تعیین مناسب‌ترین زمان استحصال تخمک‌ها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

آذین محققی‌ثمرین[1*]، محمدرضا احمدی[2]

چکیده

با توجه به محدود بودن تعداد تخمک‌ها در ماهی قزل آلای رنگین کمان، فاکتورهای مؤثر بر کیفیت تخمک‌ها اهمیت ویژه‌ای می‌یابند. از آن‌جا که مدت زمان باقی‌ماندن تخمکها در محوطه شکمی مولدین، پس از سیال شدن آنها (اوولاسیون) مهم‌ترین فاکتور تعیین‌کننده کیفیت گزارش شده است لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی زمان مناسب تخم کشی از مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان صورت گرفت. سنجش کیفیت تخمکها از طریق اندازه گیری نرخ چشم زدگی و تفریخ تخم ها انجام شد. بدین منظور تعداد ۱۰۰ عدد مولد ماده که از جهت ظاهری به زمان اوولاسیون و رسیدگی تخمکها نزدیکتر بودند از جمعیت مولدین انتخاب و در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس این مولدین به مدت ۳۰ روز و هر ۳ روز یک بار مورد معاینه قرار گرفتند. در هر یک از نوبت‌های معاینه تعداد ۳ عدد مولد از بین مولدین دارای تخمکهای سیال انتخاب شده و به عنوان تکرارهای آزمایشی در نظر گرفته شدند. سایر مولدین دارای تخمک‌های سیال از جمعیت خارج گردیدند. تکثیر کلیه مولدین انتخاب شده در روز ۳۰ صورت گرفت. بنابراین در نهایت ۱۰ گروه مولد که معرف ۱۰ دوره زمانی متفاوت ماندگاری تخمکها در محوطه شکمی بودند جهت تکثیر در اختیار قرار داشتند. نرخ چشم زدگی و تفریخ تخم های گروه اول که بلافاصله پس ار اوولاسیون (۰ الی ۳ روز) لقاح داده شدند به ترتیب ۳۷,۶٪ و ۳۱,۵٪ اندازه گیری شد و به میزان قابل توجهی کمتر از سایر گروهها بود. به جز این مقدار نسبتا پایین اولیه، میانگین نرخ چشم زدگی و تفریخ در طی دوره ۳۰ روزه پس از اوولاسیون به ترتیب ۸۵,۱۸٪ و ۶۸,۵۵٪ بود. رابطه همبستگی قابل ملاحظه ای بین مدت زمان باقی ماندن تخمکها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده و نرخ چشم زدگی و تفریخ مشاهده گردید. مطالعه حاضر نشان داد که استحصال تخمکها بلافاصله پس از اوولاسیون بازده کمی دارد و لذا بایستی مدت زمان کوتاهی اجازه داد تا تخمک ها پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین باقی بمانند. همچنین مناسب‌ترین زمان تخم کشی از مولدین حداقل ۶۰ روز پس از اوولاسیون ارزیابی گردید.

واژگان کلیدی : اوولاسیون، محوطه شکمی، تخم‌کشی، قزل آلای رنگین کمان

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

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

*-نویسنده مسئول amohagheghi@hotmail.com

مقدمه

یکی از معمول‌ترین گونه‌های پرورشی آزادماهیان، قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. با توجه به محدود بودن تعداد تخمک‌ها در این گونه، فاکتورهای مؤثر بر کیفیت تخمک‌ها اهمیت ویژه‌ای دارند. در میان این فاکتورها، مدت زمان باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی پس از سیال شدن آنها یا اوولاسیون Days Post Ovulation (DPO)، مهمترین فاکتور گزارش شده است (۲،۵،۷) در طی دوره پس از اوولاسیون، تخمک‌ها تا زمان تخم‌کشی به صورت غوطه‌ور در مایع تخمدانی یا مایع سلومیک باقی می‌مانند (۱۱) . چنانچه عمل تخم‌کشی به تأخیر بیفتد، تغییراتی در محتوای تخمک‌ها و ترکیب مایع تخمدانی به وجود می‌آیند که موجب ایجاد حالت فوق‌رسیدگی در تخمک‌ها شده و قابلیت لقاح از دست می‌رود (۲،۸). مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین‌کمان در مطالعات مختلف و در درجات حرارت ۱۰ الی ۱۷ درجه سانتی‌گراد بین ۵ تا ۱۵ روز گزارش شده است (۲، ۳، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۱۳ و ۱۵). لذا در این مطالعه طول دوره زمانی حفظ کیفیت تخمکها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان با توجه به مناسب‌ترین دامنه دمایی برای تکثیر این گونه (۲ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد) در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد از طریق اندازه گیری نرخ چشم زدگی و تفریخ تخم ها بررسی می‌شود. به این ترتیب مناسب‌ترین زمان تخم کشی از مولدین ماده مشخص می‌گردد. در ایران به‌جز مطالعه محققی و همکاران بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد و مطالعه‌ای بر روی ماهی آزاد دریای خزر در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد، بررسی در این زمینه صورت نگرفته است. لذا مطالعه حاضر در تکمیل دامنه دمایی مطالعات فوق‌الذکر صورت پذیرفت (۲).

مواد و روش کار

تعداد ۱۰۰ عدد مولد ماده سه ساله قزل آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ٧٦ ± ١٣٦٨ گرم که از جهت ظاهری به زمان اوولاسیون و رسیدگی تخمکها نزدیکتر بودند از جمعیت مولدین انتخاب شدند و در حوضچه‌های حاوی دمای ۰/۵± ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. مولدین در حوضچه هایی گرد به قطر ٦ متر و ارتفاع ۱/۵ متر با ظرفیت ۳۰ متر مکعب آب نگهداری می شدند. کلیه حوضچه ها دارای ورودی و خروجی مستقل بوده و آب مورد نیاز آنها از رودخانه تأمین می گردید. کیفیت شیمیایی آب مذکور اکسیژن محلول در حد اشباع و pH= ۷/۵ بود. سپس این مولدین به مدت ۳۰ روز و هر ۳ روز یک بار مورد معاینه قرار گرفتند. پس از بیهوش نمودن مولدین در محلول ppm ۱۰۰ ماده MS222 عمل معاینه از طریق اعمال فشار آرام به محوطهٔ شکمی از ناحیه سینه‌ای به سمت منفذ تناسلی صورت می‌گرفت. با توجه به هم زمان بودن اوولاسیون برای تخمک ها در ماهی قزل آلای رنگین کمان، (١٤) نخستین روزی که با اعمال فشار آرام به محوطهٔ شکمی مولد ماده، تخمک ها خارج می‌گردیدند، به عنوان روز اوولاسیون در نظر گرفته می‌شد (۱۳). در هر یک از نوبت‌های معاینه تعداد ۳ عدد مولد از بین مولدین دارای تخمکهای سیال انتخاب می شدند و به عنوان تکرارهای آزمایشی در نظر گرفته می شدند. چنانچه بیش از ۳ مولد دارای تخمک‌های سیال بودند از جمعیت خارج می‌شدند. تکثیر کلیه مولدین انتخاب شده در روز ۳۰ صورت گرفت. بنابراین در نهایت ۱۰ گروه مولد معرف ۱۰ دوره زمانی متفاوت نگهداری تخمکها تا روز تکثیر وجود داشت. به طوریکه، گروه اول که در نخستین نوبت معاینه تخم دهی نمودند تخمک های اوله شده را تا زمان تکثیر به مدت ۳۰-۲۷ روز در محوطهٔ شکمی خود نگهداری نمودند. همچنین تخمک‌های اوله شده برای مولدینی که در دومین نوبت معاینه

تخم دهی نمودند تا زمان تکثیر به مدت ۲۷-۲٤ روز در محوطهٔ شکمی باقی ماندند. در نهایت ماهیانی که در روز تکثیر مورد معاینه قرار گرفتند تخمک ها را تا زمان تکثیر به مدت ۳-۰ روز در محوطهٔ شکمی خود نگهداری کردند. برنامه زمانی معاینه و تکثیر مولدین در جدول ذیل آورده شده است.

جدول شماره ۱- برنامه زمانی معاینه و تکثیر مولدین

روز	نوبت معاینه	DPO
۳	اول	۳۰-۲۷
۶	دوم	۲۷-۲۴
۹	سوم	۲۴-۲۱
۱۲	چهارم	۲۱-۱۸
۱۵	پنجم	۱۸-۱۵
۱۸	ششم	۱۵-۱۲
۲۱	هفتم	۱۲-۹
۲۴	هشتم	۹-۶
۲۷	نهم	۶-۳
۳۰	دهم و تکثیر کلیه مولدین	۳-۰

اسپرم مورد نیاز برای تکثیر در همان روز از تعداد ۲۷ عدد مولد نر استحصال شد و سپس به خوبی مخلوط و همگن گردید و در ظرف شیشه ای خشک و محیط خنک نگهداری شد. به این ترتیب اثر کیفیت متغیر اسپرم برای گروههای مورد مطالعه حذف شده و اسپرم مورد استفاده برای کلیه تیمارها و تکرارها از کیفیت یکسانی برخوردار گردید. عمل لقاح با اضافه نمودن اسپرم و آب به تخمک ها و با نسبت ۱cc اسپرم/ ۱۰cc آب/ ۱۰۰ گرم تخمک به مدت ۳ دقیقه صورت می پذیرفت. سپس تخم های لقاح یافته مورد شستشو قرار می‌گرفتند و این عمل تا زمان شفاف شدن کامل آب ادامه می یافت. پس از آن عمل آبکشی تخم‌ها به مدت ٤٥ دقیقه صورت می گرفت. در این فاصلهٔ زمانی تخم ها آب را جذب کرده و کاملا" سفت می‌شدند. در این هنگام تخم ها برای انتقال به سالن انکوباسیون آماده بودند.

دمای آب سالن انکوباسیون ۱۰oc ± ۱oc اندازه گیری شده و دبی آب ورودی به تراف ها متناسب با مراحل توسعهٔ جنینی بین ۰،۵ تا ۲ لیتر در دقیقه تنظیم می‌گردید تخم‌ها تا مرحلهٔ چشم‌زدگی در سینی‌های چشمه درشت و سرپوشیدهٔ 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 ضدعفونی می‌گردیدند.

درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی در طول دورهٔ انکوباسیون برای تمام گروه‌ها معین گردید. تخم‌ها پس از ۱۸۷ درجه- روز به مرحلهٔ چشم‌زدگی رسیدند و بعد از ۳۱٤ درجه – روز تفریخ شدند. پس از انجام عمل شوک‌دهی مکانیکی (سیفون کردن تخم‌های چشم‌زده به داخل یک ظرف پر از آب)، تخم‌های چشم‌زده به آسانی از تخم‌های چشم نزده قابل تشخیص می‌باشند، زیرا لکه‌های چشمی در آنها کاملاً نمایان شده و تخم-های چشم نزده نیز به رنگ سفید در می‌آیند. لاروهای تفریخ شده نیز دقیقاً شمارش می‌گردیدند.

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی بود. در قالب این طرح فواصل زمانی مختلف مابین سیال شدن تخمک‌ها و تخم کشی 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 نسخهٔ ۱۱ و با استفاده از آزمون Kolmogorov –Smirnov کنترل گردید و تغییر شکل $ArcSin\sqrt{X}$ بر روی داده‌ها انجام شد. تجزیهٔ واریانس داده‌های به دست آمده، به‌وسیله نرم افزار SPSS صورت گرفت و مقایسهٔ میانگین‌ها نیز با استفاده از آنالیز واریانس و سپس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

مقدار اندازه‌گیری شدهٔ نرخ چشم زدگی برای تخمک‌هایی که بلافاصله پس از اوولاسیون (DPO ۳-۰) از مولدین ماده استحصال گردیدند، ۱۹/۵ ± ۳۷/٦ ٪ (میانگین ± انحراف معیار) بدست آمد. عدد حاصل به میزان قابل ملاحظه ای نسبت به مقدار اندازه گیری شدهٔ نرخ چشم زدگی برای سایر تیمارهای آزمایشی کمتر می باشد (P< ۰/۰۵). نتیجهٔ حاصل از تیمارهای دیگر آزمایشی که نشان دهندهٔ باقی ماندن تخمک‌ها در محوطهٔ شکمی مولدین ماده به مدت ۳ تا ۳۰ روز پس از اوولاسیون می باشد تفاوت معنی داری از جهت آماری با یکدیگر ندارند. (P> ۰/۰۵) به جز مقدار نسبتا پایین نتایج حاصله برای گروه اول (DPO ۳-۰)، میانگین نرخ چشم زدگی در طی دوره ۳۰ روزه پس از اوولاسیون ۸۵،۱۸٪ بود.علی رغم عدم وجود تفاوت معنی دار از نظر آماری نتایج چشم زدگی تیمار ششم که ۰/۱ ± ۹٦/٤ ٪ بود و نشان دهندهٔ باقی ماندن تخمک ها در محوطهٔ شکمی مولدین ماده به مدت ۱۸-۱۵ روز پس از اوولاسیون است بالاتر از سایر تیمارها می‌باشد.

درصد تفریخ نیز برای تخمک های استحصال شده به مدت صفر تا سه روز پس از اوولاسیون ۱۷/٦ ± ۳۱/۵ ٪ بوده و از جهت آماری به میزان قابل توجهی کمتر از درصد تفریخ سایر تیمارهای آزمایشی می باشد(P< ۰/۰۵). میانگین نرخ تفریخ نیز در طی دوره ۳۰ روزه پس از اوولاسیون به‌جز تیمار اول آزمایشی ٦۸،۵۵٪ بود.

جدول ۲-: داده های مربوط به اثر باقی ماندن تخمک، پس از اوولاسیون، در محوطهٔ شکمی بر پارامترهای تولیدمثلی مورد بررسی (میانگین ± انحراف معیار)

گروههای آزمایشی	درصد چشم زدگی	درصد تفریخ
تیمار اول (۰-۳ DPO)	۳۷/۶۴ ± ۱۹/۴۹ [a]	۳۱/۵۲ ± ۱۷/۵۹ [a]
تیمار دوم (۳-۶ DPO)	۸۵/۶۶ ± ۵/۳۵ [b]	۶۶/۸۱ ± ۵/۰۶ [b]
تیمار سوم (۶-۹ DPO)	۹۲/۴۸ ± ۵/۹۲ [b]	۵۸/۷۹ ± ۱۳/۵۹ [b]
تیمار چهارم (۹-۱۲ DPO)	۷۵/۷۰ ± ۸/۸۱ [b]	۶۲/۵۹ ± ۵/۴۹ [b]
تیمار پنجم (۱۲-۱۵ DPO)	۷۹/۴۱ ± ۱۳/۵۲ [b]	۷۱/۹۲ ± ۶/۷۰ [b]
تیمار ششم (۱۵-۱۸ DPO)	۹۶/۴۱ ± ۰/۰۹ [b]	۷۴/۱۰ ± ۲/۴۰ [b]
تیمار هفتم (۱۸-۲۱ DPO)	۹۳/۳۸ ± ۲/۶۸ [b]	۸۱/۳۴ ± ۱/۸۷ [b]
تیمار هشتم (۲۱-۲۴ DPO)	۸۶/۰۶ ± ۱/۱۶ [b]	۶۹/۵۹ ± ۱/۴۸ [b]
تیمار نهم (۲۴-۲۷ DPO)	۸۳/۵۱ ± ۶/۰۱ [b]	۶۰/۷۰ ± ۴/۴۵ [b]
تیمار دهم (۲۷-۳۰ DPO)	۷۳/۷۹ ± ۷/۴۹ [b]	۷۱/۱۷ ± ۱۰/۵۵ [b]

بحث

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اگرچه اعداد مربوط به نرخ چشم زدگی و تفریخ پس از تیمار ششم روند نزولی را نشان می دهند اما تفاوت آنها از جهت آماری معنی‌دار نبوده و بنابراین در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد کیفیت تخمک‌ها حداقل تا یک ماه پس از اوولاسیون حفظ می‌گردد. نتایج حاصل از این مطالعه مبنی بر کاهش نرخ چشم‌زدگی و تفریخ با افزایش مدت زمان باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی، نتایج مطالعات قبلی را در این زمینه تایید می‌نماید. به‌طور مثال مطالعه‌ای، نشان داده شد که باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان،

پس از اوولاسیون، بر مراحل مختلف رشد جنین تأثیرگذار بوده وموجب تلفات بعدی می‌گردد (۱۳). در مطالعه آنها که در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد صورت پذیرفت، مناسب‌ترین زمان، جهت تخم کشی از مولدین ٤ الی ٦ روز پس از اوولاسیون معرفی گردید. همچنین مطالعه‌ای نشان داد که فوق رسیدگی، تأثیر منفی بر بقاء تخمها دارد. آنها مشاهده نمودند که درصد تخمک‌های لقاح نیافته، تلفات تخم‌ها و میزان ناهنجاری لاروها، با افزایش فاصله زمانی ما بین اوولاسیون و تخم کشی، افزایش یافت. در مطالعه فوق الذکر، تنها گذشت ۸ روز پس از اوولاسیون، موجب پایین آمدن درصد لقاح و افزایش تلفات تخم‌ها و میزان ناهنجاری‌ها گردید(۷). بررسی‌ها نشان داد که باقی ماندن تخمک‌ها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان، پس از اوولاسیون، بقاء تخم ها را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. به طوریکه این رقم از ۸۵٪ در تخمک های تازه سیال (اووله) شده به ۲۵٪ در تخمک هایی که به مدت سه هفته در محوطه شکمی مولدین ماده باقی مانده بودند، رسید(۸). مطالعاتی نیز نشان داد که به طور کلی، با افزایش زمان ماندگاری تخمک‌ها در محوطه شکمی، پس از اوولاسیون، نرخ بقاء کاهش یافته و میزان ناهنجاری‌ها افزایش می‌یابد(۱). محققین بر روی ماهی آزاد دریای خزر در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد، نشان دادند که نرخ بقاء تخم‌ها در روز ٤۰ پس از اوولاسیون به نزدیک صفر درصد می‌رسد(۲). لیکن در مطالعه حاضر یک دوره اولیه وجود دارد که در طی آن نرخ چشم زدگی و تفریخ روند صعودی را نشان می‌دهند. چنین روند افزایشی در بررسی‌های اخیز نیز مشاهده شده است(۱، ۱۰، ۱۲ و ۱۳). دلیل این روند را عدم همزمانی در به پایان رسیدن تقسیم میوز و اتفاق افتادن اوولاسیون گزارش نموده‌اند (۱۰). در طبیعت نیز مولدین ماده بلافاصله پس از اوولاسیون تخمک‌ها تخم‌ریزی ننموده و مدت زمانی آنها را در محوطهٔ شکمی خود نگهداری می‌نمایند (۷). لیکن برخی از گزارشات دیگر وجود چنین روند صعودی را تأیید نمی نمایند. دلیل این امر را می‌توان به دو عامل نسبت داد:

فواصل زمانی طولانی که در مطالعات قبلی جهت استحصال تخمک از مولدین ماده درنظر گرفته شده است.

درجات حرارت مختلف به کار گرفته شده در مطالعات

توضیح آنکه فواصل زمانی طولانی‌تر جهت استحصال تخمک از مولدین ماده می تواند منجر به عدم مشاهدهٔ روند صعودی اولیه برای نرخ چشم زدگی و تفریخ گردد. در واقع به خصوص در درجات حرارت بالا تر چنین روند صعودی سریعا" خود را نشان داده و سپس به فرم نزولی مبدل می گردد و لذا ممکن است در نتایج حاصل مستتر بماند.

در مطالعات قبلی، مدت زمان حفظ کیفیت تخمک‌ها، پس از سیال شدن آنها در محوطه شکمی مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان در درجات حرارت ۱۰ الی ۱۷ درجه سانتی‌گراد اعداد مختلفی بین ۵ الی ۱۵ روز گزارش شده‌اند(۱، ۳، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۱۳ و ۱۵). دلیل این تفاوتها دماهای مختلف مورد استفاده می‌باشد و لذا پیشنهاد می‌گردد که این عدد به صورت درجه- روز عنوان شود. نتایج مطالعه حاضر زمان مناسب تخم کشی از مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان را حداقل ٦۰ درجه- روز پس از اوولاسیون عنوان می‌نماید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه تهران به جهت پرداخت بخشی از هزینه‌های تحقیق و نیز کلیه کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر کلاردشت، به‌خصوص جناب آقای افشین مسلمی، به جهت همکاری‌های ایشان صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1- Aegerter, S. and 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, J. 231: 59-71.

2- Bahrekazemi, M., Matinfar, A., Soltani, M., Abtahi, B., Pusti, I. and Mohagheghi, A., (2009): The relation between egg viability, selected aspects of egg and ovarian fluid composition and time of stripping in endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*.Journal of Fisheries and Aquatic Science, 4 (6): 306-315.

3- Bonnet, E., Jalabert, B. and 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.

4- 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 17^{α}- hydroxy- 20β-dihydroxyprogesterone. Aquaculture, J. 24: 153-160.

5- Craik, J. C. A. and Harvey, S. M., (1984): Biochemical changes associated with overripening of the eggs of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture, J. 37: 347-357.

6- Escaffre, A. M. and 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.

7- Gaudemar, B. D. E. and 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.

8- Lahnsteiner, F., (2000): Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the overripening of rainbow trout eggs. Fish Physiol. Biochem., 23: 107-118.

9- Mohagheghi Samarin, A., Ahmadi, M.R., Azuma, T., Rafiee, Gh. R., Mojazi Amiri, B. and 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, J. 278: 195-158.

10- 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, J. 106: 379-392.

11- 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(1): 26.

12- 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 (8): 855-860.

13- 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, J. 43: 313-322.

14- Wallace, R. A. and Selman, K., (1978): Oogenesis in Fundulus heteroclitus. Dev. Biol., 62: 354-369.

15- Yamazaki, F., Goodier, J. and Yamano,

K., (1989): Chromosomal aberrations caused by ageing and hybridization in charr, masu salmon and related salmonids. Physiol. Ecol. Jpn. Spec., 1: 529-542.