

اثر هورمون لووتیروکسین سدیم بر درصد تخمه گشایی و بقاء لارو قزل آلابی رنگین کمان در مراحل اولیه رشد

پریا اکبری*

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار-ایران

(دریافت مقاله: ۱۰ خرداد ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ مرداد ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: هورمون تیروکسین ارتباط ویژه‌ای با مراحل اولیه رشد، نمو و بقاء تخم و لارو ماهیان دارد. هدف از این تحقیق، بررسی نحوه عملکرد هورمون لووتیروکسین سدیم بر درصد تخمه گشایی و بقاء لارو قزل آلابی رنگین کمان در مراحل اولیه رشد و نمو می‌باشد. روش کار: این تحقیق، در کارگاه تکثیر و پرورش روستای دلخان سپیدان شیراز انجام گرفت تخم‌های لقاح یافته به مدت شش ساعت در حمام لووتیروکسین سدیم با غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ (باسه تکرار)، در سینی ترف‌های فایبر گلاس قرار گرفتند. بعد از تخمه گشایی لاروهای حاصله به مدت ۶ ساعت مجدداً در حمام لووتیروکسین سدیم با غلظت‌های فوق قرار گرفتند، سپس تا مرحله جذب کیسه زرده، در ترف‌های بدون سینی دارای جریان آب قرار گرفته و پس از تخلیه لاروها در تشت‌های جداگانه، به شمارش لاروها پرداخته شد. در پایان، پس از جذب کیسه زرده، تعداد لاروهای زنده قزل آلابی رنگین کمان شمارش گردید. نتایج: نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که بیشترین درصد تخمه گشایی (۰/۴ ± ۰/۸۱٪) و درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده (۰/۷۵ ± ۰/۷۲٪) در غلظت ۰/۵ mg/L لووتیروکسین سدیم، مشاهده شد (p < ۰/۰۵). اما میزان درصد تخمه گشایی و درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده، در غلظت ۱ mg/L و اختلاف معنی داری رانشان نداد (p > ۰/۰۵). نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج حاضر غلظت ۰/۵ mg/L لووتیروکسین سدیم، تأثیر مثبتی بر درصد تخمه گشایی و بقاء لارو قزل آلابی رنگین کمان دارد.

واژه‌های کلیدی: قزل آلابی رنگین کمان، هورمون تیروئید، جذب کیسه زرده

مقدمه

عملکرد هورمون‌های تیروئید، تیروکسین (T4) و تری‌یدو تیرونین (T3). در کنترل رشد و تکامل اندام‌های اصلی در مراحل تکامل جنینی و لاروی در مهره داران ابتدایی و پیشرفته بخوبی مشخص شده است (۱۳، ۱۴). همچنین هورمون‌های تیروئید، اثرات متنوعی بر روی فیزیولوژی ماهی بر جای می‌گذارد بسیاری از این اعمال، هنوز به خوبی مشخص نشده است اما شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد این هورمون‌ها، بر افزایش میزان رشد، تکامل (دگر دسی) لاروها، بقاء و تسریع جذب کیسه زرده در ماهیان استخوانی نظیر تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) (۸)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۱۰)، خامه ماهی (*Chanos chanos*) (۶) چندین گونه ماهیان دریایی (۳، ۱۰) نقش مهمی ایفاء می‌نمایند هر چند Hirano و Tagawan در سال ۱۹۹۱ گزارش نمودند که کمبود هورمون‌های تیروئید در تخم‌های ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) تأثیر چندانی بر رشد و بقاء لاروها ندارد (۱۶). همچنین هورمون تیروکسین (T4) منجر به تسریع جذب کیسه زرده لارو تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (۱۰) و انتقال لارو به مرحله شنای فعال در گونه دیگر تیلاپیا (*Aequidens portalegrensis*) می‌گردد (۹).

هورمون‌های تیروئیدی در آب غیر محلول هستند و انتقال آنها در داخل جریان خون، از طریق اتصال به پروتئین صورت می‌گیرد، اما این

پروتئین‌ها در بعضی از گونه‌های ماهیان وجود ندارد. تعداد اندام‌ها، دستگاه‌های بدن و روند سوخت و سازی که تحت تأثیر هورمون‌های تیروئیدی قرار می‌گیرند بیش از هر هورمون دیگری است (۱۱، ۱۴).

هورمون‌های تیروئیدی در ماهیان، در کنترل رشد و نمو، سوخت و ساز و تنظیم اسمزی، غالباً در ارتباط و هماهنگی با هورمون رشد و کورتیزول مشارکت دارند. هورمون‌های تیروئیدی با منشأ مادری در زرده تخم غیر بارور در گونه‌های مختلف ماهیان آب شیرین و شور یافت می‌شوند که احتمالاً در تکامل اولیه تخم اهمیت دارد (۲، ۴، ۱۳، ۱۵، ۱۶). به علاوه هورمون‌های تیروئید به طور قابل ملاحظه‌ای منجر به کاهش کانی بالیسم می‌گردد (۱، ۱۸).

هدف از این تحقیق، مطالعه تأثیر هورمون لووتیروکسین سدیم در مراحل مختلف رشد و نمو جنین تا مرحله جذب کیسه زرده و نیز بررسی استفاده از لووتیروکسین سدیم در بقاء تخم و لارو ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌باشد.

مواد و روش کار

این بررسی در آبان ماه ۱۳۹۰ در کارگاه تکثیر و پرورش روستای دلخان واقع در ۲۰ km شهرستان سپیدان شیراز صورت گرفت. از ۶ عدد ماهی نر و ۱۲ عدد ماهی ماده قزل آلابی رنگین کمان اسپرم و تخمک استحصال شد. پس از اطمینان یافتن از رسیدگی جنسی، مولدین به سالن انکوباسیون برده شده، پس از بیهوش شدن در ۱۵۰ mg/L عصاره گل میخک، از آنها





تصویر ۱. تخم‌گیری از مولد قزل‌آلای رنگین‌کمان.



تصویر ۲. ترف‌های فایبرگلاس.



تصویر ۳. انتقال لاروها از سینی به ترف و قرار گرفتن ترف در حوضچه بتونی.

غلظت 0.5 mg/L هورمون لووتیروکسین سدیم مشاهده شد ($75/90 \pm 7.2\%$) و اختلاف معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$) و نسبت به گروه شاهد $10/15\%$ افزایش یافت. اما میزان درصد بقاء در غلظت 1 mg/L با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد

تخم‌کشی گردید (تصویر ۱).

سپس تخمک‌های به دست آمده با روش نیمه خشک با آب سالن تکثیر بارور شدند. تخم‌های تازه لقاح یافته در تراکم 10000 عدد تخم به ازای هر سینی تخم، در ترف‌های فایبرگلاس با حجم آب یکسان، قرار داده شد (تصویر ۲).

این ترف‌ها دارای غلظت‌های متفاوتی از لووتیروکسین سدیم (تهیه شده از شرکت ایران هورمون) شامل غلظت‌های $0.1, 0.5, 1.0 \text{ mg/L}$ و 0 بودند که غلظت صفر به عنوان گروه شاهد بود. آزمایشات مربوط به هر غلظت سه مرتبه تکرار شد. ابتدا تخم‌های لقاح یافته به مدت شش ساعت در حمام لووتیروکسین سدیم با غلظت‌های متفاوت قرار گرفتند به گونه‌ای که غلظت‌های مورد آزمایش جداگانه در داخل ظروف پلاستیکی 30 L ریخته شد و به ازای هر 10000 عدد تخم در هر دقیقه 3 L لووتیروکسین سدیم از ترف‌ها عبور داده شد. بعد از شش ساعت تخم‌ها به آرامی در مقابل جریان آب معمولی سالن در داخل سالن قرار گرفتند (۲) و پس از خروج لاروها، مجدداً به مدت ۶ ساعت لاروها در حمام لووتیروکسین سدیم قرار گرفتند. در طول آزمایش دمای آب $1 \pm 0.1^\circ \text{C}$ بود. سپس لاروهای هر گروه به آرامی وارد تشت شده و شمارش گردیدند و سپس تا مرحله جذب کیسه زرده از داخل سینی‌های ترف بداخل ترف انتقال داده شده و ترف‌ها به حوضچه‌های بتونی موجود در سالن تکثیر انتقال داده شد (تصویر ۳) در پایان، تعداد لاروهای زنده بعد از جذب کیسه زرده محاسبه شد.

مجموعه تخمک‌های به دست آمده به طور تصادفی به گروه‌های مختلف دسته بندی شدند تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به تغییرات درصد تخمه‌گشایی، تعداد تخم، لاروها و درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده به کمک روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد.

نتایج

نمودار یک درصد تخمه‌گشایی را در غلظت‌های مختلف هورمون لووتیروکسین سدیم نشان می‌دهد. درصد تخمه‌گشایی در گروه‌های با غلظت‌های 0.1 mg/L و 0.5 به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های با غلظت 1 mg/L و هورمون لووتیروکسین سدیم بود ($p < 0.05$). همچنین بیشترین میزان درصد تخمه‌گشایی در گروه با غلظت 0.5 mg/L لووتیروکسین سدیم مشاهده شد ($p < 0.05$).

تعداد تخم و لاروهای حاصل از تخم‌های تفریخ شده در غلظت‌های مختلف هورمون لووتیروکسین سدیم در نمودار ۲ نشان داده شده است. بیشترین تعداد لاروهای حاصل مربوط به گروه با غلظت 0.5 mg/L بود و اختلاف معنی‌داری را با گروه 1 mg/L هورمون لووتیروکسین سدیم، نشان داد ($p < 0.05$).

نتایج حاصل از میزان درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده (نمودار ۳) نشان داد که بیشترین درصد بقاء در لاروهای حاصل از حمام با



($p > 0.05$).

بحث

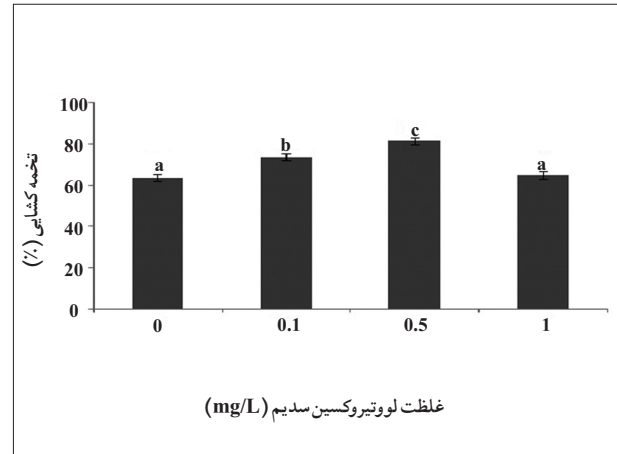
نتایج حاصل از نمودار نشان داد که درصد تخمه گشایی در گروه‌های با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ mg/L به طور معنی داری بیشتر از گروه‌های با غلظت ۱ mg/L و ۰/۵ mg/L بود ($p < 0.05$). همچنین بیشترین میزان درصد تخمه گشایی در گروه با غلظت ۰/۵ mg/L لووتیروکسین سدیم مشاهده شد ($p < 0.05$). این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از غلظت کم هورمون لووتیروکسین سدیم، تأثیر مثبتی در افزایش درصد تخمه گشایی و بقاء تخم‌های قزل آلا رنگین‌کمان دارد که

با نتایج به دست آمده از تحقیقات دیگر مطابقت دارد (۲۰۴، ۱۳، ۱۵، ۱۶). همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تعداد تخم‌های تفریح شده در حمام هورمون لووتیروکسین سدیم ۰/۵ mg/L نسبت به گروه شاهد ۱۷/۷۹٪ افزایش یافت. اما در غلظت ۱ mg/L میزان درصد تخمه گشایی به شدت کاهش یافت. که با نتایج به دست آمده از تحقیق Moradian و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی ماهی فیتوفاگ *Hypophthalmichthys molitrix* همخوانی داشت (۸).

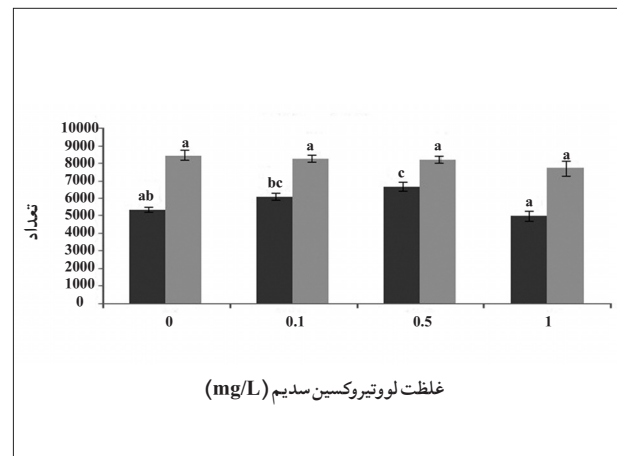
نتایج حاصل از نمودار ۲ نشان داد که با توجه به یکسان بودن تعداد تخم در غلظت‌های مختلف لووتیروکسین سدیم، بیشترین تعداد لاروهای حاصل مربوط به گروه با غلظت ۰/۵ mg/L بود و اختلاف معنی داری را با گروه ۰ mg/L و ۱ mg/L هورمون لووتیروکسین سدیم، نشان داد ($p < 0.05$) که این موضوع نشان می‌دهد که با توجه به افزایش میزان درصد تخمه گشایی در گروه با غلظت ۰/۵ mg/L، تعداد لاروهای حاصله افزایش یافته است که با تحقیقات صورت گرفته بر روی تیلپیا (*Oreochromis mossambicus*) (۵)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۱۰)، خامه ماهی (*Chanos chanos*) (۶) و چندین گونه ماهیان دریایی (۳، ۱۰) همخوانی داشت.

Lam و Sharma در سال ۱۹۸۱ و Moradian و همکاران در سال ۲۰۰۳ به بررسی تأثیر هورمون تیروکسین بر قابلیت تفریح تخم‌ها در غلظت‌های مختلف تیروکسین (۰/۱، ۰/۵، ۱ mg/L) در کپور معمولی و فیتوفاگ پرداختند و به طور موفقیت آمیزی با افزایش تخم‌های تفریح شده مواجه شدند (۷، ۸).

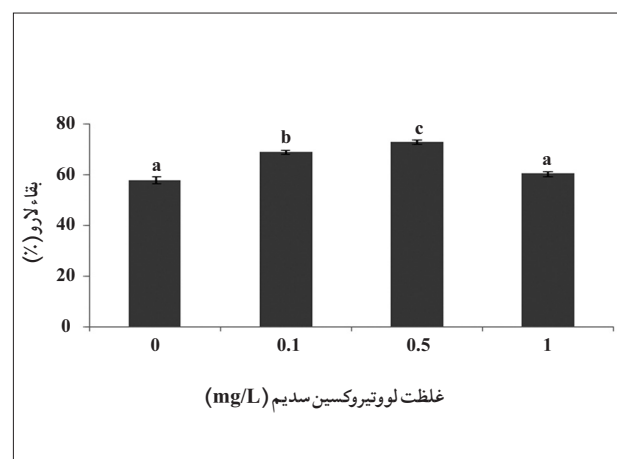
نتایج حاصل از میزان درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده (نمودار ۳) نشان داد که بیشترین درصد بقاء در لاروهای حاصل از حمام با غلظت ۰/۵ mg/L هورمون لووتیروکسین سدیم مشاهده شد (۷۵/۹۰±۷/۲۲٪) و اختلاف معنی داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$) و نسبت به گروه شاهد ۱۵/۱۰٪ افزایش یافت. همچنین در گروه با غلظت ۰/۱ mg/L میزان درصد بقاء لاروها بعد از جذب کیسه زرده (۹۴/۸۶±۶/۶۸٪) نسبت به گروه شاهد ۱۱/۰۶٪ افزایش یافت و اختلاف معنی داری را نشان داد ($p > 0.05$). اما میزان درصد بقاء در غلظت ۱ mg/L



نمودار ۱. تغییرات میزان درصد تخمه گشایی در غلظت‌های مختلف هورمون لووتیروکسین سدیم (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است).



نمودار ۲. تعداد تخم و لاروهای حاصل از غلظت‌های مختلف هورمون لووتیروکسین سدیم (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است).



نمودار ۳. میزان درصد بقاء لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده در غلظت‌های مختلف هورمون لووتیروکسین سدیم (حروف غیر همنام نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است).



References

1. Brown, C.L., Doroshov, S., Nuñez, J., Hadley, C., Vaneennaam, J., Nishioka, R.S., Bern, H.A. (1988) Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J Exp Zool.* 248: 168-176.
 2. Brown, C.L., Doroshov, S.I., Cochran, D.M., Bern, H.A. (1989) Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish Physiol Biochem.* 7: 295-299.
 3. Brown, C.L., Kim, B.G. (1995) Combined application of cortisol and triiodothyronine in marine finfish culture. *Aquaculture.* 135: 79-85.
 4. Kobuke, L., Specker, J.L., Bern, H.A. (1998) Thyroxine content of eggs and larvae of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *J Exp Zool.* 242: 89-94.
 5. Lam, T.J. (1998) Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia mossambicus*). *Ruppel Aquacult.* 21: 287-291.
 6. Lam, T.J., Juario, J.V., Banno, J. (1985) Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture.* 46: 179-184.
 7. Lam, T.J., Sharma, R. (1985) Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture.* 44: 201-212.
 8. Moradian, F., Jamili, S.H., Bahmani, M., Toloei, M. H., Mohammadi, Gh. (2003) The effect of thyroxine on percentage of hatching (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iran J Fish Sci.* 12: 167-174.
 9. Munro, A.D. (1984) The ontogeny of the retina and optic tectum in *Aequidens portalegrensis* (Hensel). *J Fish Biol.* 24: 377-393.
 10. Nacario, J. (2002) The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture.* 34: 73-83.
 11. Nori Mogehe, S.M.H., Nabavi, S.M.B., Mahmoodzadeh Sagheb, H.R., heydari, Z., Morveti, H.V., Movahednia, A.A. (2011) *Fish Physiology.* (1st ed.) Tehran University Publication. Tehran, Iran.
- با گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$). این موضوع نشان می دهد که غلظت کم هورمون لووتیروکسین سدیم نه تنها منجر به افزایش درصد تخمه گشایی گردید بلکه حمام شش ساعتی لاروها بعد از خارج شدن از تخم، منجر به افزایش بقاء لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده می گردد که با نتایج به دست آمده از تحقیق Moradian و همکاران در سال ۲۰۰۳ و Lam در سال ۱۹۹۸ مطابقت داشت (۵،۸).
- Lam در سال ۱۹۹۸ بیان نمود که هورمون تیروکسین بر روی بقاء لارو دخالت داشته و اثر مثبتی بر ماهی های تکامل یافته دارد (۵).
- Naacario در سال ۲۰۰۲ بیان نمود که در بعضی ماهیان، هورمون های تیروئید بعد از تکمیل کیسه زرده ترشح می شود (۱۰). همچنین Wood در سال ۱۹۹۸ بیان نمود که بکارگیری حمام تیروکسین برای لاروهای تازه از تخم در آمده ماهی قزل آلائی قهوه ای (*Salmo salar*) اثر وسیعی بر مورفوژنیزس دارد و به دلیل سرعت تحریک شدن، سبب تفکیک باله ها از حالت پیچ خوردگی ابتدایی می گردد و جذب بیشتر کیسه زرده را باعث می گردد (۱۹).
- از آنجایی که یکی از مشکلات صنعت پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان، تلفات بالای لارو در مراحل اولیه تکامل می باشد و با توجه به عملکرد هورمون های تیروئید (تیروکسین و تری یدو تیرونین) در کنترل رشد و تکامل اندام های اصلی در مراحل تکامل جنینی و لاروی، قرص های حاوی این هورمون (قرص لووتیروکسین سدیم مورد مصرف انسان) می تواند در اختیار تکثیر کنندگان قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از شادروان مهندس علی سلیمانی و مهندس مجید یزدانی رؤسای کارگاه تکثیر و پرورش روستای دلخان شیراز به جهت فراهم نمودن کلیه امکانات و تسهیلات برای اجرای پروژه قدردانی می گردد.

University Publication. Tehran, Iran.

12. Oppenheimer, J.H., Schwartz, H.L., Strait, K.A. (1995) An integrated view of thyroid hormone actions in vivo. In: *Molecular Endocrinology: Basic Concepts and Clinical Correlations.* Weintraub, B.D. (ed.). (3rd ed.) Raven Press, New York, USA.
13. Power, D.M., Llewellyn, L., Faustino, M., Nowell, M. A., Bjornsson, B.T., Einarsdottir, I.E., Canario, A.V., Sweeney, G.E. (2001) Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 130: 447-59.
14. Sattari, M. (2002) *Ichthyology (1) (Anatomy and Physiology).* (3rd ed.) Gilan University, Mehr Naghsh



Publisher with Collaboration of Gilan University.
Gilan, Iran.

15. Tachihara, K., El-Zibdeh, M., Ishimatsu, A., Tagawa, M. (1997) Improved seed production of goldstriped amberjack *Seriola lalandi* under hatchery conditions by injection of triiodothyronine (T3) to broodstock fish. *J World Aquac Soc.* 28: 34-44.
16. Tagawa, M., Hirano, T. (1998) Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen Comp Endocrinol.* 68: 129-135.
17. Tagawa, M., Hirano, T. (1991) Effect of thyroid hormone deficiency in eggs on early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *J Exp Zool.* 257: 360-366.
18. Urbinati, E.C., Soares, M.C.F., Senhorini, J.A. (2003) Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã *Brycon cephalus* (Characidae). *J Aquac Trop.* 18: 217-224.
19. Wood head, A.D. (1998) Effects of thyroid drugs on the larvae of Brown trout, *Salmo salar*. *J Zool Lond.* 149: 394- 413.



The effect of levothyroxine sodium on hatch and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at early developmental stage

Akbary, P.*

Department of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar-Iran

(Received 22 May 2014, Accepted 14 August 2014)

Abstract:

BACKGROUND: Thyroxine hormone appears to play some role at early stages of development and survival of fish larvae. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to investigate the effect of levothyroxine sodium on hatching and survival rate at early developmental stage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. **METHODS:** This study was carried out in Dalkhan propagation and cultivation farm, Sepidan, Shiraz. Fertilized eggs were bathed in levothyroxine sodium with concentrations of 0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/L (each one, triplicates) for six hours. Then they were transferred into fiberglass trough trays. After hatching, all larvae were placed in the mentioned levothyroxine sodium concentration bath for another six hours and then transferred into troughs (without tray of running water). Larvae stayed in troughs until the yolk- sac was absorbed. Finally, live rainbow trout larvae were counted in separated plates. **RESULTS:** The results indicated that the highest ratio of hatched eggs ($81.42\% \pm 1.04$) and survival larvae after the yolk - sac was absorbed ($72.90\% \pm 0.75$) were observed in 0.5 mg/L of levothyroxine sodium concentration ($p < 0.05$). However, hatching and survival rate at early growth stage, in 0 and 1 mg/L of levothyroxine sodium concentration, didn't indicate significant difference ($p > 0.05$). **CONCLUSIONS:** It can be concluded that 0.5 mg/L of levothyroxine sodium concentration has positive effect on hatching and survival rate of rainbow trout larvae.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*, thyroid hormone, yolk sac absorption

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Female rainbow trout producing eggs.

Figure 2. Fiberglass trays.

Figure 3. Exposure to tray in concrete ponds.

Graph 1. Changes of hatch rate in different concentrations of levothyroxin sodium hormone; the same groups are shown by the same superscript letters ($p > 0.05$).

Graph 2. Number of eggs and larvae derived of different concentrations of levothyroxin sodium hormone; the same groups are shown by the same superscript letters ($p > 0.05$).

Graph 3. survival rate of larvae until the stage of Absorption of the yolk sac in different concentrations of levothyroxin sodium hormone; the same groups are shown by the same superscript letters ($p > 0.05$).

*Corresponding author's email: paria.akbary@gmail.com, Tel: 0312-5254479, Fax: 0545-4122340

J. Vet. Res. 69, 3:231-236, 2014

