

بررسی کیفیت شهب مولدین ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) صید شده از رودخانه‌های سردآبرود و تنکابن طی فصل تخم‌ریزی

سعید حاجی‌رضایی^{۱*}، باقر مجازی‌امیری^۲ و علیرضا میرواقفی^۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

^۲ استاد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

^۳ استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۲۷، تاریخ تصویب: ۸۸/۱۲/۲۲)

چکیده

جهت ارزیابی توانایی مولدین نر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) در تولید شهب با کیفیت مناسب، خصوصیات کیفی شهب شامل: میزان تولید اسپرم (حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت)، خصوصیات تحرک اسپرم (درصد و مدت تحرک اسپرم) و pH شهب طی اسپرم‌کشی‌های متوالی در فصل تخم‌ریزی بررسی شدند. در این رابطه، مولدین نر گذاری شده چهار مرتبه طی فصل تخم‌ریزی اسپرم‌کشی شدند. بر اساس نتایج حاصله، با افزایش دفعات اسپرم‌کشی مقادیر حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت کاهش معنی‌داری داشتند. pH شهب و درصد و مدت تحرک اسپرم‌ها نسبتاً ثابت بوده و تنها در آخرین اسپرم‌کشی کاهش معنی‌داری داشتند. بعلاوه روابط مثبت و معنی‌داری بین حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت و نیز بین مدت تحرک اسپرم و pH شهب مشاهده شدند.

کلمات کلیدی: شهب، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت، تحرک اسپرم، ماهی آزاد دریای خزر

مقدمه

این مطالعه خصوصیات کیفی شهب ماهی آزاد خزر شامل: تولید اسپرم (حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت)، خصوصیات تحرک اسپرم و pH شهب طی اسپرم‌کشی‌های متوالی در فصل تخم‌ریزی بررسی شدند. هدف از این مطالعه ارزیابی این موضوع بود که نرهای ماهی آزاد تا چه بازه زمانی از فصل تخم‌ریزی قادر به تولید شهب با کیفیت مناسب می‌باشند. چنین ارزیابی می‌تواند در تعیین نسبت مناسب شهب و تخمک مورد نیاز و متعاقباً افزایش کارایی تکثیر مصنوعی مفید باشد. علاوه بر این؛ به منظور بررسی این که آیا pH شهب می‌تواند شاخصی از کیفیت شهب ماهی آزاد خزر باشد، تغییرات و روابط شاخص‌های تحرک اسپرم با pH شهب بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

مولدین در سال ۱۳۸۶ و با شروع فصل مهاجرت تخم‌ریزی (مهر ماه - آبان ماه) از رودخانه‌های سرداب رود و تنکابن صید و به حوضچه‌های نگهداری مولدین (۹×۳×۱) در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت منتقل شدند. از اواخر آبان ماه مولدین هر هفته به منظور تعیین زمان اسپرم‌دهی در نرها^۱ (اسپرمیشن) بررسی شدند. بدین منظور ماهیان با فشار جزیی دست و ماساژ شکمی معاینه گشته و ۱۱ نر رسیده به سالن تکثیر انتقال یافتند. مولدین نر پس از بیهوشی با ماده MS222 (۱۰۰ ppm) ابتدا زیست‌سنجی و پس از تعیین طول و وزن با حوله تمیز خشک و سپس تگ گذاری شدند. اسپرم‌کشی از نرها به کمک دست و با فشار از ناحیه جلوی شکم به سمت منفذ تناسلی انجام شد. بدین طریق ۱۱ نر تگ گذاری شده به تعداد ۴ بار و با فواصل هر ۱۲-۱۴ روز یکبار تا آخر فصل تخم‌ریزی اسپرم‌کشی شدند (جهت جلوگیری از مخلوط شدن اسپرم با ادرار، مدفوع، آب و خون اسپرم‌کشی با دقت انجام شد تا اختلاطی صورت نگیرد). شهب استحصالی از هر مولد به بشرهای مدرج منتقل گردید و پس از تعیین حجم شهب و pH، مقداری از آن جهت لقاح تخمها در اختیار متصدی بخش تکثیر قرار گرفت و بقیه جهت آنالیز اسپرماتوکریت، تراکم و تحرک اسپرم استفاده شد.

با افزایش روزافزون صنعت آبی پروری در جهان، اهمیت تکثیر مصنوعی گونه‌های هدف و تولید لارو به منظور پرورش و یا بازسازی ذخایر رونق چشمگیری داشته است. تا به امروز، تحقیقات متعددی با هدف افزایش کارایی تکثیر مصنوعی ماهی انجام شده که مهمترین این مطالعات تمرکز بر کیفیت گامت‌ها بوده است. دسترسی به اسپرم و تخمک با کیفیت مناسب و به مقدار کافی در زمان مورد نیاز، عاملی مهم در موفقیت لقاح مصنوعی می‌باشد. ماهی آزاد دریای خزر، (*Salmo trutta caspius*) گونه‌ای رودکوچ و در معرض انقراض می‌باشد (Kiabi et al., 1999) که در حال حاضر تکثیر مصنوعی آن به منظور بازسازی ذخایر آن در بخش جنوبی دریای خزر در دست انجام است. در سال‌های اخیر به واسطه کمبود شدید مولدین این گونه و متعاقباً دسترسی محدود به شهب، استحصال اسپرم از مولدین بیش از یک بار طی فصل تخم‌ریزی صورت می‌گیرد.

مطالعات نشان داده اند که تولید اسپرم اعم از حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت و نیز تحرک اسپرم شامل درصد تحرک و مدت تحرک مهم‌ترین فاکتورهایی می‌باشند که بر قابلیت باروری اسپرم ماهی موثرند و معمولاً جهت ارزیابی کیفیت اسپرم استفاده می‌شوند (Suquet et al., 1982; Billard et al., 1993; Linhart et al., 1994; Krol et al., 2006) علاوه بر این مشخص شده که pH شهب مهمترین عاملی است که در کسب پتانسیل تحرک اسپرم آزاد ماهیان قبل از رهاسازی به محیط تخم‌ریزی نقش دارد (Morisawa & Morisawa, 1988; Billard et al., 1995) و در برخی آزاد ماهیان و سایر گونه‌ها به عنوان معیار کیفیت شهب معرفی شده است (Lahnsteiner et al., 1998; ŞahinÖz et al., 2007)

مطالعات معدودی تغییرات کیفیت شهب آزاد ماهیان را طی اسپرم‌کشی‌های متوالی در فصل تخم‌ریزی گزارش کرده اند (Billard et al., 1971; Büyükhatipoglu & Holtz, 1984; Piironen, 1985; Aas et al., 1992; Suquet et al., 1992) اما طبق اطلاعات ما، تاکنون مطالعه‌ای در مورد تغییرات کیفیت شهب ماهی آزاد دریای خزر طی فصل تخم‌ریزی انجام نشده است. لذا در

۱- Spermiation

۵ ثانیه از مرحله دوم رقیق سازی، ۱ میکرولیتر از محلول به روی لام مستقر در میکروسکوپ نوری ریخته شد و تحرک اسپرم به روش نیمه کمی مورد ارزیابی قرار گرفت (Rurangwa *et al.*, 2004). در این روش، از یک دوربین فیلم برداری متصل به عدسی چشمی میکروسکوپ جهت ثبت اطلاعات استفاده گردید. در نهایت با بازبینی نوارهای ضبط شده؛ مدت تحرک اسپرم به صورت زمان مورد نیاز برای از حرکت ایستادن اسپرمها و همچنین درصد تحرک اسپرمها محاسبه شدند. تنها اسپرمهای با حرکت مستقیم به عنوان متحرک در نظر گرفته شدند و اسپرمهای با حرکت چرخشی به دور محور خود غیر متحرک لحاظ شدند (Aas *et al.*, 1991).

بررسی‌های آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS و Excel استفاده شد. مطابق آزمون کولیموگروف-اسمیرنوف، مقادیر حجم شهب، تراکم اسپرم، مدت تحرک اسپرم و pH شهب نرمال بودند ولی داده‌های درصدی شامل: اسپرماتوکریت و درصد تحرک اسپرم ابتدا به داده‌های نسبتی ($0 \leq P \leq 1$) تبدیل و سپس با فرمول $\text{Arc sin } \sqrt{p}$ نرمال شدند. سپس آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی برای مقایسه میانگینها استفاده شد. همبستگی‌های بین حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت، همچنین بین pH شهب و شاخص‌های تحرک اسپرم با استفاده از تحلیل همبستگی پیرسن بررسی و سپس مدل‌های رگرسیونی خطی و غیر خطی برای همبستگی بین پارامترها تست شدند. همه داده‌ها در این پژوهش به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد از میانگین گزارش شده اند.

نتایج

مقادیر حجم شهب، اسپرماتوکریت (شکل ۱) و تراکم اسپرم (شکل ۲) کاهش معنی‌داری را با افزایش دفعات اسپرم‌کشی نشان دادند ($p < 0.05$). در این رابطه به ترتیب مقادیر حجم شهب، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم از $19/2 \pm 1/8$ میلی‌لیتر؛ $45/6 \pm 1/7$ درصد و $4/4 \pm 0/6$ عدد در

- اسپرماتوکریت

اسپرماتوکریت نمونه‌های شهب مطابق روش (Rurangwa *et al.*, 2004) با لوله‌های موئینه هماتوکریت و به وسیله یک هماتوکریت سانتریفوژ (D-78532, Tuttlingen, Zentrifugen, Germany) اندازه گیری شدند.

- تراکم اسپرم

تراکم اسپرم نمونه‌های شهب، مطابق روش (Caill *et al.*, 2006) به وسیله لام هموسیتومتر و با استفاده از میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری شدند. در این رابطه، ۵ میکرولیتر از هر نمونه شهب با ۵۰۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد رقیق شد (نسبت ۱:۱۰۰۰). پس از اندکی تکان دادن و اطمینان از همگنی مخلوط، ۱ میکرولیتر از مخلوط روی لام هموسیتومتر ریخته شد و سپس اسپرمها در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ شمارش شدند. در نهایت تراکم اسپرم هر نمونه شهب با استفاده از رابطه زیر برآورد شد.

$$X = A \times 10000 \times 1000$$

$X =$ غلظت اسپرم بر اساس تعداد در هر میلی‌لیتر

$A =$ عدد میانگین اسپرمهای یک خانه بزرگ از لام هموسیتومتر.

$10000 =$ ضریب ثابت (برای بدست آوردن تعداد اسپرمها در هر میلی‌لیتر)

$1000 =$ نسبت رقیق سازی

- تحرک اسپرم

به منظور محاسبه تحرک اسپرم، فعال‌سازی اسپرم مطابق روشی که توسط (Billard & Cosson, 1992) برای آزاد ماهیان پیشنهاد شده است طی دو مرحله رقیق‌سازی انجام شد. در این رابطه، ابتدا ۱ میلی‌لیتر از هر نمونه شهب در ۹۹ میلی‌لیتر محلول رقیق کننده شامل: $4/68$ گرم کلرید سدیم، $2/98$ گرم کلرید پتاسیم، $0/11$ گرم کلرید کلسیم و $3/15$ گرم تریس هیدرو کلرید در ۱ لیتر آب و pH ۹ رقیق شد (نسبت ۱:۱۰۰). این محلول مانع از تحرک اسپرم و فقط باعث همگن شدن اسپرم با لزوجت بالا می‌شود). سپس هر نمونه شهب رقیق شده دوباره به نسبت ۱:۲۰ در سرم فیزیولوژی رقیق شد. در مدت زمان کمتر از

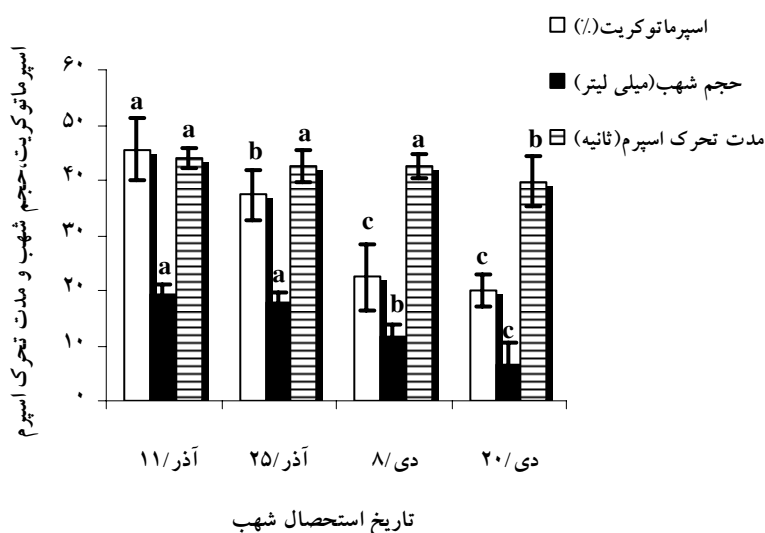
این، روابط مثبت و معنی‌داری بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت، حجم شهب و تراکم اسپرم، حجم شهب و اسپرماتوکریت (جدول ۱) و نیز بین مدت تحرک اسپرم و pH شهب مشاهده شدند. در این رابطه با افزایش مقادیر تراکم اسپرم‌ها مقادیر اسپرماتوکریت شهب افزایش یافت ($p < 0/0001$) (شکل ۴). همچنین با افزایش حجم شهب مقادیر تراکم اسپرم‌ها و اسپرماتوکریت شهب افزایش یافتند ($p < 0/0001$) (شکل ۵ و ۶). بعلاوه، با افزایش مقادیر pH شهب مدت تحرک اسپرم‌ها افزایش یافتند ($p < 0/0001$) (شکل ۷).

اسپرم‌کشی اول به $6/4 \pm 4/2$ میلی لیتر؛ $20 \pm 3/1$ درصد و $1/1 \pm 0/5$ عدد در اسپرم‌کشی چهارم کاهش یافتند. مقادیر pH شهب (شکل ۲)، درصد تحرک (۵ ثانیه پس از فعال شدن اسپرم) (شکل ۳) و مدت تحرک اسپرم (شکل ۱) تا سومین اسپرم‌کشی تغییر معنی‌داری نداشتند ($p > 0/05$) ولی کاهش معنی‌داری را در آخرین اسپرم‌کشی نشان دادند ($p < 0/05$). همچنین در هر مرحله اسپرم‌کشی در صد تحرک اسپرم‌ها پس از فعال شدن کاهش یافته به طوری که به ترتیب در اسپرم‌کشی‌های اول، دوم، سوم و چهارم در زمان‌های ۴۴، ۴۲/۶، ۴۲/۴ و ۳۹/۸ ثانیه بعد از فعال شدن همه اسپرم‌ها غیر متحرک شدند (شکل ۳). علاوه بر

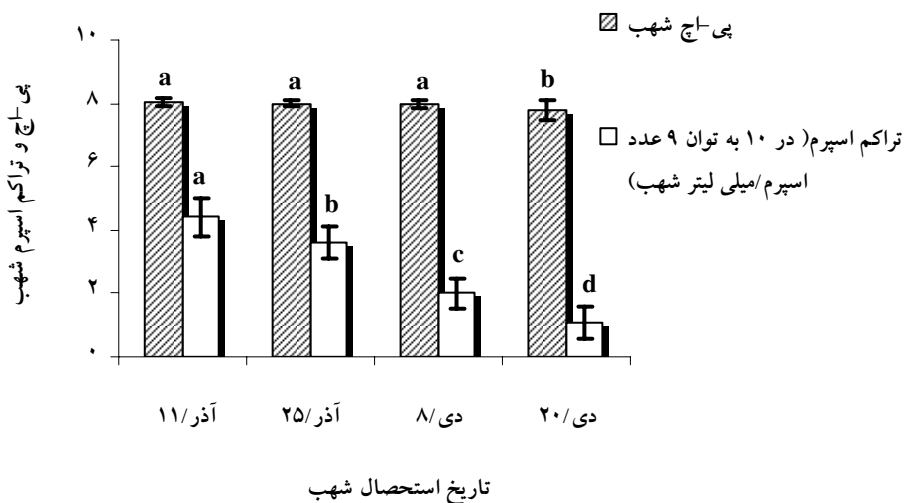
جدول ۱- ضریب همبستگی پیرسون بین پارامترهای شهب ماهی آزاد دریای خزر (علامت × نشان‌دهنده عدم همبستگی بین پارامترهاست).

پارامترها	اسپرماتوکریت	تراکم اسپرم	حجم شهب	شهب	مدت تحرک اسپرم‌ها
اسپرماتوکریت (%)	---	0/979	0/820	*	*
تراکم اسپرم ($\times 10^9$ عدد اسپرم/ میلی لیتر شهب)	0/979	---	0/851	*	*
حجم شهب	0/820	0/851	---	*	*
pH شهب	*	*	---	---	0/690
مدت تحرک اسپرم‌ها (ثانیه)	*	*	*	0/690	---

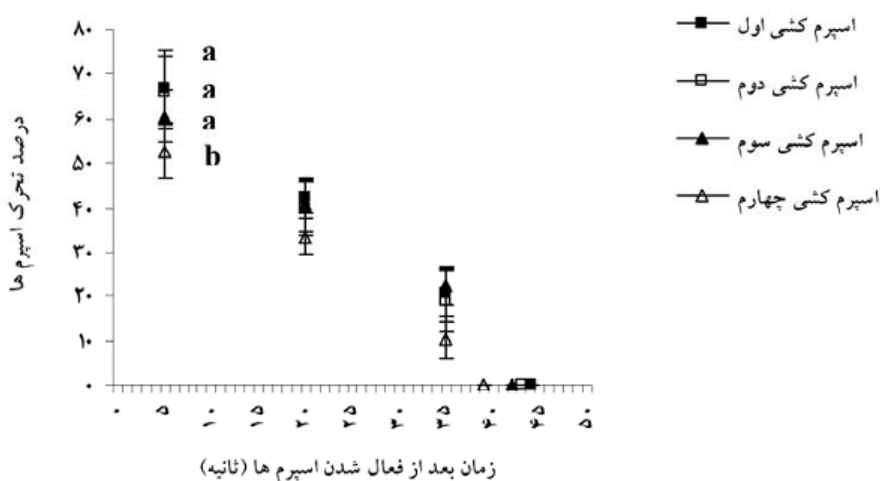
- سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.



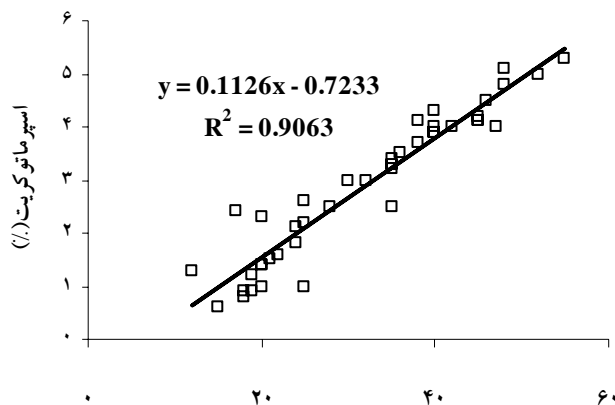
شکل ۱- تغییرات مقادیر اسپرماتوکریت، حجم شهب و مدت تحرک اسپرم طی چهار مرتبه اسپرم‌کشی از ماهی آزاد دریای خزر در طول فصل تخم‌ریزی (عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها به صورت حروف مشابه مشخص شده است). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.



شکل ۲ تغییرات مقادیر تراکم اسپرم $\times 10^9$ عدد اسپرم/میلی لیتر شهب و pH شهب طی چهار مرتبه اسپرم‌کشی از ماهی آزاد دریای خزر در طول فصل تخم‌ریزی (عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها به صورت حروف مشابه مشخص شده است). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم اسپرم فاقد شهب بودند.

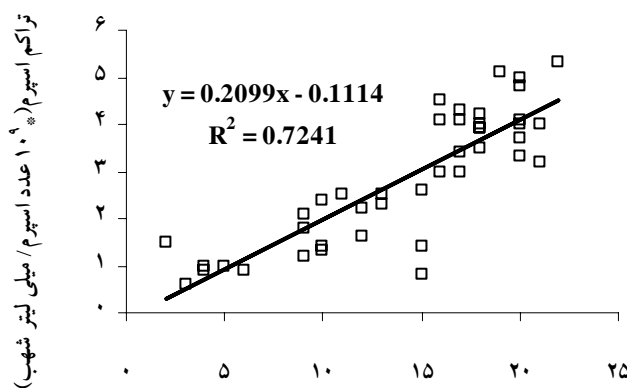


شکل ۳- تغییرات درصد تحرک اسپرم بعد از فعال شدن در محلول فعال‌سازی طی چهار مرتبه اسپرم‌کشی از ماهی آزاد دریای خزر در طول فصل تخم‌ریزی (عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌های درصد تحرک اسپرم ۵ ثانیه بعد از فعال شدن به صورت حروف مشابه مشخص شده است). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.



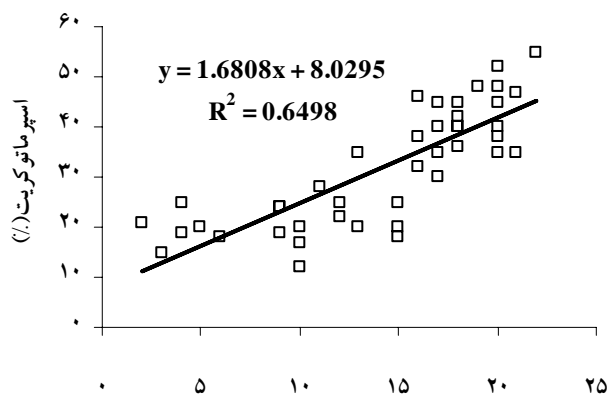
تراکم اسپرم (* 10^9 عدد اسپرم/میلی لیتر شهب)

شکل ۴- رابطه بین اسپرما توکریت و تراکم اسپرم شهب ماهی آزاد دریای خزر ($p < 0.0001$). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.



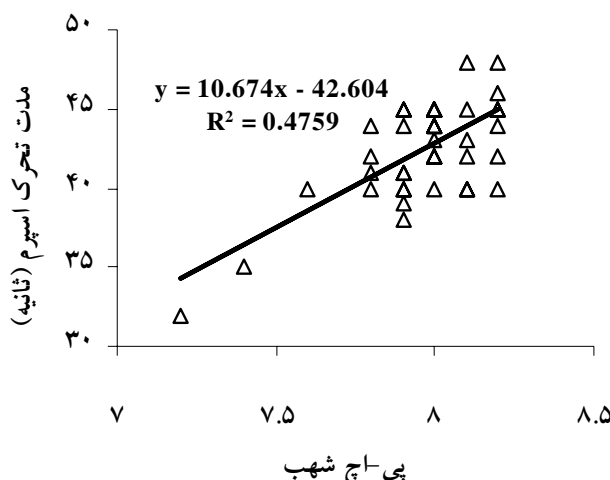
حجم شهب (میلی لیتر)

شکل ۵- رابطه بین حجم شهب و تراکم اسپرم شهب ماهی آزاد دریای خزر ($p < 0.0001$). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم اسپرم فاقد شهب بودند.



حجم شهب (میلی لیتر)

شکل ۶- رابطه بین حجم شهب و اسپرما توکریت شهب ماهی آزاد دریای خزر ($p < 0.0001$). سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.



شکل ۷ رابطه بین pH شهب و مدت تحرک اسپرم ماهی آزاد دریای خزر ($P < 0.0001$).
سه ماهی در اسپرم‌کشی چهارم فاقد شهب بودند.

متعاقباً کاهش تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت می شود (Piironen, 1985). فرآیند جذب آب توسط بیضه طی پروسه اسپرمییشن چینوک سالمون نیز تایید شده است (Morisawa et al., 1979)؛ اما به دلیل همبستگی مثبت بین حجم شهب و اسپرماتوکریت و نیز روند کاهش حجم شهب طی اسپرم‌کشی های متوالی در ماهی آزاد خزر به نظر می‌رسد که کاهش اسپرماتوکریت شهب ماهی آزاد خزر طی فصل تخم‌ریزی بیشتر ناشی از کاهش نرخ اسپرمییشن باشد تا افزایش ترشح مایع اسپرمی یا جذب آب توسط بیضه‌ها. از طرفی همبستگی نزدیک و مثبت بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت می‌تواند گویای این مطلب باشد که تغییرات فصلی اسپرماتوکریت شهب ماهی آزاد خزر از تغییر تعداد سلول‌های اسپرم، نه از تغییر اندازه آنها ناشی می‌شود. تنها (Billard et al., 1995) تغییرات سالانه اندازه اسپرم را در سی بس^۲ و هالیبوت^۳ گزارش کرده‌اند. همچنین با توجه به این همبستگی و سهولت اندازه‌گیری اسپرماتوکریت؛ به نظر می‌رسد که نسبت به تعیین تراکم اسپرم به وسیله لام هموسیتومتر اسپرماتوکریت می‌تواند معیار مناسبتری جهت برآورد کمیت تولید اسپرم در ماهی آزاد خزر باشد. رویهم رفته،

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق، ۱۱ مولد ماهی آزاد خزر چهار بار و با فواصل ۱۴-۱۲ روز از اواخر آبان ماه تا اواخر دی ماه اسپرم‌کشی شدند که این مطلب گویای دوره اسپرم‌دهی^۱ تقریباً دو ماهه در این گونه است. همچنین در این دوره دو ماهه مشخص شد که با افزایش دفعات استحصال شهب طی فصل تخم‌ریزی، مقادیر حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت به تدریج کاهش می‌یابد. چنین روند کاهش در آتلانتیک سالمون (Aas et al., 1991) و نیز تراکم اسپرم تاس ماهی ایرانی (Alavi et al., 2006) نیز گزارش شده است هرچند که این پارامترها به ترتیب روند افزایشی را طی اسپرم‌کشی های هفتگی و دو هفته یکبار از لندلک سالمون (Piironen, 1985) و قزل‌آلای رنگین کمان (Sanchez-Rodriguez et al., 1971) نشان دادند. سه عامل احتمالی شامل افزایش جذب آب توسط بیضه‌ها، افزایش ترشح مایع اسپرمی و کاهش نرخ اسپرمییشن ممکن است عوامل کاهش اسپرماتوکریت شهب ماهی آزاد خزر طی فصل تخم‌ریزی باشند. جذب آب توسط بیضه‌ها می‌تواند به دلیل اسمولالیتیه بسیار پایین آب شیرین باشد که این فرآیند باعث رقیق شدن شهب و

۲- Seabass, *Dicentrarchus labrax*

۳- Halibut, *Hippoglossus hippoglossus*

۱- Spermiation period

چینوک سالمون^۱، قزل‌آلای رنگین کمان و چوم سالمون (Morisawa & Morisawa, 1986, 1988; Billard *et al.*, 1995; Ingermann *et al.*, 2002) نیز گزارش شده اند.

Billard *et al.* (1988) و Morisawa & Morisawa (1988) (1995) پیشنهاد کرده اند که ترشح یون بیکربنات به داخل مایع اسپرمی در زمان رسیدگی نهایی اسپرم و متعاقباً افزایش pH شهب همزمان با عبور آن از لوله اسپرم بر می‌تواند مهم‌ترین عامل کسب پتانسیل تحرک اسپرم قزل‌آلای رنگین کمان و چوم سالمون باشد. لذا ممکن است همبستگی مثبت بین pH شهب و مدت تحرک اسپرم ماهی آزاد خزر برخاسته از نقش pH بالا در کسب پتانسیل تحرک اسپرم باشد. از طرفی پایین بودن سطوح pH شهب در اواخر فصل تخم‌ریزی ماهی آزاد خزر (چهارمین اسپرم‌کشی) احتمالاً ناشی از نقصان فعالیت سلول‌های اپیتلیالی لوله اسپرم بر در ترشح یون بیکربنات باشد؛ چرا که در ماهیان تشکیل مایع اسپرمی اعم از مواد آلی و معدنی حاصل عمل ترش‌حی سلول‌های اپیتلیالی لوله اسپرم بر است (Marshall, 1986, 1989; Lahnsteiner *et al.*, 1993, 1994). در مجموع با توجه به رابطه pH شهب و مدت تحرک اسپرم ماهی آزاد خزر به نظر می‌رسد که pH شهب می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های برآورد کیفیت شهب در این گونه مطرح باشد. معرفی pH به عنوان معیار برآورد کیفیت شهب در دیگر گونه‌های ماهی مانند قزل‌آلای رنگین کمان (Lahnsteiner *et al.*, 1998)؛ مار ماهی خاردار (ŞahinÖz *et al.*, 2007) نیز گزارش شده است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان لازم می‌دانند که از مدیریت محترم مجتمع تکثیر ماهیان سردابی کلاردشت آقای مهندس رضوانی و کادر آن مرکز تشکر و قدردانی کنند. همچنین از مهندس

الگوی‌های متفاوت تولید شهب طی فصل تخم‌ریزی ممکن است ناشی از تغییر احتمالی متغیرهای فیزیولوژیکی و یا محیطی در طول فصل تخم‌ریزی و اثرات آن‌ها بر پروسه اسپرمی‌شن گونه‌های ماهی باشد. آگاهی از الگوهای تغییر تولید اسپرم اعم از حجم شهب، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت طی فصل تخم‌ریزی و نیز روابط بین آنها می‌تواند جهت بهینه کردن نسبت شهب به تخم در زمان لقاح استفاده شود. به عنوان مثال در این تحقیق، به لحاظ تئوری می‌توان گفت که حجم معینی از شهب استحصالی در اسپرم‌کشی اول به دلیل تراکم اسپرم بالاتر قادر به بارورسازی مقادیر بیشتری تخم است در حالی که همان حجم شهب در اسپرم‌کشی چهارم به دلیل تراکم پایین اسپرم (حدود یک چهارم) تعداد کمتری تخم را می‌تواند لقاح دهد. اگرچه عملاً تاکنون مطالعه‌ای در مورد تعیین نسبت بهینه تراکم اسپرم و تخم در زمان لقاح و تاثیر آن روی کارایی لقاح در ماهی آزاد خزر انجام نشده است. علاوه براین، تعیین میزان تولید شهب توسط هر مولد نر طی دفعات اسپرم‌کشی امکان برآورد تقریبی میزان شهب قابل حصول از مولدین را طی فصل تخم‌ریزی فراهم می‌کند. در این تحقیق پس از فعال‌سازی اسپرم‌ها در محلول فعال‌سازی، با گذشت زمان درصد تحرک اسپرم‌ها در هر نمونه شهب کاهش یافت که این مهم می‌تواند ناشی از کاهش منابع انرژی اسپرم به خصوص ATP طی زمان باشد. چنانچه این مطلب در سایر گونه‌های ماهیان استخوانی اثبات شده است (Christen *et al.*, 1987; Perchecet *et al.*, 1995). علاوه بر این مشخص شد که pH شهب و شاخص‌های تحرک اسپرم شامل درصد و مدت تحرک در اسپرم‌کشی آخر پایین تر از اسپرم‌کشی‌های اول، دوم و سوم اند. همچنین همبستگی مثبتی بین pH شهب و مدت تحرک اسپرم ثبت شد. چنین همبستگی‌هایی بین pH شهب و درصد و مدت تحرک اسپرم در قزل‌آلای رنگین کمان (Lahnsteiner *et al.*, 1998) و بین pH شهب و مدت تحرک اسپرم در

۱- Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)

منابع

- Aas, G. H., Refstie, T., Gjerde, B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture* 95, 125–132.
- Alavi, S. M. H., Cosson, J., Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in (*Acipenser persicus*) in relation to sequential stripping. *Journal of Applied Ichthyology* 22, 400-405.
- Billard, R., Cosson, J., Crime, L., 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm, *Aquatic Living Resources* 6, 67–75.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L. W., Suquet, M., 1995. Sperm physiology and quality. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds), *Brood Stock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science, Oxford, pp.25–52.
- Billard, R., Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *Journal of Experimental Zoology* 261,122–131.
- Billard, R., Breton, B., Jalabert, B., 1971. La production spermatogknetique chez la truite, *Annual Biology of Animals' Biochemistry and Biophysics* 11, 199-212.
- Büyükhapoglu, S., Holtz, W., 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females, *Aquaculture* 37, 63–71.
- Caille, N., Rodina, M., Kocour, M., Gela, D., Flajshans, M., Linhart, O., 2006. Quality, motility and fertility of tench (*Tinca tinca*) sperm in relation to LHRH analogue and carp pituitary treatments, *Aquaculture International* 4, 75–87.
- 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* 166,667-671.
- Ingermann, R. L., Bencic, D.C., Gloud, J. G., 2002. Low seminal plasma buffering capacity corresponds to high pH sensitivity of sperm motility in salmonids, *Fish Physiology and Biochemistry* 24, 299–307.
- Kiabi, B. H., Abdoli, A., Naderi, M., 1999. Status of fish fauna in the south Caspian basin of Iran, *Zoology in the Middle East* 18, 57–65.
- Linhart, O., Billard, R., Proteau, J. P., 1994. Cryopreservation of European catfish (*Silurus glanis L.*) spermatozoa, *Aquaculture* 115,340–359.
- Krol, J., Glogowski, J., Demska-Zakes, K., Hliwa, P., 2006. Quality of semen and histological analysis of testes in Eurasian perch (*Perca fluviatilis L.*) during a spawning period, *Czech Journal of Animal Sciences* 51, 220–226.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R. A., Weismann, T., 1993. The testicular main duct and the spermatic duct in some Cyprinid fishes II. Composition of seminal fluid, *Journal of Fish Biology* 44,459–467.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R. A., Weismann, T., 1994. The testicular main duct and the spermatic duct in cyprinid fishes I. Morphology, fine structure and histochemistry, *Journal of Fish Biology* 44,937–951.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R. A., 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout by sperm motility, seminal plasma parameters and spermatozoal metabolism, *Aquaculture* 163,163–181.

- Marshall, W.S., 1986. Sperm duct epithelium of the brook trout (*Salvelinus alpinus*): Na⁺ transport and seminal plasma composition, Canadian Journal of Zoology 64, 1827–1830.
- Marshall, W. S., Bryson, S.E., Idler, R. D., 1989. Gonadotropin stimulation of K⁺ secretion and Na⁺ absorption by sperm duct epithelium, Genetics and Comparative. Endocrinology 75,118–128.
- Morisawa, S., Morisawa, M., 1988. Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon, Journal of Experimental Biology 136,13–22.
- Morisawa, M., Hirano, T., Suzuki, K., 1979. Changes in blood and seminal plasma composition of the mature salmon (*Oncorhynchus keta*) during adaptation to freshwater, Comparative Biochemistry and Physiology 64,325–329.
- Morisawa, S., Morisawa, M., 1986. Acquisition of potential for motility in rainbow trout and chum salmon, Journal of Experimental Biology 126,89–96.
- Perchee, G., Jeulin, C., Cosson, I., Andre, F., Billard, R., 1995. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa, Journal of Cell Science 108, 747-753.
- Piironen, J., 1985. Variation in the properties of milt from the Finnish landlocked salmon (*Salmo salar m. sebago Girard*) during a spawning season, Aquaculture 48,337–350.
- Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish, Aquaculture 234, 1–28.
- ŞahinÖz, E., Aral, F., Doğu, Z., 2007. Changes in Mesopotamian spiny eel, (*Mastacembelus mastacembelus*) (Bank & Solender in Russell, 1794) (*Mastacembelidae*) milt quality during a spawning period, Theriogenology 67, 848–854.
- Suquet, M., Omnes, M. H., Fauvel, C., 1982. Rapid assessment of sperm quality in Turbot. (*Scophthalmus maximus*), Aquaculture 101,177–185.
- Sequet, M., Omnes, M. H., Normant, Y., Fauvel, D.K., 1992. Assessment of sperm concentration and motility in Turbot, (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture 101, 177–185.
- Sanchez-Rodriguez, M., Escaffre, A. M., Marlot, S., Reinaud, P., 1978. The spermiation period in rainbow trout_ (*Salmo gairdneri*). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes in the seminal fluid. Annual Biology of Animals' Biochemistry and Biophysics 18, 943–948.

Investigation of milt quality of captured Caspian brown trout, (*Salmo trutta caspius*) brooders from Sardabrud and Tonekabon rivers during the spawning season

S. Hajirezaee^{1*}, B. Mojazi Amiri² and A. R. Mirvaghefi³

¹ Graduated of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

² Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran.

³ Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran.

(Received: 18 07 2009, Accepted: 13 03 2010)

Abstract

To evaluate the ability of Caspian brown trout males (*Salmo trutta caspius*,) in production of semen with desirable quality, the quality characteristics of semen including: sperm production (semen volume, sperm density and spermatocrit), sperm motility characteristics (percentage and duration of motility) and semen pH were investigated during the sequential strippings in the spawning season. In this regard, the tagged males were stripped four times during the spawning season. According to the data, the values of semen volume, sperm density and spermatocrit showed a significant decrease towards the end of the season ($p < 0.05$). The semen pH, the duration and percentage of sperm were comparatively stable ($p > 0.05$) and only a significant decrease was recorded for these parameters at the end of the season ($p < 0.05$). As well as, significant positive relationships were found for semen volume vs. sperm density ($p < 0.0001$); semen volume vs. spermatocrit ($p < 0.0001$); spermatocrit vs. sperm density ($p < 0.0001$); the pH of semen vs. the duration of motility ($p < 0.0001$).

Key words: semen, sperm density, spermatocrit, sperm motility, Caspian brown trout

*Corresponding author: Tel: +98 936 5976145 , Fax: +98 261 2245908 , E-mail: S.Hajirezaee@gmail.com