# مقایسه زیست‌شناسی تولیدمثلی جنس نر سیاه‌ماهی فلس‌ریز (*Capoeta damscina*) و سیاه‌ماهی خالدار (*Capoeta trutta*) در رودخانه قشلاق سنندج در طی فصل تولیدمثل


- **زهرا سعیدی‌کیا**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
- **وحید زادمجید***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران


تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۷

## چکیده

**در تحقیق حاضر به‌منظور مقایسه زیست‌شناسی تولیدمثلی مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز (*Capoeta damascina*) و سیاه‌ماهی خالدار (*Capoeta trutta*)، مولدین از رودخانه قشلاق سنندج در طی فصل تولیدمثل جمع‌آوری شد. سپس پارامترهایی از قبیل طول کل و وزن کل پارامترهای کیفی اسپرم و استروئیدهای جنسی هر دو گروه مولدین سنجش گردید. طول کل و وزن کل در مولدین نر سیاه‌ماهی فلس‌ریز سه ساله به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین نر سیاه‌ماهی خالدار سه ساله بود ($P<0/05$). حجم اسپرم، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت، استروئیدهای جنسی تستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون در مولدین سیاه‌ماهی خالدار به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود ($P<0/05$). طول دوره حرکت اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرک، pH و اسمولالیته پلاسمای سمینال در مولدین سیاه‌ماهی خالدار پایین‌تر از مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود ($P<0/05$). درصورتی‌که سطح ۱۱- کتوتستوسترون سرم خون در بین مولدین هر دو گروه فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P>0/05$). پراکنش بالای سلول‌های اسپرماتوزوآ در مجاری لومن مولدین سیاه‌ماهی خالدار نسبت به مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز حاکی از فعال بودن بیش‌تر بیضه از لحاظ تولید اسپرم در طی فصل تولیدمثل و در درجه حرارت ۲۱ درجه‌سانتی‌گراد می‌باشد.**

**کلمات کلیدی**: سیاه‌ماهی، استروئیدهای جنسی، پارامترهای کیفی اسپرم، رودخانه قشلاق سنندج



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: zadmajid@gmail.com

## مقدمه

سیاه‌ماهی فلس‌ریز (*Capoeta damascina*) و سیاه‌ماهی خالدار (*Capoeta trutta*) از خانواده کپورماهیان می‌باشند و به‌طور وسیعی در ترکیه، عراق، سوریه، لبنان، فلسطین اشغالی و در سرتاسر حوضه‌های آب شیرین ایران پراکنش دارند (Coad، ۲۰۱۰). سن رسیدگی جنسی در ماده‌های این گونه‌ها ۳ تا ۴ سالگی و در نرها ۲ تا ۳ سالگی می‌باشد (عبدلی، ۱۳۷۸). زیستگاه این ماهیان رودخانه‌ها و تالاب‌های آب‌شیرین با گیاهان آبزی و یا ریشه‌درختان به‌عنوان پناهگاه می‌باشد. در رودخانه‌ها در مناطق با عمق ۱/۵-۱ متر و با بستر ماسه‌ای تجمع می‌نمایند. تغییرات دمای آب از ۳۰-۲ درجه سانتی‌گراد، گل‌آلودگی و سرعت آب را تحمل می‌کند. این گونه‌ها جزء ماهیانی است که در بسیاری از جوامع مورد توجه بوده است و به‌عنوان گونه‌ای خوراکی نیز مورد مصرف قرار می‌گیرد (عبدلی، ۱۳۷۸). امروزه جمعیت بسیاری از گونه‌های مختلف ماهی به‌دلایلی چون صید بی‌رویه و آلودگی آب‌ها در خطر تهدید است. از طرفی دیگر ایجاد سد، ورود فاضلاب‌های شهری به رودخانه‌ها و معرفی گونه‌های غیربومی به بوم‌سازگان رودخانه، ازجمله عواملی هستند که می‌توانند در تخریب زیستگاه طبیعی و تولیدمثل طبیعی گونه‌های ماهی و کاهش جمعیت آن‌ها موثر باشند (Bahrami Kamangar و همکاران، ۲۰۱۲). از طرف دیگر ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی گونه‌های مختلف سیاه‌ماهیان بسیار نزدیک به یکدیگر می‌باشد. بنابراین پی بردن به اختلافات و شباهت‌های این گونه‌ها بسیار با ارزش بوده و در تولید هیبرید و یا تفکیک گونه‌های وحشی نیز می‌تواند کارآمد باشد، هم‌چنین عدم پراکنش این ماهیان در قاره‌های اروپا و آمریکا سبب شده تا از دسترس بیش‌تر محققان دور مانده و جنبه‌های زیستی آن تا حدودی به‌صورت مبهم باقی بماند. پراکنش وسیع گونه‌های سیاه‌ماهی احتمالاً به دامنه وسیع رژیم غذایی و کم توقعی آن، عدم قلمروطلبی، زندگی گله‌ای سیاه‌ماهی و وجود زیستگاه‌های گسترده مناسب زیست سیاه‌ماهی بستگی دارد. بیوماس بالای این ماهیان در آب های داخلی ایران، مطالعه ویژگی‌های زیستی و کوشش در جهت معرفی آن به سیستم پرورشی برای مصارف انسانی اهمیت ویژه‌ای دارد (عبدلی، ۱۳۷۸). هم‌چنین با توجه به اهمیت اقتصادی و تامین پروتئین انسانی، تلاش برای بازسازی ذخایر طبیعی و تکثیر پرورش مصنوعی گونه‌های سیاه‌ماهی در حال گسترش است (Zadmajid، ۲۰۱۶؛ Zadmajid و همکاران، ۲۰۱۷؛ Zadmajid و همکاران، ۲۰۱۸). اسپرم ماهیان از لحاظ فاکتورهای کیفیت در بین گونه‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد. آگاهی از تفاوت کیفی اسپرم در جنس نر ماهیان می‌تواند برای مدیریت ژنتیکی مولدین مفید باشد، به‌همین خاطر لازم می‌باشد قبل از لقاح فاکتورهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی را مورد بررسی قرار داد (Rurangwa و همکاران، ۲۰۰۴). پارامترهای کیفی اسپرم شامل تراکم اسپرم، افزایش اسمولالیته و pH پلاسمای سمینال، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، غلظت، تحرک و مورفولوژی می‌باشد. ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش‌های لقاح مصنوعی، نگه‌داری گامت‌های نر و مطالعه اثر آلاینده‌های زیست‌محیطی بر موفقیت تکثیر در ماهیان صورت می‌پذیرد (Billard و همکاران، ۱۹۹۵؛ Mohagheghi و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعه و شناخت سطوح هورمونی در ماهیان یکی از عوامل تشخیص سازوکار درگیر و تنظیم‌کننده فرآیند تولیدمثل در آن‌ها بوده که دستیابی به سطوح این تغییرات در ماهیان وحشی و پرورشی دارای اهمیت است. غدد جنسی دو جنس نر و ماده، استروئیدهایی ترشح می‌کنند که در بروز صفات ثانویه جنسی و تولید گامت نقش دارند. استروئیدهای جنسی نظیر استروژن، آندروژن و پروژسترون به‌طور پیچیده‌ای در بلوغ و کنترل رفتارهای جنسی دخالت دارند. به‌عنوان مثال آندروژن‌ها مانند تستوسترون و ۱۱- کتوتستوسترون توسط بیضه‌ها تولید می‌شوند که اهمیت زیادی در اسپرماتوژنزیز و نمایان شدن صفات ثانویه جنسی در ماهی‌ها دارند. اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های استروئیدی جنسی در سرم ماهیان استخوانی شاخص مناسبی جهت بررسی روند رشد و تکامل گناد محسوب می‌شود. به‌عنوان مثال هورمون‌های ۱۱- کتوتستوسترون و دی‌هیدروکسی‌پروژسترون به‌ترتیب به‌عنوان هورمون اصلی کنترل‌کننده فرآیند اسپرماتوژنزو بلوغ گناد در جنس نر مطرح می‌باشند. هدف از اجرای این طرح مقایسه زیست‌شناسی تولیدمثلی در بین مولدین نر سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار در طی فصل تولیدمثل طبیعی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

صید مولدین نر بالغ سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار با استفاده از تور پرتابی (سالیک) با اندازه چشمه ۱ سانتی‌متر در طی فصل تولیدمثل (خرداد و تیرماه ۱۳۹۶) از رودخانه‌های استان کردستان (عمدتاً رودخانه قشلاق سنندج) انجام گرفت. جمع‌آوری ماهیان در درجه‌حرارت بین ۲۱ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. از هر گونه تعداد ۲۰ قطعه ماهی انتخاب شد. ماهیان جمع‌آوری شده از لحاظ ظاهری بررسی و جمعیت سالم و فاقد هرگونه زخم، ناهنجاری‌های ظاهری و کاملاً رسیده (به‌لحاظ رسیدگی جنسی) عمدتاً سه ساله انتخاب گردید، تعیین سن ماهیان در آزمایشگاه و به‌روش فلس‌خوانی در آزمایشگاه صورت گرفت (Biswas، ۱۹۹۳). تشخیص مولدین نر بالغ از روی برجستگی بر روی بدن و خروج مایع شیری از منفذ تناسلی آن‌ها مشخص گردید. ماهیان صید شده در فاصله کم‌تر از ۲ ساعت به آزمایشگاه بیولوژی دانشکده منابع طبیعی در دانشگاه کردستان منتقل شدند.

**اسپرم‌گیری و سنجش پارامترهای اسپرم شناختی:** 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 اسپرم-گیری به‌عمل آمد. تعیین حجم اسپرم (میلی‌لیتر) توسط سرنگ‌های ۱ میلی‌لیتر انسولین صورت گرفت (زادمجید، ۱۳۹۵). پارامترهای حرکتی اسپرم از لحظه فعال شدن اسپرم توسط محلول فعال‌کننده (NaCl, 50Mm; Tris, 20Mm; pH:8.5) به نسبت ۱:۲۰۰۰ تا زمانی‌که همه اسپرم‌ها از حرکت باز بایستند توسط میکروسکوپ متصل به دوربین اندازه‌گیری شد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۷). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت (درصد) پس از سانتریفیوژ کردن اسپرم در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در ۸ دقیقه در لوله‌های موئینه با استفاده‌از هماتوکریت‌خوان، درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد (Zadmajid، ۲۰۱۶). تراکم اسپرم نیز به‌روش استاندارد هموسایتومتری اندازه‌گیری‌شد و با واحد میلیون در هر میلی‌لیتر سمن محاسبه گردید (Butts و همکاران، ۲۰۱۲). جهت اندازه‌گیری pH و اسمولالیته پلاسمای سمینال (میلی‌اسمول بر کیلوگرم)، نمونه‌ها درون ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد، با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۱۰۰۰۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای منی که در قسمت بالای ویال قرار داشت (سوپر نتنت) به‌درون ویال‌های جدید انتقال داده شد و pH و اسمولالیته پلاسمای سمینال به‌ترتیب به‌وسیله دستگاه pH متر و اسمومتر اندازه‌گیری شد (Zadmajid، ۲۰۱۶).

**خونگیری:** قبل از شروع خونگیری، ماهیان با گل میخک بی‌هوش شدند. سپس سطح بدن ماهیان کاملاً با استفاده از یک پارچه تمیز خشک و خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگ صورت گرفت. نمونه‌های خون یک ساعت پس از لخته شدن با استفاده از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه و ۴۵۰۰ گرم و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) سرم از خون تفکیک شد. سپس سرم به ویال‌هایی که مشخصات مربوط به ماهی و مرحله آزمایش توسط برچسب روی آن نصب شده بود انتقال داده شد و ویال‌های ذکر شده توسط پارافیلم و درب پلاستیکی بسته و در دمای زیر انجماد (۲۱- درجه سانتی‌گراد) تا زمان آنالیز استروئیدهای جنسی نگه‌داری گردید (Zadmajid، ۲۰۱۶).

**بافت‌شناسی:** برای بررسی بافت 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 تهیه شد. پس از برش دادن، با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شد و از تمام نمونه‌های گناد در آزمایشگاه ۳ تا ۵ عدد لام تهیه شد و لام‌های بافتی به‌کمک میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور بررسی شد (Blazer، ۲۰۰۲).

**سنجش استروئیدهای جنسی پلاسمای خون:** استروئیدهای جنسی (تستوسترون، ۱۱-کتوتستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون) به‌روش الایزا و با استفاده از کیت‌های سنجش هورمونی شرکت IBL (Germany) در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و داده‌های به‌دست آمده به‌صورت نانوگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردید.

**مدل آماری:** داده‌های به‌دست آمده از آزمایش در ارتباط با تیمارهای مختلف پس از کنترل همگنی آن‌ها به‌وسیله تست نرمالیته Kolmogronov-Smirnov توسط آزمون T جفتی در سطح ۹۵ درصد (α= ۰/۰۵)، جهت مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد (Chicago, IL, SPSS22). داده‌ها در نتایج به‌صورت میانگین±خطای معیار میانگین (Mean ± SE) بیان گردید.

## نتایج

طبق جدول ۱ بین طول کل و وزن کل مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). طول کل و وزن کل در بین مولدین سه ساله سیاه‌ماهی فلس‌ریز بالاتر از سیاه‌ماهی خالدار سه ساله بود.

**جدول۱: مقایسه (میانگین±خطای معیار میانگین) طول کل و وزن کل در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار در رودخانه قشلاق سنندج**

| | سیاه‌ماهی خالدار | سیاه‌ماهی فلس‌ریز | t | p-value |
|---|---|---|---|---|
| طول کل (سانتی‌متر) | ۲۰/۱±۱/۳۹ b | ۲۱/۴±۱/۵۰ a | ۲/۲۶ | P<۰/۰۵ |
| وزن کل (گرم) | ۵۸/۷±۹/۳۶ b | ۷۸/۷±۱۱/۲۸ a | ۵/۴۲ | P<۰/۰۰۱ |

طبق جدول ۲ حجم اسپرم، طول دوره حرکت اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرک، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت، pH پلاسمای سمینال و اسمولالیته پلاسمای سمینال در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و خالدار دارای اختلاف معنی‌داری است (p<۰/۰۵). حجم اسپرم، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در مولدین سیاه‌ماهی خالدار بیش‌تر از مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود. طول دوره حرکت و درصد اسپرم‌های متحرک در مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بیش‌تر بود. و pH پلاسمای سمینال و اسمولالیته پلاسمای سمینال در مولدین سیاه‌ماهی خالدار کم‌تر بود. طبق جدول ۳ سطح هورمون تستوسترون سرم خون در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار واجد اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۰۱). سطح هورمون دی‌هیدروکسی پروژسترون سرم خون در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار واجد اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۵). سطح هورمون تستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون سرم خون مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز سه ساله پایین‌تر از مولدین سیاه‌ماهی خالدار سه ساله بود.

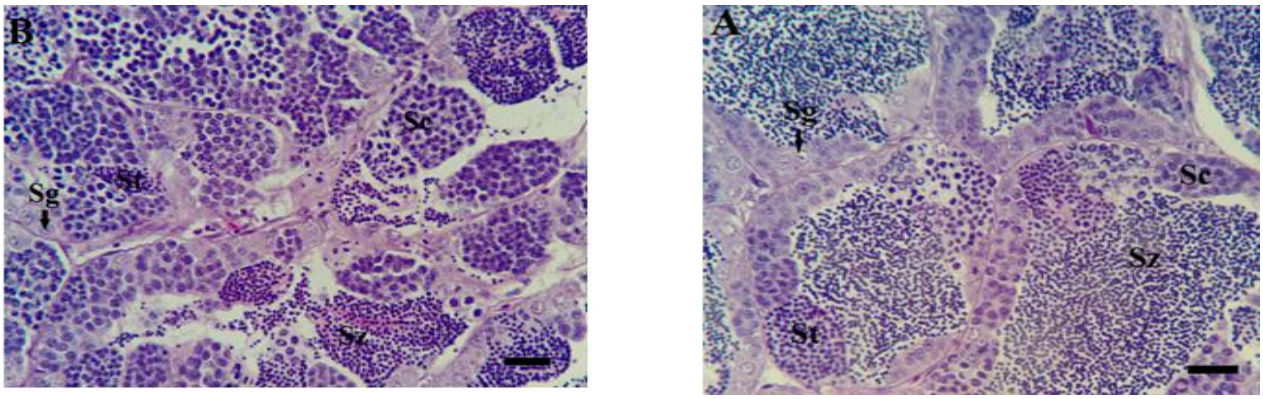
**جدول ۲: مقایسه (میانگین±خطای معیار میانگین) پارامترهای کیفی اسپرم در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار در رودخانه قشلاق سنندج**

| پارامترهای کیفی اسپرم | سیاه‌ماهی خالدار | سیاه‌ماهی فلس‌ریز | t | p-value |
|---|---|---|---|---|
| حجم اسپرم (میکرولیتر به‌ازای ماهی) | ۶۷۵±۹۰/۷ a | ۳۶۰±۶۰ b | ۳/۸۹ | p<۰/۰۰۴ |
| طول دوره تحرک (ثانیه) | ۴۰/۲۲±۰/۹۳ b | ۸۲/۴۰±۳/۴۱ a | ۱۲/۶۷ | p<۰/۰۰۱ |
| درصد اسپرم‌های متحرک | ۵۴/۲±۲/۸۷ b | ۷۷/۷±۲/۲۵ a | ۷/۱۷ | p<۰/۰۰۱ |
| تراکم اسپرم $10^6\times$ (سلول بر میلی‌لیتر) | ۴۹/۱±۰/۴۲ a | ۱۳±۱/۴۶ b | ۵/۰۵ | p<۰/۰۱ |
| اسپرماتوکریت (درصد) | ۴۹/۱±۱/۲۷ a | ۲۲/۴±۲/۴۸ b | ۸/۷۷ | p<۰/۰۰۱ |
| pH پلاسمای سمینال | ۷/۳۵±۰/۰۱ b | ۷/۶۲±۰/۰۳ a | ۸/۷ | p<۰/۰۰۱ |
| اسمولالیته پلاسمای سمینال (اسمول در لیتر) | ۲۸۱/۸±۲/۹۳ b | ۳۲۶/۴±۸/۰۳ a | ۶/۸۱ | P<۰/۰۰۱ |

**جدول ۳: مقایسه (میانگین±خطای معیار میانگین) استروئیدهای جنسی سرم خون در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه‌ماهی خالدار در رودخانه قشلاق سنندج**

| استروئیدهای جنسی سرم خون | سیاه‌ماهی خالدار | سیاه‌ماهی فلس‌ریز | t | p-value |
|---|---|---|---|---|
| تستوسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) | ۱/۹۶±۰/۲۱ a | ۰/۳۵±۰/۰۳ b | ۶/۹۶ | P<۰/۰۰۱ |
| دی‌هیدروکسی پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) | ۰/۸۶±۰/۲۲ a | ۰/۲۹±۰/۰۲ b | ۲/۷۶ | P<۰/۰۵ |
| ۱۱- کتوتستوسترون (نانوگرم بر لیتر) | ۲۷/۷±۱/۶۷ a | ۲۹/۱±۰/۳۹ a | ۰/۸۴ | P>۰/۰۵ |

**بافت‌شناسی گناد:** بررسی تصاویر میکروسکوپی بافت گناد در هر دو گروه ماهیان نشان داد که سلول‌های جنسی در مراحل مختلف رشد در بافت بیضه قابل رویت هستند به‌طوری که سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری لومن هر دوگروه ماهیان قابل رویت هستند (شکل ۱). وجود سلول‌های اسپرماتوزوآ در مجاری لومن نشان‌دهنده شروع مرحله اسپرمیشن در هر دو گروه ماهیان است. ولی پراکنش بالای سلول‌های اسپرماتوزوآ در مجاری لومن مولدین سیاه ماهی خالدار نسبت به مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز حاکی از فعال بودن بیش‌تر بیضه از لحاظ تولیداسپرم در درجه‌حرارت ۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (شکل ۱). نتایج حجم اسپرم نیز موید این فرضیه می‌باشد زیرا حجم اسپرم در مولدین سیاه‌ماهی خالدار به‌طور معنی‌داری بالاتر از مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود.




**شکل ۱: مقاطع بافت‌شناسی کلاسیک (هماتوکسیلین-آئوزین و بزرگ‌نمایی x ۱۰۰) مولدین وحشی سیاه‌ماهی خال‌دار (*C. trutta*) (شکل A) و سیاه‌ماهی فلس‌ریز (*C. damascina*) (شکل B) در تحقیق حاضر. بین ( ▬ ۵۰۰ میکرومتر). اختصارات: Sg، اسپرماتوگونیا؛ sc، اسپرماتوسیت؛ st، اسپرماتید؛ sz، اسپرماتوزوآ؛ Lu، مجاری لومن.**

## بحث

امروزه بومی‌سازی گونه‌های مختلف آبزیان به‌منظور توسعه آبزی پروری و هم‌چنین حفظ گونه‌های درمعرض خطر به‌سرعت‌رو به افزایش است (Lorenzen و همکاران، ۲۰۱۲؛ Zadmajid، ۲۰۱۶؛ Duarte و همکاران، ۲۰۱۶). از طرف دیگر به‌دست آوردن تولیدات جنسی با کیفیت بالا از مولدین یکی از اهداف اصلی آبزی‌پروری نوین می‌باشد (Haddy و Pankhurst، ۲۰۰۰). در راستای اهداف ذکر شده

دو روش جمع‌آوری مولدین با کیفیت از طبیعت و یا تکثیر مصنوعی در شرایط اسارت از روش‌های مرسوم ازدیاد نسل گونه‌های مختلف آبزیان می‌باشد (Mylonas، و همکاران، ۲۰۱۰). یکی از روش‌های مرسوم شناسایی مولدین نر با کیفیت بالاتر، ارزیابی پارامترهای کیفی اسپرم (پارامترهای حرکتی، اسپرماتوکریت، تراکم، ترکیبات بیوشیمیایی) می‌باشد (Mylonas، و همکاران، ۲۰۱۰؛ Alavi و همکاران، ۲۰۰۸).

**شاخص‌های کیفی اسپرم:** بین حجم اسپرم، اسپرماتوکریت، پارامترهای حرکتی اسپرم (طول دوره تحرک و درصد تحرک)، pH و فشار اسمزی مایع سمینال در بین مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز و سیاه ماهی خالدار اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. حجم اسپرم، تراکم و اسپرماتوکریت در مولدین سیاه‌ماهی خالدار بالاتر از سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود درصورتی‌که پارامترهای حرکتی اسپرم، pH و فشار اسمزی پلاسمای سمینال در مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بالاتر بود. با توجه به این‌که این دو گونه از لحاظ فعالیت تولیدمثلی در طبیعت بسیار مشابه هستند، نتایج تحقیق حاضر به‌خوبی برخی از اختلافات را بیان می‌کند. هم‌چنین با توجه به این‌که هر دو گروه مولد از لحاظ سنی برابر و سه ساله بودند ولی به‌طور معنی‌داری طول کل و وزن کل مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بالاتر از سیاه‌ماهی خالدار بود که این اختلاف در طول و سن می‌تواند یکی از عوامل تغییر در کیفیت سلول‌های جنسی این دو گروه ماهی باشد. اسپرم بیش‌تر گونه‌های ماهیان در بیضه و پلاسمای سمینال بی‌حرکت است و حرکت اسپرم بعد از آزاد شدن در محیط آبی طی تکثیر طبیعی یا هنگام تکثیر مصنوعی بعد از مخلوط شدن با رقیق‌کننده القا می‌شود. روابط آشکاری بین ترکیب پلاسمای سمینال، اسمولالیته و مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان وجود دارد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیق حاضر pH پلاسمای سمینال مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بالا بود و در نتیجه پارامترهای حرکتی اسپرم نیز بالا بودند که با نتایج بسیاری از محققین هم‌خوانی داشت. به‌عنوان مثال Lahnsteiner و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که همبستگی خطی و مثبتی بین pH پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های متحرک در کپورماهیان وجود دارد. بالابودن pH در نمونه‌های متحرک می‌تواند عامل اصلی تحرک سلول‌های اسپرماتوزوآ در مایع سمینال باشد (Rurangwa، و همکاران، ۲۰۰۴). pH و فشار اسمزی از پارامترهای مهم فعال‌کننده اسپرم در گونه‌های ماهیان است که بر قابلیت لقاح اسپرم تاثیر می‌گذارد (Billard، و همکاران، ۱۹۹۵) به طوری‌که افزایش pH مجرای اسپرم‌بر عامل مهمی در شروع حرکت اسپرم می‌باشد. بالا بودن pH در نمونه‌های متحرک می‌تواند عامل اصلی تحرک سلول‌های اسپرماتوزوآ در مایع سمینال باشد (Rurangwa و همکاران ۲۰۰۴). در مجموع ماهیان مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نسبت به pH از خود نشان می دهند به‌طوری‌که براساس گزارش Billard و همکاران (۱۹۹۵) اسپرم کپورماهیان در دامنه وسیعی از pH قابلیت حرکتی دارند. گزارش‌های زیادی وجود دارد که در گونه‌هایی که حجم اسپرم پایین می‌باشد معمولاً جهت جبران حجم کم اسپرم واجد اسپرمی با تراکم بالا می‌باشند (Alavi، و همکاران ۲۰۰۷). درصورتی‌که نتایج تراکم اسپرم تحقیق حاضر در رابطه با سیاه‌ماهی خالدار برخلاف گزارشات سایر محققین بود. زیرا در این گونه هم حجم اسپرم، تراکم و هم اسپرماتوکریت بالا بود. نکته جالب در رابطه با این فرضیه برای سیاه‌ماهی خالدار نسبت به سایر گونه‌ها متفاوت می‌باشد، زیرا در تحقیقی که بر روی مولدین وحشی سیاه‌ماهی خالدار انجام گرفت لقاح بالای ۹۰٪ گزارش شده بنابراین تراکم بالای اسپرم در این گونه یک فاکتور مثبت در لقاح بیان شده است (Zadmajid و همکاران، ۲۰۱۷). تاثیر سن بر روی کیفیت تولیدات جنسی در بسیاری از مطالعات تولیدمثلی صورت گرفته است به‌عنوان مثال تراکم اسپرم در مایع اسپرمی ماهیان نر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) که برای اولین بار اسپرم‌دهی می‌کنند در مقایسه با گروه سنی سه ساله بالاتر بود، اگرچه مدت زمان تحرک اسپرم در هر دو گروه مشابه بود (Liley، و همکاران، ۲۰۰۲). لرستانی و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که طول دوره تحرک اسپرم در مولدین دو ساله قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با سه ساله و چهار ساله پایین‌تر بود. هم‌چنین کیفیت اسپرم در مولدین سه ساله باس راه راه (*Morone saxatilis*) بالاتر از مولدین یک ساله بود (Vuthiphandchai و Zohar، ۱۹۹۹). نتایج تحقیق حاضر مبین این مطلب است که خصوصیات کیفی اسپرم در گونه‌های مختلف ماهی متغیر است. در تحقیق حاضر سطح استروئیدهای جنسی تستوسترون و دی‌هیدروکسی پروژسترون در مولدین سیاه‌ماهی خالدار بالاتر از مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز بود درصورتی‌که سطح ۱۱-کتوتستوسترون در بین مولدین سیاه‌ماهی خالدار و سیاه‌ماهی فلس‌ریز فاقد اختلاف معنی‌دار بود. بنابراین افزایش نسبی حجم اسپرم در گروه مولدین سیاه‌ماهی خالدار می‌تواند در نتیجه بالا بودن سطح استروئیدهای جنسی در این گروه باشد. استفاده از هورمون‌ها به‌صورت معنی‌داری باعث افزایش حجم اسپرم در ماهیان می شود. افزایش شاخص گنادوسوماتیک با افزایش سطح استروئیدهای جنسی به‌ترتیب در golden rabbit fish (*Siganus guttatus*)، مارماهی اروپایی (*Anguila anguila*) و سیاه‌ماهی خالدار مطابقت داشت (Saydur و همکاران، ۲۰۰۰؛ Penaranda و همکاران، ۲۰۱۰؛ Zadmajid، ۲۰۱۶). براساس مطالعات بافت‌شناسی بیضه، به‌طور هم‌زمان تمامی مراحل رشد گنادی قابل مشاهده است. به‌طوری‌که سلول‌های اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوآ در مجاری اسپرم‌بر هر دو گروه قابل رویت هستند ولی پراکنش سلول‌های دو گروه متفاوت بود. به‌طوری‌که پراکنش بالای

سلول‌های اسپرماتوزوآ در مجاری لومن مولدین سیاه‌ماهی خالدار نسبت به مولدین سیاه‌ماهی فلس‌ریز حاکی از فعال بودن بیش‌تر بیضه از لحاظ تولیداسپرم می‌باشد. ایگدری و همکاران (۱۳۸۵)، در بیضه سس‌ماهی بزرگ‌سر، در مراحل مختلف رشد سلول‌های اسپرماتید و اسپرماتوزوآ مشاهده کردند، اما بیش‌ترین تعداد این سلول‌ها را در بافت کاملاً بالغ بیضه و در فصل تولیدمثل این ماهی یعنی اواخر بهار و اوایل تابستان گزارش کردند. در جمع‌بندی کلی می‌توان بیان کرد با این‌که مولدین هر دو گروه سیاه‌ماهی خالدار و سیاه‌ماهی فلس‌ریز هم سن بودند (سه ساله) پارامترهای کیفی اسپرم و سطح استروئیدهای جنسی سرم خون در طی فصل تولیدمثل طبیعی بین هر دو گروه مولد متفاوت بود.

## منابع


۱. **عبدلی، ا.، ۱۳۷۸.** ماهیان آب‌های داخلی ایران. تهران. موزه طبیعت و حیات وحش ایران. ۳۷۷ صفحه.

۲. **زادمجید، و.، ۱۳۹۵.** بررسی شاخص‌های تولیدمثلی بین گروه‌های سنی دو و سه ساله جنس نر سیاه ماهی خال‌دار *Capoeta trutta* رودخانه قشلاق سنندج در فصل تولیدمثل. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۴، شماره ۴، صفحات ۵۵ تا ۶۶.

۳. **لرستانی، ر.؛ احمدی، م.ر. و کلباسی، م.، ۱۳۸۵.** اثر سن مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم‌زدگی. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱۵، شماره ۱، صفحات ۱۱۹ تا ۱۲۸.

۴. **Alavi, S.M.H.; Rodina, M.; Policar, T.; Kozak, P.; Psenicka, M. and 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. Vol. 68, pp: 276-283.

۵. **Alavi, S.M.H.; Linhart, O.; Coward, K. and Rodina, M., 2008**. Fish spermatology: implication for aquaculture management (In: Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Coward, K. and Rafiee, G., eds.) Fish spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford. 462 p.

۶. **Bahrami kamangar, B.; Ghaderi, E. and 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 in Symposium on Biodiversity in Zagrus Ragion, 5-6 may, Tehran, Iran.

۷. **Billard, R.; Cosson, G.; Perchec, G. and Linhart, O., 1995**. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. Vol. 129, pp: 95-112.

۸. **Biswas, S.P., 1993**. Manual of methods in fish biology. South Asian publishers. New Dehli. 157 p.

۹. **Blazer, V.S., 2002**. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 26, pp: 85-101.

۱۰. **Butts, I.A.E.; Love, O.P.; Farwell, M. and 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. Vol. 175, pp: 449-456.

۱۱. **Coad, B.W., 2010.** Freshwater fishes of Iraq. Pensoft publishers, Sofia, Moscow. 274 p.

۱۲. **Duarte, M.; Borja, A.; Carstensen, J.; Elliott, M.; Krause Jensen, D. and Marba, N., 2016.** Paradigms in the recovery of estuarine and coastal ecosystems. Estuaries and Coasts. Vol. 38, pp: 1202-1212.

۱۳. **Haddy, J.A. and 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. Vol. 191, pp: 351-366.

۱۴. **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. Fish Physiology Biochemistry. Vol. 15, pp: 167-179.

۱۵. **Liley, N.R.; Tamakee, 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 in vitro fertilization. Canadian J of Fisheries and Aquatic Science. Vol. 59, pp: 144-152.

۱۶. **Lorenzen, K.; Beveridge, M.C.M. and Mange, M., 2012.** Cultured fish: integrative biology and management of domestication and interactions with wild fish. Biological Reviews. Vol. 87, pp: 639-660.

۱۷. **Mohagheghi, A.; Policar, T. and Lahnsteiner, F., 2015**. Fish oocyte ageing and its effect on egg quality. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture. Vol. 23, pp: 302-314.

۱۸. **Mylonas, C.C.; Fostier, A. and Zanuy, S., 2010.** Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology. Vol. 165, pp: 516-534.

۱۹. **Penaranda, D.S.; Perez, L.; Gallego, V.; Jover, M.; Tveiten, H.; Baloche, S.; Dufour, S. and 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. Vol. 166, pp: 160-171.

۲۰. **Rurangwa, E.; Kime, D.E.; Ollevior, F. and Nash, J.P., 2004**. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture. Vol. 234, pp: 1-28.

۲۱. **Saydur, R.M.D.; Takemura, A. and Takano, K., 2000**. Annual changes in testicular activity and plasma steroid hormones in the golden rabbit fish *siganus guttatus* (Bloch). Fisheries science. Vol. 66, pp: 894-900.

۲۲. **Vuthiphandchai, V. and Zohar, Y., 1999**. Age-related sperm quality of captive striped bass *Morone saeatilis*. Journal of World Aquaculture Society. Vol. 30, pp: 65-72.

۲۳. **Zadmajid, V., 2016**. Comparative effects of human chorionic gonadotropin (HCG) and Ovaprim™ (sGnRHa + domperidone) on the reproductive characteristics of wild caught male Longspine scraper, *Capoeta trutta*. Aquaculture. Vol 463, pp: 7-15.

۲۴. **Zadmajid, V.; Mirzaee, R.; Hoseinpour, H.; Vahedi, N. and Butts, I.A.E., 2017.** Hormonal induction of ovulation using Ovaprim™ [(D-Arg$^{6}$, pro$^{9}$ Net)-sGnRH + domperidone] and its impact on embryonic development of wild-caught Longspine scraper, *Capoeta trutta*. Animal Reproduction Science. Vol. 187, pp: 79-90.

۲۵. **Zadmajid, V.; Bashiri, S.; Sharafi, N. and Butts, IAE., 2018.** Effect of hCG and Ovaprim™ on reproductive characteristics of male Levantine scraper, *Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842). Theriogenology. Vol. 15, pp: 45-56.