Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۲، ۱۰۷ - ۱۰۳

نقش مایع تخمدانی در قابلیت لقاح مصنوعی ماهی قزل-آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

آذین محققی ثمرین [۱] محمد رضا احمدی [۲*]

۱) گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر - ایران.
۲) گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۲ بهمن ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۱۰ آذرماه ۱۳۸۸)

چکیده

در حال حاضر ایران یکی از مهمترین کشورهای جهان در تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به حساب می‌آید و از آنجائی که تولید بچه ماهی در این میان یک امر حیاتی است لذا در این مطالعهٔ، نقش مایع تخمدانی در تکثیر مصنوعی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد سنجش قرار گرفت. همچنین اثرات متقابل احتمالی مایع تخمدانی مولدین مختلف بر تخمک‌های یکدیگر تا مدت زمان یک‌ساعت نگهداری توأم آن‌ها در دمای حدود ۴ درجه سانتیگراد بررسی گردید. سنجش کیفیت تخمک‌ها از طریق اندازه‌گیری نرخ چشم‌زدگی و تفریخ تخم‌ها صورت گرفت. برای این منظور سه آزمایش متفاوت انجام گردید. نتایج آزمایش‌های اول و دوم نشان دادند که نرخ چشم‌زدگی و تفریخ تخمک‌هایی که همراه با مایع تخمدانی و یا بدون مایع تخمدانی لقاح یافته بودند، تفاوت قابل ملاحظه‌ای از جهت آماری با یکدیگر نداشتند ($p>0/05$). اعداد مربوط به نرخ چشم‌زدگی در تیمارهای آزمایش اول به ترتیب ۹۷/۱ و ۹۷/۶ درصد و در تیمارهای آزمایش دوم به ترتیب ۹۹/۱ و ۹۷/۷ درصد بودند. در آزمایش سوم نرخ چشم‌زدگی و تفریخ تخمک‌هایی که بلافاصله پس از استحصال لقاح یافتند، ۸۸/۷ و ۸۶/۸ درصد به‌دست‌آمد. این اعداد در مورد تخمک‌هایی که ۶۰ دقیقه پس از نگهداری توأم لقاح داده‌شدند، ۸۶/۳ و ۸۴/۶ درصد اندازه‌گیری گردید. لذا نتایج کلیه آزمایش‌ها نشان دادند که مایع تخمدانی تأثیرات متقابل بر پارامترهای لقاح مصنوعی تخم‌ها نداشته و شرایط نگهداری در ۴ درجه سانتیگراد به مدت یک‌ساعت نیز بر باروری تخم‌ها بی اثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مایع تخمدانی، اثرات متقابل، قابلیت لقاح، قزل‌آلای رنگین‌کمان.

مقدمه

آزاد ماهیان در مقایسه با سایر گونه‌های ماهیان دارای تخمک‌های بزرگتری بوده و در نتیجه تعداد تخمک‌های آنان در هر مولد کم می‌باشد. از این رو ضرورت توجه به فاکتورهای مؤثر بر موفقیت لقاح در آن‌ها آشکارتر می‌گردد. درشرایط پرورشی، پس از اوولاسیون (رهاشدن تخمک‌ها از لایه‌های نگهدارنده آن‌ها در تخمدان و ورود آن‌ها به محوطهٔ شکمی)، مایع تخمدانی یا مایع سلومیک به عنوان مایع نگهدارندهٔ تخمک‌ها در محوطهٔ شکمی عمل نموده و تخمک‌ها تا زمان تخم‌کشی به صورت غوطه‌ور در آن باقی می‌مانند(۱۵). به نظر می‌رسد که وجود یا عدم وجود مایع تخمدانی در تکثیر مصنوعی یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر میزان و مدت زمان تحرک اسپرم‌ها بوده و از این طریق بر موفقیت لقاح تأثیرگذار می‌باشد(۷). همچنین در مراکز تکثیر، مولدین مادهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان هر چند مدت یک‌بار مورد معاینه قرار می‌گیرند تا تخمک‌هایی که در طی این دوره اوواله (سیال) شده‌اند، استحصال گردند(۱۶). از این رو فاصلهٔ زمانی مابین اوولاسیون و تخم‌کشی در مولدین مورد استفاده برای تکثیر مصنوعی متفاوت است. در طی دورهٔ پس از اوولاسیون به تدریج تغییراتی مرفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در محتوای تخمک‌ها و ترکیب مایع تخمدانی اتفاق می‌افتد(۱،۶،۱۱،۱۵). از آنجا که در مراکز تکثیر معمولاً تخمک‌های چند مولد ماده با یکدیگر مخلوط شده و سپس توسط اضافه نمودن اسپرم لقاح می‌یابند، لذا اثرات متقابل مایع تخمدانی مولدین مختلف بر تخمک‌های یکدیگر در عمل لقاح می‌تواند قابل ملاحظه و مهم باشد. همچنین از آنجا که ممکن است این اثرات با گذر زمان مشخص گردند و نیز با توجه به آن که معمولاً عملیات تکثیر مصنوعی در کارگاه‌ها بیش از یک ساعت به طول نمی‌انجامد، لذا تأثیر زمان بر اثرات متقابل آن‌ها نیز به مدت ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت.

تاکنون مطالعاتی در زمینه نگهداری تخمک‌های آزاد ماهیان در محوطهٔ شکمی (۱،۲،۴،۸،۱۱،۱۲،۱۶) و نیز در خارج از بدن آن‌ها (۵،۹،۱۴) صورت گرفته است. لیکن هیچ پژوهشی در زمینهٔ نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف انجام نشده است. در حالیکه باید به این امر توجه ویژه‌ای مبذول داشت.

بنابراین در این مطالعه، ۳ آزمایش به منظور بررسی اثرات فردی و متقابل مایع تخمدانی مولدین در تکثیر مصنوعی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام پذیرفت.

مواد و روش‌کار

مولدین: مولدین ۴ سالهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان ماهیان آزمایشی انتخاب و در استخرهای موجود در فضای باز نگهداری شدند. مطالعه طی فصول پاییز و زمستان ۱۳۸۵ در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید با هنر کلاردشت صورت گرفت. جهت نگهداری مولدین از آب رودخانه با میانگین دمای ۱±۴ درجه سانتیگراد استفاده گردید. مولدین تا مدت ۶ هفته قبل از زمان احتمالی اوولاسیون از غذای تجاری تغذیه می‌نمودند. به منظور کاهش

*نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۹۲ نمابر: ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: mahmadi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

استرس، جهت بررسی ایجاد اوولاسیون و نیز عملیات تکثیر مصنوعی، مولدین با محلول ۱۰۰ میلیگرم در لیتر MS222 بیهوش می‌شدند.

آزمایش اول : ابتدا کل مولدین موجود دریک جمعیت همگن اولیه (حدود ۱۰۰۰ عدد) بیهوش شده و سپس مورد معاینه قرار گرفتند. معاینه از طریق اعمال فشار آرام به محوطهٔ شکمی از ناحیهٔ سینه‌ای به سمت منفذ تناسلی صورت گرفت. با این روش تخمک‌ها از منفذ تناسلی مولدینی که اوولاسیون تخمک‌ها در آن‌ها صورت گرفته است خارج می‌گردند (۱۶). سپس از میان آن‌ها ۱۵ عدد مولد ماده که دارای تخمک‌های سیال بودند به صورت تصادفی و با میانگین وزن ۶۵ ± ۱۴۰۲ گرم انتخاب شدند. از هریک از ۱۵ عدد مولد فوق الذکر که توسط نشان‌های رنگی علامت‌گذاری شده بودند، ۲ دسته ۲۰ گرمی تخمک استحصال گردید. مایع تخمدانی دسته‌های اول جدا نشد، درحالیکه مایع سلومیک دسته‌های دوم توسط توری ریز چشمه یک میلیمتری جدا گردید. جهت استحصال اسپرم، مولدین نر ابتدا بیهوش و سپس بدن آن‌ها به خوبی توسط حوله خشک می‌گردید. به منظور حصول اطمینان از عدم مخلوط شدن اسپرم با محتویات دستگاه گوارش و دفع ادرار، از اسپرم اولیه آن‌ها استفاده نمی‌شد. به همین روش اسپرم مورد استفاده برای تکثیر از تعداد ۱۰ عدد مولد نر استحصال شده و به خوبی مخلوط و همگن می‌گردید. سپس عمل لقاح برای هر دسته به صورت جداگانه صورت گرفت. اعمال فوق الذکر عیناً برای ۱۴ مولد دیگر نیز انجام پذیرفت.

آزمایش دوم: در این آزمایش، ۱۵ مولد مادهٔ استفاده شده در آزمایش اول به ۵ گروه ۳ تایی تقسیم و سپس از هر مولد مجدداً ۲ دستهٔ ۲۰ گرمی تخمک استحصال گردید. مایع تخمدانی دسته‌های اول جدا نشد، لیکن مایع تخمدانی دسته‌های دوم جدا گردید. تخمک‌های همراه با مایع تخمدانی هریک از ۳ مولد ماده با یکدیگر مخلوط و لقاح داده شدند. سپس تخمک‌های بدون مایع تخمدانی همین ۳ مولد نیز با یکدیگر مخلوط و لقاح یافتند. این عمل برای ۴ گروه ۳ تایی دیگر از مولدین نیز بهمین نحوه انجام پذیرفت.

آزمایش سوم: در این آزمایش، ۱۵ عدد مولد مادهٔ دیگر با میانگین وزن ۱۳۵ ± ۱۴۴۵ گرم که دارای تخمک‌های سیال بودند مطابق روش ذکر شده در آزمایش اول به صورت تصادفی از جمعیت همگن اولیه مولدین انتخاب و به ۵ گروه ۳ تایی تقسیم گردیدند. پس از بیهوش نمودن ۳ ماهی گروه اول، ۷ دستهٔ ۲۰ گرمی تخمک از هر مولد استحصال گردید و مایع تخمدانی آن‌ها جدا نشد. دسته‌های اول تخمک‌های هر ۳ مولد با یکدیگر مخلوط شده و بلافاصله (دقیقهٔ ۰) لقاح یافتند. همزمان دسته‌های دوم تخمک‌های همین ۳ مولد با یکدیگر مخلوط شده و ۱۰ دقیقه پس از نگهداری توأم لقاح داده شدند. به همین ترتیب تیمارهای سوم، چهارم، پنجم، ششم و هفتم آزمایشی معرف تخمک‌هایی از این ۳ مولد بودند که به ترتیب مدت ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰ و ۶۰ دقیقه پس از اختلاط و نگهداری توأم تخمک‌های آنها با یکدیگر لقاح داده شدند. این عمل برای ۴ گروه ۳ تایی دیگر از مولدین نیز بهمین صورت انجام پذیرفت.

کلیه عملیات صحرایی لقاح در این تحقیق در درجه حرارت حدود ۴ درجه سانتیگراد که درجه حرارت سالن تکثیر در زمان آزمایش بود صورت گرفته است. جهت سنجش درجه حرارت نیز از یک میزان الحراره جیوه‌ای با دقت ۰/۵ درجه سانتیگراد استفاده گردید.

تعیین دورهٔ زمانی تحرک اسپرم: دورهٔ زمانی تحرک اسپرم در دو محلول مایع تخمدانی و آب مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا یک لایهٔ بسیار نازک از اسپرم مخلوط و همگن شده که از ۱۰ مولد نر استحصال گردیده بود بر روی لام گسترش داده می‌شد و سپس یک قطره از محلول مایع تخمدانی و یا آب به فضای مابین لام و لامل تزریق می‌گردید. دورهٔ زمانی تحرک اسپرم توسط میکروسکوپ نوری و تا هنگامی که تحرک ۹۵ الی ۹۹ درصد سلول‌ها متوقف شوند، اندازه‌گیری می‌شد(۳). این عمل حداقل ۱۰ مرتبه در هر نوبت آزمایش به عنوان ۱۰ تکرار آزمایشی و با استفاده از کرنومتر صورت می‌گرفت.

انکوباسیون تخم‌ها: در کلیه آزمایش‌های فوق‌الذکر تخم‌ها تا زمان چشم‌زدگی و تفریخ در سینی‌های چشمه درشت و سرپوشیدهٔ داخل سالن انکوباسیون نگهداری شدند. آب مورد استفاده از طریق چشمه تأمین شده و درجهٔ حرارت آن در طول دوره انکوباسیون ۱±۱۰ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری گردید. به منظور جلوگیری از ایجاد آلودگی‌های قارچی، تخم‌های تمام تیمارها یک روز در میان و هربار به مدت یک ساعت توسط مالاشیت گرین با غلظت ۵ میلیگرم در لیتر ضدعفونی می‌گردیدند.

اندازه‌گیری پارامترهای تولید مثلی: فاکتورهای اندازه‌گیری شده در طی دورهٔ انکوباسیون، درصد چشم‌زدگی و درصد تفریخ بود. حدود ۲۵ روز پس از لقاح، عمل شوک‌دهی مکانیکی (سیفون کردن تخم‌ها به داخل یک ظرف پر از آب) صورت گرفت و سپس تخم‌های چشم‌زده از تخم‌های چشم نزده تفکیک و درصد چشم زدگی تعیین شد. تعداد لاروها نیز شمارش و درصد تخم چشم زده و لارو تولیدی با محاسبه زیر به دست آمد.

۱۰۰ × (تعداد کل تخم‌ها / تعداد تخم‌های چشم زده) = درصد چشم زدگی

۱۰۰ × (تعداد کل تخم‌ها / تعداد لاروهای تفریخ شده) = درصد تفریخ

طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: در آزمایش‌های اول و دوم به منظور بررسی تفاوت‌های مابین دو تیمار آزمایشی (تخمک‌های لقاح یافته با مایع تخمدانی و بدون مایع تخمدانی) از آزمون t استیودنت (جفت شده) استفاده گردید. در آزمایش سوم، طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی بود. در قالب این طرح، ۷ دورهٔ زمانی نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف به عنوان ۷ تیمار آزمایشی و هرکدام از ۵ گروه ۳ تایی مولدین ماده به عنوان تکرارهای آزمایشی در نظر گرفته شدند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۰/۰۵ صورت گرفت. کلیه آزمونهای فوق الذکر توسط نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۱ انجام پذیرفت.

نتایج

آزمایش اول: درصد چشم‌زدگی تخمک‌هایی که با مایع تخمدانی لقاح یافته بودند (تیمار اول) به میزان ۱/۷ ± ۹۷/۱ درصد (میانگین ± انحراف معیار)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- درصد چشم‌زدگی و تفریخ (میانگین ± انحراف معیار) تخمک‌های لقاح یافته هر مولد با مایع تخمدانی و بدون مایع تخمدانی.

تیمار	درصد چشم زدگی	درصد تفریخ
تخمک‌های لقاح یافته با مایع تخمدانی	۹۷/۱±۱/۷ [a]	۹۶/۵±۱/۶ [a]
تخمک‌های لقاح یافته بدون مایع تخمدانی	۹۷/۶±۱/۰۴ [a]	۹۷/۲±۱/۰۴ [a]

جدول۲- درصد چشم‌زدگی و تفریخ (میانگین ± انحراف معیار) تخمک‌های لقاح یافته هرگروه سه‌تایی از مولدین با مایع تخمدانی و بدون مایع تخمدانی.

تیمار	درصد چشم زدگی	درصد تفریخ
تخمک‌های لقاح یافته با مایع تخمدانی	۹۹/۱±۰/۴۷ [a]	۹۸/۸±۰/۸۵ [a]
تخمک‌های لقاح یافته بدون مایع تخمدانی	۹۷/۷±۱/۸ [a]	۹۷/۴±۱/۶۴ [a]

بوده و از جهت آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای با تیمار دوم که معرف تخمک‌های لقاح یافته بدون مایع تخمدانی بودند نداشتند($p> ۰/۰۵$).

در مورد نرخ تفریخ نیز تفاوت آماری معنی‌داری بین دو تیمار آزمایشی مشاهده نگردید($p> ۰/۰۵$)(جدول۱).

آزمایش دوم: نرخ چشم‌زدگی تیمار اول این آزمایش نیز که به همراه مایع تخمدانی لقاح یافته بودند ۹۹/۱±۰/۴۷ درصدبوده و از جهت آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای با تیمار دوم که معرف تخمک‌های لقاح یافته بدون مایع تخمدانی بودند نداشتند($p>۰/۰۵$).

نرخ تفریخ نیز روندی مشابه نرخ چشم‌زدگی را نشان داد($p>۰/۰۵$) (جدول ۲).

آزمایش سوم: نرخ چشم‌زدگی و تفریخ هفت تیمار آزمایشی که معرف دوره‌های زمانی مختلف نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف بودند، از جهت آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر نشان ندادند($p>۰/۰۵$) (جدول۳). در واقع نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف به همراه مایع تخمدانی و در دمای حدود ۴ درجه سانتیگراد حداقل تا مدت ۶۰ دقیقه هیچ تأثیر منفی بر موفقیت لقاح نداشت.

دورهٔ زمانی تحرک اسپرم: دورهٔ زمانی تحرک اسپرم در آب ۳۱/۷±۱/۰۵ ثانیه و در مایع تخمدانی ۴۳/۱±۲/۵ ثانیه اندازه‌گیری شد.

بحث

در شرایط پرورشی، تخمک‌های آزاد ماهیان پس از اوولاسیون به محوطهٔ شکمی رها می‌شوند و تا زمان استحصال درمایع سلومیک یا مایع تخمدانی به صورت غوطه‌ور باقی می‌مانند. به نظر می‌رسد که ترکیب مایع تخمدانی در حفظ قابلیت لقاح و کیفیت تخمک‌ها نقش مهمی را ایفا نماید(۱۵). در واقع نشان داده شده است که نگهداری تخمک‌ها در محوطهٔ شکمی نسبت به نگهداری آن‌ها درخارج از محوطهٔ شکمی قابلیت لقاح را افزایش می‌دهد(۲). همچنین مطالعه Mylonas و همکاران در سال ۱۹۹۲ نشان داد که مایع تخمدانی می‌تواند به عنوان محیطی باشد که برخی تخمک‌ها تقسیمات میوزی را حتی پس از اوولاسیون در آن تکمیل نمایند. درسال ۱۹۸۴، Wilcox و همکاران نشان دادند که مایع تخمدانی به طور

جدول۳- درصد چشم‌زدگی و تفریخ (میانگین ± انحراف معیار) تخمک‌های لقاح یافته هر گروه سه تایی از مولدین با مایع تخمدانی پس از اختلاط و نگهداری توأم تا مدت زمان ۶۰ دقیقه در دمای حدود ۴ درجه سانتیگراد.

زمان(دقیقه)	درصد چشم زدگی	درصد تفریخ
۰	۸۸/۷۶±۱۲/۸۲ [a]	۸۶/۸۸±۱۲/۴۷ [a]
۱۰	۸۷/۹۱±۱۳/۵۴ [a]	۸۵/۵۹±۱۲/۶۱ [a]
۲۰	۸۹/۰۸±۱۱/۲۲ [a]	۸۷/۱۱±۱۰/۵۵ [a]
۳۰	۸۷/۵۹±۱۱/۹۷ [a]	۸۵/۲۸±۱۱/۲۰ [a]
۴۰	۸۸/۱۷±۱۲/۳۵ [a]	۸۶/۳۳±۱۱/۸۴ [a]
۵۰	۸۹/۵۶±۷/۴۳ [a]	۸۶/۷۲±۷/۵۷ [a]
۶۰	۸۶/۳۱±۱۴/۳۲ [a]	۸۴/۶۸±۱۳/۶۴ [a]

معمول میزان تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد. همچنین گزارش شده است هنگامی که اسپرم و مایع تخمدانی به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شوند قابلیت لقاح اسپرم تا ۴۵ ثانیه و هنگامی که با نسبت ۱ به ۱ مخلوط شوند این قابلیت تا مدت ۶۰ دقیقه حفظ می‌گردد(۷). لذا با توجه به نتایج مطالعات فوق‌الذکر و نیز نتایج حاصل در این مطالعه مبنی بر افزایش دورهٔ زمانی تحرک اسپرم درمایع تخمدانی (۴۳ ثانیه) نسبت به آب (۳۱ ثانیه) انتظار می‌رفت تیمارهای اول آزمایشی که به همراه مایع تخمدانی لقاح یافتند نسبت به تیمارهای دوم که بدون مایع تخمدانی لقاح پیدا کردند نتایج بهتری را در خصوص نرخ چشم‌زدگی و تفریخ نشان دهند. لیکن در هر دو آزمایش اول و دوم از جهت آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین دو تیمار اول و دوم مشاهده نگردید. دلیل این امر را می‌توان شاید به مقدار بالای اسپرم استفاده شده در لقاح در این آزمایش (۰/۵ میلی‌لیتر اسپرم به ازای ۲۰ گرم تخمک) نسبت داد. در واقع به نظر می‌رسد که نسبت‌های پایین‌تر اسپرم به تخمک می‌توانند نتایج بهتری را در خصوص نقش مایع تخمدانی در لقاح مصنوعی ارایه نمایند. چرا که افزایش دوره زمانی تحرک اسپرم در مایع تخمدانی نسبت به آب می‌تواند نقش خود را بهتر نشان دهد و لذا مطالعاتی که در آن‌ها نسبت‌های پایین‌تر اسپرم به تخمک به کار روند، می‌توانند نتایج این مطالعه را تکمیل نمایند.

در مطالعه Goetz و Coffman در سال ۲۰۰۰ گزارش شده است که جنبه‌های مختلفی از مایع تخمدانی ممکن است در لقاح تأثیرگذار باشند. آن‌ها فرضیه‌هایی مبنی بر تأثیر مایع تخمدانی در لقاح ارائه نموده و عنوان کردند که ممکن است مایع تخمدانی در هر مولد ویژگی‌های خاص خود را دارا باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که در آزاد ماهیان، تخمک‌های هر مولد را به صورت مجزا می‌توان به مدت چندین روز بدون از دست رفتن قابلیت لقاح آن‌ها در مایع تخمدانی و خارج از بدن مولدین نگهداری نمود(۴،۹،۱۰،۱۸) لیکن با توجه به نتایج حاصل در برخی مطالعات مبنی بر تغییر محتوای تخمک‌ها و ترکیب مایع تخمدانی در طی دورهٔ پس از اوولاسیون و با توجه به آن که فواصل زمانی مابین اوولاسیون و تخم‌کشی در مولدین مختلف متفاوت می‌باشد، انتظار می‌رفت مایع تخمدانی مولدین مختلف بر تخمک‌های سایر مولدین تأثیر منفی داشته و از این طریق موجب کاهش کیفیت تخمک‌ها و به تبع آن کاهش نرخ چشم‌زدگی و تفریخ گردند.

www.SID.ir

Archive of SID

به طور مثال نشان داده شده است که در طی دورهٔ پس از اوولاسیون و با افزایش ماندگاری تخمک‌ها در محوطهٔ شکمی می‌توان شاهد کاهش pH(۱،۱۱،۱۵)، کاهش میزان اسمولالیتی(۱)، افزایش مقدار اسیدهای چرب(۱۱)، افزایش غلظت پروتئین‌ها(۱،۱۱) و نیز افزایش فعالیت‌های آنزیمی (۱۱،۱۵)بود. در واقع از آنجا که فاصلهٔ زمانی مابین اوولاسیون و تخم‌کشی در مولدین مختلف، متفاوت می‌باشد انتظار می‌رفت اثرات متقابل منفی در این راستا به وجود آیند. لیکن نتایج حاصل نشان دادند که در دمای حدود ۴ درجه سانتیگراد، نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف به همراه مایع تخمدانی، حداقل به مدت ۶۰ دقیقه هیچ تأثیر منفی بر کیفیت تخمک‌ها نخواهد داشت. بایستی به این نکته اشاره نمود که معمولاً در مراکز تکثیر نیز عملیات تکثیر مصنوعی بیش از یک ساعت به طول نمی‌انجامد. لیکن در مواردی ممکن است مراکز تکثیر به دلایل مختلف نظیر کمبود مولدین نر مایل به نگهداری توأم تخمک مولدین باشند که در چنین مواردی بایستی اثرات نگهداری توأم تخمک مولدین در زمان‌های طولانی‌تر نیز بررسی گردد. همچنین گزارش شده است که دورهٔ زمانی حفظ کیفیت تخمک در مایع تخمدانی به شدت وابسته به درجهٔ حرارت می‌باشد(۱۰،۱۸) و درجات حرارت پایین‌تر منجر به افزایش دورهٔ زمانی حفظ کیفیت تخمک‌ها می‌گردند(۹). دمای نگهداری تخمک‌ها در مطالعهٔ حاضر نسبتاً پایین بود، لذا مطالعاتی که در آن‌ها نگهداری توأم تخمک مولدین مختلف در دماهای بالاتر و به مدت بیش از ۶۰ دقیقه صورت گیرند، می‌توانند نتایج مطالعهٔ حاضر را کامل‌تر نمایند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌هاو پشتیبانی‌های معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تهران به جهت پرداخت هزینه‌های این تحقیق و نیز از کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت، به خصوص جناب آقایان مهندس علی پاشازانوسی و افشین مسلمی، به دلیل مساعدت‌های ایشان تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Aegerter, S., Jalabert, B. (2004) Effects of post - ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Aquaculture. 231: 59-71.
2. Azuma, T., Ohta, H., Oda, S., Muto, K., Yada, T., Unuma, T. (2003) Changes in fertility of rainbow trout eggs retained in coelom. Fish. Sci. 69: 131-136.
3. Billard, R. (1983) Effects of coelomic and seminal fluids and various saline diluents on the rainbow trout, Salmo gairdneri. J. Reprod. Fert. 68: 77-84.
4. Bonnet, E., Jalabert, B., Bobe, J. (2003) A 3-Day in vitro storage of rainbow trout Oncorhynchus mykiss unfertilised eggs in coelomic fluid at 12 ^{o}C does not affect development success. Cybium. 27: 47-51.
5. Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J. (2007) Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. Theriogenology. 67: 786-794.
6. Craik, J. C. A., Harvey, S. M. (1984) Biochemical changes associated with overripening of the eggs of rainbow trout, Salmo gairdneri. Aquaculture. 37: 347-357.
7. Erdahl, A. W., Cloud, J. G., Graham, E. F. (1987) Fertility of rainbow trout Salmo gairdneri gametes: gamete viability in artificial media. Aquaculture. 60: 23-332.
8. Gaudemar, B. D. E, Beall, E. (1998) Effects of overripening on spawning behaviour and reproductive success of Atlantic salmon females spawning in a controlled flow channel. J. Fish. Biol. 153: 434-446.
9. Goetz, F. W., Coffman, M. A. (2000) Storage of unfertilized eggs of rainbow trout Oncorhynchus mykiss in artificial media. Aquaculture. 184: 267-276.
10. Jensen, J.O.T., Alderdice, D.F. (1984) Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon Oncorhynchus keta. Aquaculture. 37: 251-265.
11. Lahnsteiner, F. (2000) Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the overripening of rainbow trout eggs. Fish. Physiol.

www.SID.ir

Biochem. 23: 107-118.

12. Mohagheghi, Samarin, A., Ahmadi, M. R., Azuma, T., Rafiee, G. R., Mojazi, Amiri, B., Naghavi, M. R. (2008) Influence of the time to egg stripping on eyeing and hatching rates in rainbow trout Oncorhynchus mykiss under cold temperatures. Aquaculture. 278: 195-198.
13. Mylonas, C. C., Hinshaw, J. M., Sullivan, C. V., (1992) GnRH-induced ovulation of brown trout Salmo trutta and its effect on egg quality. Aquaculture. 106: 379-392.
14. Niksirat, H., Sarvi, K., Mojazee, Amiri B., Hatef, A. (2007) Effects of storage duration and storage media on initial and post-eyeing mortality of stored ova of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 262: 528-531.
15. Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B. (2004) Post-ovulatory ageing and egg quality: A proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. Reprod. Biol. Endocrinol. 2: 26-31.
16. Springate, J. R. C., Bromage, N. R., Elliott J. A. K., Hudson, D. L. (1984) The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eyeing, hatch and swim-up in the rainbow trout Salmo gairdneri. Aquaculture. 43: 313-322.
17. Wilcox, K. W., Stoss, J., Donaldson, E. M. (1984) Broken eggs as a cause of infertility of coho salmon gametes. Aquaculture. 40: 77-87.
18. Withler, F. C., Morley, R. B. (1968) Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. J. Fish. Res. Board Can. 25: 2695-2699

www.SID.ir

Archive of SID

J. Vet. Res. 65, 2:103-107, 2010

THE ROLE OF COELOMIC FLUID IN FERTILIZATION OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) OOCYTES

Mohagheghi Samarin, A.[1], Ahmadi, M. R.[2]*

[1]*Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Ghaemshahr Branch, Islamic Azad University Tehran,Tehran-Iran.*

[2]*Department of Health and Aquatic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran-Iran.*

(Received 31 January 2009 , Accepted 1 December 2009)

Abstract:

Iran is one of the most important Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* producing countries in the world and fingering production is the key factor for this industry. The present experiment was conducted to determine the role of the coelomic fluid in artificial fertilization and to study the interactive effect of different brood fish coelomic fluid on fertilization process during 60 min storage at 4°C.The egg quality was evaluated through the rate of eyed and hatched eggs where these indices applied with and without coelomic fluid. In the first two trials, the rat of egg fertilization with and without coelomic fluid did not exhibit significant difference ($p>0.05$). Eyeing rates were 97.1% and 97.6% for trial I and 99.1% and 97.7 % for trial II, respectively. In next trial the eyeing and hatching rate were 88.7 % and 86.8 % for the eggs fertilised immediately after stripping wheas for those fertilised 60 min. after integrated storage these values were 86.3% and 84.6 % respectively($p>0.05$). we concluded that the coelomic fluid has no interative effect on artificial fertilization and the quality of egg fecundity is not influenced by the fertilisation process during 60 min storage at 4°C.

Keywords: coelomic fluid, interactive effects, fertilization ability, *Oncorhynchus mykiss*.

***Corresponding author's email: mahmadi@ut.ac.ir, Tel: 021-61117092, Fax:021-66933222**

www.SID.ir