Archive of SID

انجماد اسپرم ماهی کپور با استفاده از رقیق کننده‌های مختلف

شهروز برادران نویری[۱]، محمد پورکاظمی[۲]، پریتا کوچینین[۲] و وحید یاوری[۳]

sbn170@yahoo.com

۱و۲- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۳۴۶۴-۴۱۶۳۵

۳و۴- دانشکده علوم دریایی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

تاریخ ورود: شهریور ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۴

چکیده

امروزه سعی بر این است که با کاربرد فنون مختلف تا حد امکان از لقاح بدون برنامه جمعیت‌های مولدین در مراکز تکثیر مصنوعی آبزیان جلوگیری بعمل آمده و با کاربرد روشهای صحیح، نژادهای مناسب پرورش داده شوند.

آزمایشات انجماد اسپرم ماهی کپور بر روی مولدین در دو مرکز تکثیر و پرورش کپور ماهیان شهرستان رشت صورت گرفت. طی این آزمایشات کیفیت اسپرم مولدین، از نظر نوع حرکت، مدت حرکت، تراکم و لقاح بررسی شد. نمونه‌های مناسب از نظر کیفی انتخاب شده و سپس تیمارها با ۴ نوع محلول رقیق‌کننده مختلف تهیه گردیدند. پس از طی ۷ روز اسپرمهای منجمد، مجدد از انجماد خارج شده و از آنها برای لقاح تخمکهای تازه مولدین ماده استفاده شد.

نتایج این پژوهش نشان داد که از بین چهار رقیق‌کننده منتخب و روشهای بکار رفته، محلول Alsever با نسبت ۱:۱ و روش سرمادهی چند مرحله‌ای بترتیب با ۴۵ درصد لقاح، ۴۷/۸۱ درصد تخم چشم‌زده و ۲۲/۶۳ درصد تبدیل تخم به لارو، بهترین نتیجه را داد.

لغات کلیدی: ماهی کپور، انجماد، اسپرم

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

از ابداع روش‌های اولیه تکثیر و پرورش ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) به روایت تاریخ حدود ۲۷۰۰ سال می‌گذرد.

براساس آمار رسمی منتشر شده FAO، میزان تولید پرورشی ماهی کپور در سطح جهان در سال ۱۹۹۵، معادل ۱۷۸۳۴۲۰ تن بوده است که از میان ۷۹ کشوری که در این زمینه فعالیت دارند، کشور چین با ۱۳۹۸۶۱۸ تن، بیشترین میزان تولید را بخود اختصاص داده است. از این میان جمهوری اسلامی ایران، با تولید ۶۵۶۱ تن مقام سیزدهم را کسب کرده است (امینی، ۱۳۷۷).

با پیشرفت فن‌آوری و ساخت ادوات تکنیکی پیشرفته، سعی بر این است که حتی‌الامکان از لقاح بدون برنامه در جمعیت‌های مولدین در مراکز تکثیر مصنوعی آبزیان جلوگیری بعمل آمده و با کاربرد روشهای گوناگون، نژادهای مناسب و مقرون به صرفه پرورش داده شوند (Moczarski, 1977).

Blaxter در سال ۱۹۵۳ اولین کسی بود که توانست اسپرم ماهی (*Chupea harengus*) را به مدت ۶ ماه زنده نگهدارد (Kerby, 1983). از آن زمان به بعد به جهت سهولت در کسب نتایج بهتر، بر روی نگهداری اسپرم بسیاری از گونه‌های سرد آبی از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*S. salar*) و سایر آزاد ماهیان از جمله *Oncorhynchus keta*، *O. nerka*، *O. kisutch*، *O. gorrbuscha* و *O. tshawyscha* کار شده و طی تحقیقات پی در پی، موفقیت‌های بیشتری حاصل گردیده است (Kerby, 1983).

کار بر روی انجماد اسپرم ماهیان گرمابی نیز از دهه ۶۰ میلادی با کار Sneed & Clemens بر روی ماهی کپور آغاز گردید (Koldas & Bieniarz, 1987). همچنین تحقیقاتی در مورد لای ماهی (*Tinca tinca*) توسط Moczarski & Koldras در سال ۱۹۸۲ انجام شده است. این دو محقق در سال ۱۹۸۳ بر روی اسپرم اردک ماهی (*Esox lucius*) نیز کار کرده و ۷۵ درصد لقاح بدست آوردند (Koldras & Moczarski, 1983). یک گروه چینی به سرپرستی Chen در سال ۱۹۹۲ بر روی کپور ماهیان چینی (آمور *Ctenopharyngodon idella* و فیتوفاگ *Hypophthalmichthys molitrix*) کار

www.SID.ir

Archive of SID

کرده و ۶۰ درصد موفقیت گزارش نموده‌اند. همچنین Linhart و همکاران در سال ۱۹۹۳ با استفاده از اسپرم منجمد ماهی اسبله (*Silurus glanis*) توانستند ۴۵ درصد لقاح بدست آورند.

در این تحقیق به منظور ارائه بهترین دستورالعمل اجرائی، انجماد اسپرم ماهی کپور با استفاده از رقیق‌کننده‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله با نتایج سایر محققین مقایسه و بحث شده است.

مواد و روش کار

ماهیان کپور نر مولد در این تحقیق از مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری، واقع در ۲۰ کیلومتری جاده رشت - تهران و همچنین از کارگاه تکثیر و پرورش گلباف، واقع در ۵ کیلومتری جاده رشت - لاکان تهیه شدند. عمل انجماد اسپرم و نگهداری نمونه‌ها در انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری سد سنگر شهرستان رشت انجام شد.

مولدین ۲۴ ساعت قبل از اسپرم‌گیری و تخم‌کشی در آب ۲۰ درجه سانتی‌گراد تحت تزریق عصاره هیپوفیز ماهی کپور، به میزان ۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای ماده‌ها و ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای نرها قرار گرفتند (Moczarski & Koldras, 1982).

محدوده منفذ ادراری تناسلی مولدین هنگام اسپرم‌گیری با حوله کاملاً خشک شده (Christ *et al.*, 1996) و به آرامی با ماساژ شکمی از آنها اسپرم تهیه شد (Kurokura *et al.*, 1984). نمونه‌های خونی یا نمونه‌های حاوی ادرار یا مدفوع جهت انجماد مورد استفاده قرار نگرفتند (Baynes & Scott, 1987).

برای شمارش اسپرماتوزوئیدها و تعیین تراکم آنها از لام هموسیتومتر (Thoma heamocytometer, West Germany) با دقت ۰/۰۰۲۵ ± میلی‌مترمربع استفاده شد (Koldras *et al.*, 1990). از آنجایی که تراکم اسپرماتوزوئیدها در نمونه‌ها بسیار زیاد بود، هر نمونه جهت تعیین تراکم ۴۰۰ بار رقیق شد.

جهت رقیق کردن نمونه‌های اسپرم، ابتدا اسپرم و محلولهای رقیق‌کننده بطور جداگانه در مخلوط آب ویخ (۱ تا ۲ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۵ دقیقه هم دما شده و سپس مخلوط می‌شدند (Babiak *et al.*,

www.SID.ir

Archive of SID

1997). پس از اختلاط، محلول‌های بدست آمده در آب و یخ به مدت یک ساعت قرار گرفته و طی این مدت چند بار هم زده شدند (Moczarski & Koldras, 1982). سپس در همان دما، به محفظه‌های نگهداری اسپرم منتقل شدند.

پس از تهیه مخلوط اسپرم و رقیق‌کننده و پر کردن محفظه‌ها، مرحله سرمادهی به دو روش به شرح زیر انجام گرفت:

نوع اول، فرو بردن مستقیم در ازت مایع (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) و نوع دوم، روش سرمادهی چهار مرحله‌ای که شامل نگهداری در ۱۰ سانتیمتری بالای سطح ازت مایع به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳ سانتیمتری بالای سطح ازت مایع به مدت ۳ دقیقه دیگر، پس از آن مماس با سطح ازت مایع به مدت ۲ دقیقه و سرانجام فرو بردن در ازت مایع بود (Moczarski, 1977).

انجماد زدایی پایوتها در آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه (Linhrat *et al.*, 1983) صورت گرفت.

آزمایش لقاح اسپرمهای انجمادزدایی شده به نسبت ۰/۵ میلی‌لیتر اسپرم خالص با ۵۰ میلی‌لیتر تخمک تازه مولدین ماده (Koldras & Bieniarz, 1987) در تشتک‌های پلاستیکی انجام گرفت.

محلولهای رقیق‌کننده مورد استفاده در این تحقیق شامل محلولهای Alsever (Moczarski, 1977)، محلول Kurokura (Kurokura *et al.*, 1984)، محلول Linhart (Linhart *et al.*, 1983) و محلول Modified Cortland (Koldras & Bieniarz, 1987) بوده و ترکیب شیمیایی آنها در جدول ۱ آورده شده است.

به هر کدام از محلولها مقدار ۵۰IU/cc آنتی بیوتیک پنی سیلین G پتاسیم (داروسازی جابربن حیان، ایران) و ۱۵ درصد DMSO (Merck, Germany) افزوده شد (Billard *et al.*, 1995).

برای رفع چسبندگی تخمها از محلول لقاح واینارویچ (Woynarovich) استفاده گردید. این محلول شامل ۳۰گرم اوره (Urea) و ۴۰گرم نمک (NaCl) در ۱۰ لیتر آب است) (Billrad *et al.*, 1995). این محلول طی ۴۵ دقیقه با تخم لقاح یافته هم زده شده و طی این مدت چندین بار در تشتک‌های لقاح

www.SID.ir

Archive of SID

تعویض گردید. پس از این مدت تمام تخمها تا ۴۵ دقیقه دیگر با آب کارگاه به آرامی هم زده شدند. طریقه لقاح اسپرم شاهد نیز در روز اسپرم‌گیری به روش مشابه بود.

بررسی‌های آماری به کمک نرم‌افزار Statgraphics ver.5 از طریق آنالیز واریانس و آزمون توکی انجام گرفت.

جدول ۱ : ترکیب شیمیایی محلول‌های رقیق کننده اسپرم ماهی کپور مورد استفاده

نام محلول / نوع ترکیب	Al.	Ku.	M.C.	Li.
NaCl	۰/۴	۰/۴۴	۰/۱۸۸	۰/۷۵
$CaCl_2$		۰/۰۲۲	۰/۰۲۳	
KCl		۰/۶۲	۰/۷۲	۰/۰۳۸
NaH_2PO_4,H_2O			/۰۴۱	
$MgSO_4,7H_2O$ $MgSO_4,7H_2O$			۰/۰۲۳	
$NaHCO_3$		۰/۰۲	۰/۱	۰/۲
Glucose	۲/۰۵		۰/۱	۰/۱
$C_6H_5O_7Na_3$, $2H_2O$	۰/۸			
Sucrose				
$MgCl_2$		۰/۰۰۸		

موارد فوق بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر می‌باشد.

*Al : محلول Alsever

*Ku : محلول Kurokura

*M.C. : محلول Modified Cortland

*Li : محلول Linhart

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

طی مدت اجرای این پژوهش، از ۳۱ عدد ماهی کپور نر مولد اسپرم‌گیری بعمل آمد که میانگین تراکم اسپرماتوزوئید در نمونه‌ها$۲۷/۰۸۶ \pm ۳/۹۹ \times ۱۰^{۹}$/ml و محدوده این تراکم $۱۹/۲۱۲-۳۶/۶۰۹ \times ۱۰^{۹}$/ml بود.

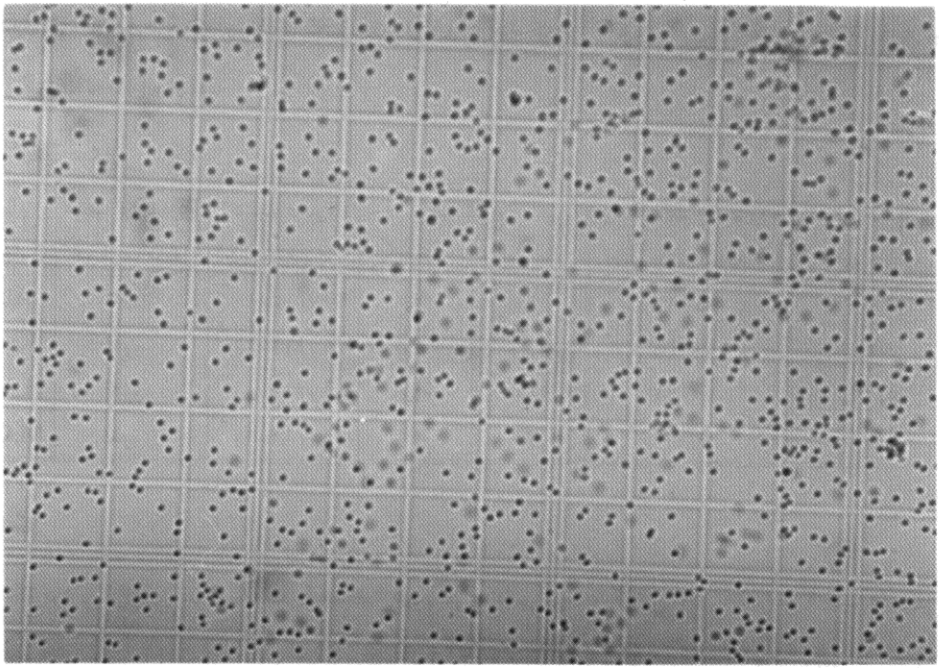
شمارش اسپرماتوزوئیدها به کمک لام هموسیتومتر و در رقت‌های مختلف آزمایش گردید. چندین نمونه با رقت‌های ۱:۱۰، ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰ و ۱:۴۰۰ شمارش گردید و مشخص شد که اسپرماتوزوئید ماهی کپور به خوبی با بزرگنمایی ۴۰ برابر قابل تشخیص می‌باشد، لیکن بهترین رقت برای شمارش اسپرم کپور، نسبت ۱:۴۰۰ است. زیرا با توجه به تراکم بالای اسپرماتوزوئید کپور، تفکیک آنها در این رقت در زیر میکروسکوپ بخوبی انجام شده و هر اسپرماتوزوئید از اسپرماتوزوئیدهای مجاور بخوبی قابل تشخیص است (شکلهای ۱ و ۲).

با اندازه‌گیری اسپرماتوزوئیدها با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر آشکار شد که میانگین قطر سر آنها (N=۶۷) $۱/۷۶۱ \pm ۰/۲۱۲$ میکرومتر و میانگین طول تاژک آنها معادل (N=۶۷) $۱۶/۳۵ \pm ۰/۷۵۵$ میکرومتر است. در آزمایش حاضر از نمونه‌های اسپرم با تراکم بیش از ۲۵×۱۰^{۹}/ml اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر و تحرک بیش از ۸۰ درصد جهت انجماد استفاده شد.

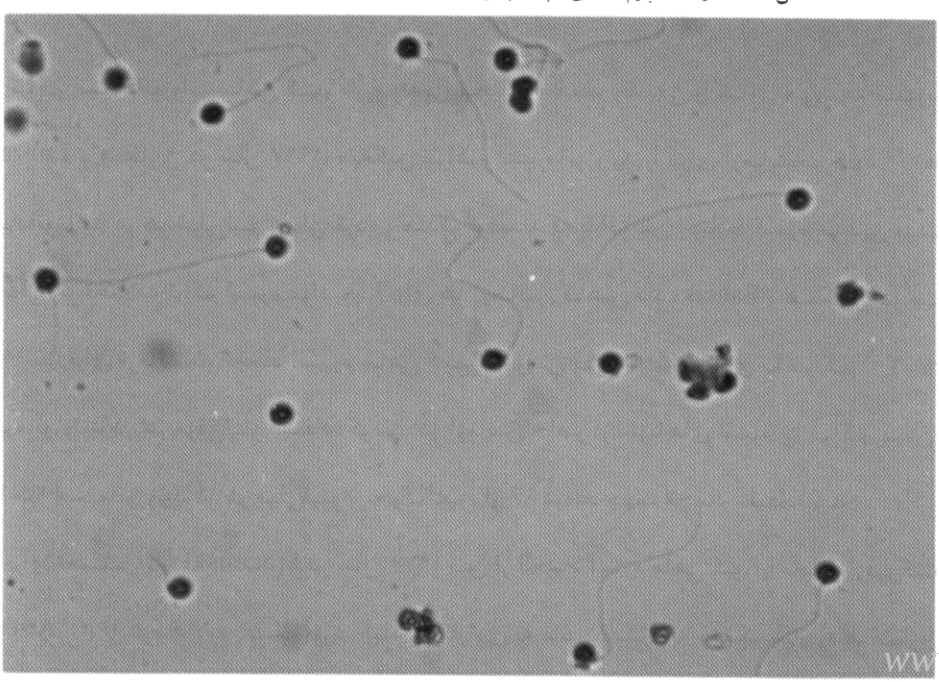
فروبردن مستقیم نمونه‌های حاوی اسپرماتوزوئید و محیط رقیق‌کننده در ازت مایع و بدون رعایت مراحل تدریجی سرمادهی، سبب لخته شدن نمونه‌ها شده و از آنجایی که در این اسپرمها هیچگونه تحرکی دیده نشد، درصد لقاح‌های بدست آمده نیز صفر بود. در حالی که انجماد با رعایت سرمادهی تدریجی (چند مرحله‌ای)، بقاء و تحرک اسپرماتوزوئیدها را حداقل پس از دو ماه نگهداری در ازت مایع تضمین می‌کند.

پس از بررسی میزان تحرک اسپرماتوزوئیدها در محلول‌های رقیق‌کننده و پس از انجمادزدایی نمونه‌های نگهداری شده، هر یک از تیمارها با تخمک تازه، لقاح داده شد که نتاج بدست آمده حاکی از آن بود که محلول Alsever بالاترین درصد لقاح را داشته است ($F= ۶/۸۰۹$, $df= ۳$, $p<۰/۰۰۱$) (جدول ۲).

www.SID.ir



شکل ۱ : نمونه اسپرم ماهی کپور پس از رنگ‌آمیزی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر



شکل ۲ : نمونه اسپرم ماهی کپور پس از رنگ‌آمیزی با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر

www.SI

Archive of SID

جدول ۲: مقایسه درصدهای لقاح، تخم چشم زده و درصد تبدیل تخم به لارو از اسپرم منجمد ماهی کپور در رقیق‌کننده‌های مختلف

نام محلول	مدت نگهداری در ازت مایع	نسبت اسپرم به تخم	درصد لقاح		درصد تخم چشم زده نسبت به شاهد	درصد تبدیل تخم به لارو
			شاهد	نمونه		
Al.	۷ روز	$۳۱۷/۱۲\times۱۰^{۳}$	۴۰	۱۸	۴۷/۸۱	۲۲/۶۳
Ku.	۷ روز	$۳۱۷/۱۲\times۱۰^{۳}$	۴۰	۸/۲	۱۸/۴۵	۷/۳۶
Li.	۷ روز	$۳۱۷/۱۲\times۱۰^{۳}$	۴۰	۹/۳۳	۱۹/۱۱	۳/۱۱
M.C.	۷ روز	$۳۱۷/۱۲\times۱۰^{۳}$	۴۰	<۱	۶/۳۶	۲/۲۰

بحث

کاربرد روش‌های موفقیت‌آمیز انجماد اسپرم در مقیاس آزمایشگاهی برای مدیریت ذخایر طبیعی و مراکز تکثیر اهمیت بسزایی دارد که با توجه به امکانات موجود و هدف کار، تنوع گسترده‌ای پیدا کرده است.

تراکم اسپرماتوزوئید ماهی کپور در مولدین مختلف، طیف وسیعی را شامل می‌شود. بطوریکه Lubzens و همکاران در سال ۱۹۹۷، میانگین تراکم اسپرماتوزوئید را برای آزمایشات خود ۱۵×۱۰^{۹} اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر عنوان کرده و متذکر گردیدند که با افزایش اختلاط اسپرم مولدین بیشتر، می‌توان اثر اختلاف تراکم اسپرم مولدین را برای هر آزمایش کاهش داد. Babiak و همکاران در سال ۱۹۹۷ نیز برای آزمایشات انجماد اسپرم ماهی کپور به روش پلت، از نمونه‌های با تراکم $۲۴/۵\times۱۰^{۹}$ اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر استفاده کردند. در آزمایش حاضر از نمونه‌های اسپرم با تراکم بیش از ۲۵×۱۰^{۹} اسپرماتوزوئید در هر میلی‌لیتر و تحرک بیش از ۸۰ درصد جهت انجماد استفاده شد.

برای نخستین بار Moczarski در سال ۱۹۷۷ پس از انجماد اسپرم ماهی کپور با محلول رقیق‌کننده Alsever، ۱۶/۲ درصد لارو بدست آورد. البته در کار وی به نسبت اسپرم به تخمک بکار رفته، اشاره‌ای نشده است. Linhart و همکاران در سال ۱۹۸۳ نیز توانستند با استفاده از اسپرم منجمد شده کپور به

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت ۱:۱، با محلول رقیق کننده Linhart و نسبت اسپرم به تخمک $۱۰^{۳}$×۵۹۹-۲۵۸، به میزان ۰/۷۹ تا ۳/۹ درصد لارو بدست آورند. Cognie و همکاران در سال ۱۹۸۹ در آزمایش خود درصد تحرک اسپرماتوزوئید را ۷۰ تا ۸۰ درصد گزارش کردند (بدون ذکر مدت زمان انجماد) و پس از لقاح نیز با توجه به این که نسبت اسپرم به تخمک بکار رفته را تا ۱۰۰ برابر شاهد افزایش داده بودند، اما حداکثر ۴۰ درصد لقاح بدست آوردند (Billard *et al.*, 1995). Kurokura و همکاران در سال ۱۹۸۴ با استفاده از محلول Kurokura از ۱ میلی‌لیتر اسپرم کپور جهت لقاح ۵۰ گرم تخمک استفاده کرده و ۱۱ درصد لقاح بدست آوردند. در آزمایش حاضر با استفاده از این محلول و استفاده ۰/۵ میلی‌لیتر اسپرم جهت لقاح ۵۰ گرم تخمک (نصف مقدار اسپرم مصرفی در آزمایش گروه Kurokura)، درصد لقاح ۸/۲ درصد بوده است. همچنین ایشان با افزایش نسبت اسپرم منجمد شده به تخمک تا حد ۱ میلی‌لیتر اسپرم برای لقاح یک گرم تخمک، حداکثر ۴۳/۴ درصد لقاح بدست آوردند.

Chen و همکاران در سال ۱۹۹۲ با استفاده از ۱ میلی‌لیتر اسپرم منجمد برای لقاح ۵ میلی‌لیتر تخم کپور ماده، حداکثر ۸۰ درصد لقاح با درصد هچ شدن ۷۵ درصد بدست آوردند، اما ذکری از میزان ترکیبات شیمیایی در محلولهای بکار رفته نکردند. در سال ۱۹۹۷، Babiak و همکارانش با استفاده از تکنیک انجماد به روش پلت با نسبت $۱۰^{۶}$×۲/۴-۱/۵ اسپرم برای هر تخمک، به ۵۲ درصد لارو دست یافتند. در آزمایش این گروه، عملیات انجمادزدایی بلافاصله پس از انجام مراحل سرمادهی صورت گرفت.

البته همانگونه که ذکر شد، چنانچه هدف از انجماد اسپرم، استفاده‌های کاربردی آن باشد مسلماً تنها ذکر درصد تحرک اسپرماتوزوئیدها (که توسط بسیاری از محققین به کار برده شده است) کافی نیست. زیرا تخمین تحرک و محاسبه زمانی آن عاری از خطا نمی‌باشد. بنابراین بهتر است که نمونه‌های اسپرم منجمد شده با لقاح نیز آزمایش شوند (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۵۳). بسیاری از محققین معتقدند که اگرچه بین تحرک اسپرماتوزوئید و میزان لقاح آن رابطه مستقیم وجود دارد، اما این دو قابلیت را باید بعنوان دو پدیده متفاوت در نظر گرفت (Moczarski, 1977 ; Gwo, 1993).

www.SID.ir

Archive of SID

بدیهی است که به دلیل اثرات سرمایی شدید بر اسپرماتوزوئیدها، تعداد زیادی از آنها قدرت تحرک و باروری خود را از دست می‌دهند و این امر را می‌توان با افزایش نسبت اسپرم به تخمک در لقاح بهبود بخشید. این مسئله یکی از مهم‌ترین نکاتی است که بسیاری از محققین پس از انجمادزدایی و لقاح مقایسه‌ای به آن اشاره نکرده‌اند (Koldras & Mejza, 1983). نکته مزبور حاکی از آن است که برای معرفی یک روش استاندارد برای ارزیابی کیفیت و قدرت باروری اسپرماتوزوئیدها، ارائه نسبت اسپرماتوزوئید مورد استفاده به تخمک در هر آزمایش امری ضروری است. همچنین باید یادآور شد که روش سرمادهی و طول مدت نگهداری در ازت مایع نیز می‌تواند در کیفیت لقاح پس از انجمادزدایی اثرات مختلفی داشته باشد و ذکر روش کار و مدت نگهداری نیز از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (Stoss, 1983).

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه جناب آقای مهندس طلوعی، سرپرست محترم وقت مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید انصاری رشت و کارشناسان بخش تکثیر آن مجتمع و همچنین از زحمات آقای دکتر سعید رحمت سمیعی، مدیریت محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی گلباف رشت در طول اجرای این پژوهش تشکر می‌گردد. همچنین از همکاری آقای مهندس وفا آق‌تومان در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

آذری تاکامی، ق. و کهنه شهری، م.، ۱۳۵۳. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۶۵ تا ۷۲.

امینی، ع.، ۱۳۷۷. وضعیت تولید جهانی پنج گونه ماهی پرورشی در سال ۱۹۹۵. آبزی پرور، شماره ۲۱.

www.SID.ir

Archive of SID

سال ششم، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران. صفحات ۴۰ تا ۴۳.

Babiak, I. ; Glogowski, J. ; Brzuska, E. ; Suemiec, J. and Adamek, J. , 1997. Cryoprotection of sperm of common carp, *Cyprinus carpio* L. Aquacul. Res., Vol. 28, pp.567-571.

Baynes, S.M. and Scott, A.P. , 1987. Cryopreservation of rainbow trout spermatozoa: the influence of sperm quality, egg quality and extender composition on post-thaw fertility. Aquaculture. Vol. 66, pp.53-67.

Billard, R. ; Cosson, J. ; Perchec, G. and Linhart, O. , 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture. Vol. 129, pp.95-112.

Chen, S.L. ; Lio, X.T. ; Lu, D.C. ; Zhang, L.Z. ; Fu, C.J. and Fang, J.P. , 1992. Cryopreservation of spermatozoa of silver carp, common carp, blunt snout bream and grass carp. Acta Zoologica Sinca. Vol. 38, No. 4, pp.413-424.

Christ, S.A. ; Toth, G.P. ; McCarthy, H.W. ; Torsella, J.A. and Smith, M.K. , 1996. Monthly variation and sperm motility in common carp assessed using computer-assisted sperm analysis (CASA). Journal of Fish Biol. Vol. 48, pp.1210-1222.

Gwo, J.C. , 1993. Cryopreservation of black grouper (*Epinephelus malabaricus*) spermatozoa. Theriogenology. Vol. 39, pp.1331-1342.

Kerby, J.H. , 1983. Cryogenic preservation of sperm from striped bass. Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 112, No. 1, pp.86-94.

Koldras, M. and Bieniarz, K. , 1987. Cryopreservation of carp sperm. Pol. Arch.

www.SID.ir

Archive of SID

Hydrobiol. Vol. 34, No. 1, pp.125-134.

Koldras, M. ; Bieniarz, K. and Kime , D.E. , 1990. Sperm production and steroidogenesis in testes of the common carp, *Cyprinus carpio* L. at different stages of maturation. Journal of Fish Biol. Vol. 37, pp.635-645.

Koldras, M. and Mejza, T. , 1983. Effects of quantity and quality of carp sperm on egg fertilization success. Acta Ichthyologica et Piscatoria. Vol. 13, No. 2, pp.83-92.

Koldras, M. and Moczarski, M. , 1983. Properties of Pike, *Esox lucius* L. milt and its cryopreservation. Pol. Arch. Hydrobiol. Vol. 30, No. 1, pp.69-78.

Kurokura, H. ; Hirano, R. ; Tomita, M. and Iwahashi, M. , 1984. Cryopreservation of carp sperm. Aquaculture. Vol. 37, pp.267-273.

Lihart, O. ; Billard, R. and Proteau, J.P. , 1993. Cryopreservation of European catfish (*Silurus glanis* L.) spermatozoa. Aquaculture. Vol. 115, pp.347-359.

Linhart, O. ; Liehman, P. and Rab, P. , 1983. The first results in cryopreservation of carp sperm. Buletin VURH Vodnany. Vol. 2, pp.3-13.

Lubzens, E. ; Daube, N. ; Pekarsky, I. ; Magnus, Y. ; Cohen, A. ; Yusefovich, F. and Feigin, P. , 1997. Carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa cryobanks, strategies and research and application. Aquaculture. Vol. 155, pp.13-30.

Moczarski, M. , 1977. Deep freezing of carp, *Cyprinus carpio* L. sperm. Bull. Lacad. Polo. Scie. Vol. 25, No. 3, pp.187-190.

Moczarski, M. and Koldras, M. , 1982. Properties of tench-*Tinca tinca* L.-sperm and

www.SID.ir

Archive of SID

experiments with freezing it at -196°C. Acta Ichthyol. Piscatoria. Vol. 12, No. 2, pp.41-49.

Stoss, J. , 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. *In*: Fish physiology. Vol. IX. Reproduction, Part B., Behaviour and fertility control (eds. W.S. Hoar ; P.J. Randall and E.M. Donaldson) Academic Press. pp.305-341.

www.SID.ir

Archive of SID

Cryopreservation of carp spermatozoa by different extenders

Baradaran Noveiri SH.[1] ; Pourkazemi M.[2] ; Kouchinian P.[3] and Yavari V.[4]

sbn170@yahoo.com

1,2 - International Sturgeon Research Institute, P.O.Box: 41635-4364 Rasht, Iran

3,4- Marine Science Faculty, Shahid Chamran University, Ahwaz

Recieved: September 2004 Accepted: November 2005

Keywords: Carp, Cryopreservation, Sperm

Abstract

Production and storage of the best gametes are practices undertaken by fishery managers and researchers to improve fish reproduction technology and obtain the best spawners. The male spawners of carp (*Cyprinus carpio*) were chosen from two warm-water fish hatcheries near Rasht, Guilan Province. For the study, duration of motility of sperms, sperm density and fertilization rate were considered.

The best samples were chosen for cryopreservation with four different extenders and were checked by fertilization tests after seven days of preservation in liquid nitrogen. Results showed that by 1:1 dilution rate, the Alsever solution had the best results. The fertilization rate, production of eyed eggs and larvae by this extender in a multistage cooling experiment were 45%, 47.81% and 22.63% respectively.

www.SID.ir