

مقاله علمی - پژوهشی:

بررسی رشد، زنده مانگی و بدشکلی ناشی از القاء تریپلوئیدی در ماهی قزل آلا رنگین کمان به وسیله شوک گرمایی

داود ضرغام^{*}، کمیل رزمی^۱، طیبه باشتی^۱

*Davoodzargham61@gmail.com

۱- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- مؤسسه مطالعات دریایی و قطب جنوب، دانشگاه تاسمانیا، استرالیا

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۰

چکیده

وقوع بلوغ جنسی معمولاً باعث کاهش نرخ رشد بدنی می‌شود که امری نامطلوب برای پرورش دهندگان است. یکی از راهکارهای کنترل این امر، تولید ماهیان عقیم می‌باشد. در تکنیک ایجاد ماهیان تریپلوئید، به عنوان یکی از روش‌های عقیم‌سازی، آگاهی از توان ماهی‌ها در تحمل شرایط پر استرس محیط پرورش و بررسی میزان رشد، بازماندگی و بدشکلی ناشی از شوک بسیار مهم می‌باشد. در تحقیق حاضر، ۳ تیمار برای القاء تریپلوئیدی با استفاده از شوک گرمایی در نظر گرفته شد. در تیمار A تخمها پس از گذشت ۳۰ دقیقه از لقاح به مدت ۱۵ دقیقه در آب با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در تیمار B شوک دهی ۲۰ دقیقه پس از لقاح، به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۲۶ درجه انجام گرفت و در تیمار C، شوک دهی ۴۰ دقیقه پس از لقاح، به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۲۸ درجه انجام شد. یک گروه نیز (D) به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بازدهی القاء تریپلوئیدی، در تیمار A برابر با ۸۴٪ و در تیمار B برابر با ۷۶٪ و در تیمار C برابر با ۹۸٪ به دست آمد. نتایج حاصل از ۱۰ مرحله بررسی رشد بچه ماهی‌ها، اختلاف معنی‌داری را تا ۲۰۸ روز پس از تخم‌گذاری از خود نشان نداد ($p \geq 0.05$). میزان بازماندگی ماهیان تیمارها نیز در ۷ مرحله مجزا مورد بررسی قرار گرفت که در مجموع، بازماندگی تیمار A برابر با ۶۶٪، بازماندگی تیمار B ۸۱٪، بازماندگی تیمار C ۷۲٪ و بازماندگی گروه شاهد ۸۶٪ به دست آمد. همچنین میزان لاروهای دارای بدشکلی و نقص ظاهری نیز از مرحله تخم‌گذاری تا شروع شنای فعال و تا رسیدن به وزن ۲۰۰ میلی‌گرم در تیمارهای تریپلوئید بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). در مجموع، میزان بدشکلی در تیمار A برابر با ۶/۵۱ درصد، در تیمار B برابر با ۷/۶۵ درصد، در تیمار C ۱۰/۷۵ درصد و در گروه شاهد ۰/۶ درصد به دست آمد ($p < 0.05$). در نهایت بالاترین میزان تریپلوئیدی و بدریختی ناشی از آن در تیمار C و بیشترین بازماندگی در تیمارهای آزمایشی در تیمار B مشاهده شد، ولی تفاوتی در رشد تیمارها مشاهده نگردید.

لغات کلیدی: تریپلوئید، قزل آلا، رنگین کمان، رشد، بازماندگی، بدشکلی *Oncorhynchus mykiss*

*نویسنده مسئول

مقدمه

وقوع بلوغ جنسی معمولاً باعث کاهش نرخ رشد بدنی می‌شود، زیرا انرژی حاصل از غذا به جای تولید لاشه به سمت تکامل گنادی منحرف می‌گردد. در ماهیان پرورشی، به دلیل وجود شرایط مناسب‌تر، بلوغ جنسی و تولیدمثل، زودتر از محیط‌های طبیعی اتفاق می‌افتد. با تولید ماهیان عقیم تا حدودی می‌توان این مشکلات را رفع نمود (Nascimento *et al.*, 2017). یکی از روش‌های عقیم کردن، از طریق القاء پلوئیدی (به‌خصوص تریپلوئیدی) می‌باشد. دلایل دیگری نیز مانند افزایش نرخ رشد یا ارتقاء کیفیت ارگانولپتیک برای این کار وجود دارد (Nell, 2002). القاء تریپلوئیدی در مهره‌داران پیشرفته‌تر، دشوارتر از بی‌مهرگان و مهره‌داران ابتدایی بوده و در برخی موارد ناممکن است. تولید جمعیت‌های تریپلوئید به دو روش مستقیم و غیر مستقیم انجام می‌شود. تریپلوئیدی به‌وسیله روش غیرمستقیم عمدتاً از طریق آمیزش اینترپلوئیدی امکان‌پذیر است که شامل آمیزش تخمک‌های معمولی با اسپرم نرهای تتراپلوئید می‌شود. القاء تریپلوئیدی به روش مستقیم در ماهیان، از طریق ایجاد اختلال در روند طبیعی تقسیم سلولی و ممانعت از خروج دومین گویچه قطبی در تخم لقاح یافته انجام می‌شود. توقف تقسیم سلولی، به روش‌های مختلف صورت می‌گیرد که شامل تیمارهای فیزیکی و شیمیایی است (Bencsik *et al.*, 2013). معمولاً روش‌های فیزیکی دارای موفقیت‌های بیشتری هستند و معمولاً برای تولید جمعیت تریپلوئید در ماهیان از این روش استفاده می‌شود. شوک حرارتی روشی آسان و ارزان است، ولی کنترل صحیح شوک چندان راحت نیست به‌طوری‌که تخمین اینکه تمام تخم‌های تحت درمان در هر مرحله، از نرخ یکنواخت و دمای مشابه برخوردار شده‌اند، دشوار است. شوک فشار هیدروستاتیک نیز شامل افزایش ناگهانی و زودگذر فشار بر تخم‌های لقاح یافته است. اولین تجربه‌های جهانی و داخلی در این زمینه را Benfey و همکاران (۱۹۹۹) بر ماهی آزاد اطلس و قزل‌آلای رنگین‌کمان و Piferrer و همکاران (۱۹۹۴) بر ماهی قزل‌آلا انجام دادند. در ایران نیز کلباسی و جوهری (۱۳۷۲) با استفاده از

شوک گرمایی قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلوئید تولید کرد. همچنین جدیدترین مطالعات در این موضوع را Pandey و همکاران (۲۰۲۱) بر رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، Oliver و همکاران (۲۰۲۰) بر ماهی کفشک و Jagiello و همکاران (۲۰۲۱) بر بدشکلی ماهی قزل‌آلای تریپلوئید پرواری انجام داده‌اند. موضوعی که در مبحث القاء تریپلوئیدی کمتر به آن توجه شده است، شرایط این نوع ماهیان در محیط‌های پرورشی و سیستم‌های مرسوم در مراکز پرورشی است. با توجه به اینکه این نوع از ماهی‌ها در مراحل ابتدایی زندگی دچار استرس شده‌اند، آگاهی از توان آنها در تحمل شرایط پر استرس محیط پرورش بسیار مهم خواهد بود. مطالعات مختلف خارجی و مطالعات معدود داخلی، میزان بازماندگی و رشد را در مراحل اولیه پس از تخم‌گشایی بررسی نموده‌اند. به همین دلیل، در این مطالعه بر عملکرد ماهی‌های قزل‌آلای تریپلوئید در شرایط پرورش تجاری، میزان رشد، بازماندگی و بدشکلی ناشی از شوک آنها تا ۲۰۸ روز پس از تخم‌گشایی تمرکز شده است.

مواد و روش کار

این مطالعه در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج انجام شد. تصویربرداری از لام‌های گسترش‌خونی توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ و با استفاده از نرم‌افزارهای مربوط به عکس‌برداری میکروسکوپی در بخش آسیب‌شناسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

نحوه تکثیر و شرایط انکوباسیون

تخم‌های سبز از ۱۰ عدد مولد ماده ۳ و ۴ ساله استحصال گردید. اسپرم‌ها نیز از ۱۲ عدد نر ۲ و ۳ ساله استحصال و با تخمک‌ها آمیخته شد. برای سهولت در عمل لقاح و تحریک اسپرم‌ها از مایع تخمدانی مولدین و آب مقطر استفاده شد (Hardey *et al.*, 2000). وزن تخم‌های مورد استفاده در این تحقیق ۱۲-۱۰ عدد در هر گرم بود. دبی تراف‌ها ۲/۵-۳/۰ لیتر بر ثانیه تنظیم گردید. همچنین

طراحی تیمارهای آزمایشی

برای این مطالعه سه تیمار آزمایشی هر کدام با سه تکرار به همراه یک تیمار شاهد طراحی گردید. تیمارها بر اساس آزمایش‌های معتبر و گزارش‌های موفق القاء تریپلوئیدی در قزل‌آلا طراحی گردید که جزئیات آنها در جدول ۱ ارائه شده است.

دمای آب پرورش ۱۱/۲-۱۰ درجه سانتی‌گراد، pH = ۸/۷-۱/۷، اکسیژن محلول خروجی تراف‌ها ۸/۸-۸/۲ میلی‌گرم بر لیتر و هدایت الکتریکی آب ۶۲۰-۵۹۰ میکروموس بر سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱: اطلاعات مربوط به تیمارهای آزمایشی

Table 1: Information on experimental treatments

منبع	دمای شوک‌دهی (درجه سانتی‌گراد)	مدت شوک‌دهی (دقیقه)	زمان شوک‌دهی (دقیقه پس از لقاح)	تعداد تخم سبز	تیمار
(Piferrer, 2001)	۲۷	۱۵	۳۰	۵۰±۱۳۲۰۰	A
(Piferrer, 2001)	۲۶	۲۰	۲۰	۵۰±۱۳۲۰۰	B
(Piferrer et al., 1994)	۲۸	۱۰	۴۰	۵۰±۱۳۲۰۰	C
	گروه شاهد (بدون شوک‌دهی)			۵۰±۱۳۲۰۰	D

بررسی رشد و زنده‌مانی لاروها

تا ۲۴ ساعت پس از لقاح، تمام تخم‌هایی که در پرورش القاء شوک از بین رفته یا تخمک‌هایی که بارور نشده بودند، از درون تراف‌ها جمع‌آوری، شمارش و ثبت گردید. پس از اتمام دوره شوک‌دهی تیمارها مستقیماً به تراف‌ها منتقل شدند و هر تیمار در چهار سبد تقسیم گردید و در تراکم ۳۳۰۰-۲۴۰۰ عدد تخم سبز در هر تراف نگهداری گردید (Behhke, 1992). به منظور حذف تاثیر شرایط محیطی، از طرح بلوک‌های تصادفی (RBD)^۱ برای چیدمان سبدها استفاده شد. لاروها تا وزن ۷۰۰-۵۰۰ میلی‌گرم در تراف و سپس در وان‌های ۸۰ لیتری نگهداری شدند. آغاز غذادهی از شروع شنای فعال و ۸ نوبت در طول روز با خوراک خارجی صورت گرفت. بعد از وزن ۵۰۰ میلی‌گرم تا زمان صید میزان غذادهی به میزان ۵ درصد از وزن بدن انجام شد. در این تحقیق، تلفات تیمارها در ۷ مرحله از رشد ثبت شد و در نهایت بازماندگی تیمارها مقایسه شد. میزان رشد وزنی تیمارها نیز از تخم‌گشایی تا وزن ۲۰ گرم در ۱۰ مرحله اندازه‌گیری و با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت.

پس از آمیختگی تخمک و اسپرم و در زمان مشخص شده برای هر تیمار، سبد تخم مربوط به هر تیمار آزمایشی در تانکی که قبلاً به‌وسیله چندین بخاری آکواریومی به دمای مورد نظر برای آن تیمار رسیده‌اند، غوطه‌ور شد. در طول مدت شوک‌دهی دمای آب تانک‌ها با دماسنج کالیبره شد و یک دستگاه مولتی‌متر کنترل می‌شد تا در طول زمان شوک‌دهی دمای مورد نظر حفظ شود.

روش تشخیص میزان پلوئیدی در تیمارها

ماهی‌های موجود در تیمارها تا وزن ۲±۲۰ گرم نگهداری و سپس ۵۰ قطعه از هر تیمار صید گردید و خونگیری از ساقه دمی انجام شد. سپس با استفاده از لام و لامل گسترش خونی تهیه و پس از رنگ آمیزی، بررسی با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ انجام شد. با استفاده از نرم‌افزارهای مربوط به عکس‌برداری میکروسکوپی، اندازه هستک گلبول‌های قرمز در نمونه‌ها بررسی و مقایسه شد. در نهایت از این طریق درصد پلوئیدی هر تیمار تعیین و مقایسه بین تیمارها انجام شد (زارعی و همکاران، ۱۳۹۶).

¹ Random Block Design (RBD)

نتایج

نتایج میزان پلوئیدی

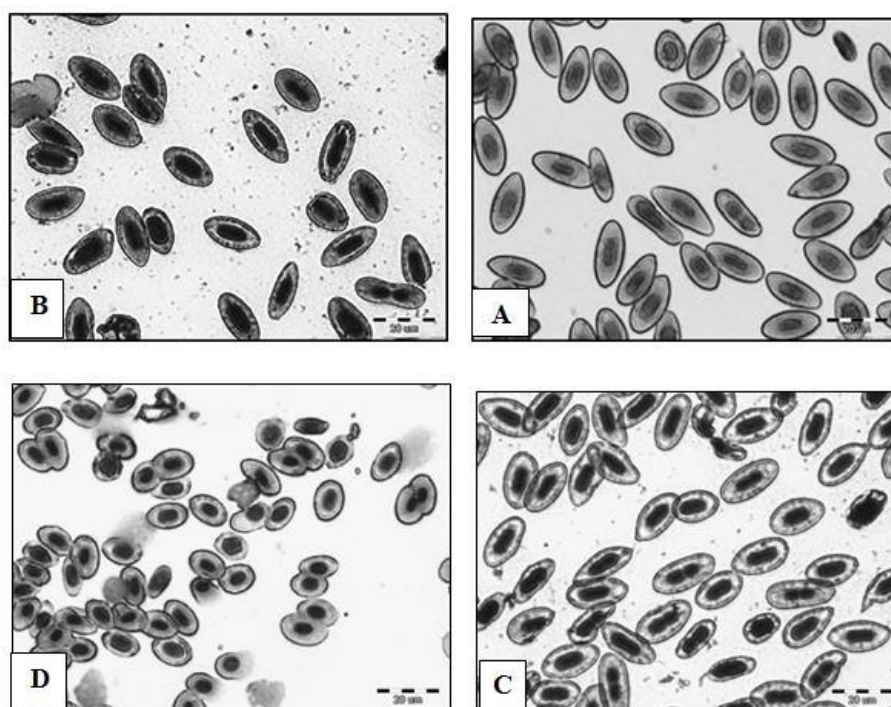
همان‌طوری که در جدول ۲ نشان داده شده است، تیمار C که ۴۰ دقیقه پس از لقاح به مدت ۱۰ دقیقه با دمای ۲۸

درجه سانتی‌گراد در معرض شوک حرارتی قرار گرفته بود، دارای بیشترین و تیمار آزمایشی B دارای کمترین جمعیت تریپلوئید بود (شکل ۱).

جدول ۲: تعداد ماهی‌های دیپلوئید و تریپلوئید در هر تیمار

Table 2: Number of diploid and triploid fish in each treatment

تیمار	A	B	C	D
تعداد ماهی	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰
تعداد تریپلوئیدها	۴۲	۳۸	۴۹	۰
درصد تریپلوئیدی	۸۴	۷۶	۹۸	۰



شکل ۱: تصویر گلبول‌های خونی تیمارهای آزمایشی (A, B, C) و گروه شاهد (D)

Figure 1: Image of blood cells of experimental treatments (A, B, C) and control group (D)

بازماندگی

بیشترین نرخ تلفات در این مطالعه مربوط به مرحله لقاح و اعمال شوک حرارتی تا کامل شدن فرآیند جنینی بود. در این مرحله تیمار A با ۲۶۳۰ عدد تخم تلف شده دارای کمترین میزان بازماندگی بود. دومین مرحله، از تخم‌گذاری تا شروع شنای فعال بود که تیمار C با تعداد

۱۰۲۰ عدد تخم چشم‌زده و لارو دارای کیسه‌زرده بیشترین و گروه شاهد یا D با ۳۰۰ عدد دارای کمترین تلفات بودند. از شروع شنای فعال تا وزن ۵۰۰ میلی‌گرم، تیمار C با ۲۰۰ عدد لارو بیشترین و گروه شاهد با ۴۰ عدد لارو از کمترین تلفات برخوردار بودند. از وزن ۵۰۰ میلی‌گرم الی ۲ گرم، گروه شاهد با ۳۰ عدد لارو بیشترین

رشد

در اولین مرحله از بررسی رشد تیمارها، لاروهای دارای کیسه زرده پس از تخم‌گذاری توزین شدند. در این مرحله، تیمار A با 0.09 ± 0.02 گرم دارای بیشترین میزان رشد بود و تفاوت معنی‌دار با شاهد داشت ($p < 0.05$). مرحله دوم توزین تیمارها ۱۲ روز پس از بیومتری اول و همزمان با شروع شنای فعال، مرحله سوم ۱۴ روز پس از شروع شنای فعال و ۲۵ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله چهارم همزمان با انتقال بچه‌ماهی‌ها به وان‌های پرورش و ۵۶ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله پنجم بیومتری، ۹۱ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله ششم ۱۱۶ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله هفتم ۱۲۳ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله هشتم ۱۵۴ روز پس از تخم‌گذاری، مرحله نهم ۱۸۲ روز پس از تخم‌گذاری و مرحله دهم توزین، ۲۰۸ روز پس از تخم‌گذاری انجام شد (جدول ۳).

و تیمارهای C و A هرکدام با ۱۵ عدد لارو دارای کمترین تلفات بودند. وزن ۵-۲ گرم، گروه شاهد (D) با ۲۰ عدد لارو بیشترین و تیمارهای C و A هرکدام با ۱۵ عدد لارو دارای کمترین تلفات بودند. وزن ۵-۱۰ گرم، گروه شاهد با ۲۲ عدد لارو بیشترین و تیمار B با ۱۴ عدد لارو از کمترین تلفات برخوردار بودند. آخرین نرخ فراوانی تلفات، وزن ۲۰-۱۰ گرم ثبت گردید که تیمار شاهد با ۲۱ عدد لارو دارای بیشترین و تیمار B با ۱۰ عدد لارو دارای کمترین تلفات بودند. در مجموع ۷ مرحله، بازماندگی تیمار A برابر با ۰.۶۶٪، بازماندگی تیمار B برابر با ۰.۸۱٪، بازماندگی تیمار C برابر با ۰.۷۲٪ و بازماندگی گروه شاهد (D) برابر با ۰.۸۶٪ به دست آمد.

جدول ۳: نتایج رشد تیمارهای آزمایشی در ۹ مرحله بیومتری (میانگین \pm انحراف معیار)Table 3: Growth results of experimental treatments in 9 biometric stages (average \pm sd)

تیمار	نوبت بیومتری								
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
A	۰/۰±۰۹/۰۰۲	۰/۰±۱۹/۰۰۵	۰/۰±۳۵/۰۰۲	۰/۰±۶/۰۰۳	۱/۰±۹/۰۰۹	۲/۰±۶/۲۶	۳/۰±۱۷/۳	۵/۰±۶/۴۳	۹/۰±۲/۵۸
B	۰/۰±۰۸/۰۰۱	۰/۰±۱۸/۰۰۲	۰/۰±۳۳/۰۰۹	۰/۰±۴۴/۰۳۱	۲/۰±۰۴/۲۹	۲/۰±۴/۲۹	۳/۰±۰۶/۲۶	۵/۰±۲/۳۷	۸/۰±۹/۵
C	۰/۰±۰۹/۰۰۲	۰/۰±۱۸/۰۰۸	۰/۰±۳۷/۰۰۵	۰/۰±۷۴/۰۳۵	۲/۰±۱۷/۳۶	۲/۰±۸/۲۵	۳/۰±۷۴/۳۲	۵/۰±۹/۵۲	۹/۰±۱/۴۶
D	۰/۰±۰۷/۰۰۱	۰/۰±۱۷/۰۰۳	۰/۰±۳۵/۰۱۲	۰/۰±۶۲/۰۰۴	۲/۰±۲/۳۷	۲/۰±۷/۲۳	۳/۰±۵/۴۴	۵/۰±۷/۴۶	۸/۰±۹/۴۸

به چهار نوع ستون فقرات، چشم‌ها، فک و ... (باله‌ها، کیسه زرده، سرپوش آبششی) تقسیم شد.

شکل ۱۳ نشان می‌دهد که از نظر کمی، تیمار C با لاروهای بدشکل دارای بیشترین میزان بدشکلی در بین تیمارهای آزمایشی بوده است و به طرز معنی‌داری با نرخ ثبت شده برای گروه شاهد D تفاوت داشت. میزان بدشکلی در تیمار A برابر با ۶/۵۱ درصد، در تیمار B برابر با ۷/۶۵ درصد، در تیمار C برابر با ۱۰/۷۵ درصد و در شاهد برابر با ۰/۶ درصد به دست آمد. همچنین تیمار C بیشترین و گروه شاهد دارای کمترین نرخ بدشکلی در ستون فقرات بودند (شکل ۱۴). میزان بدشکلی چشمی لاروهای تریپلوئید برای هر تیمار در شکل ۱۵ نشان داده شده

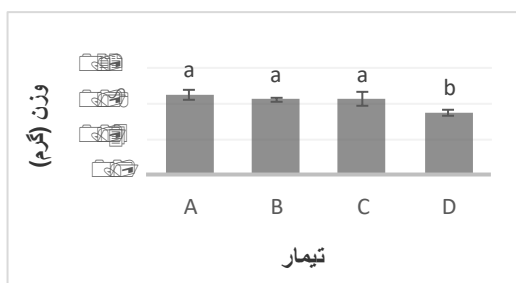
همچنین تغییرات میانگین وزن تیمارها در دوره های ۹ گانه جهت مقایسه بین تیماری در شکل‌های ۲ الی ۱۱ نشان داده شده است. حروف متفاوت در نمودارها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌هاست.

بدشکلی

بدشکلی تیمارها، از مرحله تخم‌گذاری تا شروع شنای فعال تا رسیدن به وزن ۲۰۰ میلی‌گرم از نظر کمی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱۲). به دلیل ناتوانی در دریافت غذا، تقریباً تمام لاروهای بدشکل پس از شروع شنای فعال از بین رفتند. بدشکلی از نظر کیفی در تیمارها

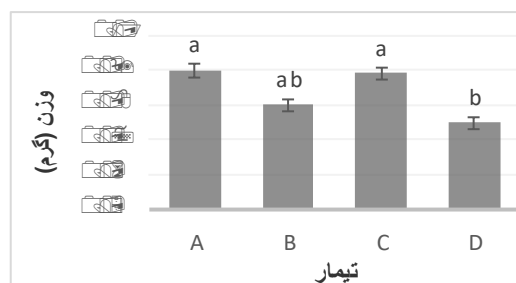
با ۱۶۰ لارو بدشکل، بیشترین میزان لارو بدشکلی در باله‌ها، کیسه زرده و سرپوش آبششی را داشته است (شکل ۱۶).

است. تیمار C با ۳۱۰ بیشترین و گروه شاهد با ۵ لارو، کمترین لارو بدشکل را ثبت کرده‌اند. میزان بدشکلی متفرقه (باله‌ها، کیسه زرده و سرپوش آبششی) در تیمار C



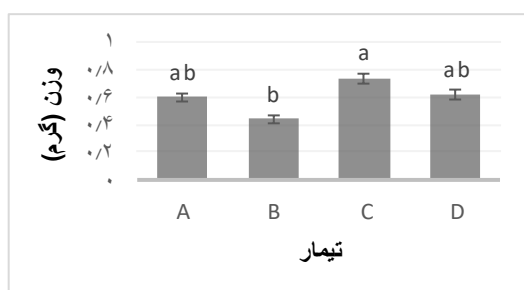
شکل ۳: وزن پس از شروع شنا فعال (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 3: Weight after active swimming (average \pm standard deviation)



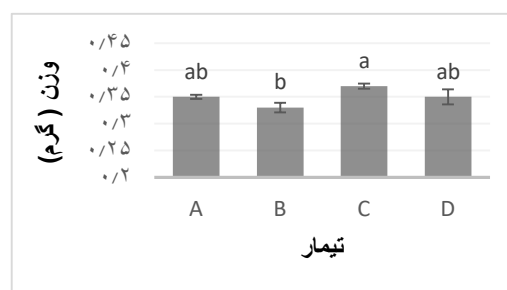
شکل ۲: وزن تیمارها پس از تخم‌گذاری (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 2: Weight of treatments after hatching (average \pm standard deviation)



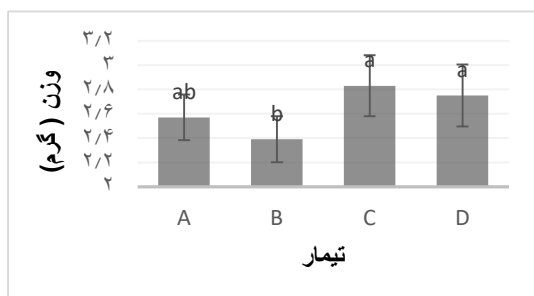
شکل ۵: وزن تیمارها در روز ۵۶ (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 5: Weight of treatments in day 56 (average \pm standard deviation)



شکل ۴: وزن تیمارها در روز ۲۵ (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 4: Weight of treatments in day 25 (average \pm standard deviation)



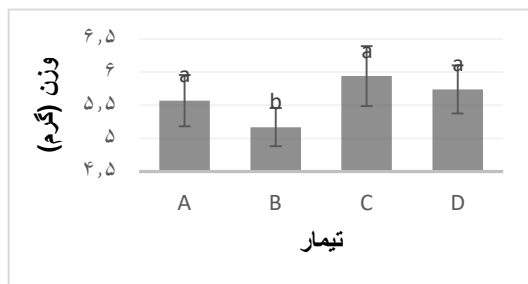
شکل ۷: وزن تیمارها در روز ۱۱۶ (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 7: Weight of treatments in day 116 (average \pm standard deviation)

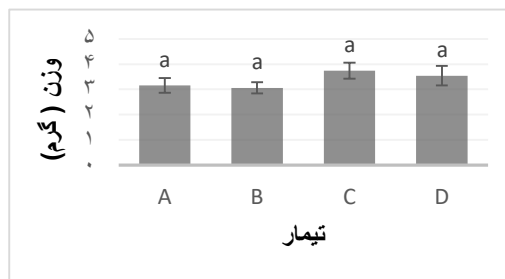


شکل ۶: وزن تیمارها در روز ۹۱ (میانگین \pm انحراف معیار)

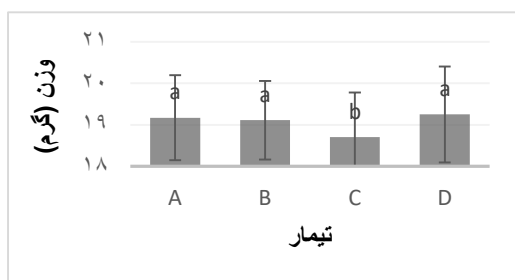
Figure 6: Weight of treatments in day 91 (average \pm standard deviation)



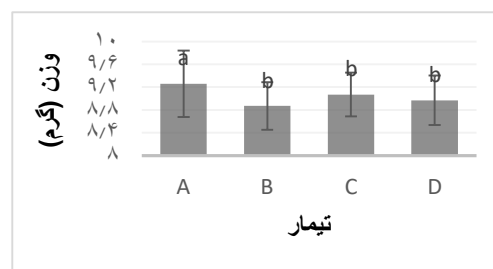
شکل ۹: وزن تیمارها در روز ۱۵۴ (میانگین \pm انحراف معیار)
Figure 9: Weight of treatments in day 154 (average \pm standard deviation)



شکل ۸: وزن تیمارها در روز ۱۲۳ (میانگین \pm انحراف معیار)
Figure 8: Weight of treatments in day 123 (average \pm standard deviation)



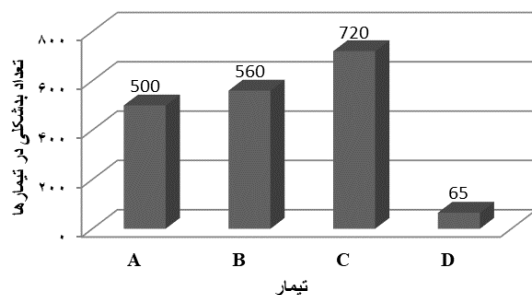
شکل ۱۱: وزن تیمارها در روز ۲۰۸ (میانگین \pm انحراف معیار)
Figure 11: Weight of treatments in day 208 (average \pm standard deviation)



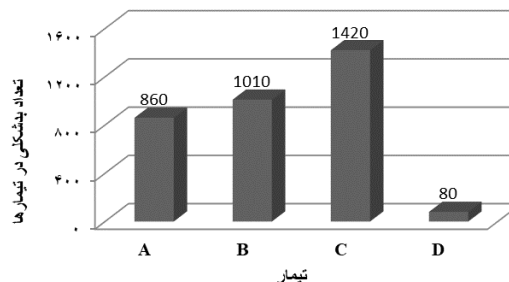
شکل ۱۰: وزن تیمارها در روز ۱۸۲ (میانگین \pm انحراف معیار)
Figure 10: Weight of treatments in day 182 (average \pm standard deviation)



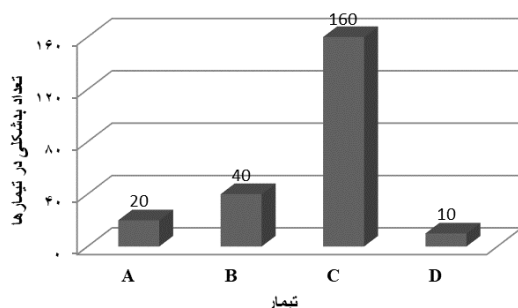
شکل ۱۲: انواع بدشکلی در تیمارهای آزمایشی. چشم‌ها (۱)، فک (۲)، ستون فقرات (۳) و لارو سالم (۴)
Figure 12: Types of deformities in experimental treatments. Eyes, jaws, soine and healthy larvae.



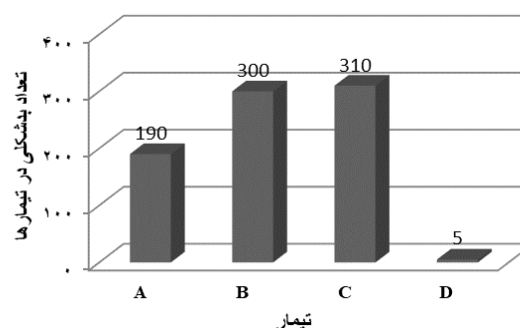
شکل ۱۴: مقایسه میزان بدشکلی در ستون فقرات در تیمارها
Figure 14: Comparison of spinal deformity in treatments



شکل ۱۳: مقایسه میزان بدشکلی در تیمارهای آزمایشی
Figure 13: Comparison of deformity in experimental treatments.



شکل ۱۶: مقایسه میزان بدشکلی متفرقه در تیمارها
Figure 16: comparison of other deformities in treatments



شکل ۱۵: مقایسه میزان بدشکلی چشمی در تیمارها
Figure 15: comparison of eye deformity in treatments

موضوع بررسی رشد ماهی‌های تریپلوئید، تحقیقات بر ماهی آزاد اقیانوس اطلس، قزل‌آلای پرورشی و گونه *Salvelinus alpinus* نشان می‌دهد که تریپلوئیدها تا قبل از سن بلوغ دارای رشد بالاتری نسبت به دیپلوئیدها نمی‌باشند (Wagner *et al.*, 2006). ایگدری و همکاران (۱۳۹۶) نیز الگوی رشد ماهیان تریپلوئید هیبرید فیل ماهی × تاس ماهی سیبری را بعد از روز ۲۵ تخمه‌گشایی، دارای الگوی ایزومتریک گزارش نمودند. در تحقیق حاضر نیز تفاوتی بین رشد تیمارهای مختلف تا ۲۰۸ روز پس از تفریح مشاهده نشد و از این نظر نتایج به‌دست آمده با نتایج ارائه شده از Wagner و همکاران (۲۰۰۶) مشابهت دارد. همچنین Meng و همکاران (۲۰۱۹) نیز تولید ماهیان تریپلوئید قزل‌آلا را راهکاری برای پرورش این ماهی تا سایزهای ۳-۵ کیلوگرمی بدون رشد گنادی بیان می‌کنند و تفاوت رشد را مربوط به دوران متأخر رشد

بحث

هدف اصلی این مطالعه آزمون امکان القاء تریپلوئیدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان نبوده است، زیرا گزارش‌های متعددی در این مورد به‌چاپ رسیده است. بدین ترتیب، تیمارهایی که برای این مطالعه در نظر گرفته شده از گزارش‌های معتبر و موفق القاء تریپلوئیدی در چند سال اخیر استخراج گردیده است. با این حال، نتیجه القاء تریپلوئیدی در تیمار C با ۹۸ درصد تریپلوئیدی، از بهترین نتیجه در مقایسه با سایر تیمارها و نیز تحقیق‌های مشابه داخلی برخوردار بود. گزارش‌های متعددی در مورد سه پارامتر لازم برای القاء تریپلوئیدی به‌وسیله شوک حرارتی (زمان شروع، درجه حرارت و مدت شوک‌دهی) در قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود دارد (بابا حیدری و همکاران، ۱۳۹۶؛ Solar *et al.*, 1984; Chourrout *et al.*, 1984; Thorgaard, 1986; Piferrer, 2001).

به دست آمده از Pandey و همکاران (۲۰۲۱) تفاوتی بین بازماندگی دو تیمار دیپلوئید و تریپلوئید نشان نمی‌دهد. به عنوان دلیل دیگر، برخی مطالعات نشان می‌دهد، زمان القاء شوک تریپلوئیدی نیز در تعیین نرخ بازماندگی موثر است. در خصوص بدشکلی در ماهیان تریپلوئید باید بیان نمود با توجه به تولید ماهیان تریپلوئید تجاری از دیدگاه بازاری پسندی، وقوع بدشکلی یک موضوع مهم در تولید این نوع ماهیان می‌باشد. Zanuy و همکاران (۱۹۹۴) دریافتند که تعداد زیادی از لاروهای بدشکل پس از القاء تریپلوئیدی در باس اروپایی به وجود می‌آید که پس از تخم‌گشایی از بین می‌روند. برخی از دانشمندان نیز معتقدند، عارضه بدشکلی فک پایین در ماهی آزاد اطلس تریپلوئید پیش از آنکه مربوط به القاء شوک به تخم‌ها باشد، ناشی از شرایط تریپلوئیدی است. اسحقزاده و همکاران (۱۳۹۱) دستکاری‌های دوران لاروی را جزو دلایل ظاهر شدن بدشکلی دانسته‌اند. القاء تریپلوئیدی بر اسکلت‌بندی، تارها و سرپوش آبششی تأثیر می‌گذارد و سطح آبشش را در افراد تریپلوئید کاهش می‌دهد. اما یافتن دلیل هر کدام از وقوع این عارضه‌ها (و اینکه آیا این نقصان‌ها به شرایط تریپلوئیدی مربوط است یا در نتیجه اعمال شوک می‌باشد)، غیرممکن به نظر می‌رسد. بدشکلی ستون فقرات در تریپلوئیدهای جوان و بالغ کم دیده می‌شود و بیشتر در مراحل ابتدایی تکامل قابل مشاهده است، زیرا بدشکلی در ستون فقرات باعث تأخیر در شروع شنای فعال و در حالات شدیدتر مانع از شنای لارو می‌شود و در نتیجه، باعث از بین رفتن در مراحل ابتدایی تکامل خواهد شد. به همین دلیل در مراحل بالاتر رشد این نوع بدشکلی کمتر مشاهده می‌شود. Jagiello و همکاران (۲۰۲۱) حدود ۴٪ انواع بدشکلی اسکلتی را در ماهی قزل‌آلای تریپلوئید حدود ۳۹ گرمی گزارش کردند. بدشکلی‌های گزارش شده خفیف بود و مانع ادامه حیات نمی‌شد. در ماهی آزاد اطلس نیز مقدار قابل توجهی از بدشکلی مربوط به آب مروراید و تارهای آبششی است. بنا به نظر Cotter و همکاران (۲۰۰۲) وقوع آب مروراید بیش از شرایط پلوئیدی، به کیفیت شوک‌دهی مربوط است. بنابراین، به نظر می‌رسد میزان بدشکلی‌های ثبت

می‌داند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین مطالعات Galbreath و همکاران (۱۹۹۴) و Cotter و همکاران (۲۰۰۲)، Taylor و همکاران (۲۰۰۷) بر گونه‌های مختلف نیز با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. Pandey و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که تفاوت رشد از دوره پروراری قابل مشاهده است. در خصوص بازماندگی، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد بازماندگی ماهیان تریپلوئید در شرایط پرورشی تا وزن ۵۰۰ میلی‌گرم تحت تأثیر شوک حرارتی بود و بعد از ۵۰۰ میلی‌گرم تلفات در تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. پس از شروع شنای فعال، لاروهای تریپلوئیدی که پس از شوک حرارتی زنده مانده بودند و توانایی دریافت غذا داشتند، از نظر بازماندگی با دیپلوئیدها تفاوت معنی‌داری نداشتند. در تایید این نتایج، مطالعات فراوان نشان داده است که بازماندگی اولیه گونه‌های تریپلوئید به دلیل پایین‌تر بودن زیست‌پذیری تخم‌ها، اختلال در تکامل جنینی و تخم‌گشایی لاروها تا شروع شنای فعال نسبت به دیپلوئیدها کمتر است. در پژوهش Cherfas و همکاران (۱۹۹۴) مقدار بازماندگی تریپلوئیدها در مقایسه با دیپلوئیدهای شوک‌دیده در مراحل اولیه رشد، برابر و در مقایسه با دیپلوئیدهای معمول، کمتر بود. این مشاهدات نشان می‌دهد، القاء شوک مهم‌ترین عامل مستقیم کاهش بازماندگی "در مراحل اولیه تکامل جنینی" بوده و ایجاد تریپلوئیدی به عنوان دلیل تلفات، در مرحله بعد قرار می‌گیرد. در مورد مراحل بالای رشد، بازماندگی تریپلوئیدها کمتر یا مشابه دیپلوئیدهاست. از سوی دیگر، هنگامی که ماهیان تریپلوئید، دیپلوئید شوک‌دیده و دیپلوئید شوک‌ندیده با هم و در یک محیط معمول پرورش به منظور پروراندی نگهداری می‌شوند، کاهش بازماندگی تریپلوئیدها در مقایسه با افراد دیپلوئید دیده می‌شود (Utter *et al.*, 1983). با این حال، مطالعات McGeachy و همکاران (۱۹۹۵) و Flajshans و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که سطوح پلوئیدی در مقدار بازماندگی تفاوت ایجاد نمی‌کند. بیشتر مطالعات بر این نکته دلالت دارد که پرورش توأم ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید باعث ایجاد اختلاف در بازماندگی آنها خواهد شد. با این حال، در نتایج

on erythrocytes dimensions. *Animal Science and Biotechnologies*, 46: 113-117.

Benfey, T.J., 1999. The physiology and behavior of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 7: 39-67. DOI:10.1080/10641269991319162

Cherfas, N.B., Gomelsky, B., Ben-Dom, N., Peretz, Y. and Hulata, G., 1994. Assessment of triploid common carp (*Cyprinus carpio*) for culture. *Aquaculture*, 127: 11-18. DOI:10.1016/0044-8486(94)90187-2

Chourrout, D., 1984. Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: production of all-triploids, all-tetraploids and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture*, 36: 111-126. DOI:10.1016/0044-8486(84)90058-9

Cotter, D., O'Donovan, V., Drumm, A. and Wilkins, N.P., 2002. Comparison of fresh water and marine performances of all-female diploids and triploid Atlantic salmon. *Aquaculture Research*, 33: 43-53. DOI:10.1046/j.1355-557X.2001.00643.x

Flajšhans, M., Kohlmann, K. and Ráb, P., 2007. Autotriploid tench *Tinca tinca* (L.) larvae obtained by fertilization of eggs previously subjected to post-ovulatory ageing in vitro and in vivo. *Journal of Fish Biology*, 71: 868-876. DOI:10.1111/j.1095-8649.2007.01557.x

شده در جمعیت‌های تریپلوئید به روش القاء تریپلوئیدی نیز بستگی دارد.

منابع

- اسحق زاده، ح.، ایگدری، س.، هادی‌پور، ب. و کاظمی، ر.، ۱۳۹۱. مقایسه شکل در پیش لاروهای سالم و تلف شده فیل ماهی (*Huso huso*) و الگوهای بد شکلی با استفاده از روش ریخت سنجی هندسی، مجله علمی شیلات ایران، ۲۱ (۲): ۱-۱۰.
- ایگدری، س.، بهرامی، م.، هادی‌پور، ب.، فرهمند، ح. و اسحق زاده، ح.، ۱۳۹۶. بررسی الگوهای رشد آلومتریکی در ماهی هیبرید تریپلوئید فیل ماهی (*Huso huso*) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) در مراحل اولیه تکوین، مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۱): ۴۳-۵۵.
- باباحیدری، ص.، کیوان شکوه، س.، درافشان، س. و جوهری، ع.، ۱۳۹۶. مقایسه میزان بازماندگی، رشد و پاسخ به تنش حمل و نقل در ماهیان دیپلوئید، تریپلوئید و تتراپلوئید قزل‌آلای رنگین‌کمان. پژوهش‌های ماهی‌شناسی، ۵ (۲): ۹۷-۱۱۶.
- زارعی، ث.، درافشان، س. و پیکان حیرتی، ف.، ۱۳۹۶. مورفولوژی گلبولهای قرمز بچه ماهیان آمیخته تریپلوئید، قزل‌آلای رنگین‌کمان و ماهی آزاد دریای خزر، فصلنامه علوم جانوری پیشرفته، ۱: ۳۱-۴۳.
- کلباسی، م. و جوهری، ع.، ۱۳۷۲. بررسی امکان تولید جمعیت تمام ماده تریپلوئید قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علوم آب و خاک، ۱۲ (۱): ۲۷۴-۲۶۹.

Behhke, R.J., 1992. Native trout of western North America. American Fisheries Society Press, Bethesda, MD.

Bencsik, I., Pacala, N., Dumitrescu, G., Dronca, D., Stanculet, J. and Petculescu, C., 2013. Triploidy determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) based

- Galbreath, P.F., Jean, W.S., Anderson, V. and Thorgaard, G.H., 1994.** Freshwater performance of all-female diploid and triploid Atlantic salmon. *Aquaculture*, 128(1-2), 41-49. DOI:10.1016/0044-8486(94)90100-7
- Hardey, R.W., Fornshell, T. B. and Brannon, E.L., 2000.** Rainbow trout culture. In R. R. Stickney, editor. *Encyclopedia of Aquaculture*. John & Sons, New York. pp. 716-722.
- Jagiello, k., Polonis, M. and Okalewics, K., 2021.** Incidence of skeletal deformities in induced triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 50(2): 150-159. DOI: 10.2478/oandhs-2021-0014
- McGeachy, S., Benfey, T.J. and Friars, G.W., 1995.** Freshwater performance of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) in New Brunswick aquaculture. *Aquaculture*, 137: 333-341. DOI:10.1016/0044-8486(95)01100-5.
- Meng, Y., Han, B., Li, C., Qian, K., Liu, X., Hu, X. and Ma, R., 2019.** Digestive characteristics and blood chemistry profile of triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: influence of body size and seasonal variation. *Fisheries Science*, 85:1001-1010, DOI:10.1007/s12562-019-01348-6
- Oliver, L.P., Ma, J., Bruce, T.J., Evavold, J.T., Korbek, D.B. and Cain, K.D., 2020.** Triploid induction in cultured burbot (*Lota lota*) using thermal and hydrostatic shock. *Aquaculture*, 515, 734582.
- Nascimento, N.F., Pereira-Santos, M., Piva, L.H.; Manzini, B.; Fujimoto, T., Senhorini, J.A., Yasui, G.S. and Nakaghi, L.S.O., 2017.** Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. *Aquaculture*, 471:163-171. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.01.007.
- Nell, J.A., 2002.** Farming triploid oysters. *Aquaculture*, 210: 69-88. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00861-4
- Pandey, N., Vishvakarma, B.K., and Sharma, S., 2021.** Comparative growth performance of diploids and triploids rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(2): 1120-1123.
- Piferrer, F., 2001.** Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197(1-4), 229-281.
- Piferrer, F., Benfey, T.J. and Donaldson, E.M., 1994.** Gonadal morphology of normal and sex-reversed triploid and gynogenetic diploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Journal of Fish Biology*, 45, 541-553. DOI:10.1111/j.1095-8649.1994.tb00923.
- Solar, I.I., Donaldson, E.M. and Hunter, G.A., 1984.** Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, 42(1), 57-67. DOI:10.1016/0044-8486(84)90313-2.

- Taylor, J.F., Needham, M.P., North, B.P., Morgan, A. and Migaud, H., 2007.** The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 152: 314–325. DOI:10.1016/j.ygcen.2007.02.029
- Thorgaard, G.H., 1986.** Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57: 57–64.
- Utter, F.M., Johnson, O.W., Thorgaard, G.H. and Rabinovitch, P.S., 1983.** Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon. *Aquaculture*, 35: 125–135. DOI:10.1016/0044-8486(83)90080-7.
- Wagner, E.J., Arndt, R.E., Routledge, M.D., Latremouille, D. and Mellenthin, R.F., 2006.** Comparison of hatchery performance, agonistic behavior, and poststocking survival between diploid and triploid rainbow trout of three different Utah strains. *North American Journal of Aquaculture*, 68(1), pp.63-73.
- Zanuy, S., Carrillo, M., Blázquez, M., Ramos, J., Piferrer, F. and Donaldson, E.M., 1994.** Production of monosex and sterile sea bass by hormonal and genetic approaches. *Publications and Associated Developing Aquaculture*, 119: 409–423.

Evaluation of growth rate, survival and deformity due to triploid induction in Rainbow trout by heat shock

Zargham D.^{1*}; Razmi K.²; Bashti T.¹

*davoodzargham61@gmail.com

1-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

2-Institute of Marine and Antractic Studies, University of Tasmania, Australia.

Abstract

The occurrence of puberty usually slows down the body's growth rate because the energy from the food is diverted to gonadal development instead of muscle production. By producing sterile fish, these problems can be solved. One method of sterilization is through ploidy induction (especially triploid). Given that these triploid fish are stressed in the early stages of life, it is important to be aware of their ability to withstand the rearing environment's stressful conditions and assess the rate of growth, survival and deformity caused by shock. 3 treatments were considered for the triploidy inducing in this study. In treatment A, the eggs were placed in water at 27° C for 15 minutes after fertilization for 30 minutes. In treatment B, shock was performed 20 minutes after fertilization for 20 minutes at 26° C and in treatment C, shock 40 minutes after fertilization was performed for 10 minutes at 28° C. A treatment with 13,200 eggs was considered as Control Group (D). The efficiency of triploid induction was 84% in treatment A, 76% in treatment B and 98% in treatment C. The results of 10 stages of juvenile growth study did not show a significant difference until 208 days after hatching ($p \geq 0.05$). The fish survival of the treatments was examined in 7 separate stages. In total, the survival of treatment A was 66%, the survival of treatment B was 81%, the survival of treatment C was 72% and the survival of Control group was 86%. Also, the number of larvae with deformity and appearance defects from the hatching stage to the beginning of active swimming and reaching a weight of 200 mg were examined quantitatively and qualitatively. In total, the malformation rate in treatment A was equal to 6.51%, in treatment B was equal to 7.65%, in treatment C was 10.75% and in Control group was 0.6% ($p < 0.05$).

Keywords: Triploid, Rainbow trout, Deformity, Survival, Growth, *Oncorhynchus mykiss*

*Corresponding author