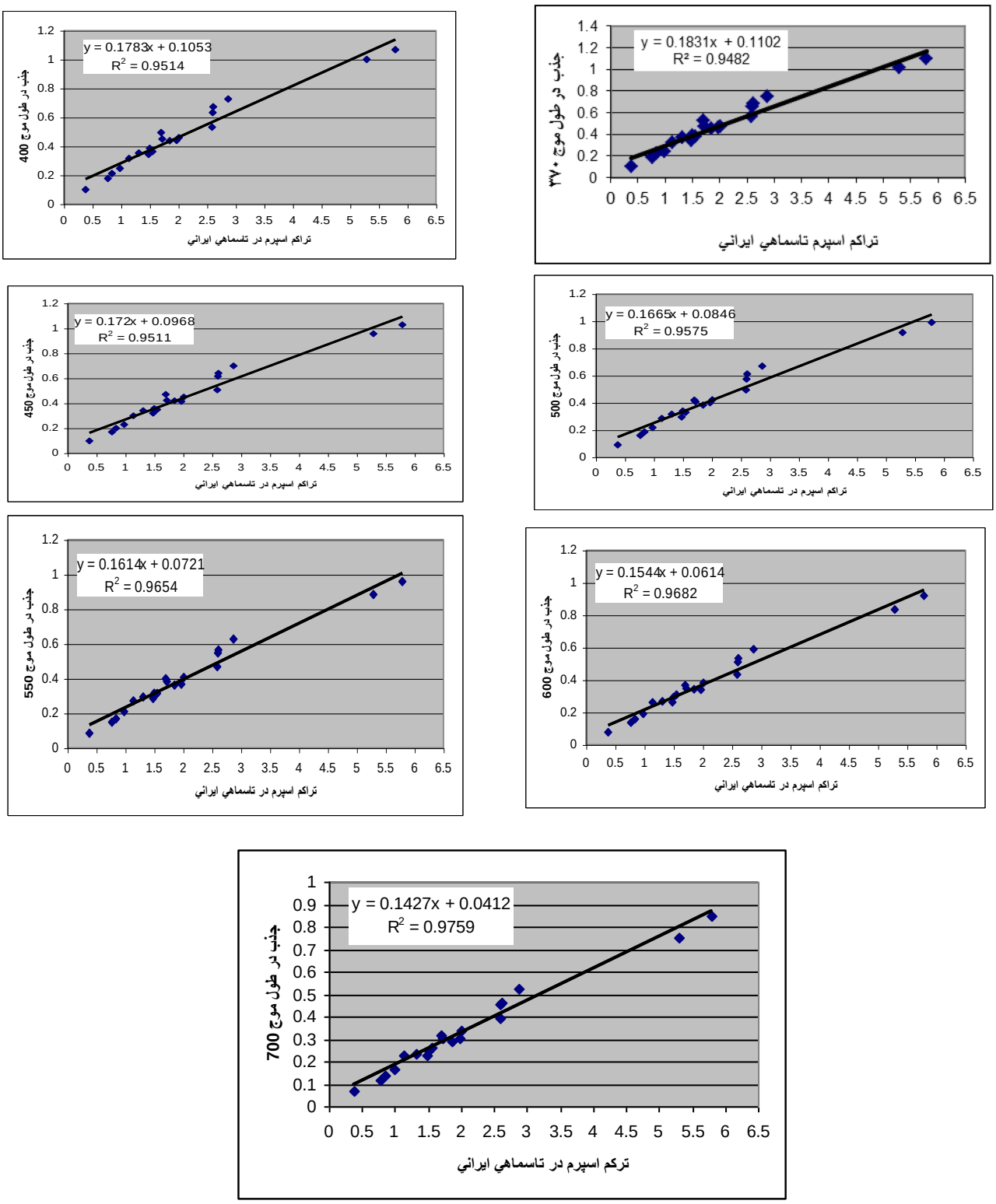
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

جدول ۳: مشخصات مورفومتریک اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در نمونه‌های مورد بررسی در سال ۱۳۸٤

ردیف	طول کل (میکرون)	طول دم (میکرون)	طول سر (میکرون)	عرض سر (میکرون)
۱	۶۱/۸	۵۲/۱۵	۹/۶۵	۲/۱۱
۲	۶۱/۱۱	۵۱/۳۹	۹/۷۲	۱/۸۹
۳	۶۱/۷	۵۲/۰۱	۹/۶۹	۲/۰۹
٤	۶۳/۳۲	۵۴/۰۲	۹/۳۰	۲/۰۲
٥	۶۸/۳۵	۵۸/۴۹	۹/۸۶	۲/۵۰
٦	۶۹/۰۳	۵۹/۰۵	۹/۹۸	۲/۷۸
۷	۶۶/۸۴	۵۷/۳۴	۹/۵۰	۲/۹۰
۸	۶۶/۷۳	۵۶/۹۰	۹/۸۳	۲/۴۷
۹	۶۸/۲۷	۵۸/۷۶	۹/۵۱	۲/۷۳
۱۰	۶۰/۴۶	۵۲/۱۸	۸/۲۸	۲/۳۹
۱۱	۶۰/۷	۵۰/۶۳	۱۰/۰۷	۳/۰۵
۱۲	۶۰/۸۷	۵۱/۵۷	۹/۳۰	۲/۷۹
۱۳	۶۹/۶۵	۶۰/۷۶	۸/۸۹	۲/۴۰
۱٤	۷۳/۵۲	۶۴/۲۴	۹/۲۸	۲/۴۲
۱٥	۶۱/۵۹	۵۲/۰۲	۹/۵۷	۲/۶۱
۱٦	۶۱/۲۱	۵۲/۴۹	۸/۷۲	۲/۴۶
حداکثر	۷۳/۵۲	۶۴/۲۴	۱۰/۰۷	۳/۰۵
حداقل	۶۰/۴۶	۵۰/۶۳	۸/۲۸	۱/۸۹
میانگین	۶۴/۶۹ ± ۴/۱۵	۵۵/۲۵ ± ۴/۱۷	۹/۴۴ ±۰/۴۸	۲/۴۷ ±۰/۳۳

خطوط رگرسیونی بین درصد اسپرماتوکریت با میزان جذب نوری در طول‌موج‌های ۳۷۰ تا ۷۰۰ نانومتر در جدول ذیل درج شده است. بر اساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون بین درصد اسپرماتوکریت در طول موج‌های مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نمی‌شود، ولی با توجه به میزان r و R^2 بدست آمده در طول موج۷۰۰ نانومتر، نسبت به سایر طول موج‌ها از وضعیت بهتری برخوردار بوده است.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]



شکل ۱: چگونگی همبستگی بین تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و جذب نوری آن در طول موج‌های مختلف در سال ۱۳۸٤

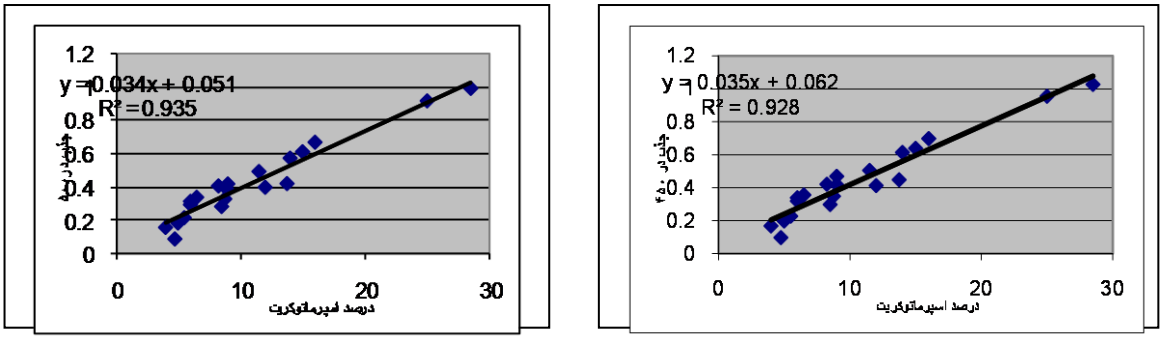
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

جدول ٤: معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی بین تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و جذب نوری در طول موج‌های مختلف در سال ١٣٨٤

ردیف	طول موج	خطوط رگرسیون	همبستگی R^2	r P< ٠/٠١
١	٣٧٠	Y= ٠/١٨٣١ X + ٠/١١٠٢	٠/٩٤٨٢	٠/٩٧٣٧
٢	٤٠٠	Y= ٠/١٧٨٣ X + ٠/١٠٥٣	٠/٩٥١٤	٠/٩٧٥٣
٣	٤٥٠	Y= ٠/١٧٢ X + ٠/٠٩٦٨	٠/٩٥١١	٠/٩٧٥٢
٤	٥٠٠	Y= ٠/١٦٦٥ X + ٠/٠٨٤٦	٠/٩٥٧٥	٠/٩٧٨٥
٥	٥٥٠	Y= ٠/١٦١٤ X + ٠/٠٧٢١	٠/٩٦٥٤	٠/٩٨٢٥
٦	٦٠٠	Y= ٠/١٥٤٤ X + ٠/٠٦١٤	٠/٩٦٨٢	٠/٩٨٣٩
٧	٧٠٠	Y = ٠/١٤٢٧ X + ٠/٠٤١٢	٠/٩٧٥٩	٠/٩٨٧٨

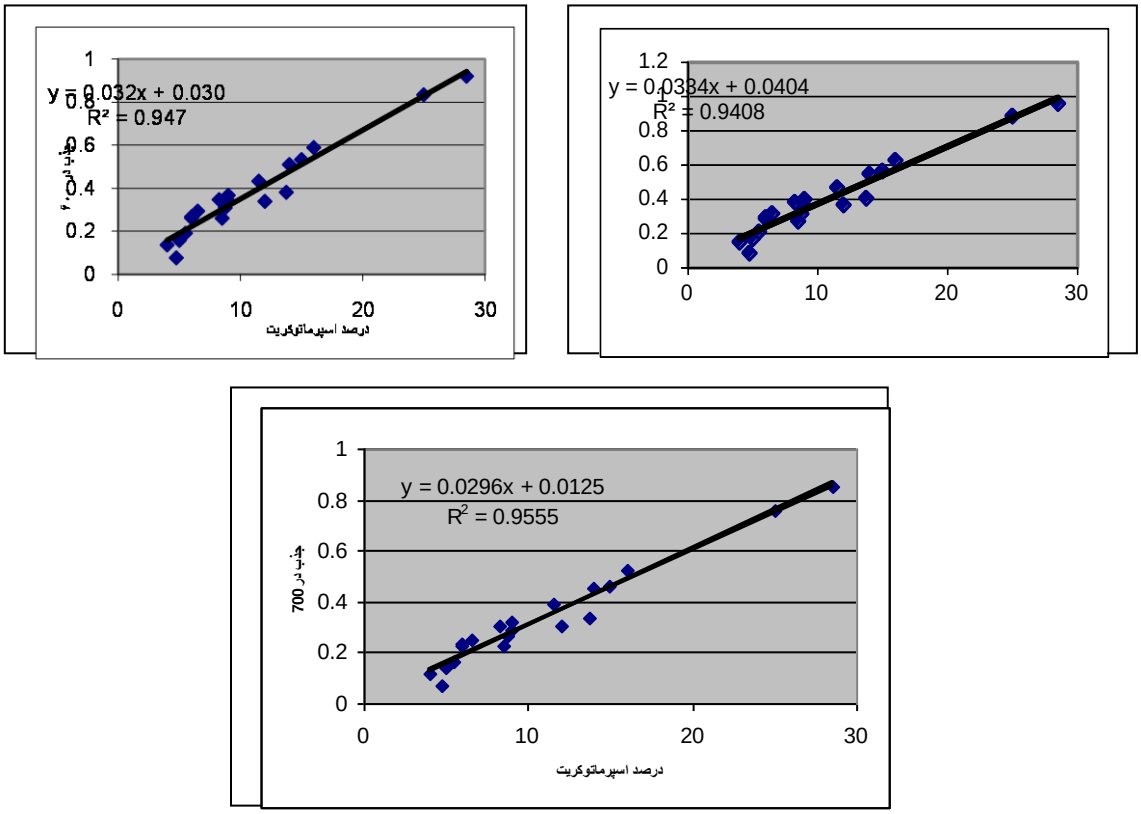
جدول ٥: معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی بین درصد اسپرماتوکریت تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و جذب نوری در طول موج‌های مختلف در سال ١٣٨٤

ردیف	طول موج	خطوط رگرسیون (P< ٠/٠١)	ضریب همبستگی R^2	r P< ٠/٠١
١	٣٧٠	Y= ٠/٠٣٧٨ X + ٠/٠٧٥٣	٠/٩١٩٣	٠/٩٥٨٧
٢	٤٠٠	Y= ٠/٠٣٦٨X + ٠/٠٧١١	٠/٩٢٣٦	٠/٩٦١٠
٣	٤٥٠	Y= ٠/٠٣٥٦ X + ٠/٠٦٢٧	٠/٩٢٥٨	٠/٩٦٣٥
٤	٥٠٠	Y= ٠/٠٣٤٥ X + ٠/٠٥١٦	٠/٩٣٥	٠/٩٦٦٩
٥	٥٥٠	Y= ٠/٠٣٣٤ X + ٠/٠٤٠٤	٠/٩٤٠٨	٠/٩٦٩٩
٦	٦٠٠	Y= ٠/٠٣٢ X + ٠/٠٣٠٤	٠/٩٤٧٥	٠/٩٧٣٤
٧	٧٠٠	Y= ٠/٠٢٩٦ X + ٠/٠١٢٥	٠/٩٥٥٥	٠/٩٧٧٤



شکل ٢: چگونگی همبستگی بین درصد اسپرماتوکریت تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و جذب نوری آن در طول موج‌های مختلف در سال ١٣٨٤

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]



ادامه شکل ۲: چگونگی همبستگی بین درصد اسپرماتوکریت تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و جذب نوری آن در طول موج‌های مختلف در سال ۱۳۸٤

بحث و نتیجه گیری

با توجه به روند کاهشی صید مولدین ماهیان خاویاری در صیدگاه‌های شیلاتی و دسترسی محدود به مواد تناسلی در مراکز تکثیر ماهیان خاویاری، لزوم پرورش تاس‌ماهیان برای مولدسازی و اهمیت مطالعات در زمینه گامت‌های جنسی جهت استفاده و کاربرد این دانش در فعالیت‌های تکثیر مصنوعی به منظور بازسازی ذخایر و افزایش توان تولید بچه ماهی در مزارع پرورشی امری ضروری است.

کیفیت اسپرم تولید شده در مولدین به فاکتورهای مختلفی از جمله دما و تغذیه بستگی دارد که در طی مرحله گامتوژنز بر ترکیب و ساختار غشاء اسپرم تاثیر می‌گذارد. همچنین فاکتورهای فیزیولوژیک مانند درجه تکامل گناد و زمان رسیدگی جنسی از عوامل موثر در ایجاد گامت‌هایی با کیفیت مناسب است (Kopeika *et al.*, 2000). بر اساس نتایج این مطالعه، میانگین تراکم اسپرم در تاس‌ماهی ایرانی ۱/۳۶۹±۲/۰۴۷ میلیارد سلول در هر میلی‌لیتر منی محاسبه شده و مقادیر حداقل و حداکثر تعداد گامت نیز در دامنه وسیعی بدست آمده است.

این تفاوت زیاد دامنه تغییرات تراکم اسپرم در مطالعات دیگر محققان نیز گزارش شده است، به‌طوری که بر اساس گزارش شعبانی (۱۳۷۷) میانگین تراکم گامت نر در تاس‌ماهی‌ایرانی را ۱/۸۴ میلیارد گامت در هر میلی‌لیتر برآورد نمود. براساس مطالعاتی که توسط شیرزاد و تائب (۱۳۸۳) و علوی (۱۳۸۱) در خصوص تراکم اسپرم تاس‌ماهی‌ایرانی انجام گرفت، میانگین تراکم اسپرم در گونه مذکور به ترتیب ۰/۱۵ و ۸/۳۴ میلیارد سلول در هر میلی‌لیتر محاسبه گردید. مطالعاتی که در گذشته در مورد تراکم اسپرم تاس‌ماهیان انجام گرفته نیز مؤید این نکته است که غلظت اسپرم در مولدین مختلف همانند حجم منی تابع چندین فاکتور است (Tsvetkova *et al.*, 1996). عواملی مانند سن مولد، وزن و اندازه ماهی، توالی و تکرار اسپرم‌گیری، مدت زمان اسپرم‌سازی، زمان مناسب رسیدگی جنسی مولد، شرایط محیطی و تغذیه‌ای ماهیان می‌توانند بر تولید و تراکم

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

اسپرم در مایع منی تاثیرگذار باشند. به نظر می‌رسد اسپرم استحصال شده از ماهی مولد صید شده از رودخانه دارای کیفیت بهتری باشد، زیرا ماهی زمانی به رودخانه مهاجرت می‌نماید که به رسیدگی کامل جنسی رسیده باشد. براساس گزارش Stoss (۱۹۸۳) اسپرم‌هایی که در زمان اوج تخم‌ریزی تولید شده دارای کیفیت مناسب‌تری بوده و بهتر به استرس‌های مختلف پاسخ می‌دهند.

براساس آزمون آماری همبستگی بین عرض سر و طول سر با طول کل اسپرم در گونه‌های مورد نظر دیده نشده و ارتباط بین این عوامل ضعیف برآورد گردید.

در مطالعاتی که توسط شیرزاد و تائب (۱۳۸۳) برای اندازه‌گیری مورفومتریک گامت نر در مورد تاس‌ماهی ایرانی انجام گرفت، مقادیر میانگین طول سر، عرض سر، طول دم و طول کل به ترتیب ۸/۶۷±۰/۴۷، ۲/۰۶±۰/۲۳، ۴۹/۸۳±۱/۹۸ و ۶۱/۲۲±۲/۲۰ میکرون گزارش شده که تقریباً با نتایج حاصل از اندازه‌گیری در این مطالعه مطابقت دارد.

در بررسی حاضر میانگین درصد اسپرماتوکریت محاسبه شده در تاس‌ماهی ایرانی ۱۰/۸۵±۶/۵۳ درصد برآورد گردید. دامنه تغییرات حداقل و حداکثر درصد اسپرماتوکریت در مولدین مختلف همان‌گونه که در مورد تراکم اسپرم ذکر گردید، بسیار متفاوت بوده و به عوامل مختلفی بستگی دارد.

غلظت اسپرم، یکی از فاکتورهای مهم در تعیین کیفیت منی است، اگر چه رابطه آن با دیگر پارامترهای کیفی منی همانند تحرک و قابلیت باروری اسپرم به‌درستی مشخص نشده است. در این بررسی، غلظت اسپرم به سه روش شمارش اسپرم با لام هماسیتومتر، اسپرماتوکریت و طیف‌سنجی انجام گرفت. بر اساس روابط ریاضی و آماری ضرایب همبستگی و ضریب همبستگی پیرسون نشان داد که ارتباط بین درصد اسپرماتوکریت و تراکم عددی اسپرم در همه موارد در حد بالایی دارای ارتباط معنی‌دار و همبستگی قوی (r بیش از ۰/۹۷) است.

در بررسی غلظت اسپرم به روش طیف سنجی مقادیر جذب نور با طول موج‌های کوتاه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت می‌شود. روش طیف سنجی می‌تواند به عنوان، روش سریع برای ارزیابی غلظت اسپرم در تاس‌ماهیان در کارگاه‌های تکثیر و پرورش مصنوعی ماهیان خاویاری استفاده شود. استفاده از این روش برای مطالعه تراکم اسپرم در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*)، ماهی ازون برون، تاس‌ماهی دریاچه‌ای، ماهی پاروه‌پوزه و برخی از ماهیان استخوانی پیشنهاد شده است (علوی، ۱۳۸۱). در این مطالعه سعی شده با استفاده از روش‌های مختلف، غلظت و تراکم سلول‌های جنسی در منی بررسی شده و روابط و میزان همبستگی آن‌ها ارزیابی گردد.

براساس نتایج حاصل از بررسی تراکم اسپرم در روش طیف‌سنجی بیش‌ترین جذب نوری در طول موج ۳۷۰ نانومتر مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش طول موج مقدار جذب کاهش می‌یابد. بر پایه آزمون‌های آماری به نظر می‌رسد که بین تراکم اسپرم و میزان جذب، همچنین بین درصد اسپرماتوکریت و میزان جذب در تمام طول موج‌های مورد بررسی ارتباط و همبستگی بالایی وجود داشته است (r بیش از ۰/۹۷). به عبارت دیگر در روش طیف‌سنجی از تمام طول موج‌ها می‌توان برای تخمین تراکم اسپرم در تاس‌ماهیان استفاده نمود. این معیار درستی برای ارزیابی تراکم اسپرم با روش‌های بالا در مراکز و مزارع پرورش تاس‌ماهیان فراهم می‌کند. با وجودی که در تمام طول موج‌های مورد بررسی، بین تراکم اسپرم و میزان جذب ضریب همبستگی بالایی برقرار است و اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود، اما بر اساس r و R^2 حاصل از آزمون ضریب همبستگی در تاس‌ماهی ایرانی، طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به سایر امواج نوری از ارتباط بیش‌تری برخودار است. همچنین بر اساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون و معادلات خطوط رگرسیونی بین درصد اسپرماتوکریت و میزان جذب در طول موج‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده، اما با توجه به مقدار r و R^2 بدست آمده از آزمون، در تاس‌ماهی ایرانی، طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به سایر طول موج‌ها از وضعیت و همبستگی بیش‌تری برخوردار است.

در مطالعاتی که توسط علوی (۱۳۸۱) برای اندازه‌گیری غلظت اسپرم به روش اسپکتروفتومتری در مورد تاس‌ماهی ایرانی انجام گرفت، استفاده از طول موج‌های ۳۵۰ و ۳۷۵ نانومتر پیشنهاد گردید. اسلامبولچی (۱۳۸۷) نیز طی پژوهشی اعلام داشت که ارتباط بین تراکم اسپرم و میزان جذب در ماهی ازون‌برون درطول موج۴۰۰ نانومتر، بهترین طول موج برای اندازه‌گیری غلظت اسپرم می‌باشد. به نظر می‌رسد، عدم تعریف یک طول موج

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

مشخص برای اندازه‌گیری تراکم اسپرم در ماهیان خاویاری به دلیل وجود ترکیبات آلی موجود در پلاسمای منی این ماهیان باشد (Suquet *et al.*,1992).

براساس نتایج این مطالعه، می‌توان از روش طیف‌سنجی و بررسی میزان درصد اسپرماتوکریت منی برای اندازه‌گیری غلظت گامت نر مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نتیجه‌گیری کلی بدست آمده از تحقیق حاکی از آن است که این تکنیک می‌تواند به عنوان یک روش کاربردی و موثر در مراکز بازسازی ذخایر تاس‌ماهیان و مزارع پرورشی موجب افزایش راندمان لقاح و تولید گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت موسسه تحقیقات شیلات ایران در آزمایشگاه انجماد اسپرم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان به انجام رسیده است. نگارندگان از همکاری کارشناسان و کارکنان محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سنگر به جهت تامین مولدین مورد نیاز و مساعدت مستمر و موثر آنان تشکر می‌نمایند.

منابع

اسلامبولچی، ش.، ۱۳۷۸. تخمین تراکم اسپرم ماهی کپور، آمور و ازون‌برون با استفاده از روش اسپکتروفتومتری. پایان نامه کارشناسی، دانشکده شیلات، دانشگاه منابع طبیعی گرگان، ۴۹ ص.

پورکاظمی، م.، برادران‌نویری، ش. و نوروز فشخامی، م.، ۱۳۸۳. مروری بر شناسایی جمعیت و نژادهای تاس‌ماهیان دریای خزر. فصلنامه موج سبز، شماره ۱۸، صفحات ۸-۳.

شعبانی، ا.، ۱۳۷۷. بررسی کیفیت اسپرم تاس‌ماهیان (گونه ازون‌برون). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۱۴۳ ص.

شیرزاد، ر. و تائب ه.، ۱۳۸۳. بررسی مورفولوژیکی اسپرم ماهی قره‌برون. پایان نامه کارشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۷۰ ص.

علوی، س. م. ه.، ۱۳۸۱. مطالعه تطبیقی تحرک اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی و قابلیت لقاحی آن بین آب شیرین و محلول‌های نمکی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی کرج، ۹۵ ص.

نعمت‌الهی، م.، ۱۳۷۲. بررسی مقایسه‌ای مایع اسپرمی آزاد ماهیان پرورشی موجود در ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی کرج، ۱۱۵ ص.

هاشمی، م.، ۱۳۷۵. تلقیح مصنوعی در گاو (فیزیولوژی تولید مثل و تلقیح مصنوعی). انتشارات فرهنگ جامع، چاپ دوم، ۳۰۲ ص.

Cherepanov, V. V., Drokin, S. I., Ochkur, S. I., Dzuba, B. B., Chikhachoc, A. S. and Kopeika, E. F., 1993. Freezing of sperm of the Azov-Black Sea Acipenserids. 1th Inter Symposium On sturgeons. Sep 6-11, Moscow, Russia, PP.63-64.

Ciereszko, A. and Dabrowski, K., 1993. Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. Aquaculture, 109: 367-373.

Dettlaff, T. A., Ginsburg, A. S. and Schmalhausen, O. I., 1993. Sturgeon fishes: Developmental biology and aquaculture. Springer-verlag, Berlin, 300P.

Kopeika, E. F., Williot, 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):167173.

Linhart, O., Mims, A. D. and Shelton, W. L., 1995. Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platoryneclus* Rafinesque 1820) and paddlefish (*Polyodon spathulla* Walbaum, 1797). J. Fish Biol, Vo1. 97, PP. 902-909.

Linhart, O., Mims, A. D., Shelton, W. L., Gomelsky, B., Hiott, A. E., Cosson, J., Rodina, M. and Gela, D., 2000. Spermation of paddlefish (*Polyodon spathulla*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary powder. J. Aquaculture, Living resour, Vo1.13, PP.1-6.

Suquet, M., Omnes, M. H., Normant, Y. and Fauve, D. K., 1992. Assessment of sperm concentration and motility in Turbot, *Scophthalmus maximus*. Aquaculture, 101:177-185.

Stoss, J., 1983. Fish gamete preservation and spermatozoa physiology. In: Fish physiology, Vol l. IX. Reproduction (eds. Hoar, W. S.; Randell, P. J. and Donaldson, E. M). Academic Press, PP. 305-341.

Tsvetkova, L. I., Cosson, J., Linhart, O. and Billard, R., 1996. Motility and fertilizing capacity of fresh and frozen-thawed spermatozoa. In: sturgeons *Acipenser baeri* and *Acipenser ruthenus*. J. Appl, Ichthyol, Vo1.12, PP.107-112.

Williot, P., Kopeika, E. F. and Goncharov, B. F., 2000. Influence of testis state, temperature and delay in semen collection on spermatozoa motility in the cultured Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Bradt). Aquaculture, 189: 53-61.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-08-15]