magiran.com

بررسی تغییرات اسپرماتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با توجه به سن ماهی و زمان اسپرم‌گیری

رضا لرستانی[1]*؛ محمد رضا احمدی[2] و محمد رضا کلباسی[3]

reza_lorestany@yahoo.com

۱و۳ - دانشکده منابع طبیعی نور و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۱۴۱۱۵

۲- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی، تهران صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۷

چکیده

در این تحقیق اثر سه گروه سنی و زمان اسپرم‌گیری بر مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید و اسپرماتوکریت در ماههای آبان، آذر، دی و بهمن در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی شد. نتایج نشان دادند که بالاترین میزان اسپرماتوکریت در ماهیان $^{+}$۲ ساله در آبان ماه با میزان ۱/۶۱±۳۱/۵۰ و کمترین آن در بهمن ماه با میزان ۰/۹±۲۵/۱۱ بود. بالاترین اسپرماتوکریت ماهیان $^{+}$۳ ساله در آبان ماه با میزان ۰/۷±۲۱/۴۲ با اسپرماتوکریت سن $^{+}$۳ سالگی در دی ماه و بهمن ماه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بالاترین اسپرماتوکریت در ماهیان $^{+}$۴ ساله در آبان ماه با میزان ۰/۷۷±۲۵/۱۱ و کمترین آن در بهمن ماه به میزان ۰/۲۰±۱۸/۲۰ بود. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سن $^{+}$۲ سالگی در دی و بهمن ماه بالاترین میزان و بترتیب معادل ۱±۲۷/۷ و ۱/۶±۲۴/۳ بود. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سن $^{+}$۳ سالگی در دی ماه بالاترین میزان بود که اختلاف معنی‌داری را با ماههای دیگر نشان داد که معادل ۱/۱±۲۹/۹ بود. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سن $^{+}$۴ سالگی، در دی ماه با زمان ۰/۴±۲۹/۴۲ ثانیه بالاترین میزان بود که اختلاف معنی‌داری را با ماههای دیگر سنجش تحرک اسپرماتوزوئید نشان داد. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در هر سه گروه سنی در آبان ماه کمترین میزان و در سن $^{+}$۲ سالگی ۰/۹±۲۴/۸۶، در سن $^{+}$۳ سالگی ۰/۴±۲۶/۴۰ و در سن $^{+}$۴ سالگی ۰/۳۲±۲۶ بود. همبستگی میزان اسپرماتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در ماههای متفاوت سنجش بصورت منفی و معنی‌دار بود.

لغات کلیدی: اسپرماتوکریت، اسپرماتوزوئید، سن، قزل‌آلای رنگین کمان، کلاردشت

---

* نویسنده مسئول

magiran.com

مقدمه

اسپرم با کیفیت بالا می‌تواند بر تولید لاروهای سالم تاثیرگذار باشد (Rurangwa *et al.*, 2004)، در این میان کیفیت اسپرم، با سنجش توانایی آن جهت باروری موفق تخمکها بیان می‌شود (Aas *et al.*, 1991). تغییرات کیفی اسپرم در میان گونه‌های متفاوت ماهی، بسته به فصل متغیر است و در بسیاری از موارد تراکم اسپرم (اسپرماتوکریت) جهت ارزیابی کیفی اسپرم ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rurangwa *et al.*, 2004) بررسی پلاسمای منی نشان داده است که منی حاوی یون های مختلفی از قبیل K^+، Na^+، Ca^{+2}، Mg^{+2} است که روند شروع فعالیت اسپرماتوزوئید و توقف آن را کنترل می‌نمایند (Morisawa, 1985) و همچنین مواد آلی متفاوتی از جمله تری گلیسریدها، گلیسرول، اسیدهای چرب، گلوکز و لاکتات در آن وجود دارد که انرژی متابولیسم سلول اسپرماتوزوئید را تامین می‌کند (Lahnsteiner., 1993).

کیفیت اسپرم از طریق بررسی مواردی نظیر: اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسمولاریتی، pH مایع منی، ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی، فعالیتهای آنزیمی، غلظت ATP، تحرک، شکل اسپرماتوزوئید و قابلیت لقاحی آن سنجیده می‌شود (Geffen & Chowdhury & Joy, 2001 ;Evans, 2000).

تعداد اسپرماتوزوئید در مایع منی در فصل تکثیر قزل‌آلای رنگین کمان (Buyukhatipoglu & Holtz, 1984)) و کپور معمولی (Christ *et al.*, 1996) و ماهی خاویاری دریاچه ای (*Acipenser fluvescens*) از یک سال به سال دیگر تغییر یافته و کاهش می‌یابد.

بررسی‌ها نشان داده است که اسپرماتوکریت و ویسکوزیته اسپرم در فصل تکثیر تغییر می‌کند (Rurangwa ;Billard & Cosson, 1992 *et al.*, 2004,) و همچنین سن مولدین می‌تواند تاثیرات معنی‌داری را بر کیفیت اسپرم داشته باشد (Tekin *et al.*, 2003 ;Rurangwa *et al.*, 2004).

هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییرات درصد اسپرماتوکریت در طول فصل تکثیر و بدنبال آن مشخص نمودن مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید و تغییرات آن و همچنین تعیین رابطه تغییرات درصد اسپرماتوکریت و تحرک اسپرماتوزوئید در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌باشد.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت انجام گرفت. جداسازی و انتخاب مولدین نر در ابتدای فصل تکثیر قزل‌آلای رنگین کمان انجام شد. با توجه به اینکه مولدین ماهی نر قزل‌آلای رنگین کمان در سنین مختلف در استخرهای جداگانه نگهداری می‌شوند، لذا انتخاب اولیه مولدین در ۳ گروه سنی $^{+}۲$، $^{+}۳$ و $^{+}۴$ ساله و بطور تصادفی در استخرهای مختلف صورت گرفت. در هر گروه سنی ۵ مولد نر انتخاب شدند. تعدادی فلس از قسمت زیر باله پشتی و بالاتر از خط جانبی هر یک از مولدین انتخاب گردید و به منظور تعیین سن نمونه‌برداری شدند (پرافکنده حقیقی، ۱۳۷۹).

در هر ماه ۲ بار از کلیه مولدین نر اسپرم‌گیری صورت گرفت و فقط اسپرم مرحله دوم مورد آزمایش برای تحقیق در هر ماه مورد بررسی انتخاب شد زیرا با تعدد دفعات اسپرم‌گیری، کیفیت اسپرم دچار نقصان می‌گردد و هدف این تحقیق نیز نشان دادن تغییرات کیفی اسپرم در اثر استفاده مکرر از مولدین در فصل تکثیر بود. در انتهای ماههای آبان، آذر، دی و بهمن پس از نمونه‌گیری از کلیه گروههای سنی، میزان اسپرماتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید مورد سنجش قرار گرفت (Christ *et al.*, 1996).

بمنظور محاسبه میزان اسپرماتوکریت از اسپرم مولدین هر گروه سنی (اسپرم انفرادی مولدین نر) سنجش بوسیله لوله میکروهماتوکریت انجام گرفت (Tvedt, ;Rakitin *et al.*, 1999 ;2001 Aas *et al.*, 1991). نمونه‌ها سپس بوسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه و با دور ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شدند (Liley *et al.*,;Aas *et al.*, 1991; Rakitin *et al.*, 1999 ;2002 Vladi *et al.*, 2002) و میزان اسپرماتوکریت هر نمونه مشخص شد. بمنظور سنجش مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید یک قطره اسپرم روی لام قرار گرفت و یک قطره آب مقطر را با آن مخلوط نموده و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید بلافاصله با استفاده از کرنومتر ثبت گردید. مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید تا زمانیکه تحرک ۹۹ الی ۹۵ درصد سلولها متوقف شوند، سنجیده شد (Billard, 1983; Cosson *et al.*, 1999 ; Liley *et al.*, 2002 ;Ase *et al.*, 1991، احمدیان، ۱۳۸۱، علوی، ۱۳۸۱، یگانه، ۱۳۸۱). از آنجائیکه دمای آب مقطر بر روی مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید موثر است، در زمان سنجش مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید ، آب مقطر با آب کارگاه هم دما گردید.

اطلاعات جمع‌آوری شده از بررسی‌ها و مطالعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل

magiran.com

قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگراف اسمیرنف صورت گرفت. تفاوت میزان اسپرماتوکریت اسپرمهای مولدین در گروههای متفاوت سنی و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در مولدین نر ۲^+، ۳^+ و ۴^+ ساله توسط آزمون واریانس یک طرفه سنجیده شد. در صورت وجود اختلاف بین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. ارتباط اسپرماتوکریت و تحرک اسپرماتوزوئید توسط ضریب همبستگی پیرسون موررد سنجش قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از سنجش اسپرماتوکریت قزل‌آلاهای ۲^+ ساله نشان داد که در آبان ماه میزان اسپرماتوکریت به حداکثر میزان ۳۱/۵۰±۱/۶۱ رسیده و اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد با سایر ماهها نشان می‌دهد. در ماههای آذر و دی در این سن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که میزان عددی آن بترتیب ۲۸/۶۲±۰/۷ و ۲۸/۲۱±۱/۴ بود. در بهمن ماه در سن ۲^+ سالگی کمترین اسپرماتوکریت با میزان ۲۵/۱۱±۰/۹ ثبت شد (جدول ۱).

میزان اسپرماتوکریت در سن ۳^+ سالگی نیز بالاترین میزان این شاخص را در ابتدای فصل تکثیر یعنی آبان ماه با میزان عددی ۲۱/۴۲±۰/۷ نشان داد، اما میزان این شاخص در دی و بهمن ماه تفاوت معنی داری با هم نداشتند و بترتیب معادل ۱۸/۱۸±۱/۷ و ۱۸/۱۲±۰/۳۴ بود. در آذر ماه میزان اسپرماتوکریت در سن ۳^+ کمتر از آبان ماه و بیشتر از دی و بهمن ماه بود که با ماههای دیگر اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد نشان داد (نمودار ۱).

اسپرماتوکریت در سن ۴^+ سالگی نیز همانند دیگر سن ها، در ابتدای فصل تکثیر یعنی آبان ماه بالاترین مقدار را نشان داد و میزان عددی آن معادل ۲۵/۱۱±۰/۷۷ بود که از لحاظ آماری نیز با دیگر ماهها اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد نشان داد. این شاخص در بهمن ماه کمترین مقدار خود را با میزان ۱۸/۲۰±۰/۲۰ دارا بود که اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد با دیگر ماهها داشت (نمودار ۱).

بررسی مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سن ۲^+ سالگی نشان داد که بالاترین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید به میزان ۲۷/۷±۱ ثانیه در دی ماه است و اختلاف معنی‌داری با سایر ماهها در سطح ۹۵ درصد دارد. در آبان ماه و بهمن ماه مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید اختلاف معنی‌داری را با هم نشان نداد و کمترین میزان عددی را بترتیب معادل ۲۴/۸۶±۰/۹ و ۲۴/۳±۱/۶ ثانیه دارا بودند (جدول ۲).

در سن ۳^+ سالگی، در دی ماه بالاترین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید به میزان ۲۹/۹±۱/۱ ثانیه مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با دیگر ماههای فصل تکثیر نشان داد. در این سن در آذر و بهمن اختلاف معنی‌داری از لحاظ مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید دیده نشد و بترتیب معادل ۲۷/۵۳±۱/۶ و ۲۸/۰۳±۰/۹ ثانیه بود، اما در آبان ماه کمترین میزان تحرک اسپرماتوزوئید به مقدار ۲۶/۴۰±۰/۴ ثانیه مورد بود (نمودار ۲).

در سن ۴^+ سالگی بالاترین میزان تحرک اسپرماتوزوئید در دی ماه معادل ۲۹/۴۲±۰/۴ ثانیه بود که از لحاظ آماری در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری را با دیگر ماهها نشان داد، اما در آبان ماه به مقدار ۲۶±۰/۳۲ ثانیه کمترین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در طول ماههای تحقیق بدست آمد (نمودار ۲). بررسی همبستگی مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید با میزان اسپرماتوکریت وجود رابطه معکوس و معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۲$ و $r = -۰/۶۴۲$) یعنی با افزایش اسپرماتوکریت، مدت زمان تحرک اسپرم کاهش یافت و با کاهش درصد اسپرماتوکریت در طول زمان، طول دوره تحرک اسپرم افزایش یافت.

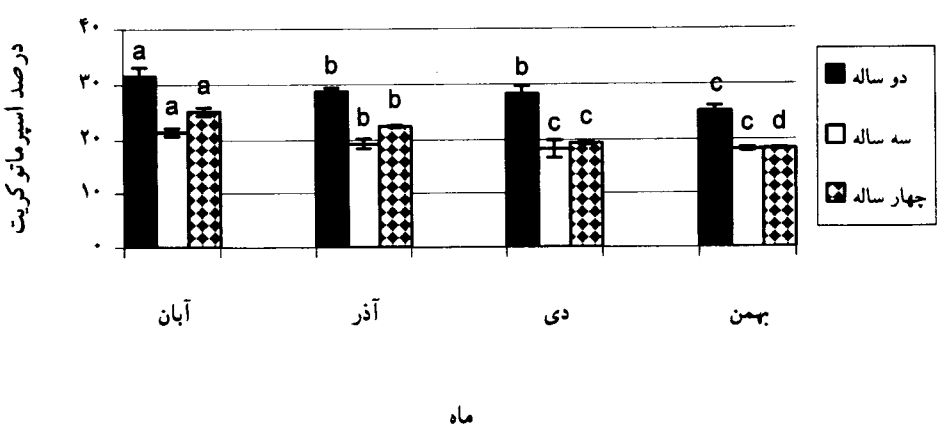
magiran.com

جدول ۱: میزان دمای آب مقطر هنگام فعال سازی اسپرماتوزوئید در ماههای متفاوت انجام تحقیق و درصد اسپرماتوکریت در گروههای سنی در ماههای متفاوت

	ماه			
	آبان	آذر	دی	بهمن
دمای آب (درجه سانتیگراد) / سن مولدین نر	۸	۶/۵	۴	۵/۵
۲^+ ساله	۳۱/۵±۱/۶۱ ^{a}	۲۸/۶۲±۰/۷ ^{b}	۲۸/۲۱±۱/۴ ^{b}	۲۵/۱۱±۰/۹ ^{c}
۳^+ ساله	۲۱/۴۲±۰/۷ ^{a}	۱۹/۲۲±۰/۹ ^{b}	۱۸/۱۸±۱/۷ ^{c}	۱۸/۱۲±۰/۳۴ ^{c}
۴^+ ساله	۲۵/۱۱±۰/۷۷ ^{a}	۲۲/۴۳±۰/۱۷ ^{b}	۱۹/۳۲±۰/۳۵ ^{c}	۱۸/۲±۰/۲ ^{d}

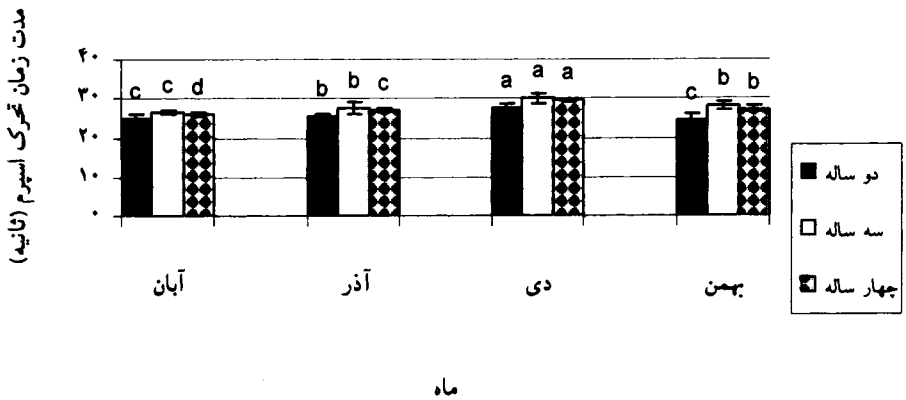
جدول ۲: مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سن و زمانهای مختلف نمونه‌گیری (ثانیه)

ماه نمونه گیری / سن مولدین نر	آبان	آذر	دی	بهمن
۲^+ ساله	۲۴/۸۶±۰/۹ ^{c}	۲۵/۷±۰/۴ ^{b}	۲۷/۷±۱ ^{a}	۲۴/۳±۱/۶ ^{c}
۳^+ ساله	۲۶/۴±۰/۴ ^{c}	۲۷/۵۳±۱/۶ ^{b}	۲۹/۹±۱/۱ ^{a}	۲۸/۰۳±۰/۹ ^{b}
۴^+ ساله	۲۶/۱۱±۰/۳۲ ^{d}	۲۷/۰۲±۰/۳ ^{c}	۲۹/۴۲±۰/۴ ^{a}	۲۷/۲±۰/۸ ^{b}



نمودار ۱: میزان اسپرماتوکریت مولدین نر در گروههای سنی زمانهای متفاوت

magiran.com



نمودار ۲: مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید مولدین نر در گروههای سنی و زمانهای متفاوت

بحث

نتایج حاصل از بررسی درصد اسپرماتوکریت در سنین متفاوت در مولدین نر و مقایسه آنها در ماههای مختلف، نشان می‌دهد که در آبان ماه یعنی ابتدای فصل تکثیر، اسپرماتوزوآ دارای بیشترین تراکم است. با نزدیک شدن به انتهای فصل تکثیر یعنی بهمن ماه، بتدریج تراکم اسپرماتوزوآ در واحد حجم کاهش می‌یابد. نتایج تحقیق لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۵، در بررسی اثر سن مولدین نر قزل‌آلا بر مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید و اسپرماتوکریت و چشم‌زدگی تخمکها نیز تائید کنندهٔ نتایج فوق است. همچنین نتایج تحقیق حاضر مشابه یافته‌های لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۶، در بررسی همبستگی خصوصیات کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت و مدت زمان تحرک) سنین مختلف مولدین نر با میزان باروری و چشم‌زدگی تخمکها در قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد.

نتایج حاصل از مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در سنین و ماههای متفاوت و مقایسه آنها با میزان اسپرماتوکریت در سنین و ماههای مختلف نشان داد که با افزایش میزان اسپرماتوکریت یا تراکم اسپرماتوزوئید در واحد حجم اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید نیز کاهش می‌یابد. اما در دی ماه در هر سه گروه سنی، افزایش در مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید به صورت یک پیک مشاهده می‌شود.

مقایسه مدت زمان تحرک، میانگین دمای آب گارگاه در ماههای متفاوت نشان می‌دهد که کمترین دمای محلول فعال‌کننده و بالاترین دوره تحرک اسپرم در دی ماه رخ می‌دهد بنابراین دما دوره تحرک اسپرماتوزوآ را تغییر می‌دهد و با کاهش دما مدت زمان تحرک اسپرم افزایش می‌یابد (Cosson *et al.*, 1999) و در قابلیت لقاحی اسپرماتوزوئیدها تاثیر عمده‌ای دارد (Billard & Cosson, 1986; علوی، ۱۳۷۹). در آزاد ماهیان، فرکانس ضربات تاژک اسپرماتوزوئید و مدت زمان تحرک در دماهای متفاوت، متغییر می‌باشد (Billard & Cosson, 1992). دماهای بالا فرکانس ضربات اسپرماتوزوئید قزل‌آلا را افزایش می‌دهد اما طول مدت حرکت رو به جلوی اسپرماتوزوئید کاهش می‌یابد (Rurangwa *et al.*, 2004). با کاهش دما تواتر ضربات تاژک اسپرماتوزوئید کمتر و طول دوره تحرک بیشتر می‌شود (Perchec *et al.*, 1995). مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید با دما رابطه عکس دارد، بدین صورت که با افزایش دما مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید بتدریج کاهش می‌یابد. این حالت هم برای مدت زمان کل تحرک در حالتی که ۱۰۰ درصد اسپرماتوزوئیدها تحرک دارند و هم برای حالتی که تقریباً تمام اسپرماتوزوئیدها بی‌حرکت می‌شوند، صادق می باشد (Billard & Cosson, 1992). نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر بخوبی نشان می‌دهد که در طول نمونه‌گیری‌ها و با سرد شدن دمای هوا و آب، طول دوره تحرک افزایش می‌یابد و در این مورد نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققین در مورد رابطه عکس دما و مدت زمان تحرک اسپرم همخوانی دارد.

اثر سن، زمان و تعدد دفعات اسپرم‌گیری و حضور جنس ماده در کنار مولد نر بر روی مقدار اسپرم در ماهی قزل‌آلای

magiran.com

رنگین کمان در سال ۱۹۸۴ توسط Buyukhatipoglu و Holtz مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تحرک اسپرماتوزوئید از زمان شروع فصل تکثیر تا اواسط آن افزایش می‌یابد و بعد از آن شروع به کاهش می‌کند. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

یافته‌های ارزیابی کیفیت منی در آزاد ماهی اقیانوس اطلس *Salmo salar* در سال ۱۹۹۱ توسط Aas و همکاران نشان داد که با تکرار اسپرم‌گیری در طول فصل، تراکم اسپرماتوزوئید بتدریج کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق بر روی قزل‌آلا نیز بدین گونه بوده و نتایج بدست آمده با نتایج Aas و همکاران در سال ۱۹۹۱ همخوانی دارد.

یافته‌های ارزیابی اسپرم در آزاد ماهیان در سال ۱۹۸۴ بوسیله Linhart نشان داد دوره تحرک اسپرماتوزوئید در قزل‌آلاهای جوان بیشتر است. سن مولدین می‌تواند تاثیرات معنی‌داری را بر کیفیت اسپرم داشته باشد (Liley *et al.*, 2002). نتایج این تحقیق نیز مبین این تاثیر می‌باشد.

تولید و کیفیت اسپرم در ماهی کپور در ابتدا و انتهای فصل تکثیر پایین است (Christ *et al.*, 1996). نتایج تحقیق حاضر در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نیز بدین گونه می‌باشد و این تغییرات فصلی را تائید می‌نماید.

نتایج بررسی همبستگی و نوسانات اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید در ماهی *Gadus morhua* در خلال فصل اسپرم‌گیری در سال ۱۹۹۹ توسط Rakitin و همکاران نشان داد که اسپرماتوکریت‌های نرهای ۳ ساله همبستگی معنی‌دار و مثبتی با تراکم اسپرماتوزوئیدهای شمارش شده با Coulter counter یا دستگاه شمارنده سلول دارند. همچنین نوسانات اسپرماتوکریت متاثر از اسپرماتوزوآ می‌باشد، نه اندازه آنها.

اثر سن بر روی کیفیت مایع منی ماهی Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) در سال ۱۹۹۹ توسط Dreanno و همکاران بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که با نزدیک شدن به اواخر فصل تکثیر، میزان تحرک اسپرماتوزوئید کاهش می‌یابد. کارآیی لقاح نمونه‌های اسپرم جمع‌آوری شده در اوایل فصل اسپرم‌گیری بطور معنی‌داری بالاتر از اواخر دوره اسپرم‌گیری ارزیابی شده است. نتایج تحقیق حاضر نیز کاهش میزان تحرک در اواخر فصل تکثیر را نشان می‌دهد.

توان لقاح در ماهی Sockeye (*Oncorhynchus nerka*) salmon و تفاوت اسپرم نرهای مختلف در این ماهی در سال ۲۰۰۱ توسط Hoysak و Liley ارزیابی شد. نتایج این بررسی نشان داد که تفاوت اندکی درتحرک اسپرم گروههای سنی مختلف وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر خلاف نتایج بدست آمده از تحقیق مذکور است و وجود اختلاف در تحرک اسپرم گروههای متفاوت سنی را تائید می‌نماید.

متداول‌ترین روش جهت مشخص نمودن تراکم اسپرماتوزوئید در مایع منی استفاده از لام هماتوسیتومتر است، اما نسبت مواد ته‌نشین شده (سلولهای اسپرماتوزوئید) از مایع منی بعد از سانتریفیوژ یکی از ساده‌ترین و سریع‌ترین روشها جهت سنجش تراکم اسپرماتوزوئید محسوب می‌شود که ارتباط مثبت و معنی‌دار آماری بین میزان اسپرماتوکریت و روش هماتوسیتومتری در ۶ گونه ماهی، *Oncorhynchus mykiss*; *Perca flavescens* ; *Coreogonus clupeaformis* ;*Siganus guttatus* ; *Samo salar* بدست آمده است (Rakitin *et al.*, 1999). اثر سن مولد نر، حضور مولد ماده در کنارمولد نر، تراکم و تحرک اسپرماتوزوئید بر روی کارآیی لقاح آزمایشگاهی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در سال ۲۰۰۲ بوسیله Liley و همکاران بررسی شد. نتایج نشان دادند که تراکم اسپرماتوزوئید، در مایع اسپرمی ماهیان نری که برای اولین بار اسپرم‌دهی می‌کنند (۱ ساله) در مقایسه با ماهیان نر۳ ساله، بالاتر می‌باشد. باوجودی که مدت زمان تحرک در هر دو گروه مولد نر مشابه بود، اما این مدت زمان در دفعات مختلف نمونه‌گیری در طول فصل، روند افزایشی داشت. نتایج تحقیق حاضر در مورد تراکم اسپرماتوزوئید و مدت زمان تحرک نیز با نتایج قبلی همخوانی دارد.

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 اسپرماتوزوئید، تراکم، تعداد کل اسپرماتوزوآ و pH در گروههای سنی مختلف دارای تغییرات زیادی می‌باشد، بدین صورت که با افزایش سن، حجم اسپرم، تحرک اسپرماتوزوئید، مدت زمان فعالیت اسپرماتوزوئید و تعداد کل اسپرماتوزوآ افزایش یافته ولی تراکم آنها کاهش می‌یابد. غلظت اسپرم در ماهیان نر مختلف، متفاوت بوده و حتی در اسپرم‌گیری‌های مختلف در طول یک یا چند هفته نیز متغییر است (Billard, 1992). نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشاندهندهٔ تغییرات مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرماتوزوآ می‌باشد و نتایج ارائه شده توسط Billard در سال ۱۹۹۲ و Liley در سال ۲۰۰۲ و و Tekin این را تائید می‌نماید.

magiran.com

بعنوان جمع‌بندی نهایی می‌توان بیان نمود که با توجه به اینکه اسپرماتوزوآ با توان و دوره فعالیت بالاتر دارای شانس بیشتری برای انجام لقاح می‌باشد (Rurangwa *et al.*, 2004) لذا در سنین بالا و همچنین در اواخر فصل تکثیر که هم دوره تحرک و هم غلظت اسپرماتوزوئید و هم قابلیت لقاحی (Baulain & Holtz, ;Buyukhatipoglu & Holtz, 1984 1991 و Dreanno, 1994) آن کاهش می‌یابد، اثرات تراکم اسپرماتوزوئید را می‌توان با افزایش تحرک آن بهبود بخشید. لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۲، تقویت‌کننده‌های اسپرم را برای سنین بالا که تراکم اسپرم کاهش می‌یابد، پیشنهاد نمودند، همچنین در سال ۱۳۸۵ نیز کلباسی و لرستانی ۱۲ محلول تقویت‌کننده اسپرم را در قزل‌آلای رنگین کمان بررسی نمودند. اکنون با انجام این تحقیق نیز پیشنهاد می‌گردد که علاوه بر استفاده از مولدین نر با سنین بالا، در اواخر فصل تکثیر که کیفیت اسپرم کاهش می‌یابد از تقویت‌کننده‌ها جهت ترمیم این افت کیفیت در تکثیر این ماهی دارای ارزش تجاری جهت افزایش توان تولید در کشور بهره بجوئیم.

منابع

احمدیان، ن. ؛ مجازی امیری، ب. ؛ ابطحی، ب. و نظری، ر.م. ، ۱۳۸۱. استفاده از تقویت‌کننده‌های 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. موسسه تحقیقات شیلات ایران، صفحات ۱۳ تا ۱۵.

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

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

کلباسی، م.ر. و لرستانی، ر. ، ۱۳۸۵. اثر رقیق‌کننده‌های مختلف بر مدت زمان تحرک اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان، صفحات ۱۳۲ تا ۱۴۲.

لرستانی، ر. ؛ احمدی، م. ر. و کلباسی، م. ر. ، ۱۳۸۵. اثر سن مولدین نر قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم‌زدگی. مجله علمی شیلات ایران، سال پانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۵، صفحات ۱۱۹تا ۱۲۸.

لرستانی، ر. ؛ احمدی، م. ر. و کلباسی، م. ر. ، ۱۳۸۶. همبستگی خصوصیات کیفی اسپرم مولدان نر در روند تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus) mykiss*. مجله منابع طبیعی ایران، دانشکده منابع طبیعی تهران، دوره ۶۰، شماره یک، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۱۴۱ تا ۱۵۱.

لرستانی، ر. ؛ احمدی، م. ر. و کلباسی، م. ر. ، ۱۳۸۲. تاثیر محلولهای فعال‌کننده بر افزایش میزان لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم دریایی ایران، دانشگاه تربیت مدرس، صفحات ۶۷ تا ۷۳.

یگانه، س. ، ۱۳۸۱. اثر تقویت‌کننده‌ها بر روی مدت تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری *Mugil cephalus*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، 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.

Baulain, R. and Holtz, W. , 1991. Effect of age and stage of spawning season on output, fertilizing capacity and freezability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperm. *In*: Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Norwich 7-12 July 1991. (eds: A.P. Scott; J.P. Sumpter; D.E. Kime and M.S. Rolte). Sheffield, UK. 287P.

magiran.com

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

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

Billard, R. and Cosson, M.P. , 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo gairdneri*; Effects of pH and temperature. *In*: Reproduction in fish basic and applied aspects in endocrinology and genetics. (eds. B. Breton and Y. Zohar). INRA, Paris, pp.161-167.

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

Buyukhatipoglu, S. and Holtz, W. , 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. Aquaculture, Vol. 37, pp.63-71.

Chowdhury, I. and Joy, K.P. , 2001. Seminal vesicle and testis secretions in *Heteropneustes fossilis* (Bloch): Composition and effects on sperm motility and fertilization. Aquaculture, Vol. 193, pp.355-371.

Christ, S.A. ; Toth, G.P. ; McCarthy, H.W. ; Torsella, J.A. and Smith, M.K. , 1996. Monthly variation in sperm motility in common carp assessed using computer-assisted sperm analysis (CASA). Journal of Fish Biology. Vol. 48, pp.1210-1222.

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. (ed. C. Gagnon). Cache Rive Press, pp.161-186.

Dreanno, C. ; Suquet, M. ; Fauvel, C. ; Coz, J.R.L. ; Dorange, G. ; Quemener, L. and Billard, R. , 1999. Effect of the aging process on the quality of sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) semen. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 15, pp.176-180.

Geffen, A.J. and Evans, J.P. , 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, Vol. 182, pp.61-72.

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 Biology, Vol. 58, pp.1286-1300.

Lahnsteiner, F. ; Patzner, R.A. and Weismann, T. , 1993. Energy resources of spermatozoa of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Pisces, Teleostei). Reproductive Nutrition Development, Vol. 33, pp.349-460.

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 invitro fertilization. Canadian Journal of Fish Aquatics Sciences, Vol. 59, pp.144-152.

Linhart, O. , 1984. Evaluation of sperm in some salmonids. Buletin VURH Vodnany, Vol. 1, pp.20-34.

Morisawa, M. , 1985. Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleosts. Zoology Sciences, Vol. 2, pp.605-615.

Perchec, G. ; Jeulin, C. ; Cosson, J. ; Andre, F. and Billard, R. , 1995. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. Journal of Cell Sciences, Vol. 108, pp.747-753.

Rakitin, A. ; Ferguson, M. and Trippel, E. , 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation

magiran.com

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). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 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 Reproduction, Vol. 66, pp.98-105.

magiran.com

Investigation on the effects of age and time of stripping on spermatocrit and duration of sperm motility in *Oncorhynchus mykiss*

Lorestany R.[(1)*] ; Ahmadi M.R.[(2)] and Kalbassi M.R.[(3)]

1, 3- Fisheries Dept., Faculty of Marine Science, Trbiat Modares University, P.O.Box: 14115-356 Noor, Iran.

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

Received: July 2007 Accepted: June 2008

Keywords: Spermatocrit, Age, Sperm, *Oncorhynchus mykiss*, Kelardasht, Iran

Abstract

The effects of three male age groups (2, 3 and 4 years old) and spawning season on total duration of sperm motility and spermatocrit in November, December, January and February were studied. We found the highest amount of spermatocrit in 2^+ year males, in November (31.50±1.61) and the lowest amount of spermatocrit in the same age group was in February (25.11±0.9). The highest amount of spermatocrit in 3 years old fishes was spotted in November (21.42±0.7), but at this age, there were no significant difference between the level of spermatocrit in January and February. In 4 years old fishes, the highest spermatocrit value was seen in November (25.11±0.77) and the lowest spermatocrit was in February (18.20±0.20), but again with no significant difference between the amount of spermatocrit in January and February. In 2 years males, the highest duration of sperm motility was in January (27.7±1) and February (24.3±1.6), but there were no significant differences between January and February. In 3 years males, the longest duration of sperm motility was seen in January (29.9±1.1) which was highest and significantly different with other age groups. In 4 years old males, January was the month with the longest duration of sperm motility (29.42±0.4), which was also significantly different with other age groups. Duration of sperm motility in all male age groups was lowest in November, and we found it to be 24.86±0.9 at 2^+ years old males, 26.40±0.4) at 3^+ years old males and 26±0.32 at 4^+ years old males. The correlation between the amount of spermatocrit and duration of sperm motility in spawning season was negative and significant (r= 0.642).

* Corresponding author