

بهینه‌سازی زمان شوک گرمایی پس از لقاح برای القا تریپلوئیدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

*سمانه یعقوبی^۱، مهدی یوسفیان^۲ و مسعود هدایتی‌فرد^۲

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران، ^۲دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، گروه شیلات، قائم‌شهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱/۲۴

چکیده

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) ماهی تجاری محسوب می‌شود که محصولات فراوانی برای مصرف انسان دارد. گسترش فعالیت‌های جنسی ماهی منجر به کاهش رشد غیرجنسی می‌گردد. بنابراین تولید ماهیان عقیم برای صنعت آبزی‌پروری مفید است. شوک گرمایی یک راه بسیار تأثیرگذار برای ایجاد تریپلوئیدی در ماهی است. این پژوهش برای بهینه‌سازی زمان در روش شوک گرمایی صورت گرفت. شوک گرمایی در زمان‌های متفاوت پس از لقاح (دامنه ۲۸-۱۰ دقیقه) به‌کار برده شد. در این پژوهش سایر پارامترها به‌صورت زیر تنظیم شد: دمای شوک = ۲۶ درجه سانتی‌گراد، طول مدت شوک = ۱۰ دقیقه. موفقیت القا تریپلوئیدی به‌وسیله سنجش گلبول قرمز تعیین شد. نتایج به‌دست آمده از آنالیز آماری نشان می‌دهد که نرخ بقای گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد پایین‌تر بود ($P < 0.05$)، همچنین حجم هسته در تریپلوئید ۲/۱۷ برابر نسبت به دیپلوئید افزایش نشان می‌دهد. بالاترین سطح القا تریپلوئیدی به‌میزان ۸۰ درصد رسید و در زمان ۲۸ دقیقه پس از لقاح به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، القا تریپلوئیدی، شوک گرمایی

مقدمه

یکی از مشکلات موجود در صنعت پرورش آبزیان فرا رسیدن بلوغ جنسی قبل از رسیدن ماهیان به وزن بازاری است. پدیده بلوغ جنسی در بسیاری از ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث کاهش رشد بدن می‌شود (Kim و همکاران، ۱۹۸۶). زیرا انرژی که باید صرف تولید گوشت شود، صرف توسعه اندام‌های تولیدمثلی و بروز صفات ثانویه جنسی و رفتارهای تولیدمثلی می‌شود (Sheehan و همکاران، ۱۹۹۳). سترون‌سازی می‌تواند بر اثرات مضر رسیدگی جنسی بر روی رشد نرمال ماهی غلبه کند (Hunter و Donaldson، ۱۹۸۳). بنابراین

دانشمندان سعی نموده‌اند به روش‌های مختلف امکان دسترسی به ماهیان عقیم را جهت پرورش‌دهندگان فراهم کنند (امینی، ۱۳۷۰). عقیم‌شدگی در ماهی می‌تواند به‌وسیله به‌کارگیری هورمون‌های سنتتیک (Hunter و Donaldson، ۱۹۸۳) یا القا تریپلوئیدی ایجاد شود (Hussain و همکاران، ۱۹۹۱؛ Hussain، ۱۹۹۶؛ Krasznai، ۱۹۸۴a). تریپلوئیدی تحت تأثیر دو مکانیسم تولید می‌شود، اولی قرار دادن تخم‌های لقاح‌یافته در معرض شوک حرارت و یا شوک فشار است که به واسطه آن از خروج دومین گویچه قطبی از تخم، در طول تقسیم میوز II جلوگیری می‌شود، به این طریق آمیختن یک سری از کروموزوم‌های گویچه قطبی در سلول، تخم تریپلوئید را تشکیل می‌دهد.

*مستول مکاتبه: sa_yaqoobi@yahoo.com

مکانیسم دوم می‌تواند تتراپلوئید تولید کند، سپس از آن به‌عنوان مجموعه ذخایر ژنتیکی برای تلاقی با دیپلوئید نرمال برای تولید فرزندان تریپلوئید استفاده می‌شود (Gheyas و همکاران، ۲۰۰۱). از مزایای ماهیان تریپلوئید این است که نسبت به ماهیان دیپلوئید رشد بیش‌تری خواهند داشت، درصد بقا و زنده ماندن آن‌ها پس از رسیدن به بلوغ از ماهیان دیپلوئید بیش‌تر است، به واسطه نبود ترشح هورمون‌های جنسی، کیفیت گوشت ماهیان تریپلوئید به مراتب لذیذتر از ماهیان دیپلوئید خواهد بود و ضریب تبدیل غذایی پس از سنین بلوغ در هنگام پرورش ماهیان تریپلوئید نسبت به ماهیان دیپلوئید کاهش می‌یابد (Sutterlin و همکاران، ۱۹۸۷). در القا تریپلوئیدی بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان نتایج متفاوتی در خصوص نرخ تریپلوئیدی و درصد بازماندگی آن‌ها به‌دست آمده است. از آنجایی‌که مکانیسم عمومی شوک‌های مورد استفاده در القای تریپلوئید بر مبنای احتباس دومین گویچه قطبی در تقسیم دوم میوز تخم‌های لقاح‌یافته می‌باشد، باید سعی کرد که زمان پس از لقاح به‌نحوی انتخاب شود که تا حد امکان مقارن با تقسیم دوم میوز باشد (باقری، ۱۳۸۰). انجام شوک دمایی در زمان مناسب تقسیم میوز در افزایش بازده القای تریپلوئیدی مؤثر است. بنابراین یافتن بهترین زمان برای اعمال شوک پس از لقاح جنبه اهمیت این پژوهش را روشن می‌سازد.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرایی کار از اواخر پاییز، یعنی شروع فصل تکثیر، که دمای آب ۱۳-۱۲ درجه سانتی‌گراد بود، آغاز شد. مولدین از دو مزرعه قزل‌آلای هراز (A) و شرکت تعاونی چندمنظوره نیاک (B) واقع در جاده هراز که به‌ترتیب در ۸۵ و ۹۵ کیلومتری تهران قرار دارند به‌دست آمد. نسبت لقاح در سایت (A) ۱۵ نر به ۷ ماده و در سایت (B) ۱۱ نر به ۵ ماده بود. متوسط

دمای آب در سایت A، ۱۲ درجه سانتی‌گراد و در سایت B، ۱۱ درجه سانتی‌گراد بود. تخم‌ها و اسپرم‌های اخذ شده مخلوط شدند و سپس برای شروع لقاح آب به آن‌ها اضافه شد. زمان پس از لقاح بعد از اضافه کردن آب به مخلوط تخم و اسپرم محاسبه شد. به تعداد تیمارها حمام آبی ساده‌ای به کمک ظروف پلاستیکی شامل آب اشباع از اکسیژن آماده شد. دما به‌وسیله بخاری اکوریومی مدل ماهیران (۳۰۰ W) روی ۲۶ درجه سانتی‌گراد برای همه گروه‌ها تنظیم شد و کنترل دما در طول مدت شوک‌دهی توسط ترمومتر جیوه‌ای و انتقال تخم‌ها به حمام به‌وسیله سبد پلاستیکی انجام شد. در همه گروه‌ها، طول مدت شوک‌دهی ۱۰ دقیقه و مدت زمان پس از لقاح برای تیمارها ۲۸، ۲۵، ۲۲، ۲۰، ۱۷، ۱۵ و ۱۲ دقیقه در نظر گرفته شد. یک گروه از تخم‌ها شوک‌دهی نشدند و به‌عنوان گروه شاهد حفظ شدند. آزمایش‌ها با دو تکرار صورت گرفت. بعد از القا شوک گرمایی تخم‌ها شمارش شده و به آرامی در انکوباتورهای جداگانه با آب کارگاه تخلیه شدند. محاسبه تلفات و درصد بازماندگی طی مراحل تکاملی برای گروه‌های تیمار و شاهد صورت گرفت. همه گروه‌ها تا رسیدن به وزن ۷-۸ گرمی پرورش داده شدند تا به اندازه کافی برای خون‌گیری بزرگ شوند. درصد تریپلوئیدی با استفاده از سنجش گلوبول قرمز انجام شد. از گروه‌های تیمار و همچنین گروه شاهد ۱۵ ماهی انتخاب شدند. از هر ماهی دو گسترش خونی تهیه (عامری‌مهابادی، ۱۳۷۸) و با گیمسای ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت در هر گسترش طول و عرض سلول ۱۵ گلوبول قرمز و هسته‌های آن به‌وسیله میکرومتر چشمی مدرج تعیین شد. با استفاده از رابطه ۱ حجم و مساحت هسته و سلول گلوبول قرمز محاسبه گردید (Krasznai و همکاران، ۱۹۸۴b). نمونه‌هایی را که افزایش حجم هسته‌شان در دامنه ۲/۳-۱/۷ برابر قرار داشت به‌عنوان

نتایج

درصد بازماندگی از لقاح تا شنای عمودی، نرخ تریپلوئیدی و بازده القا تریپلوئیدی برای همه گروه‌ها تعیین شد (جدول ۱).

نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون چنددامنه Duncan مورد مقایسه قرار گرفتند.

اطلاعات مقایسه‌ای مربوط به بررسی ۱۸۰ گسترش خونی و اندازه‌گیری گلبول قرمز در جدول ۲ ارائه شده است. افزایش در تعداد کروموزوم‌های گروه تریپلوئید، همه پارامترهای گلبول قرمز را نسبت به دیپلوئید به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش داد (شکل‌های ۱ و ۲).

در مجموع نتایج بیانگر آن است که مؤثرترین پارامترها در این پژوهش، شوک گرمایی ۲۶ درجه سانتی‌گراد، در زمان ۲۸ دقیقه پس از لقاح و در مدت زمان شوک‌دهی ۱۰ دقیقه می‌باشد که در تیمار ۸ منجر به ایجاد بالاترین بازدهی با رقم ۶۲/۷۳ گردید.

تریپلوئیدی قلمداد شد (آذری‌تاکامی و همکاران، ۱۳۷۵).

$$\text{رابطه ۱)} \quad \frac{a \cdot b \cdot \pi}{4} = \text{مساحت هسته یا سلول گلبول قرمز}$$

a = نصف محور بزرگ بیضی و b = نصف محور کوچک بیضی.

$$\frac{4}{3} \pi (a/2)(b/2)^2 = \text{حجم هسته یا سلول گلبول قرمز}$$

در نهایت درصد تریپلوئیدی و بازده آن در تیمارهای مختلف با استفاده از معادله (۲) و (۳) محاسبه شد (کلباسی، ۱۳۷۲).

معادله ۲:

$$\frac{\text{تعداد ماهیان تریپلوئید}}{\text{تعداد ماهیان دیپلوئید} + \text{تعداد ماهیان تریپلوئید}} \times 100 = \text{میزان تریپلوئیدی (درصد)}$$

معادله ۳:

$$\frac{\text{درصد تریپلوئیدی} \times \text{میزان بازماندگی لاروها تا مرحله شنای عمودی}}{100} = \text{بازده تریپلوئیدی (درصد)}$$

جدول ۱- تأثیر زمان آغاز شوک‌دهی روی پارامترهای مختلف القا تریپلوئیدی در *O. mykiss*

| کد تیمارها | زمان پس از لقاح (دقیقه) | نرخ بازماندگی از لقاح تا شنای عمودی (درصد) | نرخ تریپلوئیدی (درصد) | بازده تریپلوئیدی (درصد) |
|------------|-------------------------|--|-----------------------|-------------------------|
| ۱ | ۱۰ | ۵۲/۵۵ ± ۰/۰۳ ^a | ۰ | * |
| ۲ | ۱۲ | ۳۹/۳۹ ± ۰/۰۲ ^c | ۶۰ | ۲۳/۶۳ |
| ۳ | ۱۵ | ۵۳/۵۹ ± ۰/۰۷ ^b | ۳۰ | ۱۶/۰۷ |
| ۴ | ۱۷ | ۶۲/۸۲ ± ۰/۰۳ ^b | ۴۰ | ۲۵/۱۲ |
| ۵ | ۲۰ | ۴۲/۲۰ ± ۰/۰۵ ^c | ۰ | * |
| ۶ | ۲۲ | ۵۵/۴۶ ± ۰/۰۵ ^c | ۶۰ | ۳۳/۲۷ |
| ۷ | ۲۵ | ۷۷/۷۳ ± ۰/۰۴ ^a | ۳۰ | ۲۳/۳۱ |
| ۸ | ۲۸ | ۷۸/۴۲ ± ۰/۰۳ ^a | ۸۰ | ۶۲/۷۳ |
| شاهد | - | ۸۰/۶۰ ± ۰/۰۲ ^a | - | - |

^{a,b,c} اختلاف آماری ($P < 0.05$).

برای همه گروه‌های تیمار طول مدت شوک‌دهی ۱۰ دقیقه و درجه حرارت شوک ۲۶ درجه سانتی‌گراد است.

* هیچ تریپلوئیدی در این تیمار مشاهده نشد و بازده تریپلوئیدی قابل محاسبه نبود.

جدول ۲- مقایسه اندازه سلول و هسته گلبول قرمز بین *O. mykiss* دیپلوئید و تریپلوئید

| نسبت دیپلوئید به تریپلوئید | تریپلوئید | دیپلوئید نرمال شاهد | پارامتر بر حسب میکرومتر |
|----------------------------|-----------|---------------------|-------------------------|
| ۱:۱/۲۸ | ۱۳۶/۱۷ | ۱۰۶/۰۱ | مساحت سلول |
| ۱:۱/۳۵ | ۸۶۰/۴۵ | ۶۳۵/۲۴ | حجم سلول |
| ۱:۱/۶۵ | ۲۷/۹۵ | ۱۶/۸۵ | مساحت هسته |
| ۱:۲/۱۷ | ۸۱/۴۷ | ۳۷/۵۳ | حجم هسته |

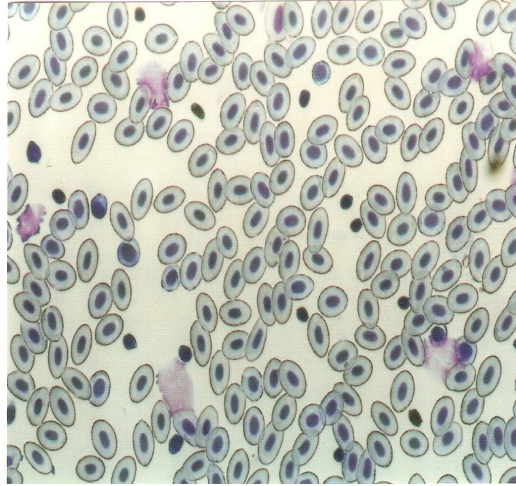
بحث و نتیجه گیری

Donaldson (۱۹۸۷) عدد $6/07$ میکرومتر را ذکر کرده‌اند. طول هسته گلبول قرمز در پژوهش حاضر برابر با $8/25$ میکرومتر بود. تفاوت‌های موجود می‌تواند ناشی از ابزارهای متفاوت اندازه‌گیری یا روش‌های مختلف باشد. ارقام مربوط به افزایش حجم هسته نیز متغیر است، با این حال اکثراً نسبت $1:1/5$ بیان کرده‌اند (Lou, Purdom, ۱۹۷۲؛ Swarup, ۱۹۵۹؛ Anders, ۱۹۹۰). بررسی Purdom (۱۹۸۴؛ Beck و Biggers, ۱۹۸۳). بررسی پژوهش‌های گذشته نسبت‌های دیگری را هم نشان می‌دهد، مثلاً Kim و همکاران (۱۹۸۱) نسبت حجم هسته در ماهیان تریپلوئید به دیپلوئید را $2:1/19$ ، Refstie (۱۹۸۱) $1:2/25$ ، Anders (۱۹۹۰)، $1:1/85$ بیان می‌کنند. در مجموع نتایج به دست آمده این نسبت را عدد $1:2/3$ بیان کرده‌اند. این در حالی است که در پژوهش حاضر نسبت $1:2/17$ به دست آمد، که به نتایج Kim و همکاران نزدیک است. لازم به ذکر است که در میان تیمارهای ۶ و ۸ در اندازه‌گیری هسته و سلول در برخی گلبول‌ها، ابعادی در حدود ۴ برابر گروه دیپلوئید مشاهده شد که می‌تواند ناشی از وقوع پلوئیدی در سطوح بالاتر باشد. کلباسی (۱۳۷۲) شرایط بهینه برای القا تریپلوئیدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان را با آزمایش زمان‌های ۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۱ دقیقه پس از لقاح و درجه حرارت‌های ۲۹-۲۶ درجه سانتی‌گراد در زمان ۴۰ دقیقه پس از لقاح، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد ذکر کرد. اما در این پژوهش، مناسب‌ترین زمان برای القا شوک گرمایی ۲۸ دقیقه پس از لقاح به دست آمد. البته نتایج به دست آمده

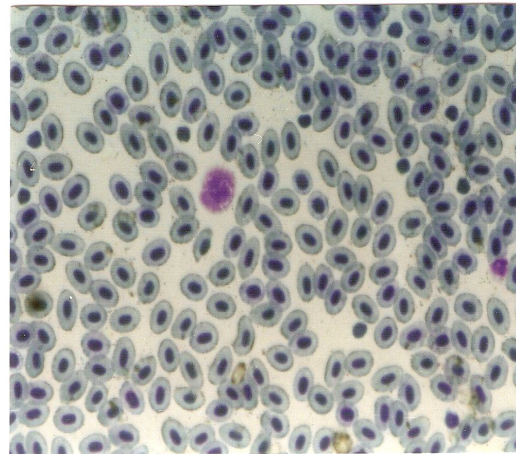
کاهش درصد بازماندگی در مراحل مختلف تکامل جنینی با نتایج دیگر محققان هم‌خوانی دارد (Chrisman و همکاران، ۱۹۸۳؛ Sutterlin و همکاران، ۱۹۸۷؛ Solar و همکاران، ۱۹۸۴؛ Krasznai و همکاران، ۱۹۸۴a؛ Gold، ۱۹۹۰). اما این رقم در پژوهش‌های مختلف متفاوت است. فاکتورهایی مانند کیفیت متفاوت تخم‌ها یا مستعد بودن تخم‌ها از نژادهای مختلف برای آزمایش‌های شوک‌دهی و تنوع در دمای آب تحت شرایط محیطی در طول دوران انکوباسیون می‌تواند در متفاوت بودن مقادیر هیچ و بقا مؤثر باشد (Gheyas و همکاران، ۲۰۰۱). علاوه بر آن تفاوت موجود در نتایج به دست آمده می‌تواند مربوط به شرایط محیطی و تغذیه‌ای باشد که ماهی در آن پرورش یافته است. به عنوان مثال اگر شرایط استرس مزمن بر محیط حاکم باشد مرگ و میر ماهیان تریپلوئید نسبت به دیپلوئید بیش‌تر است (باقری، ۱۳۸۰). مقایسه ابعاد سلول و هسته در گلبول قرمز ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید در پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که هر چند همه پارامترهای گلبول قرمز در ماهیان تریپلوئید افزایش می‌یابد اما در این باره ارقام و اعداد متفاوت است، که گاهی اوقات با هم مطابقت ندارد. مثلاً در مورد طول هسته گلبول قرمز در قزل‌آلای رنگین‌کمان Johnston و Lincoln (۱۹۸۶) عدد $6/23$ میکرومتر، Purdom (۱۹۷۳) عدد $7/83$ میکرومتر، Kim و همکاران (۱۹۸۶) عدد $7/24$ میکرومتر، کلباسی (۱۳۷۲) عدد $6/03$ میکرومتر و

در دمای آب تحت شرایط محیطی در طول دوران انکوباسیون می‌تواند در متفاوت بودن مقادیر هیچ و بقا مؤثر باشد (Gheyas و همکاران، ۲۰۰۱).

ممکن است ثباتی نداشته باشد، چرا که فاکتورهایی مانند کیفیت متفاوت تخم‌ها یا مستعد بودن تخم‌ها از نژادهای مختلف برای آزمایش‌های شوک‌دهی و تنوع



شکل ۱- گلبول قرمز تریپلوئید (۳n) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)



شکل ۲- گلبول قرمز دیپلوئید (۲n) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)

منابع

- آذری‌تاکامی، ق.، امینی، ف.، فرهمند، ح.، ۱۳۷۵. بررسی ایجاد تغییر جنسیت و عقیمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به‌وسیله هورمون ۱۷-آلفامتیل تستوسترون. مجله منابع طبیعی دانشگاه تهران. شماره ۴۹.
- امینی، ف.، ۱۳۷۰. مهندسی ژنتیک در ماهیان. کنفرانس ملی تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه تهران، ۱۴-۱۲ آذر.
- باقری، ع.، ۱۳۸۰. تولید ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تتراپلوئید به‌وسیله شوک گرمایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، ۷۲ صفحه.
- عامری‌مه‌بادی، م.، ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۴۴ صفحه.
- کلباسی، م.ر.، ۱۳۷۲. القا تریپلوئیدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به‌وسیله شوک گرمایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۰ صفحه.
- Anders, E., 1990. Experimental polyploidization in rainbow trout international council for the

- exploration of the sea, 5 p.
- Beck, M.L., Biggers, C.J., 1983. Erythrocyte measurements of diploid and triploid *Ctenopharyngodo idella* x hypophthalmichthys nobilis hybrids. *J. Fish Biol.* 22, 497-502.
- Chrisman, C.L., Wolters, W.R., Libey, G.S., 1983. Triploidy in channel catfish. *J. World Mariculture Society* 14, 279-293.
- Donaldson, E.M., Benfey, T.I., 1987. Current status of induced sex manipulation. Proceedings of the third international symposium on reproductive physiology of fish, new foundland, Canada.
- Gheyas, A.A., Mollah, M.F.A., Hussain, M.G., 2001. Triploidy induction in Stinging Catfish (*Heteropneustes fossilis*) using cold shock. *Asian Fisheries Science* 14, 323-332.
- Gold, J.R., 1990. Improved method for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *J. Fish. Biol.* 37, 563-575.
- Hunter, G.A., Donaldson, E.M., 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (Editors). *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B. Academic Press, New York. NY, pp. 223-303.
- Hussain, M.G., Chatterji, A., McAndrew, B.J., Johnstone, R., 1991. Triploidy induction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theoretical and Applied Genetics* 81, 6-12.
- Hussain, M.G., 1996. Advances in chromosome engineering research in fish: Review of method, achievement and applications. *Asian Fisheries Science* 9, 45-60.
- Johnston, R., Lincoln, R.F., 1986. Ploidy estimation using erythrocytes from formalin-Fixed salmonid fry. *Aquaculture* 55, 145-148.
- Johnstone, R., Simpson, T.H., Youngson, A.F., Whitehead, C., 1979. Sex reversal in salmonid Culture. Part2. The progeny of sex reversal rainbow trout. *Aquaculture* 18, 13-19.
- Kim, D.S., et al., 1986. A report of triploid rainbow trout in Korea. *Bulletin of the Korean Fisheries Society* 19 (6), 575-580.
- Krasznai, Z., Marian, T., Kovacs, G., 1984a. production of triploid European Catfish (*Silurus glanis* L.) by cold shock. *Aquaculture Hungarica* 4, 25-32.
- Krasznai, Z., Marian, T., Jeney, Z., Jeney, G., Zsigri, A., 1984b. Effect of triploidy on the blood cell size of hybrid grass carp. *Aquaculture Hungarica (Szaevas)* 4, 17-24.
- Lou, Y.D., Purdom, C.E., 1984. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *R. J. Fish Biol.* 25, 345-351.
- Purdom, C.E., 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with flounder (*Platichthys flesus*) Heredity, 29, 11-24.
- Purdom, C.E., et al., 1973. Chromosome manipulation in fish. In: Schroder, J. h., genetics and mutagenesis of fish. Springer-verlog, pp. 83-89.
- Refstie, T., 1981. Tetraploid rainbow trout produced by cytochalsin B. *Aquaculture*, 25: 51-58.
- Sheehan, R.J., Shasreen, S.P., Suresh, A.V., Kapuscinski A.R., Seeb, J.E., 1993. Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout. *Transaction of the American Fisheries societg*, 129, 491-49.
- Solar, I.I., Donaldson, E.M., 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.
- Sutterlin, A.M., et al., 1987. Early survival rates and subsequent morphological abnormalities in land locked anadromous and hybrid diploid and triploid Atlantic salmom. *Aquaculture* 64, 157-164.
- Swarup, H., 1959. Effect of triploidy on the body size, general organisation and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L). *J. Genectics* 56, 143-155.
- Thorgaard, G.H., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish In: W.S. Hoar, D.J. Randal and E.M. Donaldson (Editors). *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B. Academic Press, New York. NY. pp. 434-450.

Time optimization of heat shock after fertilization for triploid induction in Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*)

***S. Yaghoubi¹, M. Yousefian² and M. Hedayatifad²**

¹M.Sc. Graduated and the Member of Young Researchers Club, Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran, ²Faculty Member of Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran

Abstract

The rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) is a value fish and has been widely production for human consumption. The sexual development of fish lead to reduce the somatic growth. Thus, production of sterile fish can be useful in aquaculture. Heat shock is a very effective way to optimizing the heat shock treatment time. Heat shock were applied at different times after fertilization (range 10-28 min). Other parameters, in this paper were set as follows: temperature of shock= 26 °C, shock duration= 10 min. the success of triploidy induction was determined by erythrocyte masurement. The results of statistical analysis indicates that the survival rates of treated groups, were lower than those of the control group ($P<0.05$). Nuclear volume showed a 2.17 times in triploids than diploid. The highest level of triploid induction reached to 80% and were obtained at initiated 28 min after fertilization.

Keywords: Rainbow trout; Triploid induction; Heat shock

* - Corresponding Authors; Email: sa_yaqoobi@yahoo.com