View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

تأثیر انتقال کوتاه مدت گامتهای خنک شده ماهی قزل آلای رنگین کمان*Oncorhynchus mykiss* در کیسه های حاوی اکسیژن مرطوب بر افزایش کارایی لقاح

علی طاهری، محمد رضا کلباسی* و عبدالمحمد عابدیان

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس
*نویسنده مسئول مکاتبات : Kalbassi_m@modares.ac.ir

چکیده:

به منظور حفظ قدرت لقاح گامت‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان در شرایط انتقال کوتاه مدت، تأثیر استفاده از اکسیژن مرطوب بر روی تخمک و اسپرم خنک شده این ماهی در دمای ۲-۱ درجه سانتی گراد بررسی گردید. بدین منظور اسپرم و تخمک ماهی به صورت مجزا درون کیسه‌های پلی اتیلنی زیپ دار (۲۰×۱۸ سانتی متر) جمع آوری شد و به هر کیسه مقادیر صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ اکسیژن مرطوب در حجم باقی مانده کیسه تزریق گردید. ده ساعت پس از انتقال گامت‌ها از کارگاه شهید باهنر کلاردشت به دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس درون جعبه‌های یونولیتی حاوی کیسه های ترموژل منجمد، اسپرم و تخمک در قالب ۲۵ تیمار (با ۳ تکرار) لقاح داده شد و جهت تفریخ درون یک انکوباتور آزمایشگاهی ویژه تفریخ تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان با سیستم بازچرخش آب (دمای ده درجه سانتی گراد) قرار گرفت. در طی این مدت میزان لقاح، چشم زدگی و تفریخ هر یک از تیمارها به عنوان شاخص تعیین میزان بهینه اکسیژن مصرفی در مورد انتقال گامت‌ها مورد محاسبه قرار گرفت. نتایج این بررسی مبین آن است که لقاح تخمک حاوی ۱۰۰٪ اکسیژن و اسپرم حاوی ۷۵٪ اکسیژن منجر به اخذ بهترین نتایج شامل۱/۲ ±۹۵/۰۱ درصد لقاح و ۷۸±۴/۲۱ درصد چشم زدگی و بالاخره ۳/۸۸ ± ۷۵ درصد تفریخ لارو گردید که در مقایسه با گروه شاهد (صفر درصد اکسیژن) واجد اختلاف معنی دار می‌باشد ($p<0/05$). از آنجا که در برنامه-های تکثیر و اصلاح نژاد آبزیان نقل و انتقال گامت‌ها بسیار سهل‌تر و کم هزینه‌تر از انتقال مولدین می‌باشد لذا روش مذکور به عنوان روشی ساده در نقل و انتقال کوتاه مدت گامت ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اکسیژن، ماهی قزل آلای رنگین کمان، کیسه پلی اتیلنی، لقاح، چشم زدگی، تفریخ

۱. مقدمه

نگهداری کوتاه مدت گامت‌های آزاد ماهیان در محیط خنک برای چند ساعت تا چند هفته در بیشتر هچری‌ها برای غلبه بر عدم همزمانی در رسیدگی جنسی مولدین به کار می رود. در شرایط دمایی بهینه، منی آزاد ماهیان می‌تواند برای چند روز تا ۵ هفته نگه‌داری شود و تخمک-های ماهی قزل آلای رنگین کمان را می‌توان تا ۲۰ روز با حفظ کارایی گامت نگه‌داری نمود (Stoss and Holtz,1983,.Komrakova and Holtz,2004). همچنین در برنامه‌های اصلاح نژاد نقل وانتقال اسپرم و تخمک از نقل و انتقال ماهی مولد بهتر و کم هزینه‌تر است. اما حمل و نقل گامت‌های لقاح نیافته ماهی نسبت به تخم‌های لقاح یافته به عللی چون سفتی تخم‌های لقاح یافته (Leifritz and Lewis,1976) و حساسیت کمتر به شوک‌های مکانیکی (Jensen and Alderdice,1989) کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. از دیگر فاکتورهای مهم که طول نگه‌داری گامت را افزایش می‌دهد ذخیره اکسیژن ، رطوبت، استرلیزه بودن و تعویض منظم گاز می‌باشد (Stoss,1983,.Stoss and Holtz,1983;Jensen and Alderdice,1984). ذخیره اکسیژن برای گامت‌ها ضروری است و اهمیت تنفس در گامت نگه‌داری شده آزاد ماهیان اثبات شده است (Czihak et al.,1979). کارآمدترین روش برای نگه داری کوتاه مدت گامت آزاد ماهیان استفاده از اتمسفر غنی از اکسیژن در دماهای پایین است. مطالعات چندی نشان داده‌اند که نگه داری اسپرم ماهی تحت شرایط اتمسفر ۱۰۰٪ اکسیژن نسبت به هوا، بقا و کیفیت اسپرم را بالا می‌برد (Büyükhatipoglu and Holtz,1978 ; Billard, 1981). در سال ۱۹۸۷، Stoss و همکاران عنوان کردند که وقتی منی در ویال‌های باز در محیط اکسیژن نگه داری می‌شود عمق نمونه باید به ۵ تا ۶ میلی متر محدود شود و تکان‌ها باید به حداقل برسد. حجم و عمق تخمک‌های نگه داری شده نیز بر میزان بقا آنها تأثیر دارد و عمق نگه داری تخمک‌ها باید بین ۲ تا ۴ لایه باشد (Stoss,1980;Stoss,1983; Stoss *et al.*,1987; Komrakova and Holtz,2004). نگه داری بیش از ۴ لایه تخمک بر روی یکدیگر قدرت لقاح را کاهش می‌دهد (Stoss,1983). در سال‌های اخیر استفاده از مواد غشایی تراوا در مقابل اکسیژن مانند فویل پلی اتیلنی جهت نگه داری گامت‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان برای ۲۰ روز با حفظ کارایی گامت‌ها جهت لقاح موفقیت آمیز بوده است (Komrakova and Holtz, 2005). آنچه تا امروز انجام شده درظروف کوچک مثل ویال‌ها ویا استفاده از کیسه‌های تراوا به طریقه تماس غیر مستقیم با اکسیژن بوده است. از آنجا که محققین علوم جنین شناسی ماهی نیاز دارند تا مراحل تکامل جنینی را از لحظه لقاح در آزمایشگاه مورد بررسی قرار دهند و دستیابی به گامت‌های ماهی مستلزم حمل و نقل آنها از کارگاه تکثیر تا محل آزمایشگاه می‌باشد ، نیاز است تا روشی ساده جهت حمل و نقل گامت‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان با حفظ کیفیت مورد استفاده قرار گیرد. در این تحقیق نگه‌داری وحمل و نقل کوتاه مدت گامت‌های نر و ماده ماهی قزل آلای رنگین کمان در کیسه‌های پلی اتیلنی زیپ دار در تماس مستقیم با اکسیژن در دمای ۱تا۲ درجه به مدت ده ساعت و بدست آوردن میزان بهینه اکسیژن مصرفی در چنین شرایطی به عنوان یک روش ساده مورد بررسی قرار گرفته است.

۲. مواد وروش‌ها

الف- مکان آزمایش:

تحقیق حاضر در بخش تکثیر ماهی آزمایشگاه تحقیقات آبزیان دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس در شهرستان نور انجام پذیرفت.

ب-انتخاب مولدین واخذ گامت:

از آنجا که ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان در رده‌های سنی مختلف در استخرهای جداگانه نگه‌داری می‌شوند، از ۵ مولد نر و۵ مولد ماده در سن $^{+}$۳به صورت تصادفی جهت استحصال تخم استفاده گردید.جهت انجام عملیات تکثیر ابتدا مولدین با پودر گل میخک بیهوش گردیدند و سپس گامت مولدین بر طبق روش مرسوم در کارگاه‌های تکثیر استحصال گردید. به منظور یکسان نمودن شرایط گامت‌های مورد استفاده برای تمامی تیمارها، گامت‌های استحصال شده از ماهیان ماده و نر جداگانه مخلوط شدند (Moccia and Munkittrick,1987).

ج- نحوه انتقال گامت ها در جو اکسیژن:

حدود ۲۰۰۰ عدد تخمک در دو تا سه لایه و یا ۱۰ سی سی منی با حداکثر ۵ میلی متر عمق درون کیسه‌های پلی اتیلنی زیپ دار به ابعاد (۱۸×۲۰ سانتی متر) به صورت جداگانه ریخته شد. به کیسه‌ها مقادیر صفر،۲۵،۵۰،۷۵و۱۰۰ درصد حجم باقیمانده کیسه اکسیژن مرطوب تزریق گردید؛ بدین صورت که پس از انتقال گامت‌ها به کیسه‌های زیپ دار پلی اتیلنی با فشردن سطح خالی فوقانی گامت‌ها هوای موجود در قسمت فوقانی کیسه خالی گردید ودرب کیسه تا نزدیکی انتها بسته شد. لوله انتقال اکسیژن از منفذ باقی مانده وارد کیسه شد و دو طرف آن با دست کاملاً مسدود گردید. تزریق اکسیژن به کیسه به صورت زمانی و با استفاده از یک کپسول اکسیژن ۲ لیتری حاوی مانومتر و بارومتردر فشار ۲ M Pa و میزان جریان ۲ لیتر در دقیقه انجام پذیرفت. در این شرایط در تیمارهای متفاوت مقادیر اکسیژن مورد نظر به کیسه‌ها تزریق گردید. در انتها شلنگ اکسیژن در حالی که خروجی اکسیژن باز بود از کیسه خارج و درب کیسه سریعا بسته شد. کیسه‌ها در جعبه‌ای یونولیتی در کنار کیسه‌های ترموژل منجمد شده قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل گردید. دمای محیط درونی جعبه با یک ترمو متر در ابتدا و انتهای حمل و نقل اندازه گیری شد. در این آزمایش ۲۵ تیمار (با ۳ تکرار) در نظر گرفته شد که در هر تیمارحدود ۱۰۰ تخمک و در مجموع ۷۵۰۰ تخمک مورد استفاده قرار گرفت.

تیمارها عبارت بودند از:

اسپرم‌های حمل شده در کیسه‌های حاوی ۱۰۰،۷۵،۵۰،۲۵،۰ ٪ اکسیژن

هر کدام از این تیمارها به صورت جداگانه و در سه تکرار با ۵ تیمار ذیل لقاح یافت:

گامت‌های ماده حمل شده در کیسه های حاوی ۱۰۰،۷۵،۵۰،۲۵،۰ ٪ اکسیژن

د-لقاح و انکوباسیون:

پس از انتقال ده ساعته گامت‌ها به آزمایشگاه عمل لقاح گامت‌ها به روش خشک و با استفاده از آب کارگاه کلاردشت, صورت پذیرفت و جهت تفریخ به درون انکوباتوری آزمایشگاهی با سیستم چرخش آب که قبلاً برای چنین منظوری طراحی گردیده بود قرار داده شد (کلباسی و طاهری ،۱۳۸۵). به منظور ارزیابی تأثیر استفاده از اکسیژن بر کیفیت گامت‌های حمل شده و نتایج آن بر میزان لقاح با استفاده از روابط ۱ الی ۳ ، مقادیر لقاح ، چشم زدگی و درصد تفریخ محاسبه گردید.

میزان لقاح= (تعداد تخمک‌های لقاح یافته /تعداد کل تخمک‌ها)×۱۰۰(Geffen and Evans, 2000)

میزان چشم زدگی= (تعداد تخم چشم زده/تعداد تخمک‌های لقاح یافته) ×۱۰۰(Hunter et al.,1978) (۲)

میزان تفریخ= (تعداد لارو/تعداد تخم های چشم زده) ×۱۰۰(Richardson *et al*.,2002)

پردازش آماری داده‌های تحقیق:

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف بررسی وبرای مقایسه داده‌ها ازآنالیز واریانس یک طرفه (One Way Anova) وآنالیز واریانس سه طرفه (Three Way Anova) وبرای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan Multiple Range Test) استفاده گردید.

۳. نتایج

الف : درصد لقاح

کمترین میزان لقاح به میزان ۱۲±۸۰/۹٪در تیمار۲۲و بیشترین میزان لقاح به میزان۲/۳ ±۹۵/۷۳ ٪ در تیمار۹ و متوسط آن به میزان۳/۶۸±۹۱/۰۱ مشاهده گردید که اعداد مذکور واجد اختلاف معنی‌داری می باشند ($p<۰/۰۵$). در خصوص مقادیر مختلف استفاده از اکسیژن نیز این مقادیر تغییر یافت چنانچه عدم استفاده از اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده به طور متوسط۴/۳۷± ۹۰/۰۷٪ لقاح و به ترتیب در تیمارهای با۲۵، ۵۰، ۷۵و ۱۰۰٪ اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده به ترتیب ۳/۶±۸۹/۵۲ ، ۴/۸۴± ۹۱/۰۸ ، ۲/۷۸± ۹۲/۳۸ و ۲/۸۴ ±۹۲٪ لقاح مشاهده گردید.

ب: درصد چشم زدگی:

کمترین میزان چشم زدگی به میزان۲۰/۶۲±۵۴/۳ در تیمار ۷(و۱)بیشترین میزان آن ۷/۴ ± ۸۲/۸در تیمار ۳ومیانگین چشم زدگی به میزان ۱۲/۷۶± ۶۸/۹۹٪دیده شد. اعداد مذکور فاقد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند. در خصوص مقادیر مختلف استفاده از اکسیژن نیز این مقادیر تغییر یافت چنانچه(۳)عدم استفاده از اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده فاقد اکسیژن به طور متوسط ۱۵/۲۳± ۷۲/۴۱٪ لقاح و به ترتیب در تیمارهای با۲۵، ۵۰، ۷۵و ۱۰۰٪ اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده به ترتیب ۱۴/۶۷ ±۶۱/۴۰ ، ۱۰/۵۴± ۶۹/۱۹، ۱۰/۱۷± ۷۱/۷، ۱۳/۲± ۷۰/۲۴٪ چشم زدگی مشاهده گردید.

ج- در صد تفریخ:

کمترین میزان تفریخ به میزان ۹/۲ ±۴۸/۱ در تیمار ۱۳، بیشترین در تیمار۵ به میزان ۱۸/۴۸ ± ۷۶/۳۳٪ و متوسط آن به میزان ۱۳/۲± ۶۵/۷۳٪ مشاهده گردید که فاقد اختلاف معنی داری بودند. در خصوص مقادیر مختلف استفاده از اکسیژن نیز این مقادیر تغییر یافت چنانچه عدم استفاده از اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده به طور متوسط۱۶/۶۹± ۶۸/۰۸٪ لقاح و به ترتیب در تیمارهای با۲۵، ۵۰، ۷۵و ۱۰۰٪ اکسیژن در کیسه‌های حاوی گامت ماده به ترتیب ۱۴/۵۳± ۵۸/۸۹، ۱۲/۲۴± ۶۵/۳۷، ۱۰/۰۵± ۶۹/۰۱ و ۱۲/۴۸± ۶۷/۲۸ ٪ تفریخ مشاهده گردید.

آنچنان که از نتایج بدست می‌آید درصد لقاح در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد اما در درصد چشم زدگی و در صد تفریخ تفاوت‌ها معنی دار نیست. از بین تیمارها ،

تیمارهـــای ۱۲،۲۱و۲۴بهتـــرین وضـــعیت را دارا مـــی‌باشـــند و از بـــین آنهـــا تیمـــار ۲۴ در مجمـــوع بهترین نتیجه را دارا بوده اسـت کـه دارای ۱۰۰٪ تزریق اکسیژن به کیسه‌هـای گامـت مـاده و ۷۵٪ تزریق اکسیژن به گامتهای نر بوده است و بـدترین وضعیت را تیمار ۱۳و۷ دارا بوده‌اند(جدول ۱).

جدول ۱. نتایج حاصل از استفاده از مقادیر مختلف اکسیژن در گامت نر و ماده مولدین قزل آلای رنگین کمان بر میزان بازماندگی در مراحل لقاح، چشم زدگی و تفریخ

تیمار ها	میزان اکسیژن (٪)		میزان بازماندگی (٪)		
	گامت ماده	گامت نر	لقاح	چشم زدگی	تفریخ
۱(شاهد)	۰	۰	۸۴/۰۸±۵^{abc}	۶۳/۳±۱۸/۳۹^{a}	۶۰±۲۰/۸۳^{a}
۲	۰	۲۵	۹۰/۹۱±۴/۹^{bcd}	۶۵/۷±۱۳/۶	۶۵/۳±۱۲/۷۸
۳	۰	۵۰	۹۰/۰۱±۴/۵ ^{abc}	۸۲/۸±۷/۴	۶۹/۳۴±۱۴/۱
۴	۰	۷۵	۹۳/۱±۳/۷^{cd}	۷۱/۸۷±۱۸/۱	۶۹/۴۵±۱۷/۲۸
۵	۰	۱۰۰	۹۲/۲۵±۳/۷ ^{bcd}	۷۸/۴±۱۸/۷	۷۶/۳۳±۱۸/۴۸
۶	۲۵	۰	۹۳/۴±۱/۱ ^{cd}	۶۹/۸۲±۲۰	۶۶/۳۶±۱۹/۸۳
۷	۲۵	۲۵	۸۲/۸±۸/۹^{ab}	۵۴/۳±۲۰/۶۲	۵۱/۳۲±۲۱/۶
۸	۲۵	۵۰	۸۸/۱۵±۱/۲ ^{abc}	۵۷/۲±۷/۶۳	۵۵/۰۶±۷/۸۵
۹	۲۵	۷۵	۹۵/۷۳±۲/۰۳^{d}	۶۹/۱۵±۱۸/۵	۶۷/۵۹±۱۷/۱
۱۰	۲۵	۱۰۰	۸۷/۵۲±۵/۴ ^{abc}	۵۶/۵۴±۶/۶۳	۵۴/۱۲±۶/۳۱
۱۱	۵۰	۰	۹۲/۲±۰/۸۲ ^{bcd}	۶۴/۵۹±۱۳/۱	۶۲/۳۱±۱۲/۵۳
۱۲	۵۰	۲۵	۹۴/۳۸±۱/۵ ^{cd}	۷۶/۷۳±۵/۳۶	۷۴/۴۶±۵/۵۲
۱۳	۵۰	۵۰	۸۶/۲۴±۱۵/۶^{abc}	۵۴/۳۹±۲/۰۱	۴۸/۱±۹/۲
۱۴	۵۰	۷۵	۹۱±۱/۵ ^{bcd}	۷۳/۳۹±۱۶/۵۸	۶۸/۱۷±۱۷/۶۸
۱۵	۵۰	۱۰۰	۹۱/۶±۴/۸ ^{bcd}	۷۶/۸۹±۱۵/۶۷	۷۳/۸۴±۱۶/۳۱
۱۶	۷۵	۰	۹۰/۷±۲/۳ ^{abc}	۷۵/۵±۵/۰۴	۷۱/۶۴±۵/۰۴
۱۷	۷۵	۲۵	۹۴/۲±۱/۷ ^{cd}	۷۷/۸±۵/۰۸	۷۴/۸۵±۴/۱۵
۱۸	۷۵	۵۰	۹۲/۱±۴/۸ ^{bcd}	۷۱/۴۱±۱/۱۸	۶۹/۴۱±۱۸
۱۹	۷۵	۷۵	۹۳/۳±۱/۸ ^{cd}	۷۱/۵۶±۶/۸۶	۶۹/۳۶±۷/۵۹
۲۰	۷۵	۱۰۰	۹۱/۶±۳/۳ ^{bcd}	۶۲/۲۶±۱۵/۸	۵۹/۸۱±۱۵/۴۸
۲۱	۱۰۰	۰	۹۴/۸±۰/۵^{d}	۷۵/۶۲±۸/۶۸	۷۳/۲۴±۷/۳۵
۲۲	۱۰۰	۲۵	۸۰/۹±۱۲^{a}	۵۵/۲۱±۲۸/۱	۵۲/۹۶±۲۶/۹۵
۲۳	۱۰۰	۵۰	۹۴/۹±۰/۹^{d}	۶۹/۵۳±۱۸/۸	۶۵/۸۷±۱۹/۱
۲۴	۱۰۰	۷۵	۹۵/۰۱±۱/۲^{d}	۷۸±۴/۲۱	۷۵±۳/۸۸
۲۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۴/۴±۰/۱ ^{cd}	۷۲/۸۶±۶/۲۲	۶۹/۳۷±۵/۱۶
	میانگین		۹۱/۰۱±۳/۶۸	۶۸/۹۹±۱۲/۷۶	۶۵/۷۳±۱۳/۲
	سطح معنی داری		p<۰/۰۵	معنی دار نیست	معنی دار نیست

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد کـه در تیمارهایی که میزان اکسیژن در کیسه های حاوی گامت ماده صفر،۲۵و۱۰۰٪ بـوده بـالاترین میـزان لقاح در کیسه‌های حاوی اسپرم بـا ۷۵٪ اکسـیژن دیده مـی‌شـود. همچنـین در مقایسـه بـین گـروه

شاهد (تیمارهای فاقد اکسیژن اسپرم و تخمک) و بقیه گروه‌ها و همچنین میانگین کل, کارایی بهتر در تیمارهای حاوی اکسیژن دیده می‌شود. در سال ۱۹۷۸ Büyükhatipoglu and Holtz دریافتند که نگه داری غیر هوازی اسپرم ماهی قزل آلای رنگین کمان باعث از دست رفتن سریع تحرک اسپرم می‌شود در حالی که نگه داری تحت شرایط اکسیژن خالص در ۴ درجه سانتی گراد باعث ۹۵٪ لقاح بعد از نه روزنگه داری و ۸۱٪ بعد از ۱۵ روز می‌گردد. در سال ۲۰۰۲،Ojanguren و Rodriguez عنوان کردند که نگه داری گامت‌های لامپری دریایی درون ویال‌های اپندورف ۱/۵ میلی لیتری در بسته به مدت ۴/۷ تا ۷۵/۳ ساعت در دمای ۱ درجه سانتی گراد موفقیت تفریخ را از ۷۶٪ تا ۰٪ کاهش می‌دهد. در ۱۹۷۸, Stoss وهمکاران گزارش کردند که بقای بالای اسپرم قزل آلای رنگین کمان می‌تواند تا بیش از ۲۳ روز بوسیله تعویض منظم اکسیژن خالص ظروف نگه دارنده حفظ گردد. در سال ۱۹۸۳ Stoss و Holtzدر یافتند که یک اتمسفر مرطوب غنی از اکسیژن که با عبور اکسیژن از آب ایجاد شده به اسپرم‌های قزل آلا اجازه می‌دهد قدرت لقاح خود را تا ۳۴ روز حفظ کنند. در سال ۲۰۰۵ Holtz و Komrakova عنوان کردند که مایع سلومیکی که از اکسیژن اشباع شده نمی‌تواند کاندیدای خوبی برای فراهم کردن یک اتمسفر غنی از اکسیژن در محیط بسته برای نگه داری کیفیت لقاح گامت ماده ماهی قزل آلای رنگین کمان باشد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج این محققین همخوانی دارد. در تحقیق حاضر میانگین نتایج هر گروه از تیمارهای گامت ماده نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌دار چندانی در هر گروه دیده نمی‌شود و بین گروه‌ها نیز مشابهت وجود دارد همچنین بهترین نتایج در تمامی این گروه‌ها دیده می شود در نتیجه می‌توان عنوان نمود که مقاومت تخمک نسبت به عدم استفاده از اکسیژن نسبت به اسپرم بیشتر است و شاید به این دلیل باشد که مصرف اکسیژن گامت ماده بسیار کمتر از گامت نر است و زمان ده ساعته این آزمایش باعث مشاهده اختلافی معنی‌دار در آن‌ها نشده است. اما بیشترین نتایج مثبت بین گروه‌ها در تیمارهایی اتفاق افتاده از اسپرم نگه‌داری شده در جو اکسیژنی ۷۵ جهت انجام لقاح استفاده شده است. این امر می‌تواند حساسیت بالای اسپرم را نسبت به تخمک در خصوص لزوم استفاده از اکسیژن نشان دهد. اساس موفقیت در نگه‌داری اسپرم درون فشار بالای اکسیژن واضح نیست ، زیرا پتانسیل اثر منفی اکسیژن بر تحرک اسپرم نگه‌داری شده تحت شرایط اکسیژن خالص بیش از آنکه مفید باشد خطرناک می‌نماید؛ چون امروزه می‌دانیم که متابولیت‌های فعال اکسیژنی عملکرد کامل و درست DNA را در اسپرم انسانی مختل می‌کند(Aitken *et al*., 1998).

در سال ۱۹۸۴، Alderdice , Jensen اشاره نمودند که نسبت تعداد گامت به گاز و سطح گامت به گاز بر میزان اکسیژن و تبادلات تنفسی گامت‌های ذخیره شده تأثیر می‌گذارد و بالا بردن میزان اکسیژن از طریق افزایش گاز نسبت به میزان گامت یا افزایش سطح تبادلی گامت و گاز می‌تواند زمان نگه‌داری گامت را افزایش دهد. در سال ۱۹۸۳ ،refstie و Stoss عنوان نمودند که نسبت اسپرم :اکسیژن یا اسپرم : هوا برای نگه‌داری گامت بسیار مهم است در سال ۱۹۵۶Okada و همکاران در یافتند که نرخ مصرف اکسیژن اسپرم غیر فعال ماهی Chum در ۱۸/۷و ۱۰/۸ درجه سانتی گراد به ترتیب ۹۴ و ۲۱ میلیمتر مکعب در میلی لیتر در ساعت بوده است. نرخ مصرف اکسیژن تخم‌های غیر فعال این

ماهی ۵ و ۲ میلی متر مکعب در میلی لیتر در ساعت در دماهای مشابه بوده است. میزان بیشتر اکسیژن مورد نیاز برای اسپرم‌های ذخیره شده در مقایسه با تخم‌ها باعث از بین رفتن سریعتر اسپرم‌ها در صورت محدودیت اکسیژن می‌شود (Jensen and Alderdic,1984). در نمونه‌های عمیق منی با سطح اندک تماس با هوا سلول‌های مرده در کف ظرف ، تأثیر زیان آوری بر سلول‌های نزدیک سطح داشت و به این دلیل تحرک اسپرم در خلال مدت زمان اندک نگه‌داری کاهش می‌یافت (Stoss *et al* .,1987). نتایج حاصل از تحقیق حاضر یافته‌های این محققین را تأیید می‌نماید. اما نزدیکی و مشابهت نتایج بسیاری گروه‌ها و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها شاید مؤید این مطلب باشد که زمان انتقال و نگه‌داری ده ساعته که در این آزمایش به کار رفته است برای ایجاد تفاوت آشکار در کیفیت مواد تناسلی نگه‌داری شده در شرایط مختلف اکسیژنی زمان اندکی باشد و در صورتی که زمان نگه‌داری افزایش یابد شاید این اختلافات آشکارتر گردد.

جمع‌بندی تحقیق مؤید آن است که استفاده از اکسیژن در انتقال گامت در تیمارهای متفاوت نسبت به گروه شاهد (بدون استفاده از اکسیژن برای تخمک و اسپرم) موجب افزایش درصدهای لقاح، چشم زدگی و تفریخ گردیده و در این خصوص حساسیت اسپرم نسبت به تخمک بیشتر بوده و استفاده از حداقل ۷۵٪ اکسیژن برای اسپرم قابل توصیه می‌باشد. از آنجا که در برنامه‌های تکثیر و اصلاح نژاد آبزیان نقل و انتقال گامت‌ها بسیار سهل تر و کم هزینه تر از انتقال مولدین می‌باشد لذا روش مذکور به عنوان روشی ساده در نقل و انتقال کوتاه مدت گامت ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

بر خود لازم می‌دانیم از جناب آقای مهندس پاشا زانوسی رئیس وقت مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت و همکاران دلسوزشان بالاخص جناب آقای مهندس رضوانی و مهندس گلشاهی که مارا در تهیه گامت‌های ماهی یاری رسان بودند، همچنین از مهندس کمالی و مهندس بور مسئولین محترم آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس تشکر نماییم.

منابع

طاهری، ع. ۱۳۸۵. امکان سنجی انتقال گامت ماهی قزل آلای رنگین کمان از کارگاه به آزمایشگاه و تفریخ آن در انکوباتور آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد،دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس،۷۴ص.

کلباسی، م.، و طاهری.، ع. دانشگاه تربیت مدرس،۱۳۸۵. انکوباتور آزمایشگاهی تفریخ تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان باسیستم چرخش آب.گواهی نامه ثبت اختراع به شماره ۳۴۸۱۴، اداره کل ثبت شرکت ها و مالکیت صنعتی، سازمان ثبت اسناد و املاک کشور

Aitken, R.J., Gordon, E., Harkiss, D., Twigg, J.P., Milne, P., Jennings, Z., Irvine, D.S. 1998. Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biol. Reprod*.59:1034-1046

Billard, R. 1981. Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 23:287-293

Buyukhatipoglu,S. and Holtz, W. 1978. Preservation of trout sperm in liquid or frozen. *Aquaculture*. 14:49-56

Czihak, G., Peter, R., Puschendorf, B., Grunicke, H. 1979. Some data on the basic metabolism of trout egg. *J. Fish Biol*. 15: 185-193

Geffen, A.J. and Evans, J.P. 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 182: 61-72

Hunter, A.G. Donaldson, E.M. Stone, E.T. Dye. H.M. 1978. Induced ovulation of female chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) at a production hatchery .*Aquaculture*. 15: 99-112

Jensen,J.O., Alderdice, D.F. 1989. Comparison of mechanical shock sensitivity of egg of five pacific salmon (*Onchorhynchus.spp*) species and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*. 78: 163-181.

Komrakova, M. and Holtz, W. 2004. Effect of oxygen supply on fertility of chilled rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. Vet.Med. Austria /Wien. Tieraerztl. Mschr. 91, Suppl.2, pp 4

Komrakova,M. and Holtz,W. 2004. Effect of the type of covering and gas atmosphere on the storage of unfertilized rainbow trout(*oncorhynchus mykiss*) egg. *Tsitologiya*. 46(N9):805-806

Komrakova,M.Y. and Holtz,W. 2005. Storage of unfertilized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs in Polyethylene bags.Larvi.05-Fish and shellfish larviculture symposium. Special publication no.36

Leifritz, E. and Lewis.R.C. 1976. Trout and salmon culture (hatchery methods). California Department of Fish and Game, Fish Bulletin, 164p.

Moccia, R.D. and Munkittrick, K.R. 1987. Relationship between the fertilization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) eggs and the motility of spermatozoa. *Theriogenology*. 27: 679 -688.

Richardson,G.F., Gardiner,Y.T., McNiven, M.A. 2002. Preservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eyed eggs using a perfluorochemical as an oxygen carrier.*Theriogenology*. 58: 1283-1290

Rodriguez-Munoz, R. Ojanguren, A.F. 2002. Effect of short-term preservation of sea lamprey gametes on fertilization rate and embryo survival. *J. Applied Ichthyology*. 18(2):127-128

Stoss, J. 1983. Fish gamete preservation and spermatozoon physiology. *Fish physiology*. v. 9, Academic Press, New York pp 305-350

Stoss, J. and Holtz, W. 1983. Successful storage of chilled rainbow trout*(Salmo gairdneri*) spermatozoa for up to 34 days.*Aquaculture*. 31: 269-274

Stoss, J. and Refstie, T.1983. Short-term storage and cryopreservation of milt from atlantic salmon and sea trout .*Aquaculture*, 30:229-236

Stoss,J.,Pueschel,H. and Holtz, W.1980. Gamete storage in domestic rainbow trout *(Salmo gairdneri*). Proc. Workshop "Salmonid Broodstock Maturation" ,Seattle,Washington pp54-55

Okada, S.Y., Ishikawa, G., Kimura, 1956. On the viability of the sperm and the egg left in the dead body of dog-salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum). *Sci. Rep. Hokkaido Fish Hatchery*, 11:7-17.