

## اثر برخی یون ها روی فعالیت اسپرم و کارآیی تکثیر مصنوعی ماهی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*)

حسین خارا<sup>(۱)</sup>؛ شهروز برادران نویری<sup>(۲)</sup>؛ حدیثه دادرس<sup>(۳)</sup>؛ مینا رهبر<sup>(۳)</sup>؛ محدثه احمد نژاد<sup>(۴)</sup>؛ علی خدادوست<sup>(۳)</sup>  
h\_khara1974@yahoo.com

۱ - دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲ - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

۳ - باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۴ - پژوهشکده آبی پروری آب های داخلی، بندر انزلی، ایران، صندوق پستی: ۱۶

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۰

### چکیده

در این مطالعه، اثر برخی یون ها (سدیم، کلسیم، پتاسیم و منیزیم) روی تحرک اسپرم (دوره تحرک و درصد اسپرم های متحرک) و ظرفیت لقاح (درصد لقاح، نرخ تفریح، بازماندگی لارو و طول لارو در دو مرحله جذب کیسه زرده و شروع تغذیه فعال) در ماهی کپور سرگنده مورد مطالعه قرار گرفت. جهت بررسی اثر یون های مختلف برای هر یون سه غلظت مختلف شامل کلرید سدیم (۱۴۹۵، ۱۸۸۶ و ۲۲۷۷ میلی گرم در لیتر)، کلرید پتاسیم (۸۱۹، ۹۳۶ و ۱۵۰۳ میلی گرم در لیتر)، کلرید منیزیم (۴۸، ۷۲ و ۹۶ میلی گرم در لیتر) و کلرید کلسیم (۲۰، ۵۰ و ۷۰ میلی گرم در لیتر) تعیین گردید. نتایج نشان داد که دوره تحرک اسپرم به ترتیب در غلظت های ۱۵۰۳ میلی گرم در لیتر یون پتاسیم، ۵۰ میلی گرم در لیتر یون کلسیم، ۲۲۷۷ میلی گرم در لیتر یون سدیم و ۴۸ میلی گرم در لیتر یون منیزیم دارای بیشترین مقدار بود. از میان یون های بررسی شده محلول های حاوی یون سدیم تأثیر بیشتری بر قابلیت لقاح اسپرم نسبت به یون های دیگر داشت. بر طبق، نتایج محلول های حاوی یون های کلسیم اثر منفی بر قابلیت لقاح اسپرم داشت. بنابراین درک تأثیر یونها می تواند برای صنعت آبی پروری مفید واقع شده و در نتیجه کیفیت اسپرم را در طول تکثیر مصنوعی بهبود بخشد.

**کلمات کلیدی:** یون ها، تحرک اسپرم، تکثیر مصنوعی، ظرفیت لقاح، کپور سرگنده.

## ۱. مقدمه

بررسی اثر توان باروری مولدین و کاربرد گامت هایی با کیفیت بالا از اهمیت زیادی در اطمینان از تولید لاروهای بهتر دارد (۲۴). یکی از مهمترین فاکتور های تأثیر گذار بر موفقیت تکثیر کیفیت گامت های مولدین نر می باشد (۴). برای بهبود تکثیر مصنوعی شناخت زیست شناسی اسپرم ضروری می باشد (۳). از عوامل مهم در لقاح، کیفیت اسپرم مولدین است و مهمترین ویژگی آن عامل تحرک می باشد که می تواند سبب افزایش لقاح گردد (۳۵، ۲۶، ۱۷، ۱۳، ۲) و می توان از آن به عنوان عامل موثر در باروری تخمک ها نام برد (۳۳، ۲۰). فاکتورهای متعددی بر روی تحرک اسپرم تأثیر گذار می باشد مانند: pH (۶، ۵) کاتیون ها (۱۹، ۸)، اسمولاریته (۱۹، ۸، ۷) و نسبت رقیق سازی (۴). در بیشتر ماهیان آب شیرین، مدت زمان تحرک اسپرم بسیار کوتاه (۹) و در محیط هیپواسموتیک شروع می شود (۱۸). در آبری پروری مدرن یکی از راه های موفقیت در فرایند لقاح افزایش دادن طول دوره تحرک اسپرم با محلول های تحریک کننده اسپرم می باشد (۹). ترکیب مواد رقیق کننده و همچنین محلول های فعال کننده بسیار مهم می باشد و باید مطابق خصوصیات هر گونه تنظیم گردد (۱۳، ۶). نقش یون ها بر روی تحرک اسپرم و قابلیت لقاح به وسیله محققین بررسی شده است (۳۶، ۳۴، ۲۸، ۲۲، ۱۹، ۱۸، ۱۳). یون های اصلی برای بهبود تحرک اسپرم شامل سدیم، کلسیم، منیزیم و پتاسیم می باشند (۹). ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) یکی از مهمترین گونه های پرورشی ماهیان گرمابی در ایران و جهان می باشد. تخم ریزی این گونه در اواخر بهار و تابستان (اردیبهشت تا مرداد) زمانیکه دمای آب بالا است انجام می گیرد (۱). مطالعات روی کیفیت اسپرم و قابلیت لقاح آنها در طول فصل تخم ریزی در این گونه گزارش شده است (۳۲)، اما اطلاعات درباره تأثیر محلول های فعال کننده تحرک اسپرم بر عملکرد حرکتی اسپرم این گونه وجود ندارد. بنابراین هدف مطالعه حاضر تأثیر یون های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم بر

عملکرد حرکتی اسپرماتوزوآ و قابلیت لقاح آن در کپور سرگنده می باشد.

## ۲. مواد و روش ها

این تحقیق در تیر ماه سال ۱۳۹۰ در مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی تعاونی شماره ۱۲ شهرستان رشت انجام شد. به منظور انجام این تحقیق در مجموع ۳۰ عدد مولد نر و ۳۰ عدد مولد ماده کپور سرگنده در گروه های سنی ۳، ۴ و ۵ با میانگین وزن  $9/15 \pm 0/51$  و  $5/2 \pm 0/10$  کیلو گرم و طول  $86/5 \pm 3/50$  و  $70 \pm 9$  سانتی متر به ترتیب برای ماده ها و نرها به صورت تصادفی انتخاب و پس از زیست سنجی تحت تزریق هورمون LHRH-A<sub>2</sub> قرار گرفتند. مولدین ماده طی دو مرحله با استفاده از ترکیب  $2/5$  میلی گرم هیپوفیز،  $0/4$  میکرو گرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> و  $0/2$  سی سی سرم فیزیولوژیک به ازای هر کیلو گرم وزن بدن و مولدین نر با استفاده از  $0/5$  میلی گرم هیپوفیز،  $0/4$  میکرو گرم هورمون LHRH-A<sub>2</sub> به همراه  $0/25$  سی سی سرم فیزیولوژیک به ازای هر کیلو گرم وزن بدن همزمان با تزریق دوم (حدود ۷ ساعت بعد از تزریق اول) مولدین ماده مورد تزریق قرار گرفتند. حدود ۷ ساعت بعد از تزریق دوم عمل تخم کشی و اسپرم گیری از آنها به روش مالشی (Stripping Method) انجام شد. پس از عمل تخم کشی و اسپرم گیری از مولدین، کل تخمک های استحصالی از هر مولد پس از توزین در سه تشتک جداگانه به میزان ۲۵۰ گرم در هر کدام (با ۳ تکرار) ریخته شد. جهت یکسان سازی شرایط تکثیر برای ماهیان در گروه های سنی مختلف و به حداقل رساندن اثر سن مولدین بر روی لقاح تخمک های استحصالی از کلیه مولدین با هم مخلوط گردید. قبل از استفاده از اسپرم،  $1/5$  میلی لیتر از اسپرم مولدین برای بررسی غلظت های یونی موجود در اسپرم، تعیین میزان درصد تحرک اسپرم و طول دوره تحرک به آزمایشگاه انتقال یافت. سپس اسپرم های استحصالی از هر گروه سنی به منظور یکسان سازی شرایط آزمایش با هم مخلوط و پس از تقسیم به تعداد تیمارها، غلظت

بررسی شد. مدت زمان تحرک اسپرم نیز به صورت چشمی با استفاده از زمان سنج تا لحظه ای که تقریباً تمام اسپرماتوزوآها (۱۰۰٪) از حرکت بایستند اندازه گیری شد (۷).

تعیین درصد لقاح ۶ ساعت پس از عمل لقاح، بر طبق رابطه ذیل محاسبه گردید (۱۶):

$$\text{درصد لقاح} = (\text{تعداد کل تخمک ها} / \text{تعداد تخمک های لقاح یافته}) \times 100$$

۲۴ ساعت پس از لقاح، نرخ تفریح از طریق رابطه زیر بدست آمد (۲۱):

نرخ تفریح = (تعداد تخمک های لقاح یافته / تعداد لارو)  $\times 100$   
در ساعات اولیه تفریح اقدام به اندازه گیری طول اولیه لاروها شد و همچنین طول ثانویه لارو در مرحله جذب کیسه زرده (شروع تغذیه فعال) بررسی گردید. درصد بازماندگی لاروها در مرحله آغاز تغذیه فعال حدود ۲۴ ساعت پس از تفریح با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد بازماندگی لارو = تعداد لاروهای زنده / تعداد کل لاروهای ذخیره شده  $\times 100$

داده های حاصل با توجه به نرمال بودن داده ها (آزمون Shapiro-Wilk's)، به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

های مختلف یونی طبق جدول ۱ به اسپرم اضافه گردید. عمل لقاح به روش خشک صورت گرفت.

برای بررسی میزان سدیم به روش شعله سنجی و استفاده از دستگاه فیلم فتومتر Jenwa - انگلیس و به منظور ارزیابی میزان یون کلسیم از کیت شرکت من-ایران به روش رنگ سنجی (روش متیل تیمول بلو) استفاده شد. همچنین برای محاسبه میزان یون منیزیم از کیت شرکت پارس آزمون-ایران به روش رنگ سنجی یا فتومتریک استفاده از ماده رنگی Xylidyl (Blue) برای اندازه گیری میزان پتاسیم و سدیم از دستگاه الکتروود آنالایزر با مدل Caretium-XI-921 Series ساخت آلمان و به روش رنگ سنجی استفاده شد. بر اساس مقدار یون های موجود در اسپرم که در تحقیق حاضر به دست آمد و سایر مطالعات (۱۴، ۱۵) برای هر یک از یون های مورد بررسی ۳ غلظت مختلف مشخص گردید. جهت آماده سازی محلول های فعال کننده اسپرم ابتدا مواد شیمیایی به دقت توزین شده و به طور جداگانه با یک لیتر آب مقطر کاملاً حل گردیدند. به دنبال آن pH به وسیله محلول تریس (حاوی HCl و NaOH) و با استفاده از دستگاه pH متر در pH مورد نظر (۸/۵±۰/۲) تنظیم شد. بررسی درصد تحرک اسپرماتوزوئید بصورت چشمی انجام شد.

بدین منظور رقیق سازی اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰۰ انجام گردید و پس از تهیه گسترش در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰

جدول ۱- تیمار بندی یون ها در مولدین ماهی کپور سرگنده

یون			تیمار
تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	
۴۸	۷۲	۹۶	کلرید منیزیم (میلی گرم در لیتر)
۸۱۹	۹۳۶	۱۵۰۳	کلرید پتاسیم (میلی گرم در لیتر)
۱۴۹۵	۱۸۸۶	۲۲۷۷	کلرید سدیم (میلی گرم در لیتر)
۲۰	۵۰	۷۰	کلرید کلسیم (میلی گرم در لیتر)

## ۳. نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی غلظت یونی در پلاسما منی مولدین نر ماهی کپور سرگنده در جدول ۲ نشان داده شده است. که بیشترین غلظت مربوط به یون سدیم  $82/5 \pm 25/48$  و کمترین غلظت متعلق به یون کلسیم  $2/13 \pm 5/07$  بوده است. نتایج تأثیر غلظت های مختلف یون های مورد مطالعه بر درصد و طول دوره تحرک اسپرم ماهی کپور سرگنده در جدول ۳ خلاصه شده است. به طوری که بیشترین میانگین طول دوره تحرک اسپرم در غلظت ۴۸ میلی گرم در لیتر یون منیزیم، غلظت ۱۵۰۳ میلی گرم در لیتر یون پتاسیم، غلظت ۲۲۷۷ میلی گرم در لیتر یون سدیم و غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر یون کلسیم دیده شد. همچنین بیشترین میانگین درصد تحرک اسپرم در تیمار شاهد یون کلسیم دیده شد (جدول ۳).

با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری از نظر طول دوره تحرک اسپرم بین غلظت های مختلف یون های منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلسیم با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری از نظر درصد تحرک اسپرم بین غلظت های مختلف یون کلسیم با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور فوق بین غلظت های مختلف یون سدیم با تیمار شاهد وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

نتایج حاصل از ارزیابی غلظت یونی در روند انکوباسیون ماهی کپور سرگنده در جدول ۴ خلاصه شده است. به طوری که بیشترین میانگین درصد لقاح در غلظت ۷۲ میلی گرم در لیتر یون منیزیم ( $5 \pm 85$  میلی گرم در لیتر)، غلظت ۱۸۸۶ میلی گرم در لیتر یون سدیم ( $5 \pm 85$  میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد یون کلسیم ( $5/09 \pm 84/44$  میلی گرم در لیتر) دیده شد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری از نظر درصد لقاح بین غلظت های مختلف یون های منیزیم، سدیم و کلسیم با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه، اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور فوق بین غلظت های مختلف یون پتاسیم با تیمار شاهد وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

بر طبق نتایج، بیشترین میانگین درصد ظهور لارو در تیمار شاهد یون منیزیم ( $7/5 \pm 77$  میلی گرم در لیتر)، تیمار شاهد یون پتاسیم ( $7/5 \pm 77$  میلی گرم در لیتر)، تیمار شاهد یون سدیم ( $7/5 \pm 77/5$  میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد یون کلسیم ( $7/5 \pm 77/5$  میلی گرم در لیتر) دیده شد. با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور درصد ظهور لارو بین غلظت های مختلف یون های مورد بررسی با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به آزمون تجزیه واریانس یک طرفه، اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور های طول لاروهای تازه تفریخ شده و طول لارو ها در آغاز تغذیه فعال بین غلظت های مختلف یون های

جدول ۲: ارزیابی غلظت یون های منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلسیم در مولدین نر ماهی کپور سرگنده

غلظت یون	انحراف معیار $\pm$ میانگین	حداقل	حداکثر
منیزیم (میلی گرم در لیتر)	$5/92 \pm 1/76$	۴/۴	۷/۵
پتاسیم (میلی گرم در لیتر)	$24/25 \pm 2/63$	۲۲	۲۷
سدیم (میلی گرم در لیتر)	$82/5 \pm 25/48$	۴۵	۹۹
کلسیم (میلی گرم در لیتر)	$2/13 \pm 5/07$	۳/۱	۷/۳

جدول ۳: مقایسه میانگین طول دوره و درصد تحرک اسپرم ماهی کپور سرگنده تحت تاثیر غلظت های مختلف یون

منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلسیم		
درصد تحرک اسپرم ماهی	طول دوره تحرک اسپرم	پارامتر
حداکثر-حداقل	حداکثر-حداقل	غلظت یون
۷۱/۶۷ ± ۷/۶۴	۲۸/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>a</sup>	تیمار شاهد
۶۵-۸۰	۲۸-۲۹	
۶۰ ± ۱۰	۲۹/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>a</sup>	۴۸
۵۰-۷۰	۲۹-۳۰	منیزیم
۷۰ ± ۱۰	۱۰ ± ۰ <sup>b</sup>	۷۲ (میلی گرم در لیتر)
۶۰-۸۰	۱۰-۱۰	
۶۵ ± ۵	۱۷/۶۷ ± ۱/۱۶ <sup>b</sup>	۹۶
۶۰-۷۰	۱۷-۱۹	
۷۱/۶۷ ± ۷/۶۴	۲۸/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>b</sup>	تیمار شاهد
۶۵-۸۰	۲۸-۲۹	
۷۵ ± ۵	۲۷/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>b</sup>	۸۱۹
۷۰-۸۰	۲۶-۳۱	پتاسیم
۷۰ ± ۱۰	۲۴/۳۳ ± ۰/۵۸ <sup>c</sup>	۹۳۶ (میلی گرم در لیتر)
۶۰-۸۰	۲۴-۲۵	
۷۰ ± ۱۰	۴۱/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>a</sup>	۱۵۰۳
۶۰-۸۰	۴۱-۴۲	
۷۱/۶۷ ± ۷/۶۴	۲۸/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>ab</sup>	تیمار شاهد
۶۵-۸۰	۲۸-۲۹	
۶۵ ± ۵	۱۹ ± ۶/۹۳ <sup>b</sup>	۱۴۹۵
۶۰-۷۰	۱۵-۲۷	سدیم
۷۵ ± ۵	۳۲/۱۷ ± ۷/۲۲ <sup>a</sup>	۱۸۸۶ (میلی گرم در لیتر)
۷۰-۸۰	۲۸-۴۱	
۶۵ ± ۵	۳۴/۵ ± ۴/۳۳ <sup>a</sup>	۲۲۷۷
۶۰-۷۰	۳۲-۴۰	
۷۱/۶۷ ± ۷/۶۴ <sup>a</sup>	۲۸/۶۷ ± ۰/۵۸ <sup>b</sup>	تیمار شاهد
۶۰-۸۰	۲۸-۲۹	
۶۵ ± ۵ <sup>ab</sup>	۱۹/۱۷ ± ۲/۰۲ <sup>c</sup>	۲۰
۶۰-۷۰	۱۸-۲۲	کلسیم
۴۰ ± ۱۰ <sup>b</sup>	۳۶/۱۷ ± ۳/۱۸ <sup>a</sup>	۵۰ (میلی گرم در لیتر)
۳۰-۵۰	۳۳-۳۸	
۶۵ ± ۵ <sup>ab</sup>	۲۴/۱۷ ± ۳/۷۵ <sup>bc</sup>	۷۰
۶۰-۷۰	۲۲-۲۹	

\*حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی دار بودن آن می باشد (P &lt; ۰/۰۵)

مدت زمان تحرک اسپرم ( $4/56 \pm 85$  ثانیه) در محلول های حاوی ۲۵ میکرو مول کلرید سدیم مشاهده شد، که ۵ ثانیه بعد از آغاز تحرک اسپرم بود و درصد اسپرماتوزوآی متحرک به طور قابل توجهی در بین ۲۵ و ۱۰۰ میکرو مول کلرید سدیم تفاوت معنی داری را نشان داد. به طوری که درصد اسپرماتوزوآی متحرک سریعاً بعد از ۳۰ و ۴۵ ثانیه بعد از فعال سازی در محلول حاوی ۲۵ و ۵۰ میکرو مول کلرید سدیم افزایش یافت اما سدیم در بیش از ۵۰ میکرو مول اثر باز دارنده داشت (۴). حال آنکه درصد اسپرم های متحرک ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) در محلول فعال کننده حاوی کلرید سدیم به میزان چشمگیری بیشتر از آب مقطر بود (۱۰). همچنین محققین (۳۶) در آزمایشی روی ماهی بریکون هنی (*Brycon henii*) اعلام نمودند که سدیم به طور خالص و یا به صورت ترکیبی، تاثیری بر روی تحرک اسپرم نداشت، اما مدت زمان تحرک را کاهش داد. در مطالعه حاضر بیشترین میزان طول دوره تحرک در غلظت های ۱۸۸۶ و ۲۲۲۷ میلی گرم در لیتر کلرید سدیم بود و طول دوره تحرک اسپرم نیز در غلظت ۱۸۸۶ میلی گرم در لیتر با تفاوت اندکی بیشتر از سایر تیمار ها بود. ارزیابی تیمار های یون سدیم در مطالعه حاضر نشان داد که افزودن یون سدیم بر درصد تفریح اثر منفی داشت، در حالی که بیشترین میزان درصد لقاح و بازماندگی لارو در تیمار سوم و چهارم (۱۸۸۶ و ۲۲۲۷ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد که حاکی از تأثیر مثبت سدیم بوده است. یون پتاسیم به عنوان عامل اصلی در عدم تحرک اسپرماتوزوآی آزاد ماهیان و ماهیان خاویاری معرفی شده، به طوری که وجود ۴۰-۱۰ میلی مول یون پتاسیم را مانع تحرک اسپرم قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دانسته اند (۱۱) که این مقدار به طور معمول در مایع اسپرمی وجود دارد. بر اساس برخی مطالعات یون پتاسیم در خانواده کپور ماهیان دارای اثر مثبت بر میزان درصد تحرک اسپرم می باشد (۳۰) و در ماهی کپور ایرانی (*Cyprinus carpio*) موجب افزایش سرعت و تحرک اسپرم می گردد (۱۲).

منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلسیم با تیمار شاهد وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). بر اساس نتایج، بیشترین میانگین درصد بازماندگی لارو تا شروع تغذیه فعال در غلظت ۴۸ میلی گرم در لیتر یون منیزیم ( $1 \pm 91$  میلی گرم در لیتر)، غلظت ۹۳۶ میلی گرم در لیتر یون پتاسیم ( $1/98 \pm 92/45$  میلی گرم در لیتر) و غلظت ۱۸۸۶ میلی گرم در لیتر یون سدیم ( $1/68 \pm 92/12$  میلی گرم در لیتر) دیده شد. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور طول لاروهای تازه تفریح شده بین غلظت های مختلف یون های منیزیم، پتاسیم و سدیم با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، اختلاف معنی دار آماری از نظر فاکتور فوق بین غلظت های مختلف یون کلسیم با تیمار شاهد وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

#### ۴. بحث

بر اساس مطالعات صورت گرفته می توان گفت که عوامل محیطی از قبیل یون ها موجب آغاز تحرک اسپرم از طریق ایجاد تغییر در ساختار غشای پلازما می گردند (۳۱، ۲۵). در این بین تعیین میزان بهینه اجزای تشکیل دهنده محلول های فعال کننده جهت افزایش کارایی تکثیر مصنوعی بسیار حائز اهمیت می باشد (۴). مطالعه حاضر اولین تحقیقی می باشد که در مورد تأثیر یون ها بر عملکرد اسپرم ماهی کپور سرگنده صورت گرفته است. در طبیعت تحرک اسپرم با رها شدن به محیط آبی آغاز می گردد و در تکثیر مصنوعی این رویداد در محلول های فعال کننده اتفاق می افتد (۱۸). در این راستا ترکیبات یونی محلول های فعال کننده در آغاز و طول دوره تحرک اسپرم مؤثر بوده (۲۹)، بطوریکه تحرک اسپرم دارای یک ارتباط قوی با ترکیبات یونی و اسمولاریته می باشد (۱۸). نقش سدیم به عنوان یک یون مؤثر بر تحرک و مدت زمان تحرک غیر قابل اغماض است، مطالعه بر روی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، نشان داد که حداکثر درصد اسپرماتوزوآی قادر به حرکت ( $35/0 \pm 207/75$  درصد) و کل

جدول ۴: مقایسه میانگین روند انکوباسیون کپور سرگنده تحت تاثیر دوزهای مختلف یون های منیزیم، پتاسیم، سدیم و کلسیم

پارامتر	درصد لقاح	درصد ظهور لارو	طول لاروهای تازه	طول لارو ها در آغاز	درصد بازماندگی لارو
غلظت یون	حداکثر-حداقل	حداکثر-حداقل	تفریح شده (میلی متر)	تغذیه فعال (میلی متر)	تا شروع تغذیه فعال
			حداکثر-حداقل	حداکثر-حداقل	حداکثر-حداقل
تیمار	۸۴/۴۴ ± ۵/۰۹ <sup>a</sup>	۷۷ ± ۷/۵ <sup>a</sup>	۳/۵۸ ± ۰/۱۵	۵/۵۵ ± ۰/۳۹	۸۰ ± ۱۰ <sup>b</sup>
شاهد	۸۰-۹۰	۷۰-۸۵	۳/۴۵-۳/۷۵	۵/۱۲-۵/۸۷	۷۰-۹۰
۴۸	۷۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۷۰ ± ۵ <sup>ab</sup>	۳/۰۷ ± ۰/۱۱	۴/۸۶ ± ۰/۱۳	۹۱ ± ۱ <sup>a</sup>
منیزیم	۶۵-۷۵	۶۵-۷۵	۳-۳/۲	۴/۷۷-۵	۹۰-۹۲
(میلی گرم در لیتر)	۸۵ ± ۵ <sup>a</sup>	۷۵ ± ۵ <sup>a</sup>	۳/۲۳ ± ۰/۱۵	۵/۰۳ ± ۰/۱۶	۹۰/۸۴ ± ۱/۰۴ <sup>a</sup>
	۸۰-۹۰	۷۰-۸۰	۳/۱-۳/۴	۴/۸۹-۵/۲	۹۱-۹۳
۹۶	۸۰ ± ۵ <sup>a</sup>	۶۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۳/۲۸ ± ۰/۱۱	۶/۳۹ ± ۰/۱۷	۸۹/۷۵ ± ۱/۶۴ <sup>a</sup>
	۷۵-۸۵	۵۵-۶۵	۳/۲-۳/۴	۶/۲-۶/۵	۸۸-۹۱
تیمار	۸۴/۴۴ ± ۵/۰۹	۷۷ ± ۷/۵ <sup>a</sup>	۳/۵۸ ± ۰/۱۵	۵/۵۵ ± ۰/۳۹	۸۰ ± ۱۰ <sup>b</sup>
شاهد	۸۰-۹۰	۷۰-۸۵	۳/۴۵-۳/۷۵	۵/۱۲-۵/۸۷	۷۰-۹۰
۸۱۹	۸۰ ± ۵	۶۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۳/۷۲ ± ۰/۱۶	۵/۴۵ ± ۰/۳۱	۸۸ ± ۲/۶۵ <sup>ab</sup>
پتاسیم	۷۵-۸۵	۵۵-۶۵	۳/۵۵-۳/۸۵	۵/۱-۵/۶۷	۸۵-۹۰
(میلی گرم در لیتر)	۸۰ ± ۵	۳۱/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>d</sup>	۳/۸۱ ± ۰/۱	۵/۴۳ ± ۰/۴	۹۲/۴۵ ± ۱/۹۸ <sup>a</sup>
	۷۵-۸۵	۳۰-۳۵	۳/۷-۳/۹	۵-۵/۸۷	۹۰-۹۴
۱۵۰۳	۸۵ ± ۵	۵۵ ± ۵ <sup>c</sup>	۳/۶۵ ± ۰/۱	۵/۶۷ ± ۰/۳۳	۸۹/۵ ± ۲/۳۴ <sup>ab</sup>
	۸۰-۹۰	۵۰-۶۰	۳/۵۶-۳/۷۵	۵/۳-۵/۹۱	۸۷-۹۲
تیمار	80/۴۴ ± ۵/۰۹ <sup>b</sup>	۷۷/۵ ± ۷/۵ <sup>a</sup>	۳/۵۸ ± ۰/۱۵	۵/۵۵ ± ۰/۳۹	۸۰ ± ۱۰ <sup>b</sup>
شاهد	۸۰-۹۰	۷۰-۸۵	۳/۴۵-۳/۷۵	۵/۱۲-۵/۸۷	۷۰-۹۰
۱۴۹۵	۷۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۱۶/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>c</sup>	۳/۸۵ ± ۰/۰۸	۵/۸ ± ۰/۲۶	۸۵/۵۷ ± ۱/۵۸ <sup>ab</sup>
سدیم	۶۵-۷۵	۱۵-۲۰	۳/۷۹-۳/۹۴	۵/۵-۶	۸۴-۸۷
(میلی گرم در لیتر)	۸۵ ± ۵ <sup>a</sup>	۱۶/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>c</sup>	۳/۷۴ ± ۰/۱۲	۵/۲ ± ۰/۱۷	۹۲/۱۲ ± ۱/۶۸ <sup>a</sup>
	۸۰-۹۰	۱۵-۲۰	۴/۶۵-۳/۸۷	۵/۰۱-۵/۳۵	۹۰-۹۴
۲۲۷۷	۸۲ ± ۲ <sup>a</sup>	۳۱/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>b</sup>	۳/۶۹ ± ۰/۲	۶/۰۲ ± ۰/۰۸	۹۰/۹۲ ± ۰/۵۸ <sup>a</sup>
	۸۰-۸۴	۳۰-۳۵	۳/۵۳-۳/۹۱	۵/۹۵-۶/۱	۹۰-۹۱
تیمار	۸۴/۴۴ ± ۵/۰۹ <sup>a</sup>	۷۷/۵ ± ۷/۵ <sup>a</sup>	۳/۵۸ ± ۰/۱۵	۵/۵۵ ± ۰/۳۹	۸۰ ± ۱۰
شاهد	۸۰-۹۰	۷۰-۸۵	۳/۴۵-۳/۷۵	۵/۱۲-۵/۸۷	۷۰-۹۰
۲۰	۷۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۲۱/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>b</sup>	۳/۵ ± ۰/۱۳	۵/۶۷ ± ۰/۰۸	۸۹/۱۵ ± ۱/۵۷
کلسیم	۶۵-۷۵	۲۰-۲۵	۳/۴-۳/۶۵	۵/۶-۵/۷۵	۸۷-۹۱
(میلی گرم در لیتر)	۵۰ ± ۵ <sup>c</sup>	۶/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>c</sup>	۳/۹ ± ۰/۱	۵/۸۸ ± ۰/۰۸	۸۹/۹۶ ± ۰/۹۵
	۴۵-۵۵	۵-۱۰	۳/۸-۴	۵/۸-۵/۹۵	۸۹-۹۱
۷۰	۷۰ ± ۵ <sup>b</sup>	۲۱/۶۷ ± ۲/۸۹ <sup>b</sup>	۳/۹ ± ۰/۱۸	۶/۰۲ ± ۰/۰۳	۹۰/۶۳ ± ۰/۷۷
	۶۵-۷۵	۲۰-۲۵	۳/۷۵-۴/۱	۶-۶/۰۶	۹۰-۹۱

\*حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی دار بودن آن می باشد (P &lt; ۰/۰۵)

با بررسی اثر یون پتاسیم در تحقیق حاضر مشخص گردید که طول دوره تحرک اسپرم در غلظت ۱۵۰۳ میلی گرم در لیتر کلرید پتاسیم و درصد بازماندگی لارو در غلظت ۹۳۶ میلی گرم در لیتر کلرید پتاسیم دارای بیشترین مقدار بود. در حالی که از لحاظ فاکتور های درصد لقاح، نرخ تفریخ، طول لاروهای تازه تفریخ شده و طول لاروها در زمان تغذیه فعال اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید. طبق بررسی های انجام شده روی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بهترین و بیشترین تحرک از نظر درصد اسپرم های متحرک یعنی (۷۲/۵±۴/۳۳٪) و مدت زمان تحرک اسپرم (۱۹۹±۹/۱۱ ثانیه)، بعد از رقیق سازی اسپرم در ۰/۲ میکرو مول از KCL مشاهده شد. حرکت اسپرم فقط بعد از فعال سازی توسط ۱ میکرو مول یا بیشتر KCL متوقف گردید. همچنین هیچ تفاوتی در مدت تحرک اسپرم در بین نمونه های تحت بررسی تا ۲ میکرو مول یا بیشتر مشاهده نشد. در مطالعه ای که روی ماهی بریکون هنی (*Brycon henni*) انجام شده (۳۶٪)، بالاترین میزان تحرک (۷۵٪) را در محلول های حاوی پتاسیم گزارش گردیده است. تأثیر پتاسیم بر میزان تحرک اسپرم ماهی سیم دریائی (*Sparus aurata*) نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از عدم کنترل تحرک اسپرم توسط غلظت یون پتاسیم و اسمولاریتی در پلاسما منی ماهی سیم دریائی بود (۲۲).

یون منیزیم نیز از یون های موثر بر میزان تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم می باشد. در مطالعه حاضر میزان طول دوره تحرک اسپرم در تیمار شاهد و غلظت ۴۸ میلی گرم در لیتر کلرید منیزیم بیشتر از سایر تیمار ها بود. درصد تحرک اسپرم با افزودن یون منیزیم تأثیر نداشت. بیشترین درصد لقاح و نرخ تفریخ در تیمار فاقد یون و غلظت ۷۲ میلی گرم در لیتر کلرید منیزیم مشاهده شد، حال آنکه میزان درصد بازماندگی لارو تا جذب کیسه زرده با افزایش غلظت منیزیم، افزایش یافت. اطلاعات محدودی در مورد تأثیر منیزیم بر تحرک اسپرم ماهیان استخوانی از جمله کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys*)

*molitrix* وجود دارد (۴). بررسی اثر یون منیزیم بر میزان و مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی سیم دریائی حاکی از این بود که تحرک اسپرم در محلول حاوی یون منیزیم آغاز شده، اما توسط محلول های حاوی بیشتر از ۱۰ میلی مول منیزیم، باز داشته می شود (۲۲). در حالی که بیشترین میزان طول دوره تحرک در ماهی بریکون هنی (*Brycon henni*) در محلول های رقیق کننده حاوی منیزیم بدست آمد و این محلول آزمایش شده باعث نوسان درصد تحرک بین ۴۲ و ۷۵٪ شد (۳۶). با مطالعه ای که بر روی تاس ماهی ایرانی (*A. persicus*) انجام شد، مشخص گردید که بیشترین میزان تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم در محلول حاوی ۱۰ میکرو مول سولفات منیزیم مشاهده شد و تغییری در پارامترهای تحرک اسپرم در بین نمونه های تحت بررسی در ۵ میکرو مول یا بیشتر سولفات منیزیم وجود نداشت. اما غلظت بیش از ۱۰ میکرو مول سولفات منیزیم دارای تأثیر منفی روی پارامترهای تحرک در اسپرماتوزوای تاس ماهی ایرانی بود. در واقع در غلظت کمتر از ۱۰ میکرو مول درصد و مدت زمان تحرک اسپرم دچار تغییر نشدند ولی افزایش آن به عنوان یک عامل منفی و محدود کننده برای درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرماتوزوآ در تاس ماهی ایرانی معرفی گردید (۴). تحقیقی دیگر در مورد وزغ ماهی زرد (*Larimichthys polyactis*) بیانگر این بود که میزان تحرک اسپرم در محلول شامل ۰/۲ مول کلرید منیزیم بعد از فعال سازی اسپرم بیشتر شد، اما با افزایش غلظت بیش از ۰/۲ مول کلرید منیزیم، طول دوره تحرک اسپرم کاهش یافت (۲۷).

بر طبق نتایج محلول حاوی ۵۰ میلی گرم در لیتر یون کلرید کلسیم بیشترین مدت تحرک اسپرم را داشت. در ماهی گورخری، *Danio rerio* طول دوره تحرک اسپرم زمانی که با آب دیونیزه فعال شد دارای بیشترین میزان بود (۲۳). در تحقیق حاضر افزودن یون کلسیم دارای اثر منفی بر درصد تحرک اسپرم، درصد لقاح و نرخ تفریخ بود. بررسی های مختلف نشانگر نقش کلیدی کلسیم در فعال سازی اسپرم می باشد (۷، ۴). وجود

با بررسی اثر یون پتاسیم در تحقیق حاضر مشخص گردید که طول دوره تحرک اسپرم در غلظت ۱۵۰۳ میلی گرم در لیتر کلرید پتاسیم و درصد بازماندگی لارو در غلظت ۹۳۶ میلی گرم در لیتر کلرید پتاسیم دارای بیشترین مقدار بود. در حالی که از لحاظ فاکتور های درصد لقاح، نرخ تفریخ، طول لاروهای تازه تفریخ شده و طول لاروها در زمان تغذیه فعال اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید. طبق بررسی های انجام شده روی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بهترین و بیشترین تحرک از نظر درصد اسپرم های متحرک یعنی (۷۲/۵±۴/۳۳٪) و مدت زمان تحرک اسپرم (۱۹۹±۹/۱۱ ثانیه)، بعد از رقیق سازی اسپرم در ۰/۲ میکرو مول از KCL مشاهده شد. حرکت اسپرم فقط بعد از فعال سازی توسط ۱ میکرو مول یا بیشتر KCL متوقف گردید. همچنین هیچ تفاوتی در مدت تحرک اسپرم در بین نمونه های تحت بررسی تا ۲ میکرو مول یا بیشتر مشاهده نشد. در مطالعه ای که روی ماهی بریکون هنی (*Brycon henni*) انجام شده (۳۶٪)، بالاترین میزان تحرک (۷۵٪) را در محلول های حاوی پتاسیم گزارش گردیده است. تأثیر پتاسیم بر میزان تحرک اسپرم ماهی سیم دریائی (*Sparus aurata*) نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از عدم کنترل تحرک اسپرم توسط غلظت یون پتاسیم و اسمولاریتی در پلاسما منی ماهی سیم دریائی بود (۲۲).

یون منیزیم نیز از یون های موثر بر میزان تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم می باشد. در مطالعه حاضر میزان طول دوره تحرک اسپرم در تیمار شاهد و غلظت ۴۸ میلی گرم در لیتر کلرید منیزیم بیشتر از سایر تیمار ها بود. درصد تحرک اسپرم با افزودن یون منیزیم تأثیر نداشت. بیشترین درصد لقاح و نرخ تفریخ در تیمار فاقد یون و غلظت ۷۲ میلی گرم در لیتر کلرید منیزیم مشاهده شد، حال آنکه میزان درصد بازماندگی لارو تا جذب کیسه زرده با افزایش غلظت منیزیم، افزایش یافت. اطلاعات محدودی در مورد تأثیر منیزیم بر تحرک اسپرم ماهیان استخوانی از جمله کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys*)



۲- یگانه، س.، ۱۳۸۱. اثر تقویت کننده‌ها بر روی مدت تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری *Mugil cephalus*، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، کرج: دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۱۲ ص.

3-Alavi, S. M. H., and Cosson, J., 2002. Sperm motility in fishes: (III) Mechanisms of activation of the motility of spermatozoa. 26th Annual Larval Fish Conference, July 22-26, Bergen, Norway, p 29.

4-Alavi, S. M. H., Karami, M., Mojazi amiri, B., and Akhoundzadeh, M., 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. Journal of Reproduction: 128: 819-828.

5-Alavi, S. M. H., and Cosson, J., 2005. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. j. Aquaculture Research: 36: 841-50.

6-Alavi, S. M. H., and Cosson J., 2005. Sperm motility in fishes: I. Effects of temperature and pH. j. Cell Biology International: 29: 101-10.

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

8-Alavi, S. M. H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M., and Linhart, O., 2007. Semen of *Perca fluviatilis* L.: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility. Theriogenology: 68: 276-83.

9-Alavi, S. M.H., Linhart, O., Coward, K., and Rodina M., 2008. Fish spermatology: implication for aquaculture management. In: Alavi SM H, Cosson J, Coward K, Rafiee R, editors, Fish spermatology, Oxford, Alpha Science Internationally Ltd, 39761.

10-Alavi S. M. H., Jorfi E., Hatef A., and Mortezaei S. A. S., 2010. Sperm motility and seminal plasma characteristics in *Barbus sharpeyi* (Gunther, 1874). j. Aquaculture research: 41: 688-694.

یون کلسیم می تواند موجب فعالسازی تحرک اسپرم گردد، اما بر اساس برخی تحقیقات تحرک اسپرم توسط محلول های حاوی کمتر از ۱۰ میلی مول باز داشته می شود و اگر تحرک اسپرم ابتدا در محلول رقیق کننده بدون کلسیم فعال شود با افزودن بیشتر از ۸۰ میلی مول، فعالیت آن متوقف می گردد. از این رو افزایش غلظت کلسیم، فعالیت و تحرک اسپرم را باز می دارد بطوریکه این موضوع در مورد اسپرماتوزوای ماهی سیم دریائی به اثبات رسیده است (۲۲). در این راستا بر اساس مطالعه ای که روی تاس ماهی ایرانی صورت گرفت مشخص شد که بیشترین میزان تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم در محلول های حاوی ۳ میکرو مول سولفات کلسیم دیده شد. اما با افزایش غلظت کلسیم به میزان بیش از ۳ میکرو مول تاثیرات منفی بر روی تحرک اسپرم نمایان گردید (۴). اسپرم دارای حساسیت زیستی خاصی نسبت به کلسیم می باشد (۳۷، ۱۸). بر اساس گزارش محققین (۳۶) کلسیم موجود در پلاسما منی ماهی بریکون هنی هیچ تاثیری بر میزان تحرک اسپرماتوزوای آن نداشت، ولی مدت زمان تحرک را کاهش داد. در واقع با افزایش غلظت کلسیم مدت زمان فعال سازی اسپرم کاهش یافت.

با استناد به نتایج مطالعه حاضر می توان گفت که یون سدیم دارای تأثیر مثبت بر تحرک اسپرم و ظرفیت لقاح بوده و افزودن یون های کلسیم به عنوان عامل بازدارنده بر قابلیت لقاح اسپرم عمل کردند.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان و کلیه کارکنان مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی تعاونی شماره ۱۲ واقع در روستای آقا سید شریف شهرستان رشت سپاسگزاری می گردد.

### منابع

۱- وثوقی، غ.، و مستجیر، ب.، ۱۳۸۱. ماهیان آب شیرین، انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۷ صفحه.

- 11-Billard, R., and Cosson., M.P., 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo gairdneri*: Effects of pH and temperature In: Breton B, Zohar Y. (eds), Reproduction in fish basic and applied aspects in endocrinology and genetics. INRA, Paris. pp.161-167.
- 12-Billard, R., and Cosson M. P., 1992. Some problem related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. J. Experimental Zoology: 261: 122-131.
- 13-Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., and Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. 129: 95-112.
- 14-Bozkurt, Y., Ogretmen, F., Ercin, U., and Yildiz, U., 2008. Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: with emphasis on sperm motility.j Aquaculture Research: 39: 1666-1672.
- 15-Bozkurt, Y., Ogretmen, F., Secer, F.S., and Ercin, U., 2009. Effects of Seminal Plasma Composition on Sperm Motility in Mirror Carp (*Cyprinus carpio*). The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh: 61(4): 307-314.
- 16-Bromage, N.R., and Cumaranataunga., 1988: Egg production in the rainbow trout in recent advances in Aquaculture, Vol :39 Muir, J.F, R.J., Robert, Eds, pp:63-139.
- 17-Cabrita, E., Anel, L., and Herraéz., P.M., 2001. Effect of external cryoprotectants as membrane stabilizers on cryopreserved trout sperm. Theriogenology: 56: 623-635.
- 18-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, Gagnon C (ed) Cache Rive Press: 161-186.
- 19-Cosson, J., 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa.j. Aquaculture International: 12: 69-85.
- 20-Gage, M.J.G., Stockley, P., and Parker, G.A., 1995. Effects of alternative male mating strategies on characteristics of sperm production in the Atlantic salmon (*Salmo salar*): theoretical and empirical investigations. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences: 350: 391-399.
- 21-Hanjavanit, C., Kitancharoen, N., and Rakmanee, C., 2008: Experimental Infection of Aquatic Fungi on Eggs of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burch).j. KCU Science :36 :36-43.
- 22-He, S., and Jenkins, K., 2004. Activation of sperm motility in striped bass via a CAMP-independent pathway. Theriogenology: 61:1487-1498.
- 23-Jing, R., Huang, C., Bai, C., Tanguay, R., and Dong, Q., 2009. Optimization of activation, collection, dilution, and storage methods. Aquaculture: 290: 165-171.
- 24-Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., and Holmetjord. I., 1990. egg quality in fishes. In : Blaxter, J.H.S., Southward, A.J.(Eds.).j. Advances in Marine Biology: 26:71-113.
- 25-Krasznai, Z., Marian, T., Izumi, H., Damjanovich, S., Balkay, L., and Tron, L., 2000. Membrane hyper polarization removes inactivation of  $Ca^{2+}$  channels leading to  $Ca^{2+}$  influx and initiation of sperm motility in the common carp. Biophysics: 97: 2052-2067.
- 26-Lahnsteiner, F., Bergerm, B., Weismann,T., and Patzner, R. A., 1997. Sperm motility and seminal composition in the Burbot (*Lota lota*). J. Applied Ichthyology : 13: 113-19.
- 27-Lim, H. K., Min, B. H., Park, M. S., Son, M. H., Lee, J. U., and Chang, Y. J., 2011. Effects of varying dilutions, pH, temperature and cations on spermatozoa motility in fish *Larimichthys polyactis*.j. Environmental Biology : 32: 271-276.
- 28-Linhart, O., Alavi, S. M. H., Rodina M., Gela, D., and Cosson, J., 2008. Comparison of sperm velocity, motility and fertilizing

- ability between firstly and secondly activated spermatozoa of common carp (*Cyprinus carpio*). J. Applied Ichthyology: 24: 386-92.
- 29-Marian, T., Krasznai, Z., Balkay, L., Balazs, M., Emri, M., and Bene, L., 1993. Hypoosmotic shock inducing osmolality dependent permeabilization and structural changes in the membrane of carp sperm. J. Histochem Cytochem: 41: 291-298.
- 30-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. Experimental Zoology: 107: 95-103.
- 31-Morisawa, M., Oda, S., Yoshida, M., and Takai, H., 1999. Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidians. In: Gagnon, C. (ed). The Male Gamete: From Basic to Clinical Applications Cache River Press, Vienna, IL, USA. Pp: 149-160.
- 32-Rahman, M. M., Rahman, M. Sh., and Hasan, M., 2011. Changes in sperm quality of Silver and Bighead carps during the spawning season. j. Asian fisheries Science: 24: 413-425.
- 33-Stockley, P., Gage, M.J.G., parker, G.A., and Moller, A.P., 1997. Sperm competition in fishes: the evolution of testis size and ejaculate characteristics. j. Am Nat: 194: 933-954.
- 34-Stoss, J., 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM. (eds), Fish Physiology, New York, Academic Press, 305-350.
- 35-Tekin, N., Seçer, S., Akçay, E., Bozkurt, Y., and Kayam, S., 2003. The effect of age on spermatological properties in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792). j. Veterinary and Animal Sciences: 27: 37-44.
- 36-Tabares, J., Ruiz, T., Arboleda, L., and Olivera, M., 2007: Effect of some ions on sperm activation in brycon henni. J. Acta Biológica Colombiana: 12 (1): 87-98.
- 37.Toth, G.P., Ciereszko, A., Christ, S.A., and Dobrowski, K., 1997. Objective analysis of sperm motility in the lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*): activation and inhibition conditions. Aquaculture: 154: 337-348.
- 38-Verma, D. K., Routray, P., Dash, C., Dasgupta S., and Jena, J. K., 2009. Physical and Biochemical Characteristics of Semen and Ultrastructure of Spermatozoa in Six Carp Species. j. Fisheries and Aquatic Sciences: 9: 67-76.

## The Effect of some ions on sperm motility performance and efficiency of Artificial propagation of Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*)

Khara H.<sup>(1)\*</sup>; Baradaran Noveyri SH.<sup>(2)</sup>; Dadras H.<sup>(3)</sup>; Rhbar M.<sup>(3)</sup>; Ahmadnezhad M.<sup>(4)</sup>; Khodadoust A.<sup>(3)</sup>

h\_khara1974@yahoo.com

1-Islamic Azad university- Lahijan Branch, Faculty of Natural Resource, Department of Fishery and Aquaculture, Lahijan, Iran. P.O.Box: 1616.

2-International Sturgeon Research Institute. Rasht, Iran. P.O .Box: 41635-3464.

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

4- Inland Water Aquaculture Research Center, Bandar Anzali, Iran. P.O.Box: 66.

Received: Jun 2011

Accepted: October 2011

### Abstract

In this study, Saline solutions containing cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ) were used to investigate the effect of ions on motility characteristics of spermatozoa (sperm movement duration and percentage of motile spermatozoa) and fertilizing capacity of sperm (fertilization rate, hatching rate, larvae length during hatching, larvae length during active feeding and survival rate) in *Aristichthys nobilis*. To test the effects of ions on sperm motility,  $\text{Na}^+$  (NaCl) (1495, 1886 and 2277 mg/L),  $\text{K}^+$  (KCl) (819, 936 and 1503 mg/L),  $\text{Mg}^{2+}$  ( $\text{MgCl}_2$ ) (48, 72 and 96 mg/L) and  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{CaCl}_2$ ) (20, 50 and 70 mg/L) were used. The results showed highest sperm movement duration in solutions containing 1503 mg/L KCL, 50 mg/L  $\text{CaCl}_2$ , 2277 mg/L NaCl and 48 mg/L  $\text{MgCl}_2$  respectively. Among tested ions, solutions containing NaCl had more influence on fertilizing capacity of spermatozoa than other ions. Our results showed that solutions containing  $\text{CaCl}_2$  had a negative effect on fertilizing capacity of spermatozoa. Understanding the effects of these ions could be useful to the aquaculture industry and subsequently to improving the quality of fish sperm during artificial propagation.

**Keywords:** Ions, Spermatozoa motility, Artificial Propagation, Fertilization capacity, *Aristichthys nobilis*.

---

\*Corresponding author