



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره اول، شماره چهارم، زمستان ۹۲

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی تأثیر مس و سرب بر برخی پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi* Nikol'skii, 1897)

معصومه نقیبی^۱، احمد قرایی^۲، مصطفی غفاری^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

^۲ گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل

تاریخ ارسال: ۹۲/۶/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲

چکیده

تحرك اسپرم یکی از شاخص‌های اساسی در اندازه‌گیری کیفیت اسپرم ماهیان به شمار می‌آید. این مطالعه با هدف بررسی حساسیت اسپرم ماهی سفیدک سیستان *Schizothorax zarudnyi* در مواجهه با فلزات سنگین مس و سرب انجام شد. به همین منظور از اسپرم ۴ قطعه ماهی مولد نر به صورت جداگانه استفاده شد به طوری که اسپرم هر ماهی تحت تماس با غلظت‌های ۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید مس و کلرید سرب (۶ تیمار کلرید مس و ۶ تیمار کلرید سرب) قرار گرفته و پارامترهای طول دوره تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک، مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت آلاینده‌ها پارامترهای حرکتی اسپرم‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافته است و با گذشت زمان، هر چه از درصد اسپرم‌های متحرک کاسته می‌شود میزان حساسیت آنها حتی نسبت به غلظت‌های کمتر نیز محسوس می‌باشد. با توجه به اینکه، تغییر در میزان تحرک اسپرم ماهیان می‌تواند در میزان بازدهی تولیدمثل مولدین تأثیرگذار باشد، افزایش مواجهه مس و سرب با اسپرم ماهیان سفیدک سیستان در فصل تولید مثل، کیفیت اسپرم را کاهش خواهد داد.

واژگان کلیدی: آلودگی آب، تحرک اسپرم، تولید مثل، فلزات سنگین، کاهش باروری، ماهی سفیدک سیستان.

*نویسنده مسئول: agharaei551@gmail.com

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های زیادی که در زمینه مدیریت تصفیه و پالایش مواد زائد در محیط زیست صورت گرفته است، فلزات سنگین هنوز به عنوان یک خطر جدی برای انسان‌ها و سایر موجودات زنده محسوب می‌شود. این مواد برخلاف سایر آلاینده‌ها که می‌توانند به طور کامل به واسطه باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌ها تجزیه شده و از بین بروند، قابلیت تجزیه زیستی ندارند و به نوعی غیرقابل تجزیه هستند. این فلزات ممکن است به فرم‌های با سمیت بیشتر، کمپلکس‌هایی پایدارتر و یا ترکیباتی با سمیت کمتر تغییر یابند (Wepener, 1997).

آلاینده‌های مختلف بطور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق تغذیه با گیاهان، بی‌مهرگان و یا ماهیان ریزتر وارد بدن آبزیان شده و در سیستم درون‌ریز و فعالیت‌های جنسی ماهیان اختلال ایجاد می‌نماید (Arukwe, 2001). مس و سرب که از جمله فلزات سنگین آلاینده محیط زیست محسوب می‌شود از طریق فعالیت‌های صنعتی یا فرآیندهای وابسته به معدن و ذوب فلزات وارد محیط آبی می‌گردد (Demora *et al.*, 2004). این مواد در طی مدت زمان بسیار اندک تماس، تحرک اسپرم ماهیان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Woolley, 1998).

در زمینه بررسی اثرات آلاینده‌ها بر تخمک ماهیان مطالعاتی انجام شده است (Hall *et al.*, 1984; Jezirska *et al.*, 2009; Khan and Weis, 1987). اما تخمک نمی‌تواند یک شاخص زیستی مناسب محسوب شود، زیرا بررسی کیفیت آن متضمن گذشت زمان و به دست آوردن داده‌های حاصل از آزمایشات لقاح‌پذیری است (Abascal *et al.*, 2007). اما کیفیت اسپرم، فاکتوری کلیدی در تولید مثل و لقاح موفق محسوب می‌شود (Kime and Nash, 1999)، به طوری که حتی کاهش اندکی در میزان تحرک آن می‌تواند تأثیرات عمیقی روی قابلیت باروری تخمک‌ها داشته باشد (Kime *et al.*, 2001).

بنابراین اولین قدم در ارزیابی میزان بازدهی تولید مثل و تجدید نسل ماهیان در مواجهه با آلاینده‌ها، بررسی وضعیت تحرک اسپرم آنها محسوب می‌باشد (Pratap, 2008). از جمله شاخص‌های مرسوم در ارزیابی تحرک، طول دوره (Stoss, 1983) و درصد اسپرم‌های متحرک مشاهده شده، می‌باشند (Cosson and Linhart, 1991).

جنس *Schizothorax* در منابع آبی از آسیای مرکزی (ترکمنستان) و شرق ایران در غرب تا مکان‌های دوری در شرق مانند رودخانه‌های مکونگ^۱ و یانگ تسه کیانگ چین یافت می‌شوند (Nikolskii, 1961) و به طور کلی پراکنش آن از ایران در غرب تا Yunnan در شرق چین می‌باشد (Berg, 1949). در ایران سه گونه به نام‌های *Schizothorax intermedius*، *Schizothorax zarudnyi* و *Schizothorax pelzami* وجود دارد که دو گونه اول فقط در سیستان وجود دارند (Coad, 1995).

1- Mekong

مخصوصاً در دوران بلوغ در آب‌گیرهای هامون هیرمند در میان بسترهای پوشیده از نی به صورت اجتماعی زندگی می‌کند. ظاهراً تخم‌ها در آذرماه رسیده می‌شوند. تغذیه آن برخلاف دیگر گونه‌های این جنس آزادانه صورت گرفته و در صورت فقدان سایر مواد غذایی، منحصراً از دیگر ماهی‌های کوچک تغذیه می‌کند. نمونه‌هایی که در فصل زمستان صید شده‌اند، بالغ بوده‌اند. نمونه‌های بررسی شده تا پنج سالگی رشد می‌کنند و رسیدگی جنسی در کمتر از چهار سالگی اتفاق نمی‌افتد (Annandale and Hora, 1920). هدف از این تحقیق بررسی وضعیت تحرک اسپرم‌ها، به عنوان یک شاخص مهم تولید مثلی در مواجهه با فلزات سنگین پرکاربرد صنعتی مس و سرب در ماهی سفیدک سیستان به عنوان مدل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور استحصال اسپرم‌ها، ۴ مولد نر ماهی سفیدک سیستان با میانگین طولی $45/25 \pm 2/49$ سانتی‌متر و متوسط وزن $1150/00 \pm 19/57$ گرم از چاه‌نیمه‌های سیستان در اسفند ماه سال ۱۳۹۱ به روش گوش‌گیر صید شدند. پس از بی‌هوشی با پودر گل میخک و تزریق هورمون اوپریوم و گرفتن رطوبت بدن ماهیان، با فشار به ناحیه شکمی اسپرم‌کشی انجام شد. اسپرم استحصالی از هر ماهی نر توسط سرنگ به طور جداگانه داخل میکروتیوب‌های $1/5$ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس نمونه‌ها در مجاورت هوا به وسیله فلاسک محتوی یخ در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه جهت بررسی پارامترهای کمی انتقال داده شد.

با استفاده از نمک‌های کلرید مس ($CuCl_2$) و کلرید سرب ($PbCl_2$)، محلول‌های $0/1$ ، 1 ، 10 ، 100 میلی‌گرم در لیتر و آب مقطر (غلظت صفر) به ازای هر قطعه ماهی به صورت جدا، تهیه شد. اسپرم هر ماهی شامل ۶ تیمار حاوی محلول‌های $0/1$ ، 1 ، 10 ، 100 میلی‌گرم در لیتر محلول کلرید مس و ۶ تیمار حاوی محلول‌های $0/1$ ، 1 ، 10 ، 100 میلی‌گرم در لیتر کلرید سرب بود. یعنی به ازای هر ماهی، ۱۲ تیمار اسپرم و در ۴ قطعه ماهی (۴ تکرار) در مجموع ۴۸ تیمار تهیه شد و آزمایشات جهت دستیابی به دو شاخص طول دوره تحرک و درصد اسپرم‌های متحرک به صورت زیر انجام گردید. **تعیین طول دوره تحرک:** ابتدا برای آزمایشات گروه شاهد، یک قطره اسپرم را روی لام هماسیتومتر قرار داده و جهت فعال‌سازی آن، یک قطره آب مقطر به آنها اضافه شد و هم‌زمان ضبط ویدئویی توسط دوربین دیجیتالی مجزا از آنها صورت گرفت (Kalbassi *et al.*, 2007). جهت سنجش اثر آلاینده‌های مورد نظر بر مدت زمان تحرک اسپرم‌ها، مانند گروه شاهد عمل شد اما به جای آب مقطر، از محلول‌های آماده شده و در ازای هر یک از تیمارها ۴ تکرار از ۴ قطعه ماهی به صورت جدا تهیه شد. سپس برای سنجش اثرات فلزات نام‌برده روی پارامترهای تحرک اسپرم، فیلم‌های ضبط شده چندین مرتبه مورد بازبینی قرار گرفت و تعداد اسپرم‌های متحرک نسبت به اسپرم‌های غیرمتحرک در میدان دید مورد نظر

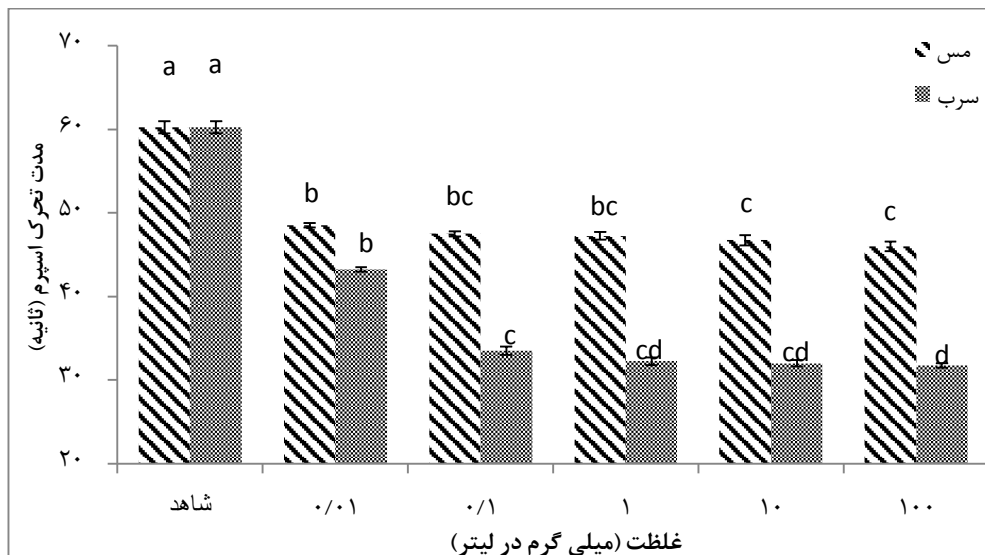
شمارش شد. در این آزمایشات تا زمانی که ۹۹ درصد اسپرم‌ها متوقف شدند، به عنوان طول دوره تحرک اسپرم‌ها در نظر گرفته شد (Billard *et al.*, 1995).

اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های متحرک: در این آزمایش با تکیه بر مقیاس‌های عنوان شده (liley *et al.* 2002) که چگونگی کیفیت اسپرم‌ها را بر اساس درصد اسپرم‌های متحرک تقسیم‌بندی نموده است، سعی شد تا به بررسی مدت زمانی که ۱۰، ۴۰ و ۸۰ درصد از اسپرم‌ها در تیمارهای مختلف هم‌چنان متحرک باقی مانده اند پرداخته شوند تا تأثیر گذر زمان بر کاهش تحرک اسپرم ماهی در مواجهه با غلظت‌های مختلف فلزات سنگین مس و سرب بیشتر نمایان گردد.

پردازش آماری داده‌ها: آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شده و نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون کولموگراف - اسمیرنف توسط نرم‌افزار SPSS بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) انجام شد. مقایسه بین میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL انجام شد.

نتایج

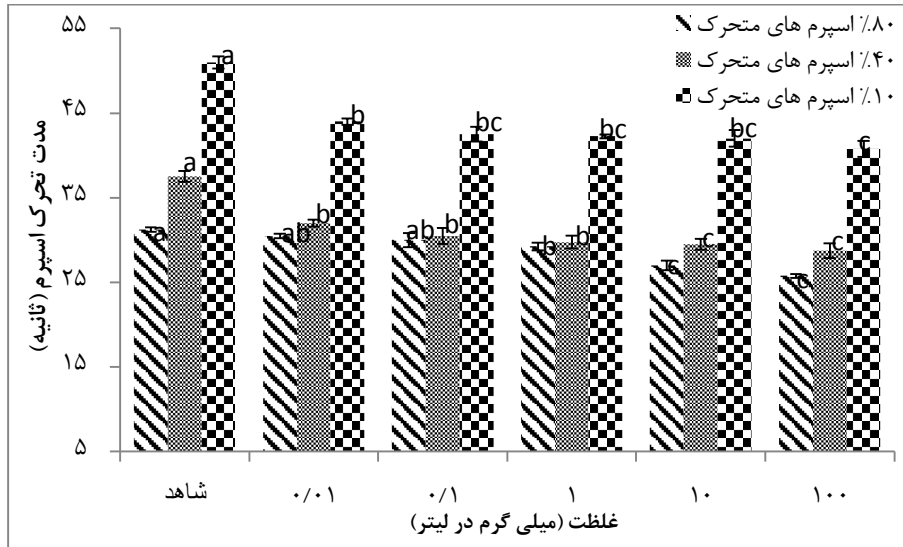
طول دوره تحرک: کل مدت زمان تحرک اسپرم‌ها از زمان شروع ثبت حرکات در تیمارهای مختلف، با افزایش غلظت فلزات مس و سرب کاهش یافت. تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) بین تحرک اسپرم‌هایی که در معرض فلزات مس و سرب با غلظت‌های مشابه قرار گرفتند مشاهده نشد اما شدت اثر سرب نسبت به مس در کاهش تحرک اسپرماتوزوئیدها بیشتر بود (شکل ۱). حتی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس و سرب نیز با وجود کاهش تحرک اسپرم، غلظت کشنده برای اسپرم ماهی شیزوتوراکس زارودنی نبود.



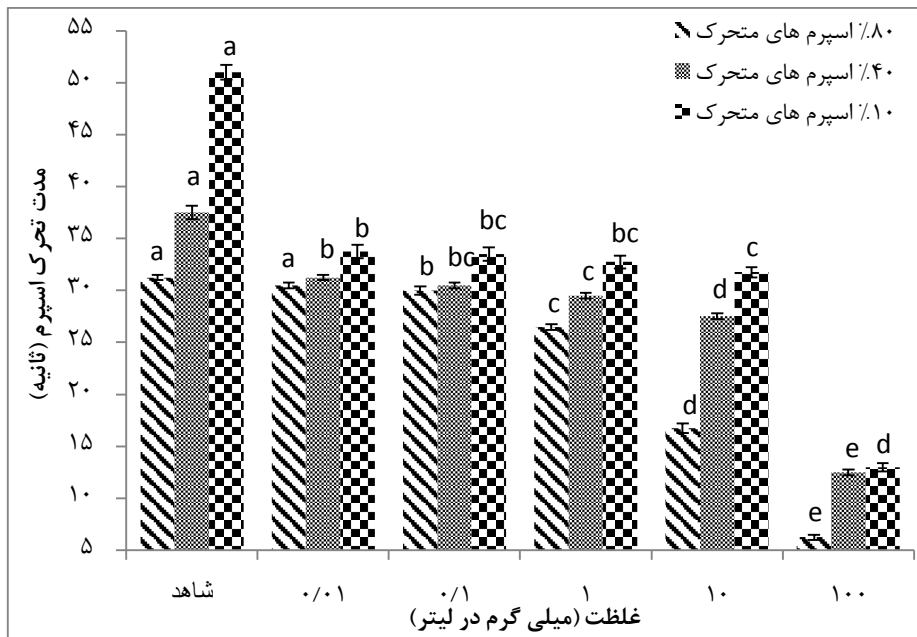
شکل ۱- مقایسه مدت زمان تحرک اسپرم ماهی شیزوتوراکس زارودنی در مواجهه با غلظت‌های مختلف مس و سرب (میانگین \pm انحراف از معیار)

درصد اسپرم‌های متحرک: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که ۸۰ درصد از اسپرم‌ها در گروه شاهد تحرک خود را در کمتر از ۳۱ ثانیه از دست دادند. این در حالی است که ۴۰ درصد از اسپرم‌ها، تحرک خود را تا ۳۷ ثانیه حفظ کردند و تحرک ۱۰ درصد از اسپرم‌ها نیز تا ۵۱ ثانیه ادامه داشت. از این پس روند کاهشی درصد اسپرم‌های متحرک ادامه یافته و حدوداً در ۶۰ ثانیه، متوقف شد (شکل ۲ و ۳).

تأثیرات فلزات سنگین مس و سرب بر پارامترهای اسپرم با میانگین داده‌ها در گروه شاهد (غلظت صفر) مقایسه شد. نتایج نشان داد که طول تحرک اسپرم‌ها در تماس با غلظت‌های مختلف از فلزات سنگین مس و سرب وابسته به غلظت این فلزات بوده و با افزایش غلظت آنها درصد اسپرم‌های متحرک کاهش یافته و تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲- درصد اسپرم‌های متحرک ماهی شیزوتوراکس زارودنی در معرض غلظت‌های مختلف مس (میانگین \pm انحراف از معیار)



شکل ۳- درصد اسپرم‌های متحرک ماهی شیزوتوراکس زارودنی در معرض غلظت‌های مختلف سرب (میانگین \pm انحراف از معیار)

حساسیت اسپرماتوزوئیدها در مواجهه با غلظت‌های مختلف از مس و سرب در ثانیه‌های اولیه پس از آغاز تحرک (زمانی که در حداکثر تحرک قرار دارند) قابل توجه بوده و با افزایش غلظت، تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمارهای با غلظت کمتر نشان داده‌اند. با نزدیک شدن به زمان انتهای تحرک اسپرماتوزوئیدها، حساسیت آنها کاهش یافته به طوری که در ثانیه‌های پایانی، تحرک ۱۰ درصد از اسپرم‌ها از غلظت ۰/۰۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مس و ۱ میلی‌گرم در لیتر سرب در یک بازه زمانی مشابه رخ داد و تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد بلکه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری نسبت به غلظت‌های پیشین وجود داشت (شکل ۲ و ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

فلزات سنگین از طرق مختلف بر آغاز جنبش و تحرک اسپرم تأثیر می‌گذارد (Lahnsteiner et al., 1999). این فلزات قادر به تجمع در بافت‌های جانوران بوده و در فرآیند تکامل اسپرم نیز تأثیرات منفی دارند. همچنین با اتصال به پروتئین و یا آنزیم‌های مؤثر بر متابولیسم تاژک اسپرماتوزوئیدها موجب تغییر ساختار تاژک، تغییر شکل پروتئین‌ها و توقف تحرک خواهند شد (Dietrich et al., 2009).

در مورد ماهی سفیدک سیستان فلز مس حتی در غلظت‌های زیر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز تأثیر منفی روی تحرک اسپرم داشته است اما این فلز فقط در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر قادر به تأثیرگذاری بر میزان تحرک اسپرم در ماهی *Dicentarchus labrax* شده است (Kime et al., 1996). تأثیرات منفی مس بر تحرک اسپرم گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* (Kime, 1995)، کپور علف‌خوار *Ctenopharyngodon idella* (Sarnowska et al., 1997) و کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Jezierska et al., 2009) نیز ثابت شده است.

در این مطالعه اثرات سمی وابسته به غلظت تحرک اسپرماتوزوئیدها تحت تأثیر فلزات سنگین مس و سرب کاملاً مشهود بوده و تأثیرات سوء سرب نسبت به مس، در مواقعی که در نتیجه کاهش ذخایر انرژی اسپرماتوزوئیدها از میزان تحرک آنها کاسته می‌شود نمایان‌تر است. با گذشت زمان، حساسیت اسپرماتوزوئیدها نسبت به ثانیه‌های اولیه از آغاز تحرک نیز مشاهده شد و هر چه از میزان اسپرم‌های متحرک کاسته می‌شود، غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر از مس و سرب نیز تأثیر شدیدتری روی تحرک اسپرم‌ها داشته است به طوری که میزان حساسیت نسبتاً بالای اسپرماتوزوئیدها زمانی که ۴۰ و ۱۰ درصد از اسپرم‌ها تحرک دارند، به دلیل تحلیل قدرت میتوکندریایی، ناهنجاری‌های حرکتی و اختلالات متابولیسمی کاملاً مشخص است (Van Look and Kime, 2003).

کلسیم عنصری ضروری برای تحرک اسپرم است (Maise et al., 1995). فلزات سنگین به وسیله جانشینی با کلسیم و جذب از راه آبشش، سیستم تولید مثلی ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد زیرا که

این فلزات از میان کانال‌های کلسیم جذب می‌شود (Verbost *et al.*, 1989). عملکرد منفی فلز مس و سرب می‌تواند نتیجه جایگزینی آن به جای کلسیم متصل به اسپرم باشد (Büsselberg, 1995) که این جایگزینی باعث عدم تحرک اسپرم می‌شود. همچنین، تأثیرات منفی جانشینی فلزات سنگین به جای کلسیم در اسپرم، در گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* با در معرض قرارگیری ۲۴ ساعته، مشاهده شد (Ebrahimi, 1996).

تأثیرات مس روی مراحل اولیه زندگی صدف آبی *Mytilus trossulus* نشان داد که سرعت شنای اسپرم به طور معنی‌داری در معرض غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس کاهش یافت اما غلظت‌های کمتر روی سرعت شنای اسپرم بی‌تأثیر بود. همچنین غلظت‌های مختلف مس در طول تاژک اسپرم و بقای تخم این گونه تأثیری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که اسپرمی که در معرض مس قرار گرفته روی فعالیت میتوکندریایی آن تأثیر گذارده و سبب کاهش سرعت شنای اسپرم در طول حرکت اسپرم در صدف آبی می‌شود (Fitzpatrick *et al.*, 2008). با افزایش غلظت مس پارامترهای حرکتی اسپرم ماهی سفید دریای خزر به طور معنی‌داری کاهش یافت به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس، بلافاصله اسپرم‌ها غیرمتحرک شدند (Fadakar *et al.*, 2011). دو فلز سنگین مس و سرب در غلظت کمتر از ۱۰۰ mg/L در اسپرم گونه باس دریایی *Dicentrarchus labrax* تأثیر کشندگی نداشت و فقط سبب کاهش تحرک اسپرم‌ها شد (Kime *et al.*, 2003; Abascal *et al.*, 1996) در مورد صدف آبی فقط در غلظت‌های ۲۰۸۰۰۰-۶۳۰۰۰ μg/L مس، صدمه میتوکندریایی و کاهش تحرک اسپرم اتفاق افتاد (Earnshaw *et al.*, 1986).

البته تعدادی از مطالعات گذشته عدم تأثیرگذاری مس را روی تحرک اسپرم ماهیان نشان می‌دهد. این پدیده در ماهیان: گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus*، *Leuciscus Mocholkiella paynei*، *Lota lota* و *cephalus* (Lahnsteiner *et al.*, 2004) مشاهده شد که شاید به دلیل تفاوت در فعالیت آنزیم‌های این گونه باشد (Rurangwa *et al.*, 2002). در ماهی قزل‌آلای قهوه‌ای *Salmo trutta fario* اسپرم‌های آلوده به مس حتی نسبت به گروه کنترل، شنای سریع‌تری داشتند (Lahnsteiner *et al.*, 2004).

نکته قابل توجه این است که تأثیر فلزات سنگین بر خصوصیات مورفولوژیکی و پارامترهای حرکتی اسپرم، در گونه‌های مختلف ماهیان باید به صورت جداگانه، بررسی گردد. چون این امکان وجود دارد که تنها یکی از این خصوصیات تحت تأثیر آلاینده‌ها باشد و میزان تأثیرپذیری آنها نیز در گونه‌های مختلف ماهی متفاوت باشد (Khan and Weis, 1987).

در این بررسی، تحرک اسپرم‌ها در گروه‌های شاهد، حتی در بیشتر از ۶۰ ثانیه، نیز مشاهده شده است که البته درصد خیلی کمی از اسپرم‌ها را به خود اختصاص داده است. طول دوره تحرک اسپرم‌ها

در تیمارهای مختلف مس و سرب در غلظت‌های مشابه، دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر نمی‌باشند. البته تأثیرات مضر سرب بر مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید نسبت به مس غالب بوده و با افزایش غلظت بر این غالبیت افزوده می‌شود. به طوری که تفاوت معنی‌داری در تحرک اسپرم‌ها تحت مواجهه با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر از مس در مقایسه با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نمی‌شود اما در ارتباط با سرب چنین تفاوتی به طور معنی‌داری نمایان است (شکل ۱).

در این بررسی، تحرک اسپرم‌ها در برخی از تکرارهای گروه شاهد، حتی در بیشتر از ۶۰ ثانیه پس از در معرض فلز سنگین قرار گرفتن، نیز مشاهده شده است که البته درصد خیلی کمی از اسپرم‌ها را به خود اختصاص می‌دهد. طول دوره تحرک اسپرم‌ها در تیمارهای مختلف مس و سرب در غلظت‌های مشابه، دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر نمی‌باشند. تأثیرات مضر سرب بر مدت زمان تحرک اسپرماتوزوئید، نسبت به مس غالب بوده و با افزایش غلظت بر این غالبیت افزوده می‌شود به طوری که تفاوت معنی‌داری در تحرک اسپرم‌ها تحت مواجهه با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر از مس در مقایسه با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نمی‌شود اما در ارتباط با سرب چنین تفاوتی به طور معنی‌داری نمایان است.

در واقع کاهش درصد تحرک اسپرم‌ها در ثانیه‌های ابتدای قرارگیری در معرض غلظت‌های پایین‌تر مس (غلظت ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و سرب (۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر)، نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد و در غلظت‌های بالاتر این فلزات، تحرک اسپرم‌ها نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. اما با گذشت زمان، وقتی که از تعداد اسپرم‌های متحرک کم شد و تنها ۴۰٪ و یا ۱۰٪ از اسپرم‌ها متحرک باقی ماندند در این زمان، حتی در غلظت‌های پایین مس و سرب نیز تحرک اسپرم‌ها نسبت به گروه شاهد، حسایت نسبتاً بالایی را نشان داده و به طور معنی‌داری تحرک اسپرم‌ها کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری صمیمانه ریاست محترم پژوهشکده تالاب هامون دانشگاه زابل، مدیر کل شیلات سیستان و مسئولین محترم مرکز تکثیر و بازسازی ماهیان بومی منطقه سیستان در منطقه زهک به جهت همکاری در فراهم آوردن زمینه انجام آزمایشات تشکر می‌گردد.

منابع

Abascal F.J., Cosson J., Fauvel C. 2007. Characterization of sperm motility in sea bass: the effect of heavy metals and physicochemical variables on sperm motility. *Journal Fish Biology*, 70: 509–522.

- Annandale N., Hora S.L. 1920. The fishes of Sistan, Record the Indian museum. 180: 151-203.
- Arukwe A. 2001. Cellular and molecular responses to endocrine modulators and the impact on fish reproduction. *Marine Pollution Bulletin*, 42: 643-655.
- Berg L.S. 1949. Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. Israel program for scientific translation, Jerusalem, volume II. 1962-1965.
- Billard R., Cosson J., Crim L.W., Suquet M. 1995. Sperm Physiology and Quality. In *Brood Stock Management and Egg and Larval Quality*. Bromage NR, Roberts RJ (eds.). Oxford: Blackwell Science, 25–52.
- Büsselberg D. 1995. Calcium Channels as Target Sites of Heavy Metals–Toxicol, p: 255–261.
- Coad B.W. 1995. Freshwater fishes of Iran. *Acta. Sc. Nat. Brno*. 29(1).
- Cosson J., Linhart O. 1991. Paddlefish *Polyodon spathula* spermatozoa: Effects of potassium and pH on motility. *Folia Zoological*, 45: 364-370.
- DeMora S., Sheikholeslami M.R., Wyse E., Azemard S., Cassi R. 2004. An assessment of metal contamination in coastal sediments of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 61-77.
- Dietrich G.J., Dietricha M., Kowalskia R.K., Doboszb S., Karola Demianowicza W., Glogowskia J. 2009. Exposure of rainbow trout milt to mercury and cadmium alters sperm motility parameters and reproductive success. *Aquatic Toxicology*, 4: 277-284.
- Earnshaw M.J., Wilson S., Akberali H.B., Butler R.D., Marriott K.R.M. 1986. The actions of heavy metals on the gametes of the marine mussel, *Mytilus edulis* (L.)-III. The effect of applied copper and zinc on sperm motility in relation to ultrastructure damage and intracellular metal localization. *Marine Environmental Research*, 20: 261–278.
- Ebrahimi M., Nysten K., Roelants I., Ollevier F., Kime D.E. 1996. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring sperm quality; application for determining effects of heavy metal pollutants. Gent, Belgium. 47-49 (In Persian).
- Fadakar Masouleh F. 2011. Effects of copper and cadmium on sperm motility of Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*), MSc. Thesis, Tehran University of Natural Resources, Karaj (In Persian).
- Fitzpatrick J.L., Nadella S., Bucking C., Balshine S., Wood C.M. 2008. The relative sensitivity of sperm, eggs and embryos to copper in the blue mussel (*Mytilus trossulus*). Department of Biology, McMaster University, Bamfield Marine Sciences Centre, Bamfield, British Columbia, Canada.
- Hall L.W., Horseman L.O., Zeger S. 1984. Effects of organic and inorganic chemical contaminants on fertilization, hatching success, and prolarval survival of striped bass. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 13:723–729.
- Jezirska B., Katarzyna Ł.K., Witeska M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 625–640.

- Kalbassi M.R., Lorestani R. 2007. Effect of different diluent solutions on the duration of sperm motility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 13: 132-142 (In Persian).
- Khan A.T., Weis J.S. 1987. Effect of methylmercury on egg and juvenile viability in two populations of killifish *Fundulus heteroclitus*. Environmental Research, 44: 272-278.
- Kime D.E. 1995. The effects of pollution on reproduction in fish. Fish Biology and Fisheries, 5: 52-96.
- Kime D.E., Ebrahimi M., Nysten K., Roelants I., Rurangwa E., Moore HDM., Ollevier F. 1996. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution on sperm quality of fish; application to the effects of heavy metals. Aquatic Toxicology, 36: 223-237.
- Kime D.E, Nash JP. 1999. Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish. The Scientific of the Total Environment, 233:123-129.
- Kime D.E, Van Look K.J.W., McAllister B.G., Huyskens G, Rurangwa E, Ollevier F. 2001. Computer assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 130: 425-433.
- Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T. 1999. Sperm metabolism of the teleost fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. Experimental Zoology, 284: 454-465.
- Lahnsteiner F., Mansour N., Berger B. 2004. The effect of inorganic and organic pollutants on sperm motility of some freshwater teleosts. Journal Fish Biology, 65: 1283-1297.
- Liley N.R., Tamkee P., Tsai R., Hoysak D.J. 2002. Fertilization dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on vitro fertilization. Journal Fish Aquaculture Science, 59:144-152.
- Maisse G., Billard R., Andre F., Cosson M., Le Gac F. 1995. Amelioration de la motilite des spermatozoides testiculaires de neomales de truite commune (*Salmo trutta*) au debut de la periode de reproduction-Aquative. Live. Research. 8: 191-194.
- Nikolskoi G.V. 1961. Special ichthyology translated to English in 1961.
- Pratap B.S., Vikash S.V.S., Santosh K.N., Hement K.S. 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.
- Rurangwa E., Biegniewska A., Slominska E., Skorkowski E.F., Ollevier F. 2002. Effect of tributyltin on adenylate content and enzyme activities of teleost sperm: a biochemical approach to study the mechanisms of toxicant reduced spermatozoa motility. Comparative Biochemistry and Physiology, 131: 335-344.

- Sarnowska K., Sarnowski P., Słomin'ska I. 1997. The effects of lead and copper on embryonic development of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). XVII Zjazd Hydrobiologów Polskich, Poznan. pp: 173-175.
- Stoss J. 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (eds.). Fish physiology, 9: 305-350.
- Van Look K.J.W., Kime D.E. 2003. Automated sperm morphology analysis in fishes: the effect of mercury on goldfish sperm. Journal of Fish Biology, 63: 1020–1033.
- Verboost P.M., Van Rooij J., Flik G., Lock R.A.C., Wendelaar Bonga S.E. 1989. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport – J. Exp. Biol, 145: 185–197.
- Wepener V. 1997. Metal ecotoxicology of olifants river in the kruger national park and the effect of thereof on fish heamatology. Ph.D. Thesis, South Africa. 22: 165-168.
- Woolley D.M. 1998. Studies of the eel sperm flagellum. 3. Vibratile motility and rotatory bending. Cell Motility and the Cytoskeleton, 39: 246-255.