magiran.com

مقایسه pH مایع منی و سرم خون در سنین متفاوت مولدین نر و اثر مولد ماده بر پارامترهای کیفی اسپرم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سیده شهربانو حسینی[1]* و رضا لرستانی [2]

١- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ١٦١٦

٢- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ٣٥٦-٤٦٤١٤

تاریخ دریافت: آبان ١٣٨٦ تاریخ پذیرش: دی ١٣٨٨

چکیده

تحقیق حاضر در فروردین ماه سال ١٣٨٦ در شهرستان قصر شیرین انجام شد. در این تحقیق تعداد ٢٠ مولد نر ماهی کپور معمولی در دو سطح سنی $^{+}$٢ و $^{+}$٣ ساله بطور تصادفی انتخاب گردید و در هر سطح سنی ١٠ مولد نر استفاده شد. پس از استحصال اسپرم از ماهیان و جداسازی مایع منی در سنین متفاوت، pH مایع منی حاصل از اسپرم‌ها مورد سنجش قرار گرفت. pH مایع منی اسپرم ماهیان $^{+}$٢ ساله ٨/٢±٠/٢ و در مولدین $^{+}$٣ ساله ٨/٥±٠/٤ بود. pH پلاسمای منی در دو سطح سنی اختلاف معنی‌داری را با هم نشان دادند که بیشترین آن در سن $^{+}$٣ سالگی و کمترین آن در سن $^{+}$٢ سالگی ثبت شد. pH سرم خون ماهیان $^{+}$٢ ساله معادل ٧±٠/١ و در مولدین $^{+}$٣ ساله معادل ٧±٠/١٢ بود و این میزان در دو سطح سنی یاد شده در سطح ٩٥ درصد اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند. مدت زمان تحرک اسپرم در $^{+}$٢ ساله‌ها معادل ٨٣/٨٢±١/٢ ثانیه و در $^{+}$٣ ساله‌ها معادل ٨٩/٣±١/٤ ثانیه بود که طول دوره تحرک اسپرم در $^{+}$٢ ساله‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح ٩٥ درصد با $^{+}$٣ ساله نشان داد و کمترین مقدار بود. میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر $^{+}$٢ ساله بالاتر از $^{+}$٣ ساله‌ها بود و این مقادیر بترتیب معادل ٤٧±٠/٦ و ٤٥±٠/٧ درصد بود. طول کل مدت زمان تحرک اسپرم در مولدین نر که همراه آنها مولدین ماده حضور داشت، نسبت به مولدین نر که بطور جدا از مولدین ماده نگهداری شدند، اختلاف معنی‌داری را در سطح ٩٥ درصد نشان داد و بترتیب معادل ٨٥/٢±١/٣ و ٨١/٥±٠/٩ ثانیه بود. مدت زمان حرکت رو به جلوی اسپرم در مولدین نر که در حضور ماده‌ها نبودند، در مقایسه با مولدین نر که در حضور ماده‌ها بودند اختلاف معنی‌داری داشت که بترتیب معادل ٣٩/٤±١/٦ ثانیه و ٤٣/٣±١/٨ ثانیه بود. میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر که در حضور جنس ماده بودند، پایین‌تر از گروه دیگر بود و اختلاف معنی‌داری را با گروهی که دور از مولدین ماده نگهداری شدند، نشان داد و این مقادیر بترتیب معادل ٤٢±٠/٩ و ٤٥±٠/٤ درصد بود.

لغات کلیدی: اسپرم، سن ماهی، اسپرماتوکریت، فیزیولوژی

* نویسنده مسئول: Sh_Hosseini_2000@yahoo.com

magiran.com

مقدمه

در صنایع کشت و پرورش ماهی کیفیت تخمک‌ها و لاروها بیش از کیفیت اسپرم مورد توجه قرار می‌گیرد، این در حالی است که کیفیت هر دو گامت یعنی اسپرم و تخمک بر موفقیت لقاح و بازماندگی لارو تاثیر می‌گذارد. در بعضی از گونه‌ها کیفیت ضعیف اسپرم می‌تواند بعنوان یک فاکتور محدودکننده در کشت آنها بروز کند. اگرچه راههای متعددی جهت بررسی کیفی اسپرم پیشنهاد شده است، اما سنجش تحرک اسپرم جهت این امر بسیار مورد استفاده قرار گرفته و شرط لازم برای انجام لقاح و موفقیت آن است (Rurangwa *et al.*, 2004). تحرک اسپرماتوزوآ بعنوان یکی از فاکتورهای ارزیابی کیفی آن، نقش مهمی در موفقیت عملیات لقاح مصنوعی ایفاء می‌کند (Billard, 1986; Lanhnsteiner *et al.*, 1996). زیرا مدت زمان تحرک اسپرم نشاندهندهٔ زمان لازم برای عمل لقاح می‌باشد. بنابراین استفاده از روشهای مناسب لقاح و نگهداری سلولهای جنسی به منظور افزایش کارآیی تکثیر مصنوعی در ماهیان مختلف امری ضروری می‌باشد (Billard & Cosson, 1992). همچنین مشخص شده است که تحرک اسپرماتوزوآ در ماهیان شدیداً تحت تاثیر pH می‌باشد (Billard & Cosson, 1986). مطالعات نشان داده است که pH بر قابلیت لقاح اسپرم در ماهیان موثر می‌باشد (Lahnsteiner *et al.*, 1998). عامل pH می‌تواند بلوغ اسپرم ماهیان را نیز تحت تاثیر قرار دهد (Cosson *et al.*, 1999). ارزیابی طول دوره مدت زمان بعد از فعال‌سازی اسپرم تا زمانی که کمتر از ۵ درصد از اسپرم‌ها متحرک باقی بمانند، بعنوان مدت زمان تحرک اسپرم در نظر گرفته می‌شود (Liley *et al.*, 2002). در ۵۰ سال گذشته، اسپرماتوزوآی ماهیان استخوانی و پلاسمای منی آنها به هدف فهمیدن اینکه کدام عامل مکانیکی و پروسه شیمیایی تحرک اسپرم را تنظیم می‌کنند، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. در این رابطه قزل‌آلای رنگین کمان و کپور معمولی بیشتر از سایر گونه‌ها مورد توجه بودند. بعد از فعال‌سازی اسپرم ماهیان در اکثر گونه‌ها، شنای سلولهای اسپرم فقط به مدت کوتاهی بطول می‌انجامد، که این دوره زمانی بین یک تا چند دقیقه است. قابل توجه است که فاکتورهای محیطی مانند یونها و سیگنال‌های اسمزی مسئول فعال‌سازی اسپرم در ماهیان هستند. شاخصهای ارزیابی کیفی اسپرم در ماهیان عبارتند از: اسپرماتوکریت، غلظت اسپرم، ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی، سطح ATP، تحرک اسپرم، فعالیتهای آنزیمی، مورفولوژی سلولهای اسپرم، قابلیت لقاح‌دهی تخمک توسط اسپرم و پارامترهای متفاوت دیگر (Billard & Cosson, 1992;Lahnsteiner *et al.*, 1996, 1998). از فاکتورهای موثر در تعیین کیفیت اسپرم، غلظت یا تراکم آن می‌باشد، که به تعداد اسپرم در واحد حجم تعریف می‌شود. غلظت اسپرم در ماهیان نر مختلف، متفاوت بوده و حتی در اسپرم‌گیری‌های مختلف در طول یک یا چند هفته متغیر است (Billard, 1992). غلظت اسپرم با حجم آن رابطه معکوس دارد (Tekin *et al.*, 2003). بین میزان اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم بدست آمده از هماتوسیتومتر، ارتباط معنی‌داری بدست آمد. نتایج نشان داد که سنجش غلظت بوسیله اسپرماتوکریت، سریع‌ترین روش جهت سنجش غلظت اسپرم است (Rurangwa *et al.*, 2004).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر سن مولدین نر در دو سطح سنی 2^+ و 3^+ ساله، همچنین تعیین میزان تحرک اسپرم، pH مایع منی و سرم خون، میزان هماتوکریت و همچنین اثر حضور مولد ماده بر خصوصیات اسپرم از قبیل مدت زمان تحرک و اسپرماتوکریت در ماهی کپور معمولی می‌باشد.

مواد و روش کار

جهت سنجش pH مایع منی و سرم خون ماهیان از ۱۰ مولد 2^+ ساله و ۱۰ مولد 3^+ ساله استفاده شد. پس از جداسازی سلولهای اسپرم و هماتوکریت خون، سنجش pH مایع منی و سرم خون ماهیان بلافاصله انجام شد (Emri *et al.*, 1998) و در طول نمونه‌گیری‌ها، نمونه‌های استحصال شده در یخچال نگهداری شدند. جهت سنجش اثر حضور مولد ماده کپور معمولی در کنار مولدین نر و سنجش اثر آن بر پارامترهای کیفی اسپرم (طول کل حرکت اسپرم، مدت زمان حرکت رو به جلو و همچنین میزان اسپرماتوکریت) از ۳۰ مولد نر 3^+ ساله و ۱۵ مولد ماده 3^+ ساله استفاده شد. در گروه اول، ۱۰ مولد نر با ۱۰ مولد ماده در یک تانک فیبرگلاس و در گروه دوم (شاهد) ۲۰ مولد نر در تانک فیبرگلاس دیگر بدون در معرض قرار گرفتن ماده‌ها با حفظ تراکم ۱ مولد در هر ۵ مترمربع نگهداری شدند. جهت جلوگیری از بیرون پریدن مولدین سطح آب پایین نگه داشته شد و روی تانک‌ها با تور محصور گردید. دمای نگهداری مولدین در طول دوره از ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتیگراد متغیر بود. پس از ۳۰ روز مولدین نر در هر گروه بترتیب اسپرم‌گیری شد و طول کل مدت زمان تحرک اسپرم، طول دوره حرکت رو به جلو

magiran.com

و همچنین میزان اسپرماتوکریت نمونه‌ها مورد سنجش قرار گرفت.

جهت ارزیابی میزان اسپرماتوکریت از اسپرم مولدین هر گروه سنی نمونه برداری انجام شد. نمونه‌برداری بوسیله لوله میکروهماتوکریت انجام گرفت (Aas *et al.*, 1991; Rakitin *et al.*, 1999; Tvedt, 2001). سپس نمونه‌ها بوسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ (Aas *et al.*, 1991; Rakitin *et al.*, 1999; Liley *et al.*, 2002) به مدت ۹ دقیقه و با دور ۱۴۰۰g سانتریفیوژ شدند و بعد توسط صفحه مدرج مخصوص سنجش درصد اسپرماتوکریت، میزان اسپرماتوکریت هر نمونه ثبت شد (Sikra & Linhart, 1987). برای سنجش مدت زمان تحرک اسپرم در سطوح سنی متفاوت از اسپرمهای مولدین در سطوح سنی 2^+ و 3^+ استفاده شد. بدین منظور، یک قطره اسپرم را روی لام در زیر میکروسکوپ قرار داده و یک قطره آب مقطر در دمای ۱۹ درجه سانتیگراد را با آن مخلوط نموده و مدت زمان تحرک اسپرم بلافاصله بعد از فعال‌سازی، با استفاده از کرنومتر ثبت گردید. مدت زمان تحرک اسپرم تا زمانیکه تحرک ۹۵ تا ۹۹ درصد میزان سلولها متوقف شوند، در نظر گرفته شد و جهت سنجش طول مدت زمان تحرک رو به جلو اسپرم زمان تا پایان حرکت موجی اسپرمها بعد از فعال‌سازی آنها ثبت گردید (Billard, 1983; Ase *et al.*, 1991; Cosson *et al.*, 1999; Liley *et al.*, 2002; احمدیان، ۱۳۸۱). این آزمایش حداقل ۳ بار بعنوان ۳ تکرار در هر یک از مولدین تکرار شد.

اطلاعات جمع‌آوری شده از بررسی‌ها و مطالعات میدانی و آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بدین ترتیب که ابتدا تایید نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کالموگارف - اسمیرنف صورت گرفت. داده‌هایی که نرمال نبودند با روشهای معمول نرمال گشتند. پس از این مرحله آنالیز آماری داده‌ها، صورت پذیرفت. در این خصوص جهت سنجش تاثیر سن، مدت زمان تحرک، pH مایع منی اسپرم و سرم خون اسپرم در مولدین نر 2^+ و 3^+ ساله و اثر حضور مولد ماده بر روی طول کل مدت زمان تحرک اسپرم و مدت زمان حرکت رو به جلو اسپرم و همچنین میزان اسپرماتوکریت از آزمون T-test استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از سنجش pH مایع منی اسپرم ماهیان 2^+ ساله ۸/۲±۰/۲ و در مولدین 3^+ ساله ۸/۵±۰/۴ اختلاف معنی‌داری را با هم نشان دادند که بیشترین آن در سن 3^+ سالگی و کمترین آن در سن 2^+ سالگی ثبت شد (نمودار ۱).

pH سرم خون ماهیان 2^+ ساله معادل ۷±۰/۱ و در مولدین 3^+ ساله معادل ۷±۰/۱۲ بود و این میزان در دو سطح سنی یاد شده در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند (نمودار ۲).

مدت زمان تحرک اسپرم در 2^+ ساله‌ها بترتیب ۸۳/۸۲±۱/۲ ثانیه و در 3^+ ساله‌ها معادل ۸۹/۳±۱/۴ ثانیه بود که طول دوره تحرک اسپرم در 2^+ ساله‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد با 3^+ نشان داد و کمترین مقدار بود (نمودار ۳).

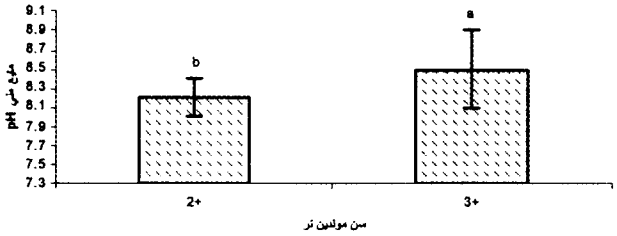
میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر 2^+ ساله بالاتر از 3^+ ساله‌ها و این مقادیر بترتیب معادل ۴۷±۰/۶ و ۴۵±۰/۷ درصد بود (نمودار ۴).

طول کل مدت زمان تحرک اسپرم در مولدین نر که همراه آنها مولد ماده حضور داشت، نسبت به مولدین نرکه بطور جدا از مولدین ماده نگهداری شدند، اختلاف معنی‌داری را در سطح ۹۵ درصد نشان داد و بترتیب معادل ۸۵/۲±۱/۳ ثانیه و ۸۱/۵±۰/۹ ثانیه بود (نمودار ۵).

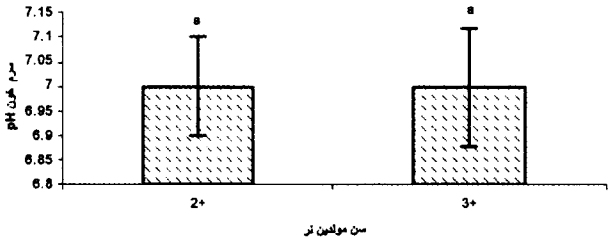
مدت زمان حرکت رو به جلو اسپرم در مولدین نر که در حضور ماده‌ها نبودند، در مقایسه با مولدین نر که در حضور ماده‌ها بودند اختلاف معنی‌داری داشت که بترتیب معادل ۳۹/۴±۱/۶ ثانیه و ۴۳/۳±۱/۸ ثانیه بود (نمودار ۶).

میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر که در حضور جنس ماده بودند، پائین‌تر بود و اختلاف معنی‌داری را با گروهی که دور از مولدین ماده نگهداری شدند، نشان داد و این مقادیر بترتیب معادل ۴۲±۰/۹ و ۴۵±۰/۴ درصد بود (نمودار ۷). حجم تولید اسپرم در مولدین نر که در حضور ماده‌ها بودند بیشتر از مولدینی بود که در حضور ماده قرار نداشتند. ولی میزان عددی آن مورد سنجش قرار نگرفت.

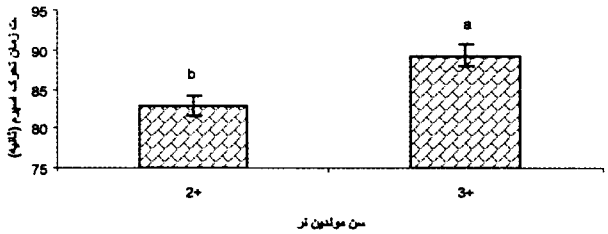
magiran.com



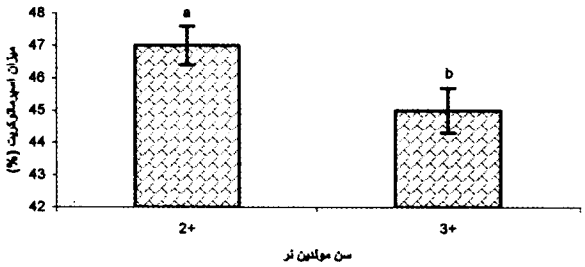
نمودار ۱: اثر سن مولدین نر بر pH مایع منی اسپرم



نمودار ۲: اثر سن مولدین نر بر pH سرم خون

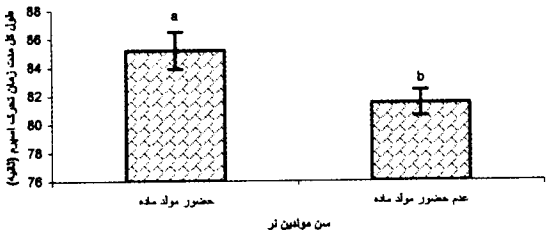


نمودار ۳: اثر سن مولدین نر بر طول کل مدت زمان تحرک اسپرم

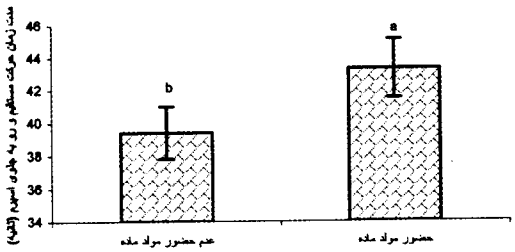


نمودار ٤: اثر سن مولدین نر بر میزان اسپرماتوکریت

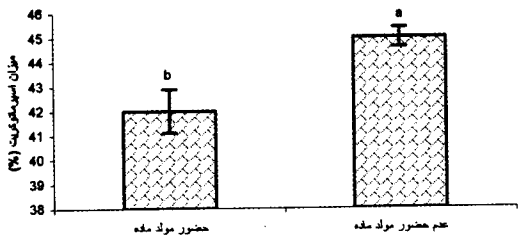
magiran.com



نمودار ۵: اثر سن مولدین نر بر طول کل مدت زمان تحرک اسپرم در شرایط حضور و عدم حضور مولدین ماده



نمودار ٦: اثر حضور و عدم حضور مولدین ماده بر مدت زمان تحرک رو به جلو اسپرم



نمودار ۷: اثر حضور و عدم حضور مولدین ماده بر میزان اسپرماتوکریت

بحث

همانگونه که نتایج این تحقیق نشان می دهد، میزان pH مایع منی در مولدین نر $^{+}$۳ ساله بالاتر از مولدین نر$^{+}$۲ ساله است به نظر می‌رسد شرایط قلیایی مشابه یا بالاتر از pH مایع منی یا مایع سلومیک باعث تحرک و لقاح بیشتر در اسپرماتوزوآی آزاد ماهیان می‌شود. مطالعات نشان داده است که pH، مراحل تکاملی اسپرم آزاد ماهیان را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد (Cosson *et al.*, 1999). از آنجا که در کارگاههای تکثیر اصولاً دیده شده که از مولدین نر $^{+}$۳ ساله بیشتر استفاده می‌شود، شاید قلیایی‌تر شدن pH در مولدین نر $^{+}$۳ ساله دلیلی بر با کیفیت‌تر شدن اسپرم در این سن باشد. مطالعات اخیر نشان داده است که pH درون سلولی و کلسیم درون سلولی در طول شروع تحرک اسپرم ماهی *Flounder* و *Puffer* در محلول هیپرتونیک افزایش می‌یابد. بعلاوه غشاء پلاسمایی اسپرم *Puffer* در زمان آغاز تحرک دپلاریزه می‌شود. ممکن است که افزایش pH و کلسیم غشاء دپلاریزه شده اسپرم می تواند نقش مهمی را در فعال سازی اسپرم داشته باشد (Takai & Morisawa, 1992).

بعد از فعال‌سازی اسپرم *Oncorhynchus masou*، *Oncorhynchus tshawytscha* و *Oncorhynchus mykiss* با آب دارای pH حدود ۷/۵ نشان داده شد که سطح بسیار کمی از اسپرمها متحرک هستند (Ingermann *et al.*, 2002;

magiran.com

Woolsey *et al.*, 2006). بیشترین فعالیت اسپرم در pH معادل ۸ فعال‌کننده‌ها دیده می‌شود اما اسپرم ماهی کپور می‌تواند در محیطی که pH آن بین ۶ تا ۹ باشد، شروع به فعالیت کند (Cosson *et al.*, 1999). تغییرات سالانه خصوصیات اسپرم قزل‌آلاهای جوان در طول فصل تولید مثل در سال ۲۰۰۵ توسط Aral و همکاران بررسی شد، نتایج نشان داد که میزان pH اسپرم در ماه فوریه نسبت به دیگر ماهها، بالاتر بود و اختلاف معنی‌داری را با دیگر زمانهای فصل تکثیر نشان داد. اثر تغییرات فصلی بر خصوصیات بیوشیمیایی پلاسمای منی و تحرک اسپرم *Macrozoarces americanus* در سال ۱۹۹۷ توسط Wang و Crim بررسی شد. نتایج نشان داد که تحرک اسپرم، pH و اسمولالیتی پلاسمای منی در سراسر فصل تولید مثل متفاوت است. در آغاز فصل، تحرک اسپرم پایین است و در ماه جولای و آگوست، بالاترین میزان تحرک اسپرم و سپس در اواخر فصل تکثیر مجدداً تحرک اسپرم کاهش می‌یابد. اگر چه pH پلاسمای منی از ۷/۴ تا ۷/۹ در طول اسپرم‌دهی‌ها افزایش می‌یابد ولی میانگین فصلی pH برابر ۷/۷۸ است و نزدیک به عددی است که در تحقیقات انجام شده جهت سنجش بهترین pH فعال‌سازی در تحرک اسپرم *Ocean pout*، یعنی pH برابر ۹-۸، بدست آمده است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سن بر pH سرم خون تاثیری نداشته در حالیکه با افزایش سن مولدین نر pH پلاسمای منی افزایش یافته است و در این خصوص ارتباطی بین pH سرم خون و پلاسمای منی دیده نشد.

مقایسه اثر سن بر میزان pH مایع منی با مدت زمان تحرک اسپرم در ۲^+ ساله‌ها ۸۳/۸۲±۱/۲ ثانیه و ۳^+ ساله‌ها ۸۹/۳±۱/۴ ثانیه و میزان اسپرماتوکریت در مولدین نر ۲^+ ساله و ۳^+ ساله‌ها با مقادیر بترتیب معادل ۴۷±۰/۶ و ۴۵±۰/۷ درصد نشان از افزایش دوره تحرک اسپرم مولدین نر ۳^+ ساله در مقایسه با مولدین نر ۲^+ ساله دارد. دلیل این امر می‌تواند به خاطر کاهش میزان اسپرماتوکریت مولدین نر ۳^+ ساله در مقایسه با ۲^+ ساله‌ها باشد. موفقیت لقاح و تحرک اسپرم آزاد ماهی اقیانوس اطلس *Salmo salar* در سال ۱۹۸۴ توسط Daye و Glebe بررسی شد. نتایج نشان داد که آزاد ماهیان نر ۱ ساله در مقایسه با آزاد ماهیان نر ۲ ساله اسپرماتوکریت بالاتری داشتند.

ارتباط بین غلظت اسپرم، اسپرماتوکریت، تحرک اسپرم و موفقیت لقاح در ماهی *Hippoglossus hippoglossus*, Atlantic halibut توسط Tvedt و همکاران در سال ۲۰۰۱ مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که ارتباط خطی معنی‌دار و مثبتی بین غلظت اسپرم و اسپرماتوکریت وجود دارد که اسپرماتوکریت را بعنوان یک فاکتور، جهت تخمین سریع غلظت اسپرم در این گونه معرفی می‌نماید. همچنین این تحقیق نشان می‌دهد که بین غلظت اسپرم و تحرک آن ارتباطی وجود ندارد. اثر سن بر روی خصوصیات اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در سال ۲۰۰۳ توسط Tekin و همکاران بررسی شد. نتایج این تحقیق مبین این مطلب بود که خصوصیات اسپرمی از قبیل حجم اسپرم، میزان تحرک، مدت زمان فعالیت اسپرم، غلظت، تعداد کل اسپرماتوزوآ و pH در رده‌های سنی مختلف دارای تغییرات زیادی می‌باشد، بدین صورت که با افزایش سن، حجم اسپرم، تحرک اسپرم، مدت زمان فعالیت اسپرم و تعداد کل اسپرماتوزوآ افزایش یافته ولی غلظت در آنها کاهش می‌یابد. همچنین رابطه مثبتی بین وزن بدن و طول ماهی با حجم منی وجود دارد که این رابطه با غلظت منی بصورت منفی است. اثر سن مولدین نر قزل‌آلای رنگین کمان بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم‌زدگی در سال ۱۳۸۵ توسط لرستانی و همکاران بررسی شد. نتایج تحقیق نشان داد که در سن ۲^+ سالگی، کمترین مدت زمان تحرک اسپرم و سن‌های ۳^+ و ۴^+ سالگی بیشترین مدت زمان تحرک اسپرم را نشان دادند و سن‌های ۳^+ و ۴^+ ساله از این نظر اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند. متوسط اسپرماتوکریت در سن‌های متفاوت مولدین نر اختلاف معنی‌داری را با هم داشتند. سن ۲^+ سالگی بالاترین میزان اسپرماتوکریت و سن ۳^+ سالگی، کمترین میزان اسپرماتوکریت را داشت.

تحقیق‌های فوق کاهش غلظت اسپرم و اسپرماتوکریت را در سن‌های بالاتر مولدین نر نشان داده‌اند و تحقیق حاضر نیز این موضوع را در خصوص گونه مورد مطالعه تایید می‌نماید. با افزایش سن مولدین نر جهت جبران این نقص، بصورت طبیعی حجم اسپرم تولید شده بیشتر می‌گردد، زیرا غلظت اسپرم می‌تواند اثرات کاهش مدت زمان تحرک را در لقاح جبران کند

magiran.com

(Billard, 1986)، تمامی این حالات و تغییرات کیفی اسپرم در دو سطح سنی مطالعه در این تحقیق تایید کننده تحقیقات دانشمندان دیگر است. اسپرم مولدین نر $^{+}$۳ ساله دارای مدت زمان تحرک بیشتری نسبت به مولدین نر $^{+}$۲ ساله است، از طرفی تعداد سلولهای اسپرماتوزوآ در واحد حجم در مولدین نر $^{+}$۳ ساله کمتر است. از طرف دیگر چون با کاهش میزان اسپرماتوکریت تعداد اسپرماتوزوآ در واحد حجم کاهش می‌یابد پس ممکن است با کمتر شدن این تعداد، میزان ATP، اختصاص یافته به هر سلول اسپرماتوزوآ در مقایسه با حالتی که تعداد اسپرماتوزوآها در واحد حجم بالا باشد، بیشتر شود و مدت زمان تحرک اسپرمهای رقیق افزایش یابد (لرستانی و همکاران، ۱۳۸۶).

طول کل مدت زمان تحرک اسپرم و طول دوره حرکت رو به جلوی اسپرم در مولدین نری که در حضور ماده‌ها بودند، طولانی‌تر از گروه شاهد است، این در حالی است که میزان اسپرماتوکریت در این گروه در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری کمتر است. افزایش حجم تولید اسپرم و به دنبال آن کاهش غلظت اسپرم در مولدین نری که در معرض مولدین ماده بودند می‌تواند بدلیل ترشح هورمون‌های تحریک کننده از طرف مولدین ماده باشد. با کاهش غلظت اسپرم نیز افزایش طول دوره تحرک آن دور از انتظار نمی‌باشد. اثر حضور مولدین ماده بر تولید اسپرم و فعالیتهای جنسی مولدین نر گوپی در سال ۲۰۰۳ توسط Bozynski و Liley بررسی و مطالعه شد. نتایج نشان داد که میزان اسپرم استحصال شده از مولدینی که در حضور ماده‌ها قرار دارند بیشتر از مولدینی است که به تنهایی نگهداری شده‌اند. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که حضور ماده‌ها نقش اساسی را در تحریک نرها جهت تولید اسپرم دارد.

منابع

احمدیان، ن. ؛ مجازی امیری، ب. ؛ ابطحی، ب. و نظری، ر.م. ، ۱۳۸۱. استفاده از تقویت‌کننده‌های اسپرم در لقاح تخمک تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* . دومین همایش ملی منطقه‌ای ماهیان خاویاری، صفحات ۱۱۱ تا ۱۱۵.

کلباسی، م.ر. و لرستانی، ر. ، ۱۳۸۵. اثر رقیق‌کننده‌های مختلف بر مدت زمان تحرک اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان، صفحات ۱۳۲ تا ۱۴۲.

لرستانی، ر. ؛ احمدی، م.ر. و کلباسی، م.ر. ، ۱۳۸۶. همبستگی خصوصیات کیفی اسپرم مولدان نر در روند تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله منابع طبیعی ایران، دانشکده منابع طبیعی تهران، دوره ۶۰، شماره ۱، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۱۴۱ تا ۱۶۸.

Aas G.H., Refstie T. and Gjerde B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. Aquaculture, 95: 125-132.

Aral F., Sahynoz E. And Dogu Z., 2005. Annual changes in sperm characteristics of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) during spawning season in Ataturk Dam Lake, Sanliurfa, Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 4, No. 2, pp.301-309.

Billard R., 1983. Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Journal of Reproduction and Fertility, 68:77-84.

Billard R., 1986. Spermatogenesis and spermat-ology of some teleost fish species. Reproduction Nutural Development, Vol. 26, No. 4, pp.877-920.

Billard R., 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. Aquaculture, 100:263-298.

Billard R. and Cosson M.P. 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo gairdneri*; Effects of pH and temperature. *In*: Reproduction in fish basic and applied aspects in endocrinology and genetics. (B. Breton and Y. Zohar eds.). INRA, Paris, pp.161-167.

magiran.com

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.

Bozynski C. and Liley N.R., 2003. The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on 'ready' sperm in the male guppy. Animal Behavior, 65:53–58.

Cosson J., Billard R., Gibert C., Dreanno C. and Suquet M., 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In the male gamete. From basic to clinical application, (C. Gagnon ed.). Cache Rive Press, pp.161-186.

Daye P.G. and Glebe B.D., 1984. Fertilization success and sperm motility of Atlantic salmon *(Salmo salar* L.*)* in acidified water. Aquaculture, 43:307-31.

Emri M., Márián T., Trón L., Balkay L. and Krasznai Z., 1998. Temperature adaptation changes ion concentrations in spermatozoa and seminal plasma of common carp without affecting sperm motility. Aquaculture, Vol. 167, Issues 1-2, pp.85-94.

Ingermann R.L., Bencic D.C. and Cloud J.G., 2002. Low seminal buffering capacity corresponds to high pH sensitivity of sperm motility in salmonids. Fish Physiology and Biochemistry, 24:299–307.

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. Journal of Fish Physiology and Biochemistry, 15:167-179.

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 spermatozoa metabolism. Aquaculture, 163:163-181.

Liley N.R., Tamkee P., Tsai R. and 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 Fish Aquatic Science, 59:144-152.

Rakitin A., Ferguson M. and Trippel E., 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. Aquiculture, 170:349-358.

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. Aquiculture, 234:1-28.

Sikra O. and Linhart O., 1987. The spermatocrit value as a parameter of sperm concentration in some fishes. Buletin Vyzkumny Ustav Rybarsky a Hydrobiologicky Vodnany. 1987. Vol. 23, No. 2, pp.12-19.

Takai H. and Morisawa M., 1992. Initiation of sperm motility in marine teleost: Roles of intracellular K super (+) and Ca super (2+). Zoology Science, Vol. 9, No. 6, 1221P.

Tekin N., Secer S., Akcay E., Bozkurt Y. and Kayam S., 2003. The effect of age on spermatological properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1722). Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 27:37-44.

magiran.com

Tvedt H., Benfey T.J., Martin-Robichaud D.J. and Power J., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture, 194:191-200.

Wang Z. and Crim L.W., 1997. Seasonal changes in the biochemistry of seminal plasma and sperm motility in the ocean pout, *Macrozoarces americanus*. Fish Physiology and Biochemistry, 16:77–83.

Woolsey J., Holcomb M., Cloud J.G. and Ingermann R.L., 2006. Sperm motility in steelhead *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): Influence of the composition of the incubation and activation media. Aquatic Research, 37:215–223.

magiran.com

Comparison of pH of seminal plasma and blood serum in males and effects of female broodstocks on male sperm quality parameters in *Cyprinus Carpio*

Hosseini S.H. [(1)*] **and Lorestani R.** [(2)]

1- Member of Young Researchers Club, Islamic of Azad University, Lahijan Branch, P.O.Box: 1616 Lahijan, Iran

2 - Faculty of Marine Science & Natural Resources, Trbiat Modares University, P.O.Box: 46414-356 Noor, Iran

Received: November 2007 Accepted: January 2010

Keywords: Sperm, Age, Spermatocrit, Physiology

Abstract

This research was conducted in 2007 on *Cyprinus carpio* in Alvand High School in Ghasreshirin. We randomly selected 20 broodstock male fishes in 2 age classes (2^+, 3^+ years old). In each year class, 10 males were selected and after sperm striping, seminal plasma were allocated in different groups, and pH was measured. Seminal plasma pH had significant difference among two age classes of males and in 2^+ male age class was 8.2±0.2 while in 3^+ males was 8.5±0.4. This value in 3^+ year group was the highest and in 2^+ age class was the lowest. Blood serum pH was not significantly different between the two male age classes and in 2^+ male age class was 7±0.1 while in 3^+ males was 7±0.12. Duration of sperm motility in 2^+ male age class was 83.82±1.2s and for 3^+ males was 89.3±1.4s. This value in 2^+ male age class was the lowest and showed significant difference with other groups. Spermatocrit in 2^+ age class was (45±0.7) significantly different than 3^+ (47±0.6) at the level of 5%. In males kept with female, produced sperm was higher than broodstock males kept separately from females. Total duration of sperm motility in males kept with females showed significant difference with males kept separately and was 85.2±1.3s and 81.5±0.9s respectively. Duration of forward motility in males kept with females was lower (39.4±1.6s) than in males kept without female (43.3±1.8s) and there was significant difference between the two. Spermatocrit in males kept with females was lower (43±0.9%) and significantly different to the other group (47±1.4%).

* Corresponding author: Sh_Hosseini_2000@yahoo.com