

اثر ترکیبات یونی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی سفید (*Rutilus frisii*) *kutum kamnesky 1901* مهاجر به رودخانه سفید رود

سیده زهرا فلاح شمسی^{(۱)*}؛ شعبانعلی نظامی^(۲)؛ حسین خارا^(۳)؛ شهروز برادران نویر^(۳)؛ علیرضا علیپور^(۳)؛

نرگس علیجانپور^(۴)؛ کاوه امیری^(۴)

Zahra.falah52@Yahoo.com

۱- دانشجوی کارشناس ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان و عضو باشگاه پژوهشگران جوان واحد

لاهیجان. کد پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی. کد پستی: ۱۶۱۶

۳- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان

۴- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. کد پستی: ۱۶۱۶

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۹

چکیده

در این پژوهش برخی از ترکیبات یونی مولدین ماهی سفید و روابط آنها با کارایی تکثیر مصنوعی و عوامل اسپرم شناختی مورد بررسی قرار گرفت به طوری که در ۲۰ نمونه از مولدین نر که ۱۰ عدد ۳ ساله و ۱۰ عدد ۴ ساله بودند میانگین و انحراف معیار یون ها در ماهیان ۳ و ۴ ساله مورد بررسی به ترتیب $96 \pm 5/7$ meq/l و $96/6 \pm 6/4$ سدیم، $32 \pm 1/6$ meq/l و $34/5 \pm 2/4$ پتاسیم، $1/43 \pm 1/23$ و $3/58 \pm 1/02$ کلسیم، $2/25 \pm 0/62$ meq/l و $2/27 \pm 0/47$ منیزیم، $10/7/3 \pm 7/68$ و $10/0/1 \pm 7/95$ meq/l کلر بدست آمد. ارتباط یون های پتاسیم، کلر با درصد لقاح و درصد تفریح مثبت و مستقیم بود ولی ارتباط سدیم، منیزیم و کلسیم با درصد لقاح و درصد تفریح منفی و عکس به دست آمد.

کلمات کلیدی: ماهی سفید، ترکیبات یونی، پارامترهای اسپرم شناختی، مایع اسپرمی.



۱. مقدمه

ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) یکی از ماهیان با ارزش و منحصر به فرد در دنیا است که تنها در دریای خزر و برخی از رودخانه های منتهی به آن وجود دارد و زیستگاه اصلی آن مربوط به بخش جنوبی این حوضه آبریز به خصوص سواحل ایران می باشد (۵، ۷، ۱۰). مهمترین شاخص کیفیت اسپرم همان تحرک اسپرم است که ترکیباتی مثل K عامل بازدارنده تحرک بوده و میزان درصد و مدت زمان تحرک را کاهش می دهد. Ca, Na, Mg نیز عامل فعال کننده تحرک بوده و باعث افزایش درصد و مدت زمان تحرک می شوند (۴، ۹). در بیشتر گونه های مطالعه شده ۵ یون در پلاسما سمیثال دیده شده اند که شامل یون های سدیم، پتاسیم، کلر، کلسیم و منیزیم می باشد که میزان آنها از گونه ای به گونه دیگر متغیر است و محدوده مناسب هر کدام از این یون ها می تواند بهترین شرایط اسپرماتوزوا باشد و تغییر هر کدام از آنها باعث تغییر در کیفیت و توان باروری اسپرماتوزوا می شود. بنابراین با توجه به مطالب فوق و یافته های مختلف علمی و اهمیت این ماهی به منظور افزایش درصد لقاح و بهبود کیفیت و سلامت لاروهای ظاهر شده، در نهایت افزایش کارایی تکثیر مصنوعی بحث کنترل مولدین نر ماهی سفید و بررسی توان باروری آنها ضروری و موثر به نظر می رسد. لذا در این تحقیق وضعیت مولدین نر از لحاظ پارامترهای یونی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت تاثیر متقابل این شاخص ها بر کارایی تکثیر مصنوعی مورد ارزیابی قرار خواهیم داد.

۲. مواد و روش ها

این پژوهش در نیمه اول فروردین ماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت صورت پذیرفت. در این پژوهش ترکیبات یونی اسپرم مولدین ماهی سفید مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از مولدینی که از رودخانه سفید رود صید شده و به این مرکز منتقل شده بودند بعد از تعیین

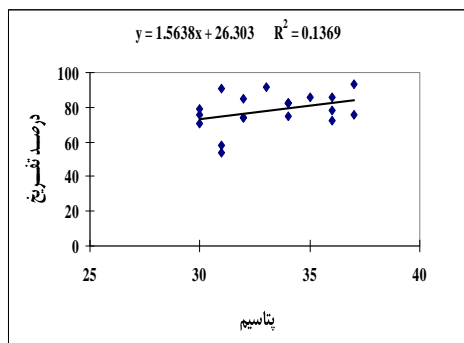
سن تعداد ۱۰ عدد مولد نر ۳ ساله و ۱۰ عدد مولد نر ۴ ساله و ۱۰ عدد مولد ماده ۴ ساله از جمعیت مولدین انتخاب شدند. برای انجام لقاح تخم ۱۰ عدد مولد ماده ۴ ساله را با هم مخلوط کرده و یک مخلوط همگنی از تخم ها به دست آمد و حدود ۴۰ گرم تخم در داخل ۲۰ تشت ریخته شد نحوه ی اسپرم گیری به این صورت بود که بلافاصله پس از صید مولدین ۳ و ۴ ساله ناحیه سوراخ تناسلی آنها خشک گردید، سپس با فشار آرام به ناحیه ی شکمی مایع اسپرمی بدون مخلوط شدن با ادرار و فضولات در اپندورف جمع آوری و مقداری از اسپرم نیز به تشت های حاوی تخم برای انجام لقاح اضافه و اپندورف های حاوی اسپرم در داخل یخ قرار داده و برای بررسی ترکیبات یونی به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای بررسی ترکیبات یونی نظیر Na, K, Cl از دستگاه الکتروانالایزر به روش ISE استفاده گردید و همچنین برای اندازه گیری Mg و Ca نیز از دستگاه اتونالایزر Technicon و به روش Colorimetric استفاده شد.

۳. نتایج

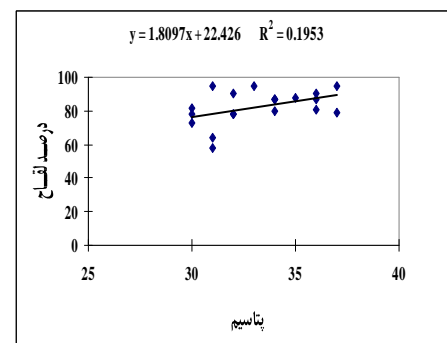
نتایج میانگین و انحراف معیار پارامترهای یونی اسپرم ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفید رود در جدول ۱ نشان داده شده است. در پژوهش حاضر بین یون پتاسیم با سن مولدین (۳ و ۴ ساله) اختلاف معنی دار آماری وجود داشت ($P < 0.05$). ولی ارتباط سدیم، کلسیم، منیزیم و کلر با سن مولدین (۳ و ۴ ساله) دارای اختلاف معنی دار آماری نبود ($P > 0.05$). در تحقیق حاضر ارتباط بین یون پتاسیم و کلر با پارامترهای تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح و درصد تفریح مثبت به دست آمد (شکل ۱، ۲، ۳، ۴). ولی ارتباط بین یون های کلسیم، سدیم و منیزیم با درصد لقاح و درصد تفریح منفی و عکس به دست آمد. همچنین اثر یون کلسیم و منیزیم بر پارامترهای اسپرم شناختی (اسمولاریته، اسپرماتوکریت، درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرم) منفی و عکس به دست آمد ($P > 0.05$). ولی یون سدیم و کلر اثرات مثبت و مستقیمی بر پارامترهای اسپرم داشتند.

جدول ۱: آمار توصیفی شاخص های یونی اسپرم ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)

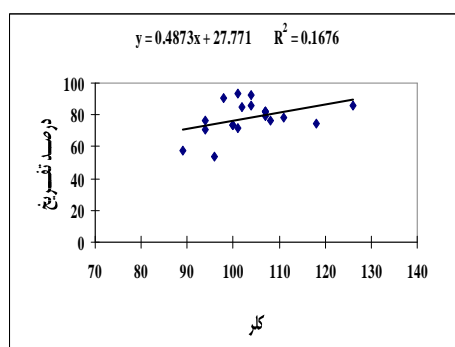
متغیرها	سن	میانگین \pm انحراف معیار	حداقل	حداکثر
سدیم	۳	۹۶ \pm ۵/۷	۸۷	۱۰۷
سدیم	۴	۹۶/۶ \pm ۶/۴	۸۵	۱۰۷
پتاسیم	۳	۳۲ \pm ۱/۶	۳۰	۳۵
پتاسیم	۴	۳۴/۵ \pm ۲/۴	۳۰	۳۷
کلسیم	۳	۴/۲۳ \pm ۱/۴۳	۲/۵	۷/۹
کلسیم	۴	۳/۵۸ \pm ۱/۰۲	۲/۳	۵/۷
منیزیم	۳	۲/۲۵ \pm ۰/۶۲	۱	۲/۸
منیزیم	۴	۲/۲۷ \pm ۰/۴۷	۱/۴	۲/۹
کلر	۳	۱۰۰/۱ \pm ۷/۹۵	۸۹	۱۱۸
کلر	۴	۱۰۷/۳ \pm ۷/۶۸	۹۸	۱۲۶



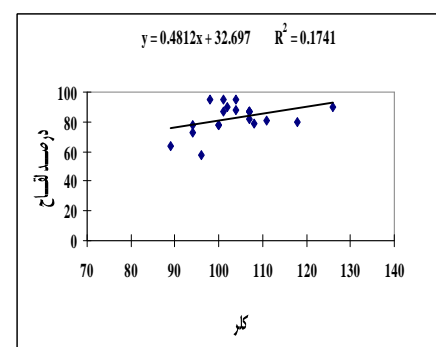
شکل ۲: رابطه رگرسیونی پتاسیم با درصد تفریخ



شکل ۱: رابطه رگرسیونی پتاسیم با درصد لقاخ



شکل ۴: رابطه رگرسیونی کلر با درصد تفریخ



شکل ۳: رابطه رگرسیونی کلر با درصد لقاخ

۴. بحث

در پژوهش حاضر نتایج نشان دادند که یون کلسیم و منیزیم دارای اثرات منفی بر روی اسمولاریته، اسپرماتوکریت، درصد تحرک، مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرم دارند. یعنی با افزایش یون کلسیم و منیزیم خصوصیات اسپرم شناختی کاهش می یابد و با کاهش پارامترهای اسپرم شناختی میزان یون کلسیم و منیزیم افزایش می یابد. همچنین براساس نتایج به دست آمده در این تحقیق ثابت گردید که یون پتاسیم دارای اثرات مثبت بر مدت زمان تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و اسمولاریته می باشد ولی اثر پتاسیم بر اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم منفی و عکس می باشد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که یون سدیم و کلر دارای اثرات مثبت و مستقیمی بر پارامترهای اسپرم شناختی نظیر اسمولاریته، اسپرماتوکریت، مدت زمان تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم می باشد.

بررسی ها نشان دادند که یون کلسیم و منیزیم دارای اثرات منفی بر تراکم اسپرم ماهی آزاد دریای خزر می باشد ولی ارتباط کلسیم و منیزیم با اسپرماتوکریت مثبت و مستقیم است. همچنین بیان نمود یون سدیم موجود در پلاسما اسپرم با تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت رابطه مثبت و مستقیم دارد (۳). این موضوع و رابطه مثبت و مستقیم بین سدیم و اسپرماتوکریت در ماهی شیب نیز به اثبات رسیده است (۲).

بیشترین زمان تحرک اسپرم را به محلول های فعال کننده حاوی سدیم نسبت دادند و اعلام کردند که یون سدیم باعث تقویت تحرک اسپرم می شود (۱).

همچنین در تحقیق حاضر اثر یون کلسیم و منیزیم بر پارامترهای تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح مثبت ارزیابی شده است ولی بر پارامترهای دیگر تکثیر مانند درصد تفریح، اندازه لارو و تعداد در گرم لارو منفی و عکس ارزیابی شده است. همچنین تاثیر یون سدیم بر کارایی تکثیر مانند درصد لقاح، درصد تفریح و اندازه لارو منفی و عکس به دست آمده است. همچنین ثابت شد که اثر یون کلر بر پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند

درصد لقاح و درصد تفریح مثبت ارزیابی شده است. همچنین رابطه بین یون پتاسیم با درصد لقاح، درصد تفریح و اندازه لارو مثبت و مستقیم می باشد.

تاثیر یون کلسیم و سدیم بر پارامترهای تکثیر مانند درصد لقاح، درصد چشم زدگی و درصد تخم گشایی ماهی آزاد دریای خزر منفی به دست آمد ولی تاثیر یون منیزیم و پتاسیم بر درصد لقاح، چشم زدگی و هج مثبت و مستقیم بوده است (۳).

همچنین اثر افزایش یون کلسیم و اثرات مثبت آن بر میزان درصد لقاح، درصد چشم زدگی و درصد تخم گشایی در قزل آلاهی رنگین کمان به اثبات رسید که افزایش یون کلسیم محیط درصد لقاح، درصد چشم زدگی و درصد تخم گشایی را افزایش می دهد (۱).

در ماهی *Brycon henni* ثابت کردند که افزایش یون کلسیم باعث کاهش فعالیت اسپرم و در نهایت کاهش کارایی تکثیر می شود. همچنین طولانی ترین دوره تحرک اسپرم و به دنبال آن بهترین درصد لقاح، چشم زدگی و هج هنگامی به دست آمد که رقیق سازی اسپرم در محلول حاوی منیزیم انجام شد در تحقیقی که بر روی *(Brycon henni)* انجام دادند نتیجه ای کاملاً مشابه با تحقیق کنونی بر روی ماهی سفید به دست آوردند و بیان کردند که یون پتاسیم در منی ماهی بریکون هنی باعث فعالیت بیشتر اسپرماتوزوا شده و در نتیجه کارایی لقاح را افزایش می دهد (۹).

در تاس ماهی ایرانی (*A. presicus*) ثابت کردند که افزایش یون کلسیم یک عامل منفی در تحرک اسپرماتوزوا و در نتیجه کارایی تکثیر است همچنین نیز یون منیزیم عامل مثبتی تلقی شده و باعث افزایش کارایی تکثیر می شود. اما افزایش بیش از حد آن (10Mm) باعث افت و کاهش کارایی تکثیر می شود همچنین با افزایش غلظت یون سدیم از درصد اسپرماتوزوای متحرک و مدت زمان تحرک کاسته خواهد شد که به طبع با کاهش کارایی تکثیر مصنوعی همراه است و مشابه نتایج به دست آمده در این

۳- متاجی، ع. ا. ۱۳۸۹. اثر ترکیب یونی و بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). پایانامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc.) گرایش شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ص ۱۲۷.

4- Alavi, M. Mojazi amiri, B. Akhoundzadeh, M. 2004. spermatozoa 41enna41ty in the Persian sturgeon: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. Journal. Reproduction 128: 819-828.

5-Derzhavin, A. E. 1951. Essay of the history of the Caspian sea and fresh water bodies of Azerbaijan. Animal kingdom of Azerbaijan, pp: 34-83.

6-He, S. Jenkins, K. 2004. Activation of sperm motility in striped bass via a CAMP-independent pathway. Theriogenology 61, 1487-1498.

7-Razavi, S. 1997. Breeding and rearing of Black Sea roach in Islamic Republic of Iran. The Congress of Ichthyologists of Russia. Book of abstracts. VNIRO Press. Moscow, 452p.

8-Secer, S.; Tekin, N.; Bozkurt, Y.; Bukan, N.; and Akcay, E.; 2004; Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen. The Israeli of Aquaculture- Bamidgheh 56(4), 2004, 274-280.

9- Tabares, J. Ruiz, T. Arboleda, L. Olivera, M. 2007. Effect of some ions on sperm activation in *brycon 41enna*. Journal. acta boil. Colom. Vol. 12n.1, 87-98.

10-Tamarin, A.E., and Kulive, Z.M. 1989. Black Sea roach. In: Caspian Sea: Ichthyofauna and commercial stocks. Nauka Press. Moscow, pp: 144-145.

تحقیق است همچنین بیان نمودند که پتاسیم نقش بازدارندگی تحرک اسپرم را دارد (۴).

اثر یون منیزیم بر میزان و مدت زمان تحرک اسپرم و در نهایت کارایی تکثیر در ماهی سیم دریایی (Sea bass) مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه بدست آمده حاکی از این بود که یون منیزیم دارای تاثیر مثبتی بر کارایی تکثیر است و افزایش آن باعث افزایش درصد (لقاح، چشم زدگی و هچ) شده و کاهش آن نیز کاهش درصد (لقاح، چشم زدگی و هچ) را به همراه خواهد داشت (۶).

در پژوهشی که رابطه ی بین پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی در نطفه ماهی قزل آلا ی رنگین کمان انجام گرفت به این نتیجه رسیدند که روابط مثبتی بین Cl^- و Na^+ ($P < 0.05$)، $t = 0.732$) وجود داشته و همچنین بیان نمودند الکترولیت ها (بویژه Cl^- و Na^+) زیست پذیری اسپرم را تضمین می کنند یون K^+ و Na^+ با درصد های کم اسپرماتوزوئید های متحرک مرتبط هستند بعلاوه Ca^{2+} و Mg^{2+} سهم قابل توجهی در ساخت یونی پلاسما ی سمینال دارند (۸).

تشکر و قدردانی

از مسئولان محترم مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر شهید انصاری و کلیه عزیزانی که در فراهم ساختن شرایط لازم برای انجام این پروژه ما را همیاری نمودند صمیمانه سپاسگزارم.

منابع

- ۱- حسینی، ش. ۱۳۸۷. تاثیر محلول های فعال کننده اسپرم بر بهبود کارایی تولید مثل ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در اواخر فصل تکثیر. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده منابع طبیعی - شیلات. ص ۹۲.
- ۲- شالویی، ف. ایمانپور، م. شعبانی، ع. باغفلکی، م. ۱۳۸۶. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد پانزدهم، شماره اول، ویژه نامه منابع طبیعی. ص ۵.