Archive of SID

مطالعه پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن مولدین ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) در زمان‌های مهاجرت تولیدمثلی

امین گلپور*[1]، محمدرضا ایمانپور[2]، سیدعباس حسینی[3] و سعید شربتی[3]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان شهرستان لاهیجان، ایران

[2] دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

[3] عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۱، تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۱۷)

چکیده

در این مطالعه اثر زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه به مصب گرگانرود روی برخی پارامترهای اسپرم شناختی (طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم تحرک، تراکم اسپرم و حجم اسپرم) و بیوشیمیایی (یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، pH، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول سمن) بررسی شد. بدین منظور زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین به سه دوره زمانی تقسیم و در هر دوره زمانی از ۱۰ ماهی نرهم اندازه نمونه برداری شد. نتایج تحقیق نشان داد که طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و یون پتاسیم اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی داشت. همچنین، تراکم اسپرم، یون کلسیم، منیزیم و pH در زمان‌های مختلف مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه نیز دارای اختلاف معنی‌داریبود. اما اسپرماتوکریت، حجم اسپرم دهی، سدیم، گلوکز، پروتئین کل و کلسترول در زمان‌های مختلف مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری نداشت. در مجموع می‌توان گفت نمونه‌های ماهی کلمه در اسفند ماه به لحاظ خصوصیات اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی نسبت به ماههای بهمن و فروردین مناسب تر هستند.

واژه‌های کلیدی: کلمه، زمان مهاجرت، پارامترهای اسپرم شناختی، پارامترهای بیوشیمیایی، سمن

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۱۱-۸۰۷۷٤٤۲ فاکس: ۰۱۷۱-۲۲٤٥۸۸۶ E-mail: amin.golpour@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماهی کلمه دریاچه خزر (*Rutilus rutilus caspicus*) یکی از ماهیان با ارزش در دریای خزر است. این ماهی پراکنش بالایی در دریای خزر دارد و دارای اهمیت اقتصادی شیلاتی است (Berg 1949; Coad 1980). به دلیل صید بی رویه و از بین رفتن زیستگاههای تخمریزی این گونه در لیست گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته است(Kiabi *et al*.,1999). ماهی کلمه قدرت تکثیر بالایی دارد بنابراین برای بازسازی ذخایر مناسب است Hute and Timmermans (1986). کلمه یک ماهی مهاجر است که به رودخانه مرزی ایران (اترک) و دیگر رودخانه‌ها مانند قره سو و گرگانرود برای تولید مثل به آنها مهاجرت می‌کند. در گرگانرود مهاجرت تولید مثلی از ماه بهمن آغاز شده و تا فصل بهار (فروردین) طول می‌کشد و درطول این مهاجرت، ماهی تا حود ۸۰ تا ۷۰ کیلومتر به سمت بالای رودخانه حرکت می‌کند. بیشتر مهاجرت تولید مثلی در دمای آب بین ۱۲ تا ۱۰ درجه سانتی گراد انجام می‌گیرد(Petr (1987) . در صنعت پرورش ماهی همواره بیشترین توجه به کیفیت تخم و لارو معطوف گشته و توجه کمتری نسبت به کیفیت اسپرم مبذول شده است در صورتیکه کیفیت هر دو نوع گامت روی موفقیت لقاح و بقای لارو تاثیرگذار است (Rurangwa *et al*., 2004). از آنجائی که اسپرم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولید شده اثر گذار است ارزیابی سریع کیفیت اسپرم می تواند انتخاب مولد مناسب برای بدست آوردن اسپرم با کیفیت بهتر را تسهیل نماید که در نتیجه آن نسل موفق تری حاصل خواهد (Rurangwa *et al*.,2004). کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح تخم می‌باشد. بنابراین پارامترهایی که در امر لقاح تخم تأثیرگذار می باشند جزء پارامترهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. مهمترین پارامترهایی که برای ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهیان مورد استفاده قرار می گیرد شامل اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، pH، اسمولاریته، ترکیبات پلاسمای سمینال، طول دوره تحرک، درصد لقاح و چند مولفه دیگر می‌باشد (Billard *et al*.,1995 a, b). در گذشته تحقیقات کمی در مورد فیزیولوژی و بیوشیمی تولید اسپرم، تحرک اسپرم و تغییر در ویژگی های میلت انجام شده بود. تغییرات تناوبی در تراکم اسپرم، تحرک،pH، اسمولاریته و برخی از خصوصیات شیمیایی سمن در فصل تکثیر کپور و تیلاپیا بررسی شده است (Kruger *et al*., *al*., 1984). Munkittrick and Moccia (1987) گزارش کردند که در قزل آلای رنگین کمان اسپرماتوکریت، تحرک اسپرم و یونهای پلاسمای سمینال در طول فصل تکثیر کاهش می یابد. غلظت اسپرماتوزوآ در قزل آلای رنگین کمان و ماهی کپور با نزدیک شدن به انتهای فصل تخمریزی کاهش می یابد (Rurangwa *et al*.,2004). پلاسمای سمینال شامل ترکیبات غیر آلی (یون‌ها)، ترکیبات آلی و آنزیم‌ها می‌باشد. ترکیبات غیر آلی شامل سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم است، که نقش بازدارنده و تحریک کننده حرکت اسپرماتوزوآ را دارند Morisawa 1985 (;Morisawa *et et al*. 1983 a, b, c) و ترکیبات آلی که به فعالیت‌های متابولیک دلالت دارد Lahnsteiner *et al*., (1994). پارامترهایی که معمولاً برای ارزیابی کیفیت سمن استفاده می‌شوند شامل حجم کل سمن، غلظت اسپرماتوزوآی سمن، درصد اسپرماتوزوآ که حرکت به سمت جلو را نشان می دهد و درصد تحرک است Billard (*et al*., 1995 a). هدف از انجام این تحقیق، تعیین اثرات زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه روی برخی پارامترهای اسپرم شناختی (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم دهی، طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم) و پارمترهای بیوشیمیایی (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، pH، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول) سمن ماهی کلمه بود. از آنجا که تاکنون اثر زمان مهاجرت تولیدمثلی ماهی کلمه روی پارامترهای اسپرم شناختی، بیوشیمیایی سمن مطالعه قرار نگرفته، مطالعه حاضر در مصب گرگانرود انجام پذیرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

نمونه برداری این تحقیق در ۱۵بهمن ماه، ۱۳ اسفند سال ۱۳۸۷ و۱۹ فروردین ماه سال ۱۳۸۸ با ۳ مرحله نمونه برداری از مصب گرگانرود در استان گلستان صورت گرفت. درهر مرحله از آزمایش از۱۰ عدد ماهی نر هم اندازه (۱۷/۷۷ ±۰ / ±SD) نمونه‌های اسپرم گرفته شد. برای جمع آوری اسپرم از هر ماهی نر ابتدا ناحیه سوراخ تناسلی خشک، سپس به آرامی طی فشار به ناحیه شکمی (بیضه‌ها و مجرای اسپرمی) میلت؛ مایع اسپرمی+ اسپرم بدون مخلوط شدن با ادرار و فضولات جمع آوری و پس از ذخیره سازی، در جعبه‌های یونولیت حاوی یخ، بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم شناختی (طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم، تراکم اسپرم و حجم اسپرم) و بیوشیمیایی (یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، pH، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول) سمن منتقل شد. برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره حرکت اسپرم از میکروسکوپ فازکنتراست زمینه سیاه (Leica, USA) و مجهز به دوربین (Panasonic WV-CP240, Japan) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری درصد تحرک اسپرم با استفاده از نرم افزار Adobe premiere هرثانیه حرکتی اسپرم به ۱۲ عکس تبدیل شد و پس از مقایسه عکسها با یکدیگر درصد اسپرم متحرک اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، pH و سایر پارامترهای شیمیایی و بیوشیمیایی سمن ابتدا به وسیله دستگاه سانتریفیوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۸ دقیقه پلاسمای سمینال از اسپرم جدا و پارامترهای مورد نظر در پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، پس از سانتریفیوژ کردن لوله‌های مویینه محتوی سمن به وسیله دستگاه سانتریفیوژ (Sigma 13, USA) درصد اسپرم به پلاسمای سمن (درصد نسبت ماده فشرده شده سفید رنگ: به کل حجم میلت) اندازه‌گیری شد *et al.* Fitzpatrick (2005). تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکپ فاز کنتراست زمینه سیاه با بزرگ نمایی۱۰ اندازه‌گیری شد. میزان pH پلاسمای سمینال به وسیله pH متر (pH-462, Iran) اندازه‌گیری شد. میزان کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (S2000-UV/VIS England) و یونهای سدیم و پتاسیم به وسیله فلیم فتومتر (Jenway PFP 7 England) اندازه‌گیری شد. شیوه نمونه برداری به صورت تصادفی و این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. داده‌های به دست آمده در ارتباط با زمان مهاجرت تولید مثلی ماهی کلمه (ابتدا، میانه و انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی که به عنوان تیمارهای ۱، ۲ و ۳ معرفی گردیدند) متغیر مستقل و طول زمان تحرک اسپرم، درصد اسپرمهای متحرک نسبت به اسپرمهای فاقد حرکت، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم دهی، pH پلاسمای سمینال، یونهای سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول به عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شد (تمام آزمایشات هر کدام با ۳ زیر تکرار انجام شد). تجزیه و تحلیل آماری به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد (α= ۰/۰۵) و توسط آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS۱۱/۵ انجام گردید. در تمام متن اختلاف یا تغییر یر معنی دار معادل است با ($P < 0.05$)

نتایج

دمای هوا و دمای آب به ترتیب در بهمن (۱۰ و۱۱ درجه سانتی گراد) و اسفند ۱۳۸۷ (۱۱ و۱۲ درجه سانتی گراد) و فروردین ۱۳۸۸ (۱۵و۱۴ درجه سانتی گراد) بود. طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی ماهی کلمه اختلاف معنی‌دار داشت. همچنین میانگین تراکم اسپرم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌دار داشت، اما حجم اسپرم دهی و اسپرماتوکریت در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین

www.SID.ir

Archive of SID

ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری نداشت. یون پتاسیم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه دارای اختلاف معنی‌دار بود، همچنین یون کلسیم، منیزیم و pH نیز در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داریداشت. اما یونهای سدیم، گلوکز، پروتئین کل و کلسترول پلاسمای سمینال در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری نداشت.

جدول ۱- مقایسه برخی پارامترهای اسپرم شناختی سمن (SD ± میانگین) در ابتدا(۱۵ بهمن ماه)، میانه(۱۳ اسفند ماه) و انتهای (۱۹ فروردین ماه) زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه طبق روش دانکن (n = ۱۰)

تیمار	تیمار ۱ (۱۵ بهمن ماه)	تیمار ۲ (۱۳ اسفند ماه)	تیمار ۳ (۱۹ فروردین)
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۳۷/۴۰ ± ۳/۸۹ c	۵۶/ ۸۰ ± ۳/۳۹ a	۴۸/ ۵۰ ± ۴/۴۴ b
اسپرم متحرک (٪)	۶۵/۷۰ ± ۶/۴۴	۸۶/۷ ± ۸ /۱۳ a	۷۵ ± ۵/۹۶ b
اسپرماتوکریت (٪)	۶۲ ± ۷/۱۲	۶۶/۵۲ ± ۸/۱۳	۵۹/۰۱ ± ۲/۰۸
تراکم اسپرم ($ml\times10^9$)	۱/۵۲ ± ۰ /۱۸ ab	۱/۵۶ ± ۰/۰۱۶ a	۱/۶ ۳ ± ۰/۰۴ c
حجم اسپرم (میلی لیتر)	۰/ ۷۳ ± ۰/۹۳	۰/۳۴ ± ۰/۲۰	۰/۴۵ ± ۰/۵۷

حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P <۰/۰۵) بین گروه‌ها می‌باشد

جدول ۲- مقایسه مقادیر برخی پارامترهای بیوشیمیایی سمن در ابتدا (۱۵ بهمن ماه)، میانه (۱۳ اسفند ماه) و انتهای (۱۹ فروردین ماه) زمان‌های مهاجرت (SD ± میانگین) تولید مثلی مولدین ماهی کلمه طبق روش دانکن (n=10)

تیمار	تیمار ۱ (۱۵ بهمن ماه)	تیمار ۲ (۱۳ اسفند ماه)	تیمار ۳ (۱۹ فروردین)
سدیم (میلی مول در لیتر)	۲۰۲/۰۷ ± ۲/۱۰	۲۰۱ ± ۳/۰۱	۲۰۷۰ ± ۳/۰۱
پتاسیم (میلی مول در لیتر)	۳/۴۴ ± ۴/۸۱ a	۲۳/۹۶ ± ۱/۵۵ b	۲۳/۷۳ ± ۳/۳۳ b
کلسیم (میلی مول در لیتر)	۱۰/۲۹ ± ۰/۵۶ c	۱۲/۳۱ ± ۰/۷۰ b	۱۴/۲۷± 0/34 a
منیزیم (میلی مول در لیتر)	۲۰/۹۶ ± ۰/۵۶ b	۴/۰۵ ±۰ /۸۱a	۲/۴ ± ۰/۲۵ b
pH	۷/۴۵ ±۰/۰۷	b۱۴/۷/۶ ± ۰	۷۰/۹۵ ± ۰/۰۷ a
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۴/۹۵ ± ۰/۷۱	۴/۳۰ ± ۰/۱۲	۴/۹۵ ± ۰/۴۵
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	۴/۹۵ ± ۰/۷۴	۲/۶۷ ± ۰/۷۹	۴/۹۵ ± ۰/۴۵
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۷/۶۵ ± ۰/۳۹	۲۶/۴۵ ± ۲/۳۷	۲۵/۲۱ ± ۰/۷۱

حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار(P <۰/۰۵) بین گروه‌ها می‌باشد

بحث و نتیجه‌گیری

اسپرم ماهیان در گونه‌های مختلف از لحاظ شروع حرکت اسپرم (Cosson *et al.*,1995 ; Morisawa 1985) طول دوره تحرک اسپرم (Billard 1987 ; Billard and Cosson 1992) و الگوی حرکتی اسپرم (Ravinder 1997*et al.*, ;Bitano and Omoto 1992) با یکدیگر متفاوت می باشند. در این تحقیق طول دوره تحرک اسپرم و درصد اسپرمهای متحرک در تیمار۲ بیشتر از تیمارهای ۱ و ۳ بود به عبارت دیگر پارامترهای ذکر شده در میانه زمان مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه (تیمار ۲) بیشتر از زمان ابتدایی (تیمار ۱) و انتهایی مهاجرت تولید مثلی (تیمار ۳) بود. از آنجایی که فاکتورهای فوق از پارامترهای کیفی اسپرم می‌باشند لذا می‌توان گفت کیفیت اسپرم در تیمار ۲ مناسب‌تر است. در

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه‌ای کـه روی مـاهی کـاد (*Gadus morhua*) صـورت گرفته درصد اسپرم‌های متحرک در ابتدا، میانـه و انتهـای زمـان مهـاجرت ایـن گونـه بـه ترتیـب ۱۹ SD ± ۴۳، ۲۵±۵۲، ۱۵±۴۱ بود کـه اخـتلاف معنـی‌دارینهـا وجـود نداشت و در زمان میانی مهاجرت تولید مثلـی ایـن گونـه بیشتر از ابتدا و انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی بود *et al*., 2005) Suquet). اسـپرماتوکریت و تـراکم اسـپرم عموماً بـرای ارزیـابی کیفیـت اسـپرم در مـاهی اسـتفاده می‌شـوند (Rurangwa *et al*., 2004). در تحقیـق حاضـر اسپرماتوکریت و تـراکم اسـپرم در میانـه زمـان مهـاجرت تولید مثلی بیشتر از زمان‌های ابتدایی و انتهایی مهـاجرت تولید مثلی بود در حالیکه در مطالعات دیگـر روی مـاهی کاد درصد اسپرماتوکریت در زمـان‌هـای مهـاجرت تولیـد مثلی این گونه اختلاف معنی‌داریداشت اما تـراکم اسـپرم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی اختلاف معنی‌داریداشت و در زمان میانی مهاجرت تولید مثلی مـاهی کـاد، تـراکم اسپرم بـالا بـود(Suquet *et al*., 2005 ؛ Rouxel *et al*., 2008). به طـور کلـی اسـپرماتوکریت و تـراکم اسـپرم در مـایع سـمینال بـرای ارزیـابی کیفیـت اسـپرم اسـتفاده مـی‌شـوند (Rurangwa *et al*., 2004). اسـپرماتوکریت و ویسکوزیته میلت در بین خود ماهیان نر وبین گونـه‌هـا و همچنـــین در فـــصل تکثیـــر بـــسیار متفـــاوت اســـت (Piironen1985; Munkittrick and Moccia 1987 ; Christ *et al*., 1996; Patkin 1999 *et al*.,). در مطالعه حاضر غلظت اسپرماتوزوآ در زمان‌هـای مهـاجرت تولیـد مثلی ماهی کلمه کاهش معنی‌داری داشت که با تحقیـق (Rurangwa *et al*., 2004) همخوانی داشت. آنها گزارش کردند غلظت اسـپرماتوزوآ در قـزل آلای رنگـین کمـان و ماهی کپور با نزدیک شـدن بـه انتهـای فـصل تخمریـزی کـاهش مـی یابـد. در کپـور معمـولی *Cyprinus carpio* (Lubzens 1997 *et al*., ;Christ *et al*., 1996) و در ماهی خاویـــاری دریاچـــه‌ای *Acipenser fulvesccens* درصـــد اسپرماتوکریت از سـالی بـه سـال دیگـر تغییـر مـی کنـد (Toth *et al*., 1997). کـم شـدن حجـم سـمن یکـی از دلایل تغییر غلظت های یـونی در کپـور معمـولی و قـزل آلای رنگین کمان *Onchorhynchus mykiss* طـی فـصل تخمریـزی مـی‌باشـد (Morisawa *et al*., 1997). در مطالعه حاضر بین حجم اسـپرم در زمـان‌هـای مهـاجرت تولید مثلی مولـدین اخـتلاف معنـی‌داری وجـود نداشـت (جدول ۱) و در ابتدای فصل افـزایش یافتـه و سـپس بـه طرف پایـان فـصل تکثیـر کـاهش مـی یابـد. بـا مطالعـه ترکیبات پلاسـمای سـمینال و اسـمولاریته آن اطلاعـاتی درباره مکانیسم تنظیم کنندگی رفتار و تحـرک اسـپرم را متوجه خواهیم شـد (Alavi 2006 Ciereszko ;2000). and Cosson فاکتورهای محیط خارج ممکن است بر روی کیفیت و فرایند دوره تحرک موثر باشد. فاکتورهایی مانند pH و یونهای موجود در پلاسمای سـمینال ممکـن اسـت غشای سلول را پلاریـزه و باعـث تحریـک حرکـت اسـپرم شـوند (1999) Morisawa. pH یکـی پارامترهـای مهـم فعال کننـده اسـپرم در ماهیـان مختلـف اسـت کـه روی قابلیت لقاح اسپرم تاثیر می گذارد Billard *et al*., 1995 (b). pH درون سلولی و خارج سلولی مانند ترکیبات یونی محلولهای فعال کننده روی شـروع و طـول دوره حرکتـی اسپرم تاثیر گذارند (Marian *et al*.,1997). گزارش شـده که pH به عنوان یکـی از عوامـل اصـلی تحریـک کننـده حرکت اسپرم در ماهیـان اسـت (Billard *et al*., 1995). اپتیمم حرکت اسپرم در کپور بین pH ۸-۷ (Cosson *et al*., 1999) گزارش شده است. در مطالعـه حاضـر میـزان pH در انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی (تیمار۳) بیشتر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی بود (تیمارهای ۱و۲). در مطالعه (Suquet *et al*., 2005) میزان pH در انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی ماهی کاد بیـشتر از سـایر زمـان‌هـای مهاجرت تولید مثلی این گونه گزارش شد که بـا تحقیـق حاضر همخوانی داشت .ترکیبات پلاسمای سمینال تـاثیر بسیار مهمی بر ماهیانی که دارای لقـاح خـارجی‌انـد دارد Morisawa and Suzuki (1980). همچنین ممکن است ترکیبات یونی در فصل تکثیـر تغیـر کنـد ,.Alavi *et al*) (2006. با افزایش بـیش از حـد یـون سـدیم طـول دوره تحرک و درصد اسپرماتوزوآی متحرک کاهش مـی یابـد (Morisawa *et al*., 1983). یـون سـدیم یکـی از یونهـای غالب در پلاسمای سمینال اسـت (Alavi *et al*., 2006) در این تحقیق بین غلظتهای یون سدیم در زمان‌های مهاجرت

www.SID.ir

Archive of SID

تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری‌وجود نداشت. در حالیکه غلظت یون سدیم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی ماهی کاد اختلاف معنی‌داری‌داشت و غلظت یون سدیم در ابتدای زمان مهاجرت تولید مثلی ماهی کاد پایین تر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی اینگونه گزارش شد که با تحقیق حاضر همخوانی نداشت. یون پتاسیم در نگه داری اسپرماتوزوآ در حالت ساکن نقش دارد Bayanes (1981) . مطالعات اخیر نشان داده که دامنه بازدارنگی تحرک اسپرم بوسیله یون پتاسیم از ابتدا تا پایان دوره تکثیر تغییر می کند، درصد بالایی از اسپرم ها حتی در حضور غلظت های بالایی از یون پتاسیم (۴۰و۸۰ میلی مول) قادر به حرکت هستند Billard and Cosson (1992). اختلاف غلظت یون پتاسیم بین آب و پلاسمای سمینال آغاز کننده حرکت اسپرم است Morisawa (1983). در این مطالعه نشان داده شده که یون پتاسیم در ابتدای فصل افزایش و سپس به تدریج در پایان فصل کاهش می یابد. Suzuki and Morisawa (1983a) گزارش کردند که یون پتاسیم عامل مناسبی برای بازدارندگی حرکت اسپرم در مایع سمینال است. یون پتاسیم تحرکت اسپرم سرعت حرکت را در ماهی کپور افزایش می دهد (Billard and Cosson; 1983 Morisawa *et al*., 1992) به عبارت بهتر می توان گفت که غلظت یون پتاسیم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی متغیر است که با تحقیق (Alavi *et al*., 2006) همخوانی داشت. کاتیون‌ها (اغلب دو ظرفیتی ها مانند کلسیم) اثر آنتاگونیستی برای جلوگیری از تاثیر یون پتاسیم بر تحرک اسپرم دارند (Alavi *et al*., 2006). مطالعات متعددی نقش میلی مولار کلسیم را در افزایش پارامترهای حرکتی اسپرم، که شامل کل دوره تحرک، درصد اسپرم های متحرک و سرعت حرکت اسپرم نشان داده ا ند (Cosson *et al*., 2004). بعضی از مطالعات در ماهی کپور نشان داد که جلوگیری از ورود یون کلسیم ولتاژ بلوک کننده‌های کانال کلسیمی نتیجه ان بازدازندگی از کل حرکت اسپرم می‌باشد Krasznai .(2000) طی این بررسی غلظت یون کلسیم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری داشت بطوریکه در انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی (جدول ۲) بیشتر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی بود. اما در مطالعات صورت گرفته توسط *et al*., (Suquet 2005) غلظت یون کلسیم در میانه زمان مهاجرت ماهی کاد بیشتر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی این گونه بود. اطلاعات کمی درباره اثر یونهای منیزیم روی حرکت اسپرم ماهیان استخوانی و تاس ماهیان وجود دارد. تحقیقات صورت پذیرفته روی مکانیزمهای داخل سلولی حرکت اسپرم در ماهیان استخوانی بازگو کننده نقش مهم و کلیدی یون منیزیم در شروع فعالیت حرکت اسپرم ماهیان استخوانی است (Cosson *et al*., 1999). با مطالعه و تحقیق حاضر مشخص گردید (جدول ۲) که غلظت یون منیزیم در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین اختلاف معنی‌داری داشت. Alavi and Cosson (2005) نشان دادند که در قره برون با وجود ۱۰ میلی مول منیزیم بیشترین تحرک و درصد اسپرم های متحرک وجود دارد. Scheuring (1925) گزارش داد که یونها مانند سدیم، کلسیم و منیزیم اثر بازدارندگی یون پتاسیم را خنثی کرده و کاتیونهای دو ظرفیتی نسبت به سدیم بسیار مؤثرترند. تاثیر یونهای پلاسمای سمینال در حفظ تحرک اسپرم خصوصا یونهای منیزیم، سدیم، و pH نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد. وجود گلوکز در پلاسمای سمینال مرتبط با تقاضای انرژی بیضه‌ها در طول دوره اسپرماتوژنزیز یا برای سنتز لیپید در اسپرماتوزوآ است (Soengas *et al*., 1993). (Secer *et al*., 2004) همبستگی معنی‌داری ($P<0/05$) بین گلوکز و طول دوره تحرک اسپرم در قزل آلای رنگین کمان گزارش نمودند. در تحقیق حاضر مشخص گردید بین گلوکز در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). White and Macleod (1963) بر نقش حفاظتی پروتئین اشاره داشتند. (Bozkurt *et al*., 2006) نشان دادند که مقدار پروتئین بالا (SD ۹.۴۲±۳ گرم در دسی لیتر) برای سمن قزل آلای قهوه‌ای ضروری است. همچنین (*et al*., Secer 2004)گزارش کردند که همبستگی معنی‌داری‌بین سطوحی از پروتئین و یونهای پتاسیم و کلسیم وجود دارد

www.SID.ir

Archive of SID

که به طور قابل توجهی بر حرکت اسپرم اثر گذار است.در این تحقیق اختلاف معنی‌داری بین سطوح پروتئین در طی دوره تولید مثل وجود نداشت . مطابق نتایج (1994) Piironen لیپید های موجود در پلاسمای سمینال با متابولیسم اسپرماتوزوآ مرتبط است. کلسترول در پلاسمای سمینال ماهیان آب شیرین وجود دارد (Billard *et al*., 1995) اما اطلاعات کمی درباره آن موجود است. کلسترول ممکن است اثری محافظتی در برابر تغیرات محیطی (بخصوص درجه حرارت) زمانیکه حجم سمن افزایش می‌یابد، داشته باشد (Secer *et al*., 2004). همچنین این دانشمندان نشان دادند که در قزل آلا همبستگی واضحی بین کلسترول و دوره تحرک اسپرم وجود دارد. در مطالعه حاضر (جدول ٢) بین میزان کلسترول در زمان‌های مهاجرت تولید مثلی مولدین ماهی کلمه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ونشان داده شد که غلظت کلسترول در ابتدای فصل افزایش و سپس در انتهای فصل کاهش می یابد. همچنین پارامترهای کیفی اسپرم از جمله اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، اسمولاریتی، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرمهای متحرک مستقیما روی توانایی لقاح اسپرم موثرند Rurangwa *et al*., (2004). با توجه به مواردی که بیان شد نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در ماهی کلمه مهاجر به مصب گرگانرود پارامترهای اسپرم شناختی نظیر طول دوره تحرک اسپرم، درصد اسپرمهای متحرک، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم در میانه زمان مهاجرت تولید مثلی به طور معنی‌داریبیشتر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی بود. پارامترهای بیوشیمیائی نظیر یونهای پتاسیم و کلسیم به ترتیب در سمن ماهی کلمه به طور معنی‌داری در ابتدا و انتهای زمان مهاجرت تولید مثلی بیشتر از سایر زمان‌های مهاجرت تولید مثلی ماهی کلمه اندازه‌گیری شد. نتایج کلی تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اسپرم ماهی کلمه به لحاظ پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی در میانه فصل بهتر از دوره‌های دیگر است . لذا به کارشناسان مربوطه پیشنهاد می‌شود که در راستای توسعه روش‌های کنترل تولید مثل اخلالفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مشاهده شده را برای توسعه روش های کنترل تولید مثل و نگهداری اسپرم مورد استفاده قرار دهند.

تشکر و قدردانی

از مسئولین و کارشناسان محترم آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی گرگان به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایهای لازم، تشکر و قدردانی می گردد.

References

- Alavi, S.M.H., and Cosson, J., 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*). Aquaculture Research. 36, 841-850.

- Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes (II) Effects of ions and osmolality، a review، Cell Biolology International. 30, 1-14.

- Bayanes, S.M., Scott, A.P., and Dawson, A.P., 1981. Rainbow trout, *(salmo gairdneri*), spermatozoa: Effect of cations and PH on motility. Journal of Fish Biology 19, 259-267.

- Billard، R. 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Aquaculture 14, 187-198.

- Billard, R., and Cosson, J., 1990. The energetic of fish sperm. In: control of sperm motility: biological and clinical aspects. CRS press Boca Raton. pp. 153-173.

- Billard, R., and Cosson, J., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. Journal Experimental of Zoology 261, 122– 131.

- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., and Suquet, M., 1995a. Sperm physiology and quality In: Bromage (N., Roberts R., Eds), Brood stock management and egg and larvae quality, Oxford: Blackwell, pp. 25-52.

www.SID.ir

Archive of SID

- Billard، R., Cosson, J., Perchec G., and Linhart, O., 1995b. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture, 124, 95-112.

- Boitano، S. and Omoto, C.K., 1992. Trout sperm swimming patterns and role of intracellular Ca2 C. Cell Motile Cytoskeleton 21, 74-82

- Bozkurt, Y. Secer, S., Bukan, N., Akcay E., and Tekin, N., 2006. Relationship between condition, physiological and Biochemical parameters in brown trout (*salmo trutta fario*) sperm. Pakistan Journal of Biological Science 9, 940-944.

- Buyukhatipoglu, S. and Holtz, W., 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. Aquaculture, 37, 63-71.

- Chauvaud, l., Cosson, J., Suquet, M., and Billard, R.,1995. Sperm motility in turbot (*scophtalmus maximus*): initiation of movment and change with time of spawning characteristics. Environmental Biology of Fishes 43, 341-349.

- Christ, S.A., Toth, G.P., McCarthy, H.W., Torsella, J.A., and Smith, K.M., 1996. Monthly variations in sperm motility in common carp assessed using computer- assisted sperm analysis (CASA). Journal of Fish Biology 48, 1210-1222.

- Coad, B.W., 1980. Environmental change and its impact on the fresh water fishes of Iran. Biological Conservation 10, 51-80,

Perch using spectrophotometric technique. Aquaculture 109, 367-373.

- Ciereszko, A., and Dabrowski, K., 1994. Relationship between Biochemical constituents of fish semen and fertility. The effect of short term storage, Fish Physiology and Biochemistry 12**,** 357-367.

- Ciereszko, A. Glogowski, J., and Dabrowski, K., 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes In: Cryopreservation in aquatic species (Tiersch TR.Mazik PM. Editors), Louisiana WAS: Baton Rouge, pp. 20-48.

- Cosson, J., Billard, R. Cibert, C., Dreanno, C., and Suquet, M., 1999.Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In: Gagnon C, (editor). The male gamete: from basic to clinical applications. Vienna, IL, Caches Rive Press, pp. 161-186.

- Cosson, J., 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. Aquaculture International12, 69-85,

- Fitzpatrick, J.L., Henr, J.C., Leily, N.R., and Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masulinized Coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). Aquaculture 249, 459-468.

- Hute, M. and Timmermans, J.A., 1986.Textbook of fish culture، 2nd Ed breeding and cultivation of fish, Fishing News: Farnham. Breeding and Cultivation of Fish, 456 pp.

- Krasznai, Z. T., Marian, H., Izumi, S., Damjanovich, L., Balkay, L., Tron, M., and Morisawa, M., 2000. membrane hyperpolarisation removes inactivation of Ca^{2+} channel leading to Ca^{2+} influx and initiation of sperm motility in the common carp. Biophysics 97**,** 2052-2067.

- Kiabi, B.H., Abdoli, A., and Naderi, M., 1999a. Status of the fish fauna in the south Caspian basin of Iran. Journal Zoology Middle East 18: 57-65

- Kruger, J.C., Smit, D.W., VanVuren J.H.J., and Ferreira, J.T., 1984. Some chemical and physical characteristics of the s4men of (*Cyprinus carpio* L.) and *(Oreochromis mossambicus*). Journal of Fish Biology 24, 263-272.

- Lahnsteiner, F., Patzner, R.A., and Weismann, T., 1993. Energy resources of spermatozoa of the Rainbow trout, (*Onchorhynchus mykiss*). Reproduction Nutrition Development, 33**,** 349-360.

- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., and Patzner, R.A., 1996a. Motility of spermatozoa *(Alburnus alburnus*) and its Relationship to seminal plasma composition and sperm metabolis.، Fish physiology and Biochemistry 15**,** 167-179.

- Lubzens, E., Daube, N., Pekarsky, I., Magnus, Y., Cohe, A., Yosefovich, V., and Feigin, P.,1997. Carp (*Cyprinus carpio L.*) spermatozoa cryobanks-strategies in research and application. Aquaculture, 155**,** 13-30.

- Marian, T., Krasznai, Z., Balkay, L., Balazs, M., Emri, M., and Tron, L., 1997. Role of extracellular and intracellular pH in carp sperm motility and modifications by hyperosmosis or regulation of the Na^+ /H^+ exchange. Cytometry, 27**,** 374-382.

www.SID.ir

Archive of SID

- Morisawa, M., Hirano, T., and Suzuki, K., 1979. Changes in blood and seminal plasma composition of the mature salmon, *O. keta*, during adaptation. Comparative Biochemistry and Physiology, 64**,** 325–329.

- Morisawa, M., and Suzuki, K.,1980. Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleost. Science, 201**,** 1145-1147.

- Morisawa, M., Oda, S., Yshida, M., and Takai, H.,1999. Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidian. In: Gagnon.C. (Ed), the male gamete: from basic knowledge to clinical Application. Veina USA: Catch river press, pp. 149-160.

- Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., and Yasuda, K., 1983a. Effect of osmolality and potassium on spermatozoan motility of fresh water salmonidae fishes. Journal Experimental of Biology, 107**,** 105-113.

- Morisawa, M., Okuno, M., Suzuki, K., Morisawa, S., and Ishida, K., 1983b. Initiation of sperm motility in teleosts. Journal Submicrose Cytology, 15**,** 61-65.

- Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., and Yasuda, K., 1983c. Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from fresh water cyprinid. Journal Experimental of Biology, 107**,** 95-103.

- Morisawa, M., 1985. Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleost. Zoological Science 2**,** 605-615.

- Munkittrick, K.R., and Moccia, R.D., 1987. Seasonal change in the quality of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. Aquaculture, 64, 147-156.

- Patkin, A., Ferguson, M.M., and Tripple, E.A., 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning period. Aquaculture, 170, 349-358.

- Petr, T. 1987. Observation on prospects for further inland fisheries development in Iran. FAO corporate document repository, project reports, 77 p.

- Piironen, J., 1985. Variation in the properties of milt from the finish landlocked salmon (*Salmo salar* L. Sebago Girard) during the spawning season. Aquaculture, 48, 337-350.

- Piironen, J., 1994. Composition and cryopreservation sperm from some Finnish fresh water teleost fish. Finnish Fish Research 15, 27-48.

- Ravinder, K., Nasaruddin,K., Majumdar, K.C., and Shivaji, S., 1997. Computerized analysis of motility, motility pattern and motility parameters of spermatozoa of carp following short term storage of semen. Journal of Fish Biology, 50, 1309-1328.

- Rouxel, C., Suquet, M., Cosson, J., Severe, A.L., Quemener, F., and Fauvel, C., 2008. Changes in Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) sperm quality during the spawning season. Aquaculture Research, 39, 434-440

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. Aquaculture, 234, 1-28.

- Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., Bukan, N., and Akcay, E., 2004. Correlation between biochemical and Spermatological parameters in rainbow trout, (*Onchorhynchus mykiss*) semen. Israeli Journal Aquaculture (Bamidgeh), 9, 274-280.

- Scheuring, L., 1925. Biologische und physiologische untersuchungen am Forellen-sperma. Arch Hydrobiology, 4, 187-318.

- Suquet, M. C., Rouel, A., Severe, L., Quemener, F., and Fauvel, C., 2005. Changes Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) sperm quality with time. European Aquaculture Society, 36, 1-3.

- Soengas, J.L., Sanmartin, B. P., Barciella, M., Aldegunda, A., and Rozas, G., 1993. change in carbohydrate metabolism in domestical Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) related to spermatogenesis. Comparative Biochemistry and Physiology,150, 665-671.

- Toth, GP. A. Ciereszko, SA., Christ and Dabrowski, K.,1997. Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon, Acipenser fluvescens: activation and inhibition conditions. Aquaculture, 154, 337-348.

- Wang, Z., and Crim, L.W., 1997. Seasonal change in the biochemistry of seminal plasma and sperm motility in the ocean pout (*Macrozoarces americanus*). Fish physiology and biochemistry 16, 77-83.

- White, I., and Macleod, J., 1963. Composition and physiology of semen. In: Hartman, C.G. (Eds), Mechanism concerned with conception. London: Pergamon press, pp 135-172.

www.SID.ir

Archive of SID

Spermatological and biochemical parameters of semen in roach (*Rutilus rutilus caspicus*) during spawning migration times

A. Golpour[*1], M. R. Imanpoor[2], S. A. Hosseini[3] and S. Sharbati[3]

[1] M.Sc. Student of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I.R.Iran

[2] Associate Prof., Department of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I.R. Iran

[3] Assistant Prof., Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, I.R. Iran

(Received: 31 January 2010, Accepted: 08 March 2011)

Abstract

Effects of spawning migration times of roach (*Rutilus rutilus caspicus*) on some spermatological (sperm movement duration, percentage of motile spermatozoa, spermatocrit, sperm density and semen volume) and biochemical parameters (Na^+, K^+, Ca^{+2}, Mg^{+2}, pH, total protein glucose and cholesterol) were studied in Gorganrood estuary.Spawning migration times divided to 3 periods (February, March, April) and semen was collected from 10 males in each period while they are 3 years old. The results showed that percentage of motile spermatozoa, sperm movement duration and sperm density were different significantly, however spermatocrit and semen volume did not show significant differences during spawning migration times. Calcium, magnesium, potassium and pH showed significant differences between three periods but Na^+, total protein, glucose and cholesterol did not show significant differences between February, March and April. In general, specimenrs obtained in March are better than those caught in other months (February and April) in terms of spermatological and biochemical characteristics.

Keywords: Roach, migration time، Spermatological parameters، Biochemical parameters، Semen

*Corresponding author: Tel: +98 911 8077442 , Fax: +98 2245886 , E-mail: amin.golpour@gmail.com

www.SID.ir