مقایسه اثرات تزریق هورمون‌های اواپریم، HCG و عصاره غده هیپوفیز بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax* Nikolskii, 1897 *zarudnyi*)

سمیه عرب‌نژاد[۱]، احمد قرایی[۲*]، مصطفی غفاری[۳] و عبدالعلی راهداری[۲]

[۱] زابل، دانشگاه زابل، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

[۲] زابل، دانشگاه زابل، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، گروه شیلات

[۳] چابهار، دانشگاه علوم و فنون دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۸

چکیده

کیفیت منی از عواملی است که می‌تواند میزان لقاح را تحت تاثیر قرار دهد. مطالعه خصوصیات منی برای فهم فرایندهای بیوشیمیایی که موجب حرکت اسپرم و عمل لقاح می‌گردد ضروری است. تزریق هورمون‌های مختلف می تواند روی کیفیت پارامترهای اسپرم شناختی ماهی تاثیر داشته باشد. در این پژوهش تاثیر هورمون‌های اواپریم، hCG و عصاره هیپوفیز بر برخی از خصوصیات زیست‌شناختی منی شامل شاخص‌های پلاسمای منی (ترکیبات یونی و آلی) مولدین نر ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت یون سدیم، پتاسیم، گلوکز و کلسترول در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری دارد ($p<۰/۰۵$) به گونه‌ای که بالاترین غلظت یون سدیم، پتاسیم، گلوکز و کلسترول در تیمار اواپریم وجود داشت. همچنین بین غلظت یون کلسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) به طوری که بیشترین غلظت یون کلسیم در تیمارهای اواپریم و هیپوفیز ثبت شد. برخلاف موارد ذکر شده، غلظت یون منیزیم موجود در پلاسمای اسپرم در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). بنابراین به طورکلی مشخص شد که هورمون‌های مختلف عملکرد متفاوتی روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی این ماهی دارند و هورمون اواپریم نسبت به سایر هورمون‌ها تاثیر بیشتری بر ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی ماهی سفیدک سیستان دارد.

واژه‌های کلیدی: ماهی سفیدک سیستان، اواپریم، hCG، عصاره هیپوفیز، پارامترهای بیوشیمیایی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۵۴۷۷۰۱۵، پست الکترونیکی: agharaei551@gmail.com

مقدمه

ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) متعلق به خانواده کپور ماهیان و بومی آبهای شرق کشور بوده و در ایران منحصراً در منطقه سیستان یافت می‌شود و با ارزشترین گونه اقتصادی منطقه محسوب می‌شود. در طی چند ساله اخیر به دلیل شرایط نامساعد محیطی، خشکسالی‌ها و صید بی رویه در چاه‌نیمه‌ها (یک منبع نیمه طبیعی) این گونه از نظر رشد و فیزیولوژی تولیدمثلی در معرض نابودی قرار گرفته است (۸). برای استفاده کارآمدتر روش‌های تولیدمثلی، لقاح مصنوعی، تفریخ موفق و انجماد اسپرم نیاز به منی با کیفیت خوب می‌باشد (۵). بهبود کیفیت مواد تناسلی مولدین و کنترل تولیدمثلی، کارآیی تکثیر در آبزی‌پروری را افزایش می‌دهد (۳۷،۱۱). در بسیاری از ماهیان اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و تخم‌ریزی در شرایط اسارت به صورت کامل صورت نمی‌گیرد و تزریق

هورمون برای القای تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی و همزمانی آزاد سازی گامتها در کارگاههای تکثیر و پرورش ماهی امری ضروری می‌باشد (۳۸). در ماهیان پرورشی، القای هورمونی به عنوان ابزار مدیریتی برای افزایش همزمان سازی بلوغ تخمک و اسپرم‌ریزی در تسهیل عملکرد تفریخگاه‌ها بکار می‌رود (۲۷). تزریق هورمون‌های مختلف به ماهیان می‌تواند روی کیفیت پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهیان اثر داشته باشد به گونه‌ای که در برخی موارد کیفیت آن را افزایش دهد (۲۰) GnRHa (آنالوگ هورمون آزادکننده گنادوتروپین) از دسته هورمونهای پپتیدی است که تاثیر بسیار زیادی روی رهاسازی هورمونهای گنادوتروپین (GTHs) دارد (۳۵). غده هیپوفیز هورمونهای گنادوتروپین GTHs را تولید و ذخیره می‌کند و نقش اصلی در اوولاسیون و اسپرم‌ریزی دارد، این هورمون بطور گسترده جهت القای تولیدمثل در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد، که به طور موثری عمل اسپرم‌ریزی را در کپورماهیان تحریک می‌کند (۳۸). در میان گنادوتروپین‌های انسانی (hCG) اثر بسزایی در القای اسپرم‌ریزی در ماهیان دارد (۲۹). سمن از اسپرماتوزوا و پلاسمای منی تشکیل شده است. پلاسمای منی دارای ترکیباتی می‌باشد که برخی از این ترکیبات از اسپرماتوزوا حفاظت می‌کند، در حالی که برخی دیگر از این ترکیبات در تکثیر اسپرم نقش دارند و رابط بین سیستم تولیدمثلی و اسپرماتوزوا هستند (۱۴). مایع منی دارای یونها و مواد غذایی بسیار غنی است که برخی از آنها برای بقاء و نگهداری کیفیت اسپرم هنگام غیرفعال بودن آن در دستگاه تناسلی مهم می‌باشد. عوامل محیطی خارجی می‌توانند روی کیفیت و حرکت اسپرم اثر بگذارند. عواملی نظیر pH یا یونهای موجود می‌توانند باعث پلاریزاسیون غشای سلولی و باعث تحرک اسپرم ماهیان شوند (۲۶).

کاتیون‌ها از قبیل سدیم و پتاسیم در پلاسمای منی نیز باعث ایجاد یک تعادل اسمزی می‌شود. بنابراین ارزیابی ترکیبات بیوشیمیایی پلاسمای منی یک معیار مهم برای دستیابی به کیفیت منی است (۱۱). کیفیت منی ممکن است در بین افراد یک گونه تغییرات قابل توجهی داشته باشد (۲۸). مخصوصاً در گونه‌های پرورش یافته وابسته به فاکتورهای خارجی گوناگون از قبیل رژیم غذایی، کیفیت غذا، درجه حرارت محیط پرورش و فصل تکثیر می‌باشد (۳۰). در آبزی‌پروری مدرن، ارزیابی کیفیت منی یکی از تحقیقات کاربردی و جالب جهت سنجش لقاح مصنوعی می‌باشد که البته با توجه به اهمیت موضوع، تحقیقات اندکی در این زمینه انجام شده است (۴). لذا این تحقیق جهت بررسی اثرات هورمون‌های Ovaprim، عصاره هیپوفیز و hCG روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای منی (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گلوکز و کلسترول) در مولدین نر ماهی شیزوتوراکس زارودنی صورت گرفت.

مواد و روشها

این تحقیق در اسفندماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی بومی زهک صورت گرفت. تعداد ۲۰ مولد نر ماهی شیزوتوراکس زارودنی (با میانگین طولی ۴۱/۸۲±۵/۳۹ سانتی‌متر و میانگین وزنی ۷۸۴/۷۰±۷۷/۹۲ گرم) تهیه شدند. ماهیان به چهار تیمار هیپوفیز (تیمار اول)، اواپریم (تیماردوم)، hCG (تیمارسوم) و شاهد (تیمارچهارم) تقسیم شدند. در هر تیمار ۵ مولد نر ماهی شیزوتوراکس زارودنی تزریق شدند. به ماهیان گروه شاهد تنها سرم فیزیولوژی تزریق شد. به گروه اول عصاره هیپوفیز به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به گروه دوم هورمون اواپریم به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه سوم hCG به میزان ۴۰۰ واحد بین المللی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در قاعده باله سینه‌ای و در عضله زیر باله پشتی (۹) تزریق گردید (۱۸). پس از گذشت ۱۲ ساعت از تزریق با hCG و ۲۴ ساعت از تزریق با اواپریم و عصاره هیپوفیز، نمونه‌های منی بعد از خشک کردن منفذ تناسلی بدون اینکه با آب، ادرار و یا خون آلوده شوند، جمع‌آوری شدند. بعد از اطمینان از

فعال بودن اسپرم، نمونه‌های جمع‌آوری شده در سرنگ‌های استریل و در مجاورت هوا بوسیله فلاسک محتوی یخ، در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی بومی زهک منتقل شدند (۳۳). نمونه‌های منی جمع‌آوری شده به مدت۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند بعد از سانتریفیوژ، پلاسمای منی که در قسمت بالای ویال قرار گرفته بود به درون ویال‌های جدید انتقال یافتند و سپس برای اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۷).

یون‌های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فیلم فتومتر (Elico-CL 361) اندازه‌گیری شدند و اندازه‌گیری یون کلسیم، منیزیم، گلوکز و کلسترول به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (2100-UV/VIS) و با استفاده از کمیتهای کمی پارامترهای بیوشیمیایی سرم یا پلاسما شرکت پارس آزمون مطابق جداول ۱، ۲ و ۳ استفاده شد (۳۳،۷).

اندازه گیری یون کلسیم(طول موج ۵۷۵ نانومتر):

جدول ۱- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه-گیری غلظت یون کلسیم پلاسمای منی

عامل	نمونه(میکرولیتر)	استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
پلاسمای منی	۲۰	—	—
استاندارد	—	۲۰	—
معرف مخلوط شده۱و۲	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

۸ × (جذب استاندارد / جذب نمونه) = غلظت کلسیم پلاسمای منی

اندازه‌گیری یون منیزیم (طول موج ۵۲۰ نانومتر):

جدول ۲- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه-گیری یون منیزیم پلاسمای منی

عامل	نمونه(میکرولیتر)	استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
پلاسمای منی	۱۰	—	—
استاندارد	—	۱۰	—
معرف رنگزا	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

۲ × (جذب استاندارد / جذب نمونه) = غلظت منیزیم پلاسمای منی

اندازه‌گیری غلظت گلوکز و کلسترول (طول موج ۵۴۶ نانومتر):

جدول ۳- روش آماده کردن نمونه، شاهد و استاندارد جهت اندازه-گیری گلوکز و کلسترول پلاسمای منی

عامل	نمونه یا استاندارد (میکرولیتر)	شاهد (میکرولیتر)
پلاسمای منی	۱۰	—
آب مقطر	—	۱۰
معرف	۱۰۰۰	۱۰۰۰

جذب / جذب نمونه) = غلظت گلوکز پلاسمای منی ۱۰۰× (استاندارد

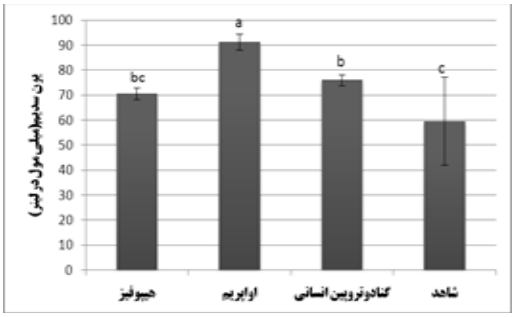
۲۰۰× (جذب استاندارد / جذب نمونه) = غلظت کلسترول پلاسمای منی

در نهایت جهت مقایسه بین تیمارها پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و به منظور مقایسه بین میانگین‌ها در چهار گروه تزریق عصاره هیپوفیز، هورمون اواپریم، hCG و شاهد از آزمون دانکن[1] در سطح ۹۵ درصد اطمینان در محیط نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

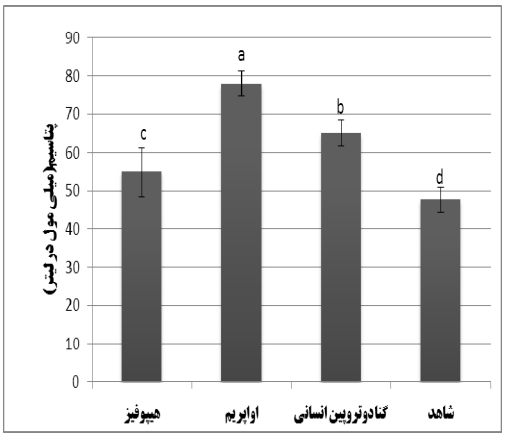
نتایج اندازه‌گیری پارامترهای ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی ماهی شیزوتوراکس زارودنی نشان داد که بین میانگین میزان یون سدیم در بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی شیزوتوراکس اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بطوریکه حداکثر میزان آن در تیمار اواپریم ثبت شد. (نمودار۱).

نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که میزان یون پتاسیم در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد بطوریکه حداکثر میزان پتاسیم در تیمار اواپریم (۷۸/۰۰±۳/۴۳ میلی‌مول در لیتر) اندازه‌گیری شده است (نمودار ۲).



شکل ۱- نمودار مربوط به مقایسه میانگین ± SD غلظت یون سدیم در بین تیمارهای مختلف

حروف انگلیسی همنام بالای نمودارها به معنی نبود اختلاف معنادار و حروف غیرهمنام به معنی اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است

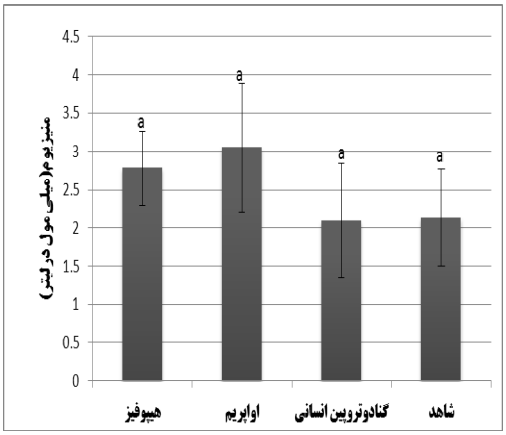


شکل ۲- نمودار مربوط به مقایسه میانگین± SD غلظت یون پتاسیم در بین تیمارهای مختلف

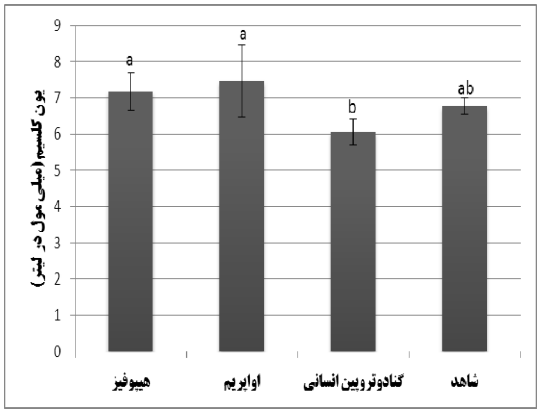
حروف انگلیسی همنام بالای نمودارها به معنی نبود اختلاف معنادار و حروف غیرهمنام به معنی اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است

مطابق نمودار۳ بین میزان یون منیزیم در بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی شیزوتوراکس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما بیشترین میزان آن در تیمار اواپریم ثبت شد.

بین تیمارهای مختلف در میزان یون کلسیم، اختلاف معنی-داری مشاهده شد بطوریکه بیشترین میزان یون کلسیم در گروه تیمار با اواپریم و هیپوفیز (به ترتیب ۰/۹۹±۷/۴۶ و ۰/۵۱±۷/۱۷ میلی مول در لیتر) ثبت شد (نمودار ۴).



شکل ۳- نمودار مربوط به مقایسه میانگین ± SD غلظت یون منیزیم در بین تیمارهای مختلف



شکل ۴- نمودار مربوط به مقایسه میانگین ± SD غلظت یون کلسیم در بین تیمارهای مختلف

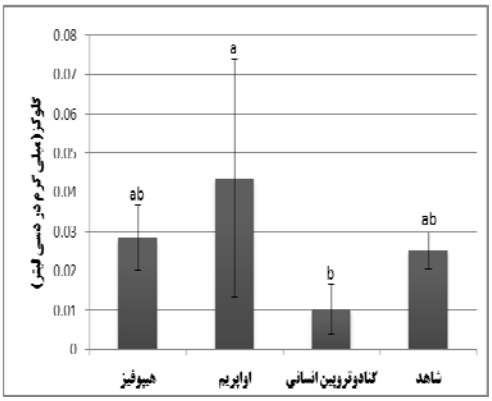
حروف انگلیسی همنام بالای نمودارها به معنی نبود اختلاف معنادار و حروف غیرهمنام به معنی اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است

همچنین نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که بین تیمارهای مختلف در میزان گلوکز و کلسترول اختلاف معنی‌داری وجود دارد و بیشترین میزان گلوکز و کلسترول در گروه تیمار با اواپریم (به ترتیب ۰/۰۳±۰/۰۴۳ میلی‌گرم بر دسی لیتر و۰/۰۳±۰/۰۷۳ میلی‌گرم بر دسی لیتر) ثبت شد (نمودارهای ۵ و ۶).

بحث

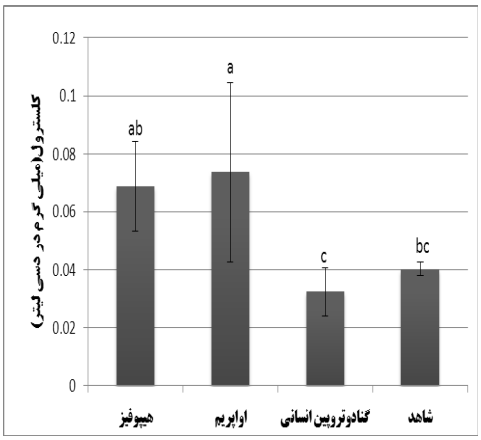
مطالعه روی شاخص‌های منی برای فهم فرایندهای بیوشیمیایی در طی حرکت اسپرماتوزوا و لقاح، ارزیابی

توانایی تولیدمثل در گونه‌های مختلف ماهی و بهبود روشهای نگهداری کوتاه‌مدت و بلندمدت منی ماهیان ضروری می‌باشد (۶).



شکل ۵- نمودار مربوط به مقایسه میانگین± SD غلظت گلوکز در بین تیمارهای مختلف

حروف انگلیسی همنام بالای نمودارها به معنی نبود اختلاف معنادار و حروف غیرهمنام به معنی اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است



شکل ۶- نمودار مربوط به مقایسه میانگین ± SD غلظت کلسترول در بین تیمارهای مختلف

حروف انگلیسی همنام بالای نمودارها به معنی نبود اختلاف معنادار و حروف غیرهمنام به معنی اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است

مطالعه حاضر نشان داد که هورمون‌های اواپریم و عصاره هیپوفیز تاثیر معنی‌داری روی پارامترهای شیمیایی پلاسمای منی ماهی شیزوتوراکس دارند. در شرایط اسارت استفاده از هورمونها جهت فرآیند تولیدمثل به طور معنی‌داری در افزایش سطح ۱۷ آلفا–۲۰ بتا–دی هیدروکسی پروژسترون دخالت دارند (۱۲). Zheng و همکاران (۱۹۹۷)، گزارش کردند که استفاده از هورمون ۱۷ آلفا– ۲۰ بتا–دی هیدروکسی پروژسترون بصورت معنی‌داری باعث تغییر در ترکیبات پلاسمای منی ماهی قرمز می‌شود (۳۹). نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون اواپریم به صورت معنی‌داری باعث افزایش غلظت یون سدیم می‌شود که با مطالعه زادمجید و همکاران (۱۳۸۸) همخوانی دارد (۳). این محققین گزارش کردند که استفاده از هورمون GnRHa و hCG به صورت معنی‌داری باعث افزایش غلظت یون سدیم مایع سمینال در ماهی قرمز می‌شود. هورمون اواپریم از طریق افزایش هورمون ۱۷ آلفا– ۲۰ بتا دی هیدروکسی پروژسترون باعث تغییر در غلظت یون سدیم می‌شود (۳۹). همچنین تحقیق صورت گرفته نشان داده که تزریق هورمون GnRHa باعث افزایش غلظت هورمون آندروژن و در نهایت تغییر در ترکیبات اسپرم در گونه کفشک زرد باله (*Pleuronectes ferruineus*) می‌شود (۱۵). یون سدیم یکی از یونهای غالب در پلاسمای منی است (۷). بین غلظت پتاسیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بالاترین مقدار یون پتاسیم در گروه اواپریم ثبت شد (۳/۴۳±۷۸/۰۰ میلی‌مول‌درلیتر). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که غلظت یون پتاسیم در مایع منی ماهی شیزوتوراکس نسبت به سایر ماهیان همچون آزادماهیان و ماهیان خاویاری (به ترتیب ۴/۵±۳۰/۴ و ۰/۳±۲/۵ میلی مول‌درلیتر)، در مطالعه مروری صورت گرفته توسط Alaviو Cosson (۲۰۰۶) بالاتر می باشد (۶). این یافته‌ها تنوع بین گونه‌ای و درون گونه‌ای وسیعی را در مورد ترکیبات یونی مایع منی نشان می‌دهد (۱۱)، و تفاوت در ترکیبات پلاسمای منی عمدتاً بواسطه تفاوت در ترشحات بیضه در گونه‌های مختلف است (۲). مطالعه مکانیسم هورمونی تحرک اسپرم در آزادماهیان نشان داده که هورمون گنادوتروپین به طور مستقیم سبب ترشح پتاسیم به داخل مایع منی می‌شود در نتیجه این انتقال یونی فعال مایع اسپرمی مقدار پتاسیم افزایش می‌یابد که این سبب حفظ

اسپرم به صورت غیر فعال تا زمان آزاد شدن آن در محیط خارج از بدن و آب می‌شود (۲۲). هیپرپلاریزه شدن غشاء که توسط خروج یون پتاسیم از غشای پلاسمایی ایجاد می-شود دلیل اصلی آغاز تحرک اسپرم در بعضی از گونه‌ها مانند آزاد ماهیان می‌باشد (۱۹) مطالعات اخیر نشان داده که دامنه بازدارندگی تحرک اسپرم بوسیله یون پتاسیم از ابتدا تا پایان دوره تکثیر تغییر می‌کند و درصد بالایی از اسپرم‌ها حتی در حضور غلظت‌های بالایی از یون پتاسیم (۴۰، ۸۰ میلی‌مول) قادر به حرکت هستند (۱۰). اختلاف غلظت یون پتاسیم بین آب و پلاسمای منی آغازکننده حرکت اسپرم است (۲۵). در تحقیق حاضر غلظت یون منیزیم در گروه اواپریم بیشتر از سایر گروه‌ها بود، اما اختلاف معنی-داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد که با مطالعه Seifi و همکاران (۲۰۱۱) (۳۱) همخوانی دارد. اطلاعات کمی در مورد اثر یون منیزیم بر تحرک اسپرم در ماهیان استخوانی وجود دارد (۱۶). Scheuring در سال ۱۹۲۵ گزارش داد که یونهایی مانند سدیم، کلسیم و منیزیم اثر بازدارندگی یون پتاسیم را خنثی کرده و کاتیونهای دو ظرفیتی نسبت به سدیم بسیار موثرترند (۳۱). تاثیر یونهای پلاسمای منی در حفظ تحرک اسپرم خصوصاً یونهای منیزیم، سدیم و pH نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد. در مطالعه حاضر بالاترین میزان غلظت یون کلسیم در تیمار اواپریم و هیپوفیز مشاهده شد.

اغلب کاتیون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم اثر آنتاگونیستی برای جلوگیری از تاثیر یون پتاسیم بر تحرک اسپرم دارند (۷). مطالعات متعددی نقش میلی‌مولار کلسیم را در افزایش پارامترهای حرکتی اسپرم شامل کل دوره تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک و سرعت حرکت اسپرم نشان داده‌اند (۱۷). با مطالعه ترکیبات پلاسمای منی اطلاعاتی درباره مکانیسم تنظیم کنندگی رفتار و تحرک اسپرم درک خواهد شد (۶). ترکیبات پلاسمای منی تاثیر بسیار مهمی بر ماهیانی که دارای لقاح خارجی‌اند دارد (۲۴). همچنین ممکن است ترکیبات یونی در فصل تکثیر تغییر کنند (۷). کم شدن حجم منی یکی از دلایل تغییر غلظت‌های یونی در کپورمعمولی و قزل‌آلای رنگین کمان در طی فصل تخم‌ریزی می‌باشد (۲۳). Morisawa و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که غلظت پتاسیمی که جهت جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است بستگی به غلظت یون سدیم دارد اگر غلظت سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بیشتری برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است (۲۵). در تحقیق حاضر نیز غلظت سدیم و پتاسیم بالا بود. بیشتر این یون‌ها بسته به غلظتشان از طریق دخالت در ترکیبات یونی درون سلولی یا از طریق فشار اسمزی خود در تنظیم تحرک اسپرم دخالت دارد (۱۰). باغفلکی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که رابطه مثبتی و معنی‌داری بین طول دوره حرکت اسپرماتوزوا با میزان یون سدیم در فیل ماهی وجود دارد (۲). همچنین ایمانپور و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که نسبتهای یونی نقش غیرقابل انکاری روی کیفیت اسپرم ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) دارد (۱). تعادل یونی در پلاسمای منی برای بلوغ اسپرم، بی تحرک نگهداشتن آن در بیضه‌ها و مجرای اسپرم بر و حفظ تحرک کافی در زمان ورود به محیط آب حائز اهمیت است (۲۴). درصد بالای اسپرم‌های متحرک می‌تواند در نتیجه بالا بودن یون‌های سدیم و پتاسیم باشد که نشان دهنده کیفیت بالای اسپرم ماهی است، به طوری که Secer و همکاران ۲۰۰۴ نشان دادند بین درصد اسپرم‌های متحرک با یون‌های سدیم و پتاسیم ارتباط مستقیمی وجود دارد به گونه‌ای که پایین بودن غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم باعث کاهش درصد اسپرم‌های متحرک و در نتیجه کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۳۳). طبق نتایج این تحقیق بیشترین مقدار گلوکز و کلسترول در تیمار اواپریم مشاهده شد که اختلاف معنی-داری با دیگر گروه‌ها داشت. اطلاعات کمی درباره نقش کلسترول در پلاسمای منی ماهیان وجود دارد. وقتی که منی رهاسازی می‌شود. کلسترول ممکن است اثر حفاظتی در مقابل تغییرات محیطی مخصوصاً درجه حرارت داشته

باشد (۱۳). وجود گلوکز در پلاسمای منی ماهیان به انرژی زیاد مصرفی بیضه‌ها در طی تولید اسپرماتوزوا یا تولید لپید اسپرماتوزوا مرتبط می‌باشد (۳۴). گلوکز یک پارامتر بیوشیمیایی مهم است زیرا از غشای اسپرماتوزوا حمایت می‌کند و به عنوان یک حمایت کننده خارجی مناسب بکار می‌رود (۲۱). مطالعه Verma و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داده که تزریق هورمون اواپریم باعث تغییرات معنی-داری در پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای منی کپور مریگال (*Cirrhinus mrigala*) شده است (۳۶). همچنین نتایج مطالعه Seifi و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده که تزریق هورمون اواپریم باعث تغییر در ترکیبات پلاسمای منی ماهی کپور معمولی شده است (۳۲). هورمون اواپریم از طریق تاثیر بر ترشح ۱۷ آلفا – ۲۰ بتا دی هیدروکسی پروژسترون باعث تغییرات معنی‌داری در ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی می‌شود (۳۹). در این تحقیق نیز مشاهده گردید که هورمون‌های مختلف عملکرد متفاوتی روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی ماهی شیزوتوراکس دارند بطوری که هورمون اواپریم نسبت به سایر هورمون‌ها تاثیر بیشتری روی ترکیبات شیمیایی پلاسمای منی ماهی شیزوتوراکس زارودنی داشت.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی بومی زهک و آزمایشگاه پژوهشکده تالاب هامون به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایی‌های لازم در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. ایمانپور، م. ر.، نوذری، ز.، و کردجزی، م.، ۱۳۹۲. روند تغییرات نسبتهای یونی مایع منی تحت تاثیر مکان مهاجرت مولدین ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* kamensky 1901). مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۶، شماره۱، ص ۱۱۸-۱۱۱.

۲. باغفلکی، م.، شالویی، ف.، و ایمانپور، م. ر.، ۱۳۸۸. رابطه بین برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم‌شناختی منی فیل ماهی (*Huso huso* linnaeus) در حوضه جنوب شرقی دریایی خزر. مجله زیست شناسی ایران، جلد۲۲، شماره۲، ص ۳۲۰-۳۱۲.

۳. زادمجید، و.، ایمانپور، م. ر.، سوداگر، م.، و شعبانی، ع.، ۱۳۸۸. اثرات تزریق هورمون‌های GnRH، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)*. مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۲، شماره ۲، ص ۳۴۲-۳۳۳.

4. Aas, G. H., Refstie, T., and Gjerde, B.,1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95, PP:125-132.

5. Agarwal, N. K., and Raghuvanshi, S. K., 2009. Spermatocrit and sperm density in snow trout (*Schizothorax richardsonii*): Correlation and variation during the breeding season. *Aquaculture*, 291, PP:61–64.

6. Alavi, S. M. H., and Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. (II) Efects of ions and osmolality: a review. *Cell Biology International*, 30, PP:1-14.

7. Alavi, S. M. H., Mojazi, A. B., Cosson, J., Karami, M., Pourkazemi, M., and Akhoundzadeh, M. A., 2006. Determination of some seminal plasms indices,sperm density and motility in the Persian sturgeon Acipenser persicus. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 5(2), PP: 19-40.

8. Aquculture development in Sistan-Baluchestan Project financed by Italian Cooperation, Italian Ministry of Foreign Affairs, 2006. Technical report, Artificial reproduction of *Schizothorax zarudnyi*, methodological approach, Zabol/Zahedan.

9. Battaglene, S. C., and Talbot, R. B., 1994. Hormone injection and larval rearing of muloway Argvrosomus hololepidotus (Pisces: Sciaenidae). *Aquaculture*, 129, PP: 73-81.

10. Billard, R., and Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwaterfish, *Journal of Experient Zoo*logy, 261, PP: 122-131.

11. Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., and Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129, PP: 95-112.

12. Bjerselius, R., Olsen, K. H., and Zheng, W., 1995. Endocrine, gonadal and behavioral responses of male crucian carp *Carassius carassius* to the hormonal pheromone 17, 20-dihydroxy-4- pregnen-3-one .*Chemical Siences,* 20, PP:221-230.

13. Bozkurt, Y., Ogretmen, F., Ercin, U., Yıldız, U., 2008. Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: with emphasis on sperm motility. *Aquaculture Research*, 39, PP: 1666–1672.

14. Ciereszko, A., Glogowski, J., and Dabrowski, K., 2000. Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes. In: Cryopreservation in Aquatic Species (ed. By Tiersch, T.R. and Mazik, P.M.).*World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA, USA, PP: 20-48

15. Clearwater, S. J., and Crim, L. W., 1998. Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). *Fish Physiology Biochemical,* 19, PP: 349–357.

16. Cosson, J., Billard, R., Gibert, C., Dreanno, C., and Suquet, M., 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. Gagnon., C., (Ed). In the male gamete. From basic to clinical application, Cache Rive Press, PP: 161-186.

17. Cosson, J., 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International.*12, PP: 69-85.

18. Gharaei, A., Rahdari, A., and Ghaffari, M., 2011. Induced Spawning of *Schizothorax zarudnyi* (Cyprinidae) By Using Synthetic Hormones (Ovaprim and HCG). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(6), PP: 518-522.

19. Kho, K. H., Tanimoto, S., Inaba, K., Oka, Y., and Morisawa, M., 2001. Transmembrane cell signaling for the initation of trout sperm motility roles of ion channels and membrane hyperpolarization for cyclic AMP synthesis. *Zoology Sciences,* 18, PP: 919-928.

20. Lim, H. K., Pankhurst, N. W., and Fitzgibbon, Q. P., 2004. Effects of slow release gonadotropin releasing hormone analog on milt characteristics and plasma levels of gonadal steroids in greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*). *Aquaculture,* 240, PP: 505–516.

21. Maisse, G., 1996. Cryopreservation of fish semen: a review. Proceedings of the Refrigeration Science and Technology Conference, Refrigeration and Aquaculture. Institute International du Froid, Paris, France, PP: 443-467.

22. Marshall, W. S., Bryson, S. E., and Idler, D. R., 1993. Gonadotropin action on brook trout sperm duct epithelium ion transport stimulation mediated by cAMP and calcium. *Gen Comprative Endocrinal*, 90. PP: 232- 43.

23. Morisawa, M., Hirano, T., and Suzuki, K., 1979. Changes in blood and seminal plasma composition of the mature salmon, *O. keta*, during adaptation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 64. PP: 325 .329.

24. Morisawa, M., and Suzuki, K., 1980. Osmolality and potassium ions: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science,* 210. PP: 1145–1147.

25. 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. *Journal Experient Zoology*, 107. PP: 95-103.

26. 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 Knowledge to Clinical Applications, Cache River press, Vienna, USA, PP: 149-160.

27. Mylonas, C. C., Fostier, A., and Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *Journal General Comparative Endocrinology*, 165. PP: 516-534.

28. Piironen, J., 1985. Variation in the properties of milt from the Finnish landlocked salmon (*Salmo salarn*) during the spawning season. *Aquaculture*, 48. PP: 337–350.

29. Roberta, S., Loredana, Z., Sebastiano, V., and Christian, F., 2006. Human chorionic gonadotropininduces spermatogenesis and spermiation in 1- year – old European sea bass (*Dicentrarch slabrax*): Assessment of sperm quality. *Journal Aquaculture Research*, 255. PP: 522-531.

30. Rurangwa, E., Kime, D. E., Olllevier, F., and Nash, J. P., 2004. The measurement of sperm

motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture,* 234. PP: 1-28.

31. Scheuring, L., 1925. Biologische und physiologische untersuchungen am Forellen-sperma. Arch Hydrobiology, 4. PP:187-318 .

32. Seifi, T., Imanpoor, M. R., and Golpour, A., 2011. The Effect of Different Hormonal Treatments on Semen Quality Parameters in Cultured and Wild Carp. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 11. PP: 595-602.

33. Secer, S., Tekin, N., and Bozkurt, Y., 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus my*kiss). Bamidgeh. 56(4), PP: 274-280.

34. Soengas, J. L., Sanmartin, B., Barrciela, P., Aldegunde, M., and Rozas, G., 1993. Changes in carbohydrate metabolism in domesticated rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* related spermatogenesis. *Comptetive Biochemical Physiology*, 105. PP: 665-67.

35. Vermeirssen, E. L. M., Scott, A. P., Mylonas, C. C., and Zohar, Y., 2000. Gonadotrophin-releasing hormone agoniststimulates milt fluidity and plasma concentrations of 7,20h-dihydroxylated and 5h-reduced, 3a-hydroxylatedC21 steroids in male plaice (*Pleuronectes platessa*). *General Comparative Endocrinol*ogy, 112. PP: 163–177.

36. Verma, D. K., Routray, P., Nanda, P. K., and Sarangi, N., 2009. Seasonal variation in semen: characteristics and biochemical composition of seminal plasma of mrigal, *Cirrhinus mrigala. Asian Fisheries Science*, 22. PP: 429-443.

37. Yaron, Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129. PP: 49-73.

38. Zohar, Y., and Mylonas, C. C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture,* 197. PP: 99–136.

39. Zheng, W., Strobeck, C., and Stacey, N. E., 1997. The steroid pheromone -17-20-idhydroxy-4- pregnen-3-one increases fertility and paternity in goldfish. *Journal Experient Biology*, 200. PP: 2833-2840.

The effects of Ovaprim, hCG and pituitary extract on biochemical parameters of seminal plasma in the Snow trout (*Schizothorax zarudny* Nikolskii, 1897)

Arabnejad S.[1], Gharaei A.[2], Ghaffari M.[3] and Rahdari A.[2]

[1] **Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran**

[2] **Fisheries Dept., Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran**

[3] **Fisheries Dept., Chabahar Maritime University, Chabahar, I.R. of Iran**

Abstract

Quality seminal is affected by amount of fertilizes. Studying seminal characteristic is essential to understand about biochemical process of sperm motility, injection hormonal can affected sperm parameters of fish. In this study, the effects of hormonal Ovaprim, HCG and pituitary extract injection on biochemical parameters of seminal plasma (Na^+, K^+, Ca^+, Mg^{2+}, cholesterol and glucose) in snow trout (*Schizothorax zarudnyi*) males were compared. The results showed that there were a significant difference of seminal plasma Na^+, K^+, glucose and cholesterol among treatments ($P<0.05$). As the highest value of Na^+, K^+, glucose and cholesterol observed in ovaprim treatment. Likewise there was a highly significant difference of seminal plasma Ca^+ among treatments ($P<0.05$), as the highest value of Ca^+ observed in ovaprim and pituitary extract treatments. The results showed that there were no significant difference in Mg^{2+} among treatments ($P>0.05$). The present study demonstrated that ovaprim, HCG and pituitary extract have different effects on biochemical parameters of seminal plasma in snow trout, and ovaprim has more effects on biochemical parameters of sperm than HCG and pituitary extract.

Key words: *Schizothorax zarudnyi*, Ovaprim, HCG, Pituitary extract, Biochemical parameters.