تاریخ چاپ: تابستان ۱۳۹۱

اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال در ماهی کپور[1] معمولی پرورشی

*تقی سیفی، محمدرضا ایمانپور، ولی اله جعفری:
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه شیلات

چکیده

در تحقیق حاضر اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز بر پارامترهای بیوشیمیایی منی مولدین نر کپور معمولی پرورشی بررسی شد. پارامترهای بیوشیمیایی (کلسیم، منیزیم، کلر، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول) با اسپکتوفتومتر و میزان سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شدند. مطابق نتایج به‌دست آمده میزان یون‌های سدیم و پتاسیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشتند ($P<0/01$)، به‌طوری که بیش‌ترین میزان یون‌های سدیم و پتاسیم در تیمار شاهد مشاهده شدند. بین میزان یون کلر در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/01$)، به‌طوری که در گروه شاهد کم‌تر از بقیه بود، اما از نظر میزان یون‌های کلسیم و منیزیم، در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). بین میزان کلسترول پلاسمای منی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$)، به‌نحوی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار HCG مشاهده شد. هم‌چنین میانگین گلوکز و پروتئین کل پلاسمای منی در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری داشتند ($P<0/01$)، و بیش‌ترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصاره هیپوفیز اثرات متفاوتی روی پارامترهای بیوشیمیایی منی ماهی کپور پرورشی دارد.

مقدمه

ماهی کپور معمولی از خانوادهٔ کپورماهیان است. پراکنش این ماهی در دریای خزر، رودخانهٔ تجن و تمام حوزه‌های آبریز ایران است. این ماهی در آب شیرین زندگی می‌کند و آب‌های گرم و پوشیده از گیاه را دوست دارد [۲]. در بسیاری از ماهیان اوولاسیون، اسپرم‌ریزی و تخم‌ریزی در شرایط پرورشی به‌صورت کامل صورت نمی‌گیرد و تزریق هورمون برای القای تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی و هم‌زمانی آزادسازی گامت‌ها در کارگاه‌های پرورش ماهی لازم است [۲٤]. کیفیت اسپرم معمولاً به‌وسیلهٔ شدت تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک متحرک و مدت زمان حرکت رو به جلوی اسپرم ارزیابی می‌گردد [۸]. در صنعت آبزی‌پروری توجه به کیفیت

واژه‌های کلیدی: کپور، اوواپریم، HCG، هیپوفیز، پارامترهای بیوشیمیایی سمن
دریافت ۸۹/۳/۲٦ پذیرش۹۰/٦/۱٦
*نویسنده مسئول mtseifi@gmail.com

۱. *Cyprinus carpio* L.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

تخم یا لارو نسبت به اسپرم بیش‌تر است این درحالی است که کیفیت هر دو گامت (اسپرم و تخمك) روی موفقیت لقاح، سلامتی و بقای لاروها مؤثر است. در هچری‌های تجاری، میلت از نظر کمی و کیفی ناکافی است، در نتیجه استفاده از تکنیك‌هایی برای افزایش درصد و طول دورهٔ حرکتی اسپرم موجب افزایش راندمان تولید خواهد شد [۲۰]. همچنین دانش تفاوت کیفی بین اسپرم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به‌کار رفته کمک کند. به‌همین دلیل بهتر است قبل از لقاح، خصوصیات اسپرم هر ماهی نر مشخص باشد [۲۲].

در پستانداران ترکیبات منی به خوبی بررسی شده، اما پژوهش روی ترکیبات منی در ماهیان در دهه‌های اخیر شروع شده است. پلاسمای منی شامل ترکیبات غیرآلی (یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و...)، ترکیبات آلی (کلسترول، گلوکز و پروتئین کل) و آنزیم‌ها است. ترکیبات غیرآلی پلاسمای منی نقش ممانعت کننده و تحریك کنندهٔ حرکت در سلول اسپرم را دارند. همچنین پلاسمای منی محیطی را برای تغذیه، حفاظت و تکامل اسپرماتوزوئید به‌وجود آورده که خود توسط بیضه و لوله‌های اسپرم‌بر ساخته می‌شود [۲۲]. عوامل متعددی از جمله تزریق هورمون روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای سمینال ماهیان مؤثرند [۲۰].

هدف از این پژوهش بررسی اثرات تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی [میزان یون‌های غیرآلی: کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم، کلر و میزان یون‌های آلی: کلسترول، گلوکز و پروتئین کل] و مقایسهٔ کیفیت اسپرم بین تیمارهای مختلف مولدین نر کپور پرورشی است.

مواد و روش

این تحقیق در طی ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد ۱۳۸۸ صورت گرفت. مولدین نر کپور پرورشی از مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری تهیه شدند. برای این کار تعداد ۲۰ مولد نر کپور پرورشی سه ساله (با میانگین طولی ۱/٤۹ ± ۵۱/٦۵ سانتی‌متر و میانگین وزنی ۱٦۹/٦۸±۲٦۹۱/۵۰ گرم) آماده شدند و تا زمان تزریق هورمون تحت دمای ۲۰ سانتی گراد نگه‌داری شدند.

جدول۱. مشخصات مولدین استفاده شده در تحقیق، میانگین طول و وزن مولدین کپور پروشی (انحراف معیار± میانگین)

تیمار	تیمار ۱ هیپوفیز	تیمار ۲ اوواپریم	تیمار ۳ HCG	تیمار ٤ شاهد
طول (سانتی‌متر)	۵۲/۲۰ ± ۱/٤۸	۵۱/٤۰ ± ۱/٦۷	۵۱/۸۰ ± ۱/٦٤	۵۱/۲۰ ± ۱/٤۸
وزن (گرم)	۲٦٤٤/۰۰ ± ۱٤۰/۹۹	۲٦۹۰/۰۰ ± ۲۷۷/۰۳	۲۷۲۰/۰۰ ± ۱۵۲/٤۷	۲۷۱۲/۰۰ ± ۱۱۱/۸۹

مولدین به‌صورت تصادفی به سه گروه تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد تقسیم شدند و هر گروه شامل پنج مولد نر بود. به گروه اول عصارهٔ هیپوفیز کپور معمولی به میزان ۳ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن [۲٤]، به گروه دوم هورمون اوواپریم به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه سوم هورمون HCG به‌میزان ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم [۲٤] و به گروه شاهد سرم فیزیولوژی در قاعدهٔ بالهٔ سینه‌ایی و در محل صفاق تزریق گردید [۱۹] و پس از تزریق هورمون‌ها نمونه‌های منی با دقت بدون این‌که با آب، ادرار و یا خون آلوده شوند جمع‌آوری شدند. بعد از اطمینان از فعال بودن اسپرم، نمونه‌های جمع‌آوری

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

شده در سرنگ‌های استریل با فلاسك محتوی یخ، به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان برای اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر (میزان کلسیم، منیزیم، کلر، سدیم، پتاسیم، پروتئین کل، گلوکز و کلسترول) منتقل گردید [۲۱].

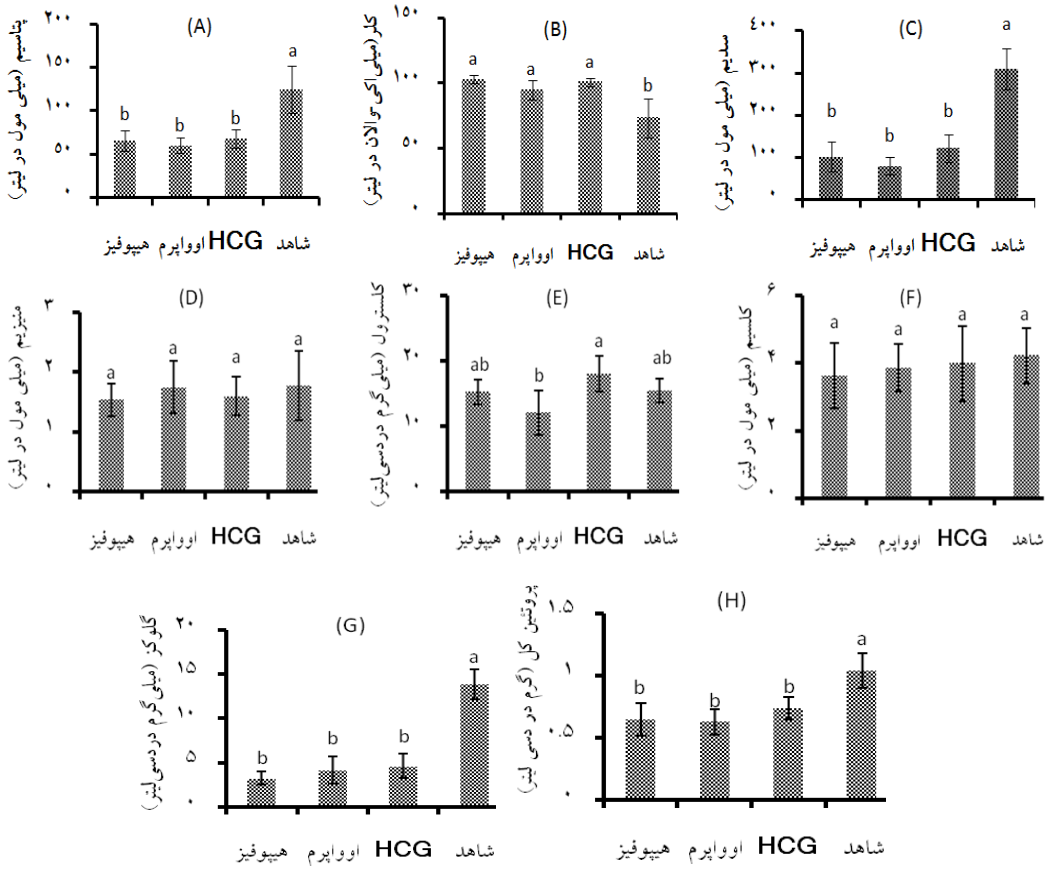
برای اندازه‌گیری کلسیم، منیزیم، کلر، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل از دستگاه اسپکتروفتومتر[۱] با استفاده از کیت‌های کلسیم، منیزیم، کلر، پروتتئین کل، گلوکز و کلسترول (شرکت پارس آزمون) عمل شد [۲۱]. و برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر[۲] استفاده شد، برای این کار ابتدا میزان جذب شعله تحت تأثیر غلظت‌های مختلف استاندارد خوانده شد و با نرم افزار اکسل معادلهٔ رگرسیونی آن ترسیم و غلظت‌های سدیم و پتاسیم در پلاسمای اسپرمی محاسبه شد [۲۱]. شیوهٔ نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی و در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های به‌دست آمده در ارتباط میزان یون‌های کلسیم، منیزیم، کلر، سدیم، پتاسیم و فاکتورهای غیریونی پروتئین کل، گلوکز، کلسترول مایع اسپرمی در چهار گروه تزریق عصارهٔ هیپوفیز، تزریق هورمون اوواپریم، تزریق هورمون HCG و شاهد با کمک آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) توسط آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

مقایسهٔ میانگین‌های پارامترهای بیوشیمیایی منی ماهی کپور معمولی پرورشی تحت تأثیر هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز در نمودار ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده بین میانگین یون سدیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۱$). به‌گونه‌ایی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد (۴۸/۵۴±۳۱۰/۶۰ میلی‌مول در لیتر). هم‌چنین مشاهده شد میزان کلر در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری است ($P<۰/۰۱$) و کم‌ترین میزان آن در گروه شاهد ثبت شد (۱۴/۸۳±۷۳/۴۲ میلی‌اکی‌والان در لیتر). بین غلظت یون پتاسیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۱$) به‌طوری که بیش‌ترین میزان آن در گروه شاهد اندازه‌گیری شد (۲۷/۲۲±۱۲۴/۸۰ میلی‌مول در لیتر) اما میزان کلسیم و منیزیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>۰/۰۵$). هم‌چنین نتایج این تحقیق نشان داد که میزان کلسترول در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری است ($P<۰/۰۵$) به‌گونه‌ایی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار تزریقی هورمون HCG اندازه‌گیری شد (۲/۶۸±۱۸/۱۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر). گلوکز هم در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$) به‌طوری که بیش‌ترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد (۱/۶۵±۱۳/۸۶ میلی‌گرم در دسی لیتر). به‌علاوه مشاهده شد که میانگین پروتئین کل پلاسمای منی در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود ($P<۰/۰۱$) و بیش‌ترین میزان آن هم در گروه شاهد مشاهده شد (۰/۱۴±۱/۰۴ گرم در دسی لیتر).

۱. WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK ۲. Jenway pfp 7, England

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]



نمودار ۱. پارامترهای بیوشیمیایی منی در ماهیان تحت آزمایش
A- میزان پتاسیم، B- میزان کلر، C- میزان سدیم، D- میزان منیزیم، E- میزان کلسترول، F- میزان کلسیم، G- میزان گلوکز، H- میزان پروتئین کل

بحث و نتیجه‌گیری

بسیاری از ماهیان در زمان پرورش به‌دلیل کاهش هورمون‌های استروئیدی در روند تولیدمثلی خود دچار نقصان می‌شوند، در برخی از مواقع تنها راه کنترل تولیدمثل در ماهی‌های پرورشی استفاده از هورمون‌ها به منظور افزایش سطح هورمون‌های استروئیدی مانند تستوسترون و ۱۱ کتوتستوسترون برای القای تولید مثل امری ضروری است [۲۴]. در شرایط اسارت، استفاده از هورمون‌ها برای فرایند تولید مثل به‌طور معنی‌داری در افزایش سطح ۱۷آلفا-۲۰بتا- دهیدروکسی پروژسترون دخالت دارند [۷]. تعیین کیفیت منی برای درک فرایندهای اصلی شیمیایی که در طول تحرک اسپرم و باروری اتفاق می‌افتد برای ارزیابی توانایی تولیدمثلی انواع گونه‌های مختلف ماهیان و آماده کردن محیط بهینه برای ذخیره کردن اسپرماتوزوآ لازم است [۳]. به عبارتی دیگر ارزیابی کیفیت اسپرم در ماهیان، بررسی فیزیولوژی اسپرم در بیضه‌ها، مجاری جنسی و بعد از استحصال (جمع‌آوری) و باروری لازم است [۹]. بررسی پارامترهای پلاسمای سمینال به دو دلیل امری مهم و ضروری است، نخست این‌که کسب دانش در رابطهٔ با تأثیر پارامترهای بیوشیمیایی بر تکامل و بلوغ اسپرم در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

طی فصل تولید مثل و نحوهٔ آغاز حرکت اسپرم بعد از خروج از مجرای اسپرم مهم است. دوم این‌که ارزیابی پارامترهای فیزیکی و شیمیایی اسپرم برای موفقیت در امر لقاح مصنوعی ضروری است [۶].

در پژوهش حاضر اثر هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز بر پارامترهای بیوشیمیایی منی ماهی کپور معمولی پرورشی بررسی شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده مشاهده شد که تزریق این هورمون‌ها روی پارامترهای بیوشیمیایی سمن ماهی کپور پرورشی تأثیر زیادی دارد. مطابق نتایج این تحقیق مشاهده شد که بین میانگین یون سدیم در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۱). به گونه‌ایی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد (۴۸/۵۴±۳۱۰/۶۰ میلی‌مول در لیتر). موریساوا و همکاران در سال ۱۹۸۳ گزارش دادند که در صورت افزایش بیش از حد یون سدیم، به‌خصوص زمانی که میزان آن بین ۱۵۰-۰ میلی‌مول در لیتر باشد طول تحرک و تعداد اسپرماتوزوآی متحرک کاهش خواهد یافت [۱۸]. همچنین کروگر و همکاران (۱۹۸۴) و لانشتاینر و همکاران (۱۹۹۶) گزارش دادند که ارتباط مثبت و معنی داری بین سدیم با اسمولالیتی و کلر با اسمولالیتی در پلاسمای سمینال (*C.carpio* و *A.alburnus*) به‌ترتیب وجود دارند [۱۳]، [۱۴]. احتمالاً سدیم و کلر الکترولیت‌های مهمی هستند که نقش اصلی را در تأمین اسمولالیتی پلاسمای سمینال بازی می‌کنند [۱۷] و قابلیت بقای اسپرماتوزوآ در محیط طبیعی [۱۳]، قبل از رهاسازی آن‌ها در محیط محلول رقیق کننده و تحرک در طول فعالیت اسپرم‌ریزی را می‌دهند. مشاهده شد میزان یون کلر در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۱) و کم‌ترین میزان آن در گروه شاهد ثبت شد (۱۴/۸۳±۷۳/۴۲ میلی‌اکی‌والان در لیتر). در استروژن‌ها هم مانند دیگر ماهیان استخوانی یون‌های سدیم، پتاسیم و کلر در پلاسمای سمینال غالب هستند [۱۰]، [۱۶]، [۲۳]، اما غلظت آن‌ها در غلظت مشاهده شده در پلاسمای سمینال استخوانی کم‌تر است [۳]. همچنین بین غلظت یون پتاسیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۱) به‌طوری که بیش‌ترین میزان آن در گروه شاهد اندازه‌گیری شد (۲۷/۲۲±۱۲۴/۸۰ میلی‌مول در لیتر).

پژوهش‌های کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶)، در گونه اسملت اروپایی[1] نشان داد که تزریق هورمون HCG تأثیری روی یون‌های سدیم و پتایسم مایع سمینال در این گونه ندارد [۱۱]. موریساوا و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که غلظت پتاسیمی که برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است بستگی به غلظت یون سدیم دارد [۱۸]. اگر غلظت سدیم بالا باشد میزان پتاسیم بیش‌تری برای جلوگیری از تحرک اسپرم مورد نیاز است، که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. در این تحقیق مشاهده شد که هم میزان سدیم و هم میزان پتاسیم در گروه شاهد ماهیان کپور پرورشی بالاتر از بقیه تیمارها است. پژوهش‌های موریساوا و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان داد عامل اصلی ممانعت کنندهٔ تحرک اسپرم در آزاد ماهیان و ماهیان خاویاری پتاسیم خارج سلولی است، درصورتی که یون‌های پتاسیم سرعت حرکت اسپرم را در کپور معمولی[2] افزایش می‌دهند، این نتایج اساساً نشان می‌دهد که اسپرم کپورماهیان نسبت به آزاد ماهیان به یون پتاسیم حساسیت کم‌تری دارد، یون‌هایی مانند سدیم،

۱. *Osmelus eperlamus L* ۲ . *Cyprinus carpio*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

کلسیم و منیزیم اثر بازدارندگی یون پتاسیم را خنثی کرده و کاتیون‌های دو ظرفیتی نسبت به سدیم بسیار مؤثرترند [۱۸]. میزان کلسیم و منیزیم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). که با نتایج زادمجید (۱۳۸۸) مطابقت دارد، پژوهش‌های زادمجید (۱۳۸۸) در رابطه با بررسی اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa، HCG و عصارهٔ هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز[۱] بوده است که نتایج این محقق نشان داد که بین غلظت یون های کلسیم و منیزیم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) [۱]. کلسیم خارج سلولی پیش نیاز برای شروع حرکت اسپرم زنده کپور ماهیان است [۱۲]. اسپرم (*Acipenser persicus*) در غلظت ۳ میلی‌مول کلسیم بیش‌ترین طول دورهٔ حرکت و درصد اسپرم متحرک را دارد و غلظت‌های بیش‌تر از ۵ میلی‌مول در لیتر یون کلسیم اثر ممانعت کنندهٔ حرکت روی اسپرم این گونه دارد [۴]. علوی و کوسون در سال ۲۰۰٦ نشان دادند که افزایش کلسیم درون سلولی در نتیجهٔ افزایش کلیسم خارج سلولی است که این پدیده برای شروع حرکت آغازین اسپرم امری ضروری است [۵]. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان کلسترول در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵) به‌گونه‌ایی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار تزریقی هورمون HCG اندازه‌گیری شد (۲/٦۸±۱۸/۱۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر). اطلاعات در مورد ترکیبات آلی اسپرم ماهیان محدود است، به‌طوری که سکر و همکاران (۲۰۰٤)، گزارش کردند نقش پروتئین، گلوکز و کلسترول در اسپرم ماهیان ناشناخته است [۲۱]. اما همین اطلاعات محدود در این زمینه نشان داده که پروتئین و کلسترول می‌توانند نقش حفاظتی در اسپرم داشته باشد به‌خصوص در مورد تغییرات دمایی، زمانی که اسپرم از مجرای اسپرم بر وارد محیط بیرونی می‌شود، در صورتی که گلوکز به‌عنوان يك منبع انرژی‌زا در طی فرایند اسپرم‌سازی می‌تواند نقش داشته باشد.

میزان گلوکز هم در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف بود (P<۰/۰۱) به‌طوری که بیش‌تری میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد (۱/٦٥±۱۳/۸٦ میلی‌گرم در دسی لیتر). هم‌چنین مشاهده شد که میزان پروتئین کل در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۱) و بیش‌ترین میزان آن هم در گروه شاهد مشاهده شد (۰/۱٤±۱/۰٤ گرم در دسی لیتر) که با پژوهش‌های صورت گرفته توسط لیم و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد، نتایج این محققان در گونهٔ کفشک[۲] نشان داد پروتئین کل پلاسمای سمینال در گروه شاهد نسبت به گروه تزریق شده با هورمون GnRHa بالاتر بود [۱٥]. در مجموع نتایج این بررسی نشان داد که تزریق هورمون‌های اوواپریم، HCG و عصارهٔ هیپوفیز اثرات متفاوتی روی پارامترهای بیوشیمیایی منی ماهی کپور پرورشی دارد.

منابع

۱. و. زادمجید، م. ایمانپور، م. سوداگر، ع. شعبانی، *اثرات تزریق هورمون‌های GnRHa، HCG و عصاره هیپوفیز روی پارامترهای بیوشیمیایی پلاسمای اسپرمی در ماهی قرمز (Carassius auratus gibelio)*، مجله زیست‌شناسی، جلد۲۲، شماره۲ (۱۳۸۸) ۳۳۳-۳٤۲.

۲. مسعود ستاری، داور شاهسونی، شهنام شفیعی، *ماهی شناسی* (۲) *سیستماتیک*، انتشارات حق‌شناس (۱۳۸۲) ۱۸۷.

۱. *Carassius auratus-gibelio*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

3. S. M. H. Alavi, J. Cosson, M. Karami, H. Abdolhay, B. Majazi Amiri, "Chemical composition and osmolality of seminal fluid of Acipenser persicus; their physiological relationship with sperm motility", Aquaculture Research 35 (2004) 1238-1243.
4. S. M. H. Alavi, J. Cosson, "Sperm motility and fertilizing ability in the Persian sturgeon *Acipenser persicus*", Aquacult Res 36 (2005) 841-850.
5. S. M. H. Alavi, j. Cosson, "Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: a review", cell biology international 30 (2006) 1-14.
6. S. M. H. Alavi, M. Rodina, T. Policar, P. Kozak, M. Psenicka, O. Linhart, "Semen of Perca fluviatilis L.: Sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratio, ions and osmolality on sperm motility", Theriogenology 68 (2007) 276-283.
7. R. Bjerselius, K. H. Olsen, W. Zheng, "Endocrine, gonadal and behavioral responses of male crucian carp *Carassius carassius* to the hormonal pheromone 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one.Chem", Senses 20 (1995) 221-230.
8. R. Billard, M. P. Cosson, "Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish", Journal of Experimental Zoology 261 (1992) 122-131.
9. R. Billard, J. Cosson, L. W. Crim, M. Suquet, "Sperm physiology and quality. In: Brood Stock Management and Egg and Larval Quality [ed. by N.R. Bromage & R.J. Roberts]", Blackwell Science, Oxford, UK. (1995) 25-52.
10. A. Ciereszko, J. Glogowski, K. Dabrowski, "Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes.In:Cryopreservation of Aquatic Species. (ed. by T.R. Tiersch & P.M. Mazik)", Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. (2000) 20-48.
11. R. K. Kowalski, A. Hliwa, A. Andronowska, J. Krol, G. J. Dietrich, M. Wojtczak, R. Stabinski, A. Ciereszko, "Semen biology and stimulation of milt production in the European smelt (*Osmerus eperlanus L.*)", Aquaculture 261 (2006) 760-770.
12. Z. Krasznai, T. Marian, H. Izumi, S. Damjanovich, L. Balkay, L. Tron, M. Morisawa, "Membrane hyperpolarization removes inactivation of Ca21 channels leading to Ca21 influx and initiation of sperm motility in the common carp", Biophysics 97 (2000) 2052-2067.
13. J. C. Kruger, G. L. Smith, J. H. J. VanVuren, J. T. Ferreira, "Some chemical and physical characterestics of the semen of *Cyprinus carpio* and *Oreochromis mossambicus"*, Journal of Fish Biology 24 (1984) 263-272.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]

14. F. Lahnsteiner, B. Berger, T. Weismann, R.A. Patzner, "Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism", Fish Physiol.Biochem 15 (1996) 167-179.
15. H. K. Lim, H. S. Han, Y. J. Chang, "Effects of gonadotropin-releasing hormone analog on milt production enhancement in starry flounder *Platichthys stellatus"*, Fish. Sci. 68 (2002) 1197-1204.
16. O. Linhart, V. Slechta, T. Slavik, "Fish sperm composition and biochemistry", Bull Inst Zool Acad Sin Monogr 16 (1991) 285-311.
17. M. Morisawa, T. Hirano, K. Suzuki, "Changes in blood and seminal plasma composition of the mature salmon (*Oncorhynchus keta*) during adaptation to freshwater", Comparative Biochemistry and Physiology 64 (1979) 325-329.
18. M. Morisawa, K. Suzuki, H. Shimizu, S. Morisawa, K. Yasuda, "Effect of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes", J Exp Zool. 107 (1983) 95-103.
19. R. w. Rottmann, J. V. Shireman,F. A. Chapman, "Determining sexual maturity of broodstock for induced spawning of fish", SRAC publication 423 (1991) 1-4.
20. E. Rurangwa, D. E. Kime, F. Olevier, J. P. Nash, "The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish", Aquaculture 234 (2004) 1-28.
21. S. Secer, N. Tekin, Y. Bozkurt, N. Bukan, A. Akcay, "Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout semen", Israeil Journal of Aquaculture-Bamidgeh 56(4) (2004) 274-280.
22. N. Tekin, S. Secer, E. Akcay, Y. Bozkurt, "Cryopreservation of rainbow trout *[oncorhynchus mykiss*] semen", Israeli J. Aquacult. Bamidgeh 55 (2003) 208-212.
23. G. P. Toth, A. Ciereszko, S. A. Christ, k. Dabrowski, "Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*: Activation and inhibition conditions", Aquaculture 154 (1997) 337-348.
24. Y. Zohar, C. C. Mylonas, "Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes", Aquaculture 197 (2001) 99-136.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-18]