نگهداري تخمك لقاح‌نيافته قزل‌آلاي رنگين‌كمان(*Oncorhynchus mykiss*) در محيط‌هاي مايع تخمداني

حميد نيك سيرت[۱] كوروش سروي مغانلو[۲] باقر مجازي اميري[۳] آزاده هاتف[۴]
علي پاشازانوسي[۵] محسن ميار نعيمي[۶]

چكيده

ميزان ماندگاري تخمك لقاح‌نيافته ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان، خارج از محوطه شكمي توسط استحصال تخمك‌هاي سه مولد، در سه تيمار متفاوت و براي سه زمان ۰، ۲٤ و ٤۸ ساعت در دماي ۱۱-۱۰ درجه سانتي‌گراد تعيين شد. در تيمار اول، ۱۵ ميلي‌ليترتخمک از هر مولد دريافت و به‌صورت جداگانه در پليت‌ها نگهداري شد. در تيمار دوم، از هر مولد ۵ ميلي‌ليتر تخمك واز مجموع سه ماهي مولد ۱۵ ميلي‌ليتر تخمك به صورت مخلوط در هر پليت ريخته و نگهداري شد. در تيمار سوم، از هر مولد ۱۵ ميلي‌ليتر تخمک گرفته شده، در پليت‌ها به همراه استرپتومايسين سولفات (۰/۱ **mg/mL**) و پني سيلين (۱۰۰ **Iu/mL**) نگهداري شد. بيشترين درصد چشم‌زدگي در بين تيمارها متعلق به تيمار حاوي آنتي بيوتيك و در هر سه زمان ۰، ۲٤ و ٤۸ ساعت بود. در تمام تيمارها درصد چشم‌زدگي در ساعات ۲٤ و ٤۸ از ساعت صفر بيشتر بود. درحالي‌كه در ساعت صفر اختلاف معني‌داري در درصد چشم‌زدگي بين تيمار تخمك‌هاي جدا و تخمك‌هاي مخلوط مشاهده نشد، ولي در ساعات ۲٤ و ٤۸ درصد چشم‌زدگي در تخمك‌هايي كه به‌صورت مخلوط نگهداري شده بود، از تخمك‌هاي نگهداري شده به صورت جدا بيشتر بود. نتايج اين آزمايش نشان داد كه تخمک‌هاي لقاح نيافته قزل‌آلاي رنگين‌كمان را مي‌توان به مدت حداقل ٤۸ ساعت خارج از بدن ماهي در درون مايع سلوميک ،بدون نياز به فناوري ويژه اي نگهداري كرد.

واژه‌هاي كليدي: *قزل‌آلاي رنگين‌كمان، تخمك لقاح‌نيافته، نگهداري كوتاه‌مدت و مايع تخمداني.*

۱- دانشجوي كارشناسي ارشد شيلات، دانشكده منابع طبيعي ، دانشگاه تهران **E-mail:** h_niksirat@yahoo.com
۲- دانشجوي كارشناسي ارشد شيلات، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران
۳- دانشيار گروه شيلات و محيط زيست، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران
۴- دانشجوي كارشناسي ارشد شيلات، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران
۵- كارشناس مركز تكثير و پرورش آزادماهيان شهيد باهنر كلاردشت
۶- كارشناس مركز تكثير و پرورش آزادماهيان شهيد باهنر كلاردشت

مقدمه

در خانواده آزادماهيان (**Salmonidae**) ، تخمك‌ها پس از فرايند اوولاسيون از لايه‌هاي فوليكولي جدا شده و در محوطه شكمي در مايع نيمه لزجي به نام مايع سلوميك يا مايع تخمداني شناور مي‌شوند و بسته به شرايط دمايي ممكن است حداقل به مدت يك هفته قدرت لقاح خود را حفظ كنند. (اسپرينگيت و همكاران ،۱۹۸٤)[۱]. قابليت نگهداري تخمك لقاح‌نيافته خارج از بدن ماهي درماهيان مختلف متفاوت است و بستگي زيادي به دماي محيط زيست ماهي دارد. براي مثال ماهيان خاوياري (گيسبرت و وايليوت، ۲۰۰۲) [۲]، كپور (روتبارد و همكاران،، ۱۹۹٦) [۳] و كفشك ماهي (سكويت و همكاران،، ۱۹۹۹) [٤] كه در دماي بالاتري زندگي مي‌كنند، زمان نگهداري اندك و محدود به چند ساعت ياحداكثر يك‌روز با بازده تفريخ اندك دارند. ولي در ماهيان سردابي كه در دماي كمتري زيست مي‌كنند، به علت كندتربودن سوخت و ساز، مدت زمان نگهداري هم در داخل بدن ماهي و هم خارج آن بيشتر است. در اين خصوص مي‌توان به ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان (گوئتز و كافمن، ۲۰۰۰) [۵] اشاره كرد. گاهي لازم است تخمك‌هاي لقاح‌نيافته خارج از بدن ماهي نگهداري شوند. به‌طور مثال دستكاري‌هاي ژنتيكي بر روي تخمك‌ها، انتقال تخمك‌ها بين دو كارگاه (به جاي اينكه خود مولدين جابه‌جا شوند) و همچنين شرايطي كه به جنس نر دسترسي وجود ندارد رامي‌توان نام برد، كه براي هر سه مورد بايد تخمك‌ها تا مرحله لقاح زنده بمانند. به همين دلايل بايد قابليت زنده ماندن تخمك‌ها در شرايط مختلف مورد ارزيابي قرارگيرد.

در اين مقاله سعي شده قابليت نگهداري تخمك لقاح‌نيافته قزل آلاي رنگين كمان تحت تيمارهاي مختلف خارج از بدن ماهي در شرايط كارگاهي ايران مورد مطالعه قرارگيرد. مطالعات نشان داده كه عفونت‌هاي ناشي از باكتري‌ها يكي از عوامل محدودكننده زمان نگهداري تخمك‌ها خارج از بدن ماهي است (جنسن و آلدرديك، ۱۹۸٤) [٦]. اين باكتري‌ها مي‌توانند هم از طريق منفذ تناسلي وارد شوند و تخمك‌ها را آلوده كنند وهم در زمان تخم‌كشي و تكثير از محيط پيراموني بر روي تخمك‌ها قرارگرفته و آنها را آلوده سازند (كافمن و گوئتز، ۱۹۹۸) [۷]. به همين دليل دراين تحقيق سعي شده با اضافه‌كردن آنتي‌بيوتيك به محيط، قابليت نگهداري تخمك مورد ارزيابي قرارگيرد. از طرف ديگر، مايع سلوميك يا تخمداني در آزادماهيان مايعي است كه داراي pH بين ۸/۲ تا ۸/۸ بوده و محتوي يون‌هاي سديم، پتاسيم و كلسيم و يا قندهايي مثل گلوكز، فروكتوز يا كلسترول، فسفوليپيدها، پروتيئن‌ها و اسيدهاي آمينه آزاد است (لهن اشتينر و همكاران. ، ۱۹۹۵) [۸]. غلظت يون‌ها و قندها و ساير موارد مثل pH مايع تا اندازه‌اي در بين افراد يك گونه متفاوت است، بنابراين يكي ديگر از سوالات اين تحقيق اين است كه آيا تفاوت‌هاي فردي بين افراد يك گونه تاثيري بر نتايج حاصل از نگهداري آنها خواهد داشت؟ و اصولا نگهداري به صورت مخلوط تخمك و مايع سلوميك چند مولد چه تاثيري بر درصد چشم‌زدگي و يا تخم‌گشايي خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

مولدين: ۳ قطعه مولد قزل‌آلاي رنگين‌كمان از مركز تكثير و پرورش آزادماهيان شهيد باهنر كلاردشت تامين شد. مولدين تا زمان رسيدگي درحوضچه‌هاي پرورشي ۳×۹ (متر) در محوطه كارگاه با رژيم نوري طبيعي نگهداري شدند. وزن مولدين بين۱/۵ تا ۲/۵ كيلوگرم و طول آنها ۳۵ تا ٤۵ سانتي‌متر بود. تكثير در اوايل اسفندماه سال ۱۳۸۲ موقعي‌كه دماي آب انكوباسيون بين ۱۱-۱۰ درجه سانتي‌گراد بود، انجام گرفت.

۱- Springate *et al*

۲- Gisbert & Williot

۳- Rothbard *et al*

۴- Suquet *et al*

۵- Goetz & coffman

۶- Jensen & Alderdice

۷- Coffman & Goetz

۸- Lahnsteiner *et al*

روش جمع‌آوري تخمك و اسپرم

براي جمع‌آوري تخمك از ماهيان، مولدين ماده به وان‌هاي پلاستيكي منتقل و به‌وسيله ماده بيهوش‌كننده ***MS۲۲۲*** ، بيهوش شدند. سپس با آب تميز شسته شده و پس از خشك كردن بدن ماهيان با حوله، تخمك‌ها با فشار به شكم ماهي خارج شده و درون ظرف‌هايي به صورت جداگانه براي هر مولد جمع‌آوري شد. سپس به‌وسيله پنس اقدام به جداكردن مواد زائد خارجي ومدفوع از تخمك‌ها شد.

نگهداري تخمك‌ها

براي نگهداري تخمك‌ها، از پليت‌هاي پلاستيكي استريل به قطر ۸ سانتي‌متر استفاده شد. در تيمار اول (مجزا)، تخمك و مايع سلوميك هر مولد به‌صورت جداگانه نگهداري شد. در تيماردوم(مخلوط) از سه مولد و از هر كدام ۵ ميلي‌ليتر و در كل ۱۵ ميلي‌ليتر تخمك و مايع سلوميك گرفته و در داخل پليت‌ها ريخته شد.در تيمار سوم (حاوي آنتي بيوتيك) در هر تكرار ۱۵ ميلي‌ليتر تخمك از هر مولد به‌صورت جداگانه در داخل پليت‌ها ريخته شد و به مقدار (۱mg/mL) استرپتومايسين سولفات و (۱۰۰Iu/mL) پني‌سيلين به آنها اضافه شد (گوئتز و كافمن، ۲۰۰۰) [۱]. براي تيمار آنتي‌بيوتيك در ساعت صفر معادل مقدار ذكر شده در بالا به مخلوط تخمك و اسپرم، آنتي‌بيوتيك اضافه شد. براي هر تيمار سه تكرار در نظر گرفته شد. سپس پليت‌ها در ظرف بزرگ‌تري قرارداده شدند و ظرف بزرگ‌تر بدون آنكه آب به داخل آن نفوذ كند، در آب جاري انكوباسيون قرار داده شد. اين كار به اين دليل انجام شد كه دماي آب انكوباسيون صرفن‌ظر از تغييرات جزئي ثابت و در حد ۱۱-۱۰ درجه سانتي‌گراد بود و موجب مي‌شد دماي تخمك‌ها نيز همراه با آن ثابت بماند. لقاح در زمان‌هاي صفر، ۲۴و ۴۸ ساعت با استفاده از اسپرم شش مولد نر معين انجام گرفت. براي لقاح هر تكرار از تيمارها ۳۰۰ ميكروليتر اسپرم استفاده شد. اسپرم روي تخمك‌ها ريخته شده و به آرامي مخلوط اسپرم و تخمك به هم زده مي‌شد، سپس بلافاصله محلول لقاح بيلارد[۲] (۱۹۹۵) بافرمول (۱۲۴/۱ ميلي‌مول كلريدسديم ، ۳۰ميلي‌مول گليسين ، و ۲۰ميلي‌مول ***Tris-Hcl , pH=۹***) و به نسبت (۱:۲) (تخمك: محلول لقاح) روي تخمك‌ها اضافه شد و پس از عمل لقاح شست‌وشو با آب تميز انجام شد و تخم‌ها براي جذب آب به مدت ۶۰-۴۵ دقيقه به‌صورت ساكن باقي ماندند. شايان ذكر است كه در هر سه زمان صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت، قبل از لقاح، pH مايع سلوميك اندازه‌گيري شد. تخم‌ها پس از جذب آب تا مرحله چشم‌زدگي و تفريخ داخل انكوباتور و در سبدهايي كه براي هر تيمار و تكرار شماره‌گذاري شده بود، قرارگرفتند. از چشم‌زدگي به‌عنوان مقياسي از درصد لقاح استفاده شد (گوئتز و كافمن ،۲۰۰۰) [۳] . پس از مرحله چشم‌زدگي، به تخم‌ها شوك مكانيكي داده شد سپس تعداد تخم‌هاي سفيد و چشم زده شمارش و از روي آن و با تقسيم تعداد تخم‌هاي چشم‌زده به كل تخم‌ها و ضرب حاصل آن درعدد صد، درصد چشم‌زدگي محاسبه شد (بازيار،۱۳۸۳). براي مقايسه درصدچشم‌زدگي بين تيمارهاي مختلف از آزمون مقايسه نسبت‌ها و سپس مقايسه چند دامنه‌اي نسبت‌ها استفاده شد (زار، ۱۹۹۹) [۴]. براي انجام محاسبات آماري از نرم افزارهاي SPSS و Excel استفاده شد.

۱- Goetz & coffman

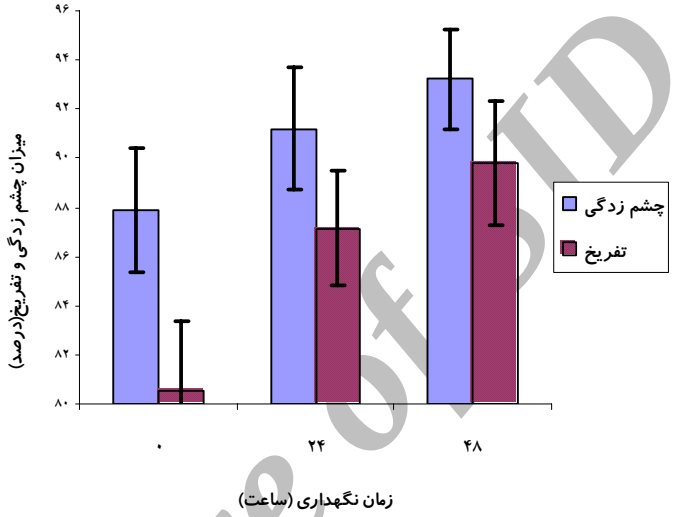
۲- Billa rd

۳- Goetz & coffman

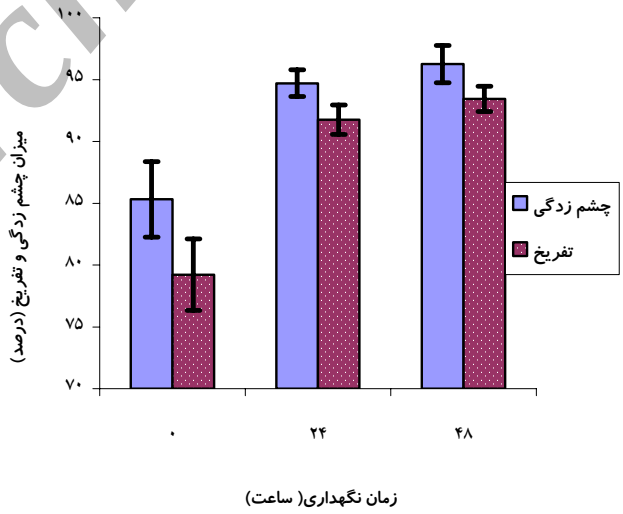
۴- Zar

نتايج

بر اساس نتايج به‌دست آمده، اختلاف معني‌داري در ميزان چشم‌زدگي در تيمارهاي مخلوط و جدا در ساعت صفر مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، ولي درساعت‌هاي ۲٤ و ٤۸ اختلاف معني‌داري در ميزان چشم‌زدگي بين تيمارهاي مخلوط و جدا مشاهده شد (P<۰/۰۵)، همچنين در هر دو زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت درصد چشم‌زدگي در تيمار مخلوط از تيمار جدا به‌صورت معني‌داري بيشتر بود (شكل‌هاي ۱و ۲).

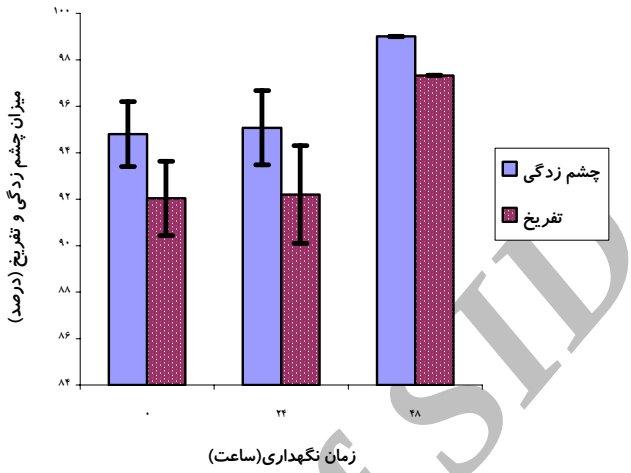


شكل ۱- درصد چشم‌زدگي و تفريخ در تيمار كه تخمک‌ها به صورت جداگانه نگهداري شوند



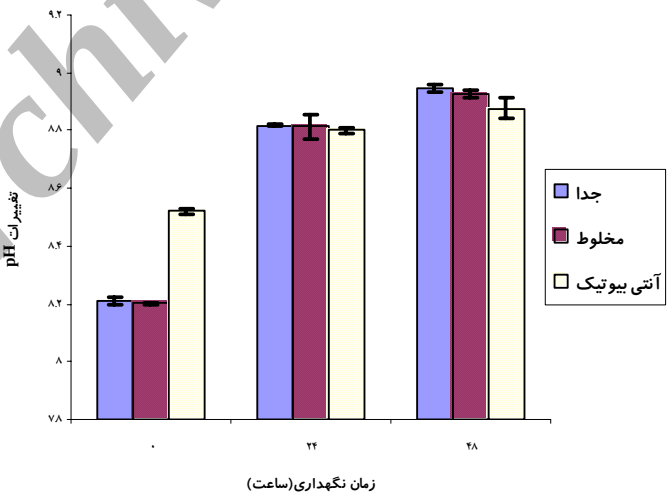
شكل ۲- درصد چشم‌زدگي و تفريخ در تيمار كه تخمک‌ها به صورت مخلوط نگهداري شوند

ميزان چشمزدگي تيمار حاوي آنتي‌بيوتيك به‌طور معني‌داري بيش از تيمار جدا در هر سه زمان صفر، ۲٤ و ٤٨ ساعت و از تيمار مخلوط درزمان‌هاي صفر و ٤٨ ساعت بود($P<۰/۰۵$) (شكل ۳).



شكل ۳- درصد چشم‌زدگي و تفريخ در تيمار حاوي آنتي‌بيوتيك

در ضمن، ميانگين درصد چشم‌زدگي براي هر سه تيمار پس از گذشت ۲٤ و ٤٨ ساعت از نگهداري درخارج از محوطه شكمي ماهي افزايش يافت ($P<۰/۰۵$) pH۰ مايع سلوميك هم در هر سه تيمار پس از گذشت ٤٨ ساعت افزايش معني‌داري يافته بود ($P<۰/۰۵$) (شكل ٤).



شكل ٤- تغييرات **PH** مايع سلوميک در هر سه تيمار و در زمان‌هاي صفر، ۲٤ و ٤٨ ساعت

بحث و نتيجه‌گيري

در محوطه شكمي ماهي، اكسيژن براي تنفس و سوخت و ساز تخمك از طريق رگ‌هاي خوني تامين مي‌شود، ولي در خارج از بدن ماهي اين نياز تنفسي چطور تامين مي‌شود؟ به‌نظر مي‌رسد يك‌سري رنگدانه‌ها مثل آستاگزانتين موجود در تخم علاوه بر انتشار ساده اكسيژن از هوا، درتنفس تخمك‌ها نقش دارند (كرايك، ۱۹۸۵) [۱]. در مطالعه اسپرينگيت وهمكاران[۲] (۱۹۸٤)، از روز اول اوولاسيون تا روز بيستم بعد از آن، هر روز قسمتي از تخمك‌هاي رسيده ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان از محوطه شكمي خارج و لقاح داده شده و مشاهده شد كه تخمك‌هاي لقاح داده شده در روزهاي چهارم تا ششم از تخمك‌هاي لقاح داده شده در روز اول بازده بيشتري داشتند. در مطالعه آزوما و همكاران[۳](۲۰۰۳) نيز اتفاقي نظير همين رخ داد. در مطالعه گوئتز و كافمن[٤] (۲۰۰۰) بر روي قزل‌الاي رنگين‌كمان، در بعضي از مولدين بين ۲۰ تا ۳۰ درصد به ميزان چشم‌زدگي و تفريخ تخمك‌هايي كه در دسته‌هاي ٦۰ عددي به مدت ۲٤ ساعت خارج بدن ماهي نگهداري شده بودند، اضافه شد. در مطالعه حاضر نيز مشاهده مي‌شود كه پس از گذشت ۲٤ و ٤۸ ساعت از نگهداري در بيرون محوطه شكمي ماهي، درصد چشم‌زدگي به‌طور معني‌داري افزايش يافته است. به‌نظر مي‌رسد كم‌كردن تراكم تخمك‌ها در بدن ماهي نقش مهمي در افزايش درصد چشم‌زدگي داشته است. به‌طوري‌كه سهم اكسيژن انتشار يافته از مويرگ‌ها به داخل مايع سلوميك كه بعد از خارج كردن مقداري از تخمك‌ها از محوطه شكمي ماهي، به بقيه مي‌رسد، بيشتر شده و در نتيجه مي‌تواند موجب افزايش بازدهي شود. درمورد افزايش درصد چشم‌زدگي در خارج از محوطه شكمي نيز اين احتمال وجود دارد كه به علت كم‌كردن تراكم تخمك‌ها و سطح تماس زياد پليت‌ها بااكسيژن هوا و قرارگرفتن تخمك‌ها در يك لايه، اكسيژن بهتر مي‌تواند در مايع سلوميك حل شود و به تخمك‌ها برسد و قابليت زنده ماندن و لقاح آنها را افزايش دهد. همچنين استيونس (۱۹٦٦) [۵] نيز يكي از دلايل فوق رسيدگي در ماهيان را كمبود اكسيژن در محوطه شكمي عنوان كرد، البته هنوز شواهد تجربي در اين زمينه وجود ندارد.

در بين سه تيمار اين آزمايش مشاهده مي‌شود در تيمارهايي كه از آنتي‌بيوتيك استفاده شده، در هر سه زمان صفر، ۲٤ و ٤۸ ساعت درصدچشم‌زدگي بيشتراست. شايد آنتي‌بيوتيك‌ها مي‌توانند موجب از بين رفتن بعضي باكتري‌هاي هوازي شوند و با اين كار رقيب تخمك‌ها براي مصرف اكسيژن، درمدت زماني كه تخمك‌ها خارج محوطه شكمي قرار دارند، از بين مي‌رود. از طرف ديگر، ممكن است باكتري‌هايي كه در فرايند تكثير اختلال ايجاد مي‌كنند نيز توسط آنتي‌بيوتيك‌ها از بين بروند و بدين‌وسيله كارايي تكثير افزايش يابد.در نگهداري كوتاه‌مدت اسپرم گربه ماهي كانالي در محيط استريل، مشاهده شد كه اسپرم كيفيت خود را به مدت ۱۰ روز حفظ كرد. ولي در فضاي غير استريل كيفيت اسپرم بعد از سه روز كاملا از بين رفت. بر اساس تحقيقات مشخص شد كه ۶۵ درصد از باكتري‌هاي موجود در محيط نگهداري اسپرم از نوع پرودوموناس مي‌باشند. اين باكتري علاوه بر مصرف اكسيژن محيط براي فرايندهاي متابوليسمي خود، مي‌تواند نوعي آنزيم‌هاي خارج سلولي ترشح كند كه به ديواره سلول‌هاي جنسي صدمه وارد مي‌سازد (جنكينز و تايرج[٦] ۱۹۹۷)، كه اين موضوع اهميت اضافه كردن آنتي بيوتيک در غلظت‌هاي مناسب به محيط‌هاي نگهداري كوتاه‌مدت گامت‌ها را تأييد مي‌كند.

نتايج اين آزمايش نشان مي‌دهد در ساعت صفر تفاوت معني‌داري بين درصد چشم‌زدگي بين دو تيمار، تخمك‌هاي مخلوط شده و تخمك‌هايي كه به‌صورت

۱- Craik

۲- Springate

۳- Azuma *et al*

۴- Goetz & coffman

۵- Stevens

جداگانه براي هر مولد نگهداري شدند، مشاهده نشد، ولي زمانيكه اين دو تيمار به مدت ۲٤ و ٤۸ ساعت نگهداري شدند، تيماري كه حاوي تخمك‌هاي مخلوط شده بود، از تيماري كه حاوي تخمك‌هاي هر مولد به‌صورت جداگانه بود، به‌طور معني‌داري درصد چشم‌زدگي بيشتري را نشان داد. پس مي‌توان نتيجه گرفت نه فقط مخلوط‌كردن تخمك‌هاي چندمولد در ساعت صفر سبب كاهش بازدهي نمي‌شود، بلكه گذشت زمان و قرارگرفتن تخمك‌ها و مايع سلوميك چندمولد در كنار يكديگر موجب مي‌شود تا حدي درصد چشم‌زدگي نيز بهبود يابد، پس به راحتي مي‌توان آنها را به‌صورت مخلوط نگهداري، حمل و نقل و لقاح داد. بنابر گزارش لهن اشتينر و ويس‌مان[۱] (۱۹۹۹)، pH مايع سلوميك احاطه‌كننده تخمك‌ها در ماهي قزل‌آلا پس از نگهداري درخارج از بدن ماهي افزايش يافت. در اين تحقيق نيز اين مورد براي هر سه تيمار مشاهده شد. احتمالا انتقال يا تراوش فعالانه يون OH^- از تخمك‌ها به درون مايع سلوميك مي‌تواند موجب تغيير pH شود (لهن اشتينر و ويس‌مان، ۱۹۹۹). افزايش pH به دليل بي‌ثبات شدن سيستم بافري (اسيدكربنيك – بي‌كربنات) موجود در مايع سلوميك در مدت زمان نگهداري در فضاي خارج محوطه شكمي مي‌تواند تشديد شود (بل و همكاران. ، ۱۹٦۸)[۲].

بابياک و دابروسكي[۳] (۲۰۰۳)نيز نشان دادند كه نگهداري كوتاه‌مدت تخمك‌هاي ماهي قزل‌آلا به‌طور معني‌داري تحت تأثير نژادهاي مختلف و تفاوت‌هاي فردي مولدين مورد استفاده قرار دارد، در حالي‌كه اين تفاوت‌ها در مورد اسپرم مشاهده نشد. البته اين تحقيق در كارگاه تكثير و پرورش آزادماهيان كلاردشت انجام پذيرفته است و عوامل مختلف از قبيل كيفيت آب، تغذيه و نژاد بر روي مولدين و كيفيت مواد تناسلي و در نتيجه درصد چشم‌زدگي وتفريخ بي‌تاثير نبوده و تمامي اعداد و ارقام و نتايج حاصل از آنها كاملا تحت تاثير عوامل مذكور بوده‌اند. پيشنهاد مي‌شود كه اين آزمايش را با تعداد مولدين بيشتر يا مولدين از كارگاه‌هاي مختلف كه ممكن است محصولات تناسلي آنها بر اثر تفاوت‌هاي ژنتيكي، متفاوت باشد، انجام داد و سپس نتيجه‌گيري كرد. به هرحال، دليل اين موضوع بر ما مشخص نيست و احتياج به آزمايش‌هاي بعدي باجزييات بيشتر دارد.

بر اساس اين مطالعه مشخص شد كه تخمك‌هاي لقاح‌نيافته ماهي قزل‌آلا را مي‌توان حداقل دو روز بدون كاهش درصد لقاح، در شرايط كارگاهي و بدون فناوري ويژه و با يك‌سري امكانات ساده نگهداري كرد.

۱- Jenkins & Tiersch

۲- Lahnsteiner & weismann

۳- Bell *et al*

۴- Babiak & Dabrowski

منابع

۱- بازیار، امیر عباس ۱۳۸۳. بررسي اثر افزودن سطوح مختلف آستاگزانتین در جیره غذایي مولدین ماده قزل آلاي رنگین کمان بر پارامترهاي مختلف تولید مثل پایان‌نامه کارشناسي‌ارشد دانشگاه تهران، ۱۲٤ ص.

2-Azuma, T. , H. Ohta, S. Oda, K. Muto, T. Yada & T.unuma, 2003. Changes in Fertility of rainbow trout eggs retained in coelom, *Fisheries science* 69:131-136.

3-Babiak, I. & K. Dabrowski, 2003. Refrigeration of rainbow trout gametes and embryos.*J. of.Exp.Zool*. 300A: 140-151.

4-Bell, G.H., J.N. Davidson & H.Scarborough, 1968. Text book of physiology and biochemistry, churchill living stone, London.

5-Coffman, M. & F.W.Goetz, 1998. Trout ovulatory proteins are partial responsible for the anti-proteolitic activity found in trout coelomic fluid. *Biol. Reprod*. 59: 497-502.

6-Craik, J.C.A., 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47:61-88

7-Gisbert. E & P.williot, 2002. Influence of storage duration of ovulated eggs prior to fertilization on the early ontogenesis of sterlet (*Acipenser ruthenus*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Interanal . Rev. Hydrobio*l. 87:605-612.

8-Goetz, F.W. & M.A. Coffman, 2000. Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media. *Aquaculture*, 184: 267-276.

9-Jenkins, J.A. & T.R. Tiersch, 1997. A preliminary bacteriological study of refrigerated channel catfish sperm. *J. World Aquac. Soc*. 28: 282-288.

10-Jensen, J. O.T. & D.f. Alderdice, 1984. Effect of temprature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Aquaculture*, 37:251-265.

11-Lahnsteiner, F., T. Weismann & R.A. Patzner, 1995. Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species:*Oncorhynchus mykiss, Salmo trutta f. lacustris, Salvelinus alpinus* and *Hucho hucho*. *Reprod. Nutr. Dev*, 35:465-474.

12-Lahnsteiner, F. & T.weismann, 1999. Changes in eggs of Brown trout, Rainbow trout and Grayling during short-term Storage. *North American Journal of Aquaculture*, 61:213-219.

13-Rothbard, S., I. Rubinshtein & E. Gelman, 1996. Storage of common carp, *Cyprinus carpio* L., eggs for short duration. *Aquaculture Research*, 27:175-181.

14-Springate, J.R.C., N.R. Bromage, J. A.K. Elliott & D.L. Hudson, 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* R.). *Aquaculture*, 43:313-322.

15-Stevens, R.E., 1966. Hormone-induced spawning of stripped bass for reservoir stocking. *Prog. Fish. Cult*, 28:19-28.

16-Suquet, M., O. chereguini, M.H. Omnes, I. Rasines, Y.Normant , I.P.Souto & L. Quemener, 1999. Effect of temprature, volume ova batches, and addition of a diluent, and antibiotic, oxygen and a protein inhibitor on short–term storage capacities of turbot, *Psetta maxima*, ova. *Aquat. Living, Resour*, 12(4): 239-246.

17-Zar,J.H., 1999. Biostatistical Analysis. Northen Illinois university. 732 p.p .

Storge of Unfertilized Eggs of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Ovarian Fluid Media

H.Niksirat[1] K.Sarvi Moghanloo[2] B.Mojazi Amiri[3] Azadeh Hatef[4] A.Pasha Zanoosi[5] M.Miar Naimi[6]

Abstract:

In order to determine viability of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) out of body cavity, eggs obtained from three females were stored in three different treatment media for three time periods of 0 , 24 , 48 hours at 10-11°C. In the first treatment medium, 15ml of unfertilized eggs from each female were stored separately on plates. For the second treatment medium, 5ml of eggs from each female were obtained, mixed together, and stored on plates.In the final treatment medium, eggs were obtained like in the first treatment but (100Iu/mL) penicilin and (0.1mg/mL) streptomycin sulfate were added to each plate. Maximum eyeing was observed in treatment medium containing antibiotics and at all time periods of storage. In all treatment media, at storage time periods of 24 and 48hrs, percent eyings was more than that in freshly fertilized control eggs. Although, there wasn't any significant difference observed between eyeing percent in control as to separate and mixed eggs, but in times periods of 24, 48 hrs, percent eyeing in mixed stored eggs was significantly more than that in separately stored eggs. According to results obtained in this experiment, unfertilized eggs of rainbow trout can be held in coelomic fluid out of body cavity for at least 48 hrs without need for any special technology.

Keywords: Rainbow trout, Unfertilized eggs, Storage, Ovarian fluid.

1-Graduate Student, of Fisheries, Fisheries and Environment Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran E-mail: h_niksirat@yahoo.com
2- Graduate Student Fisheries, Fisheries and Environment Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran
3-Associate Professor, Fisheries and Environmental Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran
4- Graduate Student, of Fisheries, Fisheries and Environment Department, Faculty of Natural Resources, University of Tehran
5-Expert, Center for Breeding and Cultivation of Salmonid Fish Kelardasht
6-Expert, Center for Breeding and Cultivation of Salmonid Fish Kelardasht