مقایسهٔ لقاح خشک و نیمه خشک تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با تأکید بر میزان ماندگاری لارو

امیدوار فرهادیان[۱] و محمدرضا احمدی[۲]

چکیده

میزان لقاح تخمک‌ها و درصد ماندگاری آنها در مراحل انکوباسیون تخم از مهم‌ترین مباحث مطرح در کارگاه‌های تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران است. به طوری که تکثیر کنندگان تمایل دارند لقاح تخمک‌ها با بهترین روش انجام گیرد تا بیشترین میزان ماندگاری حاصل شود. بنابراین، با بررسی روش‌های لقاح می‌توان بهترین شیوه آن را توصیه کرد. در این پژوهش تخمک‌های دو گروه مولد با سنین ۳-۵ سال و کمتر از ۳ سال، با دو نوع لقاح خشک و نیمه خشک، با چهار روش خشک با آب سالن تکثیر، خشک با محلول لقاح، نیمه خشک با آب سالن تکثیر و نیمه خشک با محلول لقاح، در چارچوب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت فاکتوریل ۲×۲×٤ و با دو تکرار بارور شدند.

تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد که میزان ماندگاری تخم و لارو در روش لقاح نیمه خشک بیشترین بوده و چنانچه محلول لقاح به کار رود، ماندگاری افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵). هم‌چنین، میزان ماندگاری تخم و لارو حاصله از مولدین ۳-۵ ساله بیش از مولدین کمتر از ۳ سال بود (P<۰/۰۵). از سوی دیگر، اثر روش لقاح بر طول دوره تکامل جنینی اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی اختلاف اثر سن مولدین بر طول دوره رشد جنینی تا آغاز تخم گشایی تخم‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی: *لقاح مصنوعی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، درجه-روز، میزان ماندگاری*

---

۱. مربی شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. دانشیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکدهٔ دام‌پزشکی، دانشگاه تهران

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

مقدمه

لقاح مصنوعی (Artificial insemination) در آزادماهیان تأثیر عمده‌ای در گسترش پرورش این ماهیان در سراسر دنیا داشته است، به طوری که پنج کشور ایتالیا، دانمارک، ایالات متحده، رومانی و ژاپن مهم‌ترین تولید کنندگان این ماهیان هستند (۱٦) آغاز لقاح مصنوعی در آزادماهیان به قرون وسطی برمی‌گردد، که یاکوبی در سال‌های ۱۷٦۳-۱۷٦۵ آن را بیان کرد، و به وسیلهٔ جهین و رمی در سال ۱۸٤۲ در فرانسه گسترش یافت (۷).

والس در سال ۱۹۳۹ گزارش می‌دهد که گرین تخم‌های چشم‌زده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را در سال ۱۸۷٤ از رودخانه مک‌کلود (McCloud) به هچری شخصی در کلدونیای نیویورک آورد و تخم گشایی کرد. نخستین تکثیر موفق این ماهی در سال ۱۹۳٦ با استفاده از ماهیان مولد سه ساله انجام شد (۱۵).

روش‌های مختلف لقاح مصنوعی شامل مرطوب (Wet method)، خشک (Dry method) و نیمه خشک (Semi-dry method) نتایج متفاوتی در میزان ماندگاری تخم و لارو دارند. روش مرطوب عبارت است از اختلاط اسپرم‌ها و تخمک‌ها با آب، که جای‌گزین روش خشک شده تا درصد لقاح افزایش یابد؛ یعنی نخست گامت‌ها با هم ترکیب می‌شوند، و سپس آب و یا محلول‌های لقاح به مجموعه افزوده می‌شود (۷). در روش لقاح نیمه خشک، مایع تخمدانی (Coelomic fluid) همراه تخمک‌ها بوده و در کار لقاح شرکت می‌کند. این مایع دارای ترکیب مشخصی است که در آزادماهیان ترکیب تقریباً یکسانی دارد (۱۳ و ۲۰).

مایع تخمدانی محیط مناسبی است که موجب تحرک اسپرماتوزوییدها شده (٦) و برای نگه‌داری تخمک‌ها نیز لازم است (۱٤). این ویژگی‌های مایع تخمدانی شرایط را برای لقاح پذیری بهبود می‌بخشد، و باعث افزایش میزان لقاح تخمک‌ها می‌شود (٦ و ۱۹). هم‌چنین، این مایع به علت کمی غلظت یون‌های پتاسیم و منگنز در آن، تحرک اسپرماتوزویید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را باعث می‌شود (۱۳ و ۲۸).

بیلارد در سال ۱۹۹۲ گفته است ترکیب مایع تخمدانی در مواردی که ماهیان مولد ماده دچار آب‌آوردگی (Hydropsy) هستند، ممکن است تأثیر منفی در کیفیت گامت‌های ماده بگذارند، و چون مقدار آن در ماهیان مولد یکسان نیست، پیشنهاد می‌کند که این مایع پیش از لقاح از تخمک‌ها جدا شود (۷). با این حال، باید گفت برای فعال کردن اسپرماتوزوییدها و اطمینان از فراهم آمدن محیط مناسب لقاح بین مجموعه تخمک‌ها، لازم است از مایع تخمدان و محلول‌های مناسب استفاده کرد تا درصد لقاح افزایش یابد (۷).

محلول‌های لقاح معمولاً با افزودن ترکیبات نمکی به آب مقطر تهیه می‌شوند، که نوع و مقدار ترکیبات نمکی، خاصیت اسمزی و pH این محلول‌ها تأثیری متفاوت در میزان لقاح تخمک‌ها دارد، به طوری که محلول‌های مختلفی برای لقاح در آزادماهیان گزارش شده است (٤، ۷، ۸، ۱۱، ۱٤ و ۲۵). محلول‌های نمکی با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار در pH=۹، شامل گلیسین با غلظت ۳۰ میلی‌مولار و تریس (Tris یا Acetate-EDTA-Buffer) با غلظت ۲۰ میلی‌مولار از جمله این محلول‌ها هستند (۲۵). برخی نیز افزودن یک میلی‌مولار کلسیم را در افزایش تحرک اسپرماتوزوییدها مؤثر دانسته‌اند (۸ و ۱۱)، هرچند که استفاده از محلول‌های دارای ٦/۸ میلی‌مولار پتاسیم در کار لقاح در آزادماهیان معمول است (۱٤).

محلول‌های لقاح علاوه بر افزایش درصد لقاح در ماهیان قزل‌آلا، فواید دیگری نیز دارند، که برای مقاصدی چون دست‌کاری با استفاده از پرتو فرابنفش و شوک‌های حرارتی، برای القای ژینوژنز (Gynogenesis) وتریپلوییدی و غیره به کار می‌روند. هم‌چنین، این محلول‌ها مانع از انتقال بیماری‌ها هنگام عملیات لقاح می‌شوند (۷، ۱۰ و ۲۵).

هدف از این پژوهش مقایسهٔ تأثیر محلول لقاح مورد استفاده در بیشتر کارگاه‌های تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران (شامل ٦ گرم کلرید سدیم، ٤/۵ گرم اوره و ۰/۲ گرم کلرید کلسیم در یک لیتر آب مقطر)، با آب سالن انکوباسیون در دو نوع لقاح خشک و نیمه خشک، با استفاده از تخمک‌های دو

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

دسته مولد است، تا بهترین عملکرد لقاح با تأکید بر درصد ماندگاری لاروهای حاصله، و نیز درجه-روز مراحل مختلف تکامل تخم و لارو در طول دوره آزمایش مشخص شود.

مواد و روش‌ها

دو نوع لقاح خشک و نیمه خشک، با چهار روش، یعنی خشک و نیمه خشک با آب سالن تکثیر، و خشک و نیمه خشک با محلول لقاح، با به کارگیری مواد تناسلی به دست آمده از دو گروه مولد قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گردید. ویژگی‌های مولدین و شمار آنها در جدول ۱ آمده است.

پس از اطمینان یافتن از رسیدگی جنسی، مولدین به سالن انکوباسیون برده شده، پس از بیهوش کردن، از آنها تخم کشی گردید. سپس هر مجموعه از تخمک‌های به دست آمده به طور تصادفی با چهار روش خشک با آب سالن تکثیر (F_1)، خشک با محلول لقاح (F_2)، نیمه خشک با آب سالن تکثیر (F_3) و نیمه خشک با محلول لقاح (F_4) بارور شد. محلول لقاح مورد استفاده شامل ٦ گرم کلرورسدیم، ٤/٥ گرم اوره و ۰/۲ گرم کلرید کلسیم بود، که همگی در یک لیتر آب مقطر حل گردید. تخم‌های تازه لقاح یافته در تراکم هفت هزار به ازای هر سینی تخم، در انکوباتورهای نوع جعبه‌ای قرار داده شد.

اندازه‌گیری قطر تخمک‌ها با استفاده از میکرومتر مستقر روی استریوبینوکولر انجام شد. قطر تخمک‌ها در مولدین ۳-۵ سال (B_1) و کمتر از ۳ سال (B_2) به ترتیب ۱۳٤±۵۷۷۲ و ۱۰۵±٤۰۲۷ میکرون بود. هم‌چنین، وزن تخم‌های مولدین ۳-۵ سال و کمتر از ۳ سال به ترتیب ۲۲±۹۲ و ۱۰±٦۲ میلی‌گرم به دست آمد.

میزان تلفات لقاح تا آغاز و پایان چشم زدن، آغاز و پایان تخم گشایی و آغاز و پایان شنای آزاد لاروی جمع آوری و ثبت شد، و از روی آنها میزان ماندگاری در هر مرحله محاسبه گردید. کار ضدعفونی تخم‌ها به طور روزانه و هر روز به مدت یک ساعت، با محلول مالاشیت گرین با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، از هنگام آغاز انکوباسیون تخم‌ها تا تخم گشایی انجام شد.

توزین لاروهای مرطوب و خشک با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم صورت گرفت، و وزن خشک لاروهای کیسه زرده‌دار در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت در آون الکتریکی به دست آمد.

در طول آزمایش، سنجش دمای آب با دماسنج جیوه‌ای با دقت ۰/۱ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول به روش وینکلر و اندازه‌گیری pH به روش الکتریکی صورت گرفت. میانگین پارامترهای فوق به ترتیب ۰/۱±۱۱/۲ درجه سانتی‌گراد، ۰/۹۲±۷/۵۵ میلی‌گرم و مقدار pH برابر ۰/۱٤±۷/۷۵ بود، که در دورهٔ آزمایش کنترل گردید. به منظور محاسبه درجه-روز (Degree-day (sum of heat)) در هر مرحله از تکامل تخم و لارو، مدت زمان سپری شده برای هر مرحله در میانگین درجه حرارت آب ضرب شد.

پژوهش انجام شده به صورت فاکتوریل ۲×۲×٤ در چارچوب طرح بلوک کامل تصادفی با دو تکرار انجام، و داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS در برنامه ANOVA، برای هر مرحله از ماندگاری تخم و لارو، و نیز درجه-روز هر مرحله، تجزیه و تحلیل آماری شد (۲۷). مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن (۱۲) صورت گرفت.

نتایج

تجزیه آماری و میانگین‌های مربوط به میزان ماندگاری مراحل لقاح تا آغاز چشم‌زدگی، پایان چشم‌زدگی، آغاز تخم گشایی، پایان تخم گشایی، آغاز شنای آزاد و پایان شنای آزاد در جداول ۲ و ۳ آمده است. نتایج نشان داد که روش لقاح بر میزان ماندگاری در مراحل لقاح تا آغاز شنای آزاد لاروی اثر معنی‌داری ندارد، در حالی که از لقاح تا پایان شنای آزاد لاروی اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین، سن مولدین بر میزان ماندگاری در مراحل مختلف تأثیری معنی‌دار دارد ($P<۰/۰۵$).

با توجه به جدول ۳، اثر متقابل روش لقاح و سن مولدین در مولدین دستهٔ B_1 بر میزان ماندگاری تخم از لقاح تا آغاز

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

جدول ۱. ویژگی‌ها و شمار مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان آزمایشی

گروه مولدین	تعداد	طول چنگالی (cm)	ارتفاع بدن (cm)	وزن بدن (gr)
۳-۵ ساله (B_1)	۱۷	۵۸/۵±۴/۸۲	۱۴/۸±۲/۲۷	۲۴۷۳/۵±۵۶۸/۰
کمتر از ۳ سال (B_2)	۲۲	۴۲/۶±۳/۴۷	۱۰/۶±۱/۰۴	۱۰۸۶/۳±۱۸۰/۳

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر روش لقاح و سن مولدین بر میزان ماندگاری تخم و لارو در طول آزمایش

منابع تنوع	درجه آزادی	لقاح تا آغاز چشم‌زدگی (٪)	لقاح تا پایان چشم‌زدگی (٪)	لقاح تا آغاز تخم گشایی (٪)	لقاح تا پایان تخم گشایی (٪)	لقاح تا آغاز شنای لاروی (٪)	لقاح تا پایان شنای لاروی (٪)
روش لقاح	۳	ns	ns	ns	ns	ns	*
سن مولدین	۱	*	*	*	*	*	*
سن مولد × روش لقاح	۳	*	*	*	*	*	*

ns : غیر معنی‌دار *: P<۰/۰۵

جدول ۳. اثر روش لقاح و سن مولدین بر میزان ماندگاری تخم و لارو در طول آزمایش

اثر	لقاح تا آغاز جشم‌زدگی (٪)	لقاح تا پایان چشم‌زدگی (٪)	لقاح تا نخستین تخم گشایی (٪)	لقاح تا پایان تخم گشایی (٪)	لقاح تا آغاز شنای لاروی (٪)	لقاح تا پایان شنای لاروی (٪)
آثار اصلی						
روش لقاح	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۲)
F_1	۸۷/۷	۷۸/۹	۷۲/۲	۶۲/۵	۵۸/۴	۵۵/۹ [b]
F_2	۸۹/۶	۸۴/۰	۷۸/۰	۷۲/۱	۶۹/۶	۶۷/۱ [ab]
F_3	۸۵/۹	۷۹/۸	۷۵/۶	۷۰/۲	۶۸/۴	۶۶/۴ [ab]
F_4	۹۳/۰	۸۸/۰	۸۴/۱	۷۵/۴	۷۲/۹	۷۱/۹ [a]
سن مولد	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)
B_1	۹۴/۰ [a]	۸۷/۴ [a]	۸۳/۴ [a]	۷۵/۶ [a]	۷۲/۸ [a]	۷۱/۰ [a]
B_2	۸۴/۱ [b]	۷۸/۰ [b]	۷۱/۶ [b]	۶۴/۶ [b]	۶۱/۹ [b]	۵۹/۶ [b]
آثار متقابل	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)	(۲)
$F_1 \times B_1$	۹۴/۴ [a]	۸۵/۱ [abc]	۸۱/۶ [ab]	۷۵/۴ [a]	۷۱/۵ [ab]	۶۸/۸ [ab]
$F_2 \times B_1$	۹۴/۱ [a]	۸۷/۳ [ab]	۸۲/۷ [ab]	۷۵/۸ [a]	۷۳/۱ [a]	۷۰/۸ [a]
$F_3 \times B_1$	۹۰/۹ [ab]	۸۳/۳ [bc]	۷۹/۸ [abc]	۷۵/۶ [a]	۷۴/۳ [a]	۷۲/۴ [a]
$F_4 \times B_1$	۹۶/۱ [a]	۹۳/۸ [a]	۸۹/۵ [a]	۷۵/۶ [a]	۷۲/۴ [a]	۷۲/۰ [a]
$F_1 \times B_2$	۸۰/۹ [a]	۷۲/۷ [d]	۶۲/۹ [d]	۴۹/۷ [c]	۴۵/۳ [c]	۴۳/۰ [c]
$F_2 \times B_2$	۸۵/۱ [ab]	۸۰/۷ [bcd]	۷۳/۳ [bc]	۶۸/۵ [ab]	۶۶/۲ [ab]	۶۳/۵ [ab]
$F_3 \times B_2$	۸۰/۹ [b]	۷۶/۳ [cd]	۷۱/۵ [cd]	۶۴/۹ [b]	۶۲/۵ [b]	۶۰/۳ [b]
$F_4 \times B_2$	۸۰/۶ [ab]	۸۲/۲ [bcd]	۷۸/۸ [bc]	۷۵/۲ [a]	۷۳/۵ [a]	۷۱/۸ [a]

۱. غیر معنی‌دار

۲. میانگین‌های هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، با آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

چشم‌زدگی معنی‌دار نیست، ولی در مولدین دستهٔ B_2 معنی‌دار بوده است، به طوری که میزان ماندگاری تخم‌های حاصل از مولدین دستهٔ B_2، که همراه با آب سالن انکوباسیون لقاح خشک داده شده بود، در این مرحله اختلاف معنی‌داری با دیگر روش‌ها داشته، و میزان آن کمترین است (P<۰/۰۵).

در مورد میزان ماندگاری از لقاح تا پایان چشم‌زدگی مولدین دستهٔ B_1، اختلاف معنی‌داری در لقاح نیمه خشک با محیط محلول لقاح و همین روش با آب سالن وجود دارد، به طوری که میزان آن با استفاده از محلول لقاح بیشترین است (P<۰/۰۵). هم‌چنین، در مولدین دسته B_2، در مقایسه با مولدین دسته B_1، اختلاف معنی‌دار در این مرحله وجود داشته، به طوری که در لقاح خشک با آب سالن کمترین ماندگاری دیده می‌شود (P<۰/۰۵).

در مورد میزان ماندگاری در مرحله لقاح تا آغاز تخم گشایی در مولدین B_1 ، اختلاف معنی‌داری بین روش‌های لقاح نبود، ولی در مقایسه با مولدین دسته B_2، روش‌های لقاح نیمه خشک با محلول لقاح و خشک با آب سالن اختلاف معنی‌دار و میزان ماندگاری بیشترین بود (P<۰/۰۵).

از نظر میزان ماندگاری از لقاح تا پایان تخم گشایی در مولدین B_1، اختلاف معنی‌دار وجود نداشت، ولی در مقایسه با مولدین B_2، اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). لقاح نیمه خشک با محلول لقاح، در هر دو دسته B_1 و B_2 اختلاف معنی‌دار ایجاد نکرد، در حالی که از نظر لقاح خشک با استفاده از آب سالن در مولدین B_1 میزان ماندگاری کمترین بود (P<۰/۰۵).

در مورد میزان ماندگاری از لقاح تا آغاز شنای آزاد لاروی، روش لقاح در مولدین گروه B_1 اختلاف معنی‌داری را موجب نشد، ولی در مولدین گروه B_2 اختلاف معنی‌دار بود، به طوری که در لقاح خشک با آب سالن کمترین میزان ماندگاری وجود داشت (P<۰/۰۵). از نظر لقاح خشک و نیمه خشک با محلول لقاح بین دو دستهٔ مولد اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

در زمینهٔ میزان ماندگاری از لقاح تا پایان شنای آزاد لاروی، روش لقاح در مولدین گروه B_1 تأثیری نداشت، ولی در مقایسه با مولدین دسته B_2 اختلاف معنی‌دار بوده و در لقاح خشک با آب سالن اختلاف معنی‌دار و کمترین بود (P<۰/۰۵).

در مجموع، با توجه به تجزیه و تحلیل‌های انجام شده، چنین به نظر می‌رسد که روش لقاح در مولدین دستهٔ B_1 در میزان ماندگاری تخم و لارو حاصله معنی‌دار نیست، و ماندگاری مستقل از روش لقاح است. در حالی که در مولدین گروه B_2 روش لقاح تأثیر معنی‌داری در ماندگاری دارد، و به طور کلی می‌توان گفت بدون در نظر گرفتن تأثیر سن مولد، لقاح نیمه خشک با استفاده از محلول لقاح بهترین روش است (P<۰/۰۵).

تجزیه آماری و میانگین‌های مربوط به درجه-روز مراحل تکاملی تخم و لارو، و نیز وزن مرطوب و خشک لاروهای حاصل در جداول ٤ و ٥ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که روش لقاح تأثیر معنی‌داری در درجه-روز ندارد، ولی در میان مولدین گروه B_1 و B_2 از زمان لقاح تا آغاز تخم گشایی اختلاف معنی‌دار وجود دارد، و در مولدین B_1 درجه-روز بیشترین است (P<۰/۰۵). در مورد وزن لاروها نیز سن مولدین بر وزن لاروها اثر معنی‌داری داشته و در مولدین گروه B_1 بیشترین است (P<۰/۰۵).

در مجموع، باید گفت درجه-روز و وزن لاروها مستقل از روش لقاح است، در حالی که سن مولدین بر میزان درجه-روز و وزن لاروها تأثیری معنی‌دار می‌گذارد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش در مورد تأثیر روش لقاح بر میزان ماندگاری تخم و لارو تا مرحله شنای آزاد لاروی گویای زیاد بودن میزان ماندگاری در لقاح نیمه خشک با استفاده از محلول لقاح است. تأثیر روش لقاح بر تخمک‌های مولدین کمتر از ۳ سال (B_2) معنی‌دارتر از اثر این روش بر تخمک مولدین ۳-۵ ساله (B_1) است (P<۰/۰۵). دلایل ماندگاری بیشتر را می‌توان به اندازه تخمک‌ها، حضور مایع تخمدانی و محلول لقاح مناسب نسبت داد. تأثیر عوامل گفته شده در افزایش ماندگاری و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

جدول ٤. تجزیه واریانس اثر روش لقاح و سن مولدین بر میزان درجه-روز و وزن لارو حاصل در طول آزمایش

منابع تنوع	درجه آزادی	لقاح تا آغاز چشم‌زدگی	لقاح تا پایان چشم‌زدگی	لقاح تا آغاز تخم گشایی	لقاح تا پایان تخم گشایی	لقاح تا آغاز شنای لاروی	لقاح تا پایان شنای لاروی	وزن مرطوب لارو (mg)	وزن خشک لارو (mg)
روش لقاح	۳	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
سن مولدین	۱	*	*	*	ns	ns	ns	*	*
سن مولد × روش لقاح	۳	*	*	*	ns	ns	ns	*	*

ns : غیر معنی‌دار *: P<۰/۰۵

جدول ٥. اثر روش لقاح و سن مولدین بر میزان درجه-روز مراحل تکاملی تخم و لارو و وزن لاروها در طول دورهٔ آزمایش

اثر	لقاح تا آغاز چشم‌زدگی	لقاح تا پایان چشم‌زدگی	لقاح تا آغاز تخم گشایی	لقاح تا پایان تخم گشایی	لقاح تا آغاز شنای لاروی	لقاح تا پایان شنای لاروی	وزن مرطوب لارو (mg)	وزن خشک لارو (mg)
آثار اصلی								
روش لقاح	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)	(۱)
F_1	۱٤۹/۸	۱۹٤/۲	۲۸۸/٦	۳۸۸/٥	٤٦٦/۲	٦۱۰/٥	۸۷/۳	۲۲/۰
F_2	۱٤۹/۸	۱۹٤/۲	۲۸۸/٦	۳۸۸/۰	٤٦٥/۷	٦۱۰/۰	۹۱/۷	۲۰/٦
F_3	۱٤۹/۸	۱۹٤/۲	۲۸۳/۰	۳۷۷/٤	٤٤۹/٥	٦۲۷/۲	۹۲/۰	۲۲/۱
F_4	۱٤۹/۸	۱۹٤/۲	۲۷۷/٥	۳۹۹/٦	٤۷۷/۳	٦٦۰/٥	۹۲/۲	۲٥/۳
سن مولد	(۲)	(۲)	(۲)	(۱)	(۱)	(۱)	(۲)	(۲)
B_1	۱٥٥/٤ a	۱۹۹/۸ a	۲۹٤/۱ a	۳۹۱/۲	٤٦۰/٦	٦۲٤/۳	۱۱۳/۸ a	۲۹/۲ a
B_2	۱٤٤/۳ b	۱۸۸/۷ b	۲۷٤/۷ b	۳۸٥/٤	٤٦۸/۷	٦۲۹/۷	٦۷/۸ b	۱٥/۸
آثار متقابل	(۲)	(۲)	(۲)	(۱)	(۱)	(۱)	(۲)	(۲)
$F_1 \times B_1$	۱٥٥/٤ a	۱۹۹/۸ a	۲۹۹/۷ a	۳۸۸/٥	٤٦٦/۲	٦۲۱/٦	۱۱۷/٥ a	۳۰/۱ ab
$F_2 \times B_1$	۱٥٥/٤ a	۱۹۹/۸ a	۲۹۹/۷ a	۳۸۸/٥	٤٦٦/۲	٦۲۱/٦	۱۱٥/٦ a	۲۷/۲ b
$F_3 \times B_1$	۱٥٥/٤ a	۱۹۹/۸ a	۲۷۷/٥ ab	۳۸۸/٥	٤٤٤/۰	٦۱۰/٥	۱۱۲/٤ a	۲۷/۲ b
$F_4 \times B_1$	۱٥٥/٤ a	۱۹۹/۸ a	۲۹۹/۷ a	۳۹۹/٦	٤٦٦/۲	٦٤۳/۸	۱۰۹/۹ a	۳۲/٤ a
$F_1 \times B_2$	۱٤٤/۳ b	۱۸۸/۷ b	۲۷۷/٥ b	۳۸۸/٥	٤٦٦/۲	٥۹۹/٤	٥۷/۲ c	۱۳/۹ d
$F_2 \times B_2$	۱٤٤/۳ b	۱۸۸/۷ b	۲۷۷/٥ b	۳۸۷/٥	٤٦٥/۲	٥۹۸/٤	٦۷/۷ bc	۱٤/۱ d
$F_3 \times B_2$	۱٤٤/۳ b	۱۸۸/۷ b	۲۷۷/٥ b	۳٦٦/۳	٤٥٥/۱	٦٤۳/۹	۷٤/٦ b	۱۷/۰ cd
$F_4 \times B_2$	۱٤٤/۳ b	۱۸۸/۷ b	۲٦٦/٤ b	۳۹۹/٦	٤۸۸/٤	٦۷۷/۲	۷۱/٦ b	۱۸/۲ c

۱. غیر معنی‌دار

۲. میانگین‌های هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، با آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

عملکرد بهتر را پژوهندگان دیگر نیز گزارش کرده‌اند (۲، ۱۷، ۲۱، ۲۲ و ۲۳).

تفاوت چشم‌گیر در میزان ماندگاری تخم و لارو در مولدین کمتر از سه سال در روش‌های مختلف لقاح را می‌توان چنین توجیه کرد که پوسته تخمک این گروه از مولدین چندان سخت نبوده و چنانچه به طور خشک لقاح داده شوند به آسانی پوسته آسیب می‌بینند (۲۵)، و گلوبولین (Glubolin) حاصل از پاره شدن پوسته روی تخمک‌ها رسوب می‌کند و دریچه میکروپیل

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

را می‌بندد. هم‌چنین، ممکن است باعث به هم چسبندگی اسپرم‌ها بشود (۱۸).

از سوی دیگر، گروبلر و همکاران (۱۷) گزارش دادند که تکنیک لقاح نیمه خشک و مرطوب برای تخمک‌هایی که اندازهٔ آنها کوچک‌تر است مؤثرتر بوده، و چنانچه تخمک‌ها همراه با مایع تخمدانی در محلول بافری از اسید بوریک و نمک بوراکس لقاح یابند، میزان لقاح، در مقایسه با روش استفاده از مایع تخمدانی و آب معمولی، بسیار بهبود پیدا خواهد کرد.

کاهش میزان ماندگاری در لقاح خشک را می‌توان به شرکت نکردن مایع تخمدانی در فرایند لقاح نسبت داد. مایع تخمدانی که نقش مهمی در لقاح دارد (٦، ۸، ١٤، ۲۵ و ۲۸)، محیط سیال مناسبی برای تحرک اسپرم‌ها فراهم می‌کند (٦). این مایع به علت کمی غلظت یون‌های پتاسیم و منگنز (۱۳ و ۲۸)، و از سویی به علت دارا بودن ترکیبات گلوکز، فروکتوز، لاکتات و کولین و خاصیت یونی مناسب، نقش مهمی در لقاح و نهایتاً میزان ماندگاری تخم و لارو حاصل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد (۲۰).

افزایش میزان ماندگاری در تخمک‌های بارور شده در محیطی با حضور محلول لقاح را می‌توان به ویژگی‌های یون‌ها و الکترولیت‌های موجود در محلول لقاح نسبت داد، که تأثیر خود را از طریق تغییر در فشار اسمزی، بر میزان و زمان تحرک اسپرم‌ها می‌گذارد. این در حالی است که بیلارد (۷) تأثیر محلول‌های دارای کلرید سدیم، کلرید کلسیم و کلرید پتاسیم را بر میزان و زمان تحرک اسپرم‌ها بررسی کرده و گزارش می‌دهد که در صورت استفاده از محلول کلرید پتاسیم با غلظت ٤٠ میلی‌مولار، تحرک اسپرم‌ها به ده درصد و زمان تحرک به پنج ثانیه کاهش می‌یابد، ولی در صورت استفاده از محلول‌های ١-٥ میلی‌مولار کلرید کلسیم و ١٢٥ میلی‌مولار کلرید سدیم، تحرک اسپرم‌ها به ٦٠-٨٠ درصد، و زمان تحرک آنها به ٢٠ ثانیه افزایش می‌یابد، که شرایط مطلوبی در کار لقاح است.

بیلارد و کوسن (۸) و کوسن و همکاران (۱۱) نیز افزودن یک میلی‌مولار کلسیم را عاملی مهم در افزایش تحرک اسپرم‌ها معرفی کردند. محلول لقاح مورد استفاده در پژوهش حاضر، که دارای ۰/۲ میلی‌مولار کلرید کلسیم و ٦ میلی‌مولار کلرید سدیم بود، تا حدود زیادی شبیه محلول‌های به کار رفته در پژوهش‌های دیگران (۷، ۸، ۱۱ و ۲۳) بود.

افزون بر تأثیر یون‌های موجود در محلول‌های لقاح، عوامل دیگری همچون دما و pH محلول لقاح نیز در تحرک اسپرم و میزان لقاح گزارش شده است (۷، ۸، ۱۱ و ٢٦).

کاهش میزان ماندگاری در تخمک‌های لقاح یافته در آب شیرین سالن تکثیر را می‌توان به متورم و پاره شدن غشای پلاسمایی اسپرم نسبت داد (۵ و ۷). از آن جا که کیفیت اسپرم‌ها بر اساس میزان تحرک آنهاست (٢٤)، انجام عملیات لقاح با استفاده از آب شیرین موجب کاهش تحرک اسپرم‌ها شده و میزان تخمک‌های غیر بارور افزایش یافته و ماندگاری را در مراحل بعدی کاهش می‌دهد (۵، ۷ و ۱۹).

پارامترهای دیگری مانند عوامل قارچی و باکتریایی نیز بر میزان لقاح مؤثرند. در دمای زیاد، به رغم استفاده از مواد ضدعفونی کننده، سایرولگینا که از مهم‌ترین عوامل ایجاد کنندهٔ تلفات در مراحل بعد از لقاح است، افزایش می‌یابد. در هنگام آب کشیدن و سخت شدن (Water hardening) تخم‌ها نیز باکتری‌ها و قارچ‌ها به سطح تخمک‌ها چسبیده و به درون آنها کشیده می‌شوند، ولی چنانچه از محلول‌های لقاح مناسب استفاده شود تا حدودی از تماس قارچ‌ها و باکتری‌های زیان‌آور جلوگیری می‌شود، که می‌تواند بر میزان ماندگاری تأثیر داشته باشد. بارکر و همکاران (۳) نیز در مورد ارتباط احتمالی باکتری‌ها در مرگ و میر تخم‌های آزادماهیان در دورهٔ انکوباسیون گزارش می‌دهد که از مرحلهٔ تخم سبز تا ۲۸ روز پس از لقاح، باکتری‌ها در تماس با تخم‌ها قرار می‌گیرند. پس لازم است که آب مورد استفاده در آب‌کشی تخم‌ها سالم و بهداشتی باشد.

از سوی دیگر، برومیج و کوماراناتانگا (۹) سن ماهیان مولد را عامل مهمی در میزان ماندگاری تا مرحله چشم‌زدگی تخم معرفی کرده و گفته‌اند در مولدین ٤ و ۵ ساله میزان ماندگاری

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

به مراتب بیشتر از مولدین ۲ و ۳ ساله است، که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. البته عده‌ای نیز تلفات معنی‌دار در تخم‌ها و لاروهای کیسه زرده‌دار را ناشی از همخونی برشمرده‌اند (به نقل از ١٦).

نتایج آزمایش هم‌چنین نشان داد که روش لقاح بر طول دورهٔ انکوباسیون تأثیر معنی‌داری ندارد، ولی تأثیر سن مولدین بر طول دوره تا آغاز تخم گشایی لارو معنی‌دار است (P<۰/۰۵). یکی از مهم‌ترین دلایل این تفاوت را می‌توان در اندازه تخم‌ها و نسبت سطح به حجم تخم‌های مولد دانست. این عامل در مولدین ۳-۵ ساله باعث طولانی‌تر شدن دورهٔ انکوباسیون تخم‌ها می‌شود.

بیلارد (۷) زمان مورد نیاز برای تخم گشایی و نخستین تغذیه لاروی را به ترتیب ۳۰۰ و ۵۰۰ درجه-روز اعلام کرد. کوچه باغیان (۲) زمان لازم از لقاح تا چشم‌زدگی را ۱۷۷-۲۰۱ درجه-روز و برای تخم گشایی ۲٦۳-۳۰۹ درجه-روز گزارش داد. آذری تاکامی و همکاران (۱) مقدار درجه-روز را برای مراحل لقاح تا چشم‌زدگی، آغاز تخم گشایی، پایان تخم گشایی و شنای آزاد لاروی به ترتیب ۱۷۰/۱، ۲۹۲/٤، ۳٦۷/۹ و ٤۰۷/۷ به دست آوردند.

تفاوت‌های کم و بیش در درجه-روز به دست آمده در پژوهش‌های قبلی را می‌توان تا حدودی به تفاوت‌های ژنتیکی گله‌های مولد و فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در کارگاه‌های تکثیر ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت داد. هم‌چنین، از آن جا که میزان مراحل چشم‌زدگی، تخم گشایی و شنای آزاد لاروی یکی پس از دیگری به طور نسبی انجام می‌شود، پژوهندگان زمان دقیق آغاز و پایان مراحل را خیلی دقیق اعلام نکرده‌اند، و این مسئله باعث ایجاد تفاوت‌هایی در نتایج شده است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاران محترم در مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام و آبزیان استان چهارمحال و بختیاری به لحاظ همکاری‌های ارزنده سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. آذری تاکامی، ق.، ف. امینی و م. ر. کلباسی. ۱۳۷٦. القاء تریپلوئیدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وسیله شوک‌های گرمایی. مجله دامپزشکی ۵۲(۲): ۵۱-٦۱.

۲. کوچه باغیان، م. ۱۳٦٤. چگونگی تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کارگاه جاجرود. پایان‌نامه دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.

3. Barker, G. A., S. N. Smith and N. R. Bromage. 1991. Commensal bacteria and their possible relationship to the mortality of incubating salmonid eggs. J. Fish Dis. 14(2): 199-210.
4. Billard, R. 1977. A new technique of artificial insemination for salmonids using a sperm diluent. Fisheries 2: 24-25.
5. Billard, R. 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Aquaculture 14(3): 187-198.
6. Billard, R. 1983. Effects of coelomic, seminal fluids and various saline diluents on the fertilizing ability in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Reprod. Fertil. 68: 77-84.
7. Billard, R. 1992. Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. Aquaculture 100: 263-298.
8. Billard, R. and M. P. Cosson. 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo mykiss*, effect of pH and temperature. Reproduction in Fish. Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics. INRA. Paris, Colloq. INRA, No. 44: 161-176.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]

9. Bromage, N. R. and P. R. C. Cumaranatunga. 1988. Egg production in the rainbow trout. PP. 63-138. *In*: R. J. Roberts and J. F. Muir (Eds.), Recent Advances in Aquaculture. Vol. 3, Croom Helm, London.
10. Bullock, G. L., H. M. Stuckey and D. Mulcahy. 1978. Corynebacterial kidney disease: egg transmission following iodophore disinfection. Fish Health News 7: 51-52.
11. Cosson, M. P., R. Billard and L. Letellier. 1989. Rise of internal Ca^{+2} accompaines the initiation of trout sperm motility. Cell Motil. Cytoskeleton 14: 424-434.
12. Duncan, D. B. 1995. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11: 1-42.
13. Erdahl, A. W. 1987. Factors affecting storage and fertilization of fish gametes. Biol. Sci. Eng. 47: 3-866.
14. Erdahl, A. W., J. G. Cloud and E. F. Graham. 1987. Fertility of rainbow trout, *Salmo gairdneri* gametes: gamete viability in artificial media. Aquaculture 60: 323-332.
15. Gall, G. A. E. and P. A. Crandell. 1992. The rainbow trout. Aquaculture 100: 1-10.
16. Gjedrem, T. 1992. Breeding plans for rainbow trout. Aquaculture 100: 73-83.
17. Grobler, E., J. S. Gert and H. J. Van Vuren Johan. 1992. Improved fertilization success of rainbow trout by means of sperm diluent. Aquaculture 100: 321-329.
18. Hamano, S. 1961. On the spermatozoa agglutinating agents of the dog salmon and the rainbow trout eggs. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 27: 225-231.
19. Holtz, W., J. Stoss and S. Buyukhatipoglu. 1977. Observation on the activation of trout spermatozoa with coelomic fluid, water from and uncontaminated stream and distilled water. Aquaculture 78: 82-88.
20. Lahnsteiner, F., T. Weismann and R. A. Patzner. 1995. Composition of ovarian fluid in 4 salmonid species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Salvelinus alpinus* and *Hucho hucho*. Reprod. Nutri. Develop. 35(5): 465-474.
21. Lee, C. S., C. S. Tamaru, C. D. Delley, A. Moriwaka and G. T. Garret. 1992. The effect of salinity on the induction of spawning and fertilization in the stripped mullet, *Mugil cephalus*. Aquaculture 102: 289-296.
22. Morisawa, M., K. Suzuki and S. Morisawa. 1983. Effects of potassium and osmolality on spermatozoan motility of salmonid fishes. J. Exp. Biol. 107: 105-113.
23. Munkittrick, K. R. and R. D. Moccia. 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout, *Salmo gairdneri* semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, volume and seminal plasma constituents. Aquaculture 64: 147-156.
24. Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. PP. 222-265. *In*: W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (Eds.), Fish Physiology IXA. Academic Press, New York.
25. Nomura, M. 1964. Studies on reproduction of rainbow trout, *Salmo gairdneri*; with special reference to egg taking. VI. The activities of spermatozoa in different diluents and preservation of semen. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 30: 723-733.
26. Pankhurst, N. W., G. J. Purser, G. Van Der Kraak, P. M. Thomas, G. N. R. Forteath and G. Vander. 1996. Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and *In vitro* ovarian steroidogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 146: 277-290.
27. SAS. 1993. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
28. Satia, B. P L., L. Donaldson, L. S. Smith and J. N. Nightingale. 1974. Composition of ovarian fluid and eggs of the University of Washington strain of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish. Res. Boad Can. 31: 1796-1799.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1382.7.3.20.3]