

## تأثیر اسپرم گیری مجدد بر نرخ تفریح و اندازه لارو تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

حدیثه دادرسی\*<sup>۱</sup>، شعبانعلی نظامی<sup>۲</sup>، حسین خارا<sup>۳</sup>، شهروز برادران نویری<sup>۴</sup>

\*<sup>۱</sup> و <sup>۳</sup> - دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

<sup>۲</sup> - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

<sup>۴</sup> - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

h.dadrass@yahoo.com

### چکیده

تحقیق حاضر بر روی ۱۱ مولد نر وحشی تاس ماهی ایرانی در سال ۱۳۸۸ و در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت انجام پذیرفت. در این مطالعه هر مولد با فاصله زمانی چندروزه (۷-۳ روز) ۲ بار مورد تزریق هورمون قرار گرفته و هر بار از آن‌ها اسپرم گیری شد که تنها از ۶ مولد برای بار دوم اسپرم گیری گردید و برخی پارامترهای اسپرم شناختی، نرخ تفریح و اندازه لاروهای حاصل در هر مرحله از اسپرم گیری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میانگین درصد تحرک اسپرم در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $5/43 \pm 78/5$  درصد و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $20/25 \pm 50/0$  درصد بود. همچنین میانگین طول دوره تحرک اسپرم در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $16/16 \pm 315/83$  ثانیه و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $53/53 \pm 212/5$  ثانیه بود. یافته‌ها حاکی از این بودند که میانگین تراکم اسپرم در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $10^9 \times 1/3 \pm 10^9 \times 2/1$  سلول در هر میلی لیتر و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $10^9 \times 0/34 \pm 10^9 \times 0/55$  سلول در هر میلی لیتر بود. میانگین اسپرماتوکریت در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $32/32 \pm 9/33$  درصد و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $35/35 \pm 3/42$  درصد بدست آمد. سنجش pH نمونه اسپرم‌های استحصالی نیز نشان داد که میانگین pH اسپرم در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $0/53 \pm 8/41$  و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $0/33 \pm 8/05$  بود. میانگین نرخ تفریح در مرحله اول اسپرم گیری برابر  $0/07 \pm 62/5$  و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر  $0/92 \pm 34/83$  درصد بدست آمد. همچنین میانگین اندازه لاروها در مرحله تفریح اسپرم گیری اول برابر  $0/33 \pm 12/18$  و در اسپرم گیری دوم برابر  $0/38 \pm 11/22$  میلی متر بود. میانگین اندازه لاروها در مرحله آغاز تغذیه فعال نیز در اسپرم گیری اول برابر  $0/53 \pm 20/68$  و در اسپرم گیری دوم برابر  $0/19 \pm 19/52$  میلی متر بود. محاسبات نشان داد که بین نرخ تفریح و اندازه لاروها در مرحله تفریح و آغاز تغذیه فعال در دو مرحله اسپرم گیری اختلاف معنی دار وجود داشته است ( $P < 0/05$ ).

**کلمات کلیدی:** تاس ماهی ایرانی، اسپرم گیری، نرخ تفریح، اندازه لارو.

## مقدمه

از آنجایی که اسپرم واجد کیفیت بالا برای صنعت شیلات و مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر شیلاتی حائز اهمیت می‌باشد (۱۴)، ارزیابی مناسب کیفیت اسپرم جزء عوامل کلیدی در تولید موفق ماهی محسوب می‌گردد (۷) در صورتی که پرورش ماهیان خاویاری هم در جهت بازسازی ذخایر و هم اهداف تجاری آبی پروری انجام گیرد (۱۱)، یک نیاز روز افزون در زمینه بهبود فرایندهای تولید مثلی از طریق مدیریت گامت‌هایی با درجه بالای استاندارد و رسیدگی‌های ویژه احساس می‌شود. اسپرم با کیفیت مناسب بر روی سلامت لاروهای حاصله مؤثر است و حال آن‌که در تفریخگاه‌ها، میزان کمی و کیفی اسپرم در مقیاس تجاری ناکافی می‌باشد (۲۵). معمولاً در فرایندهای تولید مثلی، از ماهیان نر بالغ، بیش از یکبار اسپرم‌گیری می‌شود که به دلیل کمبود تعداد مولدین نر و بلوغ دیررس آن‌هاست (۱۳ و ۲۱). تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از گونه‌های تجاری ماهیان خاویاری در دریای خزر است که ذخایر آن در دهه اخیر به شدت در حال کاهش می‌باشد (۲۲).

در این بین کاهش میزان صید مولدین تاس ماهی ایرانی دریای خزر طی سال‌های اخیر موجب بروز مشکلات جدی در امر تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر این ماهیان با ارزش شده است که این مسئله به نوبه خود سبب کاسته شدن از میزان رهاسازی بچه ماهیان تولید شده در مناطق مورد نظر می‌گردد. در این راستا دسترسی به اسپرم با کیفیت مناسب، به مقدار کافی در زمان لازم (۹) و مدیریت سلول‌های جنسی، میزان موفقیت فرآیند تکثیر مصنوعی را تعیین می‌کند و بر روی سلامتی لاروها تولید شده تأثیرگذار است.

یکی از راه‌های جبران کاهش مولدین به ویژه مولدین نر، اسپرم‌گیری چندباره از آن‌ها در طی یک فصل تکثیر مصنوعی می‌باشد که این عمل می‌تواند تا حدی مشکلات فرارو را برطرف نماید. اما کاهش کیفیت اسپرم و توانایی آن در لقاح مصنوعی در پی اسپرم‌گیری‌های مکرر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد. در این راستا مطالعات دیگری نیز کاهش درصد اسپرماتوزوآهای متحرک و کل دوره تحرک اسپرم تاس ماهی ایرانی را در ارتباط با اسپرم‌گیری‌های متوالی (پس از یکبار تزریق) گزارش نمودند (۷). لذا بنا به دلایل فوق‌الذکر در این مطالعه تغییرات کمی و کیفی اسپرم طی اسپرم‌گیری‌های مکرر و تأثیر آن بر میزان تفریخ و اندازه لاروهای حاصل به عنوان شاخص‌هایی جهت کارایی لقاح مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت تا با استفاده از نتایج حاصل بتوان تأثیر اسپرم‌گیری‌های مجدد را بر فرایند تکثیر به بحث گذاشت.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت و در سال ۱۳۸۸-۱۳۸۷ انجام شد. در این مطالعه ۱۱ عدد مولد نر وحشی تاس ماهی ایرانی پس از انتقال از صیدگاه‌های ماهیان خاویاری واقع در حاشیه جنوبی دریای خزر و اکیپ‌های مستقر در نزدیکی دهانه رودخانه سفیدرود به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت واقع در جوار سد سنگر استفاده گردید. به طوری که در مورد هر مولد با فاصله زمانی چند روزه (۷-۳ روز) ۲ بار تزریق هورمون LHRH-A2 به

اساس روش استاندارد هماسیتومتری (۱) با رقیق سازی اسپرم به نسبت ۱:۳۰۰ و با استفاده از میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ اندازه گیری گردید. به منظور محاسبه میزان اسپرماتوکریت از اسپرم مولدین بوسیله لوله میکروهماتوکریت نمونه برداری شد (۲، ۲۳ و ۲۹). سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ مدل eppendorf - 5415 D ساخت کشور آلمان، لوله های میکرو حاوی نمونه اسپرم با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه (۳۰) سانتریفوژ شدند و در نهایت به وسیله میکروهماتوکریت خوان، میزان اسپرماتوکریت هر نمونه قرائت شد. pH مایع منی نیز به وسیله دستگاه pH متر مدل HM-20S مارک TOA ساخت کشور ژاپن با دقت  $\text{pH} \pm 0.01$  اندازه گیری گردید.

آزمایشات در ۳ تکرار و در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت و میانگین سه تکرار برای هر نمونه به عنوان شاخص آن مورد، محاسبه گردید. جهت اجتناب از خطای آزمایشی همه اندازه گیری ها توسط یک مشاهده کننده صورت پذیرفت. تجزیه تحلیل آماری با استفاده از آزمون T-test، در سطح اعتماد ۵٪ توسط نرم افزار SPSS ورژن ۱۴ انجام گرفت. همچنین نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ۲۰۰۷ ترسیم شدند.

### نتایج

در طول تحقیق انجام شده تنها ۶ عدد از ۱۱ مولد نر به تزریق دوم پاسخ دادند و نتایج حاصل از بررسی و مقایسه آماری نرخ تفریح نشان داد که میزان میانگین آن در اسپرم گیری اول برابر با  $21.07 \pm 62/5$  درصد و در مرحله دوم اسپرم گیری برابر با  $21.92 \pm 34/83$

میزان ۳-۲ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به همراه ۲ سی سی سرم فیزیولوژیک ۶ در هزار انجام و ۲۴ ساعت بعد از آن ها اسپرم گیری شد. در طول مدت تکثیرهای مصنوعی انجام شده نوسانات دمایی آب بین ۱۳/۱-۲۱/۶ درجه سانتی گراد بود.

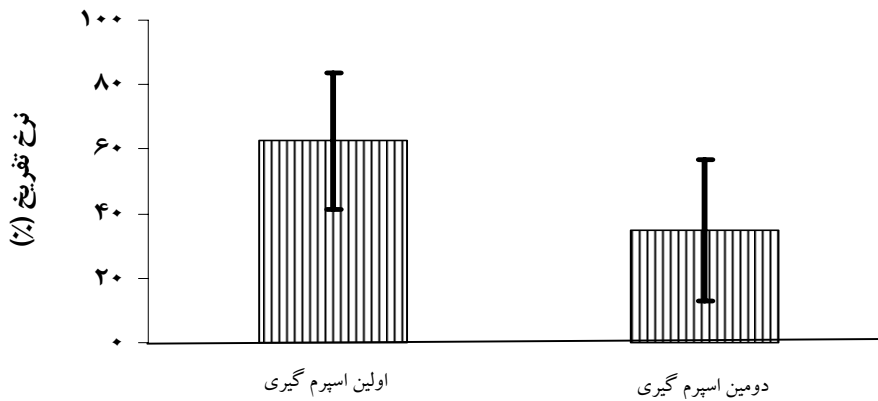
هر نمونه اسپرم مربوط به مولد مشخص، با نسبت ۱۰ سی سی به ازای ۱ کیلوگرم تخمک (که به هر یک سانتی متر مکعب اسپرم ۱۰۰ سی سی آب اضافه شد) وارد تشتک های مجزای حاوی تخمک گردید. و عمل لقاح به روش نیمه خشک صورت گرفت. پس از تفریح لاروها نرخ تفریح با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۷):

$$\text{نرخ تفریح} = \frac{\text{تعداد تخم های تفریح شده}}{\text{تعداد کل تخم های ماهی}} \times 100$$

لاروها جهت بررسی میزان رشد طولی تا مرحله شروع تغذیه فعال نگهداری شدند. جهت اندازه گیری طول لاروهای حاصل از هر بار تکثیر در هر دو مرحله تفریح و آغاز تغذیه فعال، ۳۰ عدد لارو جدا شد و مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق بررسی درصد تحرک اسپرم های متحرک بلافاصله بعد از فعال شدن با آب کارگاه (٪) به صورت چشمی انجام شد (۷). برای این منظور از میکروسکوپ نوری معمولی با عدسی ۴۰ استفاده گردید. به صورتی که ۱۰ میلی لیتر از اسپرم جمع آوری شده پس از رقیق سازی با نسبت ۱:۵۰ (۱۸)، بر روی لام قرار گرفت و بلافاصله در زیر میکروسکوپ مشاهده شد. مدت زمان تحرک اسپرم نیز به صورت چشمی و با استفاده از زمان سنج تا لحظه ای که تقریباً تمام اسپرماتوزوآها (٪۱۰) از حرکت بایستند (۷) اندازه گیری شد. تراکم اسپرم بر

دو اسپرم گیری انجام شده اختلاف معنی دار وجود داشت ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۱).

درصد بود که در تکرار دوم اسپرم گیری کاهش یافت، به طوری که بر اساس آنالیز آماری آزمون T-Test در



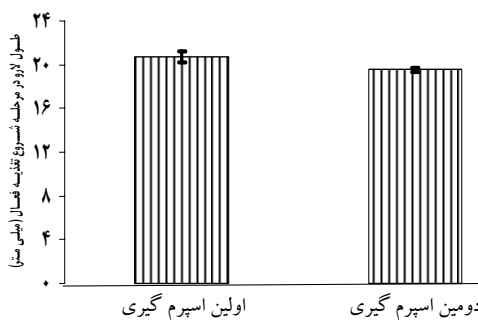
نمودار ۱: مقایسه نرخ تفریح بین اسپرم گیری مراحل اول و دوم در تاس ماهی ایرانی

کاهش یافته و با توجه به آزمون T-Test بین دو مرحله اسپرم گیری اختلاف معنی دار مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۲ و ۳).

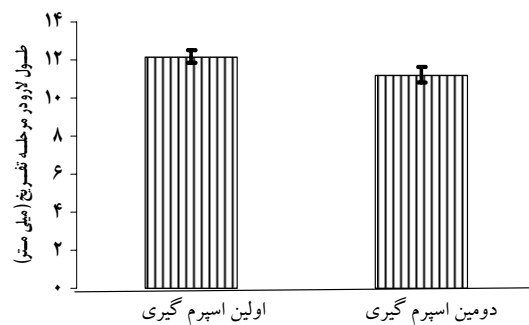
نتایج حاصل از بررسی میانگین طول لاروهای حاصل از هر تکرار در دو زمان تفریح و آغاز تغذیه فعال در جدول ۱ آمده است که بر این اساس طول لاروها در دو زمان بررسی شده در اسپرم گیری دوم

جدول ۱: میانگین طول لاروهای تاس ماهی ایرانی حاصل از مراحل اسپرم گیری اول و دوم در دو زمان تفریح و آغاز تغذیه فعال

اسپرم گیری اول	اسپرم گیری دوم	
$12/18 \pm 0/33$	$11/22 \pm 0/38$	طول لارو در مرحله تفریح (میلی متر)
$20/68 \pm 0/53$	$19/52 \pm 0/19$	طول لارو در مرحله آغاز تغذیه فعال (میلی متر)



نمودار ۲: مقایسه طول لارو در زمان شروع تغذیه فعال بین مراحل اول و دوم



نمودار ۳: مقایسه طول لارو در زمان تفریح بین مراحل اول و دوم اسپرم گیری در تاس ماهی ایرانی

همچنین نتایج حاصل از بررسی کیفیت اسپرم در دو مرحله اسپرم گیری در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲: میانگین پارامترهای اسپرم شناختی در دو اسپرم گیری

پارامتر	اسپرم گیری	اول	دوم
درصد تحرک اسپرم (%)	۷۸/۵ ± ۵/۴۳	۵۰/۰ ± ۲۰/۲۵	
طول دوره تحرک اسپرم (ثانیه)	۳۱۵/۸۳ ± ۱۶۲/۱۶	۲۱۲/۵ ± ۱۱۰/۵۳	
تراکم اسپرم (سلول در میلی لیتر)	$۲/۱ \times 10^9 \pm ۱/۳ \times 10^9$	$۰/۵۵ \times 10^9 \pm ۰/۳۴ \times 10^9$	
اسپرماتوکریت (%)	۹/۳۳ ± ۳/۳۲	۳/۴۲ ± ۳/۳۵	
pH اسپرم	۸/۴۱ ± ۰/۵۳	۸/۰۵ ± ۰/۳۳	

## بحث

در اغلب گونه‌ها اسپرم دارای دوره کوتاهی از تحرک رو به جلو (از ۳۰ ثانیه تا چند دقیقه) بعد از رها شدن به محیط خارجی می‌باشد (۲۶). اسپرم ماهیان خاویاری نیز به مدت چندین دقیقه دارای تحرک بوده (۱۵، ۱۸ و ۲۸). به طوری که Akcay و همکاران (۴) اعلام نمودند این زمان در مورد ماهیان خاویاری ۴-۸ دقیقه می‌باشد. علیپور و همکاران (۸) نیز طول مدت حرکت رو به جلوی اسپرم را در دو گونه تاس ماهی ایرانی و اوزون برون به ترتیب ۳۴۰ و ۱۶۵ ثانیه گزارش نمودند. Alavi و همکاران (۶) در یک مطالعه دیگر به این نتیجه رسیدند که طول مدت حرکت رو به جلوی اسپرم در تاس ماهی ایرانی ۱۴۳ ثانیه بوده که ممکن است این تفاوت موجود در داده‌ها به علت تنوع ویژگی‌های وزنی، طولی، سنی و بسیاری از فاکتورهای دیگر مرتبط با ماهیان نر استفاده شده، در هر تحقیق باشد. در برخی مطالعات مدت زمان تحرک اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری بین ۲۰-۳ دقیقه اندازه‌گیری شده است، که در مورد فیل ماهی ۱۳ دقیقه و تاس ماهی ایرانی ۵-۱/۵ (۵) گزارش گردیده است.

Cosson و همکاران (۱۲) طول دوره تحرک اسپرم ماهیان خاویاری و پاروپوزه را حدود ۶-۳ دقیقه اعلام و گزارش نموده‌اند که به ندرت دوره تحرک اسپرم بیش از ۹ دقیقه طول می‌کشد و همچنین Billard و همکارانش (۱۰) طول دوره تحرک اسپرم تاس ماهیان را حدود ۱ تا بیش از ۵ دقیقه گزارش کردند که همگی در جهت تأیید نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد.

برادران نویری و همکاران (۱) میزان تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت در تاس ماهی ایرانی را به ترتیب  $۲/۹۲ \pm ۱/۴۸ \times 10^9$  و  $۰/۱۱ \pm ۰/۰۸ \times 10^9$  و Ginsburg و همکاران (۱۶) و Ahmadian (۳) مقدار کمینه، بیشینه و میانگین تراکم اسپرم برای تاس ماهی ایرانی را به ترتیب  $۰/۶ \times 10^9$ ،  $۱/۵ \times 10^9$  و  $۰/۶۴ \times 10^9$  اسپرماتوزوآ در هر میلی‌لیتر گزارش نموده‌اند.

Gallis و همکاران (۱۵) گزارش کردند که اسپرم تاس ماهی سیبری (*A. baeri*) دارای ظرفیت بافری بالایی بوده و pH فیزیولوژیکی مایع منی را تقریباً ۸/۱ اعلام نمودند که به میزان pH مایع منی تاس ماهی ایرانی در این مطالعه نزدیک می‌باشد. در این راستا

در نتایج حاصل از تأثیر اسپرم‌های استحصالی بر میزان رشد و اندازه لاروهای حاصل در دو اسپرم‌گیری انجام شده ما را به سوی این نتیجه سوق می‌دهد که استفاده از اسپرم‌های بدست آمده طی یک بار اسپرم‌گیری تولید لاروهای بیشتر با میزان طول بالاتری را به دنبال خواهد داشت و در نهایت مسلماً شاهد تکثیر موفق‌تری خواهیم بود. بنابراین با توجه به اهمیت دستیابی به بازده بیشتر تکثیر و تولید لاروهای با کیفیت بالاتر در تکثیر مصنوعی تاس ماهی ایرانی و نتایج کسب شده پیشنهاد می‌گردد از اسپرم مرحله دوم در مراکز تکثیر استفاده نشود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی و انستیتو تحقیقات بین‌المللی دکتر دادمان رشت و همچنین جناب آقای مهندس محمدی کارشناس بخش تکثیر مرکز تکثیر و پرورش شهید بهشتی سپاسگزاری می‌گردد.

### منابع

۱. 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، شماره ۷۵، صفحه‌های ۱۴۴-۱۳۸.

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

Williot و همکاران (۳۰) در مورد تاس ماهی سیبری پرورشی (*Acipenser baeri* Brandt)، pH اسپرم را بیش از ۷/۵ گزارش کردند.

در این تحقیق میانگین و انحراف معیار نرخ تفریح در اسپرم‌گیری اول برابر  $21/07 \pm 62/5$  و در مرحله دوم اسپرم‌گیری برابر  $21/92 \pm 34/83$  درصد بدست آمد که اختلاف نرخ تفریح در دو تکرار چشمگیر و معنی‌دار بوده و به کیفیت اسپرم‌های استحصالی مرتبط می‌باشد. در تکثیر مصنوعی آبزیان اغلب کیفیت گامت‌های نر به عنوان یک عامل مهم و مؤثر بر میزان تفریح و رشد لارو نادیده گرفته می‌شود (۲۴). در این راستا Babiak و Ottesen (۲۰) در مورد ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس گزارش کردند که کیفیت مولد نر بر روی طول استاندارد لاروها تأثیر زیادی داشت. Singh و همکاران (۲۷) نیز اعلام نمودند که کیفیت اسپرم، فاکتوری بسیار مهم در تولید موفق لاروها می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان رشد (طول بدن) لاروها در هر دو مرحله تفریح و شروع تغذیه فعال بین دو تکرار اسپرم‌گیری دارای اختلاف معنی‌دار بود و لاروهای حاصل از اسپرم‌گیری اول دارای طول بدن بیشتری بودند.

در تحقیق انجام شده سعی گردید نگاهی جدید به مشکل کمبود مولدین نر خاویاری در مراکز تکثیر و پرورش که طی سال‌های اخیر پررنگ‌تر شده است صورت پذیرد. بر اساس بررسی‌های انجام شده و با توجه به این که تمام پارامترهای اسپرم شناختی مورد مطالعه در اسپرم‌گیری اول نسبت به اسپرم‌گیری دوم، میزان بالاتری را نشان می‌دهند می‌توان به این نتیجه رسید که شرایط و کیفیت اسپرم در تکرار اول اسپرم‌گیری وضعیت بهتری داشته است. همچنین دقت

3. Ahmadian, N., 2000. Comparative study on fertilization of egg in Persian sturgeon , *Acipenser persicus* , using sperm activation solution . M.Sc Thesis, Tarbiat Modarres University. 55p.
4. Akcay, E.; Bozkurt, Y.; Secer, S.; Tekun, N., 2004. Cryopreservation of Mirror Carp Semen. *Turk J Vet Anim Sci.* 28, 837-843.
5. Alavi, S.M.H. and Amiri, B.M., 2001. Comparative study on motility duration of Persian sturgeon *Acipenser persicus*, spermatozoa diluted in freshwater and saline solutions. In 4<sup>th</sup> International Symposium on Sturgeon, July 8-13 , Oshkosh, Wisconsin, USA, AQ23.
6. Alavi, S.M.H.; Cosson, J.; Karami, M.; Amiri, B.M. and Akhoundzadeh, M.A., 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction* .128, 819-828.
7. Alavi, S.M.H.; Cosson, J. and Kazemi, R., 2006. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping. *J. Appl. Ichthyol.* 22.400-405.
8. Alipour, A.; Bradaran Noveiri, S.; Nowruzfashkhami, M.R. and Pourkazemi, M., 2009. Fertilizing ability of cryopreserved spermatozoa in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Iranian journal of Fisheries Science.* Vol(8): 1-12.
9. Billard, R.; Cosson, J.; Perchec, G. and Linhart, O., 1995a. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 124. 95-112.
10. Billard, R.; Cosson, J.; Fierville, F.; Brun, R.; Rouault, T. and Williot, P., 1999. Motility analysis and energetics of the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*, spermatozoa. *Journal of Applied Ichthyology.* 15:199-203.
11. Billard, R., 2000. Biology and control of reproduction of sturgeon in fish farm. *Iranian Journal of Fisheries Science* 21-20.
12. 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 platyrhynchus*) spermatozoa *Journal of Fish Biology* 56 1348-1367.
13. Dettlaff, T.A.; Ginsburg, A.S. and Schmalchhausen, O.I., 1993. Sturgeon fishes. In: *Developmental Biology and Aquaculture*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 67-71.
14. Dietrich, G.J.; Kowalski, R.; Wojtczak, M.; Dobosz, S.; Goryczkoand, K. and Ciereszko, A., 2005. Motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa in relation to sequential collection of milt, time of post-mortem storage and anesthesia . *Fish Physiology and Biochemistry.* 31: 1-9.
15. Gallis, J.L.; Fedrigo, E.; Jatteau, P.; Bonpant, E. and Billard, R., 1991. Siberian sturgeon spermatozoa: Effects of dilution, pH, osmotic pressure, sodium and potassium ions on motility. In: *Acipenser* . P. Williot, (Ed). Cemagref, Bordeaux, pp. 143-151.
16. Ginzburg, A.S., 1968. Fertilization of Fishes and the Problem of Polyspermy, Moscow Academy of Science USSR [Translation by NOAA and National Science Fondation . New York. 345p.
17. Hanjavanit, C.; Kitancharoen, N. and Rakmanee, C., 2008. Experimental Infection of Aquatic Fungi on Eggs of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burch). *KKU Science Journal*, 36-43.
18. Linhart, O.; Mims, A.D. and Shelton, W.L., 1995. Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus Rafinesque*) 1820 and paddlefish (*Polyodon spathula walbaum*) 1797. *Fish Biol.*, 47: 902-909.
19. Linhart, O.; Kudo, S.; Billard, R.; Slechta, V. and Mikodina, Y.V., 1995. Morphology composition and fertilization of carp eggs: a review, *Aquaculture* 129, pp. 75-93.
20. 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.

21. Piros, B.; Glogowski, J.; Kolman, R.; Rzemieniecki, A.; Domagala, J.; Horvath, A.; Urbanyi, B. and Ciereszko, A., 2002. Biochemical characterization of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, and starlet, *Acipenser ruthenus*, milt plasma and spermatozoa. *Fish Physiol Biochem.* 26, 289-295.
22. Pourkazemi, M., 2006. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: Past, Present and future. *Journal of Applied Ichthyology.* 22(1):12-16.
23. Rakitin, A.; Ferguson, M. and Trippel, E., 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic Cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture.* 170:349-358.
24. Rideout, R.M.; Trippel, E.A. and Litvak, M.K., 2004. Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock. *Journal of Fish Biology.* 65:319-332.
25. 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.
26. Scott, A.P. and Baynes, S.M., 1980. Handling Storage of Salmonid Spermatozoa. *J Fish Biol.* 17: 707-739.
27. Singh, P.B.; Sahu, V.; Singh, V.; Nigam, S.K. and Singh, H.K., 2008. Sperm motility in the fishes of pesticide exposed and from polluted rivers of Gomti and Ganga of north India. *Food and Chemical Toxicology.* 46, 3764-3769.
28. Toth, G.P.; Ciereszko, A.; Christ, S.A. and Dobrowski, K. 1997. Objective analysis of sperm motility in the lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*): activation and inhibition conditions *Aquaculture* 154 337-348.
29. Tvedt, H.B.; Benfey, T.J.; Martin-Robichaud, D.J. and Power, J., 2001. The relationship between spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture*, 191: 191-200.
30. Williot, P., Kopeika, E.F. and Goncharov, B.F., 2000: Influence of testis state, temperature and delay in semen collection on spermatozoa motility in the cultured Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Aquaculture* 189, 53-61.