Archive of SID

اثرات حمام کوتاه مدت هورمون رشد (سوماتوتروپین) بر برخی شاخص‌های رشد و ایمنی در مراحل اولیه رشد قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

زهره امیرپور[۱]، علی حاجی بگلو[۱*]، محمد سوداگر[۱]، حامد پاکنژاد[۱]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۱۸

چکیده

این تحقیق به‌منظور تعیین عملکرد هورمون رشد بر برخی شاخص‌های رشد و پارامترهای ایمنی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در سه مرحله تخم، لارو و بچه‌ماهی نورس انجام گرفت. آزمایش شامل ۴ تیمار با غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون سوماتوتروپین بود. قبل از حمام با هورمون رشد، جهت نفوذ پذیری، تیمارهای مختلف به مدت ۱۵ ثانیه در غلظت ۰/۰۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم قرار گرفتند؛ سپس به مدت ۵ دقیقه با غلظت‌های مختلف هورمون رشد حمام داده شدند. در ادامه نمونه‌ها به مخازن منتقل و تا رسیدن به وزن حدود ۱/۵گرم نگه‌داری شدند. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۰۲± ۰/۴۴) در تیمار غلظت ۰/۱ ماهیانی که در مرحله تخم تحت حمام هورمون قرار گرفتند، مشاهده شد و به دنبال آن در مرحله لارو و سپس در مرحله بچه‌ماهی نورس مشاهده شد ($P<0/05$). بالاترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۰۷± ۰/۵۹) در تیمار شاهد مشاهده شد. ضریب رشد ویژه نیز در تیمار ۰/۱ مرحله تخم بیشترین میزان را داشت (۰/۰۷± ۳/۷۷)؛ و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). همچنین کم ترین ضریب رشد ویژه (۰/۱± ۳/۳۳) در گروه شاهد مشاهده شد. بیش ترین میزان فعالیت لیزوزیم (۰/۱± ۵) در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ در ماهیان تحت حمام هورمون در مرحله تخم مشاهده شد که به طور معنی داری بالاتر از تیمارهای دیگر بود ($P<0/05$). همچنین میزان ایمونوگلوبولین در ماهیانی که در مرحله تخم تحت حمام هورمون رشد قرار گرفتند به طور معنی‌داری بیش تر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P<0/05$). نتایج نشان دادند که هورمون رشد در تخم چشم‌زده قزل‌آلا رنگین‌کمان عملکرد بهتری نسبت به مرحله لارو و بچه‌ماهی نورس داشت.

کلمات کلیدی: هورمون رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های رشد، ایمنی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). alihajibeglou@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان یکی از مهم‌ترین گونه های آزاد ماهیان، با ارزش اقتصادی بالا برای پرورش جهانی بوده و بخش بزرگی از میزان تولید آبزیان را به خود اختصاص می‌دهد (Azewedo *et al*., 2004). این ماهی به عنوان گونه اصلی پرورشی در بیش تر نقاط جهان در حال پرورش می‌باشد. در این بین ایران نیز از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. در حال حاضر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دلیل شرایط بوم شناختی و سازگاری با شرایط زیست محیطی و رشد سریع، اساس یک صنعت در حال توسعه را تشکیل می‌دهد (Partridge *et al*., 2008). از نظر تولید بالای سالیانه، قابلیت دسترسی برای مصرف‌کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش‌دهندگان و مصرف کنندگان برخوردار است (سلیمیان، ۱۳۹۵). یکی از مشکلات موجود در پرورش این ماهی، پرورش در مرحله اولیه زندگی است که در این مرحله از زندگی، رشد کند بوده و با تلفات بالایی همراه است (حاجی بگلو و سوداگر، ۱۳۹۷؛ به نقل از: Planas and Cunha, 1998). هورمون رشد یا سوماتوتروپین یک پلی‌پپتید ضروری برای رشد و تکامل طبیعی در همه مهره‌داران، از مهم‌ترین هورمون‌های درون‌ریز و یک هورمون پروتئینی است. در مهره‌داران در سلول‌های سوماتوتروف غده هیپوفیز تولید و از آن ترشح می‌شود (عبدالله نژاد، ۱۳۹۱). تحقیقات نشان داده است که هورمون رشد تنظیم‌کننده اصلی رشد سوماتیک پس از تولد، تحریک فرآیندهای آنابولیکی مثل: تقسیم، تمایز و توسعه سلولی، رشد اسکلتی و سنتز پروتئین می‌باشد (Goodman *et al*., 1993). این هورمون در تحریک اشتها (Higgs *et al*., 1975)، کارایی تبدیل غذا (Markert *et al*., 1997)، ذخیره چربی (Sheridan, 1986)، حفظ نیتروژن (Matty, 1962)، متابولیسم پروتئین و انرژی در سطح بافت (Foster *et al*., 1991) نقش دارد (Matty, 1962). همچنین این هورمون، رشد روده و قابلیت هضم را افزایش داده (San and Farmanian, 1992) و در تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیکی که وابسته به رشد نیست از قبیل: تنظیم اسمزی در ماهیان آب شور (Riley *et al*., 2003)، تنظیم بلوغ جنسی (Bjornsson, 1997) و عملکرد سیستم ایمنی (Yada *et al*., 2001)، تولیدمثل، دگردیسی و تکوین و پارامترهای اکولوژیکی رفتاری مانند: اشتها، رفتارهای اجتماعی، شکار، حمله و فرار از شکارچی مشارکت دارد (Waters *et al*., 1999). هورمون رشد باعث افزایش تجزیهٔ تری‌گلسیریدها و اکسایش در یاخته‌های چربی در صورت تعادل منفی انرژی و ساخت چربی‌ها در صورت تعدیل مثبت انرژی و کم رشدی (هیپوتروفی) یاخته‌های چربی و در نهایت منجر به کاهش انرژی ذخیره شده در بدن می‌شود (Eiseman *et al*., 1986). این هورمون همچنین جذب گلوکز و اکسایش گلوکز را کاهش می‌دهد (Neathery *et al*., 1991). مطالعات اخیر افزایش مصرف اکسیژن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت درمان با هورمون رشد را حاکی از این مفهوم می‌داند که هورمون رشد دارای اثرات آنابولیک بیشتری بر پروتئین است (Seddiki *et al*., 1995). علاوه بر این هورمون رشد جذب روده‌ای کلسیم را افزایش و در نتیجه موجب افزایش رشد استخوان‌ها شده که در برخی حیوانات گزارش شده است (Boyd and Bauman, 1989). بعلاوه گزارش شده است که تزریق هورمون رشد مصنوعی در ماهی گورخری سبب افزایش رشد

www.SID.ir

Archive of SID

در این ماهی گردید (Biga *et al*., 2005)؛ همچنین تزریق هورمون رشد گاوی به ماهی تیلاپیا موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) و ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) رشد عضلانی را تحریک (Leedom *et al*., 2002; Biga *et al*., 2005) و باعث افزایش ایمنی ماهی شد. Jhingan و همکاران (۲۰۰۳) با تزریق هورمون رشد افزایش میزان زنده ماندن ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در برابر *Artificial vibriosis* را اثبات و بیان نمودند که هورمون رشد می‌تواند به عنوان تقویت کننده سیستم ایمنی استفاده شود (Jhingan *et al*., 2003).

تاکنون نفوذپذیر کردن لایه کوریون یا کوریون زدایی در چندین گونه از ماهیان گزارش شده است (Lynch *et al*., 1989). نفوذپذیری بااستفاده از هیپوکلریت سدیم بسیار ارزان و راحت و در مدت زمان کوتاه‌ی صورت می‌گیرد. بنابراین استفاده از غلظت‌های کم خطر آن می‌تواند بهترین انتخاب برای نفوذپذیری باشد (Cabrita *et al*., 2003). نظر به این‌که ایمنی، ساز و کار مهم فیزیولوژیکی حیوانات برای محافظت در مقابل عفونت‌ها و تامین تعادل و هموستاز داخلی است (Saho, 2004) و مولکول‌های مهمی مثل لیزوزیم و ایمونوگلوبولین تعدادی از شاخص‌های سیستم ایمنی می‌باشند؛ اغلب به‌عنوان شاخصی از پاسخ به عوامل استرس‌زا و مقاومت در برابر بیماری شناخته می‌شوند (Iacono *et al*., 1980)؛ همچنین با توجه به این‌که رشد به عنوان مهم‌ترین و شاخص‌ترین فاکتور در افزایش بازده تولید محسوب می‌شود (مشجور و همکاران، ۱۳۹۱) و در ماهیان مانند همه مهره‌داران به واسطه هورمون‌های آزاد شده به دستور سیستم عصبی درون‌ریز از جمله هورمون رشد صورت می‌گیرد (Riley *et al*., 2002)؛ تحقیقات در زمینه فیزیولوژی و بیوشیمی هورمون رشد در ماهی‌ها بخصوص آزاد ماهیان در سال‌های اخیر به سرعت در حال گسترش است. هورمون رشد به عنوان یک هورمون چند منظوره در ماهی ظاهر می‌شود که ارتباطات پیچیده و جذاب بین عملکردهای مختلف بیولوژیکی آن وجود دارد. با محدود کردن این بررسی به ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان، امید است که اطلاعات جامعی از عملکرد بیولوژیکی این هورمون برای ماهی‌هایی که اهمیت عمده‌ای برای ماهیگیری تفریحی، ماهیگیری تجاری و پرورش ماهی دارند، به دست آید (Bjornsson, 1997). از این رو مطالعه حاضر به تعیین عملکرد این هورمون در تخم، لارو و بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان نفوذپذیر شده با هیپوکلریت سدیم بر برخی شاخص‌های رشد و ایمنی می‌پردازد.

مواد و روش ها

این تحقیق در مزرعه زرین ماهی واقع در روستای زرین‌گل شهرستان علی‌آباد کتول به مدت ۲ ماه از آذر تا دی ۱۳۹۷ صورت گرفت. آزمایش در ۳ مرحله از مراحل تکاملی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (تخم چشم زده، لارو و بچه‌ماهی نورس) انجام شد. هر مرحله دارای ۳ تیمار با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد و یک گروه کنترل بود. برای این آزمایش، هورمون رشد نوترکیب انسانی از شرکت LG chem کره و هیپوکلریت سدیم از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

محلول سازی: ابتدا محلول‌های مورد آزمایش با غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد (Zhong *et al*., 2016) و همچنین محلول دارای غلظت

www.SID.ir

Archive of SID

۰/۰۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم (Cabrita, 2003) آماده شد

مرحله اول: تعداد ۵۰۰ عدد تخم‌چشم‌زده قزل آلا رنگین‌کمان در روز اول ابتدا به مدت ۱۵ ثانیه در محلول ۰/۰۰۵ هیپوکلریت سدیم جهت نفوذپذیری قرار گرفته، سپس با آب مقطر شستشو داده شده و به مدت ۵ دقیقه در غلظت‌های ذکر شده هورمون رشد قرار گرفتند، تخم‌ها مجددا با آب مقطر شستشو و به سبد های تراف کالیفرنیایی دارای جریان آب و هوادهی منتقل شدند.

مرحله دوم: در این مرحله برای هر تیمار تعداد ۵۰۰ عدد لارو تازه تفریخ شده قزل‌آلا رنگین‌کمان در نظر گرفته شدند. ابتدا به مدت ۱۵ ثانیه در محلول ۰/۰۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم نفوذپذیر و بعد از شستشو با آب مقطر به حمام‌های هورمون رشد منتقل و مجددا پس از ۵ دقیقه دوباره با آب مقطر شستشو و به سبدها انتقال داده شدند.

مرحله سوم: در این مرحله برای هر تیمار تعداد ۵۰۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در مرحله شنای فعال با میانگین وزنی حدود ۱۴۷ میلی‌گرم را قبل از شروع تغذیه آغازین با غلظت ۰/۰۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ ثانیه نفوذپذیر و بعد از شستشو با آب مقطر در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ هورمون رشد به مدت ۵ دقیقه حمام و مجددا با آب مقطر شسته و به سبدها انتقال داده شدند.

کلیه تیمارها در هر سه مرحله تا زمان رسیدن به وزن حدود ۱/۵ گرم در سبدهای تراف کالیفرنیایی با جریان آب و هوادهی منظم نگه‌داری شده و روزانه به میزان ۶ درصد وزن توده زنده ماهی به صورت دستی ۸ بار در روز به مدت ۶۰ روز با خوراک تجاری غذادهی شدند.

ارزیابی شاخص‌های رشد: برای ارزیابی شاخص‌های رشد کلیه تیمارها هر هفت روز به منظور ارزیابی روند رشد طولی و وزنی و محاسبه میزان غذای مورد نیاز به‌وسیله کولیس با دقت ۰/۰۱± و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ ± بیومتری شدند. تلفات در هر سه مرحله روزانه به صورت فیزیکی به‌وسیله پنس جمع آوری و شمارش گردید و در پایان آزمایش شاخص های رشد در هر مرحله با استفاده از فرمول‌های زیر مورد محاسبه قرار گرفتند (Taylor *et al*., 2006).

ضریب تبدیل غذایی (FCR)= مقدار غذای خورده /میزان تولید بیوم/شده ×۱۰۰

نرخ رشد ویژه (SGR)= $LnW_2 - LnW_1$ / طول دوره آزمایش ×۱۰۰

درصد افزایش وزن بدن=($W_2 - W_1$/ W_1)×۱۰۰

وزن نهایی (گرم)=W_2 وزن اولیه (گرم)=W_1

در پایان دوره آزمایش ماهی‌ها با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شده، آب و موکوس روی پوست ماهی در محل خونگیری پاک شده، عملیات خونگیری از طریق قطع ساقه دمی صورت گرفت (Houstton, 1997). به منظور بررسی میزان لیزوزیم و ایمونوگلوبولین سرم خون، ۱/۵ سی سی خون به داخل ویال غیر هپارینه ریخته شد و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد؛ سپس سرم خون جدا و با سمپلر در اپندروف‌های جدید ریخته شد (Jalali hajiabadi *et al*., 2009). اندازه گیری لیزوزیم به روش طیف سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت (Ellis., 1990). اندازه گیری میزان ایمنوگلوبولین با اسپکتوفتومتر به روش (Siwicki and Anderson, 1993) انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تغییرات شاخص‌های رشد و تمام آزمایشات دیگر از طریق آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن (Duncan's multiple range test) انجام شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلا رنگین‌کمان نشان داد وزن و طول نهایی در ماهیانی که در مرحله تخم با هورمون رشد حمام داده شدند، از ماهیانی که در مرحله لارو و تغذیه آغازین حمام هورمون رشد داده شدند بیشتر بود. بیشترین وزن و طول نهایی در تیمار ۰/۱ در ماهیانی که در مرحله تخم تحت تیمار هورمونی قرار گرفتند مشاهده گردید؛ همچنین بیشترین وزن نهایی مشاهده شده در تیمار ۰/۱ مرحله تخم، با تیمارهای ۰/۵ و ۱ و همچنین کلیه تیمارهای مراحل لارو، تغذیه آغازین و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0/05$)، اما طول نهایی با دیگر تیمارهای مرحله تخم و تیمارهای مراحل لاروی و تغذیه آغازین اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$)، اما اختلاف آن با گروه شاهد معنی‌دار بود ($P<0/05$) (جدول ۱).

جدول۱: نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد به تفکیک تیمار و مراحل مختلف رشد (میانگین ± انحراف معیار)

مراحل آزمایش	غلظت هورمون رشد (میلی‌گرم بر لیتر)	وزن نهایی (میلی‌گرم)	طول نهایی (سانتی‌متر)	درصد افزایش وزن بدن	ضریب تبدیل غذایی	ضریب رشد ویژه(درصد در روز)
شاهد	۰	۱۰۹۳± ۱۰/۵۹ ^{c}	۳/۹۳ ± ۰/۰۵^{c}	۶۴۰/۸۹± ۴۸/۴۳^{d}	۰/۵۹± ۰/۰۰۷^{a}	۳/۳۳± ۰/۱^{c}
تخم	۰/۱	۱۴۰۸± ۱۰/۵۸^{a}	۴/۶۶ ± ۰/۱۵^{a}	۸۶۳/۷۵± ۴۵/۱۳^{a}	۰/۴۴± ۰/۰۰۲^{c}	۳/۷۷± ۰/۰۷^{a}
	۰/۵	۱۳۳۸±۱۵ /۰۹^{b}	۴/۵۶ ± ۰/۱۱^{a}	۷۹۲/۷۷± ۵۷/۷۷^{abc}	۰/ ۴۷± ۰/۰۰۳^{c}	۳/۶۴± ۰/۱^{ab}
	۱	۱۳۸۸±۳۴/۵۱^{b}	۴/۴۶ ± ۰/۱۵^{ab}	۸۲۵/۸۷± ۴۳/۹^{ab}	۰/۴۶± ۰/۰۱^{c}	۳/۷۰± ۰/۷۹^{ab}
لارو	۰/۱	۱۲۶۴ ± ۸۶/۱۷^{c}	۴/۱ ± ۰/۲۶^{bc}	۷۵۴/۸۱± ۲۷/۲۵^{bc}	۰/۵ ± ۰/۰۳^{b}	۳/۵۷ ± ۰/۰۵^{b}
	۰/۵	۱۲۵۹ ± ۱۳^{c}	۴/۳ ± ۰/۱^{abc}	۷۹۵/۳۳± ۵۲/۱۱^{abc}	۰/۴۹± ۰/۰۰۴۲^{b}	۳/۶۱ ±۰/۰۹^{b}
	۱	۱۲۶۸ ± ۴۲/۵۲^{c}	۴/۱± ۰/۱^{bc}	۷۴۵/۷۸± ۳۴/۳^{bc}	۰/۵ ± ۰/۰۱۹^{b}	۳/۵۵ ± ۰/۰۶^{b}
بچه‌ماهی	۰/۱	۱۲۶۵ ± ۴۲/۷۲^{c}	۴/۳۶ ± ۰/۲۵^{ab}	۷۴۹/۰۹± ۴۸/۶۶^{bc}	۰/۵±۰/۱۹^{b}	۳/۵۶ ± ۰/۰۶^{b}
	۰/۵	۱۲۲۴± ۲۲^{c}	۴/۱۶ ± ۰/۲۳^{bc}	۷۴۷/۳۶± ۴۸/۶۶^{bc}	۰/۵۱ ±۰/۰۱^{b}	۳/۵۵ ± ۰/۰۹^{b}
	۱	۱۲۴۸ ±۲۰/۸۰^{c}	۴/۳۷± ۰/۴^{ab}	۷۴۳/۲۴± ۱۴/۰۵^{c}	۰/۵ ±۰/۰۰۹^{b}	۳/۵۵ ±۰/۰۲^{b}

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند ($P>0/05$).

بیشترین درصد افزایش وزن بدن (۴۵/۱۳± ۸۶۳/۷۵) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد در مرحله تخم مشاهده شد که با تیمارهای مرحله لارو و تغذیه آغازین و همچنین با گروه شاهد اختلاف معنی دار داشت ($P<0/05$)، اما بین تیمار ۰/۱ با تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر در همان مرحله تخم اختلاف

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بهترین ضریب تبدیل غذایی و ضریب رشد ویژه در تیمار ۰/۱ مرحله تخم مشاهده شد. با وجود این‌که ضریب تبدیل غذایی مربوط به ماهیان تیمار شده در مرحله تخم با تیمارهای مرحله لارو و تغذیه آغازین و شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵)، اما با تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم هورمون رشد در مرحله تخم اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۷۲± ۰/۵۹) و کمترین ضریب رشد ویژه (۰/۱± ۳/۳۳) در تیمار شاهد مشاهده شد. در هر دو شاخص مذکور تیمار های مرحله لارو و تغذیه آغازین نیز با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵)، اما بین غلظت‌های مختلف این دو مرحله اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>۰/۰۵). (جدول ۱)

با بررسی نتایج بدست آمده از سنجش میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون مشاهده شد که بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به میزان (۰/۱± ۵) و سپس در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر مرحله تخم مشاهده شد که با تیمار شاهد و تیمارهای مرحله لاروی و تغذیه آغازین اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵)؛ به علاوه در هر سه مرحله بیشترین میزان فعالیت لیزوزیم در غلظت ۰/۱ مشاهده شد (جدول۲). بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان ایمونوگلوبولین نشان داد که بیشترین میزان این پارامتر (۰/۰۵۹ ± ۳/۷۱) گرم در دسی‌لیتر در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر (مرحله تخم) هورمون رشد بود و به ترتیب در تیمارهای ۰/۵ و ۰/۱ مرحله تخم و به دنبال آن تیمارهای مرحله لارو بود، میزان ایمونوگلوبولین در غلظت‌های مختلف این مرحله اختلاف معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵)، اما اختلاف آن با تیمارهای مرحله تغذیه آغازین معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تمامی تیمارهای آزمایشی از نظر میزان ایمونوگلوبولین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول۲: نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان ایمونوگلوبولین و فعالیت لیزوزیم به تفکیک تیمار و مراحل مختلف رشد (میانگین ± انحراف معیار)

مراحل آزمایش	غلظت هورمون رشد (میلی گرم بر لیتر)	فعالیت لیزوزیم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	ایمونوگلوبولین (گرم در دسی‌لیتر)
شاهد	۰	۳± ۰/۱ [b]	۰/۸۲۹± ۰/۰۵ [j]
تخم	۰/۱	۵± ۰/۱ [a]	۳/۰۹± ۰/۳۰ [b]
	۰/۵	۴/۴± ۰/۵۹ [a]	۳/۲۷± ۰/۰۶ [b]
	۱	۳/۳± ۰/۳ [b]	۳/۷۱± ۰/۰۵ [a]
لارو	۰/۱	۳/۵± ۰/۳۶ [b]	۲/۸۳± ۰/۱۳ [c]
	۰/۵	۲/۹± ۰/۴۴ [b]	۲/۷± ۰/۰۵ [c]
	۱	۲/۸± ۰/۴ [b]	۲/۷۸± ۰/۰۶ [c]
بچه‌ماهی	۰/۱	۳/۴± ۰/۲ [b]	۲/۳۷± ۰/۰۳ [d]
	۰/۵	۳/۲± ۰/۲۶ [b]	۱/۸۶± ۰/۰۷ [e]
	۱	۳/۲± ۰/۳۵ [b]	۱/۳۷± ۰/۰۷ [f]

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

بر اساس نتایج حاصل از حمام کوتاه مدت تخم، لارو و بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان نفوذ پذیر شده با هیپوکلریت سدیم از بین سه مرحله تخم، لارو و بچه ماهی، مرحله تخم نتایج مطلوب‌تری را نشان داد. در شاخص وزن و طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه، بیشترین میزان در غلظت ۰/۱ در مرحله تخم مشاهده شد؛ همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در همین تیمار مشاهده شد. با وجود این‌که در مجموع نتایج بدست آمده از آزمایش در تیمارهای گروه تخم از مرحله لارو و بچه‌ماهی بهتر بود، اما نتایج حاصل از بررسی ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه در دو مرحله لارو و بچه‌ماهی نیز با گروه شاهد اختلاف معنی دار داشتند، اما در شاخص وزن و طول نهایی این‌روند مشاهده نگردید. نتایج این تحقیق با بررسی‌های انجام شده در ماهی تیلاپیا (Martinez *et al*., 1966)، ماهی آزاد آتلانتیک (Bjornsson *et al*., 1997)، کپور معمولی (Chatakondi *et al*., 1995)، کپور علف خوار (Lin *et al*., 1995)، سالمون تراریخته (Sundstrom *et al*., 2004; Devlin *et al*., 2001; Du *et al*., 1992) و قزل‌آلا رنگین‌کمان (Gahr *et al*., 2008) گزارش شدند مطابقت داشت. هورمون رشد جزء هورمون‌های متابولیکی است که در تنظیم متابولیسم پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها نقش داشته و رفتار تغذیه‌ای را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نشان داده شده است که هورمون رشد و گیرنده‌های آن در نواحی مغزی درگیر در تنظیم رفتار تغذیه، بالانس انرژی و انگیزه برای مصرف غذا نظیر هیپوتالاموس، هیپوکمپ و آمیگدال یافت می‌شود و این احتمال وجود دارد که هورمون رشد اثرات خود بر رفتار تغذیه‌ای را از طریق این نواحی سیستم عصبی مرکزی (CNS) اعمال می‌کند (Azain *et al*., 1995). افزایش میزان رشد ماهی در اثر هورمون رشد (افزایش وزن و طول) احتمالاً به دلیل افزایش کارایی تبدیل غذایی است که مکانیسم احتمالی آن شامل به حرکت در آوردن چربی ذخیره‌ای بدن برای تامین انرژی و تاثیر مثبت بر پروتئین‌سازی است (Denger and Hawryshym, 2001). افزایش وزن ناشی از هورمون رشد به نظر می‌رسد به دلیل ترکیبی از افزایش اشتها (Björnsson., 1994) و افزایش تبدیل خوراک (Markert *et al*., 1977; Garber *et al*., 1995; Gill *et al*., 1985) است. تحقیقات نشان داده است که هورمون رشد افزایش دهنده تقاضای انرژی و درنتیجه انگیزه تغذیه حیوان است که به دنبال آن باعث افزایش رشد می‌شود (Johnsson *et al*., 1996)؛ همچنین با افزایش سنتز DNA و میزان تقسیم و تمایز سلول‌ها، رشد سلولی را تحریک می‌کند (Yada *et al*., 1999). Johnsson و همکاران (۱۹۹۶) با تزریق درون صفاقی هورمون رشد به ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان اذعان داشتند که سطوح RNA و به دنبال آن سنتز پروتئین از طریق مدیریت هورمون رشد افزایش می‌یابد و باعث افزایش سرعت رشد در وزن و تبدیل مواد غذایی در ماهی قزل‌آلا می شود. داده‌های حاصل از بررسی آنها نشان داد که اشتها و قابلیت رقابت در ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان با تزریق هورمون رشد افزایش می‌یابد. در بررسی نتایج حاصل از آنالیز سرم خون میزان فعالیت لیزوزیم تنها در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ مرحله تخم با شاهد اختلاف معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

داشت که بالاترین مقدار در تیمار ۰/۱ و بعد از آن تیمار ۰/۵ بود. بیشترین میزان ایمونوگلوبولین در تیمار غلظت ۱ میلی‌گرم در مرحله تخم مشاهده شد. در این فاکتور تیمارهای هر سه مرحله، در هر سه غلظت با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند بیشترین اختلاف در تیمارهای مرحله تخم؛ سپس تیمارهای مرحله لارو و بعد از آن تیمارهای مرحله تغذیه آغازین گزارش شد. نتایج حاصل از این مطالعه با یافته‌های Yada و همکاران (۲۰۰۴) مبنی‌بر افزایش تولید لیزوزیم از نوتروفیل‌ها و افزایش فعالیت لیزوزیم در سرم خون با تزریق درون صفاقی هورمون رشد به قزل‌آلا رنگین کمان با وزن ۲۰۰ گرم مطابقت داشت. هورمون رشد موجب افزایش بسیاری از جنبه‌های عملکردی سیستم ایمنی می‌شود از جمله: دفاع غیراختصاصی؛ سیتوتوکسیک، فاگوسیتیک، همولیتیک و فعالیت‌های لیزوزیم. همچنین تولید ایمونوگلوبولین‌ها را به عنوان نوع خاصی از دفاع فعال می‌کند و سطح سرولوپلاسمین را به عنوان پروتئین فاز حاد افزایش می‌دهد. ژن هورمون رشد نیز در بسیاری از بافت‌های بدن ماهی به خصوص در اندام و سلول‌های لنفی بیان شده است (Yada *et al*., 2004). تیمار ماهی‌های هیپوفیزکتومی شده با هورمون رشد سطوح ایمونوگلوبولین را در ماهی دست نخورده نگه داشت، این نشان دهنده اهمیت هورمون رشد برای حفظ و تولید آنتی‌بادی پایه است (Yada *et al*., 1999). همچنین نتایج بدست آمده در این مطالعه با نتایج حاصل از کاشت پلت حاوی هورمون رشد در ماهی قزل‌آلا قهوه‌ای مطابقت داشت که باعث افزایش معنی‌دار سطح پلاسمایی هورمون رشد گردید که با میزان ایمونوگلوبولین پلاسما همبستگی مثبت داشت. ازآنجاکه هیپوفیزکتومی ماهی قزل‌آلا نیز باعث کاهش سطوح ایمونوگلوبولین در گردش و همچنین تعداد لکوسیت‌های ترشح کننده ایمونوگلوبولین در خون می‌شود (Yada *et al*., 2004). که احتمالا به دلیل نقش هورمون رشد در تحریک پرولیفراسیون درون سلولی لکوسیت‌ها در خون ماهی قزل‌آلا می‌باشد (Sakai *et al*., 1996). احتمالا هورمون رشد باعث تغییرسطوح ایمونوگلوبولین خون و میزان فعالیت لیزوزیم در مطالعه حاضر شده است مطالعات اثرات احتمالی هورمون رشد بر روی تولید آنتی بادی یا عملکرد ایمنی در ماهی محدود هستند. مطالعات بیشتری لازم است تا تعاملات هومون رشد را با عملکرد سیستم ایمنی مشخص کند. از آن‌جا که اثر هورمون رشد بر تخم، لارو و بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به صورت حمام و با نفوذپذیری برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت، مطالعه‌ای در این زمینه در ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان یا دیگر آبزیان صورت نگرفته است تا بتوان نتایج حاصل را با آن‌ها مقایسه کرد. در نهایت نتایج بدست آمده از این تحقیق نتایج تحقیقات قبلی را مبنی‌بر اثر افزایشی هورمون رشد در شاخص‌های رشد مورد مطالعه و مقدار ایمونوگلوبولین و میزان فعالیت لیزوزیم سرم را تایید می‌کند.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱- حاجی بگلو، ع.، سوراگر، م.، ۱۳۹۷. اثر شدت نور بر نرخ تخم گشایی، بازماندگی و رشد لارو قزل

www.SID.ir

Archive of SID

آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲(۲)، ۴۷-۳۷.

۲- سلیمیان، ش.، ۱۳۹۵. مقایسه روند تکامل شاخص های ایمنی در مراحل اولیه زندگی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhymcus mykiss*) دیپلوئید و تریپلوئید. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرم‌شهر. ۴۷ص.

۳- عبدالله نژاد، ز.، ۱۳۹۱. بررسی بیان‌ژن هورمون رشد طی مراحل تکاملی در تاسماهی سیبری (*Acipencer baerii*) پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه گیلان. ۷۰ص.

۴- مشجور، س.، ذوالقرنین، ح.، سالاری علی آبادی، م، ع.، قاسمی، ا.، ۱۳۹۱. بررسی رویکردهای تولید ماهیان و بی‌مهرگان تراریخته با بهره‌گیری از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک. مجله ایمنی زیستی، ۵ (۲)، ۳۰-۹.

5- Azain, M. J., Roberts, T. J., Martin, R. J., Kasser, T. R., 1995. Comparison of daily versus continuous administration of somatotropin on growth rate, feed intake, and body composition in intact female rats. Journal of animal science, 73(4), 1019-1029.

6- 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.

7- Biga, P. R., Peterson, B. C., Schelling, G. T., Hardy, R. W., Cain, K. D., Overturf, K., Ott, T. L., 2005. Bovine growth hormone treatment increased IGF-I in circulation and induced the production of a specific immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 246(1-4), 437-445.

8- Björnsson, B. T., Taranger, G. L., Hansen, T., Stefansson, S. O., Haux, C., 1994. The interrelation between photoperiod, growth hormone, and sexual maturation of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*). General and comparative endocrinology, 93(1), 70-81.

9- Björnsson, B. T., 1997. The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance. Fish Physiology and Biochemistry, 17(1-6), 9-24.

10- Boyd, R. D., Bauman, D. E., 1989. Mechanisms of action for somatotropin in growth. In Animal growth regulation. pp. 257-293.

11- Cabrita, E., Chereguini, O., Luna, M., De Paz, P., Herráez, M. P., 2003. Effect of different treatments on the chorion permeability to DMSO of turbot embryos (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 221(1-4), 593-604.

12- Chatakondi, N., Lovell, R. T., Duncan, P. L., Hayat, M., Chen, T. T., Powers, D. A., Dunham, R. A., 1995. Body composition of transgenic common carp, *Cyprinus carpio*, containing rainbow trout growth hormone gene. Aquaculture, 138(1-4), 99-109.

13- Degner, S. L., Hawryshyn, C. W., 2001. Orientation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to multiple patches of linearly polarized light. Canadian journal of zoology, 79(3), 407-415.

14- Devlin, R. H., Biagi, C. A., Yesaki, T. Y., Smailus, D. E., Byatt, J. C., 2001. Growth of domesticated transgenic fish. Nature, 409(6822), 781.

15- Du, S. J., Gong, Z., Fletcher, G. L., Shears, M. A., King, M. J., Idler, D. R., Hew, C. L., 1992. Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of an "all fish" chimeric growth hormone gene construct. Bio/technology, 10(2), 176.

www.SID.ir

Archive of SID

16- Ellis, A. E., Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Robertson, B. S., Van Muiswinkel, W. B., 1990. Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Technique in Fish Immunology. 101-103.

17- Eisemann, J. H., Tyrrell, H. F., Hammond, A. C., Reynolds, P. J., Bauman, D. E., Haaland, G., Mc Murtry, J. P., Varga, G. A., 1986. Effect of Bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford heifers: dietary digestibility, energy and nitrogen balance. The Journal of Nutrition, 116(1), 157-163.

18- Farmanfarmaian, A., Sun, L. Z., 1999. Growth hormone effects on essential amino acid absorption, muscle amino acid profile, N-retention and nutritional requirements of striped bass hybrids. Genetic Analysis: Biomolecular Engineering, 15(3-5), 107-113.

19- Foster, A. R., Houlihan, D. F., Gray, C., Medale, F., Fauconneau, B., Kaushikj, S. J., Le Bail, P. Y., 1991. The effects of ovine growth hormone on protein turnover in rainbow trout. General and comparative endocrinology, 82(1), 111-120.

20- Gahr, S. A., Vallejo, R. L., Weber, G. M., Shepherd, B. S., Silverstein, J. T., Rexroad III, C. E., 2008. Effects of short-term growth hormone treatment on liver and muscle transcriptomes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Physiological genomics, 32(3), 380-392.

21- Garber, M. J., DeYonge, K. G., Byatt, J. C., Lellis, W. A., Honeyfield, D. C., Bull, R. C., Roeder, R. A., 1995. Dose-response effects of recombinant bovine somatotropin (PosilacTM) on growth performance and body composition of two-year-old rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of animal science, 73(11), 3216-3222.

22- Gill, J. A., Sumpter, J. P., Donaldson, E. M., Dye, H. M., Souza, L., Berg, T., Langley, K., 1985. Recombinant chicken and bovine growth hormones accelerate growth in aquacultured juvenile Pacific salmon *Oncorhynchus kisutch*. Bio/technology, 3(7), 643.

23- Goodman, H. M. Schreibmon M. p, Scanes CG., 1993. Pang PKT (eds) the endocrinology of growth, development and metabolism in vertebrates. Academic press, San Diego, PP. 93-115.

24- Gluckman, P. D., Pinal, C. S. 2003. Regulation of fetal growth by the somatotrophic axis. The Journal of nutrition, 133(5), 1741-1746.

25- Higgs, D.A., Donaldson, E.M., Dye, H.M., McbBride, J.R.A., 1975. Preliminary investigation of the effect of bovine growth hormone on growth and muscle composition of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). General Comparative Endocrinol, 27, 240-253.

26- Houston, A. H., 1997. Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health?. Transactions of the American Fisheries Society, 126(6), 879-894.

27- Iacono, V. J., MacKay, B. J., DiRienzo, S., Pollock, J. J., 1980. Selective antibacterial properties of lysozyme for oral microorganisms. Infection and Immunity, 29(2), 623-632.

28- Jhingan, E., Devlin, R. H., Iwama, G. K., 2003. Disease resistance, stress response and effects of triploidy in growth hormone transgenic coho salmon. Journal of Fish Biology, 63(3), 806-823.

29- Jalali hajiabadi M.A., Sadeghi A.A., Mahbobi sofiyani N., Chamani M., Riyazi GH. 2009. The effect of dietary L-carnitine supplementation on blood factors and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Agriculture Science and Natural Resource, 47: 105-115.

30- Johnsson, J. I., Petersson, E., Jönsson, E., Björnsson, B. T., Järvi, T., 1996. Domestication and growth hormone alter antipredator behaviour and growth patterns in juvenile brown trout, Salmo trutta. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 53(7), 1546-1554.

www.SID.ir

Archive of SID

31- Leedom, T. A., Uchida, K., Yada, T., Richman III, N. H., Byatt, J. C., Collier, R. J., Grau, E. G., 2002. Recombinant bovine growth hormone treatment of tilapia: growth response, metabolic clearance, receptor binding and immunoglobulin production. Aquaculture, 207(3-4), 359-380.

32- Lin, H. R., Zhang, Q., Peter, R. E., 1995. Effects of recombinant tuna growth hormone (GH) and analogs of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on growth of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Aquaculture, 129(1-4), 342-343.

33- Lynch, D. V., Lin, T. T., Myers, S. P., Leibo, S. P., Macintyre, R. J., Pitt, R. E., Steponkus, P. L., 1989. A two-step method for permeabilization of Drosophila eggs. Cryobiology, 26(5), 445-452.

34- Markert, J. R., Higgs, D. A., Dye, H. M., MacQuarrie, D. W., 1977. Influence of bovine growth hormone on growth rate, appetite, and food conversion of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed two diets of different composition. Canadian Journal of Zoology, 55(1), 74-83.

35- Martinez, R., Estrada, M. P., Berlanga, J., Guillen, I., Hernandez, O., Cabrera, E., Pina, J. C., 1996. Growth enhancement in transgenic tilapia by ectopic expression of tilapia growth hormone. Molecular marine biology and biotechnology, 5(1), 62-70.

36– Matty, A. J., 1962. Effects of mammalian growth hormone on *Cottus scorpius* blood. Nature, 195(4840), 506.

38- Neathery, M. W., Crowe, C. T., Hartnell, G. F., Veenhuizen, J. J., Reagan, J. O., Blackmon, D. M., 1991. Effects of sometribove on performance, carcass composition, and chemical blood characteristics of dairy calves. Journal of dairy science, 74(11), 3933-3939.

37- Partridge, G. J., Lymbery, A. J., George, R. J., 2008. Finfish mariculture in inland Australia: a review of potential water sources, species, and production systems. Journal of the World Aquaculture Society, 39(3), 291-310.

39- Riley, L. G., Hirano, T., Grau, E. G., 2003. Effects of transfer from seawater to fresh water on the growth hormone/insulin-like growth factor-I axis and prolactin in the Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 136(4), 647-655.

40- Sahoo, P. K., Meher, P. K., Mahapatra, K. D., Saha, J. N., Jana, R. K., Reddy, P. V., 2004. Immune responses in different fullsib families of Indian major carp, Labeo rohita, exhibiting differential resistance to Aeromonas hydrophila infection. Aquaculture, 238(1-4), 115-125.

41- Sakai, M., Kobayashi, M., Kawauchi, H., 1996. In vitro activation of fish phagocytic cells by GH, prolactin and somatolactin. Journal of Endocrinology, 151(1), 113-118.

42- Seddiki, H., Maxime, V., Boeuf, G., Peyraud, C., 1995. Effects of growth hormone on plasma ionic regulation, respiration and extracellular acid-base status in trout (*Oncorhynchus mykiss*) transferred to seawater. Fish Physiology and Biochemistry, 14(4), 279-288.

43- Siwicki, A. K., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish diseases diagnosis and preventions methods. Olsztyn, Poland, 105- 12.

44- Sheridan, M. A., 1986. Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. General and comparative endocrinology, 64(2), 220-238.

45- Sundström, L. F., Lõhmus, M., Johnsson, J. I., Devlin, R. H., 2004. Growth hormone transgenic salmon pay for growth potential

www.SID.ir

Archive of SID

with increased predation mortality. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 271(suppl_5), S350-S352.

46- 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.

48- Waters, M. J., Shang, C. A., Behncken, S. N., Tam, S. P., Li, H., Shen, B., Lobie, P. E., 1999. Growth hormone as a cytokine. Clinical and experimental pharmacology and physiology, 26(10), 760-764.

49- Yada, T., Nagae, M., Moriyama, S., Azuma, T., 1999. Effects of prolactin and growth hormone on plasma immunoglobulin M levels of hypophysectomized rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. General and comparative endocrinology, 115(1), 46-52.

50- Yada, T., Azuma, T., Takagi, Y., 2001. Stimulation of non-specific immune functions in seawater-acclimated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, with reference to the role of growth hormone. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 129(2-3), 695-701.

51- Yada, T., Muto, K., Azuma, T., Ikuta, K., 2004. Effects of prolactin and growth hormone on plasma levels of lysozyme and ceruloplasmin in rainbow trout. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 139(1-3), 57-63.

52- Zhong, H., Li, J., Zhou, Y., Li, H., Tang, Y., Yu, J., Yu, F., 2016. A transcriptome resource for common carp after growth hormone stimulation. Marine genomics, 25, 25-27.

www.SID.ir