

بررسی تأثیرات یونها در کیفیت اسپرماتوزوای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) تحت شوری‌های مختلف

لاله شیدایی^{۱*}، عباسعلی زمینی^۲، حبیب وهاب زاده^۳، شهرزاد برادران نویری^۴

۱، ۲- 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 دریافت: ۱۳ تیر ۱۳۹۱

تاریخ پذیرش: ۴ آبان ۱۳۹۱

چکیده

با توجه به کاهش ذخایر ماهیان خاویاری در دریای خزر و لزوم استفاده بیشتر از مواد تناسلی 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 غلظت یونی، pH و غیره می‌باشد، که پیش‌نیاز 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 تناسلی 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، پتاسیم و کلسیم محلول‌های مورد استفاده و مایع سمینال 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، ۴ گرم در هزار و ۶ گرم در هزار به ترتیب ۱۳۵/۰۰، ۲۹۵/۰۰، ۳۹۱/۲۵، ۳۳۳/۷۵، ۲۲۵/۰۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. بیشترین درصد تحرک ۶۸/۷۵ درصد و زمان تحرک اسپرم به ترتیب ۱۳۵/۰۰، ۲۹۵/۰۰، ۳۹۱/۲۵، ۳۳۳/۷۵، ۲۲۵/۰۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. بیشترین درصد تحرک اسپرم و زمان تحرک اسپرم در شوری ۲ گرم در هزار در مقایسه با سایر تیمارها حاصل شد و بین درصد تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف شوری، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P \leq 0/05$).

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

مقدمه

تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* رود کوچ (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 بین رفتن 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 تاس ماهیان 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 تاس ماهی ایرانی صید شده از سال ۱۹۹۳ تا ۲۰۰۲ روند صعودی داشته است و از سوی دیگر رها کرد بچه تاس ماهیان از ۲ میلیون عدد به ۲۰ میلیون افزایش داشته، ولی در مجموع صید قانونی تاس ماهیان 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 است (Billard and Cosson, 1992; Lahnsteiner, et al., 1996). اسپرماتوزوآی تاس ماهیان مانند سایر ماهیان استخوانی در بیضه و دستگاه تناسلی غیر متحرک است و تنها بعد از رهاسازی در محیط خارجی

فعال می‌شود (Alavi, et al., 2002). بنابراین تعیین فاکتورهای محیطی نظیر یون‌ها (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ,، pH و اسمولاریته بسیار مهم بوده و پیش نیاز و لازمه تحرک اسپرم است (Alavi and Cosson, 1995; Billard, et al., 2002). در چنین شرایطی غشاء سلول دپلاریزه شده و روی توانایی تاژک 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 پتاسیم در سالمونیده (Stoss, 1983) و تاس ماهیان (Alavi, et al., 2004a; 2004b) و اسمولاریته در کپور ماهیان (Perchec, et al., 1995a, 1995b) و ماهیان دریایی (Krasznai, et al., 2003) می‌باشد. وجود یون کلسیم خارجی برای شروع فعالیت اسپرم در سالمونیده (Billard, et al., 1995b; Christen, et al., 1987)، کپور ماهیان (Krasznai, et al., 2000) و ماهیان خاویاری (Linhart, et al., 2002) ضروری است. افزودن کلرید سدیم به پلاسمای سمینال موجب تحرک اسپرم می‌شود (Marshall, et al., 1993). با افزایش بیش از حد یون سدیم، طول دوره تحرک و تعداد اسپرماتوزوآی متحرک کاهش خواهد یافت (Morisawa, et al., 1983). وجود یون‌های سدیم، کلسیم و منیزیم می‌تواند اثر منفی یون پتاسیم 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 اسپرماتوزوآی این دسته از ماهیان در آب شیرین یا آب لب شور (بیش از ۲٪) پیدا می‌شود (Beljajev, 1957; Drabkina, 1961; Ivlev, 1940; Toth, et al.,

استفاده شد. محلول‌های مورد نظر شوری صفر گرم در هزار، ۰/۶ گرم در هزار، ۲ گرم در هزار، ۴ گرم در هزار و ۶ گرم در هزار (Alavi, et al., 2002; 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 بلافاصله اسپرم هر مولد را به آزمایشگاه انتقال داده تا در محلول‌های مختلف سنجش شود. درصد اسپرم‌های متحرک بلافاصله بعد از فعال شدن صد در صد به صورت چشمی انجام شد (Alavi and Cosson, 2006). اسپرم هر مولد با رقیق سازی ۱:۳۰۰ توسط هر کدام از محلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری با عدسی ۴۰ مورد بررسی قرار گرفت (Noveiri, et al., 2005). مدت زمان متحرک 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 مولدین نر و همچنین محلول‌های مورد استفاده با روش کلریمتریک 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.

سایر محققان درجه شوری ۲-۳٪ (Linhart, et al., 1997; Tanasijcuk and Vonokov, 1955, 1956) یا درجه شوری بالاتر از ۳-۴٪ تا ۸٪ را برای تحرک اسپرما توزوآی ماهی مناسب دانسته‌اند. مطالعه تأثیر فاکتورهای محیطی روی کیفیت اسپرم می‌تواند در پایه‌ریزی محلول‌های فعال کننده یا بازدارنده جهت اصلاح لقاح مصنوعی یا انجماد اسپرم بسیار حایز 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 لقاح 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 کیشهر (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 مولدین مناسب انتخاب شدند. آن‌گاه اسپرم ماهیان، استحصال و جهت بررسی خصوصیات اسپرم مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق از ۴ مولد نر بامیانگین وزنی $13/02 \pm 0/48$ کیلوگرم و میانگین طولی $155/87 \pm 7/28$ سانتی‌متر

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی یون‌های پتاسیم، کلسیم و سدیم در تیمارهای مختلف شوری و مایع سمینال ۴ مولد نر تاس ماهی ایرانی در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یکطرفه بین میانگین پتاسیم 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

معنی دار آماری وجود داشت ($P \leq 0/01$) 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 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 می‌باشد ($P \leq 0/05$).

جدول ۱: میانگین یون‌های پتاسیم، کلسیم و سدیم در تیمارهای مختلف شوری (میلی مول در لیتر)

تیمار	S.E. میانگین یون پتاسیم	S.E. میانگین یون کلسیم	S.E. میانگین یون سدیم
آب مقطر	$0/10 \pm 0/00^a$	$0/01 \pm 0/01^a$	$1/75 \pm 0/25^a$
شاهد (آب کارگاه)	$0/15 \pm 0/05^a$	$1/51 \pm 0/01^b$	$22/50 \pm 13/50^{ab}$
شوری ۲	$0/30 \pm 0/00^b$	$2/31 \pm 0/01^c$	$39/00 \pm 1/00^b$
شوری ۴	$0/70 \pm 0/00^c$	$3/11 \pm 0/01^d$	$64/00 \pm 2/00^c$
شوری ۶	$1/10 \pm 0/00^d$	$3/58 \pm 0/00^e$	$89/00 \pm 1/00^d$

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

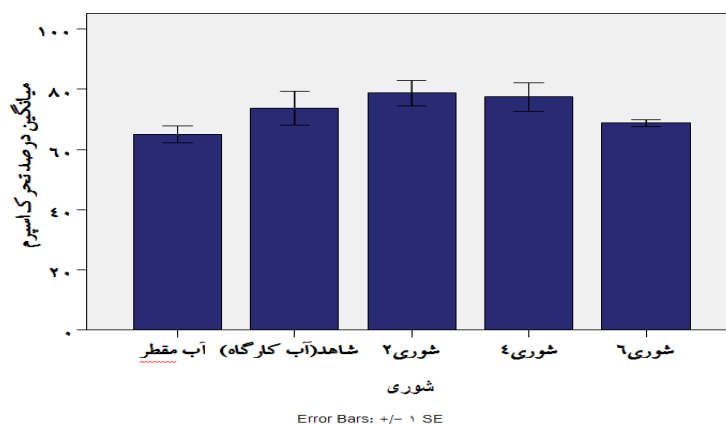
فاکتور	S.E. میانگین
سدیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	$87/40 \pm 12/84$
کلسیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	$0/76 \pm 0/14$
پتاسیم موجود در مایع سمینال (میلی مول در لیتر)	$6/80 \pm 1/27$

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

۶۵/۰۰±۲/۸۹ درصد، شاهد ۷۳/۷۵±۵/۵۴ درصد، شوری ۲ گرم در هزار ۷۸/۷۵±۴/۲۷ درصد، شوری ۴

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).

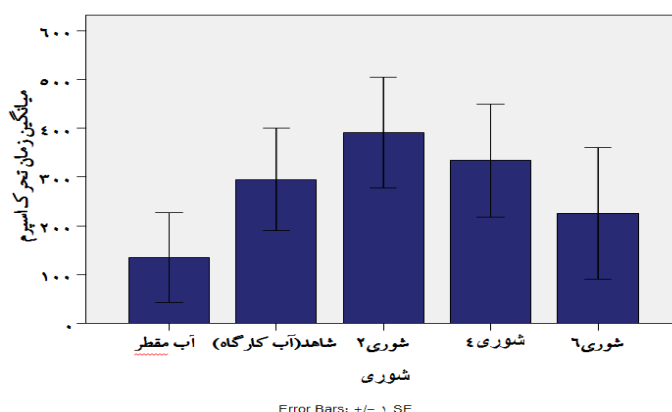
گرم در هزار $77/50 \pm 4/79$ درصد و شوری ۶ گرم در هزار $68/75 \pm 1/25$ درصد اندازه‌گیری شد که بین درصد تحرک اسپرم در شوری ۲ گرم در هزار و آب مقطر اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. آزمون دانکن نیز بیانگر افزایش درصد تحرک اسپرم در



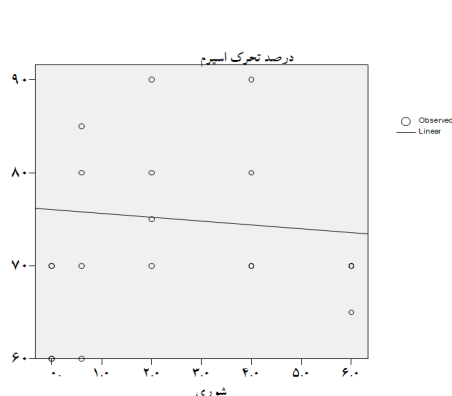
شکل ۱: مقایسه میانگین درصد تحرک در تیمارهای شوری

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 $76/7$ 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 $42/2$ درصد معنی‌دار است ($P > 0.05$) (شکل ۴).

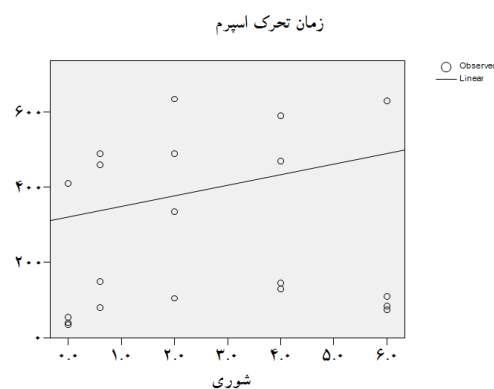
با توجه به نتایج آزمون تجزیه واریانس یکطرفه میانگین زمان تحرک اسپرم در آب مقطر $295/00 \pm 105/08$ ثانیه، شوری ۲ گرم در هزار $391/25 \pm 113/38$ ثانیه، شوری ۴ گرم در هزار $333/75 \pm 115/96$ ثانیه و شوری ۶ گرم در هزار $225/00 \pm 135/20$ ثانیه مشاهده شد و آزمون دانکن نشان داد که بین میانگین زمان تحرک 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

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 سینرژتیک 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 تخمدانی تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد (Turner and Montgomerie, 2002; Urbach, et al., 2005) و با توجه به ارتباط بین درصد تحرک اسپرم و سرعت

آن با لقاح (Rurangowa, et al., 2004)، هنگامی که گامت‌ها رها می‌شوند شوری در لقاح 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 بالاتر یون 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 پتاسیم مشاهده شد. علوی (۱۳۷۹) گزارش کرد که با توجه به

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 *Shovelnose* (*Scaphirhynchus platyrhynchus*) بررسی نمودند و دریافتند که ۹۰ تا ۱۰۰ درصد تحرک اسپرماتوزوای پدل فیش در آب مقطر با مدت زمان ۴-۶ دقیقه و ۸۰ تا ۹۵ درصد تحرک اسپرماتوزوای 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 NaCl با pH=۸/۲ 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 هزار با غلظت یونی K^+ ۰/۳ mM/l، Ca^{2+} ۰/۳ mM/l، Na^+ ۲/۳۱ mM/l به دست آمد. Alavi و همکاران (2004a) ماکزیمم تحرک اسپرم و زمان تحرک اسپرم تاس‌ماهی ایرانی را در غلظت بافری K^+ ۳ mM/l، Ca^{2+} ۰/۲ mM/l، Na^+ ۲۵ mM/l عنوان نمودند. محیط شنای دارای سدیم باعث تحرک اسپرم تاس‌ماهیان و کنترل آن شده و اسپرماتوزوای تاس‌ماهیان به میزان بالای Na^+ خارج سلولی حساس است که این یافته مخالف با نتایج مربوط به اسپرماتوزوای آزاد

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 و در فرآیند لقاح اختلال ایجاد کند (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 پلاسما و قابلیت لقاحی اسپرم وجود دارد و پارامترهای متفاوتی نظیر ترکیبات یونی، خصوصیات غشاء را تعدیل 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 (Androsof, et al., 1990). طبق نتایج حاصله

- 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. *Areview. 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. Androssov, 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 کارگاه های 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 نمایم.

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، ژ.، ۲۰۰۱. مروری بر جنین شناسی ماهی. ترجمه مجید عابدی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد قایم شهر. ۱۸۴ صفحه.
۴. علوی، م. ه.، ۱۳۷۹. مطالعه تطبیقی مدت تحرک تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در آب ساکن انکوباسیون و محلول های تقویت کننده. پروژه 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., Perchec, 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 otera. – *Dokl. AN SSSR*, 138, pp. 492- 495.
21. Ivlev, V. S., 1940. Vlijanije solenosti na oplodotvorenije i razvitje ikry nekotorych kaspjskich poluprochodnych 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., Bazzane, 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. 167e79.
25. Linhart, O., Cosson, J., Mims, S. D., Shelton, W. L., Rodina, M., 2002. Effects of ions on the motility of fresh and demembrated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. *Reproduction*, 124, pp. 713-719.
26. Makejeva, A. P., Belova, N. V., 1975. Producirovaniye i kachestvo spermy pri iskusstvennom razvedeniji rastitelnojadnych ryb.- *Ry bn. 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. Boil*. 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. Perchec, G., Cosson, J., Andre, F., Billard, R. 1995a. Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping. *Aquaculture*, 129, pp. 133e7.
31. Perchec, 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. Vlijaniye vody raznoj solenosti na spermu, ikru, licinok i malkov sudaka Lucio-perca lucioperca(Linne).- Vopr. Ichtiol., 5, pp. 39-47.
35. Tanasijcuk, V. S., Vonokov, I. K., 1956. Vlijaniye 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., Rudolfson, 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.