Archive of SID

اثر القای تریپلوئیدی با استفاده از شوک گرمایی بر میزان تفریخ، بقاء و تریپلوئیدی در لارو ماهی کوی (*Cyprinus carpio*)

- **شیما هاتفی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمد سوداگر***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **عباسعلی حاجی‌بگلو**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمد هرسیج**: گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ١٣٩٧ تاریخ پذیرش: آذر ١٣٩٧

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی اثر شوک گرمایی روی القای تریپلوئیدی در ماهی کوی (*Cyprinus carpio*) بود. ٣ دمای شوک (٣٨، ٤٠ و ٤٢ درجه سانتی‌گراد)، ٥ مدت زمان آغاز شوک (١، ٢، ٤، ٦ و ٨ دقیقه پس از لقاح) و ٣ مدت زمان شوک (١، ٢ و ٣ دقیقه) مورد آزمایش قرار گرفتند. گروهی از تخم‌ها به‌عنوان گروه شاهد درنظر گرفته شد. تعداد تیمارها به‌همراه گروه شاهد ٤٦ تیمار بود. نتایج آزمایش نشان داد بیش‌ترین میزان تفریخ (٥٩/٤٩ درصد) در تیمارهای ١٩(دمای ٣٨ درجه سانتی‌گراد، ٤ دقیقه پس از لقاح، مدت زمان ١ دقیقه)، ١٠(دمای ٣٨ درجه سانتی‌گراد، ٢ دقیقه پس از لقاح، مدت زمان ١ دقیقه) و ٢٨ (دمای ٣٨ درجه سانتی‌گراد، ٦ دقیقه پس از لقاح، مدت زمان ١ دقیقه) به‌دست آمد، درحالی‌که بین این تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$). هم‌چنین میزان بقاء لاروها با افزایش دمای شوک و مدت زمان شوک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان تریپلوئیدی (٦٥/٩٥ درصد) و بازده تریپلوئیدی (٦٣/٧٥ درصد) در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد، ٦ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ٢ دقیقه (تیمار ٣٢) مشاهده شد. نسبت حجم گلبول قرمز و هسته آن در ماهیان تریپلوئید به‌ترتیب ٢/٧٤ و ١/٩٢ برابر ماهیان دیپلوئید بود. با توجه به نتایج به‌نظر می‌رسد استفاده از شوک گرمایی با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد، ٦ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ٢ دقیقه می‌تواند بیش‌ترین تاثیر را در القای تریپلوئیدی در ماهی کوی داشته باشد.

کلمات کلیدی: ماهی کوی، تریپلوئیدی، شوک گرمایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sudagar_m@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

القای تریپلوئیدی در آبزی‌پروری و مدیریت شیلاتی یکی از روش‌هایی است که به‌طور گسترده برای تولید ماهیان عقیم استفاده می‌شود (Turan و Guragac، ۲۰۱۴). تریپلوئیدی رایج‌ترین شکل پلی‌پلوئیدی است که به سلول‌های دارای سه سری کروموزوم گفته می‌شود(Felip و همکاران، ۲۰۰۹).تریپلوئیدی‌سبب نقص در گامتوژنز در جنس ماده می‌شود، اما در جنس نر سبب تولید اسپرم‌های آنیوپلوئید شده که در طول مراحل اولیه زندگی از بین می‌روند (Taylor و همکاران، ۲۰۱۴). به‌دلیل این‌که القای تریپلوئیدی سبب ایجاد اختلال در رشد گناد می‌شود، انرژی مورد نیاز برای برای رسیدگی جنسی و تولیدمثل صرف افزایش رشد در افراد تریپلوئید می‌شود (Nascimento و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این، عقیم بودن ماهیان تریپلوئید سبب می‌شود تلفاتی که به‌طور معمول در زمان تولیدمثل روی می‌دهد اتفاق نیفتد. به‌دلیل این‌که ماهیان تریپلوئید دارای ویژگی‌هایی مانند افزایش رشد، افزایش اندازه بدن، بهبود ضریب تبدیل غذایی و عقیمی هستند این ماهیان برای تولید تجاری و هم‌چنین صید ورزشی مناسب به‌نظر می‌رسند (Dillon، ۱۹۸۸). تریپلوئیدی با القای شوک‌های دمایی، فشار و غلظت‌های مختلفی از مواد شیمیایی ایجاد می‌گردد(Bencsik و همکاران، ۲۰۱۳).تیمارهای‌شوک از تقسیم ثانویه میوز جلوگیری کرده و سبب نگه‌داری گویچه قطبی ثانویه شده که سبب می‌شود سه سری کروموزوم به‌جای دو سری کروموزوم در هسته وجود داشته باشد و بنابراین سبب عقیمی در ماهی تریپلوئید می‌شود(Chalmers و همکاران، ۲۰۱۶). به‌طورکلی شوک‌های فیزیکی موفق‌تر بوده و به‌طور گسترده در ماهی‌ها برای القای تریپلوئیدی استفاده می‌شوند (Piferrer و همکاران، ۲۰۰۹). رایج‌ترین روش برای القای تریپلوئیدی‌استفاده از شوک گرمایی می‌باشد (Strunjak-Perovic و همکاران، ۲۰۰۳).به‌واسطه وجود یک‌سری کروموزوم اضافه درهسته سلول، ماهیان تریپلوئید دارای ۵۰ درصد DNA بیش‌تر نسبت به ماهیان دیپلوئید هستند. از آن‌جایی‌که حجم هسته در سلول‌های تریپلوئیدافزایش یافته‌است‌موجود تریپلوئیددارای‌سلول‌های‌بزرگ‌تری خواهدبود.اما علی‌رغم داشتن ۵۰ درصد DNA بیش‌تر، افراد تریپلوئید بزرگ‌تر از افراد دیپلوئید نیستند که به‌نظر می‌رسد به‌واسطه کاهش تعداد سلول‌ها در اندام و بافت‌های این موجودات باشد (Havardstun، ۲۰۱۱). در ایران تولید، پرورش و به‌خصوص واردات ماهیان زینتی طی چند دهه گذشته توسعه چشمگیری داشته است، به‌طوری‌که در حال حاضر این صنعت سهم به‌سزایی در ایجاد اشتغال داشته و بخش اعظم‌پرورش ماهیان‌زینتی در ایران‌مربوط به گونه‌های آب‌شیرین است (مومنی‌نژاد، ۱۳۹۲). از گذشته‌های دور در شرق، پرورش ماهی کوی از اهمیت و ارزش بسیاری برخوردار بوده و گسترش نژادهای خاص و زیباتر اولویت ویژه‌ای داشته است که بر اهمیت و محبوبیت بیش از پیش آن‌ها می‌افزاید(خیابانی، ۱۳۹۴).گونه کوی‌بانام‌علمی (*Cyprinus carpio*) متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) یکی از انواع گونه‌های ماهیان زینتی متعلق به آسیا می‌باشد (مورکی و همکاران، ۱۳۹۳). این ماهی مختص نواحی جنوب‌شرقی آسیا بوده اما، با توجه به تکثیر آن به‌صورت گسترده هم اکنون در تمامی نقاط دنیا دیده می‌شود (تیموریان، ۱۳۹۵). هدف از این آزمایش بررسی تاثیر القای تریپلوئیدی بر میزان تفریخ، بقاء و بازده تریپلوئیدی در ماهی کوی می‌باشد. به‌منظور انجام این آزمایش، سه متغیر دمای شوک، زمان انجام شوک و مدت زمان شوک مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

ماهیان مولد مورد نیاز برای انجام این آزمایش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در شهرستان بهشهر خریداری و به مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهیدفضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. به‌منظور جلوگیری از تخم‌ریزی طبیعی، ماهیان مولد نر و ماده به‌صورت جداگانه نگه‌داری و در طول دوره آزمایش ماهیان مولد روزانه به‌میزان ۳ درصد وزن بدن با غذای تجاری‌ماهی‌کپور (شرکت فرادانه، پروتئین ۳۲ درصد، چربی ۷ درصد) در دو نوبت غذادهی شدند. برای القای تکثیر مصنوعی به ماهیان مولد ماده (۳ ساله، وزن بدن ۰/۱۶±۲/۴ کیلوگرم) هورمون اواپریم (۰/۴ میلی‌لیتر/کیلوگرم وزن بدن) (Basavaraju و همکاران، ۲۰۰۲) در دو مرحله تزریق گردیدکه ۱۰ درصد از هورمون درمرحله‌اول و ۹۰ درصد از مقدار باقی‌مانده، ۱۰ ساعت بعد از مرحله اول تزریق گردید. تزریق در ماهیان مولد نر (۲/۵ ساله، وزن بدن ۰/۰۹±۱/۳کیلوگرم) هم‌زمان با مرحله دوم تزریق هورمون اواپریم (۰/۴ میلی‌لیتر/کیلوگرم وزن بدن) در ماهیان مولد ماده انجام شد. دمای آب هنگام تزریق هورمون ۲۴ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. محل تزریق هورمون بالای خط جانبی و زیر باله پشتی ماهیان مولد بود (Das، ۲۰۰۴). ۹-۶ ساعت پس از تزریق دوم ماهیان برای تکثیر مصنوعی آماده شدند. جمع‌آوری تخمک و اسپرم از مولدین (۱-۱/۵ میلی‌لیتر اسپرم به‌ازای ۱۰۰ گرم تخمک) بعد از بی‌هوشی ماهیان با گل میخک به‌مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Coyle و همکاران، ۲۰۰۴) انجام شد (Recoubratsky و همکاران، ۱۹۹۲).لقاح به‌روش‌خشک(Basavarajuوهمکاران، ۲۰۰۲) انجام و پس از مدت زمان ۱ دقیقه مقداری آب برای فعال شدن اسپرم به مخلوط اسپرم و تخمک اضافه گردید. زمانی‌که آب به مخلوط تخمک و اسپرم اضافه شد، این زمان به‌عنوان زمان لقاح درنظر گرفته شد. سپس تخمک و اسپرم به‌آرامی توسط پر مرغ هم‌زده شدند. ۲ تا ۴ دقیقه پس از لقاح برای رفع چسبندگی تخم‌ها از مخلوط

www.SID.ir

Archive of SID

شیر گاو و آب به نسبت ۱ به ۱۰ استفاده گردید (Recoubratsky و همکاران، ۱۹۹۲). برای القای تریپلوئیدی تخم ماهی کوی از شوک گرمایی استفاده گردید. تیمارهای استفاده شده در این آزمایش به صورت: دمای شوک (۳۸، ۴۰ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد)، مدت زمان شوک گرمایی (۱، ۲ و ۳ دقیقه) و زمان آغاز شوک (۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه پس از لقاح) بودند (Recoubratsky و همکاران، ۱۹۹۲). تعداد تیمارها به همراه گروه شاهد ۴۶ تیمار بود و ۳ تکرار برای هر تیمار درنظر گرفته شد. به‌منظور ایجاد دماهای مورد نیاز برای انجام شوک گرمایی از دستگاه بن‌ماری (حمام آب گرم) استفاده گردید. تخم‌ها در توری‌های کوچک ریخته شده و برای القای شوک در دستگاه بن‌ماری قرارگرفتند. بعد از شوک‌دهی توری‌های کوچک‌حاوی تخم و هم‌چنین تخم‌های گروه شاهد درون ظرفی با دمای معمول ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان تفریخ قرار داده شدند. میزان تخمک و اسپرم برای هر تیمار و هم‌چنین شرایط انکوباسیون برای همه تیمارها و گروه شاهد یکسان درنظر گرفته شد. بعد از مدت زمان ۲ تا ۳ روز تخم‌ها تفریخ شدند. سپس لاروهای دارای کیسه زرده هر تیمار به ظرف‌های پلاستیکی کوچک با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دارای اکسیژن منتقل شدند. برای محاسبه درصد تفریخ از فرمول زیر استفاده گردید (Pradeep و همکاران، ۲۰۱۲):

درصد تفریخ: تعداد لاروهای تفریخ شده/تعداد کل تخم‌های لقاح یافته×۱۰۰

یک هفته پس از شروع دوره پرورش میزان بقاء لاروها در هر تیمار محاسبه گردید. برای محاسبه درصد بقاء از فرمول زیر استفاده گردید (Pradeep و همکاران، ۲۰۱۲):

درصد بقاء: تعداد لاروهای زنده مانده/ تعداد لاروهای تفریخ شده×۱۰۰

لاروهای هر تیمار به‌مدت ۳ ماه تا زمان خونگیری و تعیین درصد تریپلوئیدی پرورش داده شدند. برای تعیین درصد تریپلوئیدی از روش اندازه‌گیری حجم هسته گلبول قرمز (Benfey و همکاران، ۱۹۸۴) استفاده گردید. در پایان دوره پرورش از بچه‌ماهیان هر تیمار نمونه خونی گرفته شد. برای گرفتن نمونه خون به‌دلیل کوچک بودن اندازه ماهی‌ها از روش قطع ساقه دمی استفاده شده و سپس گستره خونی تهیه گردید. برای هر نمونه، گسترش خونی بـا پراکندن یک قطره خون برلام و سپس تثبیت با متانول و رنگ‌آمیزی باگیمسای ۱۰ درصد تهیه شد. محورهای کوچک و بزرگ گلبول‌های قرمز و هسته آن‌ها توسط میکروسکوپ نوری مدرج(Nikon- Elipse 50i)و سپس نرم‌افزار Measurement اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول زیر حجم گلبول قرمز و هسته آن محاسبه گردید (Lemoine و Smith، ۱۹۸۰) که در این فرمول a و b به‌ترتیب محور بزرگ و کوچک گلبول قرمز و هسته آن هستند:

$$V= (a/2) \times (b/2)^2 \times \pi \times 4/3$$

هم‌چنین مساحت گلبول‌های قرمز و هسته آن‌ها با استفاده از فرمول زیر (Seraki و همکاران، ۱۹۷۷) محاسبه گردید: $S= a \times b \times \pi / 4$

سپس برای تعیین درصد تریپلوئیدی از فرمول (Billard و همکاران، ۱۹۷۷)وبازده‌تریپلوئیدی(Pradeepو همکاران، ۲۰۱۲)استفاده‌گردید.

درصد تریپلوئیدی: تعداد ماهیان تریپلوئید/تعداد ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید×۱۰۰

بازده تریپلوئیدی: درصد تریپلوئید× میزان بقاء تریپلوئیدها نسبت به گروه شاهد/ ۱۰۰

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن و T-test استفاده گردید.

نتایج

نتایج تاثیر تریپلوئیدی بر میزان تفریخ تخم در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج حاصل از آزمایش میزان تفریخ تخم در همه تیمارها در گستره‌ای بین ۳۰/۳۷-۵۹/۴۹ درصد قرار داشت. بیش‌ترین میزان تفریخ (۵۹/۴۹ درصد) در ۳ تیمار ۱۹ (دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد، ۴ دقیقه بعد از لقاح و مدت زمان ۱ دقیقه)، تیمار ۲۸ (دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد، ۶ دقیقه بعد از لقاح و مدت زمان ۱ دقیقه) و تیمار ۱۰ (دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد، ۲ دقیقه بعد از لقاح و مدت زمان ۱ دقیقه) مشاهده شد درحالی‌که بین این تیمارها و گروه شاهد هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). نتایج حاصل از این آزمایش یک روند کلی کاهش میزان تفریخ را با افزایش دما و مدت زمان شوک گرمایی نشان داد. بیش‌ترین میزان بقاء لاروی در تیمار ۴۶ (شاهد) با مقدار ۴۸/۷۴ درصد مشاهده شد و پس از آن تیمار ۲۰ با مقدار ۴۶/۱۴ درصد، تیمار ۱ با مقدار ۴۵/۷۱ درصد، تیمار ۲۸ با مقدار ۴۳/۲۵ درصد و تیمار۱۰ با مقدار ۴۲/۷۵ درصد قرار گرفتند (جدول۱). هم‌چنین تیمارهای آزمایشی ۲۴، ۴۲، ۶، ۳۶، ۲۷، ۱۸، ۴۵، ۲۶، ۲۳ و ۴۱ کم‌ترین میزان بقاء لاروی را نشان دادند. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که یک ارتباط منفی بین میزان بقاء لاروی و دمای شوک وجود دارد. زمانی‌که دمای شوک گرمایی افزایش یافت میزان بقاء لارو کاهش یافت. هم‌چنین به‌طور مشابه با افزایش مدت زمان شوک میزان بقاء لاروی کاهش پیدا کرد. بیش‌ترین میزان تریپلوئیدی در تیمار ۳۲ (دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۶ دقیقه بعد از لقاح و مدت زمان ۲ دقیقه) به‌دست آمد (جدول۱). در تیمارهای۳ (دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ۱ دقیقه)، ۶ (دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ۲ دقیقه)، ۷ (دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ۳ دقیقه) و ۹ (دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ۳ دقیقه) هیچ‌گونه علائمی از تریپلوئیدی مشاهده نشد. در هیچ تیماری ۱۰۰ درصد تریپلوئیدی مشاهده نشد. بیش‌ترین

www.SID.ir

Archive of SID

بازده تریپلوئیدی در تیمار ۳۲ (دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۶ دقیقه پس از لقاح و مدت زمان ۲ دقیقه) به‌دست آمد (جدول۱).مشابه‌با میزان تریپلوئیدی هیچ‌گونه علائمی از تریپلوئیدی در تیمارهای ۳، ۶، ۷ و ۹ مشاهده نشد و بازده تریپلوئیدی در این تیمارها صفر بود.

جدول ۱: میزان تفریخ، بقاء لاروی، درصد و بازده تریپلوئید در تیمارهای مورد آزمایش

تیمار	دمای شوک	زمان القای شوک	مدت زمان شوک	میزان تفریخ	میزان بقاء لاروی	درصد تریپلوئیدی	بازده تریپلوئیدی
۱	۳۸	۱	۱	۵۹/۱±۰۷/۴۶^{ab}	۴۵/۰±۷۱/۱۰^{abc}	۳/۲±۲۴/۲۹^{mn}	۳/۲±۲۱/۱۲^{opq}
۲	۴۰	۱	۱	۵۵/۱±۲۷/۴۶^{abc}	۴۰/۲±۴۳/۷۹^{bcd}	۱۱/۱±۸۴/۶۲^{jk}	۱۱/۱±۹۱/۳۳^{ijklmn}
۳	۴۲	۱	۱	۵۰/۲±۶۳/۱۹^{abcdef}	۳۲/۲±۵۳/۹۰^{fg}	.^{n}	.^{q}
۴	۳۸	۱	۲	۴۵/۰±۱۴/۷۳^{efghi}	۳۲/۳±۶۷/۸۱^{fg}	۴/۲±۶۴/۱۶^{lmn}	۴/۲±۳۹/۲۴^{nopq}
۵	۴۰	۱	۲	۴۵/۱±۱۴/۹۳^{efghi}	۳۱/۱±۸۰/۸۶^{ghij}	۴/۲±۹۳/۹۴^{lmn}	۵/۳±۴۲/۸۵^{mnopq}
۶	۴۲	۱	۲	۳۹/۹±۲۴/۸۸^{ijkl}	۲۴/۲±۴۵/۸۷^{k}	.^{n}	.^{q}
۷	۳۸	۱	۳	۴۰/۴±۹۲/۴۴^{ghij}	۳۳/۴±۲۴/۰۷^{efg}	.^{n}	.^{q}
۸	۴۰	۱	۳	۳۷/۲±۱۳/۹۲ ^{ijkl}	۳۷/۲±۱۳/۹۲^{ijkl}	۲/۳±۰۸/۶۰^{n}	۲/۳±۱۶/۷۴^{pq}
۹	۴۲	۱	۳	۳۶/۵±۲۸/۲۷ ^{ijkl}	۳۴/۳±۰۲/۱۸^{efg}	.^{n}	.^{q}
۱۰	۳۸	۲	۱	۵۹/۷±۴۹/۵۹^{a}	۴۲/۳±۷۵/۱۴^{abc}	۱۲/۵±۷۶/۲۹^{ijk}	۱۳/۶±۴۳/۶۲^{hijklm}
۱۱	۴۰	۲	۱	۵۴/۵±۸۵/۷۰^{abcd}	۴۰/۳±۲۰/۱۰^{bcd}	۱۸/۲±۴۵/۶۶^{ghij}	۱۸/۲±۴۵/۱۶^{fghijk}
۱۲	۴۲	۲	۱	۵±۵۴/۱۱^{abcde}	۳۲/۳±۶۵/۹۴^{fg}	۱۲/۲±۴۰/۲۴^{ijk}	۱۲/۳±۵۱/۷۴^{ijklmn}
۱۳	۳۸	۲	۲	۴۰/۸±۰۸/۸۹^{hijk}	۳۹/۳±۶۵/۱۹^{cde}	۱۱/۲±۶۲/۷۳^{jk}	۱۰/۲±۸۸/۷۶^{jklmno}
۱۴	۴۰	۲	۲	۳۱/۵±۲۲/۱۱^{kl}	۳۲/۱±۹۲/۱۸^{fg}	۱۷/۵±۹۷/۴۵^{ghij}	۱۸/۸±۷۴/۶۴^{fghij}
۱۵	۴۲	۲	۲	۳۰/۵±۳۷/۰۶^{l}	۳۲/۴±۰۲/۷۹^{fghi}	۲۳/۷±۵۱/۹۳^{fg}	۲۵/۸±۰۲/۷۴^{def}
۱۶	۳۸	۲	۳	۳۹/۵±۲۴/۸۰^{ijkl}	۳۲/۱±۲۲/۹۲^{fgh}	۲۳/۲±۰۴/۶۷^{fg}	۲۲/۴±۳۱/۰۶^{fg}
۱۷	۴۰	۲	۳	۴۰/۲±۰۸/۶۳^{hijk}	۳۳/۱±۶۲/۵۳^{efg}	۱۲/۳±۳۹/۲۳^{ijk}	۱۳/۴±۳۶/۳۶^{hijklm}
۱۸	۴۲	۲	۳	۳۱/۵±۲۲/۱۱^{kl}	۲۵/۵±۲۲/۲۴^{k}	۱۳/۰±۲۳/۱۶^{ijk}	۱۱/۲±۹۶/۸۹^{ijklmn}
۱۹	۳۸	۴	۱	۵۹/۴±۴۹/۵۶^{a}	۴۱/۳±۹۹/۱۷^{bc}	۴/۴±۶۲/۷۱^{lmn}	۴/۵±۹۵/۲۸^{mnopq}
۲۰	۴۰	۴	۱	۵۱/۳±۰۵/۸۶^{abcdef}	۴۶/۲±۱۴/۸۰^{ab}	۳۵/۲±۱۸/۲۳^{d}	۳۵/۴±۸۳/۵۳^{c}
۲۱	۴۲	۴	۱	۵۰/۵±۶۳/۰۶^{abcdef}	۳۳/۴±۹۸/۳۵^{efg}	۲۶/۳±۰۹/۷۲^{ef}	۲۵/۳±۰۷/۲۰^{def}
۲۲	۳۸	۴	۲	۴۵/۰±۱۴/۷۳^{efghi}	۳۲/۱±۷۲/۹۳^{fg}	۲۴/۶±۱۹/۳۳^{fg}	۱۹/۷±۸۴/۲^{fghi}
۲۳	۴۰	۴	۲	۴۵/۲±۵۶/۵۳^{defghi}	۲۵/۲±۹۷/۰۹^{hijk}	۵۲/۴±۸۳/۲۷^{b}	۵۲/۵±۲۴/۷۸^{b}
۲۴	۴۲	۴	۲	۳۶/۳±۲۸/۱۸^{ijkl}	۲۳/۲±۸۷/۷۲^{k}	۳۰/۴±۵۸/۴۴^{de}	۳۲/۵±۰۵/۸۰^{cde}
۲۵	۳۸	۴	۳	۴۹/۴±۷۸/۴۴^{bcdefg}	۳۲/۲±۹۹/۰۷^{fg}	۱۸/۵±۹۱/۶۳^{ghi}	۱۷/۵±۲۹/۶۲^{fghijkl}
۲۶	۴۰	۴	۳	۳۲/۳±۴۸/۱۸^{jkl}	۲۵/۶±۸۲/۴۶^{ijk}	۱۶/۴±۰۶/۱۹^{hijk}	۱۵/۵±۶۳/۹۱^{ghijkl}
۲۷	۴۲	۴	۳	۳۲/۲±۰۶/۶۳^{jkl}	۲۵/۱±۰۲/۶۹^{k}	۳/۲±۲۴/۸۹^{mn}	۳/۲±۲۳/۸۱^{opq}
۲۸	۳۸	۶	۱	۵۹/۲±۴۹/۵۳^{a}	۴۳/۱±۲۵/۲۷^{abc}	۳۴/۴±۴۳/۱۸^{d}	۳۲/۵±۳۰/۸۹^{cde}
۲۹	۴۰	۶	۱	۴۳/۱±۰۳/۶۷^{fg}	۴۰/۳±۳۴/۲۲^{bcd}	۳۳/۴±۷۴/۶۹^{d}	۳۱/۷±۸۲/۱۵^{cde}
۳۰	۴۲	۶	۱	۵۱/۳±۴۷/۱۸^{ab}	۳۲/۳±۶۵/۲۳^{fg}	۴۶/۳±۶۷/۲۱^{bc}	۴۵/۶±۴۱/۰۶^{b}
۳۱	۳۸	۶	۲	۴۵/۲±۵۶/۵۳^{de}	۳۳/۵±۳۹/۰۵^{efg}	۵۱/۳±۸۸/۸۷^{b}	۵۱/۵±۹۷/۲۵^{b}
۳۲	۴۰	۶	۲	۵۱/۳±۴۷/۱۸^{abcdef}	۳۲/۱±۵۰/۸۶^{fg}	۶۵/۴±۹۵/۳۸^{a}	۶۳/۴±۷۵/۴۱^{a}
۳۳	۴۲	۶	۲	۴۹/۴±۷۸/۴۴^{bcdefg}	۳۱/۳±۵۲/۱۳^{fghij}	۵۱/۵±۷۸/۱۴^{b}	۵۲/۷±۵۹/۵۷^{b}
۳۴	۳۸	۶	۳	۴۰/۲±۹۲/۶۳^{ghij}	۳۵/۳±۰۲/۸۱^{def}	۳۲/۴±۷۷/۴۸^{d}	۳۲/۴±۹۱/۱۶^{cd}
۳۵	۴۰	۶	۳	۴۰/۴±۰۸/۴۴^{hijk}	۳۲/۴±۷۰/۰۳^{fg}	۵۰/۴±۴۲/۸۹^{bc}	۵۲/۲±۲۶/۵۳^{b}
۳۶	۴۲	۶	۳	۳۰/۱±۳۷/۲۶^{l}	۲۴/۳±۹۶/۸۰^{k}	۴۴/۲±۴۳/۸۸^{c}	۴۷/۴±۷۴/۴۸^{b}
۳۷	۳۸	۸	۱	۵۵/۴±۲۷/۴۴^{abc}	۴۰/۵±۹۰/۹۰^{bcd}	۲۱/۲±۶۶/۲۰^{fgh}	۲۱/۱±۳۲/۲۰^{fgh}
۳۸	۴۰	۸	۱	۵۴/۳±۸۵/۱۸^{abcd}	۳۳/۱±۸۲/۱۴^{efg}	۱۱/۱±۹۱/۳۸^{jk}	۱۱/۱±۹۱/۷۲^{ijklmn}
۳۹	۴۲	۸	۱	۴۸/۳±۹۴/۸۶^{cdefgh}	۳۱/۲±۹۰^{fghij}	۴/۱±۱۹/۴۸^{lmn}	۴/۱±۱۹/۴۸^{nopq}
۴۰	۳۸	۸	۲	۴۰/۱±۰۸/۴۶^{hijk}	۳۲/۲±۶۸/۶۱^{fg}	۱۱/۲±۵۴/۱۴^{jk}	۱۰/۱±۹۱/۹۳^{jklmno}
۴۱	۴۰	۸	۲	۴۴/۳±۷۲/۸۶^{efghi}	۲۷/۳±۵۲/۲۹^{ghijk}	۹/۲±۵۶/۱۳^{klm}	۹/۱±۶۶/۹۶^{lmnop}
۴۲	۴۲	۸	۲	۳۰/۳±۸۰/۱۸^{kl}	۲۴/۴±۳۹/۶۲^{k}	۱۰/۳±۱۷/۶۹^{kl}	۱۰/۳±۰۶/۵۶^{klmnop}
۴۳	۳۸	۸	۳	۴۰/۰±۸۰/۷۳^{hijk}	۳۳/۱±۶۶/۲۲^{efg}	۴±۲۳/۰۲^{fg}	۲۴/۳±۵۹/۹۳^{ef}
۴۴	۴۰	۸	۳	۳۰/۵±۳۷/۰۶^{l}	۳۴/۲±۸۸/۶۸^{def}	۹/۳±۹۴/۵۰^{klm}	۱۰/۳±۳۰/۹۸^{jklmnop}
۴۵	۴۲	۸	۳	۳۶/۱±۲۸/۴۶^{ijkl}	۲۵/۲±۶۳/۶۷^{jk}	۳/۳±۲۹^{mn}	۳/۲±۱۸/۸۴^{opq}
۴۶	-------	---------	----------	۵۹/۵±۴۹/۰۶^{a}	۴۸/۳±۷۴/۹۴^{a}	.^{n}	.^{q}

www.SID.ir

Archive of SID

میانگین محور بزرگ گلبول‌های قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید به‌ترتیب ۰/۲۷۳ ± ۸/۶۴ و ۰/۸۰۹ ± ۱۲/۷۹ میکرومتر اندازه‌گیری شد. هم‌چنین میانگین محور بزرگ هسته گلبول قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید به‌ترتیب ۰/۱۵۶±۴/۳۹ و ۰/۲۵۳±۵/۶۳ میکرومتر بودند (جدول ۲). طبق نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی‌دار بین محور بزرگ گلبول قرمز و هسته در افراد دیپلوئید و تریپلوئید مشاهده شد (p<۰/۰۵). میانگین محور کوچک گلبول‌های قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید به‌ترتیب ۰/۱۴۲±۵/۷۶ و ۰/۳۳۵±۷/۸۷ میکرومتر و میانگین محور کوچک هسته گلبول‌های قرمز به‌ترتیب ۰/۱۰۱±۲/۶۵ و ۰/۱۱۱±۳/۲۶ میکرومتر اندازه‌گیری شد (جدول۲). نتایج آزمایش نشان داد که بین محور کوچک هسته و گلبول قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید اختلاف معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵).

میانگین مساحت گلبول قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید به‌ترتیب ۱/۵۳۶±۳۹/۱۵ و ۶/۲۵۸±۷۹/۴۹ میکرومترمربع و میانگین مساحت هسته گلبول‌های قرمز در این افراد به‌ترتیب ۰/۴۷۶±۹/۱۴ و ۴۳/۷۷۰±۱۴/۰ میکرومترمربع اندازه‌گیری‌شد(جدول۲).بررسی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین مساحت هسته و گلبول قرمز افراد دیپلوئید و تریپلوئید وجود دارد (p<۰/۰۵). در این آزمایش میانگین حجم گلبول قرمز به‌ترتیب در افراد دیپلوئید و تریپلوئید ۸/۶۴۴±۱۵۰/۶۷ و ۴۶/۰۶۱±۴۱۸/۲۰ میکرومتر مکعب و میانگین‌حجم هسته گلبول قرمز در این افراد به‌ترتیب ۱/۳۷۶±۱۶/۱۹ و ۲/۳۴۳±۳۱/۴۳میکرومتر مکعب اندازه‌گیری‌شد(جدول۲).بررسی‌ها نشان داد بین میانگین حجم گلبول و نیز هسته گلبول قرمز در افراد دیپلوئید و تریپلوئید اختلاف معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵).

جدول ۲: میانگین اندازه گلبول قرمز و هسته آن در ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید

گلبول قرمز خون	دیپلوئید	تریپلوئید	نسبت تریپلوئید به دیپلوئید
محور بزرگ (میکرو متر)	۸/۶۴ ± ۰/۲۷۳^{b}	۱۲/۷۹ ± ۰/۸۰۹^{a}	۱/۴۸
محور کوچک (میکرو متر)	۵/۷۶ ± ۰/۱۴۲^{b}	۷/۸۷ ± ۰/۳۳۵^{a}	۱/۳۵
محور بزرگ / محور کوچک	۱/۵ ± ۰/۰۶۱^{b}	۱/۶۳ ± ۰/۱۲۰^{a}	۱/۰۸
مساحت (میکرومتر مربع)	۳۹/۱۵ ± ۱/۵۳۶^{b}	۷۹/۴۹ ± ۶/۲۵۸^{a}	۲/۰۱
حجم (میکرو متر مکعب)	۱۵۰/۶۷ ± ۸/۶۴۴^{b}	۴۱۸/۲۰ ± ۴۶/۰۶۱^{a}	۲/۷۴
هسته گلبول قرمز	**دیپلوئید**	**تریپلوئید**	**نسبت تریپلوئید به دیپلوئید**
محور بزرگ (میکرو متر)	۴/۳۹ ± ۰/۱۵۶^{b}	۵/۶۳ ± ۰/۲۵۳^{a}	۱/۲۸
محور کوچک (میکرو متر)	۲/۶۵ ± ۰/۱۰۱^{b}	۳/۲۶ ± ۰/۱۱۱^{a}	۱/۲۳
محور بزرگ / محور کوچک	۱/۶۶ ± ۰/۰۸۵^{b}	۱/۷۳ ± ۰/۱۱۲^{a}	۱/۰۴
مساحت (میکرومتر مربع)	۹/۱۴ ± ۰/۴۷۶^{b}	۱۴/۴۳ ± ۰/۷۷۰^{a}	۱/۵۷
حجم (میکرو متر مکعب)	۱۶/۱۹ ± ۱/۳۷۶^{b}	۳۱/۴۳ ± ۲/۳۴۳^{a}	۱/۹۲

بحث

القای تریپلوئیدی با استفاده از جلوگیری از خروج گویچه قطبی ثانویه در تخمک‌های لقاح یافته انجام می‌شود (Thorggard، ۱۹۸۳). جلوگیری از خروج گویچه قطبی ثانویه با تیمارهای شوک برای‌القای تریپلوئیدی‌زمان‌بندی‌های‌مختلفی را در آزمایشات مختلف نشان داده است، بنابراین هرگونه باید زمان‌بندی دقیقی برای آغاز شوک داشته باشد(Pradeep و همکاران، ۲۰۱۲).از آن‌جایی‌که این‌زمان‌بندی دقیق برای‌نگه‌داشتن گویچه‌قطبی بسیار مهم است تیمار شوک باید نزدیک و یا در زمان تقسیم ثانویه میوز باشد. چندین پارامتر مانند نوع شوک، زمان آغاز شوک و مدت زمان شوک می‌تواند بقاء و بازده تریپلوئیدی را تحت تاثیر قرار دهد (Hasanzadeh-Saber و Pourkazemi، ۲۰۱۲). نتایج حاصل از این آزمایش‌نشان‌داد‌که‌همه‌پارامترهای شوک گرمایی به‌طور معنی‌داری میزان بقاء لاروی را تحت تاثیر قرار دادند. هم‌چنین میزان تفریخ و بقاء لاروها در تیمارهای مختلف عموماً پایین‌تر از گروه شاهد بودند. این مقادیر پایین در میزان تفریخ در مقایسه با گروه شاهد قابل پیش‌بینی بوده و مشابه با نتایج به‌دست آمده‌در آزمایش Thorggard و همکاران (۱۹۸۱) روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بود. Uma و Chandran (۲۰۰۸) با آزمایش روی ماهی تترای‌سیاه(*Gymnocorymbus ternetzi*)و Perruziوهمکاران(۲۰۰۷) با آزمایش روی ماهی کاد آتلانتیک (*Gadus morhua*) نشان دادند که شوک گرمایی میزان تریپلوئیدی را در این ماهیان افزایش داده اما، میزان بقاء لاروهای تریپلوئید پایین‌تر از گروه شاهد بود. به‌طور مشابه در این آزمایش میزان بقاء در تیمار ۳۲ که بیش‌ترین میزان تریپلوئیدی را داشته به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد بود. در حقیقت، شوک گرمایی اگرچه باعث القای تریپلوئیدی می‌شود اما دارای اثر منفی روی بقاء لاروها می‌باشد. در این آزمایش، تخم‌هایی

www.SID.ir

Archive of SID

که در معرض دمای ۴۰ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد بودند میزان تفریخ آن‌ها نسبت به تخم‌هایی که در معرض دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد بودند نسبتاً پایین‌تر بود. به‌طور مشابه، Dillon (۱۹۸۸) نشان داد که تخم‌های در معرض دمای بالاتر به‌طور معنی‌داری میزان تفریخ و بقاء لاروی پایین‌تری داشتند. هم‌چنین در این آزمایش، تخم‌هایی که در معرض دمای ۴۲ درجه‌سانتی‌گراد بودندمیزان بقاء لاروی آن‌ها به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تخم‌های در معرض دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد بود. در تخم‌هایی که در معرض شوک گرمایی قرار گرفتند دماهای بالا سبب ایجاد تلفات در تخم‌ها شده است.

مدت زمان طولانی شوک گرمایی میزان تفریخ تخم‌ها و بقاء لاروی را کاهش می‌دهد. طبق نتایج حاصل از این آزمایش ۲ و ۳ دقیقه شوک به‌طور معنی‌داری سبب کاهش میزان تفریخ و بقاء لاروی شده است. هم‌چنین Dillon (۱۹۸۸) همین نتایج را با آزمایش روی ماهی‌قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده کرد. در این آزمایش همه پارامترهای شوک گرمایی یعنی دمای شوک، مدت زمان و زمان آغاز شوک بازده تریپلوئیدی را تحت تاثیر قرار دادند. بیش‌ترین بازده تریپلوئیدی (۴/۴۱±۶۳/۷۵) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۲ دقیقه و ۶ دقیقه پس از لقاح به‌دست آمد. این نتایج به‌دست آمده مشابه با گزارشات Karal Marx و Sukumaran (۲۰۰۷) برای القا تریپلوئیدی روی گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) بوده که بیش‌ترین میزان تریپلوئیدی (۹۱/۴ درصد) در دمای ۰/۰۵±۴۰ درجه‌سانتی‌گراد، مدت زمان ۱ دقیقه و ۵ دقیقه بعد از لقاح بود. هم‌چنین Recoubratsky و همکاران (۱۹۹۲) گزارش دادند که بیش‌ترین میزان تریپلوئیدی (۱۰۰-۸۰٪) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در دمای ۴۰ یا ۴۱ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۱/۵ یا ۲ دقیقه و ۶ دقیقه بعد از لقاح بوده که مشابه با نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌باشد. تحت شرایط این آزمایش، میزان بالای تریپلوئیدی در ۴ و ۶ دقیقه پس از لقاح و میزان پایین تریپلوئیدی در ۱، ۲ و ۸ دقیقه پس از لقاح به‌دست آمد. Pradeep و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که بالاترین میزان تریپلوئیدی (۸۹/۷ درصد) در ماهی تیلاپیای قرمز در ۴ دقیقه پس از لقاح بوده و با افزایش زمان بعد از لقاح از ۴ به ۶ دقیقه میزان تریپلوئیدی کاهش یافت. اما نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بازده تریپلوئیدی بالاتر در ۴ و ۶ دقیقه بعد از لقاح نسبت به زمان‌های ۱، ۲ و ۸ دقیقه بوده است. به‌طورکلی برای این آزمایش شوک گرمایی در ۱ و ۸ دقیقه پس از لقاح برای القای تریپلوئیدی با میزان بالا موفقیت‌آمیز نبوده است. می‌توان چنین گفت که در این آزمایش خروج گویچه قطبی در ماهی کوی معمولاً پس از ۱ دقیقه و قبل از ۸ دقیقه اتفاق می‌افتد. در مطالعه حاضر در معرض قرار دادن تخم‌ها در سه دمای ۳۸، ۴۰ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد منجر به دستیابی افراد تریپلوئید شده و بیش‌ترین بازده تریپلوئیدی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. اما Hasanzadeh-Saber و Pourkazemi (۲۰۱۲) گزارش کردند که برای القای تریپلوئیدی در ماهی کپور علف‌خوار با استفاده از شوک گرمایی دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۱ دقیقه و ۴ دقیقه پس از لقاح منجر به ۱۰/۸٪ تریپلوئیدی شده و هیچ علائمی از تریپلوئیدی شدن در دماهای ۴۰ و ۴۲ درجه‌سانتی‌گراد مشاهده نشد. هم‌چنین Aruljothi (۲۰۱۵) نشان داد که برای القای تریپلوئیدی در ماهی روهو (*Labeo rohita*) با استفاده از شوک گرمایی، در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۱ دقیقه میزان تریپلوئیدی ۸۱/۳ درصد بوده که مشابه با نتایج این آزمایش نبوده است. نتایج این آزمایش نشان داد که هیچ روند مشخص و منظمی برای تاثیر مدت زمان شوک روی بازده تریپلوئیدی وجود نداشت. اما به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد که مدت زمان ۲ و ۳ دقیقه تاثیر بیش‌تری روی میزان بازده تریپلوئیدی داشته است. بنابراین، این موضوع که پارامترهای مختلف شوک گرمایی بازده تریپلوئیدی را تحت تاثیر قرار می‌دهد نشان می‌دهد که دستیابی به ترکیب دقیقی از این پارامترها برای رسیدن به بیش‌ترین میزان بازده تریپلوئیدی ضروری به‌نظر می‌رسد. اندازه‌گیری حجم هسته گلبول‌های قرمز می‌تواند برای تعیین سطح تریپلوئیدی در گونه‌های ماهی استفاده شود (Karal Marx و Sukumaran، ۲۰۰۷). در این آزمایش، اندازه گلبول‌های قرمز و هسته آن‌ها در افراد تریپلوئید بیش‌تر از افراد دیپلوئید بود. محور بزرگ و کوچک گلبول‌های قرمز ماهی کوی تریپلوئید به‌ترتیب ۱/۴۸ و ۱/۳۵ برابر گلبول‌های قرمز ماهیان دیپلوئید بود. این نتایج مشابه با مطالعه حسن‌زاده‌صابر و پورکاظمی (۲۰۱۲) بوده که در آن محور بزرگ و کوچک گلبول‌های قرمز ماهی کپور علف‌خوار تریپلوئید ۱/۳۷ و ۱/۳ برابر ماهیان دیپلوئید بود. حجم سلولی و هسته ماهیان کوی تریپلوئید در این آزمایش به‌ترتیب ۴۱۸/۲۰ و ۳۱/۴۳ بود. این نتایج به‌دست آمده می‌تواند با نتایج آزمایش Aruljothi (۲۰۱۵) در ماهی روهو مقایسه شود که در آن حجم سلولی و هسته ماهیان تریپلوئید به‌ترتیب ۳۳۱/۰۵ و ۴۰/۱۲ بود. نسبت حجم هسته گلبول‌های قرمز ماهی کوی تریپلوئید در این پژوهش ۱/۹۲ برابر ماهیان دیپلوئید بود. در آزمایشی روی ماهی fringed lipped carp (*Labeo fimbriatus*) برای القای تریپلوئیدی مشاهده شد که نسبت حجم هسته گلبول‌های قرمز در ماهیان تریپلوئید ۱/۹۲ بود (Pushpa Geetha و Jayaprakas، ۲۰۱۴). به‌طور مشابه در آزمایشی دیگر، حجم هسته گلبول‌های قرمز در گربه‌ماهیان آفریقایی تریپلوئید ۱/۹۲ برابر ماهیان دیپلوئید بود (Olele و Tighiri، ۲۰۱۳). ماهیان تریپلوئید در این آزمایش با استفاده از شوک گرمایی در دماهای ۳۸، ۴۰ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۱-۳ دقیقه و در دامنه‌ای از ۱-۸ دقیقه پس از لقاح

www.SID.ir

Archive of SID

تولید شدند. بهترین بازده و میزان تریپلوئیدی در این ماهی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۶ دقیقه پس از لقاح به‌مدت ۲ دقیقه به‌دست آمد. ماهی کوی به‌دلیل الگوی فلسی و رنگ‌های متنوع و هم‌چنین ارزش اقتصادی بسیار مورد توجه پرورش‌دهندگان ماهیان زینتی قرار دارد. بنابراین تولید ماهی کوی تریپلوئید به‌دلیل عقیم بودن و احتمال رشد سریع‌تر نسبت به‌ماهیان دیپلوئید بعد از بلوغ جنسی، برندسازی و کنترل فعالیت‌های تولیدمثلی می‌تواند تاثیر مثبتی در صنعت پرورش ماهیان زینتی داشته باشد.

منابع

۱. **تیموریان، س.ا.ب.، ۱۳۹۵.** بررسی تاثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس *Lactobacillus acidophilus* بر شاخص‌های رشد ماهی کویی. پایان‌نامه دکتری رشته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی. دانشگاه آزاد اسلامی کرج.

۲. **خیابانی، ع.ر.، ۱۳۹۴.** مروری بر نحوه پیدایش و تکامل ماهی کوی (کپور زینتی) امروزی. آبزیان زینتی. سال ۲، شماره ۱، صفحات ۳۷ تا ۴۲.

۳. **مورکی، ن.؛ دادگر، ش. و نادری، م.ص.، ۱۳۹۳.** اثر گیاه جعفری (*Petroselinum sativum*) بر شاخص رشد و بقای ماهی کوی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی‌پروری. سال ۸، شماره ۲، صفحات ۶۳ تا ۷۲.

۴. **مومنی‌نژاد، ع.، ۱۳۹۲.** القاء تکثیر در کپور کوی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از هورمون HCG و ترکیب Ovaprim. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد مهندسی منابع طبیعی، تکثیر و پرورش آبزیان. دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۵. **Aruljothi, K., 2015.** Mass production of triploid Rohu, *Labeo rohita* (Ham.) by chromosome manipulation technique. Thesis submitted in part fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Fisheries Science in Fish Biotechnology, university of Tamil Nadu, Nagapattinam.

۶. **Basavaraju, Y.; Mair, G.C.; Mohan Kumar, H.M.; Pradeep Kumar, S.; Keshavappa, G.Y. and Penman, D.J., 2002.** An evaluation of triploidy as a potential solution to the problem of precocious sexual maturation in common carp, *Cyprinus carpio*, in Karnataka, india. Aquaculture. Vol. 204, pp: 407-418.

۷. **Bencsik, I.; Pacala, N.; Dumitrescu, G.; Dronca, D.; Stanculet, J. and Petculescu, C., 2013.** Triploidy determination in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) based on erythrocytes dimensions. Animal Science and Biotechnologies. Vol. 46, pp: 113-117.

۸. **Benfey, T.J.; Sutterlin, A.M. and Thompson, R.J., 1984.** Use of erythrocyte measurement to identify triploid salmonid. Canadian j. fish. Aquatic sci. Vol. 41, pp: 980-984.

۹. **Billard, R.; Richard, M. and Breton, B., 1977.** Stimulation of gonadotropin secretion after castration in rainbow trout. Gen. and compar. Endocrin. Vol. 33, pp: 163-165

۱۰. **Chalmers, L.; Thompson, K.D.; Taylor, J.F.; Black, S.; Miguad, H.; North, B. and Adams, A., 2016.** A comparison of the response of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) siblings to a commercial furunculosis vaccine and subsequent experimental infection with *Aeromonas salmonicida*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 57, pp: 301-308.

۱۱. **Coyle, S.D.; Durborow, R.M. and Tidwell, J.H., 2004.** Anesthetics in aquaculture, publication 3900, Stoneville, Mississippi: southern regional aquaculture center.

۱۲. **Das, S.K., 2004.** Evaluation of a new spawning agent, ovopel in induce breeding of indian Carps. Asian fish. Sci. Vol. 17, pp: 313-32.

۱۳. **Dillon, J.C., 1988.** Production of triploid Rainbow Trout for evaluation in south Dakota waters. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree master of science, major in wildlife and fisheries sciences (fisheries option), university of South Dakota State.

۱۴. **Felip, A.; carrillo, M.; Herráez, M.P.; Zanuy, S. and Basurco, B., 2009.** Protocol F - Induction of triploidy by cold shock, Pratical guide of protocols: chromosome set manipulation. Options méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches. No. 63, pp: 43-48.

۱۵. **Hassanzadeh saber, M. and Pourkazemi, M., 2012.** Induction of triploidy in grass carp *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), Comparison of cold and heat shocks. Caspian journal of environmental sciences. Vol. 10, No. 2, pp: 195-204.

۱۶. **Havardstun, S., 2011.** Triploid induction in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) by the use of different pressure levels. Thesis for fulfilment of the degree master of science in aquaculture biology, university of Bergen, Norwey.

۱۷. **Karal Marx, K. and Sukumaran, N., 2007.** Production of triploid African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), using chromosome manipulation techniques. Bangladesh journal of fish research. Vol. 2, No. 11, pp: 121-130.

۱۸. **Lemoine, L.H. and Smith, T.L., 1980.** Ploploidy induced in brook trout by cold shock. Trans Am Fish Soc. Vol. 109, pp: 626-631.

۱۹. **Nascimento, N.F.; Pereira-Santos, M.; Piva, L.H.; Manzini, B.; Fujimoto, T.; Senhorini, J.A.; Yasui, G.S. and Nakaghi, L.S.O., 2017.** Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra Astyanax altiparanae. Aquaculture. Doi: 10.1016/j. aquaculture.2017.01.007.

۲۰. **Olele, N.F. and Tighiri, O.H., 2013.** Optimization of triploidy induction and growth performance of *Clarias anguillarias* (African catfish) using cold shock. Academic journal of interdisciplinary studies. Vol. 2, No. 7, pp: 189-196.

۲۱. **Pushpa Geetha. S. and Jayaprakas, V., 2014.** Growth performance, Reproductive sterility and distinct morphology of Triploid fringed lipped Carp, *Labeo fimbriatus*. J. Aquat. Biol.Fish. Vol. 1, No. 2, pp: 201-214.

۲۲. **Perruzi, S.; Kettunen, A.; Primicerio, R. and Kauric, G., 2007.** Thermal shock induction of triploidy in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture research. Vol. 38, pp: 926-932.

۲۳. **Piferrer, F.; Beaumont, A.; Falguière, M.; Haffray, P. and Colombom, L., 2009.** Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. Aquaculture. Vol. 293, pp: 125-156.

۲۴. **Pradeep, P.J.; Srijaya, T.C.; Bahuleyan, A.; Renjithkumar, C.R.; Jose, D.; Papini, A. and Chatterji, A.K., 2012.** Triploidy induction by heat-shock treatment in red Tilapia, caryologia: international journal of cytology. Vol. 65, No. 2, pp: 152-156.

www.SID.ir

Archive of SID

۲۵. **Recoubratsky, A.; Gomelsky, B.I.; Emelyanova, O.V. and Pankratyeva, E.V., 1992.** Triploid common carp produced by heat shock with industrial fish-farm technology. Aquaculture. Vol. 108, pp: 13-19.

۲۶. **Strunjak-Perovic, I.; Coz-Rakova, R. and Topic Povovic, N., 2003.** Micronucleus occurrence in diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Vet. Med. Czech. Vol. 48, pp: 215-219.

۲۷. **Seraki, K.; Kobayasi, H. and Nakamura, M., 1977.** Size of Erythrocytes in the Diploid and Triploid Specimens of *Carassius auratus langsdorfi*. Japanese Journal of Ichthyology. Vol. 24, pp: 135-140.

۲۸. **Taylor, G.F.; Bozzolla, P.; Frenzl, B.; Matthew, C.; Hunter, D. and Migaud, H., 2014.** Triploid Atlantic salmon growth is negatively affected by communal ploidy rearing during seawater grow-out in tanks**.** Aquaculture. Vol. 432, pp: 163-174.

۲۹. **Thorgaard, G.H.; Jazwin, M.E. and Stier, A.R., 1981.** Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. Transactions of the American fisheries society. Vol. 110, pp: 546-550.

۳۰. **Thorgaard, G.H., 1983.** Chromosome set manipulation and sex control in fish. 405-434. In: WH Hoar, DG Randall and EM Donaldson (eds) fish physiology, academic press, Newyork. USA

۳۱. **Turan, F. and Guragac, R., 2014.** Induction of triploidy with caffeine treatment in the African catfish (*Clarias gariepinus*). Iranian journal of fisheries sciences. Vol. 4, No. 13, pp: 1014-1020.

۳۲. **Uma, B. and Chandran, M.R., 2008.** Induction of triploidy in *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulengar). Research journal of fisheries and hydrobiology. Vol. 2, No. 3, pp: 41-47.

www.SID.ir