



بررسی پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی مایع منی ماهی سفیدک (*Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897) سیستان

سمیه عرب‌نژاد^۱، ایمان سوری‌نژاد^{۲*}، علیرضا افشاری^۳، مهین ریگی^۴

تاریخ دریافت: فروردین ۹۵

تاریخ پذیرش: خرداد ۹۵

چکیده

به منظور بهینه‌سازی تکثیر مصنوعی ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* در شرایط پرورشی، ارتباط بین پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی مایع منی مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک اسپرم ۲۰ مولد نر پرورشی بر اساس پروتکل استاندارد انجام شد. تراکم اسپرم با روش استاندارد هموسیتومتری محاسبه شد و غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گلوکز و کلسترول مایع منی نیز با روش‌های استاندارد سنجش شد. بر اساس نتایج، میانگین مدت زمان تحرک اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک به ترتیب $51/21 \pm 5/51$ ثانیه و $73/32 \pm 8/01$ درصد، تراکم اسپرم $0/78 \pm 0/11$ میلیارد در میلی‌لیتر، درصد اسپرماتوکریت $36/39 \pm 6/22$ درصد و pH مایع منی $7/83 \pm 0/2$ بود. غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم به ترتیب $76/84 \pm 11/75$ ، $63/83 \pm 11/73$ ، $2/58 \pm 0/76$ و $6/88 \pm 0/83$ میلی‌مول در لیتر و غلظت گلوکز و کلسترول به ترتیب $0/27 \pm 0/01$ و $0/05 \pm 0/02$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر ثبت شد. نتایج نشان داد که بین تراکم اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک ارتباط معنی‌دار وجود داشت. همچنین ارتباط معنی‌داری بین مدت زمان تحرک اسپرم با حجم و درصد اسپرم‌های متحرک و pH مشاهده شد. بین حجم و pH مایع منی، بین مدت زمان تحرک اسپرم با فاکتورهای بیوشیمیایی منی، بین یون‌های سدیم و پتاسیم و درصد اسپرم‌های متحرک با یون سدیم و پتاسیم ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. نتایج این پژوهش درباره وجود ارتباط معنی‌دار بین میزان ترکیبات مایع منی به ویژه سدیم و پتاسیم با تحرک اسپرم در ماهی سفیدک سیستان می‌تواند در تکثیر مصنوعی این ماهی برای تهیه محلول‌های نگهدارنده و رقیق‌کننده مناسب مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ماهی سفیدک سیستان، تحرک اسپرم، پتاسیم منی، موفقیت لقاح.

- ۱- کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۳- دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۴- مربی گروه پژوهشی شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

* نویسنده مسئول: Sourinejad@hormozgan.ac.ir

مقدمه

ترکیب بیوشیمیایی مایع منی و ویژگی‌های فیزیکی اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت بوده، دارای اهمیت زیادی در تعیین کیفیت اسپرم است (Kruger et al., 2006). کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح است و بنابراین پارامترهای اسپرم‌شناختی که در امر لقاح تاثیرگذار باشند جزء پارامترهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. مهم‌ترین پارامترهایی که برای ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل میزان اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم منی، pH منی، مدت زمان تحرک اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرک و ترکیبات بیوشیمیایی مایع منی است (Billard et al., 1995). همچنین تعیین کیفیت منی شامل تعیین ارتباط داخلی فیزیولوژیکی بین تراکم اسپرم، تحرک اسپرم و مشخصات بیوشیمیایی مایع منی است که فاکتور اصلی برای ایجاد شرایط بهینه برای لقاح مصنوعی است (Billard et al., 1995; Suquet et al., 2000).

ترکیب بیوشیمیایی مایع منی و ویژگی‌های فیزیکی اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت بوده، دارای اهمیت زیادی در تعیین کیفیت اسپرم است (Kruger et al., 2006). کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح است و بنابراین پارامترهای اسپرم‌شناختی که در امر لقاح تاثیرگذار باشند جزء پارامترهای کیفی اسپرم محسوب می‌شوند. مهم‌ترین پارامترهایی که برای ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل میزان اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم منی، pH منی، مدت زمان تحرک اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرک و ترکیبات بیوشیمیایی مایع منی است (Billard et al., 1995). همچنین تعیین کیفیت منی شامل تعیین ارتباط داخلی فیزیولوژیکی بین تراکم اسپرم، تحرک اسپرم و مشخصات بیوشیمیایی مایع منی است که فاکتور اصلی برای ایجاد شرایط بهینه برای لقاح مصنوعی است (Billard et al., 1995; Suquet et al., 2000).

مایع منی دارای ترکیباتی است که برخی از این ترکیبات از اسپرماتوزوا حفاظت می‌کنند و برخی دیگر در تکثیر اسپرم نقش دارند

اهمیت است (Taati et al., 2010). به عنوان مثال در مطالعه‌ای که بر روی ویژگی‌های فیزیکی و بیوشیمیایی اسپرم شش

کردند که بین طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم ارتباط معنی‌داری وجود داشت اما بین تراکم اسپرم و درصد اسپرماتوکریت همبستگی مشاهده نشد (Madadi et al., 2010). همچنین در مطالعه‌ای که بر روی شاخص‌های کیفی اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد نتایج نشان داد که حجم اسپرم، طول دوره تحرک، غلظت یون‌های سدیم، منیزیم، پتاسیم و پروتئین مایع منی در فصل تکثیر و خارج از فصل تفاوتی نداشت (Shalvei et al., 2015).

ماهی سفیدک سیستان متعلق به خانواده کپورماهیان و بومی حوضه سیستان در ایران است. به دنبال خشکسالی‌های متوالی در منطقه سیستان و خشک شدن تالاب هامون و در نتیجه از بین رفتن زیستگاه و زمینه تکثیر طبیعی این ماهی و ورود گونه‌های غیربومی، احتمال خطر انقراض نسل آن افزایش یافته است. در آبی‌پروری مدرن، ارزیابی کیفیت منی یکی از پژوهش‌های کاربردی جهت سنجش توانایی لقاح در شرایط پرورشی است. به منظور ارزیابی توانایی تولیدمثل ماهی سفیدک سیستان در شرایط پرورشی، ارزیابی پارامترهای کیفی اسپرم و ترکیبات مایع منی ماهی سفیدک سیستان و تعیین ارتباط بین

گونه از کپورماهیان شامل کاتلا (*Catla*) روهو (*Labeo rohita*)، کالباسو (*Lebeo calbasu*)، ماریگال (*Cirrhinus mrigala*)، فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) و آمور (*Ctenopharyngodon idella*) انجام گرفت بیان شد که تحرک اسپرم از ۸۰ تا ۱۱۰ ثانیه و pH منی از ۷/۳ تا ۸/۱ متغیر بود که این نتایج می‌تواند در جهت ابداع پروتکل مناسب برای انجماد اسپرم و تکثیر مصنوعی مفید باشد (Verma et al., 2009). در بسیاری از گونه‌های آبزیان ارتباط بین ترکیبات بیوشیمیایی مایع منی و پارامترهای کیفی اسپرم از قبیل تراکم، تحرک و غیره مورد بررسی قرار گرفته است و میزان همبستگی بین آن‌ها مشخص شده است (Piros et al., 2002; Halimi et al., 2014). به عنوان نمونه، در مطالعه‌ای که بر روی زیست‌شناسی اسپرم و بررسی ارتباط بین فاکتورهای کیفی اسپرم ماهی کپور معمولی انجام گرفت نتایج نشان داد که بین حجم مایع منی و مدت زمان تحرک و درصد تحرک اسپرم ارتباط معنی‌داری وجود داشت (Nahiduzzaman et al., 2014). در پژوهشی که بر روی ویژگی‌های اسپرم‌شناختی فیل‌ماهی صورت گرفت، پژوهشگران بیان

آن‌ها که در موفقیت لقاح تاثیرگذار است در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی بومی زهک سیستان صورت گرفت. تعداد ۲۰ مولد نر سه ساله پرورشی ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) با میانگین طولی $42/8 \pm 3/91$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $752/5 \pm 202/84$ گرم، برای تکثیر مورد استفاده قرار گرفتند. برای القای رسیدگی جنسی در این ماهیان از هورمون اوپریم به میزان $0/3$ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد (Gharaei et al., 2011). پس از گذشت ۲۴ ساعت، بعد از خشک کردن منفذ تناسلی با رعایت عدم آلودگی با آب، ادرار و یا خون نمونه‌های منی تهیه شدند. پس از اطمینان از فعال بودن اسپرم، نمونه‌ها در سرنگ‌های استریل جمع‌آوری شدند و به وسیله فلاسک محتوی یخ در مجاورت هوا، در طی کم‌تر از ۶ ساعت به آزمایشگاه انتقال پیدا کردند تا میزان اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و pH آن‌ها اندازه‌گیری شود.

درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک اسپرم با میکروسکوپ فازکنتراست (Leica-DFC 295، ساخت آلمان) مجهز به دوربین پاناسونیک با بزرگنمایی $400 \times$ ارزیابی شد. درصد اسپرم‌های متحرک به روش تخمین چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت (Kopieka et al., 2000) و مدت زمان تحرک اسپرم‌ها بلافاصله پس از مخلوط کردن و از لحظه تماس با آب تا زمانی که ۱۰۰ درصد اسپرماتوزوا از تحرک ایستادند با استفاده از کرنومتر دیجیتالی محاسبه شد (Alavi et al., 2006). حجم اسپرم با استفاده از سرنگ انسولین و بر حسب میلی‌لیتر محاسبه شد. برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، لوله‌های موئینه حاوی منی به دستگاه سانتریفیوژ (Sigma-14، ساخت آلمان) منتقل و با سرعت 3000 دور به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس با استفاده از هماتوکریت خون، درصد اسپرم به مایع منی اندازه‌گیری شد و میانگین سه تکرار به عنوان درصد اسپرماتوکریت ثبت شد (Fitzpatrick et al., 2005). تراکم اسپرم با روش استاندارد هموسیتمتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت $1:1000$ و با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست (Leica-DFC 295، ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد و در واحد میلی‌لیتر

استفاده از کیت‌های کمی پارامترهای بیوشیمیایی سرم یا پلاسما شرکت پارس آزمون (ایران) انجام شد. نتایج سنجش پارامترهای کیفی اسپرم و پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی به صورت میانگین با انحراف معیار ارائه شده است. از ضریب همبستگی پیرسون در نرم افزار SPSS 15 نیز برای بررسی ارتباط بین پارامترهای کیفی اسپرم و پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ استفاده شد.

نتایج

نتایج سنجش پارامترهای کیفی اسپرم ماهی سفیدک سیستان در جدول ۱ ارائه شده است. میانگین مدت زمان تحرک اسپرم $51/21 \pm 5/51$ ثانیه و درصد اسپرم‌های متحرک $73/32 \pm 8/01$ ثبت شد. میزان pH مایع منی $7/83 \pm 0/2$ و درصد اسپرماتوکریت $36/39 \pm 6/22$ به دست آمد.

نتایج اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی ماهی سفیدک سیستان در جدول ۲ نشان داده است. غلظت پتاسیم و سدیم به ترتیب $63/83 \pm 11/73$ و $76/84 \pm 11/75$ میلی‌مول در لیتر بود.

مایع منی بیان شد. به منظور اندازه‌گیری pH، نمونه‌های منی به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شده، به مدت ۲ دقیقه با دور ۵۰۰ و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند (Linhart et al., 1991). بعد از سانتریفیوژ، پلاسما منی که در قسمت بالای ویال قرار گرفته بود به درون ویال‌های جدید انتقال داده شد و میزان pH به وسیله pH متر (Micro 600 Handhelp PH Meter، پالین تست، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری ترکیبات بیوشیمیایی، نمونه‌های منی جمع‌آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و پلاسما منی که در قسمت بالای ویال قرار گرفته بود به درون ویال‌های جدید انتقال یافت و تا زمان اندازه‌گیری غلظت یون‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Alavi et al., 2006). یون‌های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتر (Elico-CL 361، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شدند و اندازه‌گیری یون‌های کلسیم و منیزیم، گلوکز و کلسترول به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (-2100 UV/VIS، QualiTest، ساخت آمریکا) و با

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار پارامترهای کیفی اسپرم ماهی سفیدک سیستان

پارامتر	میانگین \pm انحراف معیار
تراکم اسپرم (میلیارد در میلی‌لیتر)	0.78 ± 0.11
درصد اسپرم‌های متحرک	73.32 ± 8.01
مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه)	51.21 ± 5.51
اسپرماتوکریت (درصد)	36.39 ± 6.22
حجم مایع منی	6.59 ± 5.97
pH مایع منی	7.83 ± 0.2

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی ماهی سفیدک سیستان

پارامتر	میانگین \pm انحراف معیار
منیزیم (میلی‌مول در لیتر)	2.58 ± 0.76
کلسیم (میلی‌مول در لیتر)	6.88 ± 0.83
پتاسیم (میلی‌مول در لیتر)	63.83 ± 11.73
سدیم (میلی‌مول در لیتر)	76.84 ± 11.75
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	0.27 ± 0.01
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	0.05 ± 0.02

متحرک ($P < 0.01$) مشاهده شد. بین حجم منی و pH منی نیز ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.01$). نتایج همبستگی پیرسون بین پارامترهای کیفی اسپرم و پارامترهای بیوشیمیایی مایع منی نیز در جدول ۳ ارائه شده است. بر این اساس، بین حجم اسپرم با میزان یون‌های پتاسیم و سدیم و گلوکز ارتباط

نتایج همبستگی پیرسون بین پارامترهای کیفی اسپرم در جدول ۳ نشان داده شده است. بر این اساس، بین تراکم اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک ارتباط معنی‌دار مثبتی وجود داشت ($P < 0.05$). همچنین ارتباط معنی‌داری بین مدت زمان تحرک اسپرم با حجم ($P < 0.05$) و pH و درصد اسپرم‌های

معنی‌داری وجود نداشت در صورتی که بین مدت زمان تحرک اسپرم با فاکتورهای بیوشیمیایی ارتباط معنی‌داری وجود داشت. همچنین ارتباط معنی‌داری بین یون‌های سدیم و پتاسیم و درصد اسپرم‌های متحرک با یون‌های سدیم و پتاسیم مشاهده شد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که تراکم اسپرم با یون‌های منیزیم، پتاسیم و سدیم ارتباط معنی‌داری نداشت.

جدول ۳: نتایج همبستگی پیرسون بین پارامترهای کیفی اسپرم و بیوشیمیایی مایع منی ماهی سفیدک سیستان

تراکم اسپرم متحرک	درصد اسپرم متحرک	اسپرماتوکریت	مدت تحرک	حجم	pH	منیزیم	کلسیم	پتاسیم	سدیم	گلوکز
۰/۵۷۰*										
۰/۹۳۸**	۰/۶۰۲*									
۰/۴۲۴	۰/۹۳۴**	۰/۴۹۹*								
۰/۹۲۴**	۰/۷۰۳**	۰/۹۴۴**	۰/۵۲۳*							
۰/۷۷۲**	۰/۸۰۷**	۰/۷۶۸**	۰/۷۸۷**	۰/۷۸۵**						
۰/۴۲۹	۰/۵۸۱*	۰/۵۰۰*	۰/۵۳۷*	۰/۴۹۲*	۰/۵۱۰*					
۰/۵۱۳*	۰/۶۴۴**	۰/۶۱۳**	۰/۷۵۳**	۰/۵۲۳*	۰/۷۰۶**	۰/۷۴۰**				
۰/۲۶۴	۰/۵۵۵*	۰/۱۵۸	۰/۵۶۷*	۰/۰۴۶	۰/۰۶۸	۰/۲۳۳	۰/۱۹۴			
۰/۳۰	۰/۶۲۵**	۰/۰۰۷	۰/۵۹۷*	۰/۱۲۲	۰/۱۸۶	۰/۳۱۷	۰/۲۶۹	۰/۸۲۱**		
۰/۳۶۸	۰/۵۴۲*	۰/۳۲۲	۰/۵۰۱*	۰/۳۷۱	۰/۶۳۷**	۰/۴۰۶	۰/۴۰۳	۰/۱۷۹	۰/۳۴۷	
۰/۷۱۴**	۰/۸۱۴**	۰/۶۶۴**	۰/۷۰۷**	۰/۷۶۳**	۰/۸۰۹**	۰/۵۵۲*	۰/۶۵۴**	۰/۲۶۵	۰/۳۹۷	۰/۴۷۳

* همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

** همبستگی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.

بحث

بازدارندگی تحرک در اسپرم این ماهیان می‌شود (Morisawa and Suzuki, 1980) در صورتی که افزایش این یون در ماهی کپور باعث تحرک اسپرم آن می‌شود (Billard and Cosson, 1992).

نتایج این مطالعه نشان داد که یون‌های پتاسیم و سدیم با مدت زمان تحرک اسپرم ارتباط مستقیم و معنی‌داری دارند. نتایج مطالعه حاضر با مطالعه مشابهی که بر ماهی *Salmo trutta macrostigma* انجام شد و بر اساس آن مشخص شد که ارتباط معنی‌دار مثبتی بین یون‌های سدیم و پتاسیم با مدت زمان تحرک اسپرم وجود داشت (Bozkurt et al., 2011) مطابقت دارد. همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که بازدارندگی یون پتاسیم می‌تواند به وسیله افزایش غلظت یون سدیم و یون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم جبران شود. در مطالعه‌ای که بر روی ماهی گطان (*Barbus xanthopterus*) انجام شد مشخص شد که غلظت یون‌های تک‌ظرفیتی سدیم و پتاسیم بالاتر از یون‌های دو‌ظرفیتی کلسیم و منیزیم بود و رابطه معنی‌دار مثبتی بین یون سدیم و افزایش مدت زمان تحرک در این گونه وجود داشت، بنابراین هرچه میزان سدیم بالاتر باشد میزان پتاسیم بیش‌تری برای

در ماهیان نر ویژگی‌های مرتبط با تحرک اسپرم از قبیل درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک متغیر است و این اختلافات می‌تواند به دلایل مختلف از جمله شرایط تغذیه‌ای ماهیان نر، سن، فاکتورهای محیطی، زمان تکثیر و ترکیبات یونی مایع منی باشد (Bozkurt et al., 2008). غلظت یون پتاسیم در مایع منی ماهی سفیدک سیستان نسبت به سایر ماهیان همچون آزادماهیان و ماهیان خاویاری (به ترتیب $30/4 \pm 4/5$ و $2/5 \pm 0/3$ میلی‌مول در لیتر) بالاتر بود (Alavi and Cosson, 2006). همچنین غلظت یون پتاسیم در ماهی کپور نقره‌ای $46/01$ میلی‌مول در لیتر گزارش شد که نسبت به ماهی سفیدک ($63/83$ میلی‌مول در لیتر) پایین‌تر بود (Rahman et al., 2012). نتایج متفاوت مطالعات انجام شده بر روی ویژگی‌های اسپرم ماهیان تنوع بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای وسیعی را در مورد ترکیبات یونی مایع منی نشان می‌دهد (Billard et al., 1995). ترکیبات یونی مایع منی به طور معنی‌داری بر تحرک اسپرم ماهی تاثیر دارد. در آزادماهیان تحرک اسپرم به وسیله غلظت یون پتاسیم کنترل می‌شود و غلظت بالای یون پتاسیم باعث

اسپریم‌های متحرک می‌تواند در نتیجه بالا بودن یون‌های سدیم و پتاسیم باشد که نشان دهنده کیفیت بالای اسپرم ماهی است، به طوری که بین درصد اسپرم‌های متحرک با یون‌های سدیم و پتاسیم ارتباط مستقیمی وجود دارد به گونه‌ای که پایین بودن غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم باعث کاهش درصد اسپرم‌های متحرک و در نتیجه کاهش کیفیت اسپرم می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد که نشان داده شد بین درصد اسپرم‌های متحرک با یون سدیم و پتاسیم ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود دارد. در مطالعه‌ای که بر روی ماهی خاویاری شیپ (*Acipenser nudiventris*) انجام گرفت پژوهشگران بیان کردند که نسبت سدیم و پتاسیم در این گونه بالاتر از آزادماهیان و کپورماهیان است که شاید بیشتر بودن طول دوره تحرک اسپرماتوزوا را در ماهیان خاویاری توجیه کند (Shalvei et al., 2008).

طبق نتایج این پژوهش ارتباط مثبت و معنی‌داری بین مدت زمان تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک با گلوکز و کلسترول وجود داشت که با نتایج برخی پژوهش‌های دیگر از جمله پژوهشی که بر روی ماهی کپور نقره‌ای انجام شد (Rahman et al., 2012) مطابقت

جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است (Karami-Motlagh et al., 2013). اما در مطالعه صورت گرفته بر ماهی آزاد *Salmo trutta macrostigma* نتایج نشان داد که همبستگی منفی بین یون‌های سدیم و پتاسیم با تحرک اسپرم وجود داشت و پژوهشگران بیان کردند که تحرک اسپرم در این گونه وابسته به یون‌های دیگر نظیر کلسیم و منیزیم است (Bozkurt et al., 2011). همچنین نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه‌ای که بر روی ماهی کلمه دریای خزر *Rutilus rutilus caspicus* انجام شد که در آن مدت زمان تحرک اسپرم با یون سدیم و پتاسیم همبستگی منفی داشت (Halimi et al., 2014) نیز مطابقت ندارد که می‌تواند بر اساس دلایل ذکر شده مربوط به ویژگی‌های خاص هر گونه باشد (Halimi et al., 2014).

یون‌هایی مانند سدیم، کلسیم و منیزیم اثر بازدارندگی یون پتاسیم را خنثی می‌کنند و کاتیون‌های دو ظرفیتی نسبت به سدیم بسیار موثرتر هستند. یون‌های سدیم و پتاسیم بسته به غلظت‌شان از طریق دخالت در ترکیبات یونی درون سلولی یا از طریق فشار اسمزی خود در تنظیم تحرک اسپرم دخالت دارند (Billard and Cosson, 1992). درصد بالای

اندازه‌گیری میزان اسپرمتوکریت می‌تواند به عنوان تکنیکی سریع و آسان برای ارزیابی تراکم اسپرم استفاده شود. تراکم اسپرم بستگی به بلوغ و توسعه گناد دارد، همچنین تغییرات در غلظت اسپرم می‌تواند مربوط به تغییر در روش‌های القای هورمونی، شرایط محیطی، ویژگی‌های زیست‌شناختی مولدین مانند سن و غیره باشد (Rahman et al., 2012). در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین تراکم اسپرم و اسپرمتوکریت مشاهده شد که مشابه دیگر مطالعات انجام شده بر قزل‌آلای رنگین‌کمان (Ciereszko and Dabrowski, 1993)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Pironen, 1985)، و کپور (Takashima et al., 1984) بود.

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رابطه معنی‌داری بین ترکیبات شیمیایی مایع منی و تحرک اسپرم در ماهی سفیدک سیستان وجود دارد که در ارزیابی توانایی تولیدمثل این گونه مهم است و باعث فهم بهتر مکانیسم لقاح می‌شود. همچنین این یافته‌ها می‌تواند در مدیریت کارآمد گامت‌های نر، کاهش تعداد مولدین نر برای اسپرم‌کشی و بهره‌وری اقتصادی مزرعه مفید واقع شود. با توجه به این که ماهی سفیدک سیستان در

دارد. در مطالعه ذکر شده بین تحرک اسپرم و ترکیبات یونی و کلسترول مایع منی ارتباط مثبتی گزارش شد (Rahman et al., 2012). اطلاعات کمی درباره نقش کلسترول در مایع منی ماهیان وجود دارد. وقتی که منی رهاسازی می‌شود کلسترول ممکن است اثر حفاظتی در مقابل تغییرات محیطی به ویژه درجه حرارت داشته باشد (Bozkurt et al., 2008). وجود گلوکز در پلاسمای منی ماهیان به انرژی زیاد مصرفی بیضه‌ها در طی تولید اسپرمتوزوا یا تولید لپیده‌های غشای پلاسمای اسپرم مرتبط است (Soengas et al., 1993). میزان کلسترول و گلوکز در مطالعه حاضر در حد پایینی اندازه‌گیری شد که با نتایج مطالعه‌ای که بر ماهی حوض (*Carassius auratus*) انجام شد (Zadmajid and Imanpoor, 2009) همچنین مقدار اسپرمتوکریت در ماهی حوض ۵۲/۸۳ درصد گزارش شد (Zadmajid and Imanpoor, 2009) که نسبت به ماهی سفیدک سیستان (۳۶/۳۹ درصد) پایین‌تر بود. پژوهشگران بیان کردند این تغییرات میزان اسپرمتوکریت می‌تواند به فصل تکثیر هم بستگی داشته باشد (Zadmajid and Imanpoor, 2009).

معرض خطر انقراض قرار گرفته است بهبود روش‌های نگهداری کوتاه مدت و بلند مدت (انجماد اسپرم) و حفظ کیفیت اسپرم در بازسازی ذخایر و حفظ این گونه ضروری به نظر می‌رسد و آگاهی از ترکیبات مایع منی می‌تواند در تهیه محیط‌های مناسب نگهدارنده و رقیق کننده برای افزایش دوره نگهداری و افزایش مدت زمان فعالیت اسپرم مفید باشد.

منابع

- 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.
- Alavi S.M.H., Cosson J. and Kazemi R. 2006.** Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. *Journal Applied Ichthyology*, 22: 400–405.
- Billard R. and Cosson M.P. 1992.** Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *Journal of Experimental Zoology*, 261: 122–131.
- Billard R., Cosson J., Percec G. and Linhart O. 1995.** Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 124: 95–112.
- Bozkurt Y., Ogretmen F., Ercin U. and Y ld z U. 2008.** Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: With emphasis on sperm motility. *Aquaculture Research*, 39: 1666–1672.
- Bozkurt Y., Ogretmen F., Kokcu O. and Ercin U. 2011.** Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: With emphasis on sperm motility. *Czech Journal Animal Science*, 56(8): 355–364.
- Ciereszko A. and Dabrowski K. 1993.** Estimation of sperm concentration of rainbow trout, white fish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquaculture*, 109: 367–373.
- Ciereszko A., Glogowski J. and Dabrowski K. 2000.** Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes. P: 20–48. In: Tiersch T.R. and Mazik P.M. (Eds.). *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Fitzpatrick J.L., Henry J.C., Leily N.R. and Devlin R.H. 2005.** Sperm characteristics and fertilization success of masculinized Coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 249: 459–468.
- Gharaei A., Rahdari A. and Ghaffari M. 2011.** Induced spawning of *Schizothorax zarudnyi* (Cyprinidae) by using synthetic hormones (Ovaprim and HCG). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(6): 518–522.
- Halimi M., Golpour A., Dadras H., Mohamadi M. and Chamanara V. 2014.** Quantitive characteristics and chemical composition in Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspicus*) sperm. *Iranian Journal*

- of Fisheries Sciences, 13(1): 81–90.
- Karami-Motlagh E., Eskandary G.K., Khodadadi M. and Jaferian A. 2013.** Studies of sperm morphological and some chemical variables of Gattan *Barbus xanthopterus* Heckel, 1843 milt. Journal of Applied Ichthyological Research, 1(1): 15–28.
- Kopieka E.F., Williot P. and Goncharov B.F. 2000.** Cryopreservation of Atlantic sturgeons *Acipenser sturio* L., 1758 sperm: First results and associated problems. Boletin Instituto Espanol Oceanografia, 16(1-4): 167–173.
- Kruger J.C.D., Smit G.L., Van Vuren J.H.J. and Ferreira J.T. 2006.** Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus*. Journal of Fish Biology, 24: 263–272.
- Linhart O., Barth T. and Kouril J. 1991.** Stimulation of spermiation in tench *Tinca tinca* L. by analogues of GnRH and carp hypophysis. P: 282. In: Scott A.P., Sumpter J.P., Kime D.E. and Rolfe M.S. (Eds.). Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. University of East Anglia, Norwich, UK.
- Madadi Z., Khara H., Imanpour M.R., Alimohammadi S.A. and Baniesmaeeli S.Y. 2010.** Comparison of some spermatological parameters between wild and cultured beluga sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1768). Journal of Fisheries, 4(2/14): 83–88.
- Morisawa M. and Suzuki K. 1980.** Osmolality and potassium ion: Their roles in initiation of sperm motility in teleosts. Science, 210: 1145–1147.
- Morisawa M., Oda S., Yoshida M. and Takai H. 1999.** Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidians. 149–160. In: Gagnon C. (Ed.). The Male Gamete: From Basic Knowledge to Clinical Applications. Cache River Press, Vienna, USA.
- Nahiduzzaman M., Akter S., Hassan M.M., Azad Shah A.K.M. and Hossain M.A.R. 2014.** Sperm biology of artificially induced common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 1(6): 27–31.
- Piironen J. 1985.** Variation in the properties of milt from the Finnish landlocked salmon (*Salmo salar* Sebago Girard) during the spawning season. Aquaculture, 48: 337–350.

- Piros B., Glogowski J., Kolman R., Rzemieniecki A., Domagala J., Horvath A., Urbanyi B. and Ciereszko A. 2002.** Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri*, and starlet *Acipenser ruthenus*, milt plasma and spermatozoa. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 289–295.
- Rahman M.D., Rahman M.S.H., Hossain A. and Hasan M. 2012.** Seminal plasma composition and physiological relationship with spermatozoa motility in silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(3): 194–200.
- Rurangwa E., Kime D.E., Ollevier F. and Nash J.P. 2004.** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234: 1–28.
- Shaluei F., Hoseini T. and Imanpoor M.R. 2015.** Effect of out-of-season spawning on semen quality indices and fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Researches*, 28(2): 256–262.
- Shaluei F., Imanpour M., Shabane A. and Baghfalaki M. 2008.** Correlation between seminal plasma indices and spermatozoa motility in Ship sturgeon (*Acipenser nudiventris* Lovetzky, 1828). *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 15(1): 22–27.
- Soengas J.L., Sanmartin B., Barciela P., Aldegunde M. and Rozas G. 1993.** Changes in carbohydrate metabolism in domesticated rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* related spermatogenesis. *Competitive Biochemical Physiology*, 105: 665–667.
- Suquet M., Dreanno C., Favel C., Cosson J. and Billard R. 2000.** Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research*, 31: 231–243.
- Taati M.M., Mehrad B., Shabani A. and Golpour A. 2010.** Correlation between chemical composition of seminal plasma and sperm motility characteristics of Prussian carp (*Carassius gibelio*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 3(3): 23–238.
- Takashima F., Weil C., Billard R., Crim L.W. and Fostier A. 1984.** Stimulation of spermiation by LHRH analogue in carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50: 1323–1329.
- Verma D.K., Routray P., Dash C., Dasgupta S. and Jena J.K. 2009.** Physical and biochemical characteristics of semen and ultrastructure of spermatozoa in

six carp species. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 9: 67-76.

Zadmajid V. and Imanpoor M.R. 2009. The correlation between some biochemical and

spermatological parameters in gold fish (*Carassius auratus*) semen. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16(1): 54-61.



Investigation of spermatological and biochemical parameters of seminal plasma in Sistan's loach *Schizothorax zarudnyi* Nikolskii, 1897

Somayeh Arabnejad¹, Iman Sourinejad^{2*}, Alireza Afshari³, Mahin Rigii⁴

Received: April 2016

Accepted: June 2016

Abstract

For optimization of artificial breeding of Sistan's loach *Schizothorax zarudnyi* in culture condition, the relation between spermatological and biochemical parameters of seminal plasma was examined. The percentage of motile spermatozoa and sperm motility duration of 20 cultured male breeder fish were measured according to standard protocol. Sperm density was evaluated through standard hemocytometry. The levels of Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , glucose and cholesterol of seminal plasma were also measured by standard methods. According to the results, the mean sperm motility duration, percentage of motile spermatozoa, mean sperm density, percentage of spermatocrit and milt pH were 51.21 ± 5.51 s, $73.32 \pm 8.01\%$, $0.78 \pm 0.11 \times 10^9$ sperm per mL, $36.39 \pm 6.22\%$ and 7.83 ± 0.2 , respectively. Mean Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , glucose and cholesterol were recorded 76.84 ± 11.75 (mmol/L), 63.83 ± 11.73 (mmol/L), 2.58 ± 0.76 (mmol/L), 6.88 ± 0.83 (mmol/L), 0.027 ± 0.01 (mg/dL) and 0.05 ± 0.02 (mg/dL), respectively. The results showed that there was a significant relation between sperm density and the percentage of motile spermatozoa. Moreover, sperm motility duration was significantly related with milt volume, percentage of motile spermatozoa and pH. There was a significant relation between milt volume and pH, between sperm motility duration and milt biochemical parameters, between Na^+ and K^+ ions and between percentage of motile spermatozoa and Na^+ and K^+ ions. The results of this research in proving the significant relation between sperm motility and seminal plasma components specially Na^+ and K^+ ions in Sistan's loach could be used in artificial breeding of this fish for preparation of appropriate preservative and diluent solutions.

Key words: *Sistan's Loach, Sperm Motility, Milt Potassium, Fertilization Success.*

1- M.Sc. in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Zabol University, Zabol, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

3- Ph.D. Student in Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

4- M.Sc. in Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, Zabol University, Zabol, Iran.

*Corresponding Author: Sourinejad@hormozgan.ac.ir