مجله شیلات
سال اول، پیش‌شماره اول، خرداد ۸۶

تعیین مناسب‌ترین محلول تثبیت‌کننده حاوی فرمالین برای تخم‌های ماهی کپور معمولی و ماهی سفید

نرگس سلیمانی، رسول قربانی، مسعود ملایی و اصغر نعیمی
گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گـرگان

چکیده

جهت تعیین مناسب‌ترین محلول تثبیت‌کننده برای تخمک‌های مـاهی سـفید (*Rutilus frisii kutum*)، کپـور دریـایی و کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) از ۱۲ محلول تثبیت‌کننده شامل محلول‌های گیلسون، بـوئن، فرمـالین بـافر ۰/۵ تـا ۱۰ درصد، فرمالین غیر بافر ۰/۱ تا ۱ درصد با سدیم کلراید ۰/۷ درصد و فرمالین غیر بافر ۰/۱ تا ۱ درصد بـا ۰/۹ درصـد سـدیم کلراید استفاده شد. قطر تخمک‌ها درفواصل زمانی ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ۲٤، ٤٨، ۷۲، ۹٦، ۱۲۰ سـاعت بعـد از تثبیـت، انـدازه‌گیـری گردید. برای تخمک‌های کپور دریایی محلول فرمالین غیر بافر ۱ درصد با ۰/۹ درصد سـدیم کلریـد، کپـور پرورشـی محلـول فرمالین غیر بافر ۰/۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید و ماهی سفید محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد، مناسب‌ترین محلول‌هـای تثبیت‌کننده بودند، به‌طوری که میزان بادکردگی یا چروکیدگی آنها نسبت به اندازه تخمک تازه دارای کمترین مقدار بود.

واژه‌های کلیدی: محلول تثبیت‌کننده، قطر تخمک، ماهی کپور، ماهی سفید

مقدمه

کپـور ماهیـان (*Cyprinidae*) از مهمتـرین ماهیـان پرورشی در ایران محسوب می‌شوند. ایـن ماهیـان در آب شیرین و لب شور زندگی کـرده و جهـت تخمریـزی بـه رودخانـــه‌هـــا مهـــاجرت مـــی‌کننـــد (۱). کپورمعمـــولی (*Cyprinus carpio*) در کارگاه‌های تکثیـر و پـرورش مستقر در سـواحل جنـوبی دریـای خـزر تکثیـر و جهـت بازسازی ذخایر و ماهی‌دار کـردن آب‌هـای داخلـی و نیـز پرورش در استخرها، آببندان‌ها، سدها و آبگیرها به‌صورت گسترده و نیمه متراکم استفاده می‌شود. مطالعات زیادی در زمینه تکثیر مصنوعی ماهی کپور معمولی با هورمـون‌هـای مختلـف بـرای مـدیریت القـای رسـیدگی اووسـیت واوولاسیون صورت گرفته است.

ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) بومی سواحل جنوبی دریای خزر می‌باشد (۱). این ماهی نیز در حاشـیه مصب رودخانه‌ها در کارگاه‌هـای تکثیـر بـه‌صـورت نیمـه طبیعی تکثیر یافته و جهت بازسازی ذخایر به رودخانه‌هـا رهاسازی می‌گردد.

کسب اطلاعاتی نظیر اندازه بحرانی[1] تخمک‌هـایی کـه به القای تخمریزی پاسخ مـی‌دهنـد، در تکثیـر ماهیـان بـا ارزش است (٦، ۷ و ۸). دانستن اندازه قطـر تخمـک هـر ماهی در مدیریت پرورش، تاریخچه زندگی (۳) و برآورد تقریبی مرحله بلوغ تخمدان ماهیـان (۱۱) بسـیار اهمیـت دارد. به هر حال اندازه‌گیری قطر تخمک‌های تازه از چنـد ماده در یک زمان خسته کننده و پر زحمـت اسـت، بـرای حل این مشکل تخمک‌هـای تـازه مـی‌تواننـد بـرای چنـد ساعت تا چندین روز قبل از اندازه‌گیری تثبیت شوند. این روش به انتخاب محلول تثبیت‌کننده مناسبی نیـاز دارد کـه نمونه‌های تخمک در آن نه تنها تثبیـت شـده بلکـه دچـار کمتـرین چروکیـدگی و تغییـرات شـکلی شـوند. میـزان چروکیـدگی تخمـک بـا غلظـت و اسـمولاریتی محلـول

1- Critical size

تثبیت‌کننده مورد استفاده، مدت زمان تثبیت، نوع و سن نمونه برای مثال تخمک‌ها و یا لاروها متفاوت است (۲).

در بررسی مناسب‌ترین محلول جهت تثبیت تخمک‌های ماهیان، برای تخمک‌های گربه ماهی آسیایی (*Clarias macrocephalus*) محلول ۱ درصد بافر شده ـ فسفات (۱۲)، برای تخمک‌های باس دریایی فرمالین ۵ درصد بافر شده ـ فسفات (٤) و تخمک‌های سالمون (۳) و برای لارو فلاندر جنوبی (*Paralichthys lethostigma*) فرمالین ٤ درصد در آب مقطر بافر شده با استات سدیم یک درصد (۱۳) بهترین محلول‌های تثبیت کننده ذکر شده است. در ایران با توجه به سوابق در دسترس سابقه‌ای در این زمینه یافت نشد. مطالعه اخیر برای تعیین مناسب‌ترین تثبیت کننده برای تثبیت تخمک‌های کپور معمولی دریایی، ماهی کپور پرورشی و ماهی سفید دریای خزر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی: مولدین کپور معمولی دریایی و ماهی سفید از تور پره تعاونی‌های صید ماهیان استخوانی مستقر در بخش جنوب شرقی دریای خزر و کپور پرورشی از استخرهای پرورش ماهی مستقر در حاشیه جنوب شرقی دریای خزر که با غذای کنسانتره و غذای طبیعی پرورش یافته، جمع‌آوری و به آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

آزمایش‌ها: محلول‌های تثبیت کننده مورد استفاده شامل گیلسون، بوئن، فرمالین بافر ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ درصد، فرمالین ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد در ۰/۷ درصد نمک سدیم کلراید، فرمالین ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد در ۰/۹ درصد نمک سدیم کلراید بودند. قطر ۳۵ تخمک با دقت ۰/۱± میلی‌متر با اندازه‌گیری محورهای بزرگ و کوچک هر تخمک با استفاده از استریومیکروسکوپ اندازه‌گیری گردید. سپس تخمک‌ها در یک پلیت حاوی مقداری محلول تثبیت‌کننده قرار داده شده، به‌طوری که تمام سطح تخمک‌ها را محلول تثبیت‌کننده، پوشانده بود. تغییر در اندازه قطر تخمک در ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦، ۱۲۰ ساعت پس از تثبیت شدن در تمام محلول‌های ذکر شده، اندازه‌گیری گردید (۱۲). اندازه واقعی تخمک‌ها (Esa) می‌تواند از فرمول: Esm-(Esm×Srn) محاسبه شود که Esm اندازه تخمک‌های اندازه‌گیری شده در n ساعت و Srn میزان بادکردگی در n ساعت است. افزایش مشاهده شده در اندازه تخمک ممکن است ناشی از جذب مایع به درون فضای پری ویتلین باشد، زیرا تخمک تمام ماهیان آب شیرین نسبت به محیط اطراف هیپر اسموتیک می‌باشند (۱۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های تغییرات قطر تخمک در فواصل زمانی مختلف بعد از تثبیت شدن به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه مقایسه و با تست چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P<۰/۰۵$) تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج

اسمولاریتی چندین محلول تثبیت‌کننده در جدول ۱ نشان داده شده است (جدول۱) (۱۲).

با توجه به جدول ۱ با افزایش غلظت فرمالین، میزان فشار اسمزی محلول افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از تغییرات قطر تخمک در محلول‌های مختلف تثبیت کننده به شرح زیر می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۱- فشار اسمزی چند محلول تثبیت‌کننده (مقادیر به‌صورت انحراف معیار ± میانگین بیان شده است)

محلول تثبیت کننده	فشار اسمزی (میلی اسمول بر کیلوگرم)
محلول گیلسون	۴۲۲/۶۷ ±۲
محلول بوئن	-
فرمالین بافر ۰/۵ درصد	۲۲۱
فرمالین بافر ۱ درصد	۲۶۶ ±۰/۶
فرمالین بافر ۵ درصد	۴۳۹/۳۳ ± ۲/۴
فرمالین بافر ۱۰ درصد	۶۵۳/۳۳ ± ۳/۵
فرمالین ۰/۱ درصد در ۰/۷ درصد سدیم کلراید	۳۷۹ ± ۵/۷
فرمالین ۰/۵ درصد در ۰/۷ درصد سدیم کلراید	۳۸۵/۳۳ ±۰/۹
فرمالین ۱ درصد در ۰/۷ درصد سدیم کلراید	۴۳۷/۳۳ ± ۰/۷
فرمالین ۰/۱ درصد در ۰/۹ درصد سدیم کلراید	۳۱۰ ± ۱/۴
فرمالین ۰/۵ درصد در ۰/۹ درصد سدیم کلراید	۳۲۷/۲ ± ۲
فرمالین ۱ درصد در ۰/۹ درصد سدیم کلراید	۳۴۹ ± ۰/۸

تذکر: به علت در دسترس نبودن دستگاه اسمومتر، اندازه‌گیری فشار اسمزی محلول بوئن و پلاسمای خون صورت نگرفت.

جدول ۲- اندازه و میزان باد کردگی تخم‌های ماهی کپور معمولی و ماهی سفید در مناسب‌ترین محلول‌های تثبیت کننده

ساعات	انحراف معیار± میانگین (کپور دریایی)	میزان بادکردگی	انحراف معیار± میانگین (کپور پرورشی)	میزان بادکردگی	انحراف معیار± میانگین (ماهی سفید)	میزان بادکردگی
۰	۱/۶۶^{ab} ± ۰/۰۳۱	۰	۱/۳۹ ^{a} ± ۰/۰۲۹	۰	۱/۴۲ ^{b} ± ۰/۰۱۶	۰
۰/۵	۱/۶۲^{b} ± ۰/۰۱۷	- ۲/۴	۱/۲۷ ^{b} ± ۰/۰۲۵	- ۸/۶	۱/۴۹ ^{a} ± ۰/۰۱۴	۴/۹۲
۱	۱/۶۴ ^{ab} ± ۰/۰۱۴	- ۱/۲	۱/۲۹ ^{b} ± ۰/۰۱۹	- ۷/۱	۱/۵ ^{a} ± ۰/۰۲۲	۵/۶
۲	۱/۶۷ ^{ab} ± ۰/۰۱۳	+ ۰/۶	۱/ ۳۱ ^{b} ± ۰/۰۲۳	- ۵/۷	۱/۴۷ ^{ab} ± ۰/۰۱۶	۳/۵۲
۴	۱/۷ ^{a} ± ۰/۰۱۶	+ ۲/۴	۱/۲۸ ^{b} ± ۰/۰۱۴	- ۷/۹۱	۱/۴۵ ^{ab} ± ۰/۰۱۸	۲/۱
۲۴	۱/۶۵ ^{ab} ± ۰/۰۱۵	- ۰/۶	۱/۳۱ ^{b} ± ۰/۰۲	- ۵/۷	۱/۴۸ ^{a} ± ۰/۰۱۹	۴/۲
۴۸	۱/۶۳ ^{b} ± ۰/۰۱۴	- ۱/۸	۱/۲۸ ^{b} ± ۰/۰۱۷	- ۷/۹۱	۱/۴۷ ^{ab} ± ۰/۰۲۴	۳/۵
۷۲	۱/۶۵ ^{ab} ± ۰/۰۱۶	- ۰/۶	۱/۲۹ ^{b} ± ۰/۰۲۸	- ۷/۱	۱/۴۷ ^{ab} ± ۰/۰۱۵	۳/۵
۹۶	۱/۶۳ ^{b} ± ۰/۰۱۸	- ۱/۸	۱/۳۳ ^{b} ± ۰/۰۲۲	- ۴/۵	۱/۴۷ ^{ab} ± ۰/۰۱۴	۳/۵
۱۲۰	۱/۶۵ ^{ab} ± ۰/۰۱۳	- ۰/۶	۱/۲۸ ^{b} ± ۰/۰۲۳	- ۷/۹	۱/۴۸ ^{a} ± ۰/۰۱۹	۴/۲

تذکر: میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده است در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

قطر تخمک‌های کپور دریایی در محلول فرمالین ۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید دارای کمترین تغییرات است. قطر تخمک‌ها در ۰/۵ ساعت اول ابتدا تا حدی چروکیده شده ولی دامنه چروکیدگی کم بوده و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. با گذشت زمان تا ۴ ساعت به تدریج افزایش قطر مشاهده گردید و سپس تغییرات نا منظم قطر تخمک مشاهده گردید که در بیشتراین موارد تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. بعد از ۱۲۰ ساعت قطر تخمک تقریباً برابر با قطر تخمک تازه بود. بیشترین میزان چروکیدگی تخمک در ۰/۵ ساعت اول پس از تثبیت شدن و به میزان ۲/۴ درصد و بیشترین میزان بادکردگی تخمک در ۴ ساعت پس از تثبیت شدن به میزان ۲/۴ درصد بود.

در ماهی کپور پرورشی ظاهراً بهترین محلول تثبیت‌کننده محلول فرمالین ۰/۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید بود به‌طوری که تنها در ۰/۵ ساعت اول تغییرات معنی‌داری در تخمک‌ها مشاهده گردید و بعد از آن در تمام فواصل زمانی قطر تخمک‌ها تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده تفاوت فشار اسمزی خون کپور دریایی و کپور پرورشی می‌باشد. در این محلول تغییرات ایجاد شده به‌صورت چروکیدگی بوده و بیشترین و کمترین چروکیدگی به‌ترتیب در ۰/۵ ساعت و ۹۶ ساعت پس از تثبیت تخم‌های کپور پرورشی است.

در ماهی سفید دریای خزر ظاهراً محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر بهترین محلول تثبیت کننده بود، به‌طوری که در ۱ ساعت اول تغییرات معنی‌داری در تخمک‌ها مشاهده گردید و بعد از آن تا ۲٤ ساعت تغییر معنی‌داری در قطر تخمک‌ها مشاهده نگردید. در زمان ۲٤ ساعت تغییر معنی‌داری نسبت به تخم‌های تاره مشاهده گردیده و پس از آن تا ۱۲۰ ساعت تغییرات ایجاد شده معنی‌دار نبود. در ۱۲۰ ساعت نیز تغییر ایجاد شده نسبت به زمان صفر معنی‌دار بود. بهرحال، تغییرات ایجاد شده با توجه به میزان بادکردگی به‌دست آمده، چشمگیر نبود. بیشترین میزان بادکردگی در ۱ ساعت اول بود.

بحث

فشار اسمزی محلول تثبیت‌کننده برای کپور دریایی، محلول فرمالین ۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید (مناسب‌ترین محلول) برابر با ۰/۸± ۳٤۹ میلی‌اسمول بر کیلوگرم و فشار اسمزی مناسب‌ترین محلول تثبیت‌کننده در ماهی کپور پرورشی، محلول فرمالین ۰/۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید برابر با ۱/٤± ۳۱۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم (جدول ۱) است. فشار اسمزی محلول پلاسمای ماهی کپور معمولی ۳ ± ۲۷٤ میلی‌اسمول بر کیلوگرم است. به‌نظر می‌رسد محلول‌های تثبیت‌کننده مذکور دارای فشار اسمزی تقریباً نزدیکی با فشار اسمزی خون ماهی کپور دریایی می‌باشند. به هر حال این نکته قابل ذکر است که فشار اسمزی ماهیان در مناطق مختلف با شوری‌های مختلف و همچنین ترکیبات شیمیایی مختلف آبها متفاوت می‌باشد، فشار اسمزی ماهیان معمولاً دامنه‌ای از تغییرات را دارد. به هر حال، نتایج به‌دست آمده نشان دهنده تفاوت فشار اسمزی خون کپور دریایی و کپور پرورشی می‌باشد.

در ماهی سفید همان‌طور که ذکر گردید، محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر با کمترین مقداری بادکردگی نسبت به تخم تازه ظاهراً بهترین محلول تثبیت‌کننده برای تثبیت تخمک‌های آن بشمار می‌رود. افزایش مشاهده شده در اندازه تخمک ممکن است ناشی از جذب مایع به درون فضای پری ویتلین باشد، به‌طوری‌که تخمک‌های آنها نسبت به محیط اطراف هیپراسموتیک می‌باشند (۱۰).

فرمالین معمولاً برای تثبیت و نگهداری تخمک‌ها و لاروهای ماهیان مختلف استخوانی استفاده می‌شود. انتخاب محلول تثبیت‌کننده به‌عنوان نوع بافر و غلظت‌های فرمالین و شوری براساس میزان چروکیدگی، نگهداری رنگدانه‌ها و قابلیت انحلال کلسیم یا غیرمعدنی شدن بافت‌های سخت می‌باشند. اگرچه فرمالین ۳ و ۵ درصد معمولاً برای تثبیت و نگهداری مواد ماهیان استخوانی استفاده می‌شود، بیشتر موزه دارها فرمالین ۵ درصد غیربافر را برای نگهداری تخمک‌ها ولاروهای ماهیان استخوانی ترجیح می‌دهند (۸). فرمالین غیر بافر به این خاطر استفاده می‌شود که بعضی تخمک‌های ماهیان زمانی که در فرمالین بافر قرار گیرند، متلاشی می‌شوند (۵ و۸). به هر حال فرمالین ۵ درصد بافر برای تثبیت و نگهداری تخمک‌های سالمون مناسب می‌باشند (۳). در مورد گربه ماهی (*Clarias macrocephalus*) بهترین محلول تثبیت‌کننده ۱ درصد فرمالین بافر فسفاته است (۱۲). محلول گیلسون در بعضی آزمایشگاه‌ها برای تثبیت

تخمک‌ها جهت هم‌آوری استفاده می‌شود، برای این که بافت‌های پیوندی نگهدارنده‌ها تخمک‌ها با یکدیگر زمانی که نمونه‌های تخمک در این محلول قرارگیرند به آسانی از یکدیگر جدا می‌شوند و این محلول چنانچه تفاوت فشار اسمزی آن در مقایسه با فشار اسمزی پلاسمای ماهیان زیاد باشد، محلول مناسبی محسوب نمی‌شود مثلاً در مورد گربه ماهی بخاطر اختلاف در اسمولاریتی محلول در مقایسه با پلاسمای ماهی محلول تثبیت‌کننده خوبی نمی‌باشد (۱۲). تخمک‌های باس دریایی مخطط (*Morone saxatilis*) در محلول گیلسون بخوبی نگهداری نمی‌شوند و این محلول باعث جمع‌شدگی بیش از حد درکوریون‌ها و یا غشاهای تخمک می‌شود که باعث آسیب به جنین می‌شود (۵). در تمام ماهیان بررسی شده در استفاده از محلول گیلسون در تمام موارد چروکیدگی مشاهده شد که بویژه در ۰/۵ ساعت اول این چروکیدگی معنی‌دار بود. اندازه تخمک‌های باس دریایی (*Lates calcarifer*) که در فرمالین ۵ درصد بافر فسفاته برای ۰/۲۵ تا ۱ ساعت تثبیت شدند، تفاوت معنی‌داری با قطر تخمک‌های تازه نداشتند. به هر حال تخمک‌های باس دریایی از ۱ تا ٤٨ ساعت پس از تثبیت شدن به‌طور معنی‌دار در قطر افزایش یافتند (٤).

مشابه بودن در فشار اسمزی با پلاسمای ماهی همچنین اساس ماده نگهدارنده توصیه شده برای لارو فلاندر جنوب (*Paralichthys lethostigma*) و محلول تثبیت‌کننده برای تخمک‌های باس دریایی می‌باشد که به‌ترتیب فرمالین ٤ درصد در آب مقطر بافر با ۱ درصد استات سدیم (۱۳) و فرمالین ۵ درصد بافر (٤) بودند. به هر حال مطالعه حاضر نشان داد که محلولی برای تثبیت تخمک‌ها مناسب است که کمترین تغییرات را در اندازه تخمک‌ها ایجاد کند.

در بین محلول‌های تثبیت‌کننده قطر تخمک در ماهی کپور دریایی در محلول فرمالین ۱ درصد با ۰/۹ درصد سدیم کلراید، در کپور پرورشی محلول فرمالین ۰/۱ درصد با ۰/۹درصد سدیم کلراید و برای ماهی سفید محلول فرمالین ۱۰ درصد بافر دارای کمترین تغییرات و بالطبع مناسب‌ترین محلول‌های تثبیت کننده بودند. تغییرات کم قطر تخمک نشان‌دهنده نزدیک بودن فشار اسمزی محلول‌های ذکر شده با فشار اسمزی مایعات بدن این ماهیان است، بنابراین در آزمایش‌های بعدی تخمک‌های برداشته شده در هر مرحله و برای هر هدفی می‌تواند در این محلول تثبیت شوند.

منابع

۱- عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آب‌های داخلی ایران. انتشارات نقش مانا، موزه طبیعت و حیات وحش ایران، ۳۷۷ ص.

2.Blaxter, J., 1988. Pattern and variety in development. pp. 30-31. In:W.S. Hoar and D.J. Randall (eds.). Fish physiology. Vol. Xla. Harcourt Brace Jovanovich, New York, 546pp.

3.Fleming, I.A., and Ng, S., 1987. Evaluation of techniques for fixing, preserving and measuring salmon eggs. Can. J. Fish. Aqua. Sci., 44: 1957-1962.

4.Garcia, L., 1989. Development of an ovarian biopsy technique in the sea bass, *Lates calcarifer* Bloch. Aquaculture, 77: 85-96.

5.Gates, D., Bulak, J., and Crane, J., 1987. Preservation of striped bass eggs collected from a low-hardness, freshwater system in the South Carolina. The Progressive Fish–Culturist, 49: 230-232.

6.Kuo, C., 1985. A review of induced breeding of milk fish. Pp: 57-77. In: C.S. Lee and I.C. Liao(eds). Reproduction and Culture of milkfish. Oceanic Inst., Hawaii and Tungkang Marine Lab., Taiwan. 226pp.

7.Lam, T., 1984. Artificial propagation of milkfish:present status and problems. pp. 21-39. In: J.V.Juario, R.P. Ferraris and L.V. Benitez (eds.). Advances in Milkfish Biology and Culture. Proc.2nd Int.Milkfish .Aquacult.Conf.Island Publ. House, Inc., Philippines, 243pp.

8.Markle, D., 1984. Phosphate buffered formal for long term preservation of formalin fixed ichthyoplankton. Copeia, 2: 525-528.
9.Marte, C., Sherwood, N., Crim, L., and Tan, J., 1988. Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos chanos*) using human chorionic gonadotropinand mammalian and salmon gonadotropin releasing hormone analogues. Aquaculture, 73: 333-340.
10.Prosser, C., 1973. Water: Osmoticbalance; hormonal regulation. P. 32. In: C.L. Prosser(ed.). Comparative Animal Physiology. Saunders College Publ., Philadelphia, 966pp.
11.Tan, J., 1985. A histological study of the hypophysial–gonadal system during sexual maturation and spawning in the milkfish *Chanos chanos*. J. Fish Biol., 26: 657-668.
12.Tan-Fermin, J., 1991. Suitability of different formalin-containing fixatives for the eggs of freshwater Asian Catfish Clarias macrocephalus.The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 43(2), 57-61.
13.Tucker, J.W., and Chester, A.J., 1988. Effects of salinity, formalin concentration and buffer on quality of preservation of southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) larvae. Copeia, 4:981-988.

Suitability of formalin-containing fixative for the eggs of *Cyprinus carpio* and *Rutilus frisii kutum*

N. Soleymani, R. Ghorbani, M. Mollaei and A. Naeimi
Gorgan uinersity of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

The suitability of 12 different formalin-containing fixatives consisted of: Gilson's and Bouin's flouids, 0.5% to 10% buffered formalin, 0.1% to 1% unbuffered formalin with 0.7% sodium chloride (NaCl) and 0.1% to 1% unbuffered formalin with 0.9% NaCl 1% unbuffered formalin with 0.9% NaCl for the eggs of the *Rutilus frisii kutum* and *Cyprinus carpio* were tested.The size of the eggs diameter at several intervals (0, 0.5, 1, 2, 4, 24, 48, 72, 96, 120-hrs) after fixation were measured. The most suitable of the fixatives were for the wild common carp, 1% unbuffered formalin with 0.9% NaCl, for cultured common carp, 0.1% unbuffered formalin with 0.9% NaCl and 10% buffered formalin for *R.frisii kutum*, as their level of swelling or shrinkability were less than fresh eggs.

Keywords: Fixative solution, Egg diameter, *Cyprinus carpio, Rutilus frisii kutum*