

اثر فواصل بین اسپرم گیری بر میزان چشم زدگی تخم و پارامترهای کیفی اسپرم قزل آلی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

محمد رضا کلباسی^{۱*}، رضا لرستانی^۱، شهربانو حسینی^۲

^۱ نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات

^۲ لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۱۵

چکیده

در این تحقیق اثر فواصل اسپرم گیری بر میزان چشم زدگی تخم و پارامترهای کیفی اسپرم در مولدین ۳ ساله قزل آلی رنگین کمان در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان کلاردشت بررسی شد. کارآیی مولدین نر در سه تیمار که فواصل بین اسپرم گیری در آنها به ترتیب، هر ۷ روز یکبار، هر ۱۰ روز یکبار و هر ۱۴ روز یکبار بود، بررسی گردید. مدت زمان تحرک اسپرم در مولدین نری که هر هفته یکبار اسپرم گیری شدند، بالاترین میزان بود (ثانیه 267.5 ± 1.2) ولی میزان غلظت اسپرم در این مولدین در مقایسه با دو گروه دیگر کمتر بود (۰/۹ درصد ± 3.8). همچنین چشم زدگی تخمهای حاصل از اسپرم این مولدین، کمترین میزان بود (۱/۱ درصد ± 8.0) که اختلاف معنی داری را با دو گروه دیگر نشان داد. جمع بندی نهایی مؤید آن است که در اسپرم گیری متوالی از ماهیان مولد ۳ ساله، اسپرم گیری هفتگی، باعث افت کیفی اسپرم در اثر تداوم اسپرم گیریها خواهد شد اما زمانی که این فاصله به دو هفته افزایش یابد، فرصت بازسازی فرآیند اسپرماتوزیس و تولید اسپرم با کیفیت بالا به مولدین داده خواهد شد.

واژه های کلیدی: اسپرم، تحرک، قزل آلی رنگین کمان، کلاردشت.

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۱۲۲۰۴۳۳۶، پست الکترونیکی: kalbassi_m@yahoo.com

مقدمه

تراکم آن می باشد، که به تعداد اسپرم در واحد حجم تعریف می شود. غلظت اسپرم در ماهیان نر مختلف، متفاوت بوده و حتی در اسپرم گیریهای مختلف در طول یک یا چند هفته متغیر است (۱۱). بین میزان اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم به دست آمده از هماتوسیتومتر، ارتباط معنی داری وجود دارد. از طرف دیگر پارامترهای متفاوتی از قبیل طول کل مدت زمان تحرک، حرکت رو به جلو، میزان اسپرماتوکریت و غلظت سلولهای اسپرم، محتوی ATP، میزان یونهای موجود در پلاسمای منی و همچنین فعال کننده ها، ترکیبات پلاسمای منی همه از عواملی هستند که می توانند کیفیت اسپرم را

در تکثیر مصنوعی ماهیان معمولاً کیفیت تخمکها و لاروها بیشتر از کیفیت اسپرم مورد توجه واقع می شود، این در حالی است که کیفیت هر دو گامت یعنی اسپرم و تخمک بر موفقیت لقاح و بازماندگی لارو تأثیر می گذارد. در بعضی از گونه ها کیفیت ضعیف اسپرم می تواند به عنوان یک فاکتور محدود کننده در کشت آنها بروز کند. اگر چه راههای متعددی جهت بررسی کیفی اسپرم پیشنهاد شده است، اما سنجش تحرک اسپرم جهت این امر بسیار مورد استفاده قرار گرفته و شرط لازم جهت انجام لقاح بوده و تحرک جهت انجام موفق لقاح به شدت با آن ارتباط دارد (۲۱). از فاکتورهای مؤثر در تعیین کیفیت اسپرم، غلظت یا

مجموع ۲۴ مولد انتخاب شده به سه دسته (۸ قطعه در هر گروه) تقسیم شده و ۳ استخر بتونی با جریان ثابت در طول دوره دو ماهه تحقیق نگهداری شدند. در طول دوره تحقیق از سه دسته جداسازی شده مولدین نر ۳+ ساله، دسته اول یک هفته یکبار (۸ بار در طول دوره)، دسته دوم ۱۰ روز یکبار (۶ بار در طول دوره) و دسته سوم هر ۲ هفته یکبار (۴ بار در طول دوره) اسپرم‌گیری شدند. پس از پایان دوره تحقیق جهت انجام لقاح، در یک مقطع زمانی استحصال اسپرم در هر ۳ تیمار مولدین نر صورت پذیرفت. جهت انجام عملیات تکثیر از مخلوط تخمکهای ۵ مولد ماده استفاده شد. در ابتدا ماهیهای ماده را به وسیله ماده (تریکائین متانو سولفانات) MS222 بیهوش نموده و تخمکهای مورد نیاز جهت لقاح تهیه گردید. جهت یکسان شدن شرایط تکثیر برای تمام تیمارها، تخمکهای استحصال شده از ماهیان ماده در یک ظرف پلاستیکی مخلوط شدند (۱۷). از تمامی ۲۴ مولد نر به کار رفته در هر ۳ تیمار، به صورت جداگانه استحصال اسپرم صورت گرفت و اسپرمها در ۲۴ پلیت جداگانه (۸ پلیت در هر گروه) نگهداری شدند. پلیتهای حاوی اسپرم به همراه مخلوط تخمکهای استحصال شده از مولدین ماده درون یونولیتی که کف آن پودر یخ (جهت حفاظت از گامتها) بود، قرار گرفتند و به سالن تکثیر انتقال یافتند و سپس اسپرمهای هر تیمار به میزان مساوی مخلوط شدند و نهایتاً ۳ پلیت حاوی اسپرم به دست آمد که هر پلیت مربوط به هر یک از سه تیمار بود و هر پلیت حاصل مخلوط نمودن اسپرم ۸ مولد نر و به میزان مساوی بود. مایع سلومیک تخمکهای مخلوط شده مولدین ماده با استفاده از تنظیم، جدا گردید. جداسازی مایع سلومیک جهت جلوگیری از خطا صورت گرفت زیرا مایع سلومیک خود یک فعال کننده اسپرم می باشد (۹). جهت انجام هر لقاح، ۵۰ میلی لیتر از مخلوط تخمکها را جدا نموده و در ظروف پلاستیکی متوسط قرار داده و برای هر ظرف، ۵/۰ سی سی اسپرم از پلیت مربوطه یا مخلوط اسپرم مولدین نر مربوط به هر تیمار برداشته شده و با

تحت تأثیر قرار دهند (۷، ۱۱ و ۲۱) کیفیت منی از فاکتور هایی است که می تواند میزان لقاح را تحت تأثیر قرار دهد و می توان از آن به عنوان عامل مؤثر باروری تخمکها نام برد (۷). تحرک اسپرماتوزوآ به عنوان یکی از فاکتور های ارزیابی کیفی آن، نقش مهمی در موفقیت عملیات لقاح مصنوعی ایفاء می کند (۱۰ و ۱۵). زیرا مدت زمان تحرک اسپرم نشان دهنده زمان فعال برای عمل لقاح می باشد (۴). فواصل بین اسپرم‌گیریها و سن مولدین نر نیز می تواند بر فاکتورهای کیفی اسپرم تأثیر گذار باشند که آنها نیز در کارایی تکثیر قزل آلا دخیل می باشند (۵).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر فواصل زمانی بین اسپرم‌گیریها در مولدین نر ۳+ ساله می باشد که در کارگاههای تکثیر به فراوانی استفاده می گردد. با انجام تحقیق حاضر اثر فواصل زمانی بین اسپرم‌گیریها بر میزان غلظت اسپرم، دوره تحرک اسپرم و اثر پارامترهای یاد شده بر کارایی چشم زدگی قزل آلا رنگین کمان، بررسی می گردد تا با یافتن زمان مناسب بین اسپرم‌گیری از مولدین این سن، از کاهش توان لقاحی اسپرم این مولدین جلوگیری شود.

مواد و روشها

تحقیق حاضر در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت انجام شد. جداسازی و انتخاب مولدین نر در ابتدای فصل تکثیر قزل آلا رنگین کمان صورت گرفت. با توجه به اینکه سنهای مختلف ماهی نر قزل آلا رنگین کمان در استخر های جداگانه نگهداری می شوند، انتخاب اولیه ماهی از ماهیان موجود در استخرهای متفاوت، در سطح سنی ۳+ ساله به وسیله ساچوک و به طور تصادفی انجام گردید. میانگین طولی و وزنی ماهیان مورد استفاده در این تحقیق به ترتیب $42/18 \pm 0/24$ سانتیمتر و $23/42 \pm 146$ گرم بود. از مولدین انتخاب شده در قسمت زیر باله پشتی و بالاتر از خط جانبی به وسیله پنس فلس تهیه شد و تعیین سن صورت گرفت (۲).

داده های حاصل از انجام تحقیق با استفاده از نسخه ۱۱/۵ نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این خصوص ابتدا تأیید نرمال بودن داده ها توسط آزمون کولموگراف اسمیرنف صورت گرفت و سپس برای آنالیز داده های میزان چشم زدگی، اسپرمتوکریت و مدت زمان تحرک اسپرمهای مولدین در سطوح متفاوت مورد مطالعه در مولدین نر ۳+ ساله از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. در صورت مشاهده اختلاف بین داده ها از آزمون چند دامنه ای دانکن جهت مقایسه میانگینها در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید.



نمودار ۱- اثر فواصل بین اسپرم گیری بر مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه) ماهی قزل آلائی رنگین کمان

نتایج

همانطور که در نتایج حاصل از نمودار ۱ مشاهده می شود، مدت زمان تحرک اسپرم در مولدین نر ۳ ساله ای که به طور هفتگی اسپرم گیری شده اند، بالاترین میزان می باشد و این میزان معادل $26/5 \pm 1/2$ ثانیه بود و اختلاف معنی داری را با اسپرم گیریهای ۱۰ روز یکبار و هر دو هفته یکبار نشان داد. زمانی که اسپرم گیری در مولدین نر ۳ ساله به طور هر ۱۰ روز یکبار و هر دو هفته یکبار صورت گرفت، بین گروههای یاد شده اختلاف معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نشد و این میزان به ترتیب معادل $24/5 \pm 0/7$ ثانیه و $23 \pm 0/8$ ثانیه بود (نمودار ۱ و جدول ۱). زمانی که از مولدین نر ۳ ساله هر دو هفته یکبار اسپرم گیری می شد (نمودار ۲)، بالاترین میزان اسپرمتوکریت در بین گروهها مشاهده گردید و از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با دو گروه دیگر وجود داشت. در اسپرم گیری

تخمکهای موجود در آن کاملاً مخلوط گردید. به منظور فعال سازی اسپرم و انجام عمل لقاح ۵ سی سی آب به هر ظرف اضافه و به مدت ۲ دقیقه کاملاً هم زده شد تا لقاح کامل گردد. سپس جهت حذف اسپرمهای اضافه و پوسته ها، تخمهای موجود در هر ظرف، به دقت شستشو شدند. تخمکهای لقاح یافته موجود در ظروف پلاستیکی بعد از شستشو، در آبکشهایی که قبلاً شماره گذاری شده بودند، قرار گرفته و جهت جذب آب به مدت ۵/۰ ساعت در تراف (محل قرارگیری سینیهای انکوباسیون) قرار گرفتند و پس از جذب آب به انکوباتورها انتقال یافتند (شرایط معمول کارگاه). به منظور محاسبه میزان اسپرمتوکریت از اسپرم مولدین به طور انفرادی نمونه برداری به وسیله لوله میکروهماتوکریت انجام گرفت (۷، ۱۹ و ۲۳). سپس نمونه ها به وسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ (۷، ۱۶ و ۱۹) به مدت ۵ دقیقه و با دور ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شدند و بعد میزان اسپرمتوکریت هر نمونه مشخص شد (۲۴). به منظور سنجش مدت زمان تحرک اسپرم یک قطره اسپرم را روی لام در زیر میکروسکوپ قرار داده و یک قطره آب مقطر را با آن مخلوط نموده و مدت زمان تحرک اسپرم بلافاصله با استفاده از کرنومتر ثبت گردید مدت زمان تحرک اسپرم تا زمانی که تحرک ۹۹ الی ۹۵ درصد میزان سلولها متوقف شوند در نظر گرفته شد (۱، ۴، ۶، ۷، ۹، ۱۴ و ۱۶).

حدود ۱۹ روز پس از لقاح، با روش شوک دهی (۳ و ۷) تخمهای چشم زده از تخمهای تلف شده مشخص گردید. بدین منظور پس از خروج محتوی تخمها به وسیله سیفون از داخل سینیهای درون تراف، تخمها را از فاصله ۲۰ سانتیمتری در سینی دیگری تخلیه کرده، طی این عمل تخمهای لقاح نیافته یا تلف شده، سفید شده و تغییر رنگ می دهند. تخمهای تلف شده با استفاده از پوار جمع آوری شده و مورد شمارش قرار گرفتند. تخمهای چشم زده نیز در این مرحله به دقت شمارش شدند و میزان بازماندگی تخمها تا مرحله چشم زدگی محاسبه و ثبت گردید.

روز یکبار و دو هفته یک بار اختلاف معنی داری را در میزان چشم زدگی با هم ندارند و این میزان به ترتیب معادل $1/7 \pm 85$ درصد و $1/9 \pm 86/5$ درصد بود، در حالی که نتایج اسپرم گیری هفتگی به شکل معنی داری بر میزان چشم زدگی تخمکها اثر داشته است ($1/1 \pm 80/6$ درصد) و اختلاف معنی داری را با دو گروه دیگر دارد (نمودار ۳ و جدول ۱).

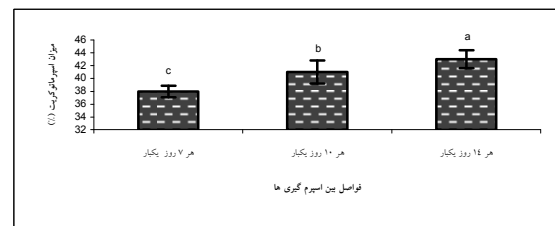
هفتگی کمترین غلظت اسپرم با میزان $38 \pm 0/9$ درصد مشاهده شد و این گروه نیز با دو گروه دیگر اختلاف معنی داری را از لحاظ آماری نشان داد و زمانی که از مولدین نر هر ۱۰ روز یکبار اسپرم گیری صورت پذیرفت، این میزان معادل $1/8 \pm 41$ درصد و حد بینابین دو گروه دیگر بود (نمودار ۲ و جدول ۱). نتایج میزان چشم زدگی تخمکها نشان می دهد که اسپرم گیریهای انجام شده به طور ۱۰

جدول ۱- اثر فواصل بین اسپرم گیری بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم زدگی تخمکهای ماهی قزل آلی رنگین کمان

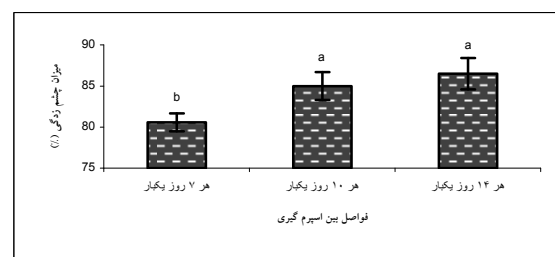
پارامتر مورد بررسی		مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه)		میزان اسپرماتوکریت (درصد)		میزان چشم زدگی تخمکها (درصد)	
فواصل اسپرم گیری		انحراف معیار	میانگین تحرک	انحراف معیار	میانگین تحرک	انحراف معیار	میانگین تحرک
هر ۷ روز یکبار		۱/۲	۲۶/۵	۰/۹	۳۸	۱/۱	۸۰/۶
هر ۱۰ روز یکبار		۰/۷	۲۴/۵	۱/۸	۴۱	۱/۷	۸۵
هر ۱۴ روز یکبار		۰/۸	۲۳	۱/۴	۴۳	۱/۹	۸۶/۵

تحرک روند رو به افزایش را نشان می دهد. لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۳ در یافته های خود بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان، کاهش دوره تحرک اسپرم را با افزایش تراکم اسپرماتوزوئید در واحد حجم گزارش نمودند و علت این امر را رابطه بین تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم (میزان اسپرماتوکریت) و مدت زمان تحرک اسپرم ذکر کردند (۵). زیرا این امکان وجود دارد که هر چه تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم بیشتر باشد، مصرف ATP نیز بیشتر شود. یافته های تحقیق حاضر، نتایج مذکور را در این رابطه تأیید می نماید.

تغییرات فصلی در کیفیت منی قزل آلی رنگین کمان و تأخیر در اسپرم گیری روی اسپرماتوکریت، تحرک، حجم و ترکیبات پلاسمای منی در سال ۱۹۸۷ توسط Munkittrick and Moccia بررسی شد که نتایج آن نشان داد که با جلو رفتن فصل تولید مثل، اسپرماتوکریت، تحرک و غلظت یونهای پلاسمای منی کاهش یافت اما حجم به صورت غیر وابسته نسبت به زمان اسپرم گیری تغییری نداشت و تاخیر در فصل اسپرم گیری باعث شد، گروهی



نمودار ۲- اثر فواصل بین اسپرم گیری بر میزان اسپرماتوکریت (درصد) ماهی قزل آلی رنگین کمان



نمودار ۳- اثر فواصل بین اسپرم گیری بر میزان چشم زدگی تخمکهای ماهی قزل آلی رنگین کمان

بحث و نتیجه گیری

با مقایسه نمودارهای ۱ و ۲ به خوبی دیده می شود که با نزدیک شدن فواصل بین اسپرم گیریها، درصد اسپرماتوکریت کاهش می یابد و بر عکس آن، مدت زمان

مثبت و معنی داری بین غلظت اسپرم و غلظت کل ($r=0/01$)، $r=0/876$ ، $p<0/01$) به دست آمد. بین تحرک و میزان لقاح ($r=0/944$ ، $p<0/01$) ارتباط مثبت و معنی داری برای همه نمونه های مشاهده شد ($r=0/742$ ، $p<0/01$). نتایج تحقیق حاضر یافته های تحقیق فوق را در مورد رابطه بین تحرک و میزان لقاح و به دنبال آن چشم زدگی را تأیید نمی نماید. این در حالی است که غلظت اسپرم، گاهی می تواند اثرات کاهش لقاح را تحت پوشش قرار دهد. مقایسه نمودارهای ۱ و ۲ و ۳، این امر را تأیید می نماید. نتایج ارائه شده در این مورد مطابق نتایج ارائه شده توسط لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۳ نیز می باشد (۵).

ارتباط بین غلظت اسپرم، اسپرماتوکریت، تحرک اسپرم و زمان تولید مثل در حالت طبیعی و پرورشی Haddock در سال ۲۰۰۴ توسط Rideout و همکاران بررسی شد (۲۰). نتایج تحقیق مذکور نشان داد که میزان اسپرماتوکریت در طول فصل تولید مثل به طور معنی داری افزایش می یابد و بین اسپرماتوکریت و نسبت سلولهای متحرک اسپرم زمانی که اسپرماتوکریت برابر و یا کمتر از ۷۰ درصد باشد، ارتباط معنی داری وجود ندارد. با افزایش اسپرماتوکریت به میزان بیشتر از ۷۰ درصد، کاهش تحرک اسپرم دیده می شود. همچنین سرعت شنای اسپرماتوزوآ ارتباط معنی داری را با اسپرماتوکریت نشان نداد. در تحقیق حاضر این امر مشهود می باشد زمانی که فواصل اسپرم گیرها کاهش می یابد، غلظت اسپرم افزایش می یابد که نتیجه آن کاهش دوره تحرک است.

اثر سن، زمان و فراوانی اسپرم گیری و حضور مولد ماده بر تولید اسپرم در قزل آلائی رنگین کمان در سال ۱۹۸۴ توسط Buyukhatipoglu and Holtz بررسی شد (۱۳). در این تحقیق سه گروه جهت اسپرم گیری مورد بررسی قرار گرفت که در گروه اول هفته ای، در گروه دوم ۲ هفته یکبار و در گروه سوم ۴ هفته یکبار اسپرم گیری شدند. نتایج تحقیق فوق نشان داد که با افزایش فراوانی اسپرم

که برای بار پنجم اسپرم گیری شدند بیشترین تحرک و یونهای مایع منی را دارا باشند (۱۸). با مقایسه تحقیق فوق و تحقیق حاضر، کاهش تحرک اسپرم در نمونه هایی که دفعات بیشتری اسپرم گیری شده اند، تأیید می گردد که یکی از دلایل آن می تواند کاهش غلظت اسپرم در آن نمونه ها باشد.

تأثیر فتوپریود، تعداد دفعات اسپرم گیری و حضور جنس ماده بر تولید اسپرم در ماهی *turbot, Scopthalmus maximus* در سال ۱۹۹۲ توسط Suquet و همکاران بررسی شد (۲۲). فراوانی اسپرم گیری تأثیری بر حجم کلی اسپرم، میانگین تحرک اسپرم و تعداد کلی اسپرم نداشت و اسپرم گیرهای ماهیانه تأثیری بر نمونه های اسپرم نداشت اما زمانی که فواصل اسپرم گیرها به هر ۱۴ روز و یا یک هفته یکبار کاهش یافت، حجم و تحرک اسپرم افزایش و غلظت اسپرم کاهش یافته است. با مشاهده نتایج ارائه شده در نمودارهای ۱ و ۲ دیده می شود که نتایج تحقیق حاضر در مورد کاهش غلظت و به دنبال آن افزایش مدت زمان تحرک اسپرم خصوصاً با کاهش فاصله زمانی در اسپرم گیرها، مؤید نتایج تحقیق سال ۱۹۹۲ بر روی ماهی *Scophthalmus maximus* می باشد (۲۲).

تغییرات سالیانه خصوصیات اسپرم قزل آلاهای جوان در طول فصل تولید مثل در سال ۲۰۰۵ توسط Aral و همکاران بررسی شد و در این مطالعه نمونه برداری هر ۱۵ روز یکبار صورت گرفت (۸). در طول فصل تولید مثل، درصد سلولهای فعال اسپرم به طور معنی داری بهبود یافت. نتایج تحقیق حاضر نیز در ارتباط با افزایش زمان تحرک در طول دوره بررسی، یافته های این تحقیق را تأیید می نماید.

ارتباط بین وضعیت بدن، پارامترهای کیفی اسپرم و موفقیت لقاح در قزل آلائی رنگین کمان در سال ۲۰۰۶ توسط Bozkurt بررسی شد (۱۲). حجم، تحرک، طول دوره تحرک، غلظت، غلظت کل و pH اسپرمها ثبت شد. ارتباط

بالا تر جبران شود و همچنین کاهش تحرک نیز می تواند با افزایش غلظت اسپرم جبران شود. بنابر این در مراکز تکثیر می توان با تنظیم فاصله مناسب جهت اسپرم گریه های مکرر، تأثیر متقابلی از تحرک اسپرم و غلظت را مد نظر قرار داد. همچنین در اسپرم گیری متوالی از ماهیان مولد ۳ ساله، اسپرم گیری هفتگی، باعث افت کیفی اسپرم در اثر تداوم اسپرم گیریها خواهد شد اما زمانی که این فاصله به دو هفته افزایش یابد، فرصت بازسازی فرآیند اسپرماتوزن و تولید اسپرم با کیفیت بالا به مولدین داده خواهد شد که نتیجه آن حصول لقاح و چشم زدگی بیشتر بوده و منجر به افزایش کارایی کارگاههای تکثیر ماهی قزل آلی رنگین کمان خواهد شد.

گریهها، اسپرم تولید شده و به دست آمده از مولدین در طول فصل اول در مولدینی که هفته ای یک بار، ۲ هفته یکبار یا ۴ هفته یکبار اسپرم گیری می شدند، در حدود ۲۴/۶ میلی لیتر که محتوی $10^9 \times 160/9$ اسپرم، ۱۳/۴ میلی لیتر که محتوی $10^9 \times 135/8$ اسپرم و ۸/۹ میلی لیتر که محتوی $10^9 \times 101$ اسپرم بود را تولید نمودند و همچنین اسپرم گیری هفته ای جهت مولدینی که برای بار دوم تولید مثل می کنند مناسب تر بود و برای مولدینی که برای بار اول اسپرم دهی می کنند، اسپرم گیری به طور هر ۲ هفته یکبار مناسب تر بود. نتایج ارائه شده در تحقیق فوق نیز کاهش غلظت اسپرم را با نزدیک شدن فواصل اسپرم گیریها نشان می دهد که مشابه تحقیق حاضر می باشد.

در جمع بندی نهایی می توان عنوان کرد که کاهش غلظت اسپرم می تواند با افزایش تحرک آن جهت حصول لقاح

منابع

- ۱- احمدیان، ن.، ب. مجازی امیری، ب. ابطحی ور. م. نظری، ۱۳۸۱؛ استفاده از تقویت کننده های اسپرم در لقاح تخمک تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus*، دومین همایش ملی منطقه ای ماهیان خاویاری، ص ۱۱۱-۱۱۵.
- ۲- پرافکنده حقیقی، ف.، ۱۳۷۹؛ روش های تعیین سن آبزیان، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ص ۱۳-۱۵.
- ۳- پیکان حیرتی، ف. ۱۳۸۰؛ القاء تکثیر در جنس نر ماهی قزل آلی رنگین کمان با استفاده از هورمون سنتتیک GnRH، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی کرج، ۱۳۸۰، ص ۷۷.
- ۴- علوی، س. م. ه.، ب. مجازی امیری، ج. کوسون، م. پورکاظمی و م. کریمی، ۱۳۸۱؛ مطالعات اولیه بر روی تحرک اسپرماتوزوای
- 9-Billard, R. 1983: Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the rainbow trout, *Salmo gairdneri* J. Repro. Fert. 68: 77-84.
- 10-Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.* 26: 877-920.
- 11-Billard, R. 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100: 263-298.
- 7-Aas, G.H. Refstie, T. and Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95: 125-132.
- 8-Aral, F. Sahynoz, E. Dogu, Z. 2005. Annual changes in sperm characteristics of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) during spawning season in Ataturk Dam Lake, Sanliurfa, Turkey. *J. of A.-and Veterinary*. 4: 309-313.
- تاس ماهی ایرانی بررسی مقایسه ای در آب شیرین و محلولهای نمکی در رفتهای متفاوت، دومین همایش ملی منطقه ای ماهیان خاویاری، ص ۱۲۸-۱۳۰.
- ۵- لارستانی، ر. احمدی م.ر. کلباسی، م. ر. ۱۳۸۳. اثر سن مولد نر و محلولهای تقویت کننده اسپرم در ماهی قزل آلی رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس. ص ۶۴.
- ۶- یگانه، س. ۱۳۸۱؛ اثر تقویت کننده ها بر روی مدت تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری *Mugil cephalus*، پایان نامه کارشناسی ارشد، کرج: دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ص ۱۱۲.

- 12-Bozkurt, Y. 2006. Relationship between body condition and spermatological properties in scaly carp (*Cyprinus carpio*) semen. J. of A.-and Veterinary. 5: 412-414.
- 13-Buyukhatipoglu, 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.
- 14-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: 161-186.
- 15-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. J. Fish Physiol. and Biochem., 15: 167-179.
- 16-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. Can.J. Fish. Aquat. Sci. 59: 144-152.
- 17-Moccia, R.D. and Munkittrick, K.R. 1986. Relationship between the fertilization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) eggs and the motility of spermatozoa. Theriogenology, 27, No. 4: 679-688.
- 18-Munkittrick, K.R. Moccia, R.D. 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. Aquaculture. 1987. 64, No. 2: 147-156.
- 19-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 170: 349-358.
- 20-Rideout, R.M. Trippel, E.A. Litvak, M.K. 2004. Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock. J. of F. Bio. 65: 319-332.
- 21-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, 234: 1-28.
- 22-Suquet, M. Omnes, M.H. Normant, Y. Fauvel, C. 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture. 1992. Vol. 101, No. 1-2: 177-185.
- 23-Tvedt, H.B. Benfey, T.J. Martin-Robichaud, D.J. Power, J. 2001. The relationship between spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture, 191: 191-200.
- 24-Vladi, T.V. Afzelius, B.A. and Bronnikov, G.E. 2002. Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. Biol. Reprod., 66: 98-105.

Effect of stripping frequency on eyed eggs rate and sperm parameters quality in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

Kalbassi M.R.¹, Lorestany R.¹, and Hossini S.B.²

¹ Fisheries Dep., Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. of IRAN

² Fisheries Dept., Islamic of Azad University, Lahijan, I.R. of IRAN

Abstract

In this research, effects of stripping frequency on eyed eggs rate and sperm parameters quality in 3⁺ year's age of male *Oncorhynchus mykiss* were investigated. Broodstock males were allocated randomly in three groups for stripping interval at weekly, 10 day or biweekly. Results show that duration of sperm motility in weekly striped males was the highest about 26.5±1.2 second. Also sperm density rate in weekly striped males had lowest amount about 38±0.9 %. Besides eyed-egg stage rate in weekly striped males had lower rate about 80.6±1.1 % which had significant difference compare to others group. Final conclusion revealed that in frequent stripping from 3 years male broodstock, weekly stripping were resulted to lower sperm quality. But when this period excess to biweekly interval, the brooder will have enough time to reproduce higher quality sperm through spermatogenesis approach.

Keywords: Sperm, Motility, *Oncorhynchus mykiss*, Kelardasht.