

## تأثیر دما بر کیفیت تخمک‌ها، پس از سیال شدن آن‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

آذین محقق‌ی‌ثمرین<sup>۱</sup>، غلامرضا رفیعی<sup>۱</sup>، محمدرضا احمدی<sup>۲\*</sup>، باقر مجازی امیری<sup>۱</sup>، امیر سعید ویلیکی<sup>۳</sup>

۱) گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

۲) گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

۳) معاونت تکثیر و پرورش آبزیان سازمان شیلات ایران، تهران-ایران.

(دریافت مقاله: ۱ اسفندماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفندماه ۱۳۸۵)

### چکیده

در این مطالعه اثر دما بر مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها، پس از سیال شدن آن‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد سنجش قرار گرفت، تا بدین وسیله زمان مناسب جهت تخم‌کشی از مولدین ماده مشخص گردد. سنجش کیفیت تخمک‌ها از طریق اندازه‌گیری میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی صورت گرفت. با توجه به مناسب‌ترین دامنه دمایی گزارش شده برای زندگی مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در فصل تکثیر (۱۰-۳ درجه سانتیگراد) مطالعه در دمای  $2 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  و  $8 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  انجام شد. در هر یک از دماهای مورد مطالعه از ۱۵ عدد مولد ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان که به عنوان ۱۵ تکرار آزمایشی در نظر گرفته شدند، در پنج نوبت با فواصل زمانی یک هفته تخم‌کشی صورت گرفت. نتایج نشان داد که دما به میزان زیادی بر زمان مناسب تخم‌کشی از مولدین ماده تأثیرگذار است. هنگامی که دما از ۲ درجه سانتیگراد به ۸ درجه سانتیگراد افزایش یافت، حداکثر میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی از هفته دوم به هفته اول پس از سیال شدن تخمک‌ها انتقال پیدا کرد و سپس روند کاهش کیفیت تخمک‌ها در هر دو دما مشاهده گردید. همچنین میزان چشم‌زدگی از رقم ۸۳ درصد برای هفته پنجم در دمای ۲ درجه سانتیگراد به رقم ۳۷/۶ درصد در دمای ۸ درجه سانتیگراد کاهش یافت. در مورد میزان تخم‌گشایی نیز چنین روندی مشاهده شد. کاهش مدت زمان مناسب جهت تخم‌کشی از بیش از یک ماه پس از سیال شدن تخمک‌ها در دمای ۲ درجه سانتیگراد به دو هفته پس از آن در دمای ۸ درجه سانتیگراد نقش دما را در حفظ کیفیت تخمک‌ها به خوبی نشان داد و تأیید می‌نماید که در دامنه دمایی مناسب برای تولید مثل ماهی با افزایش دمای آب دوره مناسب جهت تخم‌کشی از مولدین کوتاه‌تر می‌گردد. طول این دوره مناسب در دمای ۲ درجه سانتیگراد حداقل ۲۱ روز و در دمای ۸ درجه سانتیگراد، ۱۴ روز پس از سیال شدن تخمک‌ها ارزیابی گردید. در واقع باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی مولدین در دمای ۲ درجه سانتیگراد نسبت به دمای ۸ درجه سانتیگراد نتایج بهتری را در خصوص نرخ چشم‌زدگی و تخم‌گشایی نشان داد. زمان لازم جهت ایجاد حالت فوق‌رسیدی در تخمک‌ها نیز بیش از ۲۲۴ درجه-روز محاسبه شد. لذا دوره زمانی حفظ کیفیت تخمک، پس از سیال شدن آن، در محوطه شکمی مولد ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان به شدت وابسته به دمای محیط زندگی ماهی است.

واژه‌های کلیدی: سیال شدن تخمک - دما - کیفیت تخمک - محوطه شکمی - قزل‌آلای رنگین‌کمان.

نظیر نحوه تغذیه، سن مولدین، محیط زیست آنها و غیره بستگی دارد. در بین عوامل مؤثر بر کیفیت تخمک، مدت زمان باقی ماندن آن در محوطه شکمی، پس از سیال شدن Days Post Ovulation (DPO) مهمترین عامل گزارش شده و در واقع زمان تخم‌کشی از مولدین با توجه به روز سیال شدن تخمک‌ها مهمترین فاکتور تعیین کننده کیفیت تخمک نسبت به سایر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی شناخته شده است (۱،۶،۹). در طی دوره پس از سیال شدن تخمک‌ها، به تدریج تغییراتی در محتوای آنها و ترکیب مایع شکمی اتفاق می‌افتد که احتمالاً همین تغییرات موجب تغییر کیفیت تخمک‌ها می‌گردند (۱۱،۱۳). چنانچه عمل تخم‌کشی بیش از اندازه به تأخیر بیفتد، تخمک‌ها فوق‌رسیده شده و قابلیت لقاح را از دست خواهند داد. ایجاد حالت فوق‌رسیدی با پیدایش تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در تخمک همراه می‌باشد. زمان ایجاد پدیده فوق‌رسیدی، به شدت تحت تأثیر گونه پرورشی و دمای محیط زندگی ماهی است (۳،۱۲). به طور کلی آزاد ماهیان نسبت به سایر گونه‌های ماهیان پرورشی، می‌توانند تخمک‌ها را پس از سیال شدن آنها تا زمان نسبتاً طولانی‌تر و قابل قبولی بدون تغییر قابل توجه

### مقدمه

آزاد ماهیان (Salmonids)، یکی از خانواده‌های مهم ماهیان پرورشی قلمداد می‌گردند. گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از متداولترین گونه‌های پرورشی آزاد ماهیان می‌باشد. مدیریت کارآمد در تکثیر مولدین آزاد ماهیان بستگی به پیش‌بینی دقیق زمان رسیدگی تخمک‌ها دارد، زیرا این امر در بدست آوردن تخمک‌های دارای کیفیت بالا مؤثر می‌باشد. در شرایط پرورشی به جهت نبودن محرکین خارجی، مولدین قادر به تخم‌ریزی نمی‌باشند (۱). در واقع پس از سیال شدن تخمک‌ها و آزاد شدن آنها از لایه‌های نگهدارنده تخمدان، تخمک‌ها به محوطه شکمی رها می‌شوند و تا زمان خارج نمودن آنها از طریق عمل تخم‌کشی دستی در آنجا باقی می‌مانند. طی این دوره تخمک‌ها در مایع تخمدانی یا مایع شکمی غوطه‌ور هستند (۱۳).

تاکنون مطالعات زیادی جهت مشخص نمودن عوامل مؤثر بر کیفیت تخمک صورت گرفته است. کیفیت تخمک در آزاد ماهیان به عوامل متعددی



عدد مولد ماده قزل آلائی رنگین کمان به صورت تصادفی انتخاب و به سالن تکثیر انتقال داده شدند.

#### معاینه و تکثیر مولدین: عملیات تکثیر مصنوعی برای مولدین انتخاب

شده در پنج نوبت به فاصله زمانی یک هفته صورت گرفت. اولین نوبت تکثیر، در زمان معاینه (دوم) انجام گردید و لذا مولدین تا این زمان تخمک‌ها را به مدت ۷-۰ روز پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی خود نگهداری نمودند. در هر یک از نوبت‌های تکثیر پس از انتقال مولدین به سالن تکثیر و بیهوش نمودن آنها، مقدار ۴۰ گرم تخمک (حدود ۵۰۰ عدد) از هر مولد گرفته شده و به بقیه تخمک‌ها اجازه داده می‌شد تا هفته بعد، یعنی نوبت بعدی تکثیر، در محوطه شکمی مولدین باقی بمانند. مقدار تخمک گرفته شده از هر مولد ماده در هر نوبت تکثیر دقیقاً ۴۰ گرم بوده و با روش مشابه لقاح می‌یافتند. اسپرم مورد استفاده برای هر یک از نوبت‌های تکثیر از تعداد ۱۲ عدد مولد نر که هر بار به صورت تصادفی از جمعیت انتخاب می‌شدند، گرفته شده و به خوبی مخلوط می‌گردید. تخم‌ها بعد از لقاح و آبیگری به سالن انکوباسیون انتقال می‌یافتند تا پس از انجام عمل همدمایی در سینی‌های سالن انکوباسیون جای گیرند. جهت جلوگیری از اختلاط تخم‌ها، کلیه مولدین، ظروف تخم‌کشی و جایگاه قرارگیری تخم‌ها در سینی‌های سالن انکوباسیون، به صورت جداگانه علامت گذاری شدند.

تا نوبت دوم تکثیر، تخمک‌ها به مدت ۱۴-۷ روز در محوطه شکمی مولدین باقی ماندند. همچنین تخمک‌هایی که در مراحل سوم، چهارم و پنجم تکثیر از مولدین گرفته شدند تا زمان تکثیر به ترتیب مدت ۲۱-۱۴، ۲۸-۲۱ و ۳۵-۲۸ روز در محوطه شکمی مولدین باقی ماندند. لذا در نهایت از هر یک از ۱۵ مولد ماده در پنج نوبت عمل تخم‌کشی صورت گرفت.

**انکوباسیون:** تخم‌ها تا مرحله چشم‌زدگی در سینی‌های چشمه درشت و سرپوشیده سالن انکوباسیون نگهداری شده و پس از آن به سینی‌های چشمه ریز و سرپوشیده انتقال می‌یافتند تا لاروها پس از تخم‌گشایی از سینی‌ها خارج نشوند و در همان جا باقی بمانند. به منظور جلوگیری از ایجاد آلودگی‌های قارچی، تخم‌ها یک روز در میان و هر بار به مدت یک ساعت با استفاده از مالاشیت گرین با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر ضد عفونی می‌گردیدند.

**اندازه‌گیری پارامترهای تکثیر:** درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی در طول دوره انکوباسیون برای تمام گروه‌ها معین گردید. تخم‌ها پس از ۱۸۷ درجه - روز به مرحله چشم‌زدگی رسیدند و بعد از ۳۱۴ درجه - روز تفریح شدند. پس از انجام عمل شوک‌دهی مکانیکی (سیفون کردن تخم‌های چشم‌زده به داخل یک ظرف پراز آب)، تخم‌های چشم‌زده به آسانی قابل تشخیص از تخم‌های چشم‌زده می‌باشند، زیرا لکه‌های چشمی در آنها کاملاً نمایان شده و تخم‌های چشم‌زده نیز به رنگ سفید در می‌آیند. لاروهای تفریح شده نیز دقیقاً شمارش می‌گردیدند.

**طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها:** طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. در قالب این طرح فواصل زمانی مختلف

کیفیت تخمک‌ها، در محوطه شکمی خود نگهداری نمایند (۱۵، ۱۱، ۲۰، ۱). از دلایل اصلی این امر می‌توان به سردابی بودن این ماهیان و پایین بودن دمای محیط زندگی آنها نسبت به سایر ماهیان پرورشی اشاره نمود.

به جز مطالعه Aegerter و Jalabert در سال ۲۰۰۴ که مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها را در محوطه شکمی مولدین، در دو دمای ۱۲ و ۱۷ درجه سانتیگراد بررسی نمودند و دمای ۱۲ درجه سانتیگراد را مناسب‌تر از ۱۷ درجه سانتیگراد برای نگهداری تخمک‌ها پیشنهاد دادند (۱)، اطلاعات کافی در زمینه اثر دما بر مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلائی رنگین کمان وجود ندارد. لذا این مطالعه در تکمیل دامنه دمایی مطالعه فوق‌الذکر و با توجه به مناسبترین دامنه دمایی گزارش شده برای زندگی مولدین ماهی قزل آلائی رنگین کمان در فصل تکثیر (۱۳ الی ۱۰ درجه سانتیگراد) (۱۰) در دو دمای ۲ درجه سانتیگراد و ۸ درجه سانتیگراد انجام شد.

در واقع از آنجا که حفظ کیفیت تخمک ممکن است به میزان زیادی متأثر از دمای محیط زندگی ماهی باشد، لذا در این تحقیق اثر دما بر طول دوره حفظ کیفیت تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن مورد مطالعه قرار گرفت. به این ترتیب مدت زمانی که تخمک‌ها در طی آن دارای بهترین کیفیت بوده و به تبع آن بالاترین میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی برای آنها حاصل می‌گردد، مشخص خواهد شد.

### مواد و روش کار

**مولدین:** تعداد ۱۵ عدد مولد ماده سه ساله قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن  $1395 \pm 61$  گرم برای دمای ۲ درجه سانتیگراد و ۱۵ عدد مولد دیگر با وزن  $1420 \pm 76$  گرم برای دمای ۸ درجه سانتیگراد به کار گرفته شدند. مطالعه طی فصول زمستان سال ۱۳۸۲ و بهار ۱۳۸۳ در مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت صورت گرفت. دمای حوضچه‌های نگهداری مولدین طی فصول فوق‌الذکر به ترتیب  $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  و  $8 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  ثابت گردید. برای انجام آزمایشات ابتدا کلیه مولدین موجود (حدود ۱۰۰۰ عدد) در محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ماده  $\text{MS}_{222}$  بیهوش شده و سپس مورد معاینه قرار گرفتند، تا از عدم سیال شدن تخمک‌ها در آنها اطمینان حاصل شود. معاینه از طریق اعمال فشار آرام به محوطه شکمی از ناحیه سینه‌ای به سمت منفذ تناسلی صورت گرفت. با این روش تخمک‌ها از منفذ تناسلی مولدینی که سیال شدن تخمک‌ها در آنها صورت گرفته بود خارج گردیدند. با توجه به سیال شدن همزمان کلیه تخمک‌ها در ماهی قزل آلائی رنگین کمان، نخستین روزی که با اعمال فشار آرام به محوطه شکمی، تخمک از آن خارج می‌گردید، به عنوان روز سیال شدن تخمک‌ها در نظر گرفته می‌شد (۱۵). این مولدین از جمعیت خارج شدند. پس از گذشت یک هفته مجدداً جمعیت باقیمانده مورد معاینه قرار می‌گرفت. بنابراین می‌توان ادعا نمود که سیال شدن تخمک‌ها برای مولدینی که در معاینه دوم اقدام به تخم‌دهی می‌نمودند، در فاصله زمانی این یک هفته صورت گرفته بود. از میان چنین مولدینی تعداد ۱۵



جدول ۲- داده‌های مربوط به اثر باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن بر پارامترهای تولید مثلی مورد بررسی در دمای C ۵/۰ ± ۸ (Mean ± SEM).

درصد تخم‌گشایی	درصد چشم‌زدگی	گروه‌های آزمایشی
۹۶/۳۴±۰/۴۸ <sup>a</sup>	۹۸/۳۹±۰/۳۲ <sup>a</sup>	هفته اول (۰-۷DPO)
۹۳/۹۳±۰/۷۲ <sup>a</sup>	۹۷/۹۷±۰/۵۰ <sup>a</sup>	هفته دوم (۷-۱۴DPO)
۸۸/۷۳±۱/۴۹ <sup>b</sup>	۹۳/۷۶±۱/۱۵ <sup>b</sup>	هفته سوم (۱۴-۲۱DPO)
۷۳/۹۸±۰/۴۸ <sup>c</sup>	۸۱/۶۹±۱/۴۷ <sup>c</sup>	هفته چهارم (۲۱-۲۸DPO)
۲/۱۵±۰/۱۱ <sup>d</sup>	۳/۶±۰/۳۵ <sup>d</sup>	هفته پنجم (۲۸-۳۵DPO)

۲۸ تا ۳۵ روز پس از اوولاسیون رسید. بیشترین درصد چشم‌زدگی مربوط به تخم‌های هفته اول و کمترین مقدار آن متعلق به تخم‌های هفته پنجم آزمایشی بود. میزان چشم‌زدگی برای هفته پنجم آزمایشی بسیار پایین و تفاوت معنی دار و قابل ملاحظه‌ای با سایر هفته‌ها داشت.

میزان تخم‌گشایی نیز دقیقاً چنین روندی را نشان داد.

در این دما نیز رابطه همبستگی بین افزایش زمان باقی ماندن تخمک، پس از سیال شدن در محوطه شکمی مولدین ماده و درصد چشم زدگی (نمودار ۳) و تخم‌گشایی (نمودار ۴) ارتباط مربوطه را در سطح بالایی تأیید می‌نماید.

### بحث

از آنجاکه در پیدایش تخم لقاح یافته هر دو عامل تخمک و اسپرم دخالت دارند، لذا در مواردی که تفاوت در کیفیت تخمک‌ها مورد سنجش قرار می‌گیرد، توجه به یکسان بودن کیفیت اسپرم برای تخمک‌ها ضروری است. به جز Azuma و همکاران در سال ۲۰۰۳ که جهت یکسان بودن کیفیت اسپرم در مطالعه خود از اسپرم منجمد شده استفاده نمودند (۲)، سایر مطالعات توجه زیادی به یکسان بودن کیفیت اسپرم نداشته‌اند. در حالی که نتایج حاصل به میزان زیادی متأثر از کیفیت اسپرم بوده و عدم توجه به این عامل می‌تواند یک نقص عمده را در مطالعه ایجاد نماید. در این مطالعه اسپرم مورد استفاده برای هر یک از نوبت‌های تکثیر از بیش از ۱۰ عدد مولد نر که هر بار به صورت تصادفی از جمعیت انتخاب می‌شدند، گرفته شده و به خوبی مخلوط می‌گردید تا تکرارهای هر هفته آزمایش از کیفیت یکسان اسپرم برخوردار باشند.

در میان فاکتورهای مؤثر بر کیفیت تخمک‌های آزاد ماهیان، مدت زمان باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آنها، مهمترین فاکتور گزارش شده است (۱۰۷، ۹). در این ارتباط، دما نیز یک نقش کلیدی را ایفا می‌نماید. در واقع مدت زمانی که تخمک در طی آن قابلیت لقاح را حفظ می‌نماید به شدت وابسته به دمای محیط زندگی ماهی است. (۱) لذا، دما از طریق تأثیری که بر مدت زمان حفظ کیفیت تخمک در محوطه شکمی دارد، موجب تغییر میزان بازماندگی تخم‌ها می‌گردد.

در یک دوره نسبتاً طولانی پس از سیال شدن، تخمک‌ها دارای کیفیت قابل قبولی می‌باشند. نقش دما در این میان بسیار جالب توجه است. به

جدول ۱- داده‌های مربوط به اثر باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن بر پارامترهای تولید مثلی مورد بررسی در دمای C ۵/۰ ± ۲ (Mean ± SEM).

درصد تخم‌گشایی	درصد چشم‌زدگی	گروه‌های آزمایشی
۹۴/۹۱±۱/۷۴ <sup>a</sup>	۹۶/۲۳±۱/۲۵ <sup>a</sup>	هفته اول (۰-۷DPO)
۹۴/۹۱±۱/۷۶ <sup>a</sup>	۹۶/۷۹±۱/۱۵ <sup>a</sup>	هفته دوم (۷-۱۴DPO)
۹۰/۹۹±۲/۷۰ <sup>a</sup>	۹۳/۳۲±۲/۰۹ <sup>a</sup>	هفته سوم (۱۴-۲۱DPO)
-	-	هفته چهارم (۲۱-۲۸DPO)
۸۰/۶۰±۲/۱۱ <sup>b</sup>	۸۳/۰۱±۱/۸۸ <sup>b</sup>	هفته پنجم (۲۸-۳۵DPO)

مابین سیال شدن تخمک‌ها و تخم‌کشی از مولدین ماده به عنوان تیمارهای آزمایشی و مولدین به عنوان تکرارهای آن در نظر گرفته شدند.

نرمال بودن داده‌های مربوطه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۱ و با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov کنترل گردید و تغییر شکل بر روی داده‌ها صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده، به وسیله نرم افزار SPSS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آنالیز واریانس و سپس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام شد. رابطه همبستگی بین مدت زمان باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آنها، و درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی بررسی شد.

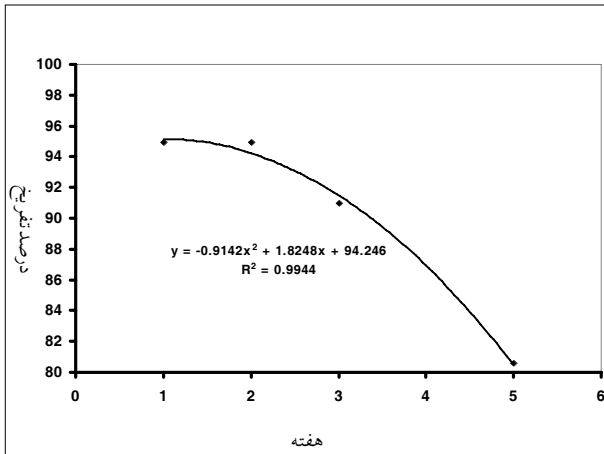
### نتایج

وزن‌های مولدین در دو دمای مورد مطالعه تفاوت معنی داری از جهت آماری با یکدیگر نداشتند. هنگامی که مطالعه در دمای C ۵/۰ ± ۲ صورت گرفت میانگین میزان چشم‌زدگی از رقم ۹۶/۲۳±۱/۲۵ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت ۰ تا ۷ روز پس از سیال شدن آنها به رقم ۱/۱۵ ± ۹۶/۷۹ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت ۷ تا ۱۴ روز پس از سیال شدن افزایش یافته و سپس تا رسیدن به رقم ۸۳/۰۱±۱/۸۸ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت ۲۸ تا ۳۵ روز پس از سیال شدن به آرامی کاهش یافت (جدول ۱). بالاترین درصد چشم‌زدگی مربوط به هفته دوم و کمترین میزان آن متعلق به هفته پنجم آزمایشی بود. داده‌های مربوط به میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی برای تخم‌های هفته چهارم به علت برخی مشکلات ایجاد شده در اجرا و خرابی آنها در دسترس نمی‌باشد.

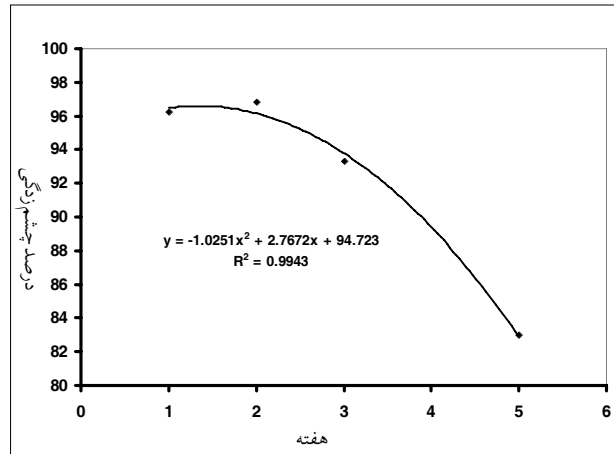
در مورد میزان تخم‌گشایی نیز دقیقاً چنین روندی مشاهده گردید. رابطه همبستگی بین افزایش زمان باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده، پس از سیال شدن آنها، و درصد چشم‌زدگی (نمودار ۱) و تخم‌گشایی (نمودار ۲) ارتباط مربوطه را در سطح بالایی تأیید می‌نماید.

هنگامی که مطالعه در دمای C ۵/۰ ± ۸ صورت گرفت نرخ چشم‌زدگی از رقم ۹۸/۳۹±۰/۳۲ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت ۰ تا ۷ روز پس از سیال شدن آنها به رقم ۸۱/۶۹±۱/۴۷ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت ۲۱ تا ۲۸ روز پس از سیال شدن کاهش یافت، لیکن این کاهش روندی آهسته و تدریجی داشت (جدول ۲). سپس رقم مربوطه به سرعت کاهش پیدا کرد و به ۳/۶±۰/۳۵ درصد برای تخمک‌های گرفته شده به مدت





نمودار ۲- رابطه رگرسیونی بین مدت زمان باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن و میزان تخم‌گشایی (در دمای ۲ درجه سانتیگراد).



نمودار ۱- رابطه رگرسیونی بین مدت زمان باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن و میزان چشم‌زدگی (در دمای ۲ درجه سانتیگراد).

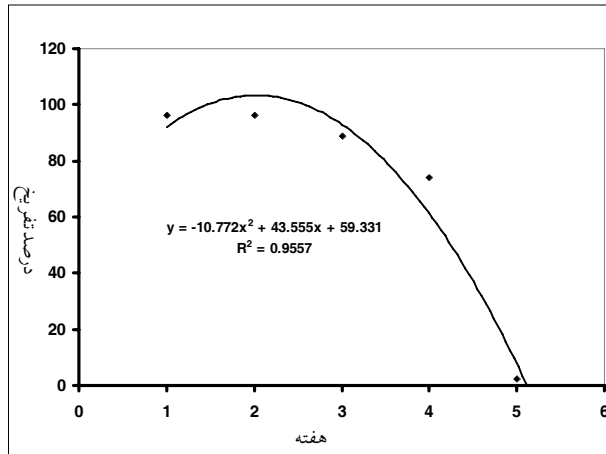
جهت تفاوت دماهای به کار رفته در مطالعات باشد. در واقع از آنجا که سرعت انجام فعالیت‌های فیزیولوژیکی به شدت وابسته به دما می‌باشد، لذا زمان مناسب برای تخم‌کشی از مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان، پس از سیال شدن تخمک‌ها، بایستی به صورت درجه - روز عنوان گردد. در این ارتباط نقطه ضعف مطالعات صورت گرفته عدم توجه به دما و ارائه این زمان به صورت روز می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه زمان مناسب جهت تخم‌کشی از مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان را حدود ۸۰ درجه - روز پس از سیال شدن تخمک‌ها معرفی می‌نماید. علی‌رغم آن که این عدد در هیچ یک از منابع در دسترس موجود نمی‌باشد، لیکن مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی و دماهای به کار رفته در آنها نشان می‌دهد که عدد بدست آمده برای سایر منابع نیز صادق است (۱۵، ۱۴، ۱۰، ۲). مطالعه Aegerter و Jalabert در سال ۲۰۰۴ نیز نشان داد، زمانی که مولدین ماده در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی برای نمونه‌های تخمکی که ۰ و ۷ روز پس از سیال شدن گرفته شدند، به صورت ثابت باقی مانده و پس از آن به میزان قابل توجهی کاهش یافت. زمانی که مولدین ماده در دمای ۱۷ و ۲۰ درجه نگهداری شدند، میزان بازماندگی جنین‌ها بین نمونه‌های تخمک گرفته شده در روزهای ۰ و ۷ پس از سیال شدن آنها به میزان قابل توجهی کاهش یافت و جنین‌هایی که از تخمک‌های بدست آمده ۱۴ روز پس از سیال شدن به وجود آمدند، مدت زیادی زنده نماندند (۱).

پس از سیال شدن تخمک‌ها، با گذشت زمان چنانچه عمل تخم‌کشی صورت نگیرد، تخمک‌ها فوق رسیده شده و بنابراین قابلیت لقاح را از دست خواهند داد. ایجاد حالت فوق رسیدگی در تخمک‌های مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان یک باره نبوده و همزمان در تمامی تخمک‌ها اتفاق نمی‌افتد. در واقع هنگام معاینه می‌توان مولدینی را یافت که تنها تعدادی از تخمک‌های آنها فوق رسیده باشند. با گذشت چندین روز دیگر به تدریج تمام تخمک‌ها در چنین مولدی فوق رسیده خواهند شد. از جهت ظاهری ایجاد لکه نارنجی رنگ بر روی تخمک نشان دهنده فوق رسیدگی آن می‌باشد. با

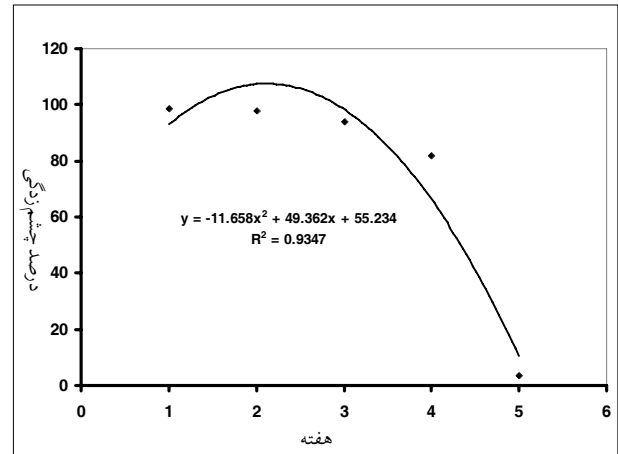
طوری‌که دماهای پایین‌تر در دامنه معمول زندگی ماهی موجب افزایش مدت زمان حفظ کیفیت تخمک در محوطه شکمی می‌گردند. در واقع دما بر طول این دوره زمانی مؤثر است. در مطالعه حاضر هنگامی که دما از ۲ درجه سانتیگراد به ۸ درجه سانتیگراد افزایش یافت، حداکثر میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی از هفته دوم به هفته اول پس از سیال شدن تخمک‌ها انتقال پیدا کرد. همچنین میزان چشم‌زدگی از رقم ۸۳ درصد برای هفته پنجم در دمای ۲ درجه سانتیگراد، به رقم ۳/۶ درصد در دمای ۸ درجه سانتیگراد کاهش یافت. در مورد میزان تخم‌گشایی نیز چنین روندی مشاهده شد. تفاوت این اعداد به خوبی اثر دما را بر مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان، پس از سیال شدن آنها نشان می‌دهد. در واقع در دامنه معمول زندگی ماهی هر چه دمای محیط آب پایین‌تر باشد، مدت زمانی که تخمک در طی آن دارای کیفیت مناسبی بوده و بالاترین میزان چشم‌زدگی و تخم‌گشایی را خواهد داشت، طولانی‌تر می‌گردد. بنابراین فرصت بیشتری وجود دارد تا تخمک‌های دارای کیفیت مناسب گرفته شوند. بدیهی است طول این دوره حتی در دماهای بسیار پایین نیز محدودیت دارد. برعکس، هر چه دمای محیط زندگی ماهی بالاتر رود، مدت زمانی که تخمک در طی آن دارای کیفیت مناسب می‌باشد محدودتر بوده و بنابراین فرصت کمتری را برای گرفتن چنین تخمک‌هایی در اختیار خواهیم داشت. در هر حال توجه به این نکته نیز ضروری است که مناسب‌ترین دامنه دمایی برای زندگی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان در فصل تکثیر ۱۰-۳ درجه سانتیگراد گزارش شده است (۱۰).

برخی مطالعات صورت گرفته زمان مناسب جهت تخم‌کشی از مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان را تا ۵ روز پس از سیال شدن تخمک‌ها معرفی نموده‌اند (۲، ۱۴). این زمان در تعدادی دیگر از مطالعات تا ۱۰ روز پس از سیال شدن تخمک‌ها گزارش شده است (۱۶، ۱۵، ۱۱، ۱). در برخی گزارش‌های دیگر نیز زمان مناسب جهت تخم‌کشی از مولدین ماده تا ۱۵ روز پس از سیال شدن عنوان شده است (۸، ۴). به نظر می‌رسد چنین تفاوت‌های آشکاری در نتایج به





نمودار ۲- رابطه رگرسیونی بین مدت زمان باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن و میزان تخم‌گشایی (در دمای ۸ درجه سانتیگراد).



نمودار ۳- رابطه رگرسیونی بین مدت زمان باقی ماندن تخمک در محوطه شکمی، پس از سیال شدن آن و میزان چشم‌زدگی (در دمای ۸ درجه سانتیگراد).

همچنین از کلیه کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت، به خصوص جناب آقای افشین مسلمی، به جهت همکاری‌های ایشان صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید.

## 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. and Unuma, T.(2003) Changes in fertility of rainbow trout eggs retained in coelom. *Fish. Sci.* 69: 131-136.
3. Billard, R., Gillet, C.(1981) Ageing of eggs and temperature potentialization of micropollutant effects of the aquatic medium on trout gametes. *Cah. Lab. Hydrobiol. Montreal*. 12: 35-42.
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 °C does not affect development success. *Cybiuim*. 27: 47-51.
5. Bry, C.(1981) Temporal aspects of macroscopic changes in rainbow trout *Salmo gairdneri* oocytes before ovulation and of ova fertility during the post-ovulation period; effect of treatment with 17α-hydroxy-20β-dihydroxyprogesterone. *Aquaculture*. 24:153-160.
6. Craik, J. C. A., Harvey, S. M.(1984a) Biochemical changes associated with overripening of the eggs of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*. 37: 347-

توجه به نتایج حاصل از مطالعه Azuma و همکاران در سال ۲۰۰۳ مبنی بر تجمع قطرات چربی و ظهور آنها به صورت لکه در تخمک فوق رسیده (۲) می‌توان لکه نارنجی رنگ ظاهر شده بر روی تخمک را به تجمع قطرات چربی در طی دوره پس از سیال شدن آن نسبت داد. زمان ایجاد حالت فوق رسیدگی در تخمک‌ها وابسته به گونه پرورشی و دمای محیط زندگی ماهی است (۳، ۱۲). لذا این زمان برای هرگونه، باید به صورت درجه - روز عنوان گردد. در مطالعه حاضر، با توجه به نتایج بدست آمده در موردافت کامل کیفیت تخمک در هفته پنجم (در دمای ۸ درجه سانتیگراد) زمان لازم برای فوق رسیدگی تخمک‌ها حداقل ۲۲۴ درجه - روز ارزیابی گردید. مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی و دماهای به کار رفته در آنها نشان می‌دهد که این عدد برای سایر منابع نیز صادق است (۱۳، ۱۴، ۱۵).

رابطه همبستگی مثبت و قابل ملاحظه‌ای که بین درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی به دست آمد ( $p < 0.01$ ) نشان می‌دهد که می‌توان از میزان چشم‌زدگی به عنوان یک شاخص قابل اعتماد جهت پیش‌بینی عملکرد بعدی تخم‌ها استفاده نمود. در واقع با اندازه‌گیری درصد چشم‌زدگی تخم‌ها که به آسانی امکان پذیر است تقریباً می‌توان پیش‌بینی درستی از میزان تفریح تخم‌ها نیز داشت.

با توجه به مطالب ذکر شده پیشنهاد می‌گردد که هر یک از مراکز تکثیر با توجه به ارقام ارائه شده در خصوص بهترین زمان مناسب برای تخم‌کشی از مولدین (۸۰ درجه - روز پس از اوولاسیون) و نیز زمان لازم برای فوق رسیدگی تخمک‌ها (حداقل ۲۲۴ درجه - روز) و همچنین ثبت دمای معمول ماهانه در مرکز، برنامه ریزی‌های تکثیر را انجام دهند و فواصل زمانی مناسب جهت معاینه مولدین را مطابق آن تنظیم نمایند.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های مالی بی دریغ معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به جهت پرداخت بخشی از هزینه‌های تحقیق تشکر می‌گردد.



- 357.
7. Craik, J. C. A., Harvey, S. M.(1984b) Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*. 40: 115-134.
8. Escaffre, A. M., Billard, R.(1979) Changes in fertilizability of rainbow trout eggs left in the abdominal cavity during the post-ovulatory period. *Bull. Fr. Piscic*. 272: 56-70.
9. 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*. 53: 434-446.
10. King, H. R., Pankhurst, N. W.(2004) Effect of maintenance at elevated temperature on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue responsiveness of female Atlantic salmon, *Salmo salar* in Tasmania. *Aquaculture*. 233: 583-597.
11. Lahnsteiner, F.(2000) Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the overripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiol. Biochem*. 23: 107-118.
12. Mollah, M. F. A., Tan, E. S. P.(1983) Viability of catfish eggs fertilized at varying post-ovulation times. *J. Fish Biol*. 22: 563-566.
13. Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J. and Jalabert, B.(2004) Post-ovulatory ageing and egg quality: A proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 2: 26.
14. Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F. and Oto, H.(1975) The over-ripening phenomenon of rainbow trout, Changes in the percentage of eyed eggs, hatching rate and incidence of abnormal alevins during the process of over-ripening. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish*. 41: 855-860.
15. Springate, J. R. C., Bromage, N. R., Elliott, J. A. K. and 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.
16. Yamazaki, F., Goodier, J., Yamano, K.(1989) Chromosomal aberrations caused by ageing and hybridization in charr, masu salmon and related salmonids. *Physiol. Ecol. Jpn. Spec*. 1: 529-542.



## EFFECT OF TEMPERATURE ON POST OVULATED OOCYTE QUALITY MAINTENANCE IN FEMALE RAINBOW TROUT, *ONCORHYNCHUS MYKISS*

Mohagheghi Samarin, A.<sup>1</sup>, Rafiee, G.R.<sup>1</sup>, Ahmadi, M.R.<sup>2\*</sup>, Mojazi Amiri, B.<sup>1</sup>, Vilaki, A.S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>2</sup>Department of Health and Aquatic Disease, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>3</sup>Cold water Fish Department of Iranian Fisheries Organization, Tehran-Iran.

(Received 21 April 2005 , Accepted 18 March 2007)

### Abstract:

Effect of temperature on the duration of post ovulated oocyte quality maintenance in abdominal cavity of female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, was assessed to determine suitable time of stripping. Egg quality measurement was done through assessing the eyeing and hatching rates of eggs. Regarding the best temperature range reported for salmonid brood fish in breeding season (3-10°C) the study was undertaken in two temperatures of  $2 \pm 0.5^\circ\text{C}$  and  $8 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . In each of the noted temperatures, 15 female brood fish were used as 15 replicates and stripped 5 times. Time interval of each two spawnings was 7 days. Results indicated that temperature has a significant effect on the suitable time of stripping. When the temperature increased from  $2^\circ\text{C}$  to  $8^\circ\text{C}$ , the optimum eyeing and hatching rates were transferred from second week to the first one. Also, eyeing rate was decreased from 83% for the fifth treatment at  $2^\circ\text{C}$  to 3.6% at  $8^\circ\text{C}$ . The same trend was observed for the hatching rates. The decrease of post ovulatory suitable stripping time from 30 days in  $2^\circ\text{C}$  to two weeks in  $8^\circ\text{C}$ , shows the role of temperature on egg quality maintenance and confirms that the increase of water temperature in optimal living range, shortens the suitable post ovulatory time of stripping. This time duration estimated at least 21 DPO at  $2^\circ\text{C}$  and 14 DPO at  $8^\circ\text{C}$ . Also the time needed for overripening of the eggs estimated more than 224 Degree-Days. So the time duration of post ovulated oocyte quality maintenance in abdominal cavity of female rainbow trout is highly dependent on water temperature.

**Key words:** Ovulation, Temperature, Egg quality, Abdominal cavity, *Oncorhynchus mykiss*.

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

