

تأثیر سن مولدین نر بر کارایی تکثیر مصنوعی در ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*)

- **حدیثه دادرس***: باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
 - **مهری زحمتکش**: دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
 - **حسین خارا**: دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
 - **شهرزاد برادران نویری**: انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دایمان، رشت صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴
 - **شعبانعلی نظامی بلوچی**: دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱۶۱۶
- تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۰

چکیده

ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) از نظر اقتصادی یکی از ماهیان با ارزش در سیستم پرورش چند گونه‌ای می‌باشد. فرایند تکثیر مصنوعی و تولید لارو یکی از مسائل مهم در پرورش این گونه محسوب می‌گردد، که در این بین مولدین نر نقش برجسته‌ای را ایفا می‌کنند. در این راستا تأثیر سن مولدین نر بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی کپور سرگنده در فصل تکثیر (اواخر بهار) ۱۳۸۹ بررسی گردید. در این تحقیق تخمکهای ۳ مولد ماده ۴ ساله با اسپرم مولدین نر ۳ ساله (تیمار ۱)، ۲ ساله (تیمار ۲) و ترکیب ۳ و ۴ ساله (تیمار ۳) بطور جداگانه لقاح داده شد. میزان طول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم، pH و تراکم اسپرم و نرخ تفریخ فاقد تفاوت معنی‌دار بود ($P > 0/05$)، اما میزان اسپرماتوکریت در نرهای ۴ ساله بطور چشمگیری بیشتر بود ($P < 0/05$). بیشترین میزان درصد لقاح و بازماندگی لارو متعلق به تیمار ۳ بود ($P < 0/05$). براساس این تحقیق، ترکیب اسپرم‌های استحصالی از مولدین ۳ و ۴ ساله اثر مثبتی بر کارایی لقاح دارد.

کلمات کلیدی: تکثیر مصنوعی، سن، مولدین نر، کپور سرگنده،



مقدمه

ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی ماهیان گرمابی در جهان می‌باشد که به لحاظ سازگاری بالای خود در سیستم‌های پرورشی چند گونه‌ای دنیا دارای جایگاه ویژه‌ای است (۲۹). استفاده از روشهای مناسب لقاح و نگهداری سلولهای جنسی به منظور افزایش کارایی تکثیر مصنوعی در ماهیان مختلف امری ضروری می‌باشد (۱۴) و کارایی مولد نر به نوعی به عواملی مانند مقدار اسپرم رهاسازی شده، توان باروری اسپرم و زمان و شرایط رهاسازی آن بستگی دارد. در این راستا کیفیت اسپرم می‌تواند تأثیر بسزایی بر میزان لقاح داشته باشد (۲۱ و ۳۳) مراکز تکثیر و پرورش ماهیان تأکید بیشتری روی کیفیت تخمکها داشته‌اند در حالیکه نوع اسپرم استفاده شده در فرایند تکثیر نیز دارای تأثیر چشمگیری بر موفقیت لقاح و بقاء لارو می‌باشد (۱۶). تحرک اسپرم فاکتوری مهم در باروری مولد نر محسوب می‌گردد (۱۵). برخی مطالعات حاکی از آن است که تغییرات وابسته به زمان در pH داخلی اسپرم کپور ماهیان بعد از شوک هیپواسمیتیکی که باعث تغییر pH به سمت قلیایی می‌شود موجب تحرک اسپرم کپور ماهیان می‌گردد (۱۰). از آنجایی که بررسی کیفیت اسپرم از جمله فاکتورهای کلیدی در روند تولید کارآمد ماهی محسوب می‌گردد (۱۱) می‌توان عوامل تراکم اسپرم (۳۴ و ۳۷)، تحرک اسپرم (کل دوره تحرک، سرعت و درصد اسپرم‌های متحرک بعد از فعال‌سازی) (۱۹، ۲۰ و ۲۸) و pH اسپرم (۲۶) را بعنوان شاخص‌های کیفی آن مورد ارزیابی قرار داد. با توجه به اهمیت تأثیرگذاری سن (۳، ۴، ۶، ۱۲، ۲۷، ۳۲ و ۳۶) در کنار کلیه پارامترهای مذکور بر کارایی تکثیر در مطالعه حاضر اقدام به بررسی این عامل مهم در تکثیر ماهی کپور سرگنده گردید.

مواد و روشها

تحقیق حاضر روی ماهی کپور سرگنده و در اواخر خرداد ماه سال ۱۳۸۹ در مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی تعاونی شماره ۱۲ (رشت) انجام شد. در این مطالعه از ۸ مولد کپور سرگنده نر ۳ و ۴ ساله و ۳ مولد ماده ۴ ساله استفاده گردید. جهت انجام این منظور هر یک از گروه‌های سنی مولدین نر بصورت جداگانه لقاح داده شدند. در تیمار سوم نیز ترکیب اسپرم‌های استحصال از مولدین ۳ و ۴ ساله به میزان یکسان با تخمک لقاح داده شد. برای پیشگیری از خطای آزمایش و

یکسان‌سازی شرایط تکثیر برای مولدین مختلف، تخمک و اسپرم استحصال از کلیه مولدین در یک گروه سنی با هم مخلوط گردیدند. مولدین ماده طی دو مرحله با استفاده از ترکیب ۲/۵ میلی گرم هیپوفیز، ۰/۴ میکروگرم هورمون LHRH-A2 و ۰/۲ سی‌سی سرم فیزیولوژیک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و مولدین نر با استفاده از ۰/۵ میلی گرم هیپوفیز، ۰/۴ میکروگرم هورمون LHRH-A2 به همراه ۰/۲۵ سی‌سی سرم فیزیولوژیک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن همزمان با تزریق دوم (حدود ۷ ساعت بعد از تزریق اول) مولدین ماده مورد تزریق قرار گرفتند. طی انجام تحقیق میانگین دمای آب ۳۰ درجه سانتیگراد و دمای هوا ۳۲ درجه سانتیگراد بود. حدود ۷ ساعت بعد از تزریق دوم عمل تخم‌کشی و اسپرم‌گیری مولدین به روش مالشی (Stripping Method) صورت پذیرفت. مقدار ۱/۵ میلی لیتر از اسپرم‌های استحصال از هر گروه سنی بصورت مجزا جهت انجام آزمایشات تعیین کیفیت اسپرم به آزمایشگاه انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انتقال یافت. تخمکهای بدست آمده از هر مولد ابتدا توزین شده و سپس در ظروف جداگانه به میزان ۲۵۰ گرم (با ۳ تکرار) ریخته شد. نمونه اسپرم‌ها به مقدار ۲/۵ سی‌سی به ظروف حاوی تخم افزوده گردید و عمل لقاح به روش خشک (Dry Fertilization) انجام شد. وزن بدن (گرم) و طول چنگالی (سانتیمتر) ماهیان مولد نر پیش از استحصال اسپرم بترتیب با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و تخته زیس‌سنجی با دقت ۱ میلیمتر اندازه‌گیری گردید.

محاسبه میزان درصد لقاح با استفاده از فرمول زیر انجام شد

(۱۷):

$100 \times (\text{تعداد کل تخمکها} / \text{تعداد تخمکهای لقاح یافته}) = \text{درصد لقاح}$

پس از تفریخ لاروها، نرخ تفریخ براساس فرمول زیر محاسبه

گردید (۲۲):

$100 \times (\text{تعداد تخمهای لقاح یافته} / \text{تعداد لارو}) = \text{درصد تفریخ}$

همچنین درصد بازماندگی لارو در مرحله جذب کیسه زرده

با استفاده از فرمول زیر بدست آمد:

$\text{تعداد لاروهای زنده مانده} = \text{درصد بازماندگی لارو}$

$100 \times (\text{تعداد کل لاروها})$



صورت پذیرفت. در ابتدا جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk's استفاده شد. مقایسه جفتی هر یک از فاکتورهای اندازه‌گیری شده بین ماهیان ۳ و ۴ ساله بدلیل نرمال نبودن توزیع داده‌ها با کمک آزمون من-ویتنی انجام شد و آنالیز نتایج حاصل از لقاح بدلیل نرمال نبودن توزیع داده‌ها با کمک آزمون کروسکال - والیس صورت پذیرفت.

نتایج

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مولدین نر ۴ ساله دارای میانگین وزن بدن و طول چنگالی بیشتری بودند و با توجه به آزمون من - ویتنی، بین دو گروه سنی مورد بررسی از نظر پارامترهای مذکور اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$).

با توجه به نتایج و همانگونه که در جدول ۲ دیده می‌شود مولدین ۴ ساله دارای مقادیر بیشتر میانگین طول دوره تحرک اسپرم، تراکم اسپرم، اسپرماتوکریت و pH اسپرم بوده‌اند. حال آنکه میانگین درصد تحرک اسپرم در دو گروه سنی ۳ و ۴ ساله یکسان بدست آمد. آنالیز داده‌ها حاکی از این بود که بین دو رده سنی بررسی شده تنها از لحاظ فاکتور اسپرماتوکریت تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($P < 0.05$).

در این تحقیق بررسی درصد اسپرم‌های متحرک بصورت چشمی انجام شد (۱۱). بطوریکه ۴۰ میکرولیتر از اسپرم استحصالی پس از رقیق‌سازی با آب مقطر با نسبت ۱:۱۰۰ روی لام قرار گرفت و در زیر میکروسکوپ نوری با عدسی ۴۰ مورد ارزیابی واقع گردید. طول دوره تحرک اسپرم نیز به صورت چشمی و با استفاده از زمان‌سنج تا لحظه‌ای که تمام اسپرماتوزوآها (۱۰۰ درصد) از حرکت بایستند اندازه‌گیری شد (۱۱). تراکم اسپرم با استفاده از روش هماتوسیتومتری با رقیق‌سازی اسپرم به نسبت ۱:۳۰۰ و با بکارگیری میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ ارزیابی گردید. جهت اندازه‌گیری میزان اسپرماتوکریت بوسیله لوله میکروهماتوکریت از اسپرم مولدین نمونه‌برداری شد. سپس لوله‌های میکرو حاوی نمونه اسپرم با سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ مدل eppendorf-5415 D ساخت کشور آلمان سانتریفیوژ شدند و در خاتمه با کمک میکروهماتوکریت خوان میزان اسپرماتوکریت هر نمونه قرائت گردید. pH مایع منی بوسیله دستگاه pH متر قلمی مدل HM-20S مارک TOA ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. کلیه آزمایشات در ۳ تکرار و دمای اتاق ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS14 و رسم نمودارها با استفاده از برنامه Excel 2007

جدول ۱: میانگین وزن بدن و طول چنگالی کپور سرگنده نر در سنین ۳ و ۴ ساله

سن (سال)	میزان	میانگین وزن بدن (گرم)	میانگین طول چنگالی (سانتیمتر)
۳		520.0 ± 80.00^b	70.0 ± 0.82^b
۴		930.0 ± 80.00^a	88.75 ± 0.96^a

جدول ۲: میانگین پارامترهای اسپرم شناختی کپور سرگنده نر در سنین ۳ و ۴ ساله

سن (سال)	میزان	درصد تحرک اسپرم (درصد)	طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	تراکم اسپرم (سلول در میلی‌لیتر)	اسپرماتوکریت (درصد)	pH اسپرم
۳		45 ± 5.77^a	34 ± 1.16^a	$3.1 \times 10^9 \pm 0.6 \times 10^9^a$	87.5 ± 0.58^c	7.3 ± 0.23^a
۴		45 ± 4.04^a	39 ± 0.08^a	$3.39 \times 10^9 \pm 0.24 \times 10^9^a$	96.35 ± 0.70^a	7.8 ± 0.23^a
۳+۴		52.0 ± 23.27^a	36.25 ± 0.07^a	$3.37 \times 10^9 \pm 0.18 \times 10^9^a$	90.77 ± 1.29^b	7.05 ± 0.41^a



در جدول ۳ قابل مشاهده است و همانگونه که در جدول آمده، لقاح حاصل از ترکیب اسپرمهای مولدین نر ۳ و ۴ ساله با تخمکهای ماده ۴ ساله دارای بیشترین میانگین درصد لقاح و بازماندگی لارو بوده است.

براساس نتایج مطالعه حاضر تیمارهای مورد بررسی از نظر درصد لقاح و بازماندگی لارو دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($P < 0.05$). اما از نظر نرخ تفریخ تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). میزان میانگین پارامترهای مذکور مربوط به ۳ تیمار

جدول ۳: میانگین شاخص‌های کارایی تکثیر کپور سرگنده نر در تیمارهای مورد مطالعه

تیمارها	میزان	درصد لقاح (درصد)	نرخ تفریخ (درصد)	درصد بازماندگی لارو (درصد)
نر ۳ ساله و ماده ۴ ساله		۸۵±۳/۰.۰ ^b	۷۵±۲/۰.۰ ^a	۶۰±۲/۰.۰ ^c
نر ۴ ساله و ماده ۴ ساله		۹۰±۰/۰.۰ ^b	۸۰±۳/۰.۰ ^a	۷۰±۲/۶۵ ^b
نر ۳+۴ ساله و ماده ۴ ساله		۹۵/۳±۲/۰.۸ ^a	۸۰±۳/۴۶ ^a	۸۰±۱/۷۳ ^a

بحث

تحرك اسپرم عاملی بسیار مهم در ارزیابی توانایی لقاح سلولهای جنسی بشمار می‌رود (۱۳، ۱۸ و ۲۵). همچنین این فاکتور بعنوان یک ویژگی مهم جهت باروری مولد نر مطرح می‌گردد (۱۵). در تحقیق حاضر بیشترین طول دوره تحرك اسپرم در مولدین ۴ ساله مشاهده گردید اما دو رده سنی ۳ و ۴ ساله از نظر درصد تحرك اسپرم دارای میانگین یکسان بودند. Wojtczak و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه روی قزل‌آلای رنگین کمان به این نتیجه رسیدند که درصد تحرك اسپرم اولین عامل تضمین کننده موفقیت لقاح است. در مطالعه Suquet و همکاران (۲۰۰۵) در بین زمانهای مختلف مهاجرت تولید مثلی ماهی کاد از نظر درصد تحرك اسپرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). در حالیکه تحقیق انجام شده روی مولدین ماهی سفید نشان داد که درصد و طول دوره تحرك اسپرم در زمانهای مختلف مهاجرت تولید مثلی دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$) (۱). Kayam (۲۰۰۴)، با مطالعه روی قزل‌آلای رنگین کمان به بررسی دو گروه سنی ۳ و ۶ ساله از مولدین پرداخت و گزارش نمود که بیشترین میزان موفقیت تکثیر در لقاح حاصل از نرهای جوانتر (۳ ساله) و ماده‌های مسن تر (۶ ساله) بود. همچنین سن مناسب مولدین نر را در هر گونه از ماهیان عاملی موثر در کیفیت و کمیت اسپرم دانست. در مطالعه

حاضر میزان تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در ماهیان ۴ ساله بیشتر بود اما از بین این دو، تنها در مورد اسپرماتوکریت بین دو رده سنی ۳ و ۴ ساله تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P > 0.05$). در این راستا وجود یک همبستگی مثبت بین اسپرماتوکریت و درصد لقاح در ماهی قزل‌آلا به اثبات رسیده است (۶). شمس‌پور و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه‌ای که روی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام داد مشاهده نمود که مولدین نر ۳ ساله از نظر میزان اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم دارای میزان بیشتری نسبت به مولدین ۴ و ۵ ساله بوده‌اند و مولدین ۴ ساله بیشترین میزان درصد لقاح، چشم‌زدگی و درصد بازماندگی لاروهای تولیدی را داشتند. در تحقیق حاضر نیز لقاح حاصل از اسپرمهای ترکیبی ماهیان ۳ و ۴ ساله دارای بیشترین میزان درصد لقاح و بازماندگی لارو بود و مقادیر نرخ تفریخ در تیمارهای شامل اسپرمهای ترکیبی (۳ و ۴ ساله) و اسپرمهای مولدین ۴ ساله مشابه بدست آمد. Rakitin و همکاران (۱۹۹۹) ارتباط مثبت و معنی‌داری را بین اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم در روغن ماهی اطلس (*Gadus morhua*) گزارش نمودند و Tekin و همکاران (۲۰۰۳) بیان نمودند که با افزایش سن، غلظت اسپرم یک روند کاهشی را طی می‌نماید. توجیه احتمالی این امر براساس افزایش حجم اسپرم در سنین بالاتر و رابطه



منابع

- ۱- تکه، ش؛ ایمانیپور، م.ر؛ سوداگر، م. و شعبانی، ع.، ۱۳۸۸. مقایسه برخی پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی سفید مولد (*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) در زمانهای مختلف مهاجرت تولید مثلی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی جلد شانزدهم، ویژه نامه ۲، صفحات ۵۳ تا ۶۲.
 - ۲- دادرس، ح؛ نظامی، ش.ع؛ خارا، ح. و برادران نویری، ش.، ۱۳۹۰. بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفrix در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Borodin, 1897). مجله بیولوژی دریا، سال سوم، شماره نهم، بهار ۱۳۹۰، صفحات ۱۳ تا ۱۹.
 - ۳- رهبر، م؛ نظامی، ش.ع؛ خارا، ح؛ رضوانی، م؛ شمس پور، س؛ کامکار، م. و موحد، ر.، ۱۳۸۸. تعیین رابطه سن مولدین نر با عوامل کارایی تکثیر مصنوعی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (Kessler, 1877). مجله علوم زیستی، سال سوم، شماره اول، صفحات ۲۱ تا ۲۸.
 - ۴- شمس پور، س؛ نظامی، ش.ع؛ خارا، ح. و گلشاهی، ح.، ۱۳۸۷. تاثیر توان باروری سنین مختلف مولدین نر قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) بر روی درصد لقاح، درصد چشم زدگی، درصد تفrix و درصد بازماندگی لارو تا مرحله تغذیه فعال. مجله شیلات آزادشهر. شماره سوم، صفحات ۵۷ تا ۶۶.
 - ۵- لرستانی، ر.، ۱۳۸۳. اثر سن مولد نر و محلولهای تقویت کننده بر مدت زمان تحرک اسپرم و میزان باروری ماهی قزل آلاي رنگين کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور. ۶۷ صفحه.
 - ۶- لرستانی، ر؛ احمدی، م.ر. و کلباسی، م.ر.، ۱۳۸۶. همبستگی خصوصیات کیفی اسپرم مولدین نر در روند تکثیر ماهی قزل آلاي رنگين کمان. مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۰، شماره ۱، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۱۴۱ تا ۱۶۸.
- معکوس حجم اسپرم و غلظت آن بیان می گردد. تغییرات هورمونی در زمان مهاجرت و آلودگی های محیطی باعث ایجاد اختلاف در میزان اسپرماتوکریت یک گونه می شود (۳۱). بررسی مولدین نر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) نشان داد که مولدین نر ۴ ساله دارای درصد اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم بیشتر از مولدین ۵ و ۶ ساله بودند و همچنین بیشترین میزان درصد لقاح، درصد بازماندگی تخم تا مرحله چشم زدگی، درصد ظهور لارو و درصد بازماندگی لارو تا مرحله جذب کیسه زرده را نشان دادند (۳). در تحقیق لرستانی (۱۳۸۳) نیز، مولدین نر ۴ ساله قزل آلاي رنگين کمان در مقایسه با مولدین نر ۲ و ۳ ساله، دارای درصد تفrix بالاتری بودند. برخی تحقیقات حاکی از آن است که کاهش pH اسپرم بر میزان تحرک اسپرم تاثیر گذار می باشد (۲۴). با توجه به تأثیر چشمگیر pH بر تحرک اسپرم (۸ و ۹)، مطالعه صورت گرفته روی تاسماهی ایرانی حاکی از وجود ارتباط مثبت بین pH اسپرم و درصد لقاح و نرخ تفrix بوده است (۲) و این در حالی است که متاجی (۱۳۸۹) ارتباطی بین pH اسپرم و پارامترهای کارایی تکثیر (درصد لقاح، درصد چشم زدگی و درصد تخم گشایی) ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) بدست نیاورد. با توجه به نتایج حاصل شده در مطالعه حاضر می توان بیان داشت که سن مولدین تأثیر بسزایی بر روند تکثیر داشته است و همچنین این تحقیق با انجام مراحل عملی لقاح روی دو گروه سنی مولدین نر و بررسی روند انکوباسیون تخمهای حاصل تا مرحله شروع تغذیه فعال توسط لاروها، اظهار می دارد که ترکیب اسپرم های استحصالی از دو رده سنی ۳ و ۴ ساله می تواند در موفقیت لقاح و بازماندگی لاروهای کپور سرگنده تأثیر مثبت داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مدیریت و پرسنل پرتلاش کارگاه تکثیر تعاونی شماره ۱۲ و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان - رشت سپاسگزاری می گردد.



- 15- Birkhead, T.R., Martinez, J.G., Burke, T. and Froman, D.P., 1999. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. Proc. Roy. Soc. Lond. Biol. Sci., 266:1759-1764.
- 16-Bozkurt, Y., Secer, S. and Bejcan, S., 2006. Relationship between spermatozoa motility, egg size, fecundity and fertilization success in *Salmo trutta abanticus*. Tarim Bilimleri Dergisi, Vol. 12, No. 4, pp.345-348.
- 17-Bromage, N.R. and Cumaradataunga, R., 1988. Egg production in the rainbow trout in recent advances in Aquaculture, (J.F. Muir & R.J. Robert eds.), 39:63-139.
- 18-Cosson, J., Billard, R., Redondo-Muller, C. and Cosson, M.P., 1991. *In vitro* incubation and maturation of carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa. Bull. Inst. Zoo. Acad. Sinica Mono., 16:249-261.
- 19-Cosson, J., Billard, R., Gibert, C., Dreanno, C. and Suquet, M., 1999. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In the male gamete. From basic to clinical application. (C. Gagnon ed). Cache River Press. pp.161-186.
- 20-Cosson, J., Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L. and Rodina, M., 2000. Analysis of motility parameters from paddlefish (*Polyodon spathula*) and shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus*) spermatozoa. Fish Biol., 56:1348-1367.
- 21-Gage, M.J.G., Stockley, P. and Parker, G.A., 1995. Effects of alternative male mating strategies on characteristics of sperm production
- ۷- متاجی، ع.ا.، ۱۳۸۹. اثر ترکیب یونی و بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۱۲۷ صفحه.
- 8-Alavi, S.M.H., and Cosson, J., 2005a. Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Aqua. Res., 36: 841-850.
- 9-Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2005b. Sperm motility in fishes: I. Effects of temperature and pH. Cell Biol. Int., 29:101-110.
- 10-Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. I. Effects of ions and osmolarity. Cell Biol. Int., 30:1-14.
- 11-Alavi, S.M.H., Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. Appl. Ichthyol., 22:400-405.
- 12-Alp, A., Kara, C. and Bueyuekcapar, H.M., 2003. Reproductive biology of brown trout (*Salmo trutta macrostigma*) in a tributary of the Ceyhan River which flows into the eastern Mediterranean Sea. J. Appl. Ichthyol., Vol. 19, No. 6, pp.346-351.
- 13-Billard, R., 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Aqua., 14:187-198.
- 14-Billard, R. and Cosson, M.P. 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. Exp. Zool., 261: 122-131.



- in the Atlantic salmon (*Salmo salar*): Theoretical and empirical investigations. Lond. B Biol. Sci., 350:391-399.
- 22-Hanjavanit, C., Kitancharoen, N. and Rakmanee, C., 2008.** Experimental infection of aquatic fungi on eggs of African catfish (*Clarias gariepinus* Burch). KKU Sci., 36:36-43.
- 23- Kayam, S., 2004.** The effect of mating different age group of broodstock on the reproductive performance, sex ratio, growth and survival rate of rainbow trout. J. Fresh Wat. Ecol., Vol. 19, No. 4, pp.695-699.
- 24- Kopeika, E. and Kopeika, J., 2008.** Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. In: Fish Spermatology. (S.M.H. Alavi, J. Cosson, K. Coward & G. Rafiee eds.) Alpha Science International Ltd. pp.347-465.
- 25- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. and Patzner, R.A., 1997.** Sperm motility and seminal composition in the Turbot (*Lota lota*). Appl. Ichthyol., 13:113-119.
- 26- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. and Patzner, R.A., 1998.** Determination of semen quality of the rainbow trout by sperm motility, seminal plasma parameters and spermatozoa metabolism. Aqua., 163:163-181.
- 27-Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbanyi, B. and Weismann, T., 2000.** Cryopreservation of spermatozoa in cyprinid fishes. Theriogenology, 54:1477-1498.
- 28-Linhart, O., Cosson, J., Mims, S.D., Shelton, W.L., Rodina, M., 2002.** Effects of ions on the motility of fresh and demembrated Paddlefish, *Polyodon spathula* spermatozoa. Repro., 124:713-719.
- 29-Opuszyński, K., 1981.** Comparison of the usefulness of the silver carp and bighead carp as additional fish in carp ponds. Aqua., 25:223-233.
- 30-Rakitin, A., Ferguson, M. and Tripple, E.A., 1999.** Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. Aqua., 170:349-358.
- 31-Schultz, I.R., Skillman, A., Nicolas, Jean-Marc., Cyr, D.G. and Nagler, J.J., 2003.** Short-term exposure to 17 α -ethynylestrodiol decreases the fertility of sexually maturing male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Tox. Chem., 22:1272-1280.
- 32-Springate, J.R.C., Bromage, N.R. and Cumararatunga, P.R.T., 1985.** the effects of different ration on fecundity and egg quality in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Nut. Feed. Fish, pp.371-393.
- 33-Stockley, P., Gage, M.J.G., Parker, G.A. and Moller, A.P., 1997.** Sperm competition in fishes: the evolution of testis size and ejaculate characteristics. Am. Nat., 194:933-954.
- 34-Suquet, M., Omnes, M.H., Normant, Y. and Fauvel, D.K., 1992.** Assessment of sperm concentration and motility in turbot, *Scophthalmus maximus*. Aqua., 101:177-185.
- 35- Suquet, M., Rouxel, C., Cosson, J. and Severe, A., 2005.** Changes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) sperm quality with time. In: Larvi. (C.I. Hendry, G. Van Stappen, M. Wille and P.



- Sorgeloss eds.). European Aqua. Soc., pp.503-505.
- 36-Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y. and Kayam, S., 2003.** The effect of age on spermatological properties in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Tr. J. Vet. Anim. Sci., 27:37-44.
- 37-Trippel, E.A. and Neilson, J.D. 1992.** Fertility and sperm quality of virgin and repeat-spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) and associated hatching success. Fish. Aqua. Sci., 49:2118-2127.
- 38-Wojtczak, M., Dietrich, G., Slowinska, M., Dobosz, S., Kuzminski, H. and Cieresz, K.A.. 2007.** Ovarian fluid pH enhances motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Spermatozoa. Aqua., 270:259-264.

