



## تأثیر هورمون تیروکسین بر بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی موکوس در مراحل اولیه رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فاطمه کیاپور<sup>۱</sup>، عبدالمجید حاجی‌مرادلو<sup>۱\*</sup>، رسول قربانی<sup>۱</sup>، علی حاجی‌بگلو<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

### چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت ۰۲/۰۶/۰۳

پذیرش: ۰۲/۰۶/۲۱

نویسنده مسئول مکاتبه:

عبدالمجید حاجی‌مرادلو، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

ایمیل: [ahajimoradloo@yahoo.com](mailto:ahajimoradloo@yahoo.com)

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف هورمون تیروکسین در آب پرورشی و جیره غذایی بر بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی موکوس در مراحل اولیه رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. آزمایش در سه مرحله تخم چشم‌زده تا تفریخ کامل تخم، لارو تفریخ شده تا زمان تغذیه فعال و زمان تغذیه فعال تا وزن‌گیری حدود ۱ گرم بچه‌ماهی انجام شد. در هر مرحله، آزمایش در سه غلظت محلول تیروکسین (۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۹ میلی‌گرم در لیتر) به همراه گروه شاهد (فاقد هورمون تیروکسین) با ۳ تکرار انجام گردید. تیروکسین در مراحل اول و دوم، به آب و در مرحله سوم به غذا اضافه گردید. در نتایج مرحله سوم بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی موکوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین میزان بازماندگی در تیمار ۹ برابر با  $1/33 \pm 98/67$  به دست آمد. شاخص‌های ایمنی پروتئین کل، ایمنوگلوبولین و لیزوزیم در مقایسه با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان پروتئین ( $2/08 \pm 0/18$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، میزان ایمنوگلوبولین ( $0/65 \pm 0/09$  گرم بر دسی‌لیتر) و میزان لیزوزیم ( $1/90 \pm 0/02$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) در تیمار ۹ ثبت گردید. بر اساس مطالعه حاضر، هورمون تیروکسین منجر به اثرات مثبت بر درصد بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردیده است.

واژه‌های کلیدی: هورمون تیروکسین، قزل‌آلای رنگین‌کمان، بقاء، شاخص‌های ایمنی

## ۱ | مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مهم‌ترین گونه آزاد ماهیان، با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش جهانی می‌باشد و درصد بالایی از میزان تولید آبزیان را به خود اختصاص داده است (Azevedo et al., 2004) و می‌توان گفت با توجه به سرعت رشد بالا، مقاومت بسیار خوب آن با شرایط محیط و افزایش تقاضای مصرف این ماهی در اکثر نقاط کشور، موجب افزایش تولید آن شده است (Harsij et al., 2019). از مشکلات قابل ذکر در پرورش این ماهی، پرورش در مرحله اولیه زندگی می‌باشد که در این مرحله، رشد کند بوده و تلفات بالایی را به همراه دارد (Hajibeglou and Sudagar, 2018) به نقل از؛ Planas and Cunha, 1998). بنابراین استفاده از روش‌هایی که منجر به کاهش تلفات و تولید لاروهای مقاوم می‌شود ضروری به نظر می‌رسد (Kazemi and Agh, 2012). با توجه به این نکته که هورمون‌ها به سرعت متابولیزه و یا دفع می‌شوند، استفاده از آنها را برای تولید ماهی‌های خوراکی امکان‌پذیر می‌سازد. نتایج نشان می‌دهد که ماهی‌های تحت تیمار با هورمون، هیچ‌گونه هورمون باقیمانده‌ای نداشته و بنابراین برای مصرف انسان بی‌خطر است زیرا پاکسازی هورمونی قبل از بازاریابی انجام می‌گردد (Piferrer, 2001). هورمون‌های تیروئیدی به عنوان محرک رشد در پرورش آبزیان عمل می‌کنند (Alinezhad et al., 2020) به نقل از؛ Lam, 1994؛ Brown and Kim, 1995). این هورمون‌ها به طور چشمگیری در کنترل دگرذیسی و درصد بقا در گونه‌های مختلف ماهی موثر می‌باشند (Contrera et al., 2016)؛ Schnitzler et al., 2016). تحقیقات نشان می‌دهد که سه گروه هورمونی، از جمله هورمون‌های تیروئیدی (تیروکسین و تری‌یدوتیرونین)، هورمون رشد و استروئیدها می‌توانند منجر به بهبود بقا و رشد ماهی شوند (Alinezhad et al., 2020) به نقل از؛ Lam, 1994؛ Higgs et al., 1982). تری‌یدوتیرونین (T<sub>3</sub>) و تیروکسین (T<sub>4</sub>) با نقش‌شان در کنترل رشد لارو و بهبود میزان بقا در تخم‌های گونه‌های مختلف ماهی شناسایی شده‌اند (Kobuke et al., 1987) به نقل از؛ Alinezhad et al., 2020). Tagawa et al., 1987). با این حال، تجویز بیش از حد هورمون، تاثیرات منفی بر رشد، پوست، استخوان‌ها و عضلات دارد

(Alinezhad et al., 2020) به نقل از؛ Eales, 1979). قرار گرفتن ماهی در معرض هورمون‌های تیروئیدی خارجی، باعث افزایش غلظت رنگدانه‌ها در بافت‌ها همراه با تفریح شدن و سرعت رشد، شناوری ماهی به وسیله کیسه شنا، رشد عضلانی، متامورفیز و ظرفیت متابولیکی لارو می‌شود (Kang and Chang, 2004)؛ Walpita et al., 2007؛ Landines et al., 2010)؛ Abdollahpour et al., 2018). گزارش شده است که تاثیرگذاری هورمون تیروکسین بر ماهی شیپ *Acipenser ruthenus* مورد بررسی قرار گرفت و فاکتورهای کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین و گلوکز مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بالاترین میزان را نسبت به تیمار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه شاهد از خود نشان داده است (Abdollahpour et al., 2019). در گزارشی دیگر، درصد بازماندگی در گروه شاهد و تیمار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در ماهی *Acipenser ruthenus* به طور قابل توجهی کاهش یافت (Abdollahpour et al., 2018). از طرفی گزارش شده است استفاده از غلظت‌های متفاوت تیروکسین در لاروهای گربه‌ماهی راه‌رونده (*Clarias batrachus*) تفاوت معنی‌داری بر درصد بازماندگی بین تیمارهای تیروکسین و گروه شاهد نداشت (Ambulkar et al., 2016). با توجه به اینکه هورمون‌های تیروئیدی برای توسعه ابتدایی ماهیان ضروری بوده و بر درصد بقاء و ایمنی تاثیر می‌گذارند روش‌های متنوعی در بکارگیری هورمون‌ها وجود دارد که شامل تزریق، کاشت، تجویز خوراکی و غوطه‌ورسازی می‌باشند و از طرفی با توجه به تلفات بالای ماهی قزل‌آلا در مراحل اولیه تکامل، استفاده از هورمون تیروکسین در غلظت کم و مدت زمان کوتاه، می‌تواند سبب بهبود درصد بقاء و شاخص‌های ایمنی گردد. بنابراین این تحقیق با تعیین اثر هورمون تیروکسین به صورت غوطه‌وری و خوراکی بر تخم، لارو و بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و اثر آن بر درصد بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی اجرا گردید.

## ۲ | مواد و روش‌ها

این تحقیق به مدت ۴۵ روز در ۳ مرحله از مراحل تکاملی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (تخم چشم‌زده، لارو و بچه‌ماهی) انجام شد. در این آزمایش با توجه به این نکته که میزان هورمون تیروکسین بایستی در طی دوره آزمایش ثابت می‌ماند، از سیستم بازچرخش آب استفاده گردید. جریان آب ورودی ۱/۵ لیتر در دقیقه برای هر ترف جهت نگهداری ماهیان برقرار بود. دمای آب توسط ترمومتر دیجیتالی (Horbia U-10، ژاپن)، اکسیژن محلول با دستگاه دیجیتالی اندازه‌گیری اکسیژن، مدل 1609 TECPEL DO و pH آب با دستگاه قابل حمل مدل ebro.PHT-3140 اندازه‌گیری شد.

### تجویز هورمون تیروکسین در آب و جیره غذایی

از تیروکسین شرکت ایران هورمون با نام تجاری سدیم لووتیروکسین (sodium levothyroxine) استفاده گردید که به صورت قرص بود. هر قرص حاوی ۱۰۰ میکروگرم یا برابر با ۰/۱ میلی‌گرم تیروکسین بود که توسط هاون کوبیده و پودر شد و در آب حل گردید. هورمون آماده شده در غلظت‌های ۰، ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر مورد استفاده قرار گرفت (WHO, Akbari et al., 2015; 2019). برای تهیه جیره غذایی از خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (شرکت فرادانه، ایران، شهرکرد) استفاده شد. ترکیب شیمیایی جیره شامل ۵۴-۵۰ درصد پروتئین خام، ۱۵-۱۱ درصد چربی خام، ۳-۱/۵ درصد فیبر خام، ۱۳-۹ درصد خاکستر، ۱۱-۵ درصد رطوبت و ۱/۵-۱ درصد فسفر بود. محلول هورمون آماده شده در غلظت‌های مذکور در یک کیلوگرم جیره غذایی، بر روی غذا اسپری شد. جیره غذایی گروه شاهد هم بدون افزودن محلول هورمون تیروکسین استفاده شد (Garg, 2007).

### مرحله اول آزمایش (تخم چشم‌زده)

مرحله اول آزمایش از تخم چشم‌زده تا تفریخ کامل (از روز ۱ تا روز ۷) انجام گرفت. تراکم ذخیره سازی این مرحله، ۲۰۰ عدد تخم چشم‌زده بعد از ۱ ساعت هم دما شدن، در هر سبد در ترف‌ها با ۳ تکرار قرار گرفتند. در این مرحله، هورمون تیروکسین به صورت روزانه (از روز ۱ تا روز ۷) فقط در زمان صبح به آب اضافه گردید. پس از افزودن تیروکسین به آب، در هر نوبت، جریان آب ورودی به مدت ۳۰ دقیقه (Alang et al., 2020)، متوقف شد و سپس جریان آب مجدد برقرار گردید.

این مرحله شامل ۴ گروه آزمایشی بود:

شاهد (هیچ‌گونه هورمون تیروکسین دریافت نکرد).

۱- نمونه‌ها از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۲- نمونه‌ها از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم در لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۳- نمونه‌ها از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم در لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

### مرحله دوم (آلومین)

مرحله دوم آزمایش از مرحله لاروهای تفریخ شده تا زمان تغذیه فعال (از روز ۸ تا روز ۲۰)، انجام گرفت. تراکم ذخیره‌سازی این مرحله، ۱۵۰ عدد لارو تفریخ شده در هر سبد در ترف‌ها با ۳ تکرار بود. در این مرحله، هورمون تیروکسین به صورت روزانه (از روز ۱ تا روز ۲۰) در یک زمان (صبح) به آب اضافه گردید. پس از افزودن تیروکسین به آب، در هر نوبت، جریان آب ورودی به مدت ۳۰ دقیقه (Alang et al., 2020)، متوقف شد و سپس جریان آب برقرار گردید.

این مرحله شامل ۷ گروه آزمایشی در ادامه تیمارهای قبل بود: شاهد (هیچ‌گونه هورمون تیروکسین دریافت نکرد).

۱- نمونه‌های شاهد مرحله اول که در این مرحله از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۲- نمونه‌های شاهد مرحله اول که در این مرحله از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۳- نمونه‌های شاهد مرحله اول که در این مرحله از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۴- نمونه‌هایی که در مرحله اول در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفته بودند و در این مرحله نیز از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۵- نمونه‌هایی که در مرحله اول در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفته بودند و در این مرحله

نیز از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

۶- نمونه‌هایی که در مرحله اول در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفته بودند و در این مرحله نیز از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین قرار گرفتند.

#### مرحله سوم (بچه ماهی)

تراکم ذخیره سازی این مرحله، ۱۰۰ عدد بچه ماهی در هر سبد در ترفاها با ۳ تکرار بود. در این مرحله (مرحله شروع تغذیه فعال)، هورمون تیروکسین به جیره غذایی اضافه شد و لاروها هر ۲ ساعت یکبار و با نرخ ۶ درصد وزن بدن خود تغذیه شدند (Taylor et al., 2006).

مرحله سوم آزمایش از مرحله تغذیه فعال تا وزن حدود ۱ گرم (از روز ۲۰ تا روز ۴۵) ادامه یافت. این مرحله شامل ۱۰ گروه آزمایشی در ادامه تیمارهای قبل بود:

شاهد (هیچ‌گونه هورمون تیروکسین دریافت نکرد).

۱- نمونه‌های شاهد مرحله اول، در مرحله دوم در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر تیروکسین از طریق آب قرار گرفته بودند و در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۳ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۲- نمونه‌های شاهد مرحله اول، در مرحله دوم در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر از طریق آب قرار گرفته بودند و در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۶ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۳- نمونه‌های شاهد مرحله اول، در مرحله دوم در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم تیروکسین از طریق آب قرار گرفته بودند و در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۹ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۴- نمونه‌های شاهد مرحله اول و دوم که در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۳ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۵- نمونه‌های شاهد مرحله اول و دوم که در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۶ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۶- نمونه‌های شاهد مرحله اول و دوم که در مرحله سوم از طریق غذا در معرض ۰/۰۹ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم غذا قرار گرفتند.

۷- نمونه‌هایی که مرحله اول و دوم از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر قرار گرفته بودند و در این مرحله از طریق غذا در معرض غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم قرار گرفتند.

۸- نمونه‌هایی که مرحله اول و دوم از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر قرار گرفته بودند و در این مرحله از طریق غذا در معرض غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم قرار گرفتند.

۹- نمونه‌هایی که مرحله اول و دوم از طریق آب در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر قرار گرفته بودند و در این مرحله از طریق غذا در معرض غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم تیروکسین بر لیتر در کیلوگرم قرار گرفتند.

#### ارزیابی درصد بازماندگی

درصد بازماندگی به روش Qinghui و همکاران (۲۰۰۷) محاسبه شد:

– تعداد بچه‌ماهی در ابتدای دوره = درصد بقاء × ۱۰۰ (تعداد بچه‌ماهی در انتهای دوره)

#### اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی موکوس

جمع‌آوری موکوس بر اساس روش Subramanian و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. از هر گروه تیمار، ۱۰ عدد ماهی به صورت تصادفی نمونه‌برداری شد و به صورت جداگانه درون کیسه پلی اتیلنی قرار گرفت که درون هر کدام ۲ میلی‌لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی‌مولار بود و به مدت ۲ دقیقه به آرامی توسط دست تکان داده شد و بچه‌ماهی‌ها از کیسه خارج گردیده و موکوس جمع‌آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰ g سانتریفیوژ شد و مایع رویی به میکروتیوپ ۱/۵ سی‌سی منتقل گردید تا برای اندازه‌گیری فعالیت لیزوزیم، پروتئین کل و ایمونوگلوبولین مورد استفاده قرار گیرد و تا زمان استفاده مجدد در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. قبل از انجام آزمایشات، نمونه‌های یخ‌زده در ۲ میلی‌لیتر از بافرهای آنزیمی مربوطه

از مقایسه میانگین‌های درصد بازماندگی بچه‌ماهی، تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای هورمون تیروکسین و گروه شاهد مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ) همچنین اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای مرحله اول، دوم و سوم مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بالاترین درصد بقاء در تیمار ۹ ( $91/67 \pm 1/33$ ) و پایین‌ترین درصد بقاء در گروه شاهد ( $92/00 \pm 1/76$ ) ثبت گردید. فاکتورهای ایمنی در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که شامل پروتئین محلول موکوس، ایمونوگلوبولین موکوس و فعالیت لیزوزیم موکوس بود نشان داد که کلیه تیمارهای دریافت‌کننده هورمون تیروکسین میزان بالاتری از ایمنی را نسبت به گروه شاهد به دست آوردند ( $p < 0/05$ ). بالاترین میزان پروتئین کل و لیزوزیم در تیمار ۹ و کم‌ترین در گروه شاهد ثبت گردید (جدول ۱) اما شاخص پروتئین کل و لیزوزیم در بین تیمارهای دریافت‌کننده هورمون تیروکسین مرحله دوم و سوم تفاوت معنی‌داری از خود نشان ندادند ( $p > 0/05$ ). شاخص ایمونوگلوبولین نیز تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارهای هورمون تیروکسین و گروه شاهد نشان داد ( $p < 0/05$ ) و بالاترین میزان ایمونوگلوبولین نیز در تیمار ۹ برابر با  $0/09 \pm 0/65$  ثبت گردید. هم‌چنین در بین تیمارهای مرحله اول، دوم و سوم تفاوت معنی‌داری در میزان ایمونوگلوبولین مشاهده شد ( $p < 0/05$ ).

احیاء شدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و در ۹۳۰۰ g، ساتریفیوژ شدند. سپس برای سنجش هر یک از آنزیم‌ها ۵۰ میکرولیتر مایع رویی استفاده شد (Subramanian et al., 2007). سنجش آنزیم لیزوزیم به روش کدورت‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Subramanian et al., 2007). اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین کل از روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) و پروتئین محلول موکوس نیز به روش Lowty و همکاران (۱۹۵۱) انجام گردید.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با یک فاکتور غلظت تیروکسین در سه سطح شامل غلظت‌های ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۹ میلی‌گرم در لیتر انجام و با گروه شاهد مقایسه گردیدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار SPSS22 انجام شد.

### ۳ نتایج

پارامترهای کیفی آب در طول دوره آزمایش نشان داد میانگین اکسیژن محلول  $0/44 \pm 9$  میلی‌گرم در لیتر، دمای آب  $0/47 \pm 12$  درجه سانتی‌گراد و pH آب  $0/44 \pm 7/30$  بود.

### بررسی بازماندگی و فاکتورهای ایمنی بچه‌ماهی

جدول ۱: میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) درصد بازماندگی و فاکتورهای ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزودن هورمون تیروکسین به آب و جیره

#### غذایی

مراحل آزمایش	تیمار	درصد بازماندگی	پروتئین محلول موکوس (mg/ml)	فعالیت لیزوزیم (μg/ml)	ایمونوگلوبولین کل (g/dl)
شاهد	شاهد	$92/00 \pm 1/76^d$	$1/38 \pm 0/04^c$	$1/28 \pm 0/02^c$	$0/19 \pm 0/02^d$
مرحله آلوین	۱	$96/67 \pm 1/76^{abc}$	$1/54 \pm 0/13^{bc}$	$1/43 \pm 0/06^{bc}$	$0/35 \pm 0/06^c$
	۲	$96/67 \pm 1/77^{abc}$	$1/54 \pm 0/14^{bc}$	$1/44 \pm 0/13^{bc}$	$0/37 \pm 0/05^{bc}$
	۳	$97/33 \pm 1/33^{abc}$	$1/55 \pm 0/14^{bc}$	$1/49 \pm 0/05^{bc}$	$0/38 \pm 0/04^{bc}$
	۴	$94/67 \pm 1/77^{cd}$	$1/46 \pm 0/14^{bc}$	$1/42 \pm 0/13^{bc}$	$0/35 \pm 0/03^c$
مرحله بچه‌ماهی	۵	$96/00 \pm 1/76^{abc}$	$1/53 \pm 0/22^{bc}$	$1/40 \pm 0/27^{bc}$	$0/33 \pm 0/09^c$
	۶	$95/33 \pm 2/40^{bc}$	$1/51 \pm 0/15^{bc}$	$1/35 \pm 0/03^{bc}$	$0/34 \pm 0/03^c$
	۷	$97/99 \pm 1/15^{ab}$	$1/67 \pm 0/12^b$	$1/53 \pm 0/12^b$	$0/38 \pm 0/02^{bc}$
مرحله تخم	۸	$98/00 \pm 1/76^{ab}$	$1/68 \pm 0/10^b$	$1/57 \pm 0/14^b$	$0/47 \pm 0/08^b$
	۹	$98/67 \pm 1/33^a$	$2/08 \pm 0/18^a$	$1/90 \pm 0/02^a$	$0/65 \pm 0/09^a$

\*داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیرمشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ( $p < 0/05$ ).

#### ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

##### بحث

بر اساس نتایج حاصل از تاثیر تیروکسین بر تخم، آلوین و بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، مرحله تخم نتایج مطلوب‌تری را نشان داد. در فاکتور بقاء بیش‌ترین درصد در تیمار شماره ۹ مشاهده شد. نتایج این تحقیق با بررسی‌های انجام شده در ماهی شیپ (*Acipenser ruthenus*) (Abdollahpour et al., 2022) *Oreochromis niloticus*، (Khalil et al., 2011) *Brachydanio rerio* و (et al., 2018) نیز مطابقت داشت. در ماهی *Acipenser ruthenus* درصد بازماندگی در گروه شاهد و تیمار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به طور قابل توجهی کاهش یافت (Abdollahpour et al., 2018). در مطالعه دیگر، استفاده از غلظت‌های متفاوت تیروکسین در لاروهای *Clarias batrachus* تفاوت معنی‌داری بر درصد بازماندگی بین تیمارهای تیروکسین و گروه شاهد نداشت (Ambulkar et al., 2016). این نکته قابل ذکر است که تاثیر تیروکسین بر اساس شرایط آزمایشگاهی به کار برده شده در این تحقیق، در نتایج مطالعات دیگر ممکن است با توجه به روش‌های تجویز هورمون، گونه ماهی یا تهیه تیروکسین متفاوت باشد (Jones et al., 2017؛ Manzon and Manzon, 2017). گزارش شده است که استفاده از هورمون‌های تیروئیدی به طور مستقیم روی جنین یا لارو ماهی ممکن است منجر به کاهش میزان بقاء و حتی ناهنجاری شود که احتمالاً این امر در نتیجه مصرف بیش از حد هورمون می‌باشد. بنابراین، هنگام استفاده از این روش، به ویژه هنگام قرار گرفتن در معرض لارو، باید احتیاط کرد، زیرا ماهی در معرض یک منبع تقریباً نامحدود و ثابت هورمون قرار می‌گیرد که ممکن است توانایی حیوان برای متابولیسم و دفع هورمون را تحت تأثیر قرار دهد (Castillo et al., 2015).

در این مطالعه اثر هورمون تیروکسین بر آب و جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به تاثیرات مثبت و معنی‌دار پروتئین محلول موکوس، لیزوزیم و ایمونوگلوبین شده است. مطالعه حاضر در تطابق با مطالعه Sahoo می‌باشد که اثر تری‌یدوتیرونین را بر فاکتورهای ایمنی

ماهی روهو (*Labeo rohita*) مورد بررسی قرار داد و نتایج بدین صورت به دست آمد. تفاوت معنی‌داری در پروتئین کل، گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین وجود داشت اما در رابطه با فاکتور آلبومین تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. پروتئین کل و گلوبولین تیمارهای تری‌یدوتیرونین نسبت به گروه شاهد افزایش قابل توجهی داشتند که بالاترین میزان آن در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی به دست آمد. هم‌چنین تغذیه ماهیان با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی باعث افزایش تولید نوتروفیل گردیده و ماهیان مقاومت و ایمنی بیش‌تری به باکتری *Aeromonas* هیدروفیلا (*hydrophila*) از خود بروز دادند (Sahoo, 2003). هم‌چنین Abdollahpour و همکاران نیز تاثیرگذاری هورمون تیروکسین را بر روی فاکتورهای ایمنی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه اثر تیروکسین را بر مولدین ماهی *Acipenser ruthenus* در مدت زمان ۱۷۰ روز مورد آزمایش قرار دادند و فاکتورهای کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین و گلوکز مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بالاترین میزان را نسبت به تیمار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه شاهد از خود نشان داده است (Abdollahpour et al., 2019). به طور کلی نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که در پستانداران و پرندگان، هورمون‌های تیروئیدی نقش ایمن‌سازی را ایفاء می‌نمایند (Lam et al., 2005). نتایج مطالعه Lam و همکاران نیز نشان داد که هورمون‌های تیروئیدی بر میزان بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی (*Ragl*, *TCRAC*, *Ikaros*, *IgLC*) در ماهی زبرا (*Danio rerio*) تاثیر به‌سزایی داشته و گزارش کردند هورمون‌های تیروئیدی تاثیر مثبتی بر سیستم ایمنی گذاشته است (Lam et al., 2005). تاثیر هورمون‌های تیروئیدی بر تعدیل پاسخ‌های ایمنی از جمله افزایش لنفوسیت‌های T (Hodkinson et al., 2009)، فاگوسیتوز و رهاسازی سایتوکینین (De-Vito et al., 2011) در پستانداران اثبات گردیده اما در ماهیان مطالعات و تحقیقات اندکی در این زمینه وجود دارد. از آنجا که در این مطالعه اثر هورمون تیروکسین بر شاخص‌های ایمنی به صورت پیوسته و در سه مرحله تخم، آلوین و بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به صورت غوطه‌وری و خوراکی مورد بررسی

Akbari P., Fereidouni M.S., Akhlaghi M. 2015. The effect of levothyroxine sodium hormone on percentage of hatching survival rate, and the early growth stage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Research Journal (Iranian Biology Journal)*. 28(2): 146-153.

Alang A.N., Hassan Z., Christianus A., Zulperi Z. 2020. Effect of thyroxine hormone towards growth and survival of climbing perch (*Anabas testudineus*, Bloch) larvae. *Journal of Environmental Biology*. 41: 1230-1238.

Alinezhad S., Abdollahpour H., Jafari N., Falahatkar B. 2020. Effects of thyroxine immersion on Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) embryos and larvae: variations in thyroid hormone levels during development. *Aquaculture*. 519: 734745.

Ambulkar R.S., Chaturvedi C.S., Gupta S., Krishna G., Chadha N.K., Sanap B., Pandey A.K. 2016. Supplementation of thyroxine and vitamin C for enhanced growth and survival in early larval stages of *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Experimental Zoology, India*. 19(2): 815-819.

Azevedo P.A., Leeson S., Cho C.Y., Bureau D.P. 2004. Growth and feed utilization of large size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater: diet and species effects, and responses over time. *Aquaculture nutrition*. 10(6): 401-411.

Castillo S., Bollfrass K., Mendoza R., Fontenot Q., Lazo J.P., Aguilera C., Ferrara A. 2015. Stimulatory effect of thyroid hormones improves larval development and reproductive performance in alligator gar (*Atractosteus spatula*) and spotted gar (*Lepisosteus oculatus*). *Aquaculture Research*. 46(9): 2079-2091.

Contrera Y.M.B., Eugênio R.M.C., Damasceno D.Z., Bombardelli R.A., Tsuzuki M.Y. 2016. The effect of triiodothyronine on survival, growth and metamorphosis of yellowtai clownfish *Amphiprion clarkii* (Bennett 1830) larvae. *J. Appl. Ichthyol*. 32: 960-962.

De-Vito P., Incerpi S., Pedersen J.Z., Luly P., Davis F.B., Davis P.J. 2011. Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. *Thyroid*. 21(8): 879-890.

Garg S. K. 2007. Effect of oral administration of l-thyroxine (T4) on growth performance, digestibility, and nutrient retention in *Channa punctatus* (Bloch) and *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry*. 33: 347-358.

Hajibeglou A., Sudagar M. 2018. Effect of light intensity on hatching rate, survival and growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevin. *JAD*. 12(2): 37-48.

قرار گرفت، مطالعات در این زمینه در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یا دیگر آبزیان بسیار محدود است تا بتوان نتایج حاصل را با آنها مقایسه کرد. از این رو پیشنهاد می‌گردد تحقیقاتی پیرامون تأثیرات هورمون‌های تیروئیدی بر سیستم ایمنی دیگر ماهیان در نظر گرفته شود. البته بایستی مطالعات تکمیلی در رابطه با اثرات هورمون تیروکسین و تری‌یدوتیرونین بر پارامترهای بیان ژن‌های درگیر در سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت پذیرد تا مکانیزم دقیق عملکرد این هورمون‌ها مشخص گردد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد آب پرورشی و جیره‌های حاوی هورمون تیروکسین (به ویژه در غلظت ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر) اثر مثبت بر بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی موکوس داشته است. بدین جهت می‌توان از این هورمون، جهت بهبود وضعیت سیستم ایمنی و افزایش بقاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده نمود که به افزایش مقاومت ماهی در برابر تنش‌های محیطی و غیرمحیطی کمک شایانی خواهد نمود. با این وجود تعیین دقیق مکانیسم اثرگذاری هورمون تیروکسین بر وضعیت ایمنی ماهی، مستلزم انجام مطالعات پیش‌تری در این راستا می‌باشد.

### ۶ | ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

### REFERENCES

- Abdollahpour H., Falahatkar B., Efatpanah I., Meknatkhah B. 2022. The effect of thyroxine injection on the growth performance and blood parts of Sterlet sturgeon females (*Acipenser ruthenus*). *Aquaculture Development Journal*. 16(1): 67-84.
- Abdollahpour H., Falahatkar B., Efatpanah I., Meknatkhah B., Van Der Kraak G. 2018. Influence of thyroxine on spawning performance and larval development of Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture*. 497: 134-139.
- Abdollahpour H., Falahatkar B., Efatpanah I., Meknatkhah B., Van Der Kraak G. 2019. Hormonal and physiological changes in Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* treated with thyroxine. *Aquaculture*. 507: 293-300.

- basal vertebrate. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 459: 28-42.
- Piferrer F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*. 197: 229-281
- Qinghui A., Kangsen M., Wenbing Z., Wei X., Beiping T., Chunxiao Z., Huitao L. 2007. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicas*. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology*. 147: 502-508.
- Sahoo P.K. 2003. Immunostimulating effect of triiodothyronine: dietary administration of triiodothyronine in rohu (*Labeo rohita*) enhances immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of Applied Ichthyology*. 19(2): 118-122.
- Schnitzler J.G., Frederich B., Dussenne M., Klaren P.H., Silvestre F., Das K. 2016. Triclosan exposure results in alterations of thyroid hormone status and retarded earl development and metamorphosis in *Cyprinodon variegatus*. *Aquat. Toxicol*. 181: 1-10.
- Siwicki A.K., Anderson D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. *Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods Olsztyn, Poland*. 1993: 105-120.
- Subramanian S., MacKinnon S.L., Ross N.W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 148(3): 256-263.
- Taylor J.F., North B.P., Porter M.J.R., Bromage N.R., Migaud H. 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 256(1-4): 216-234.
- Walpita C., Geyten S., Rurangwa E. Darras V. 2007. The effect of 3,5,3'-triiodothyronine supplementation on zebrafish (*Danio rerio*) embryonic development and expression of iodothyronine deiodinases and thyroid hormone receptors. *General and Comparative Endocrinology*. 152: 206-214.
- World Health Organization. 2019. Levothyroxine sodium (*Levothyroxinum natricum*). The International Pharmacopoeia.
- Harsij M., Adineh H., Maleknejad R., Jafaryan H., Asadi M. 2019. The use of live mealworm (*Tenebrio molitor*) in diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect on growth performance and survival, nutritional efficiency, carcass compositions and intestinal digestive enzymes. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 8(3): 137-143.
- Heraedi A., Prayitno S.B., Yuniarti T. 2018. The effect of different thyroxine hormone (T4) concentration on the growth, survival, and pigment development of pink zebra fish larvae (*Brachydanio reiro*). *Omni-Akuatika*. 14(2):21-28.
- Hodkinson C.F., Simpson E.E., Beattie J.H., O'Connor J.M., Campbell D.J., Strain J.J., Wallace J.M. 2009. Preliminary evidence of immune function modulation by thyroid hormones in healthy men and women aged 55–70 years. *Journal of Endocrinology*. 202: 55-63.
- Jones R.A., Cohn W.B., Wilkes A.A., MacKenzie D.S. 2017. Negative feedback regulation of thyrotropin subunits and pituitary deiodinases in red drum, *Sciaenops ocellatus*. *General and Comparative Endocrinology*. 240: 19-26.
- Kang D.Y., Chang Y.J. 2004. Effects of maternal injection of 3, 5, 3'-triiodo-l-thyronine (T3 on growth of newborn offspring of rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*. 234: 641-655.
- Kazemi E., Agh N. 2012. The effect of feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae with *Artemia urmiana* enriched with herbal oils on resistance to temperature stress, salinity and lack of oxygen. *Journal of Marine Science and Technology*. 11(3): 42-51.
- Khalil N.A., Allah H.M.M.K., Mousa M.A. 2011. The effect of maternal thyroxine injection on growth, survival and development of the digestive system of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, larvae. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2(5): 320-329.
- Lam S.H., Sin Y.M., Gong Z., Lam T.J. 2005. Effects of thyroid hormone on the development of immune system in zebrafish. *General and Comparative Endocrinology*. 142: 325-335.
- Landines M.A., Sanabria A.I., Senhorini J.A., Urbinati E.C. 2010. The influence of triiodothyronine (T3) on the early development of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). *Fish Physiol. Biochem*. 36: 1291-1296.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*. 193(1): 265-275.
- Manzon R.G., Manzon L.A. 2017. Lamprey metamorphosis: thyroid hormone signaling in a

نحوه استناد به مقاله:

کیاپور ف.، حاجی‌مرادلوع.، قربانی ر.، حاجی‌بگلو ع. تأثیر هورمون تیروکسین بر بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی موکوس در مراحل اولیه رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۴. ۱۲(۳): ۱-۱۲.

Kiapour F., Hajimoradlou A., Ghorbani R., Hajibeglou A. The effect of thyroxine hormone on the survival and some safety indicators in the early stages of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2025, 12(3): 01-12.

**The effect of thyroxine hormone on the survival and some safety indicators in the early stages of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

**Kiapour F<sup>1</sup>, Hajimoradlou A<sup>\*1</sup>, Ghorbani R<sup>1</sup>, Hajibeglou A<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> This study was conducted with the aim of investigating the effect of different levels of thyroxine hormone in rearing water and diet on survival and some mucus immunity indicators in the early stages of growth of rainbow trout. The experiment was carried out in three stages: hatched eggs until complete hatching, hatched larvae until active feeding, and active feeding until weighing about 1 gram of fry fish. In each stage, the experiment was performed in three concentrations of thyroxine solution (0.03, 0.06 and 0.09 mg/L) along with the control group (without thyroxine hormone) with 3 repetitions. Thyroxine was added to water in the first and second stages and to food in the third stage. At the end of the third stage, survival and some mucus safety indicators were investigated. The results showed that the highest survival rate was obtained in the treatment 9 with $98.67 \pm 1.33$ . The immune indices of total protein, immunoglobulin and lysozyme showed a significant difference compared to other treatments ( $p < 0.05$ ). The highest amount of protein ( $2.08 \pm 0.18$ mg/ml), immunoglobulin level ( $0.65 \pm 0.09$ g/dL) and lysozyme level ( $1.90 \pm 0.02$ µg/ml) were recorded in the treatment.9. According to the present study, thyroxine hormone has led to positive effects on survival percentage and some safety indicators in rainbow trout fry. <b>Keywords:</b> Thyroxine hormone, Rainbow trout, Survival, Immune indicators.
<b>Paper History:</b> Received: 25-08-2023 Accepted: 12-09- 2023	
<b>Corresponding author:</b> Hajimoradlou A. Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. <b>Email:</b> ahajimoradlou@yahoo.com	