روش‌های ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان

شهروز برادران نویری*[1]، محمد حسن زاده صابر[1]

۱- بخش ژنتیک و بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۷

چکیده

با گسترش فعالیت‌های آبزی‌پروری، توجه به کیفیت سلول‌های جنسی مولدین روز به‌روز افزایش یافته است. لقاح سلول‌های جنسی ماده با اسپرم مناسب، منجر به بالارفتن بازده تکثیر در تمام مراحل (درصد لقاح، تفریخ، بقا و رشد) می‌شود. کیفیت سلول‌های جنسی دخیل در تکثیر ماهیان به عوامل زیادی بستگی داشته و تاثیر هر یک از این عوامل می‌تواند در گونه مورد نظر بسیار متغیر باشد. لذا تعاریف مختلفی از واژه "کیفیت" در منابع به چشم می‌خورد. از طرفی، روش‌های ارزیابی کیفیت با توجه به پیشرفت‌های علمی و ابزاری، خود مرتباً دچار تحول شده و از دیدگاه‌های مختلفی بدان پرداخته شده است. بررسی اسپرماتوزوآ، به‌دلیل خصوصیات منحصربه‌فرد سلولی و دسترسی آسان‌تر نسبت به تخمک، توسط محققین مختلفی صورت گرفته و نقطه نظرات مربوط به شاخص‌های ارزیابی کیفیت آن در حال گسترش است. در این مقاله ضمن مروری مختصر بر مهم‌ترین خصوصیات سلولی و مورفولوژیک اسپرماتوزوآ در ماهیان، مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی و عواملی که بر آن‌ها تاثیر می‌گذارند نیز مورد بحث قرار گرفته است. گرچه محققین بسیاری در مورد هر یک از این شاخص‌ها و بهبود کیفیت آن‌ها مطالعات ارزشمندی ارائه داده‌اند، معهذا آزمایشات بررسی تحرک اسپرم و انجام لقاح، هنوز به‌عنوان قابل‌قبول‌ترین، عملی‌ترین و ساده‌ترین روش‌های ارزیابی متداول و پیشرفته کیفیت اسپرماتوزوآ در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند.

کلمات کلیدی: ماهی، اسپرم، کیفیت، ارزیابی، تحرک.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). shahrouzbn170@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

مقدمه

افزایش تعداد گونه‌های ماهیان پرورشی و توجه بیش‌تر به گونه‌هایی که شرایط تکثیر طبیعی آن‌ها در خطر است (FAO, 2016)، سبب شده تا سنجش کیفی سلول‌های جنسی مولدین با دقت بیش‌تری انجام شود. کنترل تکثیر درآبزی‌پروری موضوعی بسیار با اهمیت بوده و کیفیت گامت‌ها همواره یکی از عوامل تاثیرگذار در موفقیت لقاح به‌شمار می‌رود. امروزه ارتقاء کیفی سلول‌های جنسی مولدین در مراکز تکثیر ماهیان، یکی از گزینه‌های افزایش کارایی فعالیت‌های تکثیر انواع ماهیان است. کیفیت سلول‌های جنسی درمولدین وحشی یا مولدین پرورشی تحت تاثیر عوامل زیادی قرار داشته و می‌تواند بسیار متغیر باشد. به‌همین دلیل، بررسی کیفیت سلول‌های جنسی نر به منظور توسعه آبزی‌پروری و گسترش فناوری‌های نوین نیز مورد توجه روزافزون قرار گرفته است (Mylonas *et al*., 2010; Cabrita *et al*., 2014). اما هنوز طیف عوامل موثر، مکانیسم اثر، واکنش‌های متقابل و اهمیت این موارد تاثیرگذار، نیاز به بررسی بیش‌ترداردBobe (and Labbe, 2010). اثر نسبی هر یک از این عوامل برکیفیت سلول‌های جنسی می‌تواند بسیار متغیر بوده و در بسیاری از موارد هنوز به‌خوبی شناخته نشده است. بنابراین، شناسایی اثر یک عامل بر اسپرم یک گونه، نباید سبب توقف مطالعات مشابه بر روی اسپرم سایر گونه‌ها شود. از طرف دیگر معنای" کیفیت" در مطالعات انجام شده معمولاً به‌خوبی تعریف نشده و شاخص‌های متفاوتی برای سنجش آن به‌کار رفته است.

در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان، بیش‌تر به بررسی کیفیت تخمک‌ها و لاروهای حاصله پرداخته شده و کیفیت اسپرم کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد (de Oliveira Felizardo *et al*., 2016; Migaud *et al*., 2013) ، لذا در این مقاله ضمن اشاره به لزوم توجه بیش تر به سلول‌های جنسی نر، به‌طور خلاصه به خصوصیات سلولی و عوامل موثر برکیفیت این سلول‌ها پرداخته و برخی از رایج‌ترین شاخص‌های سنجش کیفیت اسپرم ماهیان مورد بحث قرار می‌گیرد.

خصوصیات اسپرم ماهی

خصوصیات ظاهری و درون سلولی اسپرم، بازتابی از شرایط تولید مثل و محیطی است که ماهی در آن زیست کرده و پس از ورود به تخمک، زاده های سالم به وجود می‌آورد(شکل ۱). بنابراین بررسی، ثبت و پی گیری تغییرات مرتبط با عوامل مذکور می‌تواند راه گشای علمی افزایش بازده مراکز تکثیر، مراکز حفظ خزانه ژنی و پژوهش‌های آینده باشد (اسپرم ماهیان در مایع سمینال بی‌تحرک بوده و تحرک آن، به‌محض تماس با محیط خارجی القا می‌شود) (Rurangwa *et al*., 2004; Cosson, 2008). در زیر به طور اجمال به برخی از مهم‌ترین خصوصیات اسپرم ماهیان اشاره می‌شود.

۱- غشای اسپرم

غشای پلاسمایی سر اسپرماتوزوا به هستک بسیار نزدیک بوده و بین این دو، فقط لایه‌ای بسیار نازک از سیتوپلاسم وجود دارد. غشای اسپرماتوزوا، نقش اصلی را در فعال شدن و تحرک اسپرم بر عهده دارد. باز و بسته شدن کانال‌های یونی که مسئول القای حرکات ضربه‌ای تاژک در زمان رهاسازی در داخل آب هستند (Cosson, 2008)، در سطح این غشاء اتفاق می‌افتد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

۲- هسته

سازماندهی هسته اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان، بسیار متنوع است. در بسیاری موارد، هسته در یک تورفتگی قرار دارد که منشاء آکسونم است. شکل هسته، طول محل اتصال تاژک به سر را مشخص می کند. انواع پروتئین‌های هسته در اسپرم ماهیان می‌توانند نشان‌دهنده طول کروماتین و میزان متراکم شدن آن باشند. میزان متراکم شدن کروماتین نیز به نوبه خود، مقدار مقاومت DNA به صدمات شیمیایی و مکانیکی آن را نشان می‌دهد. بنابراین حفظ پایداری DNA در اسپرم ماهیان به دلیل نیاز به DNA سالم جهت انتقال به نتاج، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Cabrita *et al*., 2005).

۳- میتوکندری‌ها

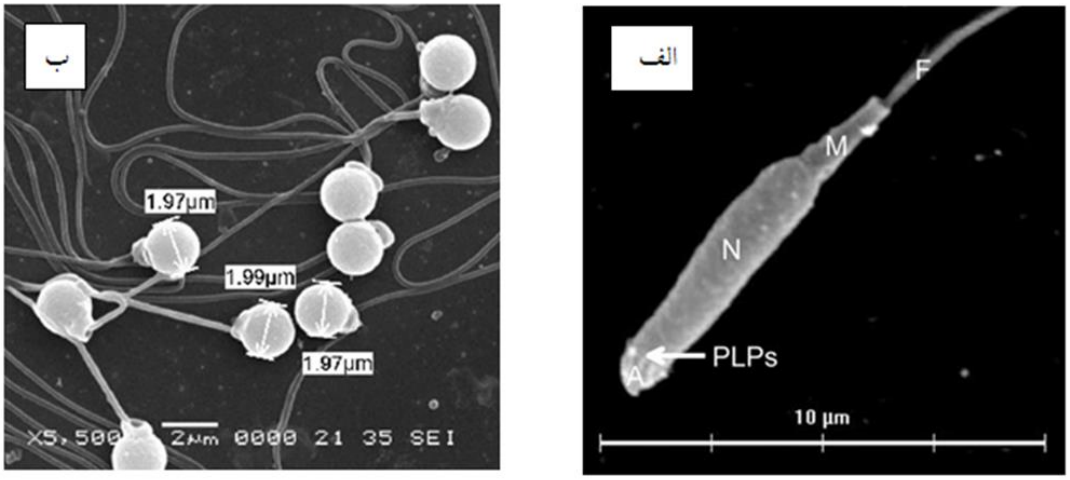
منبع تامین انرژی در سلول‌های اسپرم، میتوکندری ها هستند که تعدادشان در گونه‌های مختلف ماهیان از یک عدد در آزادماهیان (Salmonidae) تا ۱۵ عدد در دهان‌لانه‌ماهیان (Apogonidae) گزارش شده است (Lahnsteiner and Patzner, 2009). این اندامک‌ها که در بخش میانی اسپرم وجود دارند به مجموعه سانتریولی ابتدای تاژک متصل بوده و ATP مورد نیاز برای حرکت را تولید می‌کنند (Cosson, 2008). در بسیاری از ماهیان، میتوکندری‌ها به‌شکل حلقوی بوده (Cosson *et al*., 2008) اما اشکال دیگری نیز از این اندامک‌ها در گونه‌های مختلف گزارش شده است (Lahnsteiner and Patzner, 2009).

۴- تاژک

تاژک (آکسونم) در اسپرم بسیاری از گونه های ماهیان، از یک مجموعه مشخص، متشکل از ۹ جفت میکروتوبول جانبی و یک جفت میکروتوبول مرکزی تشکیل شده است (ساختمان ۲+۹ لوله‌ای). هر میکروتوبول، استوانه‌ای است که دیواره آن از ۱۲ پروتوفیلامنت ساخته شده است. این پروتوفیلامنت‌ها از دایمرهای پلیمریزه شده توبولین تشکیل شده‌اند. سر خوردن هر جفت میکروتوبول بر روی جفت کناری، از طریق واکنش‌های شعاع‌های داینئین داخلی و خارجی و مصرف ATP انجام می‌شود (Cosson, 2008; Inaba, 2008). طول تاژک در اسپرم انواع ماهیان بین ۲۰ تا ۱۰۰ میکرومتر گزارش شده است (Cosson *et al*., 2008). موج سینوسی یا شبه‌سینوسی تولید شده در ابتدای تاژک، در طول آن حرکت کرده و تا رسیدن به انتها، با جابجایی مایعی که در آن شناور است، سر اسپرم را به جلو حرکت می‌دهد. بنابراین هرگونه تغییر ساختاری در طول این رشته مثل شکستگی، بریدگی، خم شدگی و یا تورم به دلیل شرایط نامساعد اسمزی، سبب کاهش قابلیت‌های حرکتی اسپرم خواهد شد (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۱، Taddei *et al*., 2001; Alavi *et al*., 2008).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]



شکل ۱: تصاویر اسپرم در (الف) تاسماهی ایرانی(*Acipernser persicus*) (Hatef *et al*., 2011) و (ب) ماهی حوض (*Carassius auratus*) (Xiao *et al*., 2011). (A آکروزوم، PLPs استطاله‌های آکروزومی، N هسته، M قطعه میانی، F تاژک،)

تعریف کیفیت اسپرم

تعاریف متعددی از واژه کیفیت اسپرم در متون مختلف ارایه شده است اما به‌نظر می‌رسد تمامی محققین در تعریف کیفیت اسپرم به‌عنوان "توانایی اسپرم در تولید جنین‌های زنده و سالم، پس از تماس با تخمک‌های سالم در محیطی مناسب" اتفاق نظر کلی داشته باشند(Cabrita *et al*., ; Mylonas *et al*., 2010 2009). در این تعریف چند عامل مورد توجه قرار گرفته است: توانایی اسپرم در رسیدن به تخمک (تحرک)، توانایی اسپرم در ورود به داخل تخمک از طریق میکروپیل یا هضم غشا تخمک، توانایی الحاق سالم دو دسته کروموزومی پدری و مادری و در نهایت شرکت در ساختار وراثتی جنین‌ها با اهدای ژنوم سالم. بنابراین برای تعریف واژه کیفیت نمی‌توان به یک یا چند خصوصیت یا شاخص از موارد نام برده شده بسنده کرد، زیرا واژه کیفیت بیان‌گر یک سازش کلی(overall fitness) از سلول‌های اسپرمی است که در مایع منی شناورند. از دیدگاه تئوری، هر عاملی که بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اسپرم تاثیر گذاشته و نتایج آن در لقاح، قابل سنجش باشد، می‌تواند به‌عنوان یک شاخص ارزیابی کیفیت اسپرم در نظر گرفته شود (Rurangwa *et al*., 2004; de Oliveira Felizardo *et al*., 2016).

شاخص های ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان (شاخص‌های متداول، شاخص‌های پیشرفته)

تاکنون با توجه به اهداف تحقیق، شاخص‌های مختلفی در مطالعات ارزیابی کیفی اسپرم ماهیان مورد توجه قرار گرفته‌اند که شامل مواردی هم‌چون تراکم، اسپرماتوکریت، pH، اسمولالیته مایع سمینال، ترکیبات یونی مایع سمینال، مقدار ATP سلولی، شاخص‌های فعالیت‌های آنزیمی، درصد تحرک، مدت زمان تحرک، سرعت تحرک، شاخص مستقیم بودن تحرک، توانایی لقاح، سلامت مورفولوژیک و سلامت ساختار هسته (Rurangwa *et al*.,2004; Cosson *et al*., 2008; Fauvel *et al*., 2010; Cabrita *et al*., 2014) می‌باشند. شاخص‌های متداولی که در یک ارزیابی کلی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

مورد سنجش واقع می‌شوند معمولاً شامل موارد ذیل می‌شود:

تراکم

سنجش تعداد اسپرم در واحد حجم نمونه، یکی از ارزان‌ترین راه‌های مقایسه‌ای نمونه‌های اسپرم است (Alavi *et al*., 2008; Cosson *et al*., 2008, Fauvel *et al*., 2010). اما قابل ذکر است که که برای یک ارزیابی آماری درست، رقیق‌سازی مناسب و بررسی چند باره هر نمونه، باید مورد توجه قرار گیرد. این موضوع علیرغم دقت زیاد در کار با لام‌های شمارش سلولی، زمان‌بر بوده و در صورت وجود تعداد زیاد نمونه، برای کاربر خسته‌کننده خواهد بود. روش‌های تخمین تراکم اسپرم از روی اسپرماتوکریت (Baradaran Noveiri *et al*., 2006) و اسپکتروفتومتری (علیپور و همکاران، ۱۳۹۱ ، Fauvel *et al*., 2010) از جمله روش‌هایی ارزیابی سریعی است که به‌جای شمارش مستقیم سلولی، مورد استفاده قرار گرفته اند. هر چند که در این تکنیک‌ها، علاوه بر آن‌که برای کالیبره کردن نمونه‌های استاندارد، نیاز به شمارش مستقیم اسپرم با لام هموسیتومتر است، تعیین بهترین نسبت رقیق‌سازی اسپرم برای هر گونه و مناسب‌ترین طول‌موج دستگاه برای سنجش، از دیگر چالش‌های این ارزیابی‌هاست(Cosson *et al*., 2008).

اسپرماتوکریت

وجود همبستگی قوی بین اسپرماتوکریت (نسبت سلول‌های اسپرم به حجم نمونه منی) و تراکم سلولی در نمونه اسپرم آزادماهیان، سوف‌ماهیان، کپورماهیان، کفشک ماهیان و ماهیان خاویاری نشان داده شده است (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۶، Alavi *et al*., 2008). استفاده ازشاخص اسپرماتوکریت می‌تواند در شرایط تراکم پایین سلولی (در ماهیان خاویاری) و یا قابلیت پایین رسوب سلولی (در ماهیان دریایی) مفید باشد، هر چند که در تعیین این شاخص نیز باید دور سانتریفوژ و مدت زمان آن تنظیم شود (Baradaran Noveiri *et al*., 2006; Gwo, 2009). از طرفی، چنانچه بررسی خصوصیات مورفولوژیک اسپرم در تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی مد نظر باشد، شدت سانتریفوژ برای به حداقل رساندن تخریب‌های فیزیکی می‌بایست مورد توجه قرار گیرد (Fauvel *et al*., 2010). همان‌گونه که ذکر شد در سال‌های اخیر از روش‌های فلوسیتومتری و اسپکتروفتومتری نیز برای تخمین تراکم اسپرم ماهیان استفاده شده، اما به دلیل هزینه بالای تجهیزات، تنها تعداد محدودی از آزمایشگاه‌ها امکان بهره‌برداری از این روش‌ها را دارند. انتخاب هر یک از این روش‌ها برای ارزیابی اسپرماتوکریت، بستگی به امکانات آزمایشگاهی، نیاز به دقت، پوشش هزینه‌ها و زمان‌بری تکنیک دارد.

تحرک

بررسی و سنجش تحرک اسپرم، از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی به‌کاررفته در مطالعات اسپرم ماهیان است (برادران نویری و همکاران،۱۳۸۲ ، Khara *et al*., 2014). سنجش عوامل مختلف این شاخص کیفی، می‌تواند از روش‌های ساده مشاهده زیر میکروسکوپ معمولی تا روش‌های پیچیده تصویربرداری زیر میکروسکوپ زمینه تاریک (dark field) و استفاده از روش‌های تعیین سرعت رایانه‌ای

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

(computer assisted sperm analysis)، متنوع باشد (Cabrita *et al*., 2009).

مدت زمان تحرک و درصد تحرک از جمله ساده ترین شاخص‌هایی است که در ارزیابی تحرک اسپرم ماهیان استفاده می‌شود (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۷؛ Fauvel *et al*., 2010; Khara *et al*., 2013). در ارزیابی درصد تحرک، تخمین چشمی از ساده‌ترین روش‌هاست (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۲؛ Aramli *et al*., 2015a). هرچند که در این بررسی، اجرای نسبت صحیح رقت، اطمینان از اختلاط یک پارچه نمونه اسپرم با مایع فعال‌کننده (Cosson *et al*., 2008) و اجتناب از درنظر گرفتن حرکت سلول به‌علت حرکت توده آب (Hatef *et al*., 2007)، خود نیاز به تجربه زیادی دارد. شاخص‌های شکل و فرکانس زنش تاژک و انواع سرعت‌های اسپرم از جمله سایر مشخصه‌هایی هستند که در بررسی تحرک اسپرم ماهیان مورد سنجش قرار گرفته‌اند (برادران نویری و همکاران، در دست چاپ؛ Cosson *et al*., 2008). از روش‌های ارزیابی تحرک، در بررسی اسپرم‌های دست‌کاری ژنتیکی شده در مطالعات القای ماده‌زایی در ماهیان نیز استفاده شده است (Hassanzadeh Saber *et al*., 2008; Grozea *et al*., 2013; Hassanzadeh Saber *et al*., 2014).

اعتقاد بر این است که شاخص‌های تحرک اسپرم، بازتاب کلی از کارایی صحیح هسته، واکنش‌های آنزیمی درون‌سلولی و مورفولوژی بیرونی است و می‌تواند به‌طور نسبی، ارزیابی سریع و همه‌جانبه‌ای برای مجموعه این موارد باشد (Bobe and Labbe, 2010).

pH

محدوده قابل‌تحمل pH برای اسپرم هر گونه متفاوت بوده و این شاخص از جمله اولین شاخص‌هایی است که باید در ارزیابی دقیق نمونه‌ها مورد بررسی قرار گیرد. گفته شده که تغییرات هر چند اندک در pH، سبب بروز تغییرات متنوعی در سایر شاخص‌ها (به خصوص تحرک) می‌شود (Alavi and Cosson, 2005; Alavi *et al*., 2008). تعیین این محدوده در مطالعات حفظ و نگهداری کوتاه‌مدت یا بلندمدت اسپرم انواع ماهیان اهمیت بسیار داشته و توسط محققین مختلف مورد تاکید قرار گرفته است (Ciereszko *et al*., 2010).

فشار اسمزی

قرار گرفتن اسپرم‌ها در مایع سمینال با فشار اسمزی مشخص هر گونه (ایزوتونیک)، علت بی‌تحرکی آن بوده و به محض تغییر این شاخص، تحرک در اسپرم‌ها القا می‌شود (Cosson *et al*., 2008). به کمک این شاخص می‌توان مناسب بودن شرایط نگهداری اسپرم (Alavi *et al*., 2008) و یا تکثیر طبیعی گونه‌های مختلف را مورد ارزیابی قرار داد (بهمنی و همکاران،۱۳۸۶). بنابراین با بررسی این شاخص می‌توان به تاثیر آن در القای تحرک پی برده و از این اطلاعات در تعریف محلول‌های رقیق‌کننده (extender)، القاکننده تحرک (activator) و یا ممانعت‌کننده تحرک (immobiliser) استفاده کرد (Aramli *et al*., 2013).

توانایی لقاح نمونه‌های اسپرم

تحرک اسپرم، صرف نظر از ارایه یک ارزیابی سریع و کلی از کیفیت نمونه مورد بررسی، باید در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

صورت امکان با آزمایش لقاح مورد ارزیابی نهایی قرار گیرد. زیرا در مواردی، علیرغم تحرک مناسب اسپرم، شاخص‌های لقاح بسیار پایینی گزارش شده است (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۱، Babiak *et al.*, 1995). لقاح، به‌طور کلی جمعیت اسپرمی استحصال شده را ارزیابی می‌کند در حالی که در سایر بررسی‌ها، تنها تعداد اندکی از سلول‌های اسپرم نمونه‌برداری شده شانس آن را پیدا می‌کنند تا مورد ارزیابی قرار گیرند (Bobe and Labbe, 2010). به‌علاوه، چالش‌های ایجاد شده در فرایندهای ارزیابی اسپرم، می‌تواند بر DNA آن تاثیر مخرب گذاشته و نتاج ناسالمی ایجاد کند (Cabrita *et al.*, 2005).

بسیاری از محققین اعتقاد دارند که شاخص‌های ارزیابی لقاح، از مهم‌ترین شاخص‌های مورد تاکید در ارزیابی اسپرم انواع ماهیان هستند(برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۱، دادرس و همکاران، ۱۳۸۸، پورکاظمی و همکاران، ۱۳۹۱). اما باید در نظر داشت که این شاخص‌ها خود به مشخصه‌های دیگری هم‌چون کیفیت تخمک، نسبت اسپرم به تخمک و شرایط انکوباسیون وابسته بوده و یک‌سان‌سازی یا استاندارد کردن شرایط بررسی عملاً ناممکن به نظر می‌رسد (Cabrita *et al.*, 2009). موضوع دیگری که بررسی شاخص‌های مختلف لقاح را در ارزیابی اسپرم مشکل می‌کند، طی مدت زمانی (چندین ساعت) است که برای شاخص‌های لقاح (درصد لقاح، درصد نورولاسیون، درصد تفریخ) مورد نیاز است. این شاخص‌ها به‌دلیل زمان‌بری طولانی، در بسیاری از فعالیت‌های اجرایی که در آن‌ها تنها نیاز به یک ارزیابی هرچه سریع‌تر اسپرم است، عملاً کارایی خود را از دست می‌دهند. شاخص درصد تفریخ جنین‌ها نیز علیرغم اهمیت بسیار زیاد آن در تایید نهایی کیفیت اسپرم‌های به‌کاررفته، به‌دلیل زمان‌بری چند روزه، کم‌تر مورد استفاده قرار گرفته است. متاسفانه به‌دلیل زمان‌بری و نیاز به امکانات زیاد انکوباسیون در مطالعات اسپرم ماهیان، ، بررسی این شاخص‌ها در ارزیابی‌ها دیده نمی‌شود. با همه این احوال، درصد لقاح، درصد نورولاسیون، درصد چشم‌زدگی و درصد بازماندگی لاروها از شاخص‌هایی هستند که در بررسی کیفی اسپرم برخی از ماهیان مورد سنجش قرار گرفته‌اند (Babiak *et al.*, 1995; Dadras *et al.*, 2014).

به‌طورکلی، می‌توان گفت هرچند شاخص‌های لقاح، به‌عنوان شاخص‌های غیرمستقیم ارزیابی کیفی اسپرم در نظر گرفته می‌شوند (Rurangwa *et al.*, 2004) ، اما باید خاطر نشان کرد از آن‌جایی که وظیفه نهایی اسپرم، انتقال صحیح اطلاعات ژنتیکی مولد نر به نتاج است، این شاخص‌ها یک دیدگاه کلی نسبت به توانایی جمعیتی از اسپرم‌های مورد آزمایش را نشان داده و در صورت امکان باید ارزیابی شوند.

شاخص‌های پیشرفته‌تری نیز در ارزیابی کیفیت اسپرم ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است که با توجه به اهداف و امکانات تحقیق، به‌شرح ذیل قابل اجرا می‌باشند:

شاخص‌های یونی

تاکنون اثر القاکنندگی یا ممانعتی تعدادی از یون‌ها بر قابلیت‌های حرکتی اسپرم انواع ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است (Alavi *et al.*, 2008; Khara *et al.*, 2012). یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم، کلر و منیزیوم، به‌دلیل تاثیر مستقیم در فعال‌سازی یا غیرفعال‌سازی واکنش‌های آنزیمی موثر در تحرک اسپرم، از مهم‌ترین

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

یون‌های بررسی شده در ماهیان هستند (Cabrita *et al.*, 2009). هر یک از این یون‌ها یا ترکیبات آن‌ها می‌تواند بر روی خصوصیات تحرک اسپرم گونه‌های ماهیان مختلف، اثر القاکننده یا بازدارنده داشته باشد (برادران نویری و همکاران،۱۳۸۴، خارا و همکاران،۱۳۹۱، خارا و همکاران، ۱۳۹۳).

مورفولوژی اسپرم

مطالعه مورفولوژی اسپرم، برای تحقیقات مقایسه‌ای، عملکردی و فیلوژنی ماهیان حائز اهمیت فراوان بوده (Lahnsteiner and Patzner, 2009; Psenicka *et al.*, 2010) و سلامت ساختاری سلول‌ها را مورد ارزیابی قرار می‌دهد (Cabrita *et al.*, 2009). مورفولوژی اسپرم، به‌شدت متاثر از عوامل فیزیکی و شیمیایی پیرامون خود است. شناسایی و ارزیابی تخریب‌های وارده بر سر یا تاژک اسپرم از مواردی است که از جنبه سلول‌شناسی و قابلیت‌های تحرک، اهمیت زیادی دارد (Billard *et al.*, 2000; Fauvel *et al.*, 2010). نیاز به تعیین تراکم مناسب، رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی اسپرم (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۴) و میکروسکوپ‌های قوی و اختصاصی (نوری، فاز کنتراست، الکترونی) ازجمله چالش‌هایی است که در این ارزیابی وجود دارد.

سنجش انرژی سلولی

انرژی لازم برای تحرک اسپرم، از هیدرولیز مولکول‌های ATP در بازوهای داینئین توبول‌های تاژک به‌دست می‌آید (Cosson 2008 ; Aramli *et al.*, 2015a). این ارزیابی در حال حاضر به کمک کیت‌های آماده و سنجش طیف‌های نوری تغییر یافته، انجام می‌شود (Fauvel *et al.*, 2010). کاهش محتوای انرژی اسپرم در ماهیان، همبستگی شدیدی با کاهش شاخص‌های تحرک هم‌چون مدت زمان تحرک، درصد تحرک و انواع سرعت‌های اسپرم نشان داده است (Billard *et al.*, 1999; Aramli *et al.*, 2015a).

سلامت غشای خارجی اسپرم

غشاء خارجی اسپرم مسئول جابه‌جایی یون‌ها، آب و الکترولیت‌ها مابین دو طرف داخل و خارج سلول است. برای بررسی چنین شاخص‌هایی، به‌عنوان ساده‌ترین روش‌های بررسی، رنگ‌آمیزی با رنگ‌های حیاتی یا فلورسنت هم‌چون ائوزین- نگروزین(eosin-nigrosin)، تریپان بلو (trypan blue)، سایبرگرین(SYBR green)، هوخست (Hoesct) ، پروپیدیوم آیوداید (Propidium iodide) و رودامین (Rhodamine) انجام شده و با شمارش و نسبت‌گیری سلول‌های مرده و زنده، نسبت اسپرم‌های با غشای سالم مشخص می‌گردد (Flajšhans *et al.*, 2004; Cabrita *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2014).

ارزیابی سلامت DNA

شاخص‌های این ارزیابی نیز از روش‌های نوین ارزیابی است که در سال‌های اخیر، به‌منظور بررسی اسپرم تعدادی از ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است (Li *et al.*, 2008; Baradaran Noveiri *et al.*, in press). در این سنجش، پیچیدگی شدید دو رشته DNA در محیط قلیایی باز شده و شکستگی‌های ایجاد شده به‌علت مواجهه با چالش مورد نظر (دارو، هورمون، دما، انجماد، سموم و ....) در هر یک از دو رشته DNA پس از الکتروفورز بر روی ژل و رنگ‌آمیزی، قابل

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

شناسایی و امتیازدهی می‌شوند(Cabrita *et al*., 2014). بالطبع، چنین روش‌هایی نیازمند تجهیزات پیشرفته، رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی و هزینه‌بر، تطبیق دادن و تنظیم روش کار و طولانی شدن مدت زمان تحقیق خواهد بود.

شناسایی عوامل اکسیداتیو

عوامل اکسیدکننده فعال (reactive oxygen species)، به‌طور طبیعی طی متابولیسم عادی سلول‌ها ایجاد می‌شوند. اما به‌محض این‌که مقدار این عوامل، از قابلیت‌های جبران سلول بالاتر رود، سبب پراکسیدشدن چربی‌ها و سایر مولکول‌های درون سلولی شده و باعث ایجاد تخریب‌های متنوعی در ساختار سلولی، ساختار DNA و عملکرد میتوکندری‌ها خواهند شد (Shaliutuna *et al*., 2014). ارزیابی آنزیم‌های دخیل در تولید یا خنثی‌کردن این عوامل اکسیداتیو، یکی دیگر از مواردی است که برای سنجش کیفی نمونه شاهد و اثر چالش وارده بر آن، در آزمایشگاه‌های مجهزتر انجام می‌شود (Cabrita *et al*., 2014; Shaliutina *et al*., 2014).

ارزیابی ناهنجاری‌های نتاج

از آنجا که هدف نهایی بررسی کیفیت اسپرم، دست‌یابی به بهترین شاخص‌های لقاح می‌باشد، بررسی و تعیین ناهنجاری‌های ژنی، کروموزومی و ریخت‌شناسی نتاج به‌دست آمده، می‌تواند تکمیل‌کننده اطلاعات ارزیابی‌های به‌کاررفته قبلی باشد. این موارد صرف‌نظر از زمان‌بری مطالعه، تاکنون بر روی تعدادی از ماهیان مطالعه شده است (Glogowski *et al*., 2002; Dadras *et al*., 2014; Aramli *et al*., 2015b).

لازم به ذکر است که شاخص‌های اشاره شده با توجه به نیازها ، تجهیزات و اهداف تحقیق تا حال حاضر در ماهیان مختلف تعریف و اجرا شده و مسلماً در آینده با گسترش فناوری‌ها و لزوم ارزیابی موارد دیگر، شاخص‌های جدیدی به این مجموعه اضافه خواهند شد.

عوامل موثر در کیفیت اسپرم ماهیان

کیفیت اسپرم به عوامل متنوعی از قبل از نمونه‌برداری، حین نمونه‌برداری و پس از آن بستگی دارد. از جمله عواملی که در منابع مختلف مورد مطالعه مقایسه‌ای قرار گرفته‌اند و تاثیر آن‌ها بر برخی از شاخص‌های کیفی اسپرم اثبات شده است، می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

از عوامل تاثیرگذار قبل از نمونه‌برداری می‌توان به سابقه ژنتیکی مولدین، سن مولدین، زمان نمونه‌برداری با توجه به فصل تکثیر، تغذیه مولدین، کیفیت بهداشتی مولدین، کیفیت آب حوضچه‌های نگهداری مولدین، استرس حمل‌ونقل مولدین، دز و نوع هورمون‌های به‌کاررفته و تاخیر در جمع‌آوری نمونه اشاره کرد(Linhart *et al*., 2000; Rurangwa *et al*., 2004; Cabrita *et al*., 2009; Bobe and Labbe, 2010; Dadras *et al*., 2017; Dzyuba *et al*., 2017).

عوامل تاثیرگذار حین نمونه‌برداری شامل شیوه اسپرم‌گیری، صدمات مکانیکی به مولد، مدت زمان سپری شده از تزریق هورمون تا نمونه‌برداری و تکرار نمونه‌برداری می‌شوند (برادران نویری و همکاران، ۱۳۸۳، دادرس و همکاران، ۱۳۹۰ ، Cabrita *et* 2008; Williot *et al*., 2000 ; Alavi *et al*., *al*., 2008).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

عوامل تاثیرگذار بعد از نمونه‌برداری نیز شامل شرایط انتقال نمونه‌ها تا آزمایشگاه، مدت زمان نگهداری اسپرم پس از استحصال و شرایط نگهداری تا زمان بررسی (دما، اختلاط با قطرات آب، حجم نمونه، شکل فیزیکی ظرف نگهداری، حفاظت در مقابل نور) می‌شوند (Rurangwa *et al.*, 2004; Cabrita *et al.*, 2009).

اختلاط اسپرم

هر چند اعتقاد برخی از محققین بر این است که پس از نمونه‌گیری‌ها و ارزیابی‌های اولیه، مخلوط کردن نمونه‌ها (pooling) سبب می‌شود که تحرک اسپرم‌های با کیفیت پایین بهتر شود، اما از طرفی باید در نظر داشت که این موضوع سبب کاهش کیفیت نمونه اسپرم های بهتر به علت مواجهه با اسپرم‌های ناکارآمد خواهد شد. متاسفانه این دیدگاه بسیار واضح، از نظر بسیاری از کارشناسان تکثیر دور مانده است. عدم امکان شرکت یک‌سان اسپرم‌های با کیفیت‌های مختلف در لقاح، به‌علت اختلاف در شاخص‌های تحرکشان، ناکارآمدی چنین روشی را بیش‌تر آشکار می‌کند. زیرا در چنین حالتی اسپرم‌های سریع‌تر و پرانرژی، بسیار زودتر از اسپرم‌های کندتر خود را به تخمک‌ها رسانده و عملاً شانس لقاح برای اسپرم‌های کندتر، به مراتب کمتر خواهد بود(Rurangwa *et al.*, 2004). از جنبه دینامیک تحرک در جمعیت اسپرم‌های مخلوط شده نیز حضوراسپرم‌های کندتر در مسیر حرکت اسپرم‌های سریع، سبب برخورد، کم‌کردن سرعت و اتلاف انرژی اسپرم‌های سریع خواهد شد. هم‌چنین باید در نظر داشت که مخلوط کردن آن‌چه در مراکز، نمونه اسپرم نامیده می‌شود، در حقیقت مخلوط کردن مایع منی(semen) (سلول‌های اسپرم + مایع سمینال) مولدین نر با خصوصیات pH ، یونی واسمولالیته متفاوت است (فلاح شمسی و همکاران، ۱۳۹۰) که هر چند ممکن است برای یک نمونه بسیار مناسب باشد، اما برای نمونه های مختلف سلول‌های اسپرم که هر یک به مایع سمینال منحصر به فردی سازش یافته‌اند، می‌توانند بازدارنده و حتی کشنده باشد. استفاده از مخلوط چند نمونه منی استحصال شده از مولدین مختلف، تنها در صورت کمبود حجم نمونه استحصالی از هر مولد می‌تواند توجیه داشته باشد (Cabrita *et al.*, 2005).

نتیجه‌گیری

با توجه به تنوع زیستگاه‌های ماهیان، بررسی سازش‌های تخصصی هر گونه برای به حداکثر رساندن تکثیر، شرایط اختصاصی برای تولیدمثل، چگونگی القای بیش‌ترین تحرک در اسپرم‌ها و کسب حداکثر کارایی لقاح، از جذاب‌ترین مقوله‌های تحقیقات به‌شمار می‌رود. بنابراین بررسی شاخص‌های کیفی نمونه اسپرم هر گونه نیازمند مطالعه تخصصی است که در آینده برای تکثیر همان گونه اهمیت بسیار خواهد داشت. علیرغم پیشرفت‌های چشم‌گیر سال‌های اخیر در علوم سلولی و مولکولی، به نظر می‌رسد هنوز بررسی تحرک و درصد لقاح در مراکز و مزارع تکثیر و پرورش ماهی، از ساده‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش‌های ارزیابی کیفی اسپرم ماهیان باشد. هر چند که بررسی شاخص‌های تخصصی کیفی اسپرم، برای توسعه روش‌های کاربردی و نیل به نتایج علمی موثق، به‌طور یقین نیازمند ارزیابی‌های تخصصی با جدیدترین روش‌ها و تجهیزات است که در این مقاله مروری، تنها به ذکر مهم‌ترین آن‌ها اکتفا گردید. چگونگی انتخاب

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

هر یک از این موارد یا تاثیر متقابل بین دو یا چند عامل مختلف، می‌بایست با توجه به اهداف و شرایط تحقیق، هزینه‌ها، زمان مورد نیاز و دسترسی به امکانات عملی و آزمایشگاهی تعیین گردد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. برادران نویری، ش.، پورکاظمی، م.، کوچینین، پ.، یاوری، و.، ۱۳۸۱. اثر مراحل انجماد بر چگونگی تحرک اسپرم ماهی کپور. پژوهش و سازندگی، شماره ۵۵، ص ۱۰- ۶.

۲. برادران نویری، ش.، علیپور، ع. پورکاظمی، م.، ۱۳۸۲. انجماد اسپرم پنج گونه از تاسماهیان دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ویژه نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری ایران، پائیز ۱۳۸۶. ص ۲۸- ۲۳.

۳. برادران نویری، ش.، پورکاظمی، م.، یاوری، و.، ۱۳۸۳. انجماد اسپرم ماهی کپور.مجموعه مقالات همایش هشتم شیلات ایران. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، مدیریت آموزش و ترویج. ص ۴۸۸ - ۴۷۲ .

۴. برادران نویری، ش.، پورکاظمی، م.، کوچینین، پ.، یاوری، و.، ۱۳۸۴. انجماد اسپرم ماهی کپور با استفاده از رقیق‌کننده‌های مختلف. مجله علمی شیلات ایران، سال ۱۴، شماره ۴، ص ۳۰- ۱۷.

۵. برادران نویری، ش.، علیپور، ع.، پورکاظمی، م.، ۱۳۸۶. بررسی خصوصیات مورفولوژی ، تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در جنوب غرب دریای خزر. پژوهش و سازندگی، شماره ۷۵، ص ۱۴۴- ۱۳۸.

۶. برادران نویری، ش.، علیپور، ع.، پوردهقانی،م.، چکمه‌دوز، ف.، پورکاظمی، م.، محسنی، م.، حلاجیان ، ع.، ۱۳۸۷. پایه‌گذاری بانک اسپرم ماهیان خاویاری جنوب دریای خزر. مجله دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج. سال دوم، شماره ۴. ص ۶۰ - ۵۳.

۷. برادران نویری، ش.، نوری، ا.، بهمنی، م.، یزدانی ساداتی، م.ع.، اکبرزاده، آ. (بی تاریخ). اثر دو نوع رقیق‌کننده بر شاخص‌های تحرک اسپرم ماهی بستر (♂ *Acipenser* × ♀*Huso huso* *ruthenus*) طی نگهداری بلند مدت.نشریه علمی پژوهشی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. در دست چاپ.

۸. بهمنی، م.، پیراسته، س.، برادران نویری، ش.، کاظمی، ر، کوچینین، پ.، ۱۳۸۶. اثر اسمولاریته آب بر میزان اسپرماتوکریت و ارتباط آن با تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید در مولدین نر ماهی سفید حوضه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال ۱۴، شماره ۲، ص ۱۸- ۱۱.

۹. پورکاظمی، م.، شکیبی دریاکناری، ع.، کلباسی، م.ر.، عبدالحی، ح.، برادران نویری، ش.، ۱۳۹۱. بیوتکنیک نگهداری کوتاه‌مدت اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

mykiss).مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۱، شماره ۴، ص ۱۶۴-۱۵۷.

۱۰. خارا، ح.، برادران نویری، ش.، دادرس، ح.، رهبر، م.، احمد نژاد، م.، و خدادوست، ع.، ۱۳۹۱. اثر برخی یون‌ها روی فعالیت اسپرم و کارآیی تکثیر مصنوعی ماهی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*). مجله آبزیان و شیلات، ۳ (۹)، ص ۴۲-۳۱.

۱۱. خارا، ح.، برادران نویری، ش.، دادرس، ح.، رهبر، م.، احمدنژاد، م.، ۱۳۹۳. اثر کاتیون‌ها بر روی تحرک و ظرفیت لقاح اسپرم ماهی کپور علفخوار(*Ctenopharyngodon idella*). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. سال هشتم، شماره سوم، ص ۱۱۲ – ۱۰۳.

۱۲. دادرس، ح.، نظامی، ش.، خارا، خ.، برادران نویری، ش.، ۱۳۸۸. تأثیر اسپرم گیری مجدد بر نرخ تفریخ و اندازه لارو در تاس‌ماهی ایرانی(*Acipenser persicus* Borodin, 1897). مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، سال سوم، شماره سوم، ص ۴۴-۳۷.

۱۳. دادرس، ح.، نظامی، ش.ع.، خارا، ح.، برادران نویری، ش.، ۱۳۹۰ . تأثیراسپرم گیری مجدد بر روی برخی پارامترهای اسپرم‌شناختی تاس‌ماهی ایرانی(*Acipenser persicus* Borodin, 1897). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. سال پنجم، شماره اول، ص ۹۵-۸۵.

۱۴. علیپور، ع.، برادران نویری، ش.، نوروز فشخامی، م.ر.، آذری تاکامی، ق.، وهاب‌زاده، ح.، ۱۳۹۱. بررسی برخی خصوصیات ریخت شناسی و تراکم اسپرم تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از طریق اسپرماتوکریت ، شمارش عددی و طیف سنجی. مجله علمی پژوهشی زیست شناسی دریا ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال ۴، شماره ۱۵، ص۳۴- ۲۵.

۱۵. فلاح شمسی، س.ز.، نظامی، ش.، خارا، ح.، برادران نویری، ش.، علیپور، ع.، علیجانپور، ن.، امیری، ک.، ۱۳۹۰. اثر ترکیبات یونی اسپرم بر کارایی تکثیر مصنوعی ماهی سفید (Kamensky 1901 *Rutilus frisii kutum*) مهاجر به رودخانه سفیدرود. مجله آبزیان و شیلات، ۲(۵)، ص ۳۵-۳۱ .

16. Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2005. Sperm motility in fishes: (I) Effects of temperature and pH: a review. Cell Biology International, 29: 101-110.
17. Alavi, S.M.H., Linhart, O., Coward, K., Rodina, M., 2008. Fish spermatology: Implications for Aquaculture management. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. & Rafiee, G. (Eds.), Fish Spermatology. pp: 397-460. Oxford, U.K., Alpha Science International Ltd.
18. Aramli, M.S., Golshahi, K., Nazari, R.M., Aramli, S., 2015a. Effect of freezing rate on motility, adenosine triphosphate content and fertilizability in beluga sturgeon (*Huso huso*) spermatozoa. Cryobiology, 70: 170-174.
19. Aramli, M.S., Kalbassi, M.R., Nazari, R.M., Sarvi, K., 2015b. Relationships between selected sperm characteristics and fertilisation success in the beluga sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Veterinarni Medicina, 60(9): 509-514.
20. Aramli, M.S., Nazari, R.M., Kalbassi, M.R., Aramli, S., 2013. Semen of beluga, *Huso huso*: Ionic content and osmolality of seminal plasma and their physiological correlation with sperm motility indices. Fisheries and Aquaculture Journal, 4,079. doi: 10.4172/2150-3508.1000079.
21. Babiak, I., Glogowski, I., Luczynski, M.J., Kucharczyk, D., Luczynski, M., 1995.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

Cryopresevation of the milt of the northern pike. Journal of Fish Biology. 46: 819-828.
22. Baradaran Noveiri, S., Alipour, A., Pourkazemi, M., 2006. Sperm morphology, density and spermatocrit study of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Journal of Applied Ichthyology, 22(1): 380-383.
23. Baradaran Noveiri, S., Noori, A., Bahmani, M., Yazdani Sadati, M.A., Akbarzadeh, A., (no date). Effects of seminal plasma ionic content, pH and osmolality on spermatozoa motility in bester (Female *Huso huso* × Male *Acipenser ruthenus*) sturgeon. Iranian, Iranian Journal of Fisheries Sciences. In press.
24. Billard, R., Cosson, J., Fierville. F., Brun, R., Rouault, T., Williot, P., 1999. Motility analysis and energetics of the Siberian sturgeon *Acipenser baerii* spermatozoa. Journal of Applied Ichthyology, 15(4–5): 199-203.
25. Billard, R., Cosson, J., Linhart, O., 2000. Changes in the flagellum morphology of intact and frozen/thawed Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (Brandt) sperm during motility. Aquaculture Research, 31: 283-287.
26. Bobe, J., Labbe, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, 165: 535-548.
27. Cabrita, E., Robles, V., Rebordinos, L., Sarasquete, C., Herráez, M.P., 2005. Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm. Cryobiology, 50(2): 144-153.
28. Cabrita, E., Robles, V., Herraez, P., 2009. Methods in Reproductive Aquaculture, Marine and Freshwater Species. New York, CRC Press.
29. Ciereszko, A., Dietrich, G.J., Dietrich, M.A., Nynca, J., Kuźmiński, H., Dobosz, S., Grudniewska, J., 2010. Effects of pH on sperm motility in several Salmoniformes species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo trutta*, *Salmo salar* and *Thymallus thymallus*. Journal of Applied Ichthyology, 26: 665-667.
30. Cabrita, E., Martinez-Paramoa, S., Gavaia, P.J., Riesco, M.F., Valcarce, D.G., Sarasquete, C., Herraez, M.P., Robles, V., 2014. Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. Aquaculture, 432: 389-401.
31. Cosson, J. J., 2008. The motility apparatus of fish spermatozoa. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. & Rafiee, G. (Eds.), Fish Spermatology. pp: 281-316. Oxford, U.K., Alpha Science International Ltd.
32. Cosson, J., Groison, A.-L., 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.
33. Dadras, H., Khara, H., Baradaran Noveiri, S., 2014. Incubation rate and larvae size of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin 1897) in relation to sperm restriping. Aquaculture Research, 45: 1727-1732.
34. Dadras, H., Golpour, A., Zahmatkesh, M., Khara, H., Baradaran Noveiri, S., Siddique, M.A.M., 2017. Effects of age on the reproductive performance of different males and females in bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* (Richardson, 1845). Comparative Clinical Pathology. 26: 1165-1171.
35. de Oliveira Felizardo,V., Mourad, N.M.N., Melo, C.C.V., Reis, P.S., Murgas, L.D.S., de Freitas, T.F. 2016. Influential factors of quality of fish gametes for use of *In Vitro* fertilization. Journal of Fertilization: In Vito-IVF-Worldwide, Reproductive Medicine, Genetics and Stem Cell Biology, 4(1): 166-169.
36. Dzyuba, B., Cosson, J., Dzyuba, V., Fedorov, P., Bondarenko, O., Rodina, M., Linhart, O., Shelton. W.L., Boryshpolets, S., 2017. Sperm maturation in sturgeon (Actinopterigii, Acipenseriformes): a review. Theriogenology, 97: 134-138.
37. FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Aquaculture Research, 38: 1175-1181.
46. Hatef, A., Alavi, S.M.H., Baradaran Noveiri, S., Poorbagher, H., Alipour, A., Pourkazemi, M., Linhart, O., 2011. Morphology and fine structure of Acipenser *persicus* (Acipernseridae, Chondrostei) spermatozoon: Inter-species comparison in Acipenseriformes. Animal Reproduction Science, 123: 81-88.
47. Inaba, K., 2008. Molecular mechanisms of the activation of flagellar motility in sperm. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. & Rafiee, G. (Eds.), Fish Spermatology. pp: 267-280. Oxford, U.K., Alpha Science International Ltd.
48. Khara, H., Baradaran Noveiri, S., Dadras, H., Rahbar, M., Ahmadnejad, M., Khodadoost, A., 2012. The effect of cations on sperm motility performance and fertilizing ability of silver carp (*Hypophtalmychtis molitrix*). Acta Veterinaria (Beograd), 62(5-6): 599-609.
49. Khara, H., Baradaran Noveiri, S., Dadras, H., Rahbar, M., Ahmadnezhad, M., Khodadoust, A., 2013. Sperm motility and fertilizing ability in *Aristichthys nobilis*: effect of ions. Comparative Clinical Pathology, 22: 1069-1074.
50. Khara, H., Baradaran Noveiri, S., Dadras, H., Rahbar, M., Ahmadnejad, M., Khodadoost, A., 2014. Effect of different activation solutions on motility and fertilizing ability of spermatozoa in common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. Indian Journal of Fisheries, 61(3): 63-68.
51. Lahnsteiner, F., Patzner, R.A., 2009. Sperm morphology and ultrastructure in fish. In: Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K. & Rafiee, G. (Eds.), Fish Spermatology. pp: 1-61. Oxford, U.K., Alpha Science International Ltd.
52. Li, P., Wei, D., Liu, L., 2008. DNA integrity of Polyodon spathula cryopreserved sperm. Journal of Applied Ichthyology, 24: 121-125.
53. Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Rodina, M., Gela, D., 2000. Spermiation
38. Fauvel, C., Suquet, M., Cosson, J., 2010. Evaluation of fish sperm quality. Journal of Applied Ichthyology, 26: 636-643.
39. Flajšhans, M., Cosson, J., Rodina, M., Linhart, O., 2004. The application of image cytometry to viability assessment in dual fluorescence-stained fish spermatozoa . Cell Biology International, 28: 955-959.
40. Glogowski, J., Kolman, R., Szczepkowski, M., Horváth, A., Urbányi, B., Sieczyński, P., Rzemieniecki, A., Domagala, A., Demianowicz, W., Kowalski, R., Ciereszko, A., 2002. Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) milt cryopreserved with methanol. Aquaculture, 211: 367-373.
41. Grozea, A., Cean, A., Igna, V.N., Banatean-Dunea, I., Cziszter, L.T., 2013. Assessment of some morphometric changes in pikeperch (*Sander lucioperca*) spermatozoa, due to dilution and UV-irradiation of the milt. Journal of Food, Agriculture and Environment, 11(3-4): 1853-1857.
42. Gwo, J.C. 2009. Methods for sperm collection. In: Cabrita,E.,; Robles,V. and Herraez,P. (Eds.), Methods in Reproductive Aquaculture, Marine and Freshwater Species. pp: 81-92, New York, USA, CRC Press.
43. Hassanzadeh Saber, M., Baradaran Noveiri, S., Pourkazemi, M., Yarmohammadi, M., 2008. Induction of gynogenesis in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) and its verification using microsatellite markers. Aquaculture Research, 39: 1483-1487.
44. Hassanzadeh Saber, M., Baradaran Noveiri, S., Pourkazemi, M., Yazdani,M.A., Ghoroghi, A., Bahmani, M., Pourdehghani, M., Chakmehdouz, F., Yarmohammadi, M., Nowruzfashkhami, M.R., 2014. Induction of meiotic gynogenesis in ship sturgeon *Acipenser nudiventris* using UV-irradiated heterologous sperm. Journal of Applied Genetics, 55: 223-229.
45. Hatef, A., Niksirat, H., Mojazi Amiri, B., Alavi, S.M.H., Karami, M., 2007. Sperm density, seminal plasma composition and their physiological relationship in the

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]

of paddlefish (*Polyodon spathula*) stimulated with injection of LHRH analogue and carp pituitary extract. Aquatic Living Resources, 13(6): 1-6.
54. Liu, Q., Wang, X., Wang, W., Zhang, X., Xu, S., Ma, D., Xiao, Z., Xiao, Y., Li J., 2014. Effect of the addition of six antioxidants on sperm motility, membrane integrity and mitochondrial function in red sea bream (*Pagrus major*) sperm cryopreservation. Fish Physiology and Biochemistry, 41(2): 413-422.
55. Migaud, H., Bell, G., Cabrita, E., McAndrew, B., Davie, A., Bobe, J., Herraez, M.P., Carrillo, M., 2013. Gamete quality and broodstock management in temperate fish. 2013. Reviews in Aquaculture, 5(1) 194-223.
56. Mylonas , C. C., Fostier , A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology , 165: 516-534.
57. Pšenička, M., Tesařová, M., Těšitel, J., Nebesářová, J., 2010. Size determination of *Acipenser ruthenus* spermatozoa in different types of electron microscopy. Micron, 41(5): 455-460.
58. Rurangwa, E., Kimeb, D.E., Olleviera, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish . Aquaculture , 234: 1-28.
59. Shaliutina-Kolešová, A., Gazo, I., Cosson, J. and Linhart, O., 2014. Protection of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa motility under oxidative stress by antioxidants and seminal plasma. Fish Physiology and Biochemistry, 40: 1771-1781.
60. Taddei, A.R., Barbato, F., Abelli, L., Canese, S., Moretti, F., Rana, K.J., Fausto, A,M., Mazzini, M., 2001. Is cryopreservation a homogenous process? Ultrastructure and motility of untreated, prefreezing, and postthaw spermatozoa of *Diplodus puntazzo* (Cetti). Cryobiology, 42: 244- 255.
61. Williot, P., Kopeika, E.F., Goncharo, 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.
62. Xiao, J., Zou, T., Chen, Y., Chen, L., Liu, S., Tao, M., Zhang, C., Zhao, R., Zhou, Y., Long, Y., You, C., Yan, J., Liu, Y., 2011. Coexistence of diploid, triploid and tetraploid crucian carp (*Carassius auratus*) in natural waters. BioMed Central Genetics, 12(20): 2-15.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.3.10.8]