مجله شیلات
سال اول، پیش، شماره چهارم، زمستان ۸۶

# القاء رسیدگی جنسی در تخمک تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با استفاده از محیط کشت مصنوعی (محلول رینگر معمولی)

**[*]افشین قلیچی[۱]، نور محمد مخدومی[۲] و سارا جرجانی[۳]**

[۱]عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، [۲]کارشناس کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق قلا، [۳]عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر

**E-mail: af_ghelichi@yahoo.com*

## چکیده

از مسائل مهم برای تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری، انتخاب مولدین قادر به تولید گامت های رسیده با کیفیت بالا، پس از تحریک هورمونی است. در این تحقیق به بررسی توانایی فولیکولهای تاس ماهی ایرانی به صورت القاء GVBD در شرایط *in vitro* و در محیط کشت RM1 پرداخته شده است تا با مقایسه توانایی فولیکول ها جهت القاء GVBD در *in vitro*، با توانایی فولیکولها در شرایط *in vivo*، شاخص مناسبی برای انتخاب مولدین مناسب ارائه شود. برای این منظور از ۹ قطعه مولد ماده تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی گرگان، استفاده شد. هورمون پروژسترون درست قبل از کشت تخمک ها در *in vitro* به محیط کشت افزوده شد. نمونه‌گیری تخمک جهت کشت در *in vitro* و بررسی GVBD، قبل از عمل تزریق هورمونی جهت القاء تخم‌ریزی انجام شد. نمونه‌گیری از محیط کشت بعد از کشت تخمک‌ها، در ٦ مرحله و هر ٦ ساعت یکبار صورت گرفت. وقوع یا عدم وقوع GVBD در تخمکها بررسی و برای گروه شاهد و نمونه هایی که GVBD در آنها روی نداده بود، میزان شاخص قطبیت هسته (PI) محاسبه شد. بررسی روند رسیدگی در محیط کشت نشان می‌دهد که شاخص قطبیت هسته (PI) در تخمک‌های چهار مولد در زمان نمونه‌برداری دوم به صفر رسید و تا زمان نمونه برداری سوم GVBD رخ داد. شاخص قطبیت هسته در تخمک‌های دو مولد نیز شانزده ساعت پس از کشت به صفر رسید. تا زمان نمونه برداری بعدی در اکثر تخمک‌ها، GVBD رخ داده بود. بررسی نتایج حاصله در محیط *in vivo* مورد تاس‌ماهی ایرانی نشان داد که از ۹ مولد، تخمکهای هفت مولد اوله شده اند. در تخمکهای مولدین اخیر در محیط *in vitro* نیز تا زمان سوم نمونه برداری، GVBD رخ داده بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که روش بررسی رسیدگی نهایی تخمک بصورت *in vitro* برای انتخاب مولدین ماده تاس ماهی ایرانی نسبت به روش تعیین شاخص قطبیت هسته، توانایی بیشتری در تشخیص مولدین ماده آماده تخمکشی دارد.

***واژه‌های کلیدی:*** تخمک، قره برون، محیط کشت، اوولاسیون

## مقدمه

ماهیان خاویاری از گونه های رودکوچ بالارو نیمکره شمالی می‌باشند. مرور آمار صید سالیانه تاس ماهیان در جهان بیانگر کاهش شدید آن در دهه‌های اخیر می‌باشد(۷).

این ماهیان با شرایط محیطی سازگاری خوبی دارند و حتی در برخی موارد نسبت به ماهیان استخوانی حقیقی قابلیت تحمل بالاتری دارند. از جمله این سازگاری‌ها می‌توان به محدودهٔ وسیع دمای مورد نیاز جهت تخم‌ریزی، حفظ طولانی‌تر قابلیت باروری تخم و اسپرم در آب، قابلیت تحمل طیف وسیع شوری توسط بچه

ماهیان و دارا بودن طیف وسیع تغذیه ای و امـان بـودن از شکارچیان به علت داشتن صفحات استخوانی اشاره نمـود (۳).

تاس ماهیان در دریای خزر، جهت کمک بـه حفـظ و افزایش ذخایر به طریقه مصنوعی مورد تکثیـر و پـرورش قرار گرفته و بچه ماهیان آن در رودخانه‌های منتهی به دریا رهاسازی می‌شوند (۲). تاس ماهی ایرانی (قره‌بـرون) (۸) یکی از گونه های مهم اقتصـادی حوضـه جنـوبی دریـای خزر است که برای تخم ریزی طبیعـی بـه رودخانـه‌هـای حوزه جنوبی خزر مهاجرت می کند (۲).

با وجود اهمیـت بیولوژیـک، اکولوژیـک و اقتصـادی ماهیان خاویاری، مطالعات انجام شده پیرامون ساختارهای فیزیولوژیک آنها به ویژه از نقطه نظـر تولیـد مثلـی کـافی نیست (۸).

با رایج شدن روش استفاده از ماهیان مولد که موقعیت هسته تخمک (GV) آنها مناسب باشد، مشکلات جدیدی ظاهر شد. با وجود مناسب بودن موقعیـت هسـته تخمـک (GV) ماهیـان مولـد و اسـتفاده از روش کـار یکسـان، مشاهده شده است کیفیت تکثیر مصنوعی، مسیر یکسـانی را طی نمی‌کنند و اختلاف فاحشی در درصد لقاح، درصد تلفات مراحل انکوباسیون و اولیه لاروی وجود دارد (۲).

از مسائل مهم تکثیر ماهیان خاویاری، انتخاب مولدینی که قادر به تولید گامت های رسیده با کیفیت بالا، پـس از تحریک هورمونی باشند، است. رسیدگی نهایی تخمک در آزمایشگاه (FOM) (*in vitro*) بـه‌عنـوان روش خـوبی برای این کار مطرح می‌باشد (۵). رسیدگی نهایی تخمـک بوسیله سه واسطه اصلی (گنادوتروپین، هورمون القاءکننده رسیدگی نهایی و عامل ارتقاءدهنده رسیدگی نهایی) تنظیم می‌شود (۷ و ۹).

انتخاب بهتر مولدین، احتمال موفقیت تکثیر مصـنوعی را افزایش می دهد. در نتیجه احتمال کاهش تولیـد لارو را به علت عدم جواب دهی مولدین غیر آماده کاهش می‌دهد و این امر به نوبه خود از تلفات بـی مـورد مراحـل اولیـه تکاملی یعنی در زمان لقاح، انکوباسـیون تخـم و پـرورش اولیه لاروی جلوگیری می کند. در این تحقیق بـه بررسـی توانایی فولیکول‌های تاس ماهی ایرانی بـه صـورت القـاء رسیدگی جنسـی در *in vitro* بـا محـیط کشـت رینگـر معمولی (RM1) پرداخته شده است تا با مقایسه توانـایی فولیکول‌ها در *in vitro* جهت القاء رسیدگی جنسـی بـا توانایی فولیکـول‌هـا در *in vivo*، شـاخص مطمـئن‌تـری نسبت به روش تعیین شاخص قطبیـت هسـته (PI) بـرای انتخاب مولدین مناسب ارائه شود.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۹ قطعه مولد ماده تاس ماهی ایرانـی که از صیدگاه‌های جنوب شرق دریـای خـزر بـه مجتمـع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شـهید مرجـانی گرگـان آورده شده بودند، استفاده شد. مولدین ماده وارد شـده بـه کارگاه پس از اینکـه ۲-۱ روز در حـوض مولـدین بـرای کاهش استرس وارده نگهداری شدند، تحت تزریق عصاره هیپوفیز قرار گرفتند تـا تخمـک‌گـذاری در آنهـا صـورت گیرد. میزان تزریق بر اسـاس درجـه حـرارت آب کارگـاه تعیین گردید (۱). نمونه‌گیـری تخمـک جهـت کشـت در *in vitro* و بررسی درصد GVBD، قبل از عمل تزریـق انجام شد. این کار بوسیله سوند فلـزی مـورد اسـتفاده در کارگاه‌های تکثیر ماهیان خاویاری صورت گرفـت. محـل سوند زدن حدود چند سانتی‌متر (۱۰-۵) جلـوتر از منفـذ تناسلی بوده و این عمل چند بار تکرار می شـد تـا مقـدار لازم تخمک بدست آید (۱۲۰ تا ۲۰۰ تخمک) حـدود ۲۰ نمونه از این تخمک‌ها به‌عنوان شـاهد داخـل فرمـالین ۱۰ درصد فیکس شده و بقیه، ابتدا با مقداری از محلول محیط کشت شستشـو داده شـد تـا خـون و دیگـر مـواد حفـره تخمدانی جدا گردد. سپس تخمک‌های هر مولـد (حـدود ۶۰ تخمک) به‌طور جداگانه در ظرف محیط کشت حاوی هورمون پروژسترون که از قبل آماده شـده بـود، تقسـیم و

کشت داده شد. ترکیب محیط کشت رینگر معمولی (۵) شامل مواد زیر بود:

- NaCl ۶/۵ گرم
- KCl ۲۵۰ میلی‌گرم
- $CaCl_2$ ۳۰۰ میلی‌گرم
- $NaHCO_3$ ۲۰۰ میلی‌گرم

به هر محیط کشت آنتی بیوتیک بصورت زیر اضافه شده بود:

- استرپتومایسین ۲۵۰۰۰۰ واحد
- پنی‌سیلین ۵۰۰۰۰۰ واحد

مواد شیمیایی مورد نظر درست قبل از کشت و طبق فرمول، در آزمایشگاه ترکیب شدند و سپس به حجم یک لیتر با آب مقطر رسانده شد.

هورمون پروژسترون درست قبل از کشت تخمک‌ها در *in vitro* به‌کمک میکروسمپلر به‌میزان ۱۰ میکروگرم در لیتر به محیط کشت افزوده شد. ظرف‌ها پس از بسته شدن درهای آنها درون حمام آب که جهت ثابت نگهداشتن دما (۱۶ درجه سانتی‌گراد) تهیه شده بود قرار گرفتند. بعد از کشت تخمک‌ها، جهت پیگیری روند تغییرات تخمک‌ها در ۶ مرحله و هر ۶ ساعت یکبار نمونه‌گیری از محیط کشت در یک زمان صورت گرفت. بطوری‌که در هر مرحله بطور میانگین ۸ تخمک بوسیله میکروسمپلر برداشته شد. نمونه‌های گرفته شده بلافاصله با فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند.

برای تهیه برش از تخمک‌ها، ابتدا آنها را از فرمالین خارج نموده و داخل ظرف مسی مخصوص حاوی مقداری آب سالن انکوباسیون قرار داده و حداقل به مدت ۲ دقیقه جوشانده شد، سپس با بیرون ریختن آب جوش، تخمک‌ها را در پتری دیش گذاشته و بلافاصله آب سرد به آنها اضافه شد، تا نمونه‌ها سفت شده و برای برش آماده شوند. برای برش زدن بعد از مشخص کردن قطب حیوانی و گیاهی بوسیله اسکالپل از محور حیوانی گیاهی برش صورت گرفت.

حدود ۲۵-۲۰ ساعت پس از تزریق هورمونی مولدین ماده طبق منحنی دتلاف (۳) زمان رسیدگی تخمک‌ها مشخص می گردد، با بررسی کارشناسان برای انجام عمل تکثیر مصنوعی آماده شدند.

نمونه‌برداری تخمک‌ها برای بررسی *in vivo* قبل از عمل لقاح صورت گرفت و حدود ۳۰-۲۰ تخمک برای این منظور برداشت شده و در فرمالین ٤ درصد فیکس گردید. تخمک های برش خورده بعد از تنظیم در زیر استریواسکوپ میکرومتر دار مشاهده و بررسی شدند و وقوع یا عدم وقوع GVBD در آنها ثبت و برای گروه شاهد و نمونه هایی که GVBD در آنها روی نداده بود، میزان شاخص قطبیت هسته (PI) محاسبه شد.

برای مقایسه میانگین ها ی مقدار GVBD در محیط‌های کشت و *in vivo*، از آزمون t-test غیر جفتی استفاده شد. برای تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. آنالیز آنووای یک طرفه برای مقایسه تاثیر هورمون- محیط کشت و زمان های نمونه‌برداری بر پاسخ GVBD بکار رفت.

## نتایج

نتایج حاصل از بررسی میزان تکامل تخمکها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در محیط کشت در مولدین مختلف قره برون بر اساس شاخص قطبیت هسته به شرح زیر بود:

- **مولد اول:** بررسی میزان تکامل تخمکها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری (شش ساعت پس از کشت) میزان شاخص قطبیت هسته (PI) تا حد قابل توجهی کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی داری داشت ($P<۰/۰۵$). در زمان نمونه برداری دوم میزان PI به صفر رسید و در زمان سوم نمونه برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).
- **مولد دوم:** بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری میزان PI تا حد قابل توجهی

کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا دوازده ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت. ولی با مقدار آن در زمان نمونه برداری دوم اختلاف معنی‌دار نداشت. میزان قطبیت هسته (PI) در سومین نمونه‌برداری به صفر رسید و در زمان چهارم نمونه‌برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد سوم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری میزان قطبیت هسته (PI) تا حد قابل توجهی کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در زمان نمونه برداری دوم میزان قطبیت هسته (PI) به صفر رسید و در زمان سوم نمونه برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد چهارم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری میزان PI تا حد قابل توجهی کاهش یافت که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا دوازده ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت، ولی با مقدار آن در زمان نمونه برداری اول اختلاف معنی‌دار نداشت. میزان PI در سومین نمونه برداری به صفر رسید و در زمان چهارم نمونه‌برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).

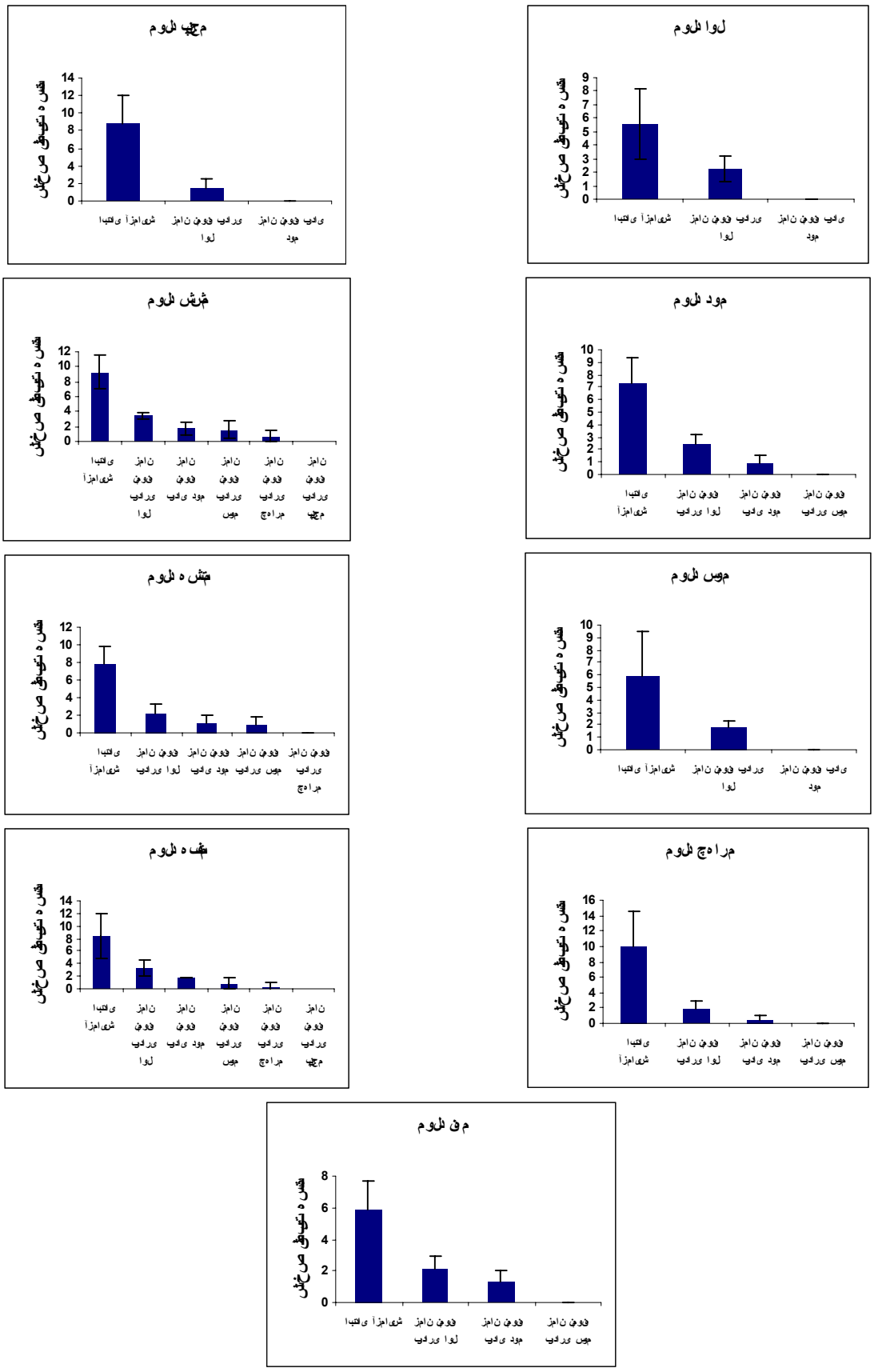
– **مولد پنجم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه‌برداری میزان PI تا حد قابل توجهی کاهش یافت که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در زمان نمونه‌برداری دوم میزان PI به صفر رسید و در زمان سوم نمونه‌برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد ششم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری میزان PI تا حد قابل توجهی کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا سی ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت، بطوری‌که مقادیر PI در زمان نمونه‌برداری اول و چهارم با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). میزان PI در پنجمین نمونه‌برداری به صفر رسید و در زمان ششم نمونه برداری، GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد هفتم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه‌برداری میزان PI کاهش یافت که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا سی ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت، بطوری که مقادیر PI در زمان نمونه‌برداری اول با مقادیر آن در زمانهای سوم و چهارم اختلاف معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). میزان PI در پنجمین نمونه‌برداری به صفر رسید و در زمان ششم نمونه‌برداری نیز، GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد هشتم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه برداری میزان PI تا حد قابل توجهی کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا بیست و چهار ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت، ولی مقادیر آن در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشتند. در زمان پنجم نمونه‌برداری، GVBD رخ داد (نمودار ۱).

– **مولد نهم**: بررسی میزان تکامل تخمک‌ها نشان داد که در اولین زمان نمونه‌برداری میزان PI تا حد قابل توجهی کاهش یافته است که با میزان آن در ابتدای آزمایش اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). روند کاهش PI تا دوازده ساعت پس از کشت نیز ادامه داشت، ولی با مقدار آن در زمان نمونه‌برداری اول اختلاف معنی‌دار نداشت. میزان PI در سومین نمونه‌برداری به صفر رسید و در زمان چهارم نمونه‌برداری GVBD رخ داد (نمودار ۱).




نمودار ۱- مقادیر شاخص قطبیت هسته در تخمک‌های ۹ مولد قره برون کشت شده در محیط **RM1**

## بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق رسیدگی تخمک‌های تاس ماهی ایران (قره برون) (*Acipenser persicus*) در محیط آزمایشگاهی (*in vitro*) مورد بررسی قرار گرفت و از محیط کشت RM1در بررسی چگونگی رسیدگی تخمک‌ها استفاده گردید. بررسی نتایج حاصله نشان داد که از ۹ مولد بررسی شده، تخمک‌های هفت مولد اوله و از آنها تخمک‌های آماده لقاح، استحصال شد. بررسی روند رسیدگی در محیط های کشت نشان میدهد که شاخص قطبیت هسته (PI) در تخمک‌های مولدین یک، دو، سه و پنج در زمان نمونه‌برداری دوم به صفر رسید و تا زمان نمونه‌برداری سوم GVBD رخ داد. شاخص قطبیت هسته در تخمک‌های مولدین چهار و نه نیز شانزده ساعت پس از کشت به صفر رسیده و تا زمان نمونه‌برداری بعدی در اکثر تخمک‌ها، GVBD رخ داد.

Web و همکاران (۲۰۰۲a) توانایی استروئید پروژسترون ($P_4$) را در القاء GVBD به میزان ۵۰ درصد، بیشتر از سایر استروئیدها دانستند. این یافته می تواند ما را به استفاده از هورمون های استروئیدی جهت بررسی رسیدگی در *in vitro* هدایت کند.

همچنین زمان وقوع GVBD در مولد هفت دیرتر از سایر مولدین روی داد. مولد هفت یکی از دو مولدی بود که تخمک‌های آن در محیط *in vivo* به رسیدگی نهایی نرسیده بود. احتمالاً این دو امر بی ارتباط با هم نمی باشد، زیرا میزان PI در ابتدای آزمایش تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت. تحقیقات (۱٤) نیز نشان داد که میانه زمان رسیدگی نهایی ($ET_{50}$) بوسیله هورمون ۱۷آلفا،۲۰بتا دی هیدروکسی پروژسترون به وضعیت مولدین بستگی دارد و میتواند معیار خوبی برای تشخیص مراحل رسیدگی ماده ها باشد. به نظر می رسد که این حالت نشأت گرفته از وضعیت فیزیولوژیکی فولیکولها و مولدین باشد. از طرفی ممکن است شرایط فیزیولوژیکی مولدین به علت استرسهای وارد شده، بر اوولاسیون تخمک‌ها تأثیر گذاشته باشد. بطوری‌که Williot و همکاران (۱۹۹۱) در بررسی‌های خود مشاهده نمودند، از دو مولدی که GVBD در آنها روی داده بود، تنها در یکی از آنها تخمک‌گذاری در پاسخ به هورمون تحریک کننده رخ داد و در مولد دیگر، تخمک‌گذاری در پاسخ به هورمون تحریک کننده روی نداد. به نظر (۵)، این عدم همبستگی‌ها بین *in vivo* و *in vitro* به علت شرایط نامساعد مولدین بوده است. بنابراین کیفیت تخمک‌ها ممکن است کاهش یابد، بدون اینکه صدمه قابل توجه‌ای به سیستم پاسخ به هورمونی رسیدگی تخمک در ماهی وارد شود.

نتایج حاصله نشان داد که رابطه شاخص قطبیت هسته (PI) با GVBD روی داده در *in vitro* در محیط کشت معنی‌دار نبود. Williot و همکاران در مقایسه PI و GVBD القاء شده با ۱۷آلفا،۲۰بتا دی هیدروکسی پروژسترون مشاهده نمودند که استفاده از شاخص قطبیت به تنهایی محدودیت دارد و کافی نیست و به عقیده ایشان، شاخص رسیدگی القاء شده در *in vitro* معیار بهتری نسبت به PI بوده و استفاده از این روش حدود ۸۰ درصد موفقیت در انتخاب مولد رسیده را بدست می‌دهد.

در تحقیق حاضر از ۹ مولد قره برون تزریق شده، ۲مولد اوولاسیون انجام ندانند، که این مولدین همان مولدینی بودند که GVBD پایینی در *in vitro* بدست آورده بودند.

نتایج این تحقیق و تحقیقات سایر محققین نشان می‌دهد که از پروژسترون بعنوان یک استروئید القاء کننده رسیدگی نهایی برای ارزیابی GVBD در *in vitro* می‌توان استفاده کرد. Webb و همکاران (۲۰۰۲b) نقش پتانسیلی ۱۱- داکسی کورتیزول، ۱۷،۲۰بتا پروژسترون

و۲۰ بتا- S و پروژسترون را بعنوان استروئیدهای القاء کننده رسیدگی نهایی *in vitro* برای انتخاب مولدین در تاس ماهیان پیشنهاد نمودند.

همچنین در شش ساعت اول، GVBD در تخمک‌های هیچ کدام از مولدین روی نداد. ولی از دوازده ساعت به بعد درصد تخمک‌هایی که در آنها GVBD رخ داده بود، افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های Webb و همکاران (۲۰۰۲a) قابل مقایسه می باشد، که در طول شش ساعت انکوباسیون، بین شاهد و تیمارهای استروئیدی، به جزء در غلظت‌های بالای ۱۷ آلفا- ۲۰بتا- دی هیدروکسی پروژسترون و پروژسترون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده بود. در ١٤ ساعت، به جزء ۱۱ بتا- OHPT که در تمام غلظت‌ها بی‌اثر بوده، بیشتر از ۸۰ درصد GVBD بوسیله تمام استروئیدها القاء شده بود و در ۲۲ ساعت، رسیدگی کامل در غلظت‌های مختلف تمام استروئیدها به غیر از ۱۱ بتا OHPT روی داده بود.

با توجه به نتایج این تحقیق، برای انتخاب مولدین ماده تاس ماهی ایرانی، روش بررسی رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) بصورت *in vitro* می‌تواند روش مناسبی باشد. این روش نسبت به شاخص قطبیت هسته توانایی بیشتری در تشخیص مولدین ماده آماده تخم‌کشی دارد.

## منابع


۱.کهنه شهری، م. و آذری تاکامی، ق. ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری، انتشارات دانشگاه تهران، ۲۹۷ ص.

۲.نظری، ر.م.۱۳۸۰. مطالعه ارتباط بین برخی ترکیبات بیوشیمیایی تخمک و سرم خون بامراحل رسیدگی جنسی در تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus*، رساله دکتری (Ph.D.)، دانشگاه تربیت مدرس، ۸۳ ص.

3.Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., and Schmalhausen, O.I. 1993. Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag, 300 pp.

4.Goncharov, B.F., and Polupan, I.S. 1997. Stress affects the physiological state of sturgeon ovarian follicles and female reproductive potential. In: Abstracts 3rd of the International Symposium on Sturgeon. July 8-11/1997, Piacenza, Italy.

5.Goncharov, B.F. 2002. *In vitro* approach to studying the mechanisms of oocyte maturation in sturgeon: a review of fundamental and applied aspects. J. Appl. Ichthyol. 18: 368-374.

6.Holcik, J. 1989. The freshwater fishes of Europe, Vol. 1, Part II. Acipenseriformes. AULA-Verlag, Wiesbaden.

7.Nagahama, Y. 1987. 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen 3-one: a teleost maturation inducing hormone-Dev. Growth Differ. 29: 1-12.

8.Pelissero, C., and Lemenn, F. 1991. Evolution of sex steroid in males and first time maturing females of the Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) reared in a French fish farm. Acipenser Cemagref Pub 1.87.

9.Redding, I.M., and Pation, R. 1993. Reproductive physiology, In: The physiology of fishes. CRC Press. Boca Ration, 503-534.

10.Webb, M.A.H., Van Eenennaam, J.P. and Doroshov, S.I. 2000. Effects of steroid hormones on *in vitro* oocyte maturation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Fish Physiology and Biochemistry 23: 317-325.

11.Webb, M.A.H., Feist, G.W., Foster, E.P., Schreek, C.B. and Fitzpatrick, Martin S. 2002a. Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators. Transactions of the American Fisheries Society, 131: 132-142.

12.Webb, M.A.H., Feist, G.W., Trant, J.M., Van Eenennaam, J.P., Fitzpatrick, M.S., Schreek, C.B., and Serge Doroshov, I. 2002b. Ovarian steroidogenesis in white sturgeon (*Acipenser*

*transmontanus*) during oocyte maturation and induced ovulation. General and Comparative Endocrinology 129:27-38.
13. Williot, P., Burn, R., Rouault, T., and Rooryck, O. 1991. Management of female spawners of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brant: First results. In: P. Williot (Ed.) *Acipenser*, CEMAGREF Publ., Bordeaux, pp. 365-379.
14. Williot, P. 1997. Effects of incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) induced by sturgeon gonadotropic preparation or *17,20 dihydroxyprogesterone*. Comp. Biochem. Physiol. C, 118: 285-293.

**A.Ghelichi[1], N.M. Makhdomi[2] and S. Jorjani[3]**
[1]Faculty member of Islamic Azad University, Azadshahr Branch, [2]Expert of Sturgeon culture center of Shahid Marjani, Agh-ghala, [3]Faculty member of Islamic Azad University, Azadshahr Branch
**E-mail: af_ghelichi@yahoo.com*

**Abstract**

One of the important problems for the sturgeon artificial reproduction is the selection of breeders able to produce high quality mature gametes after the hormonal stimulation. In this study, *in vitro* oocyte maturation using RM1 was considered. The intention was introducing a suitable index for choosing the breeders in order to compare follicle ability to be induced in *in vitro* GVBD with their ability in *in vivo* condition. To do this, 9 Persian sturgeon were studied in Shahid Marjani sturgeon propagation center. Right before oocyte cultivation, progesterone was added to culture medium. Oocyte sampling for cultivating in *in vitro,* and GVBD consideration was done before hormonal injection. Sampling from culture medium after oocyte cultivation was done every 6 hours in 6 stages. GVBD occurrence in oocytos was considered. In samples in which GVBD didn't occur and in controls, polarization index (PI) was calculated. Considering maturation procedure in culture medium indicated PI in 4 breeders' oocytes in the second sampling stage got zero; GVBD occurred in the third stage. PI in oocytes of another two breeders got zero after 16 hours. In the moat of oocytes, GVBD had occurred up to the next sampling time. The result of *in vivo* study showed oocytes of 7 breeders out of 9 ones got ovulated. GVBD occurred in oocytes of thses 7 breeders in *in vitro* study up to the third sampling stage. The result showed *in vitro* oocyte maturation method is dutiable PI determination method for selection of breeders.

***Keywords:*** Oocyte; Persian sturgeon; Culture medium; Ovulation