مقایسه‌ی میزان تخم‌گشایی، بدشکلی، بازماندگی، شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی لاشه‌ی ماهیان تمام ماده‌ی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) حاصل از ماده‌زایی با استفاده از پرتو گاما

مهدی سلطانی[۱*]، غلامرضا شاه‌حسینی[۲]، مرضیه حیدریه[۳]، علی طاهری‌میرقائد[۴] و اشکان زرگر[۵]

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۹

چکیده

در این تحقیق از پرتو گاما با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری به منظور ماده‌زایی و جهت القای دیپلوئیدی از شوک دمایی زود هنگام در ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد استفاده شد. پس از طی دوره‌ی تکاملی درصد تخم‌گشایی، بدشکلی و بازماندگی ماهیان گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشدی و آنالیز تقریبی لاشه‌ی ماهیان نیز در پایان دوره‌ی پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از گناد ماهیان انجام و از روش بافت‌شناسی برای اثبات میزان موفقیت القای ماده‌زایی استفاده گردید. این نتایج بیش‌ترین میزان بدشکلی و کم‌ترین میزان تخم‌گشایی و بازماندگی را در گروه تریپلوئیدی در مقایسه با گروه‌های مختلف نشان داد ($p<۰/۰۵$) و در سایر تیمارهای پرتودهی شده تفاوت معنی‌داری بین بازماندگی و درصد بدشکلی ملاحظه نشد. در بین گروه‌های پرتوتابی شده بیش‌ترین درصد تخم‌گشایی مربوط به گروه ۴۵۰ گری است ($p<۰/۰۵$). شاخص‌های رشدی در تیمارهای ماده‌زایی شده نسبت به گروه شاهد و تریپلوئید افزایش معنی‌داری یافته است ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصله اختلاف معنی‌داری را در پروتئین، چربی، خاکستر و ماده‌ی خشک لاشه در بین گروه‌های مختلف نشان نداد. تهیه‌ی مقطع بافت‌شناسی گناد ماهیان ثابت کرد که استفاده از روش پرتوتابی گاما در ماده‌زایی این گونه ماهی موفقیت‌آمیز بوده است. با توجه به نتایج فوق می‌توان نتیجه گرفت که ماده‌زایی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از پرتو گاما در کلیه‌ی دوزها به خوبی صورت گرفته است و در مقایسه با روش تریپلوئیدی روشی مناسب برای افزایش بازده می‌باشد.

کلمات کلیدی: قزل آلای رنگین کمان، پرتو گاما، ماده‌زایی، شاخص‌های رشد، ترکیبات بدن

مقدمه

پرورش ماهیان سردآبی و به ویژه قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* دارای اهمیت خاصی بوده و طبق آمار، تولید و پرورش این ماهی در جهان به بیش از ۸۱۴۰۶۸ هزار تن در سال می‌رسد (FAO 2013). در سال‌های اخیر حجم وسیعی از آبزی‌پروری کشور به دلایل مختلفی از جمله کیفیت گوشت و بازارپسندی، سهولت عادت‌پذیری به غذای دستی و تحمل بهتر شرایط پرورش، مربوط به ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بوده، به طوری که در سال ۱۳۹۱ میزان تولید آن برابر ۱۳۱۰۰۰ تن بوده است (آمارنامه کشاورزی ۱۳۹۱). یکی از مشکلات موجود در صنعت پرورش آبزیان، فرا رسیدن زودهنگام بلوغ جنسی است (Bye and Lincoln 1986, Sheehan

[۱*] استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران E-mail: msoltani@ut.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانشجوی دکترای بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۳] استادیار پژوهشکده‌ی کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران

[۴] دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۵] استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

et al. 1999). در برخی گونه‌ها مانند تیلاپیا بلوغ جنسی در جنس نر و ماده به صورت همزمان اتفاق می‌افتد (Myers et al. 1995)، اما در برخی دیگر از جمله آزادماهیان امکان بالغ شدن جنس نر در طی عملیات پرورش زودتر می‌باشد این در حالی که جنس ماده در این دوره به ندرت بالغ می‌شود (Komen and Thorgaard 2007). در نتیجه تولید و پرورش جمعیت‌های تمام ماده و یا عقیم در این خانواده می‌تواند باعث افزایش بازده تولید شود (Pandian and Sheela 1995, Benfey 1996b, Sheehan et al. 1999, Omoto et al. 2005). از طرفی این پدیده در بسیاری از ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین کمان باعث کاهش رشد بدن شده (Johnstone et al. 1979, Quillet et al. 1992, Yousefian 2010) و از طرف دیگر باعث کاهش کیفیت گوشت می‌شود، زیرا چربی و پروتئین ماهیچه تخلیه شده و جای آن را آب می‌گیرد. همچنین رنگدانه‌های ماهیچه‌ها خارج شده و وارد تخمک‌ها می‌شوند (Johnstone et al. 1979, Benfey 1966, Chouliara et al. 2004). به دلیل این که اغلب جمعیت‌های تریپلوئید عقیم و نابارور می‌باشند در این راستا مطالعات زیادی روی تریپلوئیدی در آزاد ماهیان انجام شده است (Quillet 1994). تریپلوئیدی می‌تواند با جلوگیری از خروج گویچه‌ی قطبی دوم توسط جلوگیری از تقسیم دوم میوزی صورت بگیرد که این اغلب توسط شوک فشار، دما (سرما و یا گرما)، کلشیسین و سیتوکلسین B اتفاق می‌افتد (Yamashita et al. 1993). در آزادماهیان برای تولید جمعیت تمام ماده از ماده‌زایی (گاینوژنز) استفاده می‌شود (Bye and Lincoln 1986, Billard 1992, Quillet et al. 1992). تولید جمعیت ماهیان تمام ماده در قزل‌آلای رنگین کمان، غیرفعال کردن اسپرم با دوزهای مختلف اشعه‌ی گاما ساتع شده از کبالت ۶۰ پرتودهی انجام می‌گردد (Quillet et al. 1992, Donaldson 1996, O'Flynn et al. 1997, Abedian-Kenari et al. 2013). هدف از انجام این پژوهش بررسی و تعیین دوز مناسب پرتودهی برای اندازه‌گیری میزان تخم‌گشایی، بدشکلی و بازماندگی و همچنین اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی لاشه‌ی ماهی قزل‌آلا بود.

مواد و روش کار

جهت انجام آزمایش‌های مربوط به تولید ماهیان تمام ماده (گاینوژنز) ماهیان مولد ۳ ساله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نر و ماده (آلبینو و معمولی) که از نظر ظاهری، سالم و بدون هیچ گونه عارضه و از نظر رسیدگی برای تکثیر مناسب بودند، خریداری و به سالن پرورش ماهیان سردابی پژوهشکده‌ی کشاورزی هسته‌ای منتقل شدند. پس از سپری شدن دوره‌ی سازگاری با شرایط محیطی جدید (۱ هفته در دمای ۱۱ درجه) اسپرم با فشار به ناحیه‌ی شکمی از مولدین نر جمع‌آوری و شاخص‌های کیفی آن توسط میکروسکوپ (مدت زمان تحرک اسپرم-ها) بررسی شد. پس از حصول اطمینان از کیفیت آن‌ها جهت غیرفعال‌سازی ژنتیکی اسپرم، اسپرم‌های اخذ شده با محلول رقیق کننده‌ی لان استینر و همکاران ۱۹۹۵ ($NaCl=1.204$, $KCl=0.596$, $MgSO_4=0.039$, $CaCl_2=0.22$, $Hepes=0.953$, $pH=7.1$) (آذری تاکامی و همکاران ۱۳۸۰) به نسبت ۱ به ۴ رقیق‌سازی شده و درون فالکون ریخته شد و در شرایط کنترل شده (دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) با استفاده از پرتو گاما حاصل از کبالت ۶۰ (Gamma cell PX-30-ISSIE, Russia) با دوز ۰/۱۵۶ گری بر ثانیه با دوزهای ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰ و ۱۰۵۰ گری به صورت جداگانه پرتودهی شدند. در مرحله‌ی بعد لقاح به صورت خشک با مخلوط نمودن تخمک و اسپرم (با نسبت ۱-۰/۵ سی‌سی اسپرم برای هر ۱۰۰۰ قطعه‌ی تخمک در دوزهای مختلف) انجام شد. به منظور دیپلوئید نمودن جنین‌های هاپلوئید، تخم‌های لقاح یافته ۲۰ دقیقه بعد از لقاح (مرحله‌ی حساس القای دیپلوئیدی)، به مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر شوک حرارتی (حمام آب گرم با دمای ۲۸±۰/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار

گرفتند (Chourrout and Quillet 1982). پس از اعمال شوک تخم‌ها به سیستم مدار بسته پرورش تخم ماهی با دمای ۱۱°C منتقل و جهت ادامه‌ی تکامل مراحل جنینی تا زمان تفریخ و جذب کیسه‌ی زرده درون این انکوباتور نگهداری شدند. به منظور بررسی شرایط بهینه‌ی لقاح یک گروه به عنوان شاهد، بدون استفاده از پرتوتابی و شوک حرارتی در نظر گرفته شد. همچنین برای بررسی شوک حرارتی یک گروه شاهد هاپلوئید حاصل لقاح اسپرم اشعه داده با تخمک طبیعی در نظر گرفته شد. در جهت القای تریپلوئیدی اسپرم با تخمک معمولی لقاح و بلافاصله با استفاده از شوک حرارتی القای تریپلوئیدی شدند. برای اثبات ماده‌زایی یک گروه در نظر گرفته شد بدین صورت که تخمک ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان طلایی (G'G') در آن اخذ و به عنوان مارکر رنگ با استفاده از لقاح با اسپرم پرتو خورده غیرطلایی (GG) استفاده گردید. برای گذرانیدن دوره‌ی تکامل جنینی لقاح یافته در گروه‌های مختلف آزمایشی به یک انکوباتور مدار بسته منتقل شده و درصد تفریخ و بدشکلی محاسبه شد. همچنین پس از جذب کیسه‌ی زرده لارو ماهیان تخم-گشایی شده از این انکوباتور درون سبدهای کدگذاری شده در تراف منتقل شدند. در این مرحله پس از شروع شنای فعال لارو ماهی توسط خوراک آغازگر قزل‌آلای رنگین کمان غذا دهی شدند. میزان تلفات به صورت روزانه در طی عملیات در کلیه‌ی گروه‌های پرورشی برای محاسبه تلفات تجمعی ثبت شد. میزان تخم‌گشایی، بدشکلی و همچنین میزان بازماندگی در تیمارهای مختلف آزمایشی از طریق فرمول‌های زیر اندازه‌گیری شد:

۱۰۰ × (تعداد لارو باقیمانده از تخم‌گشایی : تعداد کل لاروهای تخم گشایی شده) = درصد بازماندگی

۱۰۰ × (تعداد لارو ماهیان بدشکل : تعداد کل لاروهای نمونه‌برداری شده) = درصد بدشکلی

۱۰۰ × (تعداد کل تخم‌های تخم‌گشایی شده : تعداد کل تخم‌های باقیمانده) = درصد تخم گشایی

پس از گذرانیدن دوره‌ی لاروی ماهیان تیمارهای مختلف آزمایشی به ۳ واحد آزمایشگاهی (مخازن ۱۰۰ لیتری تا وزن ۱-۳ گرم و ۳۰۰ لیتری از وزن ۱-۳ گرم تا آخر دوره‌ی پرورشی) منتقل شدند.

از روش بافت‌شناسی کلاسیک برای تعیین جنسیت ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی در این تحقیق استفاده شد. بنابراین جهت بررسی بافت‌شناسی، از هر واحد آزمایشی از گنادهای ۴ قطعه ماهی نمونه‌گیری به عمل آمد. بعد از کالبدگشایی نمونه‌های گناد ماهی مربوط به هر تیمار آزمایشی در داخل فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. ۲۴ ساعت بعد از نمونه‌برداری فرمالین نمونه‌ها تعویض شد. جهت تعیین جنسیت از یافت‌های گناد مقطع‌گیری و با استفاده از روش (H&E) رنگ‌آمیزی شد.

پس از ۶ ماه شاخص‌های رشدی ماهیان شامل افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ بازده پروتئین اندازه‌گیری و بررسی شدند (Hoseinifar et al. 2011, Sheehan et al. 1999). در پایان دوره‌ی آزمایشی برای محاسبه‌ی ترکیب شیمیایی بدن از هر تیمار نمونه‌برداری شد (۴ عدد ماهی برای هر واحد آزمایشی n=3) و نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده جمع‌آوری و با استفاده از روش استاندارد ترکیب شیمیایی بدن آن‌ها شامل ماده‌ی خشک، پروتئین، چربی و خاکستر اندازه‌گیری شد (AOAC 1990).

نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف بررسی شد. داده‌های درصدی پیش از انجام آنالیزها با Arc sin تبدیل شدند. تجزیه و تحلیل آماری به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS 17 انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ONE-WAY-ANOVA) انجام و برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها از طریق آزمون (Tukey) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (Luckenbach et al. 2004).

نتایج

میزان تخم‌گشایی، بدشکلی و بازماندگی لارو

نتایج این تحقیق نشان داد که مرحله‌ی چشم زدگی در تیمار هاپلوئید و به دنبال آن تخم‌گشایی صورت نگرفت که این نشان دهنده‌ی پرتودهی مناسب در این تحقیق می‌باشد. همچنین این نتایج نشان داد که تریپلوئیدی تأثیر منفی روی شکل طبیعی، تخم‌گشایی و بازماندگی قزل‌آلای رنگین کمان دارد (p<۰/۰۵). این در حالی است که در کلیه‌ی دوزها، ماده‌زایی تأثیر منفی روی بدشکلی نداشت (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد که میزان تخم‌گشایی لارو در تیمار پرتودهی شده به صورت معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند (p<۰/۰۵).

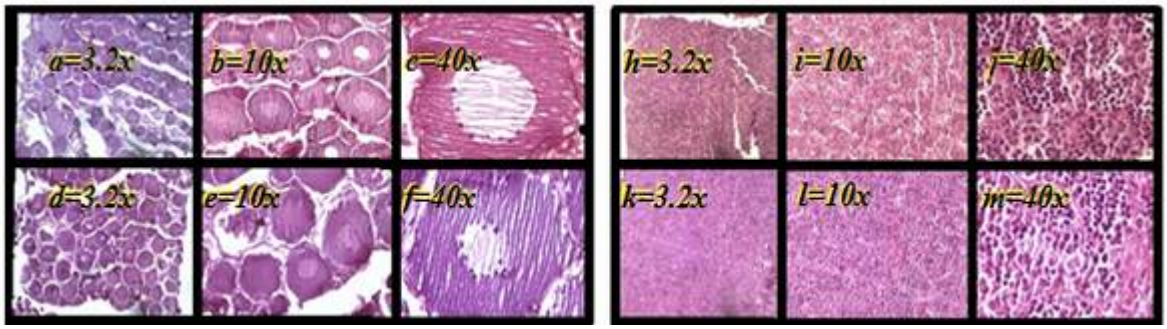
جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین درصد تخم‌گشایی، بدشکلی و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حاصله از اسپرم پرتو دیده و سایر گروه‌ها

	هاپلوئید	آلبینو	شاهد	دوزهای پرتو تابی (گری)				
				تریپلوئید	۴۵۰	۶۰۰	۷۵۰	۹۰۰	۱۰۵۰
درصد تخم‌گشایی	۰	۵۵±۲ /۷۱^{c}	۸۱±۲/۲^{d}	۳۲±۳/۳۲^{a}	۵۶±۳/۱۱^{c}	۳۸±۲/۴۱^{b}	۴۱±۱/۹۷^{b}	۴۰±۲/۴۲^{b}	۳۹±۴/۱۳^{b}
درصد بدشکلی	۰	۲±۰/۴^{a}	۲±۰/۲^{a}	۸±۰/۱۱^{b}	۳±۰/۴^{a}	۳±۰/۲^{a}	۲±۰/۶^{a}	۲±۰/۴۲^{a}	۲±۰/۱۲^{a}
درصد بازماندگی	۰	۶۹±۲/۶^{b}	۷۰±۱/۳^{b}	۵۴±۲/۴^{a}	۶۹±۲/۶^{b}	۶۸±۲/۲۲^{b}	۶۹±۱/۵۱^{b}	۷۱±۲/۲۲^{b}	۶۸±۲/۱^{b}

اعداد (SD ± میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

بافت‌شناسی

نتایج بافت‌شناسی نشان داد که ۵ قطعه از ۱۲ نمونه تریپلوئید دارای جنسیت نر بوده و ۶ قطعه از ۱۲ قطعه ماهیان شاهد نمونه‌برداری شده نیز بافت گناد نر را نشان دادند این در حالی است که در گروه‌هایی که القای ماده‌زایی شده بودند بافت گناد نر مشاهده نشد و تمامی نمونه‌ها (۲۴ نمونه) جنسیت ماده را نشان دادند. تصویر ۱ نمونه‌ای از این گروه‌های پرتوتابی شده را نشان می‌دهد (تصویر سمت چپ a, b و c). همچنین نتایج نشان داد که تیمار شاهد و تریپلوئید دارای جنسیت نر (تصویر سمت راست h, I, j, k, l, m) و ماده (تصویر سمت چپ d, e و f) می‌باشند. نتایج حاصله از این تحقیق اثبات کرد که کلیه‌ی لاروهای حاصله از گروه القای ماده‌زایی با استفاده از دوز ۴۵۰ گری طلایی می‌باشند.



تصویر ۱: تصاویر مربوط به بافت رنگ‌آمیزی شده با روش H&E گناد ماهیان در گروه‌های مختلف آزمایشی می‌باشد. تصویر سمت چپ بافت گناد ماده در ماهیان گروه‌های مختلف با بزرگنمایی‌های متفاوت ۳.۲، ۱۰ و ۴۰ (تصویر سمت چپ a, b و c گناد گروه‌های ماده‌زایی شده و d, e, f گروه شاهد و تریپلوئید) و تصویر سمت راست مربوط به بافت گناد نر در ماهیان گروه‌های تریپلوئید و شاهد با بزرگنمایی‌های ۳.۲، ۱۰ و ۴۰ می‌باشد.

شاخص‌های رشد

نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین وزن اولیه بین گروه‌های مختلف آزمایشی از بدو تفریخ وجود ندارد. شاخص‌های رشدی از جمله افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ بازده‌ی پروتئین در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای پرتودهی شده و تریپلوئید کاهش یافته است و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای پرتوتابی شده کاهش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حاصله از اسپرم پرتودیده و سایر گروه‌ها

	دوزهای پرتو تابی (گری)								
	شاهد	تریپلوئید	آلبینو	۴۵۰	۶۰۰	۷۵۰	۹۰۰	۱۰۵۰
وزن ابتدایی	۰/۱۵±۰/۰۱^{a}	۰/۱۴±۰/۰۱۳^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۱^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۳^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۷^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۲^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۲^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۳^{a}
افزایش وزن	۵۴/۷۷±۱۱/۰۶^{a}	۶۸/۸۵±۱۰/۰۸^{b}	۷۹/۶۵±۱۱/۹۱^{c}	۸۳/۹۷±۹/۱۴^{c}	۸۰/۳۳±۱۳/۱۸^{c}	۸۴/۲۰±۱۳/۶۸^{c}	۸۲/۷۶±۱۲/۲۱^{c}	۸۱/۶۰±۱۴/۳۶^{c}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۵۶±۰/۰۸۸^{b}	۱/۳۰±۰/۰۷^{a}	۱/۳±۰/۰۵^{a}	۱/۲±۰/۰۵۳^{a}	۱/۲±۰/۰۵۷^{a}	۱/۲±۰/۰۴۷^{a}	۱/۱۹±۰/۰۳۷^{a}	۱/۲۱±۰/۰۶۵^{a}
ضریب رشد ویژه	۳/۰۱±۰/۱۲^{a}	۳/۳۱±۰/۱۳^{b}	۳/۴۶±۰/۱۱^{b}	۳/۵±۰/۱۱^{b}	۳/۵۳±۰/۱۰^{b}	۳/۵۲±۰/۲۲^{b}	۳/۴۴±۰/۱۱^{b}	۳/۵۰±۰/۱۶^{b}
نرخ بازده پروتئین	۱/۵۴±۰/۰۸^{a}	۱/۸۷±۰/۰۸۶^{b}	۱/۸۶±۰/۱۸^{b}	۱/۹۷±۰/۰۴۸^{b}	۱/۹۶±۰/۰۸۹^{b}	۱/۹۹±۰/۰۷۵^{b}	۲/۰۴±۰/۰۸^{b}	۲/۰۰±۰/۱۰^{b}

اعداد (SD ± میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<۰/۰۵$)

ترکیبات شیمیایی بدن

میانگین تقریبی آنالیز لاشه‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۳ آمده است. اختلاف معنی‌داری بین چربی، پروتئین، خاکستر و ماده‌ی خشک در بین تیمارهای مختلف آزمایشی نبود (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه‌ی میانگین آنالیز تقریبی لاشه (ماده‌ی خشک، پروتئین، چربی و خاکستر) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حاصله از اسپرم پرتودیده و سایر گروه‌ها

	دوزهای پرتو تابی (گری)								
	شاهد	تریپلوئید	آلبینو	۴۵۰	۶۰۰	۷۵۰	۹۰۰	۱۰۵۰
وزن خشک	۱۶/۱±۰/۳	۱۵/۹±۰/۴	۱۶±۰/۲۱	۱۶/۱±۰/۱۷	۱۵/۹±۰/۱۹	۱۶±۰/۲۷	۱۶/۳±۰/۲۵	۱۶/۲±۰/۳۰
پروتئین	۵۶/۵±۰/۲	۵۵/۲۳±۰/۳	۵۴/۹±۰/۴۱	۵۵/۳۳±۰/۲۲	۵۵/۳۷±۰/۲۷	۵۵/۵۴±۰/۳۶	۵۴/۷۱±۰/۴۴	۵۶/۲۲±۰/۲۲
چربی	۱۶/۲±۰/۲	۱۶/۱±۰/۱	۱۶/۱±۰/۳	۱۶/۱±۰/۱	۱۶/۲±۰/۲	۱۵/۹±۰/۳	۱۶/۳±۰/۳	۱۵/۸±۰/۴۱
خاکستر	۸/۹±۰/۱	۹±۰/۲	۹/۱±۰/۱	۹/۲±۰/۲	۹/۱±۰/۱	۸/۸±۰/۴	۸/۹±۰/۲	۹/۳±۰/۳

بحث

در این مطالعه پس از پرتودهی، کیفیت اسپرم و تخمک مورد ارزیابی قرار گرفت و پس از اطمینان از آن پروسه لقاح اجرا شد. عدم بروز تغییر در کیفیت اسپرم، نشان دهنده‌ی شرایط مناسب پرتودهی گاما در نمونه‌ها بود. پس از تخم‌گشایی میزان بازماندگی لارو در کلیه‌ی تیمارهای ماده‌زایی شده با پرتو گاما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (جدول ۱). درصد تخم‌گشایی در تیمار آلبینو و ۴۵۰ گری نسبت به سایر گروه‌های پرتودهی شده به صورت معنی‌داری بالاتر بود. این در حالی بود که درصد بدشکلی و بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به این که یکی از پارامترهای مهم در تکثیر ماهیان میزان تخم‌گشایی و بدشکلی می‌باشد، این میزان بدشکلی به مقدار پرتوی تابیده شده، شوک حرارتی، شرایط لقاح و انکوباسیون بستگی دارد . میزان تفریخ در ماهیان گروه تریپلوئید و گروه‌های القای ماده‌زایی شده در این تحقیق کاهش یافته بود این در حالی است که میزان بقاء تنها در ماهیان گروه تریپلوئید کاهش یافته بود که این نتایج همسو با سایر مطالعات می‌باشد (Chourrout and Quillet 1982, Quillet et al. 1991, Malison et al. 1993, Pandian and Sheela 1995, Withler et al. 1995, Bonnet et al. 1999) . ماهیان تریپلوئید در مقایسه با ماهیان دیپلوئید در برابر شرایط محیطی مثل کاهش اکسیژن حساسیت زیادی دارند که این می‌تواند به عنوان علت کاهش بقای آن‌ها در این تحقیق عنوان شود (Ojolick et al. 1995).

شاخص‌های رشدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده‌زایی شده در بین گروه‌های مختلف آزمایشی بالاترین مقدار را نشان داد، این در حالی است که این شاخص‌ها در ماهی قزل‌آلای تریپلوئید نسبت به ماهیان ماده‌زایی شده کم‌تر و از گروه شاهد بیش‌تر بود. همچنین هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های شیمیایی (ماده‌ی خشک، پروتئین، چربی و خاکستر) لاشه بین کلیه‌ی گروه‌های آزمایشی ملاحظه نشد که این با نتایج دیگر محققین همراستا می‌باشد (Komen and Thorgaard 2007). علت افزایش رشد در ماهی قزل‌آلای ماده‌زایی شده عدم رشد گناد جنسی در ماهیان این گروه در سال اول پرورش می‌باشد و شکل گناد در آن‌ها به صورت نوار باریک می‌باشد (Quillet et al. 1991, Malison et al. 1993, Pandian and Sheela 1995, Withler et al. 1995, Bonnet et al. 1999). القای پلی‌پلوئیدی به عنوان ابزار کنترل جنسی و دستکاری ژنوم مورد استفاده قرار می‌گیرد. ماهیان ترپلوئید به علت

قطع میوز در طی گامتوژنز به علت دارا بودن تعداد فرد کروموزوم عقیم می‌باشند (Chourrout, 1980). در این تحقیق ماهیان تریپلوئید نسبت به ماهیان گروه شاهد رشد بیش‌تری داشتند. جوهری و کلباسی در سال ۱۳۸۳ در مطالعه‌ای که روی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان دیپلوئید و تریپلوئید انجام دادند، گزارش کرده‌اند که در ماهیان تریپلوئید قزل‌آلای رنگین کمان تنها در ماه اول پرورشی میزان رشد کم‌تر می‌باشد و در ماه‌های بعدی این روند افزایش معنی‌داری یافته است. رشد ماهی آزاد دیپلوئید تا وزن ۲۰ گرم از ماهی تریپلوئید بیش‌تر بوده ولی از این زمان به بعد ماهیان تریپلوئید رشد بیش‌تری را نشان داده‌اند (Jungalwalla 1991). در مطالعه‌ی دیگری روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان رشد کم‌تر در مراحل اولیه‌ی زندگی در ماهیان تریپلوئید مشاهده شد ولی در ادامه در این تیمار میزان رشد در این گروه افزایش یافته است (Diaz et al. 1993)، که این مطالعات با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

در این بررسی از پرتو گاما و شوک دمایی برای القای ماده‌زایی و برای اثبات آن از مارکر رنگ و بافت‌شناسی استفاده شده است. با توجه به این که در کلیه‌ی گروه‌های ماده‌زایی شده گناد جنسی نر مشاهده نشد، ماده‌زایی با استفاده از پرتو گاما در این آزمایش اثبات می‌گردد که این نتایج مشابه با کارهای قبلی می‌باشد (Chourrout 1980, Thorgaard 1983, Solar et al. 1984) علاوه بر این نتایج مارکر رنگ نشان از طلایی بودن ماهیان گروه ماده‌زایی شده با استفاده از تخمک طلایی ماده بود با توجه به این که سیستم تولید مثلی ماهیان جنس ماده گونه‌ی قزل‌آلای رنگین کمان XX و ماهیان جنس نر XY می‌باشد که این نشان می‌دهد که ماده‌زایی با استفاده از این روش به درستی صورت گرفته است و مشابه نتایج قبلی می‌باشد (آذری‌تاکامی و همکاران ۱۳۸۰).

از آن جایی که گروه تریپلوئید از نظر میزان بدشکلی، درصد تخم‌گشایی، بقاء و شاخص‌های رشدی در مقایسه با گروه‌های ماده‌زایی شده کاهش معنی‌داری را در این گروه نشان داده است، استفاده از گروه تریپلوئید را با محدودیت مواجه می‌کند و این با سایر اطلاعات مربوط به مطالعات دیگر همخوانی دارد (Yamashita et al. 1993, Benfey 1996). با توجه به رشد بالای ماهیان تیمارهای ماده‌زایی شده و همچنین میزان تخم‌گشایی بالاتر در ماهیان گروه ۴۵۰ گری، این دوز در بین گروه‌های مختلف به عنوان بهترین دوز ماده‌زایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انتخاب می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از ماده‌زایی با استفاده از پرتو گاما به عنوان روشی مناسب در جهت افزایش بازده‌ی تولیدی در یک دوره‌ی پرورشی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد و می‌توان از این تکنیک جهت توسعه‌ی این بخش از آبزی پروری استفاده نمود.

ایران رشد زیادی در صنعت پرورش قزل‌آلای جهان داشته است (FAO 2013). به دلیل رشد بالای جنس ماده واردات تخم تمام ماده با استقبال پرورش دهندگان روبروست بنابراین اغلب تخم‌های چشم‌زده‌ی وارداتی به کشور به صورت تمام ماده می‌باشند (Fadaeifard et al. 2012)، لذا با انجام این تحقیق و بهینه‌سازی روش‌های مورد استفاده در آن می‌توان به رشد کیفی این صنعت نیز کمک مؤثری نمود. برای این حجم تولید نیاز به وارد کردن حجم زیادی از تخم چشم زده می‌باشد (Fadaeifard et al. 2012).

علاوه بر آن در سال‌های اخیر حجم بالایی از بیماری-های آبزیان همانند VHS، IPN و IHN همراه با تخم‌های وارداتی از سایر کشورها وارد کشور شده است که این موجب فلج شدن بخش زیادی از این صنعت می‌شود (Fadaeifard et al. 2012, Dadar et al. 2014)، بنابراین استفاده از روش‌های مناسب در جهت افزایش بازده‌ی پرورشی می‌تواند گامی در جهت خودکفایی و تولید تخم چشم زده و ماهیان در کشور باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و پژوهشکده‌ی کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران انجام شده است.

منابع

آذری‌تاکامی، قباد؛ فرهمند، حمید و بهرامی‌کمانگر، برزان (۱۳۸۰). ایجاد ماده‌زایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط پرتو فرابنفش. مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۵۴، شماره ۴، صفحات: ۳۹۶- ۳۸۲.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران (۱۳۹۱). ۳۵-۳۴.

جوهری، سیدعلی و کلباسی، محمدرضا (۱۳۸۳). شاخص‌های رشد جمعیت تمام ماده تریپلوئید قزل-آلای در سال اول پرورش (*Oncorhynchus mykiss*) رنگین کمان. مجله علوم دریایی ایران، دوره ۳، شماره ۴، صفحات: ۲۳- ۱۷.

Abedian-Kenari, A.; Mahmoudi, N.; Soltani, M. and Abediankenari, S. (2013). Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). Aquaculture Nutrition 19: 54-63.

AOAC. (1990). Official methods of analyses,15th ed. Arlington, VA AOAC Inc.

Benfey, T.J. (1996). Use of all-female and triploid salmonids for aquaculture in Canada. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada 96-2: 6-8.

Billard, R. (1992). Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. Aquaculture 100: 263-298.

Bonnet, S.; Haffray, P.; Blanc, J.M.; Valee, F.; Vauchez, C.; Faure, A. and Fauconneau, B. (1999). Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). Aquaculture, 173 (1-4): 359-375.

Bye, V.J. and Lincoln, R.F. (1986). Commercial methods for the control of, sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture 57: 299-309.

Chouliara, I.; Savvaidis, A.N.; Panagiotakis, N. and Kontaminas, M.G. (2004). Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation, microbiological, chemical and sensory Attributes. Food Microbiology 21:351-359.

Chourrout, D. (1980). Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Reproduction Nutrition Développement 20: 727-733.

Chourrout, D. and Quillet, E. (1982). Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies and production of all triploid populations. Theoretical and Applied Genetics 63: 201-205.

Dadar, M.; Peyghan, R.; Rajabi-Memari, H. and Seifi Abad Shapouri, M. (2014). Phylogenetic relationships of Iranian infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) based on deduced amino acid sequences of genome segment A and B cDNA. Iranian Journal of Fisheries Sciences 13: 560-575.

Diaz, N.F.; Iyurra, P.; Veloso, A.; Estay, F. and Colihueque, N. (1993). Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout. Aquaculture 114: 33-40.

Donaldson, E.M. (1996). Manipulation of reproduction in farmed fish. Animal Reproduction Science 42: 381-392.

Fadaeifard, F.; Raissy, M.; Moumeni, M. and Faghani, M. (2012). Evaluation of infectious hematopoietic necrosis, infectious pancreatic necrosis and viral hemorrhagic septicemia viruses in Iranian and imported rainbow trout eggs: across sectional study. Journal of Veterinary Research 67: 393-399.

FAO. (2013). Food and Agriculcture Organisation of the United Nations. Pp: 21-48.

Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A. and Merrifield, D.L. (2011). The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. ellipsoideus on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). Aquaculture 318:90-94.

Johnstone, R.; Simpson, T.H.; Yungson, A.F. and Whitehead, C. (1979). Sex reversal rainbow trout. Aquaculture 18: 13-19.

Jungalwalla, P.J. (1991). Production of non maturing Atlantic salmon in Tasmania. Proceedings of the Atlantic Canada workshop on methods for the production of non maturing salmonids: Dartmouth. Nova Scotia: 19- 21.

Komen, H. and Thorgaard, G.H. (2007). Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: a review. Aquaculture 269: 150-173.

Luckenbach, J.A.; Godwin, J.; Daniels, H.V.; Beasley, J.M.; Sullivan, C.V. and Borski, R.J. (2004). Induction of diploid gynogenesis in southern flounder (Paralichthys lethostigma) with homologous and heterologous sperm. Aquaculture 237: 499-516.

Malison, J.A.; Pracarione, L.S.; Held, J.A.; Kayes, T.B. and Amundson, C.H. (1993). The influence of triploidy and heat and hydrostatistic pressure shocks on the growth and reproductive development of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). Aquaculture 116: 121-133.

Myers, J.M.; Penman, D.J.; Basavaraju, Y.; Powell, S.F.; Baoprassertkul, P.; Rana, K.J. et al. (1995). Induction of diploid androgenetic and mitotic gynogenetic nile tilapia (Oreochrommis- L.). Theoretical and Applied Genetics 90: 205-210.

O'Flynn, F.; McGeachy, S.; Friars, G.; Benfey, T. and Bailey, J. (1997). Comparisons of cultured triploid and diploid Atlantic salmon (Salmo salar L.). ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil 54: 1160-1165.

Ojolick, E.J.; Cusack, R.; Benfey, T.J. and Kerr, S.R. (1995). Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout reared at chronic high temperatures. Aquaculture 131: 177-187.

Omoto, N.; Maebayashi, M.; Adachi, S.; Arai, K. and 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.

Pandian, T.J. and Sheela, S.G. (1995). Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture 138: 1-22.

Quillet, E. (1994). Survival, growth and reproductive traits of mitotic gynogenetic rainbow trout females. Aquaculture 123: 223-236.

Quillet, E.; Faure, A.; Chevassus, B.; Kreig, F.; Harache, Y.; Arzel, J. et al. (1992). The potential of brown trout (*Salmo trutta* L.) for mariculture in temperate waters. Agric Sci 6: 63-76.

Quillet, E.; Foisil, L.; Chevassus, B.; Chourrout, D. and Liu, F. (1991). Production of all-triploid and all-female brown trout for aquaculture. Aquatic Living Resources 4: 27-32.

Sheehan, R.; Shasteen, S.P.; Suresh, A.V.; Kapuscinski, A.R. and Seeb, J.E. (1999). Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society, 128: 491-498.

Solar, I.I.; Donaldson, E.M. and Hunter, G.A. (1984). Induction of triploidy in rainbow trout (Salmo Gairdneri Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. Aquaculture 42: 57-67.

Thorgaard, G.H. (1983). Chromosome set manipulation and sex control in fish. Fish Physiology 9: 405-434.

Withler, R.E.; Beachman, T.D.; Solar, I.I. and Donaldson, E.M. (1995). Freshwater growth, smolting, and marine survival and growth of diploid and triploid Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 136: 91-107.

Yamashita, M.; Jiang, J.; Onozato, H.; Nakanishi, T. and 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.

Yousefian, M. (2010). Stock Identification and Genetic Variation at Microsatellite Loci of Caspian Sea Salmon (*Salmo trutta* caspius). World Journal of Fish and Marine Sciences 2: 508-512.

Comparison of hatching, deformity, survival, growth performance female gynogenetic rainbow trout -and body composition in all (*Oncorhynchus mykiss*) using gamma irradiation

Soltani, M.[1]; Shahhosseini, Gh.[2]; Heidarieh, M.[3]; Taherimirghaed, A.[4] and Zargar, A.[5]

Received: 13.08.2015 Accepted: 30.11.2015

Abstract

Gamma radiation at doses 450, 600, 750, 900 and 1050 Gry were used. Also, early thermal shock to induce diploid was used at 28°C. Hatching, deformity and survival rates were measured after developing period in different groups. Growth performance and chemical body analysis in fish were measured at the end of trail. Histological studies on the gonads were undertaken to demonstrate the success of gynogenesis induction. The highest and the lowest hatching and survival were obtained in the triploid group ($p<0.05$). No significant difference was observed in survival and deformity among irradiated treatments. Treatment irradiated with 450 gray showed the highest percentage of hatching ($p<0.05$). Growth indices showed a significance increase in gynogen groups compared to control and triploid groups ($p<0.05$). There was no significant difference between chemical compositions (protein, fat, ash and dry matter) among different treatments. The gonads histology demonstrated a successful in gynogenesis using gamma radiation. According to these findings it can be concluded that the use of gynogenesis by gamma ray in rainbow trout is a suitable method for increasing the production.

Key words: Rainbow Trout, Gamma radiation, Gynogenesis, growth indicators, body composition

1- Professor, Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
2- PhD Student of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Nuclear Agriculture Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran
4- Associate Professor, Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
5- Assistant Professor, Department of Aquatic Animal Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
Corresponding Author: Soltani, M., E-mail: msoltani@ut.ac.ir