

اثر سن مولدین نر قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم زدگی

رضا لورستانی^(۱)، محمد رضا احمدی^(۲) و محمد رضا کلباسی^(۳)
reza_lorestany@yahoo.com

۱ و ۳ - دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس نور
صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴

۲ - دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صندوق پستی: ۶۴۳۳-۱۴۱۵۵
تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۴

چکیده

در این تحقیق اثر سه سطح سنی ۲⁺، ۳⁺ و ۴⁺ ساله بر مدت زمان تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و درصد چشم زدگی ماهی قزل آلائی رنگین کمان بررسی شد. در سن ۲⁺ سالگی، کمترین مدت زمان تحرک اسپرم ($p=0/007$) و سن های ۳⁺ و ۴⁺ سالگی بیشترین مدت زمان تحرک اسپرم را نشان دادند و سن های ۳⁺ و ۴⁺ ساله از این نظر اختلاف معنی داری را با هم نشان ندادند. متوسط اسپرماتوکریت در سن های متفاوت مولدین نر اختلاف معنی داری را با هم داشتند. سن ۲⁺ سالگی بالاترین میزان اسپرماتوکریت و سن ۳⁺ سالگی، کمترین میزان اسپرماتوکریت را داشت. میزان چشم زدگی در سن ۲⁺ سالگی بیشترین میزان بود که اختلاف معنی داری را با سن ۳⁺ سالگی نشان داد ($p=0/02$)، در حالی که سن ۴⁺ سالگی اختلاف معنی داری را در میزان چشم زدگی با دو سن دیگر نشان نداد.

کلمات کلیدی: اسپرم، قزل آلائی رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*

مقدمه

مطالعات زیست‌شناسی اسپرم ماهیان از قرن ۱۹ شروع شده است (Billard & Cosson, 1992). یکی از عوامل مهم در فرآیند لقاح، استفاده از اسپرم با کیفیت مناسب می‌باشد. در این خصوص کیفیت مناسب اسپرم که مهمترین مشخصه آن تحرک می‌باشد، می‌تواند سبب افزایش لقاح گردد (یگانه، ۱۳۸۱). کیفیت اسپرم معمولاً بوسیله شدت تحرک، درصد اسپرماتوزوئیدهای متحرک و مدت زمان حرکت رو به جلو آنها ارزیابی می‌گردد. پارامترهای دیگری که ممکن است جهت ارزیابی کیفی اسپرم استفاده گردد، اسپرماتوکریت و ترکیبات شیمیایی پلازما می‌باشد (Billard, 1992). در این میان تحرک اسپرماتوزوآ بعنوان یکی از عوامل ارزیابی کیفی آن، می‌تواند نقش مهمی را در موفقیت عملیات لقاح مصنوعی ایفاء نماید (Billard, 1986 ; Lanhnsteiner et al., 1996).

غلظت اسپرم درصد لقاح را تحت تأثیر قرار می‌دهد. غلظت اسپرم به دو روش شمارش آن و سنجش میزان اسپرماتوکریت تعیین می‌گردد (Obraztsov, 1985). غلظت اسپرم می‌تواند اثرات کاهش تحرک را در لقاح جبران کند زیرا اسپرماتوزوآ تنها در یک نقطه یعنی میکروویپل می‌تواند در تخمک نفوذ کند بنابراین لقاح بستگی به رسیدن اسپرماتوزوآ به این نقطه دارد (Billard, 1986).

هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر سه سطح سنی مولدین نر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ۲، ۳ و ۴ ساله بر خصوصیات اسپرم از قبیل مدت زمان تحرک و اسپرماتوکریت در مولدین سنین متفاوت ماهی و اثر عوامل مذکور بر میزان چشم‌زدگی در روند تکثیر این ماهی بوده است که یافتن روش مناسب جهت لقاح در این ماهی می‌تواند باعث افزایش کارایی لقاح مصنوعی و تولید بیشتر گردد.

مطالعه روی مدت زمان حرکت اسپرماتوزوئید تاسماهی ایرانی در محلول آب معمولی و محلولهای نمکی

توسط علوی در سال ۱۳۷۹ صورت گرفت. نتایج نشان داد که زمان حرکت اسپرماتوزوآ در محلولهای نمکی بیشتر از آب معمولی است.

اثر محلولهای تقویت کننده و مایع سلومی در لقاح تاسماهی ایرانی توسط احمدیان در سال ۱۳۷۹ بررسی شد. نتیجه این تحقیق نشان داد که مایع سلومی بدون رقیق کردن بر تحرک اسپرماتوزوآ اثر بازدارنده دارد و بنابراین لقاح صورت نمی‌گیرد. در صورتیکه استفاده از آن با غلظت ۱ درصد نسبت به غلظت ۱۰ درصد موجب افزایش درصد لقاح می‌شود.

اثر تقویت‌کننده‌ها بر روی مدت زمان تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری توسط یگانه در سال ۱۳۸۱ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از محلول تقویت کننده نمکی همراه با مایع لقاحی با شوری ۳۲ درصد بعنوان القاء کننده تحرک اسپرم در لقاح کفال خاکستری استفاده نمود.

بررسی مقایسه‌ای تحرک اسپرم تاسماهی ایرانی و قابلیت لقاحی آن در آب شیرین و محلولهای نمکی در سال ۱۳۸۱ توسط علوی و همکاران صورت گرفت. نتایج این تحقیق حساسیت زیستی اسپرماتوزوآی تاسماهی ایرانی به یونهای کلسیم، منیزیم و فشار اسمزی را نشان داد. همچنین قابلیت لقاح اسپرم بعد از رقیق‌سازی در محلول نمکی افزایش می‌یابد.

اثر سن مولد نر، حضور مولد ماده در کنار مولد نر، غلظت و تحرک اسپرم بر روی کارایی لقاح آزمایشگاهی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در سال ۲۰۰۲ بوسیله Liley و همکاران بررسی شد. نتایج مشخص نمود که غلظت اسپرم، در مایع اسپرمی ماهیان نری که برای اولین بار اسپرم‌دهی می‌کنند (۱ ساله) در مقایسه با ماهیان ۳ ساله، بالاتر می‌باشد، اگر چه مدت زمان تحرک در هر دو گروه مولد نر ذکر شده مشابه بود، اما این مدت زمان در دفعات مختلف نمونه‌گیری‌ها در طول فصل، روند افزایشی

مخلوط نموده و مدت زمان تحرک اسپرم بلافاصله با استفاده از کرنومتر ثبت گردید. مدت زمان تحرک اسپرم تا زمانیکه تحرک ۹۵ الی ۹۹ درصد سلولها متوقف شوند در نظر گرفته شد (Cosson *et al.*, ; Liley *et al.*, 2002 ; Ase *et al.*, 1991 ; Billard, 1983 ; 1999 ; همکاران, ۱۳۸۱ ; علوی و همکاران, ۱۳۸۱ ; یگانه, ۱۳۸۱). این آزمایش حداقل ۳ بار بعنوان ۳ تکرار در هر یک از پلیتهای A, B, و C تکرار گردید.

بمنظور محاسبه میزان اسپرماتوکریت به دو صورت نمونه برداری انجام شد. در مرحله اول از اسپرم مولدین هر گروه سنی قبل از مخلوط نمودن آنها (اسپرم انفرادی مولدین نر) و در مرحله بعد، از مخلوط اسپرم هر گروه سنی (متوسط اسپرم مولدین نر هم سال) نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری بوسیله لوله میکروهماتوکریت انجام گرفت (Aas *et al.*, ; Rakitin *et al.*, 1999 ; Tvedt *et al.*, 2001). سپس نمونه‌ها بوسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ (Aas *et al.*, 1991 ; Liley *et al.*, 2002 ; Rakitin *et al.*, 1999) به مدت ۵ دقیقه و با دور ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شدند و بعد بوسیله دستگاه مخصوص سنجش درصد اسپرماتوکریت، میزان اسپرماتوکریت هر نمونه قرائت شد (Vladi *et al.*, 2002).

جهت انجام عملیات تکثیر از ۸ ماهی ماده و ۱۵ ماهی نر استفاده گردید. در ابتدا ماهیهای ماده را بوسیله ماده MS222 (۱۲۰۰۰-رقیق سازی) بیهوش نموده و تخمکهای مورد نیاز جهت لقاح تهیه گردید و جهت یکسان شدن شرایط تکثیر برای تمام تیمارها، تخمکهای استحصال شده از ماهیان ماده مخلوط شدند (Moccia & Munkittrick, 1986).

در هر کدام از سطوح سنی نر، ۵ مولد انتخاب گردید و از آنها استحصال اسپرم صورت گرفته و در عملیات تکثیر مورد استفاده قرار گرفت. به دلیل احتمال نامناسب بودن کیفیت اسپرم در بعضی از مولدین یا کیفیت بالای اسپرم در بعضی دیگر، در هر رده سنی اسپرمهای مولدین نر با هم مخلوط گردید.

داشته است. همچنین زمانی که ۲۰ ثانیه یا بیشتر اسپرم یا تخمک با آب تماس پیدا کند و بعد از آن لقاح صورت گیرد، کاهش سریعی در میزان لقاح مشاهده می‌گردد. اثر سن بر روی خصوصیات اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در سال ۲۰۰۳ توسط Tekin و همکاران بررسی شد. نتایج این تحقیق مبین این مطلب بود که خصوصیات اسپرمی از قبیل حجم اسپرم، میزان تحرک، مدت زمان فعالیت اسپرم، غلظت، تعداد کل اسپرماتوزوآ و pH در رده‌های سنی مختلف دارای تغییرات زیادی می‌باشد، بدین صورت که با افزایش سن، حجم اسپرم، تحرک اسپرم، مدت زمان فعالیت اسپرم و تعداد کل اسپرماتوزوآ افزایش یافته ولی غلظت در آنها کاهش می‌یابد. همچنین رابطه مثبتی بین وزن بدن و طول ماهی با حجم منی وجود دارد که این رابطه با غلظت منی بصورت منفی می‌باشد.

مواد و روش کار

این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت انجام گرفت. جداسازی و انتخاب مولدین نر در ابتدای فصل تکثیر قزل‌آلای رنگین کمان صورت گرفت. با توجه به اینکه سن‌های مختلف ماهی نر قزل‌آلای رنگین کمان در استخرهای جداگانه نگهداری می‌شوند، انتخاب اولیه ماهی در ۳ سطح سنی ذکر شده، بوسیله ساچوک و بطور تصادفی در استخرهای مختلف صورت گرفت. در هر سطح سنی، ۵ مولد نر انتخاب شد. از مولدین انتخاب شده در قسمت زیر باله پستی و بالاتر از خط جانبی بوسیله پنس فلس تهیه شد و تعیین سن صورت گرفت (پرافکنده حقیقی، ۱۳۷۹).

بمنظور سنجش مدت زمان تحرک اسپرم در سطوح سنی متفاوت، از مخلوط اسپرمهای مولدین در سطوح سنی ۲⁺ (پلیت A)، ۳⁺ (پلیت B) و ۴⁺ (پلیت C) استفاده شد. بدین منظور، یک قطره اسپرم از پلیت A را روی لام در زیر میکروسکوپ قرار داده و یک قطره آب کارگاه را با آن

چشم‌زدگی، در مولدین نر ۲، ۳ و ۴ ساله به کمک آنالیز واریانس یکطرفه مورد پردازش قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. تفاوت میزان اسپرماتوکریت انفرادی و متوسط اسپرماتوکریت مخلوط اسپرمها در سطوح مختلف سنی، با استفاده از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس و همچنین آزمونهای U من ویتنی بررسی شد.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین مدت زمان تحرک اسپرم در سن‌های متفاوت مولدین نر، وجود دارد ($P < 0.05$). نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان می‌دهد، بین مدت زمان تحرک اسپرم مولدین نر ۳ و ۴ ساله در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود اما بین مدت زمان تحرک اسپرم در مولدین نر ۲ ساله با مولدین نر ۳ و ۴ ساله در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P = 0.007$). بدین صورت که مدت زمان تحرک اسپرم مولدین نر ۲ ساله کمترین مقدار و مدت زمان تحرک اسپرم مولدین نر ۴ ساله بیشترین مقدار می‌باشد در حالی که مدت زمان تحرک اسپرم مولدین نر ۳ ساله حد واسط این دو مقدار می‌باشد (نمودار ۱).

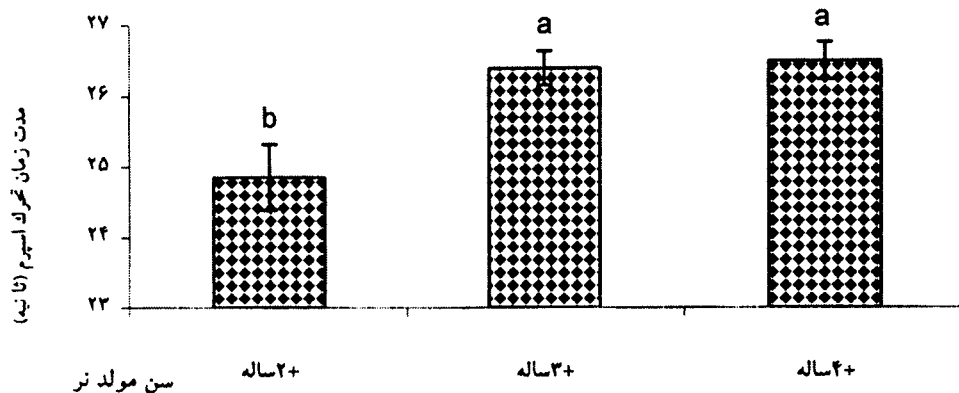
جهت انجام انکوباسیون تخمهای لقاح یافته، ۱ ترف و ۳ سینی بکار رفت. هر سینی توسط نئوپلاست به ۳ قسمت مساوی تقسیم شد و تمام قسمتهای تقسیم‌بندی شده سینی‌ها بطور تصادفی شماره‌گذاری شدند و تخمکهای لقاح یافته، پس از جذب آب، بطور کاملاً تصادفی بر حسب شماره‌های معین شده، در جایگاه خود در سینی‌ها قرار گرفتند (شرایط معمول کارگاه).

حدود ۱۹ روز پس از لقاح، بسته به درجه حرارت آب، با روش سیفون نمودن و اعمال شوک ضربه‌ای به تخمکها، (Aas et al., 1991 و پیکان حیرتی، ۱۳۸۰) تخمهای چشم‌زده از تخمهای تلف شده، مشخص گردید. در این مرحله تخمکهای تلف شده سفید شدند و با استفاده از پوآر جمع‌آوری شده و مورد شمارش قرار گرفتند. تخمهای چشم‌زده نیز در این مرحله بدقت شمارش شدند و میزان بازماندگی تخمها تا مرحله چشم‌زدگی از طریق رابطه ۱ محاسبه و ثبت شد (پیکان حیرتی، ۱۳۸۰).

(رابطه ۱)

$$100 \times \frac{\text{تعداد تخمکهای چشم‌زده}}{\text{تعداد تخمکهای لقاح یافته}} = \text{میزان چشم‌زدگی}$$

اطلاعات جمع‌آوری شده از بررسی‌ها و مطالعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار SPSS جهت سنجش تاثیر سن، بر مدت زمان تحرک اسپرم و



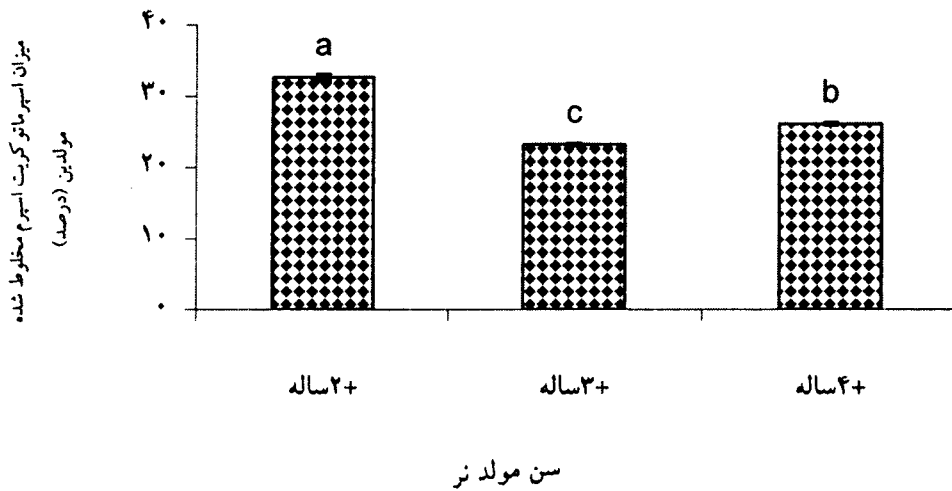
نمودار ۱: مدت زمان تحرک اسپرم در سن‌های متفاوت مولدین نر

۳⁺ و ۴⁺ ساله اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد وجود دارد ($P=0/000$)، که در مولدین نر ۲⁺ ساله بیشترین مقدار و در مولدین نر ۳⁺ ساله کمترین مقدار مشاهده می‌شود. متوسط اسپرماتوکریت در مخلوط اسپرم ۴⁺ ساله‌ها حد واسط دوسن دیگر می‌باشد (نمودار ۲).

آزمونهای U من ویتنی در مورد اسپرماتوکریت در مخلوط اسپرمهای مولدین نر هم سال نشان‌دهنده نتایج زیر بودند:

$$x^2(2) = 36/269 \text{ و } P=0/000$$

این نتایج نشان‌دهنده این مطلب می‌باشد که بین متوسط اسپرماتوکریت در مخلوط اسپرمهای مولدین نر ۲⁺،



نمودار ۲: متوسط اسپرماتوکریت در مخلوط اسپرم های مولدین نر همسال

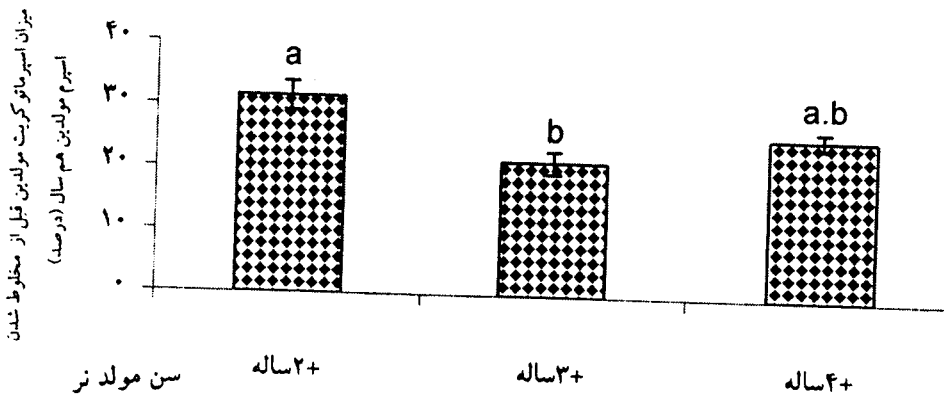
در مولدین نر ۲⁺ ساله بالاترین مقدار و مولدین نر ۳⁺ ساله نیز در هر دو مرحله پایین‌ترین میزان می‌باشد اما این میزان برای مولدین نر ۴⁺ ساله حد بینابین دو سن دیگر می‌باشد.

پس از انجام تجزیه واریانس یک طرفه مشخص گردید میزان چشم‌زدگی سن‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با هم دارند. براساس نتایج آزمون دانکن، میزان چشم‌زدگی مولدین ۲⁺ ساله اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد با مولدین نر ۳⁺ ساله نشان می‌دهد، درحالی که میزان چشم‌زدگی مولدین نر ۴⁺ ساله اختلاف معنی‌داری را با مولدین نر ۲⁺ و ۳⁺ ساله نشان نمی‌دهد ($P < 0.05$ و $P = 0.020$) (نمودار ۴).

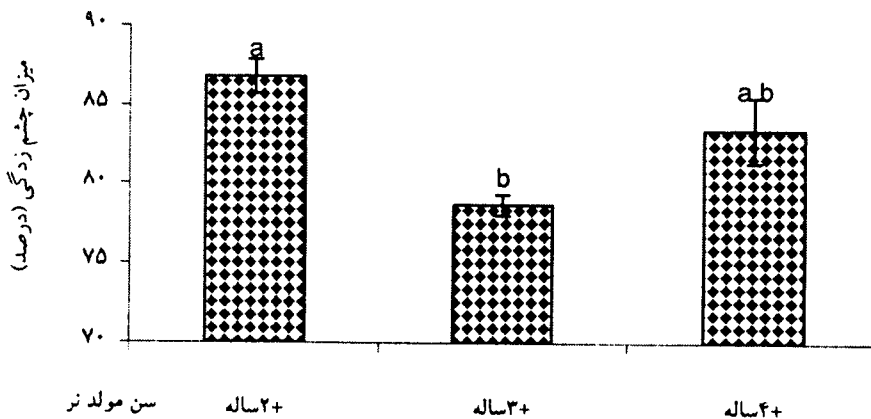
آزمونهای U من ویتنی در مورد اسپرماتوکریت انفرادی مولدین نر در سن‌های متفاوت نشان‌دهنده نتایج زیر می‌باشد:

$$X^2(2) = 7.571 \text{ و } p = 0.023$$

اسپرماتوکریت انفرادی مولدین نر در سن ۲⁺ سالگی اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با مولدین نر ۳⁺ ساله نشان می‌دهد در حالی که این میزان در مولدین نر ۴⁺ ساله تفاوت معنی‌داری را با مولدین نر ۲⁺ و ۳⁺ ساله نشان نمی‌دهد و بین این دو سن قرار می‌گیرد (نمودار ۳). همانگونه که نتایج نمودارهای ۳ و ۴ نشان می‌دهند، میزان اسپرماتوکریت در هر دو مرحله سنجش اسپرماتوکریت



نمودار ۳: میزان اسپرماتوکریت انفرادی مولدین نر در سن‌های متفاوت



نمودار ۴: اثر سن‌های متفاوت مولدین نر بر میزان چشم‌زدگی

بحث

با مقایسه نمودارهای ۳ و ۴ مشخص می‌گردد که میزان چشم‌زدگی در مولدین نر ۲⁺ ساله تفاوت معنی‌داری را با ۳⁺ ساله‌ها نشان می‌دهد. در مولدین نر ۲⁺ ساله بالاترین میزان اسپرماتوکریت وجود دارد که همزمان بالاترین میزان چشم‌زدگی در این مولدین مشاهده می‌گردد. همزمان با کاهش میزان اسپرماتوکریت، چشم‌زدگی نیز کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده یک ارتباط مستقیم و مثبت بین میزان اسپرماتوکریت اسپرم مولدین نر و میزان لقاح، چشم‌زدگی و تفریح می‌باشد. غلظت اسپرم می‌تواند اثرات کاهش تحرک را در لقاح جبران کند زیرا اسپرماتوزوآ تنها در یک نقطه یعنی میکروپیل می‌تواند در تخمک نفوذ کند بنابراین لقاح بستگی به رسیدن اسپرماتوزوآ به این نقطه دارد (Billard, 1986).

در سن ۲⁺ سالگی کمترین مدت زمان تحرک اسپرم نسبت به دو سن دیگر مشاهده می‌گردد. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش میزان اسپرماتوکریت، یک روند کاهشی در مدت زمان تحرک اسپرم دیده می‌شود. بیشترین میزان اسپرماتوکریت مربوط به سن ۲⁺ سالگی است که کمترین مدت زمان تحرک را در بین سه سطح سنی بخود اختصاص می‌دهد. مولدین نر ۳⁺ ساله که رقیق‌ترین اسپرم را بین دو گروه دیگر دارا می‌باشند، بالاترین مدت زمان تحرک اسپرم در آنها مشاهده می‌گردد. علت این امر را شاید بتوان به رابطه تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم (میزان اسپرماتوکریت) و مدت زمان تحرک اسپرم ربط داد زیرا هر چه تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم بیشتر باشد، مصرف ATP نیز بیشتر می‌شود. در نتایج Liley و همکاران در سال ۲۰۰۲ دیده می‌شود که در نمونه‌برداری از اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و سنجش مدت زمان تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت در زمانهای متفاوت نمونه‌برداری، زمانی که میزان اسپرماتوکریت بالاتر باشد، مدت زمان تحرک اسپرم کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق در مورد اثر سن مولد نر بر مدت زمان تحرک اسپرم و میزان اسپرماتوکریت نتایج تحقیق‌های مذکور را تایید می‌نماید. در نتایج Tekin و همکاران در سال ۲۰۰۳ دیده می‌شود که با کاهش غلظت اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی قزل‌آلای افزایش می‌یابد و با افزایش غلظت

اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در این ماهی کاهش می‌یابد. Rurangwa و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ و Liley و همکاران در سال ۲۰۰۲ دامنه مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را کمتر از ۳۰ ثانیه گزارش نمودند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر ۲⁺ ساله بالاترین و در مولدین نر ۳⁺ ساله کمترین میزان و در مولدین نر ۴⁺ ساله در حد واسط این دو مقدار قرار داشت. Tekin و همکاران در سال ۲۰۰۳ نتایج مشابهی را در مورد غلظت اسپرم ماهیان نر قزل‌آلای گزارش کردند که نتایج این تحقیق نیز تایید کننده این مطلب می‌باشد. در سال ۲۰۰۲، Liley و همکاران گزارش نمودند که غلظت اسپرم در ماهیان نر قزل‌آلایی که برای اولین بار اسپرم‌دهی می‌کنند در مقایسه با ماهیان نر ۳ ساله بالاتر می‌باشد. در سال ۲۰۰۱، Hoysak & Liley گزارش دادند که اسپرماتوکریت نرهای ۳ ساله در مقایسه با نرهای ۵ ساله در ماهی Sockeye salmon بالاتر می‌باشد. نتایج این تحقیق‌ها کاهش میزان اسپرماتوکریت را از سن‌های بالاتر به طرف سن‌های پایین نشان می‌دهد. نتایج تحقیق حاضر نیز با یافته‌های تحقیق‌های مذکور مشابهت دارد و نتایج آنها را تایید می‌نماید. نتایج این تحقیق و روند تغییرات اسپرماتوکریت در سن‌های متفاوت نر دقیقاً نتایج روند تغییرات غلظت اسپرم در تحقیق Tekin و همکاران در سال ۲۰۰۳ را تایید می‌نماید. نتایج میزان اسپرماتوکریت انفرادی مولدین نر در سن‌های متفاوت نشان می‌دهد که از سنین پایین به طرف سن‌های بالا، غلظت اسپرم یک روند کاهشی را طی می‌کند. شاید این امر به دلیل افزایش تولید حجم اسپرم در سن‌های بالا باشد زیرا هر چه اندازه مولد بزرگتر باشد، اندازه بیضه‌ها نیز بزرگتر می‌شود و به نسبت آن حجم اسپرم بالاتر می‌رود و از آنجا که رابطه حجم اسپرم و غلظت آن به صورت یک رابطه معکوس می‌باشد (Tekin et al., 2003)، پس با افزایش سن حجم اسپرم بیشتر شده، اما غلظت آن کاهش می‌یابد.

نتایج این تحقیق در مورد کاهش غلظت اسپرم از سنین پایین به طرف سن‌های بالاتر یافته‌های Tekin و همکاران در سال ۲۰۰۳، یافته‌های Liley و همکاران در

علوی، س. م. ه. ، ۱۳۷۹. مطالعه تطبیقی مدت زمان تحرک اسپرم تاسماهی ایرانی در آب سالن انکوباسیون و محلولهای تقویت کننده. پروژه کارشناسی، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی کرج. ۵۰ صفحه.

علوی، س. م. ه. ؛ مجازی امیری، ب. ؛ کوسون، ج. ؛ پورکاظمی، م. و کرمی، م. ، ۱۳۸۱. مطالعات اولیه بر روی تحرک اسپرماتوزوای تاسماهی ایرانی و بررسی مقایسه‌ای در آب شیرین و محلولهای نمکی در رقت‌های متفاوت. دومین همایش ملی منطقه‌ای ماهیان خاویاری، صفحات ۱۲۸ تا ۱۳۰.

لرستانی، ر. ، ۱۳۸۳. اثر محلولهای متفاوت تقویت کننده اسپرم و میزان اسپرماتوکریت بر روند تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. سمینار کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور دانشگاه تربیت مدرس. ۴۲ صفحه.

یگانه، س. ، ۱۳۸۱. اثر تقویت کننده‌ها بر روی مدت تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری *Mugil cephalus*، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی کرج. ۱۱۲ صفحه.

Aas, G.H. ; Refstie, T. and Gjerde, B. , 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*. Vol. 95, pp.125-132.

Billard, R. , 1983. Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the Rainbow trout, *Salmo gairdneri* . *Journal of Repro. Fert.*, Vol. 68, pp.77-84.

Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.* Vol. 26, No. 4, pp.877-920.

Billard, R. 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*. Vol. 100, pp.263-298.

Billard, R. and Cosson., M.P. , 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh-water fish. *Journal of Experimental Zoology*. Vol. 261, pp.122-131.

سال ۲۰۰۲ در ماهی قزل‌آلا و نتایج Hoysak & Liley در سال ۲۰۰۱ در ماهی Sockeye salmon را تایید می‌نماید. Moccia & Munkittrick در سال ۱۹۸۷ و لرستانی در سال ۱۳۸۳ در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ارتباط بین میزان لقاح و میزان اسپرماتوکریت را یک رابطه مثبت و معنی‌دار ارزیابی نمودند. Aas و همکاران نیز در سال ۱۹۹۱ در ماهی *Salmo salar* ارتباط بین میزان لقاح با میزان اسپرماتوکریت را یک رابطه مثبت و معنی‌دار گزارش نمودند. Hoysak & Liley در سال ۲۰۰۱ همبستگی بالا و معنی‌دار غلظت اسپرم را بر روی میزان لقاح در لقاح‌هایی که در ماهی Sockeye salmon انجام گرفت، را گزارش نمودند. Liley و همکاران در سال ۲۰۰۲ همبستگی مثبت و معنی‌داری را در ماهی قزل‌آلا بین میزان لقاح در غلظتهای بالای اسپرم گزارش کردند.

منابع

احمدیان، ن. ، ۱۳۷۹. اثر محلولهای تقویت کننده در ماهی سلومی در لقاح تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus*، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور. ۶۰ صفحه.

احمدیان، ن. ؛ مجازی امیری، ب. ؛ ابطحی، ب. و نظری، ر. م. ، ۱۳۸۱. استفاده از تقویت کننده‌های اسپرم در لقاح تخمک تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* . دومین همایش ملی منطقه‌ای ماهیان خاویاری، صفحات ۱۱۱ تا ۱۱۵.

پرافکنده حقیقی، ف. ، ۱۳۷۹. روشهای تعیین سن آبزیان. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۱۳ تا ۱۵.

پیکان حیرتی، ف. ، ۱۳۸۰. القاء تکثیر در جنس نر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با استفاده از هورمون سنتتیک GnRH. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی کرج. ۷۷ صفحه.

Cosson, J. ; Billard, R. ; Gibert, C. ; Dreanno, C. and Suquet, M. , 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. *In: the male gamete*.

- From basic to clinical application, C. Gagnon, (Ed). Cache Rive Press. pp.161-186.
- Hoysak, D. J. and Liley, N. R. , 2001.** Fertilization dynamics in sockeye salmon and a comparison of sperm from alternative male phenotypes. *Journal of Fish Biol.* Vol. 58, pp.1286-1300.
- Lahnsteiner, F. ; Berger, B. ; Weismann, T. and Patzner, R.A. , 1996.** Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Journal of Fish Physiol. and Biochem.*, Vol. 15, pp.167-179.
- Liley, N.R. ; Tamkee, P. ; Tsai, R. and Hoysak, D.J., 2002.** Fertilization dynamics in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on ivitro fertilization. *Can. J. fish. Aquat. Sci.* Vol. 59, pp.144-152.
- Moccia, R.D. and Munkittrick, K.R. , 1986.** Relationship between the fertilization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) eggs and the motility of spermatozoa. *Theriogenology*, Vol. 27, No. 4, pp.679-688.
- Obraztsov, A.N. , 1985.** Estimation of sperm concentration in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). Genetic and ecological implications in fish culture. pp.111-116.
- Rakitin, A. ; Ferguson, M. and Trippel, E. , 1999.** Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture.* Vol. 170, pp.349-358.
- Rurangwa, E. ; Kime, D.E. ; Ollevier, F. and Nash, J.P. , 2004.** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture.* Vol. 234, pp.1-28.
- Tekin, N. ; Secer, S. ; Akcay, E. ; Bozkurt, Y. and Kayam, S. , 2003.** The effect of age on spermatological properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1722). *Turk. J. vet. Anim. Sci.* Vol. 27, pp.37-44.
- Tvedt, H.B. ; Benfey, T.J. ; Martin-Robichaud, D.J. and Power, J. , 2001.** The relationship between spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture.* Vol. 191, pp.191-200.
- Vladi, T.V. ; Afzelius, B.A. and Bronnikov, G.E. , 2002.** Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. *Biology of Reproduction.* Vol. 66, pp.98-105.

**Effect of male age in Rainbow Trout
(*Oncorhynchus mykiss*) on duration of sperm motility,
spermatocrite and eyed egg rate production**

Lorestany R.⁽¹⁾ ; Ahmadi M.R.⁽²⁾ and Kalbasi M.R.⁽³⁾

reza_lorestany@yahoo.com

1, 3- Faculty of Marine Science and Nautral Resourve, Tarbiat Modarres University,
P.O.Box: 14155-356 Noor, Iran

2- Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, P.O.Box: 14155-6453
Tehran, Iran

Received: December 2004

Accepted: September 2005

Keyword: Sperm, *Oncorhynchus mykiss*

Abstract

Effects of three levels of Rainbow Trout male age (2⁺, 3⁺ and 4⁺ years old), on duration of sperm motility, spermatocrite and eyed egg rate in rainbow trout were studied in Kelardasht Fish Breeding Center. The sperm from 2⁺ year old males activated by water showed the shortest motility (24.86 sec) (P= 0.007), while those of the 3⁺ and 4⁺ years old revealed the longest sperm motility. No significant difference was found between sperm motility of the 3⁺ and 4⁺ males.

The average spermatocrite in different age groups of male fish was significantly different. This was showed to be 32.66% in 2⁺ years and 23.26 % in 3⁺ year's male age groups respectively. Eyed egg rate was highest in 2⁺ years age (86/82%), and was significantly different with the 3⁺ age group (P=0.02). The eyed egg rate of the 4⁺ age group was not significantly different with those of the 2⁺ and 3⁺ age groups.