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: ۱٦۱٦
- **مهری زحمتکش:** دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱٦۱٦
- **حسین خارا:** دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱٦۱٦
- **شهروز برادران نویری:** انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت صندوق پستی: ٤۱٦۳۵-۳٤٦٤
- **شعبانعلی نظامی بلوچی:** دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱٦۱٦

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 بهـار) ۱۳۸۹ بررسی گردید. در این تحقیق تخمکهای ۳ مولد ماده ٤ ساله با اسپرم مولدین نر ۳ ساله (تیمار ۱)،٤ ساله (تیمار ۲) و ترکیب ۳ و ٤ **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 ٤ 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 ٤ ساله اثر مثبتی بر کارایی لقاح دارد.**

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

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: H.Dadrass@yahoo.com

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 هیپواسمتیکی 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 استحصالی از مولدین ۳ و۴ ساله به میزان یکسان با تخمک لقاح داده شد. برای پیشگیری از خطای آزمایش و یکسان‌سازی شرایط تکثیر برای مولدین مختلف، تخمک و اسپرم استحصالی از کلیه مولدین در یک گروه سنی با هم مخلوط گردیدند. مولدین ماده طی دو مرحله با استفاده از ترکیب ۲/۵ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 میلی‌لیتر از اسپرم‌های استحصالی 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):

۱۰۰× (تعداد کل تخمکها/تعداد تخمکهای لقاح یافته) = درصدلقاح

پس از تفریخ لاروها، نرخ تفریخ براساس فرمول زیر محاسبه گردید (۲۲):

۱۰۰× (تعداد تخمهای لقاح یافته/تعداد لارو) =درصد تفریخ

همچنین درصد بازماندگی لارو در مرحله جذب کیسه زرده با استفاده از فرمول زیر بدست آمد :

/تعداد لاروهای زنده مانده) = درصد بازماندگی لارو

۱۰۰ × (تعداد کل لاروها

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 ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفوژ مدل eppendrof-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 pHمتر قلمی مدل HM-20S مارک TOA ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. کلیه آزمایشات در ۳ تکرار و دمای اتاق ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS14 و رسم نمودارها با استفاده از برنامه Excel 2007 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 ($P<0.05$).

جدول ۱: میانگین وزن بدن و طول چنگالی کپور سرگنده نر در سنین ۳ و ٤ ساله

میزان / سن(سال)	میانگین وزن بدن (گرم)	میانگین طول چنگالی (سانتیمتر)
۳	۵۲۰۰±۸۰/۰۰ [b]	۷۰±۰/۸۲ [b]
٤	۹۳۰۰±۸۰/۰۰ [a]	۸۸/۷۵±۰/۹٦ [a]

جدول ۲: میانگین پارامترهای اسپرم شناختی کپور سرگنده نر در سنین ۳ و ٤ ساله

میزان / سن (سال)	درصد تحرک اسپرم (درصد)	طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	تراکم سپرم (سلول در میلی‌لیتر)	اسپرماتوکریت (درصد)	pH اسپرم
۳	٤۵±۵/۷۷ [a]	۳٤±۱/۱٦ [a]	۳/۱ ×۱۰^{۹}±۰/۰٦×۱۰^{۹} [a]	۸۷/۵±۰/۵۸ [c]	۷/۳±۰/۲۳ [a]
٤	٤۵±٤۰/٤۲ [a]	۳۹±۸/۰۸ [a]	۳/۳۹ ×۱۰^{۹}± ۰/۲٤×۱۰^{۹} [a]	۹٦/۳۵±۰/٦۰ [a]	۷/۸±۰/۲۳ [a]
۳+٤	۵۲/۵±۲۳/۲۷ [a]	۳٦/۲۵±۵/۷ [a]	۳/۳۷ ×۱۰^{۹}± ۰/۱۸×۱۰^{۹} [a]	۹۰/۷۷±۱/۲۹ [b]	۷/۵۹±۰/٤۱ [a]

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 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.

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

میزان / تیمارها	درصد لقاح (درصد)	نرخ تفریخ (درصد)	درصد بازماندگی لارو (درصد)
نر۳ ساله و ماده ٤ ساله	۸۵±۳/۰۰ b	۷۵±۲/۰۰ a	٦۰±۲/۰۰ c
نر٤ ساله و ماده ٤ ساله	۹۰±۰/۰۰ b	۸۰±۳/۰۰ a	۷۰±۲/٦٥ b
نر۳+٤ ساله و ماده ٤ ساله	۹٥/۳±۲/۰۸ a	۸۰±۳/٤٦ a	۸۰±۱/۷۳ a

بحث

تحرک 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 تحرک اسپرم در مولدین ۴ ساله مشاهده گردید اما دو رده سنی ۳ و۴ ساله از نظر درصد تحرک اسپرم دارای میانگین یکسان بودند. Wojtczak و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه روی قزل‌آلای رنگین کمان به این نتیجه رسیدند که درصد تحرک 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 تحرک اسپرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$). در حالیکه تحقیق انجام شده روی مولدین ماهی سفید نشان داد که درصد و طول دوره تحرک 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

معکوس حجم اسپرم و غلظت آن بیان می‌گردد. تغییرات هورمونی در زمان مهاجرت و آلودگی‌های محیطی باعث ایجاد اختلاف در میزان اسپرماتوکریت یک گونه می‌شود (۳۱). بررسی مولدین نر ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspious*) 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 چشم‌زدگی، 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 قزل‌آلای رنگین کمان در مقایسه با مولدین نر ۲ و ۳ ساله، دارای درصد تفریخ بالاتری بودند. برخی تحقیقات حاکی از آن است که کاهش pH اسپرم بر میزان تحرک اسپرم تاثیرگذار می‌باشد (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 تفریخ بوده است (۲) و این در حالی است که متاجی (۱۳۸۹) ارتباطی بین pH اسپرم و پارامترهای کارایی تکثیر (درصد لقاح، درصد چشم‌زدگی و درصد تخم‌گشایی) ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspious*) بدست نیاورد. با توجه به نتایج حاصل شده در مطالعه حاضر می‌توان 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 می‌دارد که ترکیب اسپرم‌های استحصالی از دو رده سنی ۳ و ۴ ساله می‌تواند 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 بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان - رشت سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

۱-**تکه، ش.؛ ایمانپور،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 تفریخ در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). مجله بیولوژی دریا، سال سوم، شماره نهم، بهار ۱۳۹۰، صفحات ۱۳تا ۱۹.

۳- **رهبر، م.؛ نظامی، ش.ع.؛ خارا، ح.؛ رضوانی، م.؛ شمس‌پور، س.؛ کامکار، م. و موحد، ر.، ۱۳۸۸،** تعیین رابطه سن مولدین نر با عوامل کارایی تکثیر مصنوعی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspious*, Kessler, 1877). مجله علوم زیستی، سال سوم، شماره اول، صفحات ۲۱ تا ۲۸.

۴- **شمس‌پور، س.؛ نظامی، ش.؛ خارا، ح. و گلشاهی، ح.، ۱۳۸۷.** تاثیر توان باروری سنین مختلف مولدین نر قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) بر روی درصد لقاح، درصد چشم زدگی، درصد تفریخ 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 تقویت‌کننده بر مدت زمان تحرک اسپرم و میزان باروری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. پایان‌نامه 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 قزل‌آلای رنگین کمان. مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۰، شماره ۱، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۱۴۱تا ۱۶۸.

۷- متاجی، ع.ا.، ۱۳۸۹. اثر ترکیب یونی و بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspious*). 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 osmollaity. 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.

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 Cumaranataunga, 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 platorynchus*) 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

in the Atlantic salmon (*Salmo salar*): The oretical 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 demembranated Paddlefish, *Polyodon spathula* spermatozoa. Repro., 124:713-719.

29-Opuszynski, 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 17a-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 Cumaranatunga, 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.