مقاله کوتاه

بررسی تأثیر تکثیر خارج از فصل بر روی شاخص‌های کیفی اسپرم و موفقیت لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فردین شالویی[1*]، طیبه حسینی[2] و محمدرضا ایمانپور[3]

[1] شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، گروه شیلات و محیط زیست

[2] خرم‌آباد، اداره شیلات استان لرستان، بخش تکثیر

[3] گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده شیلات، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱۵

چکیده

برخی از خصوصیات بیولوژیکی اسپرم شامل پارامترهای فیزیکی، شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسمای سمینال (ترکیبات یونی و آلی) و موفقیت لقاح ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تکثیر خارج از فصل مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و کلر به ترتیب ۲۸/۲۲± ۶۰/۸۷، ۱۳/۶۹± ۳۶/۵۶، ۱/۱۹± ۴/۳۳، ۰/۸۸± ۳/۰۸ و ۲۷/۶۰± ۷۱/۹۶ میلی‌مول در لیتر بود. پلاسمای سمینال حاوی ۰/۱۳± ۰/۲۶گرم در دسی‌لیتر پروتئین، ۱/۵۴± ۲/۶۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کلسترول، ۰/۸۶± ۲/۲۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گلوگز، ۲/۴۵± ۶/۴۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تری‌گلیسرید و ۹/۳۱± ۱۱/۰۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر اوره بود. میزان اسپرماتوکریت ۳/۵۷±۲۴/۴۱ درصد، تعداد اسپرماتوزوآ $۱/۲۳\times۱۰^{۹}$±۲/۹۸در هر میلی‌لیتر اسپرم، محدوده pH ۰/۲۶± ۷/۱۶ و طول دوره حرکت اسپرم ۵/۲۴±۲۷/۷۲ ثانیه بود. pH مایع سمینال از ۰/۳۲± ۶/۷۲ در فصل تکثیر به ۰/۲۶± ۷/۱۶ در طی تکثیر خارج از فصل افزایش یافت ($p<۰/۰۱$). اما اسپرماتوکریت، غلظت یون‌های کلسیم، کلر و میزان کلسترول مایع سمینال به‌صورت معنی‌داری در تکثیر خارج از فصل کاهش یافت ($p<۰/۰۱$). همچنین درطی تکثیر خارج از فصل تعداد اسپرماتوزوآ و میزان تری‌گلیسرید به‌صورت معنی‌داری کم شد ($p<۰/۰۵$). حجم اسپرم، طول دوره حرکت، موفقیت لقاح، غلظت یون‌های سدیم، منیزیم و پتاسیم، سطوح اوره و پروتئین مایع‌سمینال در تکثیر فصل و خارج از فصل باهم تفاوتی نداشتند ($p>۰/۰۵$). در این مطالعه پارامترهای فیزیکی اسپرم، پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال و موفقیت لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی فصل تکثیر و تکثیر خارج از فصل مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه تفاوت‌های معنی‌داری در برخی از پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی مایع سمینال مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری در میزان لقاح در فصل تکثیر و خارج از فصل تکثیر وجود نداشت.

واژه های کلیدی: اسپرماتوکریت، پلاسمای سمینال، تکثیر خارج از فصل، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۸۱۳۳۳۴۷۶۰ ، پست الکترونیکی: Fardin.shaluei@gmail.com

مقدمه

امروزه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌صورت ماهی درجه یک اکثر کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان سردابی درآمده است. از نظر اقتصادی توفیق در برنامه‌ریزی و تکثیر مصنوعی قزل‌آلا و هر ماهی پرورشی دیگر بستگی به انتخاب مناسب مولدین نر آن‌گونه و حذف اسپرم غیرطبیعی دارد (۱). مدیریت مولدین فاکتور مهمی می‌باشد

که بر روی کیفیت گامت‌ها و موفقیت لقاح مصنوعی تأثیر می‌گذارد (۶). تابه‌حال اکثر مطالعات در صنعت پرورش ماهی بر روی مدیریت مولدین ماده تمرکز یافته است، اگرچه مطالعه درباره مدیریت مولدین نر به هم‌اندازه حیاتی می‌باشد. بخصوص در گونه‌هایی که اسپرم کمی تولید می‌کنند یا احتمال آلودگی اسپرم زمان جمع‌آوری آن وجود دارد و یا مدت زمان حرکت اسپرم کم می‌باشد (۴). اسپرم (سمن(Semen)) از اسپرماتوزوآ و پلاسمای سمینال تشکیل شده است. پلاسمای سمینال محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزوآ بوجود می‌آورد که خود توسط بیضه و لوله‌های اسپرم بر ساخته می‌شود. در پستانداران ترکیبات پلاسمای سمینال به خوبی مطالعه شده است اما مطالعه روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه‌های اخیر شروع شده است (۴ و ۱۹). مهم‌ترین پارامترهای که برای ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل اسپرماتوکریت (تراکم اسپرم)، اسیدیته، اسمولاریته، ترکیبات شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت، درصد لقاح و چندین مؤلفه دیگر می‌باشد (۴ و ۱۹). مطالعه ترکیبات پلاسمای سمینال می‌تواند سرنخ‌های در مورد کیفیت اسپرم، فرایند رشد اسپرم، تغییرات متابولیکی، آلودگی‌ها و دیگر فاکتورهای مؤثر بر روی کیفیت اسپرم را در اختیار ما قرار دهد (۴). در مراکز تکثیر و پرورش ماهی عواملی مانند دما، دوره‌های نوری، سن مولدین، فصل تکثیر، تغذیه مولدین، آلودگی آب و غذا، بیماری مولدین، استرس و تزریق هورمون می‌تواند بر روی کیفیت اسپرم تأثیرگذار باشد (۱۹).

مطالعات انجام‌شده بر روی آزادماهی آتلانتیک *Salmo salar* (۳)، آزادماهی دریای خزر*Salmo trutta caspius* (۱۰) و کفشک ماهی سول *Solea senegalensis* (۵) نشان داد که برخی از پارامترهای اسپرم شناختی این ماهیان در طول فصل تکثیر تغییر می‌کند. کیفیت اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در طول فصل تکثیر قبلاً توسط محققین دیگر مورد بررسی قرارگرفته است (۲۱،۱۳). دوره‌های نوری مهم‌ترین فاکتور محیطی کنترل کننده زمان تخمریزی و تولید مثل در خانواده آزاد ماهیان می‌باشد(۸). اما تاکنون مطالعه‌ای درباره تکثیر خارج از فصل بر روی کیفیت اسپرم و موفقیت لقاح در این‌گونه گزارش نشده است. هدف این تحقیق بررسی تأثیر تکثیر خارج از فصل بر روی حرکت اسپرماتوزوآ، پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال، پارامترهای فیزیکی سمن، ظرفیت لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و مقایسه آن با فصل تکثیر در این گونه ارزشمند بود.

مواد و روشها

نگهداری مولدین و تهیه نمونه :این طرح تحقیقاتی به مدت ۷ ماه از اوایل آذر ۱۳۸۷ لغایت خرداد ۱۳۸۸ در مجتمع تکثیر و پرورش احرار زاگرس واقع در شهرستان الشتر (۴۵ کیلومتری استان لرستان) به اجرا درآمد. مولدین 3^{+} ساله قزل‌آلا بعد از تکثیر در فصل پاییز برای تکثیر خارج از فصل در سالن سرپوشیده مولدین به مدت سه ماه (۸۷/۹/۲۰ تا ۸۷/۱۲/۲۰) تحت رژیم نوری سفید با دوره ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی قرار گرفتند (۶D+18L). بعدازاین مرحله مولدین تا رسیدگی جنسی (۸۷/۹/۲۰ تا ۸۸/۳/۲۰) تحت رژیم ۱۸ ساعت تاریکی و ۶ ساعت روشنایی (۱۸D+۶L) بودند (۶ و ۷). در هنگام تکثیر (فصل تکثیر و تکثیر خارج از فصل) ۱۲ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و بعد از بیهوشی در محلول پودر گل میخک از آن‌ها نمونه‌گیری شد. بعد از اطمینان از فعال بودن منی‌ها، نمونه‌ها در سرنگ‌های استریل قرار داده و توسط فلاسک حاوی یخ (بدون تماس مستقیم با یخ)، جهت انجام آزمایش‌ها اولیه به آزمایشگاه مرکزی سازمان دامپزشکی استان لرستان منتقل گردیدند.

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی اسپرم: به‌منظور سنجش مدت‌زمان حرکت اسپرماتوزوآ، یک قطره از اسپرم روی لام در زیر میکروسکوپ قرار داده شد و یک قطره از آب کارگاه را با آن مخلوط نموده ومدت‌زمان حرکت اسپرم

بلافاصله تا زمانی که تقریباً تمام اسپرماتوزوآها از حرکت بایستند در محل جمع‌آوری نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (۲ و ۲۱). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت ابتدا لوله‌های میکرو حاوی نمونه‌های اسپرم در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتیریفیوژ شدند، سپس به‌وسیله هماتوکریت خوان درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد (۳). تراکم اسپرم‌ها به‌طور همزمان برای نمونه‌ها به‌وسیله لام هموسیتومتر اندازه‌گیری شد (۱). برای اندازه گیری pHپلاسمای سمینال ابتدا ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های اسپرم درون ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. نمونه‌ها ابتدا در دور۵۰۰ به مدت ۲ دقیقه و سپس در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Tg16-w) گردیدند (۳). بعد از سانتیریفیوژ، پلاسمای سمینال که در قسمت بالای ویال قرارگرفته بود (مایع رو) به درون ویال‌های جدید منتقل شد و pH به‌وسیله پی.اچ متر اندازه‌گیری شد. تمام آزمایش‌ها در دمای اتاق (۲۱-۱۹ سانتی‌گراد) با سه تکرار برای هر نمونه انجام شد.

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال: میزان یون‌های پلاسمای سمینال (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و کلر) همچنین میزان پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال (گلوکز، پروتئین، کلسترول، تری‌گلیسرید و اوره) توسط دستگاه آنالیزر بیوشیمیایی (Selectra E Biochemistry analyzer) با الکترولیت‌های (Covergys ISE Electrolyte analyzer DH-500) به‌وسیله کیت‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه پاتوبیولوژی مرکزی خرم‌آباد با ۳ تکرار برای هر نمونه اندازه‌گیری شدند (۲۱، ۲۲ و ۲۳).

سنجش میزان لقاح و انکوباسیون: برای یکسان شدن شرایط تکثیر برای تمام نمونه‌ها، تخمک‌های استحصالی از ۴ مولد ماده (هم‌وزن و هم‌سن) باهم مخلوط شدند (۲۰). ۲۰ گرم از تخمک‌ها مخلوط (pooled egg) با هر نمونه اسپرم به یک‌میزان (۰/۵ میلی‌لیتر) باهم لقاح داده شدند (۲۰). تخم‌های لقاح یافته (با ۳ تکرار برای هر نمونه) برای طی مراحل جنینی به سینی‌های انکوباسیون منتقل گردیدند. میزان تخم‌های قارچ زده و تلفات برای هر تیمار در طی دوران انکوباسیون ثبت شد. میزان درصد چشم زدگی تخم‌ها از رابطه زیر محاسبه شد (۲).

۱۰۰ × (تعداد کل تخم‌ها / تعداد تخم‌های چشم زده)= درصد چشم زدگی

آنالیز آماری: شیوه نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. نرمال بودن داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌های انجام‌شده با سه تکرار برای هر دو تیمار با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنف سنجیده شد. تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دو جامعه آماری مستقل (Independent-samples T Test) به‌وسیله بسته نرم‌افزاری SPSS ۱۳ انجام شد.

نتایج

آماره توصیفی و نتایج آزمون T پارامترهای فیزیکی اسپرم، پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال و موفقیت لقاح ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در فصل تکثیر و خارج از فصل تکثیر در جدول ۱ نشان داده‌شده است. با توجه به جدول ۱ در بین پارامترهای فیزیکی اسپرم میزان اسپرماتوکریت ($p<۰/۰۱$) و تعداد اسپرماتوزوآ در هر میلی‌لیتر اسپرم ($p<۰/۰۵$) در تکثیر خارج از فصل کمتر از فصل تکثیر بود. اما بین حجم منی و حرکت اسپرماتوزوآ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در بین پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال میزان کلسیم، کلر و کلسترول مایع سمینال در تکثیر خارج از فصل کمتر از فصل تکثیر بود ($p<۰/۰۱$). همچنین میزان تری گلیسرید در تکثیر خارج از فصل کمتر از فصل تکثیر بود ($p<۰/۰۵$). درحالی‌که میزان pH مایع سمینال در تکثیر خارج از فصل بیشتر از فصل تکثیر بود ($p<۰/۰۱$). در بین دیگر پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال و موفقیت لقاح اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۱ - آماره توصیفی و نتایج آزمون T پارامترهای فیزیکی اسپرم، پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال و موفقیت لقاح ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در فصل تکثیر و تکثیر خارج از فصل در منطقه لرستان.

متغیرها		در فصل تکثیر			در خارج از فصل تکثیر			آزمون T برای برابری میانگین	
		بیشترین	میانگین±انحراف معیار	کمترین	بیشترین	میانگین±انحراف معیار	مقدار T	درجه اختلاف
اندازه مولدین	طول (cm)	۳۵/۵	۴۱/۱۶±۴/۰۶	۴۳	۵۰	۴۶±۲/۴۰	-۳/۴۵۳	۰/۰۰۲**
	وزن (gr)	۹۰۰	۱۱۹۰/۵۶±۲۱۵/۸۱	۱۰۵۰	۱۶۰۵	۱۳۴۴/۸۳±۱۸۳/۷۹	-۱/۸۵۳	۰/۰۷۷ns
پارامترهای فیزیکی اسپرم	حجم منی (ml)	۸	۲۵/۰۲±۱۱/۵۵	۱۰/۵۰	۴۰	۲۰/۷۰±۹/۰۵	۰/۹۹۵	۰/۳۳۱ns
	اسپرماتوکریت (٪)	۱۸	۳۲/۹۲±۹/۴۴	۱۹	۳۲/۵۰	۲۴/۴۱±۳/۵۷	۲/۸۷۳	۰/۰۰۹**
	تعداد اسپرماتوزوآ درمیلی لیتر (10^9 x)	۱/۸۰	۴/۹۱±۱/۹۸	۱/۲۴	۵/۵۲	۲/۹۸±۱/۲۳	۲/۷۷۸	۰/۰۱۱*
	حرکت اسپرماتوزوآ (ثانیه)	۲۵	۳۰/۳۰±۴/۰۵	۲۰/۳	۳۷	۲۷/۷۲±۵/۲۴	۱/۵۷۵	۰/۱۳۰ns
پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال	کلسیم(mmol/l)	۴/۸۵	۵/۷۲ ±۰/۶۱	۲/۳۵	۶/۳۳	۴/۳۳ ±۱/۱۹	۳/۵۰۵	۰/۰۰۲**
	سدیم(mmol/l)	۵۳	۷۷/۸۰ ±۱۵/۶۰	۲۰/۳۴	۱۰۴/۳۰	۶۰/۸۷ ±۲۸/۲۲	۱/۷۶۸	۰/۰۹۱ns
	پتاسیم(mmol/l)	۲۱	۵۱/۳۶ ±۲۵/۸۰	۱۴/۸۹	۵۹/۳۴	۳۶/۵۶ ±۱۳/۶۹	۱/۷۰۸	۰/۱۰۲ns
	منیزیم(mmol/l)	۱/۸۰	۳/۲۱ ±۰/۹۷	۱/۸۷	۴/۴۰	۳/۰۸ ±۰/۸۸	۰/۲۳۳	۰/۸۱۸ns
	کلر(mmol/l)	۶۶	۱۰۱/۳۶ ±۱۹/۹۴	۲۶/۸۹	۱۰۸/۳۶	۷۱/۹۶ ±۲۷/۶۰	۳/۴۰۶	۰/۰۰۳**
	گلوکز(mg/dl)	۰/۵۰	۱/۸۵ ±۰/۸۶	۱/۱۲	۳/۶۵	۲/۲۳ ±۰/۸۶	-۱/۱۸۰	۰/۲۵۱ns
	پروتئین(g/dl)	۰/۱۰	۰/۴۰ ±۰/۲۶	۰/۰۷	۰/۴۹	۰/۲۶ ±۰/۱۳	۱/۶۷۶	۰/۱۰۸ns
	کلسترول(mg/dl)	۱/۱۰	۶/۵۱ ±۳/۵۰	۰/۹۸	۵/۶۹	۲/۶۹ ±۱/۵۴	۳/۴۰۲	۰/۰۰۳**
	تری گلیسرید(mg/dl)	۳/۴۵	۹/۲۱ ±۳/۲۵	۲/۳۳	۱۰/۹۶	۶/۴۶ ±۲/۴۵	۲/۲۷۸	۰/۰۳۳*
	اوره(mg/dl)	۴	۱۹/۳۶ ±۱۲/۱۸	۲/۳۶	۲۹/۵۵	۱۱/۰۴ ±۹/۳۱	۱/۹۱۷	۰/۰۶۸ns
	پی - اچ	۶/۲۰	۶/۷۲ ±۰/۳۲	۶/۶۵	۷/۶۸	۷/۱۶ ±۰/۲۶	-۳/۸۳۰	۰/۰۰۱**
لقاح	درصد چشم زدگی	۷۴	۸۲/۸۸±۵/۶۹	۷۲/۵۰	۹۰	۷۹/۵۶±۴/۶۵	۱/۹۲۲	۰/۰۶۸ns

** سطح معنی‌دار با درجه p<۰/۰۱ * سطح معنی‌دار با درجه p<۰/۰۵ ns – فاقد اختلاف معنی‌دار

بحث

در مزارع تکثیر و پرورش ماهی فاکتورهای بیوتیک و غیرزنده که روی کیفیت اسپرم اثر می‌گذارند، متنوع هستند و بستگی به اثر متقابل بین ژنتیک، فاکتورهای فیزیولوژیکی و محیطی دارد. ارزیابی کیفیت اسپرم در مراکز تکثیر می‌تواند اطلاعات نو و کاربردی در اختیار ما قرار دهد که برای تعیین بهترین شرایط پرورشی گله مولدین، دست‌کاری‌های بهینه و نگهداری اسپرماتوزوآ قبل از لقاح قابل‌استفاده می‌باشد (۱۹). دست‌کاری‌های نوری (Photoperiod manipulation) در آبزی‌پروری برای تسریع یا تأخیر تجدید گنادی برای تخم‌ریزی ماهی در زمان مناسب از سال بکار گرفته می‌شود (۱۶). اگرچه القای تخم‌ریزی در تکثیر خارج از فصل می‌تواند بر روی کیفیت اسپرم مؤثر باشد اما اطلاعات کمی در این مورد موجود می‌باشد (۱۹). در آزادماهی آتلانتیک و آزادماهی دریای خزر مقادیر حجم اسپرم، اسپرماتوکریت و تعداد اسپرم در طول فصل تکثیر کاهش یافت (۱۰و۳). با توجه به جدول ۱ در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که تحت تأثیر رژیم نوری برای تکثیر خارج از فصل قرارگرفته بود میزان اسپرماتوکریت و تعداد اسپرماتوزوآ کاهش معنی‌داری را نشان داد. در مطالعه انجام‌شده Buyukhatipoglu وHoltz (۱۹۸۴) حجم اسپرم و دوره حرکت اسپرماتوزوآ ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در آغاز فصل تکثیر تا اواسط فصل تکثیر افزایش و بعدازآن کاهش می‌یابد (۹) . اما در مطالعه حاضر هیچ‌گونه تفاوتی بین طول دوره حرکت اسپرم و حجم اسپرم در تکثیر فصل و خارج از فصل مشاهده نشد. همچنین در کفشک ماهی سول میزان حجم اسپرم در طول سال تغییری را نشان نداد (۵). در ماهی باس‌سان‌شاین (Sunshine bass) که در معرض دوره‌های نوری و دمایی (۶-۹-۱۲ ماه) قرارگرفته بودند تعداد اسپرماتوزوآ، دوره حرکت اسپرماتوزوآ، pH مایع سمینال در بین مولدین نر متفاوت بود اما این تغییرات در میزان لقاح اختلافی ایجاد نکرد (۲۳) . با توجه به جدول ۱ در تکثیر خارج از فصل میزان pH مایع سمینال بیشتر از فصل تکثیر بود اما دوره حرکت اسپرماتوزوآ در دو تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین مطابق با نتایج Tate و Helfrich (۱۹۹۸) این تغییرات بر موفقیت لقاح تأثیری نداشت. در مولدین نر گرگ ماهی (*Anarhichas lupus*) که در معرض دوره‌های نوری

(۶L/۱۸ D و ۱۸L/ ۶D) تفاوتی بین حجم اسپرم و غلظت اسپرم مشاهده نشد (۱۷). همچنین در ماهی حوض (*Carassius auratus*) دست‌کاری‌های نوری تأثیری بر روی تولید اسپرم نداشت (۱۲). در طول فصل تکثیر و در تکثیر خارج از فصل (القای هورمونی یا تغییرات محیطی) برخی از پارامترهای کیفی اسپرم تغییر می‌کند. Munkittrick و Moccia (۱۹۸۷) گزارش کردند که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از ابتدای فصل به سمت انتهای فصل و خارج از آن اسپرماتوکریت، حرکت اسپرماتوزوآ و غلظت یون‌های سمینال پلاسما کاهش می‌یابد. با توجه به جدول ۱ از بین یون‌های پلاسمای سمینال غلظت یون‌های کلسیم و کلر در تکثیر خارج از فصل کمتر از فصل تکثیر بود ($p<۰/۰۱$). در آزادماهی دریای خزر در اواسط فصل تکثیر میزان یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، کلر و منیزیم و میزان پروتئین پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت اسپرم و تراکم آن در مقایسه با اوایل و اواخر فصل تکثیر بالاتر بود (۱۰). چنین نوسانات فصلی در غلظت اسپرم، حرکت اسپرماتوزوآ، pH مایع سمینال و برخی از ترکیبات بیوشیمیایی مایع سمینال در منی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) و ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) گزارش‌شده است (۱۱). اختلافات مشاهده‌شده در کیفیت اسپرم در تکثیر فصل و خارج از فصل می‌تواند درنتیجه تغییرات هورمون‌های درون‌ریز در طی تغییر فصل تولیدمثل باشد (۱۴و ۱۸).

در این مطالعه پارامترهای فیزیکی اسپرم ، پارامترهای

بیوشیمیایی مایع سمینال و موفقیت لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی فصل تکثیر و تکثیر خارج از فصل موردبررسی قرار گرفت. اگرچه اختلافاتی در برخی از پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی مایع سمینال مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری در میزان لقاح در فصل تکثیر و تکثیر خارج از فصل مشاهده نشد.

منابع

۱–سیر، ل. ، آذری تاکامی،ق. و شهیدی، ر.،۱۳۸۵. ارزیابی اسپرم قزل‌آلای رنگین‌کمان در مرکز تکثیر نمرود. مجله پژوهش و سازندگی، شماره۷۲ ، صفحات ۳۰ تا ۳۵ .

۲– لرستانی. ر ؛ احمدی. م و کلباسی. م .۱۳۸۲ . تاثیر محلوهای فعال کننده بر افزایش میزان لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*).مجله علوم دریایی ایران. دوره ۳ شماره ۱.

3-Aas, G.H., Refstie, T., Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. Aquaculture 95: 125– 132.

4- Alavi, SMH., Cosson, JJ., Coward, K., Rafiee, R. 2008. Fish spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford, pp. 425–433.

5- Beirao, J., Soares, F., Herraez, M.P., Dinis, M.T., Cabrita, E. 2011. Changes in *Solea senegalensis* sperm quality throughout the year. Animal Reproduction Science 126: 122–129.

6- Billard, R., Reinaud, P., Brenn, P. 1981. Effects of changes of photoperiod on gametogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Reprod.Nurt.Develop 21:1009-1014.

7-Breton, B., Billard, R. 1977. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys 17: 331-340.

8-Bromage, N.R., Roberts, R.J. 1995. Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, Oxford, 424 p.

9-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.

10- Hajirezaee, S., Mojazi Amiri, B., Mirvaghefi, AR. 2010. Changes in sperm production, sperm motility, and composition of seminal fluid in Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, over the course of a spawning season. J. Appl. Aquacul. 22: 157-170.

11- Kruger, J.C., De, W., Smit, G.L., Van Vuren, J.H.J., Ferreira, J.T. 1984. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus*. J. Fish Biol. 24: 263-272.

12 -Iigo, M., Aida, K. 1995. Effects of season, temperature and photoperiod on plasma melatonin rhythms in the goldfish (*Carassius auratus*). J. Pineal Res. 18: 62– 68.

13-Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A. 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. Aquaculture 163:163–181.

14-Linhart, O., Billard, R. 1995. Biology of gametes and artificial reproduction in common tench (*Tinca tinca*). A review Pol Arch Hydrobiol 42:37–56

15-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 64: 147-156.

16-Nash, J.P. 1999. Seasonal reproduction in fish. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), Encyclopaedia of Reproduction, vol. 4. Academic Press, New York, pp. 329– 340.

17- Pavlov, D.A., Knudsen, P., Emelyanova, N.G., Moksness, E. 1997. Spermatozoa ultrastructure and sperm production in wolffish (*Anarhichas lupus*), a species with internal fertilisation. Aquat. Living Resour. 10: 187– 194.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مرکز تکثیر و پرورش احرار زاگرس، مسئول آزمایشگاه مرکزی سازمان دامپزشکی لرستان و آزمایشگاه پاتوبیولوژی مرکزی خرم‌آباد به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایی‌های لازم در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

18-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 Fish Biol 65:319–332.

19- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P. 2004. Measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234:1-28.

20- Sarvi. K, Niksirat. H, Mojazi. B, Mirtorabi, M.S, Rafiee. G.R., Bakhtiyari, M. 2006. Cryopreservation of semen from endangered Caspian brown trout. Aquaculture 265:564-569.

21- Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., Bukan, N., Akcay. 2004. Corrlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen. Israil J.A.56:274-280.

22-Stocking, C.J., Slater, J.M., Unwin, R.,Walter, S., Folkerd, E. 1999. An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes. Kidney Int. 56: 338–343.

23-Tate, A.E., Helfrich, L.A. 1998. Off-season spawning of sunshine bass (*Morone chrysops_M. saxatilis*) exposed to 6- or 9-month phase-shifted photothermal cycles. Aquaculture 167: 67– 83.

Short paper

Effect of out-of-season spawning on semen quality indices and fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Shaluei F.[1], Hoseini T.[2] and Imanpoor M.R.[3]

[1] Aquaculture Dept., Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, University of Shahre Kord, Shahre Kord, I.R. of Iran

[2] Lorestan Fisheries Organization, Khoram Abad, I.R. of Iran

[3] Fisheries Dept., University of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gorgan, I.R. of Iran

Abstract

Some biological aspects of semen were investigated in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the out-of-season spawning, by determination of spermatological parameters, seminal plasma indices (ionic and organic composition) and fertilization success. The concentrations of Sodium (Na^+), Potassium (K^+), Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}) and Chlorine (Cl^-) ions were 60.87±28.22, 36.56±13.69, 4.33±1.19, 3.08±.88 and 71.96±27.60 MmL^{-1} respectively. Seminal plasma contained 0.26±0.13 g/dl protein, 2.69±1.54 mg/dl cholesterol, 2.33±0.86 mg/dl glucose, 6.46±2.45 mg/dl triglyceride and 11.04±9.31 mg/dl urea. The pH of seminal plasma increased from 6.72±0.32 in spawning season to 7.16±0.26 during the out-of-season spawning ($P<0.01$). But Semen spermatocriet, seminal plasma Calcium (Ca^{2+}) and Chlorine (Cl^-) ion concentrations and cholesterol level decreased significantly during the out-of-season spawning ($P<0.01$). Spermatozoa concentration and triglyceride level also declined significantly during the out-of-season spawning ($P<0.05$). Semen volume, movement duration, fertilization success, Sodium, Magnesium and Potassium ion concentrations, glucose, protein and urea levels did not show significant differences between reproductive season and out-of-season spawning ($P>0.05$). In the present study spermatological parameters, seminal plasma indices and fertilization success were investigated in reproductive season and out-of-season spawning. Although some spermatological parameters and seminal plasma indices altered during out-of-season spawning, but significant difference on fertilization success was not observed.

Key words: Spermatocriet, Seminal plasma, Out-of-season spawning and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).