

## دستکاری زمانبندی و عملکرد تولیدمثل ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) با استفاده از دوره‌های نوری مختلف

سارا پورحسین سارمه<sup>۱</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۲\*</sup>

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران

۳- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

### چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تاثیر دوره های نوری مختلف بر عملکرد تولیدمثل، کیفیت تخم و لارو ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) به منظور درک آگاهی در زمینه کنترل محیطی چرخه تولیدمثل و بهبود راندمان تولید این گونه با ارزش انجام شد. سه تیمار نوری شامل روشنایی مطلق (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D)، با شدت نور ۶۳۰ لوکس، در سه تکرار به مدت ۴۰ روز بر مولدهای سوف سفید با میانگین وزنی  $55/3 \pm 1367$  گرم اعمال گردید. نتایج نشان داد که عملکرد تولیدمثل سوف سفید از دوره های نوری تاثیر می پذیرد. مولدهایی که در دوره نوری ۲۴L قرار داشتند زودتر از مولدهای سایر دوره های نوری تخم‌ریزی کردند. بیشترین تخم‌ریزی مولدها در صبح به وقوع پیوست که متعلق به دوره نوری ۲۴L  $(3/5 \pm 66/7\%)$  بود و کمترین تخم‌ریزی در شب رخ داد که متعلق به دوره های نوری ۲۴D و ۱۲L:۱۲D بود که در شب اقدام به تخم‌ریزی نکردند. اگرچه پارامترهای تکثیر، مانند درصد لقاح و تعداد تخمک در گرم، تفاوت معنی داری را در تیمارهای مختلف نوری نشان ندادند اما زمانبندی تخم‌ریزی و کیفیت تخم، تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را به نمایش گذاشتند. نتایج این تحقیق به کاربرد موثر دوره های نوری در تغییر زمانبندی تخم‌ریزی مولدهای سوف سفید اشاره دارد و استفاده از دوره های نوری را برای تنظیم محیطی بلوغ و القای تخم‌ریزی خارج از فصل مولدهای سوف سفید پیشنهاد می نماید.

**کلید واژه‌ها:** فتوپریود، چرخه تولیدمثل، القای تخم‌ریزی، *Sander lucioperca*

### نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۰۹/۳۰

\*نویسنده مسئول:

falahatkar@guilan.ac.ir

### مقدمه

ماهی سوف سفید (*Sander lucioperca*) به دلیل رشد سریع، کیفیت عالی، ماهی گیری تفریحی و ارزش اقتصادی بالا، یکی از پرطرفدارترین گونه های ماهیان آب شیرین برای متنوع سازی آبی پروری آبهای داخلی اروپا در نظر گرفته می شود<sup>[۱-۳]</sup>. این ماهی عموماً هم در آب شیرین و هم در آب لب شور حضور دارد و زیستگاه آنها نواحی مصبی و کم شور دریاها با شوری کمتر از ۱۲ قسمت در هزار می باشد<sup>[۴]</sup>. به عنوان یک کاندیدای بالقوه برای پرورش متراکم در اروپا و با توجه به بازاری پستی بالا، گوشت با کیفیت و رشد سریع آن، علاقه به توسعه تکنیک هایی برای پرورش تجاری این گونه با ارزش، در طی چند دهه گذشته افزایش یافته است. امروزه، ماهی سوف سفید از اهمیت قابل توجهی در توسعه پرورش متراکم برخوردار است و همین امر کنترل چرخه تولیدمثل این گونه را به یک اولویت مهم تبدیل نموده است<sup>[۵]</sup>. در این راستا، به منظور مدیریت پرورش کنترل شده و تکثیر آن، محققان موفق به ایجاد پروتکل هایی برای تکثیر مصنوعی ماهی سوف سفید شده اند<sup>[۶-۸]</sup>. بدیهی است که تولیدمثل موفقیت آمیز یکی از مراحل حیاتی در روند پرورش ماهیان محسوب می گردد که به طور مستقیم ظرفیت تولید را تحت تاثیر قرار می

دهد و از این طریق بر سودآوری تولید تاثیر می گذارد<sup>[۹]</sup>. در گونه هایی مانند ماهی سوف سفید که دارای تخمیزی سالانه و رشد تخمک هماهنگ و همزمان (Synchronous) هستند<sup>[۹-۱۱]</sup>، مدت زمان تخمیزی محدود و وابسته به تغییرات فصل (عمدتاً نور و دما) می باشد<sup>[۵]</sup>. در نتیجه، شناسایی نشانه های خاص گونه ها که تولیدمثل را تحریک می کنند، ضروری به نظر می رسد<sup>[۱۲]</sup>. در این راستا، مطالعات پیشین به بررسی تاثیر دوره های نوری-دمایی بر مراحل تکامل تخمدان و بلوغ گناد ماهی سوف سفید پرداختند<sup>[۱۳-۱۴]</sup>، به طوری که کاهش دما و دوره نوری را عامل توسعه مجدد گناد ماهی سوف معرفی نمودند<sup>[۹]</sup>. سایر مطالعات نیز بر اهمیت استفاده از دوره های نوری در تغییر زمانبندی تولیدمثل، بلوغ، عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی، تغییرات بیوشیمیایی، پارامترهای هماتولوژی و پاسخ های ایمنی ماهی سوف سفید و سوف حاج طرخان (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) تاکید داشته اند<sup>[۱۵-۲۲]</sup>.

با توجه به کاهش شدید ذخایر طبیعی ماهی سوف سفید طی دهه های اخیر، اهمیت تکثیر کنترل شده مولدین صید شده آن از محیط طبیعی و رها سازی بچه ماهیان انگشت قد به منابع آبی طبیعی که از برنامه های اصلی بازسازی ذخایر دریای خزر است<sup>[۸]</sup> بیش از پیش توجه پذیر شده و تدبیری جدی می طلبد. بنابراین، استفاده از دوره های نوری و تکثیر خارج از فصل جهت تامین بچه ماهی، یکی از برنامه های پژوهشی ارزشمند در زمینه حفظ نسل و گسترش آبرزی پروری این گونه بومی است. با این حال، علی رغم سهولت نصب (سادگی تاسیسات)، هزینه کم و پتانسیل مدیریت تولیدمثل، هنوز تاثیر محض دوره های نوری بر عملکرد تولیدمثل (کیفیت تخم و لارو) ماهی سوف سفید در کشور بررسی نشده است. لذا، مطالعه حاضر بر تاثیر دوره های نوری مختلف بر عملکرد تولیدمثل، میزان همآوری، لقاح، کیفیت تخمیزی، تخم و تکامل لاروهای حاصل با هدف درک بهتر از زمانبندی چرخه تولیدمثل ماهی سوف سفید متمرکز شده است. هدف اصلی، تعیین تاثیر دوره های نوری در زمانبندی تخمیزی و عملکرد تولیدمثل مولدین ماهی سوف سفید به منظور شناخت بیولوژی و زیست شناسی تولیدمثل این گونه ارزشمند اقتصادی می باشد.

## مواد و روش ها

### تهیه مولدین و شرایط پرورش

مولدین سوف سفید در فصل پاییز از ذخیره گاه طبیعی، واقع در دریاچه پشت سد ارس، صید و به مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل، واقع در استان گیلان، انتقال داده شدند. مولدین به مدت ۳ ماه در استخرهای حاکی ۲ هکتاری زمستان گذرانی، نگهداری و با بچه کپورماهیان تغذیه شدند. در فصل زمستان (ماه اسفند)، مولدین نر (میانگین وزن، طول و سن به ترتیب  $140/31 \pm$  و  $828/1$  گرم،  $2/3 \pm$  و  $41/2 \pm$  سانتیمتر و ۵ سال) و ماده (میانگین وزن، طول و سن به ترتیب  $36/3 \pm$  و  $1161/4 \pm$  گرم،  $0/5 \pm$  و  $54/6 \pm$  سانتیمتر و ۵ سال) به حوضچه هایی با قطر ۱۸۵ سانتیمتر، عمق ۳۰ سانتیمتر با حجم آگیری ۸۰۰ لیتر، دبی  $0/88 \pm$  لیتر در دقیقه، دمای  $13/4 \pm 0/5$  درجه سانتیگراد و اکسیژن محلول  $0/4 \pm 9/4$  میلی گرم در لیتر، در یک سیستم جریان دار و بدون برگشت آب، انتقال داده شدند.

### دوره های نوری

سه تیمار نوری مختلف شامل روشنایی مطلق (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D)، به مدت ۴۰ روز بر روی مولدها اعمال گردید. برای هر تیمار نوری، سه تکرار در نظر گرفته شد (۳ حوضچه برای هر تیمار اختصاص داده شد). دو جفت مولد در هر یک از ۹ حوضچه بتونی مدور توزیع گردید. نور در دوره های نوری روشنایی مطلق و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، توسط لامپ ۱۰۰ W (پارس شهاب، گیلان، ایران) با شدت نور  $630 \text{ lux}$  که در ارتفاع ۴۰ سانتیمتری سطح آب تانک قرار داشت تامین و کنترل می شد. از پلاستیک های سیاه ضخیم جهت پوشاندن سطوح حوضچه ها در دوره های نوری تاریکی مطلق و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی استفاده گردید، به طوری که فضای حوضچه ها کاملاً تاریک و فاقد نور بود.

### القای تکثیر

به منظور القای تخمیزی، لانه هایی با ابعاد  $53 \times 53$  سانتیمتر و ارتفاع ۵ سانتیمتر که از ریشه بید تشکیل شده بودند در حوضچه های حاوی مولدها مستقر گردید. حوضچه ها به گونه ای طراحی گردید که هر حوضچه حاوی دو لانه و دو جفت مولد باشد (هر تیمار نوری شامل سه تکرار

بود). پس از اطمینان از مهیا بودن شرایط لازم برای القای تکثیر، در فاصله زمانی کمتر از دو ساعت، از لانه‌ها بازدید به عمل می‌آمد و در صورت مشاهده تخم‌ریزی، مولدهای تخم‌ریزی کرده بیومتری می‌شدند. در طی دوره تخم‌ریزی مولدین، به دلیل دمای پایین، سهولت تخم‌ریزی و جلوگیری از خورده شدن تخم‌ها توسط ماهیان هرز، تغذیه مولدها متوقف گردید.

### کیفیت و زمان تخم‌ریزی

به منظور بررسی تاثیر دوره‌های نوری مختلف بر زمان تخم‌ریزی مولدها، با الهام‌گیری از طبیعت، ۳ مرحله تخم‌ریزی در صبح (ساعات ۴ صبح تا ۱۲ ظهر)، بعدازظهر (ساعات ۱۲ ظهر تا ۲۰ شب) و شب (ساعات ۲۰ شب تا ۴ صبح) زمانبندی گردید. برای مقایسه و برآورد کیفیت تخم‌های استحصال شده، ۳ سطح کیفی خوب (تخم‌هایی که ۱۰۰٪ سطح لانه را پوشش می‌دادند و به رنگ زرد شفاف و کاملاً سالم و سفت بودند)، متوسط (تخم‌هایی که ۵۰٪ سطح لانه را می‌پوشاندند و به رنگ زرد شفاف و کاملاً سالم و سفت بودند) و ضعیف (تخم‌هایی که سطح کمی از لانه را پوشش می‌دادند و فاقد سفتی و قوام مناسب بودند)، تعیین گردید.

### شاخص‌های تولیدمثل

برای تعیین درصد لقاح و تعداد تخمک در هر گرم، حدود ۴۰۰ تخم از هر تکرار به طور تصادفی نمونه برداری و سپس توسط ترازوی دیجیتال با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱ گرم توزین گردید. درصد لقاح تخم در دو مرحله بلاستولا (حدود ۵ ساعت بعد از لقاح با نمایان شدن بلاستودیسک کاملاً برجسته و کلاهک مانند که به حاشیه زرده رسیده بود) و گاسترولا (تقریباً ۷۲ ساعت پس از لقاح، زمانی که سلول زرده به طور کامل به وسیله بلاستودرم‌ها پوشیده شد) ارزیابی گردید. ابتدا، با نمونه‌گیری از لانه‌های حاوی تخم، حدود ۲۰۰ تخم برای شمارش تعداد تخمک در گرم و ۲۰۰ تخم برای بررسی درصد لقاح از هر تکرار برداشت گردید و تعداد تخم‌های دارای تقسیمات جنینی در زیر لوپ شمارش و سپس درصد لقاح تعیین گردید<sup>[۲۳]</sup>. جهت بررسی تخم‌گشایی، تخم‌های بارور شده روزانه مورد بازدید قرار می‌گرفتند. بعد از کامل شدن تخم‌گشایی، درصد تفریح ثبت و میزان تبدیل تخم به لارو در هر تیمار ثبت گردید و لاروهای استحصال شده زیست‌سنجی شدند. بدین منظور، حدود ۱۰۰ قطعه لارو از هر تیمار پس از خروج از تخم به صورت تصادفی نمونه‌گیری و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردیدند<sup>[۶]</sup>.

درصد لقاح و درصد تفریح به وسیله فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$۱۰۰ \times (\text{تعداد کل تخم} / \text{تعداد تخم‌های لقاح یافته}) = \text{درصد لقاح}$$

$$۱۰۰ \times (\text{تعداد کل تخم‌های لقاح یافته} / \text{تعداد تخم‌های تفریح شده}) = \text{درصد تفریح}$$

### تجزیه و تحلیل آماری

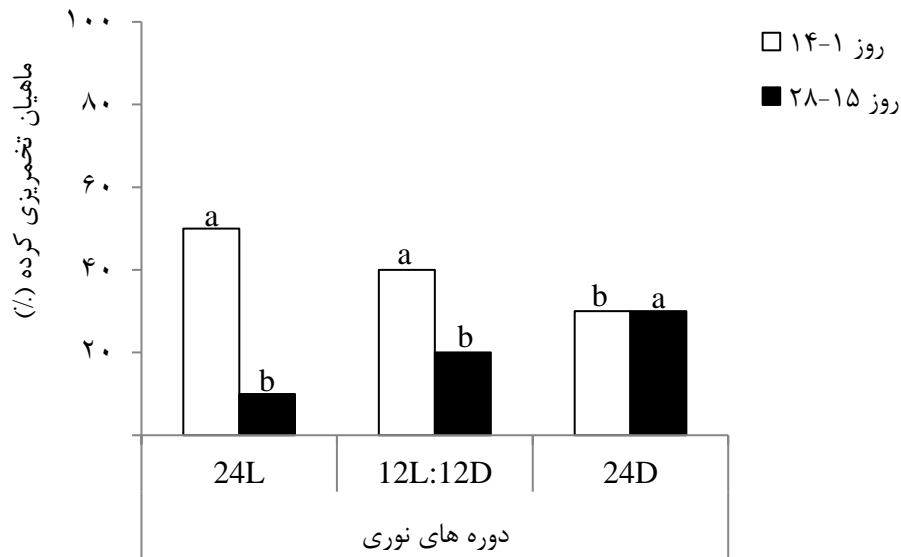
نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون Levene بررسی گردید. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و تست Tukey به عنوان post hoc استفاده شد. اختلاف میانگین‌ها در سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (Version 16, Chicago, USA) انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین خطای استاندارد ( $\pm$ Standard error) ارائه شدند.

### نتایج

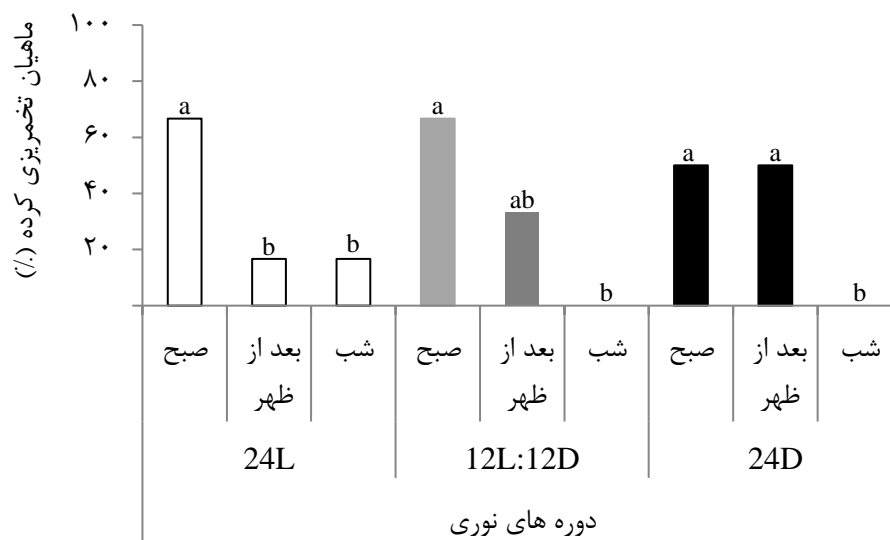
تخم‌ریزی مولدین طی یک دوره ۴ هفته‌ای بعد از لانه‌گذاری اتفاق افتاد (شکل ۱). از ۳۶ مولد ماده، ۲۹ مولد در دوره‌های نوری مختلف تخم‌ریزی کردند. میزان تخم‌ریزی در دوره نوری ۲۴D، ۲۴L و ۱۲D:۱۲D به ترتیب ۶۶/۷٪، ۸۳/۳٪ و ۹۱/۷٪ بود. تفاوت معنی‌داری در میزان تخم‌ریزی، زمانبندی تخم‌ریزی و کیفیت تخم مولدین در دوره‌های نوری مختلف مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). اولین تخم‌ریزی، دو روز بعد از لانه‌گذاری در مولدین دوره نوری ۲۴L و آخرین تخم‌ریزی، ۲۸ روز پس از لانه‌گذاری در دوره نوری ۲۴D مشاهده گردید. مولدین دوره نوری

۲۴L در مقایسه با سایر دوره های نوری در فاصله زمانی کمی پس از لانه گذاری، اقدام به تخم‌ریزی نمودند، به طوری که فقط کمتر از ۱۰٪ تخم‌ریزی آنها در ۱۵ تا ۲۸ روز پایانی پس از لانه گذاری انجام شد. این در حالی بود که در مولدین دوره نوری ۲۴D تخم‌ریزی با تاخیر انجام گرفت و بیش از ۵۰٪ تخم‌ریزی را به روزهای پایانی پس از لانه گذاری موکول نمودند. میزان تخم‌ریزی مولدین تحت تیمار دوره نوری ۱۲D:۱۲L در روزهای اولیه ۲ برابر روزهای پایانی بود.

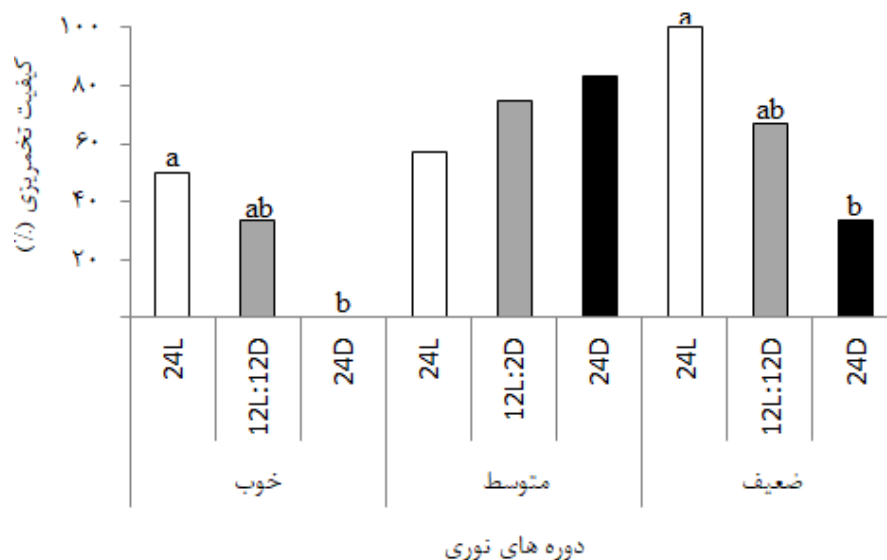
در تمامی تیمارهای نوری، بیشترین و کمترین تخم‌ریزی به ترتیب در صبح و شب مشاهده گردید. در دوره های نوری ۲۴L و ۱۲L:۱۲D، نزدیک به ۷۰٪ تخم‌ریزی در صبح انجام گرفت (شکل ۲). بیشترین تخم‌ریزی مولدها در صبح نمایان گردید که در دوره نوری ۲۴L ( $3/5 \pm 66\%$ ) مشاهده شد و کمترین تخم‌ریزی در شب به وقوع پیوست که متعلق به دوره های نوری ۱۲L:۱۲D و ۲۴D بود که در شب اقدام به تخم‌ریزی نکردند. تخم های مولدین دوره نوری ۲۴D فاقد کیفیت خوب بودند و در مولدین دوره نوری ۲۴L تخم های با کیفیت ضعیف بیشترین میزان ( $P < 0.05$ ) را نشان دادند (شکل ۳). تعداد تخمک در گرم، درصد لقاح در مرحله بلاستولا و گاسترولا، درصد تفریح و میانگین وزنی لاروها (جدول ۱) تفاوت معنی داری را در دوره های نوری مختلف به نمایش نگذاشت ( $P > 0.05$ ).



شکل ۱. مقایسه سرعت تخم‌ریزی (%) مولدین سوف سفید (*Sander lucioperca*) در دوره های نوری مختلف روشنایی مطلق (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D)، در فاصله زمانی ۱-۱۴ روز یا ۱۵-۲۸ روز پس از لانه گذاری. مولدین به مدت ۴۰ روز در معرض دوره های نوری مختلف قرار گرفتند.  $n = 6$  مولد ماده در هر تیمار. حروف متفاوت بر روی ستون ها بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). مولدین دوره نوری ۲۴L در روزهای ۱-۱۴ بیشترین تخم‌ریزی را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند.



شکل ۲. مقایسه تخم‌ریزی مولدین سوف سفید (*Sander lucioperca*) در زمان‌های مختلف صبح (ساعات ۴ صبح تا ۱۲ ظهر)، بعد از ظهر (ساعات ۱۲ ظهر تا ۲۰ شب) و شب (ساعات ۲۰ شب تا ۴ صبح)، در دوره‌های نوری مختلف روشنایی (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D). مولدین به مدت ۴۰ روز در معرض دوره‌های نوری مختلف قرار گرفتند.  $n=6$  مولد ماده در هر تیمار. حروف متفاوت بر روی ستون‌ها بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). در تمام تیمارها بیشترین تخم‌ریزی در صبح و کمترین تخم‌ریزی در شب مشاهده گردید.



شکل ۳. مقایسه کیفیت تخم‌ریزی مولدین سوف سفید (*Sander lucioperca*) در ۳ سطح کیفی خوب (تخم‌هایی که ۱۰۰٪ سطح لانه را پوشش می‌دادند و به رنگ زرد شفاف و کاملاً سالم و سفت بودند)، متوسط (تخم‌هایی که ۵۰٪ سطح لانه را می‌پوشاند و به رنگ زرد شفاف و کاملاً سالم و سفت بودند) و ضعیف (تخم‌هایی که سطح کمی از لانه را پوشش می‌داد و فاقد سفتی و قوام مناسب بود) در دوره‌های نوری مختلف روشنایی مطلق (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D). مولدین به مدت ۴۰ روز در معرض دوره‌های نوری مختلف قرار گرفتند.  $n=6$  مولد ماده در هر تیمار. حروف متفاوت بر روی ستون‌ها بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ). تیمار نوری ۲۴D فاقد تخم با کیفیت خوب بود.

جدول ۱. مقایسه پارامترهای تولیدمثلی مولدهای سوف سفید (*Sander lucioperca*) در دوره های نوری مختلف روشنایی مطلق (۲۴L)، تاریکی مطلق (۲۴D) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۱۲L:۱۲D). (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد).

شاخص ها	دوره نوری ۲۴L	دوره نوری ۲۴D	دوره نوری ۱۲L:۱۲D
تعداد تخمک در گرم	۷۶۹/۵ $\pm$ ۲۷/۵	۸۵۲/۸۳ $\pm$ ۲۸/۴	۹۰۷ $\pm$ ۲۹/۸
درصد لقاح (بلاستولا)	۸۸/۰۵ $\pm$ ۲/۰۵	۸۵/۴۵ $\pm$ ۱/۱۹	۸۸/۲۱ $\pm$ ۲/۲۷
درصد لقاح (گاسترولا)	۵۶/۵ $\pm$ ۱۱/۰۹	۶۰/۳۳ $\pm$ ۱۴/۳۲	۶۱/۱۶ $\pm$ ۱۴/۲۳
درصد تفریخ	۸۶/۳۶ $\pm$ ۲۸/۵۷	۸۶/۳۶ $\pm$ ۲۸/۵۷	۷۲/۲۷ $\pm$ ۱۱/۱۹
وزن لارو (میلی گرم)	۴/۸۱ $\pm$ ۰/۰۳	۴/۹۵ $\pm$ ۰/۰۴	۵/۶۲ $\pm$ ۰/۰۳

## بحث

نتایج این تحقیق که اولین گزارش در زمینه تاثیر دوره های نوری بر عملکرد تولیدمثل مولدین سوف سفید بومی ایران است مشخص نمود که دوره های نوری در مرحله نهایی تولیدمثل بر القای تخمیزی در ماهی سوف سفید تاثیر می گذارند و منجر به تغییر زمانبندی تخمیزی آنها می گردند. همراستا با نتایج این مطالعه، نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داد که زمان تخمیزی بستگی به هماهنگی ریتم یا یک ساعت داخلی سالانه با تغییر دوره های نوری دارد [۲۴، ۲۵]. همچنین، اعمال رژیم های نوری-حرارتی می تواند زرده زایی، بلوغ اووسیت و تخمیزی را در ماهیان تسریع و تقویت نماید [۲۶، ۲۷]، به طوری که ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus* Yakovlev, 1870) زودترین تخمیزی را در تیمار نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و دیرترین تخمیزی را در تیمار دارای کوتاه ترین دوره نوری (۹ ساعت روشنایی) و کمترین دما (۱۴ درجه سانتیگراد) نمایان ساخت [۲۷]. Migaud و همکاران (۲۰۰۶) [۱۵] هم اعمال دوره های نوری مختلف (دوره نوری طبیعی، دوره نوری روشنایی مطلق، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی-۸ ساعت تاریکی و دوره نوری طبیعی-مصنوعی) را یک فاکتور موثر برای کنترل تخمیزی ماهی سوف حاج طرخان معرفی کردند. علاوه بر این، بیشترین و کمترین تخمیزی ماهی سوف سفید به ترتیب در صبح و شب، اهمیت تغییرات دوره نوری را به عنوان یک محرک مهم برای تعیین زمان تخمیزی ماهی سوف سفید برجسته می نماید. بر همین اساس، در مطالعه Migaud و همکاران (۲۰۰۶) [۱۵] نیز بیشترین تخمیزی ماهی سوف حاج طرخان در صبح مشاهده گردید. در مطالعه حاضر، در مرحله انتهایی تولیدمثل، اعمال روشنایی مداوم (۲۴L)، تخمیزی را تسریع، در حالی که تاریکی مداوم (۲۴D)، تخمیزی ماهی سوف سفید را به تاخیر انداخت. این نتیجه مطابق با نتایج مطالعه Zienert و Müller-Belecke (۲۰۰۸) [۱۷] است که نشان دادند با تغییرات دوره نوری می توان امکان تخمیزی خارج از فصل ماهیان سوف را دو ماه قبل از تخمیزی فراهم کرد، این در حالی بود که دوره نوری روشنایی مطلق مانع تولیدمثل مولدین نر و ماده سوف حاج طرخان گردید [۲۸]. این تفاوت با توجه به این حقیقت قابل توجه است که دوره های نوری بسته به اینکه در چه مرحله ای از تولیدمثل تجربه می شوند، تاثیرات متفاوتی را نمایان می سازند و هنگامی که ماهی در معرض این فاکتورها قرار می گیرد، دوره بلوغ نقش مهمی را ایفا می کند [۲۹]. بدیهی است که گامتوزنیزیس و تخمیزی، از طریق تعامل انرژی، فاکتورهای محیطی و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی کنترل می گردند [۳۰] و در مدت تولید زرده و بلوغ تخمک، گنادوتروپین های هیپوفیزی (Luteinizing hormone; LH) و (follicle-stimulating hormone; FSH) و استروئیدهای جنسی به عنوان فاکتورهای داخلی و دوره های نوری به عنوان فاکتور خارجی تنظیم کننده موثر بلوغ و رسیدگی جنسی ماهیان می باشند [۳۱، ۳۲]. به طوری که ثابت و یکسان بودن دوره نوری موجب توقف زرده سازی در ماهی سوف حاج طرخان می گردد [۳۲]. شواهد ارائه شده ما را به سمت این نتیجه گیری سوق می دهد که رسیدگی جنسی ماهیان می تواند به وسیله کاهش یا افزایش چرخه نوری تغییر نماید [۳۳]. در این راستا، تحقیقات ثابت نمودند که اثرات مشخص دوره های نوری بر تولیدمثل، در نتیجه زمانبندی چرخه های ترشح هورمون های مختلف محور مغز-هیپوفیز-گناد اعمال می گردد [۳۳]. تحقیقات بر روی ماهی آزاد ماسو

(*Oncorhynchus masou* Brevoort, 1856) و قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) نشان داده که زمانبندی تغییرات موقتی هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (gonadotropin-releasing hormone; GnRH) هیپوفیز که طی بلوغ صورت می گیرد به طور قابل ملاحظه ای با دستکاری دوره نوری اصلاح می شود<sup>[۳۴، ۳۵]</sup>. Amano و همکاران (۱۹۹۴)<sup>[۳۴]</sup> گزارش کردند که تغییرات GnRH همبستگی موقتی با مقادیر هیپوفیز FSH و LH پس از تغییرات ناشی از دوره های نوری بر بلوغ و زرده زایی و تخمیزی ماهی آزاد ماسو داشتند. Le Menn و همکاران (۱۹۹۸)<sup>[۳۶]</sup> نشان دادند که دوره های نوری تسریع شده (پیش از موق) موجب پیشرفت تغییرات فصلی در FSH و LH می گردد. به همین ترتیب، پیرو تغییرات در GnRH و FSH، یافته های مبسوطی در شرح و توصیف تغییرات فصلی استروئیدهای گنادی از قبیل ۱۷-بتا-استرادیول، استرون، تستوسترون، ۱۷-آلفا-هیدروکسی پروژسترون، ۱۷-آلفا ۲۰-بتا دی هیدروکسی پروژسترون و ویتلوژنین، پس از دستکاری دوره های نوری به دست آمد<sup>[۴۰-۳۷]</sup>.

بر اساس اظهارات Schreck و همکاران (۲۰۰۱)<sup>[۳۹]</sup> تأثیرات فاکتورهای داخلی و خارجی موثر بر تولیدمثل، در طول تخمک زایی یا بلوغ اولیه (اووسیت های در حال تکامل در تخمدان)، روی اووسیت و گناد و در طول بلوغ نهایی، روی زمانبندی تخمیزی بیشتر قابل مشاهده است در نتیجه، در تحقیق حاضر، چون ماهی سوف سفید در مراحل انتهایی تولیدمثل، در معرض دوره های نوری مختلف قرار گرفت، با تغییر در زمانبندی تخمیزی و کیفیت تخم به دوره های نوری مختلف واکنش نشان داد و سایر فاکتورها مانند تعداد تخمک در گرم، درصد لقاح در مرحله بلاستولا و گاسترولا، درصد تفریح و میانگین وزنی لاروها تحت تاثیر دوره های نوری مختلف قرار نگرفتند. به همین ترتیب، استفاده از دوره نوری با مدت زمان روشنائی طولانی در مرحله رشد و تکامل گنادهای ماهی قزل آلائی رنگین کمان موجب تاخیر روند تکامل گناد و تخم در آنها گردید که موید توضیحات ارایه شده است<sup>[۴۱]</sup>. در ماهی روهو (*Labeo rohita* Hamilton, 1822) نیز، استفاده از دوره نوری طولانی مدت، بر عملکرد رشد و تولیدمثل تاثیر منفی داشت<sup>[۴۲]</sup>. اعمال دوره نوری ثابت و طولانی بر روی اووژنز اثرات مخربی داشت و موجب مهار تکامل گامتوزن و کاهش تولید استروئیدهای جنسی در مولدین نر و ماده ماهی کلمه گردید<sup>[۴۳]</sup>. غلظت استروئیدهای جنسی، در ماهیان نر و ماده سوف حاج طرخان، در تیمارهای نوری مختلف ۱۶L:۸D، ۱۲L:۱۲D و ۸L:۱۶D تفاوت معنی داری را نشان نداد<sup>[۴۴]</sup>، اما در دوره نوری طبیعی به طور قابل توجهی افزایش یافت و در دوره های نوری ۲۴L و ۱۶L:۸D پایین باقی ماند<sup>[۱۵]</sup>.

تناقضات مشاهده شده در مطالعات فوق را می توان به تفاوت در نوع دوره های نوری اعمال شده، شدت و مدت زمان دوره های نوری مختلف، مراحل رسیدگی جنسی متفاوت، سازگاری موروثی از والدین و تفاوت فردی میان ماهیان نسبت داد<sup>[۳۳، ۴۵]</sup>. در واقع اعتقاد بر این است که دوره های نوری مناسب با توجه به زمان لازم جهت تشکیل گناد، بلوغ، تخمیزی و زمان خاصی از سال که در آن ماهیان تخمیزی می کنند، متغیرند<sup>[۴۵]</sup>. شواهد نشان می دهد بر اساس مکانیسم های درونی زیربنایی تنظیم کننده زمانبندی تولیدمثل ماهیان (مرحله رسیدگی جنسی، مکانیسم های هیپوفیز و هیپوتالاموس، هورمون های مختلف محور مغز-هیپوفیز-گناد، FSH، LH، زرده زایی، پروستاگلاندین ها و استروئیدهای جنسی)، یک دوره نوری در صورت اعمال در اوقات مختلف سال، اثرات متفاوتی را القا می نماید<sup>[۴۵]</sup>. همچنین، در مقایسه با دوره نوری تکثیر ماهی سوف در طبیعت، که طی یک دوره شبانه تخمیزی می کنند<sup>[۴۶]</sup> و همآوری مطلق و نسبی آنها که به ترتیب ۲/۵ میلیون تخم به ازای هر ماهی ماده و ۱۵۰-۴۰۰ تخم به ازای هر گرم وزن بدن مولد ماده تعیین شده است<sup>[۴۷]</sup>، در تحقیق حاضر، تغییر زمان تخمیزی ماهی سوف در ساعات مختلف شبانه روز، تسریع و به تعویق افتادن تخمیزی و همچنین تعداد تخمک در گرم در محدوده ۷/۶۹ تا ۷/۹۰ در دوره های نوری مختلف، اهمیت استفاده از دوره های نوری را برای تغییر در بیولوژی و ریتم تولیدمثل این ماهی برجسته می کند. بنابراین، یکی از الزامات اساسی برای طراحی دوره های نوری مناسب جهت تنظیم تخمیزی ماهیان، شناخت نیازمندی های زیستی و بیولوژی تولیدمثل گونه مورد نظر و ارتباط آن با متغیرهای محیطی (طول روز و فصول سال) می باشد.

## نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می دهد که با دستکاری دوره نوری می توان زمانبندی تخم‌ریزی را در ماهی سوف سفید کنترل نمود. علاوه بر این، مراکز پرورش سوف ماهیان برای رساندن آنها به وزن صید و قابل برداشت می توانند برنامه هایی برای کنترل محیط (دوره نوری) تنظیم نمایند تا بلوغ ماهیان را تا زمان برداشت محصول به تعویق بیندازند. در نتیجه از افت کیفیت گوشت که اغلب با بلوغ ماهیان همراه است ممانعت می شود. با استفاده از این دو رویکرد می توان مولدین آماده و مناسب جهت تکثیر و ماهی دارای اندازه و کیفیت مناسب را در تمام طول سال عرضه نمود که قطعاً علاوه بر بهبود بازسازی ذخایر، به پرورش دهندگان ماهی سوف در جهت سوددهی بیشتر و عرضه محصول در طول سال کمک خواهد نمود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله ضمن قدردانی از پرسنل محترم مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل به ویژه آقای عفت پناه مراتب سپاس خود را اعلام نموده و همچنین شایسته است از آقایان مکنث خواه، رسولی و خانم محمد یکتا به جهت کمک و یاری در مراحل اجرایی این تحقیق تشکر نماییم. از حمایت های دانشگاه گیلان و اداره کل شیلات گیلان نیز در حمایت از این پژوهش سپاسگزاری می گردد.

**تاییدیه اخلاقی:** نویسندگان این مقاله متعهد به رعایت کلیه اخلاق و قوانین نشر محتوای علمی هستند.

**تعارض منافع:** در مطالعه حاضر هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** سهم نویسندگان در امور اجرایی تحقیق، آنالیز آماری و نگارش به صورت مساوی (۵۰ درصد) بود.

**منابع مالی:** این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه گیلان انجام شده است.

## منابع

- 1- Wang N, Xu X, Kestemont P. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*. 2009; 289 (1): 70-3.
- 2- Dalsgaard J, Lund I, Thorarinsdottir R, Drengstig A, Arvonen K, Pedersen PB. Farming different species in RAS in Nordic countries: current status and future perspectives. *Aquacultural Engineering*. 2013; 53: 2-13.
- 3- Overton J, Toner D, Policar T, Kucharczyk D. Environmental biology of Percid fishes. *Biology and Culture of Percid Fishes*. 2015; 881-9.
- 4- Koed A, Mejlhede P, Balleby K, Aarestrup K. Annual movement and migration of adult pikeperch in a lowland river. *Journal of Fish Biology*. 2000; 57 (5): 1266-79.
- 5- Ljubobratović U, Péter G, Demény F, Kugyela N, Horváth Á, Pataki B, et al. Reproductive performance in virgin pikeperch (*Sander lucioperca* L.) females fed different dietary levels of arachidonic acid with respect to the duration of spawning induction. *Aquaculture Reports*. 2020; 18: 100430.
- 6- Rónyai A. Induced out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of pike perch (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture Research*. 2007; 38 (11): 1144-51.
- 7- Müller-Belecke A, Zienert S. Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. *Aquaculture Research*. 2008; 39 (12): 1279-85.
- 8- Falahatkar B, Efatpanah I, Kestemont P. Pikeperch *Sander lucioperca* production in the south part of the Caspian Sea: technical notes. *Aquaculture International*. 2018; 26 (1): 391-401.



- 9- Kestemont P, Dabrowski K, Summerfelt RC. Biology and culture of percid fishes: principles and practices: Springer; 2015. p. 901.
- 10- Kestemont P, Mélard C. Aquaculture. Percid Fishes: Percid fishes systematic, ecology and exploitation. Blackwell Science, Oxford; 2000. p. 191-224.
- 11- Fontaine P, Wang N, Hermelink B. Broodstock management and control of the reproductive cycle. Biology and culture of percid fishes: Springer; 2015. p. 103-22.
- 12- Hermelink B, Kleiner W, Schulz C, Kloas W, Wuertz S. Photo-thermal manipulation for the reproductive management of pikeperch *Sander lucioperca*. Aquaculture International. 2017; 25 (1): 1-20.
- 13- Hermelink B, Wuertz S, Trubiroha A, Rennert B, Kloas W, Schulz C. Influence of temperature on puberty and maturation of pikeperch, *Sander lucioperca*. General and Comparative Endocrinology. 2011; 172 (2): 282-92.
- 14- Hermelink B, Wuertz S, Rennert B, Kloas W, Schulz C. Temperature control of pikeperch (*Sander lucioperca*) maturation in recirculating aquaculture systems—induction of puberty and course of gametogenesis. Aquaculture. 2013; 400-401: 36-45.
- 15- Migaud H, Wang N, Gardeur JN, Fontaine P. Influence of photoperiod on reproductive performances in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture. 2006; 252 (2): 385-93.
- 16- Migaud H, Fontaine P, Sulistyo I, Kestemont P, Gardeur JN. Induction of out-of-season spawning in Eurasian perch *Perca fluviatilis*: effects of rates of cooling and cooling durations on female gametogenesis and spawning. Aquaculture. 2002; 205 (3): 253-67.
- 17- Migaud H, Gardeur JN, Kestemont P, Fontaine P. Off-season spawning of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture International. 2004a; 12 (1): 87-102.
- 18- Migaud H, Fontaine P, Kestemont P, Wang N, Brun-Bellut J. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture. 2004b; 241 (1): 561-74.
- 19- Kozłowski M, Zakęs Z, Szczepkowski M, Wunderlich K, Piotrowska I, Szczepkowska B. Impact of light intensity on the results of rearing juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), in recirculating aquaculture systems. Fisheries & Aquatic Life. 2010; 18 (2): 77-84.
- 20- Luchiari AC, De Morais Freire FA, Pirhonen J, Koskela J. Longer wavelengths of light improve the growth, intake and feed efficiency of individually reared juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture Research. 2009; 40 (8): 880-6.
- 21- Tielmann M, Schulz C, Meyer S. The effect of light intensity on performance of larval pike-perch (*Sander lucioperca*). Aquacultural Engineering. 2017; 77: 61-71.
- 22- Baekelandt S, Milla S, Cornet V, Flamion E, Ledoré Y, Redivo B, et al. Seasonal simulated photoperiods influence melatonin release and immune markers of pikeperch *Sander lucioperca*. Scientific Reports. 2020; 10 (1): 2650.
- 23- Güralp H, Pocherniaieva K, Blecha M, Policar T, Pšenička M, Saito T. Development, and effect of water temperature on development rate, of pikeperch *Sander lucioperca* embryos. Theriogenology. 2017; 104: 94-104.
- 24- Bon E, Breton B, Govoroun MS, Le Menn F. Effects of accelerated photoperiod regimes on the reproductive cycle of the female rainbow trout: II Seasonal variations of plasma gonadotropins (GTH I and GTH II) levels correlated with ovarian follicle growth and egg size. Fish Physiology and Biochemistry. 1999; 20 (2): 143-54.

- 25- Bonnet E, Montfort J, Esquerre D, Hugot K, Fostier A, Bobe J. Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: A genomic study. *Aquaculture*. 2007; 268 (1): 13-22.
- 26- Żarski D, Horváth A, Held J, Kucharczyk D. Artificial reproduction of percid fishes. *Biology and culture of percid fishes*: Springer; 2015. p. 123-61.
- 27- Akhoundian M, Salamat N, Savari A, Movahedinia A, Salari MA. Influence of photoperiod and temperature manipulation on gonadal development and spawning in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*): Implications for artificial propagation. *Aquaculture Research*. 2020; 51 (4): 1623-42.
- 28- Migaud H, Mandiki R, Gardeur JN, Kestemont P, Bromage N, Fontaine P. Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2003; 28 (1): 395-7.
- 29- Schreck CB, Contreras-Sanchez W, Fitzpatrick MS. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*. 2001; 197 (1): 3-24.
- 30- DeLonay AJ, Papoulias DM, Wildhaber ML, Annis ML, Bryan JL, Griffith SA, et al. Use of behavioral and physiological indicators to evaluate Scaphirhynchus sturgeon spawning success. *Journal of Applied Ichthyology*. 2007; 23 (4): 428-35.
- 31- Lubzens E, Young G, Bobe J, Cerdà J. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*. 2010; 165 (3): 367-89.
- 32- Milla S, Mandiki SNM, Hubermont P, Rougeot C, Mélard C, Kestemont P. Ovarian steroidogenesis inhibition by constant photothermal conditions is caused by a lack of gonadotropin stimulation in Eurasian perch. *General and Comparative Endocrinology*. 2009; 163 (3): 242-50.
- 33- Bromage N. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*. 2001; 197: 63-98.
- 34- Amano M, Okumoto N, Kitamura S, Ikuta K, Suzuki Y, Aida K. Salmon gonadotropin-releasing-hormone and gonadotropin are involved in precocious maturation induced by photoperiod manipulation in underyearling male masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *General and Comparative Endocrinology*. 1994; 95: 368-73.
- 35- Davies B, Bromage N, Swanson P. The brain-pituitary-gonadal axis of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effects of photoperiod manipulation. *General and Comparative Endocrinology*. 1999; 115(1): 155-66.
- 36- Le Menn F, Bon E, Govourun M, Breton B. Effect of shortened photoperiod on the annual blood levels of GTH1 and GTH2 in rainbow trout. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998; 839: 427-30.
- 37- Duston J, Bromage NR. Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiology and Biochemistry*. 1986; 2: 35-51.
- 38- Duston J, Bromage NR. Constant photoperiod regimes and the entrainment of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *General and Comparative Endocrinology*. 1987; 65(3): 373-84.
- 39- Duston J, Bromage N. The entrainment and gating of the endogenous circannual rhythm of reproduction in the female rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology. A*. 1988; 164: 259-68.
- 40- Prat F, Zanuy S, Carrillo M, Bromage N. Effects of long term constant short and long photoperiod regimes on the spawning performance and sex steroid levels of both sexes of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Fish Biology*. 1999; 54: 125-37.

- 41- Noori A, Mojazi Amiri B, Mirvaghefi A, Rafiee G, Kalvani Neitali B. Enhanced growth and retarded gonadal development of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) following a long-day photoperiod. *Aquaculture Research*. 2015; 46 (10): 2398-406.
- 42- Shahjahan M, Al-Emran M, Majharul Islam SM, Abdul Baten SM, Rashid H, Mahfuzul Haque M. Prolonged photoperiod inhibits growth and reproductive functions of rohu *Labeo rohita*. *Aquaculture Reports*. 2020; 16: 100272.
- 43- Ben Ammar I, Milla S, Ledoré Y, Teletchea F, Fontaine P. Constant long photoperiod inhibits the onset of the reproductive cycle in roach females and males. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2020; 46 (1): 89-102.
- 44- Fontaine P, Pereira C, Wang N, Marie M. Influence of pre-inductive photoperiod variations on Eurasian perch *Perca fluviatilis* broodstock response to an inductive photothermal program. *Aquaculture*. 2006; 255 (1): 410-6.
- 45- Wang C, King W, Woods LC. Physiological indicators of divergent stress responsiveness in male striped bass broodstock. *Aquaculture*. 2004; 232 (1): 665-78.
- 46- Craig JF. Percid fishes: systematics, ecology and exploitation. *Fish and Aquatic Resources Series*, Blackwell, Science, Cornwall; 2000. p. 352.
- 47- Lappalainen J, Dorner H, Wysujack K. Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) - a review. *Ecology of Freshwater Fish*. 2003; 12(2): 95-106.

## Manipulation of the scheduling and reproductive performance of pikeperch (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) by different photoperiods

Sara Pourhosein-Sarameh<sup>1</sup>, Bahram Falahatkar<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Young Researchers and Elite Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

<sup>2</sup> Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

<sup>3</sup> Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of different photoperiods on reproductive performance, egg and larval quality of pikeperch (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) as well as increasing the knowledge about controlling the reproductive cycle and improving the production efficiency of this valuable species. Pikeperch broodstock with mean weights  $1367 \pm 55.3$  g were exposed to three different photoperiods including constant light (24L), constant darkness (24D), and 12 h of light, 12 h of darkness (12L:12D) with three replicates for 40 days, with light intensity 630 lux. The results showed that the pikeperch reproductive performance was affected by photoperiod. The broodstock exposed to 24L photoperiod, spawned earlier than broodstock from the other photoperiods. The highest spawning were observed in the morning in 24L ( $66.7 \pm 3.5\%$ ) and the lowest spawning belonged to the 24D and 12L:12D that never spawned at night. Although fertilization rate and number of eggs per gram did not show any significant difference in various treatments, the timing of spawning and the egg quality exhibited remarkable difference ( $P < 0.05$ ). The results of this study suggesting the effective application of photoperiod on changing the spawning time, environmental regulation of maturation and induction of out-of-season spawning in pikeperch.

**KEYWORDS:** Photoperiod, Reproductive cycle, Spawning induction, *Sander lucioperca*

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 21  
November 2020  
Accepted: 6 December  
2021  
Published: 21  
December 2021

\* Corresponding Author:

Email address: falahatkar@guilan.ac.ir

Tel: +(98)-13-44323599

© Published by Tarbiat Modares University

eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513