

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی
شهید مطهری (یاسوج)

عنوان:

بررسی کروموزومی و وضعیت پلویدی
ماهیان قزل‌الای رنگین‌کمان حاصله
از تخم‌های چشم‌زده وارداتی

مجری:

ابوالحسن راستیان نسب

شماره ثبت

۵۲۴۵۵

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح ماهیان سردآبی
شهید مطهری (یاسوج)

عنوان طرح/پروژه : بررسی کروموزمی و وضعیت پلوییدی ماهیان قزل الای رنگین کمان حاصله از تخم
های چشم زده وارداتی

کد مصوب: ۹۲۱۱۰-۱۲-۱۲-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/نگارندگان : ابوالحسن راستیان نسب

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : ابوالحسن راستیان نسب

نام و نام خانوادگی همکار(ان): منصور شریفیان، حبیب‌اله گندمکار، سجاد نظری، سیدحسین مرادیان، جواد
مهدوی، عیسی فلاحت، سیدعبدالحمید حسینی، اسماعیل کاظمی، عباس متین‌فر، حسینعلی عبدالحی، عین‌اله
گرچی‌پور

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -

محل اجرا: استان کهگیلویه و بویراحمد

تاریخ شروع: ۹۲/۱۱/۱

مدت اجرا: ۹ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۳۹۶

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی‌ها و نمودارها با ذکر مأخذ
بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه: بررسی کروموزمی و وضعیت پلوئیدی ماهیان قزل الای

رنگین کمان حاصله از تخم های چشم زده وارداتی

کد مصوب: ۹۲۱۱۰-۱۲-۱۲-۲

شماره ثبت (فروست): ۵۲۴۵۵ تاریخ: ۹۶/۷/۲۹

با مسئولیت اجرایی جناب آقای ابوالحسن راستیان نسب دارای

مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته شیلات- تکثیر و پرورش

آبزیان می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش

آبزیان مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت کارشناس مسئول آزمایشگاه تکثیر و پرورش در مرکز

تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید

مطهری (یاسوج) مشغول بوده است.

صفحه	عنوان
۱	چکیده
۲	۱- مقدمه
۳	۱-۱- کلیات
۳	۱-۱-۱- قزل الای رنگین کمان
۴	۱-۱-۲- کاربرد زیست فناوری در آبی پروری
۹	۲- مواد و روشها
۹	۲-۱- طراحی و آماده سازی مکان تحقیق
۹	۲-۲- بررسی شاخص های پرورش
۹	۲-۳- تهیه گسترش کروموزومی و کاریوتایپ ماهی قزل آلا
۱۰	۲-۴- آنالیز آماری
۱۱	۳- نتایج
۱۱	۳-۱- نتایج حاصل از افزایش وزن بین دو تیمار در دوره ی پرورشی
۱۲	۳-۲- نتایج مشاهدات گسترش کروموزومی
۱۴	۴- بحث
۱۷	۵- نتیجه گیری کلی
۱۸	پیشنهادها
۱۹	منابع
۲۳	چکیده انگلیسی

چکیده

تقاضای روزافزون برای محصولات آبی، به دلیل افزایش جمعیت و همچنین کاهش ذخایر آبزیان در منابع آبی (دریا و...) به دلیل صید بی‌رویه باعث توسعه آبی پروری و اعمال سیاست‌های مختلف جهت افزایش تولید گردیده است. استفاده از تکنولوژی، دستاوردهای علمی و نیز واردات محصولات ملل توسعه یافته از جمله تخم چشم‌زده تمام‌ماده ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان بطور اجتناب‌ناپذیر مورد توجه پرورش‌دهندگان قرار گرفته است. با وجود پیامدهای نامطلوب واردات بی‌رویه تخم چشم‌زده ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان به کشور مانند ورود عوامل بیماری‌زای واگیردار نظیر VHS به مزارع پرورش ماهی، در این تحقیق برخی از ویژگی‌های اقتصادی بچه ماهیان حاصله از یک گروه تخم‌های چشم‌زده تمام‌ماده فرانسوی را با ماهیان بومی (مختلط‌نر و ماده) به عنوان دو تیمار با هم مقایسه نموده و وضعیت کروموزمی آنها بررسی شدند. بر اساس یافته‌های این بررسی، میانگین افزایش وزن ماهیان فرانسوی طی دوره پرورش بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از ماهیان بومی بود. در حالیکه ضریب تبدیل غذایی ماهیان بومی بالاتر بود ($P < 0.05$). بر اساس نتایج گسترش کروموزمی نمونه‌های کلیه و آبشش، هر دو گروه ماهیان از نظر کروموزمی دیپلوئید بودند. یافته‌ها حاکی از آن بوده که ماهیان فرانسوی دارای سرعت رشد بیشتر بواسطه اشتهاى بالا و تغذیه بیشتر بوده (که این امر باعث کاهش طول دوره پرورش و به تبع، توجه پذیر بودن پرورش ماهیان فرانسوی نسبت به ماهیان بومی می‌شود) و وزن‌گیری مناسب با کاهش دوره پرورش (به عنوان یک مزیت اقتصادی) نسبت به ماهیان بومی می‌باشند. بهبود مشخصه‌های کیفی و کمی تخم‌های وارداتی و ماهیان حاصله می‌تواند نتیجه بهبود شرایط نگهداری مولدین و اصلاح نژاد با برنامه به‌گزینی بوده، بعلاوه تولید تک‌جنس و تمام‌ماده این محصولات بدون دستکاری در عدد پلوییدی، از جمله مزایای این تخم‌ها نسبت به تخم چشم‌زده ماهیان بومی می‌باشد.

کلمات کلیدی: تخم‌های چشم‌زده وارداتی، ماهیان بومی، عدد پلوییدی، رشد، قزل‌الای رنگین‌کمان

۱- مقدمه

فعالیت انسان در خصوص تولید انواع آبزیان موضوع تازه‌ای نیست؛ بلکه قدمتی بیش از ۲۰۰۰ سال در شرق آسیا و اروپا دارد. نقش پرورش آبزیان برای پاسخ به کمبود و همچنین بهبود تغذیه جهانی در سال‌های اخیر نمود بیشتری پیدا کرده است به گونه‌ای که در سال ۲۰۱۲ تولید صنعت آبزی پروری به ۶۶/۶ میلیون تن رسید و قادر به تأمین بیش از ۴۰ درصد غذای حیوانی مورد نیاز بشر بوده است. در این بین پرورش گونه قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نیز از سرعت رشد خوبی برخوردار بوده است به گونه‌ای که میزان تولید آن در ۲۰ سال گذشته حدود ۳ برابر افزایش یافته است. میزان تولید این ماهی در سال ۲۰۱۲ حدود ۸۵۵ هزار تن معادل ۱/۳ درصد از تولید کل آبزیان بود است (FAO, 2014).

کشور ایران نیز با تولید ۳۲۵۰۰۰ تن ماهی پرورشی در سال ۲۰۱۳ رتبه بیستم جهان را به خود اختصاص داد که از این میزان تولید، ۴۴ درصد (۱۴۳۹۱۷ تن) متعلق به قزل‌آلای رنگین‌کمان بوده است و سبب قرارگیری ایران در رتبه نخست پرورش این ماهی در سال ۲۰۱۳ شده است (FAO, 2015).

قزل‌آلای رنگین‌کمان بومی آمریکای شمالی می‌باشد. این ماهی در اوایل قرن ۱۹ میلادی از آمریکا به اروپا و سپس به کشورهای آسیایی جهت پرورش در حوضچه‌های بلند بتنی آورده شد. در سال ۱۳۲۹ شمسی برای اولین بار در ایران به عنوان یک گونه پرورشی در اطراف شهر کرج مورد استفاده قرار گرفت. وجود شرایط اقلیمی مناسب در قسمت‌های شمالی و غربی ایران، آب‌ها و چشمه‌سارهای مناسب و همچنین متناسب بودن گوشت و طعم این ماهی با ذائقه مردم ایران باعث گسترش چشمگیر مزارع تکثیر و پرورش این ماهی در ایران شد. پراکنش طبیعی این ماهی در ایران شامل حوزه دریای خزر، دجله و کارون، زاینده رود، تجن و کرمان می‌باشد (ستاری، ۱۳۸۶). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تنها گونه از ماهیان سردآبی است که در مقیاس تجاری در قسمت‌های وسیعی از ایران پرورش داده می‌شود بنابراین انجام طرح‌ها و پروژه‌هایی که منجر به افزایش اطلاعات کاربردی، که خود در تولید پایدار این گونه نقش بسزایی دارد اهمیت دوچندان دارد.

در سال‌های اخیر، فعالیت‌های چشمگیری در زمینه توسعه آبزی پروری به ویژه تولید گونه سردآبی قزل‌آلای-رنگین‌کمان اجرا شده است. همچنین کاربرد روش‌های مدرن و نوین در پرورش آبزیان به تدریج با درک بهتر اصول و قوانین ژنتیکی توسعه یافته است. ویژگی‌های خاص آبزیان نظیر قابلیت تحمل سطوح مختلف پلوئیدی، لقاح خارجی، دوره رشد نسبتاً کوتاه و حجم بالای گامت‌های استحصالی در هر دوره تکثیر منجر به توسعه بیشتر ژنتیک در آبزیان شده است. پدیده بلوغ جنسی یکی از مهم‌ترین مشکلات پرورش دهندگان آبزیان خصوصاً ماهیان سردآبی است. بلوغ جنسی در آزادماهیان منجر به کاهش رشد، گسترش صفات ثانویه جنسی، کاهش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، کاهش کیفیت لاشه و رنگدانه‌های موجود در بافتها می‌شود (Quillet et al., 1988). علاوه بر این، تفاوت رشد وابسته به جنسیت در بسیاری از ماهیان (نظیر آزادماهیان) به اثبات رسیده است

(Felip *et al.*, 2001)، لذا تولید و پرورش ماهیان عقیم یا تمام ماده به دلیل حذف کامل بلوغ و یا تاخیر در بروز آن در آبزیان پرورشی برتری دارد (Dunhum, 2004).

مطالعه ژنتیک ماهی در اوایل قرن بیستم، پس از شناخت و درک صفات کمی و اصول ژنتیک آغاز گردید، اما به دلیل فقدان شناخت کافی از ژنتیک آبزیان به ویژه ماهی و عدم علاقه دست اندرکاران به مطالعات ژنتیکی در آبزی پروری، همچنین محدودیت و جوان بودن صنایع شیلاتی و آبزی پروری در آن زمان، عملاً مطالعات چشمگیری در این زمینه تا دهه ۱۹۶۰ انجام نگرفت و در حقیقت تلاشهای اصلی در زمینه ژنتیک ماهی در مقیاس تجاری در زمینه بهگزینی انواع ماهیان تجاری نظیر قزل آلی رنگین کمان به منظور بهبود ضریب تبدیل غذایی و رشد به اجرا درآمد (درافشان، ۱۳۸۵). به تدریج با درک اصول و قوانین ژنتیک و نیز توسعه آبزی پروری به عنوان یکی از صنایع مهم زیر بخش کشاورزی، کاربرد روش های مدرن و نوین در آبزیان توسعه یافت. در این خصوص روش های جدید زیست فن آوری نظیر دستکاری کروموزومی و القای پلویدی به عنوان یکی از عوامل موثر در زمینه تولید آبزیان پرورشی در اواخر دهه ۱۹۸۰ و اوایل دهه ۱۹۹۰ به طور کامل مورد پذیرش و کاربرد قرار گرفت. انواع مختلفی از این فناوری ها مانند بهگزینی، آمیخته گری، تغییر جنسیت، اصلاح نژاد و القای پلویدی در حال حاضر در مقیاس تجاری مورد استفاده قرار می گیرند (درافشان، ۱۳۸۵).

در ماهی ها هسته سلول تخمک با هسته سلول اسپرم ترکیب می شود و یک سلول تخم دیپلوید به وجود می آید. اگر ادامه فعالیت میوز II مختل شود (به صورت طبیعی یا به وسیله القاء شوک)، جدایی کروموزوم ها صورت نمی گیرد و دو دسته کروموزوم در سلول تخم باقی می ماند. در این حالت اگر لقاح اتفاق بیفتد یک دسته کروموزومی مربوط به اسپرم به تخمک منتقل شده و باعث به وجود آمدن تخم تریپلوید می شود. تتراپلویدی (دارا بودن ۴ سری کروموزوم در هر سلول) نوع دیگری از پلی پلویدی در ماهیان است که روش تولید آن همانند تریپلویدی با استفاده از شوک های فیزیکی یا شیمیایی است. با این تفاوت که شوک دیر هنگام و بعد از جدایی دومین گویچه قطبی و قبل از اولین تقسیم میتوزی سلول تخم است. تتراپلویدی می تواند به عنوان یک منبع مهم در تولید ماهیان تریپلوید کاملاً عقیم محسوب شود.

۱-۱-۱ کلیات

۱-۱-۱-۱ قزل آلی رنگین کمان

ماهی قزل آلی رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* از خانواده آزادماهیان (Salmonidae) و از جنس *Oncorhynchus* می باشد. محدوده اصلی زیستگاه آن آمریکای شمالی از آلاسکا تا کالیفرنیا می باشد اما دو وارته اصلی از آن به نامهای قزل آلی مهاجر یا پولادسر (Steel head) و قزل آلی ساکن در آب شیرین (Kamloops) در آبهای مناطق وسیعی از جهان پراکنده هستند (Sedgwick, 1995)؛ قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دارای سیستم تعیین جنسیت XX♀/XY♂ می باشد، برخی از جمعیت های آن دارای کروموزوم های ناهم شکل X

و Y بوده و در برخی از جمعیت‌ها به صورت همشکل می‌باشند (Torgaard, 1977). (vasave 2016) تعداد کروموزوم‌های قزل‌آلا را ۶۰ عدد تعیین نمودند که شامل ۳۸ متاستریک، ۶ ساب‌متاستریک و ۱۶ عدد تلوستریک می‌باشد.

(Thorgaard, 1983) به بررسی وضعیت کروموزومی ماهیان ۲۹ ایستگاه از آلاسکا تا کالیفرنیا پرداختند و گزارش دادند تعداد کروموزومها بین ۵۸ تا ۶۴ عدد بوده در حالیکه تعداد بازوهای کروموزومی در تمام نمونه‌ها ۱۰۴ عدد بدست آمد.

در مطالعه دیگری تعداد کروموزومهای قزل‌آلا ۵۶ تا ۶۸ عدد تعیین شد در این بین ماهیان دارای ۶۰ عدد کروموزوم بیشترین فراوانی را نشان دادند، این در حالی است که تعداد بازوهای کروموزومی ۱۰۴ عدد گزارش شد. این تفاوت در تعداد کروموزومها با وجود ثابت بودن بازوهای کروموزومی به دلیل ادغام و شکافتهای مرکزی کروموزومها (robertsonian translocation) می‌باشد (Thorgaard, 1983).

۲-۱-۱- کاربرد زیست فناوری در آبی‌پروری

افزایش روز افزون تقاضای جهانی برای فرآورده‌های غذایی آبی‌پروری از یک طرف و کاهش زیستگاه‌های طبیعی آبی از طرف دیگر دانشمندان را ترغیب کرده تا به مطالعه راهکارهایی بپردازند که بتواند در افزایش تولید در سیستم‌های آبی‌پروری و معرفی گونه‌ها و فرم‌های جدید از یک گونه نقش تاثیر گذار ایفا نماید (Hulata, 2001). در این میان، فناوری زیستی یکی از مهمترین و قدرتمندترین ابزار برای توسعه و افزایش بازده آبی‌پروری است. این علم شرایطی را فراهم می‌نماید تا پژوهشگران از طریق تشخیص و ترکیب صفاتی مشخص در آبزیان، دستکاری‌های کروموزومی، تولید شکل‌های خاص از یک گونه مشخص و عقیم‌سازی با استفاده از ایجاد تغییرات در سری‌های کروموزومی گونه‌های پرورشی میزان تولید و کیفیت محصول را بهبود بخشند (Omoto et al., 2005). علی‌رغم مزایای بسیار ارزشمندی که کاربرد زیست فناوری می‌تواند در بهبود صنعت آبی‌پروری ایفا نماید، متاسفانه تاکنون توجه زیادی به آن معطوف نگردیده است. شاید یکی از دلایل آن عدم آگاهی تولیدکنندگان در مورد کاربردهای این علم یا عدم وجود زیرساخت‌های لازم برای استفاده از این علم و روش‌های آن باشد (Forne et al., 2010).

مهمترین قابلیت‌های زیست فناوری و ابزارهای آن در آبی‌پروری شامل کاربرد هورمون‌های طبیعی و سنتتیک، تولید مثل القائی، تولید انواع آبزیان تراریخته، ایجاد بانک ژن، مدیریت بهداشت و تولید جمعیت‌های مختلف می‌باشد. این قابلیت‌ها نقش مهمی در اصلاح نژاد آبزیان پرورشی، بهبود مدیریت مزارع، جلوگیری از آلودگی‌های زیستی در محیط، امکان استفاده از گونه‌های غیر بومی عقیم و افزایش تولید آنها در واحد سطح دارد (Dunhum, 2004). امروزه دستکاری‌های کروموزومی، القای پلوییدی در سطوح مختلف و پروتئومیک به

عنوان یکی از عوامل موثر در زمینه تولید آبزیان پرورشی به طور کامل مورد پذیرش و کاربرد قرار گرفته است (Rodrigues *et al.*, 2012; Pandian and Koteeswaran, 1998).

۱-۱-۲-۱- القای تریپلویدی و تأثیرات آن بر آبزیان

بسیاری از پر یاختگان دیپلوید هستند، بدین معنی که دارای دو مجموعه کروموزومی شبیه به هم در سلول‌های سوماتیک می‌باشند. این شرایط حاصل همراهی فرایند گامتوژنز و تقسیم میتوزی است. موجودات پلی پلوید افرادی هستند که نسبت به همنوع خود، یک یا بیشتر از یک مجموعه کروموزومی دارند. پلی پلویدی تقریباً یکی از ویژگی‌های جانوران و گیاهان بوده و به نظر می‌رسد این اتفاق در سیر تکامل ماهیان به وفور رخ داده و وقوع این فرآیند برای گروه‌های ابتدایی تر ماهیان بیشتر به وقوع می‌پیوندد (Piferrer *et al.*, 2009).

معمولاً انتظار می‌رود ماهیان پلی پلوید به دلیل ممانعت از فرآیند گامتوژنز عقیم باشند و نشانه‌های اندک یا فراوانی از تاخیر تکامل گنادی در آنها مشاهده گردد و یا به دلیل جدا شدن نامنظم سلول‌های جنسی در تریپلویدها و تولید گامت‌های آنیوپلوید، این ماهیان قابلیت باروری نداشته باشند.

اما نرهای تریپلوید به طور کلی عقیم بوده و در بهترین حالت مقدار کمی اسپرم هاپلوید تولید می‌نمایند (Oshima *et al.*, 2005).

جلوگیری از خروج دومین جسم قطبی در (ماهیان) کلید القای مصنوعی تریپلویدی می‌باشد. تریپلویدی به وسیله روش‌های غیرمستقیم از طریق آمیزش اینترپلویدی نیز امکان پذیر است. آمیزش تخمک‌های معمولی با اسپرم‌های دیپلوید از نرهای تتراپلوید باعث تولید افراد تریپلوید به روش غیر مستقیم می‌شود. ماهیان تتراپلوید معمولاً از طریق ممانعت از اولین تقسیم سلولی زیگوت هنگامی که کروموزوم‌ها دو برابر شده‌اند (کمی بعد از لقاح) ایجاد می‌گردند. (Quillet *et al.*, 1988).

آلو تریپلویدها از طریق آمیزش طبیعی دو گونه خویشاوند یا آمیزش نسل F1 هیبریدها با یکی از گونه‌های والدینی قابل تولید هستند (Purdom, 1972). القای تریپلویدی از طریق شوک که مانع خروج جسم قطبی می‌گردد، باعث افزایش بازماندگی برخی تریپلویدهای هیبرید می‌شود در صورتی که نوع دیپلوید این هیبریدها دارای بازماندگی بسیار ضعیفی می‌باشد (Gray *et al.*, 1993). گاهی دورگه‌گیری بین گونه‌های پرورشی خویشاوند (آزادماهیان، شانک ماهیان، ماهیان پهن) و به دنبال آن القای تریپلویدی، فرزندان آلو تریپلوید ایجاد می‌کند (Gorshkov *et al.*, 2002).

ماهیان تریپلوید در مقایسه با انواع ماهیان دیپلوید، دارای یک دسته (n) کروموزوم اضافی می‌باشند (Beaumont and Hoare, 2003) و به همین دلیل در خلال تقسیم میوز واجد اختلالاتی در جفت شدن صحیح کروموزوم‌های همتا گردیده، عمدتاً از نظر جنسی، عقیم هستند (Benfey, 1999). وقوع بلوغ جنسی معمولاً باعث کاهش نرخ رشد بدنی می‌شود، زیرا انرژی حاصل از غذا بجای تولید لاشه به سمت تکامل گنادی سوق داده می‌شود. در ماهیان

امروزه برای آزاد ماهیان بخصوص قزل‌الای رنگین‌کمان شوک حرارتی به آسانی در کارگاه های تکثیر این ماهی بدون نیاز به تجهیزات خاص قابلیت اجرایی دارد. شناخت و اجرای دقیق سه پارامتر مهم شوک حرارتی یعنی زمان شروع شوک بعد از لقاح، مدت زمان شوک دهی و شدت شوک یا همان دمای آب مورد استفاده در زمان شوک دهی می تواند در راندمان تولید ماهیان تریپلوید تاثیر به سزایی داشته باشد. البته در شرایط مختلف پرورشی مانند دمای آب نگهداری مولدین ماده و همچنین دمای آب کارگاه تکثیر که برای عمل لقاح تخم ها با اسپرم ها استفاده می شود می تواند تا حدودی در بدست آوردن دمای مناسب یا محدوده ی دمایی مناسب برای القای شوک حرارتی موثر باشد. از این رو بیان می کنند که اطلاع کافی از شرایط نگهداری و تولید ماهیان در کارگاه برای این عمل می تواند مفید باشد و تاثیر زیادی بر بازده کار و همچنین کاهش تلفات در زمان اعمال شوک داشته باشد. میزان تغییر دمای آب برای اعمال شوک باید به گونه ای انتخاب شود که بتواند با کمترین تلفات بیشترین القا را ایجاد کند که این دما معمولاً برای شوک حرارتی عبارت از دمای آب نگهداری مولدین بعلاوه 18°C است (Piferrer et al., 2009). القای تریپلویدی به وسیله شوک حرارتی در ماهیان با تخم های بزرگ دارای متغیر های درونی بیشتری است.

امروزه نیز از شوک های دمایی و فشار برای سرکوب اولین تقسیم سلولی و تولید ماهیان تتراپلوید مانند ماهیان تریپلوید استفاده می شود. برای ماهیان تتراپلوید نیز همان سه پارامتر مهم یعنی مدت زمان بعد از لقاح، مدت زمان شوک دهی به تخم ها و شدت شوک نیز مطرح بوده و اهمیت زیادی در موفقیت کار دارا می باشد. مدت زمان بعد از لقاح برای قزل‌الای رنگین‌کمان برای شروع شوک معمولاً بین 60 تا 85 درجه ساعت می باشد که وابسته به دمای آب کارگاه تکثیر است. شدت و مدت شوک دهی نیز متغیر بوده و برای شدت شوک معمولاً دمای بین $28-32^{\circ}\text{C}$ زمان شوک بسته به قطر تخمک بین $12-5$ دقیقه می تواند متغیر باشد (Panadian and Koteeswaran, 1998).

در سالهای اخیر بطور فزاینده ای تخم چشم زده ماهی قزل‌الای از کشور های مختلف بویژه کشورهای اروپایی به کشور وارد می گردد و با وجود تمایل پرورش دهندگان مبنی بر کاهش تلفات، افزایش رشد، کوتاه بودن دوره پرورش، واردات این محصول و وابستگی به به خارج را در صنعت پرورش ماهی قزل‌الای دوچندان نموده است. وقوع چنین روندی، زمینه ورود انواع بیماری های ویروسی و باکتریایی به کشور را فراهم نموده و همه گیری بیماریهای ویروسی در مزارع پرورش ماهی قزل‌الای، پرورش دهندگان این آبزی را با مشکل جدی مواجه نموده است. با این وجود، در این مطالعه، جهت آگاهی از برخی خصوصیات ماهیان قزل‌الای رنگین‌کمان حاصله از تخم های چشم زده وارداتی از قبیل رشد و ضریب تبدیل غذایی و نیز وضعیت کروموزمی آنها و مقایسه خصوصیات ذکر شده با ماهیان بومی نسبت به تهیه تخم چشم زده از این ماهیان اقدام گردید. مروری بر مطالعات انجام شده :

مطالعات متعددی در زمینه تأثیر القای پلوئیدی بر اندازه و تعداد سلولهای خونی در ماهیان منتشر شده است (Benfey, 1999). سلولهای ماهیان تریپلوئید به دلیل دارا بودن مقدار *DNA* بیشتر، ابعاد بزرگتری نسبت به سلولهای دیپلوئید دارند، اگرچه این تفاوت اندازه بسته به نوع بافت یا حتی سن ماهی ممکن است، متغیر باشد، اما عموماً به حدی خواهد بود که به عنوان شاخصی برای شناسایی ماهیان تریپلوئید مورد استفاده و استناد قرار گیرد (Panadian and Koteeswaran, 1998). اگرچه القای تریپلوئیدی و ایجاد گونه‌های مختلف آن در آبریان از سابقه نسبتاً طولانی برخوردار است، اما همچنان یکی از زمینه‌های مطالعاتی فعال و ارزشمند در علوم شیلاتی محسوب می‌شود به گونه‌ای که جنبه‌های مختلف دستکاری کروموزومی اعم از بهینه‌سازی شوک‌های مورد استفاده برای گونه‌های دریایی و آب شیرین (Fraser et al., 2012)، مطالعه و دستیابی به شرایط مختلف تولید و پرورش مناسب برای گونه‌های تریپلوئیدی و مقایسه میزان رشد، تغذیه، واکنش پذیری و بازماندگی با نوع دیپلوئید (Sheehan et al., 2011). در تحقیقات جداگانه‌ای که به منظور بررسی شاخصهای رشد ماهیان تمام ماده تریپلوئید در سال اول و دوم پرورش انجام گرفته است، این نتیجه حاصل شده که در سال اول پرورش رشد اولیه ماهیان دیپلوئید نسبت به ماهیان تریپلوئید به طور معنی‌داری بالا می‌باشد اما در سال دوم پرورش پارامترهای رشد ماهیان تمام ماده تریپلوئید در مقایسه با سایر تیمارها برتری معنی‌داری دارد و با نزدیک شدن به انتهای دوره این برتری رشد بیشتر می‌شود. در نتیجه گیری کلی از این تحقیقات، از آنجا که افزایش رشد ماهیان تمام ماده تریپلوئید قزل‌آلای رنگین‌کمان در سال دوم پرورش با توجه به عدم وقوع بلوغ جنسی محسوس می‌باشد، بنابراین برای پرورش ماهیان تمام ماده تریپلوئید با توجه به اقتصادی بودن هزینه‌های تولید و تغذیه این ماهیان قابل توصیه می‌باشد (جوهری و کلباسی، ۱۳۸۳؛ سوری نژاد و کلباسی، ۱۳۹۰). طول مدت تکامل جنینی و تغییر پذیری این ویژگی برای چند گروه قزل‌آلای رنگین‌کمان (گروه‌های شاهد دیپلوئید، ماده زاد دیپلوئید، تریپلوئیدهای حاصل از شوک حرارتی یا حاصل از تلاقی مستقیم بین دیپلوئید ماده و تتراپلوئید نر و تتراپلوئیدها) مورد آزمایش واقع شد (Benfey, 1999). گروه‌های پلی‌پلوئیدی مدت زمان تکامل جنینی کوتاهتر از دیگر گروه‌ها دارا بودند. گروه‌های تتراپلوئید قبل از گروه‌های تریپلوئید و دیپلوئید تفریح می‌شوند. مطالعات روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص نموده‌اند که تریپلوئیدهای حاصل از تلاقی تتراپلوئید و دیپلوئید مزایای برتری نسبت به تریپلوئیدهای میوزی و گروه شاهد دارند (Myers et al., 1995). به علاوه، نرهای تتراپلوئید قزل‌آلای رنگین‌کمان گامتهایی تماماً دیپلوئید تولید می‌کنند در حالیکه ماده‌های تتراپلوئید اصولاً اووسیت‌های دیپلوئید با تعدادی اووسیت‌های تریپلوئید و تتراپلوئید تولید می‌نمایند (Chourrout and Nakayama, 1987). القای تتراپلوئیدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان علاوه بر نوع شوک مورد استفاده برای سرکوب اولین تقسیم میتوزی تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط محیطی محل انجام و همچنین ویژگی‌های مولدین مورد استفاده نظیر سن، نژاد و وضعیت ژنتیکی قرار دارد از این رو بازده و میزان تولید آن در مناطق مختلف می‌تواند تفاوت‌های زیادی با هم داشته باشد (Thorgaard et al., 1981).

۲- مواد و روشها

۲-۱- طراحی و آماده سازی مکان تحقیق

این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی شهید مطهری واقع در ۲۵ کیلومتری جنوب شهر یاسوج اجرا شد، جهت اجرای این آزمایش تعداد ۲۱۰۰ عدد تخم چشم زده تمام ماده ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان محصول شرکت اکوالند (Aqualand) فرانسه از عامل توزیع این محصول تهیه شد و سپس از مولدین آماده تخم ریزی موجود در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج تخمک و اسپرم تهیه شد، عمل لقاح صورت گرفت و بعد از چشم زدگی تعداد ۲۱۰۰ عدد تخم از آنها تهیه شد. آزمایش در قالب دو تیمار (تیمار ۱ - تخم چشم زده فرانسوی / تیمار ۲ - تخم چشم زده حاصل از ماهیان بومی) هر تیمار با ۳ تکرار (هر تکرار ۷۰۰ عدد تخم) به صورت طرح کاملاً تصادفی در سینی های مخصوص تخم ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان پرورش یافتند.

۲-۲- بررسی شاخص های پرورش

طی دوره پرورش تخم چشم زده و نیز پرورش لارو و بچه ماهیان رشد و ضریب تبدیل غذایی دو گروه ماهیان بطور دوره ای ثبت و در خاتمه میانگین پارامترهای ذکر شده در دو گروه ماهیان با هم مقایسه شدند. تلفات تخم و لارو ماهیان طی دوره انکوباسیون در دو گروه ثبت گردید

FCR=f/(wf-wi) ضریب تبدیل غذایی

که در آن f میزان غذای مصرفی، wf وزن نهایی و wi وزن اولیه می باشد.

۲-۳- تهیه گسترش کروموزومی و کاریوتایپ ماهی قزل‌آلا

جهت تهیه گسترش کروموزومی تعداد ۳۰ نمونه ماهی از هر تیمار ۱۵ قطعه از هر تکرار ۵ قطعه با ساچوک صید و به آکواریوم مجهز به سیستم هوادهی، بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد یاسوج منتقل شدند. تزریق کلشی سین طبق روش (Baruffaldi et al., 1992) صورت پذیرفت. پس از انجام بیهوشی بوسیله پودر گل میخک، تزریق کلشی سین به عنوان متوقف کننده تقسیم میتوز به مدت ۳ الی ۴ ساعت به میزان ۰/۵ میلی لیتر به ازاء ۱۰۰ گرم وزن بدن ماهی از محلول ۰/۰۱۲۵ درصد محلول کلشی سین به صورت تزریق عضلانی (Intermuscular) استفاده گردید.

ماهی های تزریق شده در دمای ۱۲ الی ۱۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ الی ۳/۵ ساعت نگهداری شدند. سپس بافت آبشش و قسمت جلویی کلیه ماهیان خارج گردیدند. سپس بافت ها با قیچی و پنس استریل له گردیده و در محلول هیپوتونیک کلرید پتاسیم (۰/۰۷۵ M) به مدت ۴۰ دقیقه قرار گرفتند. بافت های هیپوتونیزه شده با ۱۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس مایع رویی نمونه ها دور ریخته شده و محلول

کارنوی سرد (۳ قسمت متانول: ۱ قسمت اسید استیک گلاسیال) اضافه گردید. محلول سوسپانسیون بدست آمده مجدداً با ۱۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه، اضافه نمودن محلول کارنوی سرد و دور ریختن مایع رویی نمونه‌ها دو بار دیگر تکرار گردید. از محلول سوسپانسیون چند قطره بر روی لام‌های گرم و سرد که پس از شستشو با الکل توسط دستگاه Hot plate و فریزر به ترتیب گرم و سرد شده بودند، از ارتفاع ۵۰ سانتی متری پرتاب گردید. لام‌های شیشه‌ای با کمک هوا خشک شدند و با محلول گیمسای ۷ درصد ($pH = 6/8$) رنگ آمیزی شدند. لام‌ها با آب دو بار تقطیر شستشو داده شد و در دمای اتاق به مدت ۴ الی ۵ ساعت خشک گردیدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰۰ نسبت به بررسی وضعیت کروموزومی و سطح پلوئیدی هسته سلول بافت نمونه‌ها در تیمارهای مختلف اقدام گردید.

۴-۲- آنالیز آماری

داده‌های بیومتری در دوره‌های مختلف رشد بر اساس میانگین داده‌ها (انحراف معیار \pm میانگین) با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 مرتب و نمودارهای آن رسم گردید. هم‌چنین جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و مشخص کردن سطوح معنی‌داری از نرم‌افزارهای آمای Spss 23 و آنالیز واریانس یکطرفه (One - Way ANOVA) با درصد اطمینان ۹۵ استفاده شد.

۳- نتایج

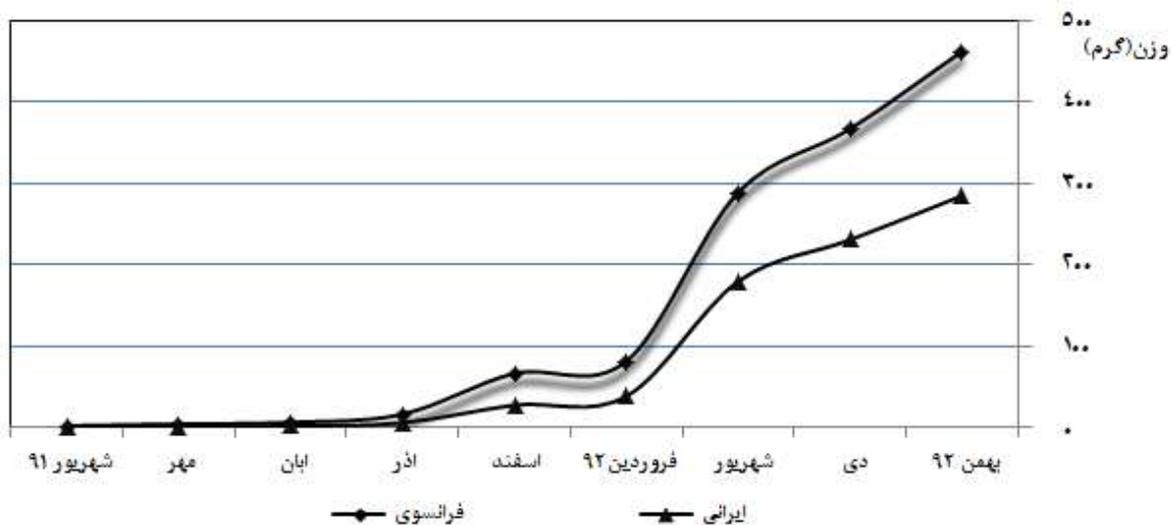
۳-۱- نتایج حاصل از افزایش وزن بین دو تیمار در دوره ی پرورشی

میانگین وزن بچه ماهیان ایرانی و فرانسوی طی دوره های مختلف رشد در جدول ۱ آمده است. بر اساس جدول ذکر شده اختلاف میانگین افزایش وزن دو گروه ماهیان طی دوره پرورش معنی دار بوده است ($P < 0.05$).

جدول (۱): مقایسه رشد (افزایش وزن گروه ماهیان ایرانی و فرانسوی بر حسب گرم)

نوع ماهی	تاریخ								
	شهریور ۹۱	مهر ۹۱	ابان ۹۱	اذر ۹۱	اسفند ۹۱	فروردین ۹۲	شهریور ۹۲	دی ۹۲	بهمن ۹۲
فرانسوی	۱/۷±۰/۱۱ ^a	۴±۰/۲۸ ^a	۵/۹±۰/۱۳ ^a	۱۶/۱±۰/۶ ^a	۶۶±۶ ^a	۸۱±۸ ^a	۲۸۸±۴۰ ^a	۳۶۶±۵۱ ^a	۴۶۱±۴۲ ^a
ایرانی	۰/۹±۰/۱ ^b	۲±۰/۲۳ ^b	۲/۵±۰/۱ ^b	۶/۵±۰/۶ ^b	۲۸±۳ ^b	۳۹±۴ ^b	۱۸۰±۸ ^b	۲۳۱±۲۵ ^b	۲۸۵±۳۳ ^b

*حروف a و b بیانگر معنی داری در هر ستون است



شکل (۱): روند رشد (افزایش وزن) گروه ماهیان فرانسوی و ایرانی

بر اساس نتایج، میانگین ضریب تبدیل غذایی در گروه ماهیان ایرانی (۰.۹±۰.۱) کمتر و دارای تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) با گروه ماهیان فرانسوی (۱.۱۵±۰.۱) بود.

بر اساس نتایج تلفات لارو و بچه ماهیان دارای تغذیه فعال حاصل از تخم های چشم زده وارداتی قریب به ۲۰ درصد بیشتر از تلفات بچه ماهیان حاصل از تخم های ماهیان بومی بود (جدول ۲).

جدول (۲): تلفات در تیمارهای مختلف ماهیان ایرانی و فرانسوی (عدد)

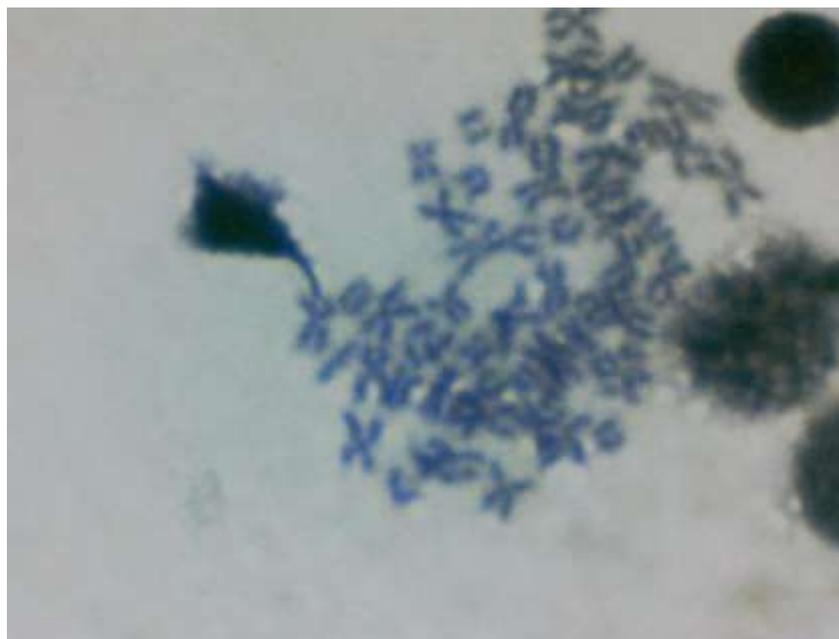
نوع ماهی	تاریخ										جمع
	۹۱/۶/۱	۹۱/۶/۴	۹۱/۶/۱۱	۹۱/۶/۲۲	۹۱/۶/۲۸	۹۱/۶/۱۹	۹۱/۶/۲۴	۹۱/۶/۲۷	۹۱/۶/۲۸	۹۱/۶/۲	
فرانسوی	۲۳	۱۴	۱۴	۱	۱۲	۱	۸	۲	۳	۷	۸۵
ایرانی	۱۷	۱۵	۱۲	۱	۴	۱	۱۲	۲	۴	۳	۷۱

۲-۳- نتایج مشاهدات گسترش کروموزومی

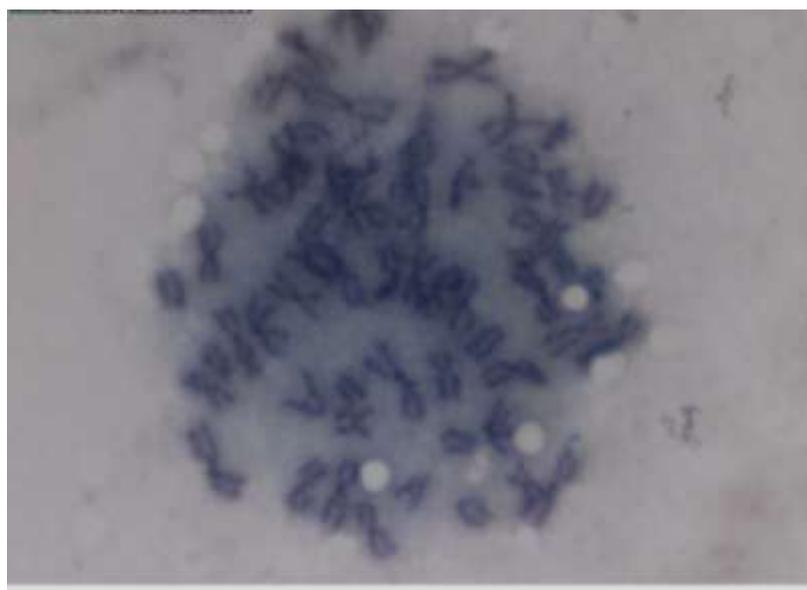
نتایج مشاهدات کروموزومی بر اساس دیپلوئید بودن (شرایط معمولی در قزل آلاهی رنگین کمان) و یا مشاهده متفاوت با شرایط معمولی (تریپلوئید و تتراپلوئید) آمده است. بعد از بررسی‌های آزمایشگاهی و استفاده از تکنیک سیتوژنتیک، مشخص گردید سلولهای بافت کلیه و آبشش ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان وارداتی فرانسوی و ایرانی به صورت دیپلوئید و به ترتیب با میانگین 58 ± 3 و 58 ± 4 (2n) کروموزومی بودند. گسترش کروموزومی تهیه شده از بافتهای آبشش و کلیه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان به رنگ آمیزی شده با محلول گیمسا در شکل‌های (۲، ۳، ۴) آورده شده است.



شکل (۲): کروموزوم‌ها (A) و سلول‌های متورم (B) با رنگ آمیزی گیمسا



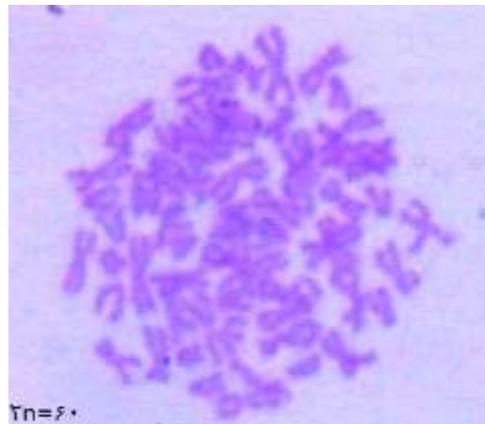
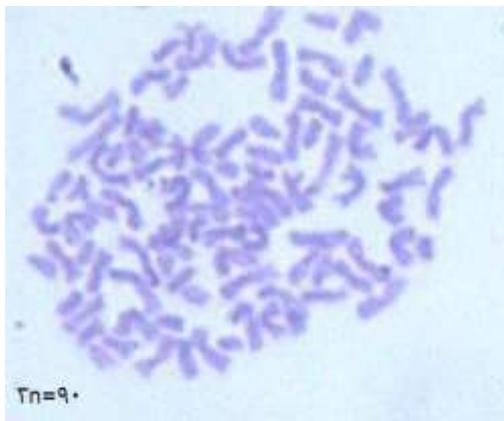
شکل (۳): گسترش کروموزومی از قزل آلابی رنگین کمان بومی با رنگ آمیزی گیمسا



شکل (۴): گسترش کروموزومی از قزل آلابی رنگین کمان فرانسوی با رنگ آمیزی گیمسا

۴- بحث

بررسی‌های کروموزومی حاکی از عدم تفاوت در عدد کروموزومی دو گروه ماهی بوده و ماهیان $2n$ کروموزومی بودند. با این وجود تفاوت‌های کم در تعداد کروموزومها در آزادماهیان (Salmonidae) ناشی از جابجایی بازوهای بلند کروموزوم‌ها و ترکیب با سایر کروموزومها می‌باشد (Ohno *et al.*, 1965; Davisson, Wright and Athertoni, 1973). با این وجود انحراف از عدد کروموزومی در نمونه‌های مورد مطالعه می‌تواند ناشی از بین رفتن برخی از کروموزوم‌ها طی مراحل آزمایشگاهی و تهیه گسترش کروموزومی بوده و یا خطای شمارش کروموزوم‌ها می‌تواند منشاء چنین تفاوت‌هایی در نمونه‌های مختلف باشد. زیرا میانگین عدد کروموزومی در ماهیان دیپلوئید قزل‌الای رنگین کمان ۶۰ و ماهیان تریپلوئید ۹۰ بوده و تعداد بازوهای کروموزومی در این دو گروه بترتیب ۱۰۴ و ۱۵۶ عدد گزارش شده‌اند (Tilorgaagr, 1976). بر اساس این مطالعات، تفاوت عدد کروموزومی ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید قزل‌الای رنگین کمان بطور متوسط ۳۰ عدد بوده و چنین تفاوت‌هایی در گسترش‌های کروموزومی ماهیان (شکل ۵ و ۶) بطور کامل قابل تشخیص بوده (جوهری، و کلباسی، ۱۳۸۷ و Woznicki & Kuzminsk, 2002) و گسترش کروموزومی نمونه‌های مورد مطالعه بیانگر دیپلوئید بودن گروه ماهیان فرانسوی و ایرانی موردنظر در این بررسی بوده است و عدم دستکاری کروموزومی ماهیان حاصله از تخم‌های وارداتی را تایید می‌نماید (Rastiannasab *et al.*, 2015).



شکل (۵): تصویر نمونه از گسترش کروموزومی ماهی دیپلوئید و تریپلوئید در قزل‌الای رنگین کمان ($1000\times$)

(اقتباس از جوهری، س.ع. و کلباسی، م.ر. ۱۳۸۷)



شکل (۶): تصویر نمونه از گسترش کروموزمی ماهی دیپلوئید (A) و تریپلوئید (B) در قزل‌الای جویباری (*Salvelinus fontinalis*). (اقتباس از Woznicki & Kuzminsk, 2002)

تولید تخم با کیفیت از نظر بازماندگی و رشد بچه ماهیان حاصله از آن یکی از پارامترهای اساسی در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان سردابی بویژه ماهی قزل‌الای محسوب می‌گردد. تخم‌های چشم‌زده وارداتی تمام ماده بوده در حالیکه تخم ماهیان بومی از نوع نر و ماده مختلط بوده‌اند. علاوه بر تک جنس بودن (تمام ماده) ماهیان وارداتی و امتیاز سرعت رشد بیشتر در جنس ماده به عنوان یک فاکتور شدیداً تأثیرگذار در تفاوت میزان رشد ماهیان وارداتی و بومی در این مطالعه، برخی از تفاوت‌ها در بیونرماتیوهای مربوط به تخم‌های وارداتی (فرانسوی) و ایرانی و ماهیان حاصله از آنها را می‌توان به اختلاف در شرایط تولید نسبت داد. زیرا فاکتورهای مختلفی مانند ژنتیک، تغذیه، استرس، وضعیت سلامتی، دمای آب و دستکاری پس از رسیدگی از عوامل مهم و تأثیرگذار بر کیفیت تخم مولدین ماهی قزل‌آلا هستند (Bromage, 1995). زمان تخم‌ریزی، ویژگی‌های فیزیکی و ترکیبات بیوشیمیایی تخم در کیفیت تخم و بچه ماهی تولید شده تعیین‌کننده است (Craik et al., 2003). Catherine (۲۰۰۴) نشان داد که نسبت و نوع مواد غذایی خیلی مهم برای عملکرد مولدین هستند. تعداد تخم، در صد یا میزان بقای جنین، تخم‌چشم‌زده، میزان تفریخ، بقای لاروها در مولدین با تغذیه مطلوب کیفیت بالایی داشته و کاهش تغذیه مولدین منجر به کاهش کیفیت این پارامترها می‌گردد. کیفیت ضعیف تخم سبب کاهش زنده‌مانی لاروهای تفریخ‌شده و بکارگیری فنون مربوطه جهت تقویت آن منجر به بهتر شدن زنده‌مانی لاروها میگردد (Kjorsvik, et al., 1990). محققان زیادی بیان کردند که ترکیب شیمیایی تخم‌های ماهی بایستی نیازهای غذایی جنین به منظور رشد و نمو را بر طرف کند (Sanders et al., 1984; Craik, 1985; Harel, et al., 1992). جیره غذایی روزانه و فصلی مولدین بطور مستقیم بر تعداد و اندازه تخم آنها موثر می‌باشد. نتایج مقایسه درصد تفریخ، بازماندگی و رشد لاروهای ماهی قزل‌آلای نشان میدهد، که با تغییر مقادیر جیره غذایی مولدین

هم آوری آنها کاهش می‌یابد و بهترین نتایج زمانی حاصل شده است که در مراحل اولیه رشد تخمکها به مولدین غذای با کیفیت داده شود سپس در زمان نزدیک شدن فصل تخم‌ریزی مقدار غذا دهی کاهش یابد تا تخم مرغوبی حاصل گردد. اما شواهدی نیز دال بر تاثیر این تغییرات بر کیفیت تخم و لارو نیز وجود دارد، و بیشترین توجه به این نکته می‌باشد، که اجزای جیره غذایی مولدین تاثیر زیادی بر تولید مثل دارند این اجزاء مهم غذا عبارتند از: اسیدهای چرب، کاروتنوئیدها، ویتامینها، اسیدهای چرب غیراشباع (فراهانی، ۱۳۸۲). بر اساس نتایج، ماهیان وارداتی دارای پتانسیل رشد سریعتر و وزن گیری در مدت زمان کمتر بوده در حالیکه قابلیت بهره برداری از غذا یا ضریب تبدیل غذایی در ماهیان بومی مناسب تر می‌باشد (Rastiannasab et al., 2015). بنابراین سرعت رشد بیشتر بدون قابلیت بالا جهت بهره برداری از غذا یا کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌تواند با افزایش اشتها و تمایل به مصرف غذا محقق گردد. فرایند بهگزینی به منظور دسترسی به سرعت رشد بیشتر می‌تواند با افزایش بهره وری در تغذیه و مصرف غذا شود. نتایج ارائه شده توسط Thodesen و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که مصرف غذای بیشتر در ماهی آزاد حاصل از مولدین وحشی، رشد بیشتر و بهره وری بالاتر از غذا را طی ۵ نسل به همراه داشت. با بازده غذایی بالاتر، متابولیسم انرژی بیشتر بسوی ذخیره آن جهت رشد نسبت به مصرف آن جهت نگهداری و فعالیت می‌باشد (McCarthy, 1983). این فرایند از طریق کاهش اتلاف انرژی ناشی از تولید آمونیاک و حرارت بترتیب به میزان ۳۰ و ۳۹ درصد می‌باشد. نتایج نشان داد که ارتباط ژنتیکی بین طول دوره رشد و افزایش بازده غذایی در ماهی آزاد خطی نیست و با افزایش وزن، واکنش پاسخ به بازده غذا کاهش می‌یابد. تنوع ژنتیکی در آزاد ماهیان باعث اختلاف در قابلیت آنها در جذب پروتئین، اسیدهای آمینه و مواد معدنی می‌شود. همچنین جذب مواد معدنی بطور ژنتیکی به اندازه ماهی وابسته است و این توانایی با بهگزینی برای دستیابی به افزایش سرعت رشد تحت تاثیر قرار می‌گیرد. با فرایند بهگزینی تغییر برخی از این میانگینها از طریق افزایش بازده غذایی (FER) و کاهش ضریب تبدیل غذا (FCR) محقق شده و یا سرعت تغذیه و تبدیل غذا به پروتئین حیوانی افزایش یافته و با کوتاه نمودن دوره پرورش، توجیه اقتصادی می‌یابد (Myers et al., 1999). بنابراین، علاوه بر بهبود مشخصه رشد از طریق کاهش ضریب تبدیل غذا، کوتاه نمودن دوره پرورش از طریق افزایش میزان اشتها ی ماهی می‌تواند به عنوان یک پارامتر مفید در برنامه های بهگزینی مد نظر قرار گیرد. با این وجود میزان بهبود اغلب فنوتیپهای با قابلیت ارتقاء در نسلهای متوالی در ماهی قزل‌الا، به میزان نزدیک به ده درصد در هر نسل بوده و بهبود فنوتیپی قابل ملاحظه طی چندین نسل آشکار شده و حتی در برخی موارد تغییری در یک نسل حادث نمی‌گردد (Gjerde, 2002; Donaldson, 1955 and Dunham, 1987). با این وجود علاوه بر مطلوبیت شرایط زیستی تولید تخم های چشم زده وارداتی ارتقاء مشخصه سرعت رشد ماهیان حاصله از این تخم ها می‌تواند از طریق بهبود اشتها با فرایند بهگزینی بدون تغییر عدد پلویدی محقق شده و کاهش دوره پرورش از مزایای پرورش بچه ماهیان وارداتی محسوب گردد.

۵- نتیجه‌گیری کلی

تخم‌های چشم‌زده وارداتی از نظر کروموزمی دیپلوئید بوده و نشانه‌ای از دستکاری کروموزمی مبنی بر تغییر عدد پلوئیدی در آنها مشاهده نگردیده است. ماهیان حاصل از تخم‌های چشم‌زده وارداتی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان بدلیل اشتهای بالا در دریافت غذا دارای پتانسیل رشد سریع‌تر از ماهیان بومی بوده و از نظر ضریب تبدیل غذایی فاقد برتری نسبت به ماهیان بومی می‌باشند. ارتقاء ویژگی‌های رشد و تغذیه در ماهیان می‌تواند با اجرای برنامه به‌گزینی محقق گردد.

پیشنهادها

- ۱- بررسی امکان مولد سازی از تخم‌های چشم زده وارداتی
- ۲- تغییر جنسیت ماهیان حاصل از تخم‌های چشم زده وارداتی از طریق تیمار هورمونی به منظور تولید مولدین نر
- ۳- به‌گزینی در ذخیره ماهیان قرل‌الای رنگین کمان به منظور ارتقاء شاخص‌های رشد و تغذیه
- ۴- بررسی وضعیت پلوئیدی محصولات حاصل از دستکاری کروموزومی با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری

منابع

- ۱- جوهری، س.ع. و کلباسی، م. ر. (۱۳۸۷). بررسی امکان تولید جمعیت تمام ماده تریپلوئید قزل الای رنگین کمان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال دوازدهم، شماره چهل و چهارم، صفحات ۲۶۹ تا ۲۷۷.
- ۲- جوهری، س.ع. و کلباسی، م. ر. ۱۳۸۵. بررسی برخی تغییرات سلول‌های خونی در ماهیان تریپلوئید قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۹ (۴): ۲۷-۳۴.
- ۳- درافشان، س. ۱۳۸۵. دستکاری‌های کروموزومی ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* و قزل‌آلای-رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* و مقایسه رشد در نسل F_1 . رساله دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۴۰ صفحه.
- ۴- ستاری، م.، شاهسونی، د. و شفیع، ش. ۱۳۸۶. ماهی‌شناسی (۲). انتشارات دانشگاه گیلان، گیلان، ۵۱۸ صفحه.
- ۵- سوری نژاد، ا. و کلباسی، م. ر. ۱۳۹۰. بررسی شاخص‌های شد ماهیان تمام ماده و مخلوط نر و ماده دیپلوئید و تریپلوئید قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* در سال دوم پرورش. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۴ (۴): ۴۷-۵۶.
- ۶- فراهانی، ر.، ۱۳۸۲. تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات نقش مهر ۷۰ صفحه.
- ۷- کلباسی، م. ر. ۱۳۷۲. القاء تریپلوپیدی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به وسیله شوک‌های گرمایی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۳۰ صفحه.
- ۸- وثوقی، غ. و مستجیر، ب. ۱۳۸۵. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۳۱۸ صفحه.
- 9- Abdel-Rahman, A., Kenneheb, E., Jilla, D. and Tows, L., 1999. Induction of Triploidy and Tetraploidy in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the World Aquaculture Society, 30:28-34.
- 10- Arai, K., 2001. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. Aquaculture, 197: 205-228.
- 11- Arai, K., Matsubara, K. and Suzuki, R., 1991. Karyotype and erythrocyte size of spontaneous tetraploidy and triploidy in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57: 2167-2172.
- 12- Baruffaldi, A., Lanzare, V. and Cucchi, C., 1992. Utilization of Phytohemagglutinin (PHA) for in vivo karyological studies in teleost fish. *Cytobios*, 70, 49-52.
- 13- Beaumont, A. R. and Hoare, K., 2003. Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. Blackwell Science LTD, Landen, 157 p.
- 14- Benfey, T. J. 2001. Use of sterile triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) for aquaculture in New Brunswick, Canada. ICES Journal of Marine Sciences, 58:525-529.
- 15- Benfey, T. J., 1999. The physiology and behavior of triploid fishes. Reviews in Fisheries Science, 7:39-67.
- 16- Benfey, T. J., Dye, H. M., Solar, I. I. and Donaldson, E. M., 1989. The growth and reproductive endocrinology of adult triploid pacific salmonids. Fish Physiology and Biochemistry, 6:113-120.
- 17- Bonnet, S., Haffray, P., Blanc, J. M., Valee, F., Vauchez, C., Foure, A. and Fauconneau, B., 1999. Genetic variation in growth parameters in diploid and triploid freshwater rainbow trout and seawater brown trout. Aquaculture, 173:359-375.
- 18- Bromage, N., 1995. Broodstock management and seed quality-general consideration. Blackwell, Oxford. pp. 1-25.

- 19-Catherine, A., 2004. The Effects of Nutrition on Reproduction in the Eastern Rainbow fish, *melanotaenia splendida splendid*. For the degree of master of science by research in the school of Marine Biology and Aquaculture James cook university, 119 p.
- 20-Chourrout, D. and Nakayama, I., 1987. Chromosome studies of progenies of tetraploid female rainbow trout. *Theoretical and Applied*, 74: 687– 692.
- 21-Craik, J. C. A., Harvey, S. M., 2003. Egg quality in rainbow trout: The relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture* 40(2), pp.115-134.
- 22- Craik, J. C. A., 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47, pp. 61-88.
- 23-Comai, L., 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*, 6: 836–846.
- 24-Davisson, M. T., Wright, J. E. and Atherton L. M., 1973. Cytogenetic analysis of pseudo-linkage of LDH loci in the teleost genus *Salvelinus*. *Genetics* 73: 645-658.
- 25-Diaz, N. F., Iturra, P., Veloso, A., Estay, F. and Colihueque, N., 1993. Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 114: 33–40.
- 26-Donaldson, L.R. 1955. Development of rainbow trout broodstock by selective breeding. *Trans. Amer. Fish soc.*, 85: 93-101
- 27-Dunham, R. A., 2004. *Aquaculture Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches*. CABI Publishing, Massachusetts, 372 p.
- 28-Dunham, R.A. 1987. American catfish breeding programs. *Proc. World Symp. on selection, hybridization and genetic engineering in aquaculture, Bordeaux 27-30 May, 1986, Berlin*, 11: 407-416.
- 29-FAO, 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)*. FAO, Rome.
- 30-FAO Statistics, 2015. *FAO Fish Stat J software (a tool for fishery statistics analysis)*. Release: 2.11.4. Global datasets release date: March 2015.
- 31-Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M. and Piferrer, F., 2001. Induction of triploidy and gynogenesis in teleost fish with emphasis on marine species. *Genetica*, 111:175-195.
- 32-Flajshans, M., 1997. A model approach to distinguish diploid and triploid fish by means computer-assisted image analysis. *Acta Veterinaria Brno*, 66:101-110.
- 33-Forne, I., Abia, J. and Cerda, J., 2010. Fish proteome analysis: Model organisms and nonsequenced Species. *Proteomics*, 10: 858–872.
- 34- Fraser, T. W. K., Fjellidall, P. G., Hansen, T. and Mayer, I., 2012. Welfare considerations of triploid fish. *Reviews in Fisheries Science*, 20:192–211.
- 35-Gjerde, 2002. Opportunities and challenges in designing sustainable fish breeding. In: *proc. Of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France*, 30:461-468.
- 36-Gorshkov, S., Gorshkova, G., Hadani, A., Gordin, H. and Knibb, W., 2002. Chromosome set manipulations and hybridization experiments in gilthead seabream (*Sparus aurata*). II. Assessment of diploid and triploid hybrids between gilthead seabream and red seabream (*Pagrus major*). *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 106–112.
- 37-Gray, A. K., Evans, M. A., Thorgaard, G. H., 1993. Viability and development of diploid and triploid salmonid hybrids. *Aquaculture*, 112, 125–142.
- 38-Happe, A., Quillet, E., and Chevassus, B., 1988. Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71:107-118.
- 39-Harel, M., Tandler, A., Kissil, G. W. M., 1992. The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead sea bream *S. aurata* females and subsequent effects on egg composition and egg quality. *J. Aquacult. Bamid'geh*, 44(4), 127 p. (Only abstract).
- 40-Hulata, G., 2001. Genetic manipulation in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genetica*, 111:155-173.
- 41-Johnstone, R., Knott, R. M., McDonald, A. G. and Walsingham, M.V., 1989. Triploidy induction in recently fertilized Atlantic salmon ova using anaesthetics. *Aquaculture*, 78: 229–236.
- 42-Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjoerd, I., 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology* 26, pp. 71–113.
- 43-Kim, D. S., Kim, I. B. and Baik, Y. G., 1988. Early growth and gonadal development of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Aquaculture*, 1:41-51.
- 44-Linhart, O., Flajshans, M. and Kvasnicka, P., 1991. Induced triploidy in the common carp (*Cyprinus cirpio* L.): a comparison of two methods. *Aquatic Living Resources*, 4:139-145.
- 45-Mair, G. C., 1993. Chromosome set manipulation in Tilapia techniques, problems and prospects. *Aquaculture*, 111: 227–244.

- 46-Malison, J. A., Pracarione, L. S., Held, J. A., Kayes, T. B. and Amundson, C. H., 1993. The influence of triploidy and heat and hydrostatic pressure shocks on the growth and reproductive development of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture*, 116:121-133.
- 47-Maxime, V., 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish and Fisheries*, 9:67-78.
- 48-McCarthy, J.C., 1983. A review of genetical and physiological effects of selection in meat-type poultry. *Animal Breeding Abstract*, 51: 87-94.
- 49-Moffett, I. J. J. and Crozier, W.W., 1995. An investigation into the reproducibility of triploid brown trout, *Salmo trutta* L production using heat shock. *Aquaculture Research*, 26:67-70.
- 50-Myers, J.M., et al. 1999. Coho salmon broodstock development from-1977 to 1998. Ten generations of systematic selective breeding. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.,Suppl. 1*: 63-70.
- 51-Myers, J. M., Powell, S.F. and McAndrew, B. J., 1995. Induction of tetraploidy in brown trout *salmo trutta* using hydrostatic pressure. *Aquaculture Research*, 26: 229-232.
- 52-Nell, J. A., 2002. Farming triploid oysters. *Aquaculture*, 210: 69-88.
- 53-Ohno, S., Steniuse, C., Faisst, E., and Zenzesi, M. T., 1965. Post-zygotic chromosomal rearrangements in rainbow trout (*Salmo irideus*, Gibbons). *Cytogenetics* 4: 117-129.
- 54-Omoto, N., Maebayashi, M., Adachi, Sh., Arai, K. and Yamauchi, K., 2005. Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female × *Acipenser ruthenus* male). *Aquaculture*, 245:39-47.
- 55-Oshima, K., Morishima, K., Yamaha, E. and Arai, K., 2005. Reproductive capacity of triploid loaches obtained from Hokkaido Island. *Ichthyological Research*, 52: 1-8.
- 56-Palti, Y., Li, J. J. and Thorgaard, G. H., 1997. Improved efficiency of heat and pressure shocks for producing gynogenetic rainbow trout. *The Progressive Fish-Culturist*, 59:1-13.
- 57-Pandian, T. J. and Koteeswaran, R., 1998. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiologia*, 384:167-243.
- 58-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.
- 59-Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J. C., Flajshans, M., Haffray, P. and Colombo, L., 2009. Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*, 293: 125-156.
- 60-Piferrer, F., Cal, R. M., Gomez, C., Bouza, C. and Martinez, P., 2003. Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) II. Effect of cold shock timing and induction of triploidy in a large volume of eggs. *Aquaculture*, 220:821-831.
- 61-Piferrer, F., Benfey, T. J. and Donaldson, E. M., 1994. Gonadal morphology of normal and sex reversed triploid and gynogenetic diploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Journal of Fish Biology*, 45:541-553.
- 62-Purdom, C. E., 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*, 29: 11-24.
- 63-Quillet, E. and Gaignon, J. L., 1990. Thermal induction of gynogenesis and triploidy in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and their potential interest for aquaculture. *Aquaculture*, 89:351-364.
- 64-Quillet, E., Chevassus, B. and Devaux, A., 1988. Timing and duration of hatching in gynogenetic, triploid, tetraploid, and hybrid progenies in rainbow trout. *Genetic selection evolution*, 20(2): 1-11.
- 65-Quillet, E., Chevassus, B., Blanc, J. M., Krieg, F. and Chourrout, D., 1988. Performance of auto and allotriploids in salmonids. I. Survival and growth in fresh water farming. *Aquatic Living Resource*, 1:29-43.
- 66-Quillet, E., Foisil, L., Chevassus, B., Chourrout, D. and Liu, F. G., 1991. Production of all-triploid and all-female brown trout for aquaculture. *Aquatic Living Resources*, 4:27-32.
- 67-Rastiannasab, A., Nazari, S., Kazemi, E. (2015). The investigation of ploidy level in genome of cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Middle East and Central Asia Aquaculture*, December 14-16, 2015, Olympic Hotel, Tehran, Iran.
- 68-Rastiannasab, A., Ghaedi, A.R., Gandomkar, H., Nazari, S., Hosseini, S.A. (2015). Comparison of some biological parameter and chromosomal number of reared fish from native (IRAN) and imported (ORIGINALLY: FRENCH) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eyed eggs. *Middle East and Central Asia Aquaculture*, December 14-16, 2015, Olympic Hotel, Tehran, Iran.
- 69-Refstie, T., Vaasvic, V. and Gjedrem, T., 1977. Induction of polyploidy in salmonids by Cytochalasin B. *Aquaculture*, 10: 65-74.
- 70-Rodrigues, P. M., Silva, T. S., Dias, J. and Jessen, F., 2012. Proteomics in aquaculture: applications and trends. *Journal of proteomics*, 75(14): 4325-4345.

- 71-Sakao, S., Fujimoto, T., Tanaka, M., Yamaha, E. and Arai, K., 2006. Drastic mortality in tetraploid induction results from the elevation of ploidy in masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture*, 252: 147-160.
- 72-Sandnes, K., Ulgenes, Y., Braekkan, O. R., Utne, F., 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 43, pp. 167-177.
- 73-Schafhauser-Smith, D. and Benfey, T. J., 2001. The reproductive physiology of three age classes of adult female diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 25:319-333.
- 74-Sedgwick, S.D., 1995. Trout Farming Handbook. Fifth Ed. Fishing News Books, Alden Press, Oxford. Landen, 380 p
- 75-Sheehan, R. J., Shasteen, S. P., Suresh, A. V., Kapuscinski, A. R. and Seeb, J. E., 2011. Better Growth in All-Female Diploid and Triploid Rainbow Trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128: 491-498.
- 76-Smith, L.T. and Lemoine, H. L., 1979. Colchicine-induced polyploidy in brook trout. *Prog. Fish Culture*, 41: 86-88.
- 77-Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D. and Singer, F., 1981. Production of clones of homozygous diploid zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Nature*, 291:293-296.
- 78-Teskeredzic, E., Teskeredzic, Z., Donaldson, E. M., Mclean, E. and Solar, I. I., 1993. Triploidization of coho salmon following application of heat and electric shocks. *Aquaculture*, 116: 287-294.
- 79-Thodesen, J., et al., 1999. Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected. Atlantic salmon. *Aquaculture*, 180: 237-246.
- 80-Thorgaard, G. H., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish. in W.S. Hoar, D.J. Randall, and E.M. Donaldson editors, *Fish Physiology*, Vol. IX, Part B. Academic Press, New York, pp. 405-434.
- 81-Thorgaard, G. H., Jazwin, M. E. and Steir, A. R., 1981. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 110: 546-550.
- 82-Thorpe, J. E., 2004. Life history responses of fishes to culture. *Journal of Fish Biology*, 65: 263-285.
- 83-Tiwary, K. B., Kirubakaran, R. and Ray, K. A., 2004. The biology of triploid fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14: 391-402.
- 84-Turan, F. and Guragac, R., 2014. Induction of triploidy with caffeine treatment in the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(4):1014-1020.
- 85-Thorgaard, G. H., 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57: 57-64.
- 86-Thorgaard, G. H., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish. in W.S. Hoar, D.J. Randall, and E.M. Donaldson editors, *Fish Physiology*, Vol. IX, Part B. Academic Press, New York, pp. 405-434.
- 87-Tilorgaagr, L.H., 1976. Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cytogenet. Cell Genet* 17: 174-184.
- 88-Ueda, T., Sato, R. and Kobayashi, J., 1988. Triploid rainbow trout induced by high pH multiplied by high calcium. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 2045.
- 89-Varadaraj, K. and Pandian, T. J., 1988. Induction of triploids in *Oreochromis mossambicus* by thermal, hydrostatic pressure and chemical shocks. *Proc. Aquaculture International Conferences*. Vancouver, Canada. pp. 531-535.
- 90-Vargas, C. C., Hagen, Q., Solberg, C., Jobling, M. and Peruzzi, S., 2014. Growth and gut morphology of diploid and triploid juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture Research*, 58:66-74.
- 91-Woznicki, p. & Kuzminski, H., (2002). Chromosome number and erythrocyte nuclei length in triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Caryologia*, 55:4, 295-298

Abstract

Rainbow trout is the main cultural species of coldwater fishes in Iran. Often, aquaculturists intend to breeding in order to production of lines with higher growth rate potential and disease resistant. Nevertheless in the country, no trout breeding programs, has been performed yet and most of the farms focused on the cultivation of the first (unbred) race. While European countries progressed in trout breeding techniques and production lines with higher growth through genetic manipulation (chromosomal number and type changes of fish) and/or selection and their fish products derived from this technology, including eyed eggs and so on have sold to other regions of the world (eg: Iran). In this study, some biological parameters including survival, growth, feed conversion ratio (FCR) and chromosomal number of two juvenile groups from imported (group 1) and native (group 2) eyed fish eggs were compared. For chromosomal investigation, blood smear test and flow cytometry were performed.

Results showed a significant difference ($P \leq 5\%$) in growth rate of native fishes and French group. Native fish feed conversion ratio (0.9) was significantly difference ($P \leq 5\%$) from that of French fishes (1.15). Chromosomal analysis showed no difference in chromosome number in treatments and two fish groups were $2n$ chromosome. Based on the results, the fishes of group 1 had faster grow potential and gain weight in less time than that of group 2 and this has been achieved to go through the process of selection and feminization without any change in number of ploidy. Whereas the ability of native fishes in food efficiency (lower FCR) was better. However, the reduction of rearing period is the benefit and preference of cultivation of imported or originally foreign

Keywords: *Imported eyed egg, native fish, ploidy level, growth, rainbow trout*

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute –Shahid Motahary Cold water Fishes
Genetic and breeding Research Center- Yasoj

Project Title : Investigation of chromosome and ploidy levels of Rainbow trout produced from imported eyed eggs.

Approved Number: 2-12-12-92110

Author: Abolhassan Rastiannasab

Project Researcher : Abolhassan Rastiannasab

Collaborator(s) : M. Sharifian; H. Gandomkar; S. Nazari; S.H. Moradian; J. Mahdavi; E. Falahat; A.H. Hossaeini; E. Kazemi; A. Matinfar; H.A. Abdolhay; E. Gorjipor

Advisor(s): -

Supervisor: -

Location of execution : Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province

Date of Beginning : 2014

Period of execution : 9 Months

Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute

Date of publishing : 2017

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

**MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute - Shahid Motahary Cold water Fishes
Genetic and breeding Research Center- Yasoj**

Project Title :

Investigation of chromosome and ploidy levels of Rainbow trout produced from imported eyed eggs.

Project Researcher :

Abolhassan Rastiannasab

**Register NO.
52455**