بررسی تاثیر فلز سنگین کروم بر پارامترهای حرکتی اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

شیدا گلی*، محمد رضا ایمانپور و گلی نوری

گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده شیلات، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۷

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر فلز سنگین کروم بر پارامترهای حرکتی اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در شرایط آزمایشگاهی بود. بدین منظور مایع منی ۱۰ تاس‌ماهی ایرانی جمع‌آوری ودر مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه های اسپرم به مدت ۲،۰، ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض غلظت‌های ۰/۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر کروم قرار گرفتند سپس درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک اسپرم اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که غلظت کروم ۵ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۲ ساعت انکوباسیون، منجر به توقف کامل حرکت اسپرماتوزوئیدها شد در حالی که غلظت کروم ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت، مدت زمان تحرک اسپرم را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P <۰/۰۵). هر دو غلظت کروم درصد اسپرم‌های متحرک را نیز تحت تاثیر قرار داد. بنابراین با توجه به اهمیت تحرک اسپرم در تولید مثل، قرارگیری اسپرماتوزوئیدها در معرض کروم می تواند موفقیت تولید مثل را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: تاس‌ماهی ایرانی، کروم، درصد اسپرم‌های متحرک، تحرک اسپرم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۱۷۰۸۲۷۸ ، پست الکترونیکی: golisheyda@gmail.com

مقدمه

تاس‌ماهیان به عنوان ماهیان در معرض خطر انقراض دسته بندی شده‌اند. جمعیت این ماهی‌ها اخیرا به دلیل صید بی رویه، تخریب زیستگاه‌های طبیعی به علاوه افزایش آلودگی‌ها در حال کاهش است. بالا بودن سن بلوغ جنسی این ماهی‌ها زمینه را برای تجمع فلزات سنگین در اندام‌ها، به‌ویژه اندام‌های تولید مثلی فراهم می‌سازد. در سال‌های اخیر استفاده از اسپرم در شرایط آزمایشگاهی جهت بررسی اثرات این نوع آلودگی‌ها افزایش یافته است. متاسفانه اطلاعات در مورد تاثیر فلزات سنگین بر سیستم تولید مثلی تاس‌ماهیان محدود می‌باشد(۱۸).

امروزه فلزات سنگین منبع مهم آلودگی برای موجودات آبزی هستند (۶). در این میان کروم یکی از شایع‌ترین آلودگی‌های زیست محیطی است که به صورت نامحلول در صخره‌ها، گیاهان و خاک وجود دارد. افزایش صنایع و دیگر فعالیت‌های مربوط به تکامل بشر منجر به انحلال پذیری کروم شده است که به آسانی از خاک به آب‌های زیرزمینی و آبهای سطحی شسته می‌شود. فرم شش ظرفیتی کروم به عنوان شکل سمی آن مطرح است، از این نظر که می‌تواند به آسانی از غشای سلول عبور کند، وارد سلول‌شود و به فرم سه ظرفیتی تبدیل می‌گردد. کروم در این فرم به مولکول‌های داخل سلولی متصل شده و در نهایت موجب ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی می‌گردد (۱۱). سیستم تولید مثلی جنس نر ماهی نسبت به اثرات مضر فلزات سنگین حساس‌تر از جنس ماده می‌باشد (۱۹). کیفیت اسپرم معمولاً توسط شدت تحرک، درصد اسپرم-های متحرک و مدت زمان حرکت رو به جلوی اسپرم

ارزیابی می‌گردد (۵). تماس ماهی‌ها با فلزات سنگین موجب کاهش شدید پارامترهای حرکتی اسپرم شده و در غلظت‌های بالا در کمتر از یک دقیقه به طور کامل حرکات اسپرم را متوقف می‌سازد (۲۲). توانایی لقاح در ماهی به قابلیت اسپرم در حرکت سریع و مناسب برای پیدا کردن تخم بعد از رها سازی در آب بستگی دارد (۱۲). بنابراین آلودگی به فلزات‌سنگین به دلیل ایجاد تغییر در سرعت حرکت اسپرم ممکن است کاهش معنی‌داری در موفقیت لقاح ایجاد کند (۱۸). به دلیل اینکه سلول‌های جنسی بیشتر ماهیان وارد آب می‌شود و می‌تواند به صورت مستقیم قبل از باروری در معرض آلودگی قرار گیرد، بنابراین ارزیابی اثرات مضر آلودگی فلزات سنگین روی ماهی‌ها به نظر مهم می‌آید (۱۲). اگر چه مطالعاتی در مورد تاثیر آلاینده‌ها بر تخمک ماهیان انجام شده (۱۳و۱۴)، اما تخمک ماهیان نمی‌تواند شاخص زیستی مناسبی محسوب شود، زیرا بررسی کیفیت آن متضمن گذشت زمان و بدست آوردن داده‌های حاصل از آزمایش لقاح‌پذیری است (۵). کیفیت اسپرم فاکتوری کلیدی در تولید مثل و لقاح موفق محسوب می‌شود (۱۶). بنابراین اولین قدم در ارزیابی میزان بازدهی تولید مثل ماهیان در مواجهه با آلاینده‌ها، بررسی وضعیت تحرک اسپرماتوزوآی آن‌ها می باشد (۲۱). اسپرم ماهیان در بیضه و لوله‌های اسپرم‌بر بی‌حرکت بوده و پس از ورود به محیط آبی با جذب آب و تنظیم اسمولاریته، قابلیت حرکت را به دست می‌آورد، اما در کمتر از سه دقیقه حرکات خود را از دست می‌دهد (۷ و۲۰). این قابلیت اسپرم ماهیان، شرایط مناسبی را جهت انجام آزمایشاتی که نیاز به انکوبه کردن اسپرم با مواد مختلف و در زمان‌های مختلف دارد، فراهم می‌سازد. می توان اسپرم آنها را بدون تغییر در فاکتورهای حرکتی برای مدتی همراه با فلزات سنگین در خارج از بدن انکوبه کرد و سپس با فعال نمودن اسپرم‌ها توسط مواد فعال کننده در زیر میکروسکوپ دوربین‌دار نسبت به ضبط حرکات و آنالیز آنها اقدام نمود (۲۰).

با توجه به طولانی بودن دوره تولید مثلی تاس‌ماهیان، بررسی اثرات آلودگی بر کیفیت گامت‌ها مشکل و پر هزینه می‌باشد، بنابراین در مطالعه‌ی حاضر تلاش شده است که اثرات فلز سنگین کروم بر پارامترهای حرکتی اسپرم قره برون در شرایط آزمایشگاهی بررسی شود.

مواد و روشها

مولدین تاس‌ماهی ایرانی در فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۹۰، بعد از صید در سواحل جنوب شرقی دریای خزر به مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی منتقل گردیدند، سپس ۱۰ عدد تاس‌ماهی ایرانی نر با طول متوسط ۷±۱۵۰ سانتی‌متر و وزن ۱/۳± ۱۳ کیلوگرم انتخاب شد و مایع منی آن‌ها ۲۴ ساعت بعد از تزریق با عصاره هیپوفیز و حصول اطمینان از فعال بودن آن‌ها با استفاده از سرنگ‌های استریل ۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید. از آنجا که اسپرم تاس‌ماهی ایرانی به محض تماس با آب شیرین فعال می‌گردد (۹) قبل از جمع‌آوری مایع منی، جهت جلوگیری از آلوده مایع منی با خون و ادرار، بدن و سوراخ تناسلی ماهیان با دستمال خشک گردید. سپس با فشار آرام به ناحیه شکمی، مایع منی جمع آوری گردید.

نمونه‌های تهیه شده به صورت جداگانه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در مدت کمتر از ۳ ساعت جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

مایع منی همه ماهیان را با هم مخلوط کرده و سپس با میکروسمپلر مقادیر ۱ میلی‌لیتری از آن را در میکروتیوب-های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۴ درجه و با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس مایع رویی حاصله (سوپرنتنت) جمع‌آوری و به نسبت ۱:۱، محلول نگهدارنده (۲۰ میلی‌مول تریس، ۱۰ میلی‌مول کلرید پتاسیم، PH =۸) به آن اضافه شد.

میکروتیوب‌های حاوی اسپرم و محلول نگهدارنده تا زمان در معرض‌گذاری با فلز کروم در یخچال نگهداری شدند.

نمونه‌های اسپرم در شرایط دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۰،۲،۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض غلظت‌های ۰/۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر کروم قرار گرفتند. در این مدت، تحرک اسپرم‌ها توسط ماده نگهدارنده حفظ می‌شد.

به منظور فعال نمودن حرکت اسپرم‌ها برای اندازه گیری طول دوره تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک از محلول فعال کننده (۱۰ میلی مول تریس، ۲۰ میلی مول نمک، ۲ میلی مول کلسیم کلرید،PH=۸/۵) با نسبت رقیق سازی ۱ به ۲۰۰۰ در دمای اتاق (۲۲درجه سانتی گراد) استفاده شد. حرکت اسپرم با تاخیر زمانی کمتر از ۷ ثانیه بعد از شروع فعالیت، با میکروسکوپ فازکنتراست و با عدسی چشمی ۴۰ ثبت گردید (۲۳). اندازه‌گیری میزان حرکت برای هر تیمار و در هر زمان، در سه تکرار انجام شد. برای اندازه-گیری درصد اسپرم‌های متحرک پس از ثبت توسط دوربین، با فاصله زمانی ۲۰ صدم ثانیه توسط نرم افزار آدوب پریمر (Adobe Premiere) عکس برداری شد و درصد اسپرم‌های متحرک اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: بررسی نتایج از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس نشان داد که اثر زمان، غلظت کروم و اثر متقابل آنها بر تحرک اسپرم معنی دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- آنالیز واریانس طول دوره تحرک اسپرم

منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات	مجموع مربعات	F value	سطح معناداری
زمان	۵	۲۶۰۷۹/۷۲	۱۳۰۳۹۸/۶	۳۴/۶۴	۰/۰۰
غلظت کروم	۲	۷۵۹۶۷/۱۷	۱۵۱۹۳۴/۳۴	۱۵۴/۵۳	۰/۰۰
اثر متقابل زمان	۱۰	۳۷۵۱/۰۶	۳۷۵۱۰/۶	۴/۹۲	۰/۰۰

جدول ۲- طول دوره تحرک اسپرم ماهی قره‌برون تحت تاثیر غلظت کروم در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری

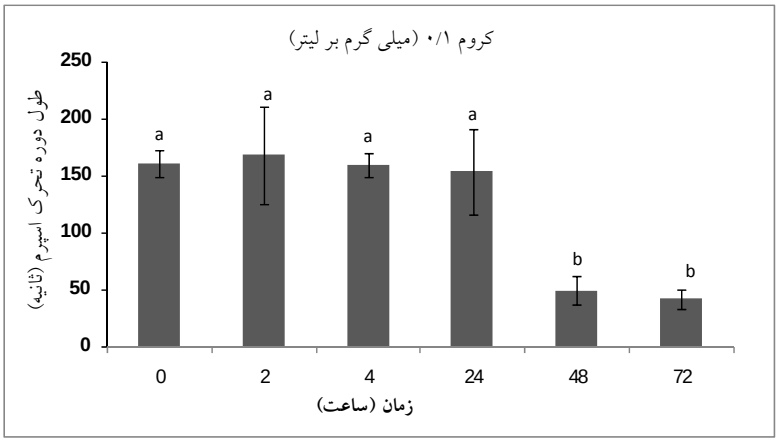
زمان (ساعت)	۰	۲	۴	۲۴	۴۸	۷۲
تیمار						
شاهد	۲۲۴± ۵۵/۲^{a}	۲۰۱/۳±۳۶/۲^{ab}	۱۷۵/۳±۱۷/۵ ^{bc}	۱۵۷/۷±۲۸/۶^{bc}	۵۷±۷^{de}	۲۹/۷±۱۰/۶^{ef}
کروم۰/۱	۱۶۱/۳±۱۱/۳^{bc}	۱۶۸/۷±۴۲/۹^{bc}	۱۵۹/۳±۱۰/۱^{bc}	۱۵۴±۳۷/۶^{c}	۴۹/۷±۱۲/۵^{e}	۴۲/۷±۸/۷۴^{ef}
کروم۵	۹۱/۷±۲۲^{d}	۳۰/۳±۱۷/۸^{ef}	۰±۰^{f}	۰±۰^{f}	۰±۰^{f}	۰±۰^{f}

مقادیر به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (α =۰/۰۵).

طبق نتایج حاصل از آزمون دانکن، در لحظه اول تماس اسپرم با غلظت های ۰/۱ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر کروم، طول دوره تحرک اسپرم در هر دو گروه نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<$ ۰/۰۵). در حالی که با افزایش زمان در معرض‌گذاری، طول دوره تحرک اسپرم تنها در تیمار ۵میلی‌گرم بر لیتر نسبت به گروه شاهد کاهش

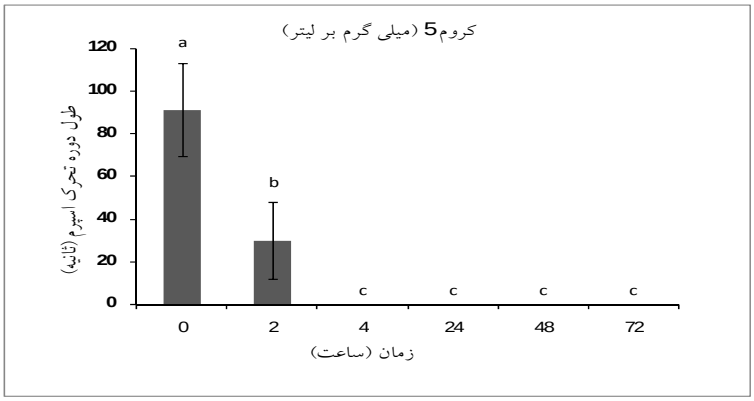
معنی‌داری را نشـان داد (p< ۰/۰۵). بطـوری کـه بعـد از ۲ ساعت، طول دوره تحرک اسپرم در این تیمار به صفر رسید (جدول ۲).

بررسی روند تغییر دوره تحرک اسپرم در تیمار، با غلظت کروم ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد میزان تحرک اسپرم در زمان‌های صفر، ۲ ساعت، ۴ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از در معرض‌گذاری اختلاف معنی‌داری نداشتند (P >۰/۰۵). اما بعد از ۴۸ ساعت کاهش معنی‌داری در مدت زمان تحرک اسپرم مشاهده شد (p< ۰/۰۵) و تا پایان دوره آزمایش تغییر معنی‌داری را نشان نداد (P >۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل۱- نمودار طول دوره تحرک اسپرم درتیمار با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر کروم در طی زمان‌های مختلف.

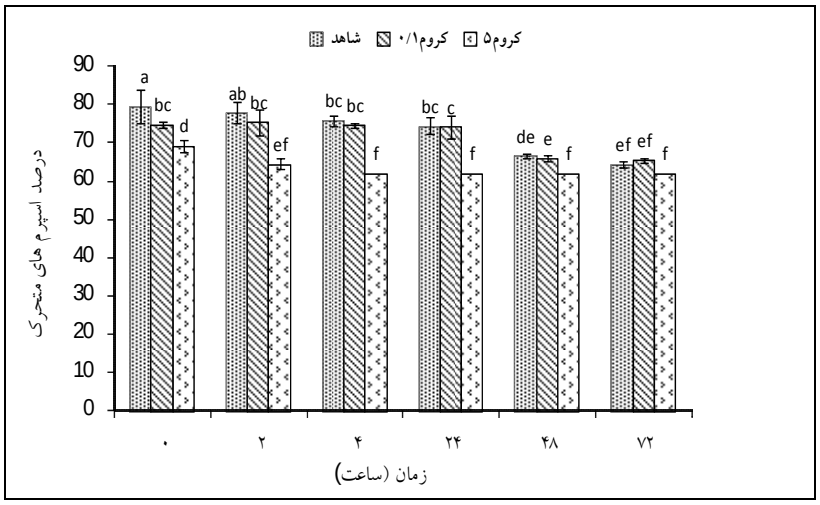
بررسی روند تغییر دوره تحرک اسپرم در تیمار با غلظت کروم ۵ میلی‌گرم بر لیترنشان داد این غلظت تاثیر نسبتاً شدیدتری روی تحرک اسپرم داشت و اسپرم‌ها فقط در زمان‌های صفر و ۲ ساعت قابلیت تحرک داشتند و بعد از آن به صورت کامل متوقف شدند (شکل ۲).



شکل ۲- نمودار دوره تحرک اسپرم در تیمار با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر کروم در زمان‌های مختلف.

درصد اسپرم‌های متحرک در هر دو تیمار با غلظت ۰/۱ و ۵ میلی‌گرم برلیتر کروم در لحظات اولیه در معرض‌گذاری نسبت به گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش یافت که این کاهش در تیمار با غلظت ۵ میلی‌گرم برلیتر کروم نسبت به غلظت ۰/۱ میلی‌گرم برلیتر بطور معنی‌داری بالاتر بود. اما بعد از گذشت ۲ ساعت تا پایان دوره آزمایش، درصد اسپرم‌های متحرک تنها در تیمار با غلظت ۵ میلی‌گرم بر-لیتر کروم نسبت به گروه شاهد کاهش را نشان داد بطوری که بعد از گذشت ۲ ساعت این میزان به صفر رسید. در حالی که تیمار با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم برلیتر کروم اختلاف

معنی‌داری را با گروه شاهد نشان نداد (P >۰/۰۵). طبق نتایج حاصله حساسیت اسپرماتوزوئیدها در مواجه با کروم در دقایق اولیه انکوباسیون قابل‌توجه بوده و با افزایش غلظت کروم، درصد اسپرم‌های متحرک کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد. برای کروم ۵ میلی‌گرم بر لیتر بعداز ۲ ساعت انکوباسیون هیچ اسپرمی قابلیت حرکت نداشت. اما در کروم ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر فقط در ساعات اولیه انکوباسیون حساسیت بالا بود و با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت، بطوریکه در زمان‌های بعدی انکوباسیون تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان نداد (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار تغییر درصد اسپرم‌های متحرک در غلظت‌های مختلف کروم.

بحث و نتیجه‌گیری

فلزات سنگین به طرق مختلف می‌توانند سلول‌های جنسی آبزیان را تحت تاثیر قرار دهند. شدت این اثرات و حساسیت اسپرم‌ها در گونه‌های مختلف و نسبت به انواع فلزات سنگین می‌تواند متغییر باشد (۱۷). در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) که اسپرم و تخمک آنها در معرض غلظت ۵ میکروگرم در لیتر کروم قرار گرفته بود کاهش معنی‌داری در درصد لقاح مشاهده شد (۸). این در حالی بود که غلظت‌های ۰ تا ۲۶۶ میکروگرم در لیتر کروم تفاوت معنی‌داری در درصد لقاح ماهیان چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) ایجاد نکرده بود (۱۱). همچنین تحقیقات انجام شده در پستانداران از جمله موش‌ها نشان داده است که، تغذیه‌ی موش‌ها با اکسید کروم ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرم‌های موجود در اپیدیدیم و افزایش تعداد اسپرم‌های غیر طبیعی و ناقص شده بود(۱۹).

اسپرم آبزیان بعد از رهاسازی در آب فرصت زیادی برای زنده‌مانی ندارند. بنابراین موفقیت لقاح آنها می‌تواند تحت تاثیر فلزات سنگین موجود در محیط آبی قرار گیرد (۱۱). در مطالعات متعددی بیان شده است که قدرت تحرک اسپرم‌ها در صورت افزایش رادیکالهای آزاد و محصولات نهایی روند LPO (پراکسیداسیون چربی‌ها Lipid Peroxidation, LPO) درمحیط بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۲). بدنبال تأثیر LPO اختلالات عملکردی زیادی در سلول‌های اسپرم پدیدار می‌گردد، که می‌توان به کاهش قدرت تحرک اسپرم و اختلالات جدی در غشاء سلول، مهار فعالیت آنزیم‌ها و ایجاد شکستگی در DNA سلول های اسپرم اشاره نمود (۳). طبق مطالعه‌ی صورت گرفته توسط زی و همکاران فلز سنگین کروم، با افزایش

سطح LPO سلول اسپرم و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان باعث مهار قدرت حرکتی اسپرم می‌شود. همچنین ورود این فلز به درون سلول اسپرم و اتصال آنها با رشته های پروتئین‌های موثر در حرکت مناسب و متقارن اسپرم یا با آنزیم‌های موثر در متابولیسم سلول اسپرم می تواند باعث کاهش یا توقف حرکت اسپرم و به دنبال آن کاهش درصد لقاح شوند (۱۸).

در این مطالعه اثرات سمی کروم بر تحرک اسپرماتوزوئیدها کاملا مشهود بود، و نشان داده شد که کروم با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به غلظت ۰/۱ تاثیر شدیدتری بر تحرک اسپرماتوزوئیدها داشته است. تحرک اسپرم‌ها در ۲ ساعت اول در معرض‌گذاری به صورت معنی‌داری کاهش یافته بودند که این نتایج با نتایج زی و همکاران (۱۸) که تاثیر فلزات سنگین کروم و کادمیوم را بر تحرک اسپرم تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) بررسی کرده بودند همخوانی دارد. حساسیت نسبتاً بالای اسپرماتوزوئید-ها نسبت به غلظت بالای کروم زمانی که درصد اسپرم‌های متحرک کاهش یافته بود می‌تواند به دلیل کاهش میزان ذخایر انرژی، تحلیل قدرت میتوکندریایی و ناهنجاری‌های حرکت و اختلالات متابولیسمی باشد(۲۴).

مطالعات صورت گرفته در دیگر فلز سنگین از جمله مس نشان میدهد که این فلز در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر قادر به تاثیرگذاری بر میزان تحرک اسپرم در ماهی *Dicentrarchus labrax* شده است. کادمیوم نیز در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر باعث توقف تعدادی از پارامترهای حرکتی اسپرم گربه ماهی آفریقایی(*Clarias gariepinus*) شده بود (۱۵) و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر توقف کامل را در اسپرم قزل‌آلای رنگین کمان، استورژن و استرلیاد ایجاد کرده بود. بررسی‌های صورت گرفته در مورد جیوه نیز نشان داده است که جیوه می‌تواند باعث ایجاد اختلال در مکانیزم‌های تنفسی اسپرم، قطع ارتباط سر اسپرم با قطعه‌ی میانی و در نهایت مرگ سریع آنها شود (۱۰). در بعضی از مطالعات افزایش اندازه‌ی سر اسپرم در قزل‌آلای رنگین کمان، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و گربه ماهی آفریقایی در اثر تماس با فلزات سنگین گزارش شده است (۱).

علاوه بر شاخص طول دوره تحرک اسپرماتوزوآی ماهیان- که یکی از خصوصیات مهم در لقاح موفقیت‌آمیز عنوان شده است- توجه به شاخص تراکم اسپرم‌ها و یا به عبارتی درصد اسپرم‌های متحرک، نیز می‌تواند نتایج قابل قبولی در ارزیابی کیفیت اسپرماتوزوآی ماهیان فراهم سازد(۴). همان طور که نتایج نشان داد درصد اسپرم های متحرک نیز تحت تاثیر کروم قرار گرفت و در غلظت بالا (۵ میلی‌گرم بر لیتر) بعد از گذشت ۲ ساعت انکوباسیون هیچ اسپرمی قابلیت حرکت نداشت.

اگرچه اثرات کوتاه مدت فلزات سنگین روی سیستم تولید مثلی تاس‌ماهیان در محیط طبیعی بطور دقیق مشخص نیست، اما بر اساس مطالعات صورت گرفته، با استفاده از اسپرم در شرایط آزمایشگاهی نیز می‌تواند اثرات احتمالی فلزات سنگین را روی پارامترهای حرکتی اسپرم پیش بینی کرد (۱۸). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، اهمیت جلوگیری از آلوده شدن زیستگاه‌های طبیعی تاس‌ماهیان نسبت به کروم و همچنین جلوگیری از بالا رفتن غلظت این ترکیبات در مکان‌های تولید مثلی این ماهیان، لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری صمیمانه مسئولین مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی بخصوص جناب آقای مهندس شهریاری، هم‌چنین از راهنمایی‌های جناب آقای دکتر سید علی جوهری و سرکار خانم مهندس مرضیه ابوالفتحی تشکر می‌گردد.

منابع

۱- ابراهیمی، م. بررسی تغییرات اولترامورفولوژیک فلزات سنگین کادمیوم، مس و جیوه بر اسپرم. ۱۳۸۲. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد. ۴: ۷۹-۷۰.

۲- عربی، م. ۱۳۸۳. اثرات آنتی اکسیدانی منگنز بر اسپرم انسانی تیمار شده در شرایط مختلف : مقایسه با روی ، نیکل ، و ترولوکس. مجله زیست شناسی ایران. ۴: ۳۳۱-۳۱۵.

۳- عربی، م. ۱۳۸۴. تأثیر غلظتهای مختلف از اسکوربات بر پارامترهای اسپرمی در گاو. مجله زیست شناسی ایران. ۳: ۲۰۰-۱۹۱.

۴- فداکار ماسوله، ف.، مجازی امیری، ب.، میرواقفی، ع. و نعمت اللهی، م.ع. ۱۳۹۰. بررسی اثرات مس و کادمیوم بر پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید دریای خزر *Rutilus frisii kutum* . مجله منابع طبیعی ایران. ۶۴ :۶۵-۷۴ .

5- Abascal, F.J., Cosson, J.and Fauvel, C. 2007. Characterizatio of sperm motility in sea bass: the effect of heavy metals and physicochemical variables on sperm motility. Fish Biology,70: 509-522

6- Adeyemo, OK .2001. Histological alterations observed in the liver and brain of *Clarias gariepinu* exposed to chronic sublethal dose of lead. Bull.Eur. Ass. Fish Pathol, 28: 105-114.

7- Badsha KS and Goldspink CR . 1982. Preliminary observations on the heavy metal content of four species of freshwater fish in NW England. Journal of Fish Biology, 21:251-267.

8- Billard, R. and Roubaud, P. 1985. The effects of metals and cyanide on fertilization in *rainbow trout* (Salmon gairdneri). Wat Res, 19:209–214.

9- Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., and Linhart, O. 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture, 124: 95-112.

10- Dietrich, G, J., Dietricha, M, Kowalskia, R, K., Doboszb, S, Karola, Demianowicza, W. and Glogowskia, J. 2010. Exposure of *rainbow trout* milt to mercury and cadmium alters sperm motility parameters and reproductive success. Aquatic Toxicology, 4: 277-284.

11- Farag, A. M., May, T., Marty, G.D., Easton, M., Harper, D.D., Little, E.E. and Cleveland, L. 2005. The effect of chronic chromium exposure on the health of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquatic Toxicology, 76: 246-257.

12- Gage, M. J., Macfarlane, C.P., Yeates, S., Ward. R.G. and Searle, J. B. 2004. Sper mazepine on the quality parameters and oxidative stress in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Spermatozoa Chemosphere, 80: 530–534.

13- Jezierska, B., Katarzyna, L.K. and Witeska, M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish. Fish Physiology and Biochemistr, 35 :625-640.

14- Khan, A.T. and Weis, J.S. 1987. Toxic effects of mercuric chloride on sperm and egg viability of two populations of mummichog, *Fundulus heteroclitus*. Environmental Pollution, 48: 263-273.

15- Kime , D.E., Ebrahimi, M., Nysten, K., Roelants, I., Rurangwab, E., Moore, H. D. M. and Ollevier, F. 1996. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution on sperm quality of fish; application to effects of heavy metals. Aquatic toxicology. Aquatic Toxicology, 36:223-237.

16- Kime, D.E. and Nash, J.P. 1999. Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish, The Scientific of the Total Environment, 233: 123- 129.

17- Lahnsteiner, F., Berger, B. and Weismann, T. 1999. Sperm metabolism of the teleost fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. Exp. Zool, 284: 454–465.

18- Li, Z. H., Li, P., Dzyuba, B. and Randak, T. 2010. Influence of environmental related concentrations of heavy metals on motility parameters and antioxidant responses in sturgeon sperm. Chemico-Biological Interactions, 188: 473-477.

19- Lif, H., Chenf, Q., Lif, S., Shu, X., Wangs, L., Ernst, E AND Chen, C. 2001. Effect of Cr(VI) Exposure on Sperm Quality: Human and Animal Studies. *Ann. occup. Hyg,* 45: 505-511.

20- Morisawa M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S. and Yasuda, k. 1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes, Journal of experimental zoology, 107:95-103.

21- Pratap, B.S., Vikash, S.V.S., Santosh, K.N. and Hement, K.S. 2008. Sperm motilit in the fishes of pesticide exposed and from polluted rivers of Gomti and Ganga of north India. Food and Chemical Toxicology, 46: 3764-3769.

22- Ronyai, A. and Varadi, L. 1995. The sturgeons. In Nash, C.E. and Novotny, A.J. (eds). Production of Aquatic Animals. Elsevier, Amsterdam, 95-108.

23- Turner, E., and Montgomerie, R. 2002. Ovarian fluids enhance sperm movement in Arctic charr. Journal of Fish Biology, 60: 1570-1579.

24- Van Look, K. J. W. and Kime, D.E. 2003. Automated sperm morphology analysis in fishes: the effect of mercury on *goldfish* sperm. Fish Biology, 63: 1020-1033.

A study on effect of Chromium on sperm motility of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*)

Goli S., Imanpoor M.R. and Noori G.

Fisheris Dept., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,, Gorgan, I.R. of Iran

Abstract

This study was conducted to determine the effects heavy metal of Chromium on the motility parameters of Acipenser persicus sperm in vitro. For this evaluation semen samples were collected from 10 adult male broodstocks and were transported to the Central laboratory In the vicinity of ice. Then Sturgeon sperm were exposed for 0, 2, 4, 24, 48 and 72h to Chromium at0.1 and 5 mg L^{-1} concentrations. After this times percentage off motile spermatozoa and Duration of motility measurement . The results revealed that 5 mg L^{-1} concentration of Chromium stay of motility after 2 h Incubation whiles The consentration of 0.1 mg L^{-1} Chromium significantly decreased sperm motility ($p<0.05$) in 48 and 72 h. Percentage of sperm motility significantly reduced in initial incubation and not significant at another time. In conclusion, changes of sperm motility influence the reproduction efficiency and can reduce the reproductive success.

Key words*:* Acipenser persicus, Chromium, Percentage of sperm motility, sperm motility