

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC TÍNH LÝ HÓA HỌC CỦA
TINH TRÙNG CÁ CHẼM MỠM NHỌN *Psammoperca waigiensis*
(Cuvier & Valenciennes, 1828)**

*STUDIES ON SPERM PHYSICO-BIOCHEMICAL PROPERTIES OF THE WAIGEU
SEAPERCH *Psammoperca waigiensis* (Cuvier & Valenciennes, 1828)*

Lê Minh Hoàng, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Mai Như Thủy, Phạm Phương Linh, Phạm Quốc Hùng*

Khoa Nuôi trồng thủy sản - Đại Học Nha Trang,

**Email: nhung591989@gmail.com*

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the physic-biochemical properties of sperm of Waigeu seaperch *Psammoperca waigiensis*. The biochemical properties of seminal fluid and the physical properties of sperm were analyzed. The seminal plasma contained 154.45 ± 2.53 mM sodium (Na), 16.89 ± 0.98 mM potassium (K), 113.58 ± 1.19 mM chlorine (Cl), 12.75 ± 1.19 mM calcium (Ca) and 6.58 ± 0.70 mM magnesium (Mg). The following organic component was found: total protein 1.15 ± 0.25 (g.dl⁻¹). The mean sperm density was estimated to be 31.35 ± 2.12 ($\times 10^9$ spermatozoa.l⁻¹), spermatocrit (%) ranged from 84 to 92 in sperm samples and the mean was 87.7 ± 2.54 (%). The mean of milt volume was 1.28 ± 0.15 ml.fish⁻¹. Beside, sperm movement was also analyzed included: motility of sperm (%), velocity ($\mu\text{m.s}^{-1}$), duration (s). The result was reported to be $95.80 \pm 1.23\%$ for sperm motility, 50 ± 3.03 $\mu\text{m.s}^{-1}$ for the velocity and 218.58 ± 15.66 s for duration of sperm.

Highly significant relationships were found between sperm density and spermatocrit ($P < 0.01$) indicating that optical density can be used as a quick and accurate method of estimating sperm density. Beside, the number of sperm was significantly relationship with volume of semen ($P < 0.01$). A significant correlation was also observed between Ca of seminal plasma and motility sperm and duration ($P < 0.05$), between Na of seminal plasma and velocity ($P < 0.05$). These parameters should be considered when developing procedures for either artificial fertilization or for cryopreservation of sperm.

Key words: Waigeu seaperch, seminal plasma, physical-biochemical properties

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều loài cá biển được nuôi tại Việt Nam, cá chẽm mỡm nhọn *Psammoperca waigiensis* đang là đối tượng được ưa thích (Đỗ Văn Minh, 2007). Trên thế giới và ở nước ta đã có nhiều công trình nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh sản, sản xuất giống nhân tạo, và các công trình nghiên cứu khác liên quan đến đối tượng này (Vũ Văn Toàn, 2002 ; Đỗ Văn Minh, 2007). Mặc dù những thông tin cơ bản về đặc điểm sinh sản, mùa vụ, yếu tố môi trường sống của cá chẽm mỡm nhọn có đầy đủ trong nhiều nghiên cứu trước đó song dữ liệu về đặc tính lý hóa học của tinh trùng vẫn chưa được biết (Nguyễn Trọng Nho và ctv., 2003). Do sự thiếu hụt của các kiến thức về các thông số trên, nghiên cứu này nhằm mục đích đưa ra thành phần, nồng độ các cation và các yếu tố lý học liên quan đến tinh trùng đối tượng này. Điều này là rất hữu ích trong nuôi trồng thủy sản, cho phép sự phát triển tối ưu phương pháp sinh sản nhân tạo và góp phần cải thiện điều kiện bảo quản ngắn hạn và dài hạn của tinh trùng cho loài cá này trong tương lai (Chao và ctv., 1999). Việc nghiên cứu đặc tính lý hóa sinh của tinh trùng cá chẽm mỡm nhọn giúp chúng ta biết được quá trình sinh hóa cơ bản xảy ra trong suốt quá trình thụ tinh và hoạt lực của tinh trùng, thông qua đó đánh giá được khả năng sinh sản của tinh trùng (Le và ctv., 2007). Đặc biệt hơn là vấn đề nghiên cứu này rất còn hạn chế đối với cá biển ở nước ta. Nghiên cứu này thực hiện sẽ là cơ sở dữ liệu bổ sung cho thế giới và trong nước. Cũng chính vì những lý do trên đề tài: “**Nghiên cứu đặc tính lý hóa học của tinh trùng cá chẽm mỡm nhọn *Psammoperca waigiensis***” được thực hiện đáp ứng nhu cầu cấp thiết đó.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:

Địa điểm nghiên cứu: phòng thí nghiệm sinh học nghề cá – Khoa nuôi trồng thủy sản, Đại Học Nha Trang. Đối tượng nghiên cứu: cá chêm mồm nhọn *Psammoperca waigiensis* (Cuvier & Valenciennes, 1828).

Tinh dịch được thu từ cá chêm mồm nhọn đực thành thực sinh dục. Đây là đàn cá bố mẹ thuộc đề tài nghiên cứu do Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia tài trợ (106.08-2011.55). Các mẫu tinh dịch cho vào các eppendorf 1,5 ml và được giữ lạnh bằng thùng xốp có đá bảo để bảo đảm chất lượng mẫu. Mẫu tinh trùng sau khi thu được đưa ngay về phòng thí nghiệm để tiến hành phân tích

Các thông số được phân tích bao gồm:

- Thể tích của tinh dịch được xác định bằng 1,5ml eppendorf tube.
- Mật độ tinh trùng được xác định bằng phương pháp đếm ở buồng đếm hồng cầu.
- Độ quánh của tinh trùng được xác định bằng Hawksley micro-hematocrit reader.
- Xác định pH, áp suất thẩm thấu và các đặc tính hóa học: cho tinh dịch vào 1,5 ml eppendorf tube sau đó li tâm (15000 rpm) khoảng 10 phút. Sau khi li tâm tiến hành tách phần dịch tương ở phía trên rồi tiến hành xác định pH, áp suất thẩm thấu.
- pH được xác định bằng máy đo pH.
- Áp suất thẩm thấu xác định bằng máy đo áp suất thẩm thấu.
- Các đặc tính hóa học của tinh trùng được xác định bằng máy Fuji Dri- Chem 3500.

Dụng cụ để phân tích về sự vận động của tinh trùng (phần trăm hoạt lực, vận tốc và thời gian hoạt lực tinh trùng) là thiết bị có sự hỗ trợ của máy vi tính có gắn camera. Các file video được ghi lại và tiến hành phân tích chúng dựa vào phần mềm CASA (Computer aided for sperm analysis).

Phân tích số liệu

Số liệu thu thập được phân tích bằng SPSS 16.0. Sử dụng phân tích tương quan ở mức $P < 0,01$ và $P < 0,05$. Số liệu được trình bày dưới dạng: giá trị trung bình \pm sai số chuẩn hoặc độ lệch chuẩn.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Đặc tính lý hóa học của tinh dịch cá chêm mồm nhọn *Psammoperca waigiensis*.

Thông số	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Na ⁺ (mM.l ⁻¹)	151,50	156,40	154,45	1,53
K ⁺ (mM.l ⁻¹)	15,70	18,40	16,89	0,98
Cl ⁻ (mM.l ⁻¹)	111,90	115,80	113,58	1,19
Mg ²⁺ (mM.l ⁻¹)	5,70	8,10	6,58	0,70
Ca ²⁺ (mM.l ⁻¹)	11,20	14,90	12,75	1,19
Tổng số protein (g.dl ⁻¹)	0,80	1,50	1,15	0,25
ASTT (mOsm.kg ⁻¹)	334,80	361,30	346,37	8,57
Mật độ ($\times 10^9$ tb.ml ⁻¹)	28,70	34,40	31,35	2,12
Độ quánh (%)	84,00	92,00	87,70	2,54
Thể tích (ml.con ⁻¹)	1,10	1,50	1,28	0,15
Số lượng tinh trùng ($\times 10^9$ tb.con ⁻¹)	32,23	48,16	40,12	5,31
Phần trăm (%)	94,00	98,00	95,80	1,23
Vận tốc ($\mu\text{m.s}^{-1}$)	140,00	150,00	144,50	3,03
Thời gian (s)	207,00	241,80	218,58	15,66

Cation: Kết quả về nồng độ ion trong dịch tương cá chêm mồm nhọn được thể hiện trên Bảng 1. Theo đó, kết quả chúng tôi hoàn toàn tương đồng với nhận định của các nghiên cứu trước

đó là hàm lượng ion Na^+ , trong nghiên cứu này ($154,45 \pm 1,53 \text{ mM.l}^{-1}$), chiếm đa số trong dịch tương tinh trùng cá, tiếp đó là ion Cl^- ($113,58 \pm 1,19 \text{ mM.l}^{-1}$). Kết quả này cao hơn nhiều nghiên cứu khác mà điển hình là hàm lượng ion Na^+ , chẳng hạn cao hơn cá *Mugil cephalus* (103 mM.l^{-1}) (Suquet và ctv., 1994), cá *Larimichthys polyactis* ($148,0 \text{ mM.l}^{-1}$) (Le và ctv., 2011) nhưng thấp hơn cá *Acanthopagrus schlegelii* ($169,5 \text{ mM.l}^{-1}$) (Tan-Fermin và ctv., 1999), cá *Thamnaconus modestus* ($164,0 \text{ mM.l}^{-1}$) (Le và ctv., 2007). Kết quả của chúng tôi cũng cao hơn nhiều so với các loài cá nước ngọt và di cư như: *Perca fluviatilis* ($131,0 \text{ mM.l}^{-1}$) (Secer và ctv., 2004), cá *Salmo trutta caspius* ($127,3 \text{ mM.l}^{-1}$) (Hatef và ctv., 2007), cá di cư: cá *Acipenser persicus* ($62,4 \text{ mM.l}^{-1}$) (Piros và ctv., 2002).

Protein: So với các loài động vật có xương sống khác, hàm lượng protein trong dịch tương cá là khá thấp (Rainis và ctv., 2005). Trong nghiên cứu này, hàm lượng protein dịch tương cá chêm mỡ nhọn đã được định lượng $1,15 \pm 0,25 \text{ g.dl}^{-1}$, đó là một giá trị cao hơn nhiều loài khác đã được nghiên cứu như: *Mugil cephalus* $0,9 \text{ g.dl}^{-1}$ (Rakitin và ctv., 1999), *Tetraodon pustulatus* $0,1 \text{ g.dl}^{-1}$ (Suquet và ctv., 1999), *Platichthys stellatus* $0,5 \text{ g.dl}^{-1}$ (Suquet và ctv., 1999), *Thamnaconus modestus* $0,1 \text{ g.dl}^{-1}$ (Le và ctv., 2007), *Salmo trutta caspius* $1,3 \text{ g.dl}^{-1}$ (Hatef và ctv., 2007), *Oncorhynchus masou* $1,0 \text{ g.dl}^{-1}$ (Aas và ctv., 1991), *Larimichthys polyactis* $1,0 \text{ g.dl}^{-1}$ (Le và ctv., 2011) và chỉ thấp hơn *Salmo trutta macrostigma* $3,0 \text{ g.dl}^{-1}$ (Bozkurt và ctv., 2011). Nhiều tác giả cho rằng thành phần này có thể đóng một vai trò quan trọng bảo vệ cho tinh trùng và nó có chứa một số enzyme quan trọng của quá trình trao đổi chất (Hatef và ctv., 2007). Nhưng đến nay vẫn chưa có một công trình nào công bố điều trên.

Áp suất thẩm thấu (ASTT)

Giá trị ASTT trong tinh dịch cá chêm mỡ nhọn được xác định: $346,37 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$. So với loài cá biển khác kết quả này cao hơn rất nhiều loài cá như: *Paralichthys olivaceus* ($334,3 \text{ mOsm/kg}$) (Linhart và ctv., 2003), *Thamnaconus modestus* ($322,8 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Le và ctv., 2007), *Larimichthys polyactis* ($342,5 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Le và ctv., 2011) và thấp hơn: *Acanthopagrus schlegelii* ($382,0 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Harald và ctv., 2001), *Mugil cephalus* ($370,0 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Suquet và ctv., 1994), *Gadus morhua* ($400\text{--}417 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Rakitin và ctv., 1999). Chúng cũng cao hơn nhiều so với các loài cá nước ngọt và cá di cư: *Perca fluviatilis* ($298,1 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Tan-Fermin và ctv., 1999), *Salmo trutta caspius* ($188,9 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Hatef và ctv., 2007), *Acipenser persicus* ($82,6 \text{ mOsm.Kg}^{-1}$) (Hadi và ctv., 2001).

Thể tích tinh dịch

Khối lượng tinh trùng thu thập cho mỗi cá chêm mỡ nhọn đực dao động từ 1,10 và 1,50 ml và trung bình là $1,28 \pm 0,15 \text{ mL}$. Theo kết quả của các nghiên cứu trước giá trị này thấp hơn nhiều loài như: *Scophthalmus maximus* (1,6 mL) (Suquet và ctv., 1994), *Acanthopagrus schlegelii* (1,97 mL) (Tan-Fermin và ctv., 1999), *Salmo trutta caspius* (3,9 mL) (Hatef và ctv., 2007), *Perca fluviatilis* (2,8 mL) (Linhart và ctv 2003) và cao hơn *Thamnaconus modestus* (0,3mL) (Le và ctv., 2007), *Larimichthys polyactis* (1,1 mL) (Le và ctv., 2011).

Độ quánh (Spermatocrit)

Độ quánh tinh dịch cá chêm mỡ nhọn trung bình đạt 87,7%. So với cá biển, kết quả này cao hơn *Salmo trutta caspius* (25,7%) (Hatef và ctv., 2007), *Tetraodon pustulatus* (64,8%) (Maria và ctv., 2010), *Paralichthys olivaceus* (60,2%) (Rainis và ctv., 2005), *Platichthys stellatus* (72,0%) (Noveiri và ctv., 2006), nhưng thấp hơn *Acanthopagrus schlegelii* (97,4%) (Scharer và ctv., 1999), *Mugil cephalus* (96,7%) (Liu và ctv., 2012), *Larimichthys polyactis* (97,8%) (Le và ctv., 2011).

Mật độ

Nghiên cứu này cho thấy rằng mật độ tinh trùng cá chêm mỡ nhọn rất cao ($31,35 \pm 2,12 \times 10^9 \text{ tb.ml}^{-1}$) so với nhiều loài cá biển khác. Ví dụ, mật độ tinh trùng được báo cáo trong khoảng $23 \times 10^9 \text{ tb.ml}^{-1}$ ở cá *Acanthopagrus schlegelii*, $11,1 \times 10^9 \text{ tb.ml}^{-1}$ ở cá *Mugil cephalus* (Sahin và

ctv., 2012), *Paralichthys olivaceus* 16×10^9 tb.ml⁻¹ (Noveiri và ctv., 2006), *Larimichthys polyactis* $2,5 \times 10^9$ tb.ml⁻¹ (Le và ctv., 2011), *Platichthys flesus* $2,7 \times 10^9$ tb.ml⁻¹ (Suquet và ctv 1999) và thấp hơn *Limanda yokohamae* 36×10^9 tb.ml⁻¹ (Chao và ctv., 1999). Nghiên cứu trên cá nước ngọt cho thấy kết quả mật độ tinh trùng cá chêm mỗm nhọn hầu hết cao hơn chẳng hạn như: *Gadus morhua* $7,9 \times 10^9$ tb.ml⁻¹ (Rakitin và ctv., 1999), *Salmon trutta* $6,02 \times 10^9$ tb.ml⁻¹ (Bozkurt và ctv., 2011), *Oncorhynchus tshawytsch* $4,9 \times 10^7$ tb.ml⁻¹ (Flannery và ctv., 2012).

Hoạt lực tinh trùng

Hoạt lực tinh trùng là một trong yếu tố quan trọng đánh giá chất lượng tinh trùng, có vai trò quyết định trong việc nâng cao hiệu quả thụ tinh nhân tạo (Hatef và ctv., 2007).

Phần trăm tinh trùng hoạt lực dao động từ 94% đến 98% và trung bình là $95,80 \pm 1,23\%$. Thời gian hoạt lực tinh trùng được xác định khá đồng đều từ 207,00 s đến 241,80 s với trung bình là $218,58 \pm 15,66$ s. Vận tốc trung bình tinh trùng hoạt động $144,50 \pm 3,03$ $\mu\text{m/s}$. So với các nghiên cứu khác, kết quả này cao hơn nhiều về phần trăm tinh trùng vận động như: cá hồi *Salmo trutta* (80,37%) (Alavi và ctv., 2004), *Platichthys flesus* (87,5%) (Hajirezaee và ctv., 2010). Trong khi đó, tổng thời gian vận động của tinh trùng cá chêm mỗm nhọn cũng cao hơn *Salmo trutta caspius* (39 s), *Salmo trutta* (81,47 s) (Bozkurt và ctv., 2011) nhưng lại thấp hơn cá bon châu Âu *Platichthys flesus* (1320 s) (Rainis và ctv., 2005).

Bảng 2. Tương quan giữa các yếu tố lý hóa học tinh trùng cá chêm mỗm nhọn.

Các thông số	Khối lượng	Độ quánh	Số lượng tinh trùng	Độ mặn	% hoạt lực tinh trùng	Thời gian hoạt lực	Vận tốc hoạt lực
Khối lượng	-	-	-	-	-	-	-
Chiều dài	0,978**	-	-	-	-	-	-
Mật độ	-0,164	0,834**	-	-	-	-	-
Thể tích	-0,334	0,041	0,847**	-	-	-	-
pH	-0,489	-0,249	-0,081	-0,697*	-	-	-
Ion Canxi	-0,105	0,194	0,327	0,441	0,678*	-0,749*	-
Ion Natri	0,089	0,556	-0,102	-0,044	-0,514	0,280	0,795**

**Tương quan $P < 0,01$, *Tương quan $P < 0,05$

Qua bảng trên thấy rằng có mối tương quan giữa chiều dài và khối lượng cá chêm mỗm nhọn, tương quan giữa mật độ và độ quánh ($P < 0,01$). Chính vì vậy nhiều tác giả kết luận có thể sử dụng mật độ tinh trùng để đánh giá nhanh độ quánh của tinh dịch (Alavi và ctv., 2004). Có mối tương quan thuận giữa thể tích tinh tich và số lượng tinh trùng. Ngoài ra, ion Ca cũng có tương quan đến hoạt lực tinh trùng về thời gian và hoạt lực của tinh trùng ($P < 0,05$), trong khi đó ion Na lại có tương quan đến vận tốc hoạt lực ($P < 0,01$). Nhiều nghiên cứu trước cũng cho rằng có sự ảnh hưởng (kìm hãm hay thúc đẩy) của các ion lên hoạt lực của tinh trùng cá (Hadi và ctv., 2007).

Như vậy, các thành phần lý hóa học tinh trùng cá chêm mỗm nhọn có sự tương quan lớn với nhau. Đây có thể là lý do giải thích tại sao tinh trùng hầu hết các loài cá biển cũng như cá chêm mỗm nhọn đều không hoạt động trong tinh dịch hay trong buồng sẹ (Le và ctv., 2011). Chúng chỉ hoạt động khi phóng thích vào môi trường thụ tinh. Xác định được mối tương quan giữ các thành phần cho phép chúng ta hiểu rõ hơn về sự thay đổi đặc tính sinh lý, sinh hóa của tinh trùng cá.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Theo kết quả nghiên cứu cho thấy: Mật độ tinh trùng cá chêm mỗm nhọn: $31,35 \pm 2,12$ ($\times 10^9$ tb.ml⁻¹); độ quánh: $87,70 \pm 2,54$ (%), thể tích tinh dịch: $1,28 \pm 0,15$ (ml.con⁻¹); pH = $7,85 \pm 0,24$;

ASTT $346,37 \pm 8,57$ (mOsm.Kg⁻¹), tổng protein: $1,15 \pm 0,25$ (g.dl⁻¹), phần trăm tinh trùng vận động: $95,80 \pm 1,23$ (%), vận tốc di chuyển: $144,50 \pm 3,03$ (μm.s⁻¹), thời gian: $218,58 \pm 15,66$ (s).

Nồng độ các ion (mM.l⁻¹): Na⁺ = $154,45 \pm 2,53$; Cl⁻ = $113,58 \pm 1,19$; K⁺ = $16,89 \pm 0,98$; Ca²⁺ = $12,75 \pm 1,19$; Mg²⁺ = $6,58 \pm 0,70$.

Có sự tương quan giữa mật độ tinh trùng và độ quánh tinh dịch, thể tích tinh dịch và số lượng tinh trùng, có sự tương quan giữa ion Ca, Na với hoạt lực của tinh trùng.

Kiến nghị

Cần nghiên cứu sự thay đổi thành phần lý hóa tinh trùng cá chêm mồm nhọn trong các tháng sinh sản hay các mùa trong năm để đánh giá được đúng đắn nhất chất lượng tinh trùng trong từng thời điểm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Đỗ Văn Minh, 2007. *Bài giảng kỹ thuật sản xuất giống và nuôi một số loài cá biển*, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, 16 – 17.

Nguyễn Trọng Nho, Lục Minh Diệp, Nguyễn Địch Thanh và Châu Văn Thanh, 2003. Nghiên cứu sản xuất giống nhân tạo cá chêm mồm nhọn *Psammoperca waigiensis* (Cuvier & Valenciennes, 1828). *Hợp đồng nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ giữa trường Đại Học Nha Trang và Ban Quản Lý Hợp Phần SUMA, Bộ Thủy Sản*.

Vũ Văn Toàn, 2002. Danh mục các loài nuôi biển và nước lợ Việt Nam, *Hợp Phần Hỗ Trợ Nuôi Trồng Thủy Sản Biển Và Nước Lợ (SUMA)*.

Tài liệu tiếng Anh

Aas, G.H., Terje, R. and Bjarne, G., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon, *Aquaculture, Elsevier Science*, 125-132.

Alavi, S.M.H., Karami, M., Hossein, A. and Amiri, B.M., 2004. Chemical composition and osmolality of seminal fluid of *Acipenser persicus*; their physiological relationship with sperm motility, *Aquaculture Research*.

Bozkurt, Y., Gretmen, F., Kokcu, O. and Erçin, U., 2011. Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility, *Czech J. Anim. Sci.* 56(8): 355–364.

Chao, N.H., Chao, W.C., Liu, K.C. and Liao, I.C., 1999. The biological properties of black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*) sperm and its cryopreservation, *Proc Natl Sci Counc Repub China*. 10(2): 9-145.

Flannery, E.W., Butts, I.A.E., Siowinska, M., Ciereszko, I. and Pitcher, T., 2012. Reproductive investment patterns, sperm characteristics, and seminal plasma physiology in alternative reproductive tactics of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), *Biological Journal of the Linnean Society*.

Hadi, A.S.M., Cosson, J. and Kazemi, R., 2007. Semen characteristics in *Acipenser persicus* in relation to sequential stripping, *Journal of Applied Ichthyology*. 22(1): 400 – 405.

Hajirezaee, S., Amiri, B.M. and Alireza, M., 2010. Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review, *African Journal of Biotechnology* 9(54): 9148-9154.

Harald, B.T., Tillmann, T., Benfey, J., Deborah, J., Robichaud, M. and Power, J., 2001. The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, *Aquaculture*. 194: 191–200.

Hatef, A.H.N., Amiri, B.M., Alavi, S.M.H. and Karami, M., 2007. Sperm density, seminal plasma composition and their physiological relationship in the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*), *Aquaculture Research*. 38: 1175 – 1181.

- Le, M.H., Lim, H.K., Min, B.H., Lee, J.U. and Chang, Y.J., 2011. Semen Properties and Spermatozoan Structure of Yellow Croaker, *Larimichthys polyactis*, *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgheh*, 1-8.
- Le, M.H., Lim, H.K., Min, B.H., Sung, Y.K. and Chang, Y.J., 2007. Milt properties and spermatozoa structure of filefish (*Thamnaconus modestus*), *Dev. Reprod.* 11(3): 227-233.
- Linhart, O., Mims, S.D., Gomelsky, B., Hiott, A.E., Shelton, W.L., Cosson, J., Rodina, M., David, G. and Bastl, J., 2003. Ionic composition and osmolality of paddlefish (*Polyodon spathula*, *Acipenseriformes*) seminal fluid, *Aquaculture International* 11(4): 357-368.
- Liu, Q.H., Xu, S.H. and Ma, D.Y., 2012. Marine Fish Sperm Cryopreservation and Quality Evaluation in Sperm Structure and Function, *Agricultural and Biological Sciences*, 240 - 248
- Maria, A.N., Azevedo, H.C., Santos, J.B., Silva, C.A. and Carneiro, P.C.F., 2010. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*), *Journal of Applied Ichthyology*. 26(5): 779-783.
- Noveiri, S.B., Alipour, A. and Pourkazemi, M., 2006. Sperm morphometry, density and spermatocrit study in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), *J. Appl. Ichthyol* 22: 380-383.
- Piros, B.J.G., Kolman, R., Rzemieniecki, A., Domagala, J., Horvath, A., Urbany, B. and Ciereszko, A., 2002. Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* and sterlet *Acipenser ruthenus* milt plasma and spermatozoa, *Fish Physiology and Biochemistry*. 26: 289-295.
- Rainis, S., Gasco, L. and Ballestrazzi, R., 2005. Comparative study on milt quality features of different finfish species, *Italian Journal of Animal Science*. 4(4): 355-363.
- Rakitin, A., Ferguson, M.M and Trippel, E.A., 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): Correlation and variation during the spawning season, *Aquaculture*. 170: 349-358.
- Sahin, T., Erdinc, G., Ilhan, A. and Zeki, K.L., 2012. Sperm Characteristics of Wild European Flounder (*Platichthys flesus luscus*), *The Israeli Journal of Aquaculture*.
- Scharer, L. and Robertson, D.R., 1999. Sperm and milt characteristics and male v. female gametic investment in the Caribbean reef fish, *Thalassoma bifasciatum*, *Journal of Fish Biology*. 55: 329-343.
- Secer, S., Tekin, N., Bozkurt, Y., Bukan, N. and Akcay, E., 2004. Correlation between biochemical and spermatological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen, *J. Aquaculture-Bamidgeh*. 56: 274-280.
- Suquet, M., Cosson, J., Germaine, D., Chauvaud, C.M. and Laurent, C.F., 1994. Sperm features in turbot (*Scophthalmus maximus*): a comparison with other freshwater and marine fish species, *Aquar. Living Resour*, 283-294.
- Tan-Fermin, J.D., Takeshi, M., Shinji, A. and Kohei, Y., 1999. Seminal plasma composition, sperm motility, and milt dilution in the Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther), *Aquaculture* 171: 323-338.