

بررسی تغییرات یونی و بیوشیمیایی مایع تخمدانی مولدین ماده ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta*) *caspius* Kessler, 1877 تغذیه شده با مکمل‌های ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا و اثر آن بر مدت زمان تحرک اسپرم

فراز پنجوینی^۱، کوروش سروی مغالو^{۱*}، راحله طهماسبی^۲، احمد ایمانی^۱

۱- گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران

۲- گروه شیمی تجزیه، جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان غربی، ارومیه ایران

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰

*نویسنده مسول:

k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

در تحقیق حاضر اثرات افزودنی ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا بر فراسنجه‌های یونی (پتاسیم، سدیم، کلسیم و منیزیم) و بیوشیمیایی (پروتئین کل، کلاسترول و گلوکز) مایع تخمدانی و اثر تحریک کنندگی آن بر مدت زمان تحرک اسپرم در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) بررسی شد. بدین منظور ۹ جیره آزمایشی مختلف: CoA0L0 (صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم آستازانتین و صفر درصد لسیتین سویا)، CoA50L0، C700A100L0، CoA50L6، C300A100L6، C300A100L6، C700A0L6، CoA100L9، C300A0L9 و C700A50L9 ساخته شد و مولدین ($2/51 \pm 0/05$ کیلوگرم) به مدت چهار ماه تغذیه شدند. پس از حصول رسیدگی جنسی و تخم‌کشی، مایع تخمدانی برای سنجش فراسنجه‌های یونی و بیوشیمیایی جدا شد. به منظور بررسی اثر تحریک کنندگی مایع تخمدانی بر تحرک اسپرم، پس از اسپرم‌کشی، مقدار ۱ میکرولیتر از اسپرم با مایع تخمدانی ماهیان آزمایشی و آب شیرین (به عنوان تیمار شاهد) زیر میکروسکوپ مطالعه و مدت زمان تحرک اسپرم با زمان سنج ثبت شد. بررسی نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم به ترتیب در ماهیان گروه C700A50L9، C300A100L6، CoA100L9، C300A100L6 و C300A100L6 بدست آمد که با تیمار C700A50L9 اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین بیشترین میزان پروتئین، کلاسترول و گلوکز در تیمارهای C700A50L9، CoA50L6، C300A100L6 و CoA100L9 مشاهده شد که با تیمار CoA0L0 اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). کمترین مدت زمان تحرک اسپرم در آب شیرین ($43/96 \pm 2/25$ ثانیه) بدست آمد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$); به علاوه بیشترین زمان تحرک اسپرم در تیمارهای C300A100L6 و CoA100L9 (به ترتیب $80/76 \pm 2/03$ و $80/76 \pm 1/79$ ثانیه) مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن همزمان سطح ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C با مقادیر ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستازانتین و ۶ درصد لسیتین منجر به افزایش غلظت یون‌ها، پروتئین کل، کلاسترول و گلوکز مایع تخمدانی و در ادامه افزایش زمان تحرک اسپرم شد.

کلید واژه‌ها: آستازانتین، ویتامین C، لسیتین سویا، ماهی آزاد دریای خزر، مایع تخمدانی، مدت زمان تحرک اسپرم

مقدمه

موفقیت تولید مثلی و تولید گامت بیشتر و با کیفیت در مولدین پرورشی بویژه در جنس ماده نسبت به نر از اهمیت بالایی برخوردار است. بعد از بلوغ و در زمان تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی، گامت‌ها معمولاً درون مایع تخمدانی در ماده‌ها و مایع منی در نرها که توسط گنادها یا غدد جانبی تولید می‌شوند، قرار می‌گیرند. این مایعات در برخی موارد می‌توانند از حجم گامت‌ها فراتر رود. حجم مایع تخمدانی معمولاً کمتر است، اما می‌تواند تا ۳۰٪ از کل توده تخمکی را در چندین گونه ماهی تشکیل دهد. بنابراین، بررسی ترکیب بیوشیمیایی مایع منی و مایع تخمدانی می‌تواند ارزیابی خوبی از کیفیت تولید مثلی نرها و ماده‌ها را نشان دهند. در حالی که مایع منی در دهه‌های اخیر به شدت مورد مطالعه قرار گرفته است، اما کمتر در مورد مایع تخمدانی شناخت وجود دارد. مایع تخمدانی غنی از یون‌ها، قندها، هورمون‌ها و پروتئین‌ها هستند که غلظت آن‌ها می‌تواند ۱۰ برابر

بیشتر از آنچه در مایع منی مشاهده شده است، باشد. تنوع پروتئین‌های مایع تخمدانی نیز قابل توجه است، صدها پروتئین مختلف در مایع تخمدانی شناسایی شده است که عملکردهای مختلفی از افزایش عملکرد اسپرم گرفته تا محافظت از اسپرم و تخمک در برابر شرایط محیطی نامطلوب را بر عهده دارند. مطالعات قبلی بیانگر این است که مایعات تناسلی جنس ماده در انتخاب جنس نر برای جفت‌گیری و از طریق تأثیر بر عملکرد اسپرم در موفقیت لقاح جنس نر، نقش دارند [۱]. با وجود اهمیت تولید مایع تخمدانی در تولید مثل جنس ماده، تأثیر شرایط تغذیه‌ای جنس ماده بر کیفیت مایع تخمدانی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، مشخص است که شرایط تغذیه جنس ماده بر ترکیبات مایع تخمدانی در پستانداران تأثیر می‌گذارد، اما اینکه این تغییرات در ترکیبات مایع تخمدانی چگونه بر انجام وظایف آن تأثیر می‌گذارد کمتر درک شده است [۲]. مطالعات زیادی به اثر تغذیه با مواد مغذی و ویتامین‌های مختلف پرداخته است اما توجه کمتری به نقش تغذیه در تغییرات ایجاد شده در ترکیب مایع تخمدانی شده است. Pilastro و Cardozo (۲۰۱۸) [۳] برای اولین بار ماهیان گویی را به مدت ۲۰ روز با دو تیمار تغذیه تا حد سیری و عدم تغذیه مورد آزمایش قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که مایع تخمدانی ماهیانی که تغذیه نشده بودند توانایی یا قابلیت تحرک و سرعت اسپرم کمتری دارند. از اینرو به نظر می‌رسد تغذیه مولدین ماده نقش مهمی در تغییرات مایع تخمدانی داشته باشد. ویتامین C، آستازانتین و فسفولیپید از جمله مواد تغذیه‌ای هستند که می‌توانند بر تولید مثل ماهیان اثر گذار باشند. اثر مثبت ویتامین C در تولید مثل ماهی تیلاپیا ماده (*Oreochromis mossambicus*) و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Salmo gairdneri*) به خوبی مشخص شده است و نتایج این تحقیقات نشان داده است که ویتامین C سلول‌های تخمدان را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. همچنین مانع از نارسایی میوز شده و درصد تفریح تخم‌ها را افزایش می‌دهد [۳-۶]. آستازانتین (نوعی کاروتنوئید) می‌تواند در اندام‌های تولیدمثلی بسیاری از موجودات از جمله ماهی‌ها تجمع یابد. تحقیقات نشان داده است که کیفیت لارو و تخم با تغذیه موادین آبی از آستازانتین بهبود چشم‌گیری می‌یابد. به طوری که در صورت عدم کافی بودن مقادیر کاروتنوئید جیره غذایی مولدین ماده ممکن است موجب کاهش توانایی تولید تخمک و یا تولید تخم‌های با کیفیت در آنها شود. همچنین کاروتنوئیدها با تجمع در کبد، در زمان زرده‌سازی به تخمدان منتقل و سپس وارد اووسیت‌ها شده و تغییرات مثبتی را در بهبود رسیدگی جنسی مولدین فراهم می‌آورند. از سایر عملکردهای کاروتنوئیدها در آبزیان می‌توان به مقابله با آسیب‌های ناشی از نور، ایجاد رنگ در بدن و عضلات، ایجاد رنگدانه‌های کمکی چشم و پیام‌های جنسی اشاره کرد [۷]. فسفولیپیدها یکی از اعضای خانواده چربی‌های مفید هستند که سازنده غلاف و لایه‌های چربی محافظ اطراف سلول‌های عصبی به شمار می‌روند. فسفولیپیدها منبع اسیدهای چرب و ماده اولیه ساخت ایکوزانوئیدها هستند. تحقیقات نشان می‌دهد که ماهیان و سخت‌پوستان نمی‌توانند به میزان کافی فسفولیپید مورد نیاز خود را برای حداکثر رشد بسازند، از این‌رو فسفولیپید می‌بایستی به جیره‌های آنها افزوده شود [۸]. فسفولیپیدها پیش‌ساز پروستاگلاندین‌ها هستند و همانند آنتی‌اکسیدان‌ها (ویتامین C و آستازانتین) می‌تواند باعث افزایش هورمون‌های جنسی در آبزیان گردند [۹]. از جمله منابع مهم فسفولیپید، لسیتین می‌باشد. اثر مثبت لسیتین بر کارایی تولید مثلی *Danio rerio* [۱۰] و *Aequidens rivulatus* [۱۱] گزارش شده است. ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) از ماهیان بومی و در خطر انقراض دریای خزر است که در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به بازسازی ذخایر آن شده است [۱۲]. با توجه به ارزش و اهمیت این آبی به عنوان یک گونه بومی دریای خزر، با در نظر گرفتن اثرات مفید ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا در تولیدمثل آبزیان، این تحقیق با هدف بررسی تغییرات یونی و بیوشیمیایی مایع تخمدانی در اثر تغذیه مولدین ماده با ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا (منبع فسفولیپیدی)، همچنین اثر تحریک‌کنندگی مایع تخمدانی استحصالی از مولدین تغذیه شده بر مدت زمان تحرک اسپرم این ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تکثیر خصوصی واقع در شهرستان ارومیه، روستای هنگروان انجام شد. استخرهای طولی (Race-way) این مرکز به وسیله‌ی توری‌های پلاستیکی به پنج قسمت مساوی تقسیم شد به طوری که هر مخزن حجم ۱۵۰۰ لیتر آب داشت. مشخصات آب ورودی

استخرها در جدول (۱) نشان داده شده است. پس از جداسازی نرها از ماده‌ها؛ تعداد ۷۲ قطعه مولد ماده ماهی آزاد دریای خزر (میانگین سن ۳ سال) با میانگین وزنی $0.5 \pm 2/51$ کیلوگرم در این مخازن بتونی با تراکم ۸ قطعه مولد در هر مخزن ذخیره سازی شد. قبل از شروع آزمایش مولدین ماهی آزاد دریای خزر در دوره‌ی نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) قرار گرفتند و ماهی‌ها به مدت دو هفته با شرایط مخازن و جیره آزمایشی سازگار شدند. مولدین ماده به مدت ۱۲۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند.

جدول ۱. شاخص‌های آب ورودی استخرها در طی دوره آزمایش

دما (°C)	اکسیژن محلول (mg l^{-1})	دبی آب (l s^{-1})
10.41 ± 0.63	10.21 ± 0.13	۲۰

برای این منظور از جیره غذایی تجاری اکستروود مولدین قزل‌آلا (پروتئین خام: ۴۵٪، چربی خام: ۱۵٪، انرژی قابل هضم: 4300 Cal/Kg ، فیبر خام: ۳٪، فسفر قابل جذب: ۰/۹٪ و رطوبت: کمتر از ۱۰٪) ساخت شرکت بیضاء به عنوان جیره پایه استفاده شد. مکمل‌های ویتامین C (شرکت لابراتوارهای سیانس، ایران)، آستازانتین (Kaesler Nutrition GmbH, Germany) و لسیتین (Shankar, India)، با توجه به تیمارهای غذایی (جدول ۲)، به ازای هر کیلوگرم غذا محاسبه و به جیره غذایی تجاری افزوده شد به طوری که ابتدا پودرهای ویتامین C و آستازانتین همراه با ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به جیره پایه اسپری شدند سپس لسیتین سویا به تشتک حاوی غذا اضافه شده و به خوبی هم زده شد تا دان‌های غذایی با لایه‌ای از لسیتین پوشانده شوند، در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. به منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن ویتامین C و آستازانتین و ورود آنها به محیط آب، غذاها آماده شده به روش فوق، طبق روش Ramsden و همکاران (۲۰۰۹)^{۱۳}، توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانیده شد. بدین منظور ابتدا محلول ۲ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه و روی تمامی جیره‌های غذایی آزمایشی به صورت یک‌نواخت اسپری گردید. در پایان غذاها به مدت ۱۲ ساعت دیگر در دمای اتاق خشک شدند. در نهایت دان‌های تهیه شده در کیسه‌های فریزر یک کیلوگرمی به همراه مقداری ژل نم گیر با ثبت تاریخ ساخت غذا و نوع تیمار در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. طی دوره آزمایش تغذیه ماهیان بر اساس یک درصد وزن بدن آن‌ها صورت گرفت. تمامی ماهیان در یک وعده و ساعت ۱۰ صبح تغذیه شدند.

این پژوهش در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و سه تکرار انجام شد. نمونه‌گیری از ماهیان (مایع تخمدانی و اسپرم) هم به صورت کاملاً تصادفی صورت گرفت. جیره‌های غذایی (تیمارهای) آزمایشی در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲. تیمارهای آزمایشی. افزودن سطوح مختلف ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا به جیره پایه

تیمارها	ویتامین C (mg/kg)	آستازانتین (mg/kg)	لسیتین سویا (%)
C0A0L0	.	.	.
C300A50L0	۳۰۰	۵۰	.
C700A100L0	۷۰۰	۱۰۰	.
C0A50L6	.	۵۰	۶
C300A100L6	۳۰۰	۱۰۰	۶
C700A0L6	۷۰۰	.	۶
C0A100L9	.	۱۰۰	۹
C300A0L9	۳۰۰	.	۹
C700A50L9	۷۰۰	۵۰	۹

چهار روز پس از حصول رسیدگی، مولدین با پودر گل میخک (ppm ۲۲۰، ۱۰ دقیقه) بیهوش شدند^[۱۴] سپس تخم‌کشی از آنها صورت گرفت. در هنگام تخم‌کشی با ریختن تخمک‌ها روی توری، مایع تخمدانی از توری عبور داده و پس از جدا سازی، مایع تخمدانی به درون میکروتیوب‌های ۲ سی‌سی انتقال داده شد. تمامی نمونه‌های جمع‌آوری شده از مایع تخمدانی در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند^[۱۵]. مایع جدا شده‌ی فوقانی تا زمان سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی در فریزر -۸۰ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند.

محتوای یون‌های سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) توسط دستگاه فلیم‌فتومتر (Flame Photometer)^[۱۵] و یون‌های کلسیم (Ca^{2+}) و منیزیم (Mg^{2+}) به وسیله‌ی دستگاه اتوآنالایزور (AutoAnalyzer) و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون^[۱۶]، سنجش شد. همچنین آنالیز شاخص‌های پروتئین کل، گلوکز و کلسترول مایع تخمدانی با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و در دستگاه اتوآنالایزور (Erma INC, Biochemical Analyzer, Model: AE-600F, Japan) صورت گرفت^[۱۶].

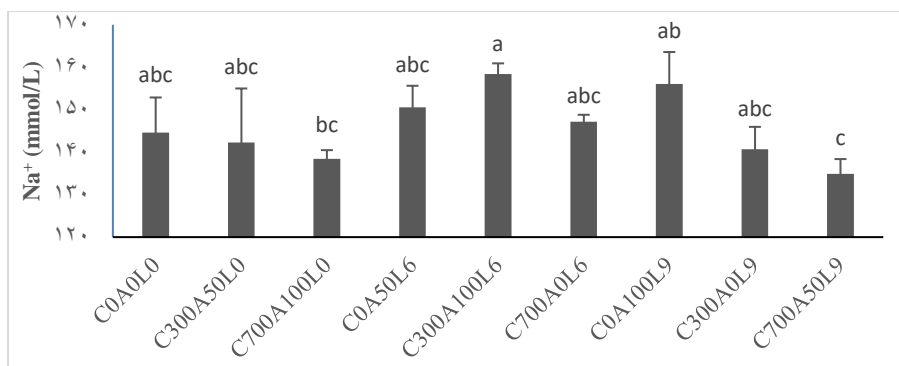
۹ قطعه مولد نر به طور کاملاً تصادفی انتخاب و با پودر گل میخک (ppm ۲۲۰، ۱۰ دقیقه) بیهوش شدند. در زمان اسپرم‌کشی بدن ماهی کاملاً با حوله خشک شده و با فشار ملایم به ناحیه شکمی مولد نر اسپرم‌گیری صورت گرفت. اسپرم‌های مخلوط شده جهت بررسی تاثیر مایع تخمدانی بر مدت زمان تحرک اسپرم‌ها استفاده شد به نحوی که، مقدار ۱ میکرولیتر مایع منی با آب شیرین (به عنوان تیمار کنترل) و مایع تخمدانی مولدین ماده تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی (هرکدام با ۳ تکرار) بر روی یک لام مخلوط گردیدند و بلافاصله در زیر میکروسکوپ تحرک اسپرم‌ها مشاهده شد. زمان سپری شده از شروع تحرک تا متوقف شدن کامل آنها به دقت با زمان سنج بر حسب ثانیه ثبت گردید^[۱۷، ۱۸].

قبل از انجام آنالیز واریانس، نرمال بودن داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. برای آنالیز واریانس داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف از آزمون توکی استفاده شد و سطح معنی داری آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. نتایج به صورت "انحراف معیار \pm میانگین" ارائه شدند. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

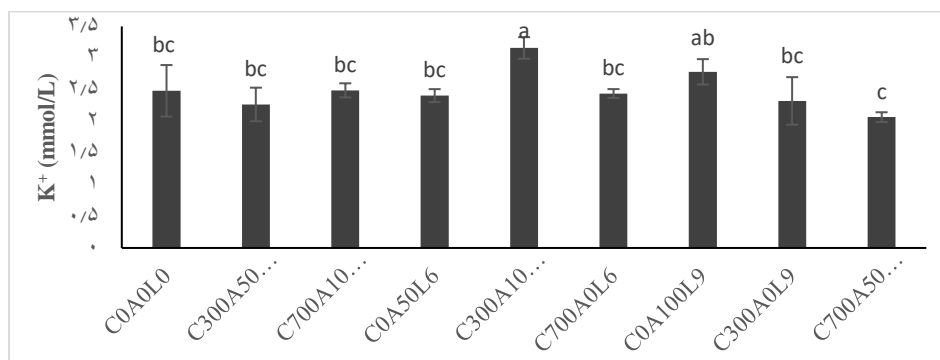
نتایج

یون‌های مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر

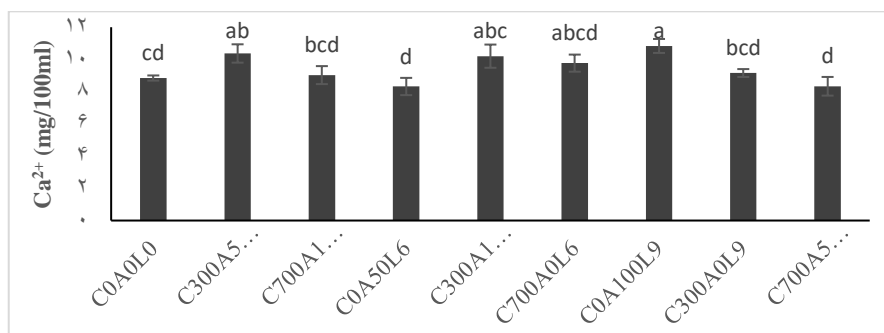
شکل (۱ تا ۴) نتایج سنجش یون‌های مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی را ارائه می‌کند. نتایج نشان داد که یون‌های Na^+ و K^+ در ماهیان گروه $\text{C}_{300}\text{A}_{100}\text{L}_6$ (به ترتیب $158/36 \pm 2/55$ mmol/l و $3/16 \pm 0/17$ mmol/l) بیشترین مقدار را دارا بودند و کمترین مقدار نیز در ماهیان گروه $\text{C}_{700}\text{A}_{50}\text{L}_9$ (به ترتیب $134/9 \pm 3/47$ mmol/l و $2/06 \pm 0/07$ mmol/l) سنجش شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p < 0.05$). به علاوه بیشترین و کمترین مقدار Ca^{2+} در تیمار $\text{C}_0\text{A}_{100}\text{L}_9$ ($10/83 \pm 0/43$ mg/100ml) و $\text{C}_{700}\text{A}_{50}\text{L}_9$ ($8/33 \pm 0/58$ mg/100ml) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p < 0.05$). در مورد یون Mg^{2+} ، بیشترین میزان در تیمارهای $\text{C}_{300}\text{A}_{100}\text{L}_6$ ($2/62 \pm 0/09$ mg/100ml) و $\text{C}_{700}\text{A}_0\text{L}_6$ ($2/63 \pm 0/18$ mg/100ml) و همچنین کمترین میزان آن در تیمارهای $\text{C}_{300}\text{A}_{50}\text{L}_0$ ($2/00 \pm 0/14$ mg/100ml) و $\text{C}_{700}\text{A}_{50}\text{L}_9$ ($2/00 \pm 0/09$ mg/100ml) بدست آمد که دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند ($p < 0.05$).



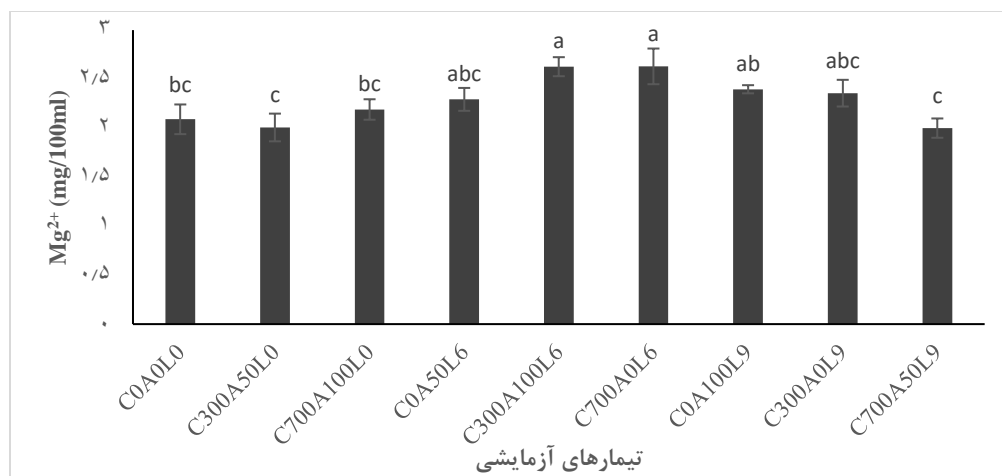
شکل ۱. تغییرات یون سدیم (Na⁺) مایع تخمدانی مولدین *S. trutta caspius* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).



شکل ۲. تغییرات یون پتاسیم (K⁺) مایع تخمدانی مولدین *S. trutta caspius* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).



شکل ۳. تغییرات یون کلسیم (Ca²⁺) مایع تخمدانی مولدین *S. trutta caspius* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).



شکل ۴. تغییرات یون منیزیم (Mg²⁺) مایع تخمدانی مولدین *S. trutta caspius* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد (p<0.05).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر

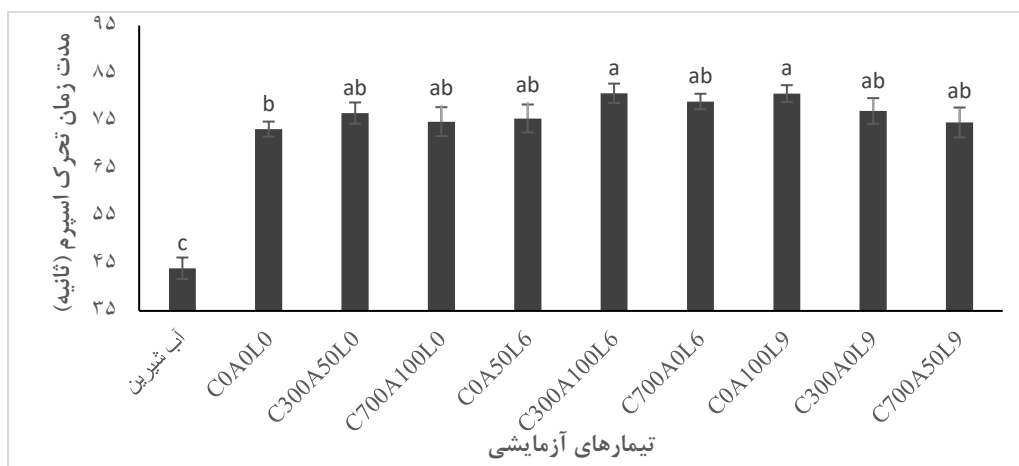
سنجش پروتئین کل مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین کل در ماهیان گروه C700A50L9 (۶۱/۳۳±۳/۵۱ mg/dl) وجود دارد همچنین کمترین مقدار آن در ماهیان گروه شاهد، C0A0L0، (۲۹/۳۳±۲/۵۱ mg/dl) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (p<0.05). میزان گلوکز و کلسترول مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در جدول (۳) نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که بیشترین مقادیر گلوکز در ماهیان گروه C0A100L9 (۹۰/۳۳±۳/۰۵ mg/100ml) وجود دارد همچنین کمترین مقدار آن در ماهیان گروه C700A0L6 (۳۶±۲/۶۴ mg/100ml) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (p<0.05). کلسترول مایع تخمدانی در ماهیان آزمایشی گروه C0A50L6 (۳۳/۶۶±۳/۸۰ mg/100ml) بیشترین و در ماهیان آزمایشی گروه C0A0L0 (۱۳/۵۳±۱/۱۰ mg/100ml) کمترین میزان را دارا بود و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود داشت (p<0.05).

جدول ۳. گلوکز و کلسترول مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<0.05).

تیمار	پروتئین (mg/dl)	کلسترول (mg/100ml)	گلوکز (mg/100ml)
C0A0L0	۲۹/۳۳±۲/۵۱ ^e	۱۳/۵۳±۱/۱۰ ^c	۳۷±۱/۰۰ ^c
C300A50L0	۳۵±۵/۵۶ ^{de}	۱۷/۶۳±۳/۲۳ ^{bc}	۵۵/۶۶±۱۶/۲۵ ^c
C700A100L0	۳۹±۴/۵۸ ^{de}	۱۹/۱۰±۱/۴۷ ^{bc}	۵۸±۱۸/۵۳ ^c
C0A50L6	۴۱±۴ ^{cde}	۳۳/۶۶±۳/۸۰ ^a	۸۵±۸/۸۸ ^{ab}
C300A100L6	۵۷±۵ ^{ab}	۲۱/۶۶±۱/۰۵ ^b	۶۱±۱/۰۰ ^{bc}
C700A0L6	۴۷/۳۳±۷/۰۹ ^{bcd}	۳۲/۴۳±۱/۶۹ ^a	۳۶±۲/۶۴ ^c
C0A100L9	۵۴±۳/۶۰ ^{abc}	۲۸±۱/۰۰ ^a	۹۰/۳۳±۳/۰۵ ^a
C300A0L9	۴۶±۴/۵۸ ^{bcd}	۱۷/۶۶±۲/۰۸ ^{bc}	۴۲/۳۳±۱/۵۳ ^c
C700A50L9	۶۱/۳۳±۳/۵۱ ^a	۱۵/۳۳±۰/۵۷ ^c	۵۶/۳۳±۷/۵۷ ^c

مدت زمان تحرک اسپرم در نسبت‌های مختلف مایع تخمدانی

مدت زمان تحرک اسپرم ماهی آزاد دریای خزر در آب شیرین و مایع تخمدانی مولدین ماده تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در شکل (۵) نشان داده شده است. بیشترین زمان تحرک اسپرم در مایع تخمدانی ماهیان گروه $C_{300}A_{100}L_6$ و $C_{0}A_{100}L_9$ (به ترتیب $80/76 \pm 1/76$ و $80/76 \pm 2/03$) (ثانیه) مشاهده شد که با گروه $C_{0}A_{0}L_0$ (ثانیه) $73/23$) اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). همچنین کمترین مدت زمان تحرک اسپرم در آب شیرین ($43/96 \pm 2/25$) بدست آمد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).



شکل ۵. مدت زمان تحرک اسپرم در آب شیرین (شاهد) و مایع تخمدانی مولدین *S. trutta caspius* تغذیه شده با مقادیر مختلف ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا. حروف لاتین غیرهمنام تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

بحث

ترکیبات مایع تخمدانی می‌تواند برای تدوین شرایط کشت برای مطالعات آزمایشگاهی استفاده شود. حجم مایع تخمدانی آزاد شده با هر سری تخم‌ریزی برای بسیاری از گونه‌ها تعیین نشده است، با این حال مطالعات روی آزاد ماهیان نشان داده است که مایع تخمدانی بین ۱۰ تا ۳۰ درصد از کل توده تخمکی را تشکیل می‌دهد. اجزای غیرآلی (یونی) مایع تخمدانی، محیط پایداری را برای ذخیره تخمک و طولانی شدن دوره لقاح در طول دوره تخم‌ریزی طبیعی و همچنین در شرایط مصنوعی فراهم می‌کند. در گونه‌های متعدد ماهیان، کاتیون‌های Ca^{2+} ، K^{+} ، Na^{+} و Mg^{2+} مایع تخمدانی بر تحرک و ظرفیت لقاح اسپرم در فصل تخم‌ریزی تأثیر می‌گذارند^[۱]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مایع تخمدانی ماهیان در تیمارهای $C_{0}A_{100}L_9$ و $C_{700}A_{0}L_6$ ، $C_{300}A_{100}L_6$ حاوی بالاترین غلظت‌ها از کاتیون‌های سنجش شده است. تجمع و فرآیندهای منجر به ترشح مایع تخمدانی به طور مستقیم/غیر مستقیم توسط استروئیدهای جنسی تعدیل می‌شود. برای مثال، در مولدین ماده ماهی سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*) استروئیدهای جنسی باعث تحریک ترشح مایع تخمدانی از اپیتلیوم تخمدانی می‌شود، به طوری که در تخمدان ماهیان بیمار شده با پروژسترون مقدار قابل توجهی مایع تخمدانی در حفره تخمدانی وجود داشت^[۱]. در نتیجه افزایش گرادیان یونی/غلظت مایع تخمدانی در تیمارهای آزمایشی می‌تواند در اثر تغذیه مولدین از ویتامین C، آستازانتین و لسیتین سویا باشد. Hafez و همکاران (۲۰۰۹)^[۱۵] مقادیر سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم مایع تخمدانی ماهی آزاد دریای خزر را به ترتیب $164/4$ ، $1/8$ ، $0/6$ و $0/4$ میلی مول در لیتر گزارش کردند که تقریباً در دامنه تغییرات بدست آمده در مایع تخمدانی مولدین تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی این تحقیق است. تا کنون مطالعه‌ای به بررسی اثرات تغذیه بر شاخص‌های یونی مایع تخمدانی ماهیان نپرداخته است با این حال، Kazemi و همکاران (۲۰۲۱)^[۱۴] بیان کردند که افزایش روی (Zn) در جیره غذایی مولدین قزل آلا، موجب افزایش یون‌های Ca^{2+} و Mg^{2+} در سمینال پلاسما گردید. دلیل این افزایش هنوز مشخص نیست.

پروتئین‌های مایع تخمدانی به نوبه خود بر پیری پس از تخمک گذاری، مدت زمان ذخیره تخمک (در تخمدان و حفره شکمی)، توانایی لقاح، کیفیت تخمک، مهار پروتئاز و پاسخ‌های ایمنی تأثیر می‌گذارند^[۱]. به تازگی، مشخص شده است که پروتئین مایع تخمدانی می‌تواند اثرات مثبتی بر تحرک اسپرم ماهیان داشته باشد^[۱۸]. با توجه به اطلاعات نویسنده، تا کنون تحقیقی به اثرات تغذیه بر شاخص‌های بیوشیمیایی مایع تخمدانی ماهیان انجام نشده است. Dietrich و همکاران (۲۰۱۴)^[۱۹] گزارش دادند که اکثر پروتئین‌های مایع سمینال پلاسما و خون مشابه هستند. به علاوه شواهدی وجود دارد که مکمل سازی جیره غذایی با آستازانتین^[۲۰]، ویتامین C^[۲۱] و لسیتین سویا^[۲۲] موجب افزایش پروتئین کل سرم خونی در ماهیان می‌شود. Jalabert و Aegerter (۲۰۰۴)^[۲۳] غلظت پروتئین مایع تخمدانی را ۱۴ روز پس از رسیدگی جنسی در دو دمای ۱۷ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که غلظت پروتئین مایع تخمدانی در دمای ۱۷ بیشتر از ۱۴ درجه سانتی‌گراد بود. این محققین گزارش دادند که این افزایش غلظت به دلیل تغییر فعالیت ترشحی تخمدان‌ها است. با توجه به مطالعات اشاره شده، افزایش پروتئین کل مایع تخمدانی ممکن است در نتیجه افزایش پروتئین‌های سرم خونی و همچنین افزایش ترشحات مایع تخمدانی باشد. در طول اووژنز، گلوکز و کلسترول از طریق اپیتلیوم فولیکول در تکامل تخمک‌های در حال توسعه، شرکت دارند و برای سنتز اجزای زرده استفاده می‌شوند^[۲۴]. افزایش غلظت‌های پروتئین، کلسترول و گلوکز مایع تخمدانی در این تحقیق احتمالاً به دلیل تغییر فعالیت ترشحی تخمدان‌ها است. همچنین گزارش شده است که افزایش فسفولیپید جیره غذایی باعث افزایش مقادیر کلسترول و LPL خون در ماهی آزاد دریای خزر می‌شود^[۲۲] که می‌تواند به افزایش انتقال کلسترول به درون مایع تخمدانی ماهیان منجر شود.

Hatef و همکاران (۲۰۰۹)^[۱۵] مقادیر پروتئین، کلسترول و گلوکز ماهی آزاد دریای خزر را به ترتیب ۳۸۹/۵ mg/dl، ۹/۳ mg/dl و mM/l گزارش دادند که با نتایج این تحقیق همراستا نیست. بخوبی مشخص شده است که با گذشت زمان رسیدگی جنسی و رسیدن به فوق رسیدگی تخمک‌ها، میزان پروتئین، کلسترول و گلوکز مایع تخمدانی دچار تغییراتی شده به ویژه پروتئین مایع تخمدانی تخمک‌های فوق رسیده بشدت افزایش پیدا می‌کند^[۱]. به نظر می‌رسد مایع تخمدانی در تحقیق Hatef و همکاران (۲۰۰۹)^[۱۵] در اوایل رسیدگی جنسی تهیه نشده است یا شرایط نگهداری مایع تخمدانی (دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد) باعث ایجاد خطا در بررسی‌های به عمل آمده شده است. در این تحقیق مدت زمان تحرک اسپرم در مایع تخمدانی تمامی تیمارها بیشتر از آب شیرین بود که با نتایج مطالعات انجام شده روی *Salmo trutta caspius*^[۱۵] و *Salmo gairdneri*^[۲۵] همراستا است. به خوبی شناخته نشده است که کدام جزء(های) آلی موجود در مایع تخمدانی باعث افزایش تحرک اسپرم می‌شود. برخی از مواد در مایع تخمدانی یا پلاسما منی از اسپرم محافظت می‌کند. بخش پروتئین و کربوهیدرات مایع تخمدانی یا pH باعث افزایش تحرک می‌شود. علاوه بر این، برخی از ترکیبات شیمیایی مایع تخمدانی بر متابولیسم ATP، سرعت و مدت زمان تولید انرژی اسپرم تأثیر می‌گذارند^[۱۵]. به تازگی Johnson و همکاران (۲۰۲۰)^[۱۸] با مطالعه پروتئین‌های مایع تخمدانی ماهی *Oncorhynchus tshawytscha* و اثر آن بر تحرک اسپرم به دست آوردند که پروتئین‌های مایع تخمدانی می‌تواند موجب افزایش سرعت و اصلاح جهت‌گیری اسپرم‌ها به سمت میکروویپل تخمک‌ها شود. کلسترول غشای اسپرم نقش مهمی بر خواص ترمودینامیکی و مکانیکی، ثبات و سیالیت غشاء دارد و همچنین مقاومت اسپرم در برابر شوک سرما بهبود می‌بخشد^[۲۶]. در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، درصد و مدت زمان تحرک در اسپرم تیمار شده با ۱/۰ میلی گرم و ۱/۵ میلی گرم کلسترول افزایش یافت، اما اسپرم تیمار شده با ۲/۵ میلی گرم و ۳/۰ میلی گرم کلسترول اثر سمی و کاهش این پارامترها را نشان داد که احتمالاً به دلیل ویسکوزیته بالای کلسترول در محلول اکستندر می‌باشد^[۲۷]. به تازگی Diaz و همکاران (۲۰۲۱)^[۲۶] نشان دادند که افزایش کلسترول محلول فعال‌کننده باعث کاهش تحرک اسپرم ماهی *Salmo salar* شد. در مطالعه Ercin و همکاران (۲۰۰۹)^[۲۸] نبود گلوکز در سمینال پلاسما ماهی *Cyprinus carpio* موجب تحرک پایین اسپرم‌ها شد. این محققین کاهش سریع تحرک اسپرم در این تحقیق را به کاهش ATP درون سلولی که وابسته به گلوکز است، نسبت داده‌اند. Judycka و همکاران (۲۰۲۰)^[۲۹] نشان دادند که افزایش گلوکز (تا ۰/۱۷ مولار گلوکز) محیط فعال‌سازی موجب افزایش تحرک و سرعت اسپرم‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. در آزاد ماهیان، K⁺ یک عامل بازدارنده اصلی برای تحرک اسپرم است. با این حال، یون‌های Na⁺ و Mg²⁺ و تا حد زیادی یون‌های Ca²⁺ بر اثر

بازدارندگی یون‌های K^+ غلبه می‌کنند. بنابراین، مایع تخمدانی با غلظت پایین پتاسیم یا غلظت‌های بالا از یون‌های Na^+ ، Mg^{2+} یا Ca^{2+} می‌تواند تحرک اسپرم را طولانی کند^{۳۰}. در این تحقیق بیشترین مدت زمان تحرک اسپرم در تیمارهای C300A100L6 و COA100L9 بدست آمد که دارای غلظت‌های بالایی از Na^+ و Mg^{2+} و Ca^{2+} بودند.

نتیجه‌گیری

به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد تغذیه مولدین بر شاخص‌های یونی و بیوشیمیایی مایع تخمدانی تاثیر گذار است به نحوی که تغذیه با حداقل ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C همراه با ۱۰۰ میلی‌گرم آسازانتین و حداقل ۶ درصد لسیتین سویا می‌تواند باعث افزایش مدت زمان تحرک اسپرم در مایع تخمدانی شود.

تاییدیه‌های اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است

تعارض منافع

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است

منابع مالی/حمایت‌ها

مقاله مستخرج از رساله آقای فراز پنجوینی دانشجوی مقطع دکتری ورودی ۱۳۹۵ دانشگاه ارومیه است. هزینه‌های انجام تحقیق، از محل گرنت پژوهشی استاد راهنما و توسط معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه تأمین شده است.

منابع

- 1- Zadmajid V, Myers JN, Sørensen SR, Butts IAE. Ovarian fluid and its impacts on spermatozoa performance in fish: a review. *Theriogenology*. 2019 Jul 1;132:144-52.
- 2- Cardozo G, Pilastro A. Female nutritional condition affects ovarian fluid quality in guppies. *Biology Letters*. 2018 May 31;14(5):20180122.
- 3- Kere M, Siriboon C, Lo N-W, Nguyen NT, Ju J-C. Ascorbic acid improves the developmental competence of porcine oocytes after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transplantation. *Journal of Reproduction and Development*. 2013 Feb;59(1):78-84.
- 4- Tagler D, Makanji Y, Tu T, Bernabé BP, Lee R, Zhu J, et al. Promoting extracellular matrix remodeling via ascorbic acid enhances the survival of primary ovarian follicles encapsulated in alginate hydrogels. *Biotechnology and Bioengineering*. 2014 Jul;111(7):1417-29.
- 5- Valdebenito II, Gallegos PC, Effer BR. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. *Zygote*. 2015 Apr;23(2):177-97.
- 6- Zhou C, Zhang X, Zhang Y, ShiYang X, Li Y, Shi X, et al. Vitamin C protects carboplatin-exposed oocytes from meiotic failure. *Molecular Human Reproduction*. 2019 Oct;25(10):601-13.
- 7- Lim KC, Yusoff FM, Shariff M, Kamarudin MS. Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*. 2018 Aug;10(3):738-73.
- 8- Tocher DR, Bendiksen EÅ, Campbell PJ, Bell JG. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*. 2008 Aug 1;280(1-4):21-34.
- 9- Izquierdo M, Fernandez-Palacios H, Tacon A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 2001 Jun 1;197(1-4):25-42.
- 10- Diogo P, Martins G, Gavaia P, Pinto W, Dias J, Cancela L, Martínez-Páramo S. Assessment of nutritional supplementation in phospholipids on the reproductive performance of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Journal of Applied Ichthyology*. 2015 Jun;31:3-9.

- 11- Jamali H, Ahmadifard N, Noori F, Gisbert E, Estevez A, Agh N. Lecithin-enriched Artemia combined with inert diet and its effects on reproduction and digestive enzymes of *Aequidens rivulatus*. *Aquaculture*. 2019 Sep 15;511:734253.
- 12- Niksirat H, Abdoli A. On the status of the critically endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, during recent decades in the southern Caspian Sea basin (Osteichthyes: Salmonidae). *Zoology in the Middle East*. 2009 Jan 1;46(1):55-60.
- 13- Ramsden CS, Smith TJ, Shaw BJ, Handy RD. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. *Ecotoxicology*. 2009 Oct;18(7):939-51.
- 14- Kazemi E, Nazari S, Sourinejad I, Pourkazemi M, Paknejad H, Eslamloo K. Effect of different dietary zinc sources on seminal plasma enzymatic activity, antioxidant, and immune-related gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*. 2021 Dec;29(6):2731-50.
- 15- Hatef A, Niksirat H, Alavi SMH. Composition of ovarian fluid in endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, and its effects on spermatozoa motility and fertilizing ability compared to freshwater and a saline medium. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2009 Nov;35(4):695-700.
- 16- Roosta Z, Ghiasi S, Falahatkar B. Comparative study on hormones and biochemistry indices in plasma, ovarian fluid and oocytes of LHRHa2-induced female Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Aquaculture Research*. 2019 Jan;50(1):139-45.
- 17- Rahdari A, Gharaei A, Fadaei R, Jahantab M, Alizadeh A. Comparison of ovarian fluid, semen and blood biochemical composition of snow trout (*Schizothorax zarudnyi*) broods and evaluation the effect of ovarian fluid on sperm motility. 2020 Feb 20;7(3):152-64. (in Persian).
- 18- Johnson SL, Borziak K, Kleffmann T, Rosengrave P, Dorus S, Gemmell NJ. Ovarian fluid proteome variation associates with sperm swimming speed in an externally fertilizing fish. *Journal of Evolutionary Biology*. 2020 Dec 1;33(12):1783-94.
- 19- Dietrich MA, Arnold GJ, Nynca J, Fröhlich T, Otte K, Ciereszko A. Characterization of carp seminal plasma proteome in relation to blood plasma. *Journal of Proteomics*. 2014;98:218-32.
- 20- Liu F, Shi H-z, Guo Q-s, Yu Y-b, Wang A-m, Lv F, et al. Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish shellfish immunology*. 2016;51:125-35.
- 21- Zehra S, Khan MA. Dietary vitamin C requirement of fingerling, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton), based on growth, feed conversion, protein retention, hematological indices, and liver vitamin C concentration. *Journal of the World Aquaculture Society*. 2012;43(5):648-58.
- 22- Jenabi Haghparast R, Sarvi Moghanlou K, Mohseni M, Imani A. Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Fish & Shellfish Immunology*. 2019 Aug 1;91:50-7.
- 23- Aegerter S, Jalabert B. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 2004 Mar 5;231(1-4):59-71.
- 24- Lahnsteiner F, Weismann T, Patzner R. Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta f lacustris*, *Saivelinus alpinus* and *Hucho hucho*. *Reproduction Nutrition Development*. 1995;35(5):465-74.
- 25- Billard R. Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the fertilizing ability of spermatozoa in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Reproduction*. 1983 May 1;68(1):77-84.
- 26- Diaz R, Quinones J, Short S, Contreras P, Ulloa-Rodriguez P, Cancino-Baier D, Sepulveda N, Valdebenito I, Farias JG. Effect of exogenous lipids on cryotolerance of Atlantic salmon (*Salmo salar*) spermatozoa. *Cryobiology*. 2021 Feb 1;98:25-32.
- 27- Yildiz C, Yavas I, Bozkurt Y, Aksoy M. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on cryosurvival and fertility of cryopreserved carp (*Cyprinus carpio*) sperm. *Cryobiology*. 2015 Apr 1;70(2):190-4.

- 28- Ercin U, Secer FS, Ogretmen F, Bozkurt Y. Effects of seminal plasma composition on sperm motility in mirror carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture-Bamidgeh. 2009 Jan 1;61:20570.
- 29- Judycka S, Słowińska M, Nynca J, Liszewska E, Dobosz S, Ciereszko A. Effects of glucose, methanol concentration, and time of equilibration on post-thaw sperm motility of rainbow trout semen. Aquaculture. 2020 Apr 15;520:734996.
- 30- Alavi SMH, Cosson J. Sperm motility in fishes.(II) Effects of ions and osmolality: a review. Cell Biology International. 2006 Jan;30(1):1-4.

Evaluation of ionic and biochemical changes in ovarian fluid of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877) broodstock fed with vitamin C, astaxanthin and soybean lecithin supplements and its effect on sperm motility

Faraz Panjvini¹, Kourosh Sarvi Moghanlou^{1*}, Raheleh Tahmasebi², Ahmad Imani¹

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2- Research and Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR). Urmia, Iran

ABSTRACT

In this study, the effects of different levels of dietary supplementation with vitamin C, astaxanthin and lecithin on ionic (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+}) and biochemical (Total protein, cholesterol and glucose) indices of ovarian fluid, also its effect on sperm motility duration in Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) were investigated. For this purpose, nine experimental diets: C₀A₀L₀ (0 mg kg⁻¹ vitamin C, 0 mg kg⁻¹ astaxanthin and 0% soybean lecithin), C₃₀₀A₅₀L₀, C₇₀₀A₁₀₀L₀, C₀A₅₀L₆, C₃₀₀A₁₀₀L₆, C₇₀₀A₀L₆, C₀A₁₀₀L₉, C₃₀₀A₀L₉ and C₇₀₀A₅₀L₉ were formulated and broodstocks (2.51±0.05 kg) were fed for four months. After maturation and stripping, ovarian fluid was separated for ionic and biochemical indices. To evaluate sperm motility, 1 µl of milt was placed under a microscope with fresh water (as a control treatment) or ovarian fluid of experimental fishes. Sperm motility was measured with a chronometer. Results showed that the highest amounts of Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} ions were obtained in ovarian fluid of C₃₀₀A₁₀₀L₆, C₃₀₀A₁₀₀L₆, C₀A₁₀₀L₉ and C₃₀₀A₁₀₀L₆, respectively, which were significantly different from C₇₀₀A₅₀L₉ ($p < 0.05$). Also, the highest levels of protein, cholesterol and glucose were observed in C₇₀₀A₅₀L₉, C₀A₅₀L₆ and C₀A₁₀₀L₉ treatments, which were significantly different from C₀A₀L₀ treatment ($p < 0.05$). Lowest duration of sperm motility was obtained in fresh water (43.96±2.25 seconds) which was significantly different from other treatments ($p < 0.05$); however, the highest sperm motility was observed in C₃₀₀A₁₀₀L₆ and C₀A₁₀₀L₉ treatments (80.76±2.03 and 80.7±1.76 seconds, respectively). This results show the effect of nutrition on ionic and biochemical parameters of ovarian fluid, so that the simultaneous addition of 300 mg kg⁻¹ of vitamin C with 100 mg kg⁻¹ of astaxanthin and 6% lecithin leads to an increase in ions, total protein, cholesterol and glucose of ovarian fluid, and eventually increased the motility of sperm.

KEYWORDS: Astaxanthin, Ovarian fluid, *Salmo trutta caspius*, Soybean lecithin, Sperm motility, Vitamin C

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 11 May 2022

Accepted: 5 June 2022

ePublished: 20 June 2022

* Corresponding Author:

Email address: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

Tel: +(98) 04432770489