

## ارتباط میان شاخص‌های پلاسمای سمینال و خصوصیات اسپرم‌شناختی در منی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)

\* وحید زادمجید<sup>۱</sup> و محمدرضا ایمانپور<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

<sup>۲</sup>استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۹/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲

### چکیده

در این پژوهش برخی از خصوصیات زیست‌شناسی منی شامل شاخص‌های پلاسمای منی (ترکیبات یونی و آلی) و روابط آنها با تحرک اسپرم برای ارزیابی کیفیت سمن ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) مورد مطالعه قرار گرفت. سمینال پلاسمای حاوی  $154/90 \pm 59/45$  میلی‌مول در لیتر سدیم،  $20/98 \pm 6/82$  میلی‌مول در لیتر پتاسیم،  $0/69 \pm 0/42$  میلی‌مول در لیتر کلسیم،  $1/52 \pm 0/33$  میلی‌مول در لیتر منیزیم،  $0/041 \pm 0/009$  گرم در دسی‌لیتر پروتئین،  $0/013 \pm 0/009$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر کلسترول و  $0/053 \pm 0/022$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر گلوکز بود. میزان اسپرماتوکریت  $52/83 \pm 11/44$  درصد، pH  $8/81 \pm 0/35$  طول دوره حرکت اسپرم  $72/45 \pm 21/07$  ثانیه، درصد اسپرم متحرک  $83/45 \pm 4/83$  تراکم اسپرم  $8 \times 10^9$  در هر میلی‌لیتر و حجم اسپرم  $0/82 \pm 0/43$  میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. بین مقادیر اسپرماتوکریت با گلوکز و درصد تحرک اسپرم همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (به ترتیب  $r=0/765$ ،  $r=0/832$  و  $P<0/01$ ). در صورتی‌که بین اسپرماتوکریت با طول دوره تحرک همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت ( $r=-0/625$  و  $P<0/05$ ). بین تراکم اسپرم با pH و یون منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد ( $r=0/660$ ،  $r=0/648$  و  $P<0/05$ ). همچنین بین یون‌های کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ( $r=0/807$  و  $P<0/01$ ). طبق نتایج این تحقیق رابطه معنی‌داری بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در ماهی قرمز وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: ماهی قرمز، پارامترهای بیوشیمیایی، پارامترهای اسپرم‌شناختی، مایع سمینال

### مقدمه

۱۹۹۵). ماهی قرمز با فرهنگ و عقاید مردم در سراسر جهان عجین شده و از نظر اقتصادی بسیار مهم می‌باشد. تکثیر و پرورش این ماهی به‌منظور تامین ماهی تزئینی سفره هفت‌سین نوروزی و نیز علاقه‌مندان به نگهداری ماهی قرمز در آکواریوم چندین سال است که رونق یافته و نیاز به آن هر سال بیشتر احساس می‌شود (ایمانپور و کمالی، ۲۰۰۶). ماهی قرمز گونه‌ای می‌باشد که به‌صورت

ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) از خانواده کپور ماهیان (*Cyprinidae*) بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد (وثوق و مستجیر،

مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند. به همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم ماهیان نر مشخص گردد (ژکینیسکو و بیلکو، ۱۹۸۴؛ تکین و همکاران، ۲۰۰۳). برای این کار باید نشانگرهای زیستی اسپرم که به طور مستقیم روی توانایی لقاح موثرند، مشخص شود. این معیارها شامل اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، اسیدیته، ترکیب شیمیایی پلاسمای سمینال، طول دوره حرکت و چندین مؤلفه دیگر می باشد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴). به طوری که در آزاد ماهیان جهت ارزیابی کیفیت اسپرم نسبت بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (آس و همکاران، ۱۹۹۱؛ آدریانا و همکاران، ۲۰۰۵؛ علوی و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعه خصوصیات منی برای فهم پروسه های بیوشیمیایی پایه که به موجب حرکت اسپرم انجام و عمل لقاح ایجاد می گردد ضروری می باشد (لینهارت و همکاران، ۱۹۹۱). آگاهی از ترکیبات پلاسمای منی و دیگر مایعات بیولوژیکی، می تواند در تولید محیط های نگهدارنده تخمک و رقیق کننده ها برای افزایش طول دوره نگهداری و فعالیت اسپرم مفید باشد (سکر و همکاران، ۲۰۰۴). ارتباط بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در گونه های اندکی از ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است (علوی و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف از این تحقیق تعیین پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیکی منی در ماهی قرمز و بررسی رابطه احتمالی بین پارامترهای فیزیکی و بیوشیمیایی با تحرک اسپرم می باشد.

## مواد و روش ها

مولدین و تهیه نمونه: این تحقیق در طی اسفند ماه سال ۱۳۸۵ و فروردین، اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۸۶ در مرکز تحقیقات آبی پروری دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. مولدین ماهی قرمز نر ۳ ساله در ۱۵ اسفند ماه (با متوسط طول کل ۲۲-۱۹ سانتی متر و با وزن متوسط ۶۶-۶۰ گرم) جهت انجام مراحل آزمایش از مراکز تکثیر ماهیان زیتنی در

گسترده در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی مورد استفاده قرار می گیرد (بجرسلیوس و همکاران، ۱۹۹۵). در صنعت آبی پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم در اولویت می باشد این در حالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمک) روی موفقیت لقاح و بقای لاروها مؤثر می باشد (رورانگوا و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از مهم ترین مشکلات در پرورش کپور ماهیان به دست آوردن گامت های با کیفیت بالا است. با مطالعه صورت پذیرفته توسط تکین و همکاران در سال ۲۰۰۳ مشخص شد که کیفیت بالای گامت ها در تولید لاروهای با کیفیت مناسب در تفریخ گاه های ماهی بسیار موثر است و می تواند کارآیی لقاح و تکثیر مصنوعی در ماهیان را افزایش دهد. همچنین رورانگوا و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت های نر و مطالعه اثر آلاینده های زیست محیطی روی موفقیت تکثیر در ماهیان مؤثر می باشد. منی<sup>۱</sup> از اسپرماتوزا و پلاسمای منی تشکیل شده است، پلاسمای منی دارای ترکیباتی می باشد که بعضی از این ترکیبات از اسپرماتوزا حفاظت می کنند و بعضی دیگر رابط بین سیستم تولیدمثل و اسپرماتوزا هستند (موریساوا و همکاران، ۱۹۸۳؛ سیرزیکو و همکاران، ۲۰۰۰؛ آکای و همکاران، ۲۰۰۲؛ علوی و کوسون، ۲۰۰۵). پلاسمای منی، محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزید به وجود می آورد که خود، توسط بیضه و لوله های اسپرم بر ساخته می شود. در پستانداران ترکیبات پلاسمای منی به خوبی مطالعه شده اما مطالعه روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیرآلی (یون ها)، ترکیبات آلی و آنزیم می باشد. ترکیبات غیرآلی شامل یون های  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  و... است که نقش ممانعت کننده و تحریک کننده حرکت در سلول اسپرم را به عهده دارند (میورا و همکاران، ۱۹۹۱؛ لانستینر و همکاران، ۱۹۹۶). دانش شباهت تفاوت کیفی اسپرم در ماهیان نر می تواند در

اندازه‌گیری تراکم اسپرم: تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق‌کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست زمینه سیاه با درشت‌نمایی شماره ۱۰ اندازه‌گیری و با واحد  $1 \times 10^9$  در هر میلی‌لیتر سمن محاسبه شد.

**PH مایع اسپرمی:** نمونه‌های اسپرم در ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. نمونه‌ها ابتدا به مدت ۲ دقیقه در دور ۵۰۰۰ و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ سیگما<sup>۳</sup> ۱۳-۱، سانتریفیوژ شدند (لبنهارت و همکاران، ۱۹۹۱). در آخر بخش فوقانی عصاره به دست آمده در قسمت بالای ویال به درون ویال‌های پلاستیکی جدید منتقل و pH آنها به وسیله پی‌اچ متر مدل تی-اس<sup>۴</sup> اندازه‌گیری شد.

**ترکیبات بیوشیمیایی پلاسما منی:** برای اندازه‌گیری کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اس، ۲۰۰۰<sup>۵</sup> و از کیت‌های کلسیم، منیزیم، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول (شرکت پارس آزمون) استفاده شد. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر مدل جن وی<sup>۶</sup> استفاده شد، برای این کار ابتدا میزان جذب شعله تحت تأثیر غلظت‌های مختلف استاندارد خوانده شد و توسط نرم‌افزار Excel معادله رگرسیونی آن ترسیم و غلظت‌های سدیم و پتاسیم در پلاسما اسپرمی محاسبه گردید (سکر و همکاران، ۲۰۰۴).

**آنالیز آماری:** داده‌های به دست آمده از آزمایش انجام شده (۱۰ نمونه با ۳ تکرار برای هر نمونه)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS در محیط ویندوز XP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از آماره پیرسون همبستگی آماره پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی تعیین و ارتباط میان پارامترهای به دست آمده توسط نرم‌افزار Excel به صورت نمودار نشان داده شد.

استان گلستان تهیه و به سالن ونیرو دانشکده شیلات منتقل و ماهیان در حوضچه‌های ونیرو تا اوایل اردیبهشت نگهداری شدند. در نهایت هنگام مهیا شدن شرایط دمایی ۱۹ درجه سانتی‌گراد بعد از خشک‌کردن منفذ تناسلی با فشار ملایم به ناحیه شکمی از ماهیان مولد نر اسپرم‌گیری به عمل آمد (استوریانو و همکاران، ۲۰۰۶). نمونه‌های منی با دقت و بدون مخلوط شدن با آب، ادرار و خون جمع‌آوری شدند. نمونه‌های به دست آمده در سرنگ‌های استریل، در فلاسک محتوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. در مجموع از ۱۰ عدد ماهی نر هم‌سن نمونه‌گیری شد (سکر و همکاران، ۲۰۰۴).

#### اندازه‌گیری پارامترهای اسپرم‌شناختی

**آنالیز حرکتی:** برای شروع حرکت، اسپرم با محلول فعال‌کننده (آب مقطر) به نسبت ۱:۲۰۰۰ رقیق شد و پارامترهای حرکتی اسپرم بلافاصله (با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانی که ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها غیرمتحرک شدند توسط میکروسکوپ متصل به دوربین<sup>۱</sup> ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد، در ادامه با استفاده از نرم‌افزار پریمیر<sup>۲</sup> هر ثانیه به ۶ فریم تبدیل شد و با مقایسه دو فریم متوالی، درصد اسپرم‌های متحرک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری مدت زمان حرکت اسپرم، زمان تحرک از لحظه فعال‌شدن تا زمانی که همه اسپرم‌ها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری شد و مشاهدات در دمای اتاق (۲۰-۲۲ سانتی‌گراد) صورت گرفت (تورنر و مونگومری، ۲۰۰۲).

**اسپرماتوکریت:** برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، پس از سانتریفیوژ کردن سمن در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در ۸ دقیقه در لوله‌های موئینه میکروپیپت با استفاده از هماتوکریت خوان، درصد اسپرم به پلاسما سمینال اندازه‌گیری شد. برای این منظور در قالب ۳ تکرار در طی آزمایش، میانگین ۱۰ نمونه اسپرم به عنوان مقدار اسپرماتوکریت ثبت شد (فتزپاتریک و همکاران، ۲۰۰۵).

3- Sigma 1-13 England  
4- PH-462 ,Iran, Tajhizat Sanjesh Company  
5- WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK  
6- Jenway pfp 7, England

1- Stereomicroscope  
2- Adobe Premeier

## نتایج

پارامترهای اسپرم‌شناختی (خصوصیات فیزیکی) و بیوشیمیایی منی ماهی قرمز در جدول‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین مقادیر اسپرماتوکریت با گلوکز و اسپرماتوکریت درصد تحرک اسپرم، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (به ترتیب  $r=0/765$ ،  $r=0/832$  و  $P<0/01$ ). در صورتی که بین اسپرماتوکریت با طول دوره تحرک همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت ( $r=-0/625$  و  $P<0/05$ ).

همچنین جدول ۳ نشان می‌دهد که بین تراکم اسپرم با پی‌اچ و یون منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد ( $r=0/648$ ،  $r=0/660$  و  $P<0/05$ ). از طرفی دیگر مشاهدات جدول نشان می‌دهد که بین یون‌های کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد ( $r=0/807$  و  $P<0/01$ ). اما بین عوامل بیوشیمیایی دیگر (کلسترول، پروتئین کل) و همچنین یون‌ها با یکدیگر و عوامل اسپرم‌شناختی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0/05$ ).

جدول ۱- برخی از پارامترهای اسپرم‌شناختی منی در ماهی قرمز (*Carassius auratus*).

متغیرها	کمترین	بیشترین	میانگین $\pm$ انحراف معیار
پی - اچ	۸/۲	۹/۴	۸/۸۱ $\pm$ ۳۵
طول دوره حرکت (ثانیه)	۱۷/۵۰	۹۲/۵۰	۷۲/۴۵ $\pm$ ۲۱/۰۷
درصد اسپرم متحرک (درصد)	۷۳/۶۸	۸۹/۳۱	۸۳/۴۵ $\pm$ ۴/۸۳
اسپرماتوکریت (درصد)	۲۹/۱۷	۷۲/۴۰	۵۲/۸۳ $\pm$ ۱۱/۴۴
تراکم اسپرم ( $1 \times 10^9$ )	۱/۴۶	۱۵/۳۳	۸/۲۰ $\pm$ ۳/۷۶
حجم اسپرم (میلی لیتر)	۰/۱۵	۱/۶۰	۰/۸۲ $\pm$ ۴۳

جدول ۲- برخی از یون‌های آلی و معدنی آنالیز شده در پلاسما منی ماهی قرمز (*Carassius auratus*).

متغیرها	کمترین	بیشترین	میانگین $\pm$ انحراف معیار
یون سدیم (میلی مول در لیتر)	۳۹/۰۰	۲۴۴/۰۰	۱۵۴/۹۰ $\pm$ ۵۹/۴۵
یون پتاسیم (میلی مول در لیتر)	۲/۸۳	۲۵/۷۰	۲۰/۹۸ $\pm$ ۶/۸۲
یون کلسیم (میلی مول در لیتر)	۰/۲۴	۱/۴۶	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۴۲
یون منیزیم (میلی مول در لیتر)	۱/۰۲	۲/۱۷	۱/۵۲ $\pm$ ۰/۳۳
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	۱۰/۲۶	۱۰/۶۱	۰/۰۴۱ $\pm$ ۰/۰۰۹
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۰/۲	۱۰/۳۱	۰/۰۱۳ $\pm$ ۰/۰۰۹
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۰/۱۳	۱۰/۹۱	۰/۰۵۳ $\pm$ ۰/۰۲۲

جدول ۴- آماره پیرسون بین خصوصیات امروز شما و ترکیبات پلاستیکی شما در ماهی نر (N=۳۰).

متغیرها	درصد متغیرک	طول دوره	ترکبم اسپرم	اسپرماتوکریت	میانم	پایسیم	تقسیم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم	تولید اسپرم
(درصد)	تغیرک	(روز)	(۱۰۰٪)	(درصد)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)	(میلی لیتر)
طول دوره تغییرک	۰/۷۸۸																			
ترکبم اسپرم	۰/۷۷۳	-۷/۲۷																		
اسپرماتوکریت	۰/۸۳۳ <sup>***</sup>	-۶/۵۵ <sup>o</sup>	۰/۵۶۱																	
تقسیم	۰/۳۸۸	-۷/۷۵	۰/۴۵۶	۰/۳۴۰																
تقسیم	۰/۰۱۰	-۷/۰۷	-۷/۲۹	-۰/۲۹	-۰/۵۰															
تقسیم	۰/۷۷۷	-۳/۵۶	-۰/۲۵	۰/۰۵۶	۰/۶۰۱															
کلاسیم	۰/۰۲۰	-۷/۲۰	۰/۳۳۶	۰/۳۷۵	۰/۲۰۲															
میانیم	۰/۶۴۸	۰/۱۶۴	۰/۶۶۰ <sup>*</sup>	۰/۷۱۵	۰/۲۹۴															
پروکسیم	۰/۳۳۷	۰/۰۵۱	-۰/۵۷	-۰/۷۸	۰/۲۸۸															
گلویکو	۰/۶۳۵	۰/۵۹۷	۰/۶۱۲	۰/۶۳۵ <sup>***</sup>	۰/۶۰۰															
کاسترول	-۰/۳۴۸	-۴/۲۶	۰/۰۱۷	-۰/۱۷	-۰/۷۰															
III	۰/۰۳۶	-۷/۸۷	۰/۶۴۸ <sup>*</sup>	۰/۱۱۹	۰/۱۵۷															

\*\*\*میانگین در سطح ۰/۰۱ معنی دار می باشد.

\*\*میانگین در سطح ۰/۰۵ معنی دار می باشد.

\*میانگین در سطح ۰/۰۵ معنی دار می باشد.

## بحث

مطالعه روی پارامترهای پلاسمای سمینال به دو دلیل امری مهم و ضروری می‌باشد، نخست این که کسب دانش در رابطه با تأثیر پارامترهای بیوشیمیایی بر تکامل و بلوغ اسپرم در طی فصل تولیدمثل و نحوه آغاز حرکت اسپرم بعد از خروج از مجرای اسپرم مهم است. دوم این که ارزیابی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی اسپرم جهت موفقیت در امر لقاح مصنوعی ضروری می‌باشد (علوی و همکاران، ۲۰۰۷). اسپرم بیشتر گونه‌های ماهیان در بیضه و پلاسمای سمینال بی‌حرکت می‌باشد و حرکت اسپرم بعد از آزاد شدن در محیط آبی در طی تکثیر طبیعی و یا در حین تکثیر مصنوعی بعد از مخلوط شدن با رقیق‌کننده القاء می‌شود. روابط آشکاری بین ترکیب پلاسمای سمینال، اسمولاریته و مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان وجود دارد. پارامترهای مختلفی مثل غلظت یون‌ها (پتاسیم، سدیم، و کلسیم) فشار اسمزی، pH، دما و نسبت رقیق‌سازی روی حرکت اسپرم مؤثرند (علوی و کوسون، ۲۰۰۵).

در این تحقیق مشاهده شد که غلظت یون‌های تک‌طرفیتی (سدیم و پتاسیم) از غلظت یون‌های دو طرفیتی (کلسیم و منیزیم) در پلاسمای اسپرمی ماهی قرمز بالاتر بود ( $P < 0.01$ ) که از این نظر با مرور انجام شده روی کپور ماهیان، آزاد ماهیان، ماهیان خاویاری و دریایی توسط علوی و کوسون (۲۰۰۶) هم‌خوانی داشت. موريساوا و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که غلظت پتاسیمی که جهت جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است بستگی به غلظت یون سدیم دارد. اگر غلظت سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بیشتری برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (جدول ۲)، همچنین در صورت افزایش بیش از حد یون سدیم طول تحرک و تعداد اسپرماتوزوای متحرک کاهش خواهد یافت به‌خصوص زمانی که میزان آن بین ۱۵۰-۱ میلی‌مول در لیتر باشد که در این تحقیق میزان یون سدیم  $154/90 \pm 59/45$  میلی‌مول در لیتر محاسبه شد. در این مطالعه درصد اسپرم‌های متحرک در حد بالایی اندازه‌گیری شد ( $83/45 \pm 4/83$ ) درصد، بالابودن درصد اسپرم‌های

متحرک در نتیجه بالابودن یون‌های سدیم و پتاسیم می‌باشد که می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت بالای اسپرم ماهی قرمز باشد، به‌طوری‌که سکر و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند بین درصد اسپرم‌های متحرک با یون‌های سدیم و پتاسیم ارتباط مستقیمی وجود دارد، به‌گونه‌ای که پایین بودن غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم باعث کاهش درصد اسپرم‌های متحرک در نتیجه کاهش کیفیت اسپرم می‌شود. در این مطالعه بین کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ( $r = 0.807$  و  $P < 0.01$ ). که با مطالعات صورت گرفته توسط آکای و همکاران (۲۰۰۲) هم‌خوانی دارد. در این بررسی میزان یون کلسیم  $0.69 \pm 0.42$  میلی‌مول در لیتر محاسبه شد که به‌طور قابل ملاحظه‌ای از یون کلسیم مایع سمینال کپور معمولی ( $1.0/69 \pm 2/71$  میلی‌مول در لیتر) پایین‌تر بود، که با مرور صورت گرفته توسط علوی و کوسون (۲۰۰۵) هم‌خوانی داشت، همچنین این محققان گزارش کردند که غلظت بالای یون کلسیم الگوی حرکت اسپرماتوزوای را تا حدودی تغییر می‌دهد به‌گونه‌ای که با حضور این یون به‌مقدار زیاد قطر مسیر حرکت اسپرم کمتر شده اما مدت زمان کل حرکت افزایش می‌یابد، از طرفی دیگر افزایش کلسیم درون سلولی در نتیجه افزایش کلسیم خارج سلولی می‌باشد که این پدیده جهت شروع حرکت آغازین اسپرم امری ضروری می‌باشد. pH مایع سمینال در ماهی قرمز از ۸/۲ تا ۹/۴ اندازه‌گیری شد، که از pH مایع سمینال ماهی سفید و کپور معمولی (۷/۵۳-۷/۵۸) همچنین قزل‌آلای رنگین‌کمان (۷-۶/۵) بالاتر بود. (ژکینسکو و بیلکو، ۱۹۸۴؛ سکر و همکاران، ۲۰۰۴). در این تحقیق بین pH مایع سمینال و تراکم اسپرم همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ( $r = 0.648$  و  $p < 0.05$ ). از طرف دیگر لانستینر و همکاران (۱۹۹۸)، نشان دادند که بین pH با درصد اسپرم‌های متحرک همبستگی معنی‌داری وجود دارد. در مجموع ماهیان مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نسبت به pH از خود نشان می‌دهند، pH مهم‌ترین مشخصه پلاسمای سمینال می‌باشد که روی پتانسیل حرکتی در اسپرم کپور ماهیان تأثیر می‌گذارد (علوی و کوسون، ۲۰۰۵). طبق تحقیقات انجام شده در گونه

*Oncorhynchus masou* مشخص شد که هورمون 17 آلفا-20 بتا- دی هیدروکسی-4 پرگن-3 و 1 باعث افزایش pH در مجرای اسپرم بر می شود که در نهایت موجب افزایش آدنوزین منو فسفات در اسپرم شده و زمینه شروع حرکت اسپرم را فراهم می نماید (میورا و همکاران، 1991). رابطه بین ترکیبات پلاسمای منی و خصوصیات حرکتی اسپرم در گونه های محدودی مورد بررسی قرار گرفته است. لانستینز و همکاران (1996)، رابطه بین حرکت اسپرم و ترکیبات پلاسمای منی در ماهی خیاطه (*Alburnus alburnus*) را گزارش و پیشنهاد کردند که این رابطه ممکن است دلیلی بر این باشد که ترکیبات پلاسمای منی می تواند روی حرکت اسپرم مؤثر باشد. همچنین به این نتیجه رسیدند که یون سدیم رابطه مثبت و پتاسیم تأثیر منفی روی حرکت اسپرم در این گونه دارد. در این تحقیق بین طول دوره حرکت با اسپرماتوکریت همبستگی منفی و معنی داری مشاهده شد ( $r = -0.625$  و  $P < 0.05$ ). از طرفی دیگر بین اسپرماتوکریت با درصد تحرک اسپرم همبستگی مثبت و معنی داری وجود داشت ( $r = 0.832$  و  $P < 0.01$ ). همچنین مطالعات آس و همکاران (1991)، در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Atlantic salmon*) نشان داد، در این گونه، بین اسپرماتوکریت با تراکم اسپرم همبستگی مثبتی وجود دارد. غلظت اسپرماتوکریت در این تحقیق 52/83 درصد محاسبه شد که از غلظت اسپرماتوکریت ماهی آزاد اقیانوس اطلس (45/0 درصد) بالاتر بود. تغییرات غلظت اسپرماتوکریت بستگی به فصل دارد به طوری که ماهیانی که تولید مثل آنها در بهار صورت می گیرد اسپرماتوکریت آنها در حد بالایی قرار دارد (آدریانا و همکاران، 2005). اطلاعات در مورد ترکیبات آلی اسپرم ماهیان محدود می باشد، به گونه ای که سکر و همکاران (2004)، گزارش کردند نقش پروتئین، گلوکز و کلسترول در اسپرم ماهیان ناشناخته می باشد. اما همین اطلاعات محدود در این زمینه نشان می دهد که پروتئین و کلسترول می توانند نقش حفاظتی روی اسپرم داشته باشد، به خصوص در مورد تغییرات دمایی، زمانی که اسپرم از مجرای اسپرم بر وارد

محیط بیرونی می شود این نقش حفاظتی بارزتر می گردد. در صورتی که گلوکز به عنوان یک منبع انرژی زا برای فعالیت پذیرنده ها<sup>2</sup> در طی فرایند اسپرم سازی می تواند نقش داشته باشد. میزان پروتئین، گلوکز و کلسترول در این تحقیق در حد پایینی اندازه گیری شد که با تحقیقات سکر و همکاران (2004)، هم خوانی دارد. در این تحقیق بین گلوکز با اسپرماتوکریت همبستگی مثبت و معنی داری مشاهده شد ( $r = 0.765$  و  $P < 0.01$ ). از طرفی دیگر سکر و همکاران (2004)، نشان دادند که همبستگی مثبتی بین گلوکز و طول دوره حرکت در ماهی قزل آلی رنگین کمان وجود دارد. در این تحقیق بین کلسترول و پروتئین با طول دوره تحرک ارتباط معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). که با تحقیقات سکر و همکاران (2004)، روی ماهی قزل آلی رنگین کمان هم خوانی داشت. در این تحقیق تراکم اسپرم در حد بالایی اندازه گیری شد (8/20x10<sup>9</sup>) اسپرماتوزوا در میلی لیتر سمن، که از تراکم اسپرم قزل آلی رنگین کمان (1/50x10<sup>9</sup>) در طی تحقیق صورت گرفته توسط سکر و همکاران (2004)، بالاتر بود. علوی و همکاران (2007) نشان دادند در گونه هایی که حجم اسپرم پایین می باشد معمولاً جهت جبران حجم کم اسپرم واجد اسپرمی با تراکم بالا می باشند. از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که رابطه معنی داری بین ترکیبات پلاسمای منی و حرکت اسپرم در ماهی قرمز وجود دارد. همچنین نتایج به دست آمده نشان می دهد که بررسی فیزیولوژی اسپرم می تواند در انتخاب مناسب مولدین نر در امر آبی پروری مؤثر باشد. به علاوه دانش ترکیبات پلاسمای سمینال می تواند جهت ایجاد محیطی مناسب به منظور استفاده از رقیق کننده جهت نگهداری سمن برای دوره های کوتاه مدت و درازمدت مورد استفاده قرار گیرد.

### سپاسگزاری

از مسئولان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایی های لازم در این تحقیق سپاسگزاری می نمایم.

## منابع

- 1.Aas, G.H., Refstie, T., and Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95: 125-132.
- 2.Alavi, S.M.H., and Cosson, J. 2005. Sperm motility in fishes: Effects of temperature and pH: a review. *Cell biology international*, 29. 101-110.
- 3.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.
- 4.Alavi, S.M.H., Amirei, B., Cooson, J., Karamei, M., Abdollahei, H., and Pourkazemi, M. 2006. Determination of some seminal plasms indices, sperm density and motility in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *iranian journal of fuzzy systems*, 5: 2. 19-40.
- 5.Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M., and Linhart, O. 2007. 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: 276-283.
- 6.Adreiana, B., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Zanini, R., Do Amaral, F., Grillo, M.L., Oberst, E.R., and Wassermann, G.F. 2005. Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundia´ *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae) *Fish Physiology and Biochemistry*, 31: 45-53.
- 7.Akcay, E., Bozkurt, Y., Tekin, N., and Secer, S. 2002. Alabalıklarda suni tohumlam. Artificial insemination in trout, P 70, In: 2 nd Nat. Cong. Repro. - Art. Insem. September 4-6, 2002. Book of Abstracts, Konya (in Turkish).
- 8.Asturiano, J.F., Mrco-Jimenez, F., Perez, L., Balasch, S., Garzon, D.L., Penaranda, D.S., Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., and Jover, M. 2006. Effect of HCG as spermiation inducer on European eel semen quality. *Theriogenology*, 66: 1012-1020.
- 9.Ciereszko, A., Glogowski, J., and Dabrowski, K.J. 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes. *WAS, Baton Roug*. Pp: 20-48.
- 10.Bjerselius, R., Olsen, K.H., and Zheng, W. 1995. Endocrine, gonadal and behavioral responses of male crucian carp *Carassius carassius* to the hormonal pheromone 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one. *Chem. Senses*, 20: 221-230.
- 11.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.
- 12.Imanpoor, M.R., and Kamali, A. 2006. The investigation of induced breeding and larval rearing of goldfish *Carassius carassius gibelio* with HCG. *J. Agric. Resour.*, 13: 2. 165-172.
- 13.Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., and Patzner, R.A. 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (*Cyprinidae*) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem*, 15: 167-179.
- 14.Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., and Patzner, R.A. 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout by sperm motility, seminal plasma parameters and spermatozoal metabolism. *Aquaculture*, 163: 163-181.
- 15.Linhart, O., Slechta, V., and Slavik, T. 1991. Fish sperm composition and biochemistry. *Bull Inst Zool Acad Sin Monogr*, 16: 285-311.
- 16.Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., and Nagahama, Y. 1991. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J Exp Zool*, 261: 59-63.
- 17.Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., and Yasuda, K. 1983. Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *J Exp Zool*, 107: 95-103.
- 18.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.
- 19.Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., Bukan, N., and Akcay, J. 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen. *IJA*, 56: 4. 274-280.
- 20.Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., and Bozkurt, Y., 2003. Cryopreservation of rainbow trout *oncorhynchus mykiss*, *Bamidgeh*. 55: 3. 208-212.
- 21.Turner, E., and Montgomerie, R. 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr *Journal of Fish Biology*, Pp: 1570-1579.
- 22.Vesogh, Gh.H., and mostageer, B. 1995. Fresh water fish. Press Tehran University. Pp: 317.
- 23.Zhukinskij, V.N., and Bilko, V.P. 1984. Effect of semen pH on embryo viability in some cyprinid fishes. *J. Ichthyol*. 24: 3. 64-76.



## The correlation between some biochemical and spermatological parameters in goldfish (*Carassius auratus*) semen

\*V. Zadmajid<sup>1</sup> and M.R. Imanpoor<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Former M.Sc. Student, Dept. of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

<sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

---

---

### Abstract

Some biological aspects of semen were investigated in goldfish (*Carassius auratus*), by determination of seminal plasma indices (ionic and organic composition) and their relationships with sperm motility. Seminal plasma contained 154.90±59.45 mmol/l Na<sup>+</sup>, 20.98±6.82 mmol/l K<sup>+</sup>, 0.69±0.42 mmol/l Ca<sup>+</sup>, 1.52±0.33 mmol/l Mg<sup>2+</sup>, 0.041±0.009 g/dl protein, 0.013±0.009 mg/dl cholesterol and 0.053±0.022 mg/dl glucose respectively. Semen spermatocriet was 52.83±11.44%, pH 8.81±0.35, motility duration 77.45±21.07s, percentage of motile spermatozoa 83.45±4.83%, sperm density 8.20×10<sup>9</sup> spermatozoa/ml and milt volume 082±0.43cc measured. There were positive significant correlation among spermatocriet, glucose and percentage of motile spermatozoa (r=0.765, r=0.832; P<0.01 respectively). But there was found significant negative correlation between spermatocrite and motility duration (r=-0.655; P<0.05). There were positive significant correlation among sperm density, pH and Mg<sup>2+</sup> (r=0.648, r=0.660; P<0.05 respectively). Likewise there was found positive significant correlation between Ca<sup>+</sup> and Mg<sup>2+</sup> (r=0.807; P<0.01). The present study demonstrated that a significant correlation between seminal plasma ingredient and potential for motility in goldfish sperm.

**Keywords:** Goldfish; Biochemical parameters; Spermatological parameters; Seminal plasma

---

\* - Corresponding Author; Email: zadmajid@gmail.com