

بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفریح در تاس ماهی ایرانی

(*Acipenser persicus* Borodin 1897)

دادرسی، ح.، نظامی، ش.ع.، خارا، ح. و برادران نویری، ش.، ۱۳۹۰. بررسی اثر تراکم و pH اسپرم درصد لقاح و نرخ در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin 1897). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال سوم، شماره نهم، بهار ۹۰، صفحات ۱۹-۱۳.

چکیده

تحقیق حاضر در سال ۱۳۸۸ به مدت ۲ ماه در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دامن رشت انجام پذیرفت. جهت انجام این تحقیق از ۱۱ مولد نر وحشی استفاده گردید، بطوری که در طی یک فصل تکثیر از هر مولد پس از تزریق هورمون اسپرم گیری شده و نمونه اسپرم‌های هر مولد بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت پس از عمل لقاح و تفریح لاروهای حاصل، میزان درصد لقاح و نرخ تفریح اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل روابط پارامترهای تراکم و pH اسپرم با شاخص‌های تکثیر بازگوکننده این بود که بین نرخ تفریح و pH اسپرم ($P < 0/05$, $r = 0/711$) و درصد لقاح ($P < 0/05$, $r = 0/633$) ارتباط مثبت و مستقیم وجود داشت. اما بین تراکم اسپرم و درصد لقاح ($P < 0/05$, $r = 0/640$) و نیز بین تراکم اسپرم و نرخ تفریح این ارتباط منفی بود ($P < 0/01$, $r = 0/745$).

واژگان کلیدی: تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus* تراکم اسپرم، pH اسپرم، درصد لقاح، نرخ تفریح.

حدیثه دادرسی^۱*

شعبانعلی نظامی^۲

حسین خارا^۳

شهرروز برادران نویری^۴

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، باشگاه پژوهشگران جوان، لاهیجان، ایران
۲. موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران
۴. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دامن رشت، ایران

* مسئول مکاتبات:

H.Dadrass@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۵

مقدمه

تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin) بواسطه ارزش اقتصادی بالای خود یکی از مهم‌ترین گونه‌های دریایی محسوب می‌گردد. از آنجایی که ذخایر این گونه با ارزش به‌عنوان یک گونه بومی و تجاری دریای خزر در طی دهه اخیر دچار تنزل شده است (Pourkazemi, 2006)، از اهداف تکثیر این گونه، تولید ماهیان انگشت قد در جهت بازسازی ذخایر در آب‌های طبیعی و در کنار آن تولید ماهیان بازاری برای مصارف گوشتی است (Ronyai and Varadi, 1995; Chebanov and Billard, 2001).

ارزیابی مناسب کیفیت اسپرم جزء عوامل کلیدی در روند تولید مثل موفق ماهی محسوب می‌گردد (Alavi and Cosson, 2006). همچنین تراکم اسپرم به‌عنوان یکی از معیارهای ارزیابی کیفیت اسپرم عاملی موثر بر میزان درصد لقاح به شمار می‌آید (Aas et al., 1991; Pool and Dillane, 1998). از سوی دیگر pH اسپرم به‌عنوان فاکتوری مهم در رسیدگی اسپرم شناخته شده (Billard et al., 1995) و به‌نظر می‌رسد در مقایسه با عوامل خارجی دیگر ویون‌ها، pH اسپرم نقشی اساسی در فیزیولوژی آن ایفا می‌کند (Aral et al., 2007). در بسیاری از گونه‌ها (*Hippoglossus*, *Polyodon*, *Oncorhynchus mykiss*)

بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفریح در تاس ماهی ایرانی ...

(Hanjavanit et al., 2008):

۱۰۰ × (تخم‌های لقاح یافته / لاروهای تفریح شده) = نرخ تفریح
 برای اندازه‌گیری تراکم اسپرم از روش استاندارد هماسیتومتری (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۶) با رقیق سازی اسپرم به نسبت ۱:۳۰۰ و میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ استفاده گردید. pH اسپرم نیز به وسیله دستگاه pH متر مدل HM-20S مارک TOA ساخت کشور ژاپن با دقت ± 0.01 اندازه‌گیری شد. آزمایشات در ۳ تکرار (در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد اتاق) انجام و میانگین سه تکرار برای هر نمونه به‌عنوان شاخص آن مورد، محاسبه گردید. جهت اجتناب از خطای آمیختگی، همه اندازه‌گیری‌ها توسط یک مشاهده کننده صورت پذیرفت. به‌منظور بررسی وجود یا عدم وجود همبستگی بین پارامترهای مورد بررسی از آزمون ضریب همبستگی پیرسون در سطوح اعتماد ۵ و ۱ درصد و نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. همچنین نمودارها با اسفاده از نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

نتایج

محدوده تراکم اسپرم، pH اسپرم، درصد لقاح و نرخ تفریح بررسی شده در این تحقیق به ترتیب معادل $0.92 \times 10^4 - 4.4 \times 10^9$ اسپرم در میلی لیتر، $7.5 - 9.09$ ، $41.0 - 95.0$ درصد و $82.0 - 32.0$ درصد بود. همچنین میزان میانگین و خطای استاندارد پارامترهای مورد بررسی در جدول شماره ۱ ارائه گردیده است. بر اساس آزمون ضریب همبستگی پیرسون بین تراکم اسپرم و درصد لقاح ارتباط منفی مشاهده شد ($r = 0.640$ ، $P < 0.05$). ارتباط بین تراکم اسپرم و نرخ تفریح نیز شدیداً منفی بود ($r = 0.745$ ، $P < 0.01$). همچنین بر اساس آزمون مذکور بین pH اسپرم و درصد لقاح ($r = 0.633$ ، $P < 0.05$) و نیز بین pH اسپرم و نرخ تفریح ($r = 0.711$ ، $P < 0.05$) ارتباط مثبت و مستقیم وجود داشت (اشکال ۱، ۲، ۳ و ۴).

pH اسپرم به‌عنوان یک عامل برجسته در فعال‌سازی اسپرم مورد بررسی قرار گرفته است (Linhart et al., Billaer et al., 1993; Billard, 1983; 1995). از این رو بررسی pH و تراکم اسپرم و تاثیر آن بر فرایند لقاح حائز اهمیت می‌باشد. همچنین میزان موفقیت لقاح (Ottesen and Babiak, 2007) و نرخ تفریح (Kjørsvik et al., 1990) می‌تواند مقیاس‌های ارزشمندی جهت کنترل فرایند تولید مثل در تفریحگاه‌ها باشند. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان همبستگی دو بیومارکر کیفی اسپرم تاس ماهی ایرانی شامل تراکم اسپرم و pH اسپرم با درصد لقاح و نرخ تفریح در طی یک فصل تکثیر مصنوعی است.

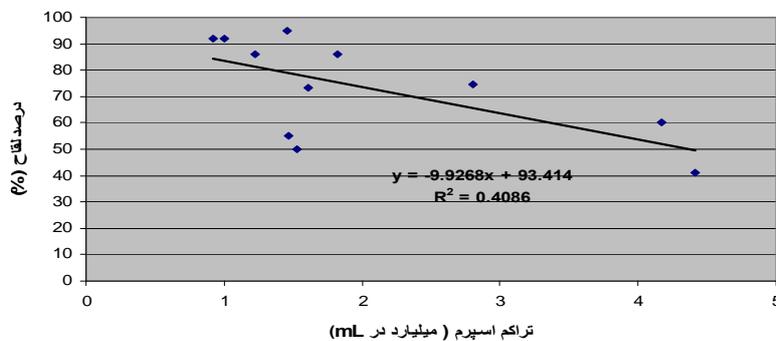
مواد و روش‌ها

جهت انجام تحقیق حاضر از ۱۱ مولد نر وحشی تاس ماهی ایرانی استفاده گردید. پس از انتقال از صیدگاه‌های ماهیان خاویاری استان گیلان واقع در حاشیه جنوبی دریای خزر به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت، مولدین مذکور طی فصل تکثیر مصنوعی سال ۱۳۸۷-۱۳۸۸ با استفاده از هورمون LHRH-A2 به میزان ۲-۳ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه ۲ سی‌سی سرم فیزیولوژیک ۶ در هزار مورد تزریق قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد، اسپرم‌گیری انجام شد، همچنین نوسانات دمایی آب در طول دوره نمونه‌برداری مثبت گردید. نمونه اسپرم مربوط به هر مولد، به نسبت ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم تخمک (همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب به ازای هر یک میلی‌لیتر اسپرم) اضافه گردید و عمل لقاح به روش نیمه خشک صورت پذیرفت. جهت تعیین درصد لقاح ۳۰۰ عدد تخم به صورت تصادفی برداشته شد و در فرمالین (۱ قسمت فرمالین ۴۰ درصد با ۹ قسمت آب) فیکس و سپس توسط لوپ مشاهده شدند. درصد لقاح نیز از طریق رابطه زیر تعیین گردید (Bromage and Cumalantunga, 1998):

$100 \times (\text{کل تخمک‌ها} / \text{تخم‌های لقاح‌یافته سالم}) = \text{درصد لقاح پس از تفریح لاروها}$ ، نرخ تفریح با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد

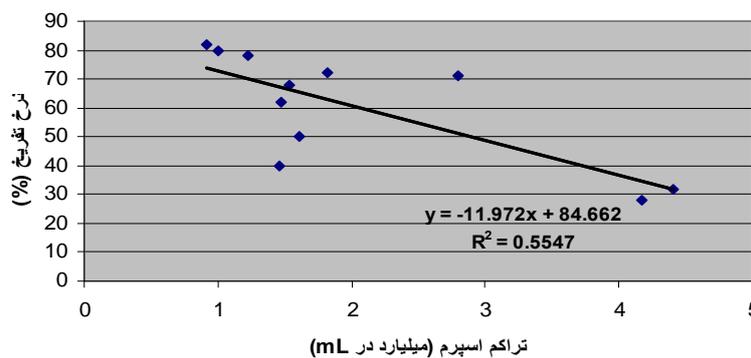
جدول ۱: میانگین و خطای استاندارد پارامترهای مورد بررسی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در سال ۱۳۸۸

پارامترها	میانگین (خطای استاندارد)
تراکم اسپرم (سلول در میلی لیتر)	$2/1 \pm 1/3 \times 10^9$
pH اسپرم	$8/41 \pm 0/53$
درصد لقاح	$79/1 \pm 19/93$
نرخ تفریخ	$62/5 \pm 21/07$



شکل ۱: همبستگی و ارتباط رگرسیونی بین تراکم اسپرم و درصد تاس ماهی ایرانی

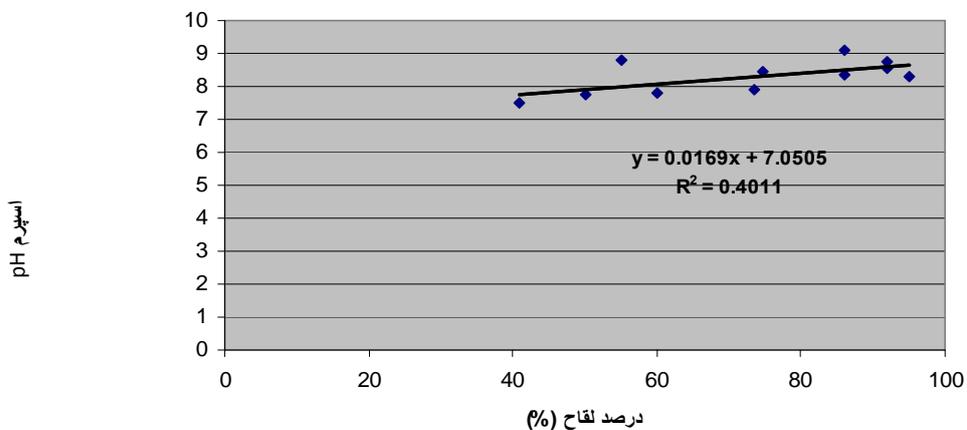
Acipenser persicus در فصل تکثیر ۱۳۸۸-۱۳۸۷



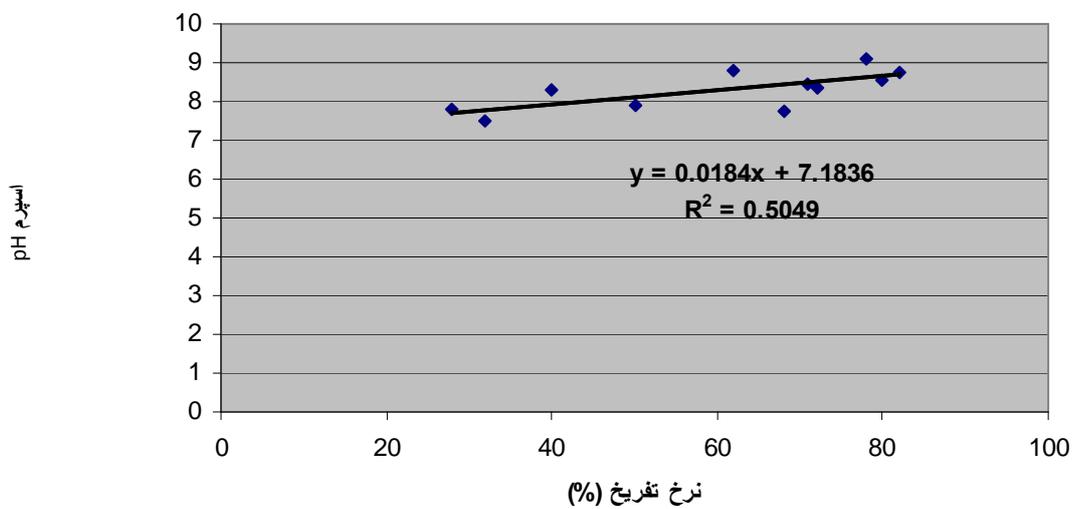
شکل ۲: همبستگی و ارتباط رگرسیونی بین تراکم اسپرم و نرخ تفریخ تاس ماهی ایرانی

Acipenser persicus در فصل تکثیر ۱۳۸۸-۱۳۸۷

بررسی اثر تراکم و pH اسپرم بر درصد لقاح و نرخ تفریح در تاس ماهی ایرانی ...



شکل ۳: همبستگی و ارتباط رگرسیونی بین درصد لقاح و pH اسپرم تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در فصل تکثیر ۱۳۸۷-۱۳۸۸



شکل ۴: همبستگی و ارتباط رگرسیونی بین نرخ تفریح و pH اسپرم تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* در فصل تکثیر ۱۳۸۷-۱۳۸۸

بحث و نتیجه گیری

ارزیابی کیفیت اسپرم جهت افزایش کارایی تکثیر مصنوعی حائز اهمیت بوده و استفاده از گامت‌هایی با کیفیت مناسب در راستای تضمین تولید لاروهایی با میزان بازماندگی بالا، از ضرورت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد

(Alavi et al., 2008). اثر pH بر میزان تحرک اسپرم در ماهیان مختلف بطور مبسوط بررسی و تنوع انفرادی این مورد در مولدین نر بسیاری از ماهیان از جمله ماهیان خاویاری مشاهده شده است (Alavi et al., 2006).

میانگین pH اسپرم تاس ماهی ایرانی در این تحقیق معادل ۸/۴۱ بود. Gallis و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند اسپرم تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) دارای ظرفیت بافری بالایی می‌باشد و میانگین pH آن را معادل ۸/۱ اعلام نمودند که در تاس ماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) برابر ۸ گزارش شده است (Ingermann et al., 2002). در مطالعه حاضر بین pH اسپرم و درصد لقاح و همچنین بین pH اسپرم و نرخ تفریح رابطه مثبتی وجود داشت و حال آنکه در گزارشات محققین فوق، در مورد اثر pH بر میزان درصد لقاح مولدین نر مطلبی عنوان نشده است. افزایش سرعت حرکت اسپرم و مدت زمان تحرک آن، افزایش میزان لقاح و نرخ تفریح متناسب با افزایش pH در ماهیان مختلفی از جمله قزل-آلای رنگین کمان (Lahnsteiner et al., 1998)، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Mansour et al., 2005)، ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) (تکه و همکاران، ۱۳۸۸)، ماهی سیم (*Abramis brama*) (زاد مجید و ایمانپور، ۱۳۸۶) و ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) (زاد مجید و ایمانپور، ۱۳۸۸) گزارش شده است. همچنین مشخص گردید که کاهش pH از ۸ به ۷/۵ در اسپرم ماهی کاد اقیانوسی (*Gadus morhua*)، کاهش شدیدی در درصد تحرک و سرعت سلول‌های اسپرماتوزوا ایجاد می‌کند (Frommel, et al., 2010). در مطالعه-ای که بر روی اسپرم‌ها تاس ماهی سفید انجام شد، کاهش pH از ۱۰ تا ۸/۵ تغییر معنی‌داری را در تحرک اسپرم با تنزل pH از ۸/۵ تا ۷ مشاهده گردید (Ingermann et al., 2002).

در مطالعه حاضر با افزایش pH اسپرم تاس ماهی ایرانی از ۷/۵ تا ۹/۰۹ در میزان لقاح (از ۴۱/۰ به ۹۵/۰ درصد) و نرخ تفریح (از ۳۲/۰ به ۸۲/۰ درصد) نیز افزایش مشاهده گردید. ظرفیت بافری پایین

اسپرم در تاس ماهی سفید، نوعی سازگاری فیزیولوژیکی ایجاد می‌کند تا سلول‌های اپی‌تلیال سیستم تولید مثلی، ظرفیت تحرک اسپرم را از طریق تنظیم pH (با ترشح بیکربنات) کنترل نمایند (Ingermann et al., 2002). همچنین به اثبات رسیده است که میزان آدنوزین منو فسفات در آزاد ماهیان که زمینه شروع تحرک را در اسپرماتوزوئید فراهم می‌کند، با افزایش pH افزایش یافته و سبب افزایش باروری اسپرم‌ها می‌شود، (Miura, et al., 1991; Lahnsteiner et al., 1998).

تراکم اسپرم از مهم‌ترین پارامترهای تعیین کننده موفقیت لقاح بوده و می‌تواند یک عامل کلیدی در میزان موفقیت تکثیر ماهی به شمار آید (Krol et al., 2006). در مطالعه حاضر بین درصد لقاح و تراکم اسپرم و همچنین بین میزان تراکم اسپرم و نرخ تفریح یک رابطه منفی مشاهده شد. افزایش تراکم اسپرم به ازای هر تخم در تکثیر تاس ماهیان، بعثت وجود تعداد زیاد سوراخ‌های میکروپیل بر روی تخم این ماهیان، ورود همزمان چند اسپرم به داخل تخمک را ممکن نموده و باعث ایجاد پدیده پلی اسپرمی می‌شود (آذری تاکامی، ۱۳۸۸: Ginsburg, 1968). از آنجایی که تعداد میکروپیل‌های موجود بر روی تخم تاس ماهی ایرانی ۹-۸ عدد گزارش شده (حلاجیان و همکاران، ۱۳۷۸)، کاهش درصد لقاح و نرخ تفریح آن می‌تواند به این علت باشد.

تحقیقات Hwang و Idler (۱۹۶۹) و Aas و همکاران (۱۹۹۱) در مورد اسپرم ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) بیانگر این بوده که تراکم اسپرم رابطه‌ای مثبت با درصد لقاح داشته است. Moccia و Munkittrick (۱۹۸۷) نیز دریافته‌اند که طی فصل تولید مثل بین تراکم آغازین اسپرم و میزان لقاح یک رابطه مستقیم مثبت وجود داشت و در همین راستا، Ciereszko و Dabrowski (۱۹۹۴) در قزل‌آلای رنگین کمان به وجود رابطه بسیار قوی بین تراکم اسپرم و درصد لقاح پی بردند. همچنین Shangguan و Crim (۱۹۹۹) گزارش کردند که در ماهی *Pseudopleuronectes americanus* تراکم اسپرم بر روی درصد لقاح تأثیر گذار است. Rakitin و همکاران (۱۹۹۹ b) رابطه مثبت بین تراکم اسپرم و درصد لقاح (با نسبت رقیق سازی ۱:۲۵۰) را در ماهی کاد اقیانوس اطلس گزارش نمودند.

تعیین میزان pH اولیه اسپرم در تاس ماهی ایرانی می‌تواند جهت بررسی ظرفیت لقاح اسپرم تازه

حلاجیان، ع.، پورکاظمی، م. ک.، کلباسی، م. ر. و امینی، ک.، ۱۳۷۸. بررسی تعداد میکروپیل در تخمک سه گونه از تاس ماهیان جنوب دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱، صفحات ۳۵-۴۸.

زاد مجید، و. و ایمانیپور، م. ر.، ۱۳۸۶. ارتباط بین برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و اسپرم شناختی در منی ماهی سیم (*Abramis brama*). مجله علوم و فنون دریایی، ش ۶ (۱-۲)، صفحات ۵۷-۶۳.

زاد مجید، و. و ایمانیپور، م. ر.، ف ۱۳۸۸. ارتباط میان شاخص‌های پلاسمای سمینال و خصوصیات اسپرم شناختی در منی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ش ۱۶ (۱)، ص ۵۴-۶۱.

Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde, B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95, 125-132.

Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2005. Sperm motility in fishes: (I) Effects of pH and temperature. *Cell Biology International*, 29, 101-110.

Alavi, S.M.H. and Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*, 30, 1-14.

Alavi, S.M.H., Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. *Applied Ichthyology*, 22, 400-405.

Alavi, S.M.H., Linhart, O., Coward, K. and Rodina, M., 2008. Fish spermatology: Implications for aquaculture management. In: Fish spermatology. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. and Rafiee, G., (eds). Alpha Science Pub., Oxford, 397-460.

Aral, F., Sahinzo, E. and Dogu, Z., 2007. A Study on the Milt Quality of *Oncorhynchus mykiss* and *Carasobarus luteus* in Atatürk Dam Lake, Southeastern Turkey, *Turkish journal of fisheries and aquatic sciences*, 7, 41-44.

Billard, R., 1983. Effects of ceolomic and seminal fluids and various saline diluents on the fertilizing ability of spermatozoa in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Reproduction and Fertility*, 68, 77-84.

Billard, R., Cosson, J. and Crim, L.W., 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm. *Aquatic Living Resources*, 6, 67-75.

Billard, R., Cosson, J., Crime, L.W. and Suquet, M., 1995. Sperm physiology and quality. In: Bromage, N.R. and Roberts, R.J., (eds). *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, 25-52.

Bromage, N.R. and Cumaranaunga, R., 1988. Egg production in the rainbow trout, In *Recent advances in Aquaculture*, Muir, J.F., R.J., Robert, Eds, 3, 63-139.

Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg, *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 387-416.

(Aral et al, 2007; Alavi and Cosson, 2006) و منجمد (Cabrita et al, 2009) بسیار مفید واقع گردد. بر اساس گزارشات Ottesen و همکاران (۲۰۰۹) تعداد اسپرماتوزوای ممکن است دارای یک همبستگی معنی‌دار با میزان موفقیت لقاح باشد، اما همیشه نمی‌توان آن را روشی مناسب برای پیش‌بینی توان باروری اسپرم در ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس دانست. جهت تفسیر تفاوت‌های موجود در نتایج تحقیقات مختلف در زمینه لقاح و کارایی تکثیر نمی‌توان به کیفیت اسپرم بسنده نمود، چرا که در امر لقاح خصوصیات کمی و کیفی تخمک به اندازه اسپرم حائز اهمیت است و گامت ماده خود تحت تأثیر چندین فاکتور زیستی و غیر زیستی از جمله اندازه مولد ماده، تأثیرات ژنتیکی، تغذیه مولدین و مدیریت می‌باشد (Brooks et al., 1997). احتمال این می‌رود که متغیر بودن بعضی نتایج حاصل از تحقیقات مختلف ریشه در تنوع سن، تغذیه، وزن، اندازه، کیفیت تخمک، نوع گونه و سایر عوامل در فرایند تکثیر داشته باشد (Ciereszko, 2008). با توجه به اطلاعات بدست آمده در تحقیق حاضر می‌توان گفت که تراکم اسپرم و pH نقش مهمی در کارایی تکثیر مصنوعی تاس ماهی ایرانی دارند، بطوری که با افزایش تراکم اسپرم موفقیت تکثیر کاهش یافته ولی با بالا رفتن pH اسپرم کارایی تکثیر بهتر می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین‌المللی دکتر دادمان رشت و همچنین جناب آقای مهندس حسین محمدی پرشکوه کارشناس بخش تکثیر مرکز تکثیر و پرورش شهید بهشتی تشکر می‌گردد.

منابع

آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران، ۴۰۱ ص.

برادران نویری، ش.، علیپور، ع. و پورکاظمی، م.، ۱۳۸۶. بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در جنوب غرب دریای خزر. مجله پژوهش و سازندگی، ش ۷۵، صفحات ۱۴۴-۱۳۸.

تکه، ش.، ایمانیپور، م. ر.، سوداگر، م. و شعبانی، ع.، ۱۳۸۸. مقایسه برخی پارامترهای اسپرم شناختی و بیوشیمیایی سمن ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum* Kamensky 1901) در زمان‌های مختلف مهاجرت تولید مثل. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ش ۱۶ (۲)، صفحات ۵۲-۶۳.

- Linhart, O., Mims, A.D. and Shelton, W.L., 1995.** Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platorynechus* Rafinesque) 1820 and paddlefish (*Polyodon spathula* walbaum) 1797. *Fish Biology*, 47, 902-909.
- Mansour, N., Ramoun, A. and Lahnsteiner, F., 2005.** Quality of testicular semen of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1982) and its relationship with fertilization and hatching success. *Aquaculture Research*, 36, 1422-1428
- Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H. and Nagahama, Y., 1991.** The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *Experimental Zoology*, 261, 59-63.
- Moccia, R.D. and Munkittrick, K.R., 1987.** Relationship between the fertilization of rainbow trout eggs and the motility of spermatozoa. *Theriogenology*, 27, 679-688 .
- Ottesen, O.H. and Babiak, L., 2007.** Parental effects on fertilization and hatching success and development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) embryos and larvae. *Theriogenology*, 68, 1219-1227.
- Ottesen, O.H., Babiak, I. and Dahle, G., 2009.** Sperm competition and fertilization success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 286, 240-254.
- Pool, W.R. and Dillane, M.G., 1998.** Estimation of sperm concentration of wild and reconditioned brown trout, *Salmon trutta* L. *Aquaculture Research*, 29, 439-445.
- Pourkazemi, M., 2006.** Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: Past, Present and future . *Applied Ichthyology*, 22(1), 12-16
- Rakitin, A., Ferguson, M.M. and Trippel, E.A., 1999b.** Sperm competition and fertilization success in Atlantic cod (*Gadus morhua*): effect of sire size and condition factor on gamete quality. *Can. Fisheries and Aquatic Science*, 56, 2315-2323.
- Ronyai, A. and Varadi, L., 1995.** The sturgeons. In *Reproduction of Aquatic Animals: Fishes*, 95-108. Eds Nash, C.E. and Novotny, A.J. World Animal Sciences C8. Amsterdam, Elsevier.
- Shangguan, B. and Crim, L.w., 1999.** Seasonal variations in sperm production and sperm quality in male winter flounder, *Pleuronectes americanus*: the effects of hypophysectomy, pituitary replacement therapy. *And GnRH - Atreatment Marine Biology*, 134, 19-27.
- Cabrita, E., Robles, V. and Herráez, P., 2009.** *Methods in reproductive aquaculture, Marine and Freshwater Species*. CRC Press, NW. 549 pages.
- Chebanov, M. and Billard, R., 2001.** The culture of sturgeons in Russia: production of juveniles for stocking and meat for human consumption. *Aquatic Living Resources*, 14, 375-381.
- Ciereszko, A., 2008.** Chemical composition of seminal plasma and its physiological relationship with sperm motility, fertilizing capacity and cryopreservation success in fish. In: *Fish spermatology*. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. and Rafiee, G. Alpha., (eds). Science Pub., Oxford, 215-240.
- Frommel, Y., Stiebens, V., Clemmesen, C. and Havenhand, J., 2010.** Effect of ocean acidification on marine fish sperm (Baltic cod: *Gadus morhua*). *Biogeosciences Discuss*, 7, 5859-5872.
- Gallis, J. L., Fedrigo, E., Jatteau, P., Bonpunt, E. and Billard, R., 1991.** Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, spermatozoa: effects of dilution, pH, osmotic pressure, sodium and potassium ions on motility. In *Acipenser* (ed. P. Williot), pp. 143-151. Antony: Cemagref Publ.
- Ginsburg, A.S., 1968.** Fertilization in Fishes and the Problem of Polyspermy. *Izdatelnaya Nauka, Moscow* (in Russian).
- Hanjavanit, C., Kitancharoen, N. and Rakmanee, C., 2008.** Experimental Infection of Aquatic Fungi on Eggs of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burch). *KKU Science Journal*, 36, 36-43.
- Hwang, P.C. and Idler, D.R., 1969.** A major study on cations, osmotic pressure and pH in seminal components of Atlantic salmon. *Fisheries Research Board of Canada*, 26, 413-419.
- Ingermann, R.L., Holcomb, M., Robinson, M.L. and Cloud, J.G., 2002.** Carbon dioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Experimental Biology*, 205, 2885-2890 .
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990.** Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26, 71-113.
- Krol, J., Glogowski, J., Demska-zakes, K. and Hiwa, P., 2006.** Quality of semen and histological analysis of testes in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. during a spawning period . *Czech Journal of Animal Science*, 51(5), 220-226.
- 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. *Aquaculture*, 163, 163-181.