اثرات تزریق هورمونهای GnRHa، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)*

وحید زادمجید*، محمدرضاایمانپور، محمد سوداگر و علی شعبانی

گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده شیلات، گروه شیلات

تاریخ دریافت: 86/8/1 تاریخ پذیرش: 87/6/11

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون های GnRHa، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی(سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، کلسترول وگلوکز) مولدین نرماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)* مورد بررسی قرار گرفت. هورمون های GnRHa، HCG، و عصاره هیپوفیز با دوزهای تزریقی (10 میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، 1500IU/Kg و 3 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب) مورد استفاده قرار گرفت. بین غلظت یون سدیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0/05$)، بطوری که بالاترین غلظت یون سدیم در تیمارهای دوم (GnRHa) و سوم(HCG) مشاهده گردید، (به ترتیب 04 /15± 202/33 و 10/69±195/66 میلی مول در لیتر). بین غلظت یون پتاسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0/01$)، به گونه ای که بالاترین مقدار یون پتاسیم در گروه شاهد اندازه گیری گردید (1/24 ±31/40 میلی مول در لیتر)، اما بین غلظت یون های کلسیم و منیزیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0/05$). بین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0/05$)، به گونه ای که بالاترین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمار سوم مشاهده شد (0/001±0/06گرم دردسی لیتر و 0/04±0/13 میلی گرم دردسی لیتر به ترتیب). همچنین بین میزان کلسترول در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0/01$)، به گونه ای که بالاترین میزان کلسترول در تیمارهای سوم و چهارم(هیپوفیز) اندازه گیری شد(0/001±0/018 و 0/003± 0/020میلی گرم دردسی لیتر به ترتیب). در این تحقیق مشاهده گردید که هورمون های مختلف عملکرد متفاوتی روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز دارند، بطوری که هورمون(HCG) نسبت به سایر هورمون ها تأثیر معنی داری روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز داشت.

واژه های کلیدی: ماهی قرمز؛ GnRHa ؛ HCG ؛ عصاره هیپوفیز؛ پارامترهای بیوشیمیایی

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 09379973984، پست الکترونیک: zadmajid@gmail.com

مقدمه

ماهی قرمز*(Carassius auratus gibelio)* از خانواده کپور ماهیان *(Cyprinidae)* بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه ای شبیه کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) است. ماهی قرمز در محیط طبیعی در آبهای ساکن و یا آبهای تقریباً ساکن با سرعت ناچیز که پوشیده از گیا هان آبزی و دارای بستر نرم است زندگی کرده و غالباً به همراه ماهیان برکه ای (*Carassius carassius*) دیده می شود (2). این ماهی گونه ای است که به صورت گسترده در مطالعات تولید مثلی و کنترل هورمونی مورد استفاده قرار می گیرد (8). مولدین به شرایط پرورشی حساس بوده و در سطوح مختلف در فرایند فیزیولوژیکی تولیدمثل آنها نارسایی دیده می شود. فقدان محرکهای محیطی و وجود استرسهای

Archive of SID
www.SID.ir

پرورشی اجتناب ناپذیر ، اغلب سبب عدم رسیدگی نهایی اووسیت (FOM) (Final oocyte maturation)، اوولاسیون (Ovulation) و تخم ریزی طبیعی در ماهی ماده و کاهش حجم مایع منی و نزول کیفیت آن در ماهی نر می گردد. کاهش مقدار کل اسپرم فاکتور محدود کننده در بسیاری از مراکز تکثیر بوده، که در این زمینه جمع آوری و ذخیره اسپرم بدون دستکاریهای بعدی و بدون وابستگی به فصل خاص می تواند در امر تکثیر و ایجاد ماهیان دورگه مؤثر باشد. سیستم کنترل غدد درون ریز تولیدمثل در ماهیان باله دار براساس محور هیپوتالاموس – هیپوفیز– غدد جنسی، مشابه پستانداران می باشد، هیپوتالاموس عامل آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) (Gonadotropin releasing hormone) که بر هیپوفیز تأثیر می گذارد را تولید می نماید، این غده سنتز و رهاسازی هورمونهای گنادوتروپین (GtHs) (Gonadotropin hormone) که نقش آن سوق دادن غدد جنسی(تخمدان و بیضه) به سمت تولید سلولهای جنسی می باشد را کنترل می کند. در بسیاری از ماهیان اوولاسیون، اسپرم ریزی و تخم ریزی در شرایط پرورشی به صورت کامل صورت نمی گیرد و تزریق هورمون برای القای تخم ریزی و اسپرم ریزی و همزمانی آزاد سازی گامتها در کارگاههای پرورش ماهی امری ضروری می باشد (24). عملکرد ناقص تولید مثلی ممکن است در نتیجه شرایط نامناسب محیطی همچون استرس بوده، که باعث عدم رهاسازی هورمون LH (uteinzing hormone) از هیپوفیز در نتیجه عدم توانایی اسپرم ریزی در نرها و کاهش کیفیت و کمیت اسپرم گردد (6). با مطالعه انجام شده توسط تکین و همکاران در سال 2003 مشخص شد که کیفیت بالای گامتها در تولید لاروهای با کیفیت مناسب در تفریخگاههای ماهی بسیار مؤثر است و می تواند راندمان لقاح و تکثیر مصنوعی در ماهیان را افزایش دهد (22). در صنعت آبزی پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیشتر بوده این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها مؤثر می باشد (20). امروزه هورمون GnRH بصورت موفقیت آمیزی هم در ماهیان آب شیرین و هم در ماهیان دریایی مورد استفاده قرار گرفته که در نهایت باعث بهبود کیفیت و کمیت اسپرم گردیده است (10، 11، 24، 12، 14، 15 و 17). درمیان گنادوتروپین های پستانداران HCG (Human Chorionic Gonadotropin) تأثیر بسزایی در القای اسپرم سازی و اسپرم ریزی در ماهیان دارد (19). مطالعات صورت گرفته توسط استریانوو و همکاران، 2006 نشان داد که تزریق یک مرحله ای HCG باعث تسریع فرایند اسپرم سازی شده در صورتی که تزریق مکرر این هورمون باعث افزایش سطح هورمون استروژن و در نتیجه افزایش طول مدت اسپرم سازی و بهبود کیفیت اسپرم می شود (5). غده هیپوفیز هورمونهای گنادوتروپین GTHs را تولید و ذخیره می کند و نقش اصلی در اوولاسیون و اسپرم ریزی دارد، این هورمون بطور گسترده جهت القای تولید مثل در ماهیان مورد استفاده قرار می گیرد، که به طور مؤثری عمل اسپرم ریزی را در کپور ماهیان تحریک (24) و پلاسمای منی محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزئید بوجود آورده که خود توسط بیضه و لوله های اسپرم بر ساخته می شود. در پستانداران ترکیبات پلاسمای منی به خوبی مطالعه شده، اما مطالعه روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیر آلی (یونها)، ترکیبات آلی و آنزیم می باشد. ترکیبات غیر آلی شامل یونهای (K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} و ...) است، که نقش ممانعت کننده و تحریک کننده حرکت در سلول اسپرم را دارند (22).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات هورمونهای GnRHa، HCG، و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، کلسترول، گلوکز) و مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

مولدین و تهیه نمونه: این تحقیق در طی ماههای اسفند 1385 ، فروردین، اردیبهشت و خرداد 1386 در مرکز تحقیقات آبزی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات واقع در پردیس صورت گرفت. تعداد 40 عدد ماهی مولد قرمز نر(با میانگین طول کل 22- 19 سانتیمتر و با میانگین وزن 66-60 گرم) جهت انجام مراحل آزمایش از مراکز تکثیر ماهیان زینتی در استان گلستان تهیه و در 15 اسفند به مرکز تحقیقات آبزی پروری دانشکده شیلات منتقل گردید و ماهیان در حوضچه های ونیرو با هوا دهی ملایم تا اوایل اردیبهشت نگهداری شدند.

در نهایت ماهیان به چهار تیمار شاهد، تزریق GnRH، تزریق HCG و تزریق عصاره هیپوفیز تقسیم شده و در هر تیمار 10 ماهی مورد بررسی قرار گرفت. به ماهیان گروه شاهد تنها سرم فیزیولوژی تزریق گردید. به گروه دیگر HCG به میزان 1500 IU/Kg (International units) (1)، در عضله و زیر باله پشتی تزریق شد (6). به گروه سوم به میزان10 میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن هورمون GnRHa تزریق (24) و به گروه چهارم عصاره هیپوفیزکاراس به میزان 3 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید (24). بعد از گذشت 12 ساعت از زمان تزریق با HCG و گذشت 24 ساعت از زمان تزریق با GnRHa و عصاره هیپو فیز، پس از خشک کردن منفذ تناسلی بدون آلودگی با آب یا ادرار، با فشار ملایم به ناحیه شکمی از ماهیان مولد نر اسپرم گیری بعمل آمد (5).

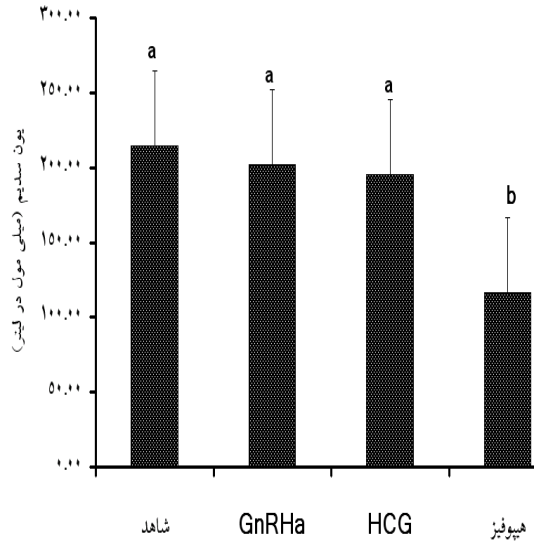
اندازه گیری ترکیبات بیوشیمیایی پلاسمای منی: مقادیر کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل پلاسمای منی توسط کیت های استاندارد ساخت شرکت پارس آزمون به روش اسپکتروفتومتری (WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK) اندازه گیری شد (21).

جدول1- آمار توصیفی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)*

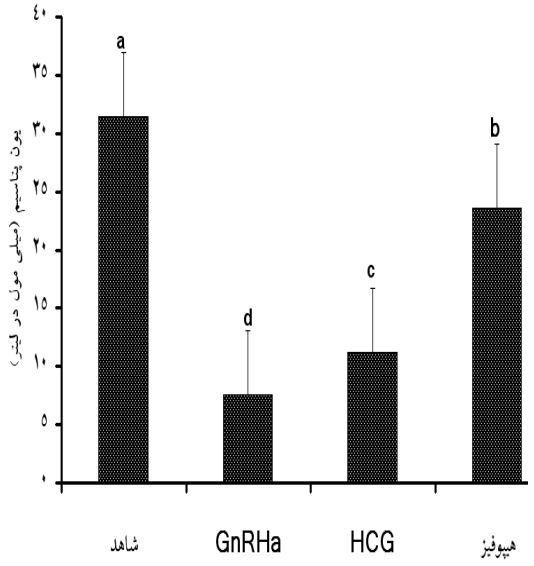
تیمار	تیمار1 (شاهد)	تیمار2 (GnRHa)	تیمار 3 (HCG)	**تیمار4 (هیپوفیز)**
یون سدیم(میلی مول درلیتر)	a 214/33± 12/50	A 202/33 ±15/04	a 195/66±10/69	b 116/66 ±68/23
یون پتاسیم(میلی مول درلیتر)	a 31/40± 1/24	d 7/58 ±0/90	c 11/21±1/91	b 23/57 ±2/68
یون کلسیم(میلی مول درلیتر)	a 0/66± 0/051	a /94 ±0/79	a 1/44±0/32	a /66 ±/68
یون منیزیم(میلی مول درلیتر)	a 1/63± 0/05	a 1/40 ±0/23	a 1/26±0/21	a 1/66 ±0/44
پروتئین کل(گرم در دسی لیتر)	b 0/03± 0/001	b 0/02 ±0/007	a 0/06±0/001	ab 0/04 ±0/002
کلسترول(میلی گرم در دسی لیتر)	c 0/008± 0/001	b 0/013 ±0/003	a 0/018±0/001	a 0/020 ±0/003
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	b 0/05± 0/008	b 0/03 ±0/002	a 0/13±0/04	b 0/07 ±0/002

Archive of SID

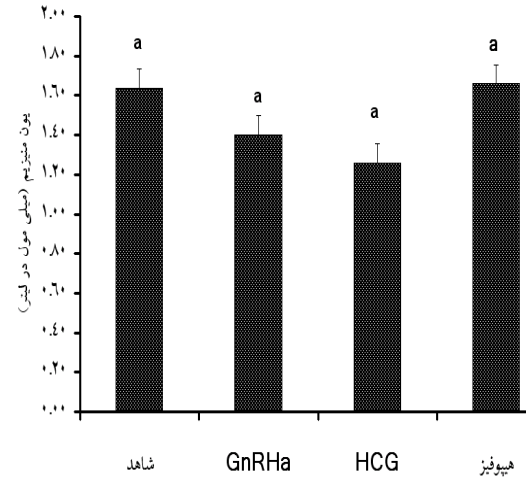
www.SID.ir



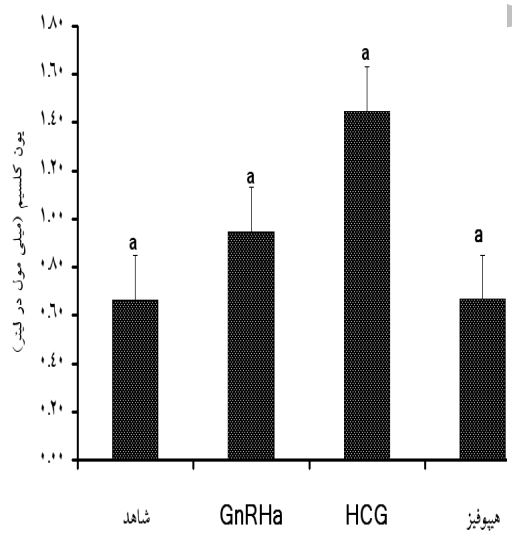
نمودار 1- مقایسه میانگین غلظت یون سدیم بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح 0/05 می باشد)



نمودار 2- مقایسه میانگین غلظت یون پتاسیم بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح 0/01 می باشد)



نمودار 3- مقایسه میانگین غلظت یون منیزیم بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز (حروف انگلیسی همسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد)



نمودار 4- مقایسه میانگین غلظت یون کلسیم بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز

www.SID.ir

برای اندازه گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر(Jenway pfp 7, England) استفاده گردید، برای این کار ابتدا میزان جذب شعله تحت تأثیر غلظتهای مختلف استاندارد خوانده و توسط نرم افزارExcel معادله رگرسیونی آن ترسیم و غلظت های سدیم و پتاسیم در پلاسمای اسپرمی محاسبه شد.

روش تجزیه و تحلیل: شیوه نمونه برداری به صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. داده های به دست آمده در ارتباط با یونهای سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و ترکیبات آلی پروتئین کل، کلسترول و گلوکز در چهار گروه شاهد، تزریق HCG، GnRHa و تزریق عصاره هیپوفیز توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) به کمک آزمون دانت در سطح 95 درصد (α= 0/05)، با استفاده از نرم افزار SPSS با یکدیگر مقایسه شدند.

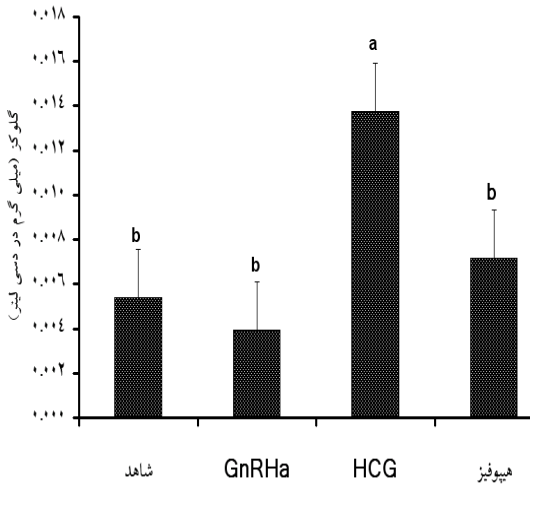
نتایج

پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی ماهی قرمزتحت تأثیر تیمارهای مختلف در جدول 1 نمایش داده شده است.

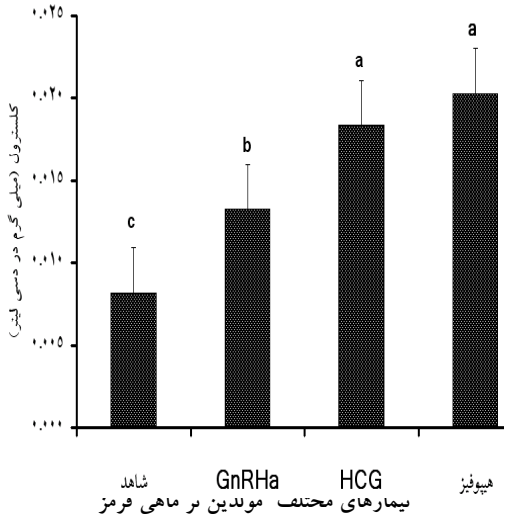
پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی

غلظت یونهای سدیم و پتاسیم: نتایج آنالیز واریانس و مقایسه غلظت یونهای سدیم و پتاسیم پلاسمای اسپرمی بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز در جدول 1 و نمودارهای 1و2 نشان داده شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می شود، بین غلظت یون سدیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد (P <0/05). همچنین بین غلظت یون پتاسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد (P <0/01). به گونه ای که بالاترین مقدار یون پتاسیم در گروه شاهد مشاهده می‌گردد.

غلظت یونهای کلسیم و منیزیم: همانگونه که در جدول 1 و نمودارهای 3و4 مشاهده می شود، بین غلظت یونهای کلسیم و منیزیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (P >0/05).



(حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف



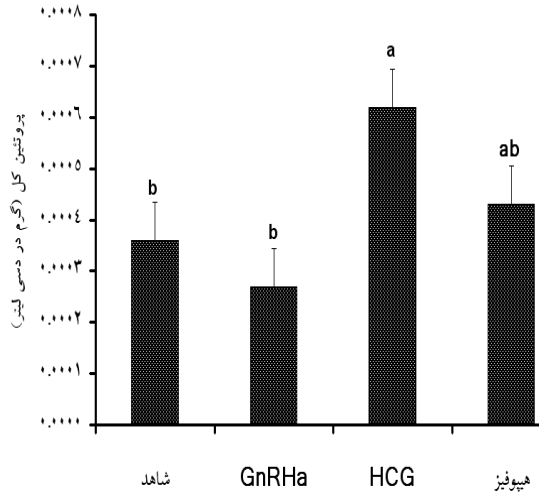
(حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف

www.SID.ir

معنی دار در سطح 0/05 می باشد)

گلوکز و کلسترول: نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میزان گلوکز و کلسترول پلاسمای اسپرمی بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز در جدول 1 و نمودارهای 5 و 6 نشان داده شده است. همانگونه که در جدول 1 و نمودارهای 5 و 6 مشاهده می‌شود، بین میزان گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد (P <0/05). به گونه ای که بالاترین میزان گلوکز در تیمار سوم (HCG) مشاهده می شود. همچنین بین میزان کلسترول در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد (P<0/01). به گونه ای که میزان کلسترول در تیمارهای سوم (HCG)و چهارم (هیپوفیز) نسبت به تیمارهای اول ودوم بالاتر است.

پروتئین کل: همانگونه که در جدول 1ونمودار7 مشاهده می شود، بین میزان پروتئین کل در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجودداشت (P <0/05). به گونه ای که بالاترین میزان پروتئین کل در تیمار سوم (HCG) مشاهده شد.



نمودار 7- مقایسه میانگین پروتئین کل، بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح 0/05 می باشد)

معنی دار در سطح 0/01 می باشد)

بحث

بسیاری از ماهیها در زمان پرورش به دلیل کاهش هورمونهای استروئیدی در روند تولیدمثلی خود دچار نقصان می شوند، در برخی از مواقع تنها راه کنترل تولید مثل در ماهیهای پرورشی استفاده از هورمون ها به منظور افزایش سطح هورمونهای استروئیدی همچون تستوسترون و 11 کتوتستوسترون جهت القای تولید مثل امری ضروری است (24). در شرایط اسارت استفاده از هورمونها جهت فرایند تولید مثل به طور معنی داری در افزایش سطح 17آلفا-20بتا-دی هیدروکسی پروژسترون دخالت دارند (8). زیانگ و همکاران (1997)، گزارش کردند که استفاده ازهورمون 17آلفا-20بتا-دی هیدروکسی پروژسترون بصورت معنی داری باعث تغییر در ترکیبات اسپرم ماهی قرمز می شود (23). مطالعه حاضر نشان داد که هورمونهای GnRHa، HCG و عصاره هیپوفیز تأثیر معنی داری روی پارامترهای بیوشیمیایی مایع سمینال در ماهی قرمز دارند. طبق مشاهدات این تحقیق هورمونهای GnRHa وHCG بطور معنی داری باعث افزایش غلظت یون سدیم مایع سمینال در ماهی قرمز شدند (به ترتیب 15/04± 202/33 و10/69±195/66 میلی مول در لیتر)، که با مطالعات صورت گرفته توسط کلیرواتر و کرایم (1998) همخوانی داشت، این محققین نشان دادند تزریق هورمون GnRHa باعث افزایش غلظت هورمون آندروژن در نهایت تغییردر ترکیبات اسپرم در گونه کفشک زرد باله (*Pleuronectes ferruineus*) می شود (9). همچنین غلظت یون سدیم در گروه شاهد نسبت به تزریق عصاره هیپوفیز بالاتر بود. (به ترتیب 12/50 ±214/33 و 68/23± 116/66 میلی مول در لیتر). موریساوا و همکاران در سال 1983 نشان دادند در صورت افزایش بیش از حد یون سدیم طول تحرک و

Archive of SID
www.SID.ir

تعداد اسپرماتوزوآی متحرک کاهش خواهد یافت بخصوص زمانی که میزان آن بین 150-0 میلی مول در لیتر باشد (16). همچنین بین غلظت یون پتاسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجودداشت ($P<0/01$). به گونه ای که بالاترین مقدار یون پتاسیم در گروه شاهد مشاهده شد (1/24 ±31/40 میلی مول در لیتر)، بنابراین می توان نتیجه گرفت که غلظت یون پتاسیم در مایع سمینال ماهی قرمز نسبت به سایر ماهیان همچون آزاد ماهیان*(Salmonidae)* و ماهیان خاویاری (*Acipenseridae*) بالاتر می باشد، که با مطالعه مروری صورت گرفته توسط علوی و کوسون (2006) همخوانی دارد. این محققین نشان دادند غلظت یون پتاسیم در اسپرم کپور ماهیان *(Cyprinidae)*، (3/72 ±78/87 میلی مول در لیتر) نسبت به آزاد ماهیان و ماهیان خاویاری (به ترتیب 4/5 ±30/4 و 0/3±2/5 میلی مول در لیتر) بالاتر می باشد، همچنین گونه هایی که اسپرم آنها دارای پتاسیم بالایی می باشد، درصد لقاح نیز در این گونه ها بالاتر می باشد که این مکانیسم نیازمند مطالعه بیشتر می باشد (4). مطالعات صورت گرفته توسط لیم و همکاران (2002)، در گونه کفشک(*Platichthys stellatus*) نشان داد غلظت پتاسیم پلاسمای سمینال در گروه شاهد نسبت به گروه تزریق شده توسط هورمون GnRHa بالاتر است (14). همچنین مطالعات کاولسکی و همکاران (2006) در گونه European smelr *(Osmelus eperlamus L.)* نشان داد، تزریق هورمون HCG تأثیری روی یونهای سدیم و پتایسم مایع سمینال در این گونه ندارد (13). موریساوا و همکاران در سال 1983 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 (16)، که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین سکر و همکاران در سال 2004 نشان دادند بین در صد اسپرم های متحرک با یون های سدیم و پتاسیم ارتباط مستقیمی وجود دارد، بگونه ای که پایین بودن غلظت یونهای سدیم و پتاسیم باعث کاهش درصد اسپرم های متحرک در نتیجه کاهش کیفیت اسپرم می شود (21). مطالعات موریساوا و همکاران در سال 1983 نشان داد عامل اصلی ممانعت کننده تحرک اسپرم در آزاد ماهیان و ماهیان خاویاری پتاسیم خارج سلولی می باشد، در صورتی که یون های پتاسیم سرعت حرکت اسپرم را در کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* افزایش می دهند، این نتایج اساساً نشان می دهد که اسپرم کپورماهیان نسبت به آزادماهیان به یون پتاسیم حساسیت کمتری دارد، یونهایی مانند سدیم، کلسیم و منیزیم اثر بازدارندگی یون پتاسیم را خنثی کرده و کاتیونهای دو ظرفیتی نسبت به سدیم بسیار مؤثرترند (16). در این تحقیق، بین غلظت یونهای کلسیم و منیزیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0/05$). اطلاعات در رابطه با عملکرد یون منیزیم در اسپرم ماهیان محدود می باشد، در مورد ماهیان خاویاری ثابت شده، اگر غلظت یون منیزیم به 15میلی مول در لیتر برسد تأثیر منفی روی تحرک اسپرم خواهد داشت (3). بیلارد و کوسون در سال 1992 گزارش کردند که غلظت بالای یون کلسیم الگوی حرکت اسپرماتوزوآ را تا حدودی تغییر می دهد به گونه ای که با حضور این یون به مقدار زیاد قطر مسیر حرکت اسپرم کمتر شده اما مدت زمان کل حرکت افزایش می یابد (7). همچنین علوی و کوسون در سال 2006 نشان دادند که افزایش کلسیم درون سلولی در نتیجه افزایش کلیسم خارج سلولی می باشد که این پدیده جهت شروع حرکت آغازین اسپرم امری ضروری می باشد (4). از طرفی دیگر مطالعات پرچز و همکاران (1997)، نشان داد که حرکت آغازین اسپرم کپورماهیان به غلظت کلسیم خارج سلولی بستگی دارد (18). با توجه به اطلاعات محدود در مورد ترکیبات آلی اسپرم ماهیان، سکر و همکاران (2004) گزارش کردند نقش پروتئین، گلوکز و کلسترول در اسپرم ماهیان ناشناخته است. اما همین اطلاعات محدود در این زمینه نشان داده

Archive of SID

www.SID.ir

که پروتئین و کلسترول می توانند نقش حفاظتی در اسپرم داشته باشد بخصوص در مورد تغییرات دمایی، زمانی اسپرم از مجرای اسپرم بر وارد محیط بیرونی می شود، در صورتی که گلوکز به عنوان یک منبع انرژی زا در طی فرایند اسپرم سازی می تواند نقش داشته باشد (21). در این تحقیق بین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت ($P<0/05$)، به گونه ای که بالاترین میزان پروتئین کل و گلوکز در تیمار سوم (HCG) مشاهده گردید(به ترتیب 0/001±0/06گرم در دسی لیتر و 0/04±0/13 میلی گرم در دسی لیتر). در صورتی که مطالات صورت گرفته توسط لیم و همکاران (2002)، در گونه کفشک(*Platichthys stellatus*) نشان داد پروتئین کل پلاسمای سمینال در گروه شاهد نسبت به گروه تزریق شده توسط هورمون GnRHa بالاتر بوده است (14). همچنین بین میزان کلسترول در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری وجودداشت ($P<0/01$)، به گونه ای که میزان کلسترول در تیمارهای سوم (HCG) و چهارم(هیپوفیز) نسبت به تیمارهای اول ودوم بالاتر بود.

در این تحقیق مشاهده شد هورمونهای مختلف عملکرد متفاوتی روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز دارند، به طوری که هورمون(HCG) نسبت به سایر هورمونها تأثیر معنی داری روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز دارد.

سپاسگزاری: از مسئولین آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنماییهای لازم در این تحقیق تشکر و قدر دانی می گردد.

منابع

1- ایمانپور، م.ر. و کمالی، ا. 1385. بررسی تکثیر مصنوعی و پرورش لارو های ماهی **قرمز** *Carassius auratus gibelio* توسط HCG . مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، سال(13)، شماره(2).

2- وثوق، غ.ح. و مستجیر، ب.1373. ماهیان آب شیرین . انتشارات دانشگاه تهران، 317ص.

3- Alavi, S.M.H., and Cosson, J., 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Aquacult Res 36, 841-850.

4- 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.

5- 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.

6- Battaglene, S.C., and Talbot, R.B., 1994. Hormone injection and larval rearing of muloway Argvrosomus hololepidotus (Pisces: Sciaenidae). Aquaculture 129, 73-81.

7- Billard R. and Cosson, J., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J Exp Zool. 261,122-131.

8- 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.

9- Clearwater, S.J.and Crim, L.W., 1998. Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*. Fish Physiol. Biochem. 19, 349–357.

10- Garcia, L.M.B., 1993. Sustained production of milt in rabbit fish, *Siganus guttatus Bloch*, by weekly injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa). Aquaculture 113, 261– 267.

11- Harmin, S.A. and Crim, L.W., 1993. Influence of gonadotropin hormone-releasing hormone analog GnRH-a on plasma sex steroid profiles and milt production in male winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). Fish Physiol. Biochem. 10, 399–407.

Archive of SID
www.SID.ir

12- King, H.R.and Young, G., 2001. Milt production by non-permeating male Atlantic salmon (*Salmo salar*) after injection of a commercial gonadotropin releasing hormone analog preparation, 17a-dihydroxy-4-pregnen-3-one, alone or in combination. Aquaculture 193, 179–195.

13- Kowalski, R.K., Hliwa, A., Andronowska, A., Król, J., Dietrich, G.J., Wojtczak, M., Stabiński, R., and Ciereszko, A., 2006. Semen biology and stimulation of milt production in the European smelt *(Osmerus eperlanus L.)*.Aquaculture 261, 760-770.

14- Lim, H.K., Han, H.S.and Chang, Y.J., 2002. Effects of gonadotropin-releasing hormone analog on milt production enhancement in starry flounder *Platichthys stellatus*. Fish. Sci. 68, 1197–1204.

15- Lim, H.K., Pankhurst, N.W.and Fitzgibbon, Q.P., 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder (*Rhombosolea tapirina)*.Aquaculture 240, 505–516.

16- 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; 107:95e103.

17- Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y.and Zohar, Y., 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHa-delivery system. Aquaculture153, 301– 313.

18- Perchec-Poupard, G., Gatti, J.L., Cosson, J., Jeulin, C., Fierville, F., and Billard, R., 1997. Effects of extracellular environment on the osmotic signal transduction involved in activation of motility of carp spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 110, pp 315–327.

19- Roberta, S., Loredana, Z., Sebastiano, V., and Christian, F., 2006. Human chorionic gonadotropin induces spermatogenesis and spermiation in 1- year – old European sea bass (*Dicentrarchu s labrax*): Assessment of sperm quality Aquaculture 255, 522-531.

20- 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.

21- 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.

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

23- Zheng, W., Strobeck, C. and Stacey, N.E., 1997. The steroid pheromone 17_, 20_- idhydroxy-4-pregnen-3-one increases fertility and paternity in goldfish. J. Exp.Biol. 200, 2833_2840.

24- Zohar, Y.and Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture 197, 99–136.

Archive of SID

www.SID.ir

The effects of GnRHa, HCG and pituitary extract on biochemical parameters of seminal plasma in goldfish (*Carassius auratus gibelio*)

Zadmajid V., Imanpoor M.R., Soudagar M., and Shabani A.

Fisheries Dept., Faculty of Fisheries, University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, I.R. of IRAN

Abstract

In this study, the effects of hormonal GnRHa, HCG and pituitary extract injection on biochemical parameters of seminal plasma (Na^+, K^+, Ca^+, Mg^{2+}, total protein, cholesterol and glucose) in goldfish *(Carassius auratus)* males were compared. Fish injected with hormonal GnRHa, HCG and pituitary extract with 10µg kg^{-1}, 1500 IU/Kg−1, 3mg/Kg−1 respectively. There were a highly significant difference of seminal plasma Na^+ among treatments (p<0/05), as the highest value of Na^+ observed in GnRHa and HCG treatment (202.33±15.04, 195.66±10.69 mmol/l respectively). There was a highly significant difference in K^+ among treatments (p<0/01) as the highest value of K^+ observed in control group (31.40±1.24 mmol/l), but There were no significant difference in Ca^+ and Mg^{2+} among treatments (p>0/05). There was a highly significant difference of seminal plasma total protein and glucose among treatments (p<0/05), as the highest value of total protein and glucose observed in HCG treatment (0.06±0.001 g/dl, 0.13±0.04 mg/dl respectively). Also There were a highly significant difference of seminal plasma cholesterol among treatments (p<0/01), as the highest value of cholesterol observed in HCG and pituitary extract treatment (0.018±0.001, 0.020±0.003 mg/dl respectively). The present study demonstrated that GnRHa, HCG and pituitary extract have different effects on biochemical parameters of seminal plasma in goldfish, and HCG have more effect on biochemical parameters of sperm than GnRHa and pituitary extract.

Keywords: Goldfish, GnRHa, HCG, Pituitary extract, Biochemical parameters

Archive of SID

www.SID.ir