دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره دوم، تابستان ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

تأثیر ماده‌زایی با اشعه گاما بر شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

غلامرضا شاه‌حسینی*[۱]، مهدی سلطانی[۲]، علی طاهری میرقائد[۳]، اشکان زرگر[۴]

[۱]استادیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران
[۲]استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳]دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۴]استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۲/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۴

چکیده

امروزه تولید جمعیت تمام ماده ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان از اهمیت زیادی برخوردار است. برای تولید ماهیان تمام ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در ابتدا اسپرم استحصال و سپس با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری پرتو گاما ساطع شده از کبالت ۶۰ پرتودهی گردید. در مرحله بعد لقاح با استفاده از دزهای مختلف اسپرم و تخمک عادی صورت گرفته و در جهت دیپلوئید نمودن تخمک هاپلوئید از شوک حرارتی ($۲۸\pm۰/۵^{oC}$) استفاده شد. پس از تفریخ کلیه گروه‌های آزمایشی برای سنجش شاخص‌های خون‌شناسی، بیوشیمیایی و ایمنی‌شناسی تا زمان مناسب خونگیری تحت یک دوره پرورشی ۶ ماهه قرار گرفتند. شاخص‌های خون‌شناسی شامل MCV، MCH، MCHC، گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت، هموگلوبولین، بیوشیمیایی شامل کلسترول، تریگلیسیرید و آلبومین و ایمنی‌شناسی سرم شامل پروتئین کل، لیزوزیم و ایمنوگلوبولین اندازه‌گیری شد. برای مطالعات بیشتر ایمنی‌شناسی (MMCs و تجمع لنفوسیت‌ها) از قسمت قدامی بافت کلیه گروه‌ها نمونه‌برداری صورت پذیرفت. این نتایج نشان داد که ماده‌زایی با استفاده از پرتو گاما روی شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گروه‌های مختلف تأثیرگذار نبود. این در حالی است که عوامل خون‌شناسی شامل هماتوکریت، همو گلوبولین، حجم گلبول قرمز، MCH و MCHC بین تیمار تریپلوئید و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با توجه به نتایج حاصل می‌توان از این روش بدون تغییرات منفی در شاخص‌های ایمنی‌شناسی و خون‌شناسی برای ماده‌زایی این‌گونه ماهی استفاده کرد.

***واژه‌های کلیدی:* *O. mykiss*، پرتو گاما، ماده‌زایی، خون‌شناسی، ایمنی‌شناسی**

*مسئول مکاتبه: gshahhosseini@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

مقدمه

امروزه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در جهان در بین آزادماهیان پرورشی پس از آزادماهی اطلس بیشترین سهم پرورش را به خود اختصاص می‌دهد. بلوغ جنسی در این ماهی همراه با بروز خصوصیات ثانویه جنسی می‌باشد که به‌طور معنی‌داری ارزش اقتصادی آن را کاهش می‌دهد (Yamamoto, 1999). تحت تأثیر بلوغ زودرس جنسی در جنس نر این خانواده در زمان برداشت ماهی میزان تولید کاهش پیدا می‌کند (Komen and Thorgaard, 2007). با توجه به افزایش زمان بلوغ جنسی در آزاد ماهیان تولید جنس ماده می‌تواند این ضرر اقتصادی را کاهش دهد (Komen and Thorgaard, 2007).

روش‌های زیادی برای تولید جمعیت تمام ماده ماهیان استفاده می‌گردد. روش‌های مهندسی کروموزومی امروزه به‌طور وسیعی در ماهیان گسترش پیدا کرده است (Kono *et al.*, 2004). برای انجام ماده‌زایی (تولید جمعیت تک جنس ماده) در ماهیان ابتدا تخریب ژنوم اسپرم با استفاده از پرتودهی صورت می‌گیرد، نقش اسپرم در لقاح با استفاده از این روش تنها به‌عنوان یک عامل فعال‌کننده در جهت خروج گویچه قطبی دوم می‌باشد (Sheehan *et al.*, 1999). در مرحله بعد برای القای دیپلوئیدی از شوک فیزیکی و یا شیمیایی استفاده می‌شود (Kato *et al.*, 2001a).

در قزل‌آلای رنگین‌کمان با اشعهٔ گاما جنین‌های هاپلوئید به‌دست آمد و به دنبال آن با استفاده از شوک حرارتی جنین‌های دیپلوئید حاصل گردید. استفاده از اشعهٔ UV جهت ماده‌زایی به‌وسیله محققین بسیاری انجام گرفت (Kato *et al.*, 2001a). در ایران ماده‌زایی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از پرتو UV صورت گرفته است. همچنین از پرتو گاما جهت ماده‌زایی ماهی کپور معمولی استفاده شده است (Omoto *et al.*, 2005). تحقیقات ثبت شده موید آن است که با ایجاد جمعیت تمام ماده ضمن افزایش رشد، تولید ماهیان مولد ماده که رکن اساسی در تکثیر مصنوعی ماهیان می‌باشد، افزایش می‌یابد (Omoto *et al.*, 2005).

جهت تولید اووسیت دیپلوئید مکانیسم‌های گوناگونی وجود دارد. شوک‌های فیزیکی مورد استفاده در این روش معمولاً شامل شوک فشار و دمایی (سرما و گرما) می‌باشد (Kato *et al.*, 2001b). ماده‌زایی در طبیعت نیز اتفاق می‌افتد. ماهی مولی آمازون و کاراس از جمله گونه‌های طبیعی ماهیان ماده‌زا می‌باشند (Yamashita *et al.*, 1993). در این گونه‌ها اووسیت دیپلوئید و یا تریپلوئید با اسپرم همولوگ و یا اسپرم هترولوگ گونه‌های با نسبت نزدیک تولید می‌گردد (Yamamoto, 1999). یکی از راه‌های تولید جمعیت تمام ماده در آزاد ماهیان عقیم‌سازی اسپرم با استفاده از پرتو گاما ساتع شده از کبالت ۶۰ یا سزیم ۱۳۷ می‌باشد (Kato *et al.*, 2001b). تأثیر پرتو گاما بر محتوی وراثتی اسپرم ماهی را می‌توان بدین شرح توضیح داد که در اثر فرآیند یونیزاسیون در سلول رادیکال‌های مثبت و الکترون‌های آزاد تولید می‌گردد. ژنوم اسپرم در اثر برخورد ذرات پرتو شکسته شده و به قطعاتی تبدیل می‌گردد. به‌علاوه رادیکال‌های فعال

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

حاصل از فرآیند یونیزه کردن نیز با DNA واکنش نشان می‌دهند (Kato *et al.*, 2001a).

سیستم ایمنی ماهیان نسبت به پستانداران ابتدایی‌تر می‌باشد و همانند پستانداران به قسمت‌های مختلف اختصاصی، ابتدایی و غیر اختصاصی تقسیم‌بندی می‌گردد (Hordvik Hashimoto *et al.*, 1990; *et al.*, 1993; Koppang *et al.*, 1998; Marsden *et al.*, 1996;). واکنش‌های سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهیان می‌تواند به‌عنوان اولین مکانیسم دفاعی در برابر عوامل خارجی از جمله با کتری، قارچ و ... مطرح باشد که شامل سیستم دفاع غیر اختصاصی سلولی و خونی می‌باشد (Van Van Zelikoff, 1994; Muiswinkel *et al.*, 1991). تیموس، طحال و کلیه از جمله ارگان‌های اصلی مطرح در سیستم ایمنی ماهیان می‌باشند. کلیه به‌عنوان یک ارگان چند کاربرده در ماهی می‌تواند در ایمنی فعالیت داشته باشد. این اندام به ۲ قسمت قدامی و انتهایی تقسیم‌بندی می‌شود. بخش قدامی کلیه شامل قسمت‌های اصلی بافت‌های لنفوئید و خونساز می‌باشد (Van Muiswinkel *et al.*, 1991 ;Zelikoff, 1994). ملانوماکروفاژها گروه متمایزی از سلول‌های رنگدانه‌دار در بافت‌های خون‌ساز کلیه و طحال می‌باشند (Wolke, 1992). قسمت قدامی کلیه تولیدکننده اصلی آنتی‌بادی و تجمع مالانوماکروفاژها است که بافت قادر به حفظ آنتی ژن برای مدت زمان طولانی پس از تزریق یا واکسیناسیون می‌باشد که احتمالاً نقش مهمی در حافظه ایمونولوژیک دارد (Brattgjerd and Herraez and Zapata, 1986; Lamers and Haas, 1985; Tsujii and Seno, 1990; Evensen, 1996).

با توجه به این‌که اطلاعات زیادی راجع به تأثیر دستکاری‌های کروموزومی از جمله ماده‌زایی و القای تریپلوئیدی روی سیستم ایمنی ماهیان وجود ندارد و از طرفی در دستکاری‌های کروموزومی کلیه تغییرات باید مورد بررسی قرار گیرد و با توجه به اهمیت سیستم ایمنی ماهیان هدف از انجام این تحقیق مطالعه تأثیر ماده‌زایی با دزهای مختلف روی این سیستم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

مواد و روش‌ها

ابتدا ۵ مولد ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (۴۷ سانتیمتر با وزن ۱/۸ کیلوگرم) و ۵ مولد نر (۴۹ سانتیمتر با وزن ۱/۵ کیلوگرم) ۳ تا ۴ ساله معمولی (GG) و همچنین ۲ مولد طلایی ماده (۳ساله) با ژنوتیپ ($G'G'$) جهت تکثیر از مزرعه تکثیر و پرورش آناتوس لاسم انتخاب و به محل پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای منتقل گردید. پس از انتقال مولدین درون مخازن ۱۰۰۰ لیتری قرار گرفت و تا رسیدگی کامل جنسی به مدت دو هفته تغذیه و نگه‌داری و با شرایط سازگار شدند. اسپرم با فشار به ناحیه شکمی از مولدین نر جمع‌آوری و شاخص‌های کیفی آن توسط میکروسکوپ (مدت زمان تحرک اسپرم‌ها) بررسی شد. پس از حصول اطمینان از کیفیت آن‌ها جهت غیرفعال‌سازی ژنتیکی اسپرم، اسپرم‌های اخذ شده با محلول رقیق‌کننده ($NaCl=1.204$, $KCL=0.596$, $MgSO_4=0.039$,

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

(Wolke, 1992) ($CaCl_2$= 0.22, Hepes=0.953, pH=7.1, به نسبت ۱ به ۴ رقیق‌سازی شده و درون فالکون ریخته شد و در شرایط کنترل شده (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از پرتو گاما حاصل از کبالت ۶۰ (Gamma cell PX-30-ISSIE) ساخت کشور روسیه با دز ۰/۱۵۶ گری بر ثانیه با دزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری به صورت جداگانه پرتودهی شدند. در مرحله بعد لقاح به صورت خشک با مخلوط نمودن تخمک و اسپرم (با نسبت ۱-۰/۵ میلی‌لیتر اسپرم برای هر ۱۰۰۰ قطعه تخمک در دزهای مختلف) انجام شد. به‌منظور دیپلوئید نمودن جنین‌های هاپلوئید، تخم‌های لقاح یافته ۲۰ دقیقه بعد از لقاح (مرحله حساس القای دیپلوئیدی)، به‌مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر شوک حرارتی (حمام آب گرم با دمای ۰/۵±۲۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. در مرحله بعد لقاح به‌صورت خشک با مخلوط نمودن با نسبت ۱-۰/۵ سی سی اسپرم برای هر ۱۰۰۰ قطعه تخمک انجام شد.

پس از اعمال شوک تخم‌ها به سیستم مدار بسته پرورش تخم‌ماهی با دمای ۱۱°C منتقل و جهت ادامه تکامل مراحل جنینی تا زمان تفریخ و جذب کیسه زرده درون این انکوباتور نگه‌داری شدند. به منظور بررسی شرایط بهینه لقاح یک گروه به‌عنوان شاهد، بدون استفاده از پرتوتابی و شوک حرارتی در نظر گرفته شد. برای بررسی جداگانه تأثیر دما بر عدم خروج گویچه قطبی دوم و القای تریپلوئیدی، اسپرم و تخمک عادی لقاح داده شده و سپس برای اعمال شوک حرارتی بلافاصله در سیستم چرخشی شوک حرارتی ۰/۵±۲۸ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه درون سبدهایی غوطه‌ور و القای تریپلوئیدی شدند. از تخمک ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان طلایی نیز به‌عنوان نشان‌گر رنگ در قالب یک تیمار آزمایشی استفاده گردید.

پس از تفریخ و جذب کیسه زرده لاروها به سبدهای کدگذاری شده درون تراف‌های موجود در سالن تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی منتقل و با شروع شنای فعال توسط خوراک استارتر مخصوص لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد تغذیه قرار گرفتند. در مرحله بعد (وزن ۱ گرم) ماهیان گروه‌های مختلف با ۳ تکرار به مخازن ۱۰۰ لیتری پرورش ماهیان منتقل شدند (n=۱۰۰).

در این دوره پرورشی شرایط کیفی آب شامل pH: ۷/۸، دما: ۱۴/۵ درجه سلسیوس و اکسیژن محلول: ۸/۵ میلی‌گرم در لیتر در گروه‌های مختلف آزمایشی اندازه‌گیری شد. همچنین دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی در طی دوره پرورشی برای کلیه تیمارها در نظر گرفته شد.

پس از گذشت ۶ ماه ماهیان تیمارهای مختلف به وزن تقریبی ۷۶/۵ گرم (وزن مناسب نمونه برداری خون) رسیدند. سپس از هر واحد آزمایشی ۵ قطعه ماهی، به‌صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی در پودر گل میخک (۲۵۰ میلی‌گرم) (Hoseini and Ghelichpour, 2012)، با استفاده از سرنگ از سیاهرگ دمی آنان خونگیری به عمل آمد، در این مرحله برای جداسازی سرم و سنجش شاخص‌های بیوشیمیای و ایمنی‌شناسی سرم ماهی نمونه‌های خون به‌دست آمده با سانتریفیوژ

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

یخچال‌دار به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ rpm جداسازی و سرم حاصل از آن در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

برای مطالعات خون‌شناسی، از کلیه نمونه‌ها همزمان با خونگیری گسترش خونی تهیه شد و پس از خشک شدن در معرض هوا توسط متانول تثبیت و در گیمسای ۱۰ درصد به‌مدت ۴۵ دقیقه غوطه‌ور و رنگ‌آمیزی شد. از لام‌های تهیه شده در این مرحله برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل) استفاده گردید. همچنین میزان هماتوکریت و هموگلوبولین نیز در کلیه گروه‌های آزمایشی اندازه‌گیری شد. شاخص‌های خون‌شناسی شامل هموگلوبولین (کیت سنجش هموگلوبولین شرکت پارس آزمون با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر)، هماتوکریت (با استفاده از میکروسانتریفیوژ)، تعداد گلبول‌های قرمز و تعداد گلبول‌های سفید (با استفاده از لام نئوبار) و در پایان شاخص‌های MCV، MCH، MCHC با استفاده از فرمول‌های زیر اندازه‌گیری شد.

$$MCV = Ht \times \frac{1000}{RBC}$$

$$MCH = Hb \times \frac{10}{RBC}$$

$$MCHC = \frac{Hb}{Ht}$$

شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی‌شناسی: پروتئین کل، کلسترول، تری‌گلیسیرید و آلبومین سرم با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه Auto Analyzer مدل Reflotron Plus (Roche, Mannheim, Germany) اندازه‌گیری شد.

مقدار ایمونوگلوبولین کل مبتنی بر میزان پروتئین کل در سرم ماهی بود. با استفاده از روش تعیین پروتئین قبل و پس از رسوب دادن مولکول ایمونوگلوبولین با به کارگیری یک محلول ۱۲ درصد پلی اتیلن گلیکول (Siwicki and Anderson, 1993) و در نهایت تفاوت بین مقدار پروتئین به‌عنوان میزان IG در نظر گرفته شد. فعالیت لیزوزیم بر مبنای عملکرد باکتری گرم مثبت حساس به لیزوزیم *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) تعیین شد. به‌طور خلاصه، در حضور رقت‌های استاندارد بر مبنای یک دوم سفیده تخم‌مرغ (Sigma, USA) به‌عنوان لیزوزیم اندازه‌گیری شد (Kim and Austin, 2006) و فعالیت کمپلمان با استفاده از سلول‌های گلبول قرمز خون خرگوش مورد سنجش قرار گرفت (Yano, 1992).

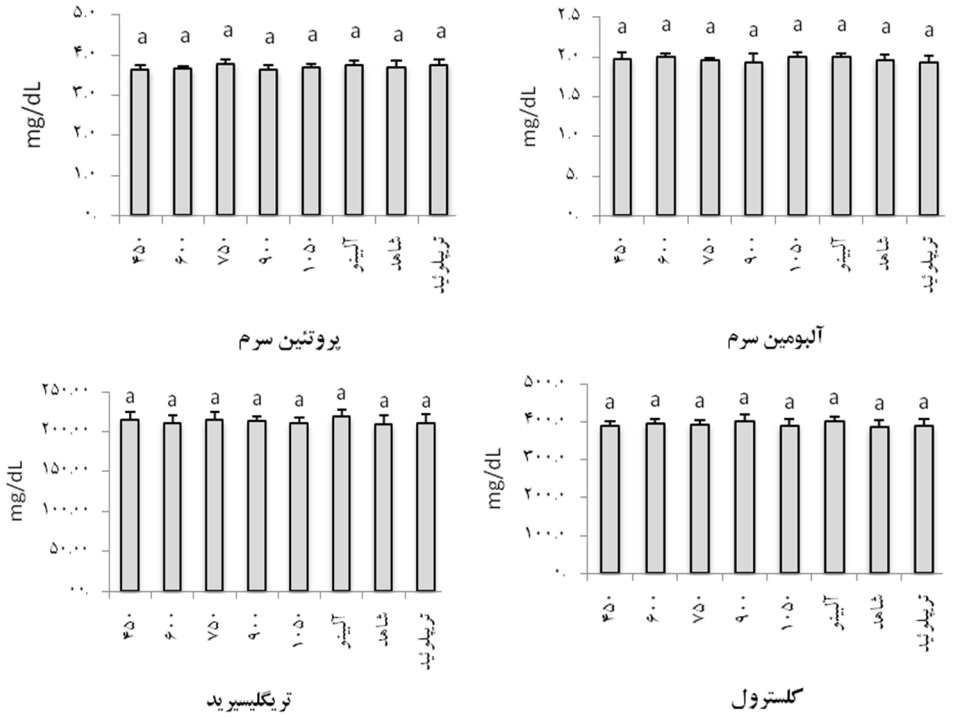
بافت‌شناسی: در مرحله بعد از ماهیان واحدهای مختلف آزمایشی کالبدگشایی انجام شده و جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی ایمنی قسمت قدامی کلیه جداسازی و درون فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید. ۲۴ ساعت بعد از نمونه‌برداری فرمالین نمونه‌ها تعویض و جهت بررسی ایمنی‌شناسی بلافاصله به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شدند. برای رنگ‌آمیزی بافت‌های کلیه از روش (H&E) استفاده شد (Jalabert, 2005).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف بررسی شد. از تجزیه واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین داده‌ها و برای سطح معنی‌داری در بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده نرم‌افزار SPSS 17 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

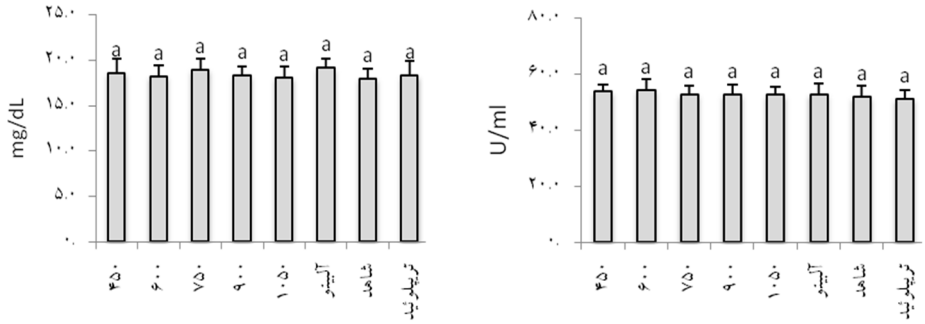
سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی: نتایج حاصله از آنالیز آماری فاکتورهای بیوشیمیایی (تری‌گلیسیرید، پروتئین، کلسترول و آلبومین) هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان نداد ($p>0.05$) (شکل ۱).



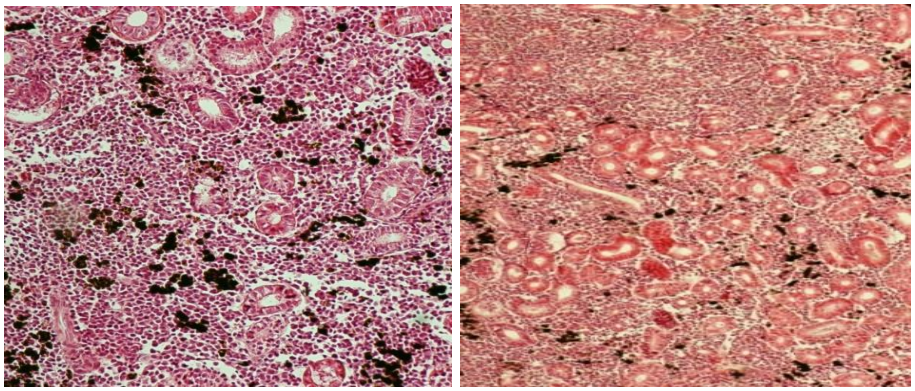
شکل ۱- مقایسه میانگین نتایج حاصله از آنالیز آماری فاکتورهای بیوشیمیایی (تری‌گلیسیرید، پروتئین، کلسترول و آلبومین) قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

سنجش شاخص‌های ایمنی‌شناسی: همچنین نتایج حاصله از آنالیز آماری فاکتورهای ایمنی‌شناسی (لیزوزیم و ایمنوگلوبولین) هیچگونه تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان نداد ($p>0.05$) (شکل ۲). نتایج بافت‌شناسی کلیه به‌عنوان تأثیرگذارترین اندام در سیستم ایمنی ماهیان نشان داد که جمعیت لنفوسیت‌ها و مراکز ملانو ماکروفاژها در کلیه تیمارهای آزمایشی تفاوتی ندارند (شکل ۳).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]



شکل ۲- مقایسه میانگین نتایج حاصله از آنالیز آماری فاکتورهای ایمنی‌شناسی (لیزوزیم و ایمنوگلوبولین) قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)



شکل ۳- بافت‌شناسی قسمت قدامی کلیه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (سمت راست گروه شاهد و سمت چپ گروه ماده‌زایی شده با دز ۹۰۰ گری H&E ×40).

شاخص‌های خون‌شناسی: نتایج نشان داد که بین شاخص‌های خون‌شناسی سرم ماهی از جمله هماتوکریت، گلبول قرمز، هموگلوبولین، حجم گلوبولین میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز، میانگین درصد هموگلوبولین در یک گلبول قرمز تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۱). این در حالی است که میزان هماتوکریت، همو گلوبولین، حجم گلبول قرمز، MCH و MCHC در گروه تریپلوئید به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها تغییراتی داشته است ($p<0.05$) (جدول ۱).

شمارش افتراقی گلبول‌های سفید: نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبول‌های سفید نشان داد که بین تیمار ماده‌زایی شده و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری بین میزان لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل وجود ندارد ($p>0.05$) (جدول ۲).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

جدول ۱- مقایسه (میانگین ± انحراف معیار) شاخص‌های خونشناسی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) گروه‌های مختلف آزمایشی (شاهد، ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰، ۱۰۵۰ و آلبیلبینو) (n=۳).

گروه آزمایشی / شاخص	۴۵۰	۶۰۰	۷۵۰	۹۰۰	۱۰۵۰	آلبینو	شاهد	تریپلوئید
هماتوکریت	۳۸/۱۰±۱/۲۱^{a}	۳۶/۳۳±۱/۵۲^{a}	۳۷/۳۳±۱/۵۱^{a}	۳۷/۶۵±۱/۴۳^{a}	۳۷/۶۷±۲/۵۱^{a}	۳۷/۶۶±۲/۰۸^{a}	۳۶/۳۳±۱/۴۲^{a}	۳۲/۳۳±۲/۰۵^{b}
هموگلوبولین (g/dl)	۵۸/۶۶±۲/۰۸^{a}	۵۹/۵۶±۱/۱۵^{a}	۵۹/۷۶±۲/۰۸^{a}	۶۰/۰۰±۲/۶^{a}	۶۰/۶۶±۱/۵۲^{a}	۵۹/۶۶±۱/۱۵^{a}	۶۰/۰۰±۱/۷۳^{a}	۵۵/۹۰±۱/۶^{b}
حجم گلبول قرمز (mm^3)	۳۰۷/۶۷±۱۲/۷۴^{b}	۲۹۹/۸۹±۱۲/۸۹^{b}	۲۹۱/۹۹±۱۴/۲^{b}	۳۰۷/۳۶±۱۸/۵^{b}	۳۰۷/۷۵±۱۶/۵۴^{b}	۳۰۵/۶۹±۲۲/۱۵^{b}	۲۷۹/۸۳±۱۱/۶۷^{b}	۳۳۲/۶۱±۱۳/۶۵^{a}
MCH (µg/cell)	۴۷/۵۵±۳/۵۲^{b}	۴۷/۲۰±۲/۴۳^{b}	۴۶/۱۶±۱/۲۶^{b}	۴۹/۱۰±۵/۱^{b}	۴۹/۵۳±۳/۳۰^{b}	۴۸/۳۴±۲/۸۶^{b}	۴۷/۷۴±۳/۰۹^{b}	۵۴/۱۲±۲/۱۴^{a}
MCHC (µg/cell)	۱۶۱/۵۵±۹/۵۴^{b}	۱۶۵/۱۴±۹/۹۸^{b}	۱۵۹/۸۷±۶/۶۵^{b}	۱۵۹/۶±۵/۶^{b}	۱۶۳/۹۶±۸/۴^{b}	۱۵۸/۷۵±۹/۷۵^{b}	۱۶۵/۳۵±۸/۹۲^{b}	۱۵۵/۰۶±۱۴/۴۸^{a}
گلبول قرمز (mm^3)	۱/۲۳±۰/۰۶^{a}	۱/۲۶±۰/۰۸^{a}	۱/۲۹±۰/۰۶^{a}	۱/۲۲±۰/۰۷^{a}	۱/۲۳±۰/۰۸^{a}	۱/۲۳±۰/۰۶^{a}	۱/۲۶±۰/۰۸^{a}	۰/۹۸±۰/۰۴^{b}
گلبول سفید (mm^3)	۷۷۷۸/۳۳±۸۴۸^{a}	۸۰۱۶/۸۵±۵۸۱^{b}	۷۷۷۷/۳۳±۷۴۸^{c}	۷۷۰۱/۳۱±۹۵۹^{c}	۷۷۴۷/۳۳±۷۶۱^{c}	۸۰۷۴/۲۰±۱۳/۶۸^{c}	۷۶۲۳/۶۶±۸۴۳^{c}	۷۸۶۴±۷۵۰^{c}

جدول ۲- مقایسه (میانگین±انحراف معیار) شمارش افتراقی گلبول سفید (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) گروه‌های مختلف آزمایشی (n=۳).

گروه آزمایشی / شاخص	۴۵۰	۶۰۰	۷۵۰	۹۰۰	۱۰۵۰	آلبینو	شاهد	تریپلوئید
لنفوسیت	۸۲/۸۳±۰/۴۵^{a}	۸۱/۹۶±۰/۵۰^{a}	۸۳/۱۰±۱/۵^{a}	۸۳/۳۵±۰/۸۷^{a}	۸۴/۰۷±۰/۸۵^{a}	۸۲/۶۳±۰/۶۶^{a}	۸۳/۹۶±۱/۰۱^{a}	۸۳/۴۸±۰/۹۸^{a}
مونوسیت	۳/۵۸±۰/۱۴^{a}	۳/۴۶±۰/۱۹^{a}	۳/۳۵±۰/۲۸^{a}	۳/۲۵±۰/۳۶^{a}	۳/۲۷±۰/۲۶^{a}	۳/۴۷±۰/۲۴^{a}	۳/۲۶±۰/۳۰^{a}	۳/۳۶±۰/۲۶^{a}
نوتروفیل	۱۳/۳۸±۰/۵۴^{a}	۱۳/۱۴±۰/۵۲^{a}	۱۳/۲۸±۰/۹۲^{a}	۱۳/۳۳±۰/۶۶^{a}	۱۲/۹۸±۰/۴۴^{a}	۱۳/۶۳±۰/۲۳^{a}	۱۲/۹۱±۰/۷۴^{a}	۱۲/۹۴±۰/۷۲^{a}
ائوزینوفیل	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

بحث و نتیجه‌گیری

دستکاری کروموزومی در ماهیان با هدف اصلی افزایش محصول صورت می‌گیرد. این در حالی است که این افزایش ممکن است همراه با تغییراتی در خصوصیات ایمنی‌شناسی، خون‌شناسی، فیزیولوژی باشد (Wiegertjes and Muiswinkel, 1994). به‌دلیل این‌که ماهیان به نسبت سایر مهره‌داران دارای سیستم ایمنی ابتدایی‌تری می‌باشند و از طرفی محیط آب به‌عنوان محیط زندگی آبزیان برای انتقال عوامل بیماری‌زا محیط مناسبی می‌باشند، در دستکاری‌های کروموزومی این گروه از مهره‌داران سنجش شاخص‌های ایمنی دارای اهمیتی دو چندان می‌باشد (Hordvik *et al.*, 1993; Hashimoto *et al.*, 1990; Koppang *et al.*, 1998; Marsden *et al.*, 1996) علاوه بر این مطالعه بافت قدامی کلیه به‌عنوان بررسی‌های تکمیلی سیستم ایمنی ماهیان نشان داد که جمعیت لنفوسیت‌ها و مراکز ملانوماکروفاژها در کلیه تیمارهای آزمایشی تغییر خاصی وجود ندارد که این نشان می‌دهد ماده‌زایی با استفاده از این روش تأثیری روی سیستم ایمنی و خون‌شناسی ماهیان قزل‌آلای تولیدی استفاده از این روش ندارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دزهای مختلف مورد استفاده در تولید ماهیان تک جنس ماده با استفاده از پرتو گاما روی شاخص‌های بیوشیمیایی (آلبومین، تریگلیسیرید و کلسترول)، خون‌شناسی (هماتوکریت، هموگلوبولین، حجم گلبول‌قرمز، MCH و MCHC) و ایمنی‌شناسی (پروتئین کل، گلوبولین ولیزوزیم) تیمارهای مختلف آزمایشی تأثیر منفی ندارد. همچنین نتایج این پژوهش حاکی از آن است که در گروه تریپلوئید شاخص‌های خون‌شناسی شامل هماتوکریت، هموگلوبولین، حجم گلبول قرمز، MCH و MCHC نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری تغییراتی داشته است که این نشان‌دهنده مناسب بودن شوک حرارتی و انجام موفقیت‌آمیز تریپلوئیدی در این گروه می‌باشد که این با سایر نتایج به‌دست آمده هم‌خوانی دارد (Sheehan *et al.*, 1999). همچنین نتایج نشان می‌دهد که گروه ماده‌زایی شده طلایی از نظر شاخص‌های خون‌شناسی، بیوشیمیایی خون و ایمنی‌شناسی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد و سایر گروه‌های آزمایشی ندارد.

از جمله روش‌های برای افزایش بازده در یک دوره پرورشی استفاده از ماهیان تریپلوئیدی می‌باشد (Omoto *et al.*, 2005) ولی در این گروه از ماهیان نیز تأثیرات این تغییر کروموزومی باید روی شاخص‌های ایمنی‌شناسی و خون‌شناسی مورد بررسی قرار بگیرد (Van Muiswinkel *et al.*, 1991). در این تحقیق گروه ماهیان تریپلوئید قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی تغییراتی را روی شاخص‌های بیوشیمیایی (آلبومین، تری‌گلیسیرید و کلسترول) و ایمنی‌شناسی (پروتئین کل، گلوبولین ولیزوزیم) سرم نشان نداد. اما شاخص‌های خون‌شناسی شامل هماتوکریت، هموگلوبولین و گلبول قرمز در این گروه نسبت به سایر گروه‌ها کاهش یافته است (جدول ۱) که این می‌تواند سبب کاهش مقاومت در برابر کمبود اکسیژن گردد. نیاز به اکسیژن در ماهیان و بالاخص ماهیان سردآبی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

اهمیت زیادی دارد و با توجه به کاهش ظرفیت حمل آن در این گروه از ماهیان نمی‌توان از روش‌های پرورش فوق متراکم برای پرورش ماهیان تریپلوئیدی استفاده کرد چرا که به نسبت سایر گروه‌های پلوئیدی این گروه با مشکلات بیشتر کمبود اکسیژن مواجه می‌باشد (Omoto Kalbassi *et al.*, 2009 ; *et al.*, 2005; Sheehan *et al.*, 1999; Yamashita *et al.*, 1993). نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که این روش از دستکاری کروموزومی روی شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی به‌عنوان شاخص‌های با اهمیت در پرورش ماهی تأثیر منفی ندارد. بنابراین می‌توان از این روش دستکاری کروموزومی بدون تغییر در شاخص‌های ایمنی‌شناسی و خون‌شناسی استفاده کرد. با توجه به این‌که در ماده‌زایی وراثت وراثت مادری است بنابراین عدم تغییر در این نتایج نشان‌دهنده این است که هیچ اختلالی در مادر وجود نداشته و در طی مراحل انجام آزمایش اختلال کروموزومی رخ نداده که حداقل روی سیستم ایمنی ماهیان تأثیر داشته باشد. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی ژن‌های تأثیرگذار در سیستم ایمنی نیز در ماده‌زایی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

Brattgjerd S., Evensen O. 1996. A sequential light microscopic and ultrastructural study on the uptake and handling of Vibrio salmonicida in phagocytes of the head kidney in experimentally infected Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) Veterinary Pathology Online, 33(1): 55-65.

Hashimoto K., Nakanishi T., Kurosawa Y. 1990. Isolation of carp genes encoding major histocompatibility complex antigens. Proceedings of the National Academy of Sciences. 87(17): 6863-6867.

Herraez M., Zapata A. 1986. Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish *Carassius auratus*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 12(1): 117-126.

Hordvik I., Grimholt U., Fosse V.M., Lie O., Endresen C. 1993. Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding the MHC class II β chain in Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus, 1758). Immunogenetics, 37(6): 437-441.

Hoseini S.M., Ghelichpour M. 2012. Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in Beluga, (*Huso huso*). Fish physiology and biochemistry, 38(2): 493-498.

Jalabert B. 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Reproduction Nutrition Development, 45(3): 261-279.

Kalbassi M.R., Dorafshan S., Pourkazemi M., Amiri B.M. 2009. Triploidy induction in the Caspian salmon, *Salmo trutta caspius*, by heat shock. Journal of Applied Ichthyology, 25: 104-107.

Kato K., Miyashita S., Murata O., Kumai H. 2001a. Viability, growth and external morphology of meiotic-and mitotic gynogenetic diploids red sea bream, *Pagrus*

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

major. Journal of Applied Ichthyology, 17: 97-103.
Kato K., Murata O., Yamamoto S., Miyashita S., Kumai H. 2001b. Viability, growth and external morphology of meiotic-and mitotic gynogenetic diploids red sea bream, *Pagrus major*. Journal of Applied Ichthyology, 17: 97-103.
Kim D.H., Austin B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. Fish and Shellfish Immunology, 21(5): 513-524.
Komen H., Thorgaard G.H. 2007. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: a review. Aquaculture, 269: 150-173.
Kono T., Obata Y., Wu Q., Niwa K., Ono Y., Yamamoto Y., Park E.S., Seo J. S., Ogawa H. 2004. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. Nature, 428: 860-864.
Koppang E., Lundin M., Press C.M., Rønningen K., Lie Ø. 1998. Differing levels of Mhc class II β chain expression in a range of tissues from vaccinated and non-vaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish and Shellfish Immunology, 8(3): 183-196.
Lamers C., Haas D.M. 1985. Antigen localization in the lymphoid organs of carp (*Cyprinus carpio*). Cell and Tissue Research, 242(3): 491-498.
Marsden M., Freeman L., Cox D., Secombes C. 1996. Non-specific immune responses in families of Atlantic salmon, *Salmo salar*, exhibiting differential resistance to furunculosis. Aquaculture, 146(1): 1-16.
Omoto N., Maebayashi M., Adachi S., Arai K., Yamauchi K. 2005. Sex ratio of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female X *Acipenser ruthenus* male). Aquaculture, 245: 39-47.
Sheehan R., Shasteen S.P., Suresh A.V., Kapuscinski A.R., Seeb J.E. 1999. Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society, 128: 491-498.
Siwicki A.K., Anderson D.P. 1993. An easy spectrophotometric assay for determining total protein and immunoglobulin levels in fish sera: correlation to fish health. Techniques in Fish Immunology, 3: 23-30.
Tsujii T., Seno S. 1990. Melano-macrophage centers in the aglomerular kidney of the sea horse (Teleosts): Morphologic studies on its formation and possible function. The Anatomical Record, 226(4): 460-470.
Van Muiswinkel W., Lamers C., Rombout J. 1991. Structural and functional aspects of the spleen in bony fish. Research in Immunology, 142(4): 362-366.
Wiegertjes G.F., Van Muiswinkel W.B. 1994. Divergent selection for antibody production in common carp (*Cyprinus carpio*) using gynogenesis. Animal Genetics, 25: 251-257.
Wolke R. 1992. Piscine macrophage aggregates: a review. Annual Review of Fish Diseases, 2: 91-108.
Yamamoto E. 1999. The development of the techniques to induce all female

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]

offspring and clones in Japanese flounder. Nippon Suisan Gakkaishi, 65: 638-641.

Yamashita M., Jiang J., Onozato H., Nakanishi T., Nagahama Y. 1993. A tripolar spindle formed at meiosis-I assures the retention of the original ploidy in the gynogenetic triploid crucian carp (ginbuna), *Carassius auratus* langsdorfii. Development Growth and Differentiation, 35: 631-636.

Yano T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. Techniques in Fish Immunology, 2: 131-141.

Zelikoff J.T. 1994. Fish immunotoxicology. Immunotoxicology and immunopharmacology, 2: 71-95.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-07-01]