مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد شانزدهم، شماره اول، ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

# ارتباط میان شاخص‌های پلاسمای سمینال و خصوصیات اسپرم‌شناختی در منی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

***وحید زادمجید[۱] و محمدرضا ایمانپور[۲]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

[۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۹/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲

## چکیده

در این پژوهش برخی از خصوصیات زیست‌شناسی منی شامل شاخص‌های پلاسمای منی (ترکیبات یونی و آلی) و روابط آنها با تحرک اسپرم برای ارزیابی کیفیت سمن ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) مورد مطالعه قرار گرفت. سمینال پلاسما حاوی ۵۹/۴۵±۱۵۴/۹۰ میلی‌مول در لیتر سدیم، ۶/۸۲±۲۰/۹۸ میلی‌مول در لیتر پتاسیم، ۰/۴۲±۰/۶۹ میلی‌مول در لیتر کلسیم، ۰/۳۳±۱/۵۲ میلی‌مول در لیتر منیزیم، ۰/۰۰۹±۰/۰۴۱گرم در دسی‌لیتر پروتئین، ۰/۰۰۹±۰/۰۱۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کلسترول و ۰/۰۲۲±۰/۰۵۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گلوگز بود. میزان اسپرماتوکریت ۱۱/۴۴±۵۲/۸۳ درصد، pH ۰/۳۵±۸/۸۱، طول دوره حرکت اسپرم ۲۱/۰۷±۷۲/۴۵ ثانیه، درصد اسپرم متحرک ۴/۸۳±۸۳/۴۵، تراکم اسپرم $۸/۲۰\times۱۰^{۹}$ در هر میلی‌لیتر و حجم اسپرم ۰/۸۲±۰/۴۳ میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. بین مقادیر اسپرماتوکریت با گلوکز و درصد تحرک اسپرم همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (به‌ترتیب r=۰/۷۶۵ ، r=۰/۸۳۲ و P<۰/۰۱). در صورتی‌که بین اسپرماتوکریت با طول دوره تحرک همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت (r= -۰/۶۲۵ و P<۰/۰۵). بین تراکم اسپرم با pH و یون منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (r=/۶۴۸، r=۰/۶۶۰ و P<۰/۰۵). همچنین بین یون‌های کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (r=۰/۸۰۷ و P<۰/۰۱). طبق نتایج این تحقیق رابطه معنی‌داری بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در ماهی قرمز وجود داشت.

***واژه‌های کلیدی:*** ماهی قرمز، پارامترهای بیوشیمیایی، پارامترهای اسپرم‌شناختی، مایع سمینال

## مقدمه

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) از خانواده کپور ماهیان (*Cyprinidae*) بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد (وثوق و مستجیر، ۱۹۹۵). ماهی قرمز با فرهنگ و عقاید مردم در سراسر جهان عجین شده و از نظر اقتصادی بسیار مهم می‌باشد. تکثیر و پرورش این ماهی به‌منظور تامین ماهی تزئینی سفره هفت‌سین نوروزی و نیز علاقه‌مندان به نگهداری ماهی قرمز در آکواریوم چندین سال است که رونق یافته و نیاز به آن هر سال بیشتر احساس می‌شود (ایمانپور و کمالی، ۲۰۰۶). ماهی قرمز گونه‌ای می‌باشد که به‌صورت

*- مسئول مکاتبه: zadmajid@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

گسترده در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (بجرسلیوس و همکاران، ۱۹۹۵). در صنعت آبزی‌پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم در اولویت می‌باشد این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها مؤثر می‌باشد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از مهم‌ترین مشکلات در پرورش کپور ماهیان به‌دست آوردن گامت‌های با کیفیت بالا است. با مطالعه صورت پذیرفته توسط تکین و همکاران در سال ۲۰۰۳ مشخص شد که کیفیت بالای گامت‌ها در تولید لاروهای با کیفیت مناسب در تفریخ‌گاه‌های ماهی بسیار موثر است و می‌تواند کارآیی لقاح و تکثیر مصنوعی در ماهیان را افزایش دهد. همچنین رورانگوا و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش‌های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت‌های نر و مطالعه اثر آلاینده‌های زیست محیطی روی موفقیت تکثیر در ماهیان مؤثر می‌باشد. منی[1] از اسپرماتوزا و پلاسمای منی تشکیل شده است، پلاسمای منی دارای ترکیباتی می‌باشد که بعضی از این ترکیبات از اسپرماتوزا حفاظت می‌کنند و بعضی دیگر رابط بین سیستم تولیدمثل و اسپرماتوزا هستند (موریساوا و همکاران، ۱۹۸۳؛ سیرزیکو و همکاران، ۲۰۰۰؛ آکای و همکاران، ۲۰۰۲؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵). پلاسمای منی، محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزئید به‌وجود می‌آورد که خود، توسط بیضه و لوله‌های اسپرم بر ساخته می‌شود. در پستانداران ترکیبات پلاسمای منی به‌خوبی مطالعه شده اما مطالعه روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه‌های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیرآلی (یون‌ها)، ترکیبات آلی و آنزیم می‌باشد. ترکیبات غیرآلی شامل یون‌های $K^+$, $Na^+$, $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ و... است که نقش ممانعت‌کننده و تحریک‌کننده حرکت در سلول اسپرم را به‌عهده دارند (میورا و همکاران، ۱۹۹۱؛ لانستینر وهمکاران، ۱۹۹۶). دانش شباهت تفاوت کیفی اسپرم در ماهیان نر می‌تواند در مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به‌کار رفته کمک کند. به‌همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم ماهیان نر مشخص گردد (ژکینیسکو و بیلکو، ۱۹۸۴؛ تکین و همکاران، ۲۰۰۳). برای این کار باید نشانگرهای زیستی اسپرم که به‌طور مستقیم روی توانایی لقاح موثرند، مشخص شود. این معیارها شامل اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت و چندین مؤلفه دیگر می‌باشد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طوری‌که در آزاد ماهیان جهت ارزیابی کیفیت اسپرم نسبت بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (آس و همکاران، ۱۹۹۱؛ آدریانا و همکاران، ۲۰۰۵؛ علوی و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعه خصوصیات منی برای فهم پروسه‌های بیوشیمیایی پایه که به‌موجب حرکت اسپرم انجام و عمل لقاح ایجاد می‌گردد ضروری می‌باشد (لینهارت و همکاران، ۱۹۹۱). آگاهی از ترکیبات پلاسمای منی و دیگر مایعات بیولوژیکی، می‌تواند در تولید محیط‌های نگهدارنده تخمک و رقیق‌کننده‌ها برای افزایش طول دوره نگهداری و فعالیت اسپرم مفید باشد (سکر و همکاران، ۲۰۰۴). ارتباط بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در گونه‌های اندکی از ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است (علوی و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف از این تحقیق تعیین پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیکی منی در ماهی قرمز و بررسی رابطه احتمالی بین پارامترهای فیزیکی و بیوشیمیایی با تحرک اسپرم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**مولدین و تهیه نمونه:** این تحقیق در طی اسفند ماه سال ۱۳۸۵ و فروردین، اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۸۶ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. مولدین ماهی قرمز نر ۳ ساله در ۱۵ اسفند ماه (با متوسط طول کل ۲۲- ۱۹ سانتی‌متر و با وزن متوسط ۶۶-۶۰ گرم) جهت انجام مراحل آزمایش از مراکز تکثیر ماهیان زینتی در

1- Semen or Milt

Archive of SID

www.SID.ir

استان گلستان تهیه و به سالن ونیرو دانشکده شیلات منتقل و ماهیان در حوضچه‌های ونیرو تا اوایل اردیبهشت نگهداری شدند. در نهایت هنگام مهیا شدن شرایط دمایی ۱۹ درجه سانتی‌گراد بعد از خشک‌کردن منفذ تناسلی با فشار ملایم به ناحیه شکمی از ماهیان مولد نر اسپرم‌گیری به‌عمل آمد (استوریانوو وهمکاران، ۲۰۰۶). نمونه‌های منی با دقت و بدون مخلوط شدن با آب، ادرار و خون جمع‌آوری شدند. نمونه‌های به‌دست آمده در سرنگ‌های استریل، در فلاسک محتوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. در مجموع از ۱۰ عدد ماهی نر هم‌سن نمونه‌گیری شد (سکر و همکاران، ۲۰۰۴).

**اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم‌شناختی**

**آنالیز حرکتی:** برای شروع حرکت، اسپرم با محلول فعال‌کننده (آب مقطر) به‌نسبت ۱:۲۰۰۰ رقیق شد و پارامترهای حرکتی اسپرم بلافاصله (با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی‌که ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها غیرمتحرک شدند توسط میکروسکوپ متصل به دوربین[1] ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد، در ادامه با استفاده از نرم‌افزار پریمیر[2] هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری مدت زمان حرکت اسپرم، زمان تحرک از لحظه فعال‌شدن تا زمانی‌که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری شد و مشاهدات در دمای اتاق (۲۰-۲۲ سانتی‌گراد) صورت گرفت (تورنر و مو نتگومری، ۲۰۰۲).

**اسپرماتوکریت:** برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، پس از سانتریفیوژ کردن سمن در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در۸ دقیقه در لوله‌های موئینه میکروپیپت با استفاده از هماتوکریت خوان، درصد اسپرم به پلاسمای سمینال اندازه‌گیری شد. برای این منظور در قالب ۳ تکرار در طی آزمایش، میانگین ۱۰ نمونه اسپرم به‌عنوان مقدار اسپرماتوکریت ثبت شد (فتزپاتریک و همکاران، ۲۰۰۵).

**اندازه‌گیری تراکم اسپرم:** تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق‌کردن اسپرم به‌نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست زمینه سیاه با درشت نمایی شماره ۱۰ اندازه‌گیری و با واحد $۱\times۱۰^{۹}$ در هر میلی‌لیتر سمن محاسبه شد.

**PH مایع اسپرمی:** نمونه‌های اسپرم در ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. نمونه‌ها ابتدا به‌مدت ۲ دقیقه در دور ۵۰۰۰ و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ سیگما[3] ۱۳-۱، سانتریفیوژ شدند (لینهارت و همکاران، ۱۹۹۱). در آخر بخش فوقانی عصاره به‌دست آمده در قسمت بالای ویال به درون ویال‌های پلاستیکی جدید منتقل و pH آنها به‌وسیله پی.اچ متر مدل تی- اس[4] اندازه‌گیری شد.

**ترکیبات بیوشیمیایی پلاسمای منی:** برای اندازه‌گیری کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اس، ۲۰۰۰[5] و از کیت‌های کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول (شرکت پارس آزمون) استفاده شد. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر مدل جن وی[6] استفاده شد، برای این کار ابتدا میزان جذب شعله تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف استاندارد خوانده شد و توسط نرم‌افزار Excel معادله رگرسیونی آن ترسیم و غلظت‌های سدیم و پتاسیم در پلاسمای اسپرمی محاسبه گردید (سکر و همکاران، ۲۰۰۴).

**آنالیز آماری:** داده‌های به‌دست آمده از آزمایش انجام شده (۱۰ نمونه با ۳ تکرار برای هر نمونه)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS در محیط ویندوز XP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از آماره پیرسون همبستگی آماره پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی تعیین و ارتباط میان پارامترهای به‌دست آمده توسط نرم‌افزار Excel به‌صورت نمودار نشان داده شد.

1- Stereomicroscope
2- Adobe Premeier

3- Sigma 1-13 England
4- PH-462 ,Iran, Tajhizat Sanjesh Company
5- WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK
6- Jenway pfp 7, England

Archive of SID

www.SID.ir

## نتایج

پارامترهای اسپرم‌شناختی (خصوصیات فیزیکی) و بیوشیمیایی منی ماهی قرمز در جدول‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین مقادیر اسپرماتوکریت با گلوکز و اسپرماتوکریت درصد تحرک اسپرم، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (به‌ترتیب r=۰/۷۶۵، r=۰/۸۳۲ و P<۰/۰۱). در صورتی‌که بین اسپرماتوکریت با طول دوره تحرک همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت (r=-۰/۶۲۵ و P<۰/۰۵).

همچنین جدول ۳ نشان می‌دهد که بین تراکم اسپرم با پی–اچ و یون منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (r=۰/۶۴۸، r=۰/۶۶۰ و P<۰/۰۵). از طرفی دیگر مشاهدات جدول نشان می‌دهد که بین یون‌های کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (r=۰/۸۰۷ و P<۰/۰۱). اما بین عوامل بیوشیمیایی دیگر (کلسترول، پروتئین کل) و همچنین یون‌ها با یکدیگر و عوامل اسپرم‌شناختی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ۱- برخی از پارامترهای اسپرم‌شناختی منی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*).**

| متغیرها | کمترین | بیشترین | میانگین ± انحراف معیار |
|---|---|---|---|
| پی- اچ | ۸/۲ | ۹/۴ | ۸/۸۱±/۳۵ |
| طول دوره حرکت (ثانیه) | ۱۷/۵۰ | ۹۲/۵۰ | ۷۲/۴۵±۲۱/۰۷ |
| درصداسپرم متحرک (درصد) | ۷۳/۶۸ | ۸۹/۳۱ | ۸۳/۴۵±۴/۸۳ |
| اسپرماتوکریت (درصد) | ۲۹/۱۷ | ۷۲/۴۰ | ۵۲/۸۳±۱۱/۴۴ |
| تراکم اسپرم ( $۱\times۱۰^{۹}$) | ۱/۴۶ | ۱۵/۳۳ | ۸/۲۰±۳/۷۶ |
| حجم اسپرم (میلی لیتر) | ۰/۱۵ | ۱/۶۰ | ۰/۸۲±/۴۳ |

**جدول ۲- برخی از یون‌های آلی و معدنی آنالیز شده در پلاسمای منی ماهی قرمز (*Carassius auratus*).**

| متغیرها | کمترین | بیشترین | میانگین±انحراف معیار |
|---|---|---|---|
| یون سدیم (میلی‌مول در لیتر) | ۳۹/۰۰ | ۲۴۴/۰۰ | ۱۵۴/۹۰±۵۹/۴۵ |
| یون پتاسیم (میلی‌مول در لیتر) | ۲/۸۳ | ۲۵/۷۰ | ۲۰/۹۸±۶/۸۲ |
| یون کلسیم (میلی‌مول در لیتر) | ۰/۲۴ | ۱/۴۶ | ۰/۶۹±۰/۴۲ |
| یون منیزیم (میلی‌مول در لیتر) | ۱/۰۲ | ۲/۱۷ | ۱/۵۲±۰/۳۳ |
| پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر) | /۰۲۶ | /۰۶۱ | ۰/۰۴۱±۰/۰۰۹ |
| کلسترول(میلی‌گرم در دسی‌لیتر) | /۰۲ | /۰۳۱ | ۰/۰۱۳±۰/۰۰۹ |
| گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) | /۰۱۳ | /۰۹۱ | ۰/۰۵۳±۰/۰۲۲ |

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- آمار توصیفی بین مخصوصیات اسپرم شتاخته و ترکیبات پلاسمای منی در عاملی گرمز (N=۴۰).

| متغیرها | درصد تحرک (درصد) | طول دوره تحرک (ثانیه) | تراکم اسپرم ($1\times10^{9}$) | اسپرماتوکریت (درصد) | حجم (میلی لیتر) | مالون دی آلدهید (میکرومول در لیتر) | پلاسما لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین | لیپوپروتئین |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| طول دوره تحرک | ۰/۱۸۸ | | | | | | | | | | | | | | |
| تراکم اسپرم | ۰/۴۳۳ | -۰/۴۲۲ | | | | | | | | | | | | | |
| اسپرماتوکریت | ۰/۸۳۴** | -۰/۴۵۵* | ۰/۶۴۱ | | | | | | | | | | | | |
| حجم | ۰/۴۳۳ | -۰/۱۶۵ | ۰/۲۶۹ | ۰/۴۴۰ | | | | | | | | | | | |
| سدیم | ۰/۰۱۰ | -۰/۰۴۷ | -۰/۲۹۰ | -۰/۱۲۹ | -۰/۵۵۰ | | | | | | | | | | |
| پتاسیم | -۰/۱۸۸ | -۰/۳۵۶ | -۰/۰۲۵ | ۰/۰۸۶ | ۰/۲۰۶ | -۰/۲۲۴ | | | | | | | | | |
| کلسیم | ۰/۰۲۰ | ۰/۰۳۳۶ | ۰/۰۷۷۵ | -۰/۰۲۶ | ۰/۴۰۴ | -۰/۰۱۹ | | | | | | | | | |
| منیزیم | ۰/۱۴۸ | ۰/۱۳۲ | ۰/۲۶۰* | ۰/۱۸۵ | ۰/۲۹۴ | -۰/۰۶۳ | | | | | | | | | |
| پروتئین | ۰/۴۲۹ | ۰/۰۵۱ | -۰/۰۵۸ | -۰/۰۷۸ | ۰/۴۸۸ | ۰/۲۲۸ | | | | | | | | | |
| گلوکز | ۰/۴۲۵ | -۰/۰۵۷ | ۰/۲۰۱۳ | ۰/۰۳۵** | ۰/۴۰۰ | ۰/۰۵۱ | | | | | | | | | |
| کلسترول | -۰/۲۴۸ | -۰/۴۲۶ | ۰/۰۱۷ | -۰/۱۷۱ | -۰/۰۷۰ | ۰/۱۱۹ | | | | | | | | | |
| pH | ۰/۰۱۶ | -۰/۱۸۸ | ۰/۲۶۴* | ۰/۱۲۹ | ۰/۱۵۲ | -۰/۴۵۶ | | | | | | | | | |

**.همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار می باشد.

*.همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار می باشد.

www.SID.ir

## بحث

مطالعه روی پارامترهای پلاسمای سمینال به دو دلیل امری مهم و ضروری می‌باشد، نخست این که کسب دانش در رابطه با تأثیر پارامترهای بیوشیمیایی بر تکامل و بلوغ اسپرم در طی فصل تولیدمثل و نحوه آغاز حرکت اسپرم بعد از خروج از مجرای اسپرم مهم است. دوم این که ارزیابی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی اسپرم جهت موفقیت در امر لقاح مصنوعی ضروری می‌باشد (علوی و همکاران، ۲۰۰۷). اسپرم بیشتر گونه‌های ماهیان در بیضه و پلاسمای سمینال بی‌حرکت می‌باشد و حرکت اسپرم بعد از آزاد شدن در محیط آبی در طی تکثیر طبیعی و یا در حین تکثیر مصنوعی بعد از مخلوط شدن با رقیق‌کننده القاء می‌شود. روابط آشکاری بین ترکیب پلاسمای سمینال، اسمولاریته و مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان وجود دارد. پارامترهای مختلفی مثل غلظت یون‌ها (پتاسیم، سدیم، و کلسیم) فشار اسمزی، pH ، دما و نسبت رقیق‌سازی روی حرکت اسپرم مؤثرند (علوی و کوسون، ۲۰۰۵).

در این تحقیق مشاهده شد که غلظت یون‌های تک‌ظرفیتی (سدیم و پتاسیم) از غلظت یون‌های دو ظرفیتی (کلسیم و منیزیم) در پلاسمای اسپرمی ماهی قرمز بالاتر بود ($P<۰/۰۱$) که از این نظر با مرور انجام شده روی کپور ماهیان، آزاد ماهیان، ماهیان خاویاری و دریایی توسط علوی و کوسون (۲۰۰۶) هم‌خوانی داشت. موریساوا و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که غلظت پتاسیمی که جهت جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است بستگی به غلظت یون سدیم دارد. اگر غلظت سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بیشتری برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (جدول ۲)، همچنین در صورت افزایش بیش از حد یون سدیم طول تحرک و تعداد اسپرماتوزوآی متحرک کاهش خواهد یافت به‌خصوص زمانی که میزان آن بین ۱۵۰-۰ میلی‌مول در لیتر باشد که در این تحقیق میزان یون سدیم ۱۵۴/۹۰±۵۹/۴۵ میلی‌مول در لیتر محاسبه شد. در این مطالعه درصد اسپرم‌های متحرک در حد بالایی اندازه‌گیری شد (۸۳/۴۵±۴/۸۳) درصد، بالابودن درصد اسپرم‌های متحرک در نتیجه بالابودن یون‌های سدیم و پتاسیم می‌باشد که می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت بالای اسپرم ماهی قرمز باشد، به‌طوری‌که سکر و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند بین درصد اسپرم‌های متحرک با یون‌های سدیم و پتاسیم ارتباط مستقیمی وجود دارد، به‌گونه‌ای که پایین بودن غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم باعث کاهش درصد اسپرم‌های متحرک در نتیجه کاهش کیفیت اسپرم می‌شود. در این مطالعه بین کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ($r=۰/۸۰۷$ و $P<۰/۰۱$). که با مطالعات صورت گرفته توسط آکای و همکاران (۲۰۰۲) هم‌خوانی دارد. در این بررسی میزان یون کلسیم ۰/۶۹±۰/۴۲ میلی‌مول در لیتر محاسبه شد که به‌طور قابل ملاحظه‌ای از یون کلسیم مایع سمینال کپور معمولی (۱۰/۶۹±۲/۷۱ میلی‌مول در لیتر) پایین‌تر بود، که با مرور صورت گرفته توسط علوی و کوسون (۲۰۰۵) هم‌خوانی داشت، همچنین این محققان گزارش کردند که غلظت بالای یون کلسیم الگوی حرکت اسپرماتوزوآ را تا حدودی تغییر می‌دهد به‌گونه‌ای که با حضور این یون به‌مقدار زیاد قطر مسیر حرکت اسپرم کمتر شده اما مدت زمان کل حرکت افزایش می‌یابد، از طرفی دیگر افزایش کلسیم درون سلولی در نتیجه افزایش کلیسم خارج سلولی می‌باشد که این پدیده جهت شروع حرکت آغازین اسپرم امری ضروری می‌باشد. pH مایع سمینال در ماهی قرمز از ۸/۲ تا ۹/۴ اندازه‌گیری شد، که از pH مایع سمینال ماهی سفید و کپور معمولی (۷/۵۳-۷/۵۸) همچنین قزل‌آلای رنگین‌کمان (۶/۵-۷) بالاتر بود. (ژکینیسکو و بیلکو، ۱۹۸۴؛ سکر وهمکاران، ۲۰۰۴). در این تحقیق بین pH مایع سمینال و تراکم اسپرم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ($r=۰/۶۴۸$ و $p<۰/۰۵$). از طرف دیگر لانستینر و همکاران (۱۹۹۸)، نشان دادند که بین pH با درصد اسپرم‌های متحرک همبستگی معنی‌داری وجود دارد. در مجموع ماهیان مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نسبت به pH از خود نشان می‌دهند، pH مهم‌ترین مشخصه پلاسمای سمینال می‌باشد که روی پتانسیل حرکتی در اسپرم کپور ماهیان تأثیر می‌گذارد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵). طبق تحقیقات انجام شده در گونه

Archive of SID

www.SID.ir

*Oncorhynchus masou* مشخص شد که هورمون ۱۷ آلفا-۲۰ بتا- دی هیدروکسی-۴ پرگنن- ۳ و ۱[1] باعث افزایش pH در مجرای اسپرم بر می‌شود که در نهایت موجب افزایش آدنوزین منو فسفات در اسپرم شده و زمینه شروع حرکت اسپرم را فراهم می‌نماید (میورا و همکاران، ۱۹۹۱). رابطه بین ترکیبات پلاسمای منی و خصوصیات حرکتی اسپرم در گونه‌های محدودی مورد بررسی قرار گرفته است. لانستینر و همکاران (۱۹۹۶)، رابطه بین حرکت اسپرم و ترکیبات پلاسمای منی در ماهی‌خیاطه (*Alburnus alburnus*) را گزارش و پشنهاد کردند که این رابطه ممکن است دلیلی بر این باشد که ترکیبات پلاسمای منی می‌تواند روی حرکت اسپرم مؤثر باشد. همچنین به این نتیجه رسیدند که یون سدیم رابطه مثبت و پتاسیم تأثیر منفی روی حرکت اسپرم در این گونه دارد. در این تحقیق بین طول دوره حرکت با اسپرماتوکریت همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد ($r = -0/625$ و $P<0/05$). از طرفی دیگر بین اسپرماتوکریت با درصد تحرک اسپرم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ($r = 0/832$ و $P<0/01$). همچنین مطالعات آس و همکاران (۱۹۹۱)، در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Atlantic salmon*) نشان داد، در این گونه، بین اسپرماتوکریت با تراکم اسپرم همبستگی مثبتی وجود دارد. غلظت اسپرماتوکریت در این تحقیق ۵۲/۸۳ درصد محاسبه شد که از غلظت اسپرماتوکریت ماهی آزاد اقیانوس اطلس (۴۵/۰ درصد) بالاتر بود. تغییرات غلظت اسپرماتوکریت بستگی به فصل دارد به‌طوری‌که ماهیانی که تولید مثل آنها در بهار صورت می‌گیرد اسپرماتوکریت آنها در حد بالایی قرار دارد (آدریانا و همکاران، ۲۰۰۵). اطلاعات در مورد ترکیبات آلی اسپرم ماهیان محدود می‌باشد، به‌گونه‌ای که سکر و همکاران (۲۰۰۴)، گزارش کردند نقش پروتئین، گلوکز و کلسترول در اسپرم ماهیان ناشناخته می‌باشد. اما همین اطلاعات محدود در این زمینه نشان می‌دهد که پروتئین و کلسترول می‌توانند نقش حفاظتی روی اسپرم داشته باشد، به‌خصوص در مورد تغییرات دمایی، زمانی که اسپرم از مجرای اسپرم بر وارد محیط بیرونی می‌شود این نقش حفاظتی بارزتر می‌گردد. در صورتی‌که گلوکز به‌عنوان یک منبع انرژی‌زا برای فعالیت پذیرنده‌ها[2] در طی فرایند اسپرم‌سازی می‌تواند نقش داشته باشد. میزان پروتئین، گلوکز و کلسترول در این تحقیق در حد پایینی اندازه‌گیری شد که با تحقیقات سکر و همکاران (۲۰۰۴)، هم‌خوانی دارد. در این تحقیق بین گلوکز با اسپرماتوکریت همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد ($r=/765$ و $P<0/01$). از طرفی دیگر سکر و همکاران (۲۰۰۴)، نشان دادند که همبستگی مثبتی بین گلوکز و طول دوره حرکت در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود دارد. در این تحقیق بین کلسترول و پروتئین با طول دوره تحرک ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). که با تحقیقات سکر و همکاران (۲۰۰۴)، روی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان هم‌خوانی داشت. در این تحقیق تراکم اسپرم در حد بالایی اندازه‌گیری شد ($۸/۲۰\times۱۰۹$) اسپرماتوزوا در میلی‌لیتر سمن، که از تراکم اسپرم قزل‌آلای رنگین‌کمان ($۱/۵۰\times۱۰۹$) در طی تحقیق صورت گرفته توسط سکر و همکاران (۲۰۰۴)، بالاتر بود. علوی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند در گونه‌هایی که حجم اسپرم پایین می‌باشد معمولاً جهت جبران حجم کم اسپرم واجد اسپرمی با تراکم بالا می‌باشند. از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که رابطه معنی‌داری بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در ماهی قرمز وجود دارد. همچنین نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که بررسی فیزیولوژی اسپرم می‌تواند در انتخاب مناسب مولدین نر در امر آبزی‌پروری مؤثر باشد. به‌علاوه دانش ترکیبات پلاسمای سمینال می‌تواند جهت ایجاد محیطی مناسب به‌منظور استفاده از رقیق‌کننده جهت نگهداری سمن برای دوره‌های کوتاه‌مدت و درازمدت مورد استفاده قرار گیرد.

## سپاسگزاری

از مسئولان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایی‌های لازم در این تحقیق سپاسگزاری می‌نمائیم.

1- 17α, 20β-DP

2- Receptores

Archive of SID

www.SID.ir

## منابع


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

2.Alavi, S.M.H., and Cosson, J. 2005. Sperm motility in fishes: Effects of temperature and pH: a review. Cell biology international, 29. 101-110.

3.Alavi., S.M.H., and cosson, J. 2006. Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: a review, cell biology international, 30: 1-14.

4.Alavi, S.M.H., Amirei, B., Cooson, J., Karamei, M., Abdollahei, H., and Pourkazemi, M. 2006. Determination of some seminal plasms indices, sperm density and motility in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*.iranian journal of fuzzy systems, 5: 2. 19-40.

5.Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M., and Linhart, O. 2007. Semen of *Perca fluviatilis* L.: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. Theriogenology, 68: 276-283.

6.Adreiana, B., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Zanini, R., Do Amaral, F., Grillo, M.L., Oberst, E.R., and Wassermann, G.F. 2005. Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundia´ *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae) Fish Physiology and Biochemistry, 31: 45-53.

7.Akcay, E., Bozkurt, Y., Tekin, N., and Secer, S. 2002. Alabaliklarda suni tohumlam. Artificial insemination in trout, P 70, In: 2 nd Nat. Cong. Repro. - Art. Insem. September 4-6, 2002. Book of Abstracts, Konya (in Turkish).

8.Astu.riano, J.F., Mrco-Jimenez, F., Perez, L., Balasch, S., Garzon, D.L., Penaranda, D.S., Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., and Jover, M. 2006. Effect of HCG as spermiation inducer on European eel semen quality. Theriogenology, 66: 1012-1020.

9.Ciereszko, A., Glogowski, J., and Dabrowski, K.J. 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes.WAS, Baton Roug. Pp: 20-48.

10.Bjerselius, R., Olsen, K.H., and Zheng, W. 1995. Endocrine, gonadal and behavioral responses of male crucian carp *Carassius carassius* to the hormonal pheromone 17_,20_-dihydroxy-4-pregnen-3-one.Chem. Senses, 20: 221-230.

11.Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Leily, N.R., and Devlin, R.H. 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masulinized Coho salmon *oncorhynchus kisutch*. Aquaculture, 249: 459-468.

12.Imanpoor, M.R., and Kamali, A. 2006. The investigation of induced breeding and larval rearing of goldfish *Carassius carassius gibelio* with HCG. J. Agric. Resour., 13: 2. 165-172.

13.Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., and Patzner, R.A. 1996. Motility of spermatozoa of Alburnus alburnus (*Cyprinidae*) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. Fish Physiol.Biochem, 15: 167-179.

14.Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., and Patzner, R.A. 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout by sperm motility, seminal plasma parameters and spermatozoal metabolism. Aquaculture, 163: 163-181.

15.Linhart, O., Slechta, V., and Slavik, T. 1991. Fish sperm composition and biochemistry. Bull Inst Zool Acad Sin Monogr, 16: 285-311.

16.Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., and Nagahama, Y. 1991. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish.J Exp Zool, 261: 59-63.

17.Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., and Yasuda, K. 1983. Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. J Exp Zool, 107: 95-103.

18.Rurangwa, E., Kime, D.E., Olllevier, F., and Nash, J.P. 2004.The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, 234: 1-28.

19.Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., Bukan, N., and Akcay. 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen. IJA, 56: 4. 274-280.

20.Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., and Bozkurt, Y., 2003. Cryopreservation of rainbow trout *oncorhynchus mykiss*, Bamidgeh. 55: 3. 208-212.

21.Turner, E., and Montgomerie, R. 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr Journal of Fish Biology, Pp: 1570-1579.

22.Vesogh, Gh.H., and mostageer, B. 1995. Fresh water fish. Press Tehran University. Pp: 317.

23.Zhukinskij, V.N., and Bilko, V.P. 1984. Effect of semen pH on embryo viability in some cyprinid fishes. J. Ichthyol. 24: 3. 64-76.


Archive of SID

www.SID.ir

*J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 16(1), 2009*
*www.jasnr.info*
*www.sid.ir*
*www.magiran.com/jasnr*

# The correlation between some biochemical and spermatological parameters in goldfish *(Carassius auratus)* semen

**[*]V. Zadmajid[1] and M.R. Imanpoor[2]**
[1]Former M.Sc. Student, Dept. of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resourses,
[2]Assistant Prof., Dept. of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resourses, Iran

**Abstract**

Some biological aspects of semen were investigated in goldfish *(Carassius auratus)*, by determination of seminal plasma indices (ionic and organic composition) and their relationships with sperm motility. Seminal plasma contained 154.90±59.45 mmol/l $Na^+$, 20.98±6.82 mmol/l $K^+$, 0.69±0.42 mmol/l $Ca^+$, 1.52±0.33 mmol/l $Mg^{2+}$, 0.041±0.009 g/dl protein, 0.013±0.009 mg/dl cholesterol and 0.053±0.022 mg/dl glucose respectively. Semen spermatocriet was 52.83±11.44%, pH 8.81±0.35, motility duration 77.45±21.07s, percentage of motile spermatozoa 83.45±4.83%, sperm density $8.20\times10^9$ spermatozoa/ml and milt volume 082±0.43cc measured. There were positive significant correlation among spermatocriet, glucose and percentage of motile spermatozoa (r=0.765, r=0.832; P<0.01 respectively). But there was found significant negative correlation between spermatocrite and motility duration (r=-0.655; P<0.05). There were positive significant correlation among sperm density, pH and $Mg^{2+}$ (r=0.648, r=0.660; P<0.05 respectively). Likewise there was found positive significant correlation between $Ca^+$ and $Mg^{2+}$ (r=0.807; P<0.01). The present study demonstrated that a significant correlation between seminal plasma ingredient and potential for motility in goldfish sperm.

***Keywords:*** Goldfish; Biochemical parameters; Spermatological parameters; Seminal plasma

Archive of SID

[*]- Corresponding Author; Email: zadmajid@gmail.com

www.SID.ir