ترکیبات بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهی سفید جنوب دریای خزر (*Rutilus frisii kutum* Kamensky, 1901) و تاثیر آن روی خصوصیات حرکتی اسپرم

محمد رضا ایمانپور، مریم اسفندیاری ملکی و سمیه پاکروان*

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

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۱۴

چکیده

برخی شاخص‌های بیوشیمیایی مایع تخمدانی شامل ترکیبات یونی، آلی و اسمولاریته در ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) رودخانه تجن مورد بررسی قرار گرفت. تحرک اسپرماتوزوآی ماهی سفید در درصدهای مختلف (۰، ۳۳، ۵۰، ۶۷، ۷۵، ۸۰، ۸۵) مایع تخمدانی بررسی شد. مایع تخمدانی حاوی ۱۴/۳۳±۹۸/۳۵ میلی‌مول در لیتر سدیم، ۱/۸۱±۷/۲۲ میلی‌مول در لیتر منیزیم، ۲/۲۹±۸/۰۸ میلی‌مول در لیتر پتاسیم، ۱۷۱/۶۰±۶۱۹/۶۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کلسترول، ۲/۶۴±۹/۷۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کلسیم، ۴/۱۵±۱۳/۵۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر پروتئین، ۷۰/۲۶±۳۵۹/۴۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گلوکز بود. دامنه pH مایع تخمدانی ۰/۴±۷/۷۱ و دامنه اسمولاریته ۲۲/۱۰± ۲۳۷/۵۷ میلی‌اسمول بر کیلوگرم بود. زمانی که اسپرم ماهی سفید در مایع تخمدانی ۳۳ و ۵۰ درصد رقیق شد، اسپرم‌ها بالاترین تحرک را داشتند اما در نسبت‌های بالای ۵۰ درصد، اسپرم‌ها بی‌حرکت باقی ماندند. طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآی متحرک در نسبت‌های بیشتر از ۵۰ درصد بطور چشمگیری کاهش یافت. بطور کلی حرکت اسپرم ماهی سفید تحت تاثیر غلظت بالای یون سدیم، اسمولاریته و گلوکز می‌باشد.

واژه های کلیدی: ماهی سفید دریای خزر، مایع تخمدانی، خصوصیات حرکتی اسپرم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۸۴۲۲۰۰۱۷ ، پست الکترونیکی: pacravan@yahoo.com

مقدمه

ماهی سفید با نام علمی *Rutilus frisii kutum* از خانواده کپورماهیان بوده و یکی از مهمترین و با ارزش‌ترین ماهیان استخوانی، تجاری و اقتصادی دریای خزر به شمار می‌رود (۱۷). این ماهی بومی دریای خزر بوده و زیستگاه اصلی آن بخش جنوبی دریای خزر بخصوص سواحل ایران می باشد (۲). با توجه به از بین رفتن بسیاری از زیستگاه-های طبیعی که به دلیل سد سازی و دیگر دخالت های انسانی بوجود آمده، به تولید و پرورش مصنوعی این ماهی نیازمندیم (۵). به همین دلیل بازسازی ذخایر ماهی سفید در دریای خزر با تکثیر مصنوعی انبوه و پرورش بچه ماهیان سفید در استخرهای خاکی از سال ۱۳۶۱ آغاز شده است (۲). علیرغم اینکه سالهاست می‌دانیم مایع تخمدانی بر روی حرکت اسپرم در ماهیان موثر می‌باشد، اما مطالعات اندکی در مورد این اثر صورت گرفته است (۲۶). گامت ماهیان دارای لقاح خارجی از قبیل آزاد ماهیان، به طور همزمان در آب‌های شیرین یا شور در طی عمل تخم ریزی رها می‌شوند (۱۸). آغاز تحرک اسپرم در آزاد ماهیان در نتیجه کاهش غلظت یون k^+ بیرونی در زمان تماس اسپرم با آب شیرین است (۲۵). بدلیل کوتاه بودن دوره تحرک اسپرم و بسته شدن دهانه میکروپیل پس از عمل لقاح که تنها یک دقیقه طول می‌کشد (۱۱)، انتظار می‌رود خصوصیات مایع تخمدانی و سمن نقش مهمی در فرایند لقاح داشته باشند. آغاز حرکت اسپرم، سرعت حرکت و زمان حرکت رو به جلوی اسپرم ممکن است تحت تاثیر

غلظت یون‌ها، pH (۲۷، ۲۸)، ویسکوزیته (۹، ۲۲) و سایر ترکیبات واسطه‌ای بیرونی باشد (۳۰) که اسپرم در نزدیک شدن به تخم با آن مواجه می‌شود. در آزاد ماهیان، مایع تخمدانی ۳۰-۱۰٪ کل حجم تخمک را تشکیل می‌دهد (۲۳) و حاوی مواد مغذی مختلف، متابولیت‌ها و هورمون-هاست (۱۷، ۲۳). در برخی گونه‌های ماهیان تلئوست، درصد سلول‌های متحرک و دوره تحرک اسپرم با کاهش مقادیر K^+ و افزایش یون Na^+ و اسمولاریته مایع تخمدانی افزایش می‌یابد (۳). مایع تخمدانی در ماهیان خاویاری عامل بازدارنده تحرک اسپرماتوزوآ بوده و به همین دلیل در هنگام لقاح مایع تخمدانی را از تخمکها جدا می‌کنند (۱۳). مایعی که همراه تخمک‌ها خارج می‌شود یا در مجرای تناسلی ماده وجود دارد تاثیر متفاوتی روی اسپرماتوزوآ در گونه‌های مختلف جانوری دارد (۱۵). در قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۱۰، ۳۰)، ماهی چار قطب شمال (*Salvelinus alpinus*) (۱۴)، گرگ ماهی(*Anarhichas minor*) (۱۹)، ماهی اسکولپین (*Alcichthys alcicorns*) (۲۰) و گیلبرت ایرلندی (*Hemilepidotus gilbrt*) (۱۶) مایع تخمدانی باعث افزایش تحرک اسپرماتوزوا می‌شود. در آزادماهیان و اغلب ماهیان استخوانی (۱۱) اسپرماتوزوآ در بیضه فعال نیست و محققین بر این باورند که اسپرم ها عمدتا توسط رقیق شدن یون پتاسیم در مایع سمینال تحریک می‌شوند. علاوه بر آن تحرک اسپرم‌ها همچنین تحت تاثیر سایر کاتیون‌ها از قبیل سدیم و کلسیم (۲۷) در مایع تخمدانی می‌باشد. گذشته از آن، غلظت یون‌ها در مایع سمینال قبل از تخم‌ریزی ممکن است تحرک اسپرم را به دنبال رهاسازی آن‌ها با تغییر ترکیب یونی درون سلولی،pH یا اسمولاریته (۱۲، ۲۶) تحت تاثیر قرار دهند. این بررسی با توجه به اهمیت مطالعه روی مایع تخمدانی و تاثیر آن بر خصوصیات حرکتی اسپرم، ترکیبات آلی (کلسترول، گلوکز و پروتئین) و یونی (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) مایع تخمدانی در ماهی سفید مهاجر به رودخانه تجن اندازه‌گیری و پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ در درصدهای مختلف از مایع تخمدانی، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روشها

منی ۱۰ مولد نر با میانگین (± انحراف معیار) وزن ۸۱۵±۱۳۷/۵۴ گرم و میانگین (± انحراف معیار) طول کل ۴۲/۴±۲/۹۹ سانتی‌متر و ۱۰ نمونه مایع تخمدانی از مولدین ماده با میانگین (± انحراف معیار) وزن ۱۰۱۰±۳۲۲/۱۵ گرم و میانگین (± انحراف معیار) طول کل ۴۷/۵ ±۳/۳۷ سانتی‌متر از رودخانه تجن زیر نظر مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجائی سمسکنده طی ماههای اسفند ۱۳۸۷ تا اردیبهشت ۱۳۸۸ جمع‌آوری شد. نمونه‌های مایع تخمدانی و منی ماهی سفید در سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری (محتوی ۱/۳ میلی‌لیتر از نمونه) جمع آوری و بوسیله فلاسک محتوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. ابتدا از ۱۰ نمونه مایع منی ماهیان نر ۳ نمونه پولینگ (pooling)(نمونه اول و دوم مخلوطی از مایع منی۳ عدد ماهی و نمونه سوم مخلوطی از مایع منی ۴ عدد ماهی به نسبت برابر) تهیه شد. برای بررسی تاثیر مایع تخمدانی بر پارامترهای حرکتی اسپرماتوزوآ ماهی سفید، منی ماهیان نر با درصدهای مختلف مایع تخمدانی (۰، ۳۳، ۵۰، ۶۷، ۷۵، ۸۰، ۸۵) ماهیان ماده مخلوط گردید. سپس آب مقطر به میزان ۲۰ برابر حجم اسپرم (برای تحرک اسپرم) اضافه شد. برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره حرکت اسپرم از میکروسکوپ فاز کنتراست زمینه سیاه (Leica, USA) و مجهز به دوربین (Panasonic WV-CP240, Japan) استفاده شد. در ادامه درصد اسپرم متحرک محاسبه شد. برای تعیین مدت زمان حرکت اسپرم، زمان از لحظه فعال شدن تا زمانی که همه آنها از حرکت باز ایستادند اندازه‌گیری گردید (۱۴). برای مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی مایع تخمدانی (به تعداد ۱۰ نمونه)، نمونه‌ها درون لوله‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و در دور ۳۰۰۰ در

دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ (Sigma 1-13 England) شدند. سپس مایع تخمدانی صاف شده به لوله‌های جدید منتقل شده و pH آنها بوسیله pH متر (pH-462, Iran) اندازه‌گیری گردید. سپس لوله‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی مایع تخمدانی در مرحله بعدی نگهداری شدند. یونهای سدیم و پتاسیم توسط دستگاه طیف سنج نوری (pfp 7, Englan Jenway) و میزان کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل به روش اسپکتروفتومتری (S2000-UV/IS, England) بترتیب در طول موجهای ۵۷۰ و ۵۴۶ 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. همه آزمایشات در دمای اتاق (۱۹ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت.

جدول۱- آنالیز واریانس پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید تحت تاثیر نسبت های مختلف مایع تخمدانی به مایع منی.

فاکتور	منابع تغییر (SV)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	محاسبه شده (F)	سطح معنی داری (Sig)
طول دوره تحرک اسپرم	تیمار	۶	۴۴۱۵/۸۷	۷۳۵/۹۷	۱۰/۹۲	۰/۰۰۰
	تکرار	۱۴	۹۴۲/۹۶	۶۷/۳۵	-	-
	کل	۲۰	۵۳۵۸/۸۳	-	-	-
درصد اسپرم‌های متحرک	تیمار	۶	۱۱۶۷۱/۱۴	۱۹۴۵/۱۹	۹/۶۸	۰/۰۰۰
	تکرار	۱۴	۲۸۱۰/۶۶	۲۰۰/۷۶	-	-
	کل	۲۰	۱۴۴۸۱/۸۱	-	-	-

جدول۲- مقایسه میانگین‌های پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید تحت تاثیر نسبت های مختلف مایع تخمدانی به مایع منی.

نسبت مایع تخمدانی به مایع منی	٪۰	٪۳۳	٪۵۰	٪۶۷	٪۷۵	٪۸۰	٪۸۵
طول دوره تحرک اسپرم	۳۴/۰۰±۳/۴۶ bc	۵۴/۰۰±۶/۴۹ a	۴۳/۶۰±۵/۶۱ ab	۲۴/۲۰±۱۶/۲۴ cd	۱۸/۰۰±۵/۹۹ d	۱۳/۶۰±۷/۵۰ d	۱۳/۹۰±۵/۴۴ d
درصد اسپرم‌های متحرک	۷۴/۳۳±۶/۳۵ ab	۹۸/۳۳±۰/۵۷ a	۹۱/۶۶±۱۰/۲۱ a	۵۶/۳۳±۲۹/۳۶ bc	۴۵/۳۳±۱۱/۰۱ c	۳۶±۱۳/۵۰ c	۳۷/۶۶±۹/۷۱ c

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در بین گروه های آزمایشی است (P<۰/۰۵).

جدول۳- آمار توصیفی پارامترهای بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهی سفید.

متغیرها	میانگین±انحراف معیار
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۵۹/۴۳±۷۰/۲۶
پروتئین کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۳/۵۵±۴/۱۵
کلسیم (میلی‌مول بر لیتر)	۹/۷۶±۲/۶۴
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۶۱۹/۶۹±۱۷۱/۶۰
پتاسیم (میلی‌مول بر لیتر)	۸/۰۸±۲/۲۹
منیزیم (میلی‌مول بر لیتر)	۷/۲۲±۱/۸۱
سدیم (میلی‌مول بر لیتر)	۹۸/۳۵±۱۴/۳۳
اسمولاریته (میلی‌اسمول بر کیلوگرم)	۲۳۷/۵۷ ±۲۲/۱۰
pH	۷/۷۱±۰/۴

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با سه تکرار برای هر تیمار توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با کمک آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

نتایج

آنالیز واریانس و مقایسه میانگین های پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید تحت تاثیر نسبت های مختلف مایع تخمدانی به منی در جدول‌های۱ و۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مایع تخمدانی بر طول دوره حرکت و درصد اسپرماتوزوآی متحرک در ماهی سفید معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$) بطوری که بیشترین طول دوره حرکتی و بالاترین درصد تحرک در نسبت‌های ۳۳ و ۵۰ درصد مایع تخمدانی و کمترین طول دوره حرکتی و پایین‌ترین درصد اسپرم متحرک در نسبت‌های بالای ۵۰ درصد مایع تخمدانی مشاهده شد.

نتایج مربوط به اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهی سفید (جدول ۳) نشان داد که به ترتیب کلسترول، گلوکز و اسمولاریته فاکتورهای غالب بودند. یون سدیم نیز با این پارامترها رابطه مثبتی داشت.

بحث

در صنعت پرورش ماهی کیفیت تخمک و اسپرم اهمیت بالایی در موفقیت لقاح و بقای لارو دارد (۱، ۴) و مطالعات متعددی در این خصوص انجام شده است. طبق مطالعه شالویی و ایمانپور (۱۳۸۷) اسپرم ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*) در مایع تخمدانی به جهت ترکیبات مایع تخمدانی از جمله غلظت‌های بالای یون پتاسیم و فشار اسمزی بی حرکت باقی ماندند (۳). مایع تخمدانی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) روی تحرک اسپرماتوزوآ این گونه اثر بازدارنده داشت (۶). بیلارد در سال ۱۹۸۳، از مایع تخمدانی با غلظت۰/۱ و ۱درصد بر روی تخمک‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده نمود که نتیجه حاصل افزایش زمان حرکت و در نتیجه باروری تخمک بود (۱۰). ترنر و مونتگومری در سال ۲۰۰۲، اثر مایع تخمدانی را روی حرکت اسپرماتوزوآ ماهی چار قطب شمال (*Salvelinus alpinus*) مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه مایع تخمدانی تاثیر معنی‌داری روی طول دوره، درصد و سرعت حرکت در اسپرماتوزوآ این گونه داشت (۱۴). در بررسی ما نیز با افزایش مایع تخمدانی تا ۵۰ درصد، طول دوره تحرک و درصد تحرک اسپرم‌ها افزایش یافت. در تاس ماهیان مایع تخمدانی اثر بازدارنده‌ای بر حرکت اسپرماتوزوآ دارد (۳). ولی همانطور که در جدول۲ نیز مشخص شده، مایع تخمدانی تا ۵۰ درصد موجب افزایش حرکت اسپرم ماهی سفید می‌گردد. الوفسون و همکاران در سال ۲۰۰۳، تاثیر برخی از محلولهای نمکی همراه با مایع تخمدانی را روی حرکت اسپرماتوزآ در گونه پانزده خاره (*Spinachia spinachia*) مورد بررسی قرار دادند. در این گونه، مایع تخمدانی همراه با محلول‌های نمکی هیچ تاثیری بر حرکت اسپرماتوزآ نداشت (۱۵). با این حال مکانیسم عمل مایع تخمدانی بر حرکت اسپرماتوزوآ بصورت کامل مشخص نشده است (۲۵). در کپور ماهیان غلظت یون پتاسیم در پلاسمای سمن نسبت به پتاسیم داخل اسپرمی بیشتر بوده که موجب دپلاریزه شدن غشای پلاسمایی اسپرم‌ها خواهد شد (۸). علی‌رغم تفاوت یون پتاسیم در دو سوی غشای پلاسما، ایجاد پتانسیل غشایی در حد کافی نیست (۲۱). بطوریکه تغییرات در اسمولاریته خارجی مهمترین عامل شروع کننده حرکت اسپرم در کپور ماهیان است. میزان اسمولاریته مایع تخمدانی ماهیان سفید (جدول ۳) ۲۲/۱۰± ۲۳۷/۵۷ بود. بنابراین می‌توان یکی از عوامل مهم حرکت اسپرم در مایع تخمدانی را اسمولاریته بالا معرفی کرد. یون پتاسیم همچنین باعث افزایش تحرک اسپرم در کپور می‌شود (۷). در این تحقیق غلظت یون پتاسیم تاثیر چندانی روی حرکت اسپرم نداشت. به علت وجود غلظت زیاد یون

سدیم (۹۸/۳۵±۱۴/۳۳۳۸ میلی‌مول در لیتر) در مایع تخمدانی (جدول۳) و با علم به اینکه در ماهیان آب‌های شور اسپرماتوزوآ در محیط هیپراسموتیک فعال می‌شوند می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که غلظت زیاد یون سدیم مایع تخمدانی سبب افزایش فشار اسمزی و تحرک اسپرماتوزوآی ماهی سفید می‌شود و افزایش نسبت رقیق سازی مایع تخمدانی در این ماهی سبب کاهش غلظت یون سدیم و در نتیجه کاهش تحرک اسپرم می‌شود. یگانه و همکاران در سال ۱۳۸۴ مشاهده کردند که علت عدم تحرک اسپرماتوزوآی ماهی کفال (*Mugil cephalus*) در مایع تخمدانی پایین بودن فشار اسمزی است (۶). در گونه‌های که مایع تخمدانی افزایش دهنده حرکت اسپرماتوزوآ است چندین ترکیب مانند گلوکز و پپتیدهای مایع تخمدانی (۲۹) و همچنین یونها و ویسکوزیته مایع تخمدانی همراه با اثر اسمولاریته از عوامل حرکت اسپرماتوزوآست (۲۰،۱۴) به طوری که در جدول ۳ نشان داده شده است میزان گلوکز مایع تخمدانی ماهی سفید ۳۵۹/۴۳±۷۰/۲۶ بود. می‌توان نتیجه گرفت که یکی از عوامل تحرک اسپرم ماهی سفید در این تحقیق غلظت بالای گلوکز بوده است. تحقیقات ما با تحقیقات پیشین (۱۴ ،۲۴، ۲۹) مشابه بود و نشان داد که مایع تخمدانی منجر به افزایش ماندگاری و تحرک اسپرم ماهی سفید مهاجر به رودخانه تجن می‌شود (جدول ۲). علاوه بر آن، مایع تخمدانی سبب افزایش معنی‌دار سرعت شنای اسپرم‌ها شد. همچنین با افزایش مایع تخمدانی تا ۵۰٪، حرکت اسپرم‌ها افزایش یافت. با افزایش غلظت مایع تخمدانی تا ۵۰٪، طول دوره حرکت رو به جلوی اسپرم ماهی سفید طولانی‌تر می‌شود. اما در غلظت‌های خیلی بالا و خیلی پایین، طول دوره تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک کاهش یافت.

براساس شاخص‌های بیوشیمیایی مایع تخمدانی به‌دست آمده از این مطالعه پیشنهاد می‌گردد نگه‌داری تخمک این گونه در مایع تخمدانی و ساخت محیط‌های نگه‌دارنده مصنوعی تخمک ماهی سفید مهاجر به رودخانه تجن در تحقیقات بعدی مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و از همکاری ریاست، معاونت و پرسنل مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی و خاویاری شهید رجایی ساری و صیدگاه رودخانه تجن شهرستان ساری به‌دلیل در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمائیهای لازم در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. باغفلکی، م.، شالویی، ف.، و ایمانپور، م. ر.، ۱۳۸۸. رابطه بین برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی منی فیل ماهی (*Huso huso Linnaeus 1758*) در جنوب شرقی دریایی خزر. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۲، شماره ۲، صفحه ۳۲۰-۳۱۲.

۲. رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۴. ماهی سفید. مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۳، ۱۴، ۷۶.

۳. شالویی، ف.، و ایمانپور، م.، ۱۳۸۷. مطالعه برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی مایع سلومیک و تاثیر آن بر تحرک اسپرماتوزوآی ماهی شیپ. مجله علمی شیلات، شماره ۱، صفحات ۷۳-۸۰ .

۴. کلباسی، م. ر.، لرستانی، ر.، و حسینی، ش.، ۱۳۸۹. اثر فواصل بین اسپرم‌گیری بر میزان چشم زدگی تخم و پارامترهای کیفی اسپرم قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۳، شماره ۶، صفحات ۸۸۳-۸۷۶.

۵. عمادی، ح.، ۱۳۶۴. ماهی سفید قربانی ضعف مدیریت، حرص و سنت. ماهنامه آبزیان، شمارهٔ سوم، صفحات ۱۲-۱۰.

۶. یگانه، س.، مجازی امیری، ب.، یوسفیان، م.، و نعمت الهی، م.ع.، ۱۳۸۴. اثر تقویت کننده‌های اسپرم بر روی مدت تحرک اسپرم در ماهی کفال خاکستری. مجله منابع طبیعی ایران، شماره ۲، صفحات ۳۸۳ تا ۳۹۳.

7. Alavi, S. M. H., and Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes: Effects of ions and osmolality: A review. Cell Biology Interntional, 30: 1-14.

8. Balkay, L., Marian, T., Emri, M., Krasznai, Z., and Tron L., 1997. Flow cytomeric determination of intracellular free potassium concentration. Cytometry, 28: 42-49.

9. Brokaw, C. J., 1966. Effect of increased viscosity on the movements of some invertebrate spermatozoa. Journal of experimental biology, 45: 113-139.

10. 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.

11. Billard, R., 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Reproduction Nutrition Development, 26: 877–920.

12. Billard, R., and Cosson, M., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. Journal of experimental biology, 261:122-131.

13. Dettlaf, T. A., Ginsburg, A. S., and Schmalhau, O. I., 1993. Sturgoen fishes developmental biology and Aquaculture. Springer-verlag, Berlin, Germany, P:300.

14. Terner, E., and Montgomerie, R., 2002. Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic charr. Journal of Fish Biology, Vol. 60, PP: 1570-1579.

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

16. Hayakava, Y., and Munehara, H., 1998. Fertilization environment of the noncopulating marine sculpine (*Hemilepidotus gilberti*). Environmental Biology of Fishes Journal 52: 181-186.

17. Hirano, T., Morisawa, M., Suzuki, K., 1978. Changes in plasma and coelomic fluid composition of the mature salmon *(Onchorhynchus keta*) during freshwater adaptation. Comparative Biochemistry and Physiology_part A 61: 5–8.

18. Jamieson, B. G. M., 1991. Fish evolution and systematics: Evidence from Spermatozoa Cambridge University Press, Cambridge.

19. Kime, D. E., and Tveiten, H., 2002. Unusual motility characteristics of sperm of the spotted wolfish. Journal of Fish Biology 61: 1549-1559.

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

21. Krasznai, Z., Marian, T., Izumi, H., Damjanovich, S., and Balkay, L., 2000. Membrance hyperpolarization removes inactivation of Ca^{2+} channels leading to Ca^{2+} influx and initation of sperm motility in common carp. Biophysics 97: 2052-67.

22. Lauga, E., 2007. Propulsion in a viscoelastic fluid. Physics of fluids 19: 083104.

23. Lahnsteiner, F., Weisman, T., and Patzner, R. A., 1995. Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species: *Onchorhynchus mykiss*, *Salmo trutta f lacustrus*, *Salvelinus lacustris* and *Hucho hucho*. Reproduction Nutrition Development. 35: 465–474.

24. Litvak, M. K., andTrippel, E. A., 1998. Sperm motility pattern of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to salinity: Sciences 55: 1871-1877.

25. Morisawa, M., 1994. Cell signaling mechanism for sperm motility. Zoology Science 11: 647-662.

26. Scott, A. P., and Baynes, S. M., 1980. A review of biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. Journal of Fish Biology 17: 707-739.

27. Stoss, J., 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. Fish physiology 9B: 305-350.

28. Wojtezak, M., Detrich, G. J., Slowinska, M., Dobosz, S., Kuzminski, H., and Ciereszko, A., 2007. Ovarian fluid pH enhances motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) spermatozoa. Aquaculture 2: 259-270.

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

30. 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, 30: 1073.

Biochemical compositions of ovarian fluid of *Rutilus frisii kutum* (Kamensky, 1901) in the south Caspian Sea and their effects on spermatozoa motility traits

Imanpour M.R., Esfandiary M. and Pakravan S.

Fisheries Dept., Aquaculture Sciences and Natural Resource University, Gorgan, I.R. of Iran

Abstract

Some of index of ovarian fluid biochemical such as ionic, organic and their relationships with osmolality in 10 specimens was investigated. Also spermatozoa motility of *Rutilus frisii kutum* was investigated in different percentage (0, 33, 50, 67, 75, 80 and 85%) of ovarian fluid. ovarian fluid contained 98.35±14.33 mmol/l Na^+, 7.22±1.81 mmol/l Mg^+, 8.08±2.29 mmol/l K^+, 619.69±171.60 mg/dl cholesterol, 9.76±2.64 mg/dl Ca^{2+}, 13.55±4.15 mg/dl protein, 359.43±70.26 mg/dl glugose. The range of pH was 7.71±0.4 and the range of osmolality was 237.57±22.10 mmol/Kg. When *Rutilus frisii kutum* semen diluted with 33 and 50% ovarian fluid, the spermatozoa had highest motility. The total duration of motility and percentage of motile spermatozoa was greatly raduced when semen was diluted of ovarian fluid higher than 50%. Generally sperm motility of *Rutilus frisii kutum* affected by high concentrations of Na, osmolality and glugose.

Key words: ovarian fluid, *Rutilus frisii kutum*, spermatozoa motility trait