DOI: 10.22034/vj.2017.109162.1256 شماره ۱۱۷ زمستان ۱۳۹۶

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تاثیر القای تتراپلوییدی بر تخم گشایی، بازماندگی، شاخص‌های رشد و ترکیب بیوشیمیایی لاشه قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

• **صمد بهرامی باباحیدری**
دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
• **سعید کیوان شکوه (نویسنده مسئول)**
دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
• **سالار درافشان**
استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
• **سید علی جوهری**
استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، ایران

تاریخ دریافت: ۲۵-۱۰-۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۷-۱۲-۱۳۹۵

Email: keyvan56@yahoo.com

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر القای تتراپلوییدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان بر بازماندگی، رشد، ویژگی‌های لاشه و همچنین ترکیب اسیدهای چرب عضله می‌باشد. 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 ۶۵ ساعت-درجه بعد از لقاح و به مدت ۱۰ دقیقه و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد اعمال شد. نتایج نشان داد درصد القای تتراپلوییدی به صورت میانگین ۲±۶۸/۲۱ بود که با اندازه‌گیری گلبول‌های قرمز مشخص شد. نرخ بازماندگی از مرحله لقاح تا چشم‌زدگی در گروه تحت شوک دیرهنگام برای القای تتراپلوییدی ۱/۲۰±۶۷/۳۳ بود که نسبت به گروه دیپلویید که ۱/۵۹±۹۲/۱۲ به طور معناداری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). بازماندگی در مرحله چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی در گروه تحت شوک ۱/۳۳±۵۵/۳۳ بود که نسبت به گروه دیپلویید که ۰/۴۵±۹۸/۱۰ به طور معناداری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$) از نظر شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی و افزایش وزن در انتهای دوره آزمایش یعنی ۳۸ روز بعد از شروع تغذیه فعال گروه تحت شوک به طور معناداری بهتر از گروه دیپلویید بود ($p < ۰/۰۵$). ترکیب بیوشیمیایی لاشه از نظر میزان پروتئین، چربی و رطوبت بین دو گروه تفاوت داشت ($p < ۰/۰۵$) نتایج این پژوهش نشان داد که در اثر شوک دیرهنگام القای تتراپلوییدی میزان بازماندگی در مراحل اولیه تکامل ماهی کاهش می‌یابد و همچنین میزان اسیدهای چرب اشباع کاهش می‌یابد.

کلمات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*، تتراپلوییدی، بازماندگی، ترکیب اسید چرب

● Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 231-240

Effects of tetraploidization on hatching, survival, growth performance and proximate composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

By: Bahrami Babaheydari, *S., PhD Student, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran. Keyvanshokooh, S., (Corresponding Author) Associate professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Iran. Dorafshan, S., Assistant professor, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Iran. and Johari, S.A., Assistant professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Iran.*

Email: keyvan56@yahoo.com

Received: 2017-01-14 **Accepted: 2017-03-07**

The aim of this study was to assess the effects of Tetraploidy induction on survival, growth performance, body composition and fatty acids profile in rainbow trout. For this work, 8 female brood stock (1600±246 g) and 6 male brood stock (1393±186 g) with 4 years old mean age were used. Heat shock achieved 65 degree- hour after fertilization, for 10 min and in 28˚c. The results showed that the level of tetraploidization induction was 68.21±2% that determined via red blood cell measurement. The survival rates in tetraploid group were significantly ($p<0.05$) lower than those of diploid group. Growth performance was significantly higher in diploids as compared to triploids ($p<0.05$). Proximate compositions of fish including protein, fat and moisture content were affected by tetraploidization, compared to that of the diploids. The results showed that the survival rate in first development stage was decreased, as well as, the levels of saturated fatty acids decreased as an effect of tetraploid induction.

Key words: Rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*), Tetraploid, Survival, Fatty acids composition

مقدمه

قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*، یکی از مهم‌ترین ماهیان سردآبی است که به منظور توسعه فعالیت‌های شیلاتي و آبزي پروري به بسياري از مناطق جهان معرفي شده است و بيشترين سهم توليد آزادماهيان پرورشي را پس از ماهي آزاد اقيانوس اطلس *Salmo salar* به خود اختصاص می‌دهد و به طور قابل ملاحظه‌ای از سطح تولید بالاتري نسبت به ساير گونه‌های آزادماهيان از جمله قزل‌آلای دريايي برخوردار است و هم اكنون بخشي از توليد تجاری اين گونه در سطح جهاني متعلق به توليد ماهيان دستكاری شده كروموزومي و آميخته‌های بين‌گونه‌ای آن با ساير آزادماهيان است. تكثير و پرورش اين ماهی بخش مهمی از صنعت آبزی‌پروری كشورمان را به خود اختصاص داده است و تنها گونه از ميان ماهيان سردآبی است كه در مقياس تجاری توليد می‌شود (۱۳). دستكاری‌های كروموزومی گونه‌های مختلف آبزيان پرورشی اعم از دريايی و آب شيرين امروزه در سراسر دنيا به عنوان يک روش مفيد و اقتصادی در بهبود ويژگی‌های ژنتيكی آبزيان، بسيار رايج می‌باشد (۲۳). اهميت مطالعات مربوط به ژنتيک و دستكاری كروموزومی در ماهی قزل‌آلای رنگين كمان در ايران به دليل اينكه تنها گونه در بين ماهيان سردآبی است كه به صورت تجاری پروش داده می‌شود دوچندان است.

القای تتراپلوییدی از گونه‌های دیپلویید در خلال تسهیم اول جنینی از نظر تئوري امكان‌پذير است. تتراپلوييدی يک راه ممكن برای دستكاری ژنوم در ماهيان است و دو مزيت حالت تتراپلوييدی افزايش تنوع ژنتيكی و همچنين افزايش نسخه‌های مربوط به يک ژن است كه در روند تكامل اهميت زيادی در آبزيان دارد (۲۵) يک كاربرد مهم آن در ماهی‌ها توليد جمعيت‌های تريپلوييد تماماً عقيم است كه توسط لقاح بين تتراپلوييدها و ديپلوييدها توليد می‌شود علاوه بر اين وجود جمعيت‌های تتراپلوييد می‌تواند به عنوان يک منبع ژنی برای ايجاد سطوح بالاتر پلوييدی نظير پنتا و هگزا پلوييدی كه هنوز قابليت‌های اين گروه‌ها در آبزی‌پروری و علوم زيستی مورد مطالعه قرار نگرفته است استفاده شود (۲۴). القای تتراپلوييدی در ماهيان به وسيله توقف تسهيم در اولين تقسيم به وسيله استفاده از روش‌های شيميايی يا فيزيكی (شوك گرمايی يا سرمايی و شوك فشاري) صورت می‌گيرد. القای تتراپلوييدی بر اساس سرعت تكامل جنينی تنظيم می‌شود و از اين رو برای انواع مختلف گونه‌های ماهيان متفاوت است (۲۵). تفاوت‌های فردی در بين افراد ماده در توليد جنين‌های تتراپلوييدی نقش مؤثري دارند (۲۵). فاكتورهايی همچون زمان پس از لقاح، دماهای مختلف يا ميزان بلوغ تخمك‌ها می‌تواند در موفقيت عمل پلوييدی مؤثر باشند. تخم‌هايی كه كيفيت پايينی دارند به شوك

حرارتي نيز واكنشي ضعيف نشان مي‌دهند و ميزان بازماندگي در آن‌ها خيلي پايين است (۱۲). سطوح مختلف پلوييدی بر بقاء لاروها تاثير گذار است به طوری‌که بقاء لاروها به دليل استفاده از شوك‌های مختلف پايين آمده و باعث افزايش مرگ و مير در طي مراحل اوليه لاروی می‌شود. همچنين در برخي گونه‌ها رشد تراپلوييدها نيز به طور مشخص متفاوت از ديپلوييدها گزارش شده است و مطالعات برروی ماهي قزل‌آلای رنگين كمان مشخص نموده‌اند كه تريپلوييدهای حاصل از تلاقی تراپلوييد و ديپلوييد مزاياي برتري نسبت به تريپلوييدهای ميوزی و گروه شاهد دارند (۱). به‌علاوه نرهای تراپلوييد قزل‌آلای رنگين كمان گامتهايی تماماً ديپلوييد توليد مي‌كنند در حالی‌كه ماده‌های تراپلوييد اصولاً اووسيت‌های ديپلوييد با تعدادی اووسيت‌های تريپلوييد و تراپلوييد توليد مي‌نمايند (۱۰). القای تراپلوييدی در قزل‌آلای رنگين‌كمان علاوه بر نوع شوک مورد استفاده برای سركوب اولين تقسيم ميتوزی تا حد زيادی تحت تاثير شرايط محيطی محل انجام و همچنين ويژگی‌های مولدين مورد استفاده نظير سن، نژاد و وضعيت ژنتيكی قرار دارد از اين رو بازده و ميزان توليد آن در مناطق مختلف می‌تواند تفاوت‌های زيادی با هم داشته باشد (۲۸). تاكنون مطالعاتی كه بر روی ماهيان تراپلوييد صورت گرفته است بيشتر بر روی توليد اين ماهيان متمركز بوده است و به جنبه‌های ديگر مانند رشد و بيوشيميايی لاشه توجه چندانی نشده است از جمله اين مطالعات در ايران می‌توان به توليد قزل‌آلای رنگين‌كمان تراپلوييد به وسيله شوک گرمايی (۲۰) و بهينه‌سازی شوک حرارتی برای توليد قزل آلای رنگين‌كمان تراپلوييد (۱۳) و در خارج از ايران مطالعاتی بر روی شوک‌های مختلف دمايی و فيزيكی برای توليد ماهيان تراپلوييدی (۱۷)، توليد نتاج تريپلوييد با استفاده از مولد تراپلوييد (۱۸)، بررسی توسعه گنادی ماهيان نر تراپلوييد (۲۱)، استفاده از شوک دمايی برای توليد ماهيان تراپلوييد در زمان‌های مختلف بعد از لقاح در گونه‌های مختلف به منظور دست‌يابی به زمان بهينه اعمال شوک و همچنين تعيين مساحت و حجم گلبول‌های قرمز در ماهيان تراپلوييد (۳,۲۹) صورت گرفته است. در پژوهش حاضر سعی شده است كه علاوه بر توليد قزل‌آلای رنگين‌كمان تراپلوييد به صورت مستقيم و به وسيله شوک دمايی و مقايسه بازماندگی در مراحل مختلف، اثر القای تراپلوييدی بر شاخص‌های كيفی لاشه ماهيان و همچنين تركيب اسيدهای چرب اشباع و غير اشباع در دو گروه ديپلوييد و تراپلوييد بررسی شود.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمايش

اين پژوهش در مركز تكثير ماهی‌چال واقع در استان لرستان، شهرستان الیگودرز در پاييز سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. دمای آب مركز طی دوره آزمايش ۱۱-۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۷/۸-۷/۶، اكسيژن محلول ۸/۵-۸/۲ ميلی‌گرم در ليتر و ميزان هدايت الكتريكی آب ۶۱۰-۵۸۰ ميكروموس بر سانتی‌متر بود.

تهيه مولد و استحصال تخم و اسپرم

برای اين كار از ۸ مولد ماده با ميانگين وزن ۲۴۶±۱۶۰۰ گرم و طول كل ۱/۸±۵۱/۸۷ سانتی‌متر و ۶ مولد نر با ميانگين وزن ۱۸۶±۱۳۹۳ گرم و طول كل ۲/۵۸±۵۰/۵۰ سانتی‌متر كه از نظر سنی ۴ ساله بودند استفاده شد. تخمک‌گيری از مولدين ماده با استفاده از روش معمول در مركز و با بی‌هوش كردن مولدين در عصاره گل ميخک (۱۲۰ ميلی گرم در ليتر) و به روش دستی صورت گرفت. اسپرم‌گيری از مولدين نر با سرنگ ۱۰۰ سی‌سی به منظور جلوگيری از آلودگی با خون و مدفوع انجام شد و از روش خشک برای لقاح استفاده گرديد (۱۳). تخم‌های لقاح يافته بعد از شست و شو و انجام عمل آبگيری به سينی‌های تراف انتقال پيدا كردند.

حالت اول (گروه ديپلوييد)

طبق شرايط معمول تكثير قزل‌آلای رنگين‌كمان، بعد از آبگيری، تعداد ۴۹۰۰ تخم به سينی‌های تراف انتقال داده شدند.

حالت دوم (گروه تراپلوييد)

برای توليد ماهيان تراپلوييد ۶۵ ساعت-درجه بعد از لقاح تعداد ۴۹۰۰ تخم كه بعد از انجام عمل لقاح و آبگيری به سينی‌های تراف انتقال داده شده بود به آرامی جمع‌آوری و به وسيله آبكش پلاستيكی به محفظه عايق دما كه حاوی آب مركز به ميزان ۲۰ ليتر و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد (شدت شوک) بود انتقال داده شدند و به مدت ۱۰ دقيقه (مدت زمان اعمال شوک) درون محفظه عايق دما نگهداری و سپس به درون سينی تراف انتقال داده شدند (۱۶).

انكوباسيون

تخم‌های لقاح يافته تا مرحله چشم‌زدگی در سينی‌های چشمه ريز كه روی آن‌ها پوشيده شده بود، در سالن انكوباسيون نگهداری شدند.

اندازه‌گيری پارامترهای تكثير

درصد چشم‌زدگی، تخم‌گشايی، و شنای فعال در هر يک از دو گروه مورد مطالعه بررسی شد. تخم‌ها بعد از ۱۸۳ درجه روز چشم زدند و بعد از ۳۱۰ درجه روز تخم‌گشايی در آن‌ها صورت گرفت و بعد از تخم‌گشايی لاروها شمارش شدند.

پرورش لارو

بعد از اينكه لاروها تقريبا ۷۰ درصد كيسه زرده خود را جذب كردند، غذا دهی با توجه به توده زنده و درجه حرارت آب شروع شد. دوره پرورش ۳۸ روز به طول انجاميد و لاروها ۱۲ بار در روز و معادل ۷ درصد وزن بدن تغذيه شدند.

سنجش پلوييدی

برای محاسبه درصد القای تراپلوييدی ابعاد هسته و سلول گلبول‌های قرمز۳۰ ماهی اندازه‌گيری شد. بدين منظور ابتدا ساقه دمی ماهيان قطع گرديد و يک قطره خون بر روی لام چكانده شد و به وسيله لام ديگر گسترانده شد و سپس در معرض هوا خشک گرديد. گسترش توليد شده بعد از خشک شدن بوسيله متانول تثبيت گرديد سپس گسترش‌های تثبيت شده با گيمسای ۱۰ درصد به مدت ۲۰ دقيقه رنگ‌آميزی شدند. ۲۰ گلبول قرمز از هر گسترش خونی به وسيله ميكروسكوپ نوری و با

بزرگ‌نمایی۴۰۰ مورد بررسی قرار داده شد. بررسی و محاسبه مساحت و حجم هسته و سلول گلبول‌های قرمز با استفاده از روابط زیر صورت گرفت (۴):

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

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

a: محور بزرگ هسته و سلول
b: محور کوچک هسته و سلول
s: مساحت هسته و سلول
v: حجم هسته و سلول

برای محاسبه درصد القای تتراپلوییدی از فرمول زیر استفاده شد (۱۳).

۱۰۰×(تعداد کل ماهیان/تعداد ماهیان تتراپلوییدی)= تتراپلوییدی (درصد)

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه

در پایان دوره آزمایش با استفاده از فرمول‌های زیر شاخص‌های رشد و تغذیه اندازه‌گیری شد (۲۷).

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)

۳ طول (سانتی متر)/۱۰۰× وزن نهایی (گرم) = ضریب چاقی (گرم بر سانتی متر مکعب)

وزن تر (گرم) / غذای خشک داده‌شده (گرم) = ضریب تبدیل غذا

تعداد روزهای پرورش/وزن اولیه(گرم) - وزن نهایی (گرم) = میانگین رشد روزانه (گرم)

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

آنالیز بیوشیمیایی لاشه

در پایان دوره آزمایش یعنی ۴۵ روز بعد از تخم‌گشایی آنالیز بیوشیمیایی لاشه با سه تکرار برای هر تراف (هر تراف در این آزمایش یک تکرار بود و برای هر تکرار لاشه ۳۰ ماهی با هم مخلوط شد) که در مجموع ۹ تکرار برای هر گروه بود طبق روش‌های استاندارد برای اندازه‌گیری این فاکتورها بر اساس درصد وزن خشک صورت گرفت (۲).

برای اندازه‌گیری رطوبت لاشه از آون (Shimifan LO.141) با دمای ۱۰۵درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد. سنجش خاکستر لاشه با سوزاندن ۱ گرم نمونه در کوره (Shimifan F.47) با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت انجام شد. سنجش مقدار پروتئین، از طریق هضم نمونه‌ها در دستگاه (Digest Automat K438, Buchi) و تعیین مقدار نیتروژن کل نمونه به روش کلدال (Bakhshi V40) و سپس ضرب آن در عدد ثابت ۶/۲۵ انجام شد. چربی لاشه با استفاده از روش سوکسله (Bakhshi 7) و حل کردن چربی‌ها در اتر محاسبه شد. میزان فیبر از طریق هضم اسیدی و قلیایی و سپس سوزاندن نمونه‌های خشک شده در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت محاسبه شد. عصاره فاقد ازت از طریق روش محاسباتی تفریق مجموع میزان پروتئین، چربی، فیبر و خاکستر از ۱۰۰ محاسبه گردید. کربوهیدرات لاشه نیز از طریق حاصل مجموع فیبر و عصاره فاقد ازت (NFE) بدست آمد.

اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب

اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب با سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. برای این کار چربی از نمونه کل بدن بر اساس روش فلوچ و همکاران (۱۵) استخراج شد. برای استری کردن چربی‌ها از روش فریستون (۱۴) استفاده شد. برای بررسی و شناسایی تک‌تک اسیدهای چرب موجود در نمونه عضله ماهی از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) مدل Varian, Houten: CP3800 Walnut Creek ساخت کشور هلند و ستون کاپیلاری

جدول ۳- ابعاد گلبول‌های قرمز در ماهیان دیپلوییید و تتراپلوییید قزل‌آلای رنگین‌کمان (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص (واحد)	دیپلوییید (D)	تتراپلوییید (T)	نسبت (T/D)
مساحت سلول (μm^2)	۹۶/۷۱±۱/ ۲۷ a	۲۱۸/۴۱±۲/۱۶ b	۲/۲۵
حجم سلول (μm^2)	۷۵۴/۴۵±۱۵/۶۰ a	۲۵۱۱/۱۴±۲۲/۲۱ b	۳/۳۲
مساحت هسته (μm^2)	۱۵/۱۱±۰/۳۷ a	۴۲/۱۸±۰/۴۹ b	۲/۷۹
حجم هسته (μm^2)	۳۴/۶۵±۱/۱۱ a	۱۴۸/۴۱±۲/۷۶ b	۴/۲۸

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

از نوع BPX و آشکارساز یونش شعله‌ای استفاده شد.

آنالیز آماری

هرتراف به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش گردید. در این مطالعه کلیه محاسبات آماری در دو نرم افزارSPSS نگارش ۱۹ و Microsoft Office Excel 2010 انجام شد. از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. برای بررسی فاکتورها در بین دو تیمار از آزمون T- test مستقل استفاده شد (۱۳).

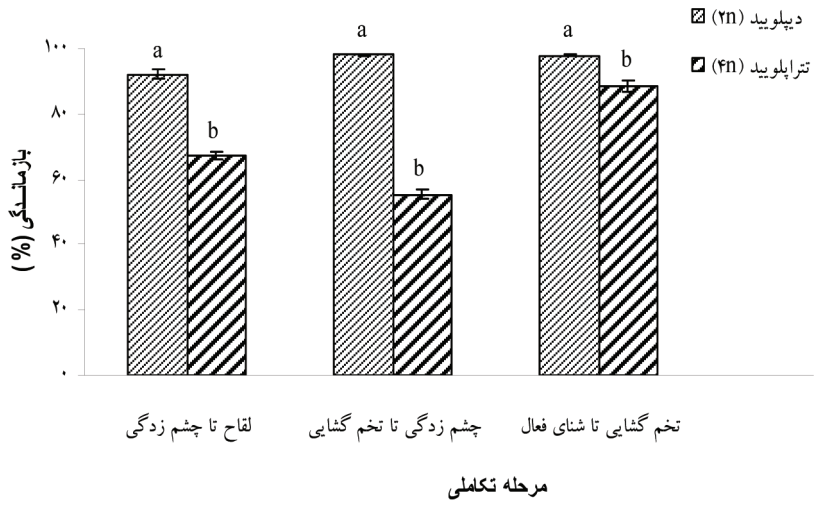
نتایج

با توجه به اندازه‌گیری‌های صورت گرفته روی گلبول‌های قرمز خون در ماهیان گروه تتراپلوئید، درصد القای تتراپلوییدی۲±۶۸/۲۱ درصد بود. حجم و مساحت هسته و سلول گلبول‌های قرمز (جدول ۳) در گروه

جدول۴- شاخص‌های رشد و تغذیه در انتهای دوره ۳۸ روزه پرورش (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص (واحد)	دیپلوئید	گروه تحت شوک
وزن اولیه (g)	۰/۰۹۶±۰/ ۰۱ a	۰/۰۹۷±۰/ ۰۰ a
وزن نهایی (g)	۲/۲۱±۰/۰۵ a	۲/۳۵±۰/۰۲ b
افزایش وزن (g)	۲/۱۱±۰/۰۶ a	۲/۲۶±۰/۰۲ b
ضریب تبدیل غذا	۰/۸۶±۰/۰۷ a	۰/۹۰±۰/۱۵ a
ضریب رشد ویژه (درصد/day)	۸/۲۵±۰/۱۲ a	۸/۳۸±۰/۰۴ a
بازماندگی (درصد)	۹۴/۱۲±۰/۱۱ a	۹۲/۶۴±۰/۳۹ a

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



شکل۱- درصد بازماندگی در زمانهای مختلف در گروه‌های دیپلوئید و گروه تحت شوک دیر هنگام برای القای تتراپلوییدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان.

تتراپلوییدها به طور معناداری از گروه دیپلوییدها بیشتر بود (p<۰/۰۱).

تجزیه آماری و میانگین‌های مربوط به میزان ماندگاری در مراحل لقاح تا چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و شنای آزاد لاروی در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که القای تتراپلوییدی به وسیله شوک دمایی می‌تواند اثرات معنی‌داری بر بازماندگی از لقاح تا چشم‌زدگی، چشم‌زدگی تا تخم‌گشایی و از تخم‌گشایی تا شنای فعال داشته باشد (p<۰/۰۵). میزان بازماندگی در گروه دیپلوییدها در سه مرحله ذکر شده بیش‌تر از گروه تتراپلوییدها بود (p<۰/۰۵).

نتایج حاصل از زیست‌سنجی و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهیان در طول دوره‌ی آزمایش در جدول ۴ ارائه گردیده است. در پایان دوره‌ی آزمایش، بیشترین وزن نهایی (۰/۰۲±۲/۳۵ گرم) در گروه تتراپلوییدها به دست آمد که با گروه دیپلوییدها اختلاف معنادار داشت (p<۰/۰۵). همانطور که از جدول شماره ۴ مشخص است، بین گروه‌های دیپلوییدها و تتراپلوییدها از نظر افزایش وزن اختلاف معنادار وجود داشت (p<۰/۰۵). همچنین بین سایر شاخص‌های رشد و تغذیه بین دو گروه آزمایشی اختلاف معنادار ثبت نشد (p > ۰/۰۵). از نظر میزان بازماندگی بین دو گروه اختلاف معنادار وجود نداشت (p > ۰/۰۵).

نتایج مربوط به آنالیز ترکیب بیوشیمیایی لاشه در جدول ۵ آورده شده است. با توجه به جدول مشاهده می‌شود که بین دو گروه از نظر درصد رطوبت، پروتئین و چربی اختلاف معناداری وجود دارد (p<۰/۰۵)، اما در سایر شاخص‌های مربوط به آنالیز لاشه ماهیان بین دو گروه اختلافی وجود نداشت (p > ۰/۰۵).

نتایج مربوط به بررسی پروفایل اسیدهای چرب ماهیان مورد بررسی در جدول ۶ آمده است. با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که میزان اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع ماهیان دیپلوییدها و تتراپلوییدها با یکدیگر اختلاف معناداری دارند (p<۰/۰۵).

میزان اسید چرب اشباع پالمیتیک (۱۶:۰C) و پالمیتولیئک (۱۶:۱C) در گروه تتراپلوییدها کاهش یافته و با گروه دیپلوییدها اختلاف معناداری دارد (p<۰/۰۵). میزان اسید چرب تک غیر اشباع اولئیک (۱۸:۱C-۹n) در گروه تتراپلوییدها به شکل معناداری کاهش یافت (p<۰/۰۵). سایر اطلاعات مربوط به اسیدهای چرب در جدول ۶ آمده است.

بحث

در پژوهش حاضر کاهش بازماندگی در گروه تتراپلوییدها در سه مرحله چشم‌زدگی، تخم‌گشایی و شروع شنای فعال نسبت به گروه دیپلوییدها دیده شد این حالت در سایر تحقیقات در مورد قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (۱۱،۹،۸،۲۰) و یک مطالعه بر روی گربه ماهی (*Pangasius hypophthalmus*) نیز گزارش شده است (۱۷). محققین دلایلی را برای میزان کاهش بقاء در تتراپلوییدها اظهار می‌دارند که می‌توان به پدیده‌ی موزاییک شدن،آنیوپلوییدی، افزایش نامتناسب سطح سلول نسبت به حجم آن و وقوع اشتباهات سلولی اشاره کرد. علت کاهش بازماندگی در اثر القاء شوک این است که شوک‌های مکانیکی یا فیزیکی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان می‌تواند به وسیله انعقاد زرده به تخم‌ها آسیب برساند. به طور مثال در ساعت چهارم پس از لقاح حساسیت تخم‌ها دو برابر ساعت اول پس از لقاح است (۱۹)، از این‌رو دستکاری تخم‌ها تا ۶ ساعت پس از لقاح بقاء لاروی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از طرف دیگر مشخص شده است که علت مرگ و میر بالا خصوصاً در مراحل قبل از تخم‌گشایی تولید انبوه بچه ماهیان آنیوپلوییدها در اثر شوک است (۹). به طور کلی شوک‌های حرارتی تأثیرات زیادی بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده دارند. احتمالاً تخریب رشته‌های دوک که

جدول ۵- آنالیز تقریبی لاشه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان دیپلوییدها و تتراپلوییدها در پایان دوره ۳۸ روزه پرورش (میانگین ± خطای استاندارد).

شاخص (درصد)	دیپلوییدها	گروه تحت شوک
رطوبت	۸۰/۶۶±۰/ ۱۱ a	۸۴/۶۵±۱/۱۷ b
پروتئین	۶۴/۲۳±۰/۲۸ a	۶۷/۱۱±۰/۷۴ b
چربی	۱۴/۵۶±۰/۸۱ a	۱۱/۵۵±۰/۲۸ b
فیبر	۱/۳۱±۰/۰۳ a	۱/۲۳±۰/۰۸ a
عصاره فاقد ازت	۵/۶۶±۰/۱۱ a	۵/۸۸±۰/۲۷ a
کربوهیدرات	۶/۹۷±۰/۱۳ a	۵/۶۶±۰/۴۴ a
خاکستر	۷/۴۴±۰/۱۱ a	۸/۲۱±۰/۴۷ a

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

جدول ۶- پروفایل اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در گروه دیپلوییدو گروه تتراپلوییدو (میانگین ± خطای استاندارد).

اسید چرب (درصد)	دیپلوییدو	تتراپلوییدو
C ۱۴:۰	۳/۱۱±۰/ ۰۷ a	۳/۲۷±۰/۱۹ a
C ۱۶:۰	۱۸/۴۴±۰/۵۷ a	۱۶/۲۵±۰/۷۴ b
C ۱۶:۱	۷/۰۱±۰/۲۱ a	۵/۵۸±۰/۴۴ b
C ۱۷:۰	۰/۸۱±۰/۰۵ a	۰/۷۸±۰/۰۷ a
C ۱۸:۰	۴/۸۵±۰/۱۶ a	۴/۱۸±۰/۳۵ a
C ۱۸:۱ n-۹	۱۹/۶۲±۰/۳۹ a	۱۷/۹۱±۰/۵۵ b
C ۱۸:۲ n-۶	۱۱/۴۴±۰/۴۰ a	۱۰/۴۱±۰/۱۵ a
C ۱۸:۳ n-۳	۱/۸۶±۰/۱۲ a	۱/۳۳±۰/۲۲ a
C ۱۸:۳ n-۶	۰/۴۸±۰/۰۱ a	۰/۴۲±۰/۰۲ a
C ۲۰:۰	۱/۰۶±۰/۰۴ a	۱/۵۶±۰/۱۸ a
C ۲۰:۱ n-۹	۱/۳۴±۰/۱۳ a	۱/۲۱±۰/۵۶ a
C ۲۰:۳ n-۶	۰/۹۸±۰/۰۷ a	۱/۰۷±۰/۴۳ a
C ۲۰:۴ n-۶	۲/۷۳±۰/۲۱ a	۲/۳۹±۰/۱۲ a
C ۲۰:۵ n-۳	۴/۲۹±۰/۱۹ a	۴/۷۵±۰/۲۷ a
C ۲۲:۵ n-۳	۰/۸۹±۰/۰۷ a	۰/۷۴±۰/۰۳ a
C ۲۲:۶ n-۳	۱۷/۴۵±۰/۶۱ a	۱۶/۷۸±۰/۳۹ a
Σ SFA	۲۸/۲۸±۰/۷۱ a	۲۶/۰۴±۰/۵۸ b
ΣMUFA	۲۷/۹۷±۰/۴۶ a	۲۴/۷۰±۰/۸۴ b
ΣPUFA	۴۰/۱۵±۰/۳۵ a	۳۷/۸۹±۰/۵۹ a
ΣHUFA	۲۵/۳۷±۰/a۴۹	۲۴/۶۶±۰/۸۴ a
۳PUFA-Σn	۲۴/۵۰±۰/۳۶ a	۲۳/۶۰±۰/۷۲ a
۳HUFA-Σn	۲۲/۶۴±۰/۴۷ a	۲۲/۲۷±۰/۵۴ a
Σn- ۳	۲۴/۵۰±۰/۳۶ a	۲۳/۶۰±۰/۷۲ a
Σ n- ۶	۱۵/۶۵±۰/۵۵ a	۱۴/۲۹±۰/۴۵ a
n۶-/۳- n	۱/۵۷±۰/۰۷ a	۱/۶۷±۰/۰۶ a

ΣSFA: مجموع اسیدهای چرب اشباع، **ΣMUFA**: مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه، **ΣPUFA**: مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با بیش از یک پیوند دوگانه، **ΣHUFA**: مجموع اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه.

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

نتیجه آن جدايي جزيي كروموزوم‌ها است، سبب به وجود آمدن حالت آنیوپلوییدی در ارگانیسم‌ها و در نتیجه بالا رفتن میزان مرگ ومیر در بین تیمار حرارتي خواهد شد. اخيراً موارد ديگري از جمله بيان برخي پروتئين‌هاي خاص مرتبط با استرس و يا خروج اسپرم از تخمك در اثر اعمال شوك و در نتيجه توليد جنين‌هاي ناقص نيز در اين خصوص مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۵). خون از جمله بافت‌هايي است كه به شدت تحت تأثير ويژگي‌هـاي مختلف زيستي و محيطي قرار مي‌گيرد، عوامل مختلفي از جمله سن، بلوغ جنسي، جنسيت، درجه حرارت محيط، سلامتي عمومي، پلوييدي و تغذيه، همه از عواملي هستند كه به طور مؤثر بر بافت خون اثر گذارند (۱۳). گلبول‌های قرمز خون در ماهیان تتراپلوییدقزل‌آلای رنگین کمان به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گلبول‌های قرمز در انواع دیپلوییدوسیع و حجیم‌تر بودند. افزايش ابعاد گلبولي در اثر القاي پلوييدي، حالتي مرسوم است و عموما به دليل افزايش ميزان محتواي مواد وراثتي هسته رخ مي‌دهد. القای تتراپلوییدی در ماهیان منجر به افزايش ابعاد گلبولي مي‌گردد، اگرچه نسبت افزايش ابعاد در گونه‌های مختلف متفاوت است (۲۶) اندازه‌ي هسته‌ي گلبول قرمز در تتراپلوییدها بزرگ‌تر از دیپلوییدها است به طور کلی طول هسته یا سلول نسبت به عرض آن، به نسبت بيشتري تحت تأثير پلوييدي قرار مي‌گيرد به طوری که در بسياري از موارد تنها سنجش طول هسته (محور بزرگ) به عنوان شاخص القای پلوییدی در ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است (۱۳). افزایش ابعاد سلولی، عمدتاً به دلیل افزایش مقدار DNA سلولی بروز مي‌نمايد، با اين وجود همواره رابطه خطي و مستقيمي بين اين دو ويژگي وجود ندارد، برای مثال حجم گلبول‌های قرمز در *Pomoxis annularis* دیپلوییدµm ۳ ۱۲۵ است، درحالی که انتظار بر این است که القای تریپلوییدی منجر به افزایش ۵۰ درصد در حجم سلولی گردد و آن‌را به µm ۳ ۱۸۷ برساند، گلبول‌های قرمز تنها افزایش حجم معادل µm ۳ ۲۶ را نشان داده و به حجم µm ۳ ۱۵۶ رسیدند. در این تحقیق ابعاد گلبولي ماهي قزل‌آلای‌رنگین‌کمان به دلیل افزایش مقدار DNA سلولی و نیز تعدادکروموزوم‌ها منجر به افزايش نسبی ابعاد گلبولي گرديد. مقايسه ارقام داده شده در خصوص ابعاد سلولی گلبول‌های قرمز، تفاوت‌هايي هر چند جزيي با ارقام ارايه شده توسط کلباسی و همکاران (۲۰) و درافشان و همکاران (۱۳) نشان داد. بنسیک و همکاران (۳) گزارش کردند که در اثر القای تتراپلوییدی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان مساحت گلبول‌های قرمز به میزان ۲/۱۸ افزایش یافت در حالی که در مطالعه حاضر مساحت گلبولی به میزان ۲/۲۵ افزايش يافته است. تفاوت در ابعاد گلبولي در افراد مختلف يك گونه پيش از اين نيز گزارش شده است كه مي‌تواند به عواملي همچون نوع روش اندازه‌گيري، نوع و يا دقت ميكرومتر مورد استفاده و روش تخمين اعداد، و يا حتي وجود تفاوت‌های ذاتی موجود در ابعاد گلبولي بين افراد مختلف و يا حتي درون يك فرد مرتبط باشد (۱۳). در پژوهش حاضر وزن نهایی و افزایش وزن در گروه تتراپلوییدازگروه دیپلوییدبالاتر بود که این نتیجه بر خلاف یافته‌های گزارش شده توسط کوروت (۹) است. ممکن است علت این تفاوت به زمان‌های نمونه‌گیری برای بررسی رشد برگردد در تحقیق حاضر شاخص‌های مربوط به رشد در ۳۸ روز بعد از شروع تغذیه فعال اندازه‌گیری شده‌اند در صورتی که در مطالعه فوق یررسی رشد در ۱۰۰ روز بعد از شروع تغذیه فعال بوده است. تاکنون مطالعه‌ای بر روی بیوشیمیایی لاشه ماهیان قزل‌آلای تتراپلوییدصورت نگرفته است اما بر روی ماهیان تریپلوییدمطالعاتی صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به سوری نژاد و همکاران (۲۷) اشاره کرد که گزارش دادند در سال دوم پرورش میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در ماهیان تمام ماده تریپلوییدقزل‌الای رنگین‌کمان نسبت به ماهیان دیپلوییدمتفاوت است به طوری که میزان رطوبت در گروه تریپلوییدکاهش و میزان چربی، پروتئین و خاکستر افزایش یافته بود. بررسی بیوشیمیایی لاشه در گروه تتراپلوییدنشان داد میزان پروتئین و رطوبت لاشه افزایش و میزان چربی کاهش یافته است ممکن است ماهیان گروه تتراپلوییدنسبت به ماهیان گروه دیپلوییددر این مرحله زمانی مشخص از رشد به مقدار بیشتری از چربی برای تولید انرژی استفاده کرده باشند و به دنبال آن درصد بیشتری از پروتئین در بافت‌های ماهیان این گروه ابقاء شده باشد که با داده‌های حاصل از رشد همخوانی دارد. بوچتوا و همکاران (۵) گزارش کردند که در لای ماهی (*Tinca tinca*) تریپلوییدمیزان رطوبت لاشه زیاد می‌شود و علت آن را افزایش اندازه سلولی و به دنبال آن کاهش قوام بافت عضله دانستند. در مطالعه حاضر میزان رطوبت لاشه در ماهیان تتراپلوییدبه شکل معناداری افزایش یافت که ممکن است علت آن افزایش ابعاد سلولی در ماهیان تتراپلوییدباشد. تاکنون مطالعه‌ای روی الگوی اسیدهای چرب ماهیان تتراپلوییدصورت نگرفته است اما بر روی ماهیان تریپلوییدمطالعاتی صورت گرفته است. بوچتوا و همکاران (۶) بیان کردند که ترکیب اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در لای ماهی در گروه‌های دیپلوییدو پلی پلوییدمی‌تواند متفاوت باشد. متابولیسم اسیدهای چرب در ماهیان با سطوح پلوییدی مختلف به طور متفاوتی تنظیم می‌شوند و مانند سن، رسیدگی جنسی، نوع گونه ماهی و سطح پلوییدی می‌توانند مقدار اسیدهای چرب را تحت تاثیر خود قرار دهند (۶،۲۲). در ماهیان اسیدهای چرب اشباع به ویژه C۱۶:۰ و C۱۶:۱ به مقدار زیادی صرف تولید انرژی می‌شوند و در طول رشد به طور مداوم مورد استفاده گونه‌های پرورشی قرار می‌گیرند و کاهش مقدار آن‌ها در عضله می‌تواند رشد را تحت تاثیر قرار دهد (۷). در مطالعه حاضر مقدار اسید چرب C۱۶:۰ و C۱۶:۱ در گروه تتراپلوییدکاهش یافته است که این امر ممکن است بیانگر این مساله باشد که ماهیان این گروه به دلیل رشد بیشتر مقدار بیشتری از این اسیدهای چرب را به مصرف رسانده‌اند. اسید چرب تک غیر اشباع اولئیک (n-۹C۱۸:۱) نیز در فرآیندهای مربوط به سوخت و ساز و تولید انرژی دخیل است و کاهش آن در بافت عضله می‌تواند تا حدودی رشد را تحت تاثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری کلی

در نهایت می‌توان این گونه عنوان کرد که شوک دیرهنگام برای القای تتراپلوییدی علاوه بر کاهش بازماندگی در مراحل اولیه تکامل ماهی، می‌تواند شاخص‌های رشد و تغذیه و همچنین ترکیب اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را تحت تاثیر قرار دهد اما تغییرات ایجاد شده در گروه تحت شوک می‌تواند شاخص‌های مربوط به رشد را بهبود بخشد و از طرف دیگر منجر به کاهش ارزش غذایی یعنی کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع و افزایش اسیدهای چرب اشباع، نسبت

به حالت طبیعی نمی‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه مسئولین مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان ماهی‌چال، جناب آقای مهندس خرسندی و مرکز تکثیر و پرورش آبزیان اصفهان، جناب آقای مهندس کشت‌کار سپاس‌گزاری می‌گردد. از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر نیز به خاطر پشتیبانی مالی از این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Arai K. (2001). Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. *Aquaculture*, 197: 205–228.

2. AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists, 16th (end), *Procedure* 984. 25.

3. Bencsik, I., Pacala, N., Dumitrescu1, G., Dronca, D., Stanculet, J., Petculescu-Ciochina, L. and Boca., L. 2012. Tetraploidy Determination in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Based on Erythrocytes Dimensions. *Animal Science and Biotechnologies*, 45(1): 111-114.

4. Benfey T. G., Sutterlin A. M. (1984). The hematology of the triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of fish biology*, 24: 333-338.

5. Buchtova H., Vorlova L., Svobodova Z., Flajshans M. (2005). Chemical composition of flesh of diploid and triploid population of tench (*Tinca tinca*). *Czech Journal Animal Science*, 50(5): 213-219.

6. Buchtova H., Smutna M., Vorlova L., Svobodova Z., Flajshans M. (2004). Fatty Acid Composition of Diploid and Triploid Populations of Tench (*Tinca tinca*). *Acta Veterinaria Brno,* 73: 235-245.

7. Cai Z., Curtis L. R. (1990). Effects of diet and temperature on food consumption, growth rate and tissue fatty-acid composition of triploid grass carp, Ctenopharyngodon idella. *Aquaculture*, 88(3): 313-327.

8. Chourrout D., Foisil L. (1992). Chromosome dubling by pressure treatments for tetraploidy and mitotic gynogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* : re-examination and improvement, *Aquaculture and Fisheries Management*, 23: 567-575.

9. 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.

10. Chourrout D., Nakayama I. (1987). Chromosome studies of progenies of tetraploid female rainbow trout. *Theoretical and Applied Genetics*, 74: 687– 692.

11. Diter D., Quillet E., Chourrout D. (1993). Suppression of first egg mitosis induced by heat shocks in the rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 42: 777-786.

12. Diaz N. F., Iturra P., Veloso A., Estay F., Colihueque N. (1993). Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 114:33-40.

13. Dorafshan S., Vafaei Saadi A., Nekoeifard A. (2014). Optimal heat shock condition for tetraploidy induction in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*, 69:411-421.

14. Firestone D. (1998). Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, American Oil Chemists' Society, Vol. I–II, 5th edn. (Metodo), AOCS, Champaign, 56-78

15. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry,* 226: 497–509.

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

17. Hartono D. P., Witoko P., Purbosari N. 2016. The effect of heat shock on the tetraploidy of catfish, *Pangasius hypophthalmus*. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - International *Journal of the Bioflux Society,* 9(3):597-603.

18. Hershberger W. K., Hostuttler M. A. 2006. Development of Tetraploid Rainbow Trout

May Yield Improved Triploid Production. April/May 2006 Global Aquaculture Advocate.

19. Jensen J. O. T., Alderdice D. F. (1983). Changes in mechanical shock sensitivity of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* eggs during incubation. *Aquaculture*, 32: 303-312.

20. Kalbassi M. R., Baghri A., Pourkazemi M., Abdolhay H. (2004). Study create tetraploids rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by thermal shock. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 12: 27-33. (In Persian).

21. Nam Y. K., Kim D. S. (2004). Ploidy status of progeny from the crosses between tetraploid males and diploid females in mud loach *(Misgurnus mizolepis)*. *Aquaculture,* 236: 575-582.

22. Manor M. L., Weber G. M., Cleveland B. M., Kenney P. B. (2014). Effects of feeding level and sexual maturation on fatty acid composition of energy stores in diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 418:17-25.

23. Omoto N., Maebayashi M., Adachi S., Arai K., Yamauchi K. (2005). Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso Huso* × *Acipenser ruthenus)*. *Aquaculture*, 245: 39-47.

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

25. Piferrer F., Beaumont A., Falguière J.C., Flajšhans 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.

26. Phillips, R. B., Zajicek, K.D., Ihssen, P. E. and Johnson, O. 1986. Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture*, 54: 313-319.

27. 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).

28. Thorgaard G. H., Jazwin M. E., Steir A. R. (1981). Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 110: 546–550.

29. Zou S., Li S., Cai W., Zhao J., Yang H. (2004). Establishment of fertile tetraploid population of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture*, 238: 155-164.