

مطالعه ریخت‌شناسی اسپرم و برخی متغیرهای شیمیایی مایع منی ماهی برزم لب پهن (*Barbubs barbuls* Heckel, 1847)

● **مژگان خدادادی***: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، صندوق پستی 1915

● **سیدامیر عباس هاشمی‌پور**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، صندوق پستی 1915

تاریخ پذیرش: مرداد 1395

تاریخ دریافت: اردیبهشت 1395

چکیده

این بررسی جهت مطالعه ریخت‌شناسی اسپرم ماهی مولد نر برزم لب پهن *Barbubs barbuls* در پژوهشکده آبی‌پروزی جنوب کشور (شیبان- اهواز) با مطالعه بر روی 13 ماهی انجام گرفت. پس از بی‌هوشی مولدین توسط MS222، اسپرم‌گیری از طریق مالشی به وسیله میکروسپیلر (از نمونه‌های تازه استحصال‌شده 1 میلی‌لیتر) نمونه‌ها را درون میکرو تیوپ‌های 1/5 میلی‌لیتری قرار و نمونه‌ها سانتی‌فیوژ شدند. به وسیله جداسازی مایع رویی حجم پلاسمای منی اندازه‌گیری شد. pH توسط pH متر اندازه‌گیری شد. طول دوره حرکت اسپرم پس از رقیق‌سازی با آب به وسیله کرنومتر و با استفاده از میکروسکوپ مجهز به صفحه‌نمایش اندازه‌گیری شد. جهت بررسی تراکم اسپرم پس از رقیق‌سازی به نسبت 1:2000 با آب مقطر به روش استاندارد هموسیتمتری شمارش گردید. مرفولوژی اسپرم نیز با استفاده از میکروسکوپ مجهز به صفحه‌نمایش بررسی شد. کلاسترویل، پروتئین، گلوکز کلسیم و فسفر از روش فتومتریک اندازه‌گیری شد. غلظت‌های سدیم و پتاسیم پلاسمای سمینال با استفاده از روش یون سلکتیو اندازه‌گیری شد. در نمونه‌های زنده ماهیان مورد بررسی میانگین وزن $1433 \pm 85/73$ گرم و میانگین طول کل $51/85 \pm 1/55$ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه میانگین طول دوره تحرک اسپرم $332/31 \pm 126/37$ ثانیه، میانگین تراکم اسپرم $31/67 \pm 12/78$ ، میانگین pH پلاسمای سمینال $8/05 \pm 0/193$ و میانگین درصد اسپرماتوکریت 66 درصد، میانگین گلوکز، کلاسترویل و پروتئین کل پلاسمای سمینال به ترتیب $15/39 \pm 5/86$ ، $21/2 \pm 50$ و $1/66 \pm 0/86$ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، میانگین سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فسفر پلاسمای سمینال به ترتیب: $434/15 \pm 72/7$ ، $112/23 \pm 39/8$ ، $0/7 \pm 3$ ، $0/0 \pm 75/3$ و $16/25 \pm 2/4$ میلی‌مول بر لیتر، همچنین میانگین طول سر اسپرم $0/66 \pm 0/13$ میکرون، میانگین طول تازک $2/04 \pm 0/29$ میکرون و میانگین طول کل اسپرم $2/71 \pm 0/32$ میکرون اندازه‌گیری شد. طول دوره تحرک دارای ارتباط معنی‌دار با تراکم اسپرم، pH پلاسمای سمینال، گلوکز و درصد اسپرماتوکریت بود ($p < 0/01$). همچنین pH پلاسمای سمینال دارای ارتباط معنی‌دار با درصد اسپرماتوکریت و غلظت گلوکز پلاسمای سمینال بود ($p < 0/01$). غلظت کلاسترویل پلاسمای سمینال نیز دارای ارتباط معنی‌دار با غلظت منیزیم پلاسمای سمینال بود ($p < 0/01$). منیزیم پلاسمای سمینال دارای ارتباط معنی‌دار با غلظت کلسیم بود ($p < 0/01$) و سدیم پلاسمای سمینال دارای ارتباط معنی‌دار با پتاسیم پلاسمای سمینال بود ($p < 0/01$).

کلمات کلیدی: ماهیان بومی، اسپرم، برزم لب پهن، *Barbubs barbuls*، پلاسمای سمینال، ریختی.

مقدمه

جنس را حدود 800 گونه در جهان ذکر کرده است. برزم لب پهن (*Barbubs barbuls*) از ماهیان بومی استان خوزستان است پراکنش این‌گونه فقط در رودخانه کارون گزارش شده است (عبدلی، 1378).

منی یا میل‌ت از اسپرماتوزوآ و پلاسمای سمینال تشکیل شده است، پلاسمای سمینال دارای ترکیبات منحصربه‌فردی است. بعضی از این ترکیبات نقش محافظتی برای اسپرماتوزوآ و برخی دیگر در سیستم تولیدمثلی نقش ایفا می‌کنند (Cierezko و همکاران، 2000). مطالعه بر روی اجزاء منی برای فهم پایه و اساس بیوشیمیایی پروسه‌ای که در زمان متحرک شدن اسپرم در زمان لقاح اتفاق می‌افتد ضروری است (Linhardt و همکاران، 1991؛ Ingeman و همکاران، 2002؛ Wojtaczak و همکاران، 2003). همچنین برای ارزیابی توانایی تولیدمثلی گونه‌های مختلف ماهیان (Coward و همکاران، 2002؛ Rungwa و همکاران، 2004؛ Alavi و Cosson، 2006). ارتقا روش‌های

کیور ماهیان (Cyprinidae) از مهم‌ترین خانواده‌های بومی آب‌های شیرین ایران می‌باشند این خانواده با 31 جنس و 74 گونه پرتنوع‌ترین خانواده ماهیان آب‌های شیرین ایران هستند (عبدلی، 1378) یکی از مهم‌ترین جنس‌های این خانواده جنس باربوس می‌باشد.

جنس باربوس بزرگ‌ترین گونه از خانواده کیور ماهیان (Cyprinidae) می‌باشد. برخی از گونه‌ها به بیش از 150 کیلوگرم می‌رسند برخی از آن‌ها ماهیان خوراکی بالارزشی‌اند. برخی گونه‌های این جنس در ایران در حوضه دریای خزر و دریاچه نمک و دریاچه ارومیه و حوضه بین‌النهرین یافت می‌شوند. همچنین برخی دیگر در حوضه خلیج فارس و حوضه رودخانه موند یافت می‌شوند این جنس یکی از قدیمی‌ترین جنس‌های خانواده کیور ماهیان می‌باشد و از نظر دامنه گسترش اختلاف چشمگیری را به نمایش می‌گذارد (ولی‌الهی، 1382) تعداد گونه‌های این

نگهداری کوتامدت و طولانی‌مدت سمن ماهیان ارزیابی کیفیت اسپرم امری اجتناب‌ناپذیر است.

Alavi و همکاران در سال 2004 پلاسمای سمینال ماهی *Acipenser persicus* Verma و همکاران در سال 2008، مشخصات فیزیکی و بیوشیمیایی سمینال 6 گونه کپور *Catla catla*، *Labio rohita*، *Labio cabasu*، *Cirrhinus mrigala*، *Hypophthalmichthys molitrix* و *Ctenopharyngodon idella* را مورد بررسی قرار دادند.

Alavi و همکاران در سال 2008 غلظت سدیم، پتاسیم و کلسیم و کلر را در پلاسمای سمینال ماهی *Barbus barbus* Alavi و همکاران در سال 2010 تحرک اسپرم و مشخصات پلاسمای سمینال ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) را مورد بررسی قرار دادند.

جهت حفظ این ماهیان به‌عنوان خزانه ژنتیکی ملی نیاز است بیوتکنیک‌های حفظ و نگهداری اسپرم این ماهیان را به‌عنوان یک ذخیره ملی برای حفظ تنوع ژنتیکی در منطقه موردبررسی قرار دهیم.

کیفیت اسپرم معیاری جهت اندازه‌گیری توانایی اسپرم در موفقیت لقاح تخم می‌باشد. بنابراین پارامترهایی که در امر لقاح تخم تأثیرگذار می‌باشند جزء پارامترهای کیفیت اسپرم محسوب می‌شوند (Billard و همکاران، 1995).

در این بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی اسپرم ماهی معرفی و ترکیبات پلاسمای سمینال و شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیکی منی و بررسی رابطه احتمالی بین عوامل فیزیکی و شیمیایی با تحرک اسپرم در ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbulus*) موردبررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از 15 اسفند 1390 لغایت 30 فروردین‌ماه 1391 در پژوهشکده آبی‌پروری جنوب (شیبان) وابسته به اداره کل شیلات با استفاده از 15 مولد نر ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbulus*) انجام شد.

پس از بیهوشی مولدین توسط ماده Ms-222 (Alavi و همکاران، 2010) جهت اسپرم‌گیری ابتدا بدن مولد با دقت به‌وسیله حوله خشک شد. سپس از طریق مالش با دقت تمام بدون اینکه نمونه منی با خون یا ادرار ترکیب شود نمونه جمع‌آوری شد (Secer، 2004). به‌وسیله میکرو سمپلر از نمونه‌های تازه استحصال‌شده 1 میلی‌لیتر سمن درون میکرو تیوپ‌های 1/5 میلی‌لیتری قرار داده شد. نمونه‌ها در دور 3000 به مدت 8 دقیقه به‌وسیله دستگاه سانتریفوژ Eppendorf 5415D سانتریفوژ شدند (Alavi و همکاران، 2006) بعد از سانتریفوژ پلاسمای سمینال که در قسمت بالایی ویال قرار گرفته بود (سوپر نت) به‌وسیله جداسازی مایع رویی (مایع شفاف) حجم پلاسمای منی اندازه‌گیری شد (Hefsoelzehe، 2007) سپس به درون ویال‌های جدید منتقل شد و pH توسط pH متر Hana 83141 Hi اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری طول دوره حرکت اسپرم به‌وسیله میکروسمپلر 10

میکرولیتر از نمونه‌های سمن روی لام قرار داده شد و روی آن‌ها 100 میکرو لیتر آب مقطر ریخته، همزمان با اضافه کردن آب مقطر کرنومتر زده شد و طول دوره حرکت تا زمانی که تقریباً 100 درصد اسپرم‌ها از حرکت بایستند توسط میکروسکوپ Nikon eclipse 50i مجهز به صفحه نمایش در دمای اتاق (سانتی‌گراد 22-20) اندازه‌گیری شد (Secer، 2004).

برای بررسی تراکم اسپرم یک قطره اسپرم غلیظ حدود 10 میکرولیتر به نسبت 1:2000 با آب مقطر رقیق شد و به روش استاندارد هموسیتمتری توسط میکروسکوپ Nikon eclipse 50i مجهز به صفحه نمایش مشاهده و شمارش گردید (Alavi و همکاران، 2010).

جهت بررسی مرفولوژی اسپرم (طول سر، طول کل و طول تاژک) از میکروسکوپ Nikon eclipse 50i مجهز به صفحه نمایش با بزرگنمایی 400 برابر و با دقت 0/01 میکرون استفاده شد.

برای اندازه‌گیری کلسترو و پروتئین و گلوکز از دستگاه RA 1000 Technicon بر اساس روش فتومتریک با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون استفاده شد.

برای اندازه‌گیری غلظت‌های سدیم و پتاسیم پلاسمای سمینال از دستگاه ConrergysIseng استفاده شد اساس کار این دستگاه به روش یون سلکتیو است برای اندازه‌گیری کلسیم و فسفر از دستگاه Selectra-XL استفاده شد که اساس کار این دستگاه همان روش فتومتریک است که برای کلسترو و گلوکز و پروتئین استفاده شد (Alavi و همکاران، 2010). برای آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه در نرم‌افزارهای کامپیوتری Minitab و 16 برنامه صفحه گسترده EXCEL استفاده شد.

نتایج

میانگین، انحراف‌معیار و دامنه شاخص‌های زیست‌سنجی و برخی متغیرهای پلاسمای سمینال ماهی برزم لب پهن در جدول 1 نشان داده‌شده است.

نتایج بررسی آمار پیرسون بین خصوصیات اسپرم شناختی و ترکیبات پلاسمای سمینال منی ماهی برزم لب پهن در جدول 2 نشان داده شده است. با توجه داده‌های آماری پیرسون جدول 2، وزن مولدها ارتباط معنی‌داری با حجم انزال، طول دوره تحرک، تراکم اسپرم، درصد اسپرماتوکریت و مشخصه‌های شیمیایی پلاسمای سمینال نداشت ($p > 0/05$).

طول دوره تحرک ارتباط معنی‌داری با حجم انزال، اندازه اسپرم، غلظت‌های پروتئین، کلسترو، منیزیم، سدیم، پتاسیم، کلسیم و فسفر پلاسمای سمینال نداشت ($p > 0/05$). ولی دارای ارتباط معنی‌دار با تراکم اسپرم، pH اسپرم، گلوکز و اسپرماتوکریت بود ($p < 0/01$).

تراکم اسپرم ارتباط معنی‌داری با غلظت‌های پتاسیم و کلسیم پلاسمای سمینال نداشت ($p > 0/05$). ولی دارای ارتباط معنی‌دار با pH، گلوکز و اسپرماتوکریت بود ($p < 0/01$).

pH پلاسمای سمینال دارای ارتباط معنی‌دار با غلظت گلوکز پلاسمای سمینال و اسپرماتوکریت بود ($p < 0/01$). غلظت



در جدول 3 رگرسیون برخی خصوصیات اسپرم شناختی نشان داده شده است.

گلوکز پلاسمای سمینال ارتباط معنی دار با درصد اسپرماتوکریت داشت ($p < 0/01$).

نمودارهای رگرسیون خطی برخی متغیرهای شیمیایی مایع سمینال ماهی برزم لب پهن در نمودارهای 1 تا 6 نشان داده شده است.

جدول 1: میانگین، انحراف معیار و دامنه شاخص های زیست سنجی و برخی متغیرهای پلاسمای سمینال ماهی برزم لب پهن (*Barbus barbatus*) (بهار 1391)

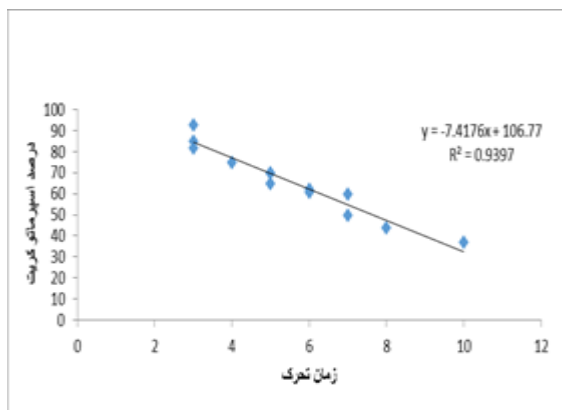
دامنه	میانگین $\pm$ SD	مشخصه مورد بررسی
1250-1540	1433/0 $\pm$ 86/113	وزن (گرم)
490-540	518/15 $\pm$ 462/5	طول کل (میلی متر)
2/2-44/98	2/0 $\pm$ 707/215	طول کل اسپرم (میکرومتر)
180-600	332/126 $\pm$ 31/37	طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)
1-3/5	2/0 $\pm$ 5/5	حجم انزال (میلی لیتر)
59/15-5	31/12 $\pm$ 67/78	تراکم $\times 10^9$
8/7-3/8	8/0 $\pm$ 05/193	pH سمینال
37-93	65/23 $\pm$ 69/78	اسپرماتوکریت (درصد)
9/25-5	15/3 $\pm$ 39/096	گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)
80-20	21 $\pm$ 50/20	کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/3-15/3	1/0 $\pm$ 66/86	پروتئین کل (میلی گرم بر دسی لیتر)
490-256	434/21 $\pm$ 15/20	سدیم (میلی مول بر لیتر)
160-63	112/0 $\pm$ 38/86	پتاسیم (میلی مول بر لیتر)
2/4-08/58	3/0 $\pm$ 01/69	منیزیم (میلی مول بر لیتر)
0/1-25/5	0/0 $\pm$ 75/69	کلسیم (میلی مول بر لیتر)

جدول 2: آمار پیرسون بین خصوصیات اسپرم شناختی و ترکیبات پلاسمای سمینال منی ماهی لب پهن (*Barbus barbatus*) (فروردین 1391)

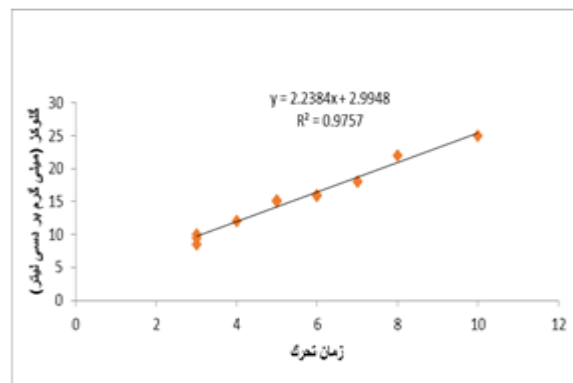
متغیر	زمان تحرک	تراکم اسپرم	pH	گلوکز	کلسترول	سدیم	منیزیم
تراکم	0/000**	-0/871					
pH	0/000**	0/981	-0/875				
گلوکز	0/000**	**0/000	**0/000	0/966			
اسپرماتوکریت	**0/000	**0/000	**0/000	-0/980	-0/947		
پتاسیم						**0/000	0/892
کلسیم						**0/000	0/963

**همبستگی در سطح 0/01 معنی دار می باشد.

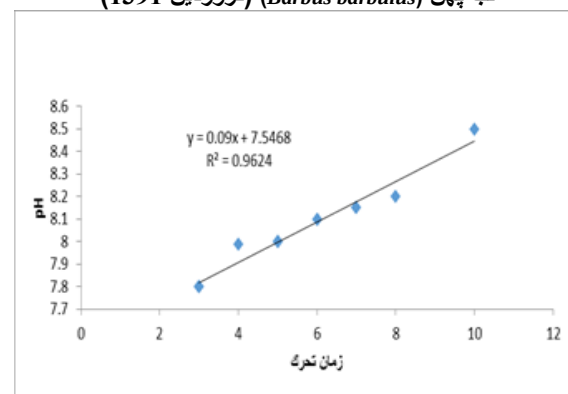
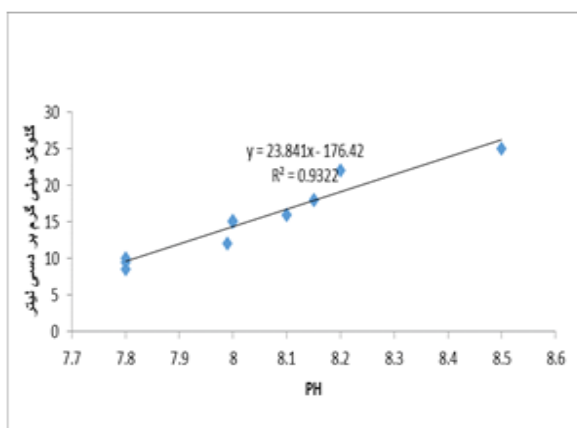




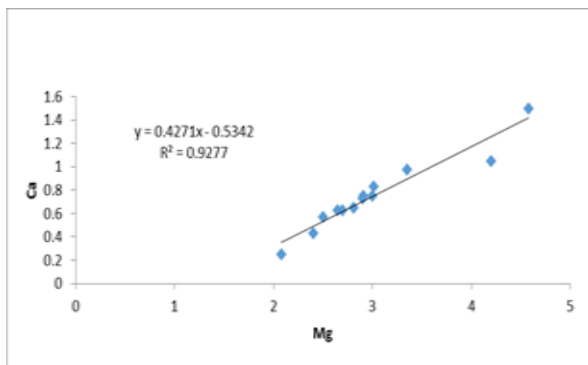
نمودار 4: رگرسیون خطی درصد اسپرماتو حرکت و طول دوره حرکت اسپرم ماهی لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)



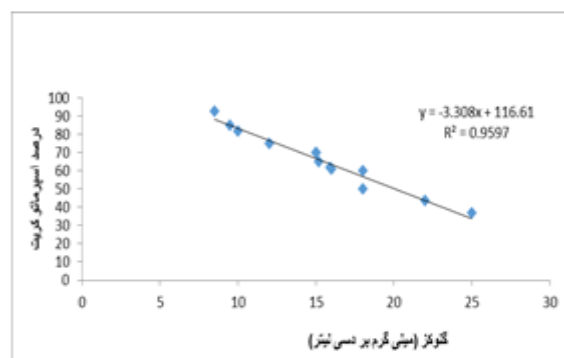
نمودار 1: رگرسیون خطی گلوز و طول دوره حرکت اسپرم ماهی لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)



نمودار 2: رگرسیون خطی pH پلاسما سمینال و زمان حرکت اسپرم ماهی لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)



نمودار 6: نمودار رگرسیون خطی کلسیم منیزیم پلاسما سمینال ماهی لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)



نمودار 3: رگرسیون خطی درصد اسپرماتو حرکت و گلوز در ماهی لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)

جدول 3: معادله رگرسیونی بین برخی خصوصیات اسپرم شناختی مورد بررسی در ماهی بوزم لب پهن (*Barbus barbulus*) (فروردین 1391)

پارامتر	R^2	رابطه رگرسیون
زمان حرکت (x) گلوز (y)	0/975	$y = 2/238x + 1/178$



زمان تحرک (X) و pH پلاسما (Y)	0/962	$Y=0/09 X+7/546$
گلوکز (X) و اسپرماتوکریت (Y)	0/959	$Y=-3/308 X+116/6$
زمان تحرک (X) و اسپرماتوکریت (Y)	0/939	$Y=-7/417 X+106/7$
pH پلاسما (X) گلوکز (Y)	0/932	$Y=23/84 X-176/4$
(Y) Ca و (X) Mg	0/927	$Y=0/427 X+0/534$

بحث

صنایع پرورش و کشت ماهی بیش تر به کیفیت تخمک و لارو بستگی دارد. این در حالی است که کیفیت هر دو گامت یعنی اسپرم و تخمک بر موفقیت لقاح و بازماندگی لارو تأثیر می گذارد. در بعضی از گونه ها کیفیت ضعیف اسپرم می تواند به عنوان فاکتوری محدودکننده در کشت آن ها موثر باشد (Rurangwa و همکاران، 2004).

تراکم اسپرم اندازه گیری شده در این مطالعه در مقایسه با تراکم اسپرم *Hypophthalmichthys molitrix* (Morisawa و همکاران، 2008) و تراکم اسپرم ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) (Alavi و همکاران، 2010)، بالاتر بود. Alavi و همکاران (2007) نشان دادند در گونه های که حجم اسپرم پایینی دارند معمولاً جهت جبران حجم کم اسپرم دارای تراکم بالای اسپرم هستند. با توجه به کاهش مولدین ماهی برزم لب پهن در طبیعت و همچنین میزان ضریب بهره برداری ($p>0/5$) و تحت فشار بودن ذخیره این گونه از نظر دینامیک جمعیت (هاشمی پور و مرتضوی، 1389) می توان بالا بودن تراکم اسپرم این گونه را برای بقای نسل توجیه کرد.

نتایج حاصل از آنالیز مرفومتريک اسپرماتوزا نشان می دهد که میانگین طول کل اسپرماتوزا ماهی برزم لب پهن در مقایسه با مطالعه برادران نویری (1386) در اسپرماتوزای تاس- ماهی ایرانی *Acipenser persicus* نشان می دهد که حدوداً 30 برابر کوچکتر از اسپرماتوزای تاس ماهی ایرانی است. همچنین در مقایسه با مطالعه صورت گرفته توسط Verma و همکاران (2008) در 6 گونه کپور *Labeo rohita*، *Catla catla*، *Hypophthalmichthys mrigala*، *Cirrhinus mrigala*، *Oreochromis niloticus* می توان گفت اندازه اسپرماتوزای ماهی برزم لب پهن بسیار کوچکتر از اسپرماتوزای 6 گونه اشاره شده بود.

عواملی مانند یون ها، اسمولاریته، pH و دما بر حرکت اسپرم موثر می باشند (Akhter و Sadigul Islam، 2011). در این بررسی غلظت یون های سدیم و پتاسیم از غلظت یون های کلسیم و منیزیم در پلاسماي سمينال ماهی برزم لب پهن بالاتر بود که از این نظر با بررسی انجام شده روی کپور ماهیان، آزاد ماهیان، ماهیان خاویاری و دریایی توسط Alavi و Cosson (2006) همخوانی داشت.

تعیین مقدار بهینه پارامترهای موثر بر فعالیت اسپرم در جهت افزایش کارایی تکثیر مصنوعی حائز اهمیت می باشد (Alavi و همکاران، 2004). بررسی های متعدد نشان می دهند میزان یون پتاسیم و یون سدیم در خانواده کپورماهیان به ترتیب 107-94 و 78-39 میلی مول در لیتر گزارش شده است (Billard و Cosson، 1986). در این بررسی غلظت پتاسیم در برزم لب پهن (*Barbus barbus*) 112/38، در شیربت (*Barbus sharpeyi*) 28/8 میلی مول بر لیتر (Alavi و همکاران، 2010)، در *Tinca tinca* 1/93 (Linhardt و همکاران، 2008) و در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) 65/25 میلی مول بر لیتر (Khara و همکاران، 2012) بوده است. تفاوت در غلظت های پتاسیم پلاسماي سمينال بیانگر ویژگی های خاص هر گونه می باشد (Ciereszko و همکاران، 2000).

اختلاف غلظت یون پتاسیم بین آب و پلاسما آغازکننده حرکت اسپرم است (Morisawa، 1983) و یون پتاسیم عامل اصلی در عدم تحرک اسپرماتوزای آزاد ماهیان و ماهیان خاویاری است (Billard و Cosson، 1992). Morisawa و همکاران (1983) نشان دادند که غلظت پتاسیمی که جهت جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است بستگی به غلظت یون سدیم دارد. اگر غلظت یون سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بالاتری برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است که با توجه به غلظت پتاسیم و سدیم بالایی مورد محاسبه در این پژوهش همخوانی دارد. همچنین پتاسیم و سدیم در سطح ($r=0/892$ ، $p<0/01$) باهم همبستگی مثبت دارند که خود گواه این امر است. Morisawa و همکاران (1983) نشان دادند در صورت افزایش بیش از حد یون سدیم طول دوره تحرک کاهش خواهد یافت که از این نظر با توجه به غلظت بالایی یون سدیم و همچنین طول دوره تحرک بالا با این تحقیق همخوانی ندارد.

مطابق نتایج این بررسی نسبت سدیم به پتاسیم در پلاسماي سمينال ماهی برزم لب پهن 3/86 بود این نسبت در قزل آلاي رنگین کمان (*O. mykiss*) Secer و همکاران (2004) 1/74، در کپور معمولی (*C. carpio*) (Billard و همکاران، 1995) 1/79 بود. بالا بودن این نسبت شاید دلیلی بر بیشتر بودن طول دوره حرکت اسپرماتوزای این گونه نسبت به سایر کپور ماهیان باشد. در این تحقیق بین یون کلسیم و منیزیم همبستگی مثبت و معنی دار وجود داشت ($r=0/963$ ، $p<0/01$) که با مطالعه صورت گرفته توسط Akcay و همکاران (2002) همخوانی دارد. کاتیون ها (اغلب دو ظرفیتی ها مانند کلسیم) اثر آنتاگونیستی برای جلوگیری از تأثیر یون پتاسیم بر تحرک اسپرم دارند (Alavi و همکاران، 2006). مطالعات متعددی نقش میلی مولار کلسیم را در افزایش پارامترهای حرکتی اسپرم نشان داده اند (Cosson و همکاران، 2004).

اطلاعات در مورد ترکیبات آلي اسپرم ماهیان محدود می باشد. در گونه هایی که Secer و همکاران (2004) گزارش کردند نقش پروتئین، گلوکز و کلسترول در اسپرم ماهیان ناشناخته است. اما همین اطلاعات محدود در این زمینه نشان می دهد که پروتئین و کلسترول می توانند نقش حفاظتی روی اسپرم داشته



کشاورزی و منابع طبیعی، سال 15، شماره 1، ویژه‌نامه منابع طبیعی.

5. خارا، ح؛ برادران‌نویری، ش؛ دادرس، ح؛ رهبر، م؛ احمدنژاد، م؛ علی‌نیا، م. و خدادوست، ع، 1391. اثر برخی یون‌ها روی فعالیت اسپرم و کارایی تکثیر مصنوعی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله بهره‌برداري و پرورش آبزیان سال اول، شماره 3، صفحات 62 تا 45.

6. مددی، ز؛ خارا، ح؛ ایمانپور، م.ر؛ علی‌محمدی، س.ا. و بنی‌اسماعیلی، س.ی، 1389. مقایسه برخی خصوصیات اسپرم شناختی فیل ماهی پرورشی و وحشی. مجله شیلات، 1389، سال 4، شماره 2، صفحات 89 تا 83.

7. ولی‌اللهی، ج، 1382. زیستگاه‌ها، پراکنش و برخی تفاوت‌های تاکسونومی بین *Barbus mystaceus* و *Barbus barbulus* دو گونه از باریوس ماهیان ایران. مجله محیط‌زیست. شماره 22، صفحات 34 تا 27.

8. عبدلی، ا، 1378. ماهیان آب‌های داخلی، انتشارات نقش‌مانا. تهران. 377 صفحه.

9. هاشمی، س.ا. و مرتضوی، س.ع، 1389. پویایی جمعیت ماهی شیربیت (*Barbus grypus*) و ماهی برزم لب‌پهن (*Barbus barbulus*) در رودخانه کارون. مجله علمی شیلات ایران. سال 20، شماره 3، صفحات 165 تا 155.

10. Akcay, E.; Bozkurt, Y.; Tekin, N. and Secer, S., 2002. Alabalıklarda sunitohumiam. Artificial insemination in trout, P 70, In; 2 nd Nat. Cong. Repro. Art. Insem. September 4-6, 2002. Book of Abstracts, Konya (in Turkish)
11. Alavia, S.M.H.; Jorfi, E.; Hatef, A. and Mortezaei, S.A.S., 2010. Sperm motility and seminal plasma characteristics in *Barbus sharpeyi*. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 688-694
12. Alavia, S.M.H.; Psenicka, M.; Rodina, M.; Policar, T. and Linhart, O., 2008. Changes of sperm morphology, volume density and motility and seminal plasma composition in *Barbus barbus* (Teleostei: Cyprinidae) during the reproductive season. Aquat. Living Resour. Vol. 21, pp: 75-80.
13. Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2006. sperm motility in fishes (II) Effects of ions and osmolality; areviev. Ceel Biology International. Vol. 30, pp: 1-14
14. Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Mojazi Amiri, B.; Karami, M.; Pourkazemi, M. and Akhoundzadeh, M.A., 2006. Determination of some seminal plasma indices, sperm density and motility in the Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, Vol. 5, No. 5, pp: 19-40
15. Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*). Aquaculture Research. Vol. 36, pp: 841-850.
16. Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2005. sperm motility in fishes; Effects of temperature and pH; areviev. Ceel Biology International, Vol. 29, pp: 101-110
17. Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Karami, M.; Abdoulhy, H. and Mojazi Amiri, B., 2004. Chemical composition and osmolality of seminal of (*Acipenser persicus*); their physiological relation with sperm motility. Aquaculture International, Vol. 35, pp: 1238-43.
18. Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Karami, M.; Mojazi Amiri, B. and Akhoundzadeh, M.A., 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. Reproduction, Vol. 128, pp: 819-828.

باشند. مخصوصاً زمانی که اسپرم از مجرای اسپرم بر، وارد محیط بیرونی می‌شود این نقش حفاظتی بارزتر می‌گردد.

pH یکی از پارامترهای مهم فعال‌کننده اسپرم در ماهیان مختلف است که روی قابلیت لقاح اسپرم تأثیر می‌گذارد (Billard و همکاران، 1995). pH مایع سمینال انداز‌مگیری شده در برزم لب‌پهن از pH مایع سمینال ماهی کپور نقره‌ای (*Rutilus frisii*) ماهی سفید (*Hypophthalmichthys molitrix*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) همچنین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بالاتر بود (Bilko و Zhukinkij، 1984؛ Secer و همکاران، 2004؛ Rahman و همکاران، 2011). بررسی Rahman و همکاران (2011) ارتباط منفی pH سمینال با حرکت اسپرم در کپور نقره‌ای را نتیجه‌ای از شیمی پیچیده ترکیبات پلاسمای سمینال می‌باشد. pH پایین پلاسمای شرایط قلیایی‌تری برای دوام اسپرم فراهم می‌کند (Rahman و همکاران، 2011). که البته نتایج مشابهی نیز در بررسی بر روی کپور معمولی (Common Carp) و توسط بر روی کپور علفخوار (grass Carp) بدست آمده است.

تفاوت بین ارتباطات مشاهده‌شده در این تحقیق با نتایج محققان دیگر می‌تواند تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، متفاوت بودن کیفیت آب، عوامل محیطی، رژیم غذایی، استرس‌های محیطی (سموم، کیفیت آب، تراکم ماهی) بیماری و زمان اسپرم‌دهی باشد (Bozkurt، 2006). با توجه به نتایج موجود می‌توان گفت که نسبت‌های یونی روی شاخص‌های اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی برزم لب‌پهن تأثیرگذار است.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، همکاران محترم مرکز تحقیقات آبی پروری جنوب کشور در فراهم نمودن شرایط این بررسی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. باغفلکی، م؛ شالویی، ف. و ایمانپور، م.ر، 1388. رابطه بین برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی منی فیل ماهی (*Huso huso*) در حوضه جنوبی دریای خزر. مجله زیست‌شناسی ایران، 1388، سال 22، شماره 2، صفحات 321 تا 312.
2. برادران‌نویری، ش، 1386. بررسی خصوصیات مرفولوژی تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در جنوب غربی دریای خزر، مجله امور دام و آبزیان، سال 75، صفحات 144 تا 138.
3. زادمجید، م. و ایمانپور، م.ر، 1386. ارتباط بین برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی در منی ماهی سیم *Abramis brama*. مجله علوم و فنون دریایی. سال 6، شماره 1 و 2. صفحات 63 تا 57.
4. شالویی، ف؛ ایمانپور، م.ر؛ شعبانی، ع. و باغفلکی، ف، 1386. ارتباط بین شاخص‌های پلاسمای سمینال و حرکت اسپرماتوزو در ماهی شیب *Acipenser nudiventris*. مجله علوم



- white sturgeon (*Acipensertransmontanus*). J Exp Biol, Vol. 205, pp: 2885-2890.
31. Linhart, O.; Slechta, V. and Slavik, T., 1991. Fish sperm composition and biochemistry. Bull Inst Zool Acad Sin Monogr, Vol. 16, pp: 285-311.
 32. Linhart, O.; Alavi, S.M.H.; Rodina, M.; Gela, D. and Cosson, G., 2008. Comparison of sperm velocity, motility and fertilizing ability between firstly and secondly activated spermatozoa of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Applied Ichthyology, Vol. 24, pp: 386-396.
 33. 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, Vol. 107, pp: 95-103.
 34. Rahman, M.; Rahman, M.S.; Hossain, A. and Hasan, M., 2011. Seminal plasma composition and their physiological relationship with spermatozoa motility in silver Carp *Hypophthalmichthys molitrix*. World Journal of Fish and Marine Science, Vol. 3, No. 3, pp: 194-200.
 35. Rurangwa, E.; Kime, D.E.; Ollevier, F. and Nash, J.P., 2004. Measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, Vol. 234, pp: 1-28.
 36. Sadiqul Islam, M. and Akhter, T., 2011. Tale of fish sperm and factores affecting sperm motility: A Review. Advances in Life Sciences, Vol. 1, No. 1, pp: 11-19.
 37. Secer, S.; Tekin, N.; Bozkurt, Y.; Bukan, N. and Akcay, E., 2004. Correlation between biochemical and spermatological Parameters in rainbow trout semen. I.J.A, Vol. 56, No. 4, pp: 274-280.
 38. Verma, D.K.; Routray, P.; Dash, C.; Dasgupta, S. and Jena, J.K., 2009. Physical and biochemical characteristics ultrastructure of spermatozoa in six carp species Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Vol. 9, pp: 67-76.
 39. Wojtczak, M.; Glogowski, J.; Koldras, M.; Kucharczyk, D. and Ciereszko, A., 2003. Characterization of protease inhibitors of seminal plasma of cyprinids. Aquat Living Resour, Vol. 16, pp:461-465.
 40. Zhukinskij, V.N. and Bilko, V.P., 1984. Effect of semen pH on embryo viability in some cyprinid fishes. J. Ichthyol. Vol. 24, No. 3, pp: 64-76.
 19. Billard, R., 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. ReprodNutrDev; Vol. 2, pp: 877-920.
 20. Billiard, R. and Cosson, M.P., 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo gairdneri*; Effects of pH and temperature in: Breton, B. and Zohar, Y (eds). Reproduction in fish basic and applied aspects in endocrinology and genetics. INRA. Paris. pp: 161-167.
 21. Billiard, R. and Cosson, M.P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. Journal of Experimental Zoology. Vol. 261, pp: 122-131.
 22. Billard, R.; Cosson, J.; Perche, G. and Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp; Aquaculture, Vol. 124, pp: 95-112.
 23. Bozkurt, Y., 2006. The relationship between body condition, spermatological properties in scaly carp (*Cyprinus carpio*) semen. Journal of Animal and Veterinary Advanes, Vol. 5, pp: 412-414
 24. Bozkurt, Y., 2006. The relationship between body condition, sperm quality parameters and fertilization success in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 5, pp: 284-288.
 25. Ciereszko, A.; Glogowski, J. and Dabrowski, K., 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes. In: Tiersch TR, Mazik PM, editors. Cryopreservation in aquatic species. Louisiana: WAS, Baton Rouge, pp: 20-48.
 26. Cosson, J., 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa AquacultInt, Vol. 12, pp: 69-85.
 27. Coward, K.; Bromage, N.R.; Hibbitt, O. and Parrington, J., 2002. Gametogenesis, fertilization and egg activation in teleost fish. Rev Fish Biol Fish, Vol. 12, pp: 33-58.
 28. Hashemi, S.A.R. and Mortazavi, S.A., 2010. Population dynamics of *Barbus grypus* (Heckel, 18430) and *Barbus barbulus* (Heckel, 1847) in Karoon river, south – west Iran. Iranian Scientific fisheries Journal. Vol. 20, No. 3, pp: 155-166.
 29. Hefsoelzehe, F., 2007. Effect of extenders on some spermatological parameters, fertilization success and larval quality of (*Rutilus frisii kutum*) M. Sc Thesis University of Agricultural Sciences and Natural Resources Gorgan, 84 p.
 30. Ingermann, R.; Holcomb, M.; Robinson, M.L. and Cloud, J.G., 2002. Carbon dioxide and pH affect sperm motility of

