

(OPEN ACCESS)

Semen quality, seminal plasma characteristics, and their relationships in the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) in the breeding season

Erfan Akbari Nargesi^{*1}, Bahram Falahatkar², Daniel Źarski³

1. Corresponding Author, Inland Water Aquaculture Research Centre, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agriculture Research Education and Extension Organization, Bandar-e Anzali, Guilan, Iran and Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran. E-mail: erfanakbarinargesi@gmail.com
2. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran and Dept. of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran. E-mail: falahatkar@guilan.ac.ir
3. Dept. of Gamete and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland. E-mail: d.zarski@pan.olsztyn.pl

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Over the past years, various biomarkers have been proposed to evaluate sperm quality in different fish species. Some markers, such as spermatocrit, density, and motility, are easily measurable. In contrast, other markers, like biochemical analyses and advanced considerations of sperm motility and viability, require highly developed laboratory equipment or egg availability for assessing fertilization success. Since providing high-quality gametes is crucial for aquaculture development, assessing sperm quality in hatchery conditions can significantly assist in identifying broodstock quality and selective breeding of existing fish populations. In this regard, the present study was conducted to investigate spermatological and physiological parameters of semen of the Caspian roach (<i>Rutilus caspicus</i>) and their relationship in the Anzali lagoon migratory population during the breeding season (spring).
Article history: Received: 04.06.2024 Revised: 05.11.2024 Accepted: 05.19.2024	
Keywords: Broodstock management, Cyprinidae, Semen quality, Spermatozoa	Materials and Methods: Breeders were captured from the western part of the Anzali Lagoon and were transported to the hatchery at the Shahid Ansari Teleost Fish Restocking and Genetic Conservation Center (Rasht, Guilan, Iran). A total of 30 healthy male breeders were randomly selected and used in the present experiment. In order to perform the experiment, breeders received no hormonal induction. Sperm collection was performed by gentle pressure on the abdominal region of breeders using a 2 mL syringe, and the sperm volume of each male was recorded at the same time. After sampling, sperm motility percentage and duration, spermatocrit, sperm density, biochemical parameters (total protein, triglyceride, cholesterol, glucose, albumin, and globulin), ionic parameters (magnesium, calcium, sodium, and potassium), and pH of seminal plasma were evaluated.
	Results: According to observations, the mean values of semen volume, sperm motility, motility time, spermatocrit, sperm concentration, and pH were measured as 0.4 mL, 96.1%, 54.4 s, 50.4%, $1.5 \times 10^9/\text{mL}$, and 7.9, respectively. Based on the evaluations performed on the seminal plasma, mean values of glucose, cholesterol, and triglycerides were measured as 4.8, 13.1, and 3.6 mg/dL, and mean values of total protein, albumin, and

globulin were measured as 0.9 and 0.6, and 0.3 g/dL, respectively. The concentrations of sodium, potassium, calcium, and magnesium ions were also measured as 161.9, 47.3, 5.5, and 3.8 mM/L respectively. The results revealed a significant positive correlation between spermatocrit value and spermatozoa concentration ($P<0.01$). In addition, there was a significant positive correlation between the concentration of total protein, globulin, and albumin ($P<0.01$), and a significant negative correlation was observed between seminal plasma cholesterol and potassium concentrations ($P<0.05$). Moreover, a significant positive correlation was obtained between albumin and globulin concentrations ($P<0.05$). No significant correlation was observed among the other measured parameters.

Conclusion: The results of the present study could help to improve the controlled reproduction process and the preparation of suitable solutions for Caspian roach semen storage.

Cite this article: Akbari Nargesi, Erfan, Falahatkar, Bahram, Żarski, Daniel. 2025. Semen quality, seminal plasma characteristics, and their relationships in the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) in the breeding season. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (1), 253-269.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2024.22337.1862

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

کیفیت اسپرم، خصوصیات پلاسمای منی و ارتباط آن‌ها در جمعیت مهاجر ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) تالاب انزلی در فصل تولیدمثل

عرفان اکبری نرگسی^{۱*}، بهرام فلاحتکار^۲، دنیل زارسکی^۳

۱. نویسنده مسئول، پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، گیلان، ایران و گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران. رایانامه: erfanakbarinargesi@gmail.com
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران و گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان، ایران. رایانامه: falahatkar@guilan.ac.ir
۳. گروه زیست‌شناسی گامت‌ها و جنین، انجمن تحقیقات تولیدمثل و تغذیه‌ای حیوانات، آکادمی علوم لهستان، اولشتین، لهستان. رایانامه: d.zarski@pan.olsztyn.pl

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۳۰ واژه‌های کلیدی: اسپرماتوزوا، کپور ماهیان، کیفیت مایع منی، مدیریت مولدین	سابقه و هدف: طی سال‌های گذشته نشانگرهای زیستی مختلفی برای بررسی کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان ارائه شده‌اند. برخی از نشانگرها مانند اسپرماتوکریت، تراکم و تحرک به سادگی قابل اندازه‌گیری هستند و برخی دیگر مانند تحلیل‌های بیوشیمیایی، بررسی پیشرفته تحرک و زنده‌مانی اسپرماتوزوا به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفته‌تر و یا در دسترس بودن تخمک (بررسی موفقیت لقاح) نیاز دارند. با توجه به این موضوع که تامین گامت‌های با کیفیت یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های توسعه آبی‌پروری است، ارزیابی کیفیت مایع منی در شرایط کارگاهی می‌تواند در شناسایی مولدین با کیفیت و بهگزینی جمعیت‌های مولدین موجود نقشی کلیدی داشته باشد. در همین راستا، پژوهش حاضر با هدف بررسی فراسنجه‌های اسپرم شناختی و فیزیولوژیک پلاسمای منی و ارتباط آن‌ها در جمعیت مهاجر ماهی کلمه (<i>Rutilus caspicus</i>) تالاب انزلی در فصل تولیدمثل (بهار) انجام پذیرفت. مواد و روش‌ها: مولدین از بخش غربی تالاب انزلی صید و به مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت (گیلان، ایران) منتقل شدند. در مجموع ۳۰ مولد سالم به صورت تصادفی انتخاب و در آزمایش حاضر مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور انجام آزمایش، هیچ‌گونه تزریقی برای القای اسپرم‌ریزی در مولدین انجام نگرفت. استحصال اسپرم با فشار آرام به ناحیه شکمی مولدین و با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتر انجام گرفت و هم‌زمان حجم اسپرم استحصالی از هر مولد ثبت گردید. پس از نمونه‌گیری، درصد فعالیت و

مدت زمان فعالیت اسپرم، اسپرماتوکریت، غلظت اسپرم، فراسنجه‌های بیوشیمیایی (پروتئین کل، تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز، آلبومین و گلوبولین)، فراسنجه‌های یونی (منیزیم، کلسیم، سدیم و پتاسیم) و pH پلاسما یونی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: طبق مشاهدات، میانگین حجم اسپرم، فعالیت اسپرماتوزوا، مدت زمان فعالیت اسپرماتوزوا، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرماتوزوئیدها و میزان pH به ترتیب ۰/۴ میلی‌لیتر، ۹۶/۱ درصد، ۵۴/۴ ثانیه، ۵۰/۴ درصد، $1/5 \times 10^9$ عدد اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر و ۷/۹ اندازه‌گیری شد. طبق ارزیابی‌های انجام شده بر روی پلاسما یونی، میانگین گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید به ترتیب ۴/۸، ۱۳/۱ و ۳/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و میانگین پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین به ترتیب ۰/۹، ۰/۶ و ۰/۳ گرم در دسی‌لیتر به دست آمد. غلظت یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم نیز به ترتیب ۱۶۱/۹، ۴۷/۳، ۵/۵ و ۳/۸ میلی‌مول در لیتر اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج به دست آمده، تراکم اسپرماتوزوئیدها با درصد اسپرماتوکریت همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد ($P < 0/01$). بین غلظت پروتئین کل و غلظت گلوبولین و آلبومین نیز همبستگی معنی‌دار مثبت ($P < 0/01$) و بین غلظت کلسترول و پتاسیم پلاسما یونی همبستگی منفی معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0/05$). هم‌چنین در غلظت آلبومین با گلوبولین همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). بین سایر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌تواند به بهبود فرآیند تکثیر کنترل شده و تهیه محلول‌های مناسب جهت ذخیره‌سازی مایع منی ماهی کلمه کمک شایانی نماید.

استناد: اکبری نرگسی، عرفان، فلاحتکار، بهرام، زارسکی، دنیل (۱۴۰۴). کیفیت اسپرم، خصوصیات پلاسما یونی و ارتباط آن‌ها در جمعیت مهاجر ماهی کلمه (*Rutilus caspicus*) تالاب انزلی در فصل تولیدمثل. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۱)، ۲۶۹-۲۵۳.

DOI: 10.22069/japu.2024.22337.1862



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

به خوبی ثابت شده است که موفقیت لقاح به کیفیت گامت‌ها به ویژه به کیفیت اسپرم مولدین نر بستگی دارد (۱). در نتیجه لازم است درک مناسبی از معنای کیفیت اسپرم ارائه گردد. از نقطه نظر زیست‌شناسی، توانایی شنای فعال اسپرماتوزوآ به منظور رسیدن و بارور ساختن تخمک به عنوان کیفیت اسپرم تعریف می‌گردد (۲). در همین راستا، هر صفت قابل سنجش در اسپرم می‌تواند به صورت بالقوه به عنوان یک نشانگر زیستی برای برآورد کیفیت اسپرم در نظر گرفته شود (۱).

طی سال‌های گذشته نشانگرهای زیستی مختلفی برای بررسی کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان ارائه شده‌اند. از جمله این نشانگرها که با توانایی اسپرم در بارور کردن تخمک مرتبط هستند می‌توان به اسمولالیت، pH، فعالیت آنزیمی، غلظت آدنوزین تری فسفات، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرماتوزوآ، تحرک اسپرماتوزوآ، ریخت‌شناسی، فراساختار اسپرم و ترکیب شیمیایی پلاسمای منی اشاره کرد (۱، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸). برخی از نشانگرها مانند اسپرماتوکریت، تراکم و تحرک به سادگی قابل اندازه‌گیری هستند و برخی دیگر مانند تحلیل‌های بیوشیمیایی، بررسی پیشرفته تحرک و زنده‌مانی اسپرماتوزوآ به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفته و یا در دسترس بودن تخمک (بررسی موفقیت لقاح) نیاز دارند.

با توجه به این موضوع که تامین گامت‌های با کیفیت یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های توسعه آبی‌پروری است (۹)، ارزیابی کیفیت مایع منی در شرایط کارگاهی می‌تواند در شناسایی مولدین با کیفیت و بهگزینی جمعیت‌های مولدین موجود نقشی کلیدی داشته باشد (۱۰، ۱۱). از سوی دیگر، پلاسمای منی یکی از اجزای مهم مایع منی است که نقشی حیاتی در متابولیسم، عملکرد، زنده‌مانی و تحرک

اسپرم دارد. در نتیجه، ارزیابی ساختار بیوشیمیایی پلاسمای منی را می‌توان یک معیار مهم برای اندازه‌گیری کیفیت مایع منی در نظر گرفت. این اندازه‌گیری از این جهت دارای اهمیت می‌باشد که ساختار اسپرم و ترکیب بیوشیمیایی پلاسمای منی ممکن است در گونه‌ها و خانواده‌های مختلف کم و بیش متفاوت باشد (۳، ۱۲، ۱۳). به عنوان مثال، در گونه‌های مختلف کپور ماهیان تغییرات متعددی در اندازه، تراکم اسپرم، مدت زمان تحرک و ترکیب بیوشیمیایی مایع منی قابل مشاهده است (۱۴). در همین راستا، می‌توان برآورد کیفیت مایع منی و خصوصیات بیوشیمیایی پلاسمای منی را راهکاری کاربردی برای افزایش راندمان تکثیر کنترل شده در مراکز تکثیر در نظر گرفت.

ماهی کلمه با نام انگلیسی Roach از راسته کپور ماهی‌شکلان، خانواده کپور ماهیان، جنس *Rutilus* و گونه *Rutilus caspicus* می‌باشد. این ماهی در آب‌های ایرانی دریای خزر عمدتاً دارای دو نژاد مهم به نام کلمه انزلی یا کورا (*Rutilus rutilus caspicus* Natio Kurensis) و کلمه گرگان یا ترکمن (*R. r. caspicus* Natio Knipowitschii) است (۱۵). کلمه انزلی در قسمت‌های غربی و جنوب غربی دریای خزر پراکنش دارد و برای تخم‌ریزی عمدتاً به تالاب انزلی و رودخانه کورا مهاجرت می‌کند، در حالی که جمعیت کلمه ترکمن در جنوب شرقی دریای خزر پراکنش دارد و معمولاً برای تخم‌ریزی به تالاب گمیشان و خلیج گرگان مهاجرت می‌کند (۱۵). معمولاً بلوغ در نرها بسته به شرایط در ۱ تا ۳ سالگی و در ماده‌ها در ۲ تا ۵ سالگی مشاهده می‌شود. تخم‌ریزی یک‌بار در سال در فصل بهار و یا تابستان هنگامی که دمای آب از ۱۶ درجه سانتی‌گراد بالاتر می‌رود، انجام می‌گیرد (۱۶).

با توجه به موارد بیان شده، مطالعه در زمینه کیفیت اسپرم، خصوصیات پلاسمای منی و ارتباط آن‌ها در ماهی کلمه انزلی می‌تواند به بهبود فرآیند تکثیر کنترل شده و تهیه محلول‌های مناسب جهت نگهداری کوتاه و بلند مدت مایع منی در این ماهی کمک شایانی نماید (۱۷). در همین راستا، برای دستیابی به تکثیر کنترل شده بهینه و موفقیت پرورش این گونه با اهمیت، آگاهی کافی از خصوصیات اسپرم شناختی و ترکیبات پلاسمای منی آن امری ضروری است. هدف پژوهش حاضر بررسی کیفیت مایع منی، خصوصیات پلاسمای منی و ارتباط آن‌ها در جمعیت مهاجر ماهی کلمه تالاب انزلی در فصل تولیدمثل می‌باشد. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در زمینه کیفیت و خصوصیات گامت‌های مولدین نر ماهی کلمه در اختیار پژوهش‌گران قرار دهد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: مولدین مورد آزمایش از بخش غربی تالاب انزلی در فصل بهار (فروردین‌ماه) به‌وسیله تور میکروفیلامنت نامرئی با چشمه تور ۱ سانتی‌متر صید شدند. فرآیند صید طی یک مرحله در ابتدای فروردین ماه انجام گرفت. ماهیان بلافاصله پس از صید به‌وسیله کیسه‌های پلاستیکی مخصوص حمل ماهی پر شده با اکسیژن خالص به مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری (رشت، گیلان، ایران) منتقل شدند. برای بارگیری ابتدا یک سوم کیسه (حدوداً ۲۰ لیتر) با آب محل صید ماهی‌ها آبیگری می‌شد و پس از قرار دادن ماهی‌ها در کیسه پلاستیکی بقیه حجم آن با استفاده از مخزن اکسیژن پر می‌شد. دمای آب در محل صید در تالاب انزلی ۱۲/۵ درجه سانتی‌گراد بود. انتقال ماهی‌ها حداکثر طی مدت ۱۵۰ دقیقه انجام گرفت.

شرایط نگهداری: در مجموع ۴۸ مولد سالم و بدون آسیب‌دیدگی به مخازن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری منتقل شدند. از این تعداد، ۳۰ قطعه مولد به صورت تصادفی انتخاب و در آزمایش حاضر مورد استفاده قرار گرفتند. میانگین وزن مولدین $1/7 \pm 51/9$ گرم بود. قبل از انجام آزمایش مولدین به مدت ۳ روز در شرایط کارگاه نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند. میانگین دما، pH و سطح اکسیژن محلول طی دوره سازگاری به ترتیب $0/39 \pm 15/85$ درجه سانتی‌گراد، $0/22 \pm 8/27$ و $0/08 \pm 6/06$ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش، ماهی‌ها در فتوپریود طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. آب مورد استفاده از رودخانه (آب رسوب‌زدایی شده سفیدرود) تامین می‌شد و میانگین دبی آب برای هر مخزن ۳۰ لیتر در دقیقه بود.

نمونه‌گیری و محاسبه حجم اسپرم: استحصال اسپرم با فشار آرام به ناحیه شکمی مولدین و با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتر انجام گرفت و هم‌زمان حجم اسپرم استحصالی از هر مولد ثبت گردید (۱۸). بلافاصله پس از نمونه‌گیری از هر مولد، نمونه اسپرم استحصالی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و مولد اسپرم‌گیری شده نیز به مخزنی جداگانه (مربوط به مولدین اسپرم‌گیری‌شده) منتقل شد. قبل از عملیات اسپرم‌گیری، مولدین با عصاره پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش می‌شدند. در ادامه، پس از شست و شوی مولد بیهوش شده با آب کارگاه و خشک کردن آن با حوله تمیز، جمع‌آوری اسپرم با دقت انجام می‌گرفت، به‌طوری‌که ابتدا به آهستگی منفذ تناسلی با دستمال کاغذی خشک می‌شد، سپس جمع‌آوری اسپرم با فشار آرام به ناحیه شکمی آغاز می‌شد تا در طول عملیات از آلوده شدن اسپرم با

موکوس، خون، ادرار و مدفوع ماهی جلوگیری شود (۵).

مدت زمان و درصد فعالیت نمونه اسپرم: حداکثر زمان ذخیره سازی اسپرم ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد ۳۰ دقیقه بود. طی این مدت، درصد فعالیت و مدت زمان فعالیت نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus, Tokyo, Japan) و کرنومتر ارزیابی می گردید. ارزیابی کیفیت هر نمونه در دو تکرار انجام می گرفت. به منظور بررسی کیفیت نمونه ها از نظر درصد و مدت زمان فعالیت، ابتدا ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم روی لام ریخته می شد. سپس ۲۰ میکرولیتر آب کارگاه با دمای یکسان با آن اضافه می گردید و با قرار دادن لام روی نمونه کیفیت نمونه اسپرم با بزرگنمایی ۴۰ میکروسکوپ نوری رصد می شد (۶). بلافاصله پس از مخلوط کردن نمونه اسپرم با آب درصد فعالیت نمونه به صورت چشمی محاسبه می شد. از زمان فعال شدن اسپرم تا زمانی که حرکت اسپرماتوزوای نمونه قطع شود به عنوان مدت زمان فعالیت در نظر گرفته شد.

اسپرماتوکریت: برای تعیین اسپرماتوکریت لوله های میکرو اسپرماتوکریت به میزان تقریبی سه چهارم با اسپرم پر گردیدند و پس از مسدود کردن انتهای لوله ها با خمیر مخصوص، از دستگاه میکروسانتریفیوژ (Hawksley, Marlborough, England) برای جداسازی پلاسمای اسپرم استفاده شد (۷ دقیقه در دور ۳۵۰۰ g، سپس درصد اسپرماتوکریت توسط خط کش مخصوص طبق رابطه زیر تعیین شد (۱۸):

$100 \times (\text{اندازه کل نمونه اسپرم موجود در لوله} / \text{اندازه قسمت سفید ته نشین شده در لوله}) = (\text{درصد})$ اسپرماتوکریت

غلظت (تراکم) اسپرم: برای تعیین غلظت اسپرم از لام هماسیتومتر نئوبار (Mariefeld, München,)

Germany) و میکروسکوپ نوری استفاده شد. بدین منظور، اسپرم هر مولد به نسبت ۱ به ۱۰۰۰۰ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مخلوط و ۱۰ میکرولیتر از آن به لام هماسیتومتر اضافه شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه برای ته نشین شدن سلول های اسپرماتوزوای روی لام، شمارش با بزرگنمایی ۴۰× میکروسکوپ نوری انجام گرفت و طبق رابطه زیر غلظت هر نمونه اسپرم محاسبه گردید (۱۸):

$\times \text{میزان رقیق سازی} = (\text{میلی لیتر} / 10^9 \times) \times \text{تراکم اسپرم} \times$
تعداد اسپرماتوزوای شمارش شده در ۵ مربع $10^6 \times 0/05$

اندازه گیری فراسنجه های بیوشیمیایی پلاسمای منی: به منظور اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی (پروتئین کل، تری گلیسرید، کلسترول، گلوکز، آلبومین و گلوبولین) و یونی (منیزیم، کلسیم، سدیم و پتاسیم)، سمینال پلاسمای از مایع منی جداسازی شد. بدین منظور، سانتریفیوژ نمونه های منی به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰ g (Hettich, Tuttlingen, Germany) انجام شد و نمونه های پلاسمای منی پس از جداسازی تا زمان اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی و یونی در فریزر (دمای ۸۰- درجه سانتی گراد) نگهداری شدند (۱۸).

غلظت گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل و آلبومین به روش رنگ سنجی با استفاده از کیت های تشخیصی شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Dayton, USA) در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه گیری شد. طبق پروتکل شرکت سازنده کیت ها، ابتدا اندازه گیری جذب نوری نمونه ها و استاندارد انجام گرفت و سپس از رابطه های مربوطه برای برآورد نهایی غلظت پارامترهای بیوشیمیایی استفاده گردید. جهت سنجش غلظت گلوبولین نمونه ها، غلظت آلبومین نمونه ها از میزان

پروتئین کل آن‌ها کسر شد و غلظت گلوبولین محاسبه گردید (۱۸).

فراسنجه‌های یونی پلاسمای منی: غلظت کلسیم و منیزیم به روش رنگ‌سنجی به‌وسیله کیت تجاری شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Dayton, USA) به‌ترتیب در طول موج ۵۷۰ و ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. طبق پروتکل شرکت سازنده کیت‌ها، ابتدا اندازه‌گیری جذب نوری نمونه‌ها و استاندارد انجام گرفت و سپس از رابطه‌های مربوطه برای برآورد نهایی غلظت پارامترهای بیوشیمیایی استفاده گردید.

غلظت سدیم و پتاسیم پلاسمای منی با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (Flame-photometer, Sherwood Scientific Ltd, Cambridge, United Kingdom) اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری هر کدام از این عناصر دستگاه دارای فیلتر اختصاصی بود. طبق دستورالعمل دستگاه فلیم‌فتومتر، سدیم و پتاسیم به‌ترتیب انرژی خود را عمدتاً در طول موج‌های ۵۸۹ نانومتر که زرد رنگ بوده و ۷۶۷ نانومتر که بنفش می‌باشد منتشر می‌کنند. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم، ابتدا با استفاده از استانداردهای اختصاصی دستگاه فلیم‌فتومتر غلظت‌های مختلف عناصر فوق آماده‌سازی و به دستگاه معرفی گردید. سپس اندازه‌گیری نمونه‌های مدنظر توسط دستگاه با فیلتر اختصاصی هر یون انجام گرفت. لازم به ذکر است که دستگاه با استفاده از داده‌های مربوط به غلظت‌های استاندارد معرفی شده مقدار یون‌های سدیم و پتاسیم هر نمونه را سنجش می‌نماید.

pH: pH پلاسمای منی هر مولد با pH متر استاندارد WTW 537, Xylem Organization, Munich, (Germany) ارزیابی شد. ارزیابی میزان pH حداکثر ۶۰ دقیقه بعد از نمونه‌گیری انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: در ابتدا با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) نرمال بودن داده‌ها سنجش گردید. داده‌های درصدی با استفاده از تابع تبدیل لگاریتمی (Log transformation) نرمال‌سازی شدند. برای بررسی همبستگی بین پارامترهای اسپرم‌شناختی، بیوشیمیایی و یونی پلاسمای منی از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficient) استفاده شد. تمامی سنجش‌ها با استفاده از نسخه ۲۳ نرم‌افزار SPSS (IBM Corporation, Armonk, USA) انجام شد. داده‌های درون متن به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) ارائه شده‌اند.

نتایج

نتایج مربوط به پارامترهای اسپرم شناختی مولدین ماهی کلمه در جدول ۱ قابل مشاهده است. طبق مشاهدات، میانگین حجم اسپرم ۰/۴ میلی‌لیتر، درصد فعالیت اسپرماتوزو ۹۶/۱ درصد، مدت زمان فعالیت اسپرماتوزو ۵۴/۴ ثانیه، درصد اسپرماتوکریت ۵۰/۴ درصد، تراکم اسپرماتوزوئیدها $1/5 \times 10^9$ عدد اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر و میزان pH ۷/۹ به‌دست آمد.

نتایج مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای منی ماهی کلمه در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس ارزیابی‌های انجام شده، میانگین گلوکز ۴/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، کلسترول ۱۳/۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، تری‌گلیسرید ۳/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، پروتئین کل ۰/۹ گرم در دسی‌لیتر، آلبومین ۰/۶ گرم در دسی‌لیتر و گلوبولین ۰/۳ گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد.

بر طبق مشاهدات (جدول ۳)، غلظت یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم به‌ترتیب ۱۶۱/۹، ۴۷/۳، ۵/۵ و ۳/۸ میلی‌مول در لیتر اندازه‌گیری شد. همچنین طبق

ارزیابی‌های انجام شده، نسبت سدیم به پتاسیم ۳/۴، سدیم به کلسیم ۳۴/۶، سدیم به منیزیم ۴۴/۵، پتاسیم به کلسیم ۹/۹، پتاسیم به منیزیم ۵/۱ و کلسیم به منیزیم ۱/۱ به دست آمد.

نتایج به دست آمده در زمینه رابطه همبستگی بین پارامترهای اسپرم‌شناختی مولدین ماهی کلمه در جدول ۴ قابل مشاهده است. بر اساس نتایج به دست آمده، تراکم اسپرماتوزوئیدها با درصد اسپرماتوکریت همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد ($P < 0.01$). بین سایر پارامترهای اسپرم‌شناختی هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج مربوط به رابطه همبستگی بین پارامترهای بیوشیمیایی و یونی پلاسمای منی مولدین ماهی کلمه در جدول ۵ ارائه شده است. طبق نتایج به دست آمده، میزان کلسترول پلاسمای منی با یون پتاسیم همبستگی معنی‌دار منفی نشان داد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد غلظت پروتئین کل با آلبومین و گلوبولین همبستگی مثبت معنی‌دار دارد ($P < 0.01$). هم‌چنین در میزان آلبومین با گلوبولین همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). بین سایر پارامترهای بیوشیمیایی و یونی همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۱- فراسنجه‌های اسپرم‌شناختی مولدین ماهی کلمه تالاب انزلی (*Rutilus caspicus*) در فصل تولیدمثل ($n=30$).

Table 1. Spermatological parameters of the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) broodstock during the breeding season ($n=30$).

خطای استاندارد Standard error	میانگین Mean	بیش‌ترین Highest	کم‌ترین Lowest	پارامترها Parameters
0.0	0.4	0.6	0.2	حجم اسپرم (میلی‌لیتر) Sperm volume (mL)
1.2	96.1	100	90.0	فعالیت اسپرماتوزوا (درصد) Sperm motility (%)
1.7	54.4	61.0	39.0	زمان فعالیت (ثانیه) Motility duration (s)
1.6	50.4	59.7	41.2	اسپرماتوکریت (درصد) Spermatocrit (%)
0.1	1.5	1.9	1.2	تراکم اسپرماتوزوئید (میلی‌لیتر/ 10^9) Sperm density ($\times 10^9$ /mL)
0.1	7.9	8.4	7.4	بی‌اچ pH

جدول ۲- فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسما منی مولدین ماهی کلمه تالاب انزلی (*Rutilus caspicus*) در فصل تولیدمثل (n=۳۰).

Table 2. Biochemical parameters of seminal plasma in the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) broodstock during the breeding season (n=30).

خطای استاندارد Standard error	میانگین Mean	بیش‌ترین Highest	کم‌ترین Lowest	پارامترهای بیوشیمیایی Biochemical parameters
0.6	4.8	11.5	2.4	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dL)
1.5	13.1	25.3	4.3	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)
0.8	3.6	20.9	8.0	تری‌گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg/dL)
0.1	0.9	1.6	0.4	پروتئین کل (گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dL)
0.1	0.6	1.2	0.2	آلبومین (گرم در دسی لیتر) Albumin (g/dL)
0.0	0.3	0.5	0.1	گلوبولین (گرم در دسی لیتر) Globulin (g/dL)

جدول ۳- فراسنجه‌های یونی پلاسما منی مولدین ماهی کلمه تالاب انزلی (*Rutilus caspicus*) در فصل تولیدمثل (n=۳۰).

Table 3. Ionic parameters of seminal plasma in the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) broodstock during the breeding season (n=30).

خطای استاندارد Standard error	میانگین Mean	بیش‌ترین Highest	کم‌ترین Lowest	فراسنجه‌های یونی Ionic parameters
1.3	47.3	57.1	35.1	پتاسیم (میلی مول در لیتر) Potassium (mM/L)
10.3	161.9	245.7	95.4	سدیم (میلی مول در لیتر) Sodium (mM/L)
0.5	5.5	9.4	1.3	کلسیم (میلی مول در لیتر) Calcium (mM/L)
0.2	3.8	5.4	1.8	منیزیم (میلی مول در لیتر) Magnesium (mM/L)
0.2	3.4	5.8	1.8	نسبت سدیم به پتاسیم Sodium/Potassium ratio
4.7	34.6	88.4	11.7	نسبت سدیم به کلسیم Sodium/Calcium ratio
4.3	44.5	96.1	20.0	نسبت سدیم به منیزیم Sodium/Magnesium ratio
2.2	9.9	41.3	4.7	نسبت پتاسیم به کلسیم Potassium/Calcium ratio
1.1	5.1	27.3	8.4	نسبت پتاسیم به منیزیم Potassium/Magnesium ratio
0.2	1.1	4.1	0.3	نسبت کلسیم به منیزیم Calcium/Magnesium ratio

جدول ۴- رابطه همبستگی بین فراسنجه‌های اسپرم‌شناختی مولدین ماهی کلمه تالاب انزلی (*Rutilus caspicus*) (n=۳۰).

Table 4. Correlation between spermatological parameters of the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) broodstock during the breeding season (n=30).

بی‌اج pH	تراکم اسپرم Sperm density	اسپرماتوکریت Spermatocrit	مدت زمان فعالیت اسپرم Motility duration	درصد فعالیت اسپرم Sperm motility
حجم اسپرم Sperm volume	0.063	-0.006	-0.065	0.009
درصد فعالیت اسپرم Sperm motility	-0.200	0.160	0.242	-0.222
مدت زمان فعالیت اسپرم Motility duration	0.155	-0.464	-0.516	
اسپرماتوکریت Spermatocrit	0.292	0.755**		
تراکم اسپرم Sperm density	0.321			

P<۰/۰۱ **

جدول ۵- رابطه همبستگی بین فراسنجه‌های یونی و بیوشیمیایی پلاسمای منی مولدین ماهی کلمه تالاب انزلی (*Rutilus caspicus*) (n=۳۰).

Table 5. Correlation between ionic and biochemical parameters of seminal plasma in the Anzali lagoon migratory population of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) broodstock during the breeding season (n=30).

پتاسیم Potassium	سدیم Sodium	منیزیم Magnesium	کلسیم Calcium	گلوبولین Globulin	آلبومین Albumin	پروتئین کل Total protein	تری‌گلیسرید Triglyceride	کلسترول Cholesterol
گلوکز Glucose	-0.161	0.276	-0.360	0.109	-0.124	-0.078	-0.021	-0.331
کلسترول Cholesterol	-0.506*	-0.167	0.009	0.158	-0.337	-0.322	0.084	
تری‌گلیسرید Triglyceride	-0.196	0.073	0.068	0.283	0.399	0.255	0.325	
پروتئین کل Total protein	0.407	0.018	-0.038	-0.007	0.737**	0.968**		
آلبومین Albumin	0.427	-0.060	-0.102	0.019	0.543*			
گلوبولین Globulin	0.211	0.220	0.146	-0.074				
کلسیم Calcium	-0.189	-0.005	-0.347					
منیزیم Magnesium	-0.075	-0.215						
سدیم Sodium	0.190							

P<۰/۰۵ *

P<۰/۰۱ **

بحث

با توجه به اهمیت کیفیت گامت‌ها در توسعه صنعت آبی‌پروری، ارزیابی خصوصیات اسپرم‌شناختی ماهی‌ها می‌تواند در شناسایی مولدین با کیفیت و بهگزینی جمعیت‌های موجود در شرایط کارگاهی نقشی کلیدی داشته باشد. در همین راستا، با توجه به اهمیت ماهی کلمه، مطالعه حاضر با هدف بررسی کیفیت مایع منی، خصوصیات پلاسمای منی و ارتباط آن‌ها در جمعیت مهاجر تالاب انزلی این گونه ارزشمند انجام پذیرفت.

در پژوهش حاضر، میانگین حجم اسپرم استحصال‌ی از مولدین ماهی کلمه $0/4$ میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. در مطالعات انجام شده روی ماهی کلمه گرگانرود نیز میانگین حجم اسپرم $0/3$ تا $0/7$ میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۹، ۲۰، ۲۱) که با نتایج به دست آمده در زمینه حجم اسپرم استحصال‌ی از مولدین ماهی کلمه انزلی در بررسی حاضر هم‌راستا می‌باشد. در مطالعه حاضر، میانگین مدت زمان فعالیت اسپرماتوزوا در ماهی کلمه $54/4$ ثانیه ارزیابی گردید. گلپور و همکاران (۲۰۱۳) و حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) مدت زمان فعالیت اسپرماتوزوا را در جمعیت گرگانرود ماهی کلمه به ترتیب $48/5$ و $52/7$ ثانیه گزارش نموده‌اند (۱۹، ۲۰) که با نتایج به دست آمده در این مطالعه هم‌راستا می‌باشد. به‌طورکلی مدت زمان فعالیت اسپرماتوزوا از مهم‌ترین شاخص‌های سنجش کیفیت اسپرم و از پارامترهای خاص گونه‌ای (Species-specific) است. با این‌حال عنوان شده است که نحوه اندازه‌گیری این شاخص، خصوصیات ژنتیکی، شرایط محیطی و تغذیه‌ای و ذخیره انرژی اسپرم می‌توانند تغییرات قابل‌توجهی در میزان آن ایجاد نمایند (۲۲). در زمینه درصد فعالیت اسپرماتوزوئیدها نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میانگین فعالیت اسپرماتوزوئیدها در ماهی کلمه

انزلی $96/1$ درصد می‌باشد. گلپور و همکاران (۲۰۱۳) پارامترهای اسپرم‌شناختی مولدین ماهی کلمه گرگانرود در زمان‌های مهاجرت تولیدمثلی را بررسی نموده و درصد فعالیت اسپرم را در بازه ۶۵ تا ۸۶ درصد گزارش نمودند، به‌طوری‌که میانگین فعالیت اسپرم در انتهای زمان مهاجرت تولیدمثلی ماهی کلمه در مطالعه این پژوهش‌گران ۷۵ درصد گزارش شد (۱۹). در مطالعه حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) نیز میانگین درصد فعالیت اسپرم در ماهی کلمه گرگانرود ۷۶ درصد عنوان شد (۲۱). با توجه به این موضوع که در مطالعه حاضر مولدین در انتهای فصل تولیدمثلی صید شده و هیچ‌گونه تیمار هورمونی روی آن‌ها اعمال نشده بود، نتایج مطالعه حاضر با گزارش‌های این پژوهش‌گران متفاوت می‌باشد. البته علت این تفاوت را می‌توان به تفاوت جمعیت‌های مورد بررسی نسبت داد. لازم به ذکر است که تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند با سن، اندازه و شرایط محیطی و تغذیه‌ای مولدین نیز در ارتباط باشد (۱۸، ۲۲).

میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید در پژوهش حاضر به ترتیب $50/4$ درصد و $10^9 \times 1/5$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر به دست آمد. میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید ماهی کلمه گرگانرود در بررسی حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) به ترتیب $61/1$ درصد و $10^9 \times 1/4$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر (۲۱) و در مطالعه گلپور و همکاران (۲۰۱۳) به ترتیب $59/0$ درصد و $10^9 \times 1/6$ در میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۹). ایمان‌پور و همکاران (۱۳۸۸) نیز میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید در ماهی کلمه گرگانرود را به ترتیب $56/5$ درصد و $10^9 \times 1/4$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر گزارش نموده‌اند (۲۰). طبق این نتایج، میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید به دست آمده در مطالعه حاضر روی ماهی کلمه انزلی در بازه

محلول‌های نگهداری اسپرم برای نگهداری کوتاه و بلندمدت اسپرم دانستن دامنه pH ضروری است (۱۳). بر همین اساس، نتایج این مطالعه می‌تواند برای ساخت محلول‌های ویژه نگهداری اسپرم ماهی کلمه در مطالعات آتی مدنظر قرار گیرد.

طبق مطالعات انجام شده، از ترکیبات پلاسمای منی می‌توان برای بررسی تفاوت‌های درون و برون‌گونه‌ای خاص استفاده نمود (۳). سانگاس و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که وجود گلوکز در پلاسمای منی می‌تواند با تقاضای انرژی بیضه‌ها در طول اسپرماتوزن مرتبط باشد و همچنین برای سنتز لیپیدها در اسپرماتوزو مورد استفاده قرار گیرد (۲۶). پروتئین‌های موجود در پلاسمای منی معمولاً نقش حفاظتی اسپرم را بر عهده دارند و بر میزان زنده‌مانی اسپرماتوزو تأثیر قابل‌توجهی می‌گذارند (۲۷). وجود لیپیدها از جمله تری‌گلیسرید و کلسترول در پلاسمای منی با فعالیت‌های متابولسمی اسپرماتوزو مرتبط می‌باشد. همچنین کلسترول موجود در پلاسمای اسپرم ممکن است وظیفه اثر حفاظتی در برابر تغییرات محیطی (به عنوان مثال تغییرات دمایی) را داشته باشد، به‌خصوص هنگامی که حجم اسپرم افزایش می‌یابد (۲۸). با توجه به بررسی‌های انجام شده مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعه گلپور و همکاران (۲۰۱۳) و حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) نشان می‌دهد که میزان گلوکز پلاسمای منی در جمعیت تالاب انزلی با جمعیت گرگانرود ماهی کلمه در یک دامنه قرار دارد (۱۹، ۲۱). با این حال تفاوت مشهودی بین این دو جمعیت در میزان کلسترول و پروتئین پلاسمای منی دیده می‌شود. این تفاوت‌ها می‌تواند با سن، وضعیت رسیدگی جنسی، شرایط محیطی و اختصاصات ویژه گونه در ارتباط باشد (۲۵). در نتیجه، لازم است تفاوت‌های مشاهده شده در ترکیبات پلاسمای منی به‌ویژه در زمینه ساخت محلول‌های مختلف برای نگهداری اسپرم ماهی کلمه مدنظر قرار گیرد.

گزارش شده سایر مطالعات روی ماهی کلمه گرگانرود می‌باشد. در واقع، میزان اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئیدها در کپور ماهیان بسیار متفاوت می‌باشد. در بررسی سکو و همکاران (۲۰۱۴) روی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، تراکم اسپرماتوزوئید $10^9 \times 18/8$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر گزارش شده است (۲۳). در مطالعه علوی و همکاران (۲۰۱۰) روی ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba*) نیز میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید به ترتیب $38/1$ درصد و $10^9 \times 22/9$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر عنوان شده است (۲۴). تکه و همکاران (۱۳۸۸) میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید در ماهی سفید را به ترتیب $36/6$ درصد و $10^9 \times 1/6$ عدد اسپرماتوزوئید در میلی‌لیتر ارزیابی نموده‌اند (۲۳). طبق مطالعات فوق، میانگین اسپرماتوکریت و تراکم اسپرماتوزوئید در کپور ماهیان بسیار متغیر می‌باشد و حتی در یک گونه نیز دامنه تغییرات وسیعی را شامل می‌شود. علت تفاوت این شاخص‌ها در گونه‌های مختلف عمدتاً با خصوصیات ویژه مختص گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف، شرایط محیطی، کیفیت تغذیه و میزان رسیدگی جنسی در زمان نمونه‌برداری ارتباط دارد (۲۵).

طبق نتایج بررسی حاضر، میانگین pH اسپرم در مولدین ماهی کلمه $7/9$ به‌دست آمد. میزان pH در سایر کپور ماهیان نیز توسط پژوهش‌گران مختلف سنجش شده است. به‌عنوان مثال در ماهی سفید $8/1$ (۲۳)، سفید سیستان $7/8$ (۲۴)، ماهی طلایی (*Carassius auratus*) $8/8$ (۲۵)، در ماهی آمور $7/2$ (۲۶) و در ماهی کلمه گرگانرود $7/9$ (۱۹، ۲۱) گزارش شده است. در واقع میزان این شاخص بسیار با اهمیت است زیرا تغییرات هرچند اندک می‌تواند روی سایر شاخص‌ها به‌خصوص درصد تحرک نمونه‌ها تأثیرگذار باشد، به‌طوری‌که برای ساخت

آگاهی از ترکیبات فیزیکی و شیمیایی اسپرم و پلاسمای منی برای ارزیابی موفقیت‌آمیز خصوصیات تولیدمثلی گونه‌های مختلف ماهیان امری ضروری است (۲۹). در همین راستا، بررسی میزان یون‌های موجود در پلاسمای منی می‌تواند به درک بهتر مکانیزم‌های مرتبط در امر لقاح منجر شود. عنوان شده است که در کپور ماهیان اختلاف غلظت یون پتاسیم بین آب و پلاسمای منی عامل تحریک‌کننده حرکت اسپرماتوزوئیدها است (۲۵). در فرآیند فعال شدن اسپرم، نفوذ کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی نقشی اساسی در فعال شدن اسپرماتوزوئیدها ایفا می‌کند (۲۶). در این حالت درصد بالایی از اسپرماتوزوئیدها حتی در غلظت‌های بالای یون پتاسیم قادر به حرکت هستند. گزارش شده است که یون سدیم می‌تواند اثر بازدارندگی یون پتاسیم روی تحرک اسپرماتوزوئیدها را خنثی کند، با این حال اغلب اثر کاتیون‌های دو ظرفیتی به‌خصوص یون کلسیم در این زمینه بسیار مشهودتر است به‌طوری‌که حتی غلظت‌های بسیار اندک یون کلسیم (در حد میلی‌مولار) می‌تواند باعث افزایش مدت زمان فعالیت، درصد فعالیت و سرعت حرکت اسپرماتوزوئیدها شود (۳). در پژوهش حاضر، غلظت یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم به ترتیب $161/9$ ، $47/3$ ، $5/5$ و $3/8$ میلی‌مول در لیتر اندازه‌گیری شد. در همین راستا، گلپور و همکاران (۲۰۱۳) غلظت یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ماهی کلمه گرگانرود را به ترتیب 207 ، $23/7$ ، $14/3$ ، $2/4$ میلی‌مول در لیتر گزارش کرده‌اند (۱۹). در مطالعه حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) نیز غلظت یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ماهی کلمه گرگانرود به ترتیب $200/9$ ، $26/9$ ، $10/9$ ، $3/9$ میلی‌مول در لیتر گزارش شده است (۲۱). با مقایسه غلظت یون‌های اندازه‌گیری شده مطالعه حاضر با مطالعات فوق می‌توان این گونه استنباط نمود که داده‌های به‌دست آمده تقریباً در یک

دامنه می‌باشند. برخی تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند با اسمولالیتیه مایع منی در ارتباط باشد (۳). به‌طورکلی، تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند با تغذیه، سن، وضعیت رسیدگی جنسی، شرایط محیطی و اختصاصات ویژه گونه‌ای مرتبط باشد (۲۵).

در مطالعه حاضر، همبستگی مثبت معنی‌داری بین تراکم اسپرماتوزوئیدها با درصد اسپرماتوکریت مشاهده شد. در واقع، اندازه‌گیری شاخص اسپرماتوکریت روشی سریع برای بررسی تراکم اسپرماتوزوئیدها در نمونه اسپرم است و همبستگی مثبت بین تراکم اسپرماتوزوئیدها با درصد اسپرماتوکریت در سایر گونه‌های ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۳۰، ۳۱)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (۳۲)، ماهی کپور (۳۳) و ماهی قزل‌آلا (*Salmo trutta macrostigma*) (۳۴) گزارش شده است. با این حال، در مطالعه حلیمی و همکاران (۲۰۱۴) و ایمان‌پور و همکاران (۱۳۸۸) بین تراکم اسپرماتوزوئیدها با درصد اسپرماتوکریت در ماهی کلمه گرگانرود همبستگی معنی‌داری گزارش نشد (۲۱، ۲۵). در این مطالعه بین میزان کلسترول پلاسمای منی با یون پتاسیم همبستگی معنی‌دار منفی، بین غلظت پروتئین کل با آلومین و گلوبولین همبستگی مثبت معنی‌دار و هم‌چنین بین میزان آلومین با گلوبولین همبستگی مثبت معنی‌دار مشاهده شد. هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، بوزکورت و همکاران (۲۰۱۱) همبستگی منفی معنی‌داری بین غلظت کلسترول پلاسمای منی با یون پتاسیم گزارش نموده‌اند (۳۴). با این حال، در مطالعه زادمجید و ایمان‌پور (۲۰۰۷) در ماهی سیم و عرب‌نژاد و همکاران (۲۰۱۶) در ماهی سفیدک سیستان همبستگی معنی‌داری بین غلظت کلسترول پلاسمای منی با یون پتاسیم گزارش نشده است (۲۴، ۲۵). در ارتباط با همبستگی بین غلظت پروتئین کل، آلومین و

گلوبولین پلاسمای منی مطالعه‌ای در دسترس نمی‌باشد و نیاز به بررسی‌های بیش‌تر برای درک بهتر ماهیت تأثیرگذاری این شاخص‌ها در کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان می‌باشد. تفاوت بین همبستگی‌های مشاهده شده در این پژوهش با نتایج سایر مطالعات می‌تواند تحت تأثیر خصوصیات ژنتیکی، عوامل محیطی و رژیم غذایی گونه‌های مورد بررسی باشد.

دقیق‌تر فرآیند لقاح در این گونه مورد استفاده قرار گیرد. با مدنظر قرار گرفتن نتایج این پژوهش، امکان برنامه‌ریزی و مدیریت دقیق‌تر در زمینه مقایسه دو جمعیت کلمه گرگانرود و انزلی در مطالعات آتی فراهم می‌گردد. هم‌چنین، این نتایج می‌تواند به پژوهش‌گران در زمینه تهیه محلول‌های مناسب جهت ذخیره‌سازی مایع منی ماهی کلمه انزلی کمک شایانی نماید.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی، در مطالعه حاضر پارامترهای اسپرم‌شناختی و پارامترهای بیوشیمیایی و یونی پلاسما منی ماهی کلمه انزلی ارزیابی شد و بین برخی از پارامترهای فوق همبستگی معنی‌داری مشاهده گردید. این نتایج می‌تواند در سنجش توانایی تولیدمثل و ارزیابی

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کارکنان مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان استخوانی شهید انصاری و سایر دوستانی که سبب پیشبرد اهداف در این پژوهش شدند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Gallego, V., & Asturiano, J. F. (2019). Fish sperm motility assessment as a tool for aquaculture research: a historical approach. *Reviews in Aquaculture*. 11, 697-724.
2. Fauvel, C., Suquet, M., & Cosson, J. (2010). Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*. 26, 636-643.
3. Alavi, S. M. H., & Cosson, J. (2006). Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*. 30, 1-14.
4. Zhang, S., Cheng, Y., Alavi, S. M. H., Shazada, N. E., Linhartová, Z., Rodinová, V., & Linhart, O. (2023). Elevated temperature promotes spermatozoa motility kinetics and fertilizing ability following short-term storage: An implication for artificial reproduction of common carp *Cyprinus carpio* in a hatchery. *Aquaculture*. 565, 739126.
5. Akbari Nargesi, E., & Falahatkar, B. (2023). Effects of dietary supplementation of multi-strain probiotics on semen quality, seminal plasma compositions, and fertilization ability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock spermatozoa. *Theriogenology*. 202, 1-9.
6. Akbari Nargesi, E., Gorouhi, D., & Falahatkar, B. (2024). Efficacy of sGnRHa in combination with domperidone on the sperm quality, seminal fluid metabolites, and fertilization ability of spermatozoa in Caspian Kutum, *Rutilus frisii*. *Aquaculture International*. 32, 817-832.
7. Falahatkar, B., Nargesi, E. A., Efatpanah, I., & Żarski, D. (2022). The effectiveness of human chorionic gonadotropin in stimulation of second spermiation in pikeperch *Sander lucioperca* during the spawning season. *Animal Reproduction Science*. 245, 107055.
8. Cosson, J. (2004). The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*. 12, 69-85.

9. Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., McNevin, A. A., Tacon, A. G. J., Teletchea, F., Tomasso, J. R., Tucker, C. S., & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*. 51, 578-633.
10. Beirão, J., Boulais, M., Gallego, V., O'Brien, J. K., Peixoto, S., Robeck, T. R., & Cabrita, E. (2019). Sperm handling in aquatic animals for artificial reproduction. *Theriogenology*. 133, 161-178.
11. Kowalski, R. K., & Cejko, B. I. (2019). Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. *Theriogenology*. 135, 94-108.
12. Alavi, S. M. H., Cosson, J., Bondarenko, O., & Linhart, O. (2019). Sperm motility in fishes: (III) diversity of regulatory signals from membrane to the axoneme. *Theriogenology*. 136, 143-165.
13. Alavi, S. M. H., & Cosson, J. (2005). Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*. 29, 101-110.
14. Verma, D. K., Routray, P., Dash, C., Dasgupta, S., & Jena, J. K. (2009). Physical and biochemical characteristics of semen and ultrastructure of spermatozoa in six carp species. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 9, 67-76.
15. Naddaf, R., Abdoli, A., Kiabi, B. H., Amiri, B. M., & Karami, M. (2005). Age, growth and reproduction of the Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in the Anzali and Gomishan wetlands, North Iran. *Journal of Applied Ichthyology*. 21, 492-497.
16. Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., & Żarski, D. (2022). Artificial reproduction of Caspian roach, *Rutilus caspicus* following stimulating ovulation with Ovaprim, Ovopel, and their combinations under controlled conditions. *Animal Reproduction Science*. 238, 106932.
17. Ciereszko, A., Judycka, S., Nynca, J., Słowińska, M., & Dietrich, M. A. (2020). Factors influencing milt quality in fishes and its usefulness to cryopreservation. In: Betsy, J., Kumar, S. (Eds.), *Cryopreservation of Fish Gametes*. Springer Nature, Singapore. pp. 25-67.
18. Akbari Nargesi, A., Gorouhi, D., Alavi, S. M. H., & Falahatkar, B. (2025). Spermiation induction in the common bream (*Abramis brama*) using sGnRHa and domperidone (Ovaprim): Sperm production, seminal plasma composition, and spermatozoa motility and fertilizing ability. *Aquaculture*. 597, 741902.
19. Golpour, A., Akhoundian, M., Khara, H., Rahbar, M., & Dadras, H. (2013). Changes of sperm quality parameters in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) during spawning migration. *Czech Journal of Animal Science*. 58, 117-124.
20. Imanpour, M. R., Fendereski, F., & Kordjazi, M. (2009). The relationship between fish size and sperm volume, hematocrite index, gonadal characteristics and spermatological parameters in *Rutilus rutilus caspicus*. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 71, 60-66.
21. Halimi, M., Golpour, A., Dadras, H., Mohamadi, M., & Chamanara, V. (2014). Quantitative characteristics and chemical composition in Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspicus*) sperm. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 13, 81-90.
22. Cheng, Y., Franěk, R., Rodina, M., Xin, M., Cosson, J., Zhang, S., Linhart, O., Kowalski, R., Mohammad, S., Alavi, H., Dzyuba, B., Zarski, D., & Horváth, Á. (2021). Optimization of sperm management and fertilization in zebrafish (*Danio rerio* (Hamilton)). *Animals*. 11, 1558.
23. Cejko, B. I., Krejszeff, S., Judycka, S., Sarosiek, B., Dietrich, M., Kucharczyk, D., & Kowalski, R. K. (2014). Sperm quality and selected biochemical markers of seminal plasma at the

- beginning of the reproductive period of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture International*. 22, 111-122.
24. Alavi, S. M. H., Kozak, P., Hatef, A., Hamackova, J., & Linhart, O. (2010). Relationships between reproductive characteristics in male *Vimba vimba* L. and the effects of osmolality on sperm motility. *Theriogenology*. 74, 317-325.
25. Zadmajid, V., & Imanpoor, M. R. (2007). The correlation between some biochemical and spermatological parameters in goldfish (*Carassius auratus*) semen. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 69, 57-63.
26. Soengas, J. L., Sanmartín, B., Barciela, P., Aldegunde, M., & Rozas, G. (1993). Changes in carbohydrate metabolism in domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) related to spermatogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 105B, 665-671.
27. Li, P., Hulak, M., & Linhart, O. (2008). Sperm proteins in teleostean and chondrosteian (sturgeon) fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*. 35, 567-581.
28. Piironen, J., & Hyvärinen, H. (1983). Composition of the milt of some teleost fishes. *Journal of Fish Biology*. 22, 351-361.
29. Cabrita, E., Sarasquete, C., Martínez-Páramo, S., Robles, V., Beirão, J., Pérez-Cerezales, S., & Herráez, M. P. (2010). Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. *Journal of Applied Ichthyology*. 26, 623-635.
30. Baynes, S. M., Scott, A. P., & Dawson, A. P. (1981). Rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson, spermatozoa: effects of cations and pH on motility. *Journal of Fish Biology*. 19, 259-267.
31. Ciereszko, A., & Dabrowski, K. (1994). Relationship between biochemical constituents of fish semen and fertility: the effect of short-term storage. *Fish Physiology and Biochemistry*. 12, 357-367.
32. Piironen, J. (1985). Variation in the properties of milt from the finnish landlocked salmon (*Salmo salar* m. sebago Girard) during a spawning season. *Aquaculture*. 48, 337-350.
33. Takashima, F., Weil, C., Billard, R., Crim, L. W., & Fostier, A. (1984). Stimulation of spermiation by LHRH analogue in carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 50, 1323-1329.
34. Bozkurt, Y., Gretmen, F., Kökçü, Ö., & Erçin, U. (2011). Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility. *Czech Journal of Animal Science*. 56, 355-364.

