Original Article

Study of Some Haematological Indices of Diploid and Triploid Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*

Salar Dorafshan, Ph.D.[1, 2], Mohammad Reza Kalbassi, Ph.D.[1]*, Sahel Soltan Karimi, M.Sc.[1], Khosrow Rahimi, M.Sc.[1]

1. Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

** Corresponding Address: P.O.Box: 46414-356, Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences,*
Tarbiat Modares University, Noor, Iran
Email: kalbassi_m@modares.ac.ir

Received: 23/Sep/2008, Accepted: 17/Aug/2009

Abstract

Objective: A study of the effects of triploidy on some haematological indices of rainbow trout.

Materials and Methods: Haematological characteristics such as red blood cell (RBC) dimensions, area and volume, RBC and white blood cell counts (WBC), haematocrit (Hct%), hemoglobin (Hb), mean erythrocytic hemoglobin (MEH), mean erythrocytic volume (MEV), mean erythrocytic hemoglobin concentration (MEHC) and RBC abnormalities were measured in 14 and 15 ten month old rainbow trout, respectively.

Results: Triploidy significantly increased all morphometric indices containing dimensions, nuclear area and volume of RBCs in compare to diploid fish ($p<0.05$). The triploid trout had lower numbers with larger RBC sizes. The decrease in RBCs was compensated by an increase in MEV. Thus, triploidy did not affect Hct% ($p>0.05$). A significant reduction in Hb was observed in triploids (7.4 g/dL) when compared to diploid fish (9.2 g/dL; $p<0.05$). The MEH values were 82.8 and 116.8 µg/cell in diploids and triploids, respectively ($p<0.01$). There were no significant differences in MEHC levels between diploids and triploids ($p>0.05$). Triploids had lower numbers of WBCs and showed higher erythrocytic abnormalities than diploids ($p<0.01$).

Conclusion: Numerous haematological indices of rainbow trout were affected by the ploidy levels, therefore it is expected that optimum culture conditions should vary between diploid and triploid fish.

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Haematology, Polyploidy

Yakhteh Medical Journal, Vol 11, No 4, Winter 2010, Pages: 442-447

مقاله اصیل

مطالعه برخی شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*

سالار درافشان Ph.D.[۱،۲]، محمدرضا کلباسی Ph.D.[۱*]، ساحل سلطان کریمی M.Sc.[۱]،
خسرو رحیمی M.Sc.[۱]

۱. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات، نور، ایران
۲. دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، اصفهان، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، نور، صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات
پست الکترونیک: **Email: kalbassi_m@modares.ac.ir**

دریافت مقاله: ۸۷/۷/۲، پذیرش مقاله: ۸۸/۵/۲۶

چکیده

* **هدف:** بررسی تاثیر تریپلوییدی بر برخی ویژگی‌های خون‌شناسی قزل‌آلای رنگین‌کمان

* **مواد و روش‌ها:** برخی از شاخص‌های خون‌شناسی از جمله ابعاد، مساحت و حجم گلبول قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز (Red Bloob Cell; RBC) و سفید (White Blood Cells; WBC)، درصد هماتوکریت (Haematocrit; Hct)، میزان هموگلوبین خون (Hemoglobin; Hb)، متوسط هموگلوبین گلبولی (Mean Erythrocytic Hemoglobin; MEH)، متوسط غلظت هموگلوبین گلبولی (Mean Erythrocytic Hemoglobin Concentration; MEHC) و فراوانی ناهنجاری‌های گلبولی به ترتیب در ۱۴ و ۱۵ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دیپلویید و تریپلویید ده ماهه سنجیده شد.

* **یافته‌ها:** در ماهیان تریپلویید، تمامی شاخص‌های ریخت‌شناسی گلبول قرمز نظیر ابعاد، مساحت و حجم هسته و سلول در مقایسه با گروه دیپلویید به طور معنی‌داری افزایش یافت (p < ۰/۰۵). تریپلوییدی منجر به کاهش RBC گردید، اما تعداد کمتر گلبول‌های قرمز با افزایش حجم آنها تا حدودی جبران گردید. بنابراین میزان هماتوکریت در دو گروه ماهیان دیپلویید و تریپلویید یکسان بود (p > ۰/۰۵). میزان هموگلوبین خون ماهیان تریپلویید (۷/۴ گرم در دسی‌لیتر) در مقایسه با انواع دیپلویید (۹/۲ گرم در دسی‌لیتر) به طور معنی‌داری کمتر بود (p < ۰/۰۵). تریپلوییدی منجر به افزایش قابل توجه MEH از ۸۲/۸ به ۱۱۶/۸ میکروگرم شد (p < ۰/۰۱). با این وجود MEHC در دو گروه ماهیان مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (p > ۰/۰۵). کاهش تعداد گلبول‌های سفید خون و افزایش معنی‌دار میزان ناهنجاری‌های گلبول‌های قرمز نیز از دیگر تاثیرات تریپلوییدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

* **نتیجه‌گیری:** بسیاری از ویژگی‌های خون‌شناسی قزل‌آلای رنگین‌کمان از درجه پلوییدی تاثیر می‌پذیرد، بنابراین ممکن است شرایط بهینه پرورشی برای ماهیان دیپلویید و تریپلویید متفاوت باشد.

* **کلیدواژگان:** قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss*، خون‌شناسی، پلی‌پلوییدی

فصلنامه پزشکی یاخته، سال یازدهم، شماره ٤، زمستان ۸۸، صفحات: ٤٤٧-٤٤٢

مقدمه

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)؛ مهم‌ترین گونه پرورشی ماهیان سردآبی در ایران است. به دلیل مشکلاتی نظیر کاهش ضریب تبدیل غذایی، کاهش کیفیت لاشه، افزایش حساسیت به بیماری‌ها و در نتیجه افزایش تلفات - که در اثر بلوغ جنسی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مزارع پرورش ماهی ایجاد می‌شود - اخیرا تلاش‌هایی به منظور توسعه پرورش انواع تریپلویید این گونه در کشور صورت گرفته است (۳-۱). ماهیان تریپلویید به دلیل دارا بودن یک سری کروموزوم اضافی، معمولا عقیم بوده لذا دشواری‌های ناشی از بلوغ جنسی در آنها کاهش می‌یابد، از این رو پرورش آنان توسط بسیاری از پرورش‌دهندگان ترجیح داده می‌شوند (۴، ۵). با این وجود به نظر می‌رسد که تاثیرپذیری بسیاری از ویژگی‌های خون‌شناسی این ماهیان از درجه پلوییدی، سبب کاهش رشد و بازماندگی به خصوص در شرایط غیربهینه پرورشی شود (۶، ۷). تریپلوییدی منجر به کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید و قرمز خون می گردد که قادر است سلامت عمومی آبزی را با خطر مواجه کند (۶). برخی از مطالعات بیانگر پاسخ یکسان انواع دیپلویید و تریپلویید به برخی عوامل تنش‌زا باشد (۸). تاکنون مطالعات مختلفی درزمینه تاثیر تریپلوییدی برشاخص‌های خون‌شناسی گونه‌های مختلف ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (۹)، لای ماهی (*Tinca tinca*) (۱۰)، توربوت (*Scophtalmus maximus*) (۱۱)، تاس‌ماهی پوزه کوتاه (*Acipenser brevirostrum*) (۱۲) و ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (۱۳) منتشر شده است. اما به دلیل تاثیرپذیری قابل توجه ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان از عوامل مختلفی نظیر گونه، نژاد، سن، درجه رسیدگی جنسی و همچنین شرایط محیطی و تغذیه‌ای (۱۴)، بعضا نتایج متناقضی حاصل شده که لازم است این نوع مطالعات برای نژادهای مختلف و در مناطق متفاوت اقلیمی مورد به مورد به اجرا گذاشته شود.

هدف از این مطالعه، مقایسه برخی ویژگی‌های خون‌شناسی بین ماهیان دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان بوده تا حداقل بخشی از مزایا یا محدودیت‌های احتمالی توسعه ماهی تریپلویید در شرایط پرورشی ایران آشکار گردد.

مواد و روش‌ها

ماهیان

به منظور ممانعت از اثرات احتمالی تفاوت های نژادی یا خانوادگی بر شاخص‌های خون‌شناسی، ماهیان دیپلویید و تریپلویید از دسته واحدی از تخم‌های تازه لقاح یافته انتخاب شدند. تریپلوییدی از طریق احتباس دومین گویچه قطبی در تخم‌های تازه لقاح یافته بوده که با استفاده از

شوک حرارتی ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰ دقیقه پس از لقاح، القا شد (۳). صحت پلوییدی (دیپلو یا تریپلوییدی) از طریق اندازه گیری ابعاد گلبولی و نیز سنجش محتوای DNA سلولی با استفاده از روش فلوسایتومتری بررسی گردید (۱۵، ۱۶).

ماهیان ۱۰ ماهه، دیپلویید و تریپلویید در دو مخزن با ابعاد ۰/۷×۱/۵×۱/۵ متر با تراکم یکسان حدود ۱۵ کیلو گرم بر متر مربع با استفاده از آب رودخانه در مرکز تکثیر و پرورش آزادماهیان دکتر باهنر کلاردشت نگهداری شدند. در زمان نمونه‌برداری در تابستان ۸۵، درجه حرارت، میزان اکسیژن محلول و pH آب مخازن پرورش ماهی به ترتیب در محدوده ۱۲–۱۰ درجه سانتی گراد، ۱۰–۹ میلی گرم بر لیتر و ۷/۴–۶/۵ قرار داشت. ماهیان به طور روزانه، جیره تجاری (چینه، ایران) را به میزان ۳–۲ درصد وزن بدن خود دریافت می کردند.

نمونه‌برداری

به ترتیب از ۱۴ و ۱۵ قطعه ماهی دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان ده ماهه که به طور تصادفی از حوضچه‌های پرورشی صید شده بودند، بدون توجه به جنسیت آنها خون‌گیری شدند. میانگین وزنی و طولی ماهیان دیپلویید و تریپلویید به ترتیب ۱۲ ± ۴۰/۵ گرم و ۴/۱ ± ۱۵ سانتی‌متر و ۱۱ ± ۳۸/۵ گرم و ۵/۲ ± ۱۴/۶ سانتی‌متر بدون اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مورد مطالعه بود ($p > ۰/۰۵$). جهت کاهش تنش ماهیان، تغذیه آنها ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری قطع گردید. خون‌گیری توسط سرنگ هپارینه ۲ میلی‌لیتری با شماره G:۱۸ پس از بیهوش کردن ماهیان در عصاره گل میخک از طریق رگ اصلی ساقه دمی صورت گرفت (۱۳).

سنجش ویژگی‌های خون‌شناسی

برای هر نمونه، گسترش خونی با پراکندن یک قطره کوچک خون کامل بر لام و سپس تثبیت آن با متانول و رنگ‌آمیزی با گیمسای ۱۰درصد رقیق شده در بافر سورنسون با pH=۶/۸ تهیه شد. با استفاده از گسترش‌های خونی، محورهای کوچک و بزرگ هسته و سلول گلبول قرمز در ۱۰۰–۴۰ عدد گلبول قرمز توسط میکرومتر و میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری شد (۱۵). مساحت (S) و حجم (V) هسته یا سلول از طریق

$S = a\times b\times \text{Л}/4$ و $V= [a/2]\times[b/2]^2 \times \text{Л}\times 4/3$

محاسبه گردید (۱۷، ۱۸). در این روابط a و b به ترتیب محور بزرگ و کوچک هسته یا گلبول هستند. تعداد گلبول‌های قرمز (Red Blood Cell; RBC) و سفید (White Blood Cells Counts; WBC) پس از رقیق‌سازی خون به ترتیب به نسبت ۲۰۰ یا ۵۰ برابر با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید (۱۹). برای رقیق‌سازی از محلول حاوی رنگ برلیانت کریزل آبی ۰/۱ گرم، سیترات سدیم ۳/۸ گرم و فرمالدهید ۳۷ درصد به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد (۱۹). درصد هماتوکریت (Haematocrit; %Hct) با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت هپارین دار و سپس سانتریفیوژ آنها در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه تعیین شد (۱۳). میزان هموگلوبین خون (Hemoglobin; Hb) بر حسب گرم در دسی‌لیتر با استفاده از روش سیان مت هموگلوبین مورد سنجش قرار گرفت (۱۹). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، لمفوسیت و نوتروفیل انجام و محاسبه شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی نظیر متوسط حجم گلبولی (Mean Erythrocyte Volume; MEV)، متوسط هموگلوبین گلبولی (Mean Erythricytic Hemoglobin; MEH) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبولی (Mean Erythricytic Hemoglobin Concentration; MEHC) با استفاده از روابط زیر تعیین شد (۱۹).

$$\text{MEV (nm}^3\text{ cell}^{-1}\text{) = Hct (\%)} \times 10 \text{ / RBC (10}^6\text{ mm}^{-3}\text{)}$$
$$\text{MEH (µg Hb cell}^{-1}\text{) = Hb (g L}^{-1}\text{) / RBC (10}^6\text{ mm}^{-3}\text{)}$$
$$\text{MEHC (g Hb dL}^{-1}\text{) = Hb (g/dL) / Hct (\%)}$$

این طرح مصوبه کمیته تخصصی گروه شیلات و دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد.

آنالیز آماری

پراکنش نرمالیتی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف–اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه مقادیر شاخص‌های مختلف خونی در صورت نرمال بودن با استفاده از آزمون t-student، و در صورت پراکنش غیرنرمال با آزمون Mann-Whitney، اجرا شد. تمامی مقایسه‌های آماری با استفاده از نسخه ۱۱/۵ نرم‌افزار SPSS با سطح معنی‌داری ۰/۰۱ یا ۰/۰۵ انجام شد.

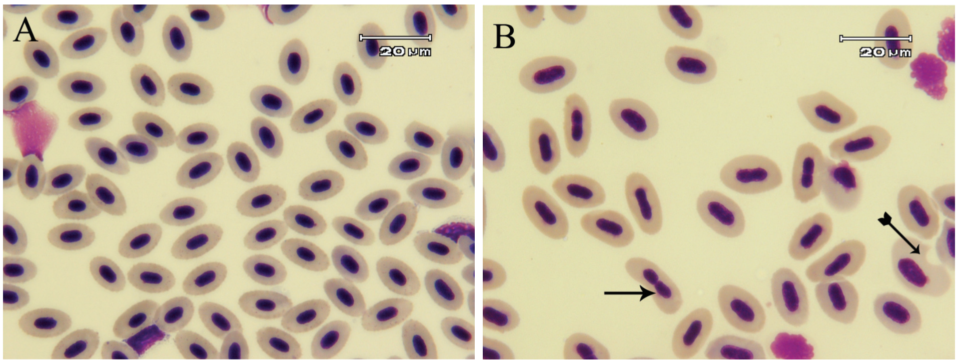
یافته ها

تریپلوییدی منجر به افزایش معنی‌داری در تمامی ابعاد گلبولی نظیر محور بزرگ هسته و سلول، محور کوچک سلول، مساحت و حجم هسته و سلول شد (جدول ۱، $p < ۰/۰۵$).

جدول ۱: ابعاد گلبول‌های قرمز در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان دیپلویید و تریپلویید

ویژگی (واحد)	دیپلویید (D)	تریپلویید (T)	نسبت (T/D)
محور کوچک سلول (میکرومتر)	۷/۴ ± ۰/۱۲	۹/۲ ± ۰/۱۱	۱/۲۲
محور بزرگ سلول (میکرومتر)	۱۵/۱ ± ۰/۱۵	۱۸/۱ ± ۰/۲۶	۱/۱۱
مساحت سلول (میکرومتر مربع)	۸۷ ± ۱/۷	۱۳۳ ± ۲/۴	۱/۵۲
حجم سلول (میکرومتر مکعب)	۴۳۹/۱ ± ۱۸	۸۴۴/۲ ± ۲۵/۴	۱/۹۲
محور کوچک هسته (میکرومتر)	۳/۰۹ ± ۰/۰۲	۳/۱۵ ± ۰/۰۲	۱/۱۴
محور بزرگ هسته (میکرومتر)	۵/۹۶ ± ۰/۰۴	۶/۶ ± ۰/۰۴	۱/۱۶
مساحت هسته (میکرومتر مربع)	۱۴/۹ ± ۰/۲	۱۸/۸ ± ۰/۱۷	۱/۱۷
حجم هسته (میکرومتر مکعب)	۱۳/۳ ± ۰/۸۴	۴۵/۱ ± ۰/۸	۱/۱۸

اطلاعات صورت SEM ± Mean و بر اساس مقایسه آماری با Mann-Whitney test ارایه داده شده است.
تمامی ابعاد گلبولی به طور معنی‌داری در اثر تریپلوییدی افزایش یافته است ($p < ۰/۰۵$).



شکل ۱: گلبول‌های قرمز در ماهیان دیپلویید (A) و تریپلویید (B) قزل‌آلای رنگین‌کمان. ابعاد بزرگ‌تر گلبول‌های قرمز در انواع تریپلویید و نیز فراوانی بیشتر ناهنجاری‌های خونی از جمله گلبول با هسته در حال دو نیم شدن "⟶"، گلبول قرمز نابالغ " ⤡ ". مقیاس برابر ۲۰ میکرومتر.

به طور تقریب افزایش اندازه برای محور بزرگ سلولی (۱۹درصد) در مقایسه با محور کوچک آن (۲۴ درصد) متعادل بود. افزایش متعادل اندازه محور کوچک و بزرگ هسته نیز در اثر تریپلوییدی مشاهده شد (جدول ۱، شکل ۱).

میزان افزایش حجم سلول گلبول قرمز (۹۲ درصد) در مقایسه با افزایش حجم هسته آن (۱۸ درصد) به مراتب بیشتر بود. همچنین در اثر تریپلوییدی، در مقابل افزایش قابل توجه حجم سلول (حدود ۹۰ درصد)، مساحت آن به نسبت بسیار کمتر (تنها حدود ۵۰ درصد) افزایش یافت. تریپلوییدی همچنین به طور معنی‌داری منجر به افزایش قابل توجه ناهنجاری‌های گلبولی گردید (p < ۰/۰۱). در گلبول قرمز ماهیان تریپلویید بروز ناهنجاری‌هایی نظیر هسته در حال تقسیم حدود ۱۰ برابر (۶/۳ درصد در مقابل ۰/۷درصد در دیپلویید ها) و حضور سلول‌های دمبلی شکل حدود ۱۵ برابر (۱/۵ درصد در مقابل تنها ۰/۱ درصد در دیپلوییدها) در مقایسه با انواع دیپلویید افزایش یافت (شکل ۱، p < ۰/۰۱).

مقایسه ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان تریپلویید و دیپلویید نشان داد که تریپلوییدی به طور متوسط منجر به کاهش حدود ۴۳ و ۴۴ درصد به ترتیب در RBC و WBC شده است (جدول ۲، p < ۰/۰۵).

در مقابل افزایش MEV و MEH به ترتیب به میزان حدود ۵۳ و ۴۱ درصد در اثر تریپلوییدی مشاهده شد (جدول ۲، p < ۰/۰۱). میزان هموگلوبین خون ماهیان تریپلویید به طور معنی‌داری در مقایسه با انواع دیپلویید تا حدود ۲۰ درصد کمتر بود (جدول ۲، p < ۰/۰۱). با وجود چنین تغییرات گسترده‌ای، میزان هماتوکریت خون و MEHC در هر دو گروه ماهیان مورد مطالعه، یکسان بود (جدول ۲، p > ۰/۰۵).

همان طور که پیش از این بیان شد، تعداد گلبول‌های سفید در خون ماهیان تریپلویید به طور معنی‌داری نسبت به انواع دیپلویید کاهش یافت. با این وجود نسبت لمفوسیت یا نوتروفیل‌ها به کل گلبول‌های سفید و یا نسبت تعداد گلبول‌های سفید به قرمز تحت تاثیر تریپلوییدی تغییر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲، p > ۰/۰۵).

جدول۲. برخی شاخص‌های خون‌شناسی قزل‌آلای رنگین‌کمان دیپلویید و تریپلویید

ویژگی (واحد)	دیپلویید (D)	تریپلویید (T)	نسبت (T/D)	سطح معنی‌دار
RBC (cell/mL)	۱۱۷۵۷۱۴ ± ۹۱۸۶۵	۶۷۲۰۰۰ ± ۴۵۴۹۴	۰/۵۷	^{a} p <۰/۰۱
Hct (%)	۳۸/۱۴ ± ۲/۱	۳۳/۴ ± ۱/۰۷	۰/۸۷	^{b} p >۰/۰۵
Hb (g/dL)	۹/۲ ± ۰/۴۹	۷/۴ ± ۰/۱۹	۰/۸۰	^{b} p <۰/۰۵
MEH (µg/cell)	۸۲/۸۳ ± ۶/۴	۱۱۶/۸ ± ۷/۱	۱/۴۱	^{b} p <۰/۰۱
MEV (nm^3)	۳۴۴/۳ ± ۲۶/۸	۵۲۸/۰۲ ± ۳۷/۳	۱/۵۳	^{b} p <۰/۰۱
MEHC (g/dL)	۰/۲۴ ± ۰/۰۰۷	۰/۲۲ ± ۰/۰۰۴	۰/۹۲	^{b} p >۰/۰۵
WBC (cell/mL)	۱۲۷۱۴ ± ۲۳۳	۷۱۳۳ ± ۶۷۶	۰/۵۶	^{a} p <۰/۰۱
RBC (×10^{-2})/WBC	۱/۱ ± ۰/۲۱	۱/۱ ± ۰/۱	۱	^{b} p >۰/۰۵
Lym (%WBC)	۹۳/۲ ± ۰/۸	۹۱/۷ ± ۱/۰۱	۰/۹۸	^{b} p >۰/۰۵
Neut (%WBC)	۶/۷ ± ۰/۸	۸/۲ ± ۱/۰۱	۱/۲۲	^{b} p >۰/۰۵

اطلاعات به صورت Mean ± SEM، a- با استفاده از آزمون Mann-Whitney، b- با استفاده از t-student. RBC: تعداد گلبول قرمز؛ Hct: هماتوکریت؛ Hb: هموگلوبین؛ MEH: متوسط هموگلوبین گلبولی؛ MEV: متوسط حجم گلبولی؛ MEHC: متوسط غلظت هموگلوبین گلبولی؛ WBC: تعداد گلبول سفید؛ Lym: گلبول سفید لمفوسیت؛ Neut: گلبول سفید نوتروفیل.

بحث

گلبول‌های قرمز خون در ماهیان تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گلبول‌های قرمز در انواع دیپلویید وسیع و حجیم‌تر بودند. افزایش ابعاد گلبولی در اثر القای پلوییدی، حالتی مرسوم است و عموما به دلیل افزایش میزان محتوای مواد وراثتی هسته رخ می‌دهد. چنین حالتی پیش از این در بسیاری از انواع مختلف ماهیان نظیر لای ماهی (۱۰)، توربوت (۱۱) و ماهی آزاد دریای خزر (۱۳) گزارش شده است. اگرچه افزایش مساحت یا حجم گلبولی در اثر تریپلوییدی امری محتمل به نظر می‌رسد اما افزایش نامتقارن این مقادیر، افزایش بیشتر حجم در مقایسه با سطح و نیز افزایش بیشتر حجم سلول در مقایسه با حجم هسته، ممکن است منجر به بروز محدودیت‌هایی در قابلیت انتقال اکسیژن توسط گلبول‌ها و یا به طور کلی ظرفیت هوازی آبزی شود. همچنین کاهش نسبت سطح به حجم سلولی می‌تواند منجر به بروز اختلالاتی در تبادل یونی و یا جذب مواد مغذی توسط سلول‌ها شود (۲۰).

در این مطالعه، ناهنجاری‌های ریختی گلبول‌های قرمز در هر دو گروه ماهیان دیپلویید و تریپلویید مشاهده شد، با این تفاوت که میزان آنها در ماهیان تریپلویید به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از انواع دیپلویید بود. افزایش ناهنجاری‌های گلبولی در اثر تریپلوییدی، پیش از این نیز در گونه‌های مختلف ماهیان نظیر ماهی آزاد دریای خزر (۱۳)، آزادماهی اطلس (*Salmo salar*) (۲۱) و قزل‌آلای نهری (*Salvelinus fontinalis*) (۲۲) گزارش شده است. تاکنون فرضیه‌های متعددی نظیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، تخریب غشای سلولی گلبول‌های قرمز درشت در حین عبور از مویرگ‌های خونی و یا رهاسازی پیش از موعد گلبول‌های قرمز نابالغ به عنوان علل اصلی این پدیده مطرح شده‌اند، اما اظهار نظر قطعی در این خصوص نیازمند بررسی و تحقیقات بیشتر است (۲۳). تحقیقات انجام شده در خصوص اثر تنش بر ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان تریپلویید آزادماهی اطلس و قزل‌آلای نهری نشان داد که در اثر افزایش عوامل تنش زا نظیر حمل و نقل یا دست‌کاری، میزان گلبول‌های قرمز ناهنجار در جریان خون به شدت افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که ماهیان در هنگام تنش، با افزایش نیاز اکسیژنی مواجه شده‌اند، اما ویژگی‌های خون‌شناسی آنها امکان تامین این نیاز را فراهم نمی‌کند. بنابراین آنها مجبور به رهاسازی گلبول‌های قرمز نابالغ در جریان خون خواهند شد تا با افزایش نسبی تعداد گلبول‌های قرمز، قابلیت انتقال اکسیژن را بهبود بخشند. این امر منجر به افزایش قابل ملاحظه نسبت گلبول‌های قرمز ناهنجار در خون می‌شود (۲۳، ۲۴).

به طور کلی، القای تریپلوییدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش ابعاد گلبولی، MEH، MEV و کاهش WBC، RBC و Hb گردید. در حالی که میزان هماتوکریت، MEHC، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید و نسبت گلبول‌های سفید به قرمز تفاوت مشخصی را بین دو گروه ماهیان دیپلویید و تریپلویید نشان نداد. بنابراین می‌توان بیان داشت که در ماهیان تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش ابعاد آنها تا حدود زیادی جبران شده و در نتیجه میزان هماتوکریت بدون تغییر باقی می‌ماند. نتایج مشابهی در برخی دیگر از گونه‌ها نظیر آزادماهی اطلس (۲۰) و باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (۲۵) گزارش شده است. با این وجود برخی از گزارش‌ها در خصوص توربوت (۱۱) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲۶) بیانگر کاهش میزان هماتوکریت در اثر القای تریپلوییدی است. چنین تفاوت‌هایی می‌تواند بنا به دلایلی نظیر اختصاصات گونه‌ای یا نژادی، تفاوت در سن، درجه بلوغ جنسی ویا شرایط پرورشی نظیر درجه حرارت، تغذیه و تراکم پدید آید.

در قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلویید میزان MEH افزایش یافت، در مقابل میزان هموگلوبین خون به طور مشخص نسبت به ماهیان دیپلویید کاهش یافت. بروز چنین حالتی می‌تواند بر قابلیت انتقال اکسیژن موثر باشد. کاهش امکان انتقال اکسیژن در ماهیان تریپلویید از نظر تئوری می‌تواند منجر به کاهش قابلیت هوازی این موجودات شود. مطالعات انجام شده در خصوص مقایسه ظرفیت هوازی ماهیان دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای رنگین‌کمان (۲۶) تایید کننده این مطلب است، در حالی که در ماهی طلایی (*Carassius auratus*) چنین تفاوتی مشاهده نشد (۲۷).

نتایج این مطالعه بیانگر کاهش قابل توجه تعداد گلبول‌های سفید در اثر تریپلوییدی است. به نظر می‌رسد که موجود برای ایجاد تعادل بین اندازه و تعداد گلبول‌ها، متناسب با افزایش اندازه، تعداد آنها را کاهش می‌دهد. کاهش تعداد گلبول‌های سفید در اثر تریپلوییدی در دیگر انواع ماهیان مهم اقتصادی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان و قزل‌آلای نهری (۸)، لای ماهی (۱۰) و ماهی آزاد دریای خزر (۱۳) نیز گزارش شده است. کاهش میزان گلبول‌های سفید می‌تواند منجر به کاهش قابلیت ایمنی غیراختصاصی در ماهیان تریپلویید در مقایسه با انواع دیپلویید گردد. چنین احتمالی را می‌توان با توجه به تلفات بیشتر قزل‌آلای رنگین‌کمان تریپلویید در مواجه با شرایط نامساعد پرورشی و برخی بیماری‌ها نظیر بیماری باکتریایی آبشش مورد تاکید قرار داد (۲۸).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه نتایج این تحقیق نشان داد که تریپلوییدی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بروز تغییرات قابل توجه در ویژگی‌های خون‌شناسی حداقل در ماهیان ده ماهه می‌شود. چنین تغییرات گسترده‌ای ممکن است سلامت عمومی، رشد و بازماندگی آنها را تحت شرایط پرورشی متاثر سازد. بنابراین به نظر می‌رسد شرایط بهینه تولید و پرورش آزادماهیان انواع تریپلویید در مقایسه با گروه دیپلویید متفاوت خواهد بود.

تقدیر و تشکر

اجرای این تحقیق با یاری فراوان آقایان مهندس پاشا زانوسی، ریاست سابق، مهندس رضوانی، ریاست فعلی و مهندس گلشاهی مسوول بخش تکثیر قزل‌آلای رنگین‌کمان مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان دکتر باهنر کلاردشت میسر گردید که به این وسیله از همکاری آنها سپاسگزاری می گردد.

References

1. Kalbassi MR. Triploidy induction in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss using heat shock. Presented for the MS.c. Tehran. Tarbiat Modares University. 1993.
2. Johari SA. Production and rearing of all-female diploid and triploid rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Presented for the MS.c. Tehran. Tarbiat Modares University, 2005.
3. Dorafshan S. Chromosome set manipulation techniques on the Caspian salmon, Salmo trutta caspius

and rainbow trout, Oncorhynchus mykiss and comparison of F1 generation growth. Presented for the Ph.D. Tehran. Tarbiat Modares University. 2007.
4. Pandian TJ, Koteeswaran R. Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia. 1998; 384: 167-243.
5. Beaumont AR, Hoare K. Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. Blackwell Science LTD. 2003; 114-126.
6. Benfey TJ. The physiology and behaviour of triploid fishes. Rev Fish Sci. 1999; 7: 39-67.
7. Tiwary BK, Kirubagaran R, Ray AK. The biology of triploid fish. Rev Fish Biol Fish. 2004; 14: 391-402.
8. Benfey TJ, Biron M. Acute stress response in triploid rainbow trout, Oncorhynchus mykiss and brook trout, Salvelinus fontinalis. Aquaculture. 2000; 184: 167-176.
9. Yamamoto A, Lida T. Hematological characteristics of triploid rainbow trout. Fish Pathol. 1994; 29: 239-243.
10. Svobodova Z, Kolarova J, Flajshans M. The first finding of the differences in complete blood count between diploid and triploid tench, Tinca tinca L. Acta Vet Brno. 1998; 67: 243-248.
11. Cal RM, Vidal S, Camacho T, Piferrer F, Guitian FJ. Effect of triploidy on turbot haematology. Comp Biochem Physiol. 2005; 141: 35-41.
12. Beyea MM, Benfey TJ, Kieffer JD. Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon, Acipenser brevirostrum. Fish Physiol Biochem. 2005; 31: 303-313.
13. Dorafshan S, Kalbassi MR, Pourkazemi M, Mojazi Amiri B, Soltan Karimi S. Effects of triploidy on the Caspian salmon, Salmo trutta caspius haematology. Fish Physiol Biochem. 2008; 34: 195-200.
14. Mercaldo-Allen R, Dawson MA, Kuropat CA, Kapareiko D. Variability in blood chemistry of Yellowtail Flounder, Limanda ferruginea with regard to sex, season, and geographic location. NOAA Technical Memorandum NMFS-NE-180. 2003; 20.
15. Benfey TJ, Sutterlin AM, Thompson RJ. Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. Can J Fish Aquat Sci. 1984; 41: 980-984.
16. Kalbassi MR, Dorafshan S, Pourkazemi M, Mojazi Amiri B. Triploidy induction in the Caspian salmon, Salmo trutta caspius by heat shock. J Appl Ichthyol. 2009; 25: 104-107.
17. Sezaki K, Kobayasi H, Nakamura M. Size of erythrocytes in the diploid and triploid specimens of Carassius auratus langsdorfi. Jap J Ichthyol, 1977; 24: 135-140.
18-Lemoine LH, Smith TL. Polyploidy induced in brook trout by cold shock. Trans Am Fish Soc. 1980; 109: 626-631.
19. Houston AH. Blood and circulation. In: Schreck CB, Moyle PB, (eds). Methods for fish biology. American fisheries society: Bethesda, Maryland; 1990; 273-335.
20. Graham MS, Fletcher GL, Benfey TJ. Effect of triploidy on blood oxygen content of Atlantic salmon. Aquaculture. 1985; 50: 133-139.
21. Benfey TJ, Sutterlin AM. The haematology of triploid landlocked Atlantic salmon, Salmo salar. J Fish Biol. 1984; 24: 333-338.
22. Wlasow T, Kuzminski H, Woznicki P, Ziomek E. Blood cell alterations in triploid brook trout, Salvelinus fontinalis. Acta Vet Brno. 2004; 73: 115-118.
23. O'Keefe R, Stillwell E, Benfey T. The effect of transportation and handeling on the hematology of diploid and triploid Atlantic salmon, Salmo salar. Bull Aquacul Assoc. Canada. 2000; 4: 25-27.
24. Aktins ME, O'Keefe RA, Benfey TJ. The effect of exercise on the growth and hematology of diploid and triploid brook trout, Salvelinus fontinalis. Bull. Aquacul. Assoc. Canada. 2000; 4: 19-21.
25. Felip A, Piferrer F, Zanuy S, Carrillo M. Comparative growth performance between diploid and triploid sea bass, Dicentrarchus labrax L. over the first four spawning seasons. J Fish Biol. 2001; 58: 76-88.
26. Virtanen E, Forsman L, Sundby A. Triploidy decreases the aerobic swimming capacity of rainbow trout, Salmo garidneri. Comp Biochem Physiol. 1990; 96: 117-121.
27. Sezaki K, Watabe S, Tsukamoto K, Hashimoto K. Effects of increase in ploidy status on respiratory function of ginbuna, Carassius auratus langsdorfi (Cyprinidae). Comp Biochem Physiol. 1991; 32, 123-127.
28. Ojolick EJ, Cusack R, Benfey TJ, Kerr SR. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout reared at chronic high temperatures. Aquaculture. 1995; 131: 177-187.