

## اثرات نسبت‌های یونی مایع اسپرمی بر پارامترهای اسپرم‌شناختی در ماهی کپور معمولی

\*تقی سیفی، محمدرضا ایمان‌پور: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه شیلات چنگیز مخدومی: مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی و خاویاری شهید رجایی ساری

### چکیده

در این پژوهش اثرات نسبت‌های یونی در مایع اسپرمی ماهی‌کپور معمولی روی خصوصیات اسپرم‌شناختی سمن ماهی‌کپور بررسی شد. پارامترهای اسپرم‌شناختی (مدت زمان حرکت اسپرم، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، درصد و طول دوره حرکت اسپرم)، بیوشیمیایی (میزان کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم) و میزان pH مورد نظر از ۱۴ ماهی نرکپور معمولی در آزمایشگاه با کمک دستگاه‌های میکروسانتریفوژ، استریومیکروسکوپ، فلیم فتومتر، اسپکتروفتومتر و پی‌اچ متر اندازه‌گیری شدند. نسبت‌های یونی سدیم به پتاسیم، سدیم به کلسیم، سدیم به منیزیم، پتاسیم به کلسیم، پتاسیم به منیزیم و کلسیم به منیزیم هر یک به ۳ تیمار تقسیم شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش نسبت سدیم به پتاسیم کیفیت اسپرم افزایش پیدا کرد ولی با افزایش نسبت سدیم به کلسیم، پتاسیم به منیزیم و پتاسیم به کلسیم کیفیت اسپرم کاهش پیدا کرد. همچنین تغییرات نسبت‌های یونی کلسیم به منیزیم و سدیم به منیزیم تأثیر زیادی روی کیفیت اسپرم ندارند. با توجه به موارد ذکر شده می‌توان این‌گونه بیان کرد که، نسبت‌های یونی روی افزایش یا کاهش کیفیت اسپرم مؤثرند.

### مقدمه

ماهی‌کپور معمولی<sup>۱</sup> در دریای خزر، رودخانه تجن و تمام حوزه‌های آبریز ایران پراکنش دارد [۲]. سن این گونه‌ها به‌ندرت از ۲۰ سال تجاوز می‌کند و از نظر غذایی جزء ماهیان همه‌چیزخوار محسوب می‌شوند که از تنوع غذایی نسبتاً وسیعی (موجودات ریز بسترآب، کرم‌ها، سخت‌پوستان، نوزاد حشرات و حتی فضولات حیوانی و گیاهی، لاشه حیوانات، تخم ماهیان و نوزادان خود) برخوردار هستند [۲۰]. ماهی‌کپور از مهم‌ترین ماهیان پرورشی به‌شمار می‌رود و پرورش آن به‌علت صرفه اقتصادی و گوشت خوشمزه در اغلب کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۳].

واژه‌های کلیدی: ماهی‌کپور، نسبت‌های یونی، پارامترهای اسپرم‌شناختی، سمن

پذیرش ۹۰/۷/۱۷

دریافت ۸۹/۷/۱۰

mtseifi@gmail.com

\*نویسنده مسئول

۱. *Cyprinus carpio* L.

برای استفاده کارآمد از روش‌های متنوع تولیدمثلی در آبی‌پروری، تکثیر القایی، لقاح مصنوعی، تفریح موفق و انجماد اسپرم نیاز به سمن با کیفیت خوب است [۴]. سمن (میلت) عبارت است از اسپرم به همراه پلاسمای سمینال که خود پلاسمای سمینال ترکیب منحصر به فردی دارد. برخی ترکیبات آن از اسپرم حفاظت می‌کند، در حالی که دیگر ترکیبات در تکثیر اسپرم نقش دارند [۱۲]. مایع سمینال از نظر یون‌ها و مواد غذایی بسیار غنی است که برخی از آن‌ها از نظر ابقا و حفظ کیفیت اسپرم هنگام ذخیره شدن در شرایط غیرحرکتی در دستگاه تناسلی اهمیت دارند. عوامل محیطی خارجی می‌توانند روی کیفیت و حرکت طی پروسه‌های فعالیت اثر بگذارند. عواملی نظیر pH یا یون‌های موجود می‌توانند باعث پلازمازیون غشاء سلولی و تحریک اسپرم ماهیان شوند [۱۶].

علوی و کوسون [۷] ترکیبات یونی سمن کپور ماهیان، آزادماهیان، ماهیان‌خاویاری و ماهیان‌دریایی را بررسی و گزارش کردند که یون‌های سدیم، پتاسیم و کلر در پلاسمای سمینال غالب هستند. همچنین مقادیر یونی کلر، سدیم و پتاسیم در ماهیان‌خاویاری از کپور ماهیان و آزادماهیان پایین‌تر است و ترکیبات یونی ممکن است در طی فصل تکثیر تغییر کنند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که نسبت سدیم به پتاسیم در کپور ماهیان از ماهیان‌خاویاری و آزادماهیان پایین‌تر است [۷]. تکه و همکاران [۱] نیز طی مطالعه‌ای که روی ماهی سفید انجام دادند گزارش کردند که نسبت‌های یونی بر کیفیت اسپرم در ماهی سفید اثرگذار است.

از آن‌جا که پژوهش‌های زیادی روی نسبت‌های یونی پلاسمای سمن و تأثیر آن بر خصوصیات حرکتی اسپرماتوزوآ در ماهیان انجام نشده است، خصوصاً در مورد کپور معمولی که از ارزشمندترین ماهیان ایران و دنیا است، لزوم انجام این تحقیق برای دستیابی به نسبت‌های مناسب یونی که بر کیفیت اسپرم اثر مثبت داشته باشند بیش‌تر احساس می‌شود. از نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان برای ساختن محلول با نسبت‌های یونی مناسب ماهی‌کپور در زمینه نگهداری کوتاه و بلند مدت اسپرم با مواد نگهدارنده، استفاده کرد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در فروردین سال ۱۳۸۸ در مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری انجام شد. بدین‌منظور از ۱۴ ماهی نر کپور سه ساله (با میانگین طولی  $1/49 \pm 51/65$  سانتی‌متر و میانگین وزنی  $169/68 \pm 2691/50$  گرم) بدون تزریق هورمون اسپرم گرفته شد (میانگین دمای هوا ۲۰ درجه سانتی‌گراد). برای جمع‌آوری اسپرم از هر ماهی نر ابتدا ناحیه سوراخ تناسلی با حوله نرم و تمیز خشک گردید و سپس با یک فشار آرام به ناحیه شکمی (بیضه‌ها و مجرای اسپرمی) میل‌ت بدون مخلوط شدن با ادرار و فضولات با سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری، در یخ نگهداری و برای اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی سمن در زمان کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه

مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. ماهیان بر حسب هر یک از نسبت‌های یونی: نسبت‌های یونی سدیم به پتاسیم به ۳ تیمار (تیمار ۱: ۱-۰ میلی‌مول، تیمار ۲: ۲-۱ میلی‌مول و تیمار ۳: ۳-۲ میلی‌مول)، سدیم به کلسیم (تیمار ۱: ۶۵-۵۳ میلی‌مول، تیمار ۲: ۷۷-۶۵ میلی‌مول و تیمار ۳: ۸۹-۷۷ میلی‌مول)، سدیم به منیزیم (تیمار ۱: ۲۰۰-۱۵۰ میلی‌مول، تیمار ۲: ۲۵۰-۲۰۰ میلی‌مول و تیمار ۳: ۳۰۰-۲۵۰ میلی‌مول)، پتاسیم به کلسیم (تیمار ۱: ۳۸-۱۹ میلی‌مول، تیمار ۲: ۵۶-۳۸ میلی‌مول و تیمار ۳: ۷۴-۵۶ میلی‌مول)، پتاسیم به منیزیم (تیمار ۱: ۹۳-۵۱ میلی‌مول، تیمار ۲: ۱۳۵-۹۳ میلی‌مول و تیمار ۳: ۱۷۷-۱۳۵ میلی‌مول) و کلسیم به منیزیم (تیمار ۱: ۲/۲۵-۱/۷ میلی‌مول، تیمار ۲: ۲/۲۵-۲/۸ میلی‌مول و تیمار ۳: ۳/۳۵-۲/۸ میلی‌مول) تقسیم شدند.

برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره حرکت اسپریم از میکروسکوپ متصل به دوربین (فازکنتر است) استفاده شد [۱۳]. برای این کار سمن ماهی‌کپور با نسبت سمن به رقیق‌کننده ۱:۲۰۰۰ رقیق شد و پارامترهای حرکتی اسپریم بلافاصله (با تأخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) بعد از شروع فعالیت اسپریم تا زمانی که ۱۰۰ درصد اسپریم‌ها غیرمتحرک شدند با میکروسکوپ فازکنتر است ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد. مدت زمان حرکت اسپریم، از لحظه فعال شدن تا زمانی که همه اسپریم‌ها از حرکت باز می‌ایستادند اندازه‌گیری شدند [۱۹]. همه آزمایش‌ها در سه تکرار و در درجه حرارت اتاق (۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد) با میکروسکوپ فازکنتر است با درشت‌نمایی ۱۰ و مشاهده نمونه روی لام صورت پذیرفت [۱۳]. برای اندازه‌گیری اسپریماتوکریت، پس از سانتریفوژ کردن لوله‌های میکرو محتوی سمن در دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در ۸ دقیقه با استفاده از هماتوکریت خوان درصد اسپریم به پلاسمای سمن اندازه‌گیری شد [۱۴]. تراکم اسپریم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپریم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فازکنتر است زمینه سیاه با درشت‌نمایی ۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد  $\times 10^9$  در هر میلی‌لیتر سمن نوشته شد. میزان pH توسط پی-اچ متر اندازه‌گیری شد [۱۸]. میزان کلسیم و منیزیم با کمک کیت‌های شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>۱</sup> و مقدار یون‌های سدیم و پتاسیم با فلیم‌فتومتر<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شدند. میانگین پارامترهای بیوشیمیایی در ماهی‌های کپور در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. میانگین مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) پارامترهای بیوشیمیایی در ماهی‌کپور

شاخص	میزان پارامتر
سدیم (میلی‌مول در لیتر)	۳۷۵/۷۸ $\pm$ ۷۵/۲۴
پتاسیم (میلی‌مول در لیتر)	۲۲۷/۰۷ $\pm$ ۴۴/۳۵
کلسیم (میلی‌مول در لیتر)	۴/۷۸ $\pm$ ۰/۸۵
منیزیم (میلی‌مول در لیتر)	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۳۶

۱. S2000-UV/IS England

۲. Jenway pfp 7 England

شیوه نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های به‌دست‌آمده (طول دوره تحرك اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرك، اسپرماتوکريت، تراکم اسپرم، pH و حجم اسپرم‌دهی) در هر تیمار (نسبت‌های یونی سدیم به پتاسیم، سدیم به کلسیم، پتاسیم به کلسیم، پتاسیم به منیزیم و کلسیم به منیزیم) به‌کمک آزمون چنددامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد ( $\alpha = 0/05$ ) توسط آنالیز واریانس يك طرفه (One-Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS16 با یکدیگر مقایسه شدند.

## نتایج

مقایسه مقادیر نسبت سدیم به پتاسیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور معمولی در جدول ۲ نشان داده شده است. چنان‌که در جدول دیده می‌شود، میزان pH، حجم اسپرم‌دهی، طول دوره تحرك اسپرم، درصد اسپرم‌متحرك در بین سه تیمار دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ). همچنین میزان اسپرماتوکريت و تراکم اسپرم دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ )، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان اسپرماتوکريت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم‌دهی، طول دوره تحرك اسپرم، درصد اسپرم‌متحرك و کم‌ترین میزان pH در تیمار سوم مشاهده شدند.

جدول ۲. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت سدیم به پتاسیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور

شاخص	تیمار ۱ (۰-۱ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۱-۲ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۲-۳ میلی‌مول)
pH	۸/۶۶±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۸/۵۰±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۸/۰۴±۰/۱۱ <sup>b</sup>
اسپرماتوکريت (%)	۵۷/۷۰±۴/۷۸ <sup>ab</sup>	۴۷/۶۰±۵/۸۲ <sup>b</sup>	۶۴/۶۴±۱۳/۷۲ <sup>a</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^3$ )	۱/۷۰±۰/۱۱ <sup>ab</sup>	۱/۳۷±۰/۱۵ <sup>b</sup>	۱/۸۷±۰/۳۹ <sup>a</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۳۷±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۰/۴۵±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۰/۸۴±۰/۲۷ <sup>a</sup>
طول دوره تحرك اسپرم (ثانیه)	۳۸/۱۲±۱/۴۹ <sup>c</sup>	۴۲/۸۰±۲/۵۸ <sup>b</sup>	۵۷/۰۰±۲/۳۴ <sup>a</sup>
درصد اسپرم‌متحرك (%)	۴۴/۹۳±۱/۰۵ <sup>c</sup>	۴۹/۹۱±۳/۰۸ <sup>b</sup>	۶۰/۳۷±۱/۵۱ <sup>a</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

در جدول ۳ مقایسه مقادیر نسبت سدیم به کلسیم را روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور معمولی نشان می‌دهد. مطابق جدول ۳ میزان اسپرماتوکريت ( $P < 0/01$ )، تراکم اسپرم ( $P < 0/01$ )، حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0/05$ )، طول دوره تحرك اسپرم ( $P < 0/05$ ) و درصد اسپرم‌های متحرك ( $P < 0/05$ ) در بین سه تیمار دارای تفاوت معنی‌داری بود ولی میزان pH در بین تیمارها دارای اختلاف نبود ( $P > 0/05$ ).

جدول ۳. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت سدیم به کلسیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور

شاخص	تیمار ۱ (۵۳-۶۵ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۶۵-۷۷ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۷۷-۸۹ میلی‌مول)
pH	۸/۱۰±۰/۱۰ <sup>a</sup>	۸/۲۰±۰/۳۳ <sup>a</sup>	۸/۴۱±۰/۲۶ <sup>a</sup>
اسپرماتوکريت (%)	۷۲/۳۵±۳/۲۸ <sup>a</sup>	۶۴/۳۳±۱۰/۰۳ <sup>a</sup>	۵۲/۸۳±۶/۹۹ <sup>b</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^3$ )	۲/۲۰±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۹۱±۰/۲۸ <sup>a</sup>	۱/۵۲±۰/۱۷ <sup>b</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۷۶±۰/۳۲ <sup>ab</sup>	۰/۹۲±۰/۳۰ <sup>a</sup>	۰/۵۱±۰/۱۵ <sup>b</sup>
طول دوره تحرك اسپرم (ثانیه)	۵۷/۳۳±۲/۰۸ <sup>a</sup>	۵۳/۷۵±۸/۲۶ <sup>a</sup>	۴۴/۰۰±۵/۰۰ <sup>b</sup>
درصد اسپرم‌متحرك (%)	۶۰/۳۵±۱/۹۴ <sup>a</sup>	۵۸/۶۳±۶/۱۵ <sup>ab</sup>	۵۰/۶۵±۵/۸۱ <sup>b</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

جدول ۴ مقایسه مقادیر نسبت کلسیم به منیزیم و جدول ۵ مقایسه مقادیر نسبت سدیم به منیزیم را روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی کپور معمولی نشان می‌دهند. مطابق جدول ۴ و جدول ۵ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

جدول ۴. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت کلسیم به منیزیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی کپور

شاخص	تیمار ۱ (۱/۷-۲/۲۵ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۲/۲۵-۲/۸ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۲/۸-۳/۳۵ میلی‌مول)
pH	۸/۴۰ $\pm$ ۰/۳۶ <sup>a</sup>	۸/۱۶ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>a</sup>	۸/۳۶ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>
اسپرماتوکریت (%)	۵۵/۷۳ $\pm$ ۱۱/۲۳ <sup>a</sup>	۶۳/۳۱ $\pm$ ۱۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴۹/۴۳ $\pm$ ۱۱/۸۵ <sup>a</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^9$ )	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>a</sup>	۱/۸۷ $\pm$ ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۷۶ $\pm$ ۰/۳۵ <sup>a</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۵۴ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>a</sup>
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۴۷/۶۶ $\pm$ ۱۰/۶۹ <sup>a</sup>	۵۳/۰۰ $\pm$ ۷/۳۲ <sup>a</sup>	۴۶/۸۰ $\pm$ ۷/۳۲ <sup>a</sup>
درصد اسپرم متحرک (%)	۵۴/۱۰ $\pm$ ۹/۹۳ <sup>a</sup>	۵۷/۲۲ $\pm$ ۵/۲۵ <sup>a</sup>	۵۲/۸۹ $\pm$ ۷/۱۵ <sup>a</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

جدول ۵. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت سدیم به منیزیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی کپور

شاخص	تیمار ۱ (۱۵۰-۲۰۰ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۲۰۰-۲۵۰ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۲۵۰-۳۰۰ میلی‌مول)
pH	۸/۲۸ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>a</sup>	۸/۲۶ $\pm$ ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۸/۳۰ $\pm$ ۰/۲۶ <sup>a</sup>
اسپرماتوکریت (%)	۶۲/۴۷ $\pm$ ۱۱/۱۳ <sup>a</sup>	۵۶/۰۰ $\pm$ ۱۰/۸۲ <sup>a</sup>	۵۸/۸۱ $\pm$ ۱۲/۳۷ <sup>a</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^9$ )	۱/۸۴ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۱/۷۸ $\pm$ ۰/۴۶ <sup>a</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۷۴ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>a</sup>	۰/۵۶ $\pm$ ۰/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>a</sup>
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۵۱/۵۰ $\pm$ ۸/۴۰ <sup>a</sup>	۴۶/۶۶ $\pm$ ۷/۰۰ <sup>a</sup>	۴۷/۶۶ $\pm$ ۹/۲۹ <sup>a</sup>
درصد اسپرم متحرک (%)	۵۶/۷۹ $\pm$ ۶/۸۰ <sup>a</sup>	۵۳/۶۸ $\pm$ ۶/۷۳ <sup>a</sup>	۵۱/۵۶ $\pm$ ۷/۵۲ <sup>a</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

جدول ۶ مقایسه مقادیر نسبت پتاسیم به کلسیم را روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی کپور معمولی نشان می‌دهد. مطابق جدول ۶ بین میزان حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0.05$ )، pH، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم و درصد اسپرم متحرک ( $P < 0.01$ ) در بین سه تیمار اختلاف معنی‌دار وجود داشت. به‌نحوی که بیش‌ترین میزان اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم‌دهی، طول دوره تحرک اسپرم، درصد اسپرم متحرک و کم‌ترین میزان pH در تیمار اول مشاهده شدند.

جدول ۶. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت پتاسیم به کلسیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی کپور

شاخص	تیمار ۱ (۱۹-۳۸ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۳۸-۵۶ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۵۶-۷۴ میلی‌مول)
pH	۸/۰۵ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>b</sup>	۸/۵۰ $\pm$ ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۸/۴۲ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>a</sup>
اسپرماتوکریت (%)	۷۰/۰۸ $\pm$ ۲/۵۸ <sup>a</sup>	۵۵/۳۶ $\pm$ ۱۱/۸۲ <sup>b</sup>	۵۰/۵۷ $\pm$ ۱/۳۸ <sup>b</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^9$ )	۲/۰۶ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۶۷ $\pm$ ۰/۴۳ <sup>b</sup>	۱/۴۸ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>b</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۹۰ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>a</sup>	۰/۵۴ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>b</sup>	۰/۵۰ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>b</sup>
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۵۶/۸۳ $\pm$ ۲/۷۸ <sup>a</sup>	۴۵/۲۵ $\pm$ ۸/۵۳ <sup>b</sup>	۴۳/۲۵ $\pm$ ۲/۷۵ <sup>b</sup>
درصد اسپرم متحرک (%)	۶۱/۳۴ $\pm$ ۲/۰۲ <sup>a</sup>	۵۰/۶۱ $\pm$ ۵/۷۷ <sup>b</sup>	۴۹/۹۰ $\pm$ ۴/۱۶ <sup>b</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

در جدول ۷ مقایسه مقادیر نسبت پتاسیم به منیزیم را روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور معمولی نشان می‌دهد. مطابق جدول ۷ میزان حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0/05$ )، pH، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک ( $P < 0/01$ ) در بین سه تیمار دارای اختلاف معنی‌دار بود.

جدول ۷. مقایسه مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) نسبت پتاسیم به منیزیم روی پارامترهای اسپرم‌شناختی در سمن ماهی‌کپور

شاخص	تیمار ۱ (۵۱-۹۳ میلی‌مول)	تیمار ۲ (۹۳-۱۳۵ میلی‌مول)	تیمار ۳ (۱۳۵-۱۷۷ میلی‌مول)
pH	۸/۰۵ $\pm$ ۰/۱ <sup>b</sup>	۸/۴۶ $\pm$ ۰/۴ <sup>a</sup>	۸/۴۶ $\pm$ ۰/۱ <sup>a</sup>
اسپرماتوکریت (%)	۷۰/۰۸ $\pm$ ۲/۵۸ <sup>a</sup>	۵۷/۳۲ $\pm$ ۱۳/۶۶ <sup>b</sup>	۵۰/۳۶ $\pm$ ۱/۲۹ <sup>b</sup>
تراکم اسپرم ( $\times 10^6$ )	۲/۰۶ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۷۴ $\pm$ ۰/۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۷ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>b</sup>
حجم اسپرم‌دهی (سی‌سی)	۰/۹۰ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>a</sup>	۰/۶۱ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>ab</sup>	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>b</sup>
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۵۶/۸۳ $\pm$ ۲/۷۸ <sup>a</sup>	۴۷/۰۰ $\pm$ ۹/۵۳ <sup>b</sup>	۴۲/۶۰ $\pm$ ۲/۷۹ <sup>b</sup>
درصد اسپرم‌متحرک (%)	۶۱/۳۴ $\pm$ ۲/۰۲ <sup>a</sup>	۵۱/۳۲ $\pm$ ۶/۸۵ <sup>b</sup>	۴۹/۶۲ $\pm$ ۳/۶۶ <sup>b</sup>

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

## بحث و نتیجه‌گیری

کنترل تولیدمثل يك راه نتیجه بخش در پیشرفت آبی پروری است و یکی از عوامل محدود کننده تولیدمثل موفق، کیفیت گامت‌های ماهیان نر و ماده است [۱۱]. در نتیجه توسعه مزرعه‌های ماهی و افزایش برداشت ذخایر وحشی، بهبود تکنیک‌ها و روش‌های ذخیره‌سازی گامت‌ها برای تسهیل تکثیر مصنوعی ضرورت فراوان دارد [۶]. تعیین کیفیت سمن برای فهمیدن فرایندهای اصلی شیمیایی که در طول تحرک اسپرم و باروری اتفاق می‌افتد، برای ارزیابی توانایی تولیدمثلی انواع گونه‌های مختلف ماهیان و آماده کردن یک محیط بهینه برای ذخیره کردن اسپرماتوزوآ لازم است [۵]. به عبارت دیگر ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهیان، بررسی فیزیولوژی اسپرم در بیضه‌ها و مجاری جنسی و بعد از استحصال و باروری لازم است [۱۰]. مطالعه پارامترهای پلاسمای سمینال به دو دلیل امری مهم و ضروری است، نخست کسب دانش در رابطه با تأثیر پارامترهای بیوشیمیایی بر تکامل و بلوغ اسپرم در طی فصل تولید مثل و نحوه آغاز حرکت اسپرم بعد از خروج از مجرای اسپرم، و مورد بعدی ارزیابی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی اسپرم جهت موفقیت در امر لقاح مصنوعی [۸].

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش نسبت سدیم به پتاسیم، میزان pH پلاسمای سمن کاهش پیدا می‌کند ( $P < 0/01$ ) ولی میزان اسپرماتوکریت ( $P < 0/05$ )، تراکم اسپرم ( $P < 0/05$ )، حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0/01$ )، طول دوره تحرک اسپرم ( $P < 0/01$ ) و درصد اسپرم‌های متحرک ( $P < 0/01$ ) افزایش می‌یابد. هوانگ و آیدلر [۱۵] وجود همبستگی بین سدیم و پتاسیم پلاسمای سمینال در سالمون اطلس، سالمون سالار<sup>۱</sup> را به‌عنوان يك اصل بیان کردند.

۱. *Salmo salar*

علوی و کوسون [۷] بیان کردند که وجود تفاوت‌های واضح در نسبت‌های سدیم به پتاسیم بین استروژن‌ها، کپورماهیان و آزادماهیان نشان می‌دهد که چرا طول دوره حرکت اسپرم در خاویاری‌ها نسبت به دو گروه دیگر طولانی‌تر است. کیفیت سمن در ماهی‌ها ابتدا به‌وسیله اندازه‌گیری تراکم اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک بررسی می‌شود. دوره حرکت اسپرم و لقاح موفق دیگر عواملی هستند که برای بررسی کیفیت سمن مورد توجه هستند [۴]. از آنجا که پارامترهای اسپرم‌شناختی مطرح شده جزء پارامترهای کیفی سمن به حساب می‌آیند، می‌توان بیان کرد که با افزایش نسبت سدیم به پتاسیم پلاسمای سمن کیفیت اسپرم افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج این پژوهش (جدول ۳) در میزان pH در بین سه تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) ولی در بین بقیه پارامترها اختلاف معنی‌دار بود به‌نحوی که با افزایش نسبت سدیم به کلسیم میزان اسپرماتوکریت ( $P < 0/01$ )، تراکم اسپرم ( $P < 0/01$ )، طول دوره حرکت اسپرماتوزوآ ( $P < 0/05$ ) و درصد اسپرم‌های متحرک ( $P < 0/05$ ) کاهش پیدا کرد. همچنین حجم اسپرم‌دهی در بین سه تیمار دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ) و در تیمار دوم بیش‌تر از دو تیمار دیگر بود و کمترین آن در تیمار سوم مشاهده شد. تکه و همکاران [۱] گزارش کردند که با افزایش نسبت سدیم به کلسیم سمن در ماهی سفید دریای خزر میزان اسپرماتوکریت و طول دوره حرکت اسپرم کاهش پیدا می‌کند، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

چنان که در جدول ۴ و ۵ مشاهده می‌شود بین میزان کلسیم به منیزیم و سدیم به پتاسیم در بین سه تیمار اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ) ولی با توجه به نتایج مربوط به میزان کلسیم به منیزیم (جدول ۴) بیش‌ترین میزان طول دوره حرکت اسپرم و درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار دوم مشاهده شد. در جدول ۵ (سدیم به منیزیم) بیش‌ترین میزان اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم‌دهی، طول دوره حرکت اسپرماتوزوآ و درصد اسپرم‌های متحرک در تیمار اول ثبت شدند. تحرکات اسپرماتوزوآی ماهی به‌وسیله حساسیت آن‌ها به شرایط اسمزی و غلظت یون‌ها کنترل می‌شود [۷]. برای افزایش راندمان لقاح مصنوعی، ترکیب رقیق‌کننده‌های اسپرم خیلی مهم است و آن را باید به تقلید از ترکیبات پلاسمای سمینال ویژه گونه‌ها همسان‌سازی کرد [۱۷].

با توجه به نتایج این پژوهش (جدول ۶) با افزایش نسبت پتاسیم به کلسیم میزان اسپرماتوکریت ( $P < 0/01$ )، حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0/05$ )، تراکم اسپرم ( $P < 0/01$ )، طول دوره حرکت اسپرماتوزوآ ( $P < 0/01$ ) و درصد اسپرم‌های متحرک ( $P < 0/01$ ) کاهش پیدا می‌کند ولی میزان pH ( $P < 0/01$ ) نسبتاً افزایش می‌یابد.

در جدول ۷ نشان داده شده که با افزایش نسبت پتاسیم به منیزیم، میزان pH افزایش پیدا می‌کند ( $P < 0/01$ ) ولی میزان اسپرماتوکریت ( $P < 0/01$ )، تراکم اسپرم ( $P < 0/01$ )، حجم اسپرم‌دهی ( $P < 0/05$ )، طول دوره حرکت اسپرم ( $P < 0/01$ ) و درصد اسپرم‌های متحرک ( $P < 0/01$ ) کاهش می‌یابند که می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگر میزان پتاسیم

بیش‌تر شود و میزان منیزیم و کلسیم کم باشد در کیفیت اسپرم اثر منفی دارد. غلظت‌های یون‌ها به هم وابسته است. بیش‌تر این یون‌ها هر یک به‌وسیله سهمی که در ترکیب یونی داخل سلول یا به‌وسیله اثر روی اسمولاریته آن‌ها دارند در تنظیم تحرک اسپرم مؤثر هستند [۹]. در کل نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش نسبت سدیم به پتاسیم کیفیت اسپرم افزایش پیدا می‌کند ولی با افزایش نسبت سدیم به کلسیم، پتاسیم به منیزیم و پتاسیم به کلسیم کیفیت اسپرم کاهش پیدا می‌کند. همچنین تغییرات نسبت‌های یونی کلسیم به منیزیم و سدیم به منیزیم تأثیر زیادی روی کیفیت اسپرم ندارند. از نتایج این پژوهش می‌توان در ساخت محلول‌های شنا و یا مواد نگه‌دارنده برای نگهداری کوتاه و بلند مدت اسپرم در زمان خارج از فصل تکثیر و یا انجماد اسپرم به‌منظور انتقال به کارگاه‌های دیگر برای برنامه‌های هیبریدگیری یا اصلاح نژاد استفاده کرد که نتیجه آن صرفه‌جویی در زمان، و کاهش هزینه‌های نیروی انسانی و هزینه‌های تکثیر است.

### تقدیر و تشکر

از مسئولین و کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم‌آبی و ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری و آقایان مهندس مهدی طاعتی و امین گلپور تشکر و قدردانی می‌شود.

### منابع

۱. ش. تکه، م.ر. ایمانپور، م. سوداگر، و ع. شعبانی. آثار نسبت‌های یونی روی خصوصیات زیست‌شناختی سمن در ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum kamensky 1901*) مهاجر به رودخانه شیروود. مجله علوم و فنون دریایی دوره هفتم شماره ۱ و ۲ (۱۳۸۷) ۶۳-۷۴.
۲. م. ستاری، د. شاهسونی، و ش. شفیع، ماهی‌شناسی (۲) سیستماتیک، انتشارات حق‌شناس (۱۳۸۲) ۱۸۷ ص.
۳. غ.ح. وثوق، و ب. مستجیر، ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۷۳) ۹۶ تا ۹۸.
4. N. K. Agarwal, S. K. Raghuvanshi, "Spermatocrit and sperm density in snowtrout (*Schizothorax richardsonii*): Correlation and variation during the breeding season", *Aquaculture* 291(2009) 61-64.
5. S. M. H. Alavi, J. Cosson, M. Karami, H. Abdolhay, B. Majazi Amiri, "Chemical composition and osmolality of seminal fluid of *Acipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility", *Aquaculture Research* 35 (2004) 1238-1243.
6. H. S. M. Alavi, J. Cosson, "Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review", *Cell Biol. Int.* 29 (2005) 101-110.

7. S. M. H. Alavi, j. Cosson, "Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: a review", *cell biology international* 30 (2006) 1-14.
8. S. M. H. Alavi, M. Rodina, T. Policar, P. Kozak, M. Psenicka, O. Linhart, "Semen of *Perca fluviatilis* L.: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility", *Theriogenology* 68 (2007) 276-283.
9. R. Billard, M. P. Cosson, "Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish", *Journal of Experimental Zoology* 261 (1992) 122-131.
10. R. Billard, J. Cosson, L. W. Crim, M. Suquet, "Sperm physiology and quality. In: Brood Stock Management and Egg and Larval Quality", [ed. by N.R. Bromage & R.J. Roberts], Blackwell Science, Oxford, UK. (1995) 25-52.
11. J. Bobe, C. Labbé, "Egg and sperm quality in fish", *General and Comparative Endocrinology* 165 (2010) 535-548.
12. A. Ciereszko, J. Glogowski, K. Dabrowski, "Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes", In: *Cryopreservation of Aquatic Species* (ed. by T.R. Tiersch & P.M. Mazik), Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. (2000) 20-48.
13. J. Cosson, O. Linhart, S. D. Mims, W. L. Shelton, M. Rodina, "Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa", *Journal of Fish Biology* 56 (2000) 1-20.
14. J. L. Fitzpatrick, J. C. Henry, N. R. Leily, R. H. Devlin, "Sperm characteristics and fertilization success of masculinized coho salmon *Oncorhynchus kisutch*", *Aquaculture* 249 (2005) 459-468.
15. P. C. Hwang, D. R. Idler, "A study of major cations, osmotic pressure, and pH in seminal components of Atlantic salmon", *J Fish Res Board Can* 26 (1969) 413-419.
16. M. Morisawa, S. Oda, M. Yoshida, H. Takai, "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.
17. E. Rurangwa, D. E. Kime, F. Olevier, J. P. Nash, "The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish", *Aquaculture* 234 (2004) 1-8.

18. N. Tekin, S. Secer, E. Akcay, Y. Bozkurt, "Cryopreservation of rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss*] semen", Israeli J. Aquacult. Bamidgeh 55 (2003) 208-212.
19. E. Turner, R. montgomerie, "Ovarian fluid enhance sperm movement in Arctic charr", Journal of Fish Biology 60 (2002) 1570-1579.
20. I. G. Winfield, J. S. Nelson, "Cyprinid fishes, systematic", biology and exploitation, First edition, Chapman and Hall. (1991) 667.