دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۹۶
http://jair.gonbad.ac.ir

مقایسه میزان بازماندگی، رشد و پاسخ به تنش حمل و نقل در ماهیان دیپلویید، تریپلویید و تتراپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

صمد بهرامی باباحیدری[۱]، سعید کیوان‌شکوه*[۲]، سالار درافشان[۳]، سیدعلی جوهری[۴]

[۱]دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
[۳]استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴]استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
تاریخ ارسال: ۹۵/۶/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۶

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر القای تریپلوییدی و تتراپلوییدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بر بازماندگی، رشد و پاسخ به تنش حمل و نقل در مرحله بچه‌ماهی نورس با محدوده وزنی ۲/۵- ۲ گرم بود. برای این کار از ۸ مولد ماده با میانگین وزن ۲۴۶±۱۶۰۰ گرم و ۶ مولد نر با میانگین وزن ۱۸۶±۱۳۹۳ گرم که از نظر سنی ۴ ساله بودند استفاده شد. شوک دمایی ۱۰ دقیقه بعد از لقاح و به مدت ۱۰ دقیقه و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای تریپلوییدی و برای تولید ماهیان تتراپلوییدی ۶۵ ساعت-درجه بعد از لقاح به مدت ۱۰ دقیقه و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. درصد القای تریپلوییدی ۱±۸۷/۱۰ درصد و تتراپلوییدی ۲±۶۸/۲۱ بود که با اندازه‌گیری مساحت و حجم گلبول‌های قرمز مشخص شد. نرخ بازماندگی از مرحله لقاح تا چشم‌زدگی در گروه تریپلویید ۱/۲۱±۸۶/۳۱ بود که نسبت به گروه دیپلویید که ۱/۵۹±۹۲/۱۲ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بازماندگی در مرحله چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی در گروه تریپلویید ۱/۳۳±۹۴/۰۴ بود که نسبت به گروه دیپلویید (۰/۴۵±۹۸/۱۰) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بازماندگی در سه مرحله در گروه تتراپلویید از دو گروه دیگر به شکل معنی‌داری کمتر بود. بعد از تنش حمل و نقل نیز مقدار کورتیزول (۴/۴۸± ۶۷/۳۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر) گروه تریپلویید از دو گروه دیگر بالاتر بود. نتایج نشان داد تریپلوییدی و تتراپلوییدی می‌تواند منجر به کاهش بازماندگی گردد و واکنش ماهیان تتراپلویید به تنش حمل و نقل از نظر تغییرات فیزیولوژیک و بازماندگی بر خلاف ماهیان تریپلویید تقریباً شبیه ماهیان دیپلویید است.

***واژه‌های کلیدی*: *O. mykiss*، تریپلوییدی، تتراپلوییدی، تنش**

*نویسنده مسئول: keyvan56@yahoo.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

مقدمه

قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بیشترین سهم تولید آزادماهیان پرورشی را پس از آزادماهی اطلس (*Salmo salar*) به خود اختصاص می‌دهد و به طور قابل ملاحظه‌ای از سطح تولید بالاتری نسبت به سایر گونه‌های آزادماهیان از جمله قزل‌آلای دریایی برخوردار است. هم اکنون بخشی از تولید تجاری این گونه در سطح جهانی متعلق به تولید ماهیان دستکاری شده کروموزومی، شامل انواع تریپلوییید و تتراپلوییید است (Hulata, 2001). القای تریپلوییدی امروزه به عنوان یک روش سودمند در پرورش آزاد ماهیان مطرح است. ماهیان تریپلوییید دارای یک سری کروموزوم اضافه در سلول‌های سوماتیک خود هستند که باعث می‌شود کروموزوم‌ها در طی تقسیم میوز به صورت صحیح جفت نشوند. سلول‌های جنسی ماهیان تریپلوییید نمی‌توانند گامتوژنز کاملی داشته باشند و در نتیجه این نوع ماهیان عموماً عقیم هستند (Smith and Benfey, 2001). سرکوب تکامل و رسیدگی گنادها در بیشتر ماهیان تریپلوییید باعث می‌شود انرژی متابولیک و منابع غذایی که در حالت عادی برای توسعه صفات جنسی و تولید مثل مصرف می‌شود، صرف رشد سریع‌تر بدن گردد (Strunjak *et al*., 2003). القای تریپلوییدی به روش‌های مختلفی صورت می‌گیرد. یکی از این روش‌های قابل استفاده برای تولید ماهیان تریپلوییید استفاده از شوک‌های دمایی و فشار می‌باشد. استفاده از شوک‌های دمایی یک روش ساده برای تولید ماهیان تریپلوئید است که در این روش سه فاکتور مهم بر موفقیت تولید ماهیان ترپلوییید تأثیرگذار است که عبارتند از: انتخاب زمان مناسب پس از لقاح برای اعمال شوک، طول مدت زمان اعمال شوک و شدت شوک یا همان میزان تغییر دمای آب (Pandian and Koteeswaran, 1998). تتراپلوییدی یک راه ممکن برای دستکاری ژنوم در ماهیان است. یک کاربرد مهم آن در ماهی‌ها تولید جمعیت‌های تریپلوییید تماماً عقیم است که از لقاح بین تتراپلوییدها و دیپلوییدها تولید می‌شود. علاوه بر این وجود جمعیت‌های تتراپلوییید می‌تواند به عنوان یک منبع ژنی برای ایجاد سطوح بالاتر پلوییدی نظیر پنتا و هگزا پلوییدی که هنوز قابلیت‌های این گروه‌ها در آبزی‌پروری و علوم زیستی مورد مطالعه قرار نگرفته است استفاده شود (Panadian and Koteeswaran, 1998). القاء مصنوعی تتراپلوییدی در گونه‌های مختلف ماهیان به وسیله شوک دیرهنگام صورت می‌گیرد. این شوک‌ها پس از جدایی دومین گویچه قطبی و قبل از اولین تقسیم و یا در حین اولین تقسیم میتوزی سلول به کار برده می‌شوند. تتراپلوییدی می‌تواند به وسیله کاربرد شوک‌ها در فازهای مختلف چرخه سلول در اولین تقسیم میتوز القاء شود. دستکاری موجودات آبزی اغلب موجب افزایش فعالیت‌های زیستی آن‌ها شده و باعث تغییر در رفتار و ویژگی‌های فیزیولوژیک ماهی می‌گردد. مواردی مانند حمل و نقل و دستکاری‌های ناشی از آن اعمال تنش‌زایی هستند که می‌توانند سبب واکنش‌های ناخواسته‌ای از سوی ماهی شوند (Barton, 2002). حمل و نقل ماهیان در مدیریت آبزی‌پروری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

است زیرا دستکاری صورت گرفته و تقلای خود ماهیان در طول صید و حمل و نقل معمولاً اثر زیادی بر فیزیولوژی و رفتار ماهی دارد (Leggatt *et al*., 2006). در شرایط تکثیر مصنوعی حمل و نقل و دستکاری بچه‌ماهیان تولیدی از کارگاه‌های تکثیر به مزارع پرورشی دور و نزدیک امری اجتناب ناپذیر بوده و همراه بازماندگی و حفظ سلامت بچه‌ماهیان در طول حمل و نقل از دیدگاه پرورش دهندگان بسیار مهم و حیاتی است. این حساسیت در مورد بچه‌ماهیان تریپلوییدـ و تتراپلوییدـ بیشتر از بچه ماهیان معمولی می‌باشد. زیرا تصور صاحبان مزارع پرورشی این است که ماهیان تریپلوییدـ و تتراپلوییدـ در برابر تنش‌های وارده مقاومت پایین‌تری دارند و میزان بازماندگی این ماهیان در طول حمل و نقل کمتر است. تغییرات فیزیولوژیک ایجاد شده در ماهیان تحت تنش به دنبال تحریک سیستم عصبی و هورمونی شکل می‌گیرد. افزایش غلظت کورتیزول پلاسما می‌تواند تغییراتی را در میزان گلوکز به دنبال داشته باشد. تعادل الکترولیت‌های ماهی نیز در اثر تنش دچار تغییر شده به‌گونه‌ای که تنظیم فشار اسمزی در ماهی دچار اختلال و میزان انرژی مصرفی برای ایجاد حالت پایدار افزایش می‌یابد (Bahrami Babaheydari *et al*., 2014). تنش‌های وارد شده در حمل و نقل به سبب تراکم نامناسب، اسارت، جابجایی فیزیکی، تغییرات دما، سر و صدا و لرزش‌های ایجاد شده در زمان جابجایی، کیفیت نامناسب آب و شرایط ورود ماهی به محیط جدید می‌باشد. مجموعه این عوامل نامناسب سبب شکل‌گیری شرایط تنش‌زایی خاصی می‌شود که علاوه بر تأثیرات شدید فیزیولوژیک، می‌توانند مرگ و میر با درصدهای بالا نیز به وجود آورد (Leggatt *et al*., 2006). میزان تأثیرپذیری ماهیان در زمان حمل و نقل متفاوت و با توجه به گونه، مرحله زندگی، محیط نگهداری ماهیان قبل از جابجایی و محتوای ژنتیکی ماهیان اثرات مختلفی را ایجاد خواهد کرد (McDonald *et al*., 1993). دستکاری پلوییدی با تغییراتی که در محتوای ژنتیکی ماهیان ایجاد خواهد کرد، می‌تواند بر رفتارهای واکنشی و همچنین خصوصیات فیزیولوژیک آن‌ها تاثیرات زیادی را اعمال کند. تغییرات ایجاد شده در ماهیان به دنبال تغییرات پلوییدی همواره این سوال را به وجود می‌آورد که آیا ماهیان تریپلوییدـ و تتراپلوییدـ از نظر خصوصیات فیزیولوژیک پایه و واکنش به تنش با ماهیان دیپلوییدـ تفاوتی دارند یا خیر. پاسخ به این پرسش سبب شکل‌گیری مطالعات زیادی روی این ماهیان و مقایسه آن‌ها با ماهیان دیپلوییدـ شده است. از سویی دیگر برای فرد پرورش دهنده هم این نکته حائز اهمیت است که در صورت خرید بچه‌ماهیان تریپلوییدـ و تتراپلوییدـ و حمل و نقل آنها به مزرعه پرورشی میزان بازماندگی آن‌ها در طول حمل و نقل از نظر اقتصادی و در مقایسه با بچه‌ماهیان معمولی به چه شکل خواهد بود.

تاکنون مطالعات روی ماهیان تریپلوییدـ و تتراپلوییدـ با استفاده از روش‌های مختلف و همچنین مقایسه آن‌ها با ماهیان دیپلوییدـ از دیدگاه‌های مختلف صورت گرفته است. از جمله این مطالعات در خارج از ایران می‌توان به تاثیر القای پلوییدی بر ضریب تبدیل غذایی و شاخص‌های مربوط به تغذیه،

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

رشد و بازماندگی ماهی در مراحل مختلف زندگی، شاخص‌های خونی، پاسخ به استرس‌های مختلف نظیر تراکم، حمل و نقل و کمبود اکسیژن و تحریک‌پذیری حواس ماهی و رسیدگی جنسی اشاره کرد (Tiwary *et al.*, 2004; Leggatt *et al.*, 2006). در ایران نیز مطالعاتی روی قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلوییید و تتراپلوییید صورت گرفته است که از جمله این مطالعات می‌توان به بررسی تولید و بازماندگی (Dorafshan *et al.*, 2014)، رشد (Sourinezhad and Kalbassi, 2011)، کیفیت گوشت (Sourinezhad *et al.*, 2010)، شاخص‌های خونی (Dorafshan *et al.*, Johari *et al.*, 2008; 2010) و مقایسه سیستم ایمنی و میزان کورتیزول بافت (Salimian *et al.*, 2016) اشاره کرد.

هدف از مطالعه حاضر علاوه بر تولید ماهیان تریپلوییید و تتراپلوییید به وسیله شوک دمایی و مقایسه بازماندگی و رشد در مراحل اولیه تکامل، بررسی تغییرات فیزیولوژیک ایجاد شده و میزان بازماندگی در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان حمل نقل و مقایسه این تغییرات در سطوح مختلف پلوییدی قزل‌آلای رنگین‌کمان با توجه به تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در ماهیان تریپلوییید و تتراپلوییید و مقایسه میزان بازماندگی ماهیان تریپلوییید و تتراپلوییید در شرایط حمل و نقل معمولی بچه‌ماهیان با ماهیان دیپلوییید بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: این پژوهش در کارگاه تکثیر ماهی‌چال واقع در استان لرستان، شهرستان الیگودرز در پاییز سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. دمای آب کارگاه طی دوره آزمایش ۱۱-۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۸-۷/۶، اکسیژن محلول ۸/۵-۸/۲ میلی‌گرم در لیتر و میزان هدایت الکتریکی آب ۶۱۰-۵۸۰ میکروموس بر سانتی‌متر بود.

تهیه مولد و استحصال تخم و اسپرم: برای این کار از ۸ مولد ماده با میانگین وزن ۲۴۶±۱۶۰۰ گرم و طول کل ۱/۸±۵۱/۸۷ سانتی‌متر و ۶ مولد نر با میانگین وزن ۱۸۶±۱۳۹۳ گرم و طول کل ۲/۵۸±۵۰/۵۰ سانتی‌متر که از نظر سنی ۴ ساله بودند استفاده شد. تخمک‌گیری از مولدین ماده با استفاده از روش معمول در کارگاه و با بی‌هوش کردن مولدین در عصاره گل میخک (۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و به روش دستی صورت گرفت (Dorafshan, 2007). اسپرم‌گیری از مولدین نر با سرنگ ۱۰۰ سی‌سی به منظور جلوگیری از آلودگی با خون و مدفوع انجام شد و از روش خشک برای لقاح استفاده گردید (Moccia and Munkittrick,1986). تخم‌های لقاح یافته تحت سه حالت زیر به سینی‌های تراف انتقال پیدا کردند.

حالت اول (گروه دیپلوییید): طبق شرایط معمول تکثیر قزل‌آلای رنگین‌کمان، بعد از آبگیری، تعداد ۴۹۰۰ تخم به سینی‌های تراف انتقال داده شدند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

حالت دوم (تریپلوییید): در این آزمایش به منظور تولید ماهیان تریپلوییید تعداد ۴۹۰۰ تخم مانند گروه شاهد لقاح داده شد. ۱۰ دقیقه بعد از لقاح (زمان اعمال شوک) تخم‌های لقاح یافته که در حال آب‌گیری بودند با استفاده از آبکش پلاستیکی به محفظه عایق دما که حاوی آب کارگاه به میزان ۲۰ لیتر و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌اد (شدت شوک) بود انتقال داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه (مدت زمان اعمال شوک) درون محفظه عایق دما نگهداری و سپس به درون سینی تراف انتقال داده شدند (Pandian and Koteeswaran, 1998).

حالت سوم (تتراپلوییید): برای تولید ماهیان تتراپلوییید ۶۵ ساعت-درجه بعد از لقاح تعداد ۴۹۰۰ تخم که بعد از انجام عمل لقاح و آبگیری به سینی‌های تراف انتقال داده شده بود به آرامی جمع‌آوری و به وسیله آبکش پلاستیکی به محفظه عایق دما که حاوی آب کارگاه به میزان ۲۰ لیتر و با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد (شدت شوک) بود انتقال داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه (مدت زمان اعمال شوک) درون محفظه عایق دما نگهداری و سپس به درون سینی تراف انتقال داده شدند (Hershberger and Hostuttler, 2007).

انکوباسیون: تخم‌های لقاح یافته تا مرحله چشم‌زدگی در سینی‌های چشمه‌ریز که روی آن‌ها پوشیده شده بود، در سالن انکوباسیون نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای تکثیر: درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشایی، و شنای فعال در هر یک از سه گروه مورد مطالعه بررسی شد. ۱۸، ۲۵ و ۳۸ روز بعد از لقاح درصد بازماندگی در مراحل چشم‌زدگی، تخم-گشایی و شروع شنای فعال اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره مورد استفاده در تیمارهای آزمایشی بعد از حمل و نقل ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (بر اساس گزارش شرکت سازنده بر روی بسته بندی غذا)

اجزاء	درصد	اجزاء	درصد
پودر ماهی	۴۲	دکسترین	۱۲
کازئین	۷	روغن ماهی	۷
ژلاتین	۱/۵	روغن سویا	۳
نشاسته	۱۱	مخمر	۷
سلولز	۶	ویتامین	۱/۵
مواد معدنی	۱/۵	آنتی اکسیدان	۰/۰۴
ویتامین C	۰/۲	ویتامین E	۰/۲

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

پرورش لارو: بعد از اینکه لاروها تقریباً ۷۰ درصد کیسه زرده خود را جذب کردند، غذا دهی با توجه به توده زنده و دمای آب شروع شد. دوره پرورش از زمان شروع تغذیه خارجی ۳۸ روز به طول انجامید (تا وزن حدود ۲ گرم). لاروها ۱۲ بار در روز و معادل ۷ درصد وزن بدن تغذیه شدند. غذای مورد استفاده ساخت کارخانه بیومار فرانسه بود (جدول۱ و ۲).

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره مورد استفاده در تیمارهای آزمایشی بعد از حمل و نقل ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) بر حسب درصد.

رطوبت (٪)	پروتئین(٪)	چربی(٪)	خاکستر(٪)	فیبر(٪)	انرژی (کیلوژول بر صدگرم)
۷	۵۲	۱۵	۶	۴	۶۶۰

سنجش پلوییدی: سنجش میزان پلوییدی در ماهیان تولید شده با روش سنجش ابعاد هسته و سلول گلبول قرمز انجام پذیرفت (Benfey and Sutterlin, 1984).

به‌منظور اندازه‌گیری ابعاد گلبول‌های قرمز، گسترش خونی انجام گرفت. بدین منظور ابتدا ساقه دمی گسترش‌های تهیه شده به وسیله متانول تثبیت گردید (Strunjak *et al*., 2003). گسترش‌های تثبیت شده با گیمسای ۱۰٪ به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. گسترش‌ها با بزرگنمایی ۴۰۰× مورد ارزیابی قرار گرفته و گلبول‌هایی که از نظر شکل ظاهری کاملاً بیضوی بوده، دیواره سیتوپلاسمی و هسته آن‌ها کاملاً سالم و با گلبول‌های دیگر همپوشانی نداشتند، انتخاب شدند. اندازه‌گیری‌ها، محور بزرگ (a) و کوچک (b) هسته یا سلول، به وسیله میکرومتر اندازه‌گیری و محاسبه مساحت و حجم هسته و سلول گلبول‌های قرمز با استفاده از روابط زیر صورت گرفت (Benfey and Sutterlin, 1984).

$$S = a \times b \times \frac{\pi}{4}$$

$$V = \left[\frac{a}{2}\right] \times \left[\frac{b}{2}\right]^2 \times \pi \times \frac{4}{3}$$

a: محور بزرگ هسته و سلول

b: محور کوچک هسته و سلول

S: مساحت هسته و سلول

V: حجم هسته و سلول

نمونه برداری از ۳۱ قطعه ماهی برای تیمار تریپلوییدو و ۱۲ قطعه ماهی برای تیمار تتراپلوییدو (بسته به میزان بازماندگی) در مرحله بچه‌ماهی به‌طور تصادفی اجرا گردید و پس از تهیه گسترش خونی، تعداد حداقل ۱۵ عدد گلبول قرمز برای هر نمونه مورد سنجش قرار گرفت. نمونه‌برداری از گروه‌های

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

شاهد به تعداد کمتر (حداکثر ۱۰ قطعه) به شرح فوق اجرا گردید. درصد القاء تریپلوییدی و تتراپلوییدی با استفاده از روابط زیر تعیین شد (Benfey Hershberger and Hostuttler, 2007 and Sutterlin, 1984;

۱۰۰× (تعداد کل ماهیان / تعداد ماهیان تریپلوییید یا تتراپلوییید) =تتراپلوییدی و تریپلوییدی (٪)

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه: در پایان دوره آزمایش یعنی ۳۸ روز بعد از شروع تغذیه خارجی لاروهای از غذای دستی با استفاده از فرمول‌های زیر شاخص‌های رشد و تغذیه اندازه‌گیری شد (Soosean *et al*., 2010).

میانگین وزن اولیه (گرم) - میانگین وزن ثانویه (گرم)= اختلاف وزن (گرم)

دوره پرورش/ ((وزن اولیه) Ln - (وزن نهایی) Ln) ×۱۰۰ = ضریب رشد ویژه (درصد در روز)

وزن‌تر (گرم) / غذای خشک داده‌شده (گرم) = ضریب تبدیل غذا

تعداد اولیه ماهی/ (تعداد ماهی تلف شده) – تعداد اولیه ماهی) ×۱۰۰ = درصد زنده مانی

حمل و نقل: در زمان حمل نقل وزن بچه ماهیان در سه گروه آزمایشی بین ۲/۳۵- ۲/۰۷ گرم بود و برای این کار از کیسه‌های پلاستیکی دولایه ۱۲ لیتری استفاده شد. درون هر کیسه ۲ کیلوگرم بچه‌ماهی که ۴۸ ساعت قبل غذادهی آن‌ها قطع شده بود همراه با ۳ لیتر آب کارگاه ریخته و مابقی کیسه با اکسیژن پر و درب آن محکم بسته شد. برای هر تیمار ۳ کیسه پلاستیکی ماهی انتخاب و کیسه‌ها به حالت ایستاده در یونولیت قرار داده شد. تکه‌های یخ همراه با روزنامه در اطراف کیسه قرار داده شد. طول مدت حمل و نقل از زمان بسته بندی ماهیان تا رسیدن به مزرعه پرورش ماهی ۲ ساعت به طول انجامید. بعد از پایان مدت زمان حمل نقل نمونه‌گیری از ماهیان با شرایط یکسان صورت گرفت. برای این کار مانند زمان قبل از حمل و نقل از تیوپ‌های مقام به دما و تانک ازت انتقال استفاده شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به تنش حمل و نقل: میزان کورتیزول، گلوکز، سدیم، پتاسیم و کلسیم بافت هموژن شده با استفاده از روش‌های استاندار به شرح ذیل اندازه‌گیری شد.

برای هموژن کردن بافت ماهی‌ها ابتدا ۱ گرم بافت عضله برای تمام ماهیان از حد فاصل باله پشتی و خط جانبی به وسیله ترازو توزین و درون فالکون قرار داده شد. سپس به میزان ۷ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات با pH ۷/۲ روی آن ریخته و به وسیله هموژنایزر مدل IKA® عمل همگن‌سازی در مجاورت یخ انجام گردید. جهت جداسازی فاز مایع از باقی‌مانده‌ها از سانتریفیوژ مدل K240R با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد، بعد از عمل سانتریفیوژ، مایع بالایی توسط سمپلر جدا گردید و در ویال ها ریخته شد و تا زمان سنجش شاخص‌های مورد نظر در فریزر با دمای ۸۰- نگهداری شد (Hanif *et al*., 2004).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

میزان هورمون کورتیزول (ng/g) به روش الایزا با استفاده از کیت‌های تجاری (Monobind، فرانسه) برحسب نانو مول در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان گلوکز (mg/g)، سدیم (mmol/g)، پتاسیم (mmol/g) و کلسیم (mmol/g) از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (Mindray، چین) استفاده شد.

نتایج

اندازه‌گیری‌های صورت گرفته روی گلبول‌های قرمز خون در ماهیان گروه تریپلوییدنشان داد که درصد القای تریپلوییدی ۱±۸۷/۱۰ درصد و درصد القای تتراپلوییدی ۲±۶۸/۲۱ بود. حجم و مساحت هسته و سلول گلبول‌های قرمز (جدول ۳) در گروه‌های تریپلوییدو تتراپلوییدبه طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). حجم و مساحت هسته و سلول گلبول‌های قرمز در گروه تتراپلوییدنیز از گروه تریپلوییدبه شکل معنی‌داری بیشتر بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳- ابعاد گلبول‌های قرمز در ماهیان دیپلوییدو تریپلوییدقزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص (واحد)	دیپلویید (۲n)	تریپلویید (۳n)	تتراپلویید (۴n)	نسبت (۳n/۲n)	نسبت (۴n/۲n)
مساحت سلول (μm^2)	۹۶/۷۱±۱/۲۷^a	۱۵۸/۱۲±۱/۳۶^b	۲۱۸/۴۱±۲/۱۶^c	۱/۶۳	۲/۲۵
حجم سلول (μm^2)	۷۵۴/۴۵±۱۵/۶۰^a	۱۱۳۲/۲۴±۱۷/۲۰^b	۲۵۱۱/۱۴±۲۲/۲۱^c	۱/۵۰	۳/۳۲
مساحت هسته (μm^2)	۱۵/۱۱±۰/۳۷^a	۲۱/۵۸±۰/۶۶^b	۴۲/۱۸±۰/۴۹^c	۱/۴۲	۲/۷۹
حجم هسته (μm^2)	۳۴/۶۵±۱/۱۱^a	۷۱/۳۵±۱/۷۲^b	۱۴۸/۴۱±۲/۷۶^c	۱/۹۴	۴/۲۸

وجود حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($p>۰/۰۵$).

نتایج مربوط به میزان بازماندگی در مراحل لقاح تا چشم‌زدگی، چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی و تخم‌گشایی تا شنای آزاد لاروی در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که القای تریپلوییدی به وسیله شوک دمایی می‌تواند اثرات معنی‌داری بر بازماندگی از لقاح تا چشم‌زدگی و از چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی داشته باشد ($p<۰/۰۵$). میزان بازماندگی در گروه دیپلوییدر دو مرحله ذکر شده بیش‌تر از گروه تریپلوییدبود. بازماندگی بین دو گروه در زمان تخم‌گشایی تا شنای فعال اختلاف معنی‌داری نداشت ($p\geq۰/۰۵$). میزان بازماندگی در گروه تتراپلوییدر هر سه مرحله به شکل معنی‌داری از گروه دیپلوییدو تریپلوییدکمتر بود ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

جدول ۴- درصد بازماندگی در زمان‌های مختلف در گروه‌های دیپلوییدو، تریپلوییدو و تتراپلوییدماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (میانگین ± خطای استاندارد).

مرحله (٪)	دیپلویید	تریپلویید	تتراپلویید
چشم زدگی	۹۲/۱۲±۱/ ۵۹[a]	۸۶/۳۱±۱/۲۱[b]	۶۷/۳۳±۱/۲۰[c]
تخم گشایی	۹۸/۱۰±۰/۴۵[a]	۹۴/۰۴±۱/۳۳[b]	۵۵/۳۳±۱/۴۵[c]
شنای فعال	۹۷/۸۳±۰/۱۶[a]	۹۷/۰۳±۰/۳۳[a]	۸۸/۴۲±۱/۷۰[b]

وجود حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p>۰/۰۵).

نتایج حاصل از زیست‌سنجی و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهیان در طول دوره آزمایش در جدول ۵ ارائه شده است. در پایان دوره آزمایش، بیش‌ترین وزن نهایی (۰/۰۲±۲/۳۵ گرم) در گروه تتراپلوییدبه دست آمد که با گروه دیپلوییدو تریپلوییداختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). همانطور که در جدول ۵ دیده می‌شود، بین گروه‌های دیپلوییدو، تریپلوییدو تتراپلوییداز نظر افزایش وزن اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵). بهترین ضریب تبدیل غذا در گروه دیپلوییدبود که با دو گروه دیگر اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). ولی بین دو گروه دیگر اختلاف معنی‌دار دیده نشد (p≥۰/۰۵). ضریب رشد ویژه در دو گروه دیپلوییدو تتراپلویدبه شکل معنی‌داری از گروه تریپلوییدبالاتر بود (p<۰/۰۵). از نظر میزان بازماندگی بین سه گروه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p≥۰/۰۵).

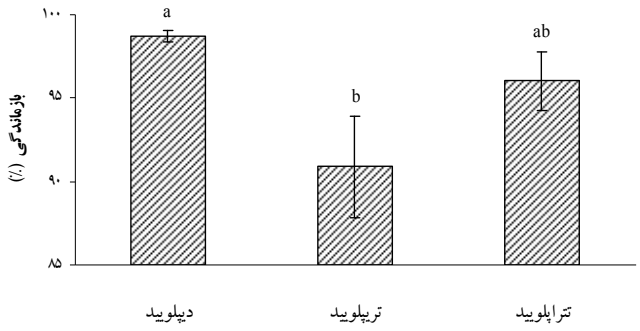
جدول ۵- شاخص‌های رشد و تغذیه در انتهای دوره یعنی ۳۸ روز بعد از شروع تغذیه فعال در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) دیپلوییدو، تریپلوییدو تتراپلوییداز (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص (واحد)	دیپلویید	تریپلویید	تتراپلویید
وزن اولیه (گرم)	۰/۰۹۶±۰/ ۰۱[a]	۰/۰۸±۰/۰۱[b]	۰/۰۹۷±۰/ ۰۰[a]
وزن نهایی (گرم)	۲/۲۱±۰/۰۵[a]	۲/۰۷±۰/۰۳[b]	۲/۳۵±۰/۰۲[c]
افزایش وزن (گرم)	۲/۲۱±۰/۰۶[a]	۱/۹۹±۰/۰۳[b]	۲/۲۶±۰/۰۲[c]
ضریب تبدیل غذایی	۰/۸۶±۰/۰۷[a]	۰/۹۷±۰/۱۱[b]	۰/۹۱±۰/۱۵[b]
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۸/۲۵±۰/۱۲[a]	۸/۰۱±۰/۱۷[b]	۸/۳۸±۰/۰۴[a]
بازماندگی (درصد)	۹۴/۱۲±۰/۱۱[a]	۹۳/۱۴±۰/۱۹[a]	۹۲/۶۴±۰/۳۹[a]

وجود حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p>۰/۰۵).

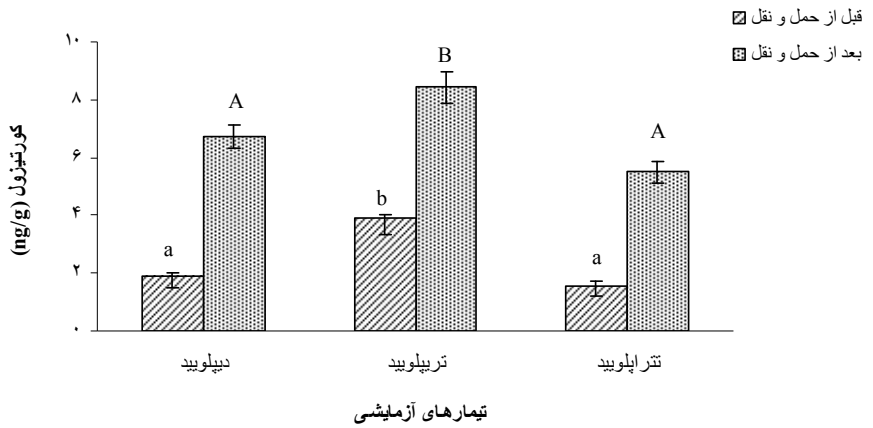
نتایج مربوط به میزان بازماندگی ماهیان سه گروه آزمایشی بعد از حمل و نقل در شکل ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان بازماندگی در گروه تریپلوییدبه شکل معنی‌داری از گروه دیپلوییدکمتر است (p<۰/۰۵). بین گروه تتراپلوییدبا دو گروه دیگر اختلاف معنی‌دار دیده نشد (p≥۰/۰۵).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]



شکل ۱- درصد بازماندگی در تیمارهای آزمایشی بعد از حمل و نقل ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

نتایج مربوط به میزان غلظت کورتیزول بافت ماهیان سه گروه آزمایشی در زمان‌های قبل و بعد از حمل و نقل در شکل ۲ آمده است. بیشترین میزان کورتیزول بافت قبل از حمل و نقل و بعد از آن در گروه تریپلوئید بود که به طور معنی‌داری از دو گروه دیگر بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). از نظر میزان کورتیزول قبل و بعد از حمل و نقل بین دو گروه دیپلوئید و تتراپلوئید اختلاف معنی‌دار دیده نشد ($p\geq۰/۰۵$).

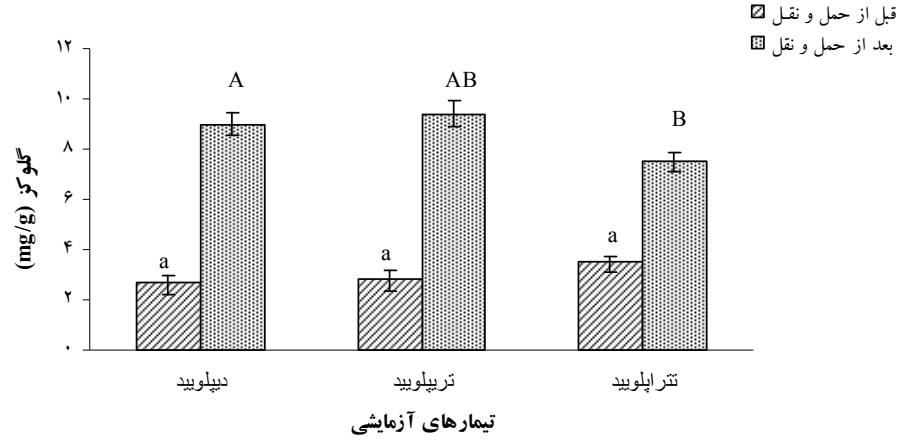


شکل ۲- میزان کورتیزول ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) قبل از حمل و نقل و بعد از آن در تیمارهای آزمایشی

نتایج مربوط به میزان گلوکز بافت ماهیان سه گروه آزمایشی در زمان‌های قبل و بعد از حمل و نقل در شکل ۳ آمده است. در زمان قبل از حمل و نقل بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار دیده نشد

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

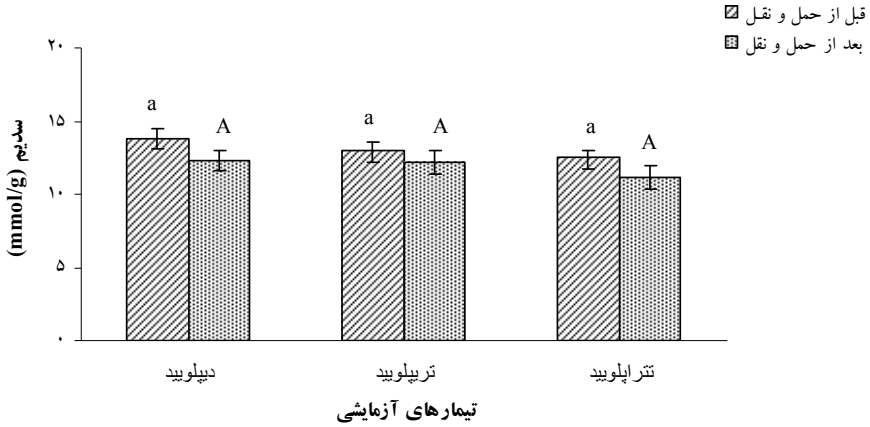
(p>۰/۰۵). اما بعد از حمل و نقل کم‌ترین میزان گلوکز در گروه تتراپلوییید مشاهده شد که با گروه دیپلوییید اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵).



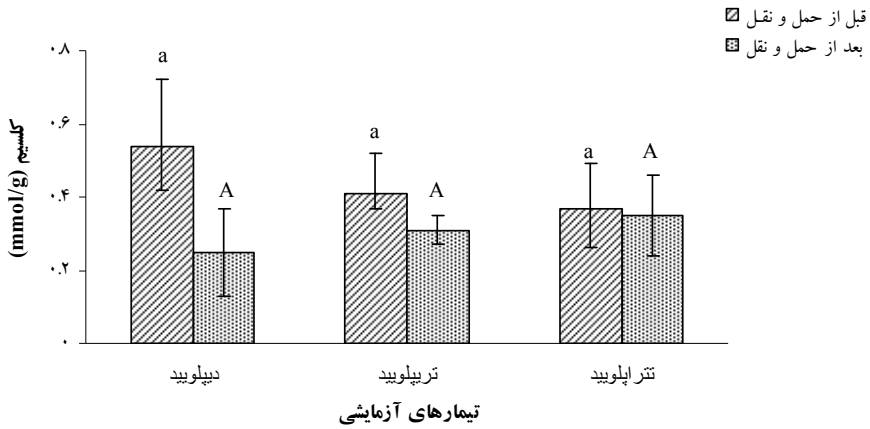
شکل ۳- میزان گلوکز ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) قبل از حمل و نقل و بعد از آن در تیمارهای آزمایشی

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری سدیم (شکل ۴)، کلسیم (شکل ۵) و پتاسیم (شکل ۶) نشان داد که غلظت این یون‌ها در زمان‌های قبل و بعد از حمل و نقل در گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود (p>۰/۰۵). اما به‌طور کلی میزان این یون بعد از حمل و نقل در هر سه گروه کاهش یافت.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

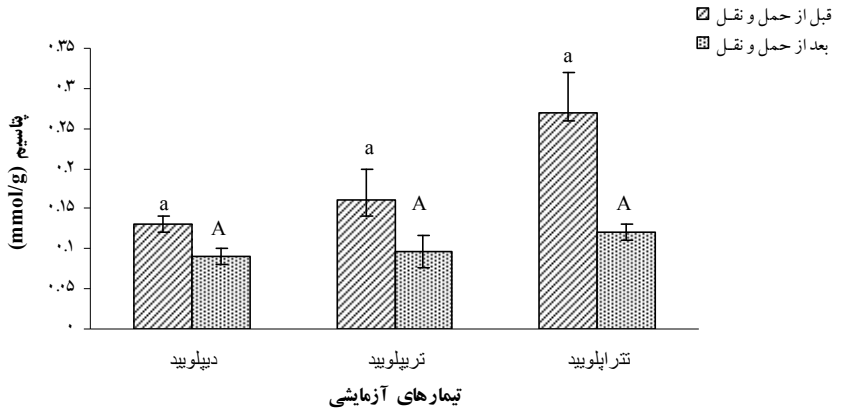


شکل ۴- میزان سدیم ماهیان قزل‌الای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) قبل از حمل و نقل و بعد از آن در تیمارهـای آزمایشی



شکل ۵- میزان کلسیم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) قبل از حمل و نقل و بعد از آن در تیمارهای آزمایشی

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]



شکل ۶- میزان پتاسیم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) قبل از حمل و نقل و بعد از آن در تیمارهای آزمایشی

بحث و نتیجه‌گیری

تریپلوییدی و تتراپلوییدی در مراحل مختلف رشد و تکامل اثرات متفاوتی بر ماهیان دارد. از جمله این اثرات می‌توان به تغییر ضریب تبدیل غذایی، قابلیت هضم، رشد، شاخص‌های خونی، فعالیت هوازی، واکنش به تنش و رسیدگی جنسی اشاره نمود (Ihssen *et al*., 1990). در پژوهش حاضر اثر تریپلوییدی و تتراپلوییدی بر افزایش مساحت و حجم گلبول‌های قرمز ماهی به‌وضوح قابل مشاهده است و این موضوع در مطالعات پژوهشگران نیز گزارش شده است (Dorafshan *et al*., 2014؛ Bahrami Babaheydari *et al*., 2016؛ Johari *et al*., 2008؛ Sourinezhad *et al*., 2007).

القای تریپلوییدی و تتراپلوییدی می‌تواند حجم گلبول‌های قرمز را تا ۳ برابر افزایش دهد و معیار مناسبی برای جداسازی ماهیان پلی پلوییید از دیپلوییید است که اغلب مورد استفاده پژوهشگران و صاحبان مزارع تکثیر قرار می‌گیرد (Benfey, 1999). در مطالعه حاضر نیز گلبول‌های قرمز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلوییید به میزان ۱/۵ برابر و تتراپلوییید نیز به میزان ۳/۳۲ برابر و به‌طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گلبول‌های قرمز ماهیان دیپلوییید حجیم‌تر بودند. مطالعات متعددی در زمینه تاثیر القای پلوییدی بر اندازه و تعداد سلول‌های خونی در ماهیان منتشر شده است (Piferrer *et al*., 2009). سلول‌های ماهیان تریپلوییید و تتراپلوییید به دلیل دارا بودن مقدار DNA بیشتر، ابعاد بزرگ‌تری نسبت به سلول‌های ماهیان دیپلوییید دارند که این اندازه بسته به بافت و سن ماهی می‌تواند متغیر باشد (Panadian and koteesworan, 1998).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

مطالعات نشان داده است بازماندگی اولیه گونه‌های تریپلویید به دلیل اختلال در تکامل جنینی و تخم‌گشایی لاروها تا شروع شنای فعال نسبت به دیپلوییدها کمتر است، که احتمال می‌رود به دلیل استرس ناشی از اعمال شوک گرمایی باشد تا اثر ناشی از خود تریپلوییدی (McGeachy *et al.*, 1995). در تأیید این موضوع، مقایسه بازماندگی ماهیان تریپلویید تولید شده از طریق لقاح تخمک ماهی تتراپلویید و اسپرم ماهی دیپلویید با ماهیان تریپلویید تولید شده به روش مستقیم یا همان شوک گرمایی نشان می‌دهد که بازماندگی در مراحل مختلف در روش اول تفاوتی با گروه‌های دیپلویید ندارد (Piferrer *et al.*, 2009).

چرفاس و همکاران (Cherfas *et al.*, 1994) نشان دادند که بازماندگی تریپلوییدها در مقایسه با دیپلوییدهای شوک دیده یعنی تخم‌های لقاح یافته‌ای که تحت تاثیر شوک قرار گرفته‌اند ولی تبدیل به تریپلویید نشده‌اند در مراحل اولیه رشد برابر و در مقایسه با دیپلوییدهای معمولی (بدون اعمال شوک) کمتر است. این مشاهدات نشان می‌دهند که اعمال شوک مهم‌ترین عامل کاهش بازماندگی در مراحل اولیه تکامل جنینی ماهیان تریپلوئید است (McGeachy *et al.*, 1995). القای تریپلوییدی در ماهیان عموماً منجر به بروز تغییراتی در میزان بازماندگی می‌گردد (Flajshans *et al.*, 2007). کاهش بازماندگی خصوصاً طی دوران انکوباسیون در ماهیان تریپلویید در مقایسه با گروه دیپلویید توسط پژوهشگران مختلف در گونه‌های مختلف آزادماهیان نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان، آزاد ماهی اطلس (*Salmo salar*)، قزل‌آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta*) و نیز سایر ماهیان نظیر کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و توربوت (*Scophthalmus maximus*) گزارش شده است (Tiwary *et al.*, 2004). در این تحقیق میزان بقاء در ماهیان تتراپلویید در هر سه مرحله یعنی لقاح تا چشم‌زدگی، چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی و تخم‌گشایی تا شنای فعال نسبت به ماهیان دیپلویید و تریپلویید به شکل معنی‌داری پایین‌تر بود که علت این امر را محققین وقوع پدیده موزائیک، آنیوپلوییدی، افزایش نامتناسب سطح سلول نسبت به حجم آن و وقوع اشتباهات سلولی عنوان کرده‌اند (Panadian and koteesworan, 1998). وقوع تلفات بالا در مرحله لقاح تا چشم‌زدگی به‌دلیل شوک حرارتی در زمانی که حساسیت تخم بسیار بالا است و منجر به انعقاد زرده می‌شود عنوان شده است. در مراحل چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی و تا شنای فعال پدیده آنیوپلوییدی منجر به تلفات بالا می‌شود. بازماندگی پایین تتراپلوییدها در مراحل ابتدایی تکامل توسط محققین دیگر نظیر دیتر و همکاران (Diter *et al.*, 1993) نیز گزارش شده است.

در مطالعه حاضر وزن لاروها در زمان تخم‌گشایی در گروه تریپلویید به شکل معنی‌داری از گروه دیپلویید و تتراپلویید کمتر بود. کاهش طول دوره انکوباسیون در ماهیان تریپلویید توسط محققین دیگر نظیر درافشان و همکاران (Dorafshan, 2007) نیز گزارش شده است. وزن نهایی ماهیان در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

گروه تریپلوییدبه شکل معنی‌داری از گروه دیپلوییدو تتراپلوییدکمتر بود که علت این امر ممکن است به این دلیل باشد که آزادماهیان تریپلوییدبه دلیل کاهش سطح هوشیاری نسبت به محرک‌های محیطی و نیز عدم تولید هورمون‌های استروییدی آنابولیک از قابلیت رشد کمتری نسبت به انواع دیپلوییدبه شرایط قبل از بلوغ برخوردار هستند (Dunham, 2004). کورتیزول معمولاً قابل اطمینان-ترین شاخص برای بررسی تنش در ماهیان است (Barton, 2002). کورتیزول مهم‌ترین هورمون کورتیکواستروئیدی و هورمونی فعال و اصلی در ماهیان استخوانی به حساب می‌آید (Schreck *et al*., 2001). کورتیزول از جمله مهم‌ترین فاکتورها در ارزیابی بروز پاسخ ماهیان نسبت به تنش است و افزایش این هورمون در زمان بروز تنش در تمام ماهیان استخوانی به اثبات رسیده است (Leggatt *et al*., 2006). مرحله تولید مثل و جنسیت می‌تواند سطوح هورمون کورتیزول را در ماهیان تغییر دهد (Bahrami Babaheydari *et al*., 2014). در مطالعه حاضر قبل از حمل نقل میزان کورتیزول در گروه تریپلوییدبه از دو گروه دیگر بالاتر بود که چنین حالتی در مطالعات محققین دیگر گزارش شده است (Fraser *et al*., 2015). در بررسی دیگر، میزان کورتیزول در بافت عضله بچه‌ماهیان دیپلوییدو تریپلوییدقزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده گردید که میزان کورتیزول در بافت ماهیان تریپلوییدبالاتر است (Salimian *et al*., 2016).

کاهش تعداد و افزایش نامتقارن گلبول‌های قرمز در ماهیان تریپلوییدمی‌تواند واکنش‌پذیری این ماهیان را در زمان بروز تنش تحت تأثیر قرار دهد. این امر خود می‌تواند اثرات تنش را در این گروه از ماهیان نسبت به ماهیان دیپلوییدافزایش دهد (Bahrami Babaheydari *et al*., 2016). در مطالعه حاضر در زمان پایان حمل و نقل که خود نوعی تنش حاد محسوب می‌شود میزان زنده مانی ماهیان گروه تریپلوییدنسبت به دو گروه دیگر کمتر بود این کاهش بازماندگی می‌تواند با بالاتر بودن میزان کورتیزول این ماهیان در این زمان در ارتباط باشد.

گلوکز از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون است که می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت زیستی ماهی بکار رود. با افزایش مصرف گلوکز و متابولیت‌های دیگر در بعضی از گونه‌ها ذخایر گلیکوژن کاهش می‌یابد و احتمالاً پروتئین‌ها برای تامین انرژی شکسته می‌شوند (Bahrami Babaheydari *et al*., 2014). در مطالعه حاضر میزان گلوکز در گروه تتراپلوییدبعد از حمل و نقل به شکل معنی‌داری پایین‌تر بود که این نتیجه ممکن است به علت پایین‌تر بودن میزان کورتیزول در این گروه در این زمان باشد.

یکی از مهم‌ترین اعمال فیزیولوژیک ماهی در طول حیات، تنظیم فرآیند اسمزی می‌باشد که عمدتاً از طریق بالانس مقادیر یون‌های تک‌ظرفیتی (کلر، سدیم و پتاسیم) و دوظرفیتی (کلسیم و منیزیوم) با توجه به شرایط محیطی ماهی صورت می‌گیرد. زمانی که ماهی با تنش روبرو می‌شود تمامی فرآیندهای

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

زیستی ماهی از جمله تنظیم اسمزی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. با بررسی میزان یون‌ها در ماهیان تحت تنش می‌توان میزان اثر تنش بر ماهی و همچنین تلاش ماهی برای بازگشت به حالت اولیه را شناسایی کرد (Bahrami Babaheydari *et al*., 2014). در مطالعه حاضر در تمام گروه‌ها، میزان یون در زمان بروز تنش کاهش یافته است اما این کاهش معنی‌دار نبوده است. در نهایت با توجه به داده‌های بدست آمده می‌توان این‌گونه عنوان کرد که القاء تریپلوییدی و تتراپلوییدی می‌تواند منجر به کاهش بازماندگی در مراحل اولیه رشد و تکامل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردد. این امر در ماهیان تتراپلویید مشهودتر بوده اما واکنش ماهیان تتراپلویید به تنش ایجاد شده ناشی از حمل و نقل از نظر تغییرات فیزیولوژیک و بازماندگی بر خلاف ماهیان تریپلویید تقریباً شبیه ماهیان دیپلویید است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان ماهی‌چال، آقای مهندس خرسندی و مرکز تکثیر و پرورش آبزیان اصفهان آقای مهندس کشت‌کار تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به خاطر پشتیبانی مالی از این پژوهش تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

Bahrami Babaheydari S., Keyvanshokooh S., Dorafshan S., Johari S.A. 2016. Proteome changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fertilized eggs as an effect of triploidization heat-shock treatment. Animal Reproduction Science,166: 116-121.

Bahrami Babaheydari S., Dorafshan S., Paykan Heyrati F., Mahboobi Soofiani N. 2014. Effect of wood betony (*Stachys lavandulifolia Vahl*) extract on some serum biochemical changes and acute stress response in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 1(1): 17-26. (In Persian).

Barton B.A. 2002. Stress in fish: A diversity of responses with particular reference to change in circulating corticosteroids. Integer and Comperetive Biology, 42: 217-225.

Barton B.A., Iwama G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases, 1: 3–26.

Benfey T.G. 1999. The physiology and behavior of triploid fishes. Reviews in Fisheries Science, 7(1): 39-67.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

Benfey T.G., Sutterlin A.M. 1984. The hematology of the triploid landlocked Atlantic salmon (*salmo salar*). Journal of Fish Biology, 24: 333-338.

Cherfas N.B., Gomelsky B., Ben-Dom N., Peretz Y., Hulata G. 1994. Assessment of triploid common carp (*Cyprinus carpio*) for culture. Aquaculture, 127:11–18.

Diter A., Guyomard R., Chourrout D. 1993. Gene segregation in induced tetraploid rainbow trout, genetic evidence of preferential pairing of homologous chromosomes. Genome, 30: 547–553.

Dorafshan S. 2007. Chromosome set manipulation techniques on the Caspian salmon, *Salmo trutta caspius* and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* and comparison of F1 generation growth. Ph.D. Tehran, Tarbiat Modares University. (In Persian)

Dorafshan S., Kalbassi M.R., Soltan Karimi S., Rahimi Kh. 2010. Study of Some Haematological Indices of Diploid and Triploid Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Yakhteh Medical Journal, 11: 442-447. (In Persian).

Dorafshan S., Vafaei Saadi A., Nekoeifard A. 2014. Morphology of red blood cells in tetraploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* larvae. Iranian Veterinary Journal, 2(10): 13-18. (In Persian).

Dunham R.A. 2004. Aquaculture and Fisheries Biotechnology, Genetic Approaches. 1st Edition, CABI Publishing, 400 P..

Flajshans M., Kohlmann K., Rab P. 2007. Autotriploid tench *Tinca tinca* larvae obtained by fertilization of eggs previously subjected to post-ovulatory ageing in vitro and/or in vivo. Journal of Fish Biology, 71: 868–876.

Fraser T.W.K., Vindas M.A., Fjelldal P.G., Winberg S., Thornqvist P.O., Overli O., Skjaraasen J.E., Hansen T.J., Mayer I. 2015. Increased reactivity and monoamine dysregulation following stress in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 185: 125-131.

Hanif A., Bakopoulos V., Dimitriadis G.J. 2004. Maternal transfer of humoral specific and non-specific immune parameters to sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Fish and Shellfish Immunology, 17: 411-435.

Hershberger W.K., Hostuttler M.A. 2007. Protocols for more effective induction of tetraploid rainbow trout. North American Journal of Aquaculture, 69(4): 367-372.

Hulata G. 2001. Genetic manipulation in aquaculture: A review of stock improvement by classical and modern technologies. Genetica, 111: 155-173.

Ihssen P.E., McKay L.R., McMillan I., Phillips R.B. 1990. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: cytogenetic and fisheries applications. Transactions of the American Fisheries Society, 119(4): 698-717.

Johari S.A., Kalbassi M.R., Sourinezhad I., Wlasow T. 2008. Observation of red blood cell alterations in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Acta Scientiarum Polonorum-Piscaria, 7(1-4): 49-52.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

Leggatt R.A., Scheer K.W., Afonso L.O., Iwama G.K. 2006. Triploid and diploid rainbow trout do not differ in their stress response to transportation. North American Journal of Aquaculture, 68(1): 1-8.

McDonald D.G., Goldstein M.D., Mitton C. 1993. Responses of hatchery-reared brook trout, lake trout, and splake to transport stress. Transactions of the American Fisheries Society, 122: 1127–1138.

McGeachy S., Benfey T.J., Friars G.W. 1995. Freshwater performance of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) in New Brunswick aquaculture. Aquaculture, 137: 333–341.

Moccia R.D., Munkittrick K.R. 1986. Relationship between the fertilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and the motility of spermatozoa. Theriogenology, 27: 679-688.

Pandian T.J., Koteeswaran R. 1998. Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia, 384: 167–243.

Piferrer F., Beaumont A., Falguière J.C., Flajshans M., Haffray P., Colombo L. 2009. Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. Aquaculture, 293(3): 125-156.

Salimian S., Keyvanshokooh S., Salati A.P., Pasha-Zanoosi H., Babaheydari S.B. 2016. Effects of triploidy induction on physiological and immunological characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at early developmental stages (fertilized eggs, eyed eggs and fry). Animal Reproduction Science, 165: 31-37.

Schreck C.B., Contreras-Sanchez W., Fitzpatrick MS. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture, 197: 3-24.

Smith D.S., Benfey T.J. 2001.The reproductive physiology of three age classes of adult female diploid and triploid brook trout (*Salmo trutta*). Fish Physiology and Biochemistry, 25: 319-333.

Soosean C., Marimuthu K., Sudhakaran S., Xavier R. 2010. Effects of mangosteen (*Garcinia mangostana*) extracts as a feed additive on growth and haematological parameters of African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 14: 605-611.

Sourinezhad I., Kalbassi M.R. 2011. Investigation of growth indices of all female and mixed sex diploid and triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in the second year of culture. Iranian Journal of Biology, 24(4): 517-527. (In Persian).

Sourinezhad I., Kalbassi M.R., Rezaei M., Khodabandeh S. 2010. Effect of induced triploidy on improvement of flesh quality indices in all-female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in the second year of culture. Journal of Marine Science and Technology, 9(1): 62-70. (In Persian).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

Sourinezhad I., Kalbassi M.R., Soltan Karimi S. 2007. Effects of Triploidy induction on some hematological parameters of all-female rainbow trout in winter. Journal of Modern Genetics, 2(2): 53-60. (In Persian).

Strunjak I., Rakovak R., Topic N. 2003. Micronucleus occurrence in diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinarni Medicina, 48: 215-219.

Tiwary B.K., Kirubagaran R., Ray A.K. 2004. The biology of triploid fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 14(4): 391-402.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-23]