

Study on Spermatological Characteristics and its effect on Artificial Propagation Efficiency of immigrant kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kameneskii 1901) to Sefidroud River

Seydeh Zahra Fallah Shamsi^{1*},
Hossein Khara²

1. Young Researchers and Elite Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, P.O.Box: 1616

2. Department of Fishery, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, P.O.Box: 1616

(Received: May 7, 2015; Accepted: Aug. 23, 2015)

تعیین خصوصیات اسپرم‌شناختی در کارایی تکثیر مصنوعی مولدین نر ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum kameneskii* 1901)

مهاجر به رودخانه سفید رود

سیده زهرا فلاح شمس^{۱*}، حسین خارا^۲

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان،

واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان

۲. دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۷، تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۶/۱)

Abstract

Different factors such as the quality of ova and sperm are involved in propagation process. Mobility percentage, pH, mobility duration, compaction and osmolarity of sperm which affect the quality of sperm were tested in this research. This study was carried out in April 2011 in Shahid Ansari Bony Fishes Propagation and Rearing Center. According to the results, mean and standard deviation of ions in 3 and 4 years old fish were (329.6±11.9) and (343.4±11.9) osmolarity, (47.2±7.4 and 44.5±2.99) spermatocrit, (60.5±12) and (66.3±6.1) mobility duration, (80±6.7) and (83.5±3.9) mobility percentage, (17828750±3199657.8) and (18000000±2090454.5) compaction of sperm and 7.79±0.51 and 7.61±0.26 pH of sperm. The correlation between osmolality, mobility percentage, mobility duration, and compaction of sperm with parameters of artificial propagation efficiency (fertilization percentage and hatching rate) was investigated positive and direct (p<0.05).

Keywords: Spermatological, artificial reproduction, Kutum.

چکیده

در روند تکثیر ماهی عوامل متفاوتی از جمله کیفیت و کمیت تخمک و اسپرم مولدین دخیل می باشند که در بحث کیفیت اسپرم فاکتورها و عواملی همچون pH، درصد تحرک، مدت زمان تحرک، تراکم و اسمولاریته موجود در پلاسمای اسپرم مورد بررسی قرار می گیرند. پژوهش حاضر در فروردین ماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت صورت پذیرفت. براساس نتایج به دست آمده میانگین و انحراف معیار پارامترهای اسپرم شناختی در ماهیان ۳ و ۴ ساله مورد بررسی به ترتیب اسمولاریته (۳۲۹/۶±۱۱/۹، ۳۴۳/۴±۱۱/۹ عدد)، اسپرماتوکریت (۴۷/۲±۷/۴، ۴۴/۵±۲/۹۹ عدد)، مدت زمان تحرک اسپرم (۶۰/۱±۶/۷، ۶۶/۳±۶/۷)، درصد تحرک اسپرم (۶۰/۱±۶/۷، ۶۶/۳±۶/۷)، تراکم اسپرم (۱۷۸۲۸۷۵۰±۳۱۹۹۶۵۷/۸)، pH اسپرم (۱۸۰۰۰۰۰±۲۰۹۰۴۵۴/۵ میلی مترمکعب) و pH اسپرم (۷/۷۹±۰/۵۱، ۷/۶۱±۰/۲۶) محاسبه شد. همچنین ارتباط بین اسمولاریته، درصد تحرک اسپرم، مدت زمان تحرک اسپرم و تراکم اسپرم با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی (درصد لقاح و درصد تفریح) مثبت و مستقیم ارزیابی شد یعنی با افزایش عوامل اسپرم شناختی درصد لقاح و درصد تفریح در ماهی سفید افزایش می یابد و با کاهش این عوامل درصد لقاح و درصد تفریح در ماهی سفید کاهش می یابد.

واژه‌های کلیدی: اسپرم‌شناختی، کارایی تکثیر و ماهی سفید.

مقدمه

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* (Kameneskii, 1901) گونه‌ای منحصر به فرد، بومی دریای خزر و دارای ارزش اکولوژیکی، اقتصادی و غذایی فراوان می‌باشد که جمعیت آنها در سال‌های اخیر به دلیل صید بی‌رویه، افزایش آلودگی‌ها، تخریب بستر رودخانه‌ها و عدم امنیت جهت مهاجرت کاهش یافته است (Razavi, 2008).

اسپریم با کیفیت مناسب روی سلامتی لاروهای تولیدشده اثرگذار می‌باشد و در مراکز تکثیر در مقیاس تجاری مایع اسپریمی از نظر کمی و کیفی نامناسب می‌باشد (Rurangwa et al., 2004). همچنین دانش تفاوت کیفی بین اسپریم در ماهیان نر می‌تواند به مدیریت سلامت ژنتیکی مولدین به کار رفته کمک کند (Tekin et al., 2003). کیفیت اسپریم با ویژگی تحرک آن که عامل پیش‌تاز تعیین‌کننده برای توانایی لقاح سلول‌های جنسی است (Lahnsteiner et al., 2000) و همچنین تحرک اسپریم به عنوان یک ویژگی مهم جهت باروری مولدین نر بیان می‌شود (Birkhead et al., 1999). در اغلب گونه‌ها اسپریم دارای دوره کوتاهی از تحرک رو به جلو و بعد از رها شدن به محیط خارجی می‌باشد. طول دوره تحرک اسپریم در ماهیان دریایی نسبت به گونه‌های آب شیرین بیشتر است (Cosson et al., 2008). مدت زمان تحرک اسپریم در مورد ماهیان استخوانی با لقاح خارجی ۳۰ ثانیه تا ۱ دقیقه گزارش شده است (Billard et al., 1999).

تحرک اسپریماتوزوا به عنوان یکی از فاکتورهای ارزیابی کیفی اسپریماتوزوا، نقش مهمی در موفقیت عملیات لقاح مصنوعی ایفا می‌نماید (Billard et al., 1999). از عوامل مؤثر در تعیین کیفیت اسپریم، غلظت یا تراکم آن می‌باشد که به تعداد اسپریم در واحد حجم تعریف می‌شود. غلظت اسپریم در ماهیان نر مختلف متفاوت بوده و حتی در اسپریم‌گیری‌های مختلف در طول یک یا چند هفته متغیر است

(Billard, 1983). غلظت اسپریم با حجم آن رابطه معکوس دارد (Tekin et al., 2003). بین میزان اسپریماتوکریت و غلظت اسپریم بدست آمده از هماسیتومتر، ارتباط معنی‌داری وجود دارد. از طرف دیگر پارامترهای متفاوتی از قبیل طول کل مدت زمان تحرک، حرکت رو به جلو، اسپریماتوکریت و غلظت سلول‌های اسپریم محتوی ATP، میزان یون‌های موجود در پلاسمای منی و همچنین فعال‌کننده‌ها، ترکیبات پلاسمای منی و ... همه از عواملی هستند که می‌توانند کیفیت اسپریم را تحت تاثیر قرار دهند (Rurangwa et al., 2004). هدف از انجام این تحقیق بررسی پارامترهای اسپریم شناختی ماهی سفید در کارایی تکثیر مصنوعی می‌باشد فواصل بین اسپریم‌گیری‌ها و سن مولدین نر نیز می‌تواند بر فاکتورهای کیفی اسپریم تاثیر گذار باشند که آنها نیز در کارایی تکثیر ماهی سفید دخیل می‌باشند.

مواد و روش‌ها

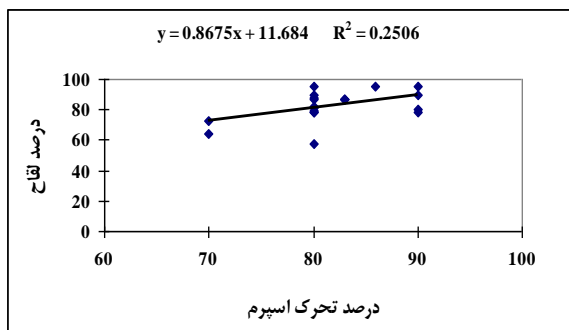
این پژوهش در نیمه اول فروردین ماه ۱۳۹۰ در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت صورت پذیرفت از مولدینی که از رودخانه سفید رود صید شده و به این مرکز آورده بودند پس از تعیین سن از طریق فلس تعداد ۱۰ عدد مولد نر ۳ ساله و ۱۰ عدد مولد نر ۴ ساله و ۱۰ عدد مولد ماده ۴ ساله به صورت تصادفی انتخاب شد. نیمی از اسپریم هر مولد نر برای لقاح و فرایند انکوباسیون استفاده گردید و نیمی از اسپریم هر مولد نر نیز توسط اپندورف‌های شماره‌گذاری شده جمع‌آوری و داخل فلاکس یخ قرار داده شد و بلافاصله (طی ۲ ساعت) به آزمایشگاه انستیتو ماهیان خاویاری دکتر دادمان سد سنگرشت جهت اندازه‌گیری خصوصیات اسپریم‌شناختی انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری درصد و طول دوره تحرک بلافاصله بعد از فعال شدن توسط سرم فیزیولوژی به صورت مستقیم در زیر میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ مشاهده شد. و برای اندازه‌گیری

جهت آنالیز داده‌ها زمانی که توزیع داده‌ها نرمال بود، برای مقایسه هریک از فاکتورهای اندازه‌گیری شده بین ماهیان ۳ و ۴ ساله از آزمون T-test و جهت انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها، از نرم‌افزارهای Excel 2003 و SPSS 13 استفاده شد.

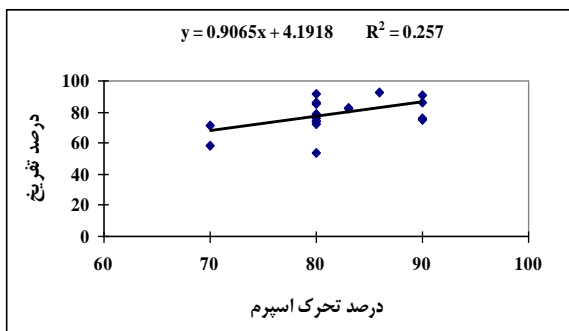
نتایج

نتایج میانگین و انحراف معیار پارامترهای اسپرم شناختی ماهی سفید مهاجر به رودخانه سفید رود در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم با سن مولدین دارای اختلاف معنی‌دار آماری نمی‌باشد ($p > 0.05$). همچنین ارتباط بین درصد تحرک و مدت زمان تحرک اسپرم با عوامل کارایی تکثیر مانند درصد لقاح، درصد تفریح مثبت و مستقیم به دست آمد (شکل ۱، ۲، ۳ و ۴).

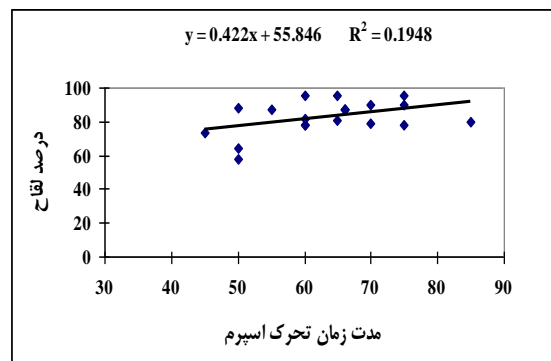
تراکم اسپرم نیز از روش استاندارد هماسیتومتری (Baradaran *et al.*, 2007) با رقیق‌سازی اسپرم به نسبت ۱:۱۰۰۰ انجام شد و همچنین تراکم اسپرم نیز توسط میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسپرماتوکریت از لوله میکروهماتوکریت استفاده گردید (Aas *et al.*, 1991; Rakitin *et al.*, 1999). اسپرم براساس خاصیت موینگی به داخل لوله میکروهماتوکریت وارد شده و بعد از نمونه‌برداری انتهای لوله موین بوسیله خمیر مخصوص مسدود می‌گردید. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ لوله‌های میکروهماتوکریت حاوی نمونه اسپرم با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفوژ شدند و در نهایت به وسیله خط‌کش میکروهماتوکریت میزان اسپرماتوکریت هر نمونه خوانده شد. pH اسپرم نیز توسط pH متر معمولی اندازه‌گیری شد.



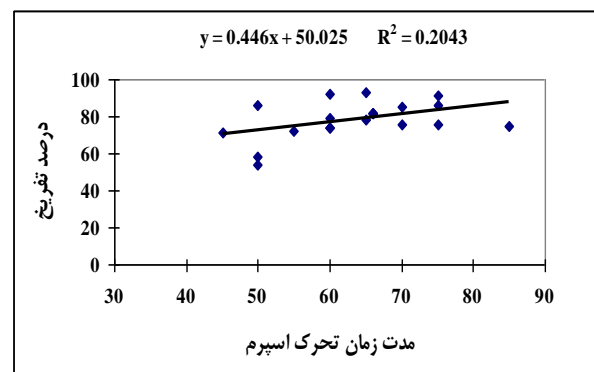
شکل ۱. رابطه رگرسیونی بین درصد تحرک اسپرم و درصد لقاح



شکل ۲. رابطه رگرسیونی درصد تحرک اسپرم و درصد تفریح



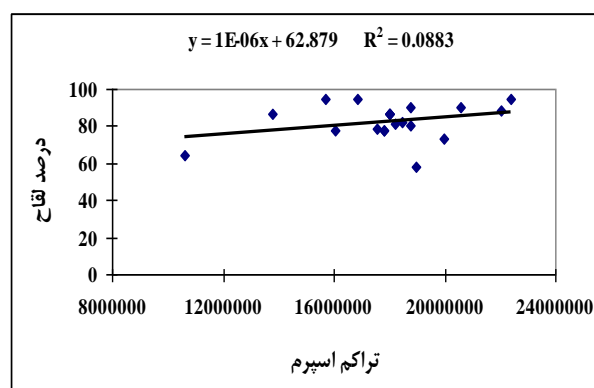
شکل ۳. رابطه رگرسیونی بین مدت زمان تحرک اسپرم و درصد لقاح



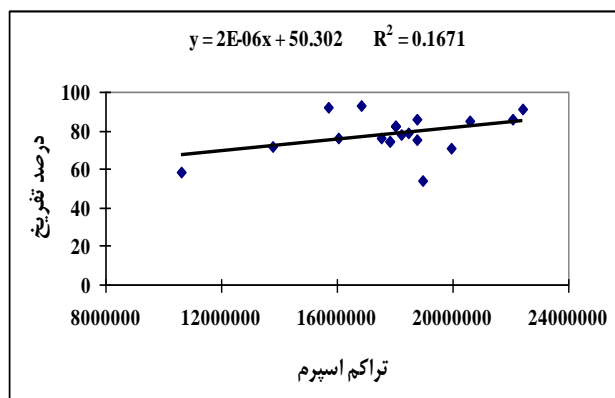
شکل ۴. رابطه رگرسیونی مدت زمان تحرک اسپرم و درصد تفریخ

سنی ۳ و ۴ ساله از نظر pH اسپرم اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ($p > 0.05$). ارتباط بین تراکم اسپرم با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح و درصد تفریخ مثبت و مستقیم ارزیابی شد (شکل ۵ و ۶).

همچنین در تحقیق حاضر بین تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت با سن مولدین ۳ و ۴ ساله ارتباط معنی‌دار آماری وجود نداشت ($p > 0.05$). در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار pH اسپرم در ماهیان ۳ و ۴ سال دیده می‌شود که براساس نتایج بین دو گروه



شکل ۵. رابطه رگرسیونی بین تراکم اسپرم و درصد لقاح



شکل ۶. رابطه رگرسیونی بین تراکم اسپرم و درصد تفریح

تراکم اسپرم در ماهیان ۴ ساله بیشتر از ماهیان ۳ ساله به دست آمد همچنین میزان اسپرماتوکریت در ماهیان ۳ ساله بیشتر از میزان اسپرماتوکریت در ماهیان ۴ ساله به دست آمد (جدول ۱).

همچنین ارتباط اسمولاریته با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح و درصد تفریح مثبت و مستقیم به دست آمد. در پژوهش حاضر طول دوره تحرک، درصد تحرک اسپرم، اسمولاریته و

جدول ۱. آمار توصیفی شاخص‌های اسپرم‌شناختی ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)

متغیرها (واحد اندازه‌گیری)	سن (سال)	میانگین \pm انحراف معیار	P	حداقل	حداکثر
اسمولاریته (عدد)	۳	$329/6 \pm 11/9$		۳۱۱	۳۵۷
	۴	$343/4 \pm 11/9$	۰/۰۱۸	۳۲۸	۳۶۶
اسپرماتوکریت (عدد)	۳	$47/2 \pm 7/4$		۳۵	۵۶
	۴	$44/5 \pm 2/9$	۰/۲۹۸	۳۹	۵۰
درصد تحرک اسپرم (درصد)	۳	$80 \pm 6/7$		۷۰	۹۰
	۴	$83/5 \pm 3/9$	۰/۱۰۴	۸۰	۹۰
مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه)	۳	$60/5 \pm 12/8$		۴۵	۸۵
	۴	$66/3 \pm 6/1$	۰/۲۱۲	۵۵	۷۵
تراکم اسپرم (میلی متر مکعب)	۳	$17828750 \pm 3199657/8$		۱۰۶۰۰۰۰	۲۲۰۵۰۰۰۰
	۴	$18000000 \pm 2090454/5$	۰/۸۸۹	۱۳۸۰۰۰۰۰	۲۲۴۰۰۰۰۰
pH اسپرم	۳	$7/79 \pm 0/51$		۷/۱	۸/۴
	۴	$7/61 \pm 0/26$	۰/۳۳۶	۷/۲	۸/۱

مکعب) گزارش شده است (Billard, 1983). تعداد اسپرم در ماهیان نر به عنوان شاخص زیستی مطرح می‌باشد و به نوع گونه بستگی دارد. در بررسی انجام شده توسط آذر تاکامی طی سال‌های ۴۹-۱۳۴۸ و ۵۶-۱۳۵۵ بر روی اسپرم ماهی سفید رودخانه‌های حویق، دیناچال و خشک‌رود حداقل و حداکثر تراکم اسپرم ۳۲ و ۴۸ و به طور متوسط ۴۰ میلیارد عدد سلول نر در سانتی‌متر مکعب گزارش شده بود. در

بحث و نتیجه‌گیری

اختلاف زیادی بین تراکم اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان وجود دارد. تراکم اسپرم تا حد زیادی به حجم منی در یک بار اسپرم‌گیری بستگی دارد. تراکم اسپرم در ماهیانی که اسپرم آنها در محیط خارج رهاسازی می‌شوند و به روش طبیعی نیز لقاح انجام می‌دهند خیلی بالا است. تراکم اسپرم در ماهیان بین 2×10^6 تا $6/5 \times 10^6$ عدد در هر میلی‌لیتر (سانتی‌متر

بودن اسپرماتوکریت به دلیل بیشتر بودن تعداد اسپرماتوزوا در واحد حجم شانس انجام لقاح بالاتر است که نتیجه آن حصول چشم‌زدگی بالا بوده است. میزان اسپرماتوکریت سن ۳ سالگی نیز اختلاف معنی‌داری را با سطح سنی ۴ سالگی نشان داد و در سطح بالاتری قرار داشت. در بررسی‌های صورت گرفته توسط *Rahbar et al.* (2009) بر روی ماهی آزاد دریای خزر، *(Shamspour)* (2008) و *LoRESTANI et al.* (2004)، بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Rakitin et al.* (1999) بر روی روغن ماهی اطلس (*Gadusmorhua*) مشاهده شد که با افزایش سن، میزان اسپرماتوکریت کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیقات کاهش میزان اسپرماتوکریت را از سنین بالاتر به پایین نشان می‌دهد. نتایج تحقیق حاضر نیز با یافته‌های تحقیقات مذکور مشابهت دارد و نتایج آنها را تایید می‌نماید. در این بررسی مولدین نر ۴ ساله، میزان درصد لقاح و درصد ظهور لارو بیشتری را نسبت به ماهیان ۳ ساله نشان دادند. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری در ماهی قزل‌آلا بین میزان لقاح در غلظت‌های بالای اسپرم گزارش شد (*Liley et al., 2002*).

Lahnsteiner et al. (1997) بین حرکت اسپرم و ترکیبات پلاسمای سمینال در ماهی مروارید (*Alburnus alburnus*) که از کپور ماهیان است همبستگی مثبت و معنی‌دار را به دست آوردند ($p < 0.05$) و بیان نمودند که این ارتباط می‌تواند به دلیل تاثیر ترکیبات پلاسمای اسپرمی بر حرکت اسپرم باشد.

با مطالعه روی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص گردید که درصد تحرک اسپرم اولین عامل تضمین‌کننده موفقیت لقاح است (*Wojtczak et al., 2007*). در پژوهش حاضر طول دوره تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم در ماهیان ۴ ساله به ترتیب $66/3 \pm 6/1$ و $83/5 \pm 3/9$ و در ماهیان ۳ ساله به ترتیب $60/5 \pm 12/8$ ، $60/5 \pm 12/8$ به دست آمد، که

بررسی انجام شده توسط *(Najjar Lashkari, 2006)* نیز میزان متوسط تراکم اسپرم مولدین ماهی سفید رودخانه‌های شیروود، تنکابن و خشک‌رود به ترتیب $3792000000/00 \pm 13505010408/084$ ، $3792000000/00 \pm 14903553883/801$ و $2778000000/00 \pm 8676240133/673$ عددسلول در سانتی‌متر مکعب و میانگین تراکم اسپرم مولدین ماهی سفید رودخانه‌های مذکور $336733333333/34 \pm 13281412892/145$ عدد در سانتی‌متر مکعب بود. در این بررسی میزان متوسط تراکم اسپرم در سنین ۳ و ۴ سال مولدین ماهی سفید رودخانه سفیدرود به ترتیب $2090454/5$ و $17828750 \pm 3199657/8$ $18000000 \pm$ میلی‌متر مکعب به دست آمد.

میانگین اسپرماتوکریت مولدین ماهی سفید در رودخانه‌های شیروود، تنکابن و خشک‌رود به ترتیب $31/88 \pm 5/309$ و $32/72 \pm 6/713$ ، $31/78 \pm 6/119$ درصد بود و همچنین میانگین اسپرماتوکریت مولدین ماهی سفید رودخانه‌های مذکور $32/13 \pm 6/048$ درصد بود. در بررسی حاضر میانگین اسپرماتوکریت مولدین ۳ و ۴ سال ماهی سفید در رودخانه سفید رود به ترتیب $47/2 \pm 7/4$ و $44/5 \pm 2/99$ درصد بود. ساختار طولی، وزنی، سنی و ... ماهیان در اکوسیستم‌های مختلف بسته به عوامل متعدد زیستی و غیرزیستی نظیر غذا، تناسب شرایط فیزیکیوشیمیایی با نیازهای فیزیولوژیک ماهیان، وجود شکارچیان، استرس‌های محیط نظیر آلودگی‌ها، خارج از محدوده قرار گرفتن عوامل فیزیکی و شیمیایی در لحظاتی از شبانه روز و شرایط صید و صیادی دارد که این امر می‌تواند منتج به اختلاف میانگین‌های فاکتورهای فوق شده باشد (*Najjar Lashkari, 2006*).

در این بررسی از لحاظ فاکتور اسپرماتوکریت، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد، ولی در مولدین نر ۳ ساله درصد اسپرماتوکریت بیشتر از مولدین ۴ ساله بود. در تحقیق حاضر، در سن ۳ سالگی با بالا

سن این مولدین و کاربرد آنها در تکثیر مصنوعی از نظر کمی و کیفی، لاروهای مناسبی برای پرورش و تکثیر در سال‌های بعد در اختیار باشد. با این حال طبق نتایج به دست آمده، مولدین نر ۴ ساله ماهی سفید مناسب‌تر از گروه‌های سنی دیگر جهت تکثیر مصنوعی و تولید لاروهای بهتری باشند.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم مرکز تکثیر، پرورش بازسازی ذخایر شهید انصاری و کلیه عزیزانی که در فراهم ساختن شرایط لازم برای انجام این پروژه ما را همیاری نمودند صمیمانه سپاسگزاریم.

این عوامل در ماهیان ۴ ساله بیشتر از ماهیانه سه ساله بدست آمد. در این پژوهش از نظر مدت زمان تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم ماهیان با سن مولدین تفاوت معنی‌دار آماری وجود نداشت همچنین ارتباط مدت زمان تحرک اسپرم و درصد تحرک اسپرم با پارامترهای کارایی تکثیر مصنوعی مانند درصد لقاح، درصد تفریح و اندازه لارو مثبت و مستقیم ارزیابی شد.

بر اساس نتایج این تحقیق سن مولدین اثر بیشتری بر روی مراحل پس از لقاح دارد. این تحقیق با انجام مراحل عملی لقاح بر روی مولدین نر و بررسی روند انکوباسیون تخم‌های حاصل بهترین سن مولدین نر ماهی سفید را پیشنهاد کرده تا با تعیین

REFERENCES

- Aas, GH.; Refstie, T.; Gjerde, B.; (1991). Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*; 95: 125-132.
- Baradaran, Sh.; Alipour, A.; Pourkazemi, M.; (2007). Morphological characteristics of Persian sturgeon sperm density and spermatocrit in the South West of the Caspian Sea; *Journal of Research and development*; 75: 138-144.
- Billard, R.; (1983). Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of reproduction and fertility*; 68:77-84.
- Billard, R.; Cosson, J.; Fierville, F.; Brun, R.; Rouault, T.; Williot, P.; (1999). Motility analysis and energetic of the Siberian sturgeon, *Acipenserbaerii*, spermatozoa. *Journal of Applied Ichthyology*; 15:199-203.
- Birkhead, TR.; Martinez, JG.; Burke, T.; Froman, DP.; (1999). Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. *Proceeding Royal Society London*. (B); 266: 1759-1764.
- Cosson, J.; Groison, Al.; Suquet, M.; Fauvel, C.; Dreanno, C.; Billard, R.; (2008). Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. *Journal of Applied Ichthyology*; 24: 460-486.
- Lahnsteiner, F.; Berger, B.; Weismann, T.; and Patzner, RA.; (1997). Sperm motility and seminal composition in the Turbot (*Lota lota*). *Journal of Applied Ichthyology*; 13: 113-119.
- Lahnsteiner, F.; (2000). Morphological physiological and biochemical parameters characterizing the overripening of rainbow trout eggs, *fish physiology and biochemistry*; 23: 107-118.
- Lorestani, R.; (2004). Effect of age of broodstock and reinforcing solutions on sperm mobility duration and fertility rate of rainbow trout; MSc thesis, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Moddares University; 67 P. (in Persian)
- Najjar Lashkari, S.; (2006). Studying and comparing some characteristics of white fish sperm in Shirood, Tonekabon, and Khoshkrood rivers; MSc thesis, Islamic Azad University of Lahijan; 227 P. (in Persian)
- Rahbar, M.; (2009). Determining the relationship between age of broodstock and efficiency of artificial propagation

- in the Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*); MSc thesis, Islamic Azad University of Lahijan; 80 P. (in Persian).
- Rakitin, A.; Ferguson, M.; Tripple, EA.; (1999). Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*; 170: 349-358.
- Razavi, B.; (1999). An Introduction to the ecology of the Caspian Sea; Iranian Fisheries Research Institute; 90 P. (in Persian).
- Rurangwa, E.; Kime, D.E.; Ollevier, F.; Nash, JP.; (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*; 234: 1-28.
- Shamspour, S.; (2008). Studying the effect of fertility power of broodstock on fertilization rate, incubation process, and larvae survival in rainbow trout; MSc thesis, Islamic Azad University of Lahijan. 86 P. (in Persian)
- Tekin, N., Secer, S., Akcay, E., Bozkurt, Y.; (2003). Cryopreservation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Bamidgeh*; 55: 208-212.
- Wojtczak, M.; Dietrich, G.; Slowinska, M.; Dobosz, S.; Kuzminski, H.; Ciereszko, A.; (2007). Ovarian fluid pH enhances motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Spermatozoa. *Aquaculture*; 270: 259-264.