Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد شانزدهم، ویژه‌نامه ۱-الف، سال ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

تأثیر pH، نسبت رقیق‌سازی، یون‌ها و اسمولاریته برروی حرکت اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris* Lovetzky, 1828)

*فردین شالویی[۱]، علی شعبانی[۲]، محمدرضا ایمانپور[۳]، بهاره شعبانپور[۳] و مریم باغفلکی[۱]
[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۸/۴/۸

چکیده

در این مطالعه تأثیر رقیق‌کننده‌ها برروی حرکت اسپرماتوزوآی رقیق‌سازی شده حاصل از مخلوط اسپرم ۳ مولد نر تاس‌ماهی شیپ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار بهینه یون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلسیم، و منیزیم)، pH و میزان بافری (تریس، تریس اسیدی و هپس) محلول فعال‌کننده، همچنین نسبت رقیق‌سازی و اسمولاریته تعیین شد. بهترین پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در محلول بافری تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر حاوی ۱۲/۵، ۱، ۷ و ۱۵ میلی‌مول در لیتر یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در نسبت رقیق‌سازی ۱:۱۰۰ و pH ۸/۵ مشاهده شد. اسمولاریته‌های ۹۴-۶۸ میلی‌اسمول بر کیلوگرم نسبتاً از حرکت اسپرماتوزوآ جلوگیری کرد. اما اسپرماتوزوآ در فشار اسمزی بالا (۱۳۳ میلی‌اسمول بر کیلوگرم و بالاتر) بی‌حرکت باقی ماند. این مطالعه ثابت کرد که پارامترهای متعددی مانند غلظت یون (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم)، فشار اسمزی، pH، میزان بافری و نسبت رقیق‌سازی روی حرکت اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ مؤثر است. غلظت یون پتاسیم همراه با فشار اسمزی حرکت اسپرماتوزوآ ماهی شیپ را کنترل می‌کند. در کل یون‌های سدیم، کلسیم و منیزیم برخلاف خاصیت بازدارندگی حرکت یون پتاسیم عمل می‌کنند و کاتیون‌های دو ظرفیتی (کلسیم و منیزیم) از سدیم مؤثرترند.

واژه‌های کلیدی: ماهی شیپ، حرکت اسپرماتوزوآ، محلول‌های فعال‌کننده

مقدمه

دریاچه خزر با وسعتی در حدود ۴۰۰ هزار کیلومترمربع بزرگ‌ترین دریاچه جهان می‌باشد که به لحاظ دارا بودن ویژگی‌های منحصربه‌فرد اکولوژیکی، زیستگاهی مناسب برای تاس‌ماهیان بوده و ۹۰ درصد از ذخایر این ماهیان باارزش را در خود جای داده است (بارانیکوا، ۱۹۹۵). ذخایر ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris* Lovetzky، ۱۸۲۸) که همیشه کمترین تعداد را در بین ماهیان خاویاری دریای خزر داشته، در سال‌های اخیر کاهش یافته است (مقیم، ۲۰۰۲). این روند از صید بیش از اندازه، صید غیرقانونی و تخریب محیط مانند انباشتگی آلاینده‌ها در رسوبات، سدسازی روی رودخانه‌ها و کم‌شدن جریانات ورودی که سبب نامطلوب شدن محیط برای مهاجرت و تولیدمثل این ماهیان می‌شود ناشی می‌گردد (تقوی‌مطلق، ۱۹۹۶). تکثیر مصنوعی و پرورش

*- مسئول مکاتبه: shaluei@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

تاس‌ماهیان از راه‌های مهم برای احیا و نگهداری جمعیت‌های تاس‌ماهیان است (کهنه‌شهری و آذرتاکامی، ۱۹۷۴). کنترل تولیدمثل در ماهیان احتیاج به دست‌کاری گامت‌ها دارد (بیلارد و جنسن، ۱۹۹۶). برای بهبود تکثیر مصنوعی ماهیان و تکنیک‌های تلقیح مصنوعی، اطلاعات پایه در مورد بیولوژی اسپرماتوزوآ لازم می‌باشد (کوسون، ۲۰۰۴). حرکت اسپرماتوزوآ از پارامترهای مهم تعیین‌کننده قدرت باروری اسپرم است (لانستینر و همکاران، ۱۹۹۶؛ علوی و همکاران، ۲۰۰۴). در داخل ایران مطالعات اندکی در مورد تأثیر محلول‌های رقیق‌کننده برروی پارامترهای حرکتی تاس‌ماهیان صورت گرفته است. علوی و همکاران (۲۰۰۴) مطالعه‌ای روی زمان حرکت اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipencer persicus*) در آب شیرین و محلول‌های نمکی انجام دادند و نتیجه گرفتند طول دوره حرکت اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی در محلول‌های نمکی بیشتر از آب شیرین می‌باشد. علوی و کوسون (۲۰۰۵) حرکت اسپرماتوزوآ و قابلیت لقاح تاس‌ماهی ایرانی را مورد بررسی قرار دادند. براساس مطالعات انجام شده روی گونه‌های تاس‌ماهیان مانند: تاس‌ماهی سیبری (*A. baeri*) (گالیس و همکاران، ۱۹۹۱)؛ پاروپوزه (*Polydon spathula*) (کوسون و لینهارت، ۱۹۹۶)؛ تاس‌ماهی دریاچه‌ای (*A. fulvenscens*) (توث و همکاران، ۱۹۹۷) و تاس‌ماهی سفید (*A.transmontanus*) (اینگرمن و همکاران، ۲۰۰۲)، حرکت اسپرماتوزوآ تحت‌تأثیر پارامترهای متعددی از جمله دما، pH، یون‌ها (شامل یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم) اسمولاریته و نسبت رقیق‌سازی در محلول‌های فعال‌کننده و غیرفعال‌کننده می‌باشد. دانش تأثیر این پارامترها برای ایجاد روش‌های بهینه در تکثیر مصنوعی مفید می‌باشد و می‌تواند باعث فراهم شدن اطلاعات برای توسعه بهتر شرایط نگهداری کوتاه و بلندمدت اسپرماتوزوآ شود (بیلارد و همکاران، ۱۹۹۵). هدف این پژوهش بررسی تأثیر pH، تأثیر بافرهای تریس، تریس اسیدی و هپس، نسبت‌های رقیق‌سازی، تأثیر یون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و اسمولاریته محلول‌های بررسی شده برروی طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ بود.

مواد و روش‌ها

محل نمونه‌برداری و نمونه‌های اسپرم: نمونه‌های اسپرم ماهی شیپ (۳ نمونه، مولدین نر با میانگین طول ۱۱۳±۱۲/۱۲ سانتی‌متر و میانگین وزن ۱۶/۵۶±۰/۹۰ کیلوگرم) از مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی در اسفند ماه سال ۱۳۸۴ جمع‌آوری و این نمونه‌ها در سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری و به‌وسیله فلاسک محتوی یخ (بدون تماس مستقیم با یخ) به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ۱ سی‌سی از اسپرم ۳ مولد برای ایجاد یک نمونه آمیخته[1] با هم مخلوط و برای رقیق‌سازی از این اسپرم هم‌سان استفاده شد (حفظ‌الصحه، ۲۰۰۷؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵؛ توث و همکاران، ۱۹۹۷).

اندازه‌گیری اسمولاریته و پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در محلول‌های رقیق‌کننده: بعد از شروع حرکت اسپرماتوزوآ در محلول‌های بررسی شده با نسبت رقیق‌سازی ۱:۱۰۰ با آب مقطر، پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ بلافاصله (با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) تا زمانی‌که ۱۰۰ درصد اسپرماتوزوآها غیرمتحرک شدند توسط استرئومیکروسکوپ (دوربین متصل به میکروسکوپ) ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe Premeier هر ثانیه در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ ثانیه بعد از فعال شدن به ۳۰ فرم (اسلاید) تبدیل شده و به‌صورت تصادفی ۴ فرم (مثلاً فرم ۱، ۴، ۷ و ۱۰) انتخاب شد. موقعیت ۱۰ اسپرماتوزوآ به‌صورت تصادفی در فرم‌های گرفته شده نشان‌دار، و براساس تغییر محل اسپرماتوزوآ در فرم‌ها و مشخص شدن اسپرماتوزوآهای غیرمتحرک، میزان درصد

1- Pooled

www.SID.ir

Archive of SID

اسپرماتوزوآ متحرک محاسبه گردید. برای مدت زمان حرکت اسپرماتوزوآها، زمان از لحظه فعال شدن تا زمانی‌که همه آنها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری شد (حفظ‌الصحه، ۲۰۰۷؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵؛ ترنر و مونتگومری، ۲۰۰۲). بعد از کالیبره کردن دستگاه اسمومتر[1] حداقل ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها در ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته، و اسمولاریته نمونه‌ها (در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت) اندازه‌گیری شد (علوی و همکاران، ۲۰۰۴). پارامترهای بالا با ۳ تکرار در دمای اتاق (۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری، و به‌منظور اجتناب از خطای آزمایشی، همه اندازه‌گیری‌ها توسط یک مشاهده‌کننده انجام شد.

بررسی تأثیر pH و محلول‌های بافری روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ: پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در pH های ۷/۵، ۸، ۸/۵، ۹ و ۹/۵ ثبت و مورد بررسی قرار گرفت (روش کار قسمت اندازه‌گیری حرکت اسپرماتوزوآ). در این مرحله بهترین pH، که اسپرماتوزوآ دارای بیشترین طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک بود انتخاب شد. در مرحله بعدی محلول‌های بافری هپس تریس و تریس اسیدی با غلظت‌های (۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰، ۱۰، ۰) میلی‌مول در لیتر در ترکیب با pH بهینه (۸/۵) مورد استفاده قرار گرفتند و غلظت بهینه یکی از محلول‌های بافری ذکر شده با توجه به پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ تعیین شد (تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر در ترکیب با pH ۸/۵)؛ (علوی و کوسون، ۲۰۰۵).

تأثیر نسبت رقیق‌سازی و یون‌ها: در این مرحله تأثیر محلول بافری تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر در ترکیب با pH ۸/۵ در نسبت‌های رقیق‌سازی ۱:۱۰، ۱:۵۰، ۱:۱۰۰، ۱:۱۵۰ و ۱:۲۰۰ روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ بررسی گردید. برای رقیق‌سازی از آب مقطر استفاده گردید در این مرحله نسبت رقیق‌سازی بهینه (۱:۱۰۰) انتخاب، و در مرحله بعدی برای تعیین اثر کاتیون‌های سدیم، پتاسیم ،کلسیم و منیزیم روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در ترکیب با pH بهینه (۸/۵) و محلول بافری تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر و نسبت رقیق‌سازی ۱:۱۰۰ در غلظت‌های (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰) میلی‌مول در لیتر کلرید سدیم (۱، ۳، ۵، ۱۰، ۲۰، ۲۵ و ۵۰) میلی‌مول در لیتر کلرید پتاسیم (۲، ۳، ۴، ۵،۱۰، ۲۰) میلی‌مول در لیتر سولفات کلسیم و (۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۱۰ و ۱۵) میلی‌مول در لیترسولفات منیزیم استفاده شد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده با ۳ تکرار برای هر تیمار توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم گردید (حفظ‌الصحه، ۲۰۰۷؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵).

نتایج

اثر تیمارهای مختلف pH برروی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). با توجه به شکل ۱ اسپرماتوزوآ ماهی شیپ در pH=۸/۵ دارای بیشترین طول دوره حرکت و بیشترین درصد اسپرماتوزوآ متحرک (۱±۷۹ درصد و ۲/۰۸±۱۴۸/۶ ثانیه) بود. پایین‌ترین طول دوره حرکت و کمترین درصد اسپرماتوزوآ متحرک در pH=۶/۵ (۲±۴۸/۳ درصد و ۴± ۵۹ ثانیه) مشاهده شد.

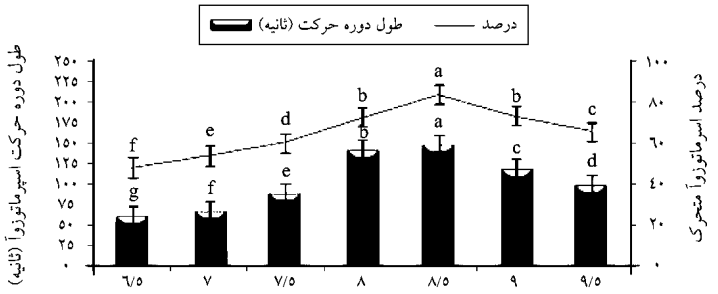
در جدول ۱ نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر بافرهای تریس، هپس و تریس اسیدی در ترکیب pH=۸/۵ نشان داده شده است. از بین بافرهای بررسی شده بافر تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر در ترکیب با pH=۸/۵ بیشترین تأثیر را روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ داشت ($P<۰/۰۵$).

با توجه به شکل ۲ نسبت رقیق‌سازی تأثیر معنی‌داری روی طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآی متحرک ماهی شیپ داشت ($P<۰/۰۵$). در شکل ۳ تأثیر یون‌ها روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ نشان داده شده است.

1- Osmometer, Roebling Germany

www.SID.ir

Archive of SID



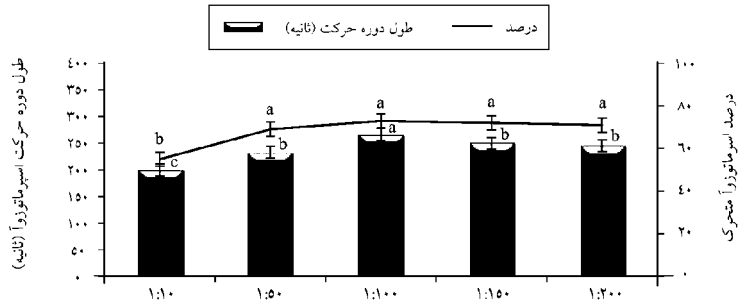
شکل ۱- تأثیر مقادیر مختلف pH روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ.

***مقادیری که با حروف یکسان مشخص شده‌اند تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).**

جدول ۱- تأثیر بافرهای تریس، هپس و تریس اسیدی در ترکیب pH=۸/۵ روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ.

بافر	غلظت (میلی‌مول در لیتر)	طول دوره حرکت اسپرماتوزوآ (ثانیه)	درصد اسپرماتوزوآ متحرک
شاهد	۰	۱۳۱/۶۶±۸/۵^{f}	۶۴/۶±۴/۱^{bc}
تریس	۱۰	۸۰/۳±۲/۰^{j}	۵۴/۳±۴/۴^{c}
	۲۰	۸۳/۶±۴/۰^{j}	۶۱/۶±۲/۲^{bc}
	۳۰	۸۲/۶±۲/۵^{j}	۶۱/۶±۳/۷^{bc}
	۴۰	۹۶/۳±۵/۶^{i}	۶۵/۶±۱/۱^{b}
	۵۰	۱۵۰/۶±۷/۵^{d}	۶۷/۶±۲/۵^{bc}
هپس	۱۰	۸۵/۳±۵/۵^{j}	۵۷/۶±۲/۵^{cd}
	۲۰	۹۴/۳±۴^{i}	۶۴/۳±۴/۴^{bc}
	۳۰	۱۰۶/۶±۴/۱^{h}	۶۷±۳/۶^{b}
	۴۰	۱۲۱/۳±۳/۲^{g}	۶۸/۳±۲/۸^{b}
	۵۰	۱۴۴±۴/۵^{e}	۶۹/۳±۴/۰۴^{ab}
تریس اسیدی	۱۰	۱۵۱/۳±۴/۱^{d}	۵۷/۶±۲/۵^{cd}
	۲۰	۱۶۲/۳±۲/۵^{c}	۶۳±۲/۶^{bc}
	۳۰	۲۵۵/۳±۳/۵^{a}	۷۵/۶±۲/۲^{a}
	۴۰	۲۰۵±۵/۵^{b}	۵۸/۶±۴/۴^{cd}
	۵۰	۲۵/۶±۳/۶^{k}	۲۸/۳±۱۰/۴^{d}

*مقادیری که با حروف یکسان مشخص شده‌اند تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

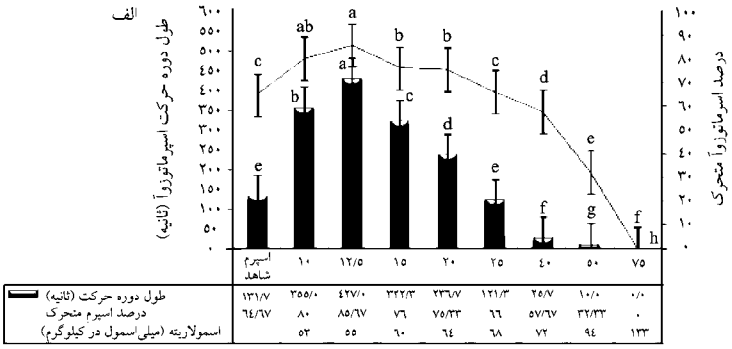


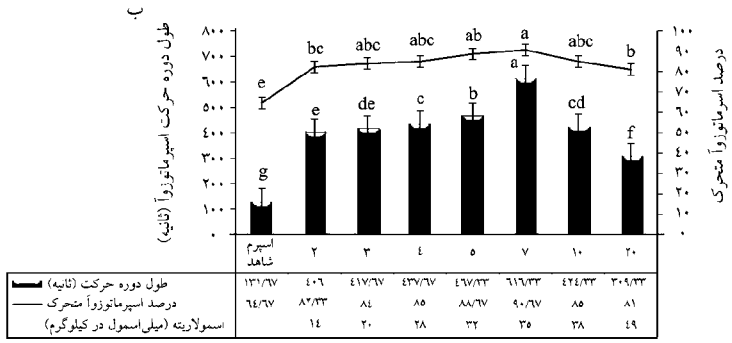
شکل ۲- تأثیر نسبت‌های رقیق‌سازی اسپرم (نسبت ثابت ۱) با محلول رقیق‌کننده (نسبت متغیر ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ.

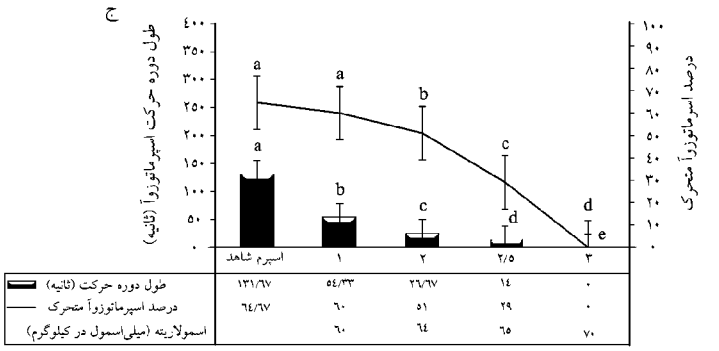
***مقادیری که با حروف یکسان مشخص شده‌اند تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).**

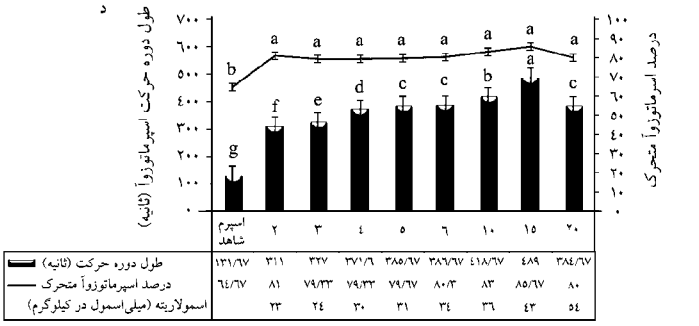
www.SID.ir

Archive of SID









شکل ۳- تأثیر غلظت یون‌های سدیم (الف)، کلسیم (ب)، پتاسیم (ج) و منیزیم (د) روی طول دوره حرکت (ثانیه) و درصد اسپرماتوزوآ متحرک در ماهی شیپ.

***مقادیری که با حروف یکسان مشخص شده‌اند تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).**

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در تاس‌ماهیان مانند دیگر ماهیان حرکت اسپرماتوزوآ تحت‌تأثیر pH و غلظت یون‌های محیط اطراف می‌باشد. نسبت رقیق‌سازی، فاکتور مهم دیگری می‌باشد که روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ تأثیر می‌گذارد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵). مشخص شده که pH درون‌سلولی و خارج‌سلولی مانند ترکیبات یونی محلول فعال‌کننده روی شروع و طول دوره حرکتی اسپرم تأثیرگذار است (ماریان و همکاران، ۱۹۹۷). با توجه به شکل ۱ اسپرماتوزوآی ماهی شیپ در pH قلیایی دارای طول دوره حرکت و درصد اسپرم متحرک بیشتری نسبت به محلول‌های اسیدی می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر دوباره این موضوع را تأیید می‌کند که pH قلیایی پارامترهای حرکتی اسپرم در تاس‌ماهیان را افزایش می‌دهد (گالیس و همکاران، ۱۹۹۱؛ توث و همکاران، ۱۹۹۷؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵). اما لانستینر و همکاران در سال ۲۰۰۴ به این نتیجه رسیدند که pH، ۷ تا ۹ تأثیری روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآی ماهی استرلیاد (*Acipencer ruthenus*) ندارد.

محلول‌های بافری از دیگر عوامل مؤثر در شروع حرکت اسپرماتوزوآ و طولانی کردن آن است. محلول بافری محلول انتخابی برای به حداقل رسانیدن تغییرات غلظت یون هیدروژن می‌باشد (حفظ‌الصحه، ۲۰۰۷). با توجه به جدول ۱ تریس اسیدی ۳۰ میلی‌مول در لیتر بهترین تأثیر را روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ داشت. در تحقیقات علوی و کوسون (۲۰۰۵) بافر تریس اسیدی ۲۰ میلی‌مول در لیتر دارای تأثیر مطلوب روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) بود. برخلاف ماهیان استخوانی تحقیق‌های متعدد نشان داده که اسپرماتوزوآ تاس‌ماهیان در نسبت‌های رقیق‌سازی کم شروع به حرکت می‌کنند (گالیس و همکاران، ۱۹۹۱؛ توث و همکاران، ۱۹۹۷؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵). با توجه به شکل ۲ نسبت رقیق‌سازی روی طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآی متحرک اسپرماتوزوآی ماهی شیپ تأثیر داشت. این پژوهش تأییدکننده دوباره این موضوع می‌باشد که نسبت رقیق‌سازی تأثیر چشمگیری برروی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ تاس‌ماهیان دارد. با توجه به شکل ۳- الف یون سدیم تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ داشت به گونه‌ای که اسپرماتوزوآ ماهی شیپ در غلظت ۱۲/۵ میلی‌مول در لیتر نسبت به دیگر تیمارهای یون سدیم دارای بیشترین طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک بود و با افزایش غلظت یون سدیم طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک کم می‌شد تا در غلظت ۷۵ میلی‌مول در لیتر یون سدیم، اسپرماتوزوآ بی‌حرکت باقی می‌ماند. در تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) بیشترین و کمترین درصد اسپرماتوزوآ متحرک و طول دوره حرکت در محلول فعال‌کننده حاوی ۲۵ و ۱۲۵ میلی‌مول در لیتر سدیم مشاهده شد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵). یون کلسیم خارجی برای شروع حرکت در اسپرماتوزوآ لازم می‌باشد (علوی و کوسون، ۲۰۰۶). تحقیقات نشان داده که در صورت وجود عامل بلوکه‌کننده کانال کلسیم یعنی دسمتوکسی وراپامیل که مانع ورود کلسیم به داخل سلول می‌گردد، تحرک اسپرماتوزوآ مشاهده نمی‌شود (کوسون و همکاران، ۱۹۸۹). اسپرماتوزوآی ماهی شیپ در غلظت ۷ میلی‌مول در لیتر یون کلسیم نسبت به دیگر تیمارهای یون کلسیم دارای طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک بیشتری می‌باشد. اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) در غلظت ۳ میلی‌مول کلسیم بیشترین طول دوره حرکت و درصد اسپرم متحرک را دارد و غلظت‌های بیشتر از ۵ میلی‌مول در لیتر یون کلسیم اثر جلوگیری‌کننده حرکت روی اسپرم این‌گونه دارد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵). با توجه به شکل ۳- ج یون پتاسیم تأثیر بازدارنده روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ دارد. پتانسیل حرکتی اسپرماتوزوآ تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) (علوی و کوسون، ۲۰۰۵)، تاس‌ماهی سیبری (*A. baeri*) (گالیس و همکاران، ۱۹۹۱)،

www.SID.ir

Archive of SID

پاروپوزه (*p. spathula*) (کوسون و لینهارت، ۱۹۹۶) و تاس‌ماهی دریاچه‌ای (*A. fulvescens*) (توث و همکاران، ۱۹۹۷) با افزایش غلظت یون پتاسیم کاهش می‌یابد. با توجه به شکل ۳- د در بین تیمارهای یون منیزیم تیمار ۱۵ میلی‌مول در لیتر بیشترین تأثیر را روی طول دوره و درصد اسپرماتوزوآ متحرک داشت اما علوی و کوسون (۲۰۰۵) گزارش کردند اسپرماتوزوآ تاس‌ماهی ایرانی (*A .persicus*) در غلظت ۱۰ میلی‌مول منیزیم بیشترین طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک را دارد.

بررسی و تمایز تأثیرات اسمولاریته روی حرکت اسپرماتوزوآ از تأثیرات یون‌ها و گازها مشکل می‌باشد (کوسون، ۲۰۰۴). اما در بیشتر تحقیقات به تکرار گزارش شده که القاء حرکت اسپرماتوزوآ به خاطر تغییر در اسمولاریته رخ می‌دهد (کوسون، ۲۰۰۴). در آزاد ماهیان حرکت اسپرماتوزوآ تحت‌تأثیر غلظت یون پتاسیم بوده ولی در تاس‌ماهیان یون پتاسیم همراه با اسمولاریته فاکتورهای کلیدی می‌باشند که حرکت اسپرماتوزوآ را کنترل می‌کنند در دیگر ماهیان آب شیرین و دریایی اسمولاریته کنترل‌کننده حرکت اسپرماتوزوآ می‌باشد به‌طوری‌که اسمولاریته بالا در کپور ماهیان و اسمولاریته پایین در ماهیان دریایی از حرکت اسپرماتوزوآ جلوگیری می‌کند (علوی و کوسون، ۲۰۰۶). با توجه به شکل ۳ اسمولاریته‌های ۹۴-۶۸ (میلی‌اسمول بر کیلوگرم) تا اندازه‌ای از حرکت اسپرماتوزوآ جلوگیری کرد. اما اسپرماتوزوآ در فشار اسمزی بالا ۱۳۳ (میلی‌اسمول بر کیلوگرم) و بالاتر بی‌حرکت بود. براساس یافته‌های گالیس و همکاران (۱۹۹۱) اسمولاریته ۱۰۰ و بالاتر تأثیر بازدارندگی روی حرکت اسپرماتوزوآی تاس‌ماهی سیبری (*A. baeri*) داشت.

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ مؤثر بوده به‌طوری‌که یون پتاسیم خاصیت بازدارنده (حتی در غلظت‌های کم) دارد. از بین یون‌های بررسی شده تأثیر یون منیزیم و کلسیم روی طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک بیشتر از یون سدیم بود. همچنین با تغییر pH، نسبت رقیق‌سازی و اسمولاریته پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ تغییر می‌کرد. پیشنهاد می‌گردد که تأثیر فاکتورهای بررسی شده در این تحقیق بر درصد لقاح در ماهی شیپ مورد مطالعه 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 و همچنین از آقایان مهندس طاهری و مهندس قزل، کارشناسان تکثیر و مهندس مخدوم مسئول آزمایشگاه مرکز تکثیر ماهیان خاویاری شهید مرجانی به‌دلیل هماهنگی‌های لازم و راهنمایی‌هایشان، سپاسگزاری می‌نمائیم.

منابع

1.Alavi, S.M.H., Mojazi Amiri, B., and Pourkazemi, M. 2004. Total period of *Acipenser persicus* Spermatozoa in Freshwater and Saline Solution. Iranian Journal of Fisheries Science, 4: 67-76. (In Persian).

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

3.Alavi, S.M.H., and Cosson, J. 2006. Sperm motility in fishes: II. Effects of ions and osmollaity. Cell Biol Int., 30: 1-14.

4.Barannikova, I.A. 1995. Measures to maintain sturgeon fisheries under conditions of ecosystem change. In: Proc. Intern. S turg. Symp., Vniro Press, Pp: 124-130.

www.SID.ir

Archive of SID

5.Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., and Suquet, M. 1995. Sperm physiology and quality. In: Bromage NR, Roberts RJ, editors. Brood Stock Management and Egg and Larval Quality. Amsterdam: Blackwell Science, Pp: 25-52.
6.Billard, R., and Jensen, J.O.T. 1996. Gamete removal, fertilization and incubation. In: Principles of Salmonid Culture (ed. By Pennell, W., and Barton, B.A.), Elsevier Press, Amsterdam, the Netherlands, Pp: 291-364.
7.Cosson, J., Billard, R., and Letellier, L. 1989. Rise of internal Ca_2C accompanies the initiation of trout sperm motility Cell Motil Cytoskeleton, 14: 424-434.
8.Cosson, J. 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. Aqua Int., 12: 69-85.
9.Cosson, J., and Linhart, O. 1996. Paddlefish, *Polyodon spathula*, spermatozoa: Effects of potassium and pH on motility. Folia Zool., 45: 361-70.
10.Gallis, J.L., Fedrigo, E., Jatteau, P., Bonpunt, E., and Billard, R. 1991. Siberian sturgeon spermatozoa: effects of dilution, pH, osmotic pressure, sodium and potassium ions on motility. In: Williot, P. editor. Acipenser. Bordeaux: Cemagref., Pp: 143-51.
11.Hefsolzehe, F. 2007. Effect of extenders on some spermatological parameters, fertilization success and larval quality of *Rutilus frisii kutum*. M.Sc. Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource, 84p. (In Persian).
12.Ingermann, R., Holcomb, M., Robinson, M.L., and Cloud, J.G. 2002. Carbon dioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). J. Exp. Biol., 205: 2885-2890.
13.Kohneshahri, M., and Azari Takami, G. 1974. Artificial Propagation of Sturgeons. The Tehran University Press, Tehran, Iran, (In Persian).
14.Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., and Urbanyi, B. 2004. Stuies on the semen biology and sperm cryopreservation in the starlet, *Acipenser ruthenus*.Aquaculture Research, 35: 519-528.
15.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. J. Fish Physiology and Biochemistry, 15: 167-179.
16.Marian, T., Krasznai, Z., Balkay, L., Emri, M., and Tron L. 1997. Role of extracellular and intracellular pH in carp sperm motility and modifications by hyperosmosis of regulation of NaC/HC exchanger. Cytometry, 27: 374-82.
17.Moghim, M. 2002. Evalation of ship stocks *(Acipenser nudiventris)* in the southern caspian sea. Iranian Scientific Fisheries Journal, 13: 171-190. (In Persian).
18.Taghavi Motlagh, S.A. 1996. Population dynamics of sturgeon in the Southern Part of the Caspian Sea. PhD thesis. Univesity ofWales, Swansea, UK, 300p.
19.Toth, G.P., Ciereszko, A., Christ, S.A., and Dabrowski, K. 1997. Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*: activation and inhibition conditions. Aquaculture, 154: 337-48.
20.Turner, E., and Montgomerie, R. 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. J. Fish Biol., 60: 1570-1579.

www.SID.ir

Archive of SID

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

Spermatozoa motility in the ship sturgeon (*Acipenser nudiventris* Lovetzky, 1828): Effects of pH, dilution ratio, ions and osmolality

[*]F. Shaluei[1], A. Shabanei[2], M.R. Imanpour[3], B. Shabanpour[3] and M. Baghfalaki[1]
[1]Former M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
[2]Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
[3]Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

In this study effects of extenders on motility of spermatozoa (pooled semens from 3 male) of the ship sturgeon (*Acipenser nudiventris*) were investigated. Optimum ionic content (Na^+, K^+, Ca^{2+} and Mg^{2+}), pH and buffer content (tris, tris-hcl, hepes) of activation solution as well as the optimum dilution rate and osmolality were determined. The results show optimum motility characteristics of spermatozoa in buffered solutions tris-hcl 30 mML^{-1} containing 12.5, 1, 7 and 15 mML-1 Na^+, K^+, Ca^{2+} and Mg^{2+}, respectively, at dilution rate 1:100 and pH 8.5. At osmolalities of 68-94 mOsmol Kg^{-1} the spermatozoa motility was partly inhibited but the motility of *A. nudiventris* spermatozoa is inhibited by high osmotic pressure (133 mOsmol Kg^{-1} or more). The results of the present study demonstrated that various parameters such as ion concentration (Na^+, K^+, Ca^{2+} and Mg^{2+}), osmotic pressure, pH, buffer content and dilution rate. affect the motility duration of ship sturgeon spermatozoa. K^+ concentration in combination with osmotic pressure controlled spermatozoa motility in ship sturgeon. In conclusion Na^+, Ca^{2+} and Mg^{2+} counter the inhibitory action of K^+ and bivalent cations (Ca^{2+} and Mg^{2+}) are more effective than Na^+.

Keywords: *Acipenser nudiventrs*; Spermatozoa motility; Activation solution

*- Corresponding Author; Email: shaluei@yahoo.com

www.SID.ir