

تأثیر فاکتور سن بر شاخص های تولید مثلی مولدین پرورشی قزل آلای رنگین کمان

(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972)

سمیه شمس پور^{(۱)*}; حسین خارا^(۲)

somayehshamspour@gmail.com

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳ تیر

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۳

چکیده

ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مهمترین گونه از ماهیان سردآبی پرورشی در ایران می باشد. در روند تکثیر ماهی قزل آلای رنگین کمان، عوامل متفاوتی دخیل می باشند که از مهمترین آنها کیفیت و کمیت مولدین ماده و تخمک های استحصالی و همچنین کیفیت و کمیت مولدین نر و اسپرم آنها می باشد. به همین منظور، اثر سنین مختلف بر روی شاخص های تولید مثلی مولدین تا مرحله جذب کیسه زرده و آغاز تغذیه فعال، ضروری به نظر رسید. برای این منظور ۳ گروه سنی از مولدین نر و ماده (۴، ۳ و ۵ ساله) به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی و تعیین سن، بطور جداگانه، طول کل، وزن قبل از تخمگیری و اسپرم گیری، وزن پس از آن، قطر تخمک، وزن کل تخمک استحصال شده و تعیین کیفیت اسپرم در مولدین بررسی شد. سپس مولدین بصورت ضربه ری با هم تلاقی داده شدند. نتایج بررسی ۹ تیمار تهیه شده نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد لقاح و درصد تفریخ اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ($p \leq 0.05$) و تخم های حاصل از آمیزش مولدین نر ۴ ساله با مولدین ماده ۵ ساله دارای بیشترین میانگین درصد لقاح (۹۸٪)، درصد تفریخ (۹۶٪)، درصد زنده مانی لارو تا مرحله جذب کیسه زرده (۹۴/۵٪) و تعداد لاروهای دارای تغذیه فعال (۳۰۷۰ عدد) بودند. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر و تحقیقات گذشته تصدیق کرد که سن مولدین بر مراحل تفریخ مؤثر بوده و بر اساس این مطالعه استفاده از مولدین ماده ۵ ساله و مولدین نر ۴ ساله، این مراحل را بهبود می بخشند.

کلمات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*), سن، شاخص های تولید مثلی، مولدین.

*نویسنده مسئول

۱. مقدمه

لاروها توجه داشته اند تا اسپرم آنها؛ با آنکه کیفیت هردوگامت می‌تواند در موافقیت لقاح وبقاء لاروها اثر داشته باشد (۱۰). تحرک اسپرماتوزوا، میزان اسپرم و تراکم اسپرماتوزوا شاخص‌های خوبی برای کیفیت اسپرم هستند (۱۲) و حجم اسپرم یکی از ویژگی‌های اثرگذار بر میزان اسپرم و تراکم اسپرماتوزوا است. بنابراین کیفیت اسپرم از فاکتورهایی است که می‌تواند میزان لقاح را تحت تاثیر قرار دهد و می‌توان از آن به عنوان عامل موثر در باروری تخمک ها نام برد.

Gall در تحقیقاتش روی ماهیان آزاد پرورشی نشان داد که ماده‌های مسن تر و با وزن بیشتر، تخمک‌های بزرگتری نسبت به ماهیان جوانتر و کوچکتر تولید می‌کنند (۱۸). البته فراهم بودن غذا هم روی اندازه تخمک اثر می‌گذارد (۲۷).

بنابراین با توجه به اهمیت این ماهی در تأمین بخش اعظمی از پروتئین مورد نیاز و تکثیر آن در کارگاههای شمال کشور و به منظور افزایش درصد لقاح و بهبود کیفیت و سلامت لاروهای تفریخ شده، بحث کنترل مولдин نر و ماده این ماهی و بررسی توان باروری آنها ضروری و مؤثر به نظر می‌رسد. عوامل فراوانی بر کاهش تبدیل تخم به لارو مطرح می‌باشد که تفاوت در توان رسیدگی مولдин نر و ماده، استفاده از مولдин نارس ماده، کیفیت نامناسب برخی از ماهیان نر، فوق رسیدگی تخمک برخی از ماهیان، شیوه لقاح نامناسب، شیوه نامناسب انتقال تخم به مراکز تفریخ و انکوباسیون آن، خصوصیت آب رودخانه در زمان انکوباسیون از جمله مهمترین عوامل آن می‌باشد. لذا در این تحقیق وضعیت مولдин نر و ماده از لحاظ کیفیت اسپرم و تخمک و نقش پارامترهای سن، وضعیت رسیدگی، زمان تخم کشی و اسپرم گیری در لقاح تخم و درصد تبدیل تخم استحصالی به لارو مورد بررسی قرار گرفت. مراحل این تحقیق شامل تعیین سن

آزاد ماهیان (Salmonidae) از مهمترین گونه‌های پرورشی ماهیان در سراسر دنیا می‌باشد و پرورش آنها قرنهاست که در جوامع مختلف در حال انجام است (۲۳). در میان این خانواده، ماهی قزل آلای رنگین کمان (Oncorhynchus mykiss) از اهمیت و ارزش زیادی از نظر کیفیت گوشت، تکثیر و پرورش آسان و همچنین صید ورزشی برخوردار می‌باشد. بهبود کیفیت مواد تناسلی مولдин و کنترل تولید مثل آنها می‌تواند ما را در دست یابی به تقاضای روز افزون و در حال رشد آبزی پروری در جهان کمک کند (۳۱). یکی از عوامل مهم در لقاح، کیفیت تخمک‌های استحصالی از مولдин است. در این خصوص مهمترین فاکتورها قطر تخمک و میزان هماوری مولد ماده می‌باشد. از عوامل دیگر تأثیرگذار بر درصد و بازماندگی لاروهای تولید شده، سن و وزن مولдин بوده که با افزایش سن و وزن و به تأخیر افتادن عمل تخم کشی بتدریج تغییراتی در ترکیب مایع سلومیک و محتوی تخمک‌ها اتفاق می‌افتد که مسئول کاهش کیفیت تخمک‌ها، کاهش درصد لقاح، چشم زدگی، تفریخ و بروز ناهنجاری و تلفات در مراحل بعدی می‌باشند (۲۲). با به تأخیر افتادن عمل تخم کشی، تخمک‌ها فوق رسیده شده و قابلیت لقاح تخمک‌ها بطور کل از بین می‌رود. بنابراین تعیین سن بهینه برای استحصال تخمک از مولдин، یکی از شاخص‌ترین عوامل در نزخ چشم زدگی و تفریخ می‌باشد (۳). حتی ماهیان خویشاوند از یک نسل، یک وزن و یک طول، تخمک‌هایی با اندازه مختلف تولید می‌کنند (۵).

عامل تأثیرگذار دیگر، کیفیت اسپرم مولдин است که در ماهی قزل آلای رنگین کمان نیز خصوصیاتی از قبیل غلظت اسپرم، تحرک اسپرم، ترکیبات پلاسمای منی (۴) و اسپرماتوکربت (۷)، کیفیت اسپرم را تحت تاثیر قرار می‌دهند البته مراکز پرورشی ماهیان بیشتر روی کیفیت تخمک‌ها یا

گیری طول کل، اسپرم کشی شدند و وزن بعد از اسپرم گیری آنها نیز ثبت شد. اسپرم های حاصله در هر رده سنی به دلیل احتمال عقیم بودن و یا کیفیت نامناسب اسپرم در برخی مولдин، با هم مخلوط شدند و مقداری از آن (۱/۵ میلی لیتر) هر مولد نر) برای آزمایشات تعیین کیفیت اسپرم بر اساس سن، در کاپ نمونه برداری ریخته شد. تخمک های مخلوط گشته از هر گروه سنی، به ۳ کاسه پلاستیکی منتقل شدند؛ بدین صورت که یک کاسه حاوی تخمک های مولдин ماده ۳ ساله، یک کاسه حاوی تخمک های مولдин ۴ ساله و یکی هم حاوی تخمک های مولдин ۵ ساله بود. سپس محتویات هر کدام از این کاسه ها نیز، مجدداً به ۳ قسمت مساوی تقسیم و در سه کاسه کوچکتر شماره گذاری شده ریخته شدند. در مورد اسپرم های استحصالی نیز عملیات مشابه انجام شد (اسپرم های استحصالی نیز بر اساس گروههای سنی در ۳ ظرف جداگانه ریخته شد، بطوری که ۱ ظرف حاوی اسپرم های نرها ۳ ساله، ۱ ظرف حاوی اسپرم نرها ۴ ساله و یکی هم حاوی اسپرم نرها ۵ ساله بود). پس از این مرحله، محتویات ظرف ها بصورت ضربدری با هم لقاح داده شدند. فرایند لقاح Dry با اضافه کردن اسپرم به تخمک ها و به روش خشک (fertilization) صورت گرفت. بنابراین ۹ تیمار مختلف ایجاد شد (شکل ۱). پس از آبگیری و سفت شدن تخمها، تخم های لقاح یافته به ترافهای شماره گذاری شده در سالن انکوباسیون انتقال یافتند. به جهت جلوگیری از احتمال بروز اختلال در هر کدام از تیمارها، این تیمارها نیز به دو بخش تقسیم و در دو سینی جداگانه قرار گرفتند (۲ تکرار) و ۵ تراف و ۱۸ سینی بکار رفت. ۲۴ ساعت پس از لقاح، ۵۰ عدد تخم از هر سینی بوسیله محلول شفاف کننده شامل فرمالدھید +۰.۵٪ اسید استیک (۲) شفاف سازی و بررسی شده و درصد لقاح با شمارش تخمها لقاح یافته طبق رابطه ذیل محاسبه و ثبت گردید (۱۲):

مولдин نر و ماده، تعیین کیفیت اسپرم، تعیین هم آوری مولد ماده، بررسی کیفیت تخمک از نظر قطر و تعداد تخمک در گرم، محاسبه درصد تفریخ و زنده مانی لارو می باشد.

۲. مواد و روش ها

در این تحقیق که در مرکز بازسازی ذخایر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت صورت گرفت، در مجموع تعداد ۳۰ عدد مولد نر و ۳۰ عدد مولد ماده قزل آلای رنگین کمان در سه گروه سنی ۳، ۴ و ۵ ساله (از هر گروه ۱۰ عدد مولد ماده و ۱۰ عدد مولد نر) بصورت تصادفی انتخاب و بوسیله ساقچوک از حوضچه مولдин صید شدند. ابتدا مولдин ماده در گروههای سنی مجزا بوسیله ساقچوک توری از حوضچه، به چان بزرگتری حاوی مقدار ۲۰۰ ppm ماده بیهوش کننده عصاره پودر گل میخ (۱) انتقال یافته و بیهوش شدند. پس از بیهوشی، مولдин معاينه و پس از اطمینان از رسیدگی کامل آنها و بهبود کیفیت تخمک ها (عدم فوق رسیدگی)، مولдин با استفاده از ترازوی دیجیتال (ترازوی پند با دقت ۵ گرم) وزن کشی شده و با استفاده از تخته بیومتری طول کل آنها (از نوک پوزه تا انتهای باله دمی) نیز اندازه گیری شد. سپس با فشار آرام از بالای منفذ تناслی به سمت منفذ (Stripping Method)، کلیه تخمک های مولد ماده استحصال گردید و بلافارسله ماهی به آب تازه انتقال یافت. کل تخمک های استحصالی از هر مولد و همچنین ماهی پس از تخمگیری دوباره توزیع شدند. قطر چند عدد از تخمک هر مولد نیز با استفاده از کولیس اندازه گیری گردید.

تخمک های استحصالی از کلیه مولдин همسن با هم مخلوط گشته تا شرایط تکثیر برای ماهیان هم سن یکسان شده وافت کیفیت یکی از مولдин تاثیر زیادی در لقاح نداشته باشد. سپس بلافارسله مولдин نر پس از بیهوشی و توزیع و اندازه

$$\times 100 \times (\text{تعداد تخم‌های چشم‌زده} / \text{تعداد لارو}) = \text{درصد تفریخ}$$

پس از اینکه لاروها تقریباً دو سوم کیسه‌زerde خود را جذب کردند (۵۰ روز پس از لقاح)، با شمارش لاروهای تلف شده، میزان بازماندگی لارو تا مرحله جذب کیسه‌زerde محاسبه شد. لاروهای سالم برای تغذیه دستی درون تراف ریخته شدند.

خصوصیات آب کارگاه تکثیر در طول مدت این عملیات بدین گونه بوده است: دمای آب تراف‌ها ۹-۱۰ درجه سانتی گراد؛ دبی هر تراف ۱۵۰ سی سی در ثانیه و میزان اکسیژن آب بالای ۹ ppm بوده است.

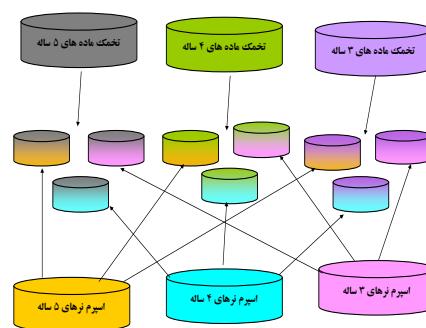
اطلاعات جمع آوری شده از بررسی‌ها و مطالعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار SPSS 17 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت سنجش تأثیر سن مولدهای، بر روی میزان لقاح، چشم‌زده، تفریخ و بازماندگی لارو تا مرحله جذب کیسه‌زerde از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون کولوموگراف-اسمیرنوف برای تست نرمال بودن داده‌ها و در صورت مشاهده اختلاف بین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آزمون توکی جهت معنی دار بودن یا نبودن اختلاف موجود در سطح ۹۵٪ استفاده گردید. همچنین، نرم افزار Excel 2003 به منظور رسم نمودارها استفاده شد.

۳. نتایج

با توجه به نتایج بدست آمده در تحقیق، میانگین و انحراف معیار فاکتور‌های بررسی شده در مولدهای نر و ماده، به ترتیب در جدول ۱ و ۲ خلاصه شده است:

$$\times 100 \times (\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته} / \text{تعداد تخم‌های لقاح}) = \text{درصد لقاح}$$

۲ روز بعد از لقاح تا زمان مشاهده اولین تفریخ، تخم‌های بوسیله مالاشیت گرین جهت پیشگیری از قارچ زدگی ضد عفونی شدند. میزان مالاشیت گرین مورد استفاده برای هر تراف ۱ گرم در لیتر بود که تخم‌های یک روز در میان به مدت ۴۵ الی ۶۰ دقیقه در معرض این ماده قرار گرفتند.



شکل ۱- تصویر شماتیک از تیمارهای تهیه و مطالعه شده در تحقیق

حدود ۱۹ روز پس از لقاح، با روش شوک دهی (۴)، تخم‌های چشم‌زده از تخم‌های تلف شده مشخص گردید. تخم‌های از فاصله ۲۰ سانتی‌متری در سینی دیگری تخلیه شده که طی این عمل تخم‌های لقاح نیافته یا تلف شده، سفید گشتند. تخم‌های تلف شده با استفاده از پوآر جمع آوری شده و مورد شمارش قرار گرفتند. تخم‌های چشم‌زده به دقت شمارش و میزان بازماندگی تخم‌های تلف شده تا مرحله چشم‌زده از طریق رابطه ذیل محاسبه گردید (۹):

$$\times 100 \times (\text{تعداد تخم‌های لقاح یافته} / \text{تعداد تخم‌های چشم‌زده}) = \text{درصد چشم‌زده}$$

با تفریخ شدن تخم‌های لقاح یافته، تخم‌های لارو دارای کیسه‌زerde (۳۰ تا ۳۵ روز پس از لقاح)، تخم‌های تفریخ نشده و تلف شده در سینی‌ها باقی ماندند که پس از شمارش آنها درصد تفریخ از طریق رابطه ذیل بدست آمده و ثبت گردید (۹):

جدول ۱- (انحراف معیار \pm میانگین) وزن مولدین، طول کل مولدین، حجم اسپرم، تراکم اسپرم و درصد اسپرماتوکریت بردسی شده در سنین مختلف مولدین نر قزل آلای رنگین کمان (تعداد ۱۰ عدد در هر رده سنی).

سن ماهی (سال) (%)	وزن قبل از اسپرم گیری (گرم)	وزن بعد از اسپرم گیری (گرم)	طول کل (سانسی متر)	حجم اسپرم استحصالی (میلی لیتر)	تراکم اسپرم (۱۰ ^۹ اسپرم در میلی لیتر)	درصد اسپرماتوکریت
۳	۸۹۶/۳ \pm ۸۷/۳۷	۸۷۳/۶۷ \pm ۸۴/۳۲	۴۱/۶۷ \pm ۱/۶۱ ^b	۱۵/۹۳ \pm ۲/۸۱ ^a	۱۳/۵ \pm ۷/۷۷ ^a	۶۰/۳ \pm ۱۲/۰۶۹ ^{a*}
۴	۱۲۶۰ \pm ۳۲۴/۹۵	۱۲۲۹ \pm ۳۱۵/۳۵	۴۵/۶ \pm ۲/۷۶ ^a	۲۳/۱۲ \pm ۸/۷۱ ^a	۷/۴۳ \pm ۳/۷۰ ^a	۳۹/۶ \pm ۱۲/۱۹ ^{b*}
۵	۱۳۹۶ \pm ۳۰۴/۶۹	۱۳۵۵/۳۳ \pm ۲۹۸/۷۸	۴۹/۴ \pm ۲/۵۹ ^a	۳۱/۸۷ \pm ۲۴/۳۵ ^a	۵/۷۱ \pm ۲/۷۳ ^a	۳۶/۳ \pm ۱۶/۳۹ ^b

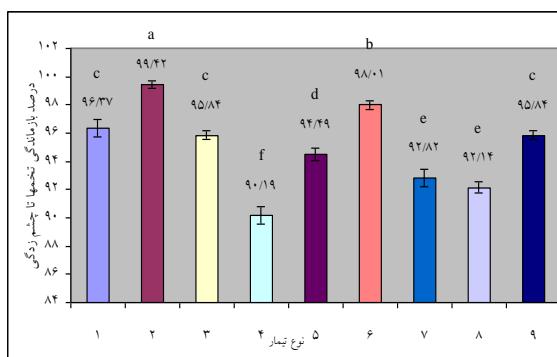
*حروف لاتین کوچک روی اعداد (ab) نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت در فاکتورهای اندازه گیری شده و اعداد بدون حروف تفاوت معنی داری نداشتند.

جدول ۲- (انحراف معیار \pm میانگین وزن) مولدین، طول کل مولدین، وزن کل تخمک، قطر تخمک، تعداد تخمک در یک گرم و هماوری مطلق اندازه گیری شده در سنین مختلف مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان (۱۰ عدد در هر رده سنی).

سن ماهی (سال)	وزن قبل از تخم گیری (گرم)	وزن بعد از تخم گیری (گرم)	طول کل (سانسی متر)	وزن کل تخمک استحصالی (گرم)	قطر تخمک (میلی متر)	تعداد تخمک در یک گرم آن (عدد)	هماوری مطلق (عدد)
۳	۷۶۱۱/۰ \pm ۱۱۴/۶ ^a	۶۲۴/۶ \pm ۷۱/۴ ^a	۴۰/۳۳ \pm ۱/۱ ^a	۱۱۴/۳ \pm ۳۱/۵	۴/۴ \pm ۰/۲۱ ^a	۱۴/۴ \pm ۰/۳۱ ^a	۱۷۳۷/۸ \pm ۴۷۹/۷ ^{a*}
۴	۱۵۳۲/۰ \pm ۱۲۵/۱ ^b	۱۲۷۱/۰ \pm ۱۱۲/۶ ^b	۴۷/۷ \pm ۰/۸۱ ^b	۲۰۶/۶۷ \pm ۲۷/۷	۴/۹ \pm ۰/۱ ^b	۱۱/۹ \pm ۰/۲۱ ^b	۲۸۹۳/۳ \pm ۳۸۹ ^{b*}
۵	۱۷۶۴/۳ \pm ۱۵۹/۸ ^b	۱۴۴۳/۶ \pm ۱۲۰/۳ ^b	۵۳/۰/۳ \pm ۱۵/۶ ^b	۲۵۱/۰ \pm ۵۰/۴	۴/۷ \pm ۰/۱۷ ^b	۱۲/۷ \pm ۰/۹۸ ^b	۳۵۳۶/۶ \pm ۶۹۶/۰ ^{c*}

*حروف لاتین کوچک روی اعداد نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت در فاکتورهای اندازه گیری شده و اعداد بدون حروف تفاوت معنی داری نداشتند.

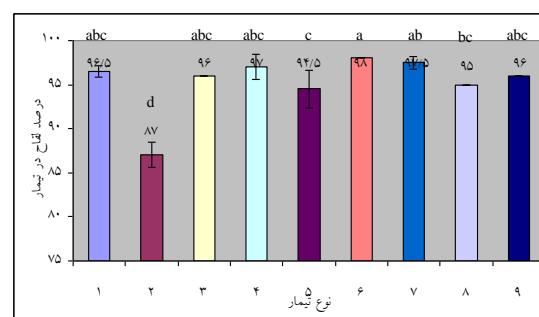
نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه میزان بازماندگی تخم‌ها تا مرحله چشم زدگی در تیمارهای مختلف نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین میزان بازماندگی تا مرحله چشم زدگی اختلاف معنی دار آماری مشاهده می‌گردد ($P \leq 0.05$). با توجه به نتایج بدست آمده، تیمار نر ۴ ساله و ماده ۳ ساله (تیمار ۴)، دارای کمترین میانگین درصد بازماندگی تخم‌ها تا مرحله چشم زدگی و تیمار نر ۳ ساله و ماده ۴ ساله (تیمار ۲) دارای بیشترین میانگین درصد بازماندگی تخم‌ها تا مرحله چشم زدگی می‌باشند (شکل ۴).



شکل ۴- درصد بازماندگی تا مرحله چشم زدگی در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

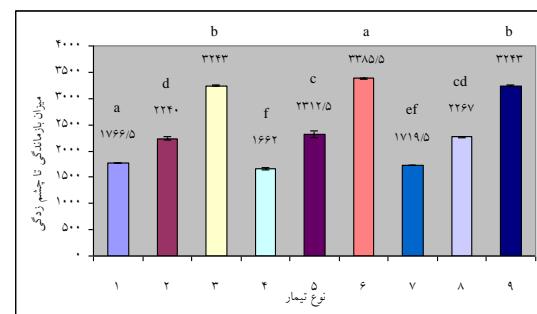
نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه درصد بازماندگی تا مرحله چشم زدگی بین تیمارهای مختلف نشان داد که در تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد بازماندگی تا مرحله چشم زدگی اختلاف معنی دار آماری مشاهده می‌گردد ($P \leq 0.05$) نتایج محاسبه درصد تفريح در تیمارهای مورد آزمایش نشان داد که تیمار نر ۵ ساله و ماده ۴ ساله (تیمار ۸) دارای کمترین میانگین درصد ظهور لارو و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله (تیمار ۶)، دارای بیشترین میانگین درصد ظهور لارو می‌باشند (شکل ۵).

طبق نتایج بررسی لقادح در ۹ تیمار مورد مطالعه، تیمار نر ۳ ساله و ماده ۴ ساله دارای کمترین میانگین درصد لقادح (تیمار ۲) و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله (تیمار ۶) دارای بیشترین میانگین درصد لقادح بود (شکل ۲).



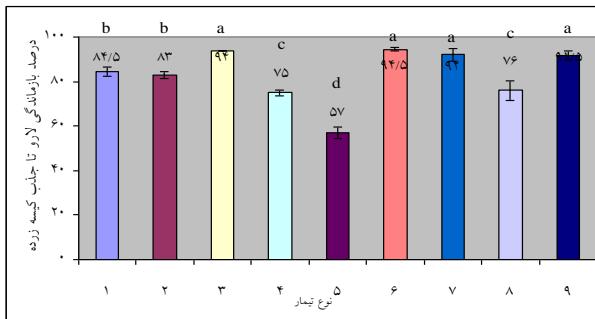
شکل ۲- درصد لقادح در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه درصد لقادح بین تیمارهای مختلف، نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد لقادح اختلاف معنی دار آماری مشاهده می‌گردد ($P \leq 0.05$). طبق نتایج بدست آمده، تیمار نر ۴ ساله و ماده ۳ ساله، دارای کمترین میانگین میزان بازماندگی تا مرحله چشم زدگی (تیمار ۲) و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله دارای بیشترین میانگین میزان بازماندگی تا مرحله چشم زدگی (تیمار ۶) بوده است (شکل ۳).



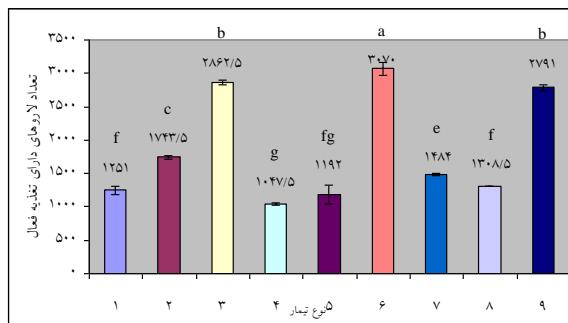
شکل ۳- میزان زنده مانی تا مرحله چشم زدگی در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

جذب کیسه زرده و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله (نیمار ۶)، دارای بیشترین میانگین درصد بازماندگی تا مرحله جذب کیسه زرده بود (شکل ۷).

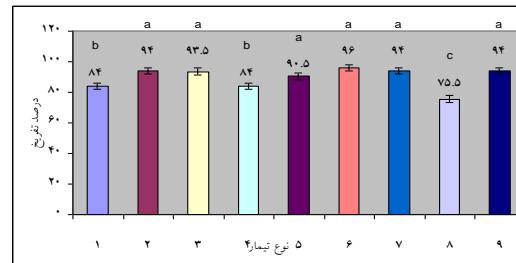


شکل ۷- درصد زندگانی لارو تا مرحله جذب کیسه زرده در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه درصد بازماندگی لارو تا مرحله جذب کیسه زرده بین تیمارهای مختلف نشان داد که در تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد بازماندگی لارو تا مرحله جذب کیسه زرده اختلاف معنی دار آماری مشاهده می گردد ($P \leq 0.05$). نتایج حاصله نشان داد که، تیمار نر ۴ ساله و ماده ۳ ساله (تیمار ۴)، دارای کمترین میانگین تعداد لاروهای دارای تغذیه فعال و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله (نیمار ۶)، دارای بیشترین میانگین تعداد لاروهای دارای تغذیه فعال بودند (شکل ۸).

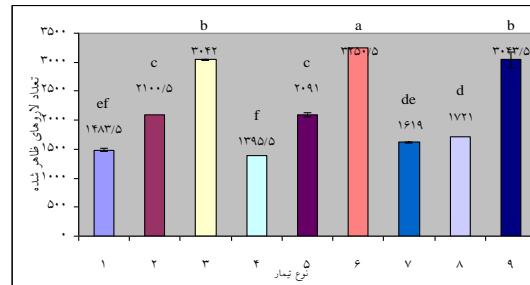


شکل ۸- تعداد لاروهای دارای تغذیه فعال در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)



شکل ۵- درصد تفريح در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه درصد ظهور لارو بین تیمارهای مختلف نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین درصد ظهور لارو اختلاف معنی دار آماری مشاهده می گردد ($P \leq 0.05$). با توجه به نتایج، مشخص گردید که تیمار نر ۴ ساله و ماده ۳ ساله (تیمار ۴) دارای کمترین میانگین تعداد لاروهای ظاهر شده و تیمار نر ۴ ساله و ماده ۵ ساله (تیمار ۶) دارای بیشترین میانگین تعداد لاروهای تخم گشایی شده بود (شکل ۶).



شکل ۶- تعداد لاروهای تخم گشایی شده در تیمارهای مختلف (انحراف معیار \pm میانگین)

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه تعداد لاروهای تخم گشایی شده بین تیمارهای مختلف نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میانگین تعداد لاروهای تخم گشایی شده اختلاف معنی دار آماری مشاهده می گردد ($P \leq 0.05$).

با توجه به نتایج مشاهده شده، تیمار نر ۴ ساله و ماده ۴ ساله (تیمار ۵)، دارای کمترین میانگین درصد بازماندگی تا مرحله

۴. بحث

ماهی، وزن بدن و اندازه لاروهای تازه تفریخ شده بدست آمده است (۱۹).

در مطالعات گذشته، همچنین، همبستگی مثبتی بین تلفات جنینی و اندازه تخمک همانند نتایج حاضر گزارش شده است (۱۷ و ۶). با توجه به نتایج این تحقیق، بین سنین مورد مطالعه از نظر تعداد در گرم تخمک‌ها اختلاف معنی دار بوده و مولدین ماده ۳ ساله بیشترین میزان را نشان دادند. علت این امر رابطه بین قطر تخمک استحصالی و تعداد در گرم تخمک است که مولدین ۳ ساله با تخمک‌های کوچکتر بالاترین تعداد در گرم تخمک را داشته‌اند.

در مولدین نر ۳ ساله، درصد اسپرماتوکریت، بیشتر از مولدین ۵ ساله بود، به علاوه بیشترین غلظت اسپرم نیز در همین گروه سنی (نر ۳ ساله) مشاهده شد. قبل از محققین ارتباط مثبت و معنی دار آماری را بین اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم گزارش کرده بودند (۲۵). البته در نتایج این مطالعه، مولدین نر ۴ ساله در تیمارهای مورد بررسی بیشترین میزان درصد لقاح، درصد چشم زدگی و درصد بازماندگی لاروهای تولیدی را نشان دادند، در حالیکه، مولدین ۳ ساله درصد اسپرماتوکریت بالاتری را داشتند.

همچنانکه (۱۶ و ۲۰) اسپرماتوکریت بالاتری را در مولدین بیش رنس ۳ ساله در مقایسه با نرها ۵ ساله گزارش داده بودند. همچنین بالاترین حجم اسپرم و کمترین تراکم اسپرم در مولدین ۵ ساله مشاهده شد و این نتیجه مشابه نتایج تحقیقی بود که بیان کردند، حجم اسپرم با سن، طول و وزن مولدین، نسبت مستقیم و با غلظت یا تراکم اسپرم نسبت معکوس دارد (۲۸).

در تحقیق حاضر مولدین نر ۴ ساله مناسب ترین نتایج را در روند انکوباسیون تخم‌ها به دنبال داشتند و بیشترین درصد لقاح، چشم زدگی و تفریخ را نشان دادند. این نتیجه در تحقیق

بررسی اثر سن بر توان باروری مولدین نر و ماده و زنده مانی لاروهای تولید شده از آنها، مستلزم بررسی کیفیت گامتهاي استحصالی از آنها می‌باشد و کاربرد گامتهاي با کیفیت بالا از مولدین پرورشی اهمیت زیادی در اطمینان از تولید لاروهای بهتر دارد (۲۱).

با توجه به نتایج حاصله، مولدین ماده ۴ و ۵ ساله در مقایسه با مولدین ماده ۳ ساله تخمک‌های بزرگتری تولید کرده و میزان هماوری مطلق نیز در سنین بالاتر بیشتر بوده است. این نتیجه در Robert Pitman در سال ۱۹۷۹ به اثبات رسیده بود که مولدین ماده ۵ ساله قزل آلای رنگین کمان در مقایسه با مولدین با سن کمتر، تخمک‌های بزرگتر با توانایی تفریخ بالاتری تولید کردند که به تولید لاروهای بزرگتر با رشد سریعتر و انگشت قدھایی با تلفات کمتر منجر شد. اثر مثبت اندازه مولدین ماده بر روی هماوری، قبل از مورد ماهیان آزاد اقیانوس اطلس و حشی و پرورشی نشان داده شده بود (۲۹، ۱۵، ۱۶، ۱۱). در سایر گونه‌های آزاد ماهیان نیز، نتایج مطالعات، شیوه این تحقیق بوده است (۵).

کیفیت تخمک با توجه به اندازه (قطر) و وزن کل آن می‌تواند اثر مثبتی را بسته به اندازه مولد ماده بر روی میزان لقاح و بهبود روند انکوباسیون تخم‌ها داشته باشد. در این تحقیق مولدین ماده ۵ ساله در مقایسه با مولدین ۳ و ۴ ساله هماوری کل بالاتری را نشان دادند. با توجه به اینکه این مولدین تخمک‌های بزرگتر و سپس لاروهای بیشتر با بازماندگی بالاتری را تولید کردند، می‌توان اظهار کرد که اندازه تخمک ماهیان اثر مثبتی در روند انکوباسیون آنها داشته است. در تحقیقات مشابه روی تاس ماهی سیری (Acipenser baeri) نیز همبستگی مثبتی بین اندازه تخمک، طول کل

سپاسگزاری

لازم می دانیم از همکاری صمیمانه ریاست و پرسنل محترم مرکز بازسازی ذخایر آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت و همکاری ریاست محترم ایستگاه تحقیقات اکولوژی آبزیان دریای خزر خیروود، جناب آقای مهندس سالاروند و کارشناسان محترم آن مرکز تشکر و قدردانی نمایم.

منابع

۱- سلطانی، م. امید بیگی، ر. رضوانی، س. مهرابی، م. چیت ساز، ح. ۱۳۸۰. مطالعه اثرات هوشبری انسانس و عصاره گل میخک در ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت برخی شرایط کیفی آب. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. (۵۶) ۵۶: ص ۸۵ تا ۸۹.

۲- لرستانی، رضا. ۱۳۸۳. اثر سن مولد نر و محلول های تقویت کننده بر مدت زمان تحرک اسپرم و میزان باروری ماهی قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور. ۶۷ ص.

۳- محققی ، آذین . ۱۳۸۴ . تعیین بهترین زمان استحصال تخمک پس از اوولاسیون ، از مولد ماده قزل آلای رنگین کمان . پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. دانشکده منابع طبیعی کرج . ۸۶ ص.

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

5-Bagenal, T.B. 1969. The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta* L. J. Fish Biol. 1: 167-182.

6- Beacham, T.D. and Murray, C.B. 1985. Effect of female size, egg size, and water temperature on developmental biology of

(۲) گزارش شده بود که بیان کرد، مولدین نر ۴ ساله قزل آلای رنگین کمان در مقایسه با مولدین نر ۲ و ۳ ساله، درصد تفریخ بالاتری را داشتند. در نتایج گزارش (۲۸) نیز مشاهده گردید که با کاهش غلظت اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی قزل آلا افزایش و با افزایش غلظت اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در این ماهی کاهش یافت. نتیجه مشابهی نیز در همین گونه ماهی گزارش شده است که در نمونه برداری از اسپرم ماهی قزل آلا رنگین کمان و سنجش مدت زمان تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت در زمان های متفاوت نمونه برداری، زمانی که میزان اسپرماتوکریت بالاتر باشد، مدت زمان تحرک اسپرم کاهش می یابد (۲۴). علت این امر را شاید بتوان به رابطه تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم (غلظت) و مدت زمان تحرک اسپرم ربط داد، زیرا هر چه تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم بیشتر باشد، مصرف ATP نیز بیشتر می شود. دامنه مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی قزل آلا رنگین کمان کمتر از ۳۰ ثانیه گزارش شده است (۲۶ و ۲۴). نتایج تحقیق حاضر در مورد اثر سن مولد نر بر مدت زمان تحرک اسپرم و میزان اسپرماتوکریت نتایج تحقیق های مذکور را تایید می نماید.

نتایج این تحقیق به صورت جداگانه در مولدین نر و ماده قزل آلای رنگین کمان به اثبات رسیده بود و این تحقیق با انجام مراحل عملی لقادیر بر روی سنین و وزنها و سایزهای مختلف مولدین و بررسی روند انکوباسیون تخم های حاصل تا مرحله جذب کیسه زرده لاروها، برای اولین بار بهترین سن تلاقی بین مولدین را پیشنهاد کرده تا با تعیین سن این مولدین و کاربرد آنها در تکثیر مصنوعی از نظر کمی و کیفی لاروهای مناسبی را برای پرورش و تکثیر در سالهای بعد در اختیار داشته باشیم. مولدین ماده ۵ ساله و مولدین نر ۴ ساله با توجه به نتایج این پژوهش می توانند مناسب ترین گزینه ها برای تولید در مراکز تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان در کشور باشند.

- Aquat.Sci.42:1755-1765.
- 7- Billard, R. 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. J. Aquaculture. 100:263-298.
- 8-Billard, R. Cosson, J. Crim, L.W and Suquet, M. 1995. Sperm physiology and quality. In: Brood stock Management and Egg and Larval Quality, First edition, Blackwellpress,pp:25-52.
- 9-Billard, R., Gillet, C. 1981. Aging of eggs and temperature potentialization of micropollutant effects of the aquatic medium on trout gamets. Cah. Lab. Hydrobiol. Montreau. 12 : 35-42.
- 10- Bozkurt ,Y. Seçer, S and Bejcan, S. 2006. Relationship Between Spermatozoa Motility , Egg Size, Fecundity and Fertilization Success in *Salmo trutta abanticus*. Tarim Bilimleri Dergisi, 12: 345-348.
- 11-Brannas E., Brannas K. and Eriksson L, O. 1985. Egg characteristics and hatchery survival in a Baltic salmon, *Salmo salar* L., population. Rept. Inst. Freshw. Res . Drottningholm62:5-11.
- 12-Bromage, N.R. and Cumaranataunga, R. 1988. Egg production in the rainbow trout, In recent advances in aquaculture. 3: 63-139.
- 13-Cabrita, E ., Anel, L and Herraéz, P.M. 2001. Effect of external cryoprotectants as membrane stabilizers on cryopreserved trout sperm. Theriogenology , 56: 623-635.
- 14- Daye, P. G. and Glebe, B.D. 1984. Fertilization success and sperm motility of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in acidified water. J. Aquaculture, 43: 307-31.
- 15-Erkinaro J ., Dempson J.B ., Julkunen M. & Niemela E. 1997. Importance of ontogenetic habitat shifts to juvenile output and life history of Atlantic salmon in a large subarctic river. An approach based on analysis of scale characteristics. J. Fish Biol.51:1174-1185.
- 16-Eskelinen U. & Ruohonen K. 1989. Reproduction parameters of hatchery-reared Atlantic salmon broodstocks and a model to optimize the rearing cycle. J. Aquaculture, European Aquaculture Society, Brendene, Belgium, pp.507-516.
- 17- Fowler L.G. 1972. Growth and mortality of fingerling Chinook salmon as affected by egg size. Prog. Fish-Cult. 34: 66-69.
- 18-Gall, G.A.E. 1974. Influence of size of eggs and age of female on hatchability and growth of rainbow trout. Calif. J. Fish Game60:26-35.
- 19- Gisbert, E. Williot , P . Castello Orvay , F. 1999. Influence of egg size on growth and survival of early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. J. Aquaculture, 183:83-94.
- 20- Hoysak, D. J. and Liley, N. R. 2001. Fertilization dynamics in sockeye salmon and a comparison of sperm from alternative male phenotypes. J. Fish Biol. 58:1286-1300
- 21-Kjorsvik, E., A. Mangor-Jensen and I. Holmetjord. 1990. egg quality in fishes. In : Blaxter, J.H.S., Southward, A.J.(Eds.), Adv.Mar.Biol.26:71-113.
- 22- Lahnsteiner, F., 2000. Morrholological, physiological and biochemical parameters characterizing the overripening of rainbow trout eggs , fish physiology and biochemistry.23:107-118.
- 23- Lee, C.S. and Donaldson, E.M. 2001. General discussion on Reproductive biotechnology in finfish aquaculture. J. Aquaculture, 197: 303-320chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Nitinat River , British Columbia. Can. J. Fish .

- 24- Liley, N. R. Tamkee, 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 ivitro fertilization. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 59: 144-152.
- 25- Rakitin, A. Ferguson, M. and Trippel, E. 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. J. Aquaculture. 170: 349-358.
- 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. J. Aquaculture. 234:1-28
- 27- Springate, J.R.C., Bromage, N.R. and P.R.T. Cumaranatunga. 1985. The effects of different ration on fecundity and egg quality in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) pp. 371-391. Ed: C.B. Cowey, A.M. Mackie, J.G. Bell. Nutriyion and feeding in Fish. Academic press, London, UK.
- 28- Tekin, N., Seçer, S., Akçay, E., Bozkurt, Y. and Kayam, S. 2003. The effect of age on spermatological properties in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792). Türk. J. Vet. Anim. Sci . 27: 37-44.
- 29-Thorpe J.E., Miles M.S. and Keay D.S. 1984. Developmental rate, fecundity and egg size in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. j.Aquaculture.43:289-305.
- 30- W.pitman, R. 1979. Effects of female age and egg size on growth and mortality inrainbow trout. Prog. Fish-Cult. 41 : 202-204
- 31-Yaron, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. J .Aquaculture. 129: 49-73

Effect of Age on Reproductive Indexes in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972)

Shamspour S.^{(1)*}; Khara H. ⁽²⁾

Somayehshamspour@gmail.com

1-Islamic Azad University-Lahijan Branch, Faculty of Natural Resource, Department of Aquaculture and Fishery Science and member of young researchers club.

2-Islamic Azad University-Lahijan Branch, Faculty of Natural Resource, Department of Aquaculture and Fishery Science, Lahijan, Iran, P.O.Box: 1616

Received: April 2014 Accepted: June2014

Abstract

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is the most important species of rearing cold water fish in Iran. In the propagation process of rainbow trout, different factors involved in quality and quantity of female broods and their eggs and also quality and quantity of male broods and their milts. For these reasons at propagation season in 2008, is studied the effect of different age on reproductive indexes in rainbow trout broods until absorption of yolk sack stage. For this study 3 groups of male and female broods (3, 4 and 5 years old) are selected at random and after anesthetize, their age are determined and are assessed their total length, before and after stripping weight, egg diagonal, total weight of female eggs and sperm quality individually .Then broods are crossed together. The results in 9 treatments showed that in the studied treatments were statistics significant difference in mean of fertilization percentage, survival percentage to eyeing stage and hatching percentage ($p<0.05$) and the produced eggs from crossing of 5 years old females with 4 years old male have maximum rate in fertilized eggs(98%), hatching(96%), survival rate until absorption of yolk sack stage (94.5%) and number of larva with active feeding(3070). Concerning result of present study and previous studies, the age of broods, affect on fertilization stages. Therefore using of 5 years old females with 4 years old male, improve these stages.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), age, reproductive indexes, broods

*Corresponding author