

بررسی تاثیر فلز سنگین کادمیوم بر سلول های جنسی اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت بیضه و تحرک سلول های اسپرماتوزئید ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*)

فاطمه فداکارماسوله*، باقر مجازی امیری، علیرضا میر واقفی، محمدعلی نعمت‌اللهی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

چکیده

کادمیوم از جمله فلزات سنگین وارد شده به دریای خزر و اکوسیستم های رودخانه های اطراف آن می باشد هدف از این مطالعه نحوه تاثیر گذاری این فلز بر روند اسپرماتوزنز در بافت بیضه ماهی سفید دریای خزر و ارزیابی تحرک اسپرماتوزوئیدهای آن می باشد. در آزمایش اول بافت بیضه ماهی در معرض غلظت های^{-۵} ۱۰، ۱۰^{-۶} و ۱۰^{-۷} مولار کلرید کادمیوم، به مدت ۳ و ۶ روز در شرایط *Invitro* کشت گردید و در آزمایش دوم تحرک اسپرماتوزوآی ماهیان در معرض محلول هایی با غلظت های ۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مورد سنجش قرار گرفت. اندازه سلول های جنسی با افزایش غلظت کادمیوم و افزایش مدت زمان تماس به صورت معنی داری کاهش پیدا کرد ($P < 0/001$) و تعداد سلولهای اسپرماتوسیت نیز به دلیل کاهش سرعت اسپرماتوزنز کاهش یافت. کاهش تحرک اسپرماتوزوئیدها با افزایش غلظت به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$) و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کاملاً متوقف شدند. کاهش کیفیت و کمیت مشاهده شده در سلول های جنسی می تواند از تولید بچه ماهیان سالم جلوگیری کرده و طی سال های متمادی ذخایر ارزشمند این ماهی را با مشکل جدی روبرو کند.

واژگان کلیدی: ماهی سفید، کادمیوم، بیضه، اسپرماتوزوئید، *Rutilus frisii kutum*

۱. مقدمه

ماهیان نسبت به سایر مهره داران، به سبب گذراندن طول عمرشان در محیط آبی تحت مواجهه دائم با گستره ی عظیمی از این مواد قرار دارند (Yanga *et al.*, 2008). فلزات سنگین از جمله عناصر غیر آلی در طبیعت بوده که دارای قابلیت تجمع زیستی^۱ در بافت های موجودات آبی طی مدت رشد آن ها می باشند و اغلب با بزرگنمایی زیستی^۲ در طی زنجیره های غذایی موجود در اکوسیستم ها در سلامت و تولید مثل انسان ها و سایر موجودات مداخله می نمایند (Migliarini *et al.*, 2005). کادمیوم از آلاینده های محیطی معمول در اکوسیستم های آبی است که در اثر تکامل فعالیت های صنعتی و کشاورزی از جمله صنایع معدن و ذوب فلزات همواره وارد اکوسیستم های آبی می شود (Henson and Chedrese, 2004)

فلز سنگین کادمیوم به عنوان یکی از عناصر مهم در ایجاد اختلال سیستم درون ریز (EDC)^۳ در جانوران شناخته شده و می تواند از طریق تاثیر بر سنتز، متابولیسم و رهاسازی هورمون ها بر تولید مثل جانداران مداخله کند (Tilton *et al.*, 2003). طی چند دهه ی اخیر توجه به آلودگی دریای خزر و رودخانه های منتهی به آن با فلزات سنگین، به جهت تاثیرات بسزای آن در سلامتی جانوران آبی و انسان ها از اهمیت خاصی برخوردار بوده است. ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) از جمله آبزیانی است که همواره در معرض آلودگی های موجود در این دریا و رودخانه های حوزه جنوبی منتهی به آن می باشند. مولدین ماهی مزبور معمولاً اواخر زمستان مهاجرت خود را از دریا جهت تخمیزی

به رودخانه های حوزه ی جنوبی آغاز کرده و پس از گذراندن مدتی به بلوغ جنسی می رسند و قابلیت تخمیزی خواهند یافت. از آنجایی که فلز سنگین کادمیوم از جمله آلاینده های انکار ناپذیر وارد شده به محیط های آبی تحت تماس با این ماهیان می باشند و با توجه به اثرات نامطلوب آن در فرآیند تولید مثلی جانوران بالاخص ماهیان، توجه به فیزیولوژی تولید مثلی این ماهیان مهم اقتصادی از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

کیفیت اسپرم ماهیان، فاکتوری کلیدی در تولید مثل و لقاح موفق آن ها محسوب می شود (Kime and Nash, 1999)، به طوری که حتی کاهش اندکی در میزان تحرک آن می تواند تاثیرات عمیقی روی قابلیت باروری تخمک ها داشته باشد (Kime, 2001). امروزه جهت اجتناب از تماس مستقیم ماهیان با آلاینده ها، با استفاده از تکنیک کشت بافت، مطالعات بسیاری در زمینه آسیب شناسی بافت^۴، صورت می گیرد (Magwood and George, 1996؛ Castano *et al.*, 2003) بطوری که در مطالعات تولید مثلی، بافت گناد ماهی قطع شده و تحت شرایط آزمایشگاهی^۵ آنکوبه می شود (Yazawa *et al.*, 2002، Song and Gutzeit, 2003). این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیرات مستقیم فلز سنگین کادمیوم بر بافت بیضه مولدین نر ماهی سفید و بررسی تغییرات سلولی و بافتی آن و همچنین بررسی وضعیت تحرک اسپرماتوزوای ماهیان تحت تماس با غلظت های مختلف کادمیوم انجام شد.

۲. مواد و روش کار

آزمایش اول

دو ماهی سفید نری که به رسیدگی کامل جنسی نرسیده بودند، در بدو ورود شان به

4 - Histopathology
5 - In Vitro

1 - Bioaccumulation
2 - Biomagnification
3 - Endocrine Disrupter Chemicals

بررسی های آسیب شناسی از جمله تعداد و اندازه سلول های جنسی پرداخته شد (Geraudie *et al.*, 2009). جهت تسهیل و دقت در اندازه گیری تنها اسپرماتوگونی ها و اسپرماتوسیت های ثانویه با بزرگنمایی X ۱۰۰۰ تحت ارزیابی واقع شدند. سنجش تعداد و مساحت سلول ها در ۰/۳ میلی متر مربع در دوازده منطقه مختلف از سطح لام صورت پذیرفت.

آزمایش دوم

از چهار مولد نر سفید که از رودخانه حویق واقع در شمال غربی استان گیلان صید شدند، بدون اینکه بیهوشی صورت گیرد، پس از خشک نمودن بدنشان، با فشار به ناحیه ی شکمی اسپرم کشی صورت گرفت. نمونه ها به صورت جداگانه، به وسیله ی فلاسک همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه با استفاده از نمک های کلرید کادمیوم محلول های ۰/۱، ۰/۱، ۰/۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه شد. جهت سنجش میزان مدت زمان تحرک و در صد اسپرماتوزوای متحرک، ۰/۵ میکرو لیتر اسپرم را بروی لام در زیر میکروسکوپ ریخته و بلافاصله با اضافه کردن ۱ میکرولیتر از محلول آلاینده (Alavi *et al.*, 2004) ضبط ویدئویی تحرک اسپرماتوزوای ماهیان با بزرگنمایی X ۴۰۰ صورت پذیرفت. جهت آزمایش گروه کنترل نیز از آب مقطر استفاده شد. هر آزمایش با ۱۶ تکرار انجام پذیرفت.

آزمایش اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. جداول تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS 15 رسم شدند. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ در صد و مقایسه میانگین اثرات متقابل با استفاده از نرم افزار آماری

رودخانه شیروود تنکابن در زمستان سال ۱۳۸۷ صید شده و پس از انتقال به آزمایشگاه شیلات دانشگاه تهران و سپری شدن استرس حمل و نقل به مدت یک هفته، با پودر گل میخک ۱ به ۵۰۰۰ بیهوش شدند. به منظور کشت بافت، بیضه ماهی به قطعات ۶ الی ۲۰ میلی گرمی برش داده شد و داخل ظرف های ۲۴ چاهکه مخصوص کشت بافت (NUNCE, Denmark) که هر کدام از چاهک ها حاوی ۱ میلی لیتر از محیط کشت L-15 (Gibco, USA) و بافر HEPES (Merck, Germany) با غلظت ۱۰ میلی مولار (pH:7.5) و آنتی بیوتیک های پنی سیلین 10^{-5} و استرپتومایسین 10^{-6} میکرو گرم در میلی لیتر (Gibco, USA) بود منتقل شدند (Mojazi Yamauchi *et al.*, Amiri *et al.*, 1999; 22007). در آزمایشگاه با استفاده از نمک کلرید کادمیوم $CdCl_2$ (Merck, Germany) محلول هایی با غلظت های 10^{-5} ، 10^{-6} و 10^{-7} مولار تهیه و پس از فیلتر کردن با فیلتر سر سرنگی ۰/۲ میکرون (Wattman, USA) به چاهک های ظروف کشت اضافه شد. گروه های کنترل در این آزمایش، بافت های کشت داده شده در L-15 بود. نمونه ها در انکوباتور مرطوب ۱۲ c به مدت ۶ روز انکوبه شدند. به منظور مقایسه تغییرات بافت شناسی و بررسی اثرات مدت زمان تماس با فلز سنگین در قطعات بیضه، هر کدام از تیمارهای مورد نظر به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول پس از گذشت ۳ روز و دسته دوم پس از ۶ روز در محلول بوئن فیکس شدند. پس از تهیه اسلایدهای بافت شناسی، لام ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد و در زیر میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال^۱ عکسبرداری شد. پس از انتقال عکس ها به نرم افزار Image Tool (3.00) به

^۱ - Nikon coolpix P6000 13.5 M Pixel

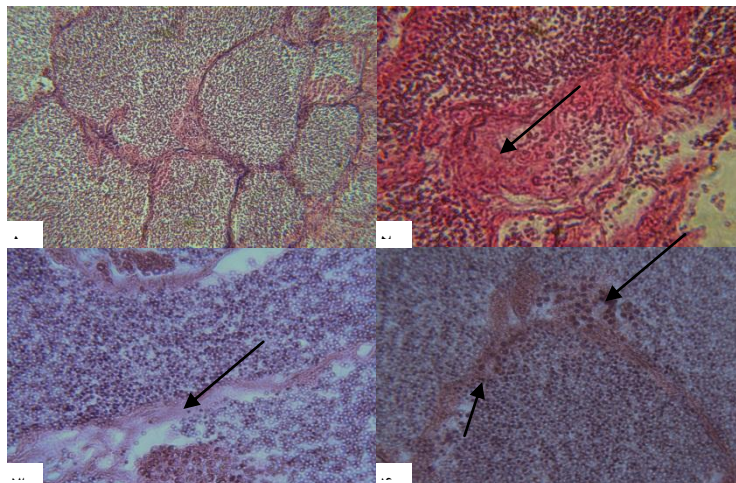
تاثیر فلز سنگین قرار داشتند با افزایش غلظت کادمیوم و مدت زمان تماس با آن، ضایعات وارده بر بافت بیضه، اعم از اضمحلال سلولی، تخریب دیواره لوبولی و مرگ سلولی (نکروز) (شکل ۱) بیشتر گردید.

MSTATC صورت گرفت. رسم نمودار ها نیز با استفاده از نرم افزار EXCEL انجام شد.

۳. نتایج

آزمایش اول

ادامه روند اسپرمتوزنز در گروه شاهد به نحو مطلوبی مشاهده شد، اما در تیمار هایی که تحت



شکل ۱. روند مطلوب تقسیم سلولی در تیمار شاهد، روز ششم، لوبول های حاوی اسپرمتوزوئید، $400 \times$ ؛ ۲-۱ اضمحلال سلولی غلظت 10^{-6} ، روز ششم $1400 \times$ ؛ ۳-۱ تخریب دیواره لوبولی غلظت 10^{-5} ، روز سوم، $1000 \times$ ؛ ۴-۱ نکروز سلول های جنسی غلظت 10^{-5} ، روز ششم، $1000 \times$ (هسته سلول ها تیره شده و دچار مرگ سلولی شده اند) (فلش ها نشان دهنده ی ضایعات ذکر شده در تصویر است).

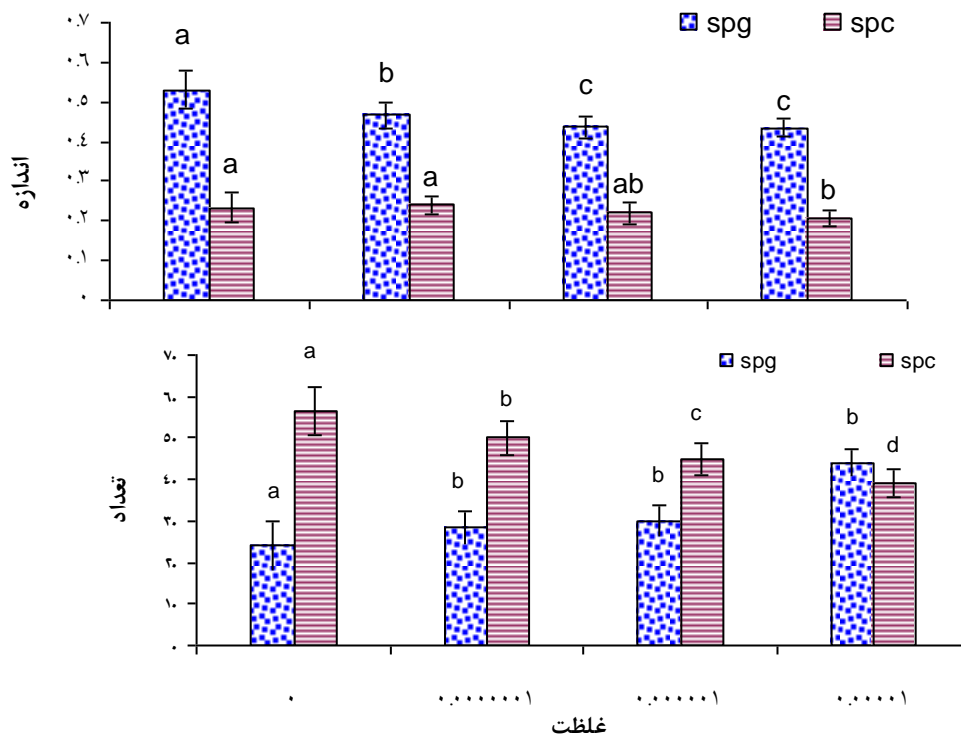
های اسپرمتوسیت نیز معنی دار بوده است ($P < 0/05$) و میان سطح اول و دوم تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نگردید ($P > 0/05$). میانگین اندازه ی سلول ها در روز سوم $0/227 \pm 0/04$ میلی متر مربع و در روز ششم $0/221 \pm 0/05$ میلی متر مربع مشاهده گردید. اثر متقابل سطوح مختلف کادمیوم و زمان بر مساحت سلول های اسپرمتوگونی و اسپرمتوسیت اختلاف معنی داری بین گروه های مختلف نشان نداد ($P > 0/05$).

اثر کادمیوم بر تعداد سلول های اسپرمتوگونی و اسپرمتوسیت معنی دار بوده است ($P < 0/001$) به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم تعداد

بر اساس جدول تجزیه ی واریانس تاثیر سطوح مختلف کادمیوم بر کاهش مساحت سلول های اسپرمتوگونی ($P < 0/001$) معنی دار بوده است به طوری که با افزایش غلظت کادمیوم اندازه اسپرمتوگونی ها کاهش پیدا کرد و بیشترین مساحت اسپرمتوگونی مربوط به گروه شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار 10^{-5} مولار گردید، اما میان سطح سوم و چهارم تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نگردید (شکل ۲-الف). میانگین اندازه ی سلول ها در روز سوم $0/476 \pm 0/03$ میلی متر مربع و در روز ششم $0/459 \pm 0/05$ میلی متر مربع ثبت گردید. تاثیر سطوح مختلف کادمیوم بر کاهش مساحت سلول

اسپرمتوگونی ها معنی دار نگردید ($P > 0/05$) اما اثر زمان بر کاهش تعداد سلول های اسپرمتوسیت معنی دار بود ($P < 0/05$). اثر متقابل سطوح مختلف کادمیوم و زمان بر تعداد سلول های اسپرمتوگونی معنی دار نبود ($P > 0/05$) اما بر تعداد اسپرمتوسیت ها اثر گذاشته بود و تعداد آنها را کاهش داده بود ($P < 0/001$) (شکل ۲-ب)

سلول های اسپرمتوگونی و اسپرمتوسیت به ترتیب افزایش و کاهش پیدا کرده است. در مقایسه ی میانگین تعداد اسپرمتوگونی ها، میان سطوح دوم، سوم و چهارم تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نگردید ($P > 0/001$) اما تعداد اسپرمتوسیت ها با افزایش غلظت کادمیوم به طور معنی داری نسبت به سطوح قبلی کاهش پیدا کرد. تاثیر زمان بر افزایش تعداد



شکل ۲. الف؛

مقایسه میانگین سطوح مختلف کادمیوم بر مساحت سلول های جنسی (میلی متر مربع) ب؛ مقایسه میانگین سطوح مختلف کادمیوم بر تعداد سلول های جنسی، spg: اسپرمتوگونی؛ spc: اسپرمتوسیت

کرده است اما بین تیمار های D1 و D2 و تیمار های D3 و D4 در روز ششم هیچ تفاوتی از لحاظ آماری وجود ندارد ($P > 0/001$). بیشترین تعداد اسپرمتوسیت ها در تیمار D1T1، ۶۳ و کمترین تعداد در تیمار D4T1، ۳۸/۶۷ بود (جدول ۱).

مقایسه ی مقادیر میانگین تعداد اسپرمتوسیت در بافت بیضه تحت تاثیر غلظت های مختلف از فلز سنگین کادمیوم نشان داد که با افزایش سطح آلاینده و افزایش مدت زمان کشت، تعداد اسپرمتوسیت ها به طور معنی داری کاهش پیدا

جدول ۱. مقایسه میانگین تعداد اسپرماتوسیت ها تحت تاثیر سطوح کادمیوم در روز های ۳ و ۶ پس از کشت

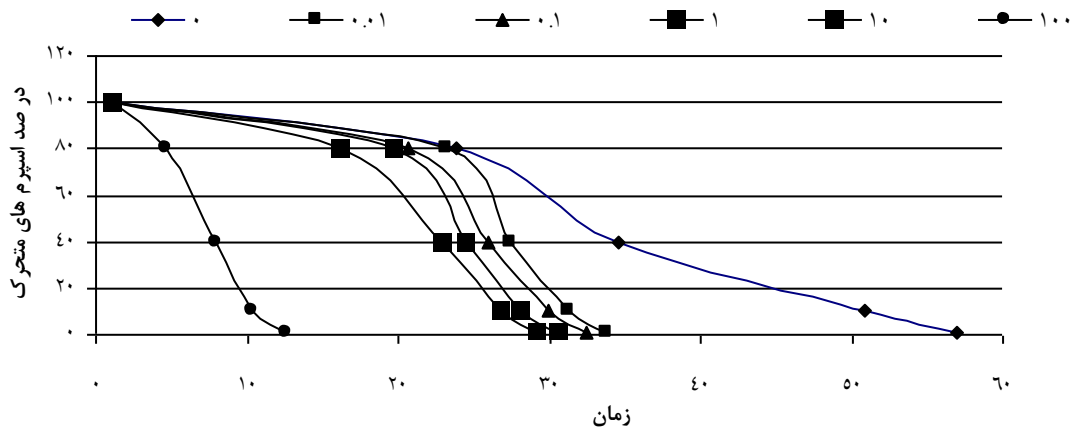
غلظت کادمیوم (مولار) ؛	روز ؛ زمان	تعداد اسپرماتوسیت	تیمار
(D ₁)	T1 ۳	۶۳ (A)	صفر
	T2 ۶	۵۰ (B)	
(D ₂) ۱۰ ^{-۷}	T1 ۳	۵۰/۳۳ (B)	
	T2 ۶	۴۹/۹۰۸ (B)	
(D ₃) ۱۰ ^{-۶}	T1 ۳	۴۳ (C)	
	T2 ۶	۴۶/۵۶۶ (BC)	
(D ₄) ۱۰ ^{-۵}	T1 ۳	۳۲/۶۶۷ (D)	
	T2 ۶	۴۵/۱۵۶ (BC)	

مایع اسپرمی به محض تماس با این غلظت، شکل طبیعی خود را از دست داده و به توده ای لخته مانند تبدیل شد. کل مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید ها نیز با افزایش غلظت فلز سنگین کادمیوم نسبت به شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$)، اما بین تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) (شکل ۴).

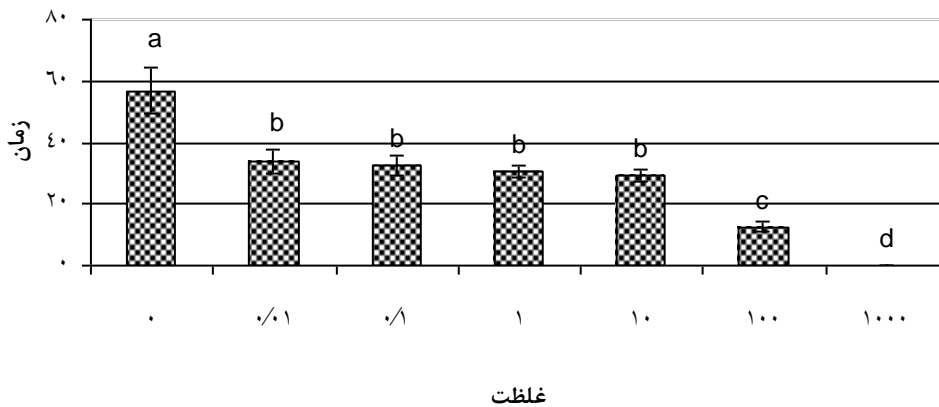
آزمایش دوم

درصد اسپرم های متحرک با افزایش میزان غلظت کادمیوم کاهش یافته و در ثانیه های مشابه پس از آغاز تحرک اسپرماتوزوئید ها، با افزایش میزان غلظت آلاینده از درصد تحرک اسپرم های متحرک به طور معنی داری کاسته شد (۰/۰۵) ($P < 0/05$) (شکل ۳).

تحرک اسپرماتوزوئید ها بلافاصله در تماس با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر متوقف شده و



شکل ۳. مقایسه درصد تحرک اسپرماتوزوئیدها در مواجهه با غلظت های مختلف کادمیوم با توجه به زمان



شکل ۴. مقایسه مدت زمان تحرک اسپرم در مواجهه با غلظت های مختلف کادمیوم

۴. بحث و نتیجه گیری

کادمیوم به عنوان یکی از فاکتور های ایجاد نابهنجاری تولید مثلی در ماهیان شناخته شده و بافت بیضه ماهیان به عنوان یکی از بافت های حساس در مقابل آلودگی با فلز سنگین کادمیوم عنوان شده است. میزان ضایعات وارده بر این بافت بسته به گونه ماهیان و مدت زمان تماس با کادمیوم نیز متفاوت است (Sellin et al, 2007). نتایج حاصل از اندازه گیری سلول های اسپرماتوگونی نشان داد که مساحت سلول ها تحت تاثیر غلظت های مختلف از فلز سنگین کادمیوم بوده و هر چه بر میزان آلاینده افزوده شد

مساحت اسپرماتوگونی ها نیز کاهش یافت. از طرفی سنجش تعداد این سلول ها نیز موید کاهش اسپرماتوزن است زیرا هر چه غلظت آلاینده اضافه شد تاثیر آن ها بر کاهش تقسیم سلول های اسپرماتوگونی بیشتر شده و به سبب عدم ادامه در روند تقسیم، تعداد اسپرماتوگونی ها در تیمار های حاوی فلز سنگین نسبت به تیمار شاهد بیشتر شده است اما این افزایش در تعداد سلول های اسپرماتوگونی، با افزایش غلظت کادمیوم معنی دار نبوده است ($P > 0.01$) (شکل ۲-ب).

ها کاسته شده تا جایی که در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر متوقف شد. فلزات سنگین از طرق مختلفی قادر به تاثیر گذاری بر آغاز جنبش و تحرک اسپرم می باشند (Lahnsteiner *et al.*, 1999). این فلزات قادرند با اتصال به آنزیم هایی که بر متابولیسم سلول موثرند و همچنین اتصال به پروتئین های موجود در تاژک اسپرماتوزوئید ها موجب تغییر ساختار تاژک، دژنره شدن پروتئین ها و توقف تحرک شوند (Dietrich *et al.*, 2009). همچنین کادمیوم قابلیت تخریب DNA را نیز در سلول های اسپرمی داراست (Sellin *et al.*, 2007). از طرفی pH نیز یکی از عوامل موثر بر تحرک اسپرماتوزوئید ها می باشد بنابراین کلرید کادمیوم- به علت خاصیت نمکی- با تغییر در pH بر کاهش تحرک اسپرماتوزوئید ها، تاثیر گذار خواهد بود (Lahnsteiner *et al.*, 2004). توقف کامل تحرک اسپرم به وسیله ی کادمیوم در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر در ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان، استورژن سیبری و استرلت نیز مشاهده شده است (Dietrich *et al.*, 2009). تاثیرات منفی کامیوم در برخی از پارامتر های حرکتی اسپرم در گربه ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* (Kime *et al.*, 1995)، کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Jezireska, 2009) و ماهی کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* (Sarnowska, 1997) نیز گزارش شده است. چنین بنظر می رسد که ادامه روند مطلوب اسپرماتوزن تا تولید سلول های بی عیب و نقص اسپرماتوزوئید با توجه به تغییراتی که در تعداد و اندازه ی سلول های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت ایجاد شد خالی از اشکال نخواهد بود. از طرفی کل مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید ها در ماهیان سفید، کمتر ۶۰ ثانیه به اتمام می

تماس ماهیان قنات (*Pimephales promelas*) با کادمیوم در بافت بیضه موجب آسیب و مرگ سلول های جنسی (Sellin *et al.*, 2007) و در کپور ماهیان آسیایی (*Labeo bata*) کاهش معنی داری را در تعداد سلول های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه ایجاد کرد و با جلوگیری از ادامه روند اسپرماتوزن، موجب عدم حضور اسپرماتید و اسپرماتوزوآها در بافت بیضه گردید (Das, 1988). در این مطالعه اندازه ی اسپرماتوسیت ها نیز با افزایش غلظت آلاینده کاهش یافت و تعداد آن ها در گروه شاهد نسبت به سایر تیمار ها بیشتر بود که نشانه ی ادامه روند مطلوب تقسیم سلولی در مقایسه با سطوح دیگر است به طوری که با افزایش غلظت آلاینده تاثیر آن بر جلوگیری از تبدیل اسپرماتوگونی ها به اسپرماتوسیت بیشتر شده و با افزایش غلظت کادمیوم تعداد آنها با اختلاف معنی داری کاهش یافته است. مطالعات زیادی نیز در زمینه اثرات مخرب کادمیوم بر بافت گنادی پستانداران انجام شده که حاکی از تجمع فلز سنگین در بافت جانداران و تخریب، مرگ و کاهش تعداد سلول های جنسی و آسیبهای مورفولوژیکی در اسپرم انسان، قوچ، خرگوش و موش گردیده است (Thompson and Bannigan, ۱۳۸۳؛ ابراهیمی، ۲۰۰۸).

ایجاد اختلال در محور مغز- هیپوفیز- گناد^۱ و فعالیت گیرنده های هورمون های استروژنی و آندروژنی دخیل در فرآیند گامتوزن نیز از دلایل آسیب در فعالیت های تولید مثلی به وسیله ی کادمیوم عنوان شده است (Sellin *et al.*, 2007). مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید ها و در صد اسپرم های متحرک در این مطالعه وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت کادمیوم از تحرک آن

1- Hypothalamus-pituitary-Gonad

in Sydney estuaries, south-eastern Australia. *Environ Pollut.* 142:116-122.

Castano, A., Bols, N.C., Braunbeck, T., Dierick, P., Halder, M., Isomaa, B., Kawahara, K., Lee, L. E. J., Mothersill, C., Pärt, P., Repetto, G., Sintes, J. R., Rufli, H., Smith, R., Eisler, R., 1986. Diazinon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service, U.S., 85:1-38.

Das, R.C., 1988. Cadmium toxicity to gonads in a freshwater fish, *Labeo bata* (Hamilton) *Arch Hydrobiol.* 112:467-474.

Dietrich, G.J., Dietrich, M., Kowalskia, R.K., Doboszb, S., Karola, M., Demianowicza, W., Glogowski, J., 2009. Exposure of rainbow trout milt to mercury and cadmium alters sperm motility parameters and reproductive success. *Aquat Toxicol.* 97:277-284.

Franssen, CM., 2009. The Effects of Heavy Metal Mine Drainage on Population Size Structure, Reproduction, and Condition of Western Mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Environ Con. Toxicol.* 57: 145-156.

Gage, M. J.G., Macfarlane, C.P., Yeates, S., Ward, R.G., Searle, J.B., Parker, G.A., 2004. Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success, *Curr Biol.* 14: 44-47.

Geraudie, P., Gerbron, M., Hill, E., Minier, J. S. Ch., 2009. Roach (*Rutilus rutilus*) reproductive cycle: a study of biochemical and histological parameters in a low contaminated site. *Fish Physiol Biochem.* 36:767-777.

Henson, M. C. and Chedrese, P. J. 2004. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp. Biol. Med.* 229: 383-392.

Jezireska, B., Katarzyna, Ł. K., Witeska, M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish. *Fish Physiol Biochem.* 35: 625-640.

Kime, D.E., 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. *Fish Biol. Fisheries* 5: 52-96.

رسد و با توجه به مدت زمان به نسبت اندکی که برای لقاح پذیری تخمک ها مطلوب شمرده شده است (۱۵ ثانیه) (Gage *et al.*, 2004) صرف نظر از تاثیرات سوء کادمیوم بر کیفیت تخمک مولدین ماده (Franssen, Alquezar *et al.*, 2006)؛ (2009)، هر گونه عاملی که موجب تاثیرات نامطلوب بر فاکتور های کیفیت اسپرم شود بر قابلیت های آن در تولید تخم سالم تاثیر سوء خواهد داشت.

با توجه به قابلیت کادمیوم در تغییر کیفیت و کمیت سلول های جنسی اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتوزوآهای ماهیان سفید، تماس آن در هر مرحله از فرآیند تکامل اسپرم با ماهی موجب تغییر و تخریب ساختمان بافتی و سلولی بیضه ماهی خواهد شد. از آنجایی که تولید بچه ماهیان سالم با قابلیت ماندگاری بالا جهت تضمین نسل های آینده ی این ماهیان در گرو تولید گامت های با کیفیت مناسب است توجه به کاهش هر چه بیشتر فلزات سنگین از جمله کادمیوم به دریای خزر و اکوسیستم های رودخانه ای مجاور جهت حفظ این ذخایر ارزشمند لازم می نماید.

منابع

ابراهیمی، م. ۱۳۸۳. بررسی تاثیر غلظت های مختلف جیوه بر پارامترهای حرکت و اولترامرفولوژیک اسپرم ماهی. فصلنامه فیض. ۳۱: ۷-۱۳

Alavi, S. M., Cosson, J., Karami, M., Mojazi Amiri, B., Akhoundzadeh, M. A., 2004. Spermatozoa motility in the Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*: Effect of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reprod. Res.* 128: 819-828.

Alquezar, R., Markich, SJ., Booth, DJ., 2006. Effects of metals on condition and reproductive output of the smooth toadfish

- Song, M., Gutzeit, H. O., 2003. Primary culture of medaka (*Oryzias latipes*) testis: a test system for the analysis of cell proliferation and differentiation. *Cell Tissue Res.* 313: 107–115.
- Thompson, J., Bannigan, J., 2008. Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reprod. Toxicol.* 25: 304–315.
- Tilton, S.C., Foran, C.M., Benson, W.H., 2003. Effects of cadmium on the reproductive axis of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Comp Biochem Physiol.* 136: 265–276.
- Yamauchi, S., Miura, C., Ito, A., Agusa, T., Iwata, H., Tanabe, S., Tuyen, B. C., Miura, T., 2007. Effect of lead, molybdenum, rubidium, arsenic and organochlorines on spermatogenesis in fish: Monitoring at Mekong Delta area and in vitro experiment. *Aquat Toxicol.* 83: 43–51.
- Yanga, L., Yua, L.E. and Rayb, M.B., 2008. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ Photocatalysis. *Water Res.* 42: 3480–3488.
- Yazawa, T., Yamamoto, T., Jin, Y., Abe, S., 2002. Follicle-stimulating hormone is indispensable for the last spermatogonial mitosis preceding meiosis initiation in newts (*Cynops pyrrhogaster*). *Biol Reprod.* 66: 14–20.
- Kime, D. E., Nash J. P., 1999. Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish. *Sci total Environ.* 233: 123–129.
- Kime, D. E., Vanlook, K. J. W., McAllister, B. G., Huyskens, G., Rurangwa, E. and Olliver, F., 2001. Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comp. Biochem. phys.* 130: 425–433.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann T., 1999. Sperm metabolism of the teleost fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. *Exp. Zool.* 284: 454–465.
- Lahnsteiner, F., Mansour, N., Berger B., 2004. The effect of inorganic and organic pollutants on sperm motility of some freshwater teleosts. *J. Fish Biol.* 65: 1283–1297.
- Magwood, S., George, S. 1996. In vitro alternatives to whole animal testing, comparative cytotoxicity studies of divalent metals in established cell lines derive from tropical and temperate water fish species in a neutral red assay. *Mar. Environ. Res.* 37–40.
- Migliarini, B., Campisi, AM., Maradonna, F., Truzzi, C., Annibaldi, A., Scarponi, G., Carnevali, O., 2005. Effects of cadmium exposure on testis apoptosis in the marine teleost *Gobius niger*. *Gen Comp Endocr.* 142: 241–247.
- Mojazi Amiri, B., Maebayashi, M., Adachi, S., Moberg, G. P., Doroshov, S. I., Yamauchi K., 1999. In vitro steroidogenesis by testicular fragments and ovarian follicles in a hybrid sturgeon (Bester). *Fish Physiol. Biochem.* 21: 1–14.
- Sarnowska, K., Sarnowski, P., Słomin'ska, I., 1997. The effects of lead and copper on embryonic development of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). XVII Zjazd Hydrobiologów Polskich, Poznań, p.173 (Abstract in English).
- Sellin, M. K., Eidem, T. M., Kolok A.S., 2007. Cadmium Exposures in Fathead Minnows: Are There Sex-Specific Differences in Mortality, Reproductive Success, and Cd Accumulation? *Environ. Con. Tox.* 52: 535–540.