

تاثیر اسپرم‌گیری مجدد بر برخی از شاخص‌های کیفی اسپرم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897)

- **سمیه عرب‌نژاد***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: 538-98615
- **علیرضا افشاری**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق‌پستی: 79158 - 1311
- **حسینعلی شیبک**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: 538-98615
- **عباس علیزاده سرگزی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: 538-98615
- **تقی نجفی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، صندوق‌پستی: 538-98615

تاریخ پذیرش: بهمن 1393

تاریخ دریافت: آبان 1393

کلمات کلیدی: سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*)، اسپرم‌گیری مجدد، شاخص‌های کیفی

مختلف و حتی در یک گونه بسته به زمان اسپرم‌گیری، تعداد دفعات اسپرم‌گیری، سن، وزن، نژاد ماهی، شرایط محیطی، محل مهاجرت برای تخم‌ریزی، مهارت اسپرم‌گیری و مقدار اسپرم متغییر است (تکه و همکاران، 1388).

تاثیر اسپرم‌گیری مجدد بر نرخ تفریح و برخی پارامترهای اسپرم‌شناختی تاس‌ماهی ایرانی انجام گرفته که نتایج نشان داده پارامترهای کیفی اسپرم و نرخ تفریح در اسپرم‌گیری اول بهتر از اسپرم‌گیری دوم بوده است (دادرس و همکاران، 1388).

همچنین برای ارزیابی اثر تکرار اسپرم‌گیری با فاصله 12 ساعت شاخص‌های پلاسمای سمینال (اسمولالیتیه و ترکیبات یونی)، غلظت اسپرماتوزوا و تحرک اسپرم در تاس-ماهی *Acipenser persicus* مطالعه شده است، نتایج نشان داد غلظت اسپرماتوزوا و اسمولالیتیه با تکرار اسپرم‌گیری کاهش می‌یابد (Alavi و همکاران، 2007). همچنین تاثیر اسپرم‌گیری مجدد بر روی برخی از پارامترهای اسپرم-شناختی، درصد لقاح و روند انکوباسیون در ماهی آزاد وحشی بررسی شده است که نتایج نشان داده که بیش‌ترین حجم اسپرم، تراکم، اسپرماتوکریت، درصد لقاح، چشم‌زدگی

اسپرم واجد کیفیت بالا برای صنعت شیلات و مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شیلاتی حائز اهمیت می‌باشد (Dietrich و همکاران، 2005) از این‌رو ارزیابی مناسب کیفیت اسپرم جزء عوامل کلیدی در تولید موفق ماهی محسوب می‌گردد (Alavi و همکاران، 2006) و نیازی روزافزون در زمینه بهبود فرایندهای تولیدمندی از طریق به‌کارگیری گامت‌های با درجه بالای استاندارد احساس می‌شود. اسپرم با کیفیت مناسب بر روی سلامت لاروهای حاصله موثر است (Rurangwa و همکاران، 2004). کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح می‌باشد بنابراین پارامترهای اسپرم‌شناختی که در لقاح تاثیرگذار می‌باشند جزو پارامترهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. مهم‌ترین پارامترهایی که برای ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل: اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم منی، pH، اسمولالیتیه، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم ترکیبات پلاسمای سمینال است (Billard و همکاران، 1995). تراکم اسپرم به‌عنوان یکی از راه‌های تعیین غلظت اسپرم تا حد زیادی به حجم منی در یکبار اسپرم‌گیری بستگی دارد و اختلاف زیادی بین تراکم اسپرم در گونه‌های



حجم اسپرم‌دهی با استفاده از سرنگ انسولین و بر حسب میلی‌لیتر محاسبه شد. سپس برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، لوله‌های مونئینه حاوی منی که یک طرف آن توسط خمیر مخصوص لوله‌های هیارینه مسدود شده بود به دستگاه سانتریفوژ منتقل و با سرعت 3000 دور به مدت 8 دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس با استفاده از هماتوکریت خوان درصد اسپرم به پلاسمای مایع منی اندازه‌گیری شد. بدین منظور میانگین نمونه‌های اسپرم در سه تکرار به عنوان درصد اسپرماتوکریت ثبت شد (Fitzpatrick و همکاران، 2005). تراکم اسپرم با روش استاندارد هموسایتمتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت 1:1000 و با استفاده از میکروسکوپ فازکنتر است با بزرگ‌نمایی 10 اندازه‌گیری و با واحد $\times 10^9$ در هر میلی‌لیتر مایع منی محاسبه شد.

به منظور اندازه‌گیری pH، نمونه‌های اسپرم به ویال-های 1/5 میلی‌لیتری منتقل شدند سپس ابتدا نمونه‌ها به مدت 2 دقیقه در 500 دور در دقیقه و بعداً به مدت 10 دقیقه در 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ شدند (Linhart و همکاران، 1991). بعد از سانتریفوژ، پلاسمای منی که در قسمت بالایی ویال قرار گرفته بود به درون ویال‌های جدید منتقل گردید و میزان اسیدیته توسط pH متر اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری از بسته نرم‌افزاری SPSS (ویرایش 16) و برای تشخیص وجود اختلاف بین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way-ANOVA) استفاده گردید. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0/05$ از آزمون دانکن (Duncan test) استفاده شد. نتایج اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم‌شناختی (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرماتوزوا، حجم اسپرم‌دهی، pH) ماهی شیروتوراکس زارونکی در جدول 1 آمده است.

جدول 1: میانگین پارامترهای اسپرم‌شناختی در دو اسپرم‌گیری		
پارامتر	اسپرم‌گیری اول	اسپرم‌گیری دوم
طول تحرک اسپرم (ثانیه)	45/7±09/73 ^a	52/5±84/20 ^a
درصد تحرک اسپرم	57/11±18/29 ^a	72/9±4/73 ^a
اسپرماتوکریت (درصد)	33/2±55/91 ^b	35 7±1/6 ^a
حجم (میلی‌لیتر)	4/4±35/7 ^a	3/3±98/2 ^a
تراکم اسپرم $\times 10^9$	0/0±70/84 ^a	0±8/10 ^a
pH	7/0±78/27 ^a	8/03 0±12 ^a

حروف انگلیسی مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح 5% است.

همان‌گونه که در جدول مشاهده می‌شود میانگین و انحراف معیار طول دوره حرکت اسپرم در اسپرم‌گیری اول 45/7±09/73 و در اسپرم‌گیری دوم 52/84±5/20 بود که بر اساس آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). در مورد پارامتر درصد تحرک اسپرماتوزوا بین تکرار اسپرم‌گیری‌ها نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). مقایسه بین میزان حجم اسپرم‌دهی در بین دو اسپرم‌گیری نشان داد که حجم اسپرم در اسپرم‌گیری اول بالاتر از

و تحرک در مرحله اول اسپرم‌گیری مشاهده شده که حجم، درصد لقاح، چشم‌زدگی و تحرک اسپرم اختلاف معنی‌دار داشته اما تراکم و اسپرماتوکریت اختلاف معنی‌داری با مرحله دوم نداشته است (خارا و همکاران، 1391).

خشکسالی‌های متوالی سال‌های اخیر در منطقه سیستان و شرایط شدیداً ناپایدار تالاب هامون، از بین رفتن زیستگاه و زمینه تکثیر طبیعی ماهی شیروتوراکس زارونکی در کنار ورود و حضور گونه‌های غیربومی، احتمال خطر انقراض نسل این گونه ارزشمند بومی را به وجود آورده است لذا برای حفظ تکثیر مصنوعی این گونه دسترسی به اسپرم با کیفیت مناسب، به مقدار کافی در زمان لازم (Billard و همکاران، 1995) و مدیریت سلول‌های جنسی لازم است که میزان موفقیت فرایند تکثیر مصنوعی را تعیین کند و بر روی سلامتی لاروهای تولید شده تأثیر گذارد. طی فعالیت‌های تکثیر مصنوعی از ماهیان نر بالغ، در صورت نیاز بیش از یکبار اسپرم‌گیری می‌شود که این امر به دلیل کمبود تعداد مولدین نر و یا بلوغ دیررس آن‌ها است (Piros و همکاران، 2002).

بر اساس مطالعات قبلی، بین اسپرم‌های استحصالی از نرهای مختلف یا حتی اسپرم استحصالی از یک مولد خاص طی دفعات مختلف اسپرم‌گیری، تفاوت‌های زیادی می‌تواند وجود داشته باشد (Rana، 1995). به همین منظور تأثیر اسپرم‌گیری مجدد بر برخی فاکتورهای کیفی اسپرم ماهی شیروتوراکس زارونکی مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیق در اسفند ماه 1392 در مرکز تکثیر و بازسازی نخایر ماهی بومی زهک صورت گرفت. بدین منظور تعداد 11 قطعه مولد نر ماهی سفیدک سیستان (S. zarudnyi) (با میانگین طولی $42/8 \pm 3/91$ سانتی متر و میانگین وزنی $731/5 \pm 88/35$ گرم) تهیه شدند.

جهت القای رسیدگی جنسی این ماهیان از هورمون اوپریم به میزان 0/3 میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن (Gharaei و همکاران، 2011) استفاده شد و پس از گذشت 24 ساعت، نمونه‌های منی بعد از خشک کردن منفذ تناسلی با رعایت عدم آلودگی با آب، ادرار و یا خون تهیه شدند. نمونه‌های اسپرم پس از اطمینان از فعال بودن، در سرنگ-های استریل جمع‌آوری شده و به وسیله فلاسک محتوی یخ در مجاورت هوا، در طی کمتر از 6 ساعت به آزمایشگاه مرکز تکثیر و بازسازی نخایر ماهی بومی زهک جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و pH) منتقل شدند (Secer و همکاران، 2004).

درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم با میکروسکوپ فازکنتر است (Leica-DFC 295) مجهز به دوربین پاناسونیک با بزرگ‌نمایی $\times 400$ ارزیابی گردید. در این بررسی درصد تحرک اسپرم به روش تخمین چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت (Kopieka و همکاران، 2000) در بررسی مایع منی، زمان تحرک اسپرم‌ها بلافاصله پس از مخلوط کردن و از لحظه تماس با آب تا زمانی که 100 درصد از اسپرماتوزواها از تحرک ایستادند با استفاده از کرومتر دیجیتال محاسبه شد (Alavi و همکاران، 2006).

خصوصیات ویژه هر گونه است که ممکن است به شرایط آب و هوایی از قبیل درجه حرارت و دوره نوری بستگی داشته باشد (Zohar و Mylonas، 2001). Suquet و همکاران (1992) نیز با بررسی فواصل اسپرمگیری در ماهی turbut (*Scophthalmus maximus*) گزارش کردند که تکرار اسپرمکشی‌ها با فواصل ماهیانه تأثیری بر میانگین تحرک اسپرم و حجم کلی آن نداشت اما در مواقعی که فواصل اسپرمگیری‌ها به هر 14 روز یا هفته‌ای یکبار کاهش یافت تحرک اسپرم افزایش پیدا کرد و می‌توان گفت که نتایج حاصل از مطالعه مذکور در راستای تأیید یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشد.

همچنین Buyukhatipoglu و Holtz (1984) بیان کردند که از مولدینی که در میانه فصل تکثیر، اسپرمگیری انجام

می‌شود نسبت به مولدینی که در پایان فصل تکثیر اسپرم-گیری می‌شوند کیفیت اسپرم بهتری دارند و در مولدینی که هفته‌ای یکبار اسپرمگیری تکرار می‌شوند نسبت به مولدینی که هر دو هفته یا 4 هفته اسپرمگیری شده‌اند اسپرم تولید شده بیش‌تر بوده است. غلظت اسپرم در ماهیان نر مختلف، متفاوت می‌باشد و این تفاوت حتی در اسپرمگیری-های متوالی در طول یک یا چند هفته نیز متغییر است (احمدیان و همکاران، 1381). فواصل بین اسپرمگیری‌ها و سن مولدین نر نیز می‌تواند بر فاکتورهای کیفی اسپرم تأثیرگذار باشند که آن‌ها نیز در کارایی تکثیر دخیل می‌باشند (لرستانی، 1383).

در تحقیق حاضر میانگین و انحراف معیار تراکم اسپرم در اسپرمگیری اول برابر با $0/70 \pm 0/84 \times 10^9$ سلول در هر میلی‌لیتر و در اسپرمگیری دوم برابر با $0/8 \pm 0/10 \times 10^9$ سلول در هر میلی‌لیتر بود که بر اساس نتایج میزان تراکم اسپرم در اسپرمگیری دوم افزایش داشته است هر چند که اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است ($p > 0/05$).

Piros و همکاران (2002) مشاهده کردند که تراکم اسپرم تاس‌ماهی سبیری در طول دومین اسپرمگیری (چند ساعت بعد از اسپرمگیری اول) در مقایسه با اولین بار افزایش یافت هرچند مقدار افزایش مشاهده شده چندان زیاد نبود ($P > 0/05$). علت این اختلاف مشخص نیست و ممکن است ریشه در تفاوت شیوه‌های تحریک هورمونی، شرایط محیطی، مشخصات بیولوژیکی مولدین مثل سن و یا سایر دلایل داشته باشد (Linhardt و همکاران، 2000).

در مطالعه حاضر حجم اسپرم در اسپرمگیری اول بیش‌تر از اسپرمگیری دوم بود مطالعات نشان داده که در گونه‌هایی که حجم اسپرم آن‌ها پایین می‌باشد، معمولاً جهت جبران حجم کم اسپرم، دارای اسپرمی با تراکم بالا می‌باشند (Alavi و همکاران، 2007) که با نتایج تحقیق حاضر هم-خوانی دارد. حجم اسپرم دریافتی و اختلاف بین غلظت اسپرم در گونه‌های مختلف و حتی در یک گونه بسته تعداد دفعات اسپرمگیری، سن، وزن، نژاد ماهی، شرایط محیطی، مهاجرت تولیدمثلی، مهارت اسپرم‌گیری و مقدار اسپرم متغییر است (تکه و همکاران، 1388).

اسپرمگیری دوم بوده است. میانگین و انحراف معیار تراکم اسپرم در اسپرم‌گیری اول برابر با $0/70 \pm 0/84 \times 10^9$ سلول در میلی‌لیتر به‌دست آمد و میانگین و انحراف معیار تراکم اسپرم در اسپرم‌گیری دوم برابر با $0/8 \pm 0/10 \times 10^9$ سلول در میلی‌لیتر بود که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p > 0/05$). از طرفی مقایسه میانگین pH در بین تکرار اسپرمگیری اول و دوم نشان داد که حداکثر میزان pH در اسپرمگیری دوم بود که اختلاف معنی‌داری با مرحله اول اسپرمگیری نداشت ($p > 0/05$).

بین میانگین و انحراف معیار اسپرماتوکریت در اسپرمگیری اول و دوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0/05$) و در اسپرم‌گیری اول برابر با $33/55 \pm 2/91$ درصد به‌دست آمد و میانگین و انحراف معیار اسپرماتوکریت در اسپرم‌گیری دوم برابر با $35 \pm 7/16$ درصد بود.

معمولاً در فرایندهای تولیدمثلی، از ماهیان نر بالغ، بیش از یکبار اسپرم‌گیری می‌شود که این امر به‌دلیل کمبود تعداد مولدین نر با کیفیت لازم می‌باشد، این عمل می‌تواند تا حدی مشکلات فرا رو را برطرف نماید (Piros و همکاران، 2002؛ Dettlaff و همکاران، 1993). نتایج حاصل از تحقیق انجام شده نشان داد که درصد تحرک اسپرم در اسپرم‌گیری دوم (پس از تزریق دوم) افزایش یافت. مطالعات نشان داده که یک تزریق هورمون برای رسیدن به بلوغ جنسی و اسپرم‌ریزی کافی است اما ادامه فرایند القای هورمونی برای حفظ تولید و کیفیت اسپرم ضروری است (Asturiano و همکاران، 2005).

همچنین Alavi و همکاران (2006) اعلام نمودند افزایش زمان سپری شده در اسپرمکشی بعدی (چند ساعت پس از اسپرمکشی اول بدون انجام تزریق دوم) بعد از القای تحرک در آبشیرین بر روی درصد تحرک و طول دوره تحرک اسپرماتوزوای تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) اثر منفی می‌گذارد و شاید بتوان دلیل آنرا تغییر در فعالیت‌های آنزیمی پلاسمای سمینال طی اسپرمکشی‌های متوالی و تأثیر گذاری بر تحرک اسپرم دانست. در کل الگوی خاص از تولید اسپرم در طول اسپرمکشی‌های متعدد ممکن است در نتیجه اثرات فیزیولوژیکی و تغییرات محیطی بر روی فرایند اسپرم‌ریزی در طول فصل تکثیر باشد (Hajirezaee و همکاران، 2009).

در مطالعه حاضر عمل جمع‌آوری اسپرم پس از هر بار تزریق و القاء رسیدگی مجدد با فاصله چندروزه (متغیر) صورت پذیرفت و به ماهی فرصت طی کردن دوباره مراحل اسپرم‌سازی (Spermatogenesis، Spermogenesis و Spermation) داده شد که براساس نتایج حاصله می‌توان گفت اسپرمکشی‌های مکرر پس از هر بار تزریق و القاء رسیدگی جنسی بر روی میزان درصد تحرک و طول دوره تحرک تأثیر منفی نداشت. همچنین تفاوت مشاهده شده بین این مطالعه و مطالعات دیگران می‌تواند مربوط به حصول ظرفیت تحرک اسپرم در مجرای بیضه در پاسخ به تولید پروژسترون باشد (Nagahama، 1994).

به‌دلیل این‌که اسپرماتوزن و اسپرمیونز از



4. **دادرس، ح.؛ نظامی، ش.؛ خارا، ح. و برادران‌نویری، ش.، 1388.** تأثیر اسپرم‌گیری مجدد بر نرخ تفریح و اندازه لارو تاس ماهی ایرانی، Borodin *Acipenser persicus* (1897). مجله علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. سال 3، شماره 3، صفحات 33 تا 37.
5. **لرستانی، ر.، 1383.** اثر سن مولد نر و محلول‌های تقویت کننده اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. 64 صفحه.
6. **Alavi, S.M.H.; Cosson, J. and Kazemi, R., 2006.** Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 22, No. 1, pp: 400-405.
7. **Alavi, S.M.H.; Linhart, O.; Coward, K. and Rodina, M., 2007.** Fish spermatology: implications for aquaculture management. In: S.M.H. Alavi, J.J. Cosson, K. Coward and G. Rafiee, (Eds.), Fish Spermatology. Alpha Science Ltd, Oxford. pp: 397-460.
8. **Asturiano, J.F.; Pérez, L.; Garzón, D.L.; Peñaranda, D.S.; Marco-Jiménez, F.; Martínez-Llorens, S.; Tomás, A. and Jover, M., 2005.** Effect of different methods for the induction of spermiation on semen quality in European eel. Aquaculture Research. Vol. 36, No. 15, pp: 1480-1487.
9. **Billard, R.; Cosson, J.; Perchee, G. and Linhart, O., 1995.** Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. Vol. 124, No. 1-4, pp: 95-112.
10. **Buyukhatipoglu, S. and Holtz, H., 1984.** Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females, Aquaculture. Vol. 37, pp: 63-71.
11. **Cosson, J.; Billard, R.; Dreanno, C.; Suquet, M. and Cibert, C. 1999.** Regulation of axonemal wave parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In the Mail Gamete from Basic Knowledge to Clinical Applications. Vienna, U.S.A. pp: 161-186.
12. **Dettlaff, T.A.; Ginsburg, A.S. and Schmalchhausen, O.I., 1993.** Sturgeon fishes. In: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag, Berlin. pp: 67-71.
13. **Dietrich, G.J.; Kowalski, R.; Wojtczak, M.; Dobosz, S.; Goryczkoand, K. and Ciereszko, A., 2005.** Motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa in relation to sequential collection of milt, time of post-mortem storage and anesthesia. Fish Physio and Biochem. Vol. 31, pp: 1-9.
14. **Drokin, S.I. and Kopeika, E.F., 1997.** Cryopreservation and phospholipid content of spermatozoa of some sturgeon species. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 15, 311 p.
15. **Fitzpatrick, J.L.; Henry, J.C.; Leily, N.R. and Devlin, R.H., 2005.** Sperm characteristics and fertilization success of masculinized Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture. Vol. 249, No. 1-4, pp: 459-468.
16. **Gharaei, A.; Rahdari, A. and Ghaffari, M., 2011.** Induced Spawning of *Schizothorax zarudnyi* (Cyprinidae) By Using Synthetic Hormones (Ovaprim

در تحقیق انجام شده میانگین و انحراف معیار pH اسپرم در اسپرم‌گیری اول برابر با $7/78 \pm 0/27$ و میانگین و انحراف معیار pH اسپرم در اسپرم‌گیری دوم برابر با $8/0 \pm 03/12$ به دست آمد. در این تحقیق میانگین و انحراف معیار اسپرماتوکریت در اسپرم‌گیری اول برابر با $33/2 \pm 55/91$ و میانگین و انحراف معیار اسپرماتوکریت در اسپرم‌گیری دوم برابر با $35 \pm 7/16$ به دست آمد.

Rideout و همکاران (2004) در مورد ماهی هادداک گزارش نمودند میزان اسپرماتوکریت در طول فصل تکثیر به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و بین اسپرماتوکریت و سلول‌های متحرک اسپرم زمانی‌که اسپرماتوکریت برابر و یا کمتر از 70 درصد باشد ارتباط معنی‌داری وجود ندارد و در صورتی‌که بالاتر از 70 درصد باشد کاهش تحرک اسپرم دیده می‌شود.

Hatef و همکاران (2007) نیز میانگین تراکم اسپرم قزل‌آلای قهوه‌ای دریای خزر را $3/3 \times 10^9$ اسپرماتوزوا در هر میلی‌لیتر و دامنه مقدار اسپرماتوکریت را بین 25% تا 52% اعلام نمودند و بیان داشتند که رابطه خطی معنی‌دار قوی بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت وجود دارد.

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته و در نظر گرفتن این‌که در مرحله اول پارامترهای اسپرم‌شناختی اندازه‌گیری شده با مرحله دوم اختلاف معنی‌داری نداشت و حتی در مرحله دوم بالاتر از مرحله اول بود، به نظر می‌رسد ادامه فرایند لقاح هورمونی و کاهش استرس مولدین به شرایط نگره‌داری و تنظیم فاصله مناسب جهت اسپرم‌گیری مکرر می‌تواند راهکار مناسبی جهت افزایش کارایی تکثیر در این گونه باشد.

همچنین پیشنهاد می‌شود اثر عوامل مختلف مانند سن، وزن مولدین و دیگر عوامل در اسپرم‌گیری‌های مکرر بررسی گردد.

منابع

1. **احمدیان، ن.؛ مجازی‌امیری، ب.؛ ابطی، ب. و محمد نظری، ر.، 1381.** استفاده از تقویت کننده‌های اسپرم در لقاح تخمک تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). دومین همایش ملی- منطقه‌ای ماهیان خاویاری رشت. صفحات 111 تا 115.
2. **تکه، ش.؛ ایمانپور، م.ر.؛ سوداگر، م. و شعبانی، ع.، 1388.** مقایسه برخی پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی سفید مولد (*Rutilus frisii kutum*) در زمان‌های مختلف مهاجرت تولیدمثلی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد 16، شماره 2، صفحات 53 تا 62.
3. **خارا، ح.؛ شمس‌پور، س.؛ رضوانی، م.؛ احمدنژاد، م.؛ رهبر، م. و موسوی، س.، 1391.** تأثیر اسپرم‌گیری مجدد بر روی برخی از پارامترهای اسپرم‌شناختی، درصد لقاح و روند انکوباسیون در ماهی آزاد وحشی (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی و پژوهشی زیست-شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. جلد 4، شماره 4، صفحات 11 تا 22.



28. **Suquet, M.; Omnes, M.H.; Normant, Y. and Fauvel, C., 1992.** Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scprthalmus maximus*), Aqua. Vol. 101, pp: 177-185.
29. **Zohar, Y. and Mylonas, C.C., 2001.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture. Vol. 197, No. 1-4, pp: 99-136.
- and HCG). J of Fish and Mari Scie. Vol. 3, No. 6, pp: 518-522.
17. **Hajirezaee, S.; Mojazi Amiri, B. and Mirvaghefi, A.R., 2009.** Effect of stripping frequency on semen quality of endangered Caspian brown trout *Salmo trutta caspius*. Ame. J of anim and vete sci. Vol. 4, No. 3, pp: 65-71.
18. **Hatef, A.; Niksirat, H.; Mojazi Amiri, B.; Alavi, S.M.H. and Karami, M., 2007.** Sperm density, seminal plasma composition and their physiological relationship in the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Aquaculture Research. Vol. 38, No. 11, pp: 1175-1181.
19. **Kopieka, E.F.; Williot, P. and Goncharov, B.F., 2000.** Cryopreservation of Atlantic sturgeons *Acipenser sturio* L., 1758 sperm: First results and associated problems. Boletín Instituto Español de Oceanografía. Vol. 16, No. 1-4, pp: 167-173.
20. **Linhart, O.; Barth, T. and Kouril, J., 1991.** Stimulation of spermiation in tench *Tinca tinca* L. by analogues of GnRH and carp hypophysis. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds), Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, University of East Anglia, Norwich, UK. 282 P.
21. **Linhart, O.; Mims, S.D.; Gomelsky, B.; Hiott, A.E.; Shelton, W.L.; Cosson, J.; Rodina, M. and Gela, D., 2000.** Spermiation of paddlefish (*Polyodon spathula*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary extract. Aquatic Living Resources. Vol. 13, No. 6, pp: 1-6.
22. **Nagahama, Y., 1994.** Endocrine regulation of gametogenesis in fish. The International Journal of Developmental Biology. Vol. 38, No. 3, pp: 217-229.
23. **Piros, B.; Glogowski, J.; Kolman, R.; Rzemieniecki, A.; Domagala, J.; Horvath, A.; Urbanyi, B. and Ciereszko, A., 2002.** Biochemical characterization of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, and starlet, *Acipenser ruthenus*, milt plasma and spermatozoa. Fish Physiol Biochem. Vol. 26, pp: 289-295
24. **Rana, K.J., 1995.** Preservation of gametes. Cambridge: Cambridge University Press. Brood Stock Management and Egg and Larvae Quality. pp: 53-76
25. **Rideout, R.M.; Trippel, E.A. and Litvak, M.K., 2004.** Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock. J of Fish Biolo. Vol. 65, pp: 319-332.
26. **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. Aquacul. Vol. 234, pp: 1-28.
27. **Secer, S.; Tekin, N. and Bozkurt, Y., 2004.** Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bamidgeh, Aqua. Vol. 56, pp: 274-280.

