مقایسه اثرات تزریق هورمون‌های اواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز ماهی باربوس روی پارامترهای اسپرم شناختی ماهی قرمز(*Carassius auratus gibelio*)

ایمان صابری اصل *[1]، وحید تقی‌زاده[1]، محمدرضا ایمانپور[1]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
صندوق پستی: ۹۶۷۳۱ ۴۱۹۳۴

تاریخ دریافت: ۸ اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۲۹ خرداد ۱۳۹۷

چکیده

در این مطالعه اثرات تزریق هورمون‌های اواپریم،HCG و هیپوفیز باربوس بر روی پارامترهای اسپرم شناختی (طول دوره حرکت اسپرم، درصد تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، حجم اسپرم، pH) و مقایسه کیفیت اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین نر ماهی قرمز(*Carassius auratus gibelio*) موردبررسی قرار گرفت. هورمون‌های اواپریم (تیمار دوم)، HCG (تیمار سوم) و عصاره هیپوفیز باربوس (تیمار چهارم) به ترتیب با دوزهای تزریقی (۲ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب) مورداستفاده قرار گرفتند. pH در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بیشترین میزان pH در تیمارهای دوم و سوم مشاهده شد (به ترتیب ۷/۷۶±۷،۲۴۵/۷۷±۰/۳۶۸). در فاکتور درصد اسپرم‌های متحرک بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)، به‌گونه‌ای که درتیمارهای سوم و دوم بالاترین درصد تحرک مشاهده شد (۹۶/۶۰±۴/۶۸و ۹۳/۴۸±۹/۴۸)، درصورتی‌که بین طول دوره تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) . بین میانگین اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت و در تیمار دوم بالاترین درصد اسپرماتوکریت مشاهده شد (۴۸/۴۵±۱۱/۸۰). همچنین تراکم اسپرم بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵) و در تیمار دوم بالاترین تراکم اسپرم مشاهده شد (۱۳۷/۷۱ میلیون در میلی‌لیتر مایع منی). همچنین حجم اسپرم بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)، در تیمار چهارم و دوم بالاترین حجم اسپرم مشاهده شد (به ترتیب ۰/۰،۱۶۳/۵۹۰±۰/۳۲۱±۰/۴۷۰). نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون‌های اواپریم و HCG نسبت به هیپوفیز و تیمار دما در شرایط اسارت تأثیر بیشتری روی پارامترهای اسپرم شناختی ماهی قرمز دارند.

کلمات کلیدی: ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*)، اواپریم، HCG، عصاره هیپوفیز، پارامترهای اسپرم شناختی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Imansaberi1364@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

مقدمه

ماهی قرمز *(Carassius auratus gibelio)* از خانواده کپور ماهیان(Cyprinidae) است و ازلحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* است (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۵). این ماهی به‌عنوان یکی از معروف‌ترین ماهیان زینتی دنیا شناخته‌شده می‌شود که سالیان متمادی است که مهمان تنگ‌های بلورین منازل ایرانیان به‌ویژه در ایام عید باستانی نوروز است و نیاز به آن هرساله بیشتر احساس می‌شود (ایمان پور و کمالی، ۱۳۸۵). این ماهی نسبت به سایر ماهیان زینتی از پیشینه نسبتاً طولانی‌تری در راستای مراقبت و نگهداری توسط بشر برخوردار بوده است و با گسترش علم و تجاری‌سازی آن در عرصه آبزی‌پروری به‌ویژه ماهیان زینتی، همه‌ساله شاهد ظهور ارقام تجاری مختلفی از ماهی قرمز در بازار جهانی هستیم که در کشورهای مختلف به‌ویژه کشور-های جنوب شرق آسیا، نمایشگاه‌ها و فستیوال‌های تخصصی این ماهی جهت معرفی نژادهای جدید، انتخاب ماهیان برتر و زیباتر و معرفی تولیدکنندگان نمونه و جذب گردشگر صورت می‌گیرد؛ که خود بر اهمیت و جایگاه ماهی قرمز در زندگی بشر امروز می-افزاید (دادگر، ۱۳۸۹). ماهی قرمز به‌صورت گسترده در مطالعات تولیدمثلی و کنترل هورمونی مورداستفاده قرار می‌گیرد.(Bjerselius and Zheng, 1995). در شرایط اسارت اسپرم ریزی و تخم‌ریزی به‌صورت کامل صورت نمی‌گیرد و تزریق هورمون برای القای اسپرم ریزی و تخم‌ریزی و همزمانی آزادسازی گامت‌ها ضروری است (Zohar and Mylonas, 2001). یکی از مهترین مشکلات در تکثیر مصنوعی کپور ماهیان به دست آوردن گامت‌هایی باکیفیت بالا از مولدین تزریق‌شده است (Billard, 1992). در شرایط استرس‌زا هورمون LH از هیپوفیز آزاد نمی‌شود درنتیجه باعث عدم توانایی اسپرم ریزی در نرها و کاهش کیفیت و کمیت اسپرم می‌شود (Lim *et al*., 2004). در صنعت آبزی‌پروری توجه به کیفیت تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیشتر است ازآنجاکه اسپرم باکیفیت مناسب بر روی کیفیت لاروهای تولیدشده اثرگذار است و کارایی لقاح و تکثیر مصنوعی را در ماهیان افزایش می‌دهد (Rurangwa *et al*., 2004) و استفاده از تکنیک‌هایی جهت افزایش کمیت و کیفیت اسپرم موجب افزایش راندمان تولید خواهد شد. هورمونGnRH[1] در ماهیان آب‌شور و شیرین باعث بهبود کمیت و کیفیت اسپرم گردیده است (Zohar and Mylonas, 2001; Garcia;1993; King and Young, 2001; Lim *et al*., 2002). GnRH به همراه یک آنتی‌دوپامین به دلیل قیمت مناسب نسبت به هیپوفیز جهت تزریق به ماهیان مولد مورداستفاده قرار می‌گیرد (Zohar and Mylonas, 2001). اواپریم ترکیبی از هورمون‌های آزادکننده آزادماهیان (sGnRHa)[2] و یک ضد دوپامین دومپریدون است (Leelapatra, 1988 Nandeesha *et al*., 1990;). این هورمون به‌صورت موفقیت‌آمیزی جهت القای اسپرم ریزی در ماهی کپور معمولی مورداستفاده قرارگرفته است (سیفی و همکاران، ۱۳۹۰) هورمون GnRH با اثر بر روی غده هیپوفیز باعث افزایش GTH[3] و درنتیجه حجم اسپرم و رهاسازی اسپرماتوزوآ به درون لوله اسپرم بر می‌شود (Mylonas *et al*., 1997). در میان گنادوتروپین‌های پستانداران HCG[4] تأثیر بسزایی در

[1] - Gonadotropin Releasing Hormone
[2] - Salmon Gonadotropin Releasing Hormone analog
[3] - Gonadotropin hormone
[4] - Human Chorionic Gonadotropin

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

القـای اسـپرم‌سـازی و اسـپرم ریـزی در ماهیـان دارد (Schiavone *et al*., 2006). طی مطالعاتی که صـورت گرفـت تزریـق یـک مرحلـه‌ای HCG باعـث سـرعت بخشـیدن بـه فرآینـد اسپرم‌سـازی و تزریـق مکـرر ایـن هورمون باعث افزایش سطح هورمون استروژن در نتیجه افزایش طول مدت اسپرم‌سـازی و بهبـود کیفیـت اسـپرم می‌شود؛ که این هورمون به‌صورت موفقیت آمیز جهـت القـای اسـپرم ریـزی در بسـیاری از ماهیـان ازجملـه قـزل‌آلای رنگـین‌کمـان (*Oncorhinchus mykiss*)[1] و مارمـاهی اروپـایی (*Anguila anguil*)؛[2] (Donaldson and Hunter, 1983; Asturiano *et al*., 2006) مورداسـتفاده قرارگرفتـه اسـت. غـده هیپـوفیز بـه‌طـور گسترده در مطالعاتی مورداستفاده قـرار مـی‌گیـرد و بـه نحو مؤثری اسپرم ریـزی را در کپـور ماهیـان تحریـک مـی‌کنـد کـه دارای قیمـت بـالایی اسـت و همیشـه در دسـترس نیسـت (Zohar and Mylonas, 2001). روش‌هـای ارزیـابی کیفیـت اسـپرم شـامل (طـول دوره حرکت اسپرم، اسپرماتوکریت، درصـد تحـرک اسـپرم، تـراکم اسـپرم، حجـم اسـپرم و pH) اسـپرم اسـت. در آزادماهیان برای ارزیابی کیفیت اسپرم نسبت بین تـراکم اسـپرم و اسـپرماتوکریت موردبررسـی قـرار مـی‌گیـرد (Harald *et al*., ; Aas *et al*., 1991 ; Billard, 1978 2001). طی مطالعه‌ای در ماهی قـزل‌آلای رنگـین‌کمـان موردبررسی قرار گرفت تزریق GnRH به مقـدار کمتـر از ۴میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن بعد از اسپرم کشی مـی‌توانـد بـه‌صـورت معنـی‌داری سـبب جلـوگیری از کاهش مقدار اسپرم جمع‌آوری‌شده بعـد از ۷ روز شـود بدون اینکه عوارض جانبی بر روی کیفیت اسپرم ایجـاد کنـد (Heyrati *et al*., 2010). هـدف از ایـن مطالعـه بررسی اثـرات هورمـون‌هـای اواپـریم، HCG و عصـاره هیپوفیز باربوس روی پارامترهای اسپرم شـناختی (طـول دوره حرکـت اسپرم، اسـپرماتوکریت، درصـد تحـرک اسـپرم، تـراکم اسـپرم، حجـم اسـپرم و pH) و مقایسـه کیفیت اسپرم بین تیمارهـای مختلـف مولـدین نـر مـاهی قرمز است.

مواد و روش‌ها

این تحقیـق در طـی مـاه‌هـای اردیبهشـت و خـرداد ۱۳۹۴ در مرکـز تحقیقـات آبـزی‌پـروری شـهید ناصرفضلی‌برآبـادی دانشـگاه علـوم کشـاورزی و منـابع طبیعی گرگان، صورت گرفـت. تعـداد ۴۰ قطعـه مـاهی مولد نر با میانگین وزن ۵±۵۰ گرم جهت انجـام مراحـل آزمایش از مراکز تکثیر ماهیان زینتی در اسـتان گلسـتان تهیـه شـد و بـه سـالن و نیـرو دانشـکده شـیلات منتقـل گردید. ماهیان در حوضچه‌های فایبرگلاس بـا هـوادهی ملایم به مدت ۲ ماه با غذای تجاری انـرژی در ۲ وعـده و بـه میـزان ۳٪ درصـد وزن بـدن تغذیـه گردیدنـد. درنهایت ماهیان بـه ۴ تیمـار شـاهد (تیمـار اول)، تزریـق اواپریم (تیمار دوم)، تزریق هورمون HCG (تیمار سوم) و تزریق عصاره هیپوفیز باربوس (تیمـار چهـارم) تقسـیم شدند و تیمارها ازنظر رسیدگی جنسی موردبررسی قرار گرفتند بیضه‌ها به رنگ سفید بوده، فاقد عروق خـونی و مملو از اسپرم مایع می‌باشند که با فشار آوردن بـه شـکم ماهی، چند قطره اسپرم از منفذ تناسلی ماهی خارج و در صورت برش عرضی بیضه، کناره‌های آن بلافاصله گرد گردیده و برش بلافاصـله بـا اسـپرم مـایع پـر مـی‌گـردد (فریدپاک، ۱۳۹۲) (شکل ۱). بـه تیمـار سـوم بـه میـزان ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم HCG و به تیمار دوم

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اواپریم (ایمان پور و کمالی، ۱۳۸۵) و تیمار چهارم عصاره هیپوفیز ماهی باربوس به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد (Zohar and Mylonas, 2001) و بعد از گذشت ۱۲ ساعت از زمان تزریق HCG و گذشت ۱۲ ساعت از زمان تزریق عصاره هیپوفیز، جابجایی ماهیان به کمک بیهوشی با اسانس گل میخک با غلظت ۶۰-۴۰ میلی‌گرم در لیتر صورت گرفت (ستاری، ۱۳۸۱) و پس از بیهوشی ماهیان توسط آب شستشو داده شدند زیرا برخی مواد بیهوش‌کننده، مانند عصاره گل میخک قادرند قدرت تحرک اسپرم و کیفیت تخمک را کاهش دهند (ستاری، ۱۳۸۱). بعد از خشک‌کردن منفذ تناسلی بدون آلودگی یا ادرار، با فشار ملایم به ناحیه شکمی از ماهیان مولد نر اسپرم گیری به عمل آمد (Asturiano *et al*., 2006). نمونه‌های منی با دقت و بدون اینکه با آب، ادرار یا خون‌آلوده شوند جمع‌آوری شد و در سرنگ‌های استریل و مجاورت هوا (نسبت حجم هوا به سمن ۲ به ۱) به‌وسیله فلاکس محتوای یخ، در کمتر از ۴ ساعت به آزمایشگاه پاتوبیولوژی کاوش واقع در گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای موردنظر انتقال داده شد (Secer *et al*., 2004).

در طول این آزمایش اثرات HCG و Ovaprim و هیپوفیز ماهی باربوس بر شاخص‌های اسپرم شناختی ماهی قرمز (*Carassius auratus geblio*) شامل آنالیزهای حرکتی، اندازه‌گیری تراکم اسپرم، pH اسپرم و حجم اسپرم با سیستم ارزیابی اسپرم توسط کامپیوتر کاسا[1] موردبررسی قرار گرفت. اسپرم با آب مقطر به نسبت ۱به۲۰۰۰ ترکیب شد زیر مدت‌زمان ۷ ثانیه موردبررسی قرار گرفت و توسط دستگاه ثبت گردید و به مدت یک دقیقه تحرکات اسپرم موردبررسی قرار گرفت و زمان‌های متفاوتی که اسپرم‌ها در تیمارهای مختلف تحرکشان متوقف شد گرفت و ثبت شد (Kime, 1996).

برای اندازه‌گیری، پس از سانتریفیوژ کردن سمن با دور ۳۰۰۰ دور در ۸ دقیقه در لوله‌های میکرو با استفاده از درصد اسپرم به پلاسمای سیمنال اندازه‌گیری شد، بدین منظور میانگین ۱۰ نمونه اسپرم در سه تکرار به‌عنوان مقدار اسپرماتوکریت ثبت شد (Fitzpatrick *et al*., 2005).

این آزمایش در غالب یک طرح کاملاً تصادفی تنظیم شد و پس از تست نرمال بودن داده‌ها برای مقایسه بین تیمارهای آزمایش از آزمون واریانس یک‌طرفه (ANOVA) دانکن استفاده شد. آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

پارامترهای اسپرم شناختی، اسپرم ماهی قرمز در جدول ۱ آمده است.

نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین pH بین تیمارهای مختلف ماهی قرمز در جدول ۱ نشان داده‌شده است. همان‌گونه که در جدول مشاهده می‌شود بین pH در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$) بیشترین میزان pH در تیمار دوم (اواپریم) مشاهده شد.

بین درصد اسپرم‌های متحرک در تیمارهای مختلف ماهی قرمز اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، به‌گونه‌ای که در تیمار دوم (اواپریم) و سوم (HCG) بالاترین درصد تحرک مشاهده شد،

1- CASA

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

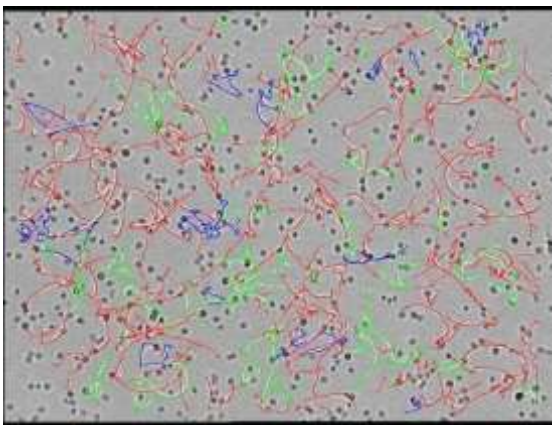
درصورتی‌که طول دوره حرکت اسپرم در تیمارهای مختلف ماهی قرمز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

همان‌گونه که در جدول زیر نشان داده‌شده، بین میانگین اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)، به‌گونه‌ای که در تیمار دوم (اواپریم) بالاترین درصد اسپرماتوکریت و بالاترین میزان تراکم اسپرم مشاهده شد؛ که در شکل های زیر (۲، ۳، ۴ و ۵) نشان داده‌شده است.

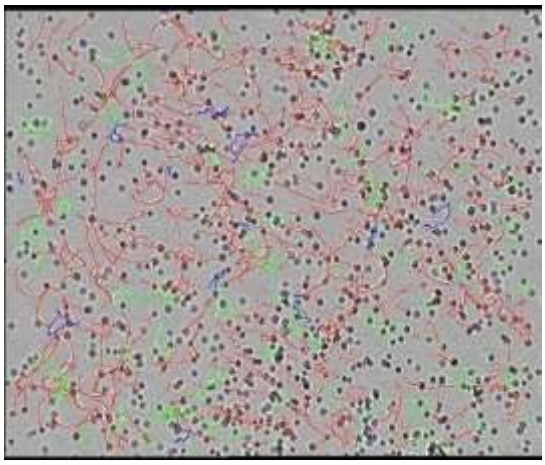
نتایج آنالیز واریانس و مقایسه حجم اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز در جدول ۱ نشان داده‌شده است که بین حجم اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده‌شده است (P<۰/۰۵). به‌گونه‌ای که در تیمار چهارم هیپوفیز و دوم (اواپریم) به ترتیب بالاترین حجم مشاهده‌شده است.



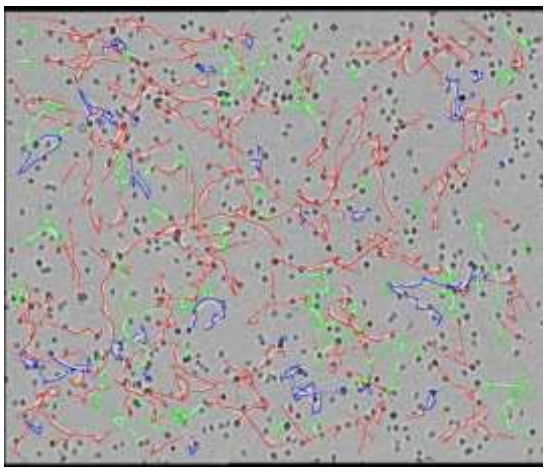
شکل ۱: گنادهای ماهی قرمز در مرحله ۴ رسیدگی جنسی



شکل ۲: بیشترین تعداد اسپرم در تیمار چهارم (۱۱۳,۲۳میلیون در میلی‌لیتر)

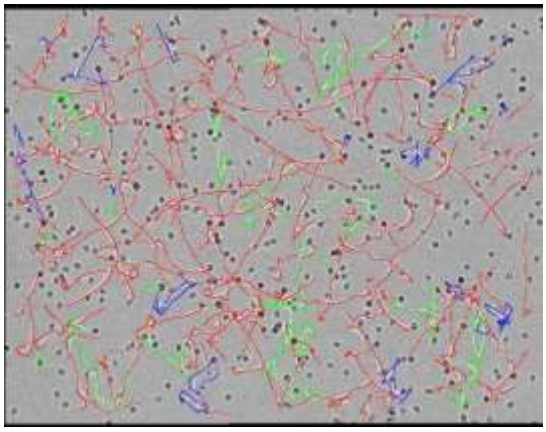


شکل ۳: بیشترین تعداد اسپرم در تیمار دوم (۱۹۲,۸۸میلیون در میلی‌لیتر)

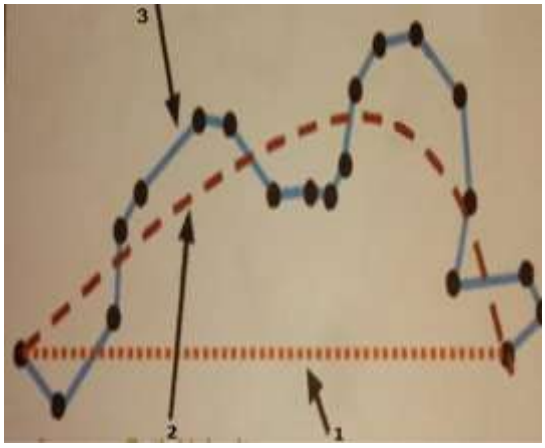


شکل ۴: بیشترین تعداد اسپرم در تیمار دوم (۱۴۳,۲۳ میلیون در میلی‌لیتر)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]



شکل ۵: بیشترین تعداد اسپرم در تیمار اول
(۱۲۳,۲۳ میلیون در میلی‌لیتر)



شکل ۶: نمایش حرکت اسپرم در مسیرهای مختلف توسط سیستم CASA در تیمار دوم
۱- اسپرم در خط مستقیم حرکت می‌کند
۲-اسپرم به‌صورت منحنی حرکت می‌کند
۳-اسپرم به‌صورت دورانی حرکت می‌کند

جدول ۱: داده‌های پارامترهای اسپرم شناختی سمن در ماهی قرمز در بین تیمارها

تیمار	تیمار ۱(شاهد)	تیمار ۲(اواپریم)	تیمار ۳(HCG)	تیمار ۴(هیپوفیز)
pH	۶/۵۰±۲/۴۲ b	۷/۷۷±۰/۳۶۸ a	۷/۷۶±۰/۲۴ a	۷/۶۵±۰/۳۴ a
طول دوره حرکت	۳۲/۳۰±۱۲/۲۷ a	۳۶/۷۰±۱۲/۲۶ a	۴۱/۰±۷/۴۳ a	۳۵/۶۰±۱۴/۰۵ a
درصد اسپرم متحرک	۷۸/۷۲±۱۸/۷۱ b	۹۳/۴۸±۹/۴۸ a	۹۶/۶۰±۴/۶۸ a	۹۰/۶۵±۱۲/۴۰ a
اسپرماتوکریت	۳۳/۹۲±۲/۹۸ a	۴۸/۴۵±۱۱/۸۰ b	۴۲/۵±۱۰/۴۲ b	۳۳/۱۱±۴/۷۰ a
تراکم اسپرم $\times 10^9$	۷۰/۰۵±۲۷/۱۳ b	۱۳۷/۷۱±۳۸/۴۶ a	۱۱۹/۴±۴۰/۵ a	۸۲/۷۹±۲۹/۱۱ b
حجم اسپرم	۰/۲۸۰±۰/۱۴۷ b	۰/۴۷۰±۰/۱۶۳ ab	۰/۴۶۰±۰/۲۵۴ ab	۰/۵۹۰±۰/۳۲۱ a

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار است ($p<0.05$) .

بحث

در سیستم پرورشی مدرن برای تولید گامت‌هایی باکیفیت بالا و افزایش تولید نیازمند مولدین نر و ماده باکیفیت بالا است (Heyrati *et al.*, 2010). مطالعه حاضر نشان داد هورمون‌های اواپریم،HCG و عصاره هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای اسپرم شناختی در ماهی قرمز دارند. طبق مشاهدات این تحقیق هورمون‌های اواپریم،HCG و عصاره هیپوفیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش pH مایع سیمنال در ماهی قرمز شدند (به ترتیب ۷/۷۷±۳۶۸، ۷/۷۶±/۲۴ و ۷/۶۵±/۳۴). که با تحقیقات Zadmajid و همکاران (۲۰۰۸) و Miura و همکاران (۱۹۹۱) همخوانی دارد. Billard و همکاران (۱۹۷۸) گزارش کردند pH مهم‌ترین مشخصه پلاسمای سمینال است که روی پتانسیل حرکتی در اسپرم کپور ماهیان تأثیر می‌گذارد. پارامترهای مختلفی از قبیل غلظت یون‌ها (پتاسیم، سدیم و کلسیم)، فشار

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

اسمزی، pH، درجه حرارت و نسبت رقیق‌کننده روی حرکت اسپرم مؤثرند (Alavi and Cosson, 2006).

pHسلولی بخش مهمی از مسیرهای سیگنالینگ است بنابراین بر تحرک اسپرم تأثیرگذار است. افزایش pH داخل اسپرماتوزوآ به‌طور مستقیم بر تحرک اسپرماتوزآ از طریق مهار فعالیت دنین[1]، تأثیر می‌گذارد. مبدل NH^+/H^+(NHE) از یک خانواده از پروتئین‌های درگیر در تنظیم pH درون‌سلولی تشکیل می‌شود و مشارکت NHE در فعالیت اسپرماتوزآ در کپور معمولی گزارش‌شده است (Dzyuba and Cosson, 2014).Marian و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که تنظیم NHE بستگی به اسمولاریته دارد علاوه بر این تبادل Na^+/H^+ممکن است مسئول مشارکت یون‌های سدیم در تحرک اسپرماتوزای قزل‌آلای رنگین‌کمان است درحالی‌که خود کانال‌های سدیمی نقش مهمی را بازی نمی‌کنند. نتایج مطالعات Krasznai و همکاران (۲۰۰۳) مربوط به مهار تحرک اسپرماتوزای کپور معمولی به‌وسیله مسدودکننده‌های کانال‌های کلسیمی نشان می‌دهد که Ca^{2+}از طریق کانال‌های کلسیمی می‌شود و درنتیجه باعث افزایش قابل‌توجه یون کلسیم در داخل سلول و تحرک اسپرماتوزای کپور معمولی می‌شود که عملکرد کانال‌های کلسیمی ممکن است با فعالیت کانال‌های پتاسیمی همراه شود و باز یا بسته بودن کانال‌های پتاسیم در غشای پلاسمایی اسپرماتوزوآ تحت کاهش فشار اسمزی ناشی از شروع تحرک منجر به هیپرپلاریزاسیون یا دی‌پلاریزاسیون غشای پلاسمایی می‌شود که چنین دی‌پلاریزاسیون گذرایی ممکن است کانال‌های Ca^{2+} را باز کند و نتیجه آن ورود یون پتاسیم و فعالیت تحرک تاژک اسپرماتوزوای کپور می‌شود (Tanimoto and Morisawa, 1988). علاوه بر این دخالت یون‌های پتاسیم و کلسیم در شروع تحرک نیز در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده‌شده است (Krasznai *et al*., 2003). برخی تحقیقات به نقش معنی‌دار بودن یون‌های سدیم-کلسیم در تحرک اسپرماتوزای چندین گونه ماهی تأکید می‌کند که نشان می‌دهد بیپریدیل[2] یک مسدودکننده‌ی مبدل یون‌های سدیم-کلسیم است که از تحرک اسپرماتوزوای کپور معمولی جلوگیری می‌کند (Krasznai *et al*., 2003; Vines *et al*., 2002). فضای داخل اسپرماتوزوآ محدود است، اما یک‌لایه نازک سیتوپلاسمی که مرتبط با مناطق و حاوی واسطه‌هایی است به سلول اجازه می‌دهد تا سیگنال‌های دریافتی را رمزگشایی کند و آن‌ها را به سایت‌های مناسب تحویل دهد برای مثال افزایش غلظت یون‌های داخل سلولی ممکن است سیکلازآدنین می‌شود که به‌نوبه خود شروع تحرک اسپرم را توسط مکانیسم وابسته به CAMP[3] تنظیم می‌کند (Zilli *et al*., 2011). در این مطالعه بین درصد اسپرم‌های متحرک اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) به‌گونه‌ای که به ترتیب تیمار دوم و سوم و چهارم بالاترین درصد تحرک نسبت به شاهد مشاهده شد طی مطالعه‌ای نشان داده شد که mGnRHa بر درصد تحرک اسپرم قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر ندارد که نتایج مشابه توسط Sorbera و همکاران (۱۹۹۶) در باس‌دریایی (Seabass) گزارش‌شده است. در برخی از گونه‌ها از قبیل فلاندر دم زرد (Yellow tail flounder)، هورمون mGnRHa[4] با افزایش pH پلاسمای سیمنال باعث افزایش تحرک اسپرم می‌شود

[1]. Dynein

[2]. bepridil
[3]. cyclic adenosine monophosphate
[4]. mammals Gonadotropin Releasing Hormone analog

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

(Clearwater and Crim, 1998). یک رابطه خطی مثبت بین pH سمینال پلاسما و درصد تحرک اسپرم در کپور ماهیان وجود دارد (Lahnsteiner *et al*., 1996) که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد. بین طول دوره تحرک اسپرم در تیمارهای مختلف مولدین ماهی قرمز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که با مطالعات صورت گرفته Bushman و همکاران (۲۰۰۳) و Zadmajid و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی دارد که این محققین به ترتیب نشان دادند که تزریق هورمون HCG روی طول دوره‌ی تحرک اسپرم در گونه With Sager(*Stizostedion candense*)، تزریق GnRH روی طول دوره حرکت اسپرم در گونه هالیبوت اقیانوس اطلس (*H. hippogiossus*) تأثیری ندارد تحرک اسپرم در ماهیان آب شیرین به‌وسیله یک غلظت اسمزی پایین‌تر از خون فعال می‌شود. اسپرم ماهیان آب شیرین طول عمر نسبتاً کوتاهی را با توجه به نیازهای انرژی بالای آن و میزان پایینی از تولیدات آدنوزین تری فسفات (ATP) که ظرفیت آن‌ها را برای گرفتن ATP محدود می‌کند. اسپرم بعضی از ماهیان دریایی و آب شیرین طول عمر استثنایی را نشان می‌دهد؛ که در ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) طول عمر بالا مکانیسمی است برای تولید اسپرم کمتر و همچنین در ماهی تیلاپیا طول اسپرم تیلاپیا برای ساعت‌ها محدود است (Browne *et al*., 2015). اسپرماتوزوای آزادماهیان و کپور ماهیان دارای فسفوکراتین (PCr) و کراتین کیناز (cK) هستند که فرم ATP را از آدنوزین دی فسفات (ADP) کاتالیز می‌کند (Smith and Yang, 2004; Saudrais *et al*., 1998). بنابراین اسپرماتوزوآ ATP را توسط PCr و ADP تولیدشده توسط تحرک را از طریق CK بازتولید می‌کند بنابراین شروع تحرک اسپرماتوزوای کپور معمولی همراه با افزایش حجم سلول است (Dzuba *et al*., 2001; Perchec *et al*., 1997). اسپرم کپور همچنین تحمل اسمزی کمی را هنگامی‌که فعال‌شده، کاهش سرعتشان را سریع در آب مقطر نشان می‌دهد که یک تورم رو به رشد خود را متوقف می‌کند و تاژک کوتاه می‌شود و اثبات‌شده که وابستگی دما و گونه‌های خاص به‌احتمال‌زیاد منجر به اختلاف آشکار در مطالعات شده است (Browne *et al*., 2015). امواج با یک فرایند پیچشی که ممکن است در نوک تاژک‌ها به‌صورت کانون‌مند به‌وسیله استرس‌های اسمزی توسعه پیدا کند، بااین‌وجود بعضی تغییرات در طول عمر با یک طیف از افزایش اسمولاریته می‌تواند در ماهی کپور و پاروپایان مشاهده شود (Browne *et al*., 2015). سرعت نسبتاً بالا و طول عمر کم اسپرم ماهی داراد لقاح خارجی نشان می‌دهد که سرعت نسبت به طول عمر برتر است (Alavi *et al*., 2008). تخمین صحیح غلظت اسپرم برای بسیاری از آزمایش‌ها در رابطه با لقاح ماهی و نگهداری اسپرم ضروری است، برای تخمین سریع‌تر و عملی‌تر تراکم اسپرم از نرم‌افزار CASA استفاده می‌شود (Kime, 1996). در مطالعه حاضر بین میانگین اسپرماتوکریت در تیمارهای مختلف ماهی قرمز اختلاف معنی‌دار دارد (P<۰/۰۵) به‌گونه‌ای که در تیمار دوم بالاترین درصد اسپرماتوکریت مشاهده شد که از تیمار هیپوفیز، HCG و شاهد بیشتر بوده که با نتایج Viveirosو همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد (۱۱/۸۰±۴۸/۴۵) و بین تراکم اسپرم در تیمارهای مختلف ماهی قرمز اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). به‌گونه‌ای که در تیمار دوم بالاترین تراکم اسپرم مشاهده شد که با مطالعات صورت گرفته توسط

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

Linhart و Billard (۱۹۹۴) همخوانی ندارد. در مطالعه‌ای که روی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) صورت گرفت عصاره هیپوفیز کپور معمولی تراکم کمتری از اسپرم را نسبت به LHRHA2 تولید کرد (کلباسی و همکاران، ۱۳۹۱) که بامطالعه حاضر همخوانی دارد. طی مطالعاتی که روی هالیبوت اطلس (*H. hippoglossuss*) صورت گرفت GnRH باعث افزایش تراکم اسپرم شده بود (Harald *et al*., 2001). ماهیانی که در آب‌های باز اسپرم و تخمک رها می‌کنند تراکم بیشتری از اسپرم و تخمک را تولید می‌کنند اسپرم برای لقاح باید به سمت اووسیت حرکت کند و برای پیدا کردن میکروپیل و نفوذ به درون تخمک رقابت کند (Browne *et al*., 2015). در این تحقیق HCG نسبت به اواپربم تراکم کمتری از اسپرم را تولید کرد ولی نسبت به عصاره‌ی هیپوفیز تراکم بیشتری از اسپرم را آزاد کرد که تولید اسپرم با تراکم کمتر از اواپربم با تحقیقات Zadmajid و همکاران (۲۰۰۸)، سیفی و همکاران (۱۳۸۹) و Asturiano و همکاران (۲۰۰۶) همخوانی دارد. همچنین Asturiano و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند استفاده از هورمون HCG در گونه مارماهی اروپایی تأثیر کمی روی تراکم اسپرم دارد ولی در مقایسه با هیپوفیز تراکم بیشتر تولید کرد که از این نظر با تحقیقات افراد ذکرشده همخوانی ندارد. در مطالعه حاضر بین حجم اسپرم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۵$). به‌گونه‌ای که در تیمار چهارم (عصاره‌ی هیپوفیز) و تیمار دوم (اواپریم) بالاترین حجم اسپرم نسبت به تیمار شاهد و HCG مشاهده شد که با تحقیقات Zadmajid و همکاران (۲۰۰۸)، سیفی و همکاران (۱۳۸۹) و Ohta و Tanaka(۱۹۹۷) که به ترتیب روی ماهی قرمز، کپور معمولی و مارماهی ژاپنی (*Anguila japonica*) همخوانی دارد. در شرایط اسارت استفاده از هورمون‌ها جهت فرآیند تولیدمثل به‌طور معنی‌داری در افزایش سطح ۱۷- آلفا- ۲۰ بتا – دی‌هیدروکسی پروژسترون دخالت دارند. همچنین ۱۷- آلفا- ۲۰ بتا – دی-هیدروکسی پروژسترون به‌صورت معنی‌داری باعث افزایش حجم اسپرم در ماهی قرمز می‌شود (Bjerselius *et al*., 1995). نتایج این تحقیق نشان داد اواپریم و HCG نسبت به هیپوفیز تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای اسپرم شناختی ماهی قرمز دارد و به‌طور موفقیت‌آمیزی فرایند اسپرم سازی و اسپرم ریزی را در این‌گونه تحریک می‌کند.

سپاسگزاری

از مسئول محترم سالن و نیرو دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مهندس علی جافر به دلیل در اختیار دادن امکانات و راهنمایی‌های لازم، مسؤولین محترم آزمایشگاه هیستوپاتولوژیکی کاوش و از مهندس حامد آزادی، مهندس امید امیری و مهندس میثم دهقانی قمشانی جهت همکاری کمال تشکر رادارم.

منابع

۱. ایمان پور، م.ر.، کمالی، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تکثیر مصنوعی و پرورش لارو ماهی قرمز *Carassius auratus gibelio* توسط HCG . مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۳(۲)، ۱۶۵-۱۷۲.

۲. دادگر، ش.، ۱۳۸۹. راهنمای مراقبت از ماهی قرمز،چاپ اول، تهران: انتشارات موج سبز؛ ، صفحه ۳.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

۳. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی(۱) تشریح فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر، صفحه ۴۲۵.

۴. سیفی، ت.، ایمانپور، م.ر.، جعفری، و.، مخدومی، چ.، ۱۳۹۰. مقایسه اثرات تزریق هورمون اووپریم، HCG و عصاره هیپوفیز بر کیفیت اسپرم تولیدی در ماهی کپور معمولی(*Cyprinus Carpio*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران. ۶۴(۱)، ۵۵ تا ۶۳.

۵. فریدپاک، ف.، ۱۳۹۲. دستورالعمل اجرایی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان گرمابی. چاپ هفتم، انتشارات علمی آبزیان، ۳۰۸ صفحه.

۶. کلباسی، م.ر.، لرستانی، ر.، غفله مرمضی، ج.، ۱۳۹۱. تاثیر هورمونهای2 LHRHA و عصاره غده هیپوفیز کپور معمولی بر برخی از شاخص های لقاح و کیفیت اسپرماتوزوآی ماهی بنی *Barbus sharpeyi*. مجله علمی شیلات ایران. ۲۱(۲)، ۹۹-۱۱۴.

۷. وثوقی، غ .ح.، مستجیر، ب.، ۱۳۸۵. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران .۳۱۷ صفحه.

8. Aas, G.H., Refstie, T., and Gjerde, B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. Aquaculture, 95, 125–132.
9. Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Cosson, J., Kozak, P., Psenicka, M., Linhart., 2008. Physiology and behavior of stripped and testicular sperm in Perca fluviatilis L. 1758. Cybium;32(2), 162-163
10. Alavi, S.M.H., and Cosson, J. 2006. Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: a review, cell biology international, 30, 1-14
11. Asturiano, J.F., Mrco-Jimenez, F., Perez, L., Balasch, S., Garzon, D.L., Penaranda, D.S., Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., and Jover, M., 2006. Effect of HCG as spermiation inducer on European eel semen quality. Theriogenology, 66, 1012-1020.
12. Billard, R., 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Aquaculture, 14, 187–198.
13. Billard, R., 1992. Reproduction in rainbow trout: Sex differentiation, dynamic of gametogenesis, biology and preservation of gametes. Aquqculture 100, 263-298
14. Bjerselius, R., Olsen, K.H., Zheng, W., 1995. Endocrine,gonadal and behavioral responses of male crucian carp *Carassius carassius* to the hormonal pHeromone 17_,20_-dihydroxy-4-pregnen-3-ne.Chem. Senses, 20, 221_230.
15. Browne, R. K., Kaurova, S. A., Uteshev, V. K., Shishova, N. V., McGinnity, D., Figiel, C. R., Cosson, J., 2015. Sperm motility of externally fertilizing fish and amphibians. Theriogenology, 83(1), 1-13.
16. Bushman, R.B., Edwin J. Hansen, E.j., Petges, R.P., 2003. Enhancement of semen production in sauger with human chorionic gonadotropin, Transactions of the Illinois State Academy of Science, 96, 229-233.
17. Clearwater, S.J., 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 and Biochemistry, 19, 349–357
18. Donaldson, E.M., and Hunter, G.A., 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.), Fish pHysiology. Academic Press, New York, USA, pp. 351–403.
19. Dzuba, B.B., Bozhok, G.A., Rudenko, S.V., 2001. A study of the dynamics of volume changes during the period of active motility in carp, *Cyprinus carpio* L., spermatozoa. Aquaculture Research, 32(1), 51–6
20. Dzyuba, V., & Cosson, J., 2014. Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella response. Reproductive biology, 14(3), 165-175.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

21. Fitzpatrick, J.L., Henry, J.C., Leily, N.R., Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masculinized Coho salmon O*ncorhynchus kisutch.* Aquaculture. 249, 459-468.
22. Garcia, L.M.B., 1993. Sustained production of milt in rabbit fish, *Siganus guttatus* Bloch, by weekly injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa). Aquaculture, 113, 261–267.
23. Harald, B.T., Tillmann, J.B., Deborah, J.M.R., Joanne, P., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. Aquaculture, 194, 191– 200.
24. Heyrati, F. P., Amiri, B. M., Dorafshan, S., 2010. Effect of GnRHa injection on milt volume in recently stripped rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Research, 41(10), e487-e492.
25. Kime, D.E., 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, 36(3-4), 223-237.
26. King, H.R., and Young, G., 2001. Milt production by non-permeating male Atlantic salmon (*Salmo salar*) after injection of a commercial gonadotropin releasing hormone analog preparation, 17 αdihydroxy- 4-pregnen-3-one, alone or in combination. Aquaculture, 193, 179– 195.
27. Krasznai Z, Morisawa M, Morisawa S, Krasznai ZT, Tron L, Gaspar R, Marian T. 2003. Role of ion channels and membrane potential in the initiation of carp sperm motility. Aquatic Living Resources, 16(5), 445–9.
28. Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A., 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. Fish Physiology and .Biochemistry, 15, 167– 179
29. Leelapatra, W., 1988. Carp culture in Thailand with particular emphasis on induced spawning. In Proceedings of the Aquaculture International Congress and Exposition, Vancouver. Pp. 331-337.
30. 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 i greenback flounder J (*Rhombosolea tapirina*). Aquaculture, 240, 505–516
31. Linhart, O., Billard, R., 1994. Spermiation and sperm quality of European catfish (*Silurus glanis*) after implantation of GnRH analogues and injection of carp pituitary extract. Journal of Applied Ichthyology, 10, 182– 188.
32. Marian, T., Krasznai, Z., Balkay, L., Balazs, M., Emri, M., Tron, L., 1997. Role of extracellular and intracellular pH in carp sperm motility and modifications by hyperosmosis of regulation of the Na+/H+ exchanger. Cytometry, 27(4), 374–82
33. Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1991. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. Journal of Experimental Zoology, 261, 35963.
34. Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y., and Zohar, Y., 1997. Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHa delivery system. Aquaculture, 153, 301– 313
35. Nandeesha, M.C., Rao, K.G., Jayanna, R.N., Parker, N.C., Varghese, T.J., Keshavanath, P., Shetty, H.P.C., 1990. Induced spawning of Indian major carps through single application of Ovaprim-C. In: The Second Fisheries Forum. (Eds. Hirano, R. and Hanyu, I.), Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 991 pp.
36. Ohta, H., Tanaka, H., 1997. Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin HCG and11-ketotestosterone after a single injection of HCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguillajaponica*. Aquaculture, 153, 123–134.
37. Perchec, P, G., Gatti, J.L., Cosson, J., Jeulin, C., Fierville, F., Billard, R., 1997. Effects of extracellular environment on the osmotic signal transduction involved in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]

activation of motility of carp spermatozoa. Journal of Reproduction & Infertility, 110 (2), 315–27.
38. Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollievier, F., and Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234, 1-28. 36. Zohar, Y., and Mylonas, C.C. 2001.
39. Saudrais, C., Fierville, F., Loir, M., Le, Rumeur, E., Cibert, C., Cosson, J., 1998. The use of phosphocreatine plus ADP as energy source for motility of membrane-deprived trout spermatozoa. Cell Motility and the Cytoskeleton, 41(2), 91–106.
40. Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., 2004. Correlation between biochemical and spermatological parametersin rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bamidgeh, 56, 274-280.
41. Schiavonea, R., Zillia, L., Vilellaa, S., Fauvelb, C., 2006. Human chorionic gonadotropin induces spermatogenesis and spermiation in 1-year-old European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Assessment of sperm quality. Aquaculture, 255(1-4), 522-531.
42. Smith, E.F., Yang, P., 2004. The radial spokes and central apparatus: mechano-chemical transducers that regulate flagellar motility. Cell Motility and the Cytoskeleton, 57(1), 8–17.
43. Sorbera, L.A., Mylonas, C.C., Zanuy, S., Carrilo, M., Zohar, Y., 1996. Sustained administration of GnRHa increase milt volumewithout altering spermcounts in sea bass. Journal of Experimental Zoology, 276, 361-368.
44. Tanimoto, S., Morisawa, M., 1988. Roles for potassium and calcium channels in the initiation of sperm motility in rainbow trout. Dev Growth Differ; 30(2), 117–24.
45. Vines, C.A., Yoshida, K., Griffin, F.J., Pillai, M.C., Morisawa, M., Yanagimachi, R., Cherr, G.N., 2002. Motility initiation in herring sperm is regulated by reverse sodium–calcium exchange. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 99(4), 2026–31.
46. Viveiros, A.T.M., Fesehaye, Y., ter Veld, M., Schulz, R.W., Komen, J., 2002. Hand-stripping of semen and semen quality after maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 213, 373–386.
47. Zadmajid, V., Imanpoor, M.R., Sudagar, M., Shabani, A., 2008. Comparison the injection effects of GnRHa, HCG and pituitary extract on Spermatological parameters in goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15(1), 1- 9.
48. Zilli, L., Beirao, J., Schiavone, R., Herraez, M.P., Cabrita, E., Storelli, C., Vilella, S., 2011. Aquaporin inhibition changes protein phosphorylation pattern following sperm motility activation in fish. Theriogenology, 76(4), 737–44.
49. Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture, 197, 99–136.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.2.1.7]