فیزیولوژی آبزیان

بررسی پراکسیداسیون لیپید پس از القای تریپلوئیدی در تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

کاوه تقی پور *[۱]، سعید کیوان شکوه[۲]، امیرپرویز سلاطی[۳]، حسین پاشازانوسی[۴]، صمد بهرامی[۵]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا ، دانشگاه علوم وفنون دریایی، خرمشهر،
ایمیل:k.taghipoor@kmsu.ac.ir، تلفن: ۰۹۱۶۲۱۸۱۶۸۲
۲-دانشیار، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی، خرمشهر
۳-استادیار، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی، خرمشهر
۴-مربی، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم وفنون دریایی، خرمشهر
۵-دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا ، دانشگاه علوم وفنون دریایی، خرمشهر

واژه‌های کلیدی: تریپلوئید، پراکسیداسیون لیپید، تخم، قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

القای تریپلوئیدی سبب ایجاد تغییراتی در پاره ای از ویژگی های فیزیولوژیک ماهیان می شود، لذا به طور معمول ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید از دیدگاه های متفاوت مقایسه و ارزیابی می شوند. مهمترین قابلیت های بیوتکنولوژی در آبزی پروری شامل کاربرد هورمون های طبیعی و سنتتیک، تولید مثل القائی، تولید انواع آبزیان ترانس ژنیک، ایجاد بانک ژن، مدیریت بهداشت و تولید جمعیت های مختلف می باشد. این قابلیت ها نقش مهمی در اصلاح نژاد آبزیان پرورشی و افزایش تولید آنها در واحد سطح دارند. دستکاری کروموزومی گونه های مختلف آبزیان امروزه در دنیا به عنوان یک روش مفید در بهبود ژنتیکی ماهیان، بسیار رایج می باشد (Omoto *et al*., 2005). همزمان با القاء پلی پلوئیدی در برخی ماهیان، پاره ای تغییرات فیزیولوژیک نیز ممکن است ایجاد گردد و این تغییرات خصوصاً در آزادماهیان از سابقه ی مطالعاتی بیشتری برخوردار است (Benfey, 1999). اکثر مطالعات نشان می دهد که ماهی تریپلوئید در مقایسه با ماهی دیپلوئید نرخ بقای کمتری در مراحل اولیه زندگی به علت کاهش قابلیت زیستن در تخم و لارو را دارد (Piferrer *et al*., 2009). شوک های حرارتی و هیدروستاتیک بکار رفته برای القای تریپلوییدی به عنوان عامل ایجاد کننده اثرات نامطلوب که منتج به کاهش بازماندگی به خصوص در مراحل اولیه رشد در نظر گرفته می شود. علاوه بر این تریپلوییدی در یک جانور می تواند مسئول کاهش بازماندگی و رشد در مراحل بعدی حیات به خصوص در شرایط نامناسب زیست محیطی و پرورشی باشد (رزمی و همکاران، ۱۳۸۹).

انجام تحقیق حاضر جهت ارزیابی میزان شاخص پراکسیداسیون لیپید یعنی MDA (مالون دی آلدئید) تحت تاثیر شوک حرارتی اعمال شده به تخم این ماهی جهت القای تریپلوئیدی صورت گرفت.

روش

محل انجام آزمایش: این تحقیق در کارگاه تکثیر ماهیچال واقع در استان لرستان، شهرستان الیگودرز در پاییز سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. دمای آب کارگاه در طی دوره آزمایش ۱۱-۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، PH ۶/۸-۷/۷، اکسیژن محلول۸/۵-۸/۲ میلی‌گرم در لیتر و میزان هدایت الکتریکی آب ۶۱۰-۵۸۰ میکروموس بر سانتی‌متر بود.

تهیه مولد و استحصال تخمک و اسپرم: برای این کار از ۸ مولد ماده با میانگین وزن ۲۴۶±۱۶۰۰ گرم و طول کل ۱/۸±۵۱/۸۷ سانتی متر و ۶ مولد نر با میانگین وزن ۱۸۶±۱۳۹۳ گرم و طول کل ۲/۵۸±۵۰/۵۰ سانتی متر که از نظر سنی ۴ ساله بودند استفاده شد. تخم‌گیری از مولدین ماده و با استفاده از روش معمول در کارگاه و با بیهوش کردن مولدین در عصاره گل میخک (۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و به روش دستی صورت گرفت. اسپرم‌گیری از مولدین نر با سرنگ ۱۰۰ سی‌سی به منظور جلوگیری از آلودگی با خون و مدفوع صورت گرفت و از روش خشک برای لقاح استفاده شد (Moccia and Munkittrick,1986). تخم‌های لقاح یافته تحت دو حالت زیر به سینی های تراف انتقال داده و سپس نمونه گیری از آنها در مدت زمان ۹۰ دقیقه (۱۵ ساعت درجه) پس از لقاح صورت گرفت:

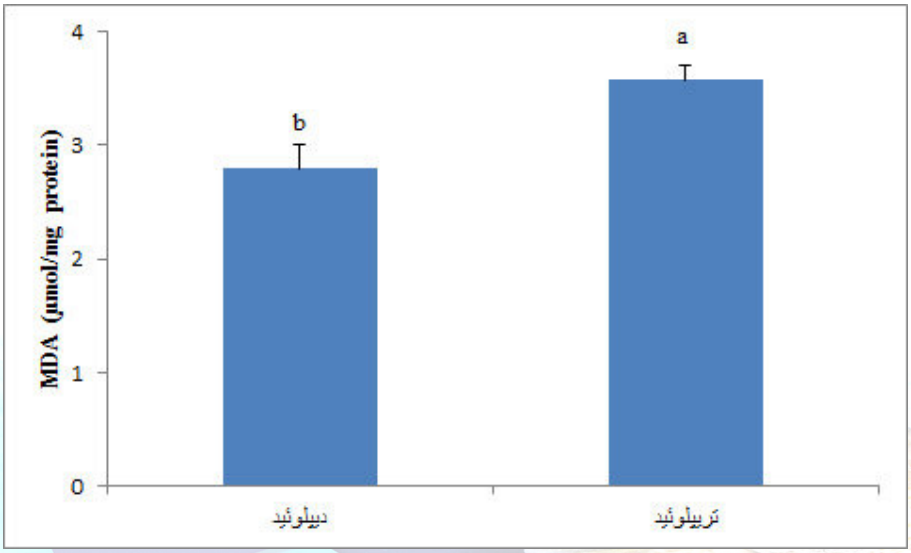
حالت اول (گروه دیپلوئید): طبق شرایط معمول تکثیر و پرورش قزل‌آلای‌رنگین‌کمان، بعد از آبگیری، تعداد ۴۹۰۰ تخم به سینی‌های تراف منتقل گردید.

حالت دوم (گروه تریپلوئید): در این آزمایش جهت اعمال شوک تریپلوئیدی تعداد ۴۹۰۰ تخم مانند گروه شاهد لقاح داده شد. ۱۰ دقیقه بعد از لقاح (زمان اعمال شوک) تخم‌های لقاح یافته که در حال آبگیری بودند با استفاده از آبکش پلاستیکی به محفظه عایق دما حاوی آب کارگاه به میزان ۲۰ لیتر با دمای ۲۸ درجه (شدت شوک) انتقال داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه (مدت زمان اعمال شوک) درون محفظه عایق دما قرار داده شدند، سپس به درون سینی تراف انتقال داده شدند (Pandian and Koteeswaran, 1998).

فعالیت MDA به روش Satoh (۱۹۷۸) انجام گرفت. در این روش که اساس آن واکنش MDA با تیوباربیتوریک اسید (TBA) و استخراج بوتانول نرمال است، پلاسما با اسید فسفریک و تیوباربیتوریک اسید مخلوط و به مدت ۴۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. پس از آن مخلوط مورد نظر سرد و بوتانول نرمال به این مخلوط اضافه گردید. سپس مخلوط بدست آمده سانتریفیوژ و جذب نوری مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر ثبت گردید.

نتایج

نتایج مربوط به شاخص MDA در شکل شماره ۱ آورده شده است. بدین ترتیب میزان MDA بر حسب µmol/mg protein در تخم دیپلوئید برابر با ۰/۲۱±۲/۸ و در تخم تریپلوئید (شوک دیده) برابر با ۰/۱۲±۳/۵۸ محاسبه شد که نشان دهنده ی افزایش معنی دار فعالیت MDA در تیمار تریپلوئید نسبت به تیمار دیپلوئید بود (P<0.05).



حروف غیر مشابه به معنای وجود اختلاف معنی دار بین دو تیمار است (P<0.05)

شکل شماره ۱: نتایج مقایسه فعالیت MDA بین تیمارهای تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان

بحث و نتیجه گیری

شاخص MDA می تواند میزان آسیب وارد شده به سلول ها و بافت ها را نشان دهد، بنابراین به عنوان بیومارکر موثر در ارزیابی وضعیت استرس اکسیداتیو در ارگانیسم های آبزی در نظر گرفته می‌شود (Huang *et al.*, 2010). تاکنون مطالعه ای در خصوص ارزیابی شاخص پراکسیداسیون لیپید در گونه های دیپلوئید و تریپلوئید ماهیان صورت نگرفته است. از مطالعات صورت گرفته در مورد استرس های دیگر Bayir و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه بر روی قزل‌آلای قهوه ای (*Salmo trutta*) مشاهده کردند که سطح MDA در کبد و آبشش این گونه به موازات محرومیت غذایی افزایش پیدا میکند که تایید کننده نتایج این تحقیق است.

فهرست منابع

۱. رزمی، ک.، ضرغام، د.، نکویی فرد، ع.، محمدپور، م.، کمایی، ک.، مرادیان، ح.، باشتی، ط.، گندمکار، ح. ا.، علیزاده، م و گرجی پور، ع. ا. ۱۳۸۹، تولید جمعیت تریپلویید قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به روش القائی. گزارش نهایی طرح، موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۵۹صفحه.

2. Bayir, A., Sirkecioglu, A. N., Bayir, M., Aras, N. M., Haliloglu, H. I., Kocaman, E. M. and Aras, M. N., 2011. Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: Oxidative stress and antioxidant defenses. Comparative Biochemistry and Physiology , 159 : 191–196.

3. Benfey, T.J., 1999. The physiology and behavior of triploid fishes. Review in Fisheries Science, 7, 39–67.

4. Huang, W., Cao, L., Liu , J., Lin, L., and Dou, S., 2010. Short-term mercury exposure affecting the development and antioxidant biomarkers of Japanese flounder embryos and larvae. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73 : 1875–1883.

5. Moccia, R.D. and K.R. Munkittrick. 1986. Relationship between the fertilization of rainbow trout (*Salmo gairdeneri*) eggs and the motility of spermatozoa. Theriogenol. 27: 679-688.

6. Pandian, T. J. and Koteeswaran, R., 1998. Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia, 384: 167–243.

7. Piffere F., Beaumont A., Falguiere J.C., Flajshans M., Haffray P.& Colombo L. (2009) Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. Aquaculture. 293.125-156.

8. Omoto, N., M. Maebayashi, SH. Adachi, K. Arai and K. Yamauchi. 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.

9. Satoh, K., 1978. Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clina Chimica Acta: International Journal of Clinical chemistry, 90: 37–43.