مقایسه برخی پارامترهای اسپرم شناختی مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky 1901) صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره

محمد حسین قراچه، سید یوسف پیغمبری*

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۵

چکیده

در این مطالعه تاثیر روش صید به دو روش صید گوشگیر و پره روی برخی پارامترهای اسپرم شناختی مولدین ماهی سفید مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۸ قطعه مولد نر ماهی سفید از هر یک از تورهای پره و گوشگیر تهیه و با فشار آرام به ناحیه شکمی اسپرم آنها جمع آوری و نمونه های اسپرم در کنار یخ برای انجام آزمایشات اسپرم شناختی به آزمایشگاه انتقال یافت. برای اندازه گیری حجم اسپرم از سرنگ انسولین مدرج و برای اندازه گیری میزان اسپرماتوکریت از خط کش هماتوکریت استفاده شد. طول دوره تحرک اسپرم نیز با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست سنجیده شد. نتایج حاصل از این مطالعه تفاوت معنی داری ($P <$ ۰/۰۵) بین سطوح اسپرماتوکریت در ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره نشان داد، در حالی که تفاوت معنی داری ($P >$ ۰/۰۵) در میزان حجم اسپرم دهی و طول دوره تحرک بین ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره مشاهده نشد. ازنتایج حاصل از این مطالعه چنین استنباط می شود، علی رغم اینکه تفاوت معنی داری بین طول دوره تحرک و حجم اسپرم دهی مولدین صید شده با روش گوشگیر نسبت به مولدین صید شده با روش پره مشاهده نشد، ولی این ماهیان شاخص های مثبت تری نسبت به ماهیان صید شده با روش پره دارند، از اینرو برای تکثیر مصنوعی مناسب تر می باشند.

واژگان کلیدی: پارامترهای اسپرم شناختی، صید پره، صید گوشگیر، ماهی سفید

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: Sypeighambari@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

ماهی سفید دریای خزر، *Rutilus frisii kutum*(Kamensky 1901)، یکی از ماهیان با ارزش و منحصر به فرد دریای خزر می باشد، که به دلیل طعم خوب و کیفیت مناسب گوشت، مورد مصرف بسیاری خصوصا در سواحل شمالی کشور دارد. به دلیل تخریب مسیرهای مهاجرت طبیعی این گونه باارزش در اثر دخالت های انسانی از قبیل، آلودگی رودخانه ها به انواع فاضلاب های کشاورزی، شهری و صنعتی، و در نتیجه نا مناسب شدن شرایط اکولوژیک جهت مهاجرت ماهیان و تخمریزی و کاهش سطح آب دریای خزر، این گونه تنها از طریق تکثیر طبیعی قادر به بقا نمی باشد، لذا نیازمند تکثیر مصنوعی می باشد (عمادی، ۱۳۶۵). صید این ماهی در دریای خزر توسط تور پره انجام می گیرد، اما به صورت غیر مجاز توسط تور گوشگیر نیز صید می شود. همچنین، سازمان شیلات ایران به منظور تامین مولدین این ماهی برای تکثیر از تور گوشگیر استفاده می کند. از آن جا که اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده مؤثر می باشد، ارزیابی سریع کیفیت اسپرم می تواند انتخاب مولد مناسب برای به دست آوردن اسپرم با کیفیت بهتر را آسان نماید؛ که در نتیجه آن نسل موفق تری به دست خواهد آمد (Rurangwaa *et al.*, 2004). مطالعات متعددی تاثیر عوامل مختلف بر پارامترهای اسپرم شناختی را مورد بررسی قرار داده اند. از آن جمله می توان به تاثیر آلاینده های مختلف (Jobling *et al.*, 2002; Lasheidani *et al.*, 2008) و اندازه ماهی (Liley *et al.*, 2002; evans and Geffen, 1998; ایمانپور و همکاران، ۱۳۸۸) بر پارامترهای اسپرم شناختی اشاره کرد. از آنجا که در جستجوهای صورت گرفته هنوز مطالعه ای روی تاثیر روش صید بر پارامترهای اسپرم شناختی (حجم اسپرم دهی، اسپرماتوکریت و طول دوره تحرک اسپرم) انجام نشده، این بررسی در چارچوب تعیین تاثیر روش صید بر پارامترهای اسپرم شناختی، جهت استحصال هر چه بهتر مولدین صورت پذیرفته است.

۲. مواد و روش ها

تحقیق حاضر در اسفند ماه ۱۳۸۸ با نمونه برداری از تورهای پره و گوشگیر، در صیدگاه میانکاله استان گلستان صورت پذیرفت. بدین منظور تعداد ۸ قطعه مولد نر ماهی سفید (میانگین وزنی: پره ۷۵/۶۱ ± ۴۵۴/۵ گرم؛ گوشگیر ۵۲/۸۱ ± ۴۵۳/۷۵ گرم) از هر یک از تورهای پره و گوشگیر تهیه، و با فشار آرام به ناحیه شکمی و پهلو اسپرم جمع آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال یافت. در جمع آوری اسپرم دقت شد که اسپرم با خون و مدفوع مخلوط نشود و مولدین از نظر اندازه طولی در یک دامنه طولی مساوی استفاده شدند (پره: ۱/۴۱ ± ۶/ ۲۳ و گوشگیر: ۱/۵۸ ± ۲۴/۳ سانتیمتر). برای اندازه گیری حجم اسپرم از سرنگ انسولین مدرج استفاده شد. اسپرماتوکریت پس از سانتریفیوژ لوله های میکرو محتوی سمن در ۳۰۰۰ دور بمدت ۸ دقیقه با استفاده از هماتوکریت خوان تعیین شد (Fitzpatrick *et al.*, 2005). طول دوره تحرک اسپرم نیز با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست سنجیده شد (Cosson *et al.*, 2000). برای این منظور نمونه اسپرم با آب مقطر به نسبت ۱ به ۲۰۰۰ در میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری رقیق گردید و حرکت اسپرم با تأخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم توسط میکروسکوپ متصل به دوربین (استریو میکروسکوپ) ثبت و تا زمانی که ۱۰۰٪ اسپرم ها از تحرک باز ایستادند با دوربین تصویربرداری شد.

Archive of SID

www.SID.ir

برای مقایسه میانگین های مورد آزمایش در دو روش صید از آزمون T مستقل در سطح معنی داری ۹۵ درصد، توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و برای رسم نمودار ها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳.نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه در اشکال ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری ($P<۰/۵$) بین سطوح اسپرماتوکریت در ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره مشاهده شد، در حالی که تفاوت معنی داری ($P>۰/۵$) در میزان حجم اسپرم دهی و طول دوره تحرک بین ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره مشاهده نشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

اسپرم ماهیان در گونه های مختلف از لحاظ شروع حرکت (Murisawa, 1985) طول دوره تحرک (Billard, 1978; Billard and Cosson, 1992) و الگوی حرکتی (Ravinder *et al*., 1997) با یکدیگر متفاوت می‌باشد. همچنین این پارامترها بر اثر کنش های محیطی تحت تاثیر قرار می گیرند. در مزارع پرورش ماهی و تفریخگاه ها، عوامل زیستی و غیر زیستی که روی کیفیت اسپرم اثر گذارند متنوع می‌باشند و وابسته به واکنش های متقابل پیچیده بین عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی و محیطی هستند. از جمله عوامل تاثیرگذار بر کیفیت اسپرم می توان به استرس زاهای محیطی اشاره کرد. از استرس زاهای محیطی که تاثیرات منفی بر کیفیت اسپرم دارد می توان به صید، جابجایی و حمل و نقل اشاره کرد. این عوامل با تاثیر بر تراکم، حجم و طول دوره تحرک اسپرم قابلیت لقاح را پایین آورده و بر موفقیت تکثیر تاثیر منفی می گذارند. ارزیابی سریع کیفیت اسپرم می تواند انتخاب مولد مناسب برای به دست آوردن اسپرم با کیفیت بهتر را آسان نماید که در نتیجه آن نسل موفق تری به دست خواهد آمد. همچنین ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش‌های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت-های نر و مطالعه اثر آلاینده های زیست محیطی روی موفقیت تکثیر در ماهیان صورت می پذیرد (Rurangwaa *et al*., 2004).

تراکم اسپرم در مایع سمینال عموما برای ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهی استفاده می‌شود (Rurangwaa *et al*., 2004). در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری ($P <۰/۵$) در میزان اسپرماتوکریت بین ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره مشاهده شد. در این مطالعه میانگین اسپرماتوکریت در ماهیان صید شده به دو روش صید پره و گوشگیر به ترتیب برابر ۶/۱۳±۷۳/۲۵ و ۰/۵۷±۹۲/۶۶ بود (شکل ۲). Rurangwaa و همکاران (2004)، بیان کردند که تخمین صحیح غلظت اسپرم در رابطه با لقاح ماهی و نگهداری اسپرم ضروری است. Lasheidani و همکاران (2008)، کاهش تراکم اسپرم را در اثر آلودگی با علف کش بوچالر در ماهی سفید مشاهده کردند. Jobling و همکاران (2002)، کاهش تراکم اسپرم را در اثر آلودگی شدید با فاضلاب در ماهی کلمه مشاهده کرده اند. همچنین گلپور (۱۳۸۸)، همبستگی مثبت و معنی داری ($P<۰/۰۱$) بین اسپرماتوکریت با تراکم اسپرم، و همبستگی مثبت و معنی داری ($P<۰/۰۵$) بین تراکم اسپرم با درصد اسپرمهای متحرک در ماهی کلمه مشاهده کرده است.

پارامترهای مختلفی از قبیل غلظت یون ها (پتاسیم، سدیم و کلسیم)، فشار اسمزی، پی- اچ، درجه حرارت و نسبت رقیق کننده روی حرکت

Archive of SID

www.SID.ir

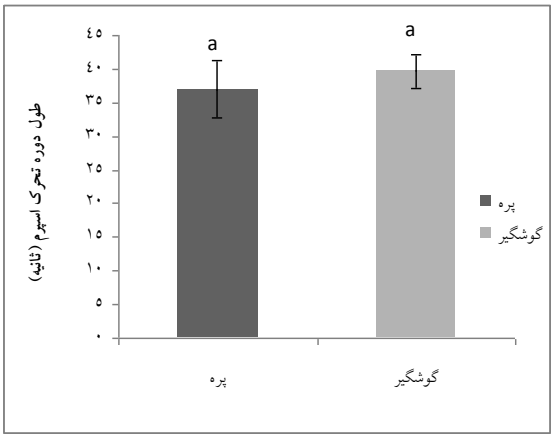
اسپرم موثرند (Alavi and Cosson, 2006). در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری (P>۰/۰۵) در طول دوره تحرک اسپرم بین ماهیان صید شده به دو روش صید شده به روش گوشگیر و پره مشاهده نشد. در این مطالعه میانگین طول دوره تحرک اسپرم در ماهیان صید شده به دو روش صید پره و گوشگیر به ترتیب برابر ۴/۲۳±۳۶/۹۷ و ۲/۵۱±۳۹/۶۶ بود (شکل ۱).

کم شدن حجم سمن یکی از دلایل تغییر غلظت های یونی در کپور معمولی *Cyprinus carpio* و قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* طی فصل تخم ریزی می باشد (گلپور، ۱۳۸۸). حجم اسپرم بوسیله گونه، تعداد دفعات نمونه گیری، سن، وزن، نسل و مهارت فردی که تخم کشی می کند تحت تاثیر قرار می گیرد. آذری تاکامی و رضوی صیاد (۱۳۶۹)، حداقل و حداکثر اسپرم ماهی سفید در رود حویق را ۲ و ۶/۴ سی سی گزارش کرده اند (میانگین ۴/۲ سی سی). در مطالعات دیگر صورت گرفته روی این گونه این میزان ۳/۸۷ سی سی گزارش شده (Bahmani *et al.*, 2007). Lasheidani و همکاران (2008)، مشاهده کردند که میانگین حجم اسپرم دهی ماهی سفید پس از قرار گرفتن در معرض آلودگی با علف کش بوچالر به ۰/۵۵ سی سی کاهش یافته است در حالی که میزان آن در گروه شاهد ۴/۹ سی سی بود. در مطالعه حاضر حداقل و حداکثر حجم اسپرم دهی به ترتیب برابر: پره ۰/۶ و ۱/۲؛ گوشگیر ۱ و ۲/۲ بود. در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری (۰/۰۵> P) در حجم اسپرم دهی بین ماهیان صید شده به دو روش گوشگیر و پره مشاهده نشد. در این مطالعه میانگین حجم اسپرم دهی در ماهیان صید شده به دو روش صید پره و گوشگیر به ترتیب برابر ۰/۰۷۵±۱/۰۵ و ۰/۱۴۵±۱/۴۳ بود (شکل ۳). همانند ترکیبات یونی، فشار اسمزی می‌تواند بین افراد متفاوت باشد و با کم شدن حجم سمن همبستگی دارد (گلپور، ۱۳۸۸). Jobling و همکاران (2002)، کاهش حجم اسپرم دهی را در اثر آلودگی شدید با فاضلاب در ماهی کلمه مشاهده کرده اند. Bozkurt و همکاران (2008)، بیان کردند که در ماهی کپور علفخوار، *Ctenopharyngdon idella* حجم اسپرم دهی رابطه منفی معنی داری (P>۰/۰۵) با درصد و طول دوره تحرک اسپرم دارد. اگرچه حجم اسپرم در ماهیان صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره تفاوت معنی داری نداشت ولی نسبت به مقادیر بیان شده برای ماهی سفید بسیار کمتر بود، که به نظر می رسد به دلیل تاثیر پذیرفتن ترکیبات یونی پلاسمای سمن باشد.

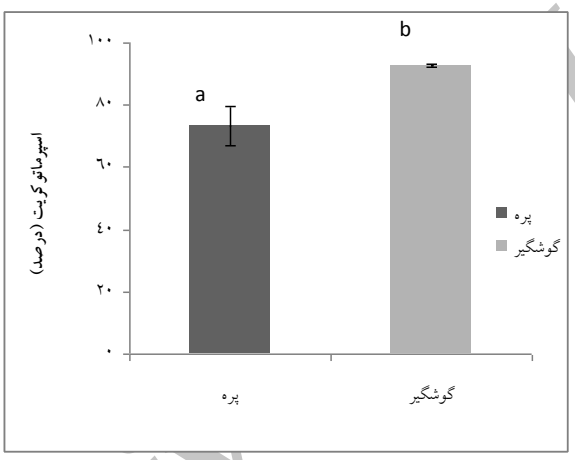
با توجه به این که بسیاری از فرآیندهای جابجایی و حمل و نقل که در آبزی پروری و صید استفاده می شوند به طور بالقوه استرس زا هستند و میزان این استرس در روش های مختلف صید متفاوت می باشد، پیشنهاد می گردد که تاثیر استرس ناشی از صید روی پارامترهای اسپرم شناختی مورد بررسی قرار گیرد تا با ارزیابی کمی آثار چنین فرآیندهایی بر کیفیت اسپرم تغییرات ایجاد شده را کاهش داده، به طوری که استرس به حد اقل برسد و کیفیت اسپرم تحت تاثیر قرار نگیرد. در پایان چنین به نظر می رسد که روش صید گوشگیر نسبت به روش پره تاثیرات سوء کمتری بر پارامترهای اسپرم شناختی داشته است و برای استحصال مولدین مناسب تر می باشد.

Archive of SID

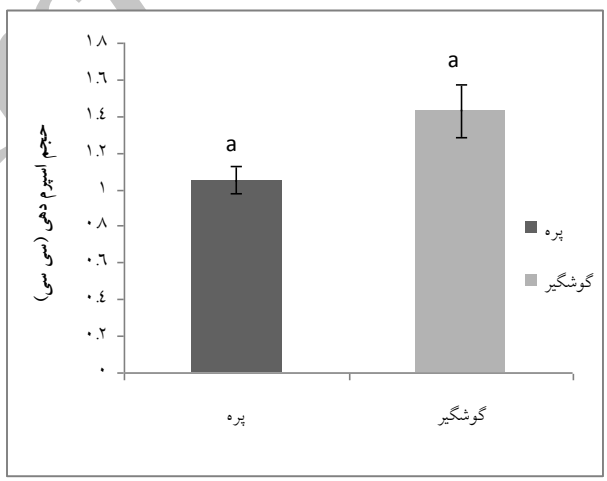
www.SID.ir



شکل ۱. میانگین طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه) مولدین ماهی سفید صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره



شکل ۲. میانگین اسپرماتوکریت مولدین ماهی سفید صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره
حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.



شکل۳. میانگین حجم اسپرم دهی (سی سی) مولدین ماهی سفید صید شده به دو روش صید گوشگیر و پره

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

آذری تاکامی، ج.، رضوی صیاد، ب. ۱۳۶۹. تکثیر مصنوعی ماهی سفید، انتشارات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

ایمانپور، م. ر.، فندرسکی، ف.، کردجزی، م. ۱۳۸۸. ارتباط میان اندازه ماهی با حجم اسپرم دهی، شاخص هماتوکریت، خصوصیات گنادی و پارامترهای اسپرم شناختی در ماهی کلمه، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۶:۶۰-۶۶

عمادی، ح. ۱۳۶۵. ماهی سفید، وضعیت گذشته و کنونی آن در آبهای شمال ایران، سازمان تحقیقات شیلات ایران، ۱۶-۹.

گلپور، ا. ۱۳۸۸. اثر زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه روی برخی از پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۶۸ ص.

Alavi S.M.H., Coson J, 2006. Sperm motility in fishes. (II) effects of ions and osmolality: a review. Cell Biol. Int. 30: 1-14.

Bahmani M. Pirasteh S. Baradaran Noveiri S. Kazemi R., Kuchini R, 2007. Water osmolality effect on spermatocrit and its relations spermatozoan count in male breeders of Rutilus frisii kutum in south western of Caspian Sea. Iran Sci. Fish J. 16: 11-18.

Billard R, 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish Spermatozoa diluted in media of various salinities. Aquaculture 14: 187-198.

Billard R., Cosson M.P, 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J. Exp. Zool. 261: 122-131.

Bozkurt Y. Ogretmen F. Ercin U., Yildiz U, 2008. Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: with emphasis on sperm motility. Aquaculture Res. 39: 1666-1672.

Cosson J. Linhart O. Mims S.D. Shelton W.L., Rodina M, 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. J. Fish Biol. 56: 1-20.

Evans J.P., Geffen A.J, 1998. Male characteristics, sperm traits and reproductive success in winter-spawning Celtic sea Atlantic herring, Clupea harengus. J. Mar. Biol. 132: 179-186.

Fitzpatrick J.L. Henry J.C. Leily N.R., Devlin R.H, 2005. Sperm characteristics and fertilization succsess of masulinized coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture 249: 459-468.

Jobling S. Beresford N. Nolan M. Rodgers-Gray T. Brighty G.C. Sumpter J.P., Tyler C.R, 2002. Altered sexual maturation and gamete production in Wild Roach (Rutilus rutilus) living in rivers that receive treated sewage effluents1. Biol. Repr. 66: 272 -281.

Lasheidani M.F. Balouchi S.N. Keyvan A. Jamili S., Falakrou K, 2008. Effects of butchalor on density, volume and number of abnormal sperms in Caspian kutum. Reas. J. Environ. Sci. 2: 474-482.

Liley N.R. Tamkee P. Tsai R., Hoysak D.J, 2002. Fertilization dynamics in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*): Effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on in vitro fertilization. Can. J. Fish Aqaut. Sci. 59: 144-152.

Morisawa M, 1985. Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleosts.Zool. Sci. 2: 6 – 15.

Ravinder K. Nasaruddin K. Majumdar K.C., Shivaji S, 1997. Computerized analysis of motility, motility patterns and motility parameters of spermatozoa of carp following short-term storage of semen. J. Fish Biol. 50: 1309-1328.

Rurangwaa E. Kimeb D.E. Olleviera F., Nash J.P, 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234: 1-28.

Archive of SID

www.SID.ir