دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره چهارم، زمستان ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

بررسی شاخص‌های تولید مثلی بین گروه‌های سنی دو و سه ساله جنس نر سیاه‌ماهی خالدار *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) رودخانه قشلاق سنندج در فصل تولید مثل

وحید زادمجید*
استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۸

چکیده

در تحقیق حاضر تعداد ۶۰ قطعه مولد نر از گروه سنی دو ساله (سال اول بلوغ جنسی) و سه ساله سیاه ماهی خالدار (*C. trutta*) در رودخانه قشلاق سنندج در طی فصل تولید مثل (خرداد و تیر ماه ۱۳۹۴) جمع‌آوری گردید. پس از صید مولدین پارامترهایی از قبیل طول کل، طول استاندارد و وزن کل هر ماهی مولد اندازه‌گیری شد و پس از شماره‌گذاری، به‌منظور اندازه‌گیری پارامترهای کیفی اسپرم (حجم اسپرم، طول دوره تحرک، تراکم، اسپرماتوکریت، پی- اچ و فشار اسمزی مایع سمینال) و سنجش استروئیدهای جنسی (تستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون) از هر دو گروه سنی دو ساله و سه ساله اسپرم‌گیری و خون‌گیری به‌عمل آمد. پس از اندازه‌گیری شاخص گنادوسوماتیک (GSI) به‌منظور مقایسه وضعیت رسیدگی مولدین دو ساله و سه ساله، بافت بیضه نیز بافت‌شناسی گردید. طول کل، طول استاندارد و وزن کل در گروه سنی سه ساله به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین گروه سنی دو ساله بود. بین حجم اسپرم، اسپرماتوکریت، پی- اچ و فشار اسمزی مایع سمینال در مولدین گروه سنی دو ساله و سه ساله اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. درصورتی که طول دوره تحرک و تراکم اسپرم در مولدین گروه سنی دو ساله بالاتر بود. شاخص گنادوسوماتیک در مولدین گروه سنی سه ساله به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین گروه سنی دو ساله بود. سطح استروئیدهای جنسی تستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون در بین مولدین گروه سنی دو ساله و سه ساله فاقد هرگونه اختلاف معنی‌داری بود. مطالعات بافت‌شناسی در هر دو گروه سنی نشان داد که سلول‌های جنسی در مراحل مختلف رشد در بافت بیضه قابل رویت هستند و بدون غالب بودن گروه خاصی از سلول‌های جنسی، ساختار بافت بیضه در هر دو گروه سنی دو ساله و سه ساله در مرحله اسپرمیشن یکسان بود.

***واژه‌های کلیدی:* *C.trutta*، سن، کیفیت اسپرم، استروئیدهای جنسی، بافت بیضه**

*نویسنده مسئول: zadmajid@gmail.cm

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

مقدمه

مطالعه زیست‌شناسی گونه‌های مختلف ماهیان در اکوسیستم‌های آبی از ضرورت اولیه حفظ و بازسازی ذخایر طبیعی می‌باشد که در این راستا تمامی گونه‌های اقتصادی و غیر اقتصادی به دلیل نقش آن‌ها در اکوسیستم‌های آبی از اهمیت و ارزش فراوانی برخوردار هستند. همچنین با وجود فشارهای فزاینده در اثر رشد جمعیت بر منابع محدود کنونی و دخالت انسان در طبیعت از طریق ایجاد انواع آلودگی‌ها که موجب تهدید این منابع خدادادی شده، نیاز مبرمی به شناخت هر چه بیشتر زیست‌شناسی آبزیان به‌منظور اعمال مدیریت صحیح و تکثیر مصنوعی گونه‌های در معرض خطر احساس شده است. امروزه بازسازی ذخایر طبیعی گونه‌های مختلف ماهیان از طریق تکثیر و پرورش مصنوعی به‌سرعت رو به گسترش است (Duarte *et al.*, 2007; Lorenzen *et al.*, 2012). از طرفی بررسی شاخص‌های تولیدمثلی گونه‌های بومی و مستعد پرورش در کشور که دارای ارزش اقتصادی و رشد و بازارپسندی مناسبی می‌باشند، امکان بهره‌برداری از آن‌ها را در صنعت آبزی‌پروری فراهم کرده و منجر به افزایش تولید پروتئین مورد نیاز جامعه خواهد شد.

رودخانه قشلاق سنندج از بخش‌های شمال غربی شهر سنندج سرچشمه می‌گیرد و در مسیر ۹۵ کیلومتری شهر سنندج تا محل تلاقی با رودخانه گاوه رود در محل دو آب امتداد می‌یابد و پس از پیوستن به رودخانه سیروان به خاک عراق می‌ریزد. این رودخانه در حوضه دجله واقع شده است و محل زیست گونه‌های مختلف کپورماهیان از جمله سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) می‌باشد (Bahrami Kamangar *et al.*, 2012). سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) از گونه‌های دارای ارزش اقتصادی و جزو خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) می‌باشد که امکان استفاده از آن در صنعت آبزی‌پروری وجود دارد (Zadmajid, 2016). این‌گونه از جمله ماهیان بومی ایران بوده که در بخش‌های وسیعی از شمال، شمال غربی، غرب و جنوب غربی ایران پراکنش دارد (Abdoli, 2000). سن بلوغ سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) در شرایط طبیعی برای جنس ماده ۳ تا ۴ سال و برای جنس نر ۲ تا ۳ سال می‌باشد (Abdoli, 2000). در سال‌های اخیر صید بیش از حد، آلوده شدن رودخانه‌ها و ساخت سدها از عواملی می‌باشند که باعث کاهش تدریجی جمعیت این‌گونه شده است. به طوری که از سال ۲۰۱۴ به بعد در لیست گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته است (Freyhof, 2014). بنابراین تعیین شاخص‌های تولید مثلی می‌تواند گامی در جهت بررسی امکان بهره‌برداری صنعتی این گونه در امر تکثیر و پرورش و همچنین بازسازی این‌گونه در منابع آب‌های طبیعی کشور باشد. با وجود پراکنش بالای گونه‌های مختلف سیاه‌ماهی در منابع آب‌های طبیعی، مطالعات صورت گرفته در رابطه با تعیین خصوصیات تولید مثلی این‌گونه‌ها خصوصاً کیفیت سلول‌های جنسی محدود می‌باشد. زادمجید (Zadmajid, 2016) تأثیر هورمون‌های سنتتیک را بر ویژگی‌های تولید مثلی مولدین نر وحشی سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) در شرایط اسارت بررسی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

کرد. صوفیانی و اسداللهی (Soofiani and Asadollahi, 2010) و بهرامی کمانگر و همکاران (Bahrami Kamangar *et al.*, 2015) ویژگی‌های رشد و تولید مثل سیاه‌ماهی فلس‌ریز (*Capoeta damascina*) را به‌ترتیب در تالاب حنا (سمیرم) و یکی از شاخه‌های رود دجله بررسی کردند. همچنین اویماک و همکاران (Oymak *et al.*, 2008) و جواهری‌نیا و تقوی‌نیا (Javaheri Baboli and Taghavi Niya, 2014) بیولوژی تولیدمثل سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) را به‌ترتیب در دریاچه آتاتورک ترکیه و رودخانه شور در خوزستان بررسی کردند. مطالعه و شناخت سطوح هورمونی در ماهیان یکی از مهمترین عوامل تشخیص مکانیسم‌های درگیر و تنظیم کننده فرآیند تولید مثل در آن‌ها بوده، که دستیابی به سطوح این تغییرات در ماهیان وحشی و پرورشی حائز اهمیت است (Matthew *et al.*, 2010). از طرفی ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش‌های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت‌های نر و مطالعه اثر آلاینده‌های زیست‌محیطی روی موفقیت تکثیر در ماهیان صورت می‌پذیرد (Alavi and Cosson, 2006).

هدف از تحقیق حاضر بررسی شاخص‌های تولید مثلی جنس نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) رودخانه قشلاق سنندج بین گروه‌های سنی دو ساله (سال اول بلوغ جنسی) و سه ساله در طی فصل تولید مثل به‌منظور آگاهی از قابلیت‌های این‌گونه برای بهره‌گیری در آبزی‌پروری تجاری و همچنین تأمین اطلاعات مدیریتی برای حفاظت از این گونه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

صید مولدین: در تحقیق حاضر تعداد ۶۰ قطعه مولد بالغ سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) از گروه سنی دو ساله و سه ساله با استفاده از تور پرتابی (سالیک) در طی فصل تولید مثل (خرداد و تیرماه) در رودخانه قشلاق سنندج جمع‌آوری گردید. درجه حرارت آب رودخانه در طی جمع‌آوری ماهیان ۲۳ درجه سانتی‌گراد بود. ماهیان جمع‌آوری شده از لحاظ ظاهری بررسی شدند و فاقد هر گونه زخم و ناهنجاری‌های ظاهری بودند. ماهیان کاملاً رسیده با فشار ملایم به ناحیه شکمی واجد اسپرم سیال بودند. بنابراین فقط مولدین واجد رسیدگی کامل در این تحقیق استفاده گردید. پس از زیست‌سنجی مولدین، ماهیان به دو گروه دو ساله و سه ساله (۳۰ عدد مولد در هر کلاسه سنی) تقسیم‌بندی شدند.

زیست‌سنجی مولدین: طول کل و طول استاندارد (سانتی‌متر) مولدین نر به‌وسیله تخته بیومتری و وزن کل (گرم) آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و در دفترچه بیومتری ثبت شد. جهت تعیین سن ماهیان با استفاده از روش فلس خوانی تعدادی فلس از قسمت میانی بدن ماهی بین باله پشتی و سینه‌ای برداشته شد و در آزمایشگاه با استفاده از لوپ چشمی نیکون تعیین سن صورت گرفت (Biswas, 1993).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

اسپرم‌گیری به‌منظور سنجش پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی: برای جمع‌آوری اسپرم، بعد از خشک کردن منفذ تناسلی بدون آلودگی با آب یا ادرار، با فشار ملایم به ناحیه شکمی از ماهیان مولد نر در محل صید اسپرم‌گیری به‌عمل آمد. اسپرم‌های جمع‌آوری شده در کنار یخ در فاصله زمانی یک ساعت جهت آنالیز پارامترهای کیفی به آزمایشگاه منتقل شدند. تعیین حجم اسپرم (میلی‌لیتر) توسط سرنگ‌های ۱ میلی‌لیتر انسولین صورت گرفت. برای اندازه‌گیری طول دوره حرکت اسپرم (ثانیه)، زمان تحرک از لحظه فعال شدن توسط محلول فعال‌کننده (NaCl, 50 mM; Tris, 20 mM, pH 8.5) به نسبت ۱:۲۰۰۰ تا زمانی‌که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند توسط میکروسکوپ متصل به دوربین (Eclipse E200- LED) اندازه‌گیری شد و مشاهدات در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۲ سانتی‌گراد) صورت گرفت (Alavi *et al.*, 2007). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت (درصد)، پس از سانتریفیوژ کردن اسپرم در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در ۸ دقیقه در لوله‌های موئینه با استفاده از هماتوکریت خوان، درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد. تراکم اسپرم نیز به روش استاندارد هماسیتومتری اندازه‌گیری شد و با واحد میلیون در هر میلی‌لیتر سمن محاسبه شد (Butts *et al.*, 2012). جهت اندازه‌گیری پی- اچ و فشار اسمزی پلاسمای سمینال (میلی اسمول بر کیلوگرم)، نمونه‌ها درون ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته‌شد، با استفاده از سانتریفوژ در دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (eppendorf 5810 R, Germany) شدند. بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای سمینال که در قسمت بالای ویال قرار دارد (سوپر نتنت)[1] به درون ویال‌های جدید انتقال داده و پی- اچ فشار اسمزی پلاسما به‌ترتیب به وسیله دستگاه پی- اچ متر (Metrohm Ltd. CH-9101 Herisau, Switzerland) و اسمومتر (model K-7000; KNAUER, Germany) اندازه‌گیری شد.

خون‌گیری، تعیین شاخص گنادوسوماتیک (GSI) و بافت‌شناسی بیضه: پس از اسپرم‌گیری، ماهیان با گل میخک به میزان ۱۵۰ppm بیهوش شدند در ادامه سطح بدن ماهیان کاملاً با استفاده از یک پارچه تمیز خشک گردید. خون‌گیری از ماهیان توسط قطع ساقه دمی صورت گرفت. نمونه‌های خون، یک ساعت پس از لخته شدن با استفاده از سانتریفوژ (۱۰ دقیقه با دور ۴۵۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) سرم از خون تفکیک شد. سپس سرم به ویال‌هایی که مشخصات مربوطه به ماهی و مرحله آزمایش توسط برچسب روی آن نصب شده انتقال داده شد و ویال یاد شده توسط پارافیلم و درب پلاستیکی بسته و در دمای زیر انجماد (۲۱- درجه سانتی‌گراد) تا زمان آنالیز استروئیدهای جنسی نگهداری شدند. شاخص گنادوسوماتیک طبق فرمول ذیل محاسبه گردید. جهت بررسی بافت

1- Supernatant

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

بیضه نمونه‌های بافتی فیکس شده در محلول بوئن پس از مراحل آبگیری و شفاف‌سازی در پارافین قرار داده شد و مقاطع بافتی ۴ میکرومتری توسط دستگاه میکروتوم (Accu-Cut® SRM™ 200, SAKURA, USA) تهیه شد. پس از برش، با هماتوکسیلین- ائوزینرنگ آمیزی شد و از تمام نمونه‌های گناد در آزمایشگاه ۳ تا ۵ عدد لام تهیه شد و اسلایدهای بافتی به کمک میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور بررسی شد و مراحل تکامل و ساختار سلولی براساس روش ارائه شده توسط بلازر (Blazer, 2002) تعیین گردید.

$$GSI = \frac{\text{وزن گناد}}{\text{وزن بدن}} \times 100$$

سنجش استروئیدهای جنسی: استروئیدهای جنسی (تستوسترون و دی هیدروکسی پروژسترون) توسط دستگاه الایزا ریدر (ELISA; model Elx808, 241 Biotek, USA[1]) و با استفاده از کیت‌های سنجش هورمونی شرکت IBL (IBL International GmbH, Germany) در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و داده‌های به‌دست آمده به‌صورت نانوگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده در ارتباط با پارامترهای زیست‌سنجی، اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی و استروئیدهای جنسی بین گروه سنی دو ساله و سه ساله و پس از کنترل توزیع نرمال همگی آن‌ها به‌وسیله آزمون کولموگروف- اسمیرنوف توسط آزمون T جفتی در سطح ۹۵ درصد (α= ۰/۰۵)، جهت مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل تمامی داده‌ها و عملیات مربوط به‌وسیله نرم‌افزار SPSS انجام شد. داده‌ها در نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار استاندارد (Mean ± S.D) بیان شد.

نتایج

زیست‌سنجی و شاخص گنادوسوماتیک: بر اساس نتایج تحقیق حاضر، بین طول کل، طول استاندارد و وزن کل در گروه سنی دو ساله و سه ساله اختلاف معنی‌داری وجود داشت. طول کل، طول استاندارد و وزن کل در گروه سنی سه ساله به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین گروه سنی دو ساله بود ($p<$۰/۰۵، جدول ۱). همچنین شاخص گنادوسوماتیک در مولدین گروه سنی سه ساله به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین گروه سنی دو ساله بود ($p<$۰/۰۵، جدول ۱).

1- Enzyme-linked-Immunosorbent Assays

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

جدول ۱- مقایسه (میانگین± انحراف معیار) طول کل، طول استاندارد، وزن کل و شاخص گنادوسوماتیک (GSI) مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) رودخانه قشلاق سنندج طی فصل تولید مثل (حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه سنی دو ساله و سه ساله می‌باشد)

پارامتر	مولدین دو ساله	مولدین سه ساله	p-value
طول کل (سانتی‌متر)	۱۶/۸۰ ±۱/۶۴^{b}	۲۰/۲۰ ±۱/۱۵^{a}	p<۰/۰۵
طول استاندارد (سانتی‌متر)	۱۳/۸۰ ±۱/۶۴^{b}	۱۷/۰۰ ±۰/۹۴^{a}	p<۰/۰۵
وزن کل (گرم)	۲۵/۹۳ ±۴/۶۹^{b}	۵۷/۲۹ ±۹/۴۷^{a}	p<۰/۰۵
شاخص گنادوسوماتیک (درصد)	۷/۸۱ ±۰/۸۵^{b}	۶/۱۰ ±۱/۳۱^{a}	p<۰/۰۵

پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی: بین حجم اسپرم، اسپرماتوکریت، پی- اچ و فشار اسمزی مایع سمینال در مولدین گروه سنی دو ساله و سه ساله اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵، جدول ۲). در صورتی که طول دوره تحرک و تراکم اسپرم در مولدین گروه سنی دو ساله بالاتر از گروه سنی سه ساله بود (p<۰/۰۵، جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه (میانگین± انحراف معیار) حجم اسپرم، اسپرماتوکریت، پی- اچ و فشار اسمزی مایع سمینال، طول دوره تحرک و تراکم اسپرم، مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) رودخانه قشلاق سنندج طی فصل تولید مثل (حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه سنی دو ساله و سه ساله می‌باشد)

پارامتر	مولدین دو ساله	مولدین سه ساله	p-value
حجم اسپرم (میلی‌لیتر)	۰/۳۲ ±۰/۱۱	۰/۶۴ ±۰/۱۵	p>۰/۰۵
اسپرماتوکریت (درصد)	۵۲/۱۰ ±۹/۳۷	۴۹/۸۰ ±۴/۳۸	p>۰/۰۵
پی- اچ مایع سمینال	۷/۴۴ ±۰/۲۳	۷/۳۴ ±۰/۰۴	p>۰/۰۵
فشار اسمزی مایع سمینال (میلی‌اسمول بر کیلوگرم)	۲۷۷/۰۰ ±۷/۳۸	۲۷۹/۲۰ ±۶/۵۳	p>۰/۰۵
طول دوره تحرک (ثانیه)	۴۲/۰۲ ±۱/۷۸^{a}	۳۸/۲۴ ±۰/۴۳^{b}	p<۰/۰۵
تراکم اسپرم (میلیون در میلی‌لیتر)	۳۱/۹۵ ±۳/۷۷^{a}	۲۱/۸۹ ±۳/۳۵^{b}	p<۰/۰۵

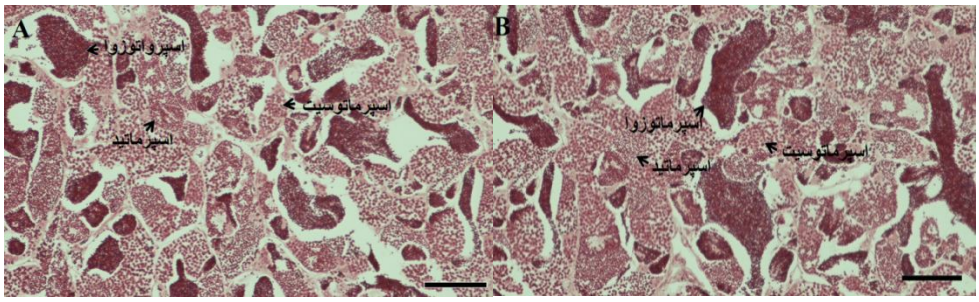
استروئیدهای جنسی: سطح استروئیدهای جنسی تستوسترون و دی هیدروکسی پروژسترون سرم خون بین مولدین گروه سنی دو ساله و سه ساله فاقد اختلاف معنی‌داری بود (p>۰/۰۵، جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه (میانگین± انحراف معیار) سطح تستوسترون و دی هیدروکسی پروژسترون سرم خون مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) رودخانه قشلاق سنندج طی فصل تولید مثل (حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه سنی دو ساله و سه ساله می‌باشد)

پارامتر	مولدین دو ساله	مولدین سه ساله	p-value
تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۱/۷۸ ±۰/۲۸	۱/۹۲ ±۰/۷۶	p>۰/۰۵
دی هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۰/۵۲ ±۰/۲۵	۰/۸۲ ±۰/۷۸	p>۰/۰۵

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

بافت‌شناسی بیضه: مطالعات بافت‌شناسی بیضه در هر دو گروه سنی نشان داد که سلول‌های جنسی در مراحل مختلف رشد در بافت بیضه قابل رویت هستند و بدون غالب بودن گروه خاصی از سلول‌های جنسی، ساختار بافت بیضه در هر دو گروه سنی دو ساله و سه ساله در مرحله اسپرمیشن یکسان بود (شکل ۱). به‌طوری‌که سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری لومن هر دو گروه سنی دو ساله و سه ساله قابل روئیت هستند و پراکنش هر گروه از سلول‌ها تقریباً مشابه می‌باشد. وجود سلول‌های اسپرماتوزآ در در مجاری لومن نشان دهنده شروع مرحله اسپرمیشن در هر دو گروه سنی می‌باشد.



شکل ۴- مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین- آئوزین و بزرگنمایی x ۱۰۰) مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) رودخانه قشلاق سنندج طی فصل تولیدمثل. A: شکل سلول‌های بیضه ماهیان گروه سنی دو ساله طی فصل تولید مثل که مرحله اسپرماتوژنز کامل شده و سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری لومن قابل رویت هستند. B: شکل سلول‌های بیضه ماهیان گروه سنی سه ساله طی فصل تولیدمثل که مرحله اسپرماتوژنز کامل شده و سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری لومن قابل رویت هستند (▬ ۱۰۰ میکرومتر).

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه بومی‌سازی گونه‌های مختلف آبزیان به‌منظور توسعه آبزی‌پروری و همچنین حفظ گونه‌های در معرض خطر به سرعت رو به افزیش است (Duarte *et al.*, 2007; Lorenzen *et al.*, 2012; Zadmajid, 2016). از طرفی دیگر به‌دست آوردن تولیدات جنسی باکیفیت بالا از مولدین یکی از اهداف اصلی آبزی‌پروری نوین می‌باشد (Haddy and Pankhurst, 2000). در راستای اهداف ذکر شده دو روش جمع‌آوری مولدین باکیفیت از طبیعت و یا تکثیر مصنوعی در شرایط اسارت از روش‌های مرسوم ازدیاد نسل گونه‌های مختلف آبزیان می‌باشد. در تحقیق حاضر تولیدات جنسی مولدین نر در سال اول بلوغ جنسی (گروه سنی دو ساله) با گروه سنی سه ساله بررسی گردید. براساس نتایج تحقیق حاضر طول کل، طول استاندارد، وزن کل و شاخص گنادوسوماتیک اندازه‌گیری شده برای گروه سنی سه ساله

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

بزرگتر بود. البته براساس مطالعات صورت گرفته توسط صوفیانی و اسداللهی (Soofiani and Asadollahi, 2010) این اختلاف با افزایش سن کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های مرسوم شناسایی مولدین نر با کیفیت بالاتر، ارزیابی پارامترهای کیفی اسپرم (پارامترهای حرکتی، اسپرماتوکریت، تراکم، ترکیبات بیوشیمیایی و ...) می‌باشد (Alavi *et al.*, 2008; Mylonas *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر بین حجم اسپرم، اسپرماتوکریت، پی- اچ و فشار اسمزی مایع سمینال در مولدین گروه سنی دو ساله و سه ساله اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. درصورتی که طول دوره تحرک و تراکم اسپرم در مولدین گروه سنی دو ساله بالاتر از گروه سنی سه ساله بود. در اکثر گونه‌ها طول دوره تحرک اسپرم بسیار پایین بوده و ممکن است از چند ثانیه تا بیش از چند دقیقه اسپرم متحرک باشد. فاکتورهای متعددی مانند غلظت یون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم)، فشار اسمزی، درجه حرارت، پی- اچ، نسبت رقیق‌سازی و پارامترهای درون سلولی مانند cAMP و ATP بر طول تحرک اسپرم اثر گذارند (Alavi *et al.*, 2008). از طرفی دیگر پی- اچ و فشار اسمزی از پارامترهای مهم فعال کننده اسپرم در گونه‌های ماهیان است که بر قابلیت لقاح اسپرم تأثیر می‌گذارد (Billard *et al.*, 1995). به‌طوری‌که افزایش پی- اچ مجرای اسپرم بر عامل مهمی در شروع حرکت اسپرم می‌باشد (Miura *et al.*, 1992). در تحقیق حاضر حجم اسپرم تا اندازه در گروه سنی سه ساله بالاتر (۰/۳۵± ۰/۶۴میلی‌لیتر) از گروه سنی دو ساله (۰/۱۱± ۰/۳۲ میلی‌لیتر) بود ولی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بنابراین کاهش تراکم اسپرم در گروه سنی 3^{+} ممکن است در نتیجه رقیق شدن اسپرم در مجرای اسپرم‌بر یا شرایط فیزیولوژیکی آغاز و پایان مرحله اسپرمیشن باشد. به‌طور معمول در سنین بالاتر اندازه مولد بزرگتر می‌باشد بنابراین اندازه بیضه‌ها نیز بزرگتر بوده و به نسبت آن حجم اسپرم بالاتر می‌رود. از آن‌جا که رابطه حجم اسپرم و غلظت آن به‌صورت یک رابطه معکوس است (Tekin *et al.*, 2003)، پس با افزایش سن حجم اسپرم بیشتر می‌شود، اما غلظت آن کاهش می‌یابد. از طرفی دیگر مطابق با تحقیق حاضر لایلی و همکاران (Liley *et al.*, 2002) گزارش کردند که تراکم اسپرم در مایع اسپرمی ماهیان نر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) که برای اولین بار اسپرم‌دهی می‌کنند (گروه سنی یکساله) در مقایسه با گروه سنی سه ساله بالاتر بود، اگر چه مدت زمان تحرک اسپرم در هر دو گروه سنی مشابه بود. برخلاف یافته‌های تحقیق حاضر لرستانی و همکاران (Lorestany *et al.*, 2006) بیان کرردند که طول دوره تحرک اسپرم در مولدین گروه سنی دو ساله قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با گروه سنی سه ساله و چهار ساله پایین‌تر بود. همچنین کیفیت اسپرم در مولدین گروه سنی سه ساله باس راه راه (*Morone saxatilis*) بالاتر از گروه سنی یکساله و دوازده ساله بود (Vuthiphandchai and Zohar, 1999). نتایج تحقیق حاضر مبین این مطلب است که خصوصیات کیفی اسپرم در رده‌های سنی مختلف براساس نوع گونه ماهی دارای تغییرات می‌باشد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

هورمون‌های استروئیدی جنسی به‌عنوان یک شاخص مهم در فرآیند اسپرماتوژنز، از مرحله اسپرماتوگونیا تا اسپرمیشن نقش دارند. در واقع سنجش استروئیدهای جنسی و شاخص گنادوسوماتیک در بسیاری از گونه‌ها به‌عنوان کلید شناسایی مراحل تکامل گناد مطرح هستند (Schulz *et al.*, 2010). در گونه‌های واجد تکامل گنادی غیر همزمان، بررسی شاخص گنادوسوماتیک به تنهایی نمی‌تواند معیار مناسبی جهت تعیین مراحل رسیدگی گناد باشد. بنابراین سنجش استروئیدهای جنسی به همراه شاخص گنادوسوماتیک می‌تواند در بررسی سیکل تولید مثلی دقیق‌تر باشد. سطوح هورمون تستوسترون در سرم خون ماهیان، با توجه به فصل و مراحل رسیدگی جنسی، متفاوت است (Scott and Baynes, 1980; Orlando *et al.*, 2003) ارتباط معنی‌داری بین مکانیسم تولید اسپرم و سطوح آندروژن‌ها برقرار است. از طرفی دی هیدروکسی پروژسترون نقش مهمی در فرآیند اسپرمیشن در ماهیان مولد نر دارد (Lim *et al.*, 2004; Scott *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر سطح استروئیدهای جنسی تستوسترون و دی هیدروکسی پروژسترون در مولدین گروه سنی سه ساله بالاتر از گروه سنی دو ساله بود ولی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین سطح استروئیدهای جنسی در کلاسه‌های سنی دو ساله و سه ساله مشاهده نشد. بنابراین افزایش نسبی حجم اسپرم در گروه سنی سه ساله می‌تواند در نتیجه بالابودن نسبی سطح استروئیدهای جنسی و بالا بودن شاخص گنادوسوماتیک در این کلاسه سنی باشد. مطابق با تحقیق حاضر سایدور و همکاران (Saydur *et al.*, 2000)، پناراندا و همکاران (Peñaranda *et al.*, 2010) و زادمجید (Zadmajid, 2016) گزارش کردند افزایش شاخص گنادوسوماتیک با افزایش سطح استروئیدهای جنسی به‌ترتیب در golden rabbitfish (*Siganus guttatus*)، مار ماهی اروپایی (*Anguila anguila*) و سیاه ماهی خالدار (*C. trutta*) مطابق بود.

در تحقیق حاضر مشاهده شد که مولدین سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*)، واجد بیضه از نوع تکامل غیرهمزمان هستند و براساس مطالعات بافت‌شناسی بیضه، به‌طور هم زمان تمامی مراحل رشد گنادی قابل مشاهده است. در واقع در هر دو گروه سنی دو ساله و سه ساله بدون غالب بودن گروه خاصی از سلول‌های جنسی، ساختار بافت بیضه در مرحله اسپرمیشن یکسان بود. به‌طوری‌که سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری اسپرم‌بر هر دو گروه سنی قابل رویت هستند و پراکنش هر گروه از سلول‌ها تقریباً مشابه می‌باشد. وجود سلول‌های اسپرماتوزآ در در مجاری لومن نشان دهنده شروع مرحله اسپرمیشن در هر دو گروه سنی می‌باشد. ساختار بیضه در ماهیان استخوانی مانند سایر مهره‌داران از ترکیبات بین سلولی تشکیل شده و به دو گروه قطعه‌ای[1] و لوله‌ای[2] تقسیم می‌شود. در بیضه‌های لوله‌ای تکامل اسپرم به صورت همزمان و یکباره می‌باشد در صورتی که در

1- Lobular type
2- Tubular type

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

بیضه‌های قطعه‌ای تکامل تدریجی است و ممکن است در یک زمان مراحل مختلفی از اسپرم درون بیضه وجود داشته باشد (Schulz *et al.*, 2010). ساختار قطعه‌ای شکل بیضه به‌طور آشکار در تحقیق حاضر در سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) مشاهده شد.

در جمع‌بندی کلی می‌توان بیان کرد که کیفیت سلول‌های جنسی در مولدین نر سیاه‌ماهی (*C. trutta*) در سال اول بلوغ جنسی (گروه سنی دو ساله) مشابه مولدین کلاسه سنی سه ساله می‌باشد. البته جهت اطمینان کامل از کیفیت سلول‌های جنسی در مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار (*C. trutta*) لازم است در تحقیقات بعدی سایر کلاسه‌های سنی خصوصاً مولدین با سن و وزن بالاتر نیز بررسی شود.

تشکر و قدردانی

لازم است مراتب قدردانی و سپاس خود را از خانم دکتر فرزانه وردی مسئول آزمایشگاه تشخیص طبی وردی (سنندج) به سبب همکاری در اجرای این تحقیق اعلام داریم. همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان جهت تأمین هزینه‌های مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdoli A. 2000. The inland water fishes of Iran. Iranian Museum of Nature and Wildlife. 378 P. (In Persian).

Alavi S.M.H., Cosson J. 2006. Sperm motility in fishes (II) Effects of ions and osmolality: A review. Cell Biology International, 30: 1–14.

Alavi S.M.H., Linhart O., Coward K., Rodina M. 2008. Fish spermatology: Implication for aquaculture management. In: Alavi S.M.H., Cosson, J., Coward K., Rafiee R. (Eds.). Fish spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford, pp: 397–460.

Alavi S.M.H., Rodina M., Policar T., Kozak P., Psenicka M., Linhart O. 2007. Semen of *Perca fluviatilis* L: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. Theriogenology, 68: 276–283.

Bahrami Kamangar B., Ghaderi E., Hossinpour H. 2012. The fish biodiversity of Gheshlagh River (Sanandaj, Iran), a tributary of Tigris basin with occurrence of *Rutilus kutum* and *Hemiculter leucisculus*. The GIAN International Symposium on" Biodiversity in Zagros Region. 5–6 May, Tehran, pp: 121-122. (In Persian).

Bahrami Kamangar B., Ghaderi E., Hoseinpour H. 2015. Growth and reproductive biology of *Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842) from a tributary of Tigris. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14(4): 956–969.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Billard R., Cosson J., Perches G., Linhart O. 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture, 129: 95–122.

Biswas S.P. 1993. Manual of Methods in Fish Biology.South Asian Publishers, New Delhi. 157 P.

Blazer V.S. 2002. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. Fish Physiology and Biochemistry, 26: 85–101.

Butts I.A.E., Love O.P., Farwell M., Pitcher T.E. 2012. Primary and secondary sexual characters in alternative reproductive tactics of Chinook salmon: Associations with androgens and the maturation-inducing steroid. General and Comparative Endocrinology, 175: 449–456.

Duarte M., Marbá N., Holmer M. 2007. Rapid domestication of marine species. Science, 16: 382–383.

Freyhof J. 2014. *Capoeta trutta*, The IUCN Red List of Threatened Species. Updated December 2016. [Cited December 2016]. Available from: http://iucnredlist.org/details/19027513/0.

Haddy J.A., Pankhurst N.W. 2000. The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild black bream *Acanthopagrus butcheri* is improved by treatment at capture. Aquaculture, 191(4): 351–366.

Javaheri Baboli M, Taghavi Niya M. 2014. Reproductive biology of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) in the Shour River, southwest Iran. Croatian Journal of Fisheries, 72: 150–155.

Liley N.R., Tamakee 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. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 59: 144–152.

Lim H.K., Pankhurst N.W., Fitzgibbon Q.P. 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder, *Rhombosolea tapirina*. Aquaculture, 240 (1-4): 505–516.

Lorenzen K., Beveridge M.C.M., Mange M. 2012. Cultured fish: integrative biology and management of domestication and interactions with wild fish. Biological Reviews, 87: 639–660.

Lorestany R., Ahmadi M.R., Kalbasi M.R. 2006. Effect of male age in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on duration of sperm motility, spermatocrite and eyed egg rate production. Iranian Scientific Fisheries Journal, 15: 119–128. (In Persian).

Matthew G., Mesa M.G., Bayer J.M., Bryan M.B., Sower S.A. 2010. Annual sex steroid and other physiological profiles of Pacific lampreys (*Entosphenus tridentatus*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 155(1): 56–63.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]

Miura T., Yamauchi K., Takahashi H., Nagahama Y. 1992. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in Salmonid fish. Journal of Experimental Zoology, 261: 359–363.

Mylonas C.C., Fostier A., Zanuy S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology, 165: 516–534.

Orlando E.F., Binczik G.A., Thomas P., Guillette J.L.J. 2003. Reproductive seasonality of the male Florida gar (*Lepisosteus platyrhincus*). General and Comparative Endocrinology, 131(3): 356–371.

Oymak S.A., Musa D., Unlu E. 2008. Reproductive biology and histological changes in the gonads of barb, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) in Ataturk dam lake, Turkey. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 23(2): 1–11.

Peñaranda D.S., Pérez L., Gallego V., Jover M., Tveiten H., Baloche S., Dufour S., Asturiano J.F. 2010. Molecular and physiological study of the artificial maturation process in European eel males: From brain to testis. General and Comparative Endocrinology, 166: 160–171.

Schulz R.W., de Franca L.R. Lareyre J.J., Le Gac F., Chiarini-Garcia H., Nobrega R.H., Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. General and Comparative Endocrinology, 165: 390–411.

Scott A.P., Baynes S.M. 1980. A review of the biology, handling and storage of Salmonid spermatozoa. Journal of Fish Biology, 17: 707–739.

Scott A.P., Sumpter J.P., Stacey N. 2010. The role of the maturation-inducing steroid, 17, 20β-dihydroxypregn-4-en-3-one, in male fishes: a review. Journal of Fish Biology, 76: 183–224.

Soofiani M., Asadollahi S. 2010. Growth and reproduction of *Capoeta damascina* Valenciennes 1842, from the Hanna wetland, Semirum. Iranian Scientific Fisheries Journal, 18: 145–156. (In Persian).

Saydur R.M.D., Takemura A., Takano K. 2000. Annual changes in testicular activity and plasma steroid hormones in the golden rabbitfish *Siganus guttatus* (Bloch). Fisheries Science, 66: 894–900.

Tekin N., Secer S., Akcay E., Bozkurt Y. 2003. Cryopreservation of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen. Israeli Journal Aquaculture-Bamidgeh, 55: 208–212.

Vuthiphandchai V., Zohar Y. 1999. Age-related sperm quality of captive striped bass *Morone saxatilis*. Journal of World Aquaculture Society, 30: 65–72.

Zadmajid V. 2016. Comparative effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and Ovaprim™(sGnRHa + domperidone) on the reproductive characteristics of wild-caught male Long spine scraper, *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). Aquaculture, 463: 7–15.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-03-19]