

اثر الکتروولیت‌ها و pH روی خصوصیات حرکتی اسپرم کپور دریایی (*Cyprinus carpio*)

کاظم درویش بسطامی* و محمد رضا ایمانپور
darvish_60@yahoo.com

دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان صندوق پستی: ۴۹۱۶۵-۳۸۶

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۷

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۸

چکیده

در این تحقیق اثر pH و یونهای سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم بر روی خصوصیات حرکتی اسپرم کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) از قبیل طول دوره تحرک و درصد تحرک مورد بررسی قرار گرفت. پس از تعیین بهترین pH، اثر تلفیقی آن با هر کدام از یونهای سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم ارزیابی شد. در pH ۸/۵ بیشترین طول دوره تحرک و درصد تحرک مشاهده شد. اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم روی طول دوره حرکتی اسپرم و درصد اسپرم متحرک ماهی کپور دریایی معنی دار بود ($P < 0.05$). بطوریکه در غلظت ۵۰ میلی مول کلرید سدیم بیشترین طول دوره تحرک و درصد اسپرم تحرک مشاهده شد. اثر تیمارهای مختلف کلرید کلسیم و کلرید پتاسیم روی طول دوره حرکتی اسپرم و درصد اسپرم تحرک ماهی کپور دریایی معنی دار نبود ($P > 0.05$). اثر تیمارهای مختلف کلرید منیزیم بر روی طول دوره حرکتی معنی دار بود ($P < 0.05$). بطوریکه بیشترین طول دوره تحرک در کلرید منیزیم ۲۰ میلی مولار مشاهده شد ولی اثر تیمارهای مختلف کلرید منیزیم روی درصد تحرک اسپرم معنی دار نبود ($P > 0.05$). بطور کلی تحرک اسپرم کپور دریایی تحت تاثیر غلظتهاي بالايي از یونها مي باشد.

لغات کلیدی: کپور دریایی، *Cyprinus carpio*، اسپرم، یون‌ها

مقدمه

شندن در تکثیر مصنوعی تحریک می‌شود. اسپرم ماهیان در گونه‌های مختلف از لحاظ شروع حرکت، مدت زمان و الگوی حرکتی متفاوت است. اسپرم ماهیان آب شیرین معمولاً کمتر از دو دقیقه تحرک دارد و در بسیاری موارد حداقل فعالیت کمتر از ۳۰ ثانیه است. عواملی که باعث این بی‌حرکتی می‌شود در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است. برای مثال فشار اسمزی، میزان یون پتاسیم، ساکاروز و پلاسمای سینیال با $pH < 7$

یکی از عوامل مهم در فرآیند لقاح، استفاده از اسپرم مناسب می‌باشد. بنابراین کیفیت اسپرم که مهمترین ویژگی آن تحرک می‌باشد می‌تواند سبب افزایش لقادر (یگانه، ۱۳۸۱). در اغلب گونه‌های ماهیان آب شیرین که لقادرهای خارجی دارند، اسپرم در داخل دستگاه تناسلی نر و پلاسمای سینیال بی‌حرکت است (Lahnsteiner *et al.*, 1997). حرکت اسپرم بعد از رهاسازی اسپرماتوزوا در محیط آبی طی تکثیر طبیعی یا بعد از رقیق

*نویسنده مسئول

1300 ± 100 کیلوگرم در اوج فصل تخمیریزی از دهانه گرگان رود صید شدند. برای جمع‌آوری اسپرم (۱۰ عدد ماهی نر) سوراخ تناسلی خشک گردید سپس با یک فشار آرام به ناحیه شکمی میلت، را بدون مخلوط شدن آن با ادرار و فضولات با استفاده از سرنگهای ۵ میلیمتری جمع‌آوری و در بین نگهداری شد و بلافضلله به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان برای انجام آزمایشات حرکتی انتقال داده شد.

حرکت اسپرم از روی درصد اسپرم‌های متحرك و مدت زمان کل حرکتی بعد از فعالیت ارزیابی شد. برای شروع حرکت، اسپرم با محلول فعال کننده (آب مقطر) به نسبت $1000 : 5$ رقيق شد و پارامترهای حرکتی بلافضلله بعد از شروع فعالیت اسپرم تا زمانیکه 100 درصد اسپرم‌ها غیرمتحرك شوند توسط دوربین متصل به میکروسکوپ ثبت گردید. در ادامه درصد اسپرم متتحرك اندازه‌گیری شد (Turner & Montgomerie, 2002). همه آزمایشات در سه تکرار و درجه حرارت 19 تا 21 درجه سانتیگراد با میکروسکوپ فاز کتراست با درشت نمایی 100 و مشاهده روی لام صورت پذیرفت (Cosson et al., 2000).

به منظور تعیین بهترین محدوده pH تصاویر حرکتی اسپرم 4 ماهی زیر میکروسکوپ مجهز به دوربین متصل به رایانه در محدوده $5/5$ تا $6/5$ ، 6 تا $7/5$ ، 7 تا $8/5$ ، 8 تا $9/5$ ، 9 تا $10/5$ ثبت شد و پارامترهای حرکتی اسپرم شامل درصد تحرك اسپرم و طول دوره حرکت اسپرم اندازه‌گیری شد (Alavi et al., 2004).

نمونه میلت با کیفیت خوب از 4 عدد ماهی نر برای تعیین اثر کاتیونهای سدیم، پتانسیم، کلسیم و منیزیم روی پارامترهای حرکتی اسپرم در ترکیب با pH بهینه معادل $8/5$ در غلظتهاي 10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 100 ، 150 و 200 میلیمول در لیتر کلرید سدیم، 25 ، 50 ، 60 ، 70 ، 80 ، 90 و 100 میلیمول در لیتر کلرید پتانسیم، 5 ، 10 ، 15 و 20 میلیمول در لیتر کلرید کلسیم و 5 ، 10 ، 15 و 20 میلیمول در لیتر کلرید منیزیم استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و SPSS انجام گردید. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگراف اسپرینف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها تعیین شد و سپس با استفاده از آزمون دانکن

عوامل عمدۀ ممانعت‌کننده اسپرم در آزاد ماهیان و فشار اسمزی عامل اصلی کنترل کننده اسپرم در کپور ماهیان و یون پتانسیم و فشار اسمزی در ماهیان خاویاری است (Morisawa et al., 1983). واضح است که پارامترهای داخل سلولی مثل غلظت cAMP، ATP و pH و غلظت یونها بخصوص کلسیم و pH و پارامترهای خارج سلولی از قبیل درجه حرارت و pH روی توانایی و مدت زمان تحرک اسپرم ماهیان مؤثر می‌باشد (Alavi & Cosson, 2006). مدت زمان کوتاه حرکت اسپرم در ماهیان در نتیجه صدمه اسموتیکی یا ناکافی بودن ذخیره انرژی می‌باشد. در تحقیقات انجام شده اسپرم در محلولهای نمکی مخصوص فعال می‌شود که در این صورت از وارد آمدن صدمات اسموتیکی جلوگیری می‌شود و در چنین محیط‌هایی، فعال کننده‌های اسپرم برای مدت زمان طولانی متحرك باقی می‌ماند و تغییرات ساختاری قابل ملاحظه‌ای در آن دیده نمی‌شود. بنابراین ضروری بنظر می‌رسد که غلظت یونها (سدیم، پتانسیم، کلسیم، منیزیم و اسمولاریته و pH در یک محدوده مشخصی باقی بماند چرا که وجود این عوامل برای آغاز حرکت اسپرم ضروری است به این صورت که غشای سلول را دیپلاریزه کرده و روی تازک اسپرم تاثیر گذاشته و موجب حرکت می‌شوند (Cosson et al., 2000). کپور دریابی برخلاف کپور پرورشی در بسیاری از مناطق پراکنده‌گی خود بدليل از دادن زیستگاه و هیبرید با کپور پرورشی در حال انقراض است (Memis & Kohlman, 2006). در ایران بمنظور بازسازی ذخایر در چند سال اخیر این گونه بطور مصنوعی در استان گلستان تکثیر می‌شود. با توجه به اینکه اسپرم ماهی کپور وحشی در زمان مهاجرت تولید مثلی بدليل سختگیری این ماهی به هورمون تراپی، از نظر کمی ناکافی است از اینرو برای افزایش طول دوره تحرك و درصد تحرك اسپرم باید از محلولهای تقویت کننده طول دوره تحرك و درصد تحرك اسپرم استفاده گردد. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر یونهای مختلف pH‌های مختلف بر روی تحرك اسپرم و درصد تحرك اسپرم روی کپور دریابی صورت گرفته است تا با استفاده از این اطلاعات بدست آمده بتوان محلول لقادم مناسب برای این گونه مشخص شود.

مواد و روش کار

مولدین ماهی کپور دریابی با میانگین (\pm انحراف معیار) طول $48/5 \pm 2/0$ سانتیمتر و میانگین (\pm انحراف معیار) وزنی

می یابد اما در مجموعه اثر تیمارهای مختلف کلرید پتاسیم روی طول دوره حرکتی اسپرم (شکل ۲ - الف) و درصد اسپرم متحرک (شکل ۲ - ب) ماهی کپور دریایی معنی دار نیست ($P>0.05$).

اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم روی طول دوره حرکتی اسپرم (شکل ۲ - ب) و درصد اسپرم متحرک (شکل ۲ - ت) ماهی کپور دریایی معنی دار است ($P<0.05$). بطوریکه با افزایش غلظت کلرید سدیم تا ۵۰ میلی مول طول دوره حرکتی اسپرم افزایش و سپس کاهش و در غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مول اسپرمها هیچگونه حرکتی ندارند که این روند در مورد درصد تحرک اسپرمها نیز صدق می کند.

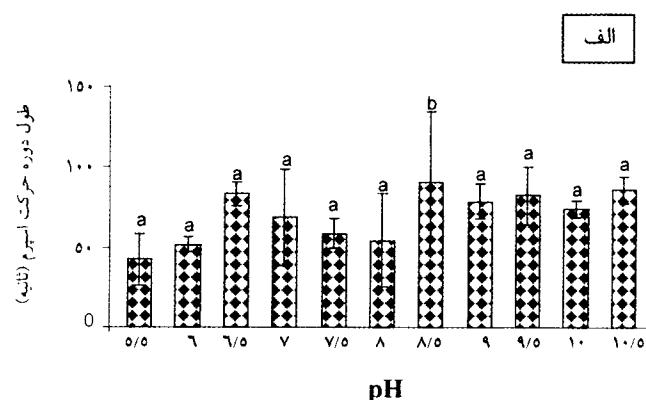
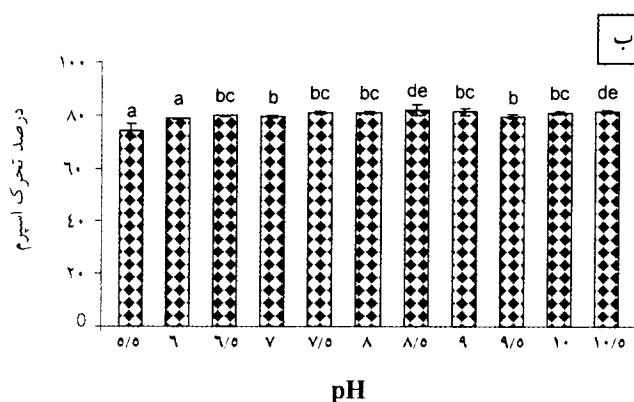
اثر تیمارهای مختلف کلرید کلسیم روی طول دوره حرکتی اسپرم (شکل ۲ - ج) و درصد اسپرم متحرک (شکل ۲ - ج) ماهی کپور دریایی معنی دار نیست ($P>0.05$). مطابق با شکل (۲- ج) مشاهده می گردد که بین تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی مول کلرید منیزیم روی طول دوره حرکتی اسپرم اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود ($P>0.05$) ولی بین تیمار ۲۰ و ۱۰ اختلاف معنی دار می باشد و بیشترین طول دوره حرکتی اسپرم در تیمار ۲۰ میلی مول مشاهد می گردد. از طرفی اثر غلظتها مختلف کلرید منیزیم (۱۰، ۱۵، ۲۰) روی درصد تحرک اسپرم معنی دار نمی باشد ($P>0.05$) (نمودار ۲- خ).

مشخص گردید که بین کدامیک از تیمارها اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد ($P<0.05$).

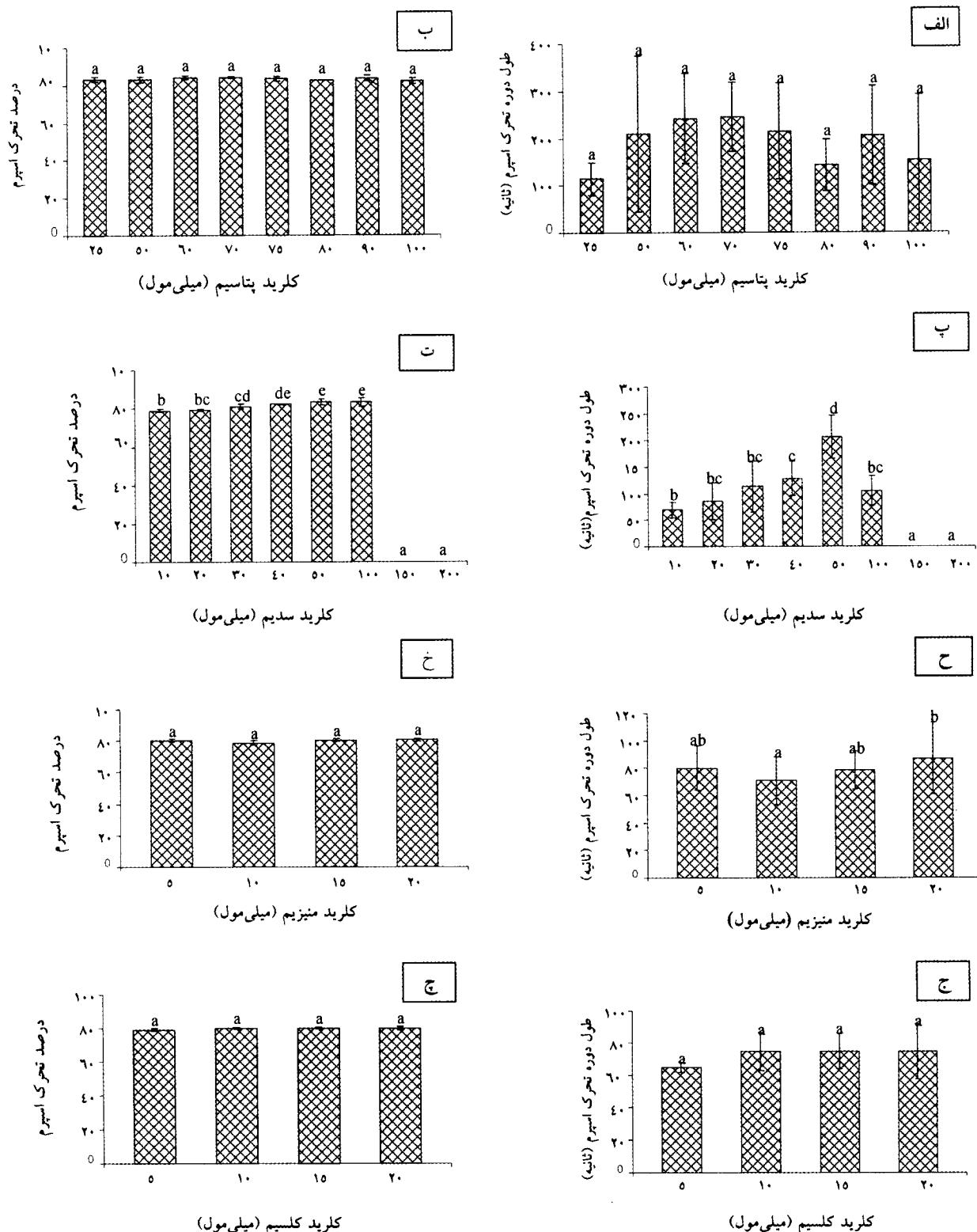
نتایج

در نمودار ۱، طول دوره حرکتی و درصد اسپرم فعال ماهی کپور دریایی تحت تأثیر تیمارهای مختلف pH نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود اثر تیمارهای مختلف pH روی دوره حرکتی اسپرم (نمودار ۱ - الف) و درصد اسپرم متحرک (نمودار ۱ - ب) ماهی کپور دریایی معنی دار است ($P<0.05$). به گونه ای که بیشترین طول دوره حرکتی اسپرم و بالاترین درصد اسپرم متحرک در pH ۸/۵ و کمترین طول دوره حرکتی و پایین ترین درصد اسپرم متحرک در pH ۵/۵ مشاهده می شود. همانطور که در نمودار ۱ - الف مشاهده می شود مدت زمان حرکت اسپرم با افزایش pH تا ۶/۵ یک روند افزایشی و سپس یک روند کاهشی تا pH ۸ و سپس در pH ۸/۵ بهینه در این مرحله انتخاب کرد.

اگر چه با افزایش غلظت کلرید پتاسیم تا ۷۰ میلی مول طول دوره حرکتی اسپرم افزایش و سپس تا ۱۰۰ میلی مول کاهش



نمودار ۱: الف) طول دوره حرکتی اسپرم (ثانیه) و ب) درصد تحرک اسپرم ماهی کپور دریایی در مقادیر مختلف pH (حروف لاتین نشانگر وجود اختلاف معنی دار می باشند ($P<0.05$))



نمودار ۲: الف، ب، ج و ج) طول دوره حرکتی اسپرم (ثانیه) و ب، ت، خ و ج) درصد حرکتی اسپرم ماهی کپور دریابی در مقداری مختلف کلرید پتاسیم، کلرید سدیم، کلرید منیزیم و کلرید کلسیم (حروف لاتین غیر یکسان نشانگر وجود اختلاف معنی دار می باشدند)

بحث

مسدود کردن کانالهای پتانسیمی در تحرک اسپرم تغییری ایجاد نمی‌شود (Marian *et al.*, 1993). در یک نمونه سمن که همه اسپرمها غیرتحرک بودند بعد از ۱۰۰ دقیقه قرار گرفتن در صفر درجه سانتیگراد، در کلرید سدیم ۱۲۵ میلیمول ۹۰ درصد اسپرمها قادر به حرکت بودند (Rodondo-Muller *et al.*, 1991). به هر حال غلظت خیلی زیاد کلرید سدیم و قرار گرفتن طولانی در غلظتهای زیاد درصد تحرک را افزایش نمی‌دهد. همچنین Cosson و همکاران در سال ۱۹۹۱ مشاهده کردند که تحرک اسپرم غیرفعال کپور بعد از قرار گرفتن در محلول غنی از کلرید سدیم بهبود می‌یابد. در این تحقیق نیز تا ۵۰ میلیمول غلظت کلرید سدیم، طول دوره تحرک و درصد تحرک افزایش یافت و بعد از آن کاهش و در ۱۰۰ و ۱۵۰ میلیمول هیچگونه تحرکی مشاهده نشد. یون کلسیم خارج سلولی شرط لازم برای شرع حرکت اسپرم زنده کپور ماهیان می‌باشد (Krasznai *et al.*, 2000). حرکت اسپرم کپور ماهیان ۳۰ ثانیه بعد از اینکه ۴۰ مول کلرید کلسیم به محلول شنا اضافه شود دیده می‌شود. میزان کلسیم داخل سلولی در اسپرم کپور بعد از فعال شدن در محلول هیپوتونیک (۰/۱-۱) میکرومولار کلسیم از 48 ± 3 به 28 ± 3 نانومول افزایش می‌یابد. شوک هیپواسمتیکی باعث هایپر پلاریزه شدن غشای سلول شده که کانالهای کلسیم را دوباره فعال می‌کند. میزان کلسیم درون سلولی در غیاب کلسیم خارجی تغییر نمی‌کند، اما اضافه شدن کلسیم باعث افزایش کلسیم درون سلولی و نقطه شروع حرکت می‌شود (Krasznai *et al.*, 2000). در تحقیقات انجام شده غلظتهای کم کلسیم (نسبت به تحقیق حاضر) باعث حرکت اسپرم کپور ماهیان شده است. در این تحقیق اثر غلظتهای مختلف (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلیمول) کلرید کلسیم بر روی اسپرم کپور دریابی می‌باشد. اطلاعات کمی در باره اثر یون منیزیم روی حرکت اسپرم ماهیان استخوانی و تاسماهیان وجود دارد طی انجام این تحقیق مشخص گردید که با افزایش غلظت کلرید منیزیم طول دوره حرکتی اسپرم افزایش می‌باید هر چند که این افزایش آنچنان معنی‌دار نبود و این افزایش غلظت بر روی درصد تحرک بی‌تأثیر بوده است. بطور کلی در این تحقیق مشخص گردید که غلظت یونها

عامل pH یکی از فعال کننده‌های مهم اسپرم در گونه‌های مختلف ماهیان است که روی قابلیت لفاح اسپرم اثر می‌گذارد. مشخص شده است که pH درون سلولی و خارج سلولی مانند ترکیبات یونی محلولهای فعال کننده روی شروع و طول دوره حرکتی اسپرم تاثیرگذار است (Alavi *et al.*, 2004). عامل pH تاثیر کمی روی تحرک اسپرم کپور دارد (جز در pHهای بالا). بعلاوه اسپرم کپور در pH ۶ تا ۹ می‌تواند شروع به حرکت کند همچنین بررسیها نشان داده است که یک تغییر وابسته به زمان در pH داخلی اسپرم کپور ماهیان بعد از شوک هیپواسمتیکی که باعث تغییر pH به سمت قلیابی می‌شود باعث تحرک اسپرم کپور ماهیان می‌گردد (Alavi & Cosson, 2006). در تحقیق حاضر اثر تیمارهای مختلف pH روی اسپرم کپور دریابی معنی‌دار بود به گونه‌ای که بیشترین طول دوره حرکتی و درصد تحرک اسپرم در pH ۸/۵ مشاهده شد که با یافته‌های سایر محققین در این زمینه همخوانی دارد.

در کپور ماهیان غلظت یون پتانسیم در پلاسمای سمنیال نسبت به یون پتانسیم داخل اسپرمی بالاتر است که موجب می‌شود غشای پلاسمایی بطور قابل توجهی در سمن دپلاریزه شود (Balkay *et al.*, 1997). به رغم این، تفاوت یون پتانسیم در دو سوی غشای پلاسمایی برای ایجاد پتانسیل غشایی در حد کافی نیست (Karsznai *et al.*, 2000). بطوریکه تغییرات در اسمولاریته خارجی مهمترین عامل شروع کننده حرکت اسپرم در کپور ماهیان است. یون پتانسیم همچنین باعث افزایش تحرک اسپرم در ماهی کپور می‌شود (Alavi & Cosson, 2006). Cosson و همکاران در سال ۱۹۹۱ مشاهده کردند که تحرک اسپرم غیرفعال کپور بعد از قرار گرفتن در محلول غنی از پتانسیم (۵۰ تا ۲۰۰ میلیمول) تحرک آن افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر نیز اثر غلظتهای مختلف بر روی تحرک اسپرم کپور دریابی معنی‌دار نبود اگر چه طول دوره حرکتی و درصد اسپرمها متحرك در غلظتهای بالا (۰-۷۰ میلیمول) بیشتر بود. با افزایش pH داخل سلولی به سمت قلیابی تحرک اسپرم فعال می‌شود. تغییر سریع pH داخل سلولی به دلیل فعال شدن تبادل کننده‌های Na^+/H^+ است. مطالعات اخیر نشان داده که با

- Zoology Academic Sinica Monograph, 16:249-261.
- Cosson J., Linhart O., Memis S.D., Shelton W.L. and Rondina M., 2000.** Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 56:1-20.
- Krasznai Z., Marian T., Izumi H., Damjanovich S. and Balkay L., 2000.** Membrane hyperpolarization removes inactivation of Ca^{2+} channels leading to Ca^{2+} influx and initiation of sperm motility in common carp. *Biophysics*, 97: 2052-67.
- Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T. and Patzenar R., 1997.** Sperm structure and motility of the freshwater teleost (*Cottus gobio*). *Journal of Fish Biology*, 50:564-574.
- Linhart O., Cosson J., Mims S.D., Rodina M., Gela D. and Shelton W.L., 2003.** Effects of ions on the motility of fresh and demembranate spermatozoa of common carp (*Cyprinus carpio*) and paddlefish (*Polyodon spathula*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 28:203-205.
- Marian T., Krasznai Z., Balkay L., Balazs M., Emri M. and Bene L., 1993.** Hypoosmotic shock inducing osmolality dependent permeabilization and structural changes in the membrane of carp sperm. *Journal Histochemistry Cytochemistry*, 41: 291-298.
- Memis D. and Kohlmann K., 2006.** Genetic characterization of wild common carp (*Cyprinus carpio*) from Turkey. *Aquaculture*, 258:257-262.
- در مقادیر زیاد (کلرید پتاسیم ۷۰ میلیمول، کلرید سدیم ۵۰ میلیمول، کلرید منیزیم ۲۰ میلیمول) باعث افزایش تحرک در اسپرم کپور دریابی می‌شود که نتایج حاضر با نتایج Linhart و همکاران در سال ۲۰۰۳ همخوانی دارد.
- ## تشکر و قدردانی
- در پایان از مسئولین و کارشناسان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیع گرگان و مرکز تکثیر ماهیان استخوانی سیچوال استان گلستان که همکاری لازم را جهت انجام این تحقیق بعمل آورده‌ند، تشکر و قدردانی می‌گردد.
- ## منابع
- یگانه، س.؛ مجازی امیری، ب.؛ یوسفیان، م. و نعمت‌الهی، م. ع. ۱۳۸۴. اثر تقویت‌کننده‌های اسپرم بر روی مدت تحرک اسپرم در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). *Magiran*. مجله منابع طبیعی ایران، شماره ۲، صفحات ۳۸۳ تا ۳۹۳.
- Alavi S.M.H., Cosson J., Karami M., Mojazi Amiri M. and Akhondzadeh M., 2004.** Spermatozoa motility in the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*): Effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction*, 128: 819-28.
- Alavi S.M.H. and Cosson J., 2006.** Sperm motility in fishes: Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*, 30:1-14.
- Balkay L., Marian T., Emri M., Krasznai Z. and Tron L., 1997.** Flow cytometric determination of intracellular free potassium concentration. *Cytometry*, 28:42-49.
- Cosson J., Billard R., Redondo-Muller C. and Cosson M.P., 1991.** In vitro incubation and maturation of carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa. *Bulletin of the Institute of*

- Morisawa M., Suzuki K., Shimizu H., Morisawa S. and Yasuda K., 1983.** Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater Cyprinid fishes. *Journal of Experimental Biology*, 107:95-103.
- Redondo-Muller C., Cosson M.P., Cosson J. and Billard R., 1991.** In vitro maturation of the potential for movement of carp spermatozoa. *Molecular Reproduction Development*, 29:256-270.
- Turner E. and Montgomerie R., 2002.** Ovarian fluid enhance sperm movement in Arctic charr. *Journal of Fish Biology*, 60:1570-1579.

Survey of effects of different concentrations of electrolytes and pH on characterization of sperm motility in wild carp (*Cyprinus carpio*)

Darvish Bastami K.* and Imanpour M.

darvish_60@yahoo.com

Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
P.O.Box: 45165-386 Gorgan, Iran

Received: January 2008 Accepted: July 2009

Keywords: Wild carp, *Cyprinus carpio*, Sperm, Ions

Abstract

Effects of pH, Na, K, Ca²⁺ and Mg²⁺ ions on characterization of sperm motility (duration of motility and percentage of motility) of wild carp (*C. carpio*) were investigated. After determination of optimum pH, its interaction effect with Na, K, Ca²⁺ and Mg²⁺ was studied. Maximum motility (duration of motility and percentage of motility) was observed at pH=8.5. Effects of different treatments of NaCl on sperm motility was significantly different ($P<0.05$). Maximum motility was observed at 50mM of NaCl. Effects of different treatments of KCl and CaCl₂ on sperm motility were not significantly different ($P>0.05$) while that of the MgCl₂ was significantly different ($P<0.05$). Maximum motility was observed at 20mM of MgCl₂ but the percentage of motility was not significantly different ($P>0.05$). In general, it is concluded that movement of spermatozoa of wild carp is influenced by high concentration of ions.

* Corresponding author