



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره اول، شماره اول، بهار ۹۲

<http://jair.gonbad.ac.ir>

ریخت‌شناسی اسپرم و برخی متغیرهای شیمیایی مایع منی ماهی گطان *Barbus xanthopterus* Heckel, 1843

الهام کرمی مطلق^۱، غلامرضا اسکندری^۲، مژگان خدادادی^۳ و *امیر جافریان^۴

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاداسلامی واحد اهواز، استادیار پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور،

^۲استادیار دانشگاه آزاداسلامی واحد اهواز، استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱۴

چکیده

تحقیق حاضر در پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور و مرکز تکثیر ماهیان بومی دشت آزادگان با مطالعه بر روی ۱۷ ماهی مولد نر گطان *B. xanthopterus* که از جمله ماهیان بومی، اقتصادی و کمیاب استان خوزستان بوده انجام گرفت. در نمونه‌های زنده جمع‌آوری شده: میانگین وزن $28/1 \pm 559/3$ گرم، میانگین طول استاندارد $45/9 \pm 4/0$ سانتی‌متر، میانگین طول چنگالی $49/1 \pm 4/2$ سانتی‌متر و میانگین طول کل $53/5 \pm 4/9$ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه میانگین طول دوره تحرک اسپرم $309/2 \pm 64/5$ ثانیه، میانگین تراکم اسپرم $47/5 \pm 16/3$ ، میانگین pH مایع منی $7/66 \pm 0/9$ و میانگین درصد اسپرماتوکریت $45/2 \pm 15/8$ درصد، میانگین گلوکز، کلسترول و پروتئین کل مایع منی به ترتیب $23/3 \pm 1/0$ ، $51/7 \pm 28/8$ و $1/1 \pm 0/9$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، میانگین سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فسفر مایع منی به ترتیب $432/4 \pm 79/2$ ، $108/8 \pm 20/2$ ، $2/7 \pm 0/6$ و $15/8 \pm 3/1$ میلی‌مول بر لیتر، همچنین میانگین طول سراسپرم $1/3 \pm 0/3$ میکرون، میانگین طول تازک $2/3 \pm 0/7$ میکرون و میانگین طول کل اسپرم $3/7 \pm 1/0$ میکرون اندازه‌گیری شد.

واژه‌های کلیدی: ماهیان بومی، اسپرم، گطان، *B. xanthopterus*، مایع منی.

*مسئول مکاتبه: jaferian@yahoo.com

مقدمه

ماهی گطان (*B. xanthopterus*) از گونه‌های مهم خانواده کپور ماهیان می باشد. این ماهی از ماهیان مرغوب و بازار پسند خوزستان می باشد که نقش مهمی را در سبد غذایی مردم منطقه دارد و از گونه‌های با اهمیت جهت انجام تحقیقات تکثیر و پرورش محسوب می‌شود. این گونه نه تنها در ایران بلکه در کشورهای حاشیه خلیج فارس نیز به عنوان گونه‌ای با ارزش اقتصادی، شناخته شده است (Mortazavizadeh *et al.*, 2002).

با توجه به کاهش جمعیت این ماهی در محیط طبیعی به دلیل احداث سد کرخه بر روی مهمترین رودخانه محل زیست این ماهی (رودخانه کرخه) که سبب کاهش آب پایین دست رودخانه و تالاب هورالعظیم شده (Mortazavizadeh *et al.*, 2002) و همچنین تغییراتی که در اثر جنگ بر روی تالاب هورالعظیم ایجاد شد و نیز اثرات و فشارهای محیطی (Pyka *et al.*, 2001)، بررسی اسپرم این ماهی، بدون شک گامی در جهت حفاظت از ذخایر و تنوع بیولوژیکی آنها در طبیعت خواهد بود.

مواد و روش‌ها

سمن یا میلته از اسپرماتوزوآ و پلاسمای سمینال تشکیل شده است. پلاسمای سمینال حاوی ترکیباتی است که بعضی از این ترکیبات از اسپرماتوزوآ نگهداری می‌کنند و بعضی دیگر رابط بین سیستم تولید مثل و اسپرماتوزوآ می‌باشند (Ciereszko *et al.*, 2000). پلاسمای سمینال محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل بوجود می‌آورد که خود توسط بیضه و لوله‌های اسپرم بر ساخته می‌شود در پستانداران ترکیبات پلاسمای سمینال به خوبی مطالعه شده است اما مطالعه روی ترکیبات سمن در ماهیان در دهه‌های اخیر شروع شده است. پلاسمای سمینال شامل ترکیبات غیر آلی یون‌ها، ترکیبات آلی و آنزیم می‌باشد. ترکیبات غیرآلی شامل یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم است که نقش ممانعت کننده و تحریک کننده حرکت در اسپرماتوزوآ را دارند و ترکیبات آلی به فعالیت‌های متابولیسمی اسپرماتوزوآ دلالت دارد (Rurangwa *et al.*, 2004). کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح تخم می‌باشد. بنابراین پارامترهایی که در امر لقاح تخم تأثیرگذار می‌باشند جزء پارامترهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. در صنعت پرورش ماهی همواره بیشترین توجه به کیفیت تخم و لارو معطوف گشته و توجه کمتری نسبت به کیفیت اسپرم مبذول شده است در صورتی که کیفیت هر دو نوع گامت روی موفقیت لقاح و بقای لارو مؤثر است (Rurangwa *et al.*, 2004). در این مطالعه، به بررسی اندازه‌های مختلف اسپرم ماهی گطان (*B. xanthopterus*) پرداخته و چگونگی ارتباط این اندازه‌ها، با طول و وزن مولدین، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت مورد بحث قرار می‌گیرد.

اسپرم ۱۷ مولد نر ماهی گطان از تاریخ ۹۱/۱/۱۳ لغایت ۹۱/۱/۲ مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری ۱۲ ساعت پس از تزریق عصاره هیپوفیز به ماهی گطان به میزان mg/kg به ازای هر کیلو گرم وزن بدن با فشار ناحیه شکمی انجام شد. اسپرم استحصال شده از مولدین مختلف با دقت بدون اینکه به آب، ادرار و یا خون آلوده شوند، از طریق مالشی جمع آوری شده (Secer *et al.*, 2004) و جهت انجام آزمایش‌های مربوطه به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت بررسی مرفولوژی اسپرم (طول سر، طول کل و طول تاژک) از میکروسکوپ (Nikon eclipse 50i) مجهز به مانیتور استفاده شد.

سنجش زمان تحرک اسپرم

برای این منظور به محض ورود اسپرم تازه استحصال شده به آزمایشگاه به وسیله میکروسمپلر ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های سمن روی لام قرارداده شد. روی آنها ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر ریخته، همزمان با اضافه کردن آب مقطر کرنومتر زده شد و طول دوره حرکت تا زمانی که تقریباً ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها از حرکت بایستند توسط میکروسکوپ (Nikon eclipse 50i) مجهز به صفحه نمایش در دمای اتاق سانتیگراد (۲۰-۲۲) اندازه‌گیری شد (Secer, 2004).

اندازه‌گیری تراکم اسپرم

برای بررسی تراکم اسپرم یک قطره اسپرم غلیظ حدود ۱۰ میکرولیتر به نسبت ۱:۲۰۰۰ با آب مقطر رقیق شد. اسپرم رقیق شده را با پپت پاستور روی لام نئو بارکه یک لامل روی آن قرار داده ریخته و به روش استاندارد هموسیتمتری توسط میکروسکوپ (Nikon eclipse 50i) مجهز به صفحه نمایش مشاهده و شمارش گردید (Alavi *et al.*, 2010).

اندازه‌گیری pH، اسپرماتوکریت و تهیه نمونه برای آزمایش‌های بیوشیمیایی

به وسیله میکروسمپلر از نمونه‌های تازه استحصال شده ۱ میلی‌لیتر سمن درون میکرو تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شد. نمونه‌ها در دور ۳۰۰۰ به مدت ۸ دقیقه بوسیله دستگاه سانتیریفیوژ (Eppendorf 5415D) سانتیریفیوژ شدند (Alavi *et al.*, 2006). بعد از سانتیریفیوژ پلاسما میسمینال که در قسمت بالای ویال قرار گرفته بود (سوپرنت) بوسیله جداسازی مایع رویی (مایع شفاف) حجم پلاسما می منی اندازه‌گیری شد (Hefsolzehe, 2007). سپس به درون ویال‌های جدید منتقل شد و pH توسط پی‌اچ‌متر (Hana 83141 Hi) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها پس از شماره‌گذاری توسط پارافیلیم پلمپ شد. برای جلوگیری از اثرات نور با کاغذ آلومینیوم پوشیده شد و برای انتقال به آزمایشگاه بیوشیمیایی به فریزر ۲۰- منتقل گردید (Alavi *et al.*, 2006).

بررسی مرفولوژی اسپرم: جهت بررسی مرفولوژی اسپرم (طول سر، طول کل و طول تاژک) از میکروسکوپ (Nikon eclipse 50i) مجهز به صفحه نمایش با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر و با دقت ۰/۰۱ میکرون استفاده شد.

بررسی ترکیبات بیوشیمیایی مایع منی

برای اندازه‌گیری کلاسترول و پروتئین و گلوکز از دستگاه RA1000 Technicon بر اساس روش فتو متریک با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون استفاده شد. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه Conrergys Ise ng ساخت کشور آلمان استفاده شد. برای اندازه‌گیری کلسیم و فسفر از دستگاه Selectra-XL استفاده شد (Alavi, 2006).

روش‌های تجزیه و تحلیل اطلاعات

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده از نرم افزار کامپیوتری Minitab نسخه شانزدهم استفاده شده است. بین پارامترهای مایع منی از آزمون همبستگی پیرسون و رگرسیون استفاده گردید. در ضمن برای کلیه متغیرها سطح معنی‌داری $\alpha=0/05$ در نظر گرفته شده است. برای آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه در نرم‌افزارهای کامپیوتری Minitab 16 و برنامه صفحه گسترده EXCEL استفاده شد.

نتایج و بحث

تراکم اسپرم اندازه‌گیری شده در این تحقیق $109 \times 16/3 \pm 47/3$ اسپرم بر میلی‌لیتر بود که در مقایسه با تراکم اسپرم ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) مورد مطالعه توسط علوی و همکاران (Alavi et al., 2010) بین $109 \times 20/20$ تا $9/77$ اسپرم بر میلی‌لیتر، تراکم اسپرم فیل ماهی وحشی (*Huso huso*) مورد مطالعه توسط (Madadi et al., 1387) $109 \times 3/40 \pm 15/22$ اسپرم بر میلی‌لیتر، بیانگر تراکم بالا در این ماهیان است. با توجه به تراکم بالای اسپرم این ماهی می‌توان گفت که اسپرم این ماهی از کیفیت خوبی برخوردار است.

در پژوهش حاضر مشخص گردید که اندازه ماهی گطان در محدوده طولی مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری با طول دوره تحرک اسپرم و حجم انزال ندارد ($P>0/05$) (جدول ۱ و ۲)، که با تحقیقات (Liley et al., 2002) روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) و (Buzkut, 2006a; Buzkut, 2006b) روی کپور معمولی (*C. carpio*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مطابقت داشت. بررسی‌های کیچ و همکاران (Gage et al., 1995) روی سالمون آتلانتیک و هویساک و لیلی (Hoysak and Liley, 2001) روی آزاد ماهی قرمز (*O. nerka*) نشان داد که با افزایش اندازه ماهی، طول دوره تحرک اسپرم کاهش می‌یابد. همچنین مطالعات تکین و همکاران (Tekin et al., 2003) روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) و ساینوز و همکاران (Sahinoz et al., 2007) روی ماهی بیاح (*Liza abu*) نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین اندازه ماهی با طول دوره تحرک اسپرم وجود دارد. تکین و همکاران (Tekin et al., 2003) با بررسی روی

ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*O. mykiss*) و رودینا و همکاران (Rodina et al., 2007) روی ماهی سوف (*Perca fluviatilis*) گزارش کردند که ارتباط مثبت و معنی داری ($P < 0/05$) بین اندازه این ماهیان و حجم اسپرم دهی وجود دارد که با مطالعه حاضر هم خوانی نداشت.

رودینا و همکاران (Rodina et al., 2007) بین وزن ماهی و حجم اسپرم دهی ارتباط معنی داری مشاهده نکردند ($P > 0/05$) که مشابه نتایج بدست آمده از این تحقیق می باشد. بین تراکم اسپرم با حجم انزال در این تحقیق ارتباط معنی داری دیده نشد ($P > 0/05$) که با نتایج بزکورت (Bozkurt, 2006b) روی قزل آلاهی رنگین کمان (*O. mykiss*) مطابقت داشت. ولی مغایر تحقیق بزکورت (Bozkurt, 2006a) روی کپور معمولی (*C. carpio*) می باشد.

جدول ۱- آمار پیرسون بین خصوصیات اسپرم شناختی و ترکیبات مایع منی ماهی گطان

متغیر	زمان تحرک	وزن کل	حجم انزال	تراکم اسپرم	طول سر اسپرم	طول تازک ماهی	طول کل ماهی	pH	گلوکز	کلسترول	پروتئین	منیزیم	سدیم	پتاسیم	کلسیم	فسفر	اسپرماتو کریت
وزن کل	۰.۱۶۷																
حجم انزال	۰.۵۲۲																
تراکم اسپرم	۰.۱۰۴	-۰.۵۰۲															
طول سر اسپرم	۰.۰۴۰۰	۰.۰۴۹۲	۰.۱۹۳														
طول تازک ماهی	۰.۲۰۸	۰.۰۱۵	۰.۶۸۷	۰.۲۳۸													
طول کل ماهی	۰.۱۸۵	۰.۱۵۰	۰.۵۰۶	۰.۲۳۸	۰.۱۸۵												
pH	۰.۱۷۳	۰.۱۵۲	۰.۱۴۶	۰.۲۲۹	۰.۵۵۹												
گلوکز	۰.۵۰۷	۰.۵۶۰	۰.۵۷۷	۰.۱۹۸	۰.۲۰۰												
کلسترول	۰.۰۹۶۲	۰.۰۱۲	۰.۷۸۰	۰.۲۶۸	۰.۱۶۸	۰.۲۱۴											
پروتئین	۰.۵۰۶	۰.۱۱۸	۰.۶۵۲	۰.۱۸	۰.۱۳	۰.۴۱۰	۰.۲۶۹										
منیزیم	۰.۲۳۸	۰.۶۵۲	۰.۹۴۷	۰.۶۹۳	۰.۹۶۰	۰.۲۹۷	۰.۲۹۷										
سدیم	۰.۰۹۵	۰.۱۵۱	۰.۵۲۸	۰.۲۳۲	۰.۱۸۶	۰.۱۹۰	۰.۵۶۲										
پتاسیم	۰.۰۶۴	۰.۲۰۷	۰.۱۹۶	۰.۰۵۳	۰.۴۷۰	۰.۰۴۶	۰.۲۵۵										
کلسیم	۰.۸۰۸	۰.۴۲۵	۰.۴۵۱	۰.۸۳۹	۰.۰۵۷	۰.۰۸۶۰	۰.۳۲۲										
اسپرماتو کریت	۰.۲۰۲	۰.۰۱۵	۰.۳۳۸	۰.۴۳۸	۰.۰۵۱	۰.۲۶۱	۰.۳۵۴										
	۰.۲۳۸	۰.۹۵۳	۰.۱۹۹	۰.۰۷۸	۰.۸۴۷	۰.۵۸۳	۰.۰۶۲										
	۰.۸۶۲	۰.۲۷۶	۰.۵۶۱	۰.۳۲۷	۰.۰۷۷	۰.۱۱۸	۰.۲۳۳										
	۰.۰۰۰	۰.۲۸۲	۰.۰۱۹	۰.۲۰۰	۰.۲۲۴	۰.۰۸۹	۰.۰۳۰۲										
	۰.۸۵۴	۰.۲۱۲	۰.۵۴۹	۰.۳۴۲	۰.۱۱۱	۰.۰۸۹	۰.۰۳۰۲										
	۰.۰۰۰	۰.۴۱۲	۰.۰۲۲۰	۰.۱۷۹	۰.۱۸۹	۰.۶۷۳	۰.۷۵۳										
	۰.۸۸۵	۰.۲۵۱	۰.۵۴۸	۰.۴۱۵	۰.۲۸۸	۰.۰۷۱	۰.۳۴۹										
	۰.۸۱۰	۰.۲۲۷	۰.۵۵۳	۰.۳۸۴	۰.۰۶۵	۰.۷۸۷	۰.۰۷۰										
	۰.۰۰۰	۰.۳۸۱	۰.۲۱۰	۰.۱۲۸	۰.۱۷۷	۰.۷۹۹	۰.۳۶۹										
	۰.۳۰۳	۰.۰۱۵	۰.۴۳۸	۰.۴۳۸	۰.۰۵۱	۰.۱۴۶	۰.۳۵۴										
	۰.۲۳۸	۰.۹۵۳	۰.۱۹۹	۰.۰۷۸	۰.۸۴۷	۰.۵۸۳	۰.۰۶۲										
	۰.۱۰۶	۰.۱۳۴	۰.۱۸۲	۰.۰۹۳	۰.۱۰۴	۰.۲۹۸	۰.۰۴۲										
	۰.۶۸۴	۰.۰۶۰۹	۰.۴۸۱	۰.۷۲۳	۰.۶۹۱	۰.۹۵۳	۰.۲۴۵										

همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی دار می باشد، * همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی دار می باشد.

جدول ۲- نتایج مربع پیرسون خصوصیات اسپرم شناختی و ترکیبات منی ماهی گتان

عوامل مورد بررسی	میزان همبستگی	r ² (%)
وزن مولدها با طول کل	بسیار قوی	۶۰/۸
طول دوره تحرک با سدیم	بسیار قوی	۷۳
طول دوره تحرک با گلوکز	بسیار قوی	۹۳/۰
طول دوره تحرک با کلسیم	بسیار قوی	۶۵/۶
طول دوره تحرک با پتاسیم	بسیار قوی	۷۸/۴
طول دوره تحرک با منیزیم	بسیار قوی	۷۴/۲
طول دوره تحرک با pH مایع منی	بسیار قوی	۳۱/۷
طول دوره تحرک با حجم انزال	بسیار قوی	۲۵/۲
حجم انزال با گلوکز	بسیار قوی	۳۰/۰
حجم انزال با سدیم	بسیار قوی	۳۰/۱
حجم انزال با پتاسیم	بسیار قوی	۳۰/۰
حجم انزال با کلسیم	بسیار قوی	۳۰/۶
طول سر با طول تاژک	بسیار قوی	۳۱/۲
گلوکز با سدیم	بسیار قوی	۷۲/۱
گلوکز با پتاسیم	بسیار قوی	۷۸/۴
گلوکز با کلسیم	بسیار قوی	۶۵/۹
گلوکز با منیزیم	بسیار قوی	۷۵/۳
منیزیم با سدیم	بسیار قوی	۹۱
منیزیم با پتاسیم	بسیار قوی	۹۷/۳
منیزیم با کلسیم	بسیار قوی	۹۶/۱
سدیم با پتاسیم	بسیار قوی	۹۲/۷
سدیم با کلسیم	بسیار قوی	۹۴/۷
پتاسیم با کلسیم	بسیار قوی	۹۵/۷

در این پژوهش، بین تراکم اسپرم با وزن ماهی ارتباط معنی داری وجود نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۱ و ۲) که از این نظر با مطالعات بزکورت (Bozkurt, 2006a) روی کپور معمولی (*C. carpio*) مطابقت داشت. اما یافته‌های دیلینه و پول (Dilleane and Pool, 1988) روی قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) و بزکورت (Bozkurt, 2006b) روی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) را تأیید نمی‌کند.

در ماهی گطان در بین یون‌های تک ظرفیتی، یون سدیم ($432/4 \pm 79/2$ میلی‌مول) در بین یون‌های دو ظرفیتی، یون منیزیم ($77/2 \pm 61/0$ میلی‌یون) غالب بود. در ماهی سیم غلظت یون‌های تک ظرفیتی (سدیم و پتاسیم) از غلظت یون‌های دو ظرفیتی (کلسیم و منیزیم) بالاتر بود ($P < 0.01$).

نسبت سدیم به پتاسیم و کلسیم به پتاسیم در مایع منی ماهی سیم به ترتیب ۳۵/۷۸ و ۳/۶۰ محاسبه شد. در بررسی ماهی گطان نسبت سدیم به پتاسیم و نسبت کلسیم به پتاسیم به ترتیب ۳/۹ و ۰/۰۰۶ بود. مطابق مرور صورت پذیرفته توسط علوی و کاسون (Alavi and Cosson, 2006) نسبت سدیم به پتاسیم و کلسیم به پتاسیم در مایع منی ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۰۳ ماهی آلبورنوس (*A. alburnus*) ۱/۶۴ و ۰/۰۱، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) ۴/۱ و ۰/۰۳، تاس‌ماهی دریاچه‌ای (*A. fulvescens*) ۴/۴۲ و ۰/۰۲، تاس‌ماهی ایرانی (*A. persicus*) ۹/۰۲ و ۰/۱۱ اندازه‌گیری شد که از نسبت سدیم به پتاسیم در ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) و ماهی آلبورنوس (*A. alburnus*) بیشتر و از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) و تاس‌ماهی دریاچه (*A. Fulvescens*) و تاس‌ماهی ایرانی (*A. Persicus*) کمتر بود. اگر غلظت سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بیشتری برای جلوگیری از حرکت اسپرم مورد نیاز است که با تحقیق حاضر هم خوانی دارد. در مطالعه ماهی گطان مدت زمان تحرک اسپرم در حد بالایی بود ($309/2 \pm 64/5$ به ثانیه). بالا بودن مدت زمان تحرک در نتیجه بالا بودن یون‌های سدیم و پتاسیم می‌باشد که می‌تواند نشان دهنده کیفیت بالای اسپرم ماهی گطان باشد. در این تحقیق نسبت غلظت یون‌های سدیم به پتاسیم از غلظت یون‌های کلسیم به پتاسیم در مایع منی ماهی گطان بالاتر بود که از این نظر با مرور انجام شده روی کپورماهیان، آزاد ماهیان، ماهیان خاویاری و دریایی با مرور انجام شده توسط علوی و کاسون (Alavi and Cosson, 2006) همخوانی داشت. شرینگ (Scheuring, 1925) نیز گزارش کرد که یون‌هایی مثل Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} فعالیت با‌دارندگی K^+ در آزاد ماهیان را کاهش می‌دهد و کاتیون‌های دو ظرفیتی نیز خیلی مؤثرتر و مطلوب‌تر از Na^+ هستند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. در مطالعه ماهی گطان بین کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت که با مطالعات صورت گرفته توسط آکای و همکاران (Akcaye et al., 2002) همخوانی دارد. مطالعات متعددی نقش میلی مولار کلسیم را در افزایش پارامترهای اسپرم، که شامل طول دوره تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک و سرعت حرکت اسپرم را نشان داده اند (Cosson et al., 2004). در بررسی ماهی گطان میزان یون کلسیم $25/0 \pm 74/0$ میلی‌مول در لیتر محاسبه شد که به طور قابل ملاحظه‌ای از یون کلسیم مایع منی کپور معمولی ($2/71 \pm 10/69$ میلی‌مول در لیتر) پایین‌تر بود که با مرور صورت گرفته توسط علوی و کاسون (Alavi and Cosson, 2006) روی ماهی قره‌برون (*A. persicus*) همخوانی داشت. همچنین این محققان گزارش کردند که غلظت بالای یون کلسیم، الگوی حرکت اسپرم مانوزا را تا حدودی تغییر می‌دهد به گونه‌ای که با حضور این یون به مقدار زیاد قطر مسیر حرکت اسپرم کمتر شده اما مدت زمان کل حرکت افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر یک همبستگی مثبت بین K^+ و Ca^{2+} ($P < 0/01$) مشاهده شد که با نتایج بیلارد (BiLard et al., 1987)

منی بر رابطه بین تراکم و غلظت Ca^{2+} و K^+ را در رسانایی و درصد تحرک اسپرم را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مطابقت داشت. یون پتاسیم در نگهداری اسپرماتوزوای قزل‌آلای رنگین‌کمان در حالت ساکن نقش دارد (Bayanes, 1981) و مطالعات بیلارد و کاسون (Bilard and Cosson, 1992) نشان داده است که دامنه باز دارندگی تحرک اسپرم به وسیله یون پتاسیم از ابتدا تا پایان دوره تکثیر تغییر می‌کند. درصد بالایی از اسپرم‌ها حتی در حضور غلظت‌های بالایی از یون پتاسیم (۴۰ و ۸۰ میلی‌مول) قادر به حرکت هستند که با تحقیق حاضر همخوانی ندارد. مطالعه ماهی گطان نشان می‌دهد که میزان پتاسیم $20/2 \pm 10/8$ میلی‌مول برلیتر بود که یون پتاسیم عامل مهمی برای جلوگیری از تحرک اسپرم است که با تحقیق موريساوا و سوزکوت (Morisawa and Suzkut, 1983) که گزارش کرده بودند یون پتاسیم عامل مناسبی برای باز دارندگی حرکت اسپرم در مایع منی در آزاد ماهیان است، همخوانی دارد. در این تحقیق میزان پتاسیم $20/2 \pm 10/8$ است که تقریباً ۱۶ برابر پتاسیم در ماهی قره برون (*A. persicus*) در تحقیق علوی و همکاران (Alavi et al., 2004a) می‌باشد. لانستینر و همکاران (Lahnsteiner et al., 1996) رابطه بین حرکت اسپرم در گونه‌های محدودی مورد بررسی قرار گرفته است و رابطه بین حرکت اسپرم و ترکیبات پلاسمای منی در ماهی مروارید (*A. albuenus*) را گزارش و پیشنهاد 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 و پتاسیم تأثیر منفی روی حرکت اسپرم این گونه دارد.

در تحقیق حاضر رابطه افزایشی بین میزان یون سدیم مایع منی با طول دوره حرکت اسپرماتوزوای نیز وجود دارد (جدول ۱ و ۲)، که مشابه با نتایج (Lahnsteiner et al., 1996) در ماهی مروارید بود. این محققان عنوان کرده بودند که رابطه مثبت بین میزان یون سدیم و رابطه منفی بین یون پتاسیم مایع منی با طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوای متحرک در منی گونه یاد شده وجود دارد. همچنین علوی و همکاران (Alavi et al., 2004)، کروگر و همکاران (Kruger et al., 1984) و لانستینر و همکاران (Lahnsteiner et al., 1996) رابطه مثبت بین یون سدیم و اسمولاریته مایع منی به ترتیب در گونه‌های ماهی کپور، ماهی مروارید و قره برون را گزارش کردند. اطلاعات کمی درباره اثر یون منیزیم روی حرکت اسپرم ماهیان استخوانی وجود دارد. تحقیقات صورت گرفته روی مکانیزم داخل سلولی حرکت اسپرم در ماهیان استخوانی بیانگر نقش مهم و کلیدی یون منیزیم در شروع فعالیت حرکت اسپرم ماهیان استخوانی است (Cosson et al., 1999) که با همبستگی مثبت منیزیم با پتاسیم و کلسیم ($P < 0/01$) و همبستگی منفی منیزیم با سدیم این تحقیق ($P < 0/01$) مطابقت دارد. وجود گلوکز در مایع منی مرتبط با تقاضای انرژی بیضه‌ها و طول دوره اسپرماتوزنریز یا برای لیبیدها در اسپرماتوزوای قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) است (Soengas et al., 1993). سکر و

همکاران (Secer *et al.*, 2004) همبستگی معنی داری ($P < 0/05$) بین گلوکز و طول دوره تحرک اسپرم در قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) گزارش نمودند. در تحقیق حاضر مشخص گردید که بین گلوکز و زمان تحرک همبستگی مثبت ($P < 0/01$) وجود داشته است.

وایت و مکلود (White and Macleod, 1963) بر نقش حفاظتی پروتئین اشاره داشتند. بزکورت و همکاران (Bozkurt *et al.*, 2006) نشان دادند که مقدار پروتئین بالا ($42/9 \pm 3$ گرم در دسی متر) برای سمن قزل آلی قهوه ای ضروری است. همچنین سکر و همکاران (Secer *et al.*, 2004) گزارش کردند که همبستگی معنی داری بین سطوحی از پروتئین و یون های پتاسیم و کلسیم در قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) وجود دارد که بطور قابل توجهی بر حرکت اسپرم اثرگذار است. در این تحقیق اختلاف معنی داری بین پروتئین و متغیرهای دیگر وجود نداشت. مطابق نتایج پیرونن (Piironen, 1994) لیپیدهای موجود با متابولیسم اسپرماتوزوآ مرتبط است.

بیلارد و همکاران (BiLLard *et al.*, 1995) گزارش کردند که کلسترول در مایع منی ماهیان آب شیرین وجود دارد. اما اطلاعات کمی درباره آن موجود است. کلسترول ممکن است اثری محافظتی در برابر تغییرات محیطی به خصوص درجه حرارت زمانی که حجم سمن در قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) افزایش می یابد داشته باشد (Secer *et al.*, 2004) که در تحقیق حاضر بین کلسترول و سایر فاکتورهای مورد بررسی ارتباط معنی داری دیده نشد (جدول ۱ و ۲). فاکتورهای محیطی خارجی ممکن است بر روی کیفیت و فرآیند دوره تحرک مؤثر باشد. pH از مهمترین مشخصه پلاسمای سیمنال می باشد که روی پتانسیل حرکتی در اسپرم کپور ماهیان تأثیر می گذارد (Alavi and cosson, 2005). لانسستینر (Lahnsteiner, 1996) همبستگی و رابطه مهمی بین pH مایع منی و درصد اسپرم های متحرک بطور خطی و سرعت تحرک اسپرماتوزای در ماهی مروارید (*A. alburnus*) را گزارش کردند. این نتایج نشان می دهند که pH ممکن است یک ویژگی مهم از پلاسمای منی باشد که پتانسیل تحرک اسپرم کپور ماهیان را تحت تأثیر قرار می دهد که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. در بررسی ماهی گطان pH مایع منی ۷/۶ اندازه گیری شد. فسفر موجود در پلاسمای مایع منی ماهی گطان $15/8 \pm 3/1$ میلی مول بر لیتر بود که با هیچ یک از عوامل مورد بررسی در این تحقیق ارتباط معنی داری نداشت ($P > 0/05$). مقایسه نتایج بدست آمده از تحرک و غلظت مایع منی ماهی گطان با ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) توسط علوی و همکاران (Alavi *et al.*, 2009) نشان می دهد که مدت زمان تحرک و تراکم اسپرم در ماهی گطان بیشتر است. این موضوع می تواند نکته مثبتی در مطالعات بعدی در خصوص انجماد اسپرم ماهی گطان باشد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل خصوصیات زیست شناسی اسپرم ماهی گطان نشان می دهد که میانگین طول سر، طول تاژک و طول کل اسپرماتوزوآ ماهی گطان به ترتیب $1/3 \pm 0/3$ ، $2/3 \pm 0/7$ و $3/7 \pm 1/0$ میکرون بود که در مقایسه با مطالعه

صورت گرفته توسط ورما و همکاران (Verema et al., 2008) بر ۶ گونه کپور *Labio*، *Catla catla*، *Hypophthalmichthys molitrix*، *Cirrhinus mrigala*، *Labio cabasu rohita*، *Ctenopharyngodon idella*، میانگین طول اسپرم برای ۶ گونه کپور مورد مطالعه در محدوده طولی $15 \pm 2/6$ تا $24 \pm 2/4$ داشت که می‌توان گفت اندازه اسپرم ماهی گطان بسیار کوچکتر از اسپرماتوزا ۶ گونه بود که این کوچک بودن اسپرم می‌تواند دلیلی بر تراکم بالای اسپرماتوزا در واحد حجم باشد.

سپاسگزاری

با سپاس و تشکر فراوان از مسئولین پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور (شیبان) و قدردانی و سپاس ویژه از زحمات جناب آقای دکتر امیر جعفریان که در تدوین این پژوهش نقش اساسی را ایفا کرده‌اند.

منابع

- Akçay E., Bozkurt Y., Tekin N., Secer S. 2002. Alabalıklarda suni tohumiam. Artificial insemination in trout, p. 70, in: 2nd Nat. cong. Repro. Art. Insem. September 4-6, 2002. Book of Abstracts, Konya (in Turkish).
- Alavi S.M.H., Jorç E., Hatef A., Mortezaei S.A.S., 2010. Sperm motility and seminal plasma characteristics in *Barbus sharpeyi* (Günther, 1874). *Aquaculture Research*, 41: 688-694.
- Alavi M., Rodina A., Hatef V., Stejskal T., Policar J., Hamačkova O. 2010. Sperm motility and monthly variations of semen characteristics in *Perca fluviatilis* (Teleostei: Percidae). *Czech Journal of Animal Science*, 55(4): 174-18.
- Alavia S.M.H, Cosson J. 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*. 30: 1-14.
- Alavi S.M.H., Cosson J. 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquacult Research*, 36:841-50.
- Alavia S.M.H, Cosson J. 2005. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*, 29: 101-110.
- Alavi S.M.H., Cosson J. 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture Research*, 36: 841-850.
- Alavi S.M.H., Cosson J. 2006. Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: areview. *Cell biology international*, 30: 1-14.
- Alavi S.M.H., Cosson J., karami M., Abdoulhay H., Mojazi Amiri B. 2004. Chemical composition and osmolality of seminal plasma of *Acipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility. *Aquaculture International*, 35: 1238-1243.

- Alavi S.M.H., Cosson J. 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquaculture Research*, 36: 841-50.
- Alavia S.M.H, Cosson J. 2005. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*, 29: 101-110.
- Alavi .S.M.H, Rodina M., Policar T., Linhart O. 2009. Relationship between semen characteristics and body size in *Barbus barbus* L. (Teleostei: Cyprinidae) and effects of ions and osmolality on sperm motility. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 153: 430-437.
- Bozkurt Y. 2006. The relationship between body condition, spermatological properties in scaly carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5: 412-414.
- Bozkurt Y. 2006. The relationship between body condition, sperm quality parameters and fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5 (4): 284-288.
- Billard R., Cosson M.P. 1988. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo gairdneri*; effects of PH and temperature. In: Breton b, zohr y, editors. *Reproduction in fish basic and applied aspects in endocrinology and genetics*. Paris: INRA, pp. 161-167.
- Baynes S.M., Scott A.P., Dawson A.P., Dawson A.P. 1981. Rainbow trout, *Salmo gairdneri*, spermatozoa: effects of cations and pH on motility. *Journal of Fish Biology*, 19: 259-267.
- Benau D., Terner C. 1980. Initiation, prolongation and reactivation of the motility of salmonid spermatozoa. *Gamete Research*, 3: 247-57.
- Billard R., Cosson M.P. 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *Journal of Experimental Zoology*, 261:122-131.
- Cosson J. 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*, 12: 69-85.
- Cosson J., Billard R., Cibert C., Dreanno C., Suquet M. 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In: Gagnon C, editor. *The male gamete: from basic to clinical applications*. Vienna, IL: Cache Rive Press, pp: 161-186.
- Rurangwaa E., Kimeb D.E., Olleviera F., Nasha J.P. 2004. The measurement of sperm motility factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234-242.
- Gage M.J.G., Stockley P., Parker G.A. 1995. Effects of alternative male mating strategies on characteristics of sperm production in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): theoretical and empirical investigations. *Journal of Biological Sciences*, 350: 391-399.
- Hoysak D.J., Liley N.R. 2001. Fertilization dynamics in sockeye salmon and a comparison of sperm from alternative male phenotypes. *Journal of fish Biology*, 58: 1286-1300.

- Hefsolzehe F. 2007. Effect of extenders on some spermatological parameters, fertilization success and larval quality of (*Rutilus frisii kutum*), MSc. Thesis Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan.
- Kusa M. 1950. Physiological analysis of fertilization in the egg of the salmon, *Onchorynchus keta*, why are the eggs not fertilized in isotonic Ringer solution. *Annotation Zoology of Japan*, 24: 22-28.
- Liley N.R., Tamkee P., Tsai R., Hoysak D.J. 2002. Fertilization dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on in vitro fertilization. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59: 144-152.
- Lahnsteiner f., Berger b., Weismenn t., Patzner R.A. 1996. Motility of spermatozoa of alburnus (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish physiology and biochemistry*, 15: 167-79.
- Marian T., Krasznai Z., Balkay L., Balazs M., Emri M., Tron L. 1997. Role of extracellular and intracellular pH in carp sperm motility and modifications by hyperosmosis or regulation of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Cytometry*, 27: 374-382.
- Morisawa M., Suzuki K., Shimizu H., Morisawa S., Yasuda K. 1983. Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *Journal of Experimental Zoology*, 107: 95-103.
- Mourtazavi Zadeh S., Maazedi J., Sharifian M., Basak S., Kahkesh M. 1992. An Essay on the possible artificial culture of Gatan fish (*Barbus xanthopeterus*) Iran's fishery research center, Khouzestan's fresh water research center, Iran fisheries research institute.
- Marian T., Krasznai Z., Balkay L., Balazs M., Emri M., Tron L. 1997. Role of extra cellular and intracellular pH in carp sperm motility and modifications by hyperosmosis or regulation of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Cytometry*, 27: 374-382.
- Madadi K., Eymannpour J., Mohammadi A., Bani Esmayeli, et al. 1999. "A comparative Essay on some characteristics of spermology of cultured and wild elephant fish (huso;huso):fishery Magazine, fourth year number second page (83-89).
- Pool W.R., Dillane M.G. 1998. Estimation of sperm concentration of wild and reconditioned brown trout (*Salmo trutta*). *Aquaculture Research*, 29: 439-445.
- Pyka J., Bartell R., Szczerbowski J.A., Epler P., 2001. Reproduction of Gattan (*Barbus xanthopeterus*, Hechel), Shaboout (*B. grypus*, Hechel) and Bunni (*B. shareyi*, Gunther) and rearing stoking material of these species. *Archives of Polish Fisheries*, 9: 235-246.
- Rurangwa E., Kime D.E., Ollevier F., Nash J.P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234: 1-28.
- Rodina M., Policar T., Kozak P., Psenicka M., Linhart O. 2007. Semen of *Perca fluviatilis* sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. *Theriogenology*, 68: 276-283.

- Soengas J.L., Sanmartin B., Barciela P., Aldegunde M., Rozas G. 1993. Changes in carbohydrate in domesticated rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* related spermatogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105: 665-667.
- Cierieszko A., Glogowski J., Dabrowski K. 2007. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes; In: Tiersch T.R., Mazik P.M. editors, *Cryopreservation in aquatic species*; Louisiana: WAS, Baton Rouge, pp. 20-48.
- Sahinoz E., Aral F., Dogu Z. 2007. Determination of spermatological properties of male *Liza abu* In Ataturk Dam Lake Sanhurfa. *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 34: 71-77.
- Piironen J. 1994. Composition and cryopreservation sperm from some Finnish fresh water teleost fish. *Finnish Fish Research*, 15: 27-48.
- Tekin N., Secer S., Akcay E., Bozkurt Y. 2003. Cryopreservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 55: 208-212.
- Verma D.K., Routray P., Dash C., Dasgupta S., Jena J.K. 2009. Physical and Biochemical Characteristics of Semen and Ultra structure of Spermatozoa in Six Carp Species. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 67-76.
- White L., Macleod J. 1963. Composition and physiology of semen, pp.135-172. In: Hartman C.G., *Mechanisms Concerned with Conception*. Pergamon Press, London.
- Winfield I.J., Nelson J.S. 1991. *Cyprinid Fishes, systematic, biology and exploitation*. CHAPMAN and HALL. Fish and fisheries series 3.

