

مقدمه

به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم ارزیابی کیفی اسپرم مطرح می‌باشد، آشنایی با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اسپرم نه تنها در فهمیدن پاسخ ماهی در شرایط اسارت اهمیت دارد، بلکه گامی مهم برای بهینه‌سازی روش‌های باروری هم‌چون انجماد و ذخیره‌سازی کوتاه مدت و تولید حیوانات تراریخته کاربرد دارد (قرایی و همکاران، ۱۳۹۴). تاکنون اثرالفاکنندگی یا ممانعت‌کنندگی تعدادی از یون‌ها هم‌چون سدیم، پتاسیم، کلسیم، کلر و منیزیم به‌دلیل تأثیر مستقیم در فعال سازی یا غیرفعال‌سازی واکنش‌های آنزیمی مؤثر در تحرک اسپرم ماهیان مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (برادران‌نوری و صابر، ۱۳۹۷). لذا، این تحقیق به بررسی پارامترهای اسپرم‌شناختی (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم) و پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول، پروتئین) و مقایسه این پارامترها در فیل‌ماهی و اوزون‌برون وحشی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

سمن ۷ مولد فیل‌ماهی وحشی 12 ± 100 کیلوگرمی با طول 13 ± 120 سانتی‌متر و ۷ مولد اوزون‌برون وحشی 9 ± 38 کیلوگرمی با طول 18 ± 87 سانتی‌متر با استفاده از سرنگ تایگون در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهیدمرجانی گرگان جمع‌آوری در اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ گردید. سرنگ‌های حاوی میل، در فلاسک یخ در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری و بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (اسپرماتوکریت، طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم) منتقل گردید. برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره تحرک اسپرم از میکروسکوپ فازکنتراست مجهز به دوربین CCD و متصل به رایانه استفاده شد (Cosson و همکاران، ۲۰۰۰). برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت، پس از سانتریفوژ کردن لوله‌های میکرو محتوی سمن در دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه، با استفاده از دستگاه میکروهماتوکریت درصد اسپرم به پلاسمای سمن تعیین گردید (Fitzpatrick و همکاران، ۲۰۰۵). تراکم اسپرم با روش استاندارد هماسیتومتری با رقیق کردن اسپرم به نسبت ۱:۲۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست زمینه سیاه با درشت‌نمایی ۱۰ اندازه‌گیری شد و با واحد $10^9 \times$ در هر میلی‌لیتر سمن نوشته شد. هم‌چنین برای بررسی پارامترهای بیوشیمیایی، نمونه‌های سمن درون ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و در دور ۵۰۰ به مدت ۲ دقیقه و سپس در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفوژ سیگما (Sigma 1-13 England) ۱-۱۳، سانتریفوژ شدند (Barannikova، ۱۹۹۵). بعد از

از آن جایی که اسپرم واجد کیفیت بالا برای صنعت شیلات و مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شیلاتی حائز اهمیت می‌باشد، لذا ارزیابی کیفیت اسپرم جزو عوامل کلیدی در تولید موفق ماهی در تکثیر مصنوعی محسوب می‌شود (Alvani و همکاران، ۲۰۰۶). فاکتورهایی کیفی اسپرم مانند تعداد اسپرماتوزوآ نسبت به تخمک، طول دوره حرکت اسپرماتوزوآ، ترکیبات یونی و آلی سمن و محیط می‌تواند بر موفقیت لقاح مؤثر باشد (Linhardt و Cosson، ۱۹۹۶). مطالعات پیشین به بررسی دوره تحرک اسپرم و هم‌چنین اسپرماتوکریت در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (برادران‌نوری و همکاران، ۱۳۸۵)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (محمدی و همکاران، ۱۳۹۶)، ماهی بستر (*Huso huso \times Acipenser ruthenus*) (برادران‌نوری و همکاران، ۱۳۹۶) و ماهی شپ (*Acipenser nudi ventris*) پرداخته است. هم‌چنین، قرایی و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی تراکم اسپرماتوکریت و پارامترهای اسپرم‌شناختی ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) با استفاده از چهار محلول رقیق‌کننده پرداخت، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از نمک به‌همراه کلسیم کلراید موجب بهبود پارامترهای اسپرم‌شناختی هم‌چون طول دوره تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک در این گونه شد. مطالعه روی شاخص‌های سمن برای فهم فرایندهای بیوشیمیایی در طی حرکت اسپرماتوزوآ و لقاح، ارزیابی توانایی تولیدمثل در گونه‌های مختلف ماهی و بهبود روش‌های نگهداری کوتاه‌مدت و بلندمدت سمن ماهیان ضروری می‌باشد (Alvani و همکاران، ۲۰۰۶). ماهیان خاویاری مانند فیل‌ماهی و اوزون‌برون، تفاوت‌هایی از نظر پارامترهای اسپرم‌شناختی و بیوشیمیایی با یکدیگر دارند و با توجه به این که پارامترهای ذکر شده بر کیفیت اسپرم و در نهایت درصد لقاح تأثیر گذارند، لذا تحقیقات بیش‌تر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد (Rurangwa و همکاران، ۲۰۱۴). مایع اسپرمی ماهیان حاوی عناصر غیر آلی از قبیل یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، کلراید و منیزیم است که در جلوگیری از تحرک و یا فعال‌سازی تحرک اسپرم نقش داشته و سایر مواد هم‌چون گلوکز و تری‌گلیسیریدها نقش اساسی و کلیدی در متابولیسم انرژی اسپرم ایفا می‌کنند. نقش یون‌ها در تحرک و توان باروری اسپرم توسط برخی از محققان مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفته است، به‌طوری‌که Tabares و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که یون‌های کلسیم، پتاسیم و سدیم مدت‌زمان فعالیت اسپرم ماهی *Brycon henni* را کاهش می‌دهد. هم‌چنین He و Jenkins (۲۰۰۴) ثابت کردند که یون منیزیم موجود در اسپرم اثر بازدارندگی بر روی حرکت اسپرم داشته و کلسیم نیز اثر منفی روی تحرک اسپرم دارد. تحرک اسپرم‌ها نقش مهمی در موفقیت لقاح مصنوعی داشته و

سانتریفیوژ، پلاسما می سمینال که در قسمت بالای ویال قرار گرفته به درون ویال های جدید منتقل و نمونه ها برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. یون های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتر مدل جی وی (Jenway pfp, England) و کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اس. ۲۰۰۰ (WPA.S2000-UV/VIS, Combridge UK) و با استفاده از کیت های کمی پارامترهای بیوشیمیایی سرم یا پلاسما (شرکت پارس آزمون) اندازه گیری شد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۶). آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16 صورت گرفت. بدین منظور و برای مقایسه هریک از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی مشابه در فیل ماهی و اوزون برون از آزمون t در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید.

بحث

در تحقیق حاضر، دوره و درصد تحرک اسپرم در فیل ماهی بیش تر از اوزون برون بود که از این نظر با مطالعات (Primavera و همکاران، ۲۰۱۴) هم خوانی و مطابقت داشت. هم چنین این تحقیق با مطالعات انجام شده روی کیفیت اسپرم ماهی دم زرد مدیترانه ای پرورشی توسط (Diaz و Garcia، ۲۰۱۵) هم خوانی داشت. ارزیابی کیفیت اسپرم برای بهبود روش های لقاح مصنوعی، نگهداری گامت های نر و مطالعه اثر آلاینده های زیست محیطی روی موفقیت تولید مثل در ماهیان صورت می پذیرد (Rurangwa و همکاران، ۲۰۱۴). هم چنین ارزیابی سریع کیفیت اسپرم می تواند انتخاب مولد مناسب را برای به دست آوردن اسپرم با کیفیت بالاتر تسهیل نماید که در نتیجه آن، نسل بهتری حاصل خواهد شد. برای این کار می بایست نشانگرهای زیستی کیفی اسپرم (اسپرماتوکریت، تراکم اسپرم، طول دوره حرکت اسپرم و درصد تحرک اسپرم) که مستقیماً بر توانایی لقاح مؤثرند، مشخص شود (Rurangwa و همکاران، ۲۰۱۴). اختلاف زیادی بین تراکم اسپرم در گونه های مختلف وجود دارد. بر همین اساس تراکم اسپرم و درصد اسپرماتوکریت به طور میانگین در ماهی ازون برون ایرانی (*Acipenser persicus*) به ترتیب حدود $2/47 \times 10^9$ در میلی لیتر و $10/85$ درصد اندازه گیری شد که از لحاظ تعداد اسپرم تفاوتی با ماهیان مورد مطالعه در این پژوهش مشاهده نشد، اما میزان اسپرماتوکریت در تاس ماهی ایرانی حدود ۴ برابر بیش تر از ازون برون و فیل ماهی بود (علیپور و همکاران، ۱۳۹۱، برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۶). تراکم اسپرم در ماهیان بین $10^6 \times 2$ تا $10^{10} \times 6/5$ عدد در هر میلی لیتر گزارش شده است و میانگین تراکم اسپرم در ماهیان استخوانی از ماهیان خاویاری بیش تر می باشد (Billard و همکاران، ۲۰۱۵). تراکم اسپرم در ماهیان خاویاری علاوه بر گونه، به عواملی هم چون سن مولد، وزن و اندازه ماهی، توالی و تکرار پذیری اسپرم گیری، مدت زمان اسپرم سازی، زمان مناسب رسیدگی جنسی مولد، شرایط تغذیه ای بستگی دارد (علیپور و همکاران، ۱۳۹۱). هم چنین در مطالعات پیشین، وجود رابطه مثبت میان تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ازون برون به اثبات رسیده است (اسلامبولچی، ۱۳۷۷). هر

سانتریفیوژ، پلاسما می سمینال که در قسمت بالای ویال قرار گرفته به درون ویال های جدید منتقل و نمونه ها برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. یون های سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتر مدل جی وی (Jenway pfp, England) و کلسیم، منیزیم، گلوکز، کلسترول و پروتئین به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اس. ۲۰۰۰ (WPA.S2000-UV/VIS, Combridge UK) و با استفاده از کیت های کمی پارامترهای بیوشیمیایی سرم یا پلاسما (شرکت پارس آزمون) اندازه گیری شد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۶). آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16 صورت گرفت. بدین منظور و برای مقایسه هریک از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی مشابه در فیل ماهی و اوزون برون از آزمون t در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از مطالعه برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی در فیل ماهی و اوزون برون در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: مقایسه میانگین و خطای استاندارد پارامترهای بیوشیمیایی و اسپرم شناختی در فیل ماهی و اوزون برون

پارامترها	فیل ماهی	اوزون برون
انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین
سدیم (میلی مول / لیتر)	۹۶/۲۴ $\pm$ ۸/۴۷ a	۹۵/۳۳ $\pm$ ۸/۴۰ a
پتاسیم (میلی مول / لیتر)	۳/۳۴ $\pm$ ۰/۴۰ a	۴/۲۳ $\pm$ ۰/۲۸ a
کلسیم (میلی مول / لیتر)	۸/۶۶ $\pm$ ۰/۴۴ a	۸/۴۳ $\pm$ ۰/۴۷ a
منیزیم (میلی مول / لیتر)	۱/۲۳ $\pm$ ۰/۱۵ b	۲/۳۹ $\pm$ ۰/۲۴ a
گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)	۳۰/۶۷ $\pm$ ۲/۱۲ a	۳۰/۴۳ $\pm$ ۱/۶۶ a
کلسترول (میلی گرم / دسی لیتر)	۴۷/۹۸ $\pm$ ۶/۷۷ a	۴۵/۶۸ $\pm$ ۵/۷۸ a
پروتئین (گرم / دسی لیتر)	۱/۴۵ $\pm$ ۰/۲۷ a	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۲۹ a
تراکم اسپرم ($\times 10^9$)	۲/۷۶ $\pm$ ۰/۳۶ a	۲/۴۰ $\pm$ ۰/۲۸ a
اسپرماتوکریت (/)	۲/۸۷ $\pm$ ۰/۳۱ a	۲/۶۳ $\pm$ ۰/۲۳ a
درصد تحرک اسپرم (/)	۹۳/۱۱ $\pm$ ۴/۳۱ a	۸۰/۶۳ $\pm$ ۳/۸۱ b
طول حرکت اسپرم (ثانیه)	۳۱۰ $\pm$ ۳۰/۶۵ a	۲۷۰ $\pm$ ۲۳/۶۱ b

۰/۰۵ < P معنی دار در نظر گرفته شده است.

مطابق جدول، طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)، درصد تحرک اسپرم اسپرماتوکریت (/) و تراکم اسپرم (تعداد $\times 10^9$) در فیل ماهی به ترتیب $310 \pm 30/65$ ، $93/11 \pm 4/31$ ، $2/87 \pm 0/31$ ، $2/76 \pm 0/36$ و در ماهی اوزون برون به ترتیب $181 \pm 23/61$ ، $80/63 \pm 3/27$ ، $2/63 \pm 0/23$ ، $2/40 \pm 0/28$ می باشد. هم چنین غلظت یون های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در فیل ماهی به ترتیب $96/24 \pm 8/47$ ، $3/34 \pm 0/40$ ، $8/66 \pm 0/44$ ، $1/23 \pm 0/15$ میلی مول در لیتر و در اوزون برون به ترتیب



چند که تعیین تراکم اسپرم و درصد اسپرماتوکریت فاکتورهای مناسب برای تخمین تراکم اسپرم‌های استحصال شده می‌باشد، اما اهمیت عواملی هم چون درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک و نوع حرکت اسپرم‌ها در تعیین تراکم اسپرم‌ها نقش کلیدی و اساسی دارد (برادران نویری، ۱۳۸۶). قرایی و همکاران (۱۳۹۴)، گزارش دادند که طول دوره تحرک و درصد تحرک اسپرماتوزوا در ماهی سفیدک سیستانی (*Schizothorax zarudnyi*) به ترتیب برابر با ۳۴ ثانیه و ۷۳ درصد بود، این پارامترها در ماهیان این پژوهش بیش تر بود. افزایش مدت زمان تحرک اسپرم، در درصد رسیدن اسپرم‌ها به میکروپیل و انجام موفقیت آمیز لقاح را ممکن می‌کند. از آن جایی که مکانی مشخص برای ورود اسپرماتوزوا در تخمک وجود دارد، لذا با توجه به توانایی حرکت اسپرم (حدود ۳ میلی متر) شانس رسیدن آن‌ها به میکروپیل افزایش پیدا می‌کند. Cosson و همکاران (۱۹۹۹) بیان کرد که کاهش میزان یون پتاسیم موجب آغاز تحرک اسپرم ماهی قزل آلا شد. به علاوه، درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم ماهی بستر (*Huso huso* ♂×♀) به ترتیب حدود ۸۰ درصد و ۳۰۰ ثانیه ارزیابی شد (برادران نویری، ۱۳۹۵) که از لحاظ آماری درصد تحرک ماهی بستر شبیه به ماهی اوزون برون بود، اما، مدت زمان تحرک اسپرم نیز، شبیه فیل ماهی بود. در مطالعه دیگر میزان تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت ماهی اوزون برون به ترتیب حدود $10^9 \times 2/93$ و $9/7$ درصد اندازه گیری شد (علیپورجورشی، ۱۳۹۴). به نظر می‌رسد اختلاف مشاهده شده در میزان اسپرماتوکریت این مطالعه با پژوهش کنونی، به دلیل متفاوت بودن روش اندازه گیری باشد. براساس مطالعه دیگر، اسپرماتوزوای فیل ماهی و اوزون برون شبیه اکثر ماهیان تخم‌گذار در مایع سمینال غیرفعال می‌باشد (Alavi و همکاران، ۲۰۰۶). ترکیبات پلاسمای سمینال معمولاً مانع حرکت اسپرماتوزوای در مایع سمینال و لوله اسپرم‌بر می‌شود (Billard و همکاران، ۲۰۱۵). عامل اصلی عدم حرکت اسپرماتوزوای ماهیان خاویاری در پلاسمای سمینال و لوله‌های اسپرم‌بر، به خاطر غلظت یون پتاسیم است که غلظت این یون در پلاسمای سمینال ماهیان خاویاری به $2/5$ میلی مول در لیتر می‌رسد (Billard و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه به جدول ۱ میزان یون پتاسیم مایع سمینال در فیل ماهی و اوزون برون به ترتیب $3/34 \pm 0/40$ و $4/23 \pm 0/28$ میلی مول در لیتر بود. مایع سمینال علاوه بر نقش ممانعت کننده حرکت اسپرماتوزوای از آن‌ها نگه‌داری می‌کند (Cosson و همکاران، ۲۰۱۵). طبق نتایج Morisawa و همکاران (۲۰۱۰)، مایع سمینال ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) حاوی ۲ میلی مول در لیتر یون کلسیم، $0/8$ میلی مول در لیتر یون منیزیم، $82/4$ میلی مول در لیتر یون پتاسیم و ۷۵ میلی مول در لیتر یون سدیم بود که در

مقایسه با مایع سمینال فیل ماهی و اوزون برون دارای مقادیر بیش‌تری از یون پتاسیم می‌باشد، اما میزان یون سدیم، کلسیم و منیزیم در مایع سمینال فیل ماهی و اوزون برون از ماهی کپور بیش‌تر می‌باشد. یون کلسیم و سدیم یون ضروری برای القاء و افزایش مدت زمان تحرک اسپرماتوزوا می‌باشد. به طوری که افزودن یک میلی مول کلسیم به محلول‌های رقیق کننده اسپرم، موجب افزایش حدود ۳۰ ثانیه‌ای زمان تحرک اسپرم شد (احمدی و همکاران، ۱۳۸۷). بنابراین بر همین اساس، طول دوره تحرک اسپرم فیل ماهی و اوزون برون بیش‌تر از ماهی کپور می‌باشد. تفاوت در غلظت‌های یونی پلاسمای سمینال بیانگر ویژگی‌های خاص هر گونه می‌باشد. بر همین اساس، غلظت یون‌های سدیم، کلسیم، پتاسیم و منیزیم در اسپرم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به ترتیب برابر با ۲۵۳-۸۷۴، ۱۸۰-۳۳۰، ۲۰۲۸-۲۸۸۶ و ۴۴-۴۵ میلی گرم در لیتر بود. وجود مقادیر بالای یون‌های پتاسیم و منیزیم، عاملی منفی درصد و طول دوره تحرک اسپرم ماهیان به شمار می‌رود، اما کلسیم و سدیم نقشی کلیدی در فعال سازی اسپرم ایفا می‌کند. (خارا و همکاران، ۱۳۹۱). نقش پروتئین در اسپرم ماهیان ناشناخته می‌باشد (Billard و همکاران، ۲۰۱۵؛ Rurangwa و همکاران، ۲۰۱۴). White و Macleod (۲۰۱۰) عنوان کردند که پروتئین نقش حفاظتی دارد. وجود گلوکز در مایع سمینال ماهیان به انرژی زیاد مصرفی بیضه‌ها طی تولید اسپرماتوزوای مرتبط می‌شود. تحقیق صورت گرفته نشان داد (جدول ۱) که بین میزان گلوکز فیل ماهی و اوزون برون اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0/05$). کلسترول ممکن است اثر محافظتی در برابر تغییرات محیطی (به خصوص درجه حرارت) زمانی که حجم اسپرم افزایش می‌یابد، داشته باشد (Rurangwa و همکاران، ۲۰۱۴). مطالعه انجام شده نشان داد که بین میزان کلسترول فیل ماهی و اوزون برون اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). کلسترول به عنوان ماده پیش ساز هورمون‌های استروئیدی عمل می‌کند. میزان کلسترول نشان دهنده وضعیت تغذیه‌ای ماهی می‌باشد. مطابق با این نتایج، بهمنی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش دادند که تفاوت معنی‌داری میان سطوح کورتیزول، گلوکز، تری گلسیرید بین ماهیان نر و ماده شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) مشاهده نشد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فیل ماهی نسبت به اوزون برون دارای کیفیت و کمیت اسپرم بالاتری هستند. ولی از نظر پارامترهای بیوشیمیایی سمن، به جز میزان غلظت یون منیزیم که در اوزون برون بیش‌تر از فیل ماهی است، سایر پارامترهای بیوشیمیایی در هر دو اختلاف معنی‌داری را باهم نشان نمی‌دهند.



منابع

۱. احمدی، م.ر.؛ لباسی، م.ر.؛ حسینی، ش. و لرستانی، ر.، ۱۳۸۷. ارزیابی غلظت اسپرم، اثر رقیق کننده‌ها و میزان pH آن‌ها بر تحرک اسپرم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علوم و فنون دریایی. سال ۷، شماره ۱ و ۲، صفحات ۱۳ تا ۱۹.
۲. اسلامبولچی، ش.، ۱۳۷۷. تخمین تراکم اسپرم ماهی کپور معمولی، آمور و ازون برون با استفاده از روش اسپکتروفتومتری. پایان‌نامه کارشناسی. دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۵۰ صفحه.
۳. برادران‌نوبری، ش.؛ علیپور، ع.ر. و پورکاظمی، م.، ۱۳۸۵. بررسی خصوصیات مورفولوژی، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در جنوب‌غرب دریای خزر. نشریه امور دام و آبزیان. شماره ۷۵، صفحات ۱۳۸ تا ۱۴۴.
۴. برادران‌نوبری، ش.؛ نوری، ا.؛ بهمنی، م.؛ یزدانی‌ساداتی، م.ع. و اکبرزاده، آ.، ۱۳۹۶. اثر دو نوع رقیق کننده بر شاخص‌های تحرک اسپرم ماهی بستر (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) طی نگهداری بلندمدت. نشریه فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال ۵، شماره ۴، صفحات ۵۸ تا ۷۲.
۵. برادران‌نوبری، ش. و حسن‌زاده‌صابر، م.، ۱۳۹۷. روش‌های ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان. نشریه توسعه آبی‌پروری. سال ۱۲، شماره ۳، صفحات ۱۵ تا ۲۹.
۶. بهمنی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ کاظمی، ر.ا.؛ پوردهقانی، م.؛ حلاجیان، ع.؛ دژندیان، س. و جلیل‌پور، ج.، ۱۳۹۱. بیوتکنیک مولدسازی، تکثیر مصنوعی و مطالعه برخی شاخص‌های فیزیولوژیک تاس‌ماهی شپ‌پرورشی (*Acipenser nudiiventris*). مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۱، شماره ۳، صفحات ۱ تا ۱۲.
۷. خارا، ح.؛ برادران‌نوبری، ش.؛ دادرش، ح.؛ رهبر، م.؛ احمدنژاد، م.؛ علی‌نیا، م. و خدادوست، ع.، ۱۳۹۱. اثر برخی یون‌ها روی فعالیت اسپرم و کارایی تکثیر مصنوعی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان. جلد ۱، شماره ۳، صفحات ۴۵ تا ۶۴.
۸. علیپور‌جورشری، ع.ر.، ۱۳۹۴. کاربرد روش‌های شمارش عددی، اسپرماتوکریت و طیف‌سنجی تراکم اسپرم در ماهیان با تأکید بر ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). نشریه آبزیان زینتی. سال ۲، شماره ۴، صفحات ۳۳ تا ۴۰.
۹. علیپور، ع.ر.؛ برادران‌نوبری، ش.؛ نوروزفشخامی، م.ر.؛ آذری تاکامی، ق. و وهاب‌زاده، ح.، ۱۳۹۱. بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق اسپرماتوکریت، شمارش عددی و طیف‌سنجی. نشریه زیست‌شناسی دریا. سال ۴، شماره ۱۵، صفحات ۱ تا ۱۱.
۱۰. قرایی، ا.؛ عزیزاده‌سرگزی، ع.؛ غفاری، م. و میردادره‌ریجانی، ج.، ۱۳۹۴. تأثیر محلول‌های رقیق کننده اسپرم بر شاخص‌های اسپرم شناختی و عملکرد لقاح در ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*). نشریه علوم آبی‌پروری. سال سوم، شماره ۴، صفحات ۳۰ تا ۱۷.
۱۱. محمدی، ق.ا.؛ مصباح، م.؛ خواجه، غ.ج. و ممینی، آ.، ۱۳۹۶. خصوصیات میل‌ت ماهی کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) در استان خوزستان. نشریه زیست‌شناسی دریا. سال ۹، شماره ۳۶، صفحات ۹۳ تا ۱۰۰.
۱۲. Alavi, S.M.H.; Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. Journal of Fish Biology. Vol. 22, pp: 400-405.
۱۳. Alavi, S.M.H.; Mojazi, A.B.; Cosson, J.; Karami, M.; Pourkazemi, M. and Akhoundzadeh, M.A., 2006. Determination of some seminal plasmas indices, sperm density and motility in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 5, pp: 19-40.
۱۴. Barannikova, I.A., 1995. Measures to maintain sturgeon fisheries under conditions of ecosystem change. In: Proc. Intern. S turg. Symp., Vniro Pub. Vol. 12, pp: 124-130.
۱۵. Billard, R., 2015. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Reprod Nutr Dev. Vol. 2, pp: 877-920.
۱۶. Billard, R.; Cosson, J.; Perche, G. and Linhart, O., 2015. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. Vol. 124, pp: 95-112.
۱۷. Billard, R., 2015. Biology and Control of Reproduction of Sturgeons in Fish Farm. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 2, pp: 1-20.
۱۸. Cosson, J. and Linhart, O., 1996. Paddlefish, *Polyodon spathula*, spermatozoa: effects of potassium and pH on motility. Folia Zool. Vol. 45, pp: 36-45.
۱۹. Cosson, J.; Billard, R.; Cibert, C.; Dreanno, C.; Linhart, O. and Suquet, M., 1997. Movements of fish sperm flagella studied by high speed video microscopy coupled to computer assisted image analysis. Pol Arch Hydrobiol. Vol. 44, pp: 103-112.
۲۰. Cosson, J.; Billard, R.; Dreanno, C., Suquet, M. and Cibert, C., 1999. Regulation of axonemal wave parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In the Mail Gamete from Basic Knowledge to Clinical Applications. Vienna, USA. pp: 161- 186.
۲۱. Cosson, J.; Linhart, O.; Mims, S.D.; Shelton, W.L. and Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. Journal of Fish Biology. Vol. 56, pp: 1348-1367.
۲۲. Fitzpatrick, J.L.; Henry, J.C.; Leily, N.R. and Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of Masculinize coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture. Vol. 249, pp: 459-468.



۲۳. **Garcia, A. and Diaz, M.V., 2015.** Culture of *Seriola dumerilii*. Cah. Options Mediterr. Vol. 16, pp: 103-114.
۲۴. **He, S. and Jenkins, K., 2004.** Activation of sperm motility in striped bass via a CAMP-independent pathway. Theriogenology. Vol. 61, pp: 1487-1498.
۲۵. **Morisawa, M.; Suzuki, K.; Shimizu, H.; Morisawa, S. and Yasuda, K., 2010.** Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. J Exp Zool. Vol. 107, pp: 95-103.
۲۶. **Primavera, J.H. and Qunitio, E.T., 2014.** Runt-Deformity syndrome in cultured giant tiger prawn *Penaeus monodon*. Journal of Crustacean Biology. Vol. 20, pp: 796-802.
۲۷. **Rideout, R.M.; Trippel, E.A. and Litvak, M.K., 2012.** Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock. Journal of Fish Biology. Vol. 65, pp: 319-332.
۲۸. **Rurangwa, E.; Kime, D.E.; Ollevier, F. and Nash, J.P., 2014.** Measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture. Vol. 234, pp: 1-28.
۲۹. **Secer, S.; Tekin, N.; Bozkurt, Y.; Bukan, N. and Akcay, M., 2004.** Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen. Israel. Vol. 56, pp: 274-280.
۳۰. **Tabares, J.; Ruiz, T.; Arboleda, L. and Olivera, M., 2007.** Effect of some ions on sperm activation in (*Brycon henna*). Acta Biológica Colombiana. Vol. 12, No. 1, pp: 87-98.
۳۱. **Turner, E. and Montgomerie, R., 2002.** Ovarian fluid enhances sperm movement in *Arctic charr*. Journal of Fish Biology. Vol. 60, pp: 1570-1579.
۳۲. **White, L. and Macleod, J., 2010.** Composition and physiology of semen. In: Hartman, C.G., Mechanisms Concerned with Conception. Pergamon Press, Lond. pp: 135-172.

