Archive of SID

بررسی تاثیر برخی از ترکیبات بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) مهاجر به رودخانه سفید رود

سیده زهرا فلاح شمسی[1]*
شعبانعلی نظامی[2]
حسین خارا[3]
شهروز برادران نویری[4]
الهه باقی زاده[5]
معصومه علی نیای رودسری[6]
۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، لاهیجان، ایران
۲، ۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران
۴. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاریاری دکتر دادمان، رشت، ایران
۵، ۶. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، لاهیجان، ایران
***مسئول مکاتبات:**
Zahra.falah52@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۳
تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۳

چکیده

هر ساله از طریق تکثیر مصنوعی میلیون ها عدد بچه ماهی سفید به رودخانه های ورودی به دریای خزر رها سازی می شوند. در این بین مولدین نر نقش مهمی در فرآیند تکثیر مصنوعی دارند. به این دلیل بررسی اثر ترکیبات بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفید رود در نیمه اول فروردین ماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت انجام پذیرفت. در این بررسی از اسپرم ۲۰ مولد نر (۱۰ نمونه مولدین نر ۳ ساله و ۱۰عدد مولد نر ۴ ساله) و از تخم ۱۰ عدد مولد ماده ۴ ساله برای تکثیر استفاده شد. حدود یک میلی لیتر از اسپرم هر ماهی نر برای انجام لقاح و ا میلی لیتر به آزمایشگاه برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی انتقال داده شد. براساس نتایج به دست آمده میانگین و انحراف معیار ترکیبات بیوشیمیایی در ماهیان ۳ و ۴ ساله مورد بررسی به ترتیب ۱/۲±۳/۱و ۰/۶۸±۲/۳ گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)، ۱۶/۲۵± ۲۳/۵ و ۱۷/۱± ۳۰/۶ آلکالین فسفاتاز (میلی گرم در دسی لیتر)، ۵/۸±۱۸/۳ و ۸/۴۸±۲۲/۴ کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)، ۱۳۵/۷±۲۹۱ و ۱۲۳/۸±۲۹۷/۱ پروتئین کل (میلی گرم در لیتر)، ۸/۲۶±۲۶/۳ و ۷/۵۲±۲۳/۴ تری گلیسیرید (میلی گرم در دسی لیتر)، ۳/۳±۱۸/۷ و ۳/۵±۲۰ اوره (میلی گرم در دسی لیتر) بدست آمد. جهت انجام آنالیز آماری و رسم نمودارها از نرم افزار SPSS و اکسل استفاده گردید. براساس نتایج به دست آمده تخم های حاصل از لقاح اسپرم های مولدین نر ۴ ساله بیشترین میانگین درصد لقاح (۸۷ درصد) و درصد تفریخ (۸۲ درصد) و تخم های حاصل از لقاح اسپرم های مولدین نر ۳ ساله کمترین میانگین درصد لقاح (۷۸ درصد) و درصد تفریخ (۷۴ درصد) را داشتند. ارتباط گلوکز با درصد لقاح و ارتباط آلکالین فسفاتاز با درصد لقاح و درصد تفریخ منفی و عکس بدست آمد. همچنین ارتباط کلسترول، پروتئین کل، تری گلیسیرید و اوره با درصد لقاح و درصد تفریخ مثبت و مستقیم محاسبه گردید.

واژگان کلیدی: ماهی سفید دریای خزر، پارامترهای بیوشیمیایی، مایع سمینال، رودخانه سفید رود.

مقدمه

ماهی سفید دریـای خـزر (*Rutilus frisii kutum*) از اهمیـت بالایی در علوم شیلاتی برخوردار می باشد. این گونه جزء ماهیان تجاری مهم و درجه یک محسـوب شـده و بـه طـور گسـترده در حوزه های جنوبی دریای خزر وجود دارد، امـا صـید بـی رویـه در سال‌های اخیر باعث به خطر افتادن نسل ایـن گونـه مهـم شـده است. به همین دلیل متخصصین علوم شیلاتی را بر ایـن داشـته کـه روی بـه تکثیـر مصـنوعی ایـن گونـه مهـم آورنـد (رضوی صیاد، ۱۳۷۴). تاریخچه قدیمی در زیست شناسی ماهیان وجود دارد، بنابراین استفاده از روش های مناسب لقاح و نگهداری سلول‌های جنسی به منظور افزایش کـارایی تکثیـر مصـنوعی در ماهیـان مختلـف امـری ضـروری مـی باشـد (Billard and cosson ,1992). یکـی از عوامـل مهـم در فراینـد لقـاح، اسـتفاده از اسـپرم بـا کیفیـت مناسـب مـی باشـد (یگانه، ۱۳۸۱;Billard and cosson ,1992). کیفیت اسـپرم معمولاً به وسیله شدت تحرک درصد اسپرماتوزوئیدهای متحـرک و مدت زمان تحرک رو به جلو آنها ارزیابی می گردد.

پارامترهای دیگری که ممکن است جهت ارزیـابی کیفـی اسـپرم استفاده شود، اسپرماتوکریت و ترکیبات شیمیایی پلاسما می باشد (Billard and cosson ,1992; Tekin *et al*., 2003). غلظت اسپرم درصد لقاح را تحت تاثیر قرار مـی دهـد کـه بـه دو

www.SID.ir

Archive of SID

روش شمارش و سنجش میزان اسپرماتوکریت تعیین مـی گـردد (Irvin *et al.*, 2003).

غلظت اسپرم می تواند اثرات کـاهش تحـرک را در لقـاح جبـران کند، زیرا اسپرماتوزوا تنها در یک نقطه یعنی میکروپیل می توانـد در تخمک نفوذ کند. بنابراین لقاح بستگی به رسیدن اسـپرماتوزوا به این نقطه دارد (Billard and Gillet, 1981).

از عوامل دیگر موثر بر درصد و بازماندگی لاروهـای تولیـد شـده، سن و وزن مولدین می باشد. سـن از جملـه فاکتورهـای اساسـی بوده که کمتر مورد توجه قرار گرفته است، این در حالی است کـه ثابت شده رابطه معنی داری بـین سـن و کـارایی تکثیـر ماهیـان وجود دارد (لرستانی، ۱۳۸۵; Tekin *et al.*, 2003).

زاد مجید و ایمانپور (۱۳۸۶) در تحقیقی که بر روی ماهی سیم (*Abramis brama*) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که هیچ گونه ارتباط معنی داری بین ترکیبات یونی و آلی با تحرک اسپرم مشاهده نگردید، اما ارتباط معنی داری بین میزان گلوکز و اسپرماتوکریت وجود داشت.

در رابطه با اثر مکان مهاجرت مولدین روی خصوصیات اسپرم شناختی و بیوشیمیای اسپرم مطالعات اندک صورت گرفته و انجام مطالعات بیشتر در این خصوص امری ضروری به نظر می رسد (Rurangwa *et al.*, 2004). بنابراین هدف از پژوهش تعیین اثر ترکیبات بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی سفید دریای خزر می باشد.

مواد و روش ها

این بررسـی در فـروردین مـاه ۱۳۹۰ در مرکـز تکثیـر و پـرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت به منظور بررسی ترکیبـات بیوشیمیایی اسپرم مولدین ماهی سفید دریای خزر صورت گرفت. بدین منظور از مولدینی که از رودخانه سفید رود صید شـده و بـه ایـن مرکـز منتقـل شـده بودنـد، پـس از تعیـین سـن از طریـق فلس خوانی ۱۰ قطعه مولد نر ۳ ساله، ۱۰ قطعه مولد نر ۴ ساله و ۱۰ قطعه مولد ماده ۴ ساله به صورت تصادفی انتخاب شدند.

ابتدا طول کـل (سـانتی متـر) و وزن مولـدین نـر (گـرم) قبـل از استحصال اسپرم به ترتیب با تخته بیومتری با دقت ۱ میلی متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری و ثبت شد. سپس تخم گیری و اسپرم گیری از مولدین به روش اعمال فشار آرام به ناحیه شکمی و بالای منفذ تناسلی صورت گرفت و تخمک هـای استحصالی از مولدین ماده به جهت یکسان شدن شـرایط تکثیـر مخلوط شدند. مخلوط تخمک های استحصال شده به ۲۰ قسمت تقسیم و در تشتک های کوچـک پلاسـتیکی ریختـه، سـپس بـه میزان ۱ میلی لیتر از اسپرم های استحصال شده از هـر رده سـنی به صورت جداگانـه بـه منظورانجـام آزمایشـات تعیـین ترکیبـات بیوشیمیایی اسپرم بلافاصله پس از اسـپرم گیـری بـه آزمایشـگاه انتقال یافته و مابقی اسپرم ها به تشتک های حاوی تخمـک هـا اضافه و تخمک ها و اسپرم های استحصالی به روش خشک لقاح داده شد.

تخم ها به تناسب حجم آنها به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه بـه هـم زده شد. سپس آرام آرام و به مقدار کم آب به محتویات ظرف اضافه و دوباره تخم ها به هم زده شدند تا چسبندگی آنها بر طـرف شـود. ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بعد آب ظرف تعویض و عمل شستشو انجام نشد. پس از رفـع چسـبندگی و آبگیـری، تخـم هـای لقـاح یافتـه بـه انکوباتورهای ویس انتقال یافتند تا مراحل بعدی تکامل جنینـی را طی نمایند (۶ تا ۸ ساعت پس از لقاح). قبل از انتقال تخم ها بـه انکوباتورها، تعیین درصد لقاح انجام شد. بدین منظور تعداد معینی تخم (حدود ۱۰۰ عدد) به طـور تصـادفی جمـع آوری و در داخـل پتری دیش قرار داده، مقداری اسید استیک بـرای شـفاف سـازی به تخم ها اضافه شده و در زیر لوپ تخم‌های شفاف و لقاح یافته از تخم های مات و ناسالم و لقاح نیافته مشخص گردیـد. سـپس طبق معادله ۱ درصد لقاح محاسبه شد. با تفریخ شدن تخـم‌هـا و ظهور لاروهای دارای کیسه زرده، درصد تفریخ توسـط معادلـه ۲ بدست آمد (رضوی صیاد ، ۱۳۷۴).

معادله ۱:

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{تعداد تخمک های لقاح یافته}}{\text{تعداد کل تخمک ها}} \times ۱۰۰$$

معادله ۲:

$$\text{درصد تفریخ} = \frac{\text{تعداد لارو}}{\text{تعداد تخمک های لقاح یافته}} \times ۱۰۰$$

در آزمایشگاه برای بررسی ترکیبات بیوشیمیایی نظیر اوره از دستگاه اتوانالایزر (Technicon) به روش photometric،

www.SID.ir

Archive of SID

برای اندازه گیری پروتئین کل، گلوکز، کلسترول و تری گلیسیرید از دستگاه اتوانالایزر به روش Colorimetric و برای اندازه گیری آلکالین فسفاتاز از دستگاه اتوانالایزر به روش Enzymatic استفاده گردید.

جهت آنالیز داده ها زمانی که توزیع دادها نرمال بود، برای مقایسه هر یک از فاکتورهای اندازه گیری شده بین ماهیان ۳ و ۴ ساله از آزمون T-test و زمانی‌که توزیع دادها نرمال نبود جهت بررسی هر یک از فاکتورها بین ماهیان ۳ و ۴ساله از آزمون ناپارامتریک Mann-whitneytest در سطح اطمینان ۹۵ درصد و جهت انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها، از نرم افزارهای اکسل و SPSS.13 استفاده شد.

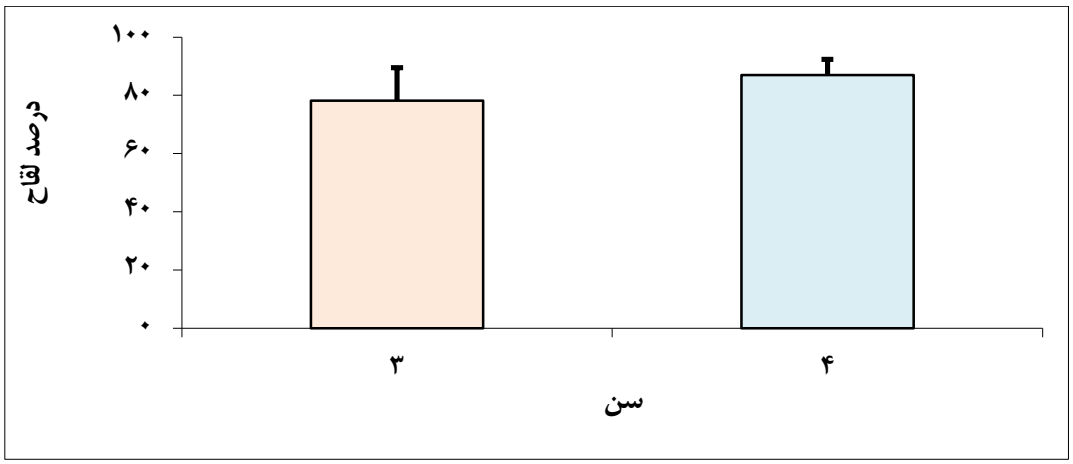
نتایج

نتایج میانگین و انحراف معیار پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفید رود در جدول ۱ نشان داده شده است.

با توجه به نتایج بدست آمده مولدین نر ۳ ساله دارای کمترین میانگین درصد لقاح با مقدار ۱۱/۳±۷۸/۲ درصد و مولدین نر ۴ ساله دارای بیشترین میانگین درصد لقاح با مقدار ۵/۴±۸۷ درصد بود (شکل ۱). نتایج محاسبه درصد تفریخ در مولدین نر ۳ ساله دارای کمترین میانگین درصد تفریخ با مقدار ۱۱/۸±۷۴/۵ درصد و مولد نر ۴ ساله دارای بیشترین میانگین درصد تفریخ با مقدار ۶/۵±۸۲/۱ درصد بوده است (شکل ۲).

ارتباط کلسترول، تری گلیسیرید، اوره و پروتئین کل با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند (درصد لقاح و درصد تفریخ) مثبت، اما همبستگی ضعیفی بین آنها مشاهده شد. همچنین ارتباط بین گلوکز، آلکالین فسفاتاز با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح و درصد تفریخ منفی ولی همبستگی ضعیفی بین آنها مشاهده شد.

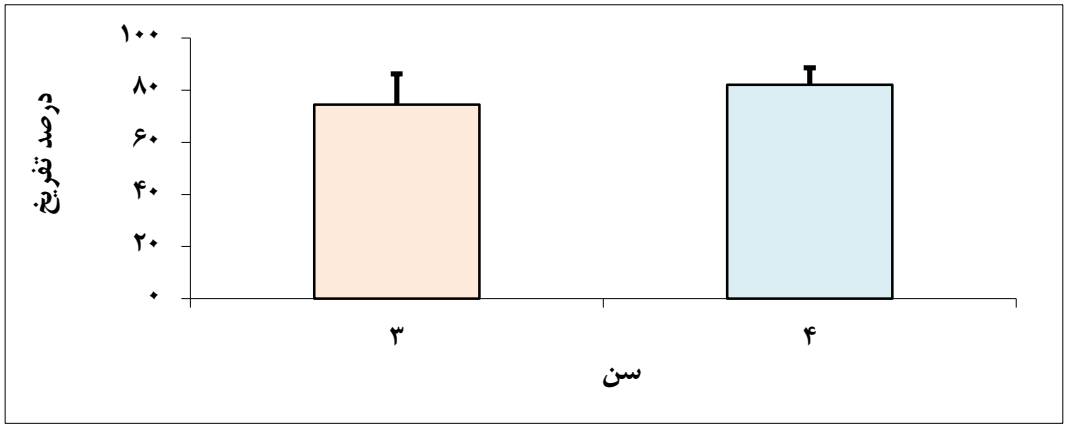
ارتباط گلوکز، تری گلیسیرید و پروتئین کل با تمامی پارامترهای اسپرم شناختی (اسمولاریته، اسپرماتوکریت، درصد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم) مثبت و مستقیم ارزیابی شدند. همچنین ارتباط اوره با اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم منفی و عکس ولی ارتباط اوره با اسمولاریته، درصد تحرک اسپرم و مدت زمان تحرک اسپرم مثبت و مستقیم بدست آمد. ارتباط آلکالین فسفاتاز با اسمولاریته، اسپرماتوکریت، مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرم مثبت و مستقیم، ولی ارتباط آلکالین فسفاتاز با درصد تحرک اسپرم منفی و عکس ارزیابی شدند. همچنین ارتباط کلسترول با اسپرماتوکریت، درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرم مثبت و مستقیم، ولی با اسمولاریته منفی و عکس به دست آمد.



شکل ۱: رابطه بین سن و درصد لقاح ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) (۱۳۹۰)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: رابطه بین سن و درصد تفریخ ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) (۱۳۹۰)

جدول ۱: آمار توصیفی شاخص های بیوشیمیایی اسپرم ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) (۱۳۹۰)

سن (سال) / **متغیرها** (واحد اندازه گیری)	**میانگین ± انحراف معیار**	**حداقل**	**حداکثر**
گلوکز (۳ میلی گرم در دسی لیتر)	۳/۱ ± ۱/۲	۲	۶
گلوکز (۴ میلی گرم در دسی لیتر)	۲/۳ ± ۰/۶۸	۱	۳
آلکالین فسفاتاز (۳ میلی گرم در دسی لیتر)	۲۳/۵ ± ۱۶/۲۵	۵	۶۶
آلکالین فسفاتاز (۴ میلی گرم در دسی لیتر)	۳۰/۶ ± ۱۷/۱	۱۰	۶۳
کلسترول (۳ میلی گرم در دسی لیتر)	۱۸/۳ ± ۵/۸	۶	۲۶
کلسترول (۴ میلی گرم در دسی لیتر)	۲۲/۴ ± ۸/۴۸	۹	۳۶
پروتئین کل (۳ میلی گرم در میلی لیتر)	۲۹۱ ± ۱۳۵/۷	۱۱۵	۵۱۰
پروتئین کل (۳ میلی گرم در میلی لیتر)	۲۹۷/۱ ± ۱۲۳/۸	۱۰۰	۵۱۰
تری گلیسیرید (۳ میلی گرم در دسی لیتر)	۲۶/۳ ± ۸/۲۶	۷	۳۶
تری گلیسیرید (۴ میلی گرم در دسی لیتر)	۲۳/۴ ± ۷/۵۲	۱۰	۳۶
اوره (۳ میلی گرم در دسی لیتر)	۱۸/۷ ± ۳/۳	۱۳	۲۳
اوره (۴ میلی گرم در دسی لیتر)	۲۰ ± ۳/۵	۱۵	۲۵

بحث و نتیجه گیری

براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق مشخص گردید که رابطه مثبت بین گلوکز با پارامترهای اسپرم شناختی نظیر اسمولاریته، اسپرماتوکریت، مدت زمان تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم برقرار است، یعنی با افزایش گلوکز پارامترهای اسپرم شناختی افزایش و با کاهش گلوکز، پارامترهای اسپرم شناختی نیز کاهش می یابد.

وجود گلوکز در پلاسمای سمینال مرتبط با تقاضای انرژی بیضه‌ها در طول دوره اسپرماتوژنزیز یا برای سنتز لیپید در اسپرماتوزوا است (زاد مجید و همکاران، ۱۳۸۶).

www.SID.ir

Archive of SID

Secer و همکـاران (۲۰۰۴) گـزارش کردنـد کـه همبسـتگی معنی داری بین گلوکز و طول دوره تحرک اسـپرم در قـزل آلای رنگین کمان وجود دارد. البته دلیل چنین ارتباطی را می توان بـه میزان کم نمونه مورد بررسی در خصوص گلوکز در تحقیق نسبت داد. همچنین همبستگی معنی داری بین سطوحی از پـروتئین بـا یون‌های کلسیم و پتاسیم وجود دارد که به طور قابل تـوجهی بـر حرکت اسپرم تاثیر گذار است.

در تحقیق حاضر نیز همبستگی ضعیفی بین گلوکز بـا طـول دوره تحرک اسپرم، درصد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم وجود داشـت. رابطه منفی بین گلوکز و درصـد اسـپرماتوکریت در مـاهی سـیم توسط تایید شـد (زاد مجیـد و همکـاران، ۱۳۸۶). همچنـین بـین عوامل بیوشیمیایی نظیر پروتئین کل، کلسترول و همچنین یون‌ها با یکدیگر و عوامل اسپرم شناختی در ماهی سیم ارتباط معنی دار مشاهده نکردند.

در تحقیق حاضر میزان گلـوکز در اسـپرم ماهیـان مولـد ۳ سـاله ماهی سفید بیشتر از ماهیان ۴ سـاله بـه دسـت آمـد. زحمـتکش (۱۳۸۹) بیشترین میزان گلوکز را در اسپرم ماهیـان مولـد ۳ سـاله کپور سرگنده و کمترین میزان اسپرم را در ماهیان مولد ۴ ساله به دست آورد. دلیل این امر را می توان این گونه بیان کرد که میزان گلوکز با سن مولدین ارتباط دارد. هر چه سن مولدین کمتر باشـد، میزان گلوکز بیشتر اسـت. ماهیـان کوچـک‌تـر تحـرک بیشـتری داشته، در نتیجه میزان سوخت و ساز آن بیشتر است، زیرا گلـوکز مهم‌ترین عامل سوخت و ساز در بدن ماهیان می باشد.

Alavi و همکاران (۲۰۰۴) با تحقیقی روی تـاس مـاهی ایرانـی (*Acipenser percicus*) به این نتیجه دست یافتنـد کـه pH، اسمولاریته، یون‌های موجود در پلاسمای اسپرم و ترکیباتی مانند مواد آلی (گلوکز، فروکتـوز) و آنـزیم‌هـا (آلکـالین فسـفاتاز، اسـید فسفاتاز) در تحرک و کیفیت اسپرم موثرند.

Secer و همکـاران (۲۰۰۴) گـزارش نمودنـد کـه همبسـتگی معنی داری بین سطوح پروتئین و یون‌های کلسیم و پتاسیم وجود دارد که بطور قابل توجهی بر حرکت اسـپرم مـوثر اسـت. ایشـان بیان نمودند زمانی‌که حجم سـمن افـزایش مـی یابـد، کلسـترول ممکن است اثر حفاظتی در برابر تغییرات محیطـی (بـه خصـوص درجه حرارت) داشته باشد. همبستگی واضـحی بـین کلسـترول و دوره تحرک اسپرم وجود دارد در تحقیـق حاضـر نیـز همبسـتگی واضحی بین کلسترول با پارامترهای اسپرم شناختی و همبسـتگی مثبت ضعیفی بین پروتئین با پارامترهای اسپرم شناختی و کارایی تکثیر به دست آمد.

در بررسی که بر روی پارامترهای بیوشـیمیایی و اسـپرم شـناختی ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام شد به این نتیجه رسیدند که روابط مثبتـی بـین پتاسـیم و پـروتئین ($r=۰/۷۲۸$, $p<۰/۰۵$) و کلسـیم و پـروتئین ($r=۰/۸۶۵$, $p<۰/۰۵$) وجـود دارد (Secer *et al.*, 2004). رابطـه مثبـت بـین سـطح پـروتئین و یون های پتاسیم و کلسیم می تواند بر قابلیت حرکت اسـپرم اثـر گذار باشد. همچنین غلظت های پـایین پـروتئین بـه نیـاز انـدک ماهیان به پروتئین در انتهای فصل تخم ریزی بر می گردد.

در تحقیقی که اثر ترکیبات یونی و بیوشیمیایی اسپرم بـر کـارایی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر انجام شد، یک رابطه منفی بین گلوکز و تراکم اسپرم بدست آمد (متـاجی، ۱۳۸۹). از طرفـی رابطه بین گلوکز و درصد اسپرماتوکریت را نیز منفی ارزیابی نمود، یعنی افزایش گلوکز باعث کاهش درصد اسپرماتوکریت می شود.

زاد مجید و همکاران ۱۳۸۶ در تحقیقی که بر روی مـاهی سـیم (*Abramis brama*) انجام دادند یک ارتباط معنـی دار منفـی بین میزان گلوکز و درصد اسپرماتوکریت بدست آوردند.

براساس نتایج بدست آمده و همچنین براساس رابطـه رگرسـیونی بین آلکالین فسفاتاز با پارامترهای اسپرم شناختی منی ماهی سفید مشـخص گردیـد کـه رابطـه مثبتـی بـین آلکـالین فسـفاتاز بـا اسمولاریته، اسپرماتوکریت، مـدت زمـان تحـرک اسـپرم، درصـد تحرک اسپرم و تراکم اسپرم وجود دارد. بدین معنی کـه افـزایش آلکـالین فسـفاتاز باعـث افـزایش پارامترهـای اسـپرم شـناختی و کاهش آلکالین فسفاتاز باعث کاهش پارامترهای اسـپرم شـناختی می گردد. در این بررسی ارتباط آلکالین فسفاتاز با درصـد لقـاح و درصـد تفـریخ منفـی و ارتبـاط بـین تـری گلیسـیرید و اوره بـا پارامترهای کارایی تکثیر مانند درصد لقاح، درصد تفـریخ مثبـت و مستقیم به دست آمد.

در مجموع با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق و مقایسه آن بـا نتایج سایر تحقیقات می توان بیان نمـود کـه اخـتلاف زیـادی از لحاظ کمی وکیفی در بین پلاسمای منـی ماهیـان اسـتخوانی بـا ماهیان غضروفی مشاهده شد. از طرفی هـر یـک از پارامترهـای مورد بررسی می توانند اثرات متفاوتی در گونه هـای مختلـف بـر

www.SID.ir

Archive of SID

کارایی تکثیر مصنوعی داشته باشند و هرگز از یک قانون کلی برای بیان اثراتشان تبعیت نکنند.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان گرمابی شهید انصاری رشت و کلیه عزیزانی که در فراهم ساختن شرایط لازم برای انجام این پروژه با ما همکاری نمودند صمیمانه قدردانی می گردد.

منابع

رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۴. ماهی سفید. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۱۶۵ ص.

زاد مجید ، و. و ایمانپور، م.، ۱۳۸۶. ارتباط بین برخی از شاخص های بیوشیمیایی و اسپرم شناختی در منی ماهی سیم. مجله علوم و فنون دریایی، ۱۳۸۶، دوره ششم، شماره ۱ و۲ ، صفحات ۵۷-۶۳.

زحمتکش، م.، ۱۳۸۹. اثر سن مولدین در کارایی تکثیر و توان تولید مثلی ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*). پایانامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.SC) گرایش شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۸۳ ص.

لرستانی، ر.، احمدی، م. و کلباسی، م.،۱۳۸۵. اثر سن مولدین نر قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر مدت زمان تحرک اسپرم، میزان اسپرماتوکریت و چشم زدگی. مجله علمی شیلات ایران، سال پانزدهم، شماره ۱، صفحات ۱۲۸-۱۱۹.

متاجی، ع. ا.، ۱۳۸۹. اثر ترکیب یونی و بیوشیمیایی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmotrutta caspious*). پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.SC) گرایش شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۱۲۷ ص.

یگانه، س.، ۱۳۸۱. اثر تقویت کننده ها بر روی مدت تحرک اسپرم و توان لقاح در کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). پایان نامه کارشناسی ارشد، کرج، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۱۲ ص.

Alavi, M., Mojaziamiri, B. and Akhoundzadeh, M., 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon: Effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. Journal, Reproduction, 128: 819-828.

Billard, R. and Gillet, C., 1981. Aging of eggs and temperature potentialization of micro pollutant effecs of the aquatic medium on trout gametes. Cah. Lab. Hydrobiol. Montreau.12:35-42.

Billard, R. and Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. J. of Experimental Zoology, 261: 122-131.

Irvin R., Schultz, A., Jean-Marc, N., Daniel G. and James, J., 2003. Naglers, Battelle Msl-Pnnl Short- Term Exposure to 17a-Ethynylestrodiol Decreases the Fertility of Sexually Maturing Male Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). John Wiley and Sons.Inc.62-17463.U.S.A.545p.

Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F. and Nash, J. P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture. 234:1-28.

Secer, S., Tekin, N., Bozkurt,Y., Bukan, N. and Akcay, E., 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen. The Israeli of Aquaculture- Bamidgeh 56(4), 2004, 274-280.

Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y. and Kayam, S., 2003. The effect of age on spermatological properties in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk. J. Vet. Anim. Sci. 27, 37-4.

www.SID.ir