

***In vitro* assessment of final oocyte maturation index (GVBD) in Persian Sturgeon and broodstock selection**

B. Taneh^{*1}, B. Abtahi², R.M. Nazari³

1- Lecturer of Biology, Payame noor University

2- Assistant Professor, Shahid Beheshti University

3-BSc., Shahid Rajaei Sturgeon fish farm - Sari

(Received: Apr. 16, 2012; Accepted: Jul. 11,

2012)

بررسی شاخص رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در تاس ماهی ایرانی در شرایط *In vitro* به عنوان معیار انتخاب مولد

بهزاد طعنه^{*}، بهروز ابطحی^۱، رجب محمد نظری^۲

۱. مربی گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام

نور

۲. استادیار دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

۳. کارشناس کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان

خاویاری شهید رجایی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۸، تاریخ تصویب:

۱۳۹۱/۴/۲۱)

Abstract

One of the big problems on Sturgeon Fishes is select of the breeders that have high quality of gametes after hormone injection. So in this research final oocyte maturation index (GVBD) in *in vitro* for selection of Persian sturgeon broodstock, *Acipenser persicus*, was studied on 10 females captured from the Caspian Sea during reproduction season. About 150 oocytes from every broodstock, taken by hollow probe, were incubated in incubation media of RM₂ containing 10 µg/l of progesterone for induction of the final oocyte maturation and assessment of GVBD index. Results indicated that significant differences in GVBD of the *in vitro* and *in vivo* were observed ($P<0.01$). However, broodstocks with rate of GVBD in *in vitro* higher than %50 had a significantly better ovulation, fertilization and incubation rates ($P<0.05$), from those with a GVBD lower than %50. It could be concluded that use from method of assessment of GVBD index under *in vitro* circumstance was preferable to assessment of GVBD index under *in vivo* and also nucleus polarization index for selection of suitable broodstock.

Keywords: *Acipenser persicus*, *in vitro*, GVBD, final oocyte maturation, Broodstock Selection

چکیده

یکی از مسائل مهم در تولید مثل ماهیان خاویاری، انتخاب مولدین قادر به تولید گامت‌های رسیده با کیفیت بالا، پس از تحریک هورمونی است. لذا در این تحقیق شاخص رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در شرایط *in vitro* به عنوان یک معیار مناسب برای انتخاب مولد توانا مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از ۱۰ قطعه ماهی مولد تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus* که در فصل مهاجرت از دریا صید شده‌اند استفاده گردید. از هر مولد حدود ۱۵۰ تخمک استخراج شده بوسیله سوند فلزی در محیط کشت RM₂ حاوی ۱۰ µg/l پروژسترون (*in vitro*) جهت القاء رسیدگی نهایی تخمک و بررسی شاخص آن کشت داده شدند. شاخص رسیدگی نهایی تخمک‌ها در *in vitro* و *in vivo* مورد مقایسه قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده گردید ($P<0.01$). همچنین مولدینی که مقدار درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در *in vitro* بیش از %۵۰ بود در مقایسه با مولدینی که این مقدار کمتر از %۵۰ بود در پاسخ به هورمون رسیدگی مقدار اوولاسیون، درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون بالاتری نشان دادند ($P<0.05$). در نهایت استفاده از روش بررسی شاخص رسیدگی نهایی تخمک در شرایط *in vitro* برای انتخاب مولد قابلیت بیشتری نسبت به شاخص رسیدگی نهایی تخمک در شرایط *in vivo* و هم نسبت به شاخص قطبیت هسته نشان داد.

واژه های کلیدی: تاس ماهی ایرانی، GVBD *in vitro*.

رسیدگی نهایی تخمک، انتخاب مولد.

1. Germinal Vesicle Breakdown

2. Williot 1997 (Ringer modified solution for sturgeons)

Email: taneh@pnu.ac.ir

* نویسنده مسئول: بهزاد طعنه

مقدمه

ماهیان مولد که موقعیت هسته تخمک (GV)

آنها مناسب باشد، مشکلات جدیدی ظاهر شد.

با وجود مناسب بودن موقعیت هسته تخمک

(GV) ماهیان مولد و استفاده از روش کار

یکسان، مشاهده شده است کیفیت تکثیر

مصنوعی، مسیر یکسانی را طی نمی کنند و

اختلاف فاحشی در درصد لقاح، درصد تلفات

مراحل انکوباسیون و مرحله اولیه لاروی وجود

دارد (Nazari, 1380).

یکی از مسائل مهم برای تولید مثل

مصنوعی ماهیان خاویاری، انتخاب مولدین قادر

به تولید گامت های رسیده با کیفیت بالا، پس

از تحریک هورمونی است. رسیدگی نهایی

تخمک در آزمایشگاه (*in vitro*) به عنوان

روش خوبی برای این کار مطرح می باشد

(Goncharov, 2002). مطالعات رسیدگی

فولیکول های تخمدان ماهی ۳ هدف را بشرح

زیر دنبال می کند: ابتدا تحقیق در مورد ارتباط

انتهای دوره رشد تخمک تا مرحله تخمک-

گذاری می پردازد. دوم، پرداختن به رسیدگی

نهایی تخمک گروه ملاحظه شده به عنوان

یک سنجش زیستی جهت آماده سازی های

هورمونی مختلف ($17\alpha,20\beta\text{-P}$) است و سوم

تاس ماهی ایرانی (قره برون) *Acipenser*

persicus Borodin 1897 یکی از گونه های مهم

اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر است که برای

تخم ریزی طبیعی به رودخانه مهاجرت می کند

(Nazari et al., 1380). امروزه این ماهیان به

واسطه ترکیبی از عوامل بیولوژیکی (سن بلوغ بالا و

زمان طولانی بین دوره تخم ریزی) و عوامل انسانی

در معرض خطر نابودی می باشند (Qasemi,

1382). جهت کمک به حفظ و افزایش ذخایر تاس

ماهیان در دریای خزر، به طریقه مصنوعی مورد

تکثیر و پرورش قرار گرفته و بچه ماهیان آن در

رودخانه های منتهی به دریا رها سازی می شوند

(Nazari et al., 1381).

انتخاب مولدین مستعدتر، احتمال موفقیت-

آمیز شدن تکثیر مصنوعی را افزایش می دهد.

در نتیجه احتمال هدر رفتن خاویار را به علت

عدم جواب دهی مولدین غیر آماده کاهش می-

دهد و این امر به نوبه خود از تلفات بی مورد

مراحل مختلف تکاملی یعنی در زمان لقاح

مصنوعی، مرحله انکوباسیون تخم و مرحله

پرورش اولیه لاروی جلوگیری می کند

(Nazari, 1380). با رایج شدن استفاده از

تعیین بهترین مرحله فیزیولوژیکی مولدین ماده برای تزریق هورمونی به ویژه برای تاس ماهیان است (Williot, 1997).
 با توجه به اینکه انتخاب محیط کشت انکوباسیون اهمیت دارد؛ تهیه محیط کشت جدید بر اساس خصوصیات پلاسمای ماهی (Williot, 1997) انجام گردید.

ترکیب و تهیه محیط کشت RM₂ یا محلول رینگر اصلاح شده برای تاس ماهیان (Williot, 1997) شامل NaCl (۴/۹۱۴ گرم)، KCl (۲۵۰ میلی گرم)، CaCl₂ (۳۱۵ میلی گرم)، NaHCO₃ (۱/۹۹ میلی گرم) و در محیط کشت آنتی بیوتیک بصورت زیر اضافه گردید:

- استرپتومایسین ۲۵۰۰۰۰ واحد

- پنی سیلین ۵۰۰۰۰۰ واحد

مواد شیمیایی مورد نظر طبق فرمول، در آزمایشگاه ابتدا ترکیب و سپس به حجم رسانده شده و pH آنها بین ۷/۵-۸ تنظیم شد. هورمون پروژسترون درست قبل از کشت تخمک‌ها در *in vitro* به کمک سرنگ انسولین ۱۰ میکروگرم در لیتر (Nazari et al., 2001) به محیط کشت افزوده شد.

اهداف مورد نظر تحقیق حاضر عبارت بودند از:

۱. بررسی ارتباط رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در شرایط کشت *in vitro* با اوولاسیون، نسبت لقاح و انکوباسیون تاس ماهی ایرانی
۲. به دست آوردن روش کم هزینه، قابل اجرا و مطمئن برای انتخاب مولدین تاس ماهی ایرانی

نمونه برداری‌ها از مولدین و اندازه‌گیری‌ها

در *in vitro*

نمونه‌گیری تخمک جهت کشت در *in vitro* و بررسی GVBD، قبل از تزریق هورمون القاء کننده رسیدگی به مولدین هنگام ورود آنها به کارگاه انجام گردید. این کار بوسیله سوند فلزی

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی فصل مهاجرت تاس ماهیان (بهمن تا اردیبهشت) انجام گردید و از ۱۰ قطعه تاس ماهی ایرانی مولد که به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری آورده شده بودند استفاده شد.

(GVBD) در *in vitro* القاء شده هسته ناپدید می‌گردد.

نمونه برداری‌ها و اندازه‌گیری‌ها در *in vivo*

شامل: بیومتری تخمک، برش زنی تخمک‌ها و روش

محاسبه شاخص قطبیت PI

درست قبل از عمل تکثیر تخمک‌های مولدین

حدود ۱۰۰ تخمک بصورت تصادفی از هر مولد

برداشت گردید و بلافاصله در ظروف مخصوص

حاوی فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردیدند. سپس

تخمک‌ها جهت برش آماده شدند. برای برش زدن

بعد از مشخص کردن قطب حیوانی و گیاهی بوسیله

اسکالپل از محور حیوانی - گیاهی برش صورت

گرفت. برای اندازه‌گیری قطر تخمک محور حیوانی -

گیاهی در نظر گرفته شد و با محاسبه فاصله هسته

تا قطب حیوانی تقسیم بر قطر تخمک شاخص

قطبیت هسته بدست آمد (Nazari et al., 1381).

تعیین درصد لقاح، درصد بازماندگی

انکوباسیون

از تخم‌های لقاح داده شده ۱۹۵-۲۲۵ دقیقه بعد،

زمانی که آثار دومین تقسیم میتوزی در سطح قطب

حیوانی تخم ظاهر شد (بسته به دمای محیط و

مخصوص صورت گرفت از هر مولد حدود

۱۴۰-۱۶۰ تخمک استحصال شد. حدود ۲۰

نمونه از این تخمک‌ها به عنوان شاهد داخل

فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و بقیه، در

ظرف‌های محیط کشت که از قبل آماده شده

بودند و حاوی پروژسترون بودند قرار گرفته و

کشت داده شد. جهت ثابت نگهداشتن دما

ظرف‌ها درون حمام آب سرد قرار گرفتند. بعد

از کشت تخمک‌ها، در ۶ مرحله و هر ۶ ساعت

یکبار نمونه‌گیری از محیط کشت صورت گرفت

به صورتی که در هر مرحله به طور میانگین ۸

تخمک از محیط‌ها بوسیله میکروسمپلر

برداشت و بلافاصله در قوطی‌های مخصوص

حاوی فرمالین ۱۰ درصد فیکس می‌شدند.

برای تهیه برش، تخمک‌ها را از فرمالین خارج

نموده و حداقل به مدت ۲ دقیقه روی چراغ

الکلی جوشانده شد و بلافاصله آب سرد به آنها

اضافه گردید 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. در تخمک‌هایی که رسیدگی نهایی

مولد در محیط کشت مشخص گردد. بواسطه بزرگ بودن تخمک تاس ماهی بررسی ناپدید شدن هسته در زیر میکروسکوپ واضح و مشخص بود.

روش‌های آماری

برای مقایسه میانگین‌های مقدار GVBD در *in vitro* و *in vivo* از آزمون t استفاده شد و نیز برای مقایسه درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون در دو گروه تفکیک شده بر اساس ۵۰٪ GVBD محیط کشت مصنوعی از آزمون t استفاده شد. برای بررسی همبستگی بین مقادیر GVBD در *in vitro* با *in vivo* و همچنین همبستگی بین رسیدگی القاء شده در *in vitro* با درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون و نیز همبستگی رسیدگی القاء شده در *in vitro* با شاخص قطبیت هسته (PI) از آزمون پیرسون^۱ استفاده گردید. محاسبات با استفاده از برنامه‌های SPSS و Excel صورت گرفته است.

نتایج

شاخص‌های رسیدگی PI و GVBD در *in vivo*

و *in vitro*

نتایج بدست آمده از مقادیر شاخص قطبیت هسته (PI) تخمک‌ها قبل از تزریق هورمونی مولدین و

کیفیت تخم) حدود ۱۵۰ نمونه از هر مولد برای تعیین درصد لقاح انتخاب و بلافاصله فیکس شدند تا در زیر میکروسکوپ بررسی شوند. درصد لقاح تخم‌ها از محاسبه تعداد تخم‌های لقاح یافته منو- اسپرمی به کل تخم‌ها بدست می‌آید (Dettlaff et al., 1993).

$100 \times \text{کل تخم ها} / \text{تخم های منواسپرمی} = \text{درصد لقاح}$
 حدود ۲۰۰ عدد تخم از هر مولد که داخل انکوباتور قرار داشتند پس از بهم زدن بطور تصادفی برداشت و در انکوباتورهای جداگانه با شرایط یکسان انکوباسیون شدند تا پس از ۴ الی ۵ روز تخم‌های سالم که به لارو تبدیل شدند شمارش و درصد بازماندگی آنها تعیین گردد.

بررسی میکروسکوپی و تعیین درصد GVBD

با بررسی تخمک‌های برش خورده وقوع یا عدم وقوع GVBD در آنها یادداشت شد و برای گروه شاهد و نمونه‌هایی که GVBD در آنها روی نداده بود میزان شاخص قطبیت هسته (PI) محاسبه گردید. درصد GVBD ابتدا در هر مرحله از محیط کشت بصورت مجزا بررسی و میانگین آنها تعیین شد، و سپس میانگین درصد آنها در هر ۶ مرحله بطور کل محاسبه گردید تا درصد وقوع GVBD برای هر

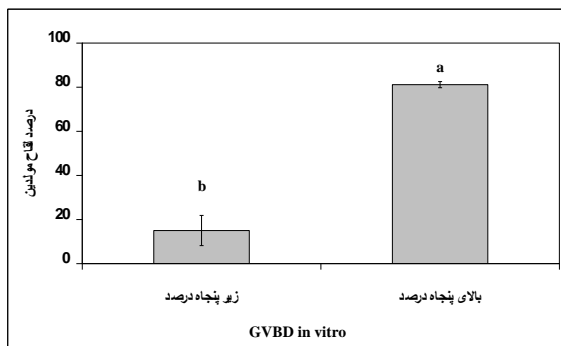
1- Pearson Correlation

همچنین نتایج بدست آمده از میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در محیط طبیعی (قبل از لقاح مولد، *in vivo*) و در محیط کشت مصنوعی (*in vitro*) در ده مولد مورد تحقیق بصورت زیر بررسی گردید.

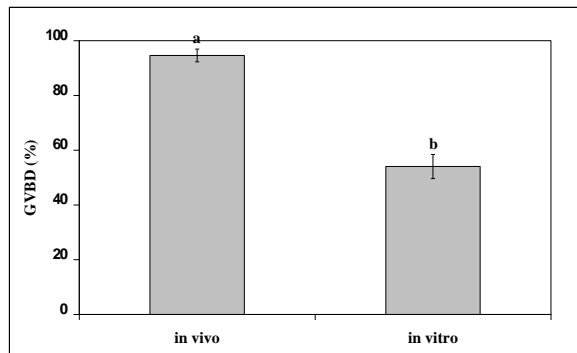
با بررسی همبستگی بین میزان درصد وقوع GVBD روی داده در شرایط *in vivo* و *in vitro* رابطه معنی داری بین آنها مشاهده نگردید ($r = 0.247$). و با استفاده از آزمون فرض‌های آمار مشاهده گردید که اختلاف موجود بین مقدار درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در محیط طبیعی (*in vivo*) با مقدار درصد وقوع آن در شرایط *in vitro* معنی دار است ($P < 0.01$) (**)(شکل ۱).

درصد لقاح و بررسی آن در دو گروه :

با تعیین درصد لقاح در نمونه‌های مورد تحقیق، نتایج آنها در دو گروه مولدینی که قبلاً بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک‌ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند مقایسه گردید. با استفاده از آزمون t مشاهده گردید که اختلاف مقدار درصد لقاح در این دو گروه معنی‌دار است ($P < 0.05$) (**)(شکل ۲).

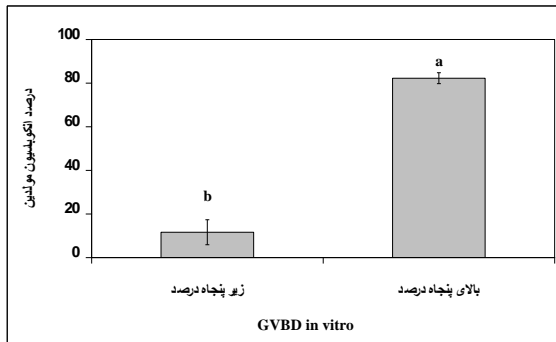


شکل ۲. میانگین درصد لقاح مولدین تاس ماهی ایرانی در دو گروهی که قبلاً بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک‌ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند و مقایسه آنها (ستونهای مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی‌دار هستند) ($P < 0.05$).



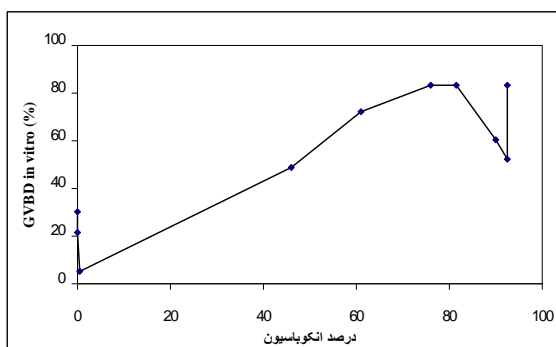
شکل ۱. میانگین درصد وقوع GVBD تخمک‌های تاس ماهی ایرانی در شرایط *in vivo* و *in vitro* و مقایسه آنها (ستونهای مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی‌دار هستند) ($P < 0.01$).

بررسی همبستگی مقادیر شاخص قطبیت هسته (PI) با میزان درصد وقوع GVBD در



شکل ۴ . میانگین درصد انکوباسیون تخم‌های تاس ماهی ایرانی در دو گروهی که قبلاً بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک‌ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند و مقایسه آنها (ستون‌های مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی‌دار هستند) ($P < 0.01$).

همچنین با بررسی همبستگی مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون تخم‌ها با میزان درصد وقوع GVBD در شرایط *in vitro* رابطه بین آنها معنی‌دار مشاهده گردید ($r = 0.857$) (شکل ۵).

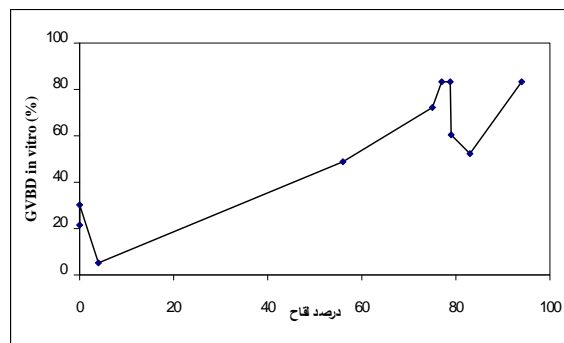


شکل ۵ . رابطه موجود بین مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون تخم‌های مولدین تاس ماهی ایرانی با میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در شرایط *in vitro*

نتیجه‌گیری و بحث

پژوهش در مورد رسیدگی آزمایشگاهی (*in vitro*) فولیکول‌های تخمدانی تاس ماهی ایرانی اغلب در

با بررسی همبستگی مقادیر درصد لقاح با میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در شرایط *in vitro* رابطه معنی‌داری بین آنها مشاهده گردید ($r = 0.896$) (شکل ۳).



شکل ۳ . رابطه موجود بین مقادیر درصد لقاح مولدین تاس ماهی ایرانی با میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در شرایط *in vitro*

درصد بازماندگی انکوباسیون و بررسی آن در دو گروه:

میزان بازماندگی تخم‌ها در انکوباسیون برای هر مولد تعیین و مقادیر آن در دو گروه (که قبلاً بر اساس وقوع GVBD بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند) بوسیله آزمون *t* بررسی گردید. نتایج بدست آمده معنی‌دار بودن اختلاف مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون در دو گروه را نشان می‌دهد ($P < 0.01$, **) (شکل ۴).

برگیرنده جنبه‌های کلی و عمومی بوده و اطلاعات درباره اثرات محیط کشت انکوباسیون بر رسیدگی تخمک‌ها ناچیز است. لذا در این تحقیق با استفاده از محیط کشت RM₂ تلاش گردید تا به ارزیابی شاخص رسیدگی نهایی تخمک‌های تاس ماهی ایرانی بصورت *in vitro* پرداخته شود و در خاتمه نیز این روش به عنوان معیاری توانا در تشخیص مولد مناسب برای تکثیر تأیید گردید.

Williot (1997) در بررسی اثرات محیط کشت انکوباسیون روی رسیدگی نهایی به این نتیجه دست یافت که پاسخ به هورمون القاء کننده ۱۷-آلفا، ۲۰-بتا دی هیدروکسی پروژسترون در محیط کشت های RM2 و L15 (Leibovitz medium) مشابه می‌باشد. وی مشاهده نمود که تنها در القای رسیدگی بوسیله هورمون گنادوتروپین تاس ماهیان (aci-GTH) برای یک مولد ماده، میانه غلظت موثر (EC₅₀) در محیط کشت‌های مختلف تفاوت دارد، بنابراین هورمون گنادوتروپین وابسته به محیط کشت است در حالی که هورمون القاء کننده ۱۷-آلفا، ۲۰-بتا دی هیدروکسی پروژسترون (با عامل مشابه هورمونی در RM2p) کمتر تحت تاثیر محیط قرار گرفته و مستقل از محیط کشت عمل می‌کند. در این حالت محیط‌های کشت مختلف تفاوت

معنی‌داری از لحاظ میزان وقوع GVBD نشان نمی‌دهند. همچنین Williot et al. (1991) توانایی تأثیر دو استروئید (P4 و 17 α ,20 β -P) در القاء رسیدگی را یکسان مشاهده نمودند. این یافته‌ها می‌تواند ما را به استفاده از هورمون‌های استروئیدی جهت بررسی رسیدگی در *in vitro* هدایت کند.

در تحقیق حاضر بررسی همبستگی بین میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها در شرایط *in vivo* و *in vitro* عدم وجود رابطه بین آنها را نشان می‌دهد و اختلاف موجود بین میانگین‌های آنها معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (شکل ۱). وقوع GVBD بالا در *in vivo* برای مولدین ۲، ۹ و GVBD پایین در *in vitro* برای آنها دلیل این اختلاف می‌باشد. این اختلاف خود می‌تواند بواسطه تأثیر شرایط داخلی مولد بر فولیکول‌ها باشد که این اثرات در وضعیت استرسی بر ماهی وارد شده و در *in vitro* این اثرات روی تخمک اعمال نمی‌شود (Nazari et al., 2001). کما اینکه Webb et al. (2000) در بررسی‌های خود مشاهده نمودند، از دو مولدی که GVBD در هر دو آنها روی داده بود تنها در یکی تخمک‌گذاری در پاسخ به هورمون تحریک کننده رخ داد. علت این عدم همبستگی‌ها بین *in vivo* و *in vitro* را Goncharov (2002) به این صورت

مشاهده نمودند که استفاده شاخص قطبیت به تنهایی ناکافی و دارای محدودیت است، طبق نتایج آنها شاخص GVBD در *in vitro* معیار بهتری نسبت به شاخص PI است. استفاده از این روش حدود ۸۰٪ موفقیت در انتخاب مولد رسیده را بدست آورده است. در تحقیق حاضر از ۱۰ مولد مورد بررسی، در ۲ مولد اوولاسیون اتفاق نیفتاد. این مولدین میزان درصد GVBD تخمک پایینی در *in vitro* بدست آورده بودند (مولدین شماره ۶ و ۹) و مولد شماره ۲ با وجود انجام اوولاسیون، کیفیت تخم بسیار پایین داشته و درصد لقاح آن تنها ۵٪/۰ بود. لذا نتایج بدست آمده این تحقیق با نتایج سایر محققین مطابقت دارد. مقادیر درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون در دو گروه مولدینی که قبلاً بر اساس میزان درصد وقوع GVBD تخمک‌ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند دارای اختلاف معنی‌دار بوده‌اند ($P < 0.01$). در گروه اول که میزان درصد وقوع GVBD تخمک بیشتر از ۵۰٪ است مقدار درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون بیشتری نسبت به گروه دوم (که میزان درصد وقوع GVBD تخمک کمتر از

بیان نمود که تخمک مولدین در شرایط نامساعد زیستی آنها کیفیت خود را از دست می‌دهند لیکن صدمه قابل توجهی به سیستم پاسخ به هورمون رسیدگی تخمک در ماهی وارد نمی‌گردد. همچنین القای رسیدگی تخمک توسط گنادوتروپین در *in vitro* می‌تواند تحت‌الشعاع روش آماده‌سازی و انتخاب محیط کشت باشد (Webb et al., 2001). نتایج بررسی همبستگی شاخص قطبیت هسته (PI) با GVBD در *in vitro* نشان می‌دهد که رابطه‌ای بین آنها وجود ندارد و نیز بر خلاف شاخص GVBD در *in vitro*، شاخص PI با درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون همبستگی بالایی نشان نمی‌دهد، طوریکه در برخی مولدین که شاخص PI آنها بزرگتر از ۷۰٪/۰ بود رسیدگی نهایی بخوبی القاء شده، تخمک‌گذاری و لقاح و انکوباسیون بخوبی صورت گرفته است، یا در برخی از مولدین‌ها که دارای شاخص PI کمتر از ۷۰٪/۰ بودند رسیدگی، تخمک‌گذاری، لقاح و انکوباسیون پایین بوده است. به همین ترتیب نیز Williot et al. (1991) در مقایسه شاخص PI و شاخص GVBD القاء شده با ۱۷ آلفا، ۲۰ بتا دی هیدروکسی پروژسترون

۵۰٪ دارند) مشاهده گردید. این نتایج قابلیت تشخیص کیفیت تخمک‌ها بوسیله بررسی رسیدگی نهایی تخمک بصورت *in vitro* را نشان می‌دهد. بررسی همبستگی بین رسیدگی نهایی

(GVBD) القاء شده در *in vitro* با

کیفیت تخمک‌ها در شرایط *in vivo* از

جمله درصد لقاح و درصد بازماندگی

انکوباسیون نشان می‌دهد که دارای رابطه

مستقیم هستند. بنابراین جهت انتخاب

مولدین مستعد تکثیر تاس ماهی ایرانی در

کارگاه‌ها روش بررسی شاخص رسیدگی

نهایی تخمک (GVBD) به صورت *in*

vitro مناسب بوده و بکاربردن آن توصیه می‌گردد.

این روش نسبت به شاخص قطبیت هسته اولویت داشته و قابلیت اعتماد به آن بیشتر است (Williot et al., 1997).

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی عزیزانی که در انجام این مطالعه با اینجانب همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES:

- Dettlaff TA, Ginsburg AS, Schmalhausen OI. Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag; 1993: 300 pp.
- Goncharov BF. *In vitro* approach to studying the mechanisms of oocyte maturation in sturgeon: a review of fundamental and applied aspects. J. Appl. Ichthyol 18; 2002: 368-374.
- Nazari RM. The study of correlation between some oocyte biochemical features & blood serum with steps of sexual maturation in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), PhD thesis, Tarbiat Modares University; 1380:pp. 83.
- Nazari RM, Yosefian M, Rezaeian M, Gholamipor S. The study of correlation between oocyte biochemical feature with fertilization percent in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), pazhohesh & Sazandegi 55; 1381:pp. 84-91.
- Nazari RM, Yosefian M, Mojazi Amiri B, Soltani M. The study of sexual steroids regulations & it correlation with oocyte evolution in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), Pazhohesh & Sazandegi 53; 1380: pp. 89-94.
- Nazari RM, Yousefian M, Mojazi Amiri B, Soltani M. Study on the relationship between sex steroid levels and propagation quality in

- Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), Pajouhesh & sazandegi 51;2001:pp. 51- 57 .
- Qasemi SA. Genetic diversity correlation of sheep fish (*Acipenser nudiventris*) in southern beach of Caspian sea & oral river used from PCR-RFLP method. graduate thesis, Tarbiat Modares University;1382: pp. 73.
- Webb MAH, Van Eenennaam JP, Doroshov SI. Effects of steroid hormones on in vitro oocyte maturation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Fish Physiol. Biochem. 23; 2000:317-325.
- Webb MAH, Van Eenennaam JP, Feist GW, Linares-Casenave J, Doroshov SI. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture 201;2001:137-151.
- Williot P. Effects of incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) induced by sturgeon gonadotropic preparation or $17\alpha,20\beta$ dihydroxyprogesterone. Comp. Biochem. Physiol C 118;1997:285-293.
- Williot P, Burn R, Rouault T, Rooryck O. Management of female spawners of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt: First results. In: P. Williot (Ed.) *Acipenser*, CEMAGREF Publ., Bordeaux;1991:pp.365-379.