مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية المجلد 24 (3) 2011

مقارنة تأثير ثلاث مواد حافظة من أثر التجميد Cryoprotectants في نمو صغار أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* L. بعد الفقس

محسن جواد كاظم، * أسماء سامي إبراهيم، رافد حسين ،نمير محمود حلمي

وزارة العلوم والتكنولوجيا

***علوم الحياة، كلية التربية –ابن الهيثم،جامعة بغداد**

استلم البحث في: 22 شباط 2010

قبل البحث في : 10 آيار 2011

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى التعرف على تأثير ثلاث مواد حافظة من أثر التجميد (ثنائي مثيل الكبريت Dimethyl Sulfoxide DMSO، الميثانول والكليسيرول) في نمو صغار أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* L. الفاقسة من أجنة معاملة بهذه المواد في مرحلة ظهور العيون.

بينت نتائج الدراسة التي استمرت مدة ثلاثة أشهر (أيار،وحزيران، وتموز 2006) ظهور فروق معنوية ($p < 0.05$) في معدل الوزن بين مجموعة السيطرة Control واليرقات الفاقسة عن أجنة معاملة بتراكيز 5 و 10 و 15% من مادتي DMSO والميثانول في الشهر الاول (أيار) ، بينما لم تسجل فروق معنوية من حيث الطول والوزن في الشهرين التاليين (حزيران و تموز) . في حين كان الفرق المعنوي ($p < 0.01$) واضحاً في الأوزان والأطوال بين مجموعة السيطرة واليرقات المعاملة بمادة الكليسيرول وبتراكيز 5 و 10% للأشهر الثلاثة من التجربة.

الكلمات المفتاحية : كارب اعتيادي ، يرقات ، ثنائي مثيل الكبريت ،ميثانول ، كليسيرول

المقدمة

يتضمن الحفظ بالتجميد العميق تبريد الخلايا في وسط زرعي وذلك بإضافة مواد حافظة Cryoprotectants (جزيئات تعمل على حماية الخلية من التحطم والضرر في أثناء التجميد) والعمل على أخذ الخلايا إلى درجات حرارية منخفضة، إذ تكون الفعاليات الحيوية متوقفة من دون إلحاق الأذى بتلك الخلايا [1] لقد ركزت اغلب الدراسات على حفظ السائل المنوي والأجنة [2 و 3 و 4] ودراسة العوامل المختلفة في التأثير فيها.

تناولت الدراسات الحديثة عواملا وطرائقآ مختلفة ذا علاقة مباشرة وتأثير كبير في عمليات الحفظ والحيوية والسمية والفقس والبقاء لأجنة أنواع مختلفة من الأسماك، إذ استعمل زهانك وراوسون [5] طريقة الحفظ بالتزجيج Vitrification لحفظ أجنة أسماك الزيبرا *Brachydanio rerio*، كما تناول كوبيكا وآخرون [6] تأثير التجميد العميق في الحامض النووي DNA لمايتوكوندريا القطع الأرومية Blastomeres لأسماك الزيبرا أيضاً والمعاملة بالمواد الحافظة.

أ شارت دراسة سابقة إلى كيفية التغلب على الحواجز التي تعيق دخول المادة الحافظة في أجنة أسماك الزيبرا باستعمال طريقة الحقن الدقيق Microinjecting للمادة الحافظة في الأجنة [7]. كما أوضحت دراسة هاجدورن وجماعته [8] مدى التغير في نفاذية أغشية أجنة الأسماك عند استعمال المادة المسماة Aquaporine-3. أستعملت قصبات Straws مختلفة الأحجام في تجميد أجنة أسماك السالمون *Oncorhynchus kisutch* [9]. إلا أن هذه الدراسات لم تتطرق إلى تأثير تلك العوامل في صغار الأسماك الناتجة بعد الفقس.

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة في مختبرات كلية العلوم للبنات – جامعة بغداد وذلك ابتداءً من شهر أيار الى نهاية شهر تموز 2006. أستعملت يرقات أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* الناتجة من أجنة في مرحلة ظهور العيون معاملة مسبقاً بالمواد الحافظة من ضرر التجميد Cryoprotectants وهي ثنائي مثيل الكبريت DMSO وذلك لكونه ذا سرعة معتدلة في الدخول و الخروج من و الى الجنين [10] والكليسيرول لأنه بطيء الاختراق للخلايا ومن ثم بطيء النفاذية للجنين [11] والميثانول بسبب نفاذيته العالية لأغشية الأجنة فضلا عن كونه ذا سمية قليلة للاسماك [12] وذلك بغرض اجراء مقارنة بين تأثير هذه المواد في النمو في صغار اسماك الكارب الاعتيادي . عوملت الأجنة بتراكيز 5 و 10 و 15% من كل مادة من هذه المواد الثلاث كل على حدة وبمعدل 10 أسماك للمعاملة الواحدة ، إذ أختيرت التراكيز أعتمادا على دراسات سابقة [13 و 14 و 15] .

وضعت اليرقات الفاقسة في حاضنات صغيرة، ثم نقلت إلى حاضنات أكبر عند نموها إلى يافعات. استخدم الميزان الحساس نوع Sartorius ذو الأربع مراتب بعد الفارزة لقياس الوزن الفردي ومسطرة الطول القياسية لتحديد الطول الفردي كذلك. غذيت اليرقات بعد انتهاء امتصاص كيس المح على صفار بيض مخفوق ومدة 4 أيام ، بعدها غذيت بالحليب وفول الصويا مدة 15 يوماً، تلا ذلك التغذية بمجروش العلف الاعتيادي لحين انتهاء التجربة [16]. بلغ معدل درجة الحرارة 23.5 °م و أخذ قياس الطول والوزن مرة واحدة شهرياً.

لتحليل النتائج إحصائياً تم استعمل اختبار الفرق المعنوي الأصغر Least Significant Difference LSD لإيجاد الفروق المعنوية، إذ أجري هذا التحليل باستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS [8].

النتائج والمناقشة

يبين الجدول رقم (1) وجود فرق معنوي ($p < 0.05$) بين مجموعة السيطرة واليرقات الناتجة من أجنة معاملة بالمادة الحافظة DMSO بين الأوزان في الشهر الأول (أيار) إذ بلغ (1.4 و 1.41 و 1.44 غم) لليرقات المعاملة بتراكيز (5 و 10 و 15%) على التوالي، بينما بلغ معدل الوزن لليرقات في مجموعة السيطرة (2.7 غم) لكن لم تظهر فروق معنوية بين مجموعة السيطرة واليرقات الناتجة من أجنة معاملة بالـ DMSO خلال الشهرين التاليين من التجربة سواء في الطول أو الوزن. ومن ملاحظة الجدول رقم (2) الخاص باستعمال المادة الحافظة الكليسيرول في معاملة الأجنة بتركيزين 5 و10%، اتضح أن هناك فرقاً معنوياًعالياً ($p<0.01$) ، إذ بلغ معدل الوزن لليرقات
المعاملة بهذين التركيزين (1.38و1.31غم) على التوالي و 2.7غم لمجموعة السيطرة
في الشهر الأول، وبلغ معدل الطول (3.2 و 3 سم) لليرقات المعاملة و 4.5 سم لمجموعة السيطرة في الشهر الأول أيضاً.

في الشهر الثاني (حزيران) من الدراسة، سجل فرق معنوي واضح($p < 0.01$) من حيث الطول

والوزن بين اليرقات المعاملة بالكليسيرول ومجموعة السيطرة، حيث سجل وزن 35.5غم لليرقات المعاملة بكلا التركيزين، بينما بلغ معدل الوزن 48.3 غم ليرقات السيطرة. كذلك الحال بالنسبة الى الطول فقد بلغ معدل الطول القياسي ليرقات المعاملة 6.4 سم في كلا التركيزين و 9.6 سم لمجموعة السيطرة.

يبين الجدول رقم (4) عدم وجود أختلافات معنوية بين التراكيز المختلفة ضمن المادة الواحدة والمواد الثلاثة عند مستوى معنوية ($p<0.01$) و ($p < 0.05$) في الشهر الواحد سواءً فيما يتعلق بمعدل الطول القياسي أو معدل الوزن . سجل أعلى معدل طول قياسي

(4.1 سم) في شهر أيار بأستعمال المادة الحافظة ميثانول بتركيز (5%) و كذلك الحال بالنسبة الى معدل الوزن (1.49 غم) . اما في شهر حزيران فقد كان أعلى معدل مسجل للطول القياسي

(7.3 سم) و أعلى معدل للوزن (40.7 غم) لليرقات الناتجة من أجنة معاملة بالمادة الحافظة الميثانول بتركيز (5%) . في الشهر الثالث من التجربة أتضح عدم وجود فرق معنوي بين التراكيز الثلاثة من مادة الميثانول بالنسبة الى الطول القياسي ، بينما لوحظت زيادة طفيفة في معدل الوزن (90.7 غم) للصغار الناتجة من أجنة معاملة بتركيز (5%) من هذه المادة .

يظهر الجدول رقم (3) أن هناك فرقاً معنوياً ($p < 0.05$) في معدل الوزن، إذ بلغ وزن اليرقات (1.49 و 1.64و 1.4 غم) المعاملة بتراكيز (5 و 10 و 15%)

من الميثانول مقارنةً بمجموعة السيطرة (2.7 غم)، في حين لم تسجل أية فروق معنوية سواء من حيث الطول أو الوزن بين مجموعة السيطرة والمعاملات في الشهرين التاليين من التجربة.

إن نوع المادة الحافظة وتركيزها ومدة التعرض لها يجب أن تؤخذ بنظر الاعتبار لإنجاح عملية الحفظ بالتجميد، إذ تختلف المواد الحافظة بخصائصها الفيزيائية والكيميائية، لكنها تتصف بسهولة ذوبانها في الماء، كما تتباين في سميتها قياساً إلى قدرتها على حماية الجنين في أثناء التجميد [17]. إن نجاح المادة الحافظة يتم غالباً بقياس قلة سميتها وقابليتها على النفاذ عبر أغشية الجنين وقدرتها على الذوبان في الماءفي أثناء التجميد [18]. لهذا تباينت النتائج المحصلة من استعمال المواد الحافظة المختلفة، فقد أظهرت المعاملة بالكليسيرول اختلافاً كبيراً وفرقاً واضحاً عن تلك الحاصلة من استعمال المادتين الأخرتين، فالميثانول يعد ذا نفوذية عالية لأغشية الأجنة وهو ذو سمية قليلة للأسماك [12]، إذ أشارت دراسة سابقة إلى أن دخول الميثانول إلى أجنة بعض أنواع أسماك السالمونيات كان سريعاً جداً ومع ذلك لم يطرأ أي تغيير في الحجم مع تغير التوازن الأزموزي [19].

إن مادة الكليسيرول الحافظة لها تأثير في نمو وتطور صغار أسماك التجربة مقارنة بمادتي DMSO والميثانول ولهذا التباين أسباب عديدة، إذ يتصف الكليسيرول بأنه بطيء الاختراق للخلايا كما أن إزالته من الخلايا تسبب إجهاداً أزموزياً لها [20] وهو أقل المواد الحافظة نفاذية، لذلك يتطلب مدة أطول فضلاً عن وزنه الجزيئي العالي [11] ومن الأضرار الأخرى لهذه المادة أنها تحدث انكماشاً واسعاً للخلية ثم تمدداً كبيراً لها، مما قد يسبب تغيرات واسعة في طبيعة البروتينات ومن ثم انخفاض حيوية الجنين قبل التجميد [21]. ربما لهذه الأسباب ولأسباب أخرى تتعلق بآلية هذه التقنية كان للكليسيرول التأثير الأكبر. أما مادة ثنائي مثيل الكبريت DMSO فتعد من أفضل المواد الحافظة لمعظم الخلايا، ربما بسبب السرعة المعتدلة لدخولها وخروجها من وإلى الجنين مقارنةً بالمواد الحافظة الأخرى لاسيما الكليسيرول والميثانول [10]. إن هذه الخاصية جعلتها من أكثر المواد المفضل استعمالها في الدراسات المتعلقة بالحفظ وبالتجميد العميق سواء كانت للسائل المنوي أو للأجنة [22]، فضلاً عن أن هذه المادة لا تتأثر كثيراً بدرجات الحرارة الواطئة وتفاعلها مع الدهون المفسفرة Phospholipids لغشاء الجنين وانخفاض سميتها [23].

ا شارت العديد من الدراسات المتعلقة بحفظ مختلف الأجنة إلى أن المادة الحافظة DMSO هي من المواد منخفضة السمية وربما يضاهيها في ذلك البروبايلين كلايكول PG، وهذا ما بينته دراسة سوزوكي وجماعته [24] حول العلاقة بين سمية هذه المادة وتركيزها في العديد من أجنة الأسماك. كما تطرقت دراسة آدم وجماعته [25] إلى تأثير

التجميد العميق باستعمال مادة DMSO على نشاط بعض الإنزيمات في أجنة الأسماك، فضلاً عن بعض الدراسات المتعلقة بأجنة أسماك الزيبرا ولمواضيع عديدة ومن جوانب مختلفة،مثل السمية والنفوذية [26 و 27] التي أستعملت فيها مادة DMSO بشكل أساسي.

المصادر

1- Leung, L. and Jamison. B.(1991) , Live preservation of fish gametes in Fish Evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. B. G. M. Jamison, editor. University Press, Cambridge, England. 231-244.

2- Rall,W.;Czlonkowska, M.; Barton, S. and Polge, C.(1984). Cryoprotection of day-4 mouse embryos by methanol. J. Rep. Fertil., 70: 293-300.

3- Bart, A. and Kyaw, H. (2003). Survival of zebra fish *Brachydanio rerio* embryo after immersion in methanol and exposure to ultrasound with implication to cryopreservation .Aqua. Res.
34: 609-612.

4- Zhang, T.; Liu, X. and Rawson, D.(2003). Effects of methanol and developmental arrest on chilling injury in zebra fish (*Danio rerio*) embryos .Theriogenology,59(7):1545-1556.

5- Zhang,T. and Rawson,D.(1996a). Feasibility studies on vitrification of intact zebra fish (*Brachydanio rerio*) embryos.Crybiology, 33: 1-13.

6- Kopeika,J.;Zhang,T.;Rawson,D.M. and Elgar,G. (2005). Effect of cryopreservation on mitochondrial DNA of zebra fish (*Danio rerio*) blastomere cells. Mutat. Res., 570 (1):49-61.

7- Janik,M.;Kleinhans, F.W. and Hagedorn, M.(2000).Overcomig a permeability barrier by microinjecting cryoprotectants into zebra-fish embryos (*Brachydanio rerio*). Cryobiology, 41: 25-34.

8- Hagedorn, M.; Lance, S.; Fonscca,D.; Kleinhans, F. and Artimov,D.(2002), Altering the membranes of fish embryo with aquaporine-3 :An essential step for cryopresrevation.Biol.Rep.,67:961-966.

9- Kusuda,T.; Teranishi,T.and Koide,R.(2002),Cryopreservation of chum salmon blastomeres by the straw method. Cryobiology, 45: 60-67.

10- Zhang,T.;Wang,R.;Bao,Q. and Rawson, D. (2006).Development of a new rapid measurement technique for fish embryo membrane permeability studies using impedance spectroscope . Theriogenology , 66 (4): 982 – 988.

11- Chao, N.H. and Liao, I.(2001), Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos . Aquaculture, 197: 161-189.

12- Harvey, B.(1983), Cooling of embryonic cells ,isolated blastoderms and ant -act embryos of zebra fish (*Brachydanio rerio*) to -196C .Cryobiology, 20: 440-447.

13- Ogier de Baulny ,B.;Le Vern , Y.; Kerboeuf , D. and Maisse, G.(1997). Flow cytometric evaluation of mitochondrial activity and membrane integrity in fresh and cryopreserved rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa , Cryobiology , 34 : 141 – 149 .

14- Leung , L. and Jamison , B. (1991) . Live preservation of fish gametes in

fish evolution and systematics : evidence from spermatozoa , B.G.M. Jameson editor , University press ,Cambridge , England , 231 – 244 .

15- Rall , W. ; Czlonkowska , M. ; Barton , S. and Polge , C . (1984) .
Cryoprotection of day – 4 mouse embryo by methanol , J. Repord , Fertile , 70 : 293 – 300 .

16- Anthony ,T.R. and Michael , R.C.(2001).Juvenile growth of native fishes in the little Colorado river and in a thermally modified portion of the Colorado river .North American Journal of fisheries management ,21:809 – 815 .

17- Chao, N.H. and Liao, I.,(2001). Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos . Aquaculture, 197: 161-189.

18-Holt,W.(2000).Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences .Theriogenology, 53:47-85.

19-Harvey,B. and Ashood-Smith,M.J.(1982),Cryoprotectant penetration and super cooling in the eggs of salmonid fishes. Cryobiology, 19:29 -40

20- Ashood-smith, M.J.(1986),The cryopreservation of human embryo. Human Reproduction, 1:319-332

21- Prudencio, B.; Yokoyama, E.; Zhu, S.; Yoshida, N.; Delgado, M. ; Valdez,j.; Tanaka, M.; Edashige, K. and Kasai, M.(2005), Permeability of mouse Oocytes and embryo at various developmental stage to five Cryoprotectant.J.Rep.and Development, 51(2):235-246.

22- Ogier de Baulny, B.; Le Vern. Y.; Kerboeuf, D. and Maisse, G. (1997),Flow cytometric evaluation of mitochondrial activity and membrane integrity in fresh and cryopreserved rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. Cryobiology, 34: 141-149.

23- Whittingham, D.(1977), Fertilization *in vitro* and development to term of unfertilized mouse oocytes previously stored at -196C. J. Rep. Fertile, 49:89-94.

24- Suzuki ,T.; Komada,H.and Takai ,R.(1995**)**, Relation between toxicity of cryoprotectant Me_2SO and its concentration in several fish embryos. Fisheries Science 61: 193-197.

25-Adam,M.;Rana,k.j. and McAndrew,J.(1995), Effect of cryo – Protectant on activity of selected enzymes in fish embryo .
Cryobiology , 32 : 92 – 104.

26- Hagedorn,M.;Hsu,E.;Kleinhans,F. and Wildt ,D.(1997), New approaches for studying the permeability of fish embryos: Toward successful cryopreservation.Cryobiology,34:335-342.

27- Zhang, T. and Rawson, D.(1996b)،Permeability of the vitelline membrane of zebra fish (*Brachydanio rerio*) embryos to methanol and propane-1,2-diol.Cryoletters, 17: 273-28

جدول (1) : قياسات نمو صغار اسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* الناتجة من اجنة معاملة بمادة DMSO في مرحلة ظهور العيون

المعاملات%	شهر أيار 2006		شهر حزيران 2006		شهر تموز 2006	
	معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)± الانحراف القياسيSD	معدل الوزن (غم)±الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)±الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ±الانحراف القياسي SD
control	0.181 ± 4.5	0.067± 2.7	0.185± 9.6	0.067± 48.3	0.073±14.1	0.042± 99.6
%5	0.1 ±3.8	0.067± 1.4	0.067± 7	0.042± 39.6	0.721± 13.4	1.187± 90.5
%10	0.185 ± 3.6	0.007±1.41	0.085± 7.2	0.067±40.1	0.286±12.1	0.717± 90.4
%15	0.091 ± 3.1	0.007± 1.44	0.042± 7	0.042± 39.3	0.541±10.8	0.789± 89.1
L.S.D بدرجة ثقة 99%** 95%*	غير معنوي	* 1.612	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي

جدول (2) : قياسات نمو صغار اسماك الكارب *Cyprinus carpio* الناتجة من اجنة معاملة بمادة Glycerol في مرحلة ظهور العيون

المعاملات%	شهر أيار 2006		شهر حزيران 2006		شهر تموز 2006	
	معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)± الانحراف القياسيSD	معدل الوزن (غم)±الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)±الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم)±الانحراف القياسي SD
control	0.181 ± 4.5	0.067±2.7	0.185± 9.6	0.067± 48.3	0.073±14.1	0.042± 99.6
%5	0.086 ±3.2	0.007±1.38	0.086±6.4	0.106±35.5	1.185±9.8	1.179±85.2
%10	0.079±3	0.007±1.31	0.086±6.4	0.1±35.5	1±10	1.042± 84.2
L.S.D بدرجة ثقة 99%** 95%*	2.4089**	0.6038**	2.4138**	1.6799**	7.5249*	16.205**

مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية المجلد24 (3) 2011

جدول (3) : قياسات نمو صغار اسماك الكارب *Cyprinus carpio* الناتجة من اجنة معاملة بمادة Methanol في مرحلة ظهور العيون

المعاملات%	شهر أيار 2006		شهر حزيران 2006		شهر تموز 2006	
	معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم)±الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم)±الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم)±الانحراف القياسي SD
Control	0.181 ± 4.5	0.067± 2.7	0.185± 9.6	0.067±48.3	0.073±14.1	0.042± 99.6
%5	0.067 ± 4.1	0.008±1.49	0.067± 7.3	0.274± 40.7	0.011± 11.5	1.079± 90.7
%10	0.178 ±3.6	0.008±1.46	0.067± 7.2	0.073±40.5	0.639± 11.5	0.865± 90.2
%15	0.042 ±3.8	0.004±1.4	0.067± 7	0.067± 39.1	0.639± 11.5	0.426± 90
L.S.D بدرجة ثقة **%99 *%95	غير معنوي	*1.7219	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي

جدول (4) : قياسات نمو صغار اسماك الكارب *Cyprinus carpio* الناتجة من اجنة معاملة بالمواد (Methanol , Glycerol , DMSO) في مرحلة ظهور العيون

المعاملات	التركيز %	شهر أيار 2006		شهر حزيران 2006		شهر تموز 2006	
		معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الطول القياسي (سم) ± الانحراف القياسي SD	معدل الوزن (غم) ± الانحراف القياسي SD
DMSO	%5	3.8 ± 0.1	1.4 ± 0.067	7 ± 0.067	39.6±0.042	13.4±0.721	90.5±1.187
	%10	3.6 ± 0.185	1.41±0.007	7.2 ± 0.085	40.1±0.067	12.1±0.286	90.4±0.717
	%15	3.1 ± 0.091	1.44±0.007	7 ± 0.042	39.3±0.042	10.8±0.541	89.1±0.789
Glycerol	%5	3.2 ± 0.086	1.38±0.007	6.4 ± 0.086	35.5±0.106	9.8±1.185	85.2±1.179
	%10	3 ± 0.079	1.31±0.007	6.4 ± 0.086	35.5±0.1	10 ± 1	84.2±1.042
Methanol	%5	4.1 ± 0.067	1.49±0.008	7.3 ± 0.067	40.7±0.274	11.5±1.011	90.7±1.079
	%10	3.6 ± 0.178	1.46±0.008	7.2 ± 0.067	40.5±0.073	11.5±0.639	90.2±0.865
	%15	3.8 ± 0.042	1.4 ± 0.004	7 ± 0.067	39.1±0.067	11.5±0.639	90±0.426
L.S.D بدرجة ثقة 99% ** بدرجة ثقة 95% *		غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي	غير معنوي

IBN AL- HAITHAM J. FOR PURE & APPL. SCI. VOL.24 (3) 2011

Comparison of Three Cryoprotectants on Growth of Small Carp Fish (*Cyprinus carpio* L.) After Hatching

M. J. Kadim, * A. S. Ibraheem, R. Hussean and N. M. Hilme
Department of Ministry of Science and Technology
*** Department of Biology College of Education Ibn Al-Haitham , University of Baghdad**
Received in:22 February 2010
Accepted in:10 May 2011

Abstract

The aim of this study is to determine the effect of cryoprotectants (Dimethyl sulfoxide, methanol and glycerol) on small carp fish *Cyprinus carpio* L. which resulted from treated embryos with thase substances in the appearance of eyed stage.

In the first month of study (May, 2006), there was a significant difference ($p < 0.05$) in weight of treated larvae with concentrations (5, 10 and 15%) of DMSO and methanol in comparison with control group, while there were no significant differences in the length and weight in (June and July 2006). Whereas, there were significant differences ($p < 0.01$) in length and weight of control and treated larvae with concentrations (5 and 10%) of glycerol within three months of study.

Key word : *Cyprinus carpio* , Larvae , Dimethyl sulfoxide , Methanol , Glycerol .