magiran.com

مطالعه برخی از شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک و تاثیر آن بر تحرک اسپرماتوزوآ ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris* Lovetzky, 1828) در حوضه جنوب شرقی دریای خزر

فردین شالویی* و محمدرضا ایمانپور

shaluei@yahoo.com

دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،صندوق پستی: ۳۸۶

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۷

چکیده

برخی از شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک شامل ترکیبات یونی، آلی و روابط آنها با اسمولاریته در ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در حوضه جنوب شرقی دریای خزر مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین تحرک اسپرماتوزوآی ماهی شیپ در درصدهای مختلف (۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) مایع سلومیک (۶ نمونه بصورت مخلوط) بررسی شد. مایع سلومیک حاوی ۳۲/۱۲±۱۰۴/۷۸ میلی‌مول در لیتر سدیم، ۱/۰۸±۳/۴۳ میلی‌مول در لیتر پتاسیم، ۰/۸۷±۳/۲۶ میلیگرم در دسی‌لیترکلسیم، ۱/۰۶±۷/۳۲ میلی‌اکی‌والان در لیتر منیزیم، ۰/۲۰۷±۰/۶۰۶ میلیگرم در دسی‌لیتر پروتئین، ۱۳/۰۲±۲۴/۸۸ میلیگرم در دسی لیتر کلسترول و ۱۴/۴۹± ۶۰/۳۵ میلیگرم در دسی‌لیتر گلوکز بود. دامنه pH مایع سلومیک از ۷/۲۹ تا ۸/۱۰ و دامنه اسمولالیته از ۱۸۵ تا ۲۱۲ میلی‌اسمول بر کیلوگرم بود. همچنین رابطه معنی‌دار مثبتی بین سدیم با اسمولاریته مایع سلومیک ($r = ۰/۸۳۵$ و $P<۰/۰۱$) وجود داشت. زمانیکه منی ماهی شیپ در مایع سلومیک ۵۰ و ۱۰۰ درصد رقیق شد، اسپرماتوزوآها بی‌حرکت باقی ماندند. طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک در نسبتهای بیشتر از ۵ درصد مایع سلومیک بصورت چشمگیری کاهش یافت. در کل اسپرماتوزوآ ماهی شیپ در مایع سلومیک به جهت ترکیبات مایع سلومیک از جمله غلظتهای بالای یون پتاسیم و فشار اسمزی بی‌حرکت باقی می‌ماند.

لغات کلیدی: ماهی شیپ، مایع سلومیک، اسپرماتوزوآ

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris* Lovestky 1828) در دریای خزر، سیاه، آزوف و آرال زندگی می‌کند و در رودخانه دانوب نیز شناسایی شده است. این ماهی جزو ماهیان اقتصادی می‌باشد که ذخایر آن در حال حاضر زیاد نیست و کمترین تعداد را در بین همه گونه‌های اقتصادی ماهیان مهاجر خاویاری دارد (Holcik, 1989). اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت و منابع طبیعی IUCN (International Union for Conservation of Natural) اعلام کرد که تمام جمعیتهای ماهی شیپ در دریای آرال از بین رفته و جمعیتهای این گونه در دریای سیاه، رودخانه دانوب و دریای خزر در معرض خطر انقراض می‌باشند (Vecsei *et al.*, 2002). به دلیل اهمیت ماهیان خاویاری در حال حاضر ۷۵ درصد میزان صید ماهیان خاویاری جهان حاصل از اقدامات تکثیر مصنوعی این گونه‌هاست (Doroshov & Lutes, 1988). طی بلوغ تخمدانها، سلولهای پوششی حفره تخمدان بطور پیش رونده‌ای بزرگ می‌شوند و با فعالیت ترشحی خود مایع سلومیک را ایجاد می‌کنند (Lahnsteiner *et al.*, 1997). مایع سلومیک تخمهای بالغ را در مجرای تناسلی احاطه می‌کند و باعث نگهداری تخمک در حفره تخمدان می‌شود (Lam *et al.*, 1978). اگر چه اثر مایع سلومیک روی حرکت اسپرماتوزوآ در ماهیان شناخته شده است اما مطالعات اندکی روی چگونگی تاثیر کمی مایع سلومیک روی حرکت اسپرماتوزوآ صورت گرفته است (Turner & Montgomerie, 2002). مایع سلومیک در ماهیان خاویاری عامل بازدارنده تحرک اسپرماتوزوآ می‌باشد و به همین دلیل در هنگام لقاح مایع سلومیک را از تخمکها جدا می‌کنند (Dettlaff *et al.*, 1993). طبق مطالعه انجام شده در تاسماهی خلیج مکزیک (*Acipenser oxyrinchus*) و تاسماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) اضافه کردن مایع سلومیک باعث عدم تحرک اسپرماتوزوآ می‌شود (Chulhong & Chapman, 2005). مایع سلومیک ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) روی تحرک اسپرماتوزوآ این گونه اثر بازدارنده داشت (یگانه و همکاران، ۱۳۸۴). Billard درسال ۱۹۸۳، از مایع سلومیک با غلظت ۱ درصد و ۰/۱ درصد بر روی تخمکهای قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده نمود که نتیجه حاصل افزایش زمان حرکت و در نتیجه باروری تخمک بود. اسپرماتوزوآی ماهی اسکولپین (*Alcichthys alcicornis*) بیشتر از ۱ ساعت در مایع سلومیک حرکت داشت که نسبت به محلولهای دیگر بسیار بیشتر بود (Koya *et al.*, 1993). Turner و Montgomerie در سال ۲۰۰۲، اثر مایع سلومیک را روی حرکت اسپرماتوزوآ ماهی چار قطب شمال (*Salvelinus alpinus*) مورد بررسی قرار دادند. طبق این مطالعه مایع سلومیک تاثیر معنی‌داری روی طول دوره، درصد و سرعت حرکت در اسپرماتوزوآ این گونه داشت. Elofsson و همکاران در سال ۲۰۰۳، تاثیر برخی از محلولهای نمکی همراه با مایع سلومیک را روی حرکت اسپرماتوزوآ در گونه پانزده خاره (*Spinachia spinachia*) مورد بررسی قرار دادند. در این گونه مایع سلومیک همراه محلولهای نمکی بررسی شده تاثیری روی حرکت بر اسپرماتوزوآ نداشت. با این حال مکانیسم عمل مایع سلومیک روی حرکت اسپرماتوزوآ بصورت کامل مشخص نشده است (Morisawa, 1994). با توجه به این که اثر بازدارندگی مایع سلومیک روی حرکت اسپرماتوزوآ ماهیان خاویاری ثابت شده است اما مطالعه‌ای روی تاثیر کمی مایع سلومیک بر پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ صورت نگرفته است. اطلاع از ترکیبات سازنده مایع سلومیک می‌تواند در تولید محیطهای مصنوعی برای نگهداری تخمک مفید باشد. در این تحقیق علاوه بر اندازه‌گیری ترکیبات آلی (کلسترول، گلوکز و پروتئین)، یونی (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و فشار اسمزی مایع سلومیک در ماهی شیپ، پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در درصدهای مختلف مایع سلومیک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه منی از مولدین نر با میانگین طول ۱۱۳±۱۲/۱۲ سانتیمتر و میانگین وزن ۱۶/۵۶±۰/۹۰ کیلوگرم و ۱۰ نمونه مایع سلومیک از مولدین ماده با میانگین طول کل ۱۸۸/۲۱±۲۷/۲۵ سانتیمتر و میانگین وزن ۷۹/۴۲±۳۶/۶۴ کیلوگرم در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی طی ماههای اسفند ۱۳۸۴ تا اردیبهشت ۱۳۸۵ جمع‌آوری شد. نمونه‌های مایع سلومیک و منی ماهی شیپ در سرنگهای ۵ میلی‌لیتری و بوسیله فلاسک محتوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. نمونه‌های منی و ۶ نمونه از مایع سلومیک به نسبت یکسان با هم مخلوط شدند و از هر کدام یک نمونه مخلوط (Pooled) ایجاد شد (Elofsson ;Toth *et al.*, 1997 *et al.*, 2003) برای بررسی تاثیر مایع سلومیک روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ، منی در نسبتهای ۵ ، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد با مایع سلومیک شیپ مخلوط گردید. برای رقیق‌سازی مایع سلومیک از آب مقطر استفاده شد. بعد از شروع حرکت، پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ بلافاصله (با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه) تا زمانیکه ۱۰۰ درصد اسپرماتوزوآها غیرمتحرک شدند توسط استرئومیکروسکوپ (دوربین متصل به میکروسکوپ) ثبت و روی صفحه مانیتور نشان داده شد. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار

magiran.com

Adobe premeier هر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ ثانیه بعد از فعال شدن به ۳۰ فرم (اسلاید) تبدیل شده و بصورت تصادفی ۴ فرم (مثلاً فرم ۱، ۴، ۷ و ۱۰) انتخاب شد. موقعیت ۱۰ اسپرماتوزوآ بصورت تصادفی در فرمهای گرفته شده، انتخاب و با مقایسه فرمهای بعدی میزان درصد اسپرماتوزوآ متحرک محاسبه شد. برای مدت زمان حرکت اسپرماتوزوآها، زمان از لحظه فعال شدن تا زمانیکه همه آنها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری گردید (Turner & Montgomerie, 2002).

برای مطالعه شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک (۱۰ نمونه) و بررسی رابطه رگرسیونی بین شاخصهای بیوشیمیایی با اسمولاریته مایع سلومیک، نمونه‌ها درون ویالهای ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (Sigma 1-13 England) شدند. بعد از سانتریفیوژ، مایع سلومیک صاف شده به ویال‌های جدید منتقل شده و pH آنها بوسیله pH متر (pH-462 ,Iran) اندازه‌گیری گردید. سپس ویالها در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی مایع سلومیک در مرحله بعدی نگهداری شدند. یونهای سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتر (Jenway pfp 7, England) و کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین تام بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (S2000-UV/IS, England) و بترتیب در طول موجهای ۵۷۵، ۵۲۰، ۵۴۶، ۵۴۶ و ۵۴۰ نانومتر با استفاده از کیتهای کمی پارامترهای بیوشیمیایی سرم یا پلاسما (شرکت پارس آزمون) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اندازه‌گیری شدند. بعد از کالیبره‌کردن دستگاه اسمومتر (Roebiing, Germany) حداقل ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها در ویالهای ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و اسمولاریته نمونه‌ها (در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت) اندازه‌گیری شد (Alavi *et al.*, 2004). کلیه آزمایشات در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۲ سانتیگراد) صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با سه تکرار برای هر تیمار توسط آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) با کمک آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین ارتباط بین شاخصهای بیوشیمیایی با اسمولاریته مایع سلومیک (۱۰ نمونه) توسط رگرسیون و با استفاده از نرم افزار SPSS بررسی شد. داده‌های بدست آمده برای هر تیمار با سه تکرار بعد از تست توزیع نرمال (آزمون کولموگروف – اسمیرنوف) توسط آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) با کمک آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۲ تجزیه و تحلیل شدند. همچنین ارتباط بین شاخصهای بیوشیمیایی با اسمولاریته مایع سلومیک (۱۰ نمونه) توسط رگرسیون و با استفاده از نرم افزار SPSS بررسی شد.

نتایج

اثر تیمارهای مایع سلومیک روی طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآ متحرک در ماهی شیپ معنی‌دار بود ($P<0/05$) به گونه‌ای که بیشترین طول دوره حرکتی در تیمار شاهد یا بدون مایع سلومیک و کمترین طول دوره حرکتی و پایین‌ترین درصد اسپرم متحرک در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ مایع سلومیک مشاهده شد (جدول ۱).

جدول۱: مقایسه میانگین طول دوره حرکت و درصد اسپرم متحرک در درصدهای مختلف مایع سلومیک (میانگین±انحراف معیار)

درصد اسپرم متحرک	طول دوره حرکت (ثانیه)	درصدهای مختلف مایع سلومیک
٦٤/٦ ±٤/١^{a}	١٣١/٦±٨/٥^{a}	بدون مایع سلومیک
٥٩ ± ٣/٦^{a}	١٠١/٦ ±١١/٩^{b}	٥
٤٥/٦±٤/٥^{b}	٨٣/٦±٨/١^{c}	١٠
٣١ ±٦/٥^{c}	٣٥/٣± ١٠^{d}	٢٥
٠^{d}	٠^{e}	٥٠
٠^{d}	٠^{e}	١٠٠

* مقادیر در یک ستون که با برچسب‌های مختلف نشان داده شده‌اند دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P<0/05$).

magiran.com

در جدول ۲ مقادیر شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک ماهی شیپ (۱۰ نمونه) و مایع سلومیک مخلوط که تاثیر آن در درصدهای مختلف روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ بررسی شد، نشان داده شده است. میزان pH مایع سلومیک مخلوط ۷/۹ و دامنه pH مایع سلومیک از ۷/۲۹ تا ۸/۱۰ بود. از بین شاخصهای بررسی شده مایع سلومیک تنها یون سدیم رابطه معنی‌داری با فشار اسمزی داشت (r =۰/۸۳۵ و P<۰/۰۱).

بحث

غشاء سلولی اسپرماتوزوآ بعد از آزاد شدن در محیطهای طبیعی یا بعد از رقیق شدن در رقیق‌کننده‌های مصنوعی با غلظتهای مشخصی از یونها (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و ...)، اسمولاریته و pH دپلاریزه می‌شود که این پارامترها روی پتانسیل حرکتی تاژک اسپرماتوزوآ تاثیر می‌گذارد و می‌توانند حرکت اسپرماتوزوآ را تحریک کنند (Alavi & Cosson, 2006). مایعی که همراه تخمها خارج می‌شود یا در مجرای تناسلی ماده وجود دارد، تاثیر متفاوتی روی اسپرماتوزوآ در گونه‌های مختلف جانوری دارد (Elofsson *et al.*, 2003). در پستانداران مایع تخمدانی یا فولیکولی اثرات متفاوتی روی اسپرماتوزوآ نظیر جذب اسپرماتوزوآ (Oliveira *et al.*, 1999)، شتاب دادن به کاپاسیتاسیون (فرآیند تکامل اسپرماتوزوآ که در دستگاه تولید مثلی جنس ماده صورت می‌گیرد) (Ravnik *et al.*, 1990)، تحریک فعالیت آکروزوم (Suarez *et al.*, 1986)، افزایش سرعت اسپرماتوزوآ (Oliveira *et al.*, 1999) و افزایش طول عمر اسپرماتوزوآ(Zhu *et al.*, 1994) دارد. در ماهیان، مایع سلومیک تاثیر متفاوتی روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ دارد.

در قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* (Yousida & Nomura, 1972 ;Billard, 1983)، ماهی چار قطب شمال *Salvelinus alpinus* (Turner & Montgomerie, 2002)، گرگ ماهی *Anarhichas minor* (Kime & Tveiten, 2002)، ماهی اسکولپین *Alcichthys alcicornis* (Koya *et al.*, 1993) و گیلبرت ایرلندی *Hemilepidotus gilbert* (Hayakava & Munehara, 1998) مایع سلومیک باعث افزایش تحرک اسپرماتوزوآ می‌شود. در شاه ماهی اقیانوس آرام *Clupea pallasi* مایع سلومیک حاوی پلی پپتیدی (۱۰۵ کیلو دالتون) می‌باشد که باعث شروع حرکت اسپرماتوزوآ می‌شود به همین دلیل Sperm Motility Inducing Factor (SMIF) نامیده می‌شود (Pillai *et al.*, 1993) اما در تاسماهیان مایع سلومیک اثر بازدارندگی بر حرکت اسپرماتوزوآ دارد (Chulhong & Chapman, 2005; Dettlaff *et al*, 1993). همانطور که در جدول ۱ مشخص است مایع سلومیک تاثیر بازدارنده روی پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی شیپ داشت. مهمترین عامل بازدارنده در تحرک اسپرماتوزوآ تاسماهیان غلظت یون پتاسیم می‌باشد (Gallis *et al.*, 1991; Billard, 2000 ;Alavi & Cosson, 2005).

جدول ۲: آماره توصیفی شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک (نمونه‌های گروه اول ۱۰ نمونه و گروه دوم ٦ نمونه)

گروه اول (۱۰ نمونه)				گروه دوم (٦ نمونه به صورت مخلوط)		
متغیرها	حداقل	حداکثر	میانگین±انحراف معیار	حداقل	حداکثر	میانگین±انحراف معیار
یون سدیم (میلی‌مول در لیتر)	٦۰/۵۸	۱۵۰/٦۷	۱۰٤/۷۸±۳۲/۱۲	۷۵/۰۱	۱۵۰/٦۷	۱۰٤/٤ ±۲۹
یون پتاسیم (میلی‌مول در لیتر)	۲/۱۰	٤/۸۲	۳/٤۳ ±۱/۰۸	۲/۱٤	٤/۷۹	۳/۸±۰/۹
یون کلسیم (میلیگرم در دسی‌لیتر)	۱/٦۷	٤/۳۱	۳/۲٦±۰/۸۷	۱/۵۵	٤/۱۱	۳/٤۲±۰/۹
یون منیزیم (میلی‌اکی والان در لیتر)	٦/۰٦	۹/۱٤	۷/۳۲±۱/۰٦	٦/۲٦	۹/۳۳	۷/٤±۱/۱
پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر)	۰/۲۰	۰/۸۹	۰/٦۰± ۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۹۱	۰/٦۱ ±۰/۲۳
کلسترول (میلیگرم در دسی‌لیتر)	۵/۸۳	۵۰/۲۳	۲٤/۸۸±۱۳/۰۲	۵/۱٦	۵۲/۲۰	۲٤/۹ ±۱٦/۵
گلوکز (میلیگرم در دسی‌لیتر	۳۲/۷۵	۷۷	٦۰/۳۵±۱٤/٤۹	۳۳/٦۵	۷۹/۲۱	٦۱/٦ ±۱٦/۳
اسمولاریته (میلی‌اسمول در کیلوگرم)	۱۸۵	۲۱۲	۲۰۱/۷۰±۸/۸۲	۱۷٤	۲۰۲	۲۰۰/۳ ±۱۰/۵

magiran.com

Gallis و همکاران در سال ۱۹۹۱مشاهده کردند که غلظت ۰/۱ میلی مول در لیتر یون پتاسیم تاثیر ممانعت‌کنندهٔ زیادی روی حرکت اسپرماتوزوآ تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) دارد. همچنین Alavi و Cosson در سال ۲۰۰۵ عنوان کردند که غلظتهای بیشتر از ۲ میلی‌مول در لیتر یون پتاسیم تاثیر بازدارنده روی حرکت اسپرماتوزوآ تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) دارد. به علت وجود غلظت بالای یون پتاسیم (۰/۹± ۳/۸ میلی‌مول در لیتر) در مایع سلومیک (جدول ۲)، می‌توان عدم تحرک اسپرماتوزوآ ماهی شیپ را در درصدهای بالای مایع سلومیک توجیه کرد با علم بر اینکه اسپرماتوزوآ ماهی شیپ در غلظتهای بیشتر از ۳ میلی‌مول در لیتر یون پتاسیم فاقد حرکت می باشد (شالویی و همکاران، ۱۳۸۷). یکی از دلایل عدم تحرک اسپرماتوزوآ در حضور یون پتاسیم به این علت می‌باشد که در حضور یون پتاسیم عمل فسفوریلاسیون پروتئین ۱۵ کیلو دالتون و افزایش cAMP مشاهده نمی‌شود و فرض بر این است که فسفوریلاسیون پروتئین ۱۵ کیلو دالتون بعنوان کلید آغاز تحرک تاژک می‌باشد (Cosson *et al.*, 1989). از فاکتورهای مهم دیگر که حرکت در اسپرماتوزوآ تاسماهیان را کنترل می‌کند، اسمولاریته می‌باشد. فشار اسمزی ۱۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم و بالاتر بازدارنده حرکت اسپرماتوزوآ در تاسماهی سیبری می‌باشد (Gallis *et al.*, 1991). همچنین اسپرماتوزوآ تاسماهی ایرانی در فشار اسمزی صفر تا ۱۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم دارای حرکت می‌باشد (Alavi & Cosson, 2006). میزان فشار اسمزی در مایع سلومیک مخلوط ۲۰۰/۳ میلی‌اسمول بر کیلوگرم بود (جدول ۲). می‌توان نتیجه گرفت که اسپرماتوزوآی ماهی شیپ مانند دیگر تاسماهیان در غلظتهای بالای یون پتاسیم و اسمولاریته‌های بالا غیرفعال است. با توجه به جدول ۱ و کاهش درصد مایع سلومیک اسپرماتوزوآ ماهی شیپ حرکت خود را آغاز می‌کند. در درصدهای پایین مایع سلومیک و با افزایش رقیق‌سازی با آب مقطر میزان غلظت یون پتاسیم و اسمولاریته کاهش پیدا می‌کند. یگانه و همکاران در سال ۱۳۸۴، علت عدم تحرک اسپرماتوزوآ ماهی کفال (*Mugil cephalus*) در مایع سلومیک را پایین بودن فشار اسمزی عنوان کردند. زیرا اسپرماتوزوآهای ماهیان آب شور در محیط هیپراسموتیک فعال می‌شوند. در گونه‌هایی که مایع سلومیک افزایش دهندهٔ حرکت اسپرماتوزوآ است چندین ترکیب مانند گلوکز و پپتیدهای مایع سلومیک محرک فعالیت اسپرماتوزوآ می‌باشند (Yanagimachi *et al.*, 1992). علاوه بر این ترکیبات، یونها و ویسکوزیته مایع سلومیک در این گونه‌ها از عوامل افزایش دهندهٔ حرکت اسپرماتوزوآ می‌باشد اما تاثیر این ترکیبات و یونها همراه با اثر اسمولاریته است (Koya *et al.*, 1993 ;Morisawa, 1994; Turner & Montgomerie, 2002). در قزل‌آلای رنگین کمان مایع سلومیک سبب تحرک اسپرماتوزوآی آن شده و افزایش نسبت رقیق‌سازی مایع سلومیک سبب کاهش لقاح می‌گردد اثر مایع سلومیک در این ماهی ممکن است در نتیجه مقدار زیاد پروتئین موجود در آن باشد که تا ۲۰ میلیگرم در میلی‌لیتر می‌رسد (Billard, 1983). براساس نتایج این تحقیق یک رابطه معنی‌دار و مثبتی بین میزان یون سدیم و اسمولاریته در مایع سلومیک ماهی شیپ وجود داشت. چنین رابطه‌های مثبت بین اسمولاریته و سدیم در مایع سمینال شیپ (شالویی و همکاران، ۱۳۸۷)، تاسماهی ایرانی (Alavi *et al.*, 2004) و ماهی مروارید (*Alburnus alburnus*) گزارش شده است. با توجه به جدول ۲ در بین شاخصهای مایع سلومیک یون سدیم غالب می‌باشد در نتیجه می‌توان گفت یون سدیم بیشترین اثر را روی اسمولاریته مایع سلومیک دارد.

براساس داده‌های (شاخصهای بیوشیمیایی مایع سلومیک) بدست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌شود نگهداری تخمک این گونه در مایع سلومیک و ساخت محیطهای نگهدارنده مصنوعی تخمک ماهی شیپ در تحقیقات بعدی مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و کارشناسان مرکز تکثیر ماهیان خاویاری شهید مرجانی بدلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنماییهای لازم در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از داوران محترم که با نظرات خویش بر غنای این تحقیق افزودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

شالویی،ف. ؛ ایمانپور، م. ؛ شعبانی، ع. و باغفلکی، م. ، ۱۳۸۷. ارتباط بین شاخصهای پلاسمای سمینال و حرکت اسپرماتوزوآ در ماهی شیپ (Acipenser nudiventris Lovetzky, 1828). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی

magiran.com

گرگان، جلد پانزدهم، شماره اول ویژه نامه منابع طبیعی، صفحات ۲۲ تا ۲۷.

یگانه، س. ؛ مجازی‌امیری، ب. ؛ یوسفیان، م. و نعمت‌الهی، م. ع. ، ۱۳۸۴. اثر تقویت کننده‌های اسپرم بر روی مدت تحرک اسپرم در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). مجله منابع طبیعی ایران، جلد ۵۸، شماره ۲، صفحات ۳۸۳ تا ۳۹۳.

Alavi S.M.H. and Cosson J., 2006. Sperm motility in fishes: (II) Effects of ions and osmolality. Cell Biology International, Vol. 30, pp.1-14.

Alavi S.M.H. and Cosson J., 2005. Sperm motilility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Aquaculture Research, Vol. 36, pp.841-850.

Alavi S.M.H., Cosson J., Karami M., Abdoulhay H. and Mojazi Amiri B., 2004. Chemical composition and osmolality of seminal plasma of *Acipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility. Aquaculture International, Vol. 35, pp.1238-1243.

Billard R., 2000. Biology and control of reproduction of sturgeons in fish farm. Iranian Journal of Fisheries Sciences, Vol. 2, No. 2, pp.1-20.

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 Reproduction and Fertility, Vol. 68, pp.77-84.

Chulhong P.F. and Chapman A., 2005. An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. North American Journal of Aquaculture, Vol. 67, pp.52 -57.

Cosson M.P., Billard R. and Letellier L., 1989. Rise of internal Ca^{2+}. Cell Motility and the Cytoskelet, Vol. 14, pp.424-434.

Dettlaff T.A., Ginsburg A.S. and Schmalhausen O.I., 1993. Sturgeon fishes developmental biology and Aquaculture. Springer-verlag, Berlin, Germany. 300P.

Doroshov S.L. and Lutes .P.B., 1988. Hatchery manual for the sturgeon *Acipenser transmontanus* Richardson. Department of Wildlife and Fisheries Biology University of California, Davis Publication, USA. 43P.

Elofsson H., Van Look K., Borg B. and Mayer I., 2003. Influence of salinity and ovarian fluid on sperm motility in the fifteen spined stickleback. Journal of Fish Biology, Vol. 63, pp.1429-1438.

Gallis J.L., Fedrigo E., Jatteau P., Bonpunt E. and Billard R., 1991. Siberian sturgeon spermatozoa: Effect of dilution, pH, osmotic pressure, sodium and potassium ions on motility. Cemagref, Bordeaux, 143P.

Hayakava Y. and Munehara H., 1998. Fertilization environment of the noncopulating marine sculpine *Hemilepidotus gilberti*. Environmental Biology Fishes, Vol. 52, pp.181-186.

Holcik J., 1989. The fresh water fishes Europe. General introduction to fishes: Acipenseriformes, AULAVerlag, Wiesbaden, Vol. I, Part II, 470P.

Kime D.E. and Tveiten H., 2002. Unusual motility characteristics of sperm of the spotted wolffish. Journal of Fish Biology, Vol. 61, pp.1549-1559.

Koya Y., Munehara H., Takano K. and Takahashi H., 1993. Effects of extracellular environments on the motility of spermatozoa in several marine sculpins with internal gametic association. Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. 106, pp.25 -29.

Lahnsteiner F., Weismann T. and Patzner R.A., 1997. Structure and function of the ovarian cavity and the oviduct and composition of the ovarian fluid in the bleak, *Alburnus alburnus* (Telostei, Cyprinidae). Tissue Cell, Vol. 29, pp.305-314.

magiran.com

Lam T.J., Nagahama Y., Chan K. and Hoar W.S., 1978. Overripe eggs and postovulatory corpora lutea in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., form trachurus. Canadian Journal Zoology, Vol. 56, pp.2029-2036.

Morisawa M., 1994. Cell signalling mechanism for sperm motility. Zoology Science, Vol. 11, pp.647 -662.

Oliveira R.G., Tomasi L., Rovasio R.A. and Giojalas L.C., 1999. Increased velocity and induction of chemotactic response in mouse spermatozoa by follicular and oviductal fluids. Journal of Reproduction and Fertility, Vol. 115, pp.23 -27.

Pillai M.C., Shields T.S., Yanagimachi R. and Cherr G.N., 1993. Isolation and partial characterization of the sperm motility initiation factor from eggs of the Pacific herring, *Clupea pallasi*. Journal of Experimental Zoology, Vol. 265, pp.336-342.

Ravnik S.E., Zarutskie P.M. and Muller C.H., 1990. Lipid transfer activity in human follicular fluid: Relation to human sperm capacitation. Journal of Andrology, Vol. 11, pp.216-226.

Suarez S.S., Wolf D.P. and Meizel S., 1986. Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. Gamete Research, Vol. 14, pp.107-121.

Toth G.P., Ciereszko A., Christ S.A. and Dabrowski K., 1997. Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*: Activation and inhibition conditions. Aquaculture, Vol. 154, pp.337-348.

Turner E. and Montgomerie R., 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. Journal Fish Biology, Vol. 60, pp.1570-1579.

Vecsei P., Artykhin A. and Peterson D., 2002. Thereated fishes of the world. Environmental Biology of Fishes, Vol. 65, pp.455-456.

Yanagimachi R., Cherr G.N., Pillai M.C. and Baldwin J.D., 1992. Factors controlling sperm entry into the micropyles of salmonid and herring eggs. Development Growth and Differentiation, Vol. 34, pp.447-461.

Yousida T. and Nomura M., 1972. A substance enhancing sperm motility in the ovarian fluid of brown trout. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, Vol. 30, 1073P.

Zhu J., Barratt C.L.R., Lippes J., Pacy L.E.A. and Cooke I.D., 1994. Human oviductal fluid prolongs sperm survival. Fertil. Steril. Vol. 61, pp.360 -366.

magiran.com

Study of ovarian fluid biochemical parameters and its influence on spermatozoa motility of the Ship (*Acipenser nudiventris* Lovetzky, 1828) in the south-eastern Caspian Sea

Shaluei F.* and Imanpour M.R.

shaluei@yahoo.com

Faculty of Fisheries, Agricultural Sciences and Natural Resource of Gorgan University,

P.O.Box: 386 Gorgan, Iran

Received: July 2007 Accepted: January 2009

Keywords: *Acipenser nudiventris*, Ovarian Fluid, Spermatozoa Motility

Abstract

Biochemical aspects of ovarian fluid were investigated in 10 specimens of the Ship (*Acipenser nudiventris*) by assessment of ionic organic composition and their relationships with osmolality. Also spermatozoa motility of the ship sturgeon was investigated in different percentage (5, 10, 25, 50 and 100%) of ovarian fluid (pooled 6 samples). Ovarian fluid contained 104.78±32.12mmol/l Na^+, 3.43±1.08mmol/1 K^+, 3.26±0.87mg/dl Ca^{2+}, 7.32±1.06mEq/l Mg^{2+}, 0.606±0.207mg/dl protein, 24.88±13.02mg/dl cholesterol and 60.35±14.49mg/dl glucose. The pH of ovarian fluid ranged from 7.29 to 8.10 and osmolality ranged from 185 to 212mOsmol/Kg. There was also significant positive correlation between Na^+ concentration and osmolality ($r = 0.835$, $P<0.01$).

When ship sturgeon semen diluted with 50 and 100% ovarian fluid, the spermatozoa remained immotile. The total duration of motility and percentage of motile spermatozoa was greatly reduced when semen was diluted in ovarian fluid higher than 5%. We found that the spermatozoa of ship sturgeon are immotile in the ovarian fluid because of ovarian fluid composition such as high concentration of K and osmotic pressure.

* Corresponding author