آثار نسبتهاي يوني روي خصوصيات زيست‌شناختي سمن در ماهي سفيد (*Rutilus frisii kutum* kamensky۱۹۰۱) مهاجر به رودخانه شيرود

شارمين تكه[۱]*, محمدرضا ايمانپور[۲], محمد سوداگر[۳], علي شعباني[۴]

۱- دانش‌آموخته كارشناسي ارشد شيلات, دانشگاه علوم كشاورزي و منابع طبيعي گرگان
۲- دانشيار, گروه شيلات, دانشگاه علوم كشاورزي و منابع طبيعي گرگان
۳- استاديار, گروه شيلات, دانشگاه علوم كشاورزي و منابع طبيعي گرگان
٤- استاديار, گروه شيلات, دانشگاه علوم كشاورزي و منابع طبيعي گرگان

چكيده

اثرات نسبتهای یونی سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم روی خصوصیات زیست‌شناختی سمن ۲۱ نمونه ماهی نر سفید در زمان مهاجرت تولیدمثلی بررسی گردید. کلیه نسبتهای یونی براساس میلی مول در ۳ تیمار بررسی شدند: سدیم به پتاسیم (تیمار۱: ۸-۳، تیمار۲: ۱۳-۸ و تیمار۳: ۱۸-۱۳)؛ سدیم به کلسیم (تیمار۱: ۴۰۰-۱۰۰، ۷۰۰-۴۰۰ و تیمار۳: ۱۰۰۰-۷۰۰)؛ سدیم به منیزیم (تیمار۱: ۱۲۰-۸۰ ، تیمار۲: ۱۶۰-۱۲۰ و تیمار۳: ۲۰۰-۱۶۰)؛ پتاسیم به کلسیم (تیمار۱: ۴۰-۱۰، تیمار۲: ۷۰-۴۰ و تیمار۳: ۱۰۰-۷۰)؛ پتاسیم به منیزیم (تیمار۱: ۱۹-۳، تیمار۲: ۳۵-۱۹ و تیمار۳: ۵۱-۳۵)؛ و کلسیم به منیزیم (تیمار۱: ۰/۳-۰/۱، تیمار۲: ۰/۶-۰/۳ و تیمار۳: ۰/۹-۰/۶). نتایج نشان داد که با افزایش نسبت سدیم به کلسیم سمن، طول دوره تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت (٪) کاهش معناداری داشت ($p<0/05$). نسبت سدیم به منیزیم اثرگذار بر منیزیم، سدیم و پروتئین کل؛ نسبت پتاسیم به کلسیم اثرگذار بر کلسیم و پروتئین کل همچنین نسبت پتاسیم به منیزیم بر گلوکز و منیزیم اثرگذار بودند. با توجه به تأثیر نسبتهای یونی روی این عوامل که از شاخصهای کیفی اسپرم است، نسبتهای یونی باید در کنار دیگر شاخصها برای انتخاب اسپرم با کیفیت مناسب در نظر گرفته شود.

کلید واژگان: نسبتهای یونی، شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی، سمن، ماهی سفید.

۱- مقدمه

کیفیت اسپرم معیاری برای اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح تخم است. بنابراین شاخصهایی که در امر لقاح تخم تأثیرگذارند جزء شاخصهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدان به کار رفته کمک کند. به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص باشد[۱]. برای این کار باید بیومارکرهای کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، اسمولاریتی، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرمهای متحرک) که مستقیماً روی توانایی لقاح اسپرم مؤثرند, مشخص شود. در صنعت پرورش ماهی همواره بیشترین توجه به کیفیت تخم و لارو معطوف شده و نسبت به کیفیت اسپرم توجه کمتری شده است، در صورتی که کیفیت هر دو نوع گامت روی موفقیت لقاح و بقای لارو تأثیرگذار است[۲].

* نویسنده مسؤول مقاله: تلفن: ۳۳۵۲۱۵۹- ۰۱۷۱, Email: Shtakeh@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

سمن(یا میلت) عبارت است از اسپرم به همراه پلاسمای سمینال. پلاسمای سمینال(یا مایع سمینال) ترکیب منحصر به فردی دارد. برخی ترکیبات آن از اسپرم حفاظت می‌کند، در حالی که ترکیبات دیگر در تکثیر اسپرم نقش دارند [۳]. مایع سمینال از نظر یونها و مواد غذایی بسیار غنی است که برخی از آنها برای ابقا و نگهداری کیفیت اسپرم هنگام ذخیره شدن در شرایط غیرحرکتی در دستگاه تناسلی مهم می‌باشد. عوامل محیطی خارجی می‌توانند روی کیفیت و حرکت طی پروسه‌های فعالیت اثر بگذارند. عواملی نظیر پی- اچ یا یونهای موجود می‌توانند باعث پلاریزاسیون غشای سلولی و تحریک اسپرم ماهیان شوند[۴]. سمن (اسپرماتوزوآ و مایع سمینال) با کیفیت بالاتر می‌تواند قابلیت تکثیر مصنوعی را بهبود ببخشد[۵] و عواملی مثل تعداد اسپرماتوزوآ به ازای تخم، ترکیبات آلی و یونی سمن یا محیط می‌تواند بر موفقیت لقاح مؤثر باشد [۶، ۷].

در بسیاری از گونه‌ها غلظت اسپرم با رسیدن به انتهای فصل تکثیر کاهش می‌یابد [۸]. بنابراین، میزان تحرک پایین، میزان لقاح کم و کاهش قابلیت نگهداری کوتاه مدت اسپرم در انتهای فصل تکثیر گزارش شده است [۹]. اسپرم ماهی سفید نیز با استفاده از فن انجماد اسپرم بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که رقیق‌کننده Kurokura، با ترکیب کلرید کلسیم، کربنات سدیم، کلرید منیزیم، کلرید پتاسیم، کلرید و آب مقطر بهترین محلول رقیق‌کننده برای انجماد اسپرم این ماهی است [۱۰]. برخی شاخصهای اسپرم‌شناختی و موفقیت لقاح و کیفیت لاروهای ماهی سفید نیز بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که طول دوره حرکت اسپرم و درصد تحرک اسپرم و میزان لقاح در محلول نمکی (۱۵ میلی‌مول در لیتر کلرید سدیم، ۴۰ میلی‌مول در لیتر تریس اسیدی pH=۸) به طور معناداری افزایش می‌یابد ($p<۰/۰۵$) [۱۱].

بررسی مقایسه‌ای میانگین میزان تحرک (ثانیه) و درصد تحرک اسپرم، اسمولاریته اسپرم و تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید در مولدان نر ماهی سفید صید شده از چهار رودخانه شیرود، خشکرود، سفیدرود و چلوند نشان داد که با افزایش زمان تحرک اسپرماتوزوآ، درصد تحرک نیز افزایش می‌یابد ($p>۰/۰۵$). همچنین رابطه معناداری ($p<۰/۰۱$) بین اسمولاریته اسپرم و تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید مشاهده شد. نتایج این بررسی بیانگر آن است که با افزایش درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک این سلولها نیز افزایش می‌یابد و با کاهش اسمولاریته آب رودخانه‌ها از مصب به طرف بالادست، درصد سلولهای متحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئیدها افزایش نشان می‌دهند. از این رو به نظر می‌رسد براساس طبیعت آنادرومی مولدان ماهی سفید، افزایش فاصله مکان تکثیر تا دریا در منطقه بالادست رودخانه‌ها، سبب افزایش کمیت و کیفیت اسپرم مولدان شده و شانس موفقیت در تکثیر مصنوعی را نیز ارتقا خواهد بخشید [۱۲].

با توجه به مواردی که بیان شد با دانش صحیح از خصوصیات اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن و احتمالاً افزایش درصد لقاح، میزان تولید بیشتری از ماهی سفید دریاچه خزر را می‌توان انتظار داشت. از آنجا که نسبتهای یونی در ماهیان خصوصاً ماهی سفید که از ماهیان بومی و پر ارزش شیلاتی است بررسی نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی آثار هر یک از نسبتهای یونی روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در زمانهای مهاجرت تولیدمثلی ماهی سفید به رودخانه شیرود صورت گرفت.

۲- مواد و روش‌کار

این تحقیق از اسفند سال ۱۳۸۵ به مدت ۳ ماه در رودخانه شیرود (این رودخانه در فاصله ٦ کیلومتری غرب تنکابن و ۵۰۰ متری غرب شیرود به دریای خزر می‌ریزد) در استان مازندران صورت گرفت. به این منظور از ۲۱ ماهی نر طی زمانهای مهاجرت تولید مثلی، از اواسط اسفند تا اواسط اردیبهشت نمونه‌های اسپرم گرفته شد. به این طریق که ابتدا ناحیه سوراخ تناسلی با حوله نرم و تمیز خشک گردید[۱۳] سپس با یک فشار آرام به ناحیه شکمی(بیضه‌ها و مجرای اسپرمی) میلت بدون مخلوط شدن با ادرار و فضولات توسط سرنگهای ۵ میلی لیتری جمع‌آوری، در یخ نگهداری و بلافاصله (ظرف ۶ ساعت) برای اندازه‌گیری شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشمیایی سمن به آزمایشگاه دانشگاه علوم

Archive of SID
www.SID.ir

کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. ماهیان برحسب هر یک از نسبتهای یونی: نسبتهای یونی سدیم به پتاسیم به ۳ تیمار (تیمار۱: ۸-۳، تیمار۲: ۱۳-۸ و تیمار۳: ۱۸-۱۳)، سدیم به کلسیم (تیمار۱: ۴۰۰-۱۰۰، ۷۰۰-۴۰۰ و تیمار۳: ۱۰۰۰-۷۰۰)، سدیم به منیزیم (تیمار۱: ۱۲۰-۸۰، تیمار۲: ۱۶۰-۱۲۰ و تیمار۳: ۲۰۰-۱۶۰)، پتاسیم به کلسیم (تیمار۱: ۴۰-۱۰، تیمار ۲: ۷۰-۴۰ و تیمار۳: ۱۰۰-۷۰)، پتاسیم به منیزیم (تیمار۱: ۱۹-۳، تیمار۲: ۳۵-۱۹ و تیمار۳: ۵۱-۳۵) و کلسیم به منیزیم (تیمار۱: ۰/۳-۰/۱، تیمار۲: ۰/۶-۰/۳ و تیمار۳: ۰/۹-۰/۶) تقسیم شدند (واحد تیمارها بر حسب میلی‌مول می‌باشد).

برای اندازه‌گیری مدت زمان تحرک اسپرم از میکروسکوپ فاز کنتراست (Leica, USA) استفاده شد [۱۴]. سمن با رقیق‌کننده به نسبت ۱ به ۲۰۰۰ در اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری رقیق گردید و حرکت اسپرم با تأخیر زمانی کمتر از۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی که صددرصد اسپرمها از تحرک بازایستادند توسط دوربینCCD[1] متصل به میکروسکوپ ثبت شد. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار Adobe premiere هر ثانیه حرکتی اسپرم به ۱۲ قطعه عکس تبدیل شد، سپس در حدود ۲۵ اسپرم در زمینه دید انتخاب شد. اسپرمی متحرک اطلاق می‌شود که موقعیت مکانی آنها در این ۱۲ فریم تغییر کرده باشد[۱۵]. همه آزمایشها در سه تکرار و در درجه حرارت آزمایشگاه ۲۰-۲۲°C با میکروسکوپ فازکنتراست با درشت نمایی۱۰ و مشاهده نمونه روی لام صورت پذیرفت [۱۴]. برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، لوله‌های موئینه محتوی سمن مسدود شده با خمیر هماتوکریت در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس با هماتوکریت خوان[2] درصد اسپرم به پلاسمای سمن اندازه‌گیری شد [۱۶]. برای این منظور میانگین از۱۰ نمونه اسپرم در سه تکرار در هر دوره زمانی به عنوان مقدار اسپرماتوکریت ثبت شد. تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست زمینه سیاه با درشت‌نمایی۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد $\times 10^9$ در هر میلی‌لیتر سمن نوشته شد. میزان پی- اچ توسط پی اچ متر (pH-٤٦٢, Iran) اندازه‌گیری شد[۱].

اندازه‌گیری غلظت یون سدیم و پتاسیم با استفاده از کیت زیست شیمی انجام شد. ابتدا نمونه‌ها به نسبت ۱:۱۰۰ با شاهد (آب مقطر۲ بار تقطیر) آماده شد. شاهد در فلیم فتومتر[3] (Jenway PFPv, UK) قرار گرفت و دستگاه صفر شده، نمونه‌ها با آن خوانده شد. میزان کلسیم و منیزیم گلوکز، کلسترول و پروتئین به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر[4] اندازه‌گیری گردید. به این طریق که برای اندازه‌گیری غلظت یون کلسیم طبق دستورالعمل کیت کلسیم درمان کاو نمونه، استاندارد و شاهد آماده شد. دستگاه با شاهد صفر گردید و جذب نور در کووتهای استاندارد و نمونه در مقابل شاهد در طول موج ۵۷۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری یون منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل طبق دستورالعمل کیت پارس (مربوط به خود) نمونه, استاندارد و شاهد آماده شد. دستگاه با شاهد صفر گردید و جذب نور در کووتهای استاندارد و نمونه در مقابل شاهد به ترتیب در طول موجهای۵۲۰، ٥٤٦ و ٥٤٠ نانومتر خوانده شد.

نمونه‌برداری به صورت تصادفی انجام شد و روش آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی بود. تقسیم ماهیان برحسب هر یک از نسبتهای یونی تیمارهای این تحقیق و داده‌های به دست آمده طول دوره تحرک اسپرم، درصد اسپرمهای متحرک، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، پی- اچ، حجم اسپرم‌دهی، غلظت یونهای سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول به عنوان متغیرهای وابسته بودند و به کمک آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵٪ (α=۰/۰۵) توسط آنالیز واریانس یک طرفه[5] با استفاده از نرم‌افزار SPSS با یکدیگر مقایسه شدند.

۳- نتایج

جدول۱ مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت سدیم به پتاسیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن

1. Panasonic WV- CP240, Japan
2. Sigma 13, USA
3. Jenway PFP7, UK
4. WPA LightWave- Diode-array S2000 UV/Vis
5. One-Way ANOVA

Archive of SID
www.SID.ir

در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود را نشان می‌دهد. همانگونه که در جدول۱ مشاهده می‌شود غلظت یون پتاسیم در ۳ تیمار اختلاف معناداری داشت ($p<0/05$) اما دیگر شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ۳ تیمار اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$). در جدول ۲ همانگونه که مشاهده می‌شود طول دوره تحرک اسپرم و اسپرماتوکریت در ۳ تیمار اختلاف معناداری داشت($p<0/05$) . همچنین یون کلسیم نیز در ۳ تیمار اختلاف معناداری داشت ($p<0/01$). اما در سایر شاخصها، اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد($p>0/05$).

یون سدیم و پروتئین کل اختلاف معنادار($p<0/05$) و همچنین یون منیزیم در ۳ تیمار اختلاف معناداری داشت($p<0/01$) اما در شاخصهای دیگر اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد (جدول۳). یون کلسیم و پروتئین کل بین تیمارها، اختلاف معناداری داشت($p<0/05$). همچنین یون پتاسیم نیز در۳ تیمار اختلاف معناداری داشت ($p<0/01$) اما در شاخصهای دیگر اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد(جدول٤).

از مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت پتاسیم به منیزیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود، همانگونه که در جدول ۵ مشاهده می‌شود اسپرماتوکریت، منیزیم و گلوکز در ۳ تیمار اختلاف معنادار($p<0/05$) و یون پتاسیم بین تیمارها اختلاف معناداری داشت($p<0/01$). اما در شاخصهای دیگر اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد. در جدول ٦، اسپرماتوکریت، منیزیم و گلوکز در۳ تیمار اختلاف معنادار($p<0/05$) و یون کلسیم نیز در۳ تیمار اختلاف معناداری داشت($p<0/01$). اما در شاخصهای دیگر اختلافی بین تیمارها وجود نداشت.

جدول۱ مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت سدیم به پتاسیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۸-۳ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۱۳-۸ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۱۸-۱۳ میلی‌مول)
طول دوره تحرک اسپرم(ثانیه)	a ۳۵/۴۲ ± ۸/۴۲	a ۳۲/۰۸ ± ۳/۰۲	a ۲۸/۵ ± ۲/۴۸
درصد اسپرم متحرک (٪)	a ۷۰/۳۵ ± ۲۳/۵۷	a ۶۲/۵۴ ± ۱۷/۵۹	a ۷۵ ± ۱۲/۱۲
اسپرماتوکریت(٪)	a ۴۵/۲۱ ± ۱۰/۵۰	a ۳۸/۸۸ ± ۳/۳۶	a ۳۸/۹۹ ± ۰/۸۹
تراکم اسپرم ($mm\times10^9$)	a ۱/۸ ± ۱/۸۷	a ۱/۴۶ ± ۰/۷۱	a ۱/۶۴ ± ۰/۹۷
پی- اچ	a ۸/۲۹ ± ۰/۲۶	a ۸/۳۳ ± ۰/۰۶	a ۸/۴۳± ۰/۰۹
حجم اسپرم (mL)	a ۵/۳۸ ± ۱/۸۲	a ۶ ± ۲/۴۵	a ۶/۹ ± ۱/۳۸
سدیم (میلی‌مول لیتر)	a ۲۱۴/۲۴ ± ۸/۶۲	a ۲۰۸/۱۳ ± ۱۹/۶۴	a ۲۲۰/۸۸ ± ۵/۹۸
پتاسیم (میلی‌مول لیتر)	b ۴۹/۷ ± ۹/۱۱	a ۲۲/۵۳ ± ۴/۲۴	a ۱۳/۷ ± ۱/۴۴
کلسیم (میلی‌مول لیتر)	a ۰/۷۷ ± ۰/۳۵	a ۰/۵۷ ± ۰/۲۸	a ۰/۶۱ ± ۰/۳۶
منیزیم (میلی‌مول لیتر)	a ۱/۵۷ ± ۰/۵۵	a ۱/۳۱ ± ۰/۱۶	a ۱/۶۶ ± ۰/۵۶
گلوکز (mg/dl)	a ۶/۶۹ ± ۵/۲۱	a ۸/۸۵ ± ۱۱/۱۹	a ۲/۲۴ ± ۱/۳۹
پروتئین کل (mg/dl)	a ۷۲۰/۹۱ ± ۳۶۸/۷۷	a ۷۴۰ ± ۶۰۰/۰۶	a ۴۱۷/۵ ± ۱۶۳/۱۷
کلسترول (mg/dl)	a ۱۴/۵۲ ± ۱۲/۸۵	a ۹/۶۲ ± ۳/۴۳	a ۲۲/۳۳ ± ۲۰/۷۹

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲ مقایسه مقادیر (میانگین± انحراف معیار) نسبت سدیم به کلسیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۱۰۰-۴۰۰میلي‌مول)	تیمار ۲ (۴۰۰-۷۰۰ میلي‌مول)	تیمار ۳ (۷۰۰-۱۰۰۰ میلیمول)
طول دوره تحرک اسپرم(ثانیه)	b ۳۵/۴۷ ± ۶/۴۲	ab ۳۰/۴۸ ± ۸/۶۲	a ۲۴/۲ ± ۱۱/۵۷
درصد اسپرم متحرک (٪)	a ۷۵/۹۳ ± ۲۳	a ۵۷/۶۴ ± ۱۲/۵۱	a ۵۶/۵۷ ± ۲۸/۳۴
اسپرماتوکریت (٪)	b ۴۴/۴۳ ± ۸/۳۷	ab ۴۲/۲۹ ± ۹	a ۳۳± ۲/۵۷
تراکم اسپرم ($mm\times10^9$)	a ۱/۳۱ ± ۱/۰۱	a ۲/۲ ± ۱/۷۱	a ۱/۶۸± ۱/۱۱
پی- اچ	a ۸/۳۴ ± ۰/ ۲۵	a ۸/۲۹ ± ۰/۱۸	a ۸/۲۴± ۰/۱
حجم اسپرم (mm)	a ۶/۶۳ ± ۱/۷۴	a ۵/۵۷ ± ۳/۱۷	a ۶± ۲/۶۵
سدیم (میلی‌مول لیتر)	a ۲۱۶/۱۱ ± ۵/۷۵	a ۲۱۰/۰۴ ± ۱۷/۴۱	a ۲۲۴/۶ ± ۱۴
پتاسیم (میلی‌مول لیتر)	a ۴۱/۵۴ ± ۱۷/۱۶	a ۲۹/۹۷ ± ۲۰/۳۴	a ۲۲/۶ ± ۱۷/۰۴
کلسیم (میلی‌مول لیتر)	c ۰/۹۶ ± ۰/۱۹	b ۰/۴۶ ± ۰/۱۴	a ۰/۲۵ ± ۰/۰۴
منیزیم (میلی‌مول لیتر)	a ۱/۵۶ ± ۰/۴۸	a ۱/۶۳ ± ۰/۶	a ۱/۲۱± ۰/۱۹
گلوکز(mg/dl)	a ۴/۰۳ ± ۳/۱۸	a ۸/۶ ± ۸/۸۹	a ۶/۱± ۷/۸۴
پروتئین کل (mg/dl)	a ۵۹۷ ± ۳۸۳/۷۳	a ۶۱۱/۴۳ ± ۳۷۷/۳۸	a ۸۵۰± ۵۷۶/۱۱
کلسترول (mg/dl)	a ۱۶/۲۲ ± ۱۵/۱	a ۸/۹۱ ± ۵/۳۶	a ۱۰/۲۵ ± ۵/۵۱

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳ مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت سدیم به منیزیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۸۰-۱۲۰میلي‌مول)	تیمار ۲ (۱۲۰-۱۶۰میلي‌مول)	تیمار ۳ (۱۶۰-۲۰۰میلي‌مول)
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	a ۳۴/۰۷ ± ۹/۴۸	a ۳۰/۵۳ ± ۷/۲۷	a ۳۰/۶ ± ۹/۹۸
درصد اسپرم متحرک(٪)	a ۶۷/۳۷ ± ۲۷/۰۹	a ۶۳/۷ ± ۱۶/۸۹	a ۷۲/۲۱ ± ۲۴/۱۳
اسپرماتوکریت(٪)	a ۴۴/۶۷ ± ۹/۶۸	a ۴۴/۶۴ ± ۱۰/۴۴	a ۳۷/۸۳ ± ۶/۳۷
تراکم اسپرم ($mL\times10^{9}$)	a ۲/۲۲ ± ۲/۳۹	a ۱/۸۱ ± ۰/۷۶	a ۱/۲۷ ± ۰/۸۴
پی- اچ	a ۸/۲۷ ± ۰/۳۱	a ۸/۳ ± ۰/۱۴	a ۸/۳۴ ± ۰/۱۹
حجم اسپرم (mL)	a ۵/۷۸ ± ۱/۵	a ۵/۷۳ ± ۲/۰۸	a ۷/۰۳ ± ۳/۰۹
سدیم (میلی‌مول لیتر)	b ۲۲۱/۴ ± ۷/۴۳	a ۲۰۶/۳ ± ۱۶/۱۳	ab ۲۱۸/۸۵ ± ۹/۹۸
پتاسیم (میلی‌مول لیتر)	a ۴۳/۱۶ ± ۲۰/۷۴	a ۲۸/۵۸ ± ۱۶/۹۲	a ۳۰/۵۵ ± ۲۰/۴۱
کلسیم (میلی‌مول لیتر)	a ۰/۷۳ ± ۰/۳۲	a ۰/۷۴ ± ۰/۳۸	a ۰/۵۲ ± ۰/۳
منیزیم (میلی‌مول لیتر)	b ۲/۲۴ ± ۰/۳۸	a ۱/۴۴ ± ۰/۰۷	a ۱/۲۱ ± ۰/۱۱
گلوکز (mg/dl)	a ۳/۹ ± ۲/۳۸	a ۶/۵۸ ± ۵/۸۳	a ۳/۸۱ ± ۴/۷۷
پروتئین کل(mg/dl)	b ۸۶۴ ± ۳۰۶/۱۵	a ۳۹۸/۳۳ ± ۱۴۶/۲۱	ab ۶۶۲/۵ ± ۴۴۳/۹۷
کلسترول (mg/dl)	a ۱۴/۲۷ ± ۱۳/۷۸	a ۲۱/۵۷ ± ۱۹/۷۲	a ۱۰/۷۷ ± ۵/۶۵

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۴ مقایسه مقادیر (میانگین± انحراف معیار) نسبت پتاسیم به کلسیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۱۰-۴۰ میلي‌مول)	تیمار ۲ (۴۰ -۷۰ میلي‌مول)	تیمار ۳ (۷۰-۱۰۰ میلي‌مول)
طول دوره تحرک اسپرم(ثانیه)	a ۲۹± ۸/۸۱	a ۳۶/۱۹ ± ۷/۳۶	a ۲۹/۵ ± ۳/۷۹
درصد اسپرم متحرک(٪)	a ۶۵/۱۵ ± ۲۲/۱۶	a ۶۹/۳۹ ± ۲۶/۴۱	a ۸۰/۲۵ ± ۱۰/۱۹
اسپرماتوکریت(٪)	a ۳۸/۸۳ ± ۳/۲۳	a ۴۵/۲۶ ± ۱۱	a ۳۹/۹۲ ± ۵/۰۳
تراکم اسپرم ($mL\times10^{9}$)	a ۱/۶۳ ± ۰/۸۱	a ۱/۴۲ ± ۰/۸	a ۱/۹۳ ± ۲/۵
پی- اچ	a ۸/۳۸ ± ۰/۱۳	a ۸/۲۸ ± ۰/۳۱	a ۸/۳۱ ± ۰/۱۷
حجم اسپرم(mL)	a ۶/۹۶ ± ۲/۹	a ۵/۶۵ ± ۱/۲۸	a ۷/۳ ± ۱/۷۸
سدیم(میلی‌مول لیتر)	a ۲۱۵/۸۸ ± ۱۷/۷۳	a ۲۱۵/۶ ± ۵/۴۸	a ۲۲۰/۳۵ ± ۷/۰۴
پتاسیم(میلی‌مول لیتر)	a ۱۷/۳ ± ۱۰/۵۵	b ۴۸/۹ ± ۱۴/۲۵	a ۳۰/۶۸ ± ۱۵/۷۴
کلسیم(میلی‌مول لیتر)	ab ۰/۶۷ ± ۰/۲۹	b ۰/۹۶ ± ۰/۳۱	a ۰/۳۹ ± ۰/۲۲
منیزیم(میلی‌مول لیتر)	a ۱/۶ ± ۰/۴۹	a ۱/۳۵ ± ۰/۳۲	a ۱/۶۵ ± ۰/۷۴
گلوکز(mg/dl)	a ۲/۴۹ ± ۱/۳۳	a ۸/۴۷ ± ۹/۲۵	a ۲/۷۴ ± ۱/۸۹
پروتئین کل(mg/dl)	a ۴۰۰ ± ۲۳۰/۷۸	ab ۶۹۶/۶۷ ± ۵۰۹ /۶۹	b ۹۰۰ ± ۳۶۰/۲۸
کلسترول(mg/dl)	a ۱۰/۳۷ ± ۱۰/۷۱	a ۱۶/۳۴ ± ۱۷/۲۸	a ۱۸/۳۵ ± ۱۷/۴۵

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵ مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت پتاسیم به منیزیم روی پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیائی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۱۹-۳ میلي‌مول)	تیمار ۲ (۳۵-۱۹ میلي‌مول)	تیمار ۳ (۵۱-۳۵ میلي‌مول)
طول دوره تحرک اسپرم(ثانیه)	a ۲۸/۶ ± ۷/۸۲	a ۳۲/۳۳ ± ۱۱/۲	a ۳۷/۹۹ ± ۴/۳۹
درصد اسپرم متحرک(٪)	a ۶۶/۵۷ ± ۱۹/۸	a ۵۷/۸۷ ± ۲۴/۹	a ۸۰/۸۱ ± ۱۸/۴۴
اسپرماتوکریت(٪)	a ۳۸/۸۲ ± ۲/۹	b ۴۹/۲۳ ± ۱۳/۵۶	ab ۴۰/۹۹ ± ۷/۹۹
تراکم اسپرم ($mL\times10^{9}$)	a ۱/۹۸ ± ۱/۴۸	a ۱/۱۸ ± ۰/۸	a ۱/۱۵ ± ۱/۱۲
پی- اچ	a ۸/۳۶ ± ۰/۱۵	a ۸/۱۹ ± ۰/۲۶	a ۸/۳۸ ± ۰/۲۴
حجم اسپرم(mL)	a ۶/۷۷ ± ۲/۶۳	a ۵/۶۲ ± ۱/۶۳	a ۵/۹ ± ۲/۶
سدیم(میلی‌مول لیتر)	a ۲۱۷/۷۲ ± ۱۶/۲۶	a ۲۱۲/۶ ± ۱۰/۵۸	a ۲۱۳/۸ ± ۳/۹۶
پتاسیم(میلی‌مول لیتر)	a ۱۸/۸۱ ± ۱۱/۳۸	b ۴۹/۹۴ ± ۱۶/۰۷	b ۴۹/۲۲ ± ۶/۲۴
کلسیم(میلی‌مول لیتر)	a ۰/۶ ± ۰/۳	a ۰/۶۷ ± ۰/۴۶	a ۰/۷۹ ± ۰/۳۵
منیزیم(میلی‌مول لیتر)	b ۱/۷۱ ± ۰/۵۶	ab ۱/۵۵ ± ۰/۳۱	a ۱/۱۴ ± ۰/۱۱
گلوکز(mg/dl)	a ۲/۶ ± ۱/۵۹	b ۷/۹۷ ± ۵/۸۳	ab ۵/۶۱ ± ۵/۵۳
پروتئین کل(mg/dl)	a ۴۵۹ ± ۲۶۱/۰۴	a ۸۷۶ ± ۴۳۵/۹۸	a ۶۲۸ ± ۴۴۱/۰۴
کلسترول(mg/dl)	a ۱۳/۳۷ ± ۱۴/۴۴	a ۱۹/۰۵ ± ۱۷/۸۹	a ۱۲/۹ ± ۵/۳۸

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۶ مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) نسبت کلسیم به منیزیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود

تیمار	تیمار ۱ (۰/۱-۰/۳ میلي‌مول)	تیمار ۲ (۰/۳-۰/۶ میلي‌مول)	تیمار ۳ (۰/۶-۰/۹میلي‌مول)
طول دوره تحرک اسپرم(ثانیه)	a ۲۷/۸۴ ± ۹/۷۹	a ۳۳/۰۶ ± ۵/۳۵	a ۳۷/۳۳ ± ۷/۸۵
درصد اسپرم متحرک(٪)	a ۶۱/۲۸ ± ۲۰/۸۹	a ۶۷/۷۸ ± ۲۴/۶۷	a ۸۴/۶۳ ± ۱۴/۶۷
اسپرماتوکریت(٪)	a ۳۹/۵۱ ± ۹/۲۳	a ۴۱/۸۶ ± ۲/۸۸	a ۴۶/۷۷ ± ۱۳/۵۷
تراکم اسپرم ($mL\times10^{9}$)	a ۱/۹ ± ۱/۶۶	a ۱/۳۵ ± ۰/۷۲	a ۱/۷۷ ± ۱/۷۸
پی- اچ	a ۸/۲۹ ± ۰/۱۶	a ۸/۳۳ ± ۰/۲۷	a ۸/۳۴ ± ۰/۲۶
حجم اسپرم(mL)	a ۶/۵۹ ± ۲/۹۱	a ۵/۹۷ ± ۲/۲۹	a ۶/۱ ± ۱/۷۸
سدیم(میلی‌مول لیتر)	a ۲۱۹/۱۶ ± ۱۲/۶۳	a ۲۱۱/۷۸ ± ۱۶/۸۸	a ۲۱۳/۱۳ ± ۴/۶۵
پتاسیم(میلی‌مول لیتر)	a ۲۸/۱۳ ± ۲۰	a ۳۴/۵۸ ± ۱۹/۶۵	a ۴۲/۷۵ ± ۱۸/۳۵
کلسیم(میلی‌مول لیتر)	a ۰/۳۶ ± ۰/۱۷	b ۰/۸ ± ۰/۲۲	b ۱/۰۲ ± ۰/۱۷
منیزیم(میلی‌مول لیتر)	a ۱/۶۵ ± ۰/۵۹	a ۱/۵۵ ± ۰/۴۲	a ۱/۳۳ ± ۰/۱۴
گلوکز(mg/dl)	a ۵/۵۶ ± ۵/۹۳	a ۲/۷۸ ± ۰/۷۹	a ۵/۶۹ ± ۴/۶۶
پروتئین کل(mg/dl)	a ۶۸۳/۳۳ ± ۳۶۴/۶۲	a ۶۰۳/۳۳ ± ۴۵۰/۹	a ۵۶۰ ± ۳۳۴/۷۶
کلسترول(mg/dl)	a ۱۷/۳۴ ± ۱۳/۸۷	a ۷/۲۲ ± ۳/۸۲	a ۲۱/۹ ± ۱۹/۲۹

Archive of SID

www.SID.ir

٤- بحث

بین حرکت اسپرم و ترکیبات پلاسمای سمینال در مروارید ماهی *Albernus albernus* از خانواده کپور ماهیان همبستگی معناداری ($p<۰/۰۵$) وجود دارد که علت آن تأثیر ترکیبات پلاسمای سمینال بر حرکت اسپرم است. همچنین سطحهایی از سدیم و پتاسیم از نظر آماری به ترتیب همبستگی منفی و مثبت معناداری ($p<۰/۰۵$) با درصد حرکت اسپرم دارند[۱۷]. در مطالعه حاضر همانطور که در جدول۱ مشاهده می‌شود نسبت سدیم به پتاسیم روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن اثرمعناداری نداشت، اما در تیمار ۳ که این نسبت بالاتر بود درصد تحرک اسپرم بیشتر از ۲ تیمار دیگر مشاهده شد. همچنین با توجه به ارتباط معناداری که بین پی- اچ پلاسمای سمینال با درصد پتانسیلی حرکت اسپرم، درصد حرکت خطی اسپرم و سرعت شنای اسپرم وجود دارد[۱۸]، درصد تحرک اسپرم و مقدار پی- اچ در تیمار ۳ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود.

نسبت سدیم به کلسیم روی شاخصهای اندازه‌گیری شده اثر معناداری داشت. به طوری که طول دوره تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و کلسیم در تیمار۱ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود. همچنین درصد تحرک اسپرم و پی- اچ هرچند بین تیمارها اختلاف معناداری نداشت اما در تیمار۱ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود (جدول۲). از آنجا که شاخصهای ذکر شده از شاخصهای کیفی اسپرم می‌باشند و در تیمار۱ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود در نتیجه می‌توان گفت که هرچه نسبت سدیم به کلسیم پلاسمای سمینال بیشتر باشد، کیفیت اسپرم مناسبتر است.

در جدول ۳ همانطور که مشاهده می‌شود نسبت سدیم به منیزیم اثر معناداری روی سدیم، منیزیم و پروتئین کل داشت به طوری که در تیمار۱ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود. همچنین با افزایش نسبت پتاسیم به کلسیم پروتئین کل افزایش معناداری ($p<۰/۰۵$) داشت و در تیمار ۳ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود (جدول٤).

نسبت پتاسیم به منیزیم پلاسمای سمینال اثر معناداری روی اسپرماتوکریت (٪)، پتاسیم و گلوکز داشت (جدول ۵). از آنجا که این شاخصها بین تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معناداری نداشت و با توجه به اینکه درصد و طول دوره تحرک اسپرم در تیمار ۳ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود، می‌توان گفت که با افزایش نسبت پتاسیم به منیزیم پلاسمای سمینال در ماهی سفید کیفیت اسپرم بهتر و مناسب‌تر است.

در جدول ٦ همانگونه که مشاهده می‌شود نسبت کلسیم به منیزیم اثر معناداری روی یون کلسیم داشت. از آنجا که کلسیم بین تیمارهای ۲ و۳ اختلاف معناداری وجود نداشت و با توجه با اینکه طول دوره تحرک اسپرم، پی- اچ و درصد اسپرمهای متحرک در تیمار ۳ بیشتر از ۲ تیمار دیگر بود، می‌توان گفت که با افزایش نسبت کلسیم به منیزیم پلاسمای سمینال در ماهی سفید مهاجر به رودخانه کیفیت اسپرم بهتر و مناسب‌تر خواهد بود.

دانش ترکیب پلاسمای سمینال می‌تواند برای ساخت محیطی مناسب برای استفاده از رقیق‌کننده‌ها به منظور نگهداری سمن برای کوتاه مدت و دراز مدت مورد استفاده قرارگیرد[۱۹]. در مجموع با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که نسبتهای یونی روی شاخصهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن (که از شاخصهای کیفی اسپرم می‌باشد) در ماهی سفید مهاجر به رودخانه شیرود تأثیرگذار است. لذا پیشنهاد می‌شود که نسبتهای یونی در کنار دیگر عواملی که روی کیفیت اسپرم مؤثر است در نظر گرفته شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که این کار روی دیگر ماهیان با ارزش از جمله ماهیان خاویاری صورت گیرد.

۵- سپاسگزاري

از مسؤولان محترم مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری آقای مهندس مقدسی، مهندس مخدومی، دکتر نظری، مهندس موسوی، مهندس حاتمی و اکیپ مستقر در شیرود، همچنین از حمایتهای آقای دکتر تکه در انجام این تحقیق و

Archive of SID
www.SID.ir

از آقای مهندس مراد تکه که برای تایپ، کارهای کامپیوتری و چاپ این مقاله زحمات زیادی کشیدند، همچنین از مسؤولان و کارشناسان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایهای لازم، تشکر و قدردانی می‌شود.

٦- منابع

[1] Tekin N., Secer S., Akcay E., Bozkurt Y.; Cryopreservation of rainbowtrout oncorhynchus mykiss; Bamidgeh; 2003; 55(3): 208-212.

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

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

[4] Morisawa M., Oda S., Yoshida M., Takai H.; Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidians; In: Gagnon C., (Ed.); The Male Gamete :From Basic Knowledge to Clinical Applications; Cache River press, Vienna, USA; 1999; 149-160.

[5] Billard R., Cosson J., Perchec G., Linhart O.; Biology of sperm and artificial reproduction in carp; *Aquaculture*; 1995b; 124: 95-112.

[6] Cosson J., Linhart O.; Paddlefish, Polyodon spathula, spermatozoa: effects of potassium and pH on motility; Folia. Zool.; 1996; 45: 361-370.

[7] Alavi S.M.H.; Comparative study on motility and fertilizing ability of *Acipenser persicus* spermatozoa between freshwater and saline solutions; M.Sc. thesis, University of Tehran, Iran; 2003; 105.

[8] Fauvel C., Savoye O., Dreanno C., Cosson J., suquet M.; «Characteristics of sperm of captive seabass (Dicentrarchus labrax L.,) in relation to its fertilisation potential»; *Journal of Fish Biology*; 1999; 54: 356-369.

[9] Suquet M., Dreanno C., Fauvel C., Cosson J., Bilard R.; Cryopreservation of sperm in marine fish; *Aquaculture Research*; 2000; 31: 231-243.

[۱۰] قاسمی ج.؛ «تعیین روش انجماد و نگهداری اسپرم ماهی سفید دریای خزر ***Rutilus frisii kutum***»؛ *پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات*؛ دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ ۱۳۷۷؛ ۱۸۷ص.

[۱۱] حفظ الصحه ف.؛ «اثر رقیق‌کننده‌ها روی برخی از شاخصهای اسپرم‌شناختی، موفقیت لقاح و کیفیت لاروی ماهی سفید ***Rutilus frisii kutum***»؛ *پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات*؛ دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ ۱۳۸۵؛ ۸۷ ص.

[۱۲] بهمنی م.، پیراسته س.، برادران نویری ش.، کاظمی ر. ا.، کوچینین پ.؛ «آثار اسمولاریته آب بر میزان اسپرماتوکریت و ارتباط آن با تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید در مولدان نر ماهی سفید»؛ *مجله علمی شیلات*؛ سال شانزدهم، شماره ۵۹، ۱۳۸٦؛ ص ۱۱.

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

[14] Cosson J., Linhart O., Mims S. D., Shelton W. L., Rodina M.; «Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa»; *Journal of Fish Biology*; 2000; 56: 1-20.

Archive of SID

www.SID.ir

[15] Turner E., montgomerie R.; «Ovarian fluid enhance sperm movement in Arctic charr»; *Journal of Fish Biology*; 2002; 60: 1570-1579.

[16] Fitzpatrick J. L., Henry J. C., Leily N. R., Devlin R. H.; sperm characteristics and fertilization succsess of masulinized coho salmon oncorhynchus kisutch; *Aquaculture*; 2005; 249: 459-468.

[17] Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T., Patzner R.A.; «Motility of spermatozoa of Alburnus alburnus (Cyprinidae) and itsrelationship to seminal plasma composition and sperm metabolism»; *J. Fish Physiol. Biochem*; 1996a ; 15: 167-179.

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

[19] Secer S., Tekin N., Bozkurt Y., Bukan N., Akcay; «Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen»; *I.J.A.*; 2004; 56 (4): 274-280.

Archive of SID

www.SID.ir