

# اثرات اسمولاریته آب بر میزان اسپرماتوکریت و ارتباط آن با تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید در مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901)

## حوضه جنوب غربی دریای خزر

محمود بهمنی<sup>(۱)</sup>\*؛ سیاوش پیراسته<sup>(۲)</sup>؛ شهروز برادران نویری<sup>(۳)</sup>؛ رضوان الله کاظمی<sup>(۴)</sup>

و پریتا کوچینین<sup>(۵)</sup>

mahmoubahmani@yahoo.com

۱، ۲ و ۴- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دامان، رشت صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

۲ و ۵- واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۶

### چکیده

در این تحقیق خصوصیات ریخت‌شناسی مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) تکثیری در رودخانه‌های جنوب غربی دریای خزر (شیرود، خشک‌رود، سفیدرود و جلوند)، درصد اسپرماتوزوئیدهای متحرک و مدت زمان تحرک آنها، همراه با خصوصیات اسمولاریته، دما، شوری و pH آب ۴ منطقه مصب، دهانه رودخانه، محل تکثیر و بالادست رودخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهند که میانگین مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید در مولدین این رودخانه با ترتیب معادل  $37/2 \pm 4/2$ ،  $41/4 \pm 3/9$ ،  $52/9 \pm 2/1$  و  $47/8 \pm 3/4$  ثانیه و درصد تحرک سلولهای اسپرم مولدین با ترتیب  $49 \pm 4/1$ ،  $58/2 \pm 6/8$ ،  $74 \pm 4/8$  و  $68/1 \pm 5/9$  درصد بوده است. همچنین میانگین اسمولاریته این رودخانه‌ها با ترتیب  $71/7 \pm 66$ ،  $62/5 \pm 85/5$ ،  $40/2 \pm 34/2$  و  $36/7 \pm 34/4$  میلی‌اسمول بر لیتر، میانگین دما  $14$ ،  $15$ ،  $13/6 \pm 0/2$  و  $14$  درجه سانتیگراد و میانگین pH با ترتیب معادل  $7/6 \pm 0/1$ ،  $7/2 \pm 0/1$ ،  $7/4 \pm 0/1$  و  $7/2 \pm 0/1$  سنجش شد. نتایج این بررسی حاکی از آن است که با افزایش درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک این سلولها نیز افزایش می‌یابد و با کاهش اسمولاریته آب رودخانه‌ها از مصب بطرف بالادست، درصد سلولهای متحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئیدها افزایش نشان می‌دهند. از این رو به نظر می‌رسد براساس طبیعت آنادرومی مولدین ماهی سفید، افزایش فاصله مکان تکثیر تا دریا در منطقه بالادست رودخانه‌ها، سبب افزایش کمیت و کیفیت اسپرم مولدین شده و شانس موفقیت در تکثیر مصنوعی را نیز ارتقاء خواهد بخشید.

لغات کلیدی: ماهی سفید، *Rutilus frisii kutum*، اسمولاریته، اسپرماتوزوئید، دریای خزر

\* نویسنده مسئول

## مقدمه

## مواد و روش کار

ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) یک ماهی آنادرموس می‌باشد که در هنگام مهاجرت تخم‌ریزی، از دریا به رودخانه مدت زمان کوتاهی را در اطراف مصب (محل تلاقی آب شیرین رودخانه با آب شور دریا) باقی مانده و پس از تنظیم اسمزی مایعات بدن به آب شیرین رودخانه وارد می‌شود (کازانچف، ۱۳۷۱ و شریعتی، ۱۳۶۷).

مولدین این ماهی جهت تکثیر نیمه مصنوعی در رودخانه‌های جنوب غربی دریای خزر در فاصله ۳۰ تا ۳۰۰ متری دهانه رودخانه‌ها صید شده و مورد تکثیر نیمه‌مصنوعی قرار می‌گیرند. مشخص گردیده که سلولهای اسپرماتوزوئید تحت تاثیر شوری، فشار اسمزی و ترکیبات یونی مختلف عملکرد متفاوتی از لحاظ تحرک، تراکم، بقا و کیفیت از خود نشان می‌دهند (Yamano et al., 1990; Cosson et al., 1999; Morisawa et al., 1983). اثر اسمولاریته (Kruger et al., 1984) و یونهای مختلف (Krasznai et al., 2000) قبلاً بر روی تحرک ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است (Alavi et al., 2004). از آنجا که خصوصیات آب منطقه صید مولدین با آب مناطق بالا دست یکسان نیست، بررسی تاثیر محیط خارجی بعنوان اولین عاملی که در القا و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ و میزان اسپرماتوکریت در ماهیان نقش دارد می‌تواند ارائه دهنده ایده‌های نو در تکثیر مصنوعی این گونه با ارزش شیلاتی دریای خزر باشد (Krasznai et al., 2000; Tekin et al., 2003; قاسمی، ۱۳۷۷).

در این مطالعه با تعیین میانگین تراکم سلولهای اسپرماتوزوئید در مولدین نر ماهی سفید در چهار رودخانه شیروود، خشک‌رود، سفیدرود و چلونود واقع در منطقه جنوب غرب دریای خزر و ارزیابی درصد و زمان تحرک این سلولها همراه با خصوصیات اسمولاریته آب در مناطق مصب دریا، دهانه رودخانه، محل تکثیر و بالادست این رودخانه‌ها، به بررسی اثر متقابل این عوامل و تعیین بهترین شرایط کیفی آب پرداخته شده است.

جهت انجام این مطالعه، طی اسفند ماه ۱۳۸۴ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۵، پس از بررسیهای اولیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب ۸ رودخانه منتهی به دریای خزر در استان گیلان (شیروود، خشک‌رود، پلرود، سفیدرود، خاله سرا، حویق، لمیر و چلونود)، بدلیل مشابهت عوامل بررسی شده در برخی از این رودخانه‌ها، در نهایت چهار رودخانه شیروود، خشک‌رود، سفیدرود و چلونود در جنوب غرب دریای خزر انتخاب شدند. فاصله محل تکثیر نیمه مصنوعی تا دریا برای رودخانه‌های شیروود ۷۰ متر، خشک‌رود ۲۰۰ متر، سفیدرود ۳۰ متر و چلونود ۳۰ متر بود (شکل ۱).

از هر رودخانه ۵ عدد مولد نر که با پره دستی یا سالیک صید شدند و بصورت تصادفی انتخاب شده و استحصال نمونه اسپرم با فشار ناحیه شکمی انجام گرفت. نمونه‌ها بدون تماس با آب، ادرار یا مدفوع به لوله‌های درب‌دار منتقل گردیدند (Billard, 1986). لوله‌های آزمایش حاوی اسپرم تا زمان بررسی درون محفظه حاوی آب و یخ (۱ تا ۲ درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. آب هر رودخانه در منطقه مورد نظر نیز نمونه‌برداری شده و کل نمونه‌ها با فاصله زمانی حداکثر ۳ ساعت، به انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری انتقال یافتند.

شاخص‌های طول کل (سانتیمتر) و وزن (گرم) مولدین قبل از اسپرم‌گیری در محل صید ثبت گردید. برای تعیین سن (سال) نیز از هر مولد نمونه فلس گرفته شد و تعیین سن در آزمایشگاه صورت گرفت. میزان اکسیژن محلول، pH و دمای آب توسط دستگاه مولتی متر پرتابل مدل WTW (ساخت آلمان) در محل اندازه‌گیری شد. اسمولاریته نمونه‌های آب و اسپرم نیز توسط دستگاه اسمومتر اتوماتیک مدل Roebing اندازه‌گیری شد.

برای سنجش اسپرماتوکریت از لوله‌های استاندارد میکروهماوکریت با قطر داخلی ۱/۱ تا ۲/۱ میلی‌متر (Rakitin et al., 1999; Aas et al., 1991; Tvedt et al., 2001) در rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه استفاده شده و هر نمونه دو بار مورد سنجش قرار گرفت (Perchec; Vladi et al., 2002). شوری آب نیز به کمک دستگاه شوری سنج چشمی (Atago, Japan) با دقت ۱% ± سنجش شد.



شکل ۱: محل تقریبی رودخانه‌ها و مناطق نمونه‌برداری  
(۱) مصب، (۲) دهانه رودخانه، (۳) محل تکثیر، (۴) بالادست

شاخص‌های زیستی مولدین شامل طول، وزن و سن آنها و میزان اسمولاریته اسپرم، درصد اسپرماتوکریت، تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید و زمان تحرک در آب ۴ منطقه (مصب دریا، دهانه رودخانه، مکان تکثیر نیمه مصنوعی در رودخانه و بالادست رودخانه) بصورت میانگین در رودخانه‌های مورد نظر در جدول ۲ نشان داده شده است.

بررسی مقایسه‌ای اسمولاریته اسپرم و تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید نیز نشان دهنده رابطه معنی‌دار بین این عوامل می‌باشد. ( $P < 0.01$ ). همچنین مشاهده می‌شود که با بالا رفتن اسمولاریته اسپرم، علاوه بر افزایش تعداد سلولهای اسپرماتوزوئید، زمان تحرک و درصد تحرک سلولهای اسپرماتوزوئید هم افزایش می‌یابد اما در هر رودخانه افزایش اسمولاریته آب منطقه سبب کاهش درصد اسپرماتوکریت می‌شود.

مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئیدهای استحصالی از مولدین رودخانه‌های مختلف در ۴ منطقه مورد بررسی از هر رودخانه در جدول شماره ۳ خلاصه شده است. بررسی مقایسه‌ای میانگین میزان تحرک به ثانیه و درصد تحرک اسپرم در مولدین نر ماهی سفید صید شده در چهار رودخانه (شیرود، خشک‌رود، سفیدرود و چلود) نشان داد که با افزایش زمان تحرک اسپرماتوزوئیدها، درصد تحرک هم افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ).

برای اندازه‌گیری میزان تحرک اسپرم ابتدا نمونه خالص با نسبت ۱:۲۰ (آب: اسپرم) با آب منطقه مورد نظر رقیق شده و به محض مخلوط نمودن آب (Billard & Cosson, 1992)، زمان حرکت با در نظر گرفتن سه نوع حرکت رو به جلو، دوار و زنبقی (تا زمان توقف ۹۵ درصد سلولها) محاسبه گردید (Liley *et al.*, 1983; Billard, 1983). شمارش مستقیم سلولهای اسپرماتوزوئید نیز توسط لام هماسیتومتر (Thoma) پس از رقیق سازی ۱:۶۰۰ (آب: اسپرم) انجام شد (برادران نویری، ۱۳۷۷; Koldras & Mejza, 1983; Rakitin *et al.*, 1999). تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه ANOVA و t-test با کمک نرم افزار SPSS انجام گرفت.

## نتایج

خصوصیات آب چهار منطقه مصب، دهانه رودخانه، محل تکثیر و بالادست رودخانه به تفکیک هر رودخانه در جدول ۱ ارائه شده است. بطوریکه مشاهده می‌شود حداکثر اسمولاریته اندازه‌گیری شده، در مصب رودخانه شیرود ( $270 \text{ mOsm/l}$ ) و حداقل آن در محل تکثیر و بالادست رودخانه چلود ( $\text{mOsm/l}$ ) سنجش شده است (جدول ۱).

جدول ۱: خصوصیات آب چهار منطقه مصب (۱)، دهانه رودخانه (۲)، محل تکثیر (۳) و بالادست (۴) رودخانه های مورد بررسی

شاخص	ایستگاهها				شیرود				خشکرو				سفیدرود				چلون			
	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
اسمولاریته (mOsm/l)	۲۷۰	۷	۵	۵	۲۳۸	۵	۵	۴	۴	۴	۵	۴	۱۴۳	۷	۶	۵	۱۴۰	۴	۲	۲
شوری (ppt)	۸/۸	۰/۳	۰/۱۵	۰/۱۲	۸/۴	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۴/۲	۰/۸	۰/۱۲	۰/۱۲	۳/۷	۰/۹	۰/۶	۰/۶
دما (درجه سانتیگراد)	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۴	۱۳/۵	۱۳/۵	۱۳/۵	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴
pH	۷/۳	۷/۷	۷/۷	۷/۷	۷/۵	۷/۷	۷/۷	۷/۵	۷/۲	۷/۲	۷/۲	۷/۲	۷/۴	۷/۴	۷/۴	۷/۴	۷/۵	۷/۲	۷/۲	۷/۲

جدول ۲: شاخص های زیستی مولدین و میزان اسپرماتوکریت مورد مطالعه در رودخانه های مختلف

ردیف	شاخص زیستی	میانگین به ازای هر رودخانه				
		رودخانه شیرود (n=5)	رودخانه خشکرو (n=5)	رودخانه سفیدرود (n=5)	رودخانه چلون (n=5)	میانگین ۲۰ مولد نر در ۴ رودخانه ± SD
۱	طول کل (سانتی متر)	۴۲/۲±۱/۶	۳۷/۲±۱/۵	۴۳/۳±۰/۸	۳۳/۸±۰/۵	۳۹/۱±۱/۱
۲	وزن کل (گرم)	۶۶۸±۵۸	۴۸۰±۳۰	۷۳۶±۵۶	۲۸۲±۹۲	۵۴۱±۴۵/۲
۳	سن (سال)	۳/۷±۰/۲	۳/۵±۰/۱	۳/۷±۰/۲	۳±۰/۱	۳/۴±۰/۱
۴	اسمولاریته اسپرم مولدین (mOsm/l)	۲۷۴±۷/۸	۲۵۸/۸±۴/۶	۲۹۵±۲/۷	۲۵۵/۶±۱/۹	۲۷۰/۸±۴/۲
۵	میانگین درصد اسپرماتوکریت	۵۰/۴±۵	۳۹/۸±۳/۲	۴۹/۲±۲/۷	۵۱/۱±۳/۸	۴۷/۶±۳/۶
۶	تراکم سلولهای اسپرماتوزوئید (x 10 <sup>6</sup> /ml)	۲۵/۱۵۶۸±۲/۷	۱۹/۵۲۶۴±۰/۶	۲۹/۰۷۸۴±۲/۱	۲۳/۹۷۱۸±۳/۹	۲۳/۴±۲/۷
۷	میانگین درصد اسپرماتوکریت با آب مصب (۱:۱)	۱۷/۳±۵/۶	۱۱/۸±۵/۶	۱۹±۳	۱۹/۶±۷/۲	۱۶/۹±۵/۳
۸	میانگین درصد اسپرماتوکریت با آب دهانه رودخانه (۱:۱)	۲۵±۵	۲۸/۲±۷/۸	۲۶/۴±۴/۲	۳۷/۱۶۲/۶	۲۹/۲±۸/۴
۹	میانگین درصد اسپرماتوکریت با آب محل تکثیر (۱:۱)	۲۷/۸±۴/۴	۲۷/۴±۱۰/۶	۳۰/۸±۲/۶	۳۹/۳±۱۶/۲	۳۱/۳±۸/۴
۱۰	میانگین درصد اسپرماتوکریت با آب بالادست رودخانه (۱:۱)	۲۸±۴	۲۸±۱۱	۳۵/۶±۴/۳	۳۷/۶±۱۷/۸	۳۱/۷±۸/۳
۱۱	زمان تحرک سلولهای اسپرماتوزوئید (به ثانیه)	۳۷/۲±۴/۲	۴۱/۴±۳/۹	۵۲/۸±۲/۱	۴۷/۸±۳/۴	۴۲/۸±۳/۴
۱۲	درصد تحرک سلولهای اسپرماتوزوئید	۹۶±۹/۱	۵۸/۲±۶/۸	۷۹±۹/۸	۶۸/۱±۵/۹	۶۲/۳±۵/۳

جدول ۳: درصد و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوای مولدین ماهی سفید به تفکیک محل نمونه برداری و رودخانه

محل نمونه برداری	رودخانه		شیرود		خشکرو		سفیدرود		چلون	
	میزان	زمان	میزان	زمان	میزان	زمان	میزان	زمان	میزان	زمان
مص	۴۶±۳/۸	۹/۷۳±۳	۱۳±۳/۵	۸/۶±۲/۹	۷۳±۳/۱	۱۵/۳±۲	۶۰±۴/۳	۱۳/۳±۳/۷		
دهانه رودخانه	۴۸±۳	۱۲/۵±۴/۳	۷۲±۷/۱	۱۶±۴/۷	۷۴±۴/۲	۱۷/۵±۱/۹	۷۰±۶/۱	۱۵±۳/۴		
محل تکثیر	۵۰±۵/۲	۱۳/۶±۴/۸	۷۲±۷/۵	۱۷/۲±۴/۸	۷۴±۵/۸	۱۸/۶±۲/۲	۷۰/۴±۷/۵	۱۷/۲±۳/۱		
بالادست	۵۲±۴/۴	۱۳/۸±۲/۷	۷۶±۹/۲	۱۹/۳±۵/۱	۷۵±۶/۱	۱۹/۲±۲/۴	۷۲±۵/۷	۱۸/۴±۳/۴		

## بحث

با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی رودخانه‌های شیرود، خشکرو، سفیدرود و چلون، مشخص گردید که اسمولاریته آب در کلیه رودخانه‌ها در منطقه مصب بیشترین مقدار بوده و حداقل آن نیز در بالادست این رودخانه‌ها دیده می‌شود. در این تحقیق بالاترین درصد و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئیدها نیز در بالادست هر چهار رودخانه مشاهده شده است. تاثیر مشابهی از افزایش میزان اسمولاریته بر درصد فعالیت و سرعت حرکت اسپرم در ماهی *Micropogonias undulatus* نیز گزارش شده است (Detweiler & Thomas, 1998). در مطالعه دیگری، اثر نامطلوب انواع پسابها که بصورت افزایش اسمولاریته قابل سنجش هستند، بر روی گنادها، میزان ترشح هورمونهای جنسی، مدت زمان رسیدن به بلوغ جنسی و شاخص گنادوسوماتیک (GSI) در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) رودخانه‌های انگلستان گزارش شده است (Liney et al., 2005).

با بررسی درصد تحرک و مدت زمان تحرک سلولهای اسپرماتوزوئید، مقادیر میانگین درصد تحرک کل نمونه‌های مورد بررسی معادل ۶۲/۳±۵/۴ درصد و برای کل مدت زمان تحرک ۴۴/۸±۳/۴ ثانیه بود که در مقایسه با مدت ۳۰ تا ۴۰ ثانیه‌ای زمان تحرک اسپرم ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) (Billard et al., 1995b) بیشتر بوده اما نسبت به زمان ۳۰ تا ۱۲۰ ثانیه‌ای اسپرم قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) (Terner, 1986)، ۹۰ تا ۱۲۰ ثانیه‌ای اردک ماهی (*Esox lucius*) (Koldras & Moczarski, 1983) و زمان تحرک بیش از ۲۴۰ ثانیه در ماهیان خاویاری (Linhart et al., 1995) کمتر است.

طول مدت زمان و درصد تحرک سلولهای اسپرم مولدین ماهی سفید در رودخانه‌های مورد بررسی بترتیب از سفیدرود تا

شیرود کاهش می‌یابد: شیرود > خشکرو > چلون > سفیدرود.

با توجه به افزایش میانگین اسمولاریته بترتیب ذیل در این رودخانه‌ها:

شیرود (۷۱/۷ mOsm/l) < خشکرو (۶۲/۵ mOsm/l) < سفیدرود (۴۰/۲ mOsm/l) < چلون (۳۶/۷ mOsm/l)

می‌توان پایین بودن مدت زمان تحرک اسپرم مولدین ماهی سفید در رودخانه شیرود نسبت به سایر رودخانه‌ها را به نزدیکی به مصب یا ورود پسابهای شهری نسبت داد (Liney et al., 2005). کاهش درصد تحرک اسپرمها در ماهی کپور معمولی در اسمولاریته بالاتر از ۱۵۰ mOsm/kg از ۸۰ درصد به ۱۰ درصد نیز مشاهده شده است (Billard et al., 1995a). همچنین کاهش شدید درصد تحرک و مدت زمان تحرک در اسپرمهای تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در اسمولاریته بالاتر از ۹۰ mOsm/kg گزارش شده است (Atavi et al., 2004).

از طرفی با مقایسه نتایج فوق با تئوری "رقابت اسپرمی" بر این اساس که مولدین نری که تحت شرایط نامطلوب تکثیر می‌کنند، در مقایسه با مولدینی که در شرایط مطلوب تکثیر می‌کنند، اسپرمهایی با سرعت حرکت بیشتر و در نتیجه مدت زمان تحرک کمتر تولید کرده (Kortet et al., 2004) و اندازه گنادها (GSI) در آنها بزرگتر است (Stockley et al., 1997)، می‌توان نتیجه گرفت که مولدین تکثیری در رودخانه شیرود نسبت به سایر رودخانه‌ها، تحت فشار شرایط نامطلوب بیشتری می‌باشند.

بررسی میانگین درصد تحرک و مدت زمان تحرک سلولهای اسپرماتوزوئید در چهار رودخانه نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرمها در این ماهی وجود داشته است ( $P < 0/05$ ) و هر چه درصد تحرک بیشتر باشد،

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

Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Karami, M.; Abdolhay, H. and Mojazi Amiri, B. , 2004. Chemical composition and osmolarity of seminal fluid of *Asipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility. *Aquacult. Res.* Vol. 35, pp.1238-1243.

Billard, R. , 1983. Effects of ceolomic and seminal fluids and various saline diluents on the fertilizing ability of spermatozoa in the Rainbow trout, *salmo gairdneri*. *Journal of Reprod. Fert.* Vol. 68, pp.77-84.

Billard, R. , 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species *Reprod. Nutr. Develop.* Vol. 2, pp.877-920.

Billard, R. and Cosson, M.P. , 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. *Journal of EXP. Zool.* Vol. 261, pp.122-131.

Billard, R.; Cosson, J.; Crim, L.W. and Suquet, M. , 1995a. Sperm physiology and quality. *In: Brood stock. Management and egg and larval quality.* N.R. Bromage and R. J. Roberts, (Eds). Blackwell Science. pp.25-52.

Billard, R.; Cosson, J.; Percec, G. and Linhart, O. , 1995b. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*. Vol.124, pp.95-112.

Cosson, J.; Billard, R.; Cibert, C.; Dreanno, C. and Suquet, M. , 1999. Ionic factor regulating the motility of fish sperm. *In: Ganong, C. The male gamete: From basic to clinical applications*, Vienna, Austria, Cache Rive Press, pp.161-186.

Detweiler, C. and Thomas, P. , 1998. Role of ions and channels in the regulation of Atlantic croaker sperm motility. *Journal of Exp. Zool.* Vol. 281, No. 2, pp.139-148.

Jamieson, B.G.M. , 1991. Fish evolution and systematics: Evidence for spermatozoa. Cambridge Univ. Press. London, UK. pp.232-295.

Koldras, M. and Mejza, T. , 1983. Effects of quantity and quality of carp sperm on egg fertilization success. *Acta Ichthyol. Piscat.* Vol.13, No. 2, pp.83-92.

مدت زمان تحرک هم بیشتر خواهد بود (جدول ۳). این موضوع قبلاً در برخی کپور ماهیان (Cyprinidae) تایید شده (Linhart *et al.*, 2000) و در مورد ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) در آبهای فنلاند نیز یک همبستگی مثبت بین مدت زمان تحرک اسپرم و سرعت حرکت آنها گزارش شده است (Kortet *et al.*, 2004). اما Tvedt و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی روی ماهی هالیپوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) چنین رابطه معنی داری را پیدا نکردند.

در این تحقیق مشخص شد که با کم شدن اسمولاریته آب از مصب تا منطقه بالادست رودخانه، میزان اسپرماتوکریت هم افزایش می یابد بنحوی که اسپرم مخلوط با آب منطقه بالادست بالاترین درصد اسپرماتوکریت را در هر رودخانه داراست. قرار گرفتن اسپرمها در آب با اسمولاریته بیشتر، سبب آغاز تحرک مکانیسمهای تنظیم کننده حجم سلولی شده (Lang *et al.*, 1998) و این کاهش حجم سلولی با توجه به ثابت بودن تعداد اسپرمها در واحد حجم مایع اسپرمی (تراکم)، اثر کاهشی خود را بر اسپرماتوکریت نشان می دهد (Jamieson, 1991). بنابراین توصیه می شود ایجاد و نصب شیل در هر رودخانه در منطقه بالادست یعنی فاصله حداقل ۵۰۰ متری تا دهانه رودخانه ایجاد شود و از آب این محل جهت لقاح استفاده شود. همچنین با توجه به اینکه اثر القا یا بازدارندگی یونهای Na, Ca, K و Cl بر تحرک اسپرم ماهیان مختلف به اثبات رسیده است (Detweiler *et al.*, 1998)، بنظر می رسد بررسی جامع اثر اسمولاریته بر تحرک اسپرم مولدین، سنجش نوع و غلظت یونهای موجود در آب هر منطقه بطور همزمان ضروری بوده و افزایش راندمان تکثیر مصنوعی در بازسازی ذخایر گونه اقتصادی ماهی سفید را امکانپذیر می نماید.

## تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس صمد درویشی، ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری، رشت و کلیه همکاران گرامی ایشان به جهت فراهم ساختن شرایط لازم نمونه برداری در رودخانه های مورد نظر، صمیمانه قدردانی می گردد.

## منابع

برادران نویری، ش. ، ۱۳۷۷. انجماد اسپرم ماهی کپور. پایان نامه. کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دریایی و اقیانوس شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز. ۱۰۴ صفحه.

شریعتی، آ. ، ۱۳۶۷. شناسایی انواع ماهیان تجاری دریای خزر و بولوژی آنها. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۸۸ صفحه.

قاسمی، ج. ، ۱۳۷۷. تعیین روش انجماد و نگهداری اسپرم ماهی سفید دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه مگرگان، ۱۹۴ صفحه.

کازانچف، ا. ان. ، ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوضه آبریز آن. ترجمه: ابوالقاسم شریعتی، انتشارات شرکت سهامی شیلات، ۷۶ صفحه.

- Koldras, M. and Moczarski, M. , 1983. Properties of Pike, *Esox lusius* L. milt and its cryopreservation. Pol. Arch. Hydrobiol. Vol. 30, No. 1, pp.69-78.
- Kortet, R.; Vainikka, A.; Rantala, A.J. and Taskinen, J. , 2004. Sperm quality, secondary sexual characters and parasitism in roach (*Rutilus rutilus*). Biol. J. Linn. Soc. Vol. 81, pp.111-117.
- Krasznai, Z.; Marian, T.; Izumi, H.; Damjanovich, S.; Balkay, L.; Tron, L. and Morisawa, M. , 2000. Membrane hyperpolarization removes inactivation of  $Ca^{2+}$  channels leading to  $Ca^{2+}$  influx and initiation of sperm motility in the common carp. Biophysics. Vol. 97, pp.2052-2067.
- Kruger, J.C.; Smith, G.L.; Van Vuren, J.H. and Ferreira, J.T. , 1984. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* and *Oreochromis mossambicus*. Journal of Fish Biol. Vol. 24, pp.263-272.
- Lang, F.; Busch, G.L.; Ritter, M.; Volk, H.; Waldegger, S.; Gulbins, E. and Haussinger, D., 1998. Functional significance of cell volume regulatory mechanism. Physiolog. Rev. Vol. 78, No. 1, pp.247-306.
- Liley, N.R.; Tamkee, P.; Tsai, R. and Hoysak, P.T. , 2002. Fertilization dynamics in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect of male social experience and sperm concentration and motility on *in vitro* Fertilization. Can. J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 59, pp.111-152.
- Liney, K.E.; Jobling, S.; Sheavs, J.A.; Simpson, P. and Tyler, C.R. , 2005. Assessing the sensitivity of different life stages for sexual disruption in Roach (*Rutilus rutilus*) exposed to effluents from wastewater treatment works. Environ. Health Prospect. Vol. 113, No. 10, pp.1299-1307.
- Linhart, O.; Mims, S.D. and Shelton, W.L. , 1995. Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon and paddlefish. Journal of Fish Biol. Vol. 47, pp.902-909.
- Linhart, O.; Rodina, M. and Cosson, J. , 2000. Cryopreservation of sperm in common carp, *Cyprinus carpio*, sperm motility and hatchery success of embryos. Cryobiology. Vol. 41, pp.128-132.
- Morisawa, M.; Suzuki, K.; Shimizu, H.; Morisawa, S. and Yasuda, K. , 1983. Effects of osmolarity and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. Journal of Exp. Biol. Vol. 107, pp.95-103.
- Percec, G.; Gatti, J.L.; Cosson, J.; Jeulin, C.; Fierville, F. and Billard, R. , 1997. Effects of extra cellular environment on the osmotic signal transduction involved in activation of motility of Carp spermatozoa. Journal of Reprod. Ferti. Vol. 110, pp.315-327.
- Rakitin, A.; Ferguson, M. and Trippel, E. , 1999. Spermatozoa density in Atlantic cod (*Godus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. Aquacultur. Vol. 170, pp.349-358.
- Stockley, P.; Gages, M.J.G.; Parker, G.A. and Moller, A.P. , 1997. Sperm competition in fishes: The evolution of testis size and ejaculate characters. Am. Natural. Vol. 149, pp.933-954.
- Tekin, N.; Secer, S.; Akcay, E.; Bozkurt, Y. and Kayam, S. , 2003. The effect of age on spermatological properties in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk. J. Vet. Anisci. Vol. 27, pp.37-44.
- Terner, C. , 1986. Evaluation of salmonid sperm motility for cryopreservation. Progres. Fish Cult. Vol. 48, pp.230-232.
- Tvedt, H.B.; Benfey, T.J.; Martion-Robichaud, D.J. and Power, J. , 2001. The relationship between spermatozoa density, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture. Vol. 194, pp.191-200.
- Vladi, T.V.; Afzelius, B.A. and Bronnikov, G.E. , 2002. Sperm quality as affected through morphology in salmon alternative life histories. Bio. Reprod. Vol. 66, pp.98-205.
- Yamano, K.; Kasahara, N.; Yamaha, E. and Yamazaki, F. , 1990. Cryopreservation of masu salmon sperm by the pellet method. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. Vol. 41, No. 4, pp.149-154.

**Water osmolarity effect on spermatocrit and its relations to spermatozoan count in male breeders of *Rutilus frisii kutum* in the south-western of the Caspian Sea**

**Bahmani M.<sup>(1)\*</sup>; Pirasteh S.<sup>(2)</sup>; Baradaran Noveiri S.<sup>(3)</sup>; Kazemi R.<sup>(4)</sup>  
and Kuchinin P.<sup>(5)</sup>**

mahmoubahmani@yahoo.com

1,3,4 - International Sturgeon Research Institute, IRAN, Rasht, P.O.Box. 41635-3464

2,5 - Research and Science Center, Islamic Azad University, Ahwaz

Received: September 2006

Accepted: July 2007

**Keywords:** Osmolarity, Spermatocrit, Spermatozoa, *Rutilus frisii kutum*, Caspian Sea

**Abstract**

The relationship between morphometric characteristics, motile spermatozoan percentage and sperm motility duration among male breeders of *Rutilus frisii kutum* in four different rivers (Shirud, Khoshkrud, Sefidrud and Chalevand) of the southwestern part of the Caspian Sea and water osmolarity, pH and temperature in four region of each river (estuary, river entrance to sea, artificial reproduction site and upstream) were considered. The mean motility duration time was  $37.2 \pm 4.2$ ,  $41.4 \pm 3.9$ ,  $52.9 \pm 2.1$  and  $47.8 \pm 3.4$  in the four rivers respectively. Also, the percentage of motile cells was found to be  $49 \pm 4.1$ ,  $58.2 \pm 6.8$ ,  $74 \pm 4.8$  and  $68.1 \pm 5.9$  % for the rivers respectively. The mean osmolarity, temperature and pH were  $71.7 \pm 66$ ,  $62.5 \pm 85.5$ ,  $40.2 \pm 34.2$ ,  $36.7 \pm 34.4$  mOsm/l, 14, 15,  $13.6 \pm 0.2$ ,  $14^\circ\text{C}$  and  $7.6 \pm 0.1$ ,  $7.2 \pm 0.1$ ,  $7.4 \pm 0.1$  and  $7.2 \pm 0.1$  respectively. Our findings showed that there is a positive relationship between motile spermatozoan percentage and duration of motility. With the decrease in river water osmolarity from estuaries up to the river upstream, the motile spermatozoan percentage and their duration increased. According to anadromous behaviour of the fish, with increasing distance from artificial breeding sites toward river upstream, quantity of spermatozoa and spermatozoan activity increased enhancing success in fertilization attempts.

\* Corresponding author