

"مقاله پژوهشی"

شاخص‌های کیفی اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مزارع منتخب عاری از بیماری خاص (SPF) کشور

محمد حسن‌زاده صابر^{۱*}، شهروز برادران نویری^۱، ابوالفضل سپهداری^۲، سلطنت نجار لشگری^۳

۱- بخش ژنتیک و بیوتکنولوژی، انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، رشت، ایران

۲- بخش بهداشت و بیماری‌ها، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران

۳- بخش ژنتیک و اصلاح نژاد، مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تنکابن، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱۷

چکیده

در این مطالعه، بررسی شاخص‌های کیفی اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان مزارع منتخب عاری از عوامل بیماری‌زای خاص (SPF) کشور انجام گرفت، تا برنامه‌ریزی لازم برای نگهداری طولانی مدت اسپرم با کیفیت قزل‌آلای رنگین‌کمان از طریق انجماد و ایجاد بانک اسپرم به عمل آید. نمونه‌های اسپرم از ۲۴ مولد، شامل ۴ مولد از شش مزرعه منتخب و عاری از بیماری سطح کشور در استان‌های آذربایجان غربی و مازندران استحصال و مورد ارزیابی کیفی قرار گرفتند. میانگین تراکم اسپرم $4 \pm 7/83$ میلیارد اسپرم در هر میلی‌لیتر، میانگین حجم اسپرم استحصالی $1/6 \pm 9/2$ میلی‌لیتر، میانگین‌های درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم‌ها به ترتیب $10/3 \pm 78/7$ درصد و $4/4 \pm 26/6$ ثانیه، میانگین pH $7/4 \pm 0/23$ و درصد لقاح نمونه‌ها $1/2 \pm 92/8$ سنجش شد. نتایج نشان داد که محدوده $7/7-7/8$ مناسب‌ترین مقدار pH برای القای تحرک بوده و افزایش یا کاهش pH اسپرم نسبت به این مقدار، سبب کاهش کارایی لقاح می‌شود. همچنین همبستگی مثبت بین pH اسپرم مولدین قزل‌آلا با درصد تحرک ($r = 0/533$) و درصد لقاح ($r = 0/67$)، در این تحقیق مشخص گردید. با توجه به اطلاعات به‌دست‌آمده، ویژگی‌های بهترین نمونه اسپرم جهت انتخاب، نگهداری طولانی مدت و ایجاد بانک اسپرم ژنتیکی متنوع و مدیریت هدفمند تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تعیین شد.

کلمات کلیدی: اسپرم، قزل‌آلای رنگین‌کمان، لقاح، عاری از بیماری

مقدمه

تعاریف متعددی از واژه کیفیت اسپرم ارائه شده است اما به نظر می‌رسد تمامی محققین در تعریف کیفیت اسپرم به عنوان "توانایی اسپرم در تولید جنین-های زنده و سالم، پس از تماس با تخمک‌های سالم در محیطی مناسب" اتفاق نظر کلی داشته باشند (Cabrita et al., 2009; Mylonas et al., 2010). از دیدگاه تئوری، هر عاملی که بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اسپرم تاثیر گذاشته و نتایج آن در لقاح، قابل سنجش باشد، می‌تواند به عنوان یک شاخص ارزیابی کیفیت اسپرم در نظر گرفته شود (Rurangwa et al., 2004).

شاخص‌های مختلفی در مطالعات ارزیابی کیفی اسپرم ماهیان به کار رفته‌اند که شامل مواردی همچون تراکم، اسپرماتوکریت، pH، اسمولالیه مایع سمینال، ترکیب یونی مایع سمینال، مقدار ATP سلولی، شاخص‌های فعالیت‌های آنزیمی، درصد تحرک، مدت زمان تحرک، سرعت تحرک، شاخص مستقیم بودن تحرک، سلامت مورفولوژیک و سلامت ساختار هسته (Rurangwa et al., 2008; Cosson et al., 2004; Fauvel et al., 2010; Cabrita et al., 2014). نویری و حسن‌زاده صابر، (۱۳۹۷) می‌باشند، که ساده‌ترین آن شامل تراکم یا سنجش تعداد اسپرم در واحد حجم نمونه است (Alavi et al., 2008; Cosson et al., 2008; Fauvel et al., 2010). علی‌رغم دقت زیاد، زمان‌بر بوده و نیاز به رقیق‌سازی مناسب و بررسی چند باره هر نمونه دارد. روش‌های دیگر تخمین تراکم اسپرم، محاسبه اسپرماتوکریت (Baradaran Noveiri et al., 2006) و اسپکتروفتومتری (علیپور و همکاران، ۱۳۹۲، Fauvel

et al., 2010) می‌باشد، که در زمان کوتاهی صورت می‌گیرد. pH اسپرم برای هر گونه متفاوت است و باید برای هر نمونه مورد بررسی دقیق قرار گیرد. تغییرات هر چند اندک در pH، سبب بروز تغییرات متنوعی در سایر شاخص‌ها (به خصوص تحرک) می‌شود (Alavi et al., 2005; Alavi and Cosson, 2008) و نقش مهمی در حفظ و نگهداری کوتاه‌مدت یا بلندمدت اسپرم انواع ماهیان دارد (Ciereszko et al., 2010).

تحرک اسپرم مهمترین مقیاس در ارزیابی کیفی اسپرم است و به عنوان یک بیومارکر در کیفیت اسپرم می‌باشد (بینایی و همکاران، ۱۳۹۵). ارتباط بین تحرک و لقاح توسط چندین محقق (Billard et al., 1993; Ohta et al., 1995; Linhart et al., 2000) گزارش شده است. تحرک شامل درصد اسپرماتوزوای متحرک (Levanduski and Cloud, 1988) و مدت کلی تحرک (Duplinsky, 1982) می‌باشد.

عامل دیگر در ارزیابی کیفی اسپرم، میزان لقاح پذیری اسپرم در زمان ورود به تخمک می‌باشد. البته این سنجش به عوامل دیگری از جمله قابلیت دسترسی و کیفیت تخمک یا روش‌های لقاح و انکوباسیون تخم بستگی دارد. همچنین کیفیت اسپرم را می‌توان با توانایی لقاح و درصد تفریح تخم ارزیابی کرد زیرا اسپرماتوزوای غیرنرمال می‌توانند سبب تکامل اولیه جنین گردد ولی مراحل بعدی جنینی متوقف شود، بنابراین در اکثر گونه‌های دریایی که زمان تکامل جنینی خیلی کوتاهی دارند، این بررسی تا تفریح لارو انجام می‌شود ولی در گونه‌هایی که زمان تکامل جنینی خیلی طولانی دارند می‌توان تا مرحله گاسترولاسیون این ارزیابی را انجام داد (Cabrita et al., 2009).

مطالعاتی در رابطه با شاخص‌های کیفی اسپرم قزل‌آلای رنگین کمان به خصوص غلظت اسپرم و مدت تحرک آن و ارتباطش با میزان لقاح و تفریخ انجام شده است. Tekin و همکاران در سال ۲۰۰۳ مشاهده کردند که با کاهش غلظت اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان افزایش و با افزایش غلظت اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم در این ماهی کاهش می‌یابد. نتیجه مشابهی نیز در همین گونه توسط Liley و همکاران در سال ۲۰۰۲ گزارش شده است که در نمونه‌برداری از اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و سنجش مدت زمان تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت در زمان‌های متفاوت نمونه‌برداری، زمانی که مقدار اسپرماتوکریت بیشتر باشد، مدت زمان تحرک اسپرم کاهش می‌یابد. لرستانی و همکاران در سال ۱۳۸۶ مشاهده کردند که افزایش سن مولد نر با افزایش مدت زمان تحرک اسپرم رابطه مثبت و با میزان اسپرماتوکریت رابطه معکوس دارد. او پیشنهاد داد که از مولدین کم‌سن با اسپرم غلیظ استفاده شود و در صورت نبود از مولدینی با اسپرم دارای مدت زمان تحرک بالاتر استفاده شود تا جبران کاهش تعداد سلول‌های اسپرم در واحد حجم شود و افزایش لقاح صورت پذیرد. به عبارتی می‌توان نتیجه گرفت که تاثیر غلظت اسپرم بیشتر از مدت زمان تحرک آن در افزایش لقاح می‌باشد.

به طور کلی در طرح تولید ماهی قزل‌آلای رنگین کمان عاری از بیماری خاص (SPF)، ایجاد نخستین پایلوت نیمه صنعتی الگویی تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان با رعایت کامل اصول زیستی، تولید گله ماهیان مولدین پایه شناسنامه‌دار با سلامت بالا از ذخایر ژنی موجود در کشور و تولید تخم چشم‌زده

و بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بارور و دارای شناسنامه ژنتیکی مدنظر می‌باشد. در این راستا تشکیل بانک ژن و اسپرم این مولدین به منظور فعالیت‌های اصلاح نژادی از دیگر اقدامات پیش رو در روند تجاری سازی تخم چشم زده SPF خواهد بود.

این تحقیق با هدف بررسی شاخص‌های کیفی نمونه اسپرم‌های استحصالی از مولدین عاری از بیماری خاص (SPF) پرورش یافته در مراکز تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان انجام گرفت تا از این اطلاعات جهت انتخاب بهترین نمونه اسپرم مولدین منتخب ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان جهت انجماد و نگهداری طولانی مدت و ایجاد بانک اسپرم ژنتیکی متنوع و مدیریت هدفمند تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در مقیاس کاربردی استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر متقابل جیره غذایی و بستر محل زیست کرم‌ها، سه جیره غذایی با سطوح پروتئینی ۲۰، ۲۵، ۳۰ و دو بستر خاکی شامل ۱- هوموس (خاک هوموس) و ۲- خاک ترکیبی ۷۰ به ۳۰ هوموس و خاک پیت ماس در نظر گرفته شد. این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و از هر تیمار ۳ تکرار اجرا گردید.

اسپرم‌گیری از مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF)^۲ جمع‌آوری شده از مزارع پرورشی منتخب کشور در استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه (حدیدی، معروفی و قربانی) و استان مازندران شهرستان تنکابن (ملکی تبار و سرشار) و شهرستان آمل (فخاری) در اسفند ۱۳۹۶ تا اردیبهشت ۱۳۹۷ پس از

²Specific Pathogen Free

انتقال به بخش قرنطینه مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور (تنکابن) با رعایت اصول بهداشتی صورت گرفت. از هر مزرعه منتخب تعداد ۴ مولد ۳ ساله به- صورت تصادفی (با میانگین وزن و طول کل مولدین به ترتیب معادل 402 ± 2618 گرم و $9/9 \pm 2/9$ سانتی متر) (جدول ۱) و از هر مولد به میزان ۶-۱۰ میلی لیتر اسپرم استحصال گردید.

به منظور استحصال اسپرم از مولدین، ابتدا آنها را به- مدت ۱۰ دقیقه در معرض محلول پودر گل میخک (200 میلی گرم در لیتر) با دمای $4/9 - 1/9$ درجه سانتی گراد قرار داده تا بیهوش شوند (Sudagar et al., 2009)، و سپس محوطه تناسلی را خشک کرده و با ماساژ شکمی اسپرم دریافت شد (Canyurt and Akhan, 2008). نمونه‌های اسپرم استحصال شده بدون اختلاط با آب، ادرار یا مدفوع، در بشرهای مجزا جمع‌آوری شدند و تا زمان بررسی‌های کمی و کیفی (شمارش سلولی، بررسی درصد تحرک، مدت زمان تحرک و pH) در دمای $5-3$ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. ارزیابی درصد تحرک نمونه اسپرم‌ها، در آزمایشگاه مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور در زیر میکروسکوپ معمولی با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر و با رقت ۱:۱۰ پس از اختلاط با آب، از پنج ثانیه پس از تماس، تا زمان بی تحرکی بیش از ۹۵٪ اسپرم‌ها (Fitzpatrick et al., 2005) انجام گرفت. تعیین تراکم با شمارش مستقیم پس از رقیق‌سازی به مدت ۵ دقیقه و به نسبت ۱۰۰:۱۰ و با استفاده از لام هماسیتومتر انجام شد (Hatef et al., 2007). نتایج سنجش تراکم نمونه اسپرم‌های استحصالی با واحد میلیارد در هر میلی لیتر بیان گردید (Bozkurt et al., 2011). مدت زمان تحرک اسپرم‌ها نیز از لحظه تماس با آب تا بی-

تحرکی بیش از ۹۵٪ اسپرم‌ها با کرونومتر آزمایشگاهی سنجش و با واحد ثانیه (با دقت $1/0 \pm$ ثانیه) ثبت شد (لرستانی و همکاران، ۱۳۸۶). میزان pH هر نمونه نیز به طور مجزا با استفاده از pH متر دیجیتال رومیزی با دقت $1/0 \pm$ در دمای آزمایشگاه سنجش و ثبت گردید.

به منظور انجام آزمایش لقاح، پس از بررسی مولدین ماده، از ۶ مولد (از هر مزرعه منتخب، یک مولد) ۴ ساله در سالن قرنطینه مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی تنکابن به میزان ۶۰۰ گرم تخمک‌گیری (با میانگین قطر $2/5$ میلی متر) شد. تخمک‌های استحصالی جهت از بین بردن اثر تفاوت کیفیت ماده‌ها، با هم مخلوط شده و به ۱۲ قسمت ۵۰ گرمی تقسیم شدند. برای آزمایش لقاح اسپرم‌های شاهد، $5/0$ میلی لیتر از کیفی‌ترین اسپرم اولیه مولدین نر هر مزرعه، با ۵۰ گرم تخمک مولدین ماده (۱۲ تخمک در گرم) مخلوط شده و پس از ۵ دقیقه هم زدن و شستشوی بعدی، به سینی تراف‌ها منتقل شدند. اسپرم‌های استحصالی از هر شش مزرعه مورد بررسی، لقاح داده شد. به منظور به حداقل رساندن اثر تفاوت تراکم اسپرم‌ها در هر تیمار، حجم اسپرم مورد نیاز در آزمایش لقاح، با توجه به تراکم اولیه سنجش شده محاسبه (500 هزار اسپرم برای هر تخمک) (Bozkurt and Secer, 2006) و مورد استفاده قرار گرفت. درصد لقاح نمونه‌ها در کلیه تیمارها، در فواصل زمانی ۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اینکه تخم‌های لقاح یافته به خوبی آب جذب نمودند، بر اساس فرمول $100 \times$ تعداد کل تخم‌ها / تعداد تخم‌های لقاح یافته = درصد لقاح سنجش شد (پورکاظمی و همکاران، ۱۳۹۱).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک^۳ استفاده شد. سنجش تراکم، pH و شاخص‌های تحرک در سه تکرار برای هر نمونه مناسب انجام شد. میانگین نتایج تکرارها برای هر تیمار پس از محاسبه به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارایه شد. برای تجزیه و تحلیل میانگین موارد مورد بررسی در بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه^۴ (ANOVA) و برای بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن^۵ در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. ارزیابی همبستگی داده‌ها، با استفاده از آزمون پیرسون^۶ انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۰ (Microsoft Excel 2010) انجام شد.

نتایج

بررسی مشخصات مولدین نر نشان داد که تنها وزن و طول مولدین مزارع حدیدی و قربانی، به‌طور معنی‌داری از طول و وزن مولدین مزرعه ملکی تبار بالاتر بودند ($p < 0.05$) (جدول ۱).

میانگین کلی تراکم اسپرم‌های تازه استحصالی از ۲۴ مولد مورد استفاده در این تحقیق معادل $4 \pm 7/83$ میلیارد اسپرم در هر میلی‌لیتر، میانگین حجم اسپرم استحصالی معادل $1/6 \pm 9/2$ میلی‌لیتر و میانگین‌های درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم‌ها نیز به ترتیب معادل $10/3 \pm 78/7$ درصد و $4/4 \pm 26/6$ ثانیه

و میانگین pH معادل $7/74 \pm 0/23$ سنجش شد (جدول ۲).

بررسی شاخص‌های کیفی نمونه اسپرم‌های تازه به تفکیک مولدین هر مزرعه حاکی است که تراکم اسپرم در مزارع فخاری و ملکی تبار، مدت زمان تحرک اسپرم در مزارع فخاری و حدیدی بیشتر از سایر مزارع بود. از طرفی درصد تحرک اسپرم در نمونه‌های مولدین مزارع قربانی و فخاری از همه نمونه‌ها کمتر بود. همچنین pH مایع منی نمونه‌ها فقط در مزارع حدیدی و سرشار با یکدیگر اختلاف داشته و حجم نمونه گرفته شده از مولدین مزارع معروفی و ملکی تبار نیز از مولدین سایر مزارع نمونه‌گیری شده کم‌تر بود ($p < 0/05$) (جدول ۲).

^۳ Shapiro-Wilk

^۴ One Way Analysis of Variance

^۵ Duncan's test

^۶ Pearson's correlation test

جدول ۱: میانگین مشخصات زیست‌سنجی مولدین نر نمونه‌برداری شده از مزارع مختلف

استان	مزرعه	طول (سانتی‌متر)	وزن (گرم)
مازندران	سرشار	$53/5 \pm 2/1^{bc}$	2167 ± 352^b
مازندران	معروفی	$54/8 \pm 1/9^{bc}$	2440 ± 203^b
مازندران	فخاری	$55/4 \pm 1/5^{bc}$	2500 ± 405^b
آذربایجان غربی	ملکی تبار	$51/8 \pm 3/9^c$	1876 ± 356^b
آذربایجان غربی	قربانی	$58/3 \pm 4/3^{ab}$	3225 ± 505^a
آذربایجان غربی	حدیدی	$61/8 \pm 3/7^a$	3530 ± 593^a

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین مزارع است (انحراف معیار $\pm$ میانگین)

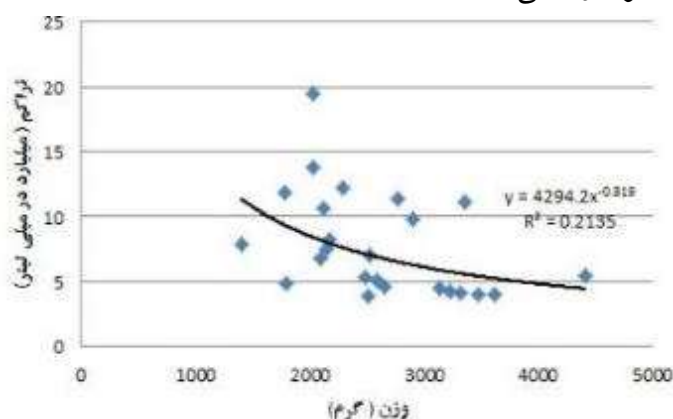
جدول ۲: میانگین خصوصیات کیفی سنجش شده اسپرم تازه مولدین مزارع مختلف

استان	مزرعه	حجم (میلی لیتر)	تراکم (میلیارد در میلی لیتر)	تحرك (درصد)	زمان تحرك (ثانیه)	pH
مازندران	سرشار	10 ± 0^a	$6/7 \pm 2/7^{bc}$	$85 \pm 5/7^a$	$25 \pm 3/4^b$	$7/57 \pm 0/08^b$
مازندران	معروفی	$7/9 \pm 2/6^{ab}$	$5/9 \pm 1/7^c$	$85 \pm 5/8^a$	$25/8 \pm 1/9^b$	$7/75 \pm 0/9^{ab}$
مازندران	فخاری	9 ± 2^a	$13/2 \pm 4/3^a$	$77/5 \pm 9/6^{ab}$	$32 \pm 2/9^a$	$7/87 \pm 0/34^{ab}$
آذربایجان غربی	ملکی تبار	$5/8 \pm 0/5^b$	$10/4 \pm 2/9^{ab}$	$80 \pm 8/2^a$	$23/5 \pm 4/2^b$	$7/62 \pm 0/12^{ab}$
آذربایجان غربی	قربانی	$8/5 \pm 1/9^a$	$4/36 \pm 0/6^c$	$65 \pm 12/9^b$	$25 \pm 3/9^b$	$7/69 \pm 0/17^{ab}$
آذربایجان غربی	حدیدی	10 ± 0^a	$6/3 \pm 3/2^{bc}$	$80 \pm 8/2^a$	$28/25 \pm 5/3^{ab}$	$7/96 \pm 0/29^a$

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین مزارع است (انحراف معیار $\pm$ میانگین)

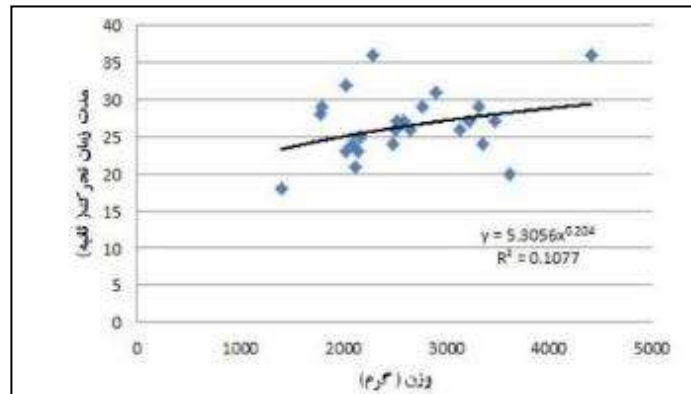
بین این دو شاخص بوده و این ارتباط معنی‌دار بود
($p < 0/05$) (جدول ۳).

چگونگی رابطه بین وزن مولدین و تراکم اسپرم‌های استحصالی در شکل ۱ آمده است. این نمودار، حاکی از یک رابطه قوی و منفی ($r = -0/46$)

شکل ۱: رابطه همبستگی وزن مولدین با تراکم اسپرم شاهد در مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p < 0/05$)

ارتباط مثبت و نسبتاً قوی ($r = 0/33$) وجود دارد اما این ارتباط معنی‌دار نبود ($p > 0/05$) (جدول ۳).

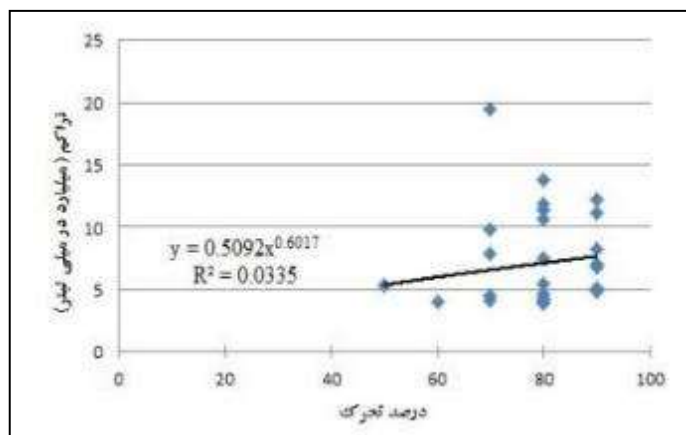
همچنین در شکل ۲ رابطه وزن مولدین نر قزل-آلای رنگین کمان با مدت زمان تحرک اسپرم این مولدین نشان می‌دهد که بین این دو شاخص نیز یک



شکل ۲: رابطه همبستگی وزن مولدین با مدت زمان تحرک اسپرم شاهد در مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0/05$)

سبب افزایش درصد تحرک اسپرم‌های استحصالی از مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) شده، اما این همبستگی قوی و معنی‌دار نبود ($p > 0/05$) (جدول ۳).

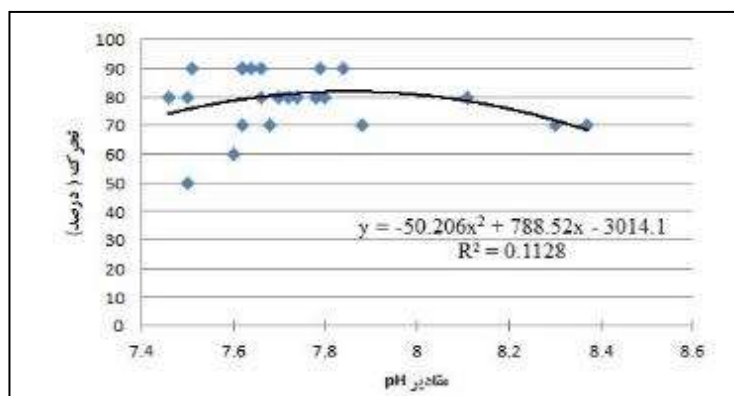
در شکل ۳، رابطه درصد تحرک اسپرم‌های استحصالی با تراکم آن‌ها آمده است. از نتایج حاصله مشخص شد که افزایش میزان تراکم سلولی، تا حدی



شکل ۳: رابطه همبستگی درصد تحرک با تراکم نمونه اسپرم شاهد در مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0/05$)

اسپرم‌ها شده، اما با افزایش بیش از $pH = 7/9$ ، تاثیر منفی مشاهده شد. بررسی آماری حاکی از عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین دو شاخص بود ($p > 0/05$) (جدول ۳).

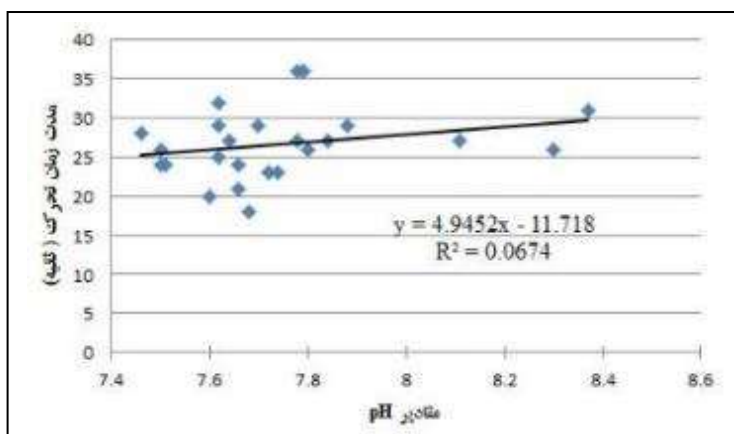
همچنین رابطه بین درصد تحرک اسپرم با pH مایع منی مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF)، در شکل ۴ آمده است. همان‌گونه که از این شکل استنباط می‌شود، افزایش میزان pH مایع منی در نمونه‌ها، از $7/4$ تا $pH = 7/9$ سبب بالا رفتن میزان درصد تحرک



شکل ۴: رابطه همبستگی درصد تحرک اسپرم شاهد با pH مایع منی مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0.05$)

مدت زمان تحرک اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین-کمان (SPF) وجود دارد. این ارتباط از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) (جدول ۳).

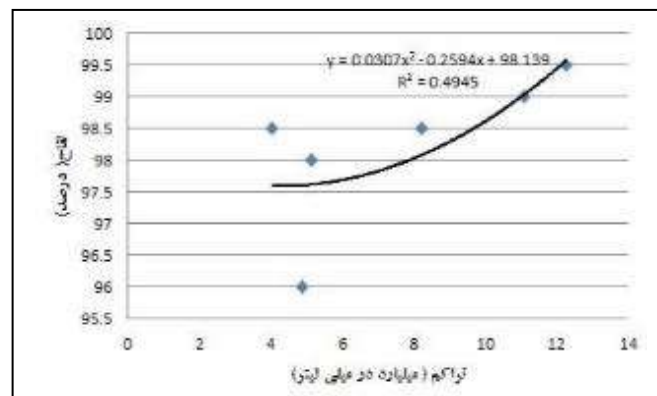
چگونگی ارتباط بین شاخص‌های pH مایع منی با مدت زمان تحرک اسپرم در نمونه‌های استحصالی نیز در شکل ۵ آمده است. این شکل مشخص می‌نماید که همبستگی ناچیزی ($r = 0.26$) بین pH مایع منی و



شکل ۵: رابطه همبستگی مدت زمان تحرک اسپرم شاهد با pH مایع منی مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0.05$)

درصد لقاح با مدت زمان تحرک اسپرم مولدین قزل-آلای رنگین کمان (SPF) در حد $r = 0.83$ و درصد لقاح با درصد تحرک اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین-کمان (SPF) را در حد $r = 0.34$ نشان می‌دهد، اما ارتباط معنی‌داری بین این شاخص‌ها دیده نشد ($P > 0.05$).

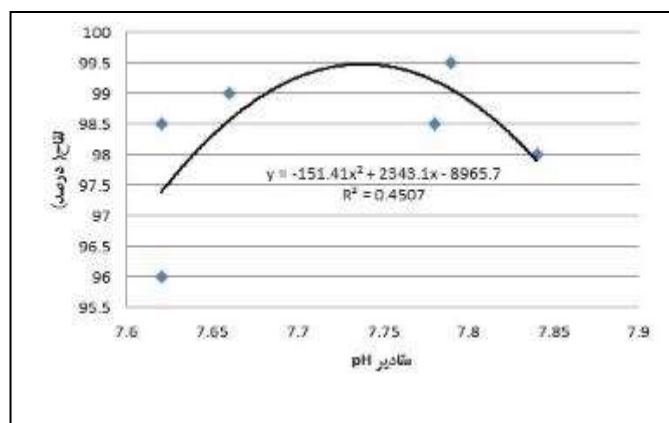
چگونگی ارتباط تراکم اسپرم‌های تازه با درصد لقاح در مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) در شکل ۶ آمده است. این شکل نشان می‌دهد که همبستگی قوی ($r = 0.70$) بین این دو شاخص وجود دارد. هرچند بررسی آماری ارتباط معنی‌داری بین این دو شاخص نشان نداد ($p > 0.05$) (جدول ۳). همبستگی



شکل ۶: رابطه همبستگی تراکم اسپرم شاهد با درصد لقاح مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0.05$)

لقاح افزایش یافته، اما با ادامه بالارفتن pH از ۷/۷۵ تا مقدار ۷/۸۵، درصد لقاح کاهش یافت. این ارتباط نیز معنی‌دار تشخیص داده نشد ($p > 0.05$).

در ارتباط میزان pH مایع منی مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) با درصد لقاح در شکل ۷ مشخص می‌شود که با افزایش میزان pH از ۷/۶ تا ۷/۷۵ درصد



شکل ۷: رابطه همبستگی بین pH مایع منی شاهد با درصد لقاح مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) ($p > 0.05$)

های وزن مولدین و تراکم اسپرم منفی و معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). هر چند همبستگی بین درصد لقاح با طول، وزن و تراکم اسپرم مولدین مقادیر بالایی را نشان داد.

چگونگی معنی‌دار بودن ارتباط بین شاخص‌های سنجش شده در نمونه اسپرم‌های مولدین در جدول ۳ خلاصه شده است. همان‌گونه که مشخص شده، رابطه بین شاخص‌های طول و وزن مولدین، مثبت و بسیار معنی‌دار بوده ($p < 0.01$) و همچنین رابطه بین شاخص-

جدول ۳: چگونگی معنی دار بودن بین موارد سنجش شده اسپرم تازه مولدین قزل آلائی رنگین کمان (SPF) ($p < 0.01$ ** و $p < 0.05$ *)

شاخص	وزن ماهی	طول ماهی	تراکم	درصد تحرک اسپرم	مدت زما ت تحرک	pH	درصد لقاح (۲۴ ساعته)
وزن ماهی	-	-	-	-	-	-	-
طول ماهی	**۰/۹۳۱	-	-	-	-	-	-
تراکم	*۰/۴۲۳-	۰/۲۵۷-	-	-	-	-	-
درصد تحرک اسپرم	۰/۱۷۰-	۰/۰۱۳-	۰/۰۹۸	-	-	-	-
مدت زما ت تحرک	۰/۳۱۰	۰/۳۲۰	۰/۱۹۹	۰/۲۲۷	-	-	-
pH	۰/۳۷۵	۰/۳۴۴	۰/۱۷۰-	۰/۱۱۶-	۰/۲۶۰	-	-
درصد لقاح (۲۴ ساعته)	۰/۵۱۵	۰/۶۳۸	۰/۶۸۵	۰/۱۰۱-	۰/۱۵۴	۰/۳۸۹	-

بحث

در تحقیق حاضر، درصد تحرک اسپرم های نمونه برداری شده از مزارع مختلف بین ۶۵-۸۵ درصد متغیر بود. همچنین مدت زمان بقا و تحرک اسپرم ها در محدوده ۲۵-۳۲ ثانیه سنجش شد که این مدت زمان تحرک اسپرم تقریباً منطبق با بررسی شالویی و همکاران (۱۳۹۴) ($4/05 \pm 30/3$ ثانیه) و بیش تر از مطالعه حسینی و همکاران (۱۳۹۷) ($0/32 \pm 19/07$ ثانیه) بود. وجود همبستگی شدید بین درصد تحرک با درصد لقاح ($r = 0/94$) و بین درصد تحرک و درصد تفریخ ($r = 0/74$) در ماهی قزل آلائی رنگین کمان، توسط Bozkurt (۲۰۰۶) گزارش شده اما ارتباطی بین مدت زمان تحرک اسپرم با درصد لقاح در این ماهی

عنوان نگردید ($r = 0/08$). در گزارش این گروه، میانگین تراکم نمونه اسپرم استحصال شده از ۱۵ مولد برابر $4/3 \pm 7/7$ میلیارد اسپرم در هر میلی لیتر (در مقایسه با $4 \pm 7/83$ میلیارد اسپرم در هر میلی لیتر در تحقیق حاضر)، میانگین pH برابر $0/3 \pm 7/3$ (در مقایسه با $0/23 \pm 7/74$ در تحقیق حاضر) و میانگین درصد تحرک اسپرم ها در حد $15 \pm 75/3$ درصد (در مقایسه با $3 \pm 10/78$ درصد در تحقیق حاضر) ذکر شد. در ماهی قزل آلائی قهوه ای (*Salmo trutta fario*) نیز همبستگی مثبت بین درصد لقاح با درصد تحرک اسپرم ($r = 0/33$) و با اندازه تخمک ($r = 0/75$) گزارش شده است (Bozkurt and Secer, 2006). در مطالعه حاضر ارتباط بین درصد لقاح و درصد تحرک نمونه

اسپرم‌های استحصالی معنی‌دار نبود. تحقیقات قبلی در خصوص بررسی رابطه این دو شاخص در زیرگونه دیگری از قزل‌آلا (*Salmo trutta abanticus*) حاکی از وجود رابطه همبستگی در حد $r = 0/11$ بود (Bozkurt et al., 2006). هرچند که محققین مذکور این میزان رابطه بین دو عامل درصد لقاح و درصد تحرک اسپرم را در این زیرگونه معنی‌دار اعلام کردند، اما به نظر می‌رسد این حد همبستگی نمی‌تواند به‌عنوان یک همبستگی قوی در نظر گرفته شود.

یکی دیگر از شاخص‌های تاثیرگذار در کیفیت لقاح، تراکم اسپرم در مایع منی می‌باشد (Ciereszko et al., 2014) که ضمن ارائه اطلاعات اولیه قابل مقایسه در مولدین مختلف، شاخص مفیدی در انتخاب مولدین مراکز تکثیر، تعیین دقیق نسبت اسپرم به تخمک در عملیات تکثیر مصنوعی و پیش‌بینی موفقیت لقاح می‌باشد (Fauvel et al., 2010; Hatef et al., 2007). در تحقیق حاضر، درصد اسپرم‌های متحرک با تراکم، همبستگی معنی‌داری نشان نداد. اما از آنجاکه درصد تحرک اسپرم در مطالعات قبلی همبستگی بالایی با درصد لقاح داشته است، رعایت نسبت اسپرم به تخمک برای لقاح تخمک‌های مولدین ماده، می‌تواند امکان حفظ و نگهداری تعداد نمونه اسپرم‌های بیشتری را در این نوع فعالیت‌ها افزایش دهد. در مطالعه‌ای که توسط Bozkurt و همکاران (۲۰۱۱) بر روی یکی دیگر از زیرگونه‌های ماهی قزل‌آلا (*Salmo trutta macrostigma*) انجام شده، مشخص گردید که تراکم اسپرم در این ماهی در حد $6/20$ میلیارد در هر میلی‌لیتر و pH آن در حد $7/53$ بوده است. در این زیرگونه از قزل‌آلا بین درصد تحرک اسپرم مولدین با مدت زمان تحرک همبستگی معنی‌دار

مثبت و بین تراکم اسپرم با درصد تحرک همبستگی معنی‌دار منفی گزارش شده است (Bozkurt et al., 2011). لرستانی و همکاران (۱۳۸۶) همبستگی منفی و معنی‌داری را بین مدت زمان تحرک و تراکم اسپرم گزارش کرد. در مطالعه Tuset و همکاران (۲۰۰۸) که بر روی ۱۳ نمونه اسپرم مولدین پرورشی با میانگین وزنی ۴۰۰ گرم انجام گرفت، مشخص شد که درصد لقاح اسپرم‌های منجمد شده ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان با تراکم اسپرم و مدت زمان تحرک اسپرم، هیچ همبستگی نداشته است (Tuset et al., 2008). در تحقیق حاضر این ارتباط معنی‌دار نبوده که می‌تواند به علت تعداد کم نمونه‌های لقاح داده شده، تفاوت در وزن مولدین مورد استفاده (۴۰۰ گرم در مقایسه با ۲۶۱۸ گرم در آزمایش حاضر)، سن، تغذیه، شرایط نگهداری مولدین و منشا ژنتیکی باشد (Fitzpatrick et al., 2005; Ciereszko et al., 2014). اگرچه مولدین نر مورد استفاده در این تحقیق ۳ ساله بودند ولی در مطالعه لرستانی و همکاران (۱۳۸۶) بیان شد که مولدین ۳ ساله اسپرماتوکریت کم‌تری نسبت به مولدین ۲ ساله دارند ولی با افزایش سن مدت تحرک اسپرم افزایش می‌یابد که می‌تواند مرتبط با تراکم کم‌تر اسپرم باشد. در مطالعه دیگری که توسط شمس‌پور و خارا (۱۳۹۳) انجام شد، مشخص گردید که میزان اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم در مولدین نر قزل‌آلای رنگین کمان ۳ ساله بیشتر از ۵ ساله بود. افزایش اسپرم‌های متحرک و تاثیر مثبت آن بر کارایی لقاح موردی است که می‌تواند با بررسی این شاخص قبل از آزمایش لقاح، راهنمای مناسبی در انتخاب مولدین باشد.

Ciereszko و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر pH بر تحرک اسپرم چند گونه از ماهیان خانواده

انتخاب تا برای نگهداری طولانی مدت و ایجاد بانک اسپرم ژنتیکی متنوع و مدیریت هدفمند تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان منجمد گردد.

سپاسگزاری

نویسنده و همکاران از زحمات جناب آقای دکتر محمود محسنی، رئیس محترم وقت مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور و تلاش‌های مجدانه جناب آقای مهندس محمد اسماعیل راست روان، مسئول محترم وقت بخش تکثیر و پرورش آن مرکز کمال تشکر را دارند.

منابع

۱. برادران نویری، ش.، حسن‌زاده صابر، م.، ۱۳۹۷. روش ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۲(۳)، ۲۹-۱۵.
۲. بینایی، م.، پورغلام، ر.، برادران نویری، ش.، قیاسی، م.، بهمنی، م.، قانعی تهرانی، م.، ۱۳۹۵. ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) و آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) قبل و بعد از انجماد. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۰(۳)، ۶۷-۵۷.
۳. حسینی، س.ش.، خارا، ح.، کلباسی، م.ر.، ۱۳۹۷. تاثیر محلول‌های فعال‌کننده نمکی اسپرم بر موفقیت لقاح قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبی‌پروری، ۱۲(۱)، ۴۱-۳۰.
۴. پورکاظمی، م.، شکیبی دریاکناری، ع.، کلباسی، م.ر.، عبدالحی، ح. و برادران نویری، ش.، ۱۳۹۱. بیوتکنیک نگهداری کوتاه مدت اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

آزادماهیان، نشان داد که افزایش pH باعث افزایش درصد تحرک اسپرم‌های استحصالی می‌شود. این گروه با بررسی اثر این عامل بر تحرک اسپرم قزل‌آلای رنگین کمان نیز مشخص نمودند که در این ماهی با بالارفتن میزان pH از ۷ تا ۹، درصد تحرک اسپرم‌ها از ۲۰ درصد به حدود ۹۰ درصد افزایش یافته است (Ciereszko et al., 2011). هرچند ارتباط معنی‌داری بین میزان تحرک اسپرم و شاخص pH در مطالعه حاضر دیده نشد، اما افزایش مدت زمان تحرک اسپرم مولدین، هم‌زمان با بالارفتن pH در نمونه اسپرم‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد. از طرفی افزایش pH از ۷/۴ تا ۷/۸، سبب افزایش درصد اسپرم‌های استحصالی شده و با بالاتر رفتن این شاخص، مجدداً درصد تحرک کاهش یافت. این موضوع نشان می‌دهد که اسپرم مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (SPF) در محدوده pH ۷/۸ بالاترین کارایی تحرک را دارند. رابطه مشابهی بین pH و درصد لقاح نمونه‌ها نیز مشاهده گردید. نکته قابل تامل در این منحنی آن است که مشابه رابطه تاثیر pH بر درصد تحرک، افزایش pH از ۷/۶ تا ۷/۷۵ سبب افزایش درصد لقاح و با افزایش بیش‌تر pH، سبب کاهش لقاح شده است. این موضوع بار دیگر حساسیت اسپرم این ماهی به تغییرات pH و تاثیر منفی آن در خارج از محدوده pH ۷/۷ را در هر دو سو، نشان داده و یادآوری می‌نماید که در فعالیت‌های انجماد اسپرم این ماهی باید این شاخص را در محدوده بهینه عملیاتی نگاه داشت.

با توجه به اطلاعات به‌دست آمده از بررسی‌های صورت گرفته بر روی شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم مولدین منتخب عاری از عوامل بیماری‌زای خاص (SPF)، کیفی‌ترین اسپرم مولدین هر مزرعه

- Pourkazemi, M., 2006. Sperm morphology, density and spermatocrit study of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Journal of Applied Ichthyology, 22(1), 380-383.
12. Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm. Aquatic Living Resources, 6(1), 6775.
13. Bozkurt, Y., 2006. The Relationship between body condition, sperm quality parameters and fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advances, 5(4), 284-288.
14. Bozkurt, Y., Öğretmen, F., Kökçü, Ö., Erçin, U., 2011. Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: With emphasis on sperm motility. Czech Journal of Animal Science, 56(8), 355-364.
15. Bozkurt, Y., Secer, S., 2006. Relationship between spermatozoa motility, egg size, fecundity and fertilization success in brown trout (*Salmo trutta fario*). Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(11), 2141-2144.
16. Bozkurt, Y., Secer, S., Bekcan, S., 2006. Relationship between spermatozoa motility, egg size, fecundity and fertilization success in *Salmo trutta abanticus*. Ankara Universitesi Ziraat Fakultesi, 4, 345-348.
17. Cabrita, E., Robles, V., Herráez, M.P., 2009. Methods in reproductive aquaculture: Marine and freshwater species. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742 © 2009 by Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business.
18. Cabrita, E., Martinez-Paramoa, S., Gavaia, P.J., Riesco, M.F., Valcarce, D.G., Sarasquete, C., Herraiez, M.P., Robles, V., 2014. Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. Aquaculture, 432, 389-401.
19. Canyurt, M.A., Akhan, S., 2008. Effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality of rainbow trout (*Onchorynchus* مجله علمی شیلات ایران، ۲۱ (۴)، ۱۵۷-۱۶۴.
۵. شالویی، ف.، حسینی، ط.، ایمانیپور، م.ر.، ۱۳۹۴. بررسی تأثیر تکثیر خارج از فصل بر روی شاخص‌های کیفی اسپرم و موفقیت لقاح در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸ (۲)، ۲۵۶-۲۶۲.
۶. شمس‌پور، س.، خارا، ح.، ۱۳۹۳. تأثیر فاکتور سن بر شاخص‌های تولیدمثلی مولدین پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله آبزیان و شیلات، ۵ (۲۰)، ۳۷-۲۷.
۷. علیپور، ع.، برادران نویری، ش.، نوروز فشخامی، م.ر.، آذری تاکامی، ق. و وهاب زاده، ح.، ۱۳۹۲. بررسی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق اسپرماتوکریت، شمارش عددی و طیف سنجی. مجله علمی پژوهشی زیست‌شناسی دریا، ۴ (۱۵)، ۳۴-۲۵.
۸. لرستانی، ر.، احمدی، م.ر.، کلباسی، م.ر.، ۱۳۸۶. همبستگی خصوصیات کیفی اسپرم مولدان نر در روند تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه دانشکده منابع طبیعی، ۶۰ (۱)، ۱۵۰-۱۴۱.
9. Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2005. Sperm motility in fishes: (I) Effects of temperature and pH: a review. Cell Biology International, 29, 101-110.
10. Alavi, S.M.H., Linhart, O., Coward, K., Rodina M., 2008. Fish spermatology: Implications for Aquaculture management. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. & Rafiee, G. (Eds.), Fish Spermatology. Alpha Science International Ltd., Oxford, U.K., pp. 397-460.
11. Baradaran Noveiri, S., Alipour, A.

- 144-152.
29. Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Rodina, M., Gela, D., 2000. Spermiation of paddlefish (*Polyodon spathula*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary extract. *Aquatic Living Resources*, 13(6), 455-460.
30. Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 516-534.
31. Ohta, H., Shimma, H., Hirose, K., 1995. Relationship between fertility and motility of cryopreserved spermatozoa of the amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae*, *Fisheries Science*, 61, 886.
32. Rurangwa, E., Kimeb, D.E., Olleviera, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234, 1-28.
33. Sudagar, M., Mohammadizarejabad, A., Mazandarani, R., Pooralimotlagh, S., 2009. The efficacy of clove powder as an anesthetic and its effects on hematological parameters on roach (*Rutilus rutilus*). *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*, 1, 1-5.
34. Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y., Kayam, S., 2003. The effect of age on spermatological properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(1), 37-44.
35. Tuset, V.M., Dietrich, G.J., Wojtczak, M., Slowinska, M., de Monserrat, J., Ciereszko, A., 2008. Relationship between morphology, motility and fertilization capacity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 393-397.
- mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 171-175.
20. Ciereszko, A., Dietrich, G.J., Dietrich, M.A., Nynca, J., Kuźmiński, H., Dobosz, S., Grudniewska, J., 2010. Effects of pH on sperm motility in several Salmoniformes species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo trutta*, *Salmo salar* and *Thymallus thymallus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 26, 665-667.
21. Ciereszko, A., Dietrich, G.J., Nynca, J., Dobosz, S., Zalewski, T., 2014. Cryopreservation of rainbow trout semen using a glucose-methanol extender. *Aquaculture*, 420-421, 275-281.
22. Cosson, J., Groison, A.L., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C., Billard, R., 2008. Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 460-486.
23. Duplinsky, P.D., 1982. Sperm motility of northern pike and chain pickerel at various pH values. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111(6), 768-771.
24. Fauvel, C., Suquet, M., Cosson, J., 2010. Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*, 26, 636-643.
25. Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Liley, N.R., Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masculinized coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 249, 459-468.
26. Hatef, A., Niksirat, H., Mojazi Amiri, B., Alavi, S.M.H., Karami, M., 2007. Sperm density, seminal plasma composition and their physiological relationship in the endangered Caspian Brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Aquaculture Research*, 38, 1175-1181.
27. Levanduski, M.J., Cloud, J.G., 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of nonmotile sperm on fertility. *Aquaculture*, 75, 171.
28. Liley, N.L., Tamkee, 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 Sciences*, 59(1),

Investigating quality Indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* sperm in selected Specific Pathogen Free (SPF) farms in the country

Hassanzadeh Saber, M.^{1*}, Baradaran Noveiri, Sh.¹, Sepahdari, A.², Najjar Lashgari, S.³

1- Genetics and Biotechnology Department, International Sturgeon Research Institute (ISRI), Iranian Fisheries Science Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

2- Health and Diseases Department, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

3- Genetics and Breeding Department, Tonekabon Cold-Water Fish Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Received: 8 December 2023 Accepted: 26 January 2024

Abstract

In this study, the sperm quality indicators of rainbow trout breeders in selected Specific Pathogen Free (SPF) farms of the country were investigated in order to plan the long-term preservation of rainbow trout sperm through cryopreservation and creating a sperm bank in the next phase. Sperm samples from 24 breeders from six selected SPF farms from West-Azerbaijan and Mazandaran provinces were collected and evaluated. The average density of sperm is 7.83 ± 4 billion per milliliter, the average volume of extracted sperm is 9.2 ± 1.6 ml, the average percentage of motility and its duration were $78.7 \pm 10.3\%$ and 26.6 ± 4.4 seconds, the average pH was 7.74 ± 0.23 and the fertilization percentage of the samples was as $92.8 \pm 1.2\%$. The results showed that the pH 7.7-7.8 is the most appropriate value for inducing motility and its increasing or decreasing relative to this value causes a decrease in fertilization efficiency. Also, a positive correlation between pH and sperm motility ($r = 0.533$) and fertility ($r = 0.67$) was determined. According to the obtained information, the characteristics of the best sperm sample is selected for long-term storage and the creation of a genetically diverse sperm bank and targeted management of rainbow trout reproduction.

Keywords: Sperm, *Oncorhynchus mykiss*, Fertilization, SPF.

* Corresponding Author: saber.merag@gmail.com