

## مقاله پژوهشی

## بررسی تأثیر حمام کوتاه مدت هورمون رشد بر تفریح، جذب کیسه زرده و برخی فراسنجه‌های خونی تخم، آلوین و بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نفوذپذیر شده با هیپوکلریت سدیم

- زهره امیرپور: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- عباسعلی حاجی‌بگلو\*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- محمد سوداگر: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- حامد پاکنژاد: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

## چکیده

در این تحقیق اثرات سطوح مختلف هورمون رشد بر درصد تفریح، جذب کیسه زرده و برخی فراسنجه‌های خونی در سه مرحله تخم، آلوین و بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش ۴ تیمار با غلظت‌های ۰ (گروه شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد در ۳ گروه که هر گروه در سه مرحله تخم، آلوین و بچه‌ماهی با غلظت ۰/۰۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ ثانیه نفوذپذیر شده و سپس در غلظت‌های ذکر شده هورمون رشد به مدت ۵ دقیقه حمام داده شدند. نتایج نشان داد که درصد و طول دوره تفریح در کلیه تیمارها با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ). طول دوره جذب کیسه زرده در غلظت ۰/۱، در زمان کوتاه‌تری نسبت به غلظت ۰/۵ و ۱ صورت گرفت و با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ). بیش‌ترین میزان گلبول سفید و قرمز به ترتیب در غلظت ۱ و ۰/۱ در مرحله تخم دیده شد ( $p < 0/05$ ). میزان هموگلوبین نیز در غلظت ۱ مرحله تخم بیش‌ترین مقدار را داشت. میزان هماتوکریت در همه غلظت‌های هر سه گروه (به جز در غلظت ۱ مرحله بچه‌ماهی) به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). بیش‌ترین میزان گلوکز به ترتیب در مرحله بچه‌ماهی، آلوین و تخم مشاهده شد. بیش‌ترین میزان آلبومین و پروتئین کل در غلظت ۱ مرحله تخم مشاهده شد که به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها در مراحل مختلف بود ( $p < 0/05$ ). در مجموع نتایج نشان داد که بهترین عملکرد در مرحله تخم و در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون مشاهده شد.

**کلمات کلیدی:** هورمون رشد، کیسه زرده، قزل‌آلا رنگین‌کمان، پارامترهای خون‌شناسی، هیپوکلریت سدیم



## مقدمه

می‌باشد و یکی از ابزارهای قابل دسترس برای بررسی وضعیت سلامتی ماهی آنالیز خون و پلاسما می‌باشد. نفوذپذیر کردن لایه کوریون یا کوریون‌زدایی در چندین گونه از ماهیان گزارش شده است روش‌های مختلفی برای نفوذپذیری یا حذف کوریون وجود دارد مانند حذف مکانیکی کوریون و هضم آنزیمی و هضم شیمیایی. در نفوذپذیری به‌وسیله آنزیم از هضم‌کننده‌های پروتئازی مانند آنزیم پروناز که در ماهی زبرا و میگو و جنین کپور گزارش شده استفاده می‌شود. حذف کوریونی با روش شیمیایی در حشرات، میگوها و در برخی ماهی‌ها با هیپوکلریت سدیم گزارش شده است که در ماهیان استخوانی با استفاده از پروتکل و غلظت‌های مختلف انجام شده است (Simon و همکاران، ۱۹۹۴؛ Valencia و همکاران، ۱۹۹۶) نفوذپذیری در تخم‌های *Drosophila* با هیپوکلریت سدیم بدون اثرات زیان‌آور بر بقا گزارش شد (Lynch و همکاران، ۱۹۸۹)؛ هم‌چنین جنین‌های ماهی توربوت در معرض غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد در طی ۱۵ ثانیه با هیپوکلریت سدیم نفوذپذیر شدند و غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد در نرخ بقا با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، غلظت هیپوکلریت سدیم بیش از ۰/۰۰۵ نرخ بقا را تقریباً ۶۰ درصد کاهش داد (Cabrita و همکاران، ۲۰۰۳). استفاده از هیپوکلریت سدیم در نفوذپذیری نسبت به روش‌های آنزیمی و مکانیکی بسیار ارزان‌تر و راحت‌تر است و به‌مدت زمان کم‌تری نیاز دارد، بنابراین استفاده از غلظت‌های کم خطر آن می‌تواند بهترین انتخاب برای نفوذپذیری باشد (Cabrita و همکاران، ۲۰۰۳). قرل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از خانواده آزاد ماهیان از جمله مهم‌ترین ماهیان اقتصادی است که به‌دلیل سرعت رشد و نیز کیفیت مناسب غذایی، طعم خوب و قدرت سازگاری بالا در محیط‌های آب شیرین، لب‌شور و شور پرورش داده می‌شود و بخش مهمی از شیلات تجاری و صید ورزشی را به‌خود اختصاص داده است و تاثیر قابل توجهی بر اقتصاد کشور داشته است (ستاری و همکاران، ۱۳۸۳). تکثیر و پرورش این ماهی در ایران با سرعت زیادی رو به گسترش می‌باشد به‌طوری‌که از ۱۴۳۹۱۷ تن در سال ۱۳۹۲ به ۱۶۵۷۸۷ تن در سال ۱۳۹۵ رسیده است (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۷). اصولاً تکنیک‌ها و وسایلی که بتوانند توانایی نوزاد ماهیان را در بالا بردن تغذیه آغازین بهبود بخشند، بسیار مهم و ضروری هستند، زیرا یکی از مشکلات موجود در پرورش این ماهی، پرورش در مرحله اولیه زندگی است که همواره با تلفات نسبتاً بالایی همراه می‌باشد (حاجی‌بگلو و سوداگر، ۱۳۹۷). با وجود مطالعات گسترده در ارتباط با اثرات هورمون رشد نوترکیب انسانی در رشد، بیان‌ژن، بهبود عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان و دیگر حیوانات، مطالعه‌ای در زمینه اثرات هورمون رشد در مراحل اولیه زندگی ماهی قرل‌آلای رنگین‌کمان و فراسنجه‌های خونی این ماهی به‌همراه نفوذ

میزان و سرعت رشد بدن آبی روند ثابت و پایداری را در طول مراحل مختلف زندگی ماهی نداشته و عوامل متعددی در این رابطه تاثیرگذارند (Sloman و Armstrong، ۲۰۰۲) هورمون رشد یا سوماتوتروپین در مهره‌داران از سلول‌های سوماتوتروف غده هیپوفیز ترشح می‌شود. در ماهی‌ها این سلول‌ها عمدتاً در پروکسیمال پارس دیستال در هیپوفیز قدامی واقع شده‌اند (عبدالله‌نژاد، ۱۳۹۱؛ Garcia-Hernandez و همکاران، ۱۹۹۶). این هورمون در ماهیان یک هورمون پروتئینی تک پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی تقریبی ۲۱ تا ۲۳ کیلو دالتون است و متشکل از تقریباً ۲۰۰ اسیدآمینو بوده (Canosa، ۲۰۰۷) و تنوع زیادی در اندازه نسبت به دیگر مهره‌داران نشان می‌دهد (Sciara و همکاران، ۲۰۰۶) و دارای دو باند داخلی دی سولفیدی است وجود بخش‌های غنی از سیستئین در اعضای خانواده هورمون رشد بیانگر این است که این توالی به‌شدت حفاظت شده بوده و حاکی از نقش پر اهمیت هورمون رشد در فعالیت‌های بیولوژیکی است (Canosa، ۲۰۰۷). هورمون رشد دارای یک عملکرد فیزیولوژیک پلی‌تروپیک آندوکروینی است که به‌طور مستقیم توسط افزایش ساخت DNA و پروتئین و تجزیه و تحلیل چربی در ماهیچه و به‌طور غیر مستقیم توسط وادار کردن کبد و بافت‌های پیرامونش به تولید و ترشح ژن IGF-1 (فاکتور رشد شبه‌انسولین) اثرات خود را در بدن موجودات القا می‌کند (Raily و همکاران، ۲۰۰۲؛ Busby و همکاران، ۲۰۱۰). این هورمون در تنظیم فرآیندهای متعدد و پیچیده فیزیولوژیک چون تسریع رشد سوماتیکی، دگرذیسی و تکوین، تنظیم متابولیسم چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، رشد و نمو گنادی، تنظیم اسمزی، کارکردهای سیستم ایمنی، تولیدمثل، اشتها، رفتارهای اجتماعی، شکار، حمله و فرار از شکارچی مشارکت دارد (Waters و همکاران، ۱۹۹۹؛ Bgornsson و همکاران، ۲۰۰۲). خون به‌عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن می‌باشد (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷) ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از شاخص‌های مهم دامپزشکی است که از شواهد فیزیولوژیک و منعکس‌کننده سلامتی ماهیان می‌باشد (شاهسونی، ۱۳۷۷؛ Bonga، ۱۹۹۷). به‌طور کلی کاربرد علم خون‌شناسی علاوه بر مشخص کردن وضعیت فیزیولوژیک سلول‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون به‌عنوان یک ابزار پاراکلینیکی استفاده می‌شود (خواجه و همکاران، ۱۳۸۶). یکی از شاخص‌های خونی مناسب در ماهیان، بررسی خصوصیات سلول‌های خونی (تعداد، شکل و ترکیب) آن‌ها می‌باشد (Liorente، ۲۰۰۲). تغییرات پروفایل شیمی خونی فرایند متابولیسم و تغییرات بیوشیمیایی را در ماهی منعکس می‌کند (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷). بررسی وضعیت ماهیان در شرایط پرورشی و با هدف اقتصادی بسیار مهم

**ارزیابی پارامترهای خون‌شناسی:** شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و گلبول سفید پس از رقیق‌سازی نمونه خون با استفاده از محلول دایس و سمپلر و لام نفوبار با استفاده از فرمول‌های زیر انجام شد (Atamanalp و همکاران، ۲۰۰۸):

تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب نمونه خون = تعداد گلبول‌های شمرده شده در ۵ مربع کوچک (N) × ۵ (مربع بزرگ) × ۱۰ (ارتفاع لام و لامل) × ۲۰۰ (رقت خون) = (N × ۱۰۰۰۰)

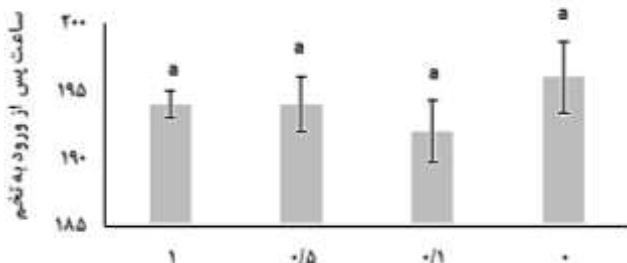
تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌متر مکعب خون = تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده در سطح مترمکعب (N) × ۱۰ (ارتفاع لام و لامل) × ۲۰ (رقت خون) = (N × ۲۰۰)

درصد هماتوکریت با استفاده از لوله‌های مویینه و سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ و به کمک خط‌کش مخصوص هماتوکریت تعیین شد (Klontz, ۱۹۹۴). هم‌چنین، میزان هموگلوبین با استفاده از کیت تجاری (زیست شیمی) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۸۹؛ Klontz, ۱۹۹۴). میزان گلوکز، آلومین و توتال پروتئین سرم خون با استفاده از کیت‌های تجاری گلوکز، آلومین و توتال پروتئین (شرکت پارس آزمون) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده به روش فتومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شدند.

## نتایج

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که طول دوره تفریح (از روز ورود تخم‌ها تا آخرین هج) در هیچ‌یک از غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد تفاوت معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ). (شکل ۱).

طول دوره تفریح



شکل ۱: مدت زمان تفریح در تخم‌های تیمار شده با هورمون رشد بر حسب ساعت حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در تیمارهای گروه تخم است ( $p > 0/05$ )

نتایج حاصل از درصد تفریح نشان داد که در هیچ‌یک از غلظت‌های ذکر شده تفاوت معنی‌داری در میزان درصد تفریح با گروه شاهد مشاهده

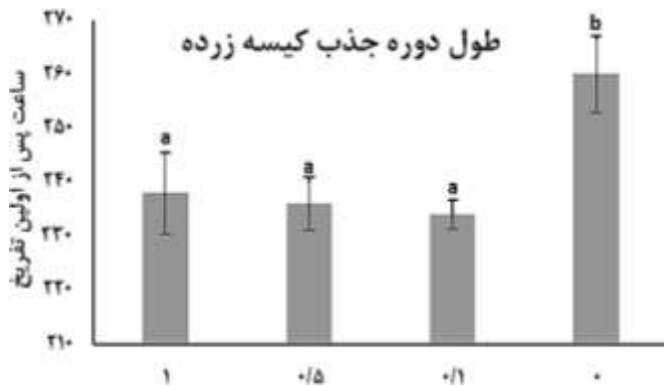
پذیر کردن آن‌ها صورت نگرفته است بنابراین هدف از این تحقیق بررسی استفاده از هورمون رشد بر تفریح، جذب کیسه‌زده و برخی فاکتورهای خونی در تخم، آلوین و بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در کارگاه حد واسط زرین ماهی واقع در روستای زرین‌گل شهرستان علی‌آباد کتول به مدت ۲ ماه از آذر تا دی‌ماه ۱۳۹۷ صورت گرفت. آزمایش دارای ۴ تیمار با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد و یک گروه شاهد با غلظت صفر بود. گروه اول: تخم‌های چشم‌زده قزل‌آلا رنگین‌کمان (شرکت آکوالند فرانسه) در روز اول ورود تخم‌ها ابتدا به وسیله هیپوکلریت سدیم نفوذپذیر شده و سپس در حمام کوتاه مدت هورمون رشد قرار گرفتند. گروه دوم: آلوین‌هایی بودند که بعد از تفریح (روز دهم)، ابتدا به وسیله هیپوکلریت سدیم نفوذپذیر شده و سپس در حمام کوتاه مدت هورمون رشد قرار گرفتند. گروه سوم: بچه‌ماهیانی که در زمان شروع تغذیه آغازین (روز بیست و سوم)، ابتدا به وسیله هیپوکلریت سدیم نفوذپذیر شده و سپس در حمام کوتاه مدت هورمون رشد قرار گرفتند. هورمون رشد نو ترکیب انسانی (Zhong و همکاران، ۲۰۱۶) از شرکت LG chem کره و هیپوکلریت سدیم از شرکت مرک آلمان تهیه شد. برای هر ۳ گروه در هر تیمار تعداد ۵۰۰ قطعه تخم، ۵۰۰ قطعه آلوین و ۵۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در نظر گرفته شد و ابتدا به مدت ۱۵ ثانیه در محلول ۰/۰۵ درصد هیپوکلریت سدیم (Cabrita و همکاران، ۲۰۰۳). نفوذپذیر و بعد از شستشو با آب مقطر به مدت ۵ دقیقه به حمام هورمون‌رشد با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر منتقل و مجدداً با آب مقطر شستشو و به مخازن انتقال داده شدند. درصد تفریح در گروه تخم از زمان ورود تخم‌ها تا آخرین هج بر حسب ساعت اندازه‌گیری شد، طول دوره زمانی جذب کیسه زرده در آلوین‌های قزل‌آلا رنگین‌کمان از زمان تفریح تا تکمیل شدن شنای فعال بر حسب ساعت در گروه آلوین اندازه‌گیری شد. هر سه گروه آلوین و بچه‌ماهی تا زمان رسیدن به وزن حدود ۱/۵ گرم در سبدهای تراف کالیفرنایی 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 ۲۱ بیضا شیراز غذادهی شدند. در پایان آزمایش بعد از رسیدن به وزن حدود ۱/۵ گرم، برای ارزیابی برخی فراسنجه‌های خونی هر سه گروه تخم، آلوین و بچه‌ماهی با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شده و با قطع ساقه دمی خونگیری صورت گرفت (Fielder و همکاران، ۲۰۰۷).



رشد با مدت زمانی (۲±۲۳۴/۶۴) ساعت سریع‌تر از تیمارهای ۰/۵ و ۱ جذب شد و با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) (شکل ۳).



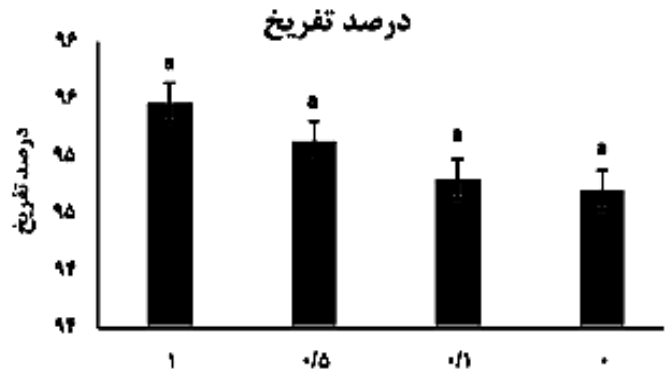
شکل ۳: مدت زمان جذب کیسه زرده بر حسب ساعت در تیمارهای گروه آلونین حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در تیمارهای گروه تخم است (P>۰/۰۵)

نشان دادند که هورمون رشد اگرچه بر درصد تفریخ و طول دوره تفریخ هیچ اثری نداشت اما در غلظت ۰/۱ باعث جذب سریع‌تر کیسه زرده شد و در ارزیابی فراسنجه‌های خونی در گروه تخم و در غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر موثرتر از گروه آلونین و بچه‌ماهی بود (جدول ۱).

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هورمون رشد بر طول دوره جذب کیسه زرده اثر معنی‌داری نسبت به گروه داشت (p<۰/۰۵)، اما بر درصد تفریخ و طول دوره تفریخ اثر معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). با توجه به نقش مستقیم هورمون رشد در افزایش جذب اسید آمینه، افزایش سنتز RNA، پروتئین، غضروف و افزایش رشد عضلات (Sheridan, ۲۰۱۱) به نظر می‌رسد از آن‌جا که دمای آب در طول دوره آزمایش در دامنه ۱۱ تا ۱۳ درجه سانتی‌گراد بود براساس نتایج حاصل از این تحقیق در زمینه کوتاه‌تر شدن طول دوره جذب کیسه زرده احتمالاً هورمون رشد در این فرایند دخیل باشد. هورمون رشد با اتصال به گیرنده‌های خود در کبد و دیگر سلول‌ها آن‌ها را به تولید فاکتور رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1=Insuline-like Growth Factor one) وادار می‌کند. در حقیقت این IGF-1 است که به بافت‌های مختلف بدن می‌رود و اثرات مثبت هورمون رشد را القا می‌کند (مشرقی و بحرینی، ۱۳۸۵). نتایج این پژوهش با نتایج اکبری و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه‌ای که بر تاثیر حمام هورمون لووتیروکسین سدیم بر تخم ماهی قزل‌آلا رنگین کمان انجام دادند، هم‌خوانی دارد. هم‌چنین گزارش شده است که هورمون رشد به‌همراه سوماتومدین‌ها (IGF-1) و برخی از هورمون‌های دیگر بر تکامل سلول‌های خونی موثر بوده است (ابوترابی و همکاران، ۱۳۸۵).

نشد (p>۰/۰۵) (شکل ۲). نتایج حاصل از بررسی مدت زمان جذب کیسه زرده نشان داد که کیسه زرده در تیمار حاوی غلظت ۰/۱ هورمون



شکل ۲: نمودار درصد تفریخ در تخم‌های تیمار شده با هورمون رشد. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در تیمارهای گروه تخم است (P>۰/۰۵)

نتایج حاصل از شمارش گلبول‌های سفید و قرمز نشان داد که بیش‌ترین تعداد گلبول سفید (۱×۱۰<sup>۴</sup>±۰/۱) و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز (۰/۲±۰/۱×۱۰<sup>۶</sup>) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون رشد مشاهده شد. میزان گلبول سفید در غلظت ۱ مرحله تخم نسبت به تیمارهای هر سه مرحله تخم، آلونین و بچه‌ماهی بیش‌تر بود. در اندازه‌گیری میزان گلبول قرمز در هر سه گروه تخم، آلونین و بچه‌ماهی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵). در ماهیانی که در مرحله تخم با هورمون رشد تیمار شدند میزان هماتوکریت به طور معنی‌داری از شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی مرحله آلونین و بچه‌ماهی نیز بیش‌تر بود اما در بین تیمارهای مرحله تخم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). کم‌ترین میزان هماتوکریت بعد از گروه شاهد در غلظت یک مرحله بچه‌ماهی مشاهده شد. میزان هموگلوبین در گروه تخم به‌طور معنی‌داری از تیمارهای گروه آلونین، بچه‌ماهی و شاهد افزایش یافته بود (p<۰/۰۵). بیش‌ترین مقدار هموگلوبین (۵/۷۷±۰/۱۴) در تیمار با غلظت ۱ میلی‌گرم گروه تخم مشاهده شد. کم‌ترین میزان گلوکز در تیمارهای گروه تخم و بیش‌ترین میزان گلوکز در تیمارهای گروه بچه‌ماهی مشاهده شد. میزان آلبومین در تیمارهای گروه تخم به‌طور معنی‌داری از شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بالاتر بود. نزدیک‌ترین میزان آلبومین به گروه شاهد در غلظت یک گروه بچه‌ماهی مشاهده شد و بیش‌ترین میزان آن در غلظت یک مرحله تخم مشاهده شد. همانند آلبومین بیش‌ترین میزان توتال پروتئین (۴/۲±۰/۰۵) در تیمار غلظت یک مرحله تخم مشاهده شد و کم‌ترین میزان توتال پروتئین مربوط به گروه شاهد و بعد از آن غلظت یک مرحله بچه‌ماهی بود میزان توتال پروتئین و آلبومین به ترتیب در تیمارهای گروه تخم نسبت به تیمارهای گروه آلونین، بچه‌ماهی و شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است. به‌طور کلی نتایج

جدول ۱: نتایج اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در سه گروه تخم، آلوین و بچه‌ماهی در سه غلظت مشابه (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

مراحل آزمایش	غلظت هورمون رشد (میلی‌گرم بر لیتر)	گلبول سفید ( $\times 10^4$ )	گلبول قرمز ( $\times 10^6$ )	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	توتال پروتئین (گرم بر دسی‌لیتر)
شاهد	۰	$0.5 \times 0.06^{cd}$	$0.86 \pm 0.01^e$	$43.00 \pm 1.00^d$	$3.71 \pm 0.16^d$	$90.86 \pm 15.45^c$	$0.636 \pm 0.04^h$	$1.33 \pm 0.05^j$
تخم	۰/۱	$0.8 \pm 0.08^b$	$1.50 \pm 0.02^a$	$55.66 \pm 3.05^{ab}$	$5.27 \pm 0.20^{ab}$	$39.56 \pm 0.43^{de}$	$1.98 \pm 0.03^c$	$3.70 \pm 0.30^b$
	۰/۵	$0.8 \pm 0.09^b$	$1.36 \pm 0.07^b$	$58.00 \pm 2.00^a$	$5.20 \pm 0.23^b$	$37.39 \pm 0.86^e$	$2.82 \pm 0.01^b$	$3.86 \pm 0.06^b$
	۱	$1 \pm 0.1^a$	$1.47 \pm 0.07^a$	$54.66 \pm 3.21^{abc}$	$5.77 \pm 0.14^a$	$51.30 \pm 0.75^d$	$3.13 \pm 0.03^a$	$4.20 \pm 0.05^a$
آلوین	۰/۱	$0.5 \pm 0.1^{cd}$	$1.05 \pm 0.05^d$	$51.00 \pm 2.64^c$	$4.48 \pm 0.16^c$	$83.62 \pm 11.37^c$	$1.62 \pm 0.08^d$	$3.46 \pm 0.09^c$
	۰/۵	$0.5 \pm 0.1^{cd}$	$1.35 \pm 0.05^b$	$53.33 \pm 2.3^{bc}$	$4.52 \pm 0.23^c$	$80.43 \pm 0.75^c$	$1.60 \pm 0.02^d$	$3.3 \pm 0.05^c$
	۱	$0.5 \times 0.08^{cd}$	$1.21 \pm 0.06^c$	$51.66 \pm 3.51^{bc}$	$3.86 \pm 0.13^d$	$88.69 \pm 1.15^c$	$1.65 \pm 0.05^d$	$3.46 \pm 0.06^c$
ماهی‌بچه	۰/۱	$0.6 \pm 0.08^c$	$1.34 \pm 0.07^b$	$53.33 \pm 1.15^{bc}$	$4.60 \pm 0.22^c$	$146.96 \pm 1.56^a$	$1.33 \pm 0.04^f$	$3.07 \pm 0.03^d$
	۰/۵	$0.5 \pm 0.1^{cd}$	$1.19 \pm 0.05^c$	$53.33 \pm 2.08^{bc}$	$4.73 \pm 0.57^c$	$135.36 \pm 7.02^a$	$1.50 \pm 0.06^e$	$2.44 \pm 0.07^e$
	۱	$0.4 \pm 0.04^d$	$1.07 \pm 0.06^d$	$45.33 \pm 1.52^d$	$4.60 \pm 0.22^c$	$104.06 \pm 7.39^b$	$0.96 \pm 0.03^j$	$1.97 \pm 0.07^f$

\* اعداد دارای حروف یکسان در هر ستون فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشند

(۱۹۹۳). هورمون رشد به‌طور مستقیم جذب گلوکز را در بافت‌های عضلانی کاهش می‌دهد و به‌طور غیرمستقیم می‌تواند سبب تحریک آزادسازی اسیدهای چرب از بافت چربی شود و استفاده از گلوکز را مهار می‌کند (Jorgensen و Moller, ۲۰۰۹). علاوه بر این، هورمون رشد باعث کاهش جذب گلوکز از طریق کاهش غلظت GLUTها (انتقال‌دهنده‌های گلوکز) می‌شود (Dalmolin و همکاران، ۲۰۱۸؛ Duelli و Kuschinsky, ۲۰۰۱). آنالیز فاکتورهای پلاسمای خون نشان داد که سطح گلوکز پلازما افزایش یافت و با نتایج (Sweeting و همکاران، ۱۹۸۵) هم‌خوانی داشت. هم‌چنین آن‌ها اذعان داشتند هورمون رشد ابتدا یک اثر شبه انسولین ایجاد می‌کند و باعث کاهش گلوکز خون می‌شود و بعد از گذشت مدت زمانی از تزریق اثر متضاد انسولین در بافت‌ها ایجاد کرده و باعث کاهش مصرف گلوکز شده که سطح آن در پلازما افزایش می‌یابد پس احتمالاً بالاتر بودن سطح گلوکز در تیمارهای گروه بچه‌ماهی نسبت به گروه آلوین و تخم که در زمان نزدیک‌تری تحت تیمار هورمون رشد قرار گرفتند به این اثر هورمون رشد مربوط می‌باشد. میزان آلبومین و پروتئین کل نیز تحت تیمار هورمون رشد در پلازما افزایش یافت و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ( $p > 0.05$ ). از آن‌جاکه آلبومین در خون دارای عملکرد اسموتیک و انتقالی است و سبب جذب مایع خارج سلولی به‌داخل گردش خون می‌شود و هم‌چنین یک پروتئین اتصالاتی و انتقالی اصلی در انتقال برخی اسیدهای چرب می‌باشد (Shalev و همکاران، ۱۹۹۵) و با توجه به این‌که هورمون رشد باعث افزایش تجزیه تری‌گلسیریدها و اکسایش در یاخته‌های چربی می‌شود (Eiseman و همکاران، ۱۹۸۶)، احتمالاً آلبومین به‌دلیل نقش اسموتیکی و انتقالی اسیدهای چرب در اثر تیمار با هورمون رشد افزایش یافته است. میزان پروتئین کل نیز

نتایج حاصل از آنالیز خون در مطالعه حاضر نشان داد که هورمون رشد، افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، افزایش درصد هماتوکریت و افزایش میزان هموگلوبین خون را به‌دنبال داشت که با نتایج Murphy و همکاران (۱۹۹۵) مبنی بر افزایش تکثیر لنفوسیت‌های T و نتایج Yoshid و Kimata (۱۹۹۴) توسعه تمایز سلولی لنفوسیت‌های B در موش مطابقت داشت. همین‌طور با نتایج Phillips و همکاران (۱۹۹۸) در موش‌های نوزادی که با IGF-I تیمار شدند تولید سریع گلبول قرمز مشاهده شد که این مسئله با نتایج ما مطابقت داشت. از سوی دیگر Vihervuori و همکاران (۱۹۹۶) بیان کردند که تزریق هورمون رشد انسانی به کودکان دچار کوتاهی قد باعث افزایش سطح هموگلوبین خون آن‌ها می‌شود، پس می‌توان بیان کرد که هورمون رشد سبب افزایش میزان هموگلوبین خون در این آزمایش شده است. این افزایش به‌نظر می‌رسد که به تامین اکسیژن بهتر برای رشد بافت‌ها کمک می‌کند. Tian و همکاران (۱۹۹۸) با آنالیز خون موش‌هایی که پیوند مغز استخوان در آن‌ها انجام شده بود و بعد از آن با هورمون رشد نوترکیب انسانی تیمار شده بودند افزایش قابل توجهی در میزان گلبول سفید و افزایش پلاکت، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تمام مراحل بعد از پیوند را بیان کردند که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت داشت. افزایش میزان سلول‌های خونی احتمالاً به‌منظور ایفای نقش هورمون رشد در افزایش کارایی سیستم ایمنی و انتقال اکسیژن در موجودات می‌باشد. گزارش شده است که هورمون رشد یک ماده دیابتوژنیک است و به‌وسیله اثر ضدانسولینی، گلیکولیز کبدی و عضلانی و گلوکونئوز کبدی و متابولیسم لیپید، منجر به افزایش سطح گلوکز پلازما می‌شود اما مصرف گلوکز در بدن را به صورت مستقیم و غیرمستقیم کاهش می‌دهد (Valera و همکاران،



- در هر سه گروه نسبت به گروه شاهد افزایش یافت و با نتایج Björnsson (۱۹۹۴) مطابقت داشت.
- نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از حمام کوتاه مدت هورمون رشد به همراه نفوذپذیری تخم، لارو و بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در مرحله تخم بهترین عملکرد را نسبت مرحله لارو و بچه‌ماهی داشته است و مناسب‌ترین غلظت در مرحله تخم را غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر داشت. با وجود مطالعات گسترده در ارتباط با اثرات هورمون رشد نو ترکیب انسانی در رشد، بیان ژن، بهبود عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان و دیگر حیوانات، مطالعه‌ای در زمینه اثرات هورمون رشد در مراحل اولیه زندگی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان و فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان به همراه نفوذپذیر کردن آن‌ها صورت نگرفته است بنابراین مطالعات بیشتری در این زمینه برای یافتن اطلاعات دقیق‌تر و کاربردی به منظور پیشرفت صنعت آبی‌پروری مورد نیاز می‌باشد.
- منابع**
۱. اکبری، پ؛ فریدونی، م.س. و اخلاقی، م.، ۱۳۹۴. اثر هورمون لووتیروکسین سدیم بر درصد تخمه‌گشایی و بقا لارو قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*) در مراحل اولیه رشد. مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران). جلد ۲، شماره ۲، صفحات ۱۴۶ تا ۱۵۳.
  ۲. ابوترابی، ر؛ راوریان، م؛ مختاری، ا. و رجبان، ر.، ۱۳۸۵. مطالعه کم‌خونی در مبتلایان به کم‌کاری تیروئید. مجله علمی نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران. دوره ۲۴، شماره ۱، صفحات ۱۳ تا ۱۷.
  ۳. جمال‌زاده، ح؛ کیوان، ا؛ عربان، ش. و قمی‌مرزدشتی، م.ر.، ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱۷، شماره ۳، صفحات ۴۷ تا ۵۴.
  ۴. حاجی بگلو، ع. و سوداگر، م.، ۱۳۹۷. اثر شدت نور بر نرخ تخم‌گشایی، بازماندگی و رشد آلون قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبی‌پروری. دوره ۱۲ شماره ۲، صفحات ۳۷ تا ۴۷.
  ۵. خواجه، غ؛ مصباح، م. و پیغان، ر.، ۱۳۸۶. مطالعه مقایسه‌ای برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی بنی (*Barbus sharpeya*) و کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) پرورشی. مجله دامپزشکی ایران (دانشگاه شهید چمران اهواز). دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۱۴ تا ۲۳.
  ۶. ستاری، م؛ شاهسونی، د؛ شعبانی‌پور، ن. و شفیعی، ش.، ۱۳۸۵. ماهی‌شناسی (۱). رشت، چاپ دوم، نشر حق‌شناس. ۶۶۲ صفحه.
  ۷. عامری‌مه‌بادی، م.، ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۱۲۶ صفحه.
  ۸. عبدالله‌نژاد، ز.، ۱۳۹۱. بررسی بیان ژن هورمون رشد طی مراحل تکاملی در ناس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان. ۷۹ صفحه.
  ۹. شاهسونی، د؛ وثوقی، غ.ح. و خضرائی‌نیا، پ.، ۱۳۷۷. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب‌شرقی دریای خزر. پژوهش و سازندگی. شماره ۴۴. صفحات ۱۲۶ تا ۱۳۰.
  ۱۰. مشرفی، م. و بحرینی، م.، ۱۳۸۵. هشدارهایی در بهره‌گیری از هورمون رشد. فصلنامه اخلاق در علوم و فناوری. شماره ۱، صفحات ۶۷ تا ۷۲.
  11. Atamanalp, M.; Angis, S.; Oguzhan, P. and Aksakal, E., 2008. Alterations in hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to DDVP. Israeli Journal of Aquaculture Bamidgheh. pp: 9-12.
  12. Björnsson, B.T.; Johansson, V.; Benedet, S.; Einarsdottir, I.E.; Hildahl, J.; Agustsson, T. and Jönsson, E., 2002. Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 27, No. 3-4, pp: 227-242.
  13. Bonga, W., 1997. the stress response in fish. Physiol. Rev. 77 p.
  14. Busby, E.R.; Roch, G.J. and Sherwood, N.M., 2010. Endocrinology of zebrafish: a small fish with a large gene pool. Fish Physiology. Vol. 29, pp: 173-247.
  15. Cabrita, E.; Chereguini, O.; Luna, M.; De Paz, P. and Herráez, M.P., 2003. Effect of different treatments on the chorion permeability to DMSO of turbot embryos (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture. Vol. 221 No. 1-4, pp: 593-604.
  16. Canosa, L.F.; Chang, J.P. and Peter, R.E., 2007. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. General and Comparative Endocrinology. Vol. 151, No. 1, pp: 1-26.
  17. Dalmolin, C.; Almeida, D.V.; Figueiredo, M.A. and Marins, L.F., 2018. Expression profile of glucose transport related genes under chronic and acute exposure to growth hormone in zebrafish. Comparative Biochemistry and Physiology A. Vol. 221, pp: 1-6.
  18. Duelli, R. and Kuschinsky, W., 2001. Brain glucose transporters: relationship to local energy demand. Physiology. Vol. 16, No. 2, pp: 71-76.
  19. Eisemann, J.H.; Tyrrell, H.F.; Hammond, A.C.; Reynolds, P.J.; Bauman, D.E.; Haaland, G.L. and Varga,

29. **Riley, L.G.; Hirano, T. and 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. B. Vol. 136, pp: 647-655.
30. **Sciara, A.A.; Rubiolo, J.A.; Somoza, G.M. and Arranz, S.E., 2006.** Molecular cloning, expression and immunological characterization of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) growth hormone. Comparative Biochemistry and Physiology. C. Vol. 142, No. 3-4, pp: 284-292.
31. **Shalev, E.; Giladi, Y.; Matilsky, M. and Ben-Ami, M., 1995.** Decreased incidence of severe ovarian hyperstimulation syndrome in high risk in-vitro fertilization patients receiving intravenous albumin: a prospective study. Human Reproduction. Vol. 10, No. 6, pp: 1373-1386.
32. **Sheridan, M., 2011.** Endocrinology of fish growth. Encyclopaedia of fish physiology: from genome to environment. Elsevier. pp: 1483-1489.
33. **Simon, C.; Dumont, P.; Cuende, F.X. and Diter, A., 1994.** Determination of suitable freezing media for cryopreservation of *Penaeus indicus* embryos. Cryobiology. Vol. 31, No. 3, pp: 245-253.
34. **Sloman, K.A. and Armstrong, J.D., 2002.** Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artefacts or natural phenomena? Journal of Fish Biology. Vol. 61, No. 1, pp: 1-23.
35. **Sweeting, R.M.; Wagner, G.F. and McKeown, B.A., 1985.** Changes in plasma glucose, amino acid nitrogen and growth hormone during smoltification and seawater adaptation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture. Vol. 45, No. 1-4, pp: 185-197.
36. **Tian, Z.G.; Woody, M.A.; Sun, R.; Welniak, L.A.; Raziuddin, A.; Funakoshi, S. and Murphy, W.J., 1998.** Recombinant human growth hormone promotes hematopoietic reconstitution after syngeneic bone marrow transplantation in mice. Stem Cells. Vol. 16, No. 3, pp: 193-199.
37. **Valencia, M.D.P.; Miller, L.H. and Mazur, P., 1996.** Permeabilization of Eggs of the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. Cryobiology. Vol. 33, No. 1, pp: 149-162.
38. **Valera, A.L.F.O.N.S.; Rodriguez-Gil, J.E.; Yun, J.S.; McGrane, M.M.; Hanson, R.W. and Bosch, F., 1993.** G.A., 1986. Effect of bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford heifers: dietary digestibility, energy and nitrogen balance. Journal of nutrition. Vol. 116, No. 1, pp: 157-163.
20. **Fielder, D.S.; Allan, G.L.; Pepperall, D. and Pankhurst, P.M., 2007.** The effects of changes in salinity on osmoregulation and chloride cell morphology of juvenile Australian snapper, *Pagrus auratus*. Aquaculture. Vol. 272, pp: 656-666.
21. **García-Hernández, M.P.; García-Ayala, A.; Elbal, M.T. and Agulleiro, B., 1996.** The adenohypophysis of Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso, 1810): an immunocytochemical study. Tissue and Cell. Vol. 28, No. 5, pp: 577-585.
22. **Kimata, H. and Yoshida, A., 1994.** Differential effect of growth hormone and insulin-like growth Factor-I, insulin like growth factor-II, and insulin on Ig production and growth in human plasma cells. Blood. Vol. 83, No. 6, pp: 1569-1574.
23. **Klontz, G.W., 1994.** Fish hematology. Techniques in fish immunology, Stolen, J.S.; Fletcher, T.C.; Rowley, A.F.; Kelikoff, T.C.; Kaatari, S.L. and Smith, S.A., (eds). Vol. 3<sup>rd</sup>. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp: 121-132.
24. **Liorente, M.T.; Martos, A. and Castano, A., 2002.** Detection of cytogenetic alterations and blood cell changes in natural populations of carp. Ecotoxicology. Vol. 11, No. 1, pp: 27-34.
25. **Lynch, D.V.; Lin, T.T.; Myers, S.P.; Leibo, S.P.; Macintyre, R.J.; Pitt, R.E. and Steponkus, P.L., 1989.** A two-step method for permeabilization of *Drosophila* eggs. Cryobiology. Vol. 26, No. 5, pp: 445-452.
26. **Møller, N. and Jørgensen, J.O.L., 2009.** Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. Endocrine reviews. Vol. 30, No. 2, pp: 152-177.
27. **Murphy, W.J.; Rui, H. and Longo, D.L., 1995.** Effects of growth hormone and prolactin immune development and function. Life sciences. Vol. 57, No. 1, pp: 1-14.
28. **Philipps, A.F.; Persson, B.; Hall, K.; Lake, M.; Skottner, A.; Sanengen, T. and Sara, V.R., 1988.** The effects of biosynthetic insulin-like growth factor-1 supplementation on somatic growth, maturation, and erythropoiesis on the neonatal rat. Pediatric research. Vol. 23, pp: 298-305.



- Glucose metabolism in transgenic mice containing a chimeric P-enolpyruvate carboxykinase/bovine growth hormone gene. *FASEB Journal*. Vol. 7, No. 9, pp: 791-800.
- 39. Vihervuori, E.; Virtanen, M.; Koistinen, H.; Koistinen, R.; Seppala, M. and Siimes, M.A., 1996.** Hemoglobin level is linked to growth hormone-dependent proteins in short children. *Blood*. Vol. 87, No. 5, pp: 2075-2081.
- 40. Waters, M.J.; Shang, C.A.; Behncken, S.N.; Tam, S.P.; Li, H.; Shen, B. and Lobie, P.E., 1999.** Growth hormone as a cytokine. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. Vol. 26, pp: 760-764.
- 41. Zhong, H.; Li, J.; Zhou, Y.; Li, H.; Tang, Y.; Yu, J. and Yu, F., 2016.** A transcriptome resource for common carp after growth hormone stimulation. *Marine genomics*. Vol. 25, pp: 25-27.





## The effect of short-term growth hormone bath on hatching, absorption of yolk sacs and some blood parameters of egg, Alvin and fry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) permeable to sodium hypochlorite

- **Zohre Amirpur:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Abas Ali Hajibeglou\*:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Mohamad Sudagar:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Hamed paknezhad:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: April 2019

Accepted: July 2019

**Key words:** Growth Hormone, yolk sac, Rainbow Trout, Hematology Parameters, Sodium Hypochlorite

### Abstract

This study investigated the effects of different levels of growth hormone on hatching rate, yolk sac absorption and some blood parameters in egg, Alvin and fry stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The experiment consisted of 4 treatments 0 (control) 0.1, 0.5 and 1 mg/l of growth hormone in 3 groups, each group at 3 stages of fish life (egg, Alvin and fry) permeabeled with sodium hypochlorite (0.005%) for 15 seconds and then Immersed in the concentrations of growth hormone for 5 minutes. Results showed that the percentage and duration of hatching time in all treatments were not significantly different with control ( $p>0.05$ ). The length of absorption period of yolk sac in 0.1 mg/l was lower than 0.5 and 1 mg/l. Moreover, it was significantly lower than control group ( $p<0.05$ ). The highest amount of white and red blood cells was in egg stage with 1 and 0.1 mg/l respectively, which was significantly different from control ( $p<0.05$ ). Hemoglobin levels were also highest in 1 mg/l in egg stage. Hematocrit levels were significantly higher in all experimental groups (except in 1 mg/l in fry stage) compared to control. The highest levels of glucose were respectively observed in the fry, Alvin and egg stage. The highest amount of albumin and total protein were observed in 1 mg/l in egg stage which significantly were higher than other experimental and control group in different stages ( $p<0.05$ ). in conclusion, in egg stage, 1 mg/l of growth hormone had the best performance compared to other stages.

\* Corresponding Author's email: alihajibeglou@gmail.com

