"مقاله پژوهشی"

اثر تزریق هورمون تیروکسین بر عملکرد رشد و پارامترهای خونی مولدین ماده استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

حامد عبداله پور[۱]، بهرام فلاحتکار[۲،۱*]، ایرج عفت پناه[۳،۱]، بهمن مکنت خواه[۳،۱]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳- مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف پور، سیاهکل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱ تاریخ پذیرش:: ۱۴۰۰/۱۰/۱۰

چکیده

هورمون‌های تیروئیدی [(تری‌یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4)] نقش‌های مهمی در فرآیندهای زیستی مانند رشد، بلوغ جنسی و متابولیسم در بسیاری از گونه‌های ماهیان ایفا می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات تزریق هورمون T4 بر عملکرد رشد و پارامترهای خونی ماهی مولد ماده استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) انجام پذیرفت. سه گروه آزمایشی با دو تکرار و پنج قطعه ماهی به ازای هر تکرار در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد (دریافت‌کننده روغن نارگیل)، سطح پایین هورمون T4 (T_1، ۱ میلی‌گرم T4 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + روغن نارگیل) و سطح بالای هورمون T4 (T_{10}، ۱۰ میلی‌گرم T_4 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + روغن نارگیل) بودند. چهار دوره تزریق به‌صورت داخل صفاقی در ماهی ماده استرلیاد (وزن متوسط آغازین ۳۷/۱۵ ± ۷۰۷/۹۷ گرم) هر ۲ ماه به‌مدت ۱۷۰ روز انجام گردید. عملکرد رشد، شاخص‌های تغذیه‌ای و پارامترهای خونی در انتهای دوره اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که بالاترین و پایین‌ترین وزن کسب‌شده به ترتیب در تیمار T_{10} و تیمار شاهد وجود دارد ($p<۰/۰۵$). همچنین تیمار T_{10} بالاترین نرخ رشد ویژه را نسبت به دیگر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این، بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار T_{10} مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). ماهیان در گروه T_{10} به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول‌های سفید، نوتروفیل و لنفوسیت را نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی نشان دادند ($p<۰/۰۵$). براساس مطالعه حاضر، هورمون تیروکسین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌تواند سبب اثرات مثبت بر رشد و عملکرد فیزیولوژیک در مولدین ماده استرلیاد گردد.

کلمات کلیدی: تیروکسین، تزریق، رشد، هماتولوژی، استرلیاد

* عهده‌دار مکاتبات: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

امروزه بر هیچ‌کس پوشیده نیست که ذخایر ماهیان خاویاری دریای خزر به دلایلی نظیر صید بی‌رویه، آلودگی‌های زیست‌محیطی و مسدود شدن مسیرهای منتهی به مناطق تولیدمثل طبیعی این ماهیان در حال کاهش است (Pourkazemi *et al*., 1999; Akhavan et al., 2016). بنابراین، مشکل حفظ و ازدیاد ذخایر ماهیان خاویاری در تمام نقاط جهان یک مساله ضروری و حائز اهمیت است. به همین دلیل، بسیاری از آنها در فهرست ماهیان در معرض خطر سازمان IUCN قرارگرفته‌اند (IUCN, 2012). با افزایش جمعیت جهان و نیاز به غذا و مواد پروتئینی به‌ویژه پروتئین حیوانی، آبزیان توانسته‌اند به‌عنوان یکی از اقلام غذایی سالم، با ارزش غذایی بالا و ارزان نسبت به سایر مواد غذایی از جایگاه نسبتاً خوبی برخوردار باشند (سلحشوری و همکاران، ۱۳۹۶). پرورش آبزیان به‌منظور رهاسازی بچه‌ماهیان در آب‌های طبیعی جهت بازسازی ذخایر، آبزی‌پروری و به‌منظور تولید پروتئین، یک صنعت رو به رشد در سراسر دنیا محسوب می‌شود (Dabrowski and Ciereszko, 2001).

غده تیروئید ماهی‌های استخوانی به‌طور عمده از فولیکول‌های جداگانه‌ای تشکیل شده است که در ناحیه زیرحلقی و اطراف حلقی و فولیکول‌های تیروئید در بافت پیوندی زیر حلق متراکم شده‌اند. همچنین غده تیروئید در ماهیان خاویاری معمولاً در نزدیک آئورت شکمی و بین جفت اول و دوم کمان‌های آبششی قرار دارد. در فولیکول‌های تیروئیدی پروتئینی به‌نام تیروگلوبین که در ساختمان آن آمینواسیدهای تیروزین به‌کاررفته است، تولید می‌شود. سلول‌های فولیکولی ید را به‌صورت فعال از خون جذب کرده، اکسید کرده و به داخل مایع فولیکولی می‌فرستند تا با مولکول‌های تیروزین اتصال برقرارکنند. درنهایت از جفت‌شدن یا کنار هم قرارگرفتن دو آمینواسید یددارشده، هورمون‌های تیروئیدی یعنی تری‌یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4) تولید می‌شود. هورمون‌های تیروئیدی در فولیکول تیروئید ساخته می‌شوند و تحت کنترل هورمون‌های تحریک‌کننده تیروئیدی (TSH) توسط غده هیپوفیز آزاد می‌شوند (Eales and Brown, 1993; Yamano, 2005).

بافت تیروئید در ماهیان با تولید T4 و T3 اثرات مستقیم بر متابولیسم، رشد و دگردیسی می‌گذارد (Brown *et al*., 1989). همچنین در ماهیان پهن دیده شده است که در طی دوره دگردیسی، باعث توسعه دستگاه گوارش ماهی می‌گردد (Inui and Miwa, 1985, Piñuela *et al*., 2004). علاوه بر این، هورمون‌های تیروئیدی در بقا، رشد و توسعه لارو ماهیانی که چنین دگردیسی‌هایی ندارند، نیز اثر می‌گذارد (Lam, 1980, Urbinati *et al*., 2008). مطالعات پیشین نشان می‌دهند که مکانیسم سلول‌های بنیادی خونساز می‌تواند به‌وسیله هورمون‌های تیروئیدی در شرایط آزمایشگاهی تحت تأثیر قرار گیرد (Golde *et al*., 1977). علاوه بر این، اخیراً در تحقیقات اعلام‌شده است که هورمون‌های تیروئیدی به‌صورت مولکولی باعث تنظیم خون‌سازی در بدن می‌شوند که این تغییرات توسط بیان ژن‌های هورمون‌های تیروئیدی رخ می‌دهد (Kawa *et al*., 2010). به‌طور کل، بررسی‌ها نشان می‌دهند که هورمون‌های تیروئیدی در مهره‌داران رده‌های بالاتر ساخت سلول‌های خونی را به‌وسیله مغز استخوان تنظیم می‌کنند (Kendrick *et al*., 2008). McLeese و Eales (۱۹۹۶) در مطالعه‌ای بر

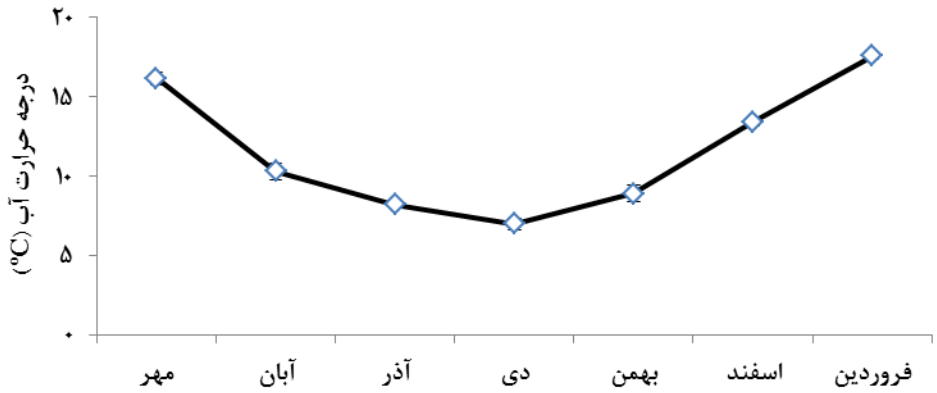
روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش کردند که هورمون‌های تیروئیدی می‌توانند به‌سرعت توسط سلول‌های خونی جذب گردند که درنتیجه جذب هورمون‌های تیروئیدی توسط سلول‌های خونی می‌تواند پیامدهای فیزیولوژیک برای تنظیم و همچنین تغییرات مزمن یا حاد میزان هورمون‌های تیروئیدی پلاسما داشته باشد. Yücel و همکاران (۲۰۰۹) اعلام کردند که افزودن هورمون T4 به مدت ۳۰ روز در موش سبب افزایش تولید سلول‌های خونی شده که این امر درنتیجه افزایش سطوح پراکسیداز چربی و مالون دی آلدهید می‌باشد.

با وجود اهمیت ماهیان خاویاری برای تولید گوشت و خاویار، امروزه جمعیت این ماهیان به‌دلایل مختلفی از جمله صید بیش از حد، مدیریت ضعیف صید، عدم حفاظت، آلودگی‌های شدید زیست‌محیطی و ساخت سد روی رودخانه‌ها در سراسر جهان رو به کاهش است. ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) کوچک‌ترین عضو خانواده ماهیان خاویاری است که به‌علت شرایط زیستی و رسیدگی جنسی کوتاه‌تر آن نسبت به دیگر ماهیان خاویاری و کمبود مولدین وحشی نسبت به سایر گونه‌های خاویاری اغلب به‌عنوان یک الگوی زیستی در نظر گرفته می‌شود (Piros *et al.*, 2002; Lahnsteiner *et al.*, 2004; Williot *et al.*, 2005). استرلیاد در رودخانه‌های ناحیه دریای سیاه، دریای خزر و بالتیک زندگی می‌کند. این‌گونه به‌سبب قابلیت زندگی در آب شیرین، مقاوم بودن در برابر تغییرات شرایط محیط‌زیست، سازگاری با دماهای پایین، پذیرش طیف وسیعی از مواد غذایی و استعداد رشد فراوان در شرایط مطلوب همواره مورد توجه دانشمندان بوده‌است (Birstein *et al.*, 1997). ماهی استرلیاد گونه‌ای است که به‌لحاظ هیبریدگیری با فیل‌ماهی (*Huso huso*) و تولید ماهی بستر که دارای رشد سریعی در آبزی‌پروری می‌باشد، توجه ویژه‌ای به آن شده است. جنس ماده استرلیاد پس از ۴ سال قابلیت تولید خاویار و یا تکثیر مصنوعی را خواهد داشت. بنابراین، در تولید خاویار پرورشی در مزارع بسیاری از کشورهای اروپایی به این‌گونه توجه ویژه‌ای شده و مورد پرورش قرارگرفته است چراکه هزینه‌های نگهداری و بلوغ زودرس، این گونه را در زمره ماهیان مورد علاقه پرورش قرار داده است. همچنین امروزه برای توسعه و ترویج آبزی‌پروری به بسیاری از مناطق دنیا از جمله ایران معرفی شده‌است (Tatina *et al.*, 2010).

استفاده از شیوه‌ها و فن‌های نوین، کسب دانش درباره هورمون‌ها در به‌دست‌آوردن مواد تناسلی و در نهایت لارو به‌دست‌آمده می‌تواند علاوه بر افزایش راندمان تولید، سبب استفاده از مولدین، استخرها و نیروی کارگری کم‌تری شده و هزینه‌های تولید را تا حد زیادی کاهش دهد. نظر به اینکه اثرات متنوع هورمون‌های تیروئیدی بر رشد و متابولیسم ماهیان استخوانی و غضروفی-استخوانی به‌خوبی ثابت شده است، همچنین به‌علت محدودیت مولدین وحشی و ویژگی ماهی استرلیاد به‌عنوان یک مدل بیولوژیک و مطالعات کم پیرامون اثر هورمون‌های تیروئیدی بر رشد و فاکتورهای خونی ماهیان خاویاری، در مطالعه حاضر این ماهی به‌عنوان مدل تحقیقاتی در نظر گرفته شد. بنابراین، این پژوهش با هدف تعیین اثر این هورمون برای تزریق به مولدین پرورشی استرلیاد و اثر آن بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور (واقع در شهرستان سیاهکل، استان گیلان) انجام شد. در این تحقیق، ماهی استرلیاد به‌عنوان الگوی آزمایشگاهی برای تعمیم به دیگر ماهیان خاویاری در نظر گرفته شد. به این منظور، تعداد ۹۰ مولد ماده چهارساله بیومتری شد و مرحله رسیدگی تخمک در آن‌ها توسط شاخص قطبیت هسته بررسی شد (Dettlaff *et al.*, 1993). سپس تعداد ۳۰ قطعه ماهی دارای میانگین وزنی ۷۰۷/۹۷ ۳۷±/۱۵ گرم و میانگین طول کل ۰/۶۹± ۵۱/۲۳ سانتی‌متر که از لحاظ مرحله رسیدگی تخمک و وزن تقریباً یکسان بودند، انتخاب شدند. ماهیان در سه تیمار و دو تکرار در ۶ حوضچه بتنی گرد به قطر ۱۸۵ سانتی‌متر و با حجم آبگیری ۰/۲± ۹۴۰/۷ لیتر (هر تانک ۵ ماهی) به‌صورت تصادفی توزیع شدند. دبی آب ورودی به مخازن پرورشی به‌طور متوسط ۰/۳± ۱۳ لیتر در هر دقیقه بود. منبع تأمین آب نیز رودخانه دیسام (خرارود) سیاهکل بود. میانگین دمای آب طی دوره ۰±/۳۴ ۱۱/۹۶ سانتی‌گراد بود که روند تغییرات آن در طول دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده‌شده است. دوره نوری متأثر از شرایط محیط طبیعی کارگاه بود. تغذیه ماهیان روزانه با استفاده از غذای مخصوص ماهیان خاویاری (فرادانه، شهرکرد، ایران) و به‌صورت دستی در سه وعده غذایی در ساعات ۱۰ صبح، ۳ بعدازظهر و ۹ شب انجام گردید. تجزیه تقریبی غذای ماهیان حاکی از وجود ۴۴ درصد پروتئین خام، ۱۶ درصد چربی خام، ۴ درصد فیبر خام بود و سایز پلت‌ها ۸ میلی‌متر بود. جمع‌آوری غذای خورده نشده به‌صورت روزانه و شستشوی مخازن در زمان زیست‌سنجی ماهیان انجام گرفت.



شکل ۱: روند تغییرات دما در طی دوره آزمایش

در مطالعه حاضر، تأثیر تزریق هورمون تیروکسین بر عملکرد رشد و پارامترهای خونی مولدین پرورشی به‌مدت ۱۷۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا هورمون تیروکسین (Merck, Darmstadt, Art. 12511, P 681311) در ۱ میلی‌لیتر الکل اتانول (رازی، خوزستان، ایران) حل گردید. سپس با استفاده از روغن نارگیل (Vijayan and Leatherland, 1989) به حجم مورد نیاز طبق وزن ماهی رسانده شد (یک میلی‌لیتر به

ازای هرکیلوگرم وزن بدن). مولدین استرلیاد با پودر گل میخک با دز ۴۰۰ ppm بیهوش شدند (Ghiasi *et al.*, 2014) و سپس در ۳ تیمار شامل ۱) شاهد، تزریق داخل صفاقی روغن نارگیل (شرکت نرمک، تبریز، ایران) (C)، ۲) غلظت پایین هورمون تیروکسین، تزریق داخل صفاقی ۱ میلی‌گرم هورمون T4 به‌ازای کیلوگرم وزن بدن (T_1) و ۳) غلظت بالای هورمون تیروکسین، تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی‌گرم هورمون T4 به ازای کیلوگرم وزن بدن (T_{10}) مورد تزریق قرار گرفتند. تزریق هورمون به ماهیان مولد در ۴ مرحله بود که ۳ تزریق با فاصله ۶۰ روزه و تزریق انتهایی با فاصله ۴۰ روزه انجام گرفت (Khalil *et al.*, 2011).

برای آگاهی از عملکرد هورمون بر روند رشد در طول دوره آزمایش، زیست‌سنجی ماهیان هر ۳۰ روز یک‌بار صورت گرفت. وزن و طول ماهیان به‌ترتیب با دقت یک گرم و یک سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. جهت اطمینان از خالی‌شدن دستگاه گوارش ماهی، ۲۴ ساعت قبل از انجام بیومتری غذادهی قطع گردید. در زمان بیومتری سعی بر این بود کمترین میزان دست‌کاری روی ماهی انجام شود و برای جلوگیری از بروز استرس مضاعف هرگونه دست‌کاری ماهی با احتیاط کامل و در کمترین زمان ممکن انجام شد. بدین‌منظور ماهی‌ها صید و سریعاً به محلول عصاره پودر گل میخک با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر منتقل می‌گردید. شاخص‌های رشد شامل نرخ رشد ویژه (SGR; %/day)، وزن کسب‌شده (WG; g)، درصد افزایش وزن بدن (BWI; %)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و افزایش وزن روزانه (ADG; g/day) در هر یک از گروه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین شد (Garg, 2007; Poursaeid *et al.*, 2015):

$$SGR\ (\%/day) = 100 \times (L_n W_f - L_n W_i) / t$$

$L_n W_f$ = لگاریتم وزن نهایی

$L_n W_i$ = لگاریتم وزن اولیه

t = مدت پرورش

$$WG\ (g) = Final\ weight - initial\ weight$$

Final weight = وزن نهایی

Initial weight = وزن اولیه

$$BWI\ (\%) = 100 \times (BW_f - BW_i) / BW_i$$

BW_f = وزن انتهایی

BW_i = وزن ابتدایی

$$FCR = Food\ intake / WG$$

Food intake = غذای خورده شده

$$ADG\ (g/day) = (Final\ weight - initial\ weight) / t$$

t = مدت پرورش

از تمام ماهیان در پایان دوره پرورش ۱۷۰ روزه، حدود ۴ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ دمی در قسمت انتهای بالله مخرجی توسط سرنگ‌های هپارینه ۵ میلی‌لیتری (G-18) گرفته شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از خون اخذشده به‌منظور بررسی‌های هماتولوژیک به میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده منتقل شده و مابقی خون نیز به لوله‌های آزمایش با هدف جداسازی پلاسما به‌منظور مطالعات سرولوژیک منتقل شد. شمارش گلبول‌های سفید (Barcellos *et al.*, 2004) و گلبول‌های قرمز (RBC) توسط لام هماسیتومتر (Barcellos *et al.*, 2004)، اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb) با روش سیان مت هموگلوبین (Valenzuela *et al.*, 2006)، میزان هماتوکریت (Hct) با روش لوله‌های میکروهماتوکریت و توسط سانتریفیوژ با دور rpm ۱۴۰۰۰ در ۵ دقیقه و خط‌کش مخصوص انجام گرفت (Biswas *et al.*, 2006). سایر اندیس‌های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV) برحسب فمتولیتر، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) برحسب پیکوگرم/سلول و میانگین درصد غلظت

هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) از طریق روابط زیر محاسبه شدند (Ghiasi *et al*., 2014):

MCV (fl) = 10 × (Hct / RBC)
MCH (pg/cell) =10 × (Hb / RBC)
MCHC (%) = 100 × (Hb / Hct)

همچنین برای تعیین درصد افتراقی گلبول‌های سفید و درصد لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت‌ها پس از تهیه گسترش خونی از روش Stoskopf (۱۹۹۳) استفاده شد.

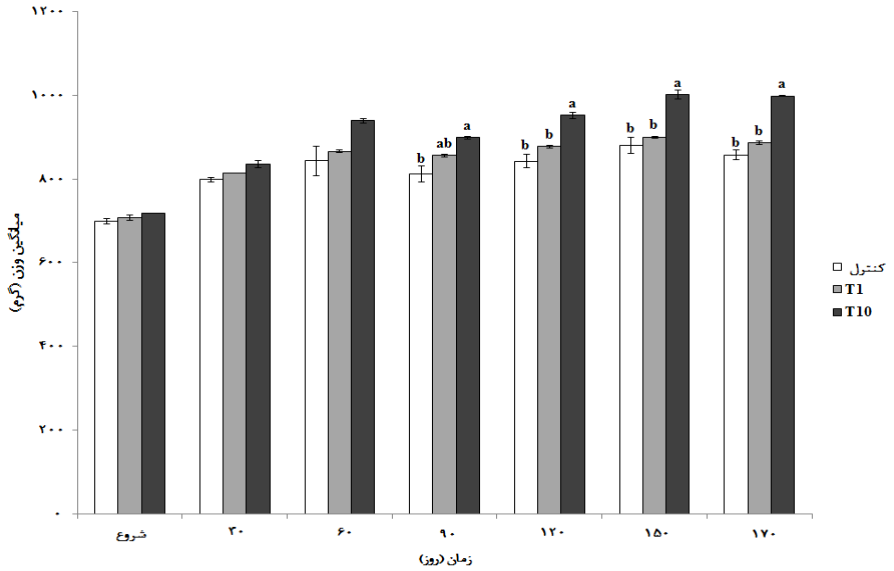
ثبت داده‌ها در نرم‌افزار Excel (Microsoft, 2007) انجام گرفت و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد. پس از کنترل همگن بودن داده‌ها با روش Levene و نرمال بودن داده‌ها به‌وسیله آزمون Kolmogorov-Smirnov، بررسی نتایج تغییرات پارامترهای اندازه‌گیری شده در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بین ماهیان از طریق آزمون One-way ANOVA استفاده شد و از آزمون Duncan به‌عنوان Post-hoc برای سطح معنی‌دار بودن استفاده شد. اختلاف معنی‌دار آماری با سطح $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. داده‌های این مطالعه به‌صورت میانگین± خطای استاندارد (SE) نشان داده شده است.

نتایج

تغییرات وزن و پارامترهای رشد

نتایج حاصل از بررسی تغییرات وزن در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن بود که در بین ماهیان تیمارهای مختلف به لحاظ تغییرات وزنی در زیست‌سنجی‌های اول، دوم و سوم اختلاف معنی‌داری یافت نشد ($p>۰/۰۵$). این درحالی بود که وزن ماهیان هورمون‌تراپی شده در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را در بیومتری‌های چهارم، پنجم، ششم و هفتم به نمایش گذاشتند ($p<۰/۰۵$). به‌طورکلی، در بین تیمارهای هورمونی، بیشترین میانگین وزن در تیمار سطح بالای هورمون تیروکسین مشاهده‌گردید. در پایان مطالعه، بیشترین میانگین وزنی به‌میزان ۲±۹۹۸ گرم در ماهیان تیمار T_{10} و کمترین آن به‌میزان ۵/۷±۸۵۷/۱۴ گرم در ماهیان تیمار شاهد مشاهده گردید.

نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌های شاخص‌های رشد مولدین ماده استرلیاد در تیمارهای مختلف هورمونی در جدول ۱ ارائه‌شده است. نتایج حاصل از بیومتری کل دوره پس از گذشت ۱۷۰ روز نشان داد که اختلاف معنی‌داری در خصوص SGR در بین گروه‌های مختلف آزمایشی وجود دارد و بیشترین میزان در تیمار T_{10} و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین در ارتباط با WG، بالاترین میزان وزن کسب‌شده در تیمار T_{10} مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این، تیمار T_{10} بالاترین میزان ADG را در بین تیمارهای مختلف نشان داد. همچنین پایین‌ترین و بالاترین FCR به ترتیب در تیمار T_{10} و تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۱؛ $p<۰/۰۵$).



شکل ۲: روند تغییرات وزن بدن مولدین استرلیاد تحت تزریق غلظت مختلف هورمون تیروکسین طی آزمایش ۱۷۰ روزه (میانگین± خطای استاندارد). حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنادار در بین تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف است ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱: نتایج پارامترهای رشد مولدین ماده استرلیاد تزریق‌شده با سطوح مختلف هورمون تیروکسین پس از ۱۷۰ روز مطالعه.

گروه‌های آزمایشی	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	SGR (درصد/ روز)	WG (گرم)	ADG (گرم/ روز)	FCR	FI (گرم/ ماهی)
شاهد (روغن نارگیل)	۶۹۸/۳ ± ۶۷/۴۶	۸۵۷/۵ ± ۱۴/۷^{b}	۰/۱۲ ± ۰/۰^{b}	۱۵۹/۲ ± ۲۲/۴^{b}	۰/۹۴ ± ۰/۱^{b}	۵/۸ ± ۰/۵^{a}	۴۵۳/۵ ± ۲۱/۷۵
تیروکسین با غلظت ۱mg kg/BW	۷۰۷/۸ ± ۷۰/۲۱	۸۸۶/۴۳ ± ۵/۲^{b}	۰/۱۳ ± ۰/۰^{b}	۱۷۸/۶ ± ۲/۰^{b}	۱/۳۵ ± ۰/۳^{b}	۴/۶ ± ۰/۳^{a}	۴۱۱/۲ ± ۲۱
تیروکسین با غلظت ۱۰mg kg/BW	۷۱۷/۸ ± ۶۱/۹۴	۹۹۸ ± ۲^{a}	۰/۱۹ ± ۰/۰^{a}	۲۸۰/۲ ± ۲/۰^{a}	۱/۶۵ ± ۰/۰^{a}	۲/۹ ± ۰/۰^{b}	۴۱۰/۸ ± ۶/۷

مقادیر به‌صورت میانگین± SE بیان‌شده است. وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (برای هر تیمار n=۱۰) ($p< ۰/۰۵$).

شاخص‌های خونی و درصد افتراقی یاخته‌های سفید

نتایج شاخص‌های خونی مولدین ماده استرلیاد تزریق‌شده با سطوح مختلف هورمون تیروکسین در جدول ۲ نشان داده شده است. در ارتباط با پارامترهای خونی، RBC اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نشان داد و بیشترین تعداد سلول‌های قرمز خونی در تیمار T_{10} به‌دست‌آمده آمد (جدول ۲؛ $P < ۰/۰۵$). نتایج حاصل از اندازه‌گیری هماتوکریت در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمار تزریق‌شده با سطوح بالای هورمون تیروکسین را نشان داد. بالاترین درصد هماتوکریت خون در تیمار غلظت بالای

هورمون، برابر ۱/۰۳±۳۵/۸۶ درصد و کمترین مقدار هماتوکریت خون در تیمار شاهد، برابر ۰/۸۲±۳۱ درصد بود. بررسی‌های انجام‌شده بر روی نوسانات سطوح هموگلوبین در تیمارهای مورد آزمون حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار غلظت پایین هورمون تیروکسین با تیمار غلظت بالای هورمون تیروکسین بود. بالاترین مقدار هموگلوبین در تیمار T_{10} به میزان ۷/۰±۹۹/۲۱g/dl و پایین‌ترین مقدار هموگلوبین در تیمار T_1 به میزان ۷/۰±۰۶/۲۹ g/dl مشاهده گردید. نتایج حاصل از مقایسه مقادیر شاخص‌های MCH، MCV و MCHC در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد بررسی نشان نداد.

جدول ۲: نتایج پارامترهای خونی مولدین ماده استرلیاد تزریق‌شده با سطوح مختلف هورمون تیروکسین پس از ۱۷۰ روز مطالعه.

گروه‌های آزمایشی	RBC ($\times 10^3$ cell/mm^3)	Hct (٪)	Hb (g/dl)
شاهد (روغن نارگیل)	۸۹۵/۲۹ ± ۱۸/۷۶^{b}	۳۱ ± ۰/۸۲^{b}	۷/۱۴ ± ۰/۲۲^{b}
تیروکسین با غلظت ۱mg kg/BW	۹۲۰/۳۷ ± ۴۰/۷۶^{ab}	۳۲ ± ۱/۳۹^{ab}	۷/۰۶ ± ۰/۲۹^{b}
تیروکسین با غلظت ۱۰mg kg/BW	۱۰۱۷/۷۸ ± ۴۰/۳۸^{a}	۳۵/۸۶ ± ۱/۰۳^{a}	۷/۹۹ ± ۰/۲۱^{a}

مقادیر به صورت میانگین ± SE و n = ۹ بیان‌شده است. وجود حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$).

بررسی‌های انجام‌شده روی تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای مختلف حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمار سطح بالای هورمون تیروکسین با سایر تیمارها بود. بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار غلظت بالای هورمون به‌میزان cell/mm^3 ۱۴/۹۹±۴۹۵۷/۲۵۸ و کمترین تعداد گلبول سفید خون در تیمار شاهد به‌میزان cell/mm^3 ۶۷/۳۶±۳۹۶۶/۲۲۶ بود (جدول ۳؛ $p<0/05$). نتایج حاصل از اندازه‌گیری نوتروفیل در تیمارهای مختلف نشان داد که با افزایش غلظت هورمون تیروکسین بر میزان نوتروفیل افزوده می‌شود. بیشترین میزان نوتروفیل در تیمار غلظت بالای هورمون تیروکسین به‌مقدار ۰/۷۲±۲۱/۳ درصد و کمترین میزان نوتروفیل در تیمار شاهد به‌مقدار ۱۹/۰±۵۷/۷۴ درصد مشاهده گردید ($p<0/05$). بررسی‌های انجام‌شده بر میزان لنفوسیت خون در تیمارهای مختلف حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای سطح بالای هورمون تیروکسین با سایر تیمارها بود. بیشترین میزان لنفوسیت خون در تیمار غلظت بالای هورمون تیروکسین به‌مقدار ۰/۲۶ ± ۷۳ درصد مشاهده گردید. نتایج حاصل از بررسی و مقایسه مقادیر مونوسیت و ائوزینوفیل در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد بررسی نشان نداد.

جدول ۳: نتایج درصد افتراقی یاخته‌های سفید مولدین ماده استرلیاد تزریق‌شده با سطوح مختلف هورمون تیروکسین پس از ۱۷۰ روز مطالعه.

گروه‌های آزمایش	WBC (cell/mm^3)	Lymphocytes (٪)	Neutrophils (٪)	Monocytes (٪)	Eosinophils (٪)
شاهد (روغن نارگیل)	۳۹۶۶/۶۷ ± ۲۲۶/۳۶^b	۷۱ ± ۰/۱۲^b	۱۹/۵۷ ± ۰/۷۴^b	۸/۷۳ ± ۰/۴	۰/۷ ± ۰/۰
تیروکسین با غلظت ۱mg kg/BW	۴۱۱۲/۵ ± ۱۵۷/۰۶^b	۷۱ ± ۱/۴۹^b	۲۰ ± ۰/۰۷^b	۷/۵۵ ± ۰/۳۹	۱/۴۵ ± ۰/۱۷
تیروکسین با غلظت ۱۰mg kg/BW	۴۹۵۷/۱۴ ± ۲۵۸/۹۹ ^{a}	۷۳ ± ۰/۲۶^a	۲۱/۳ ± ۰/۷۲^a	۵ ± ۰/۵۷	۰/۷ ± ۰/۱۹

مقادیر به‌صورت میانگین ± SE و n = ۹ بیان‌شده است. وجود حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر، تزریق هورمون T4 باعث افزایش رشد در ماهیان استرلیاد گردید، به‌طوری‌که این افزایش رشد در غلظت‌های بالای هورمون T4 به‌مراتب بیشتر از غلظت‌های پایین هورمون مذکور بود و بیشترین میزان افزایش وزن در ماهیان تیمار T_{10} و کمترین میزان در ماهیان تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین در تیمار T_{10} بهترین ضریب تبدیل غذایی نسبت به سایر تیمارها به‌دست آمد. در ارتباط با اثر هورمون تیروکسین بر رشد در ماهیان مطالعات محدودی وجود دارد و تاکنون مطالعه‌ای در این ارتباط در ماهیان خاویاری انجام نشده است. مطالعاتی در ارتباط با اثر هورمون‌های تیروئیدی بر عملکرد رشد گونه‌های مختلف ماهی صورت گرفته است که با نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی مطابقت دارد. تحقیقات Higgs و همکاران (۱۹۷۹) روی ماهی آزاد کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) نشان داد که استفاده از T4 باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌گردد. در مطالعه حاضر، تیمار T_{10} بهترین میزان ضریب تبدیل غذایی را نشان داد که نتایج این مطالعه با مطالعه Higgs و همکاران (۱۹۷۷) مشابه بود. همچنین اعلام شده است که هورمون‌های تیروئیدی باعث افزایش جذب مواد مغذی به بدن می‌گردد و سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد (Farbridge and Leatherland, 1988). مطالعه Fagerlud و همکاران (۱۹۸۰) روی ماهی آزاد کوهو نشان داد که T3 از طریق بهبود ضریب تبدیل غذایی، تحریک مصرف غذا و جذب بیشتر آن در ماهیان اثرات خود را القاء می‌نماید. Saunders و همکاران (۱۹۸۵) عملکرد رشد ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) که به‌مدت شش ماه از جیره‌ای حاوی هورمون T3 با سطوح مختلف (صفر، ۱۰، ۲۰، ۱۰۰ میلی‌گرم T3 به‌ازای کیلوگرم وزن غذا) تغذیه کردند را بررسی نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که وزن و طول ماهیان بسته به غلظت هورمون به‌کار رفته در جیره غذایی افزایش یافت. با این‌حال، ناهنجاری‌هایی در ماهیان تغذیه‌شده با غلظت بالا مشاهده گردید. همچنین Woo و همکاران (۱۹۹۱) با مطالعه روی ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) بیان نمودند که هورمون T3 در غلظت ppm ۳، سبب افزایش نرخ رشد، اشتهای ماهی، فعالیت آنزیم‌های روده‌ای و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود. آنها معتقد بودند که رشد ماهیان در نتیجه بهبود عملکرد هضم و جذب غذا افزایش یافته است. علاوه بر این، گزارش شده است که استفاده از

هورمون‌های تیروئیدی در جیره غذایی باعث افزایش حفظ انرژی مواد مغذی و کاهش دفع فضولات در آبزی‌پروری می‌گردد (Malhotra and Garg, 2003, 2004). Garg (۲۰۰۷) با مطالعه روی ماهی سرماری (*Channa punctatus*) اعلام کرد ماهیانی که جیره حاوی غلظت پایین‌تر هورمون T4 داشته (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن غذا) بیشترین میزان رشد وزنی و طولی را نسبت به ماهیانی که از جیره حاوی غلظت بالای هورمون (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن غذا) تغذیه می‌کردند، نشان دادند. این نتیجه مطابق با مطالعه Arul (۱۹۸۷) بود به‌طوری‌که وی گزارش کرد بچه‌ماهیان گربه‌ماهی (*Clarias batrachus*) که از هورمون‌های تیروئیدی استفاده می‌کردند، رشد بالاتری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. همچنین Kumar و همکاران (۱۹۹۱) مشاهده کردند که T4 سبب افزایش وزن در لارو ماهی کپور معمولی می‌گردد. پورسعید و همکاران (۱۳۹۰) در مطالعه‌ای اثرات کاشت هورمون T3 بر رشد فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*) را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، سه تیمار شامل تیمار شاهد (کپسول‌های حاوی کره کاکائو)، سطح پایین T3 (T_1، ۱ میلی‌گرم T3 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + کره کاکائو) و سطح بالای T3 (T_{10}، ۱۰ میلی‌گرم T3 به ازای هر کیلوگرم وزن بدن + کره کاکائو) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که وزن نهایی ماهیان در تیمار T_1 به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود. بر طبق نتایج آنها، کاشت هورمون T3 در غلظت‌های فیزیولوژیک قادر است سبب ایجاد تحریک و اثرات مثبت بر رشد سوماتیک در این گونه گردد.

درواقع هورمون تیروئیدی قادر به تحت تاثیر قرار دادن رشد به‌صورت مستقیم از طریق گیرنده‌های مربوطه و یا غیرمستقیم از طریق ارتباط متقابل و اثرات مثبت با دیگر هورمون‌های آنابولیک می‌باشند (Hilton *et al*., 1987; Fabridge and Leatherland, 1988; Moav and McKeown, 1992; Schmid *et al*., 2003). هورمون‌های تیروئیدی رونویسی تعداد زیادی از ژن‌های هسته را فعال می‌کنند که در نتیجه تعداد زیادی آنزیم‌های پروتئینی، پروتئین‌های ساختمانی، پروتئین‌های ناقل و مواد دیگر در سلول‌های بدن ساخته می‌شود. همچنین عنوان شده است که این هورمون‌ها، فعالیت متابولیک سلول‌ها را افزایش می‌دهند و به‌تبع آن، میزان مصرف غذا برای تولید انرژی بیشتر شده و باعث افزایش فعالیت غده دورن‌ریز می‌شود. در مطالعه حاضر، وزن ماهیان تیمار T_{10} بیشتر از وزن ماهیان تیمار T_1 بود. این اختلاف وزنی به غلظت هورمون به‌کار رفته مربوط می‌باشد و غلظت‌های پایین‌تر در افزایش وزن ماهی تأثیر چندانی نداشت. با توجه به نتایج این مطالعه و سایر تحقیقات به‌عمل‌آمده روی ماهیان استخوانی به‌نظر می‌رسد که هورمون‌های تیروئیدی برای رشد نرمال ضروری می‌باشند و استفاده از غلظت‌های بالاتر، اثر آنابولیک از خود به نمایش می‌گذارند، درحالی‌که غلظت‌های پایین‌تر این هورمون ممکن است کارایی مصرف غذا را کاهش دهند و اثرات کاتابولیک داشته و حتی منجر به ناهنجاری‌های رشد گردند (Higgs *et al*., 1982; Moav and McKeown, 1992; Moon *et al*., 1994). بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که در غلظت‌های فیزیولوژیک، این هورمون از طریق افزایش سنتز پروتئین، گلیکوژنز و ارتباط سینرژیست با سایر هورمون‌ها نظیر هورمون رشد، اثرات خود را القاء می‌بخشد درحالی‌که غلظت‌های فارماکولوژیک باعث کاهش رشد، کاهش مصرف غذا، افزایش گلیکوژنولیز، کاتابولیسم پروتئین‌ها و چربی‌ها و کاهش

ترشح هورمون رشد می‌گردد (Higgs *et al*., 1982; Plisetskaya *et al*., 1983; Eales and Brown, 1993).

این تفاوت‌ها درباره اثرات بر رشد در مطالعه حاضر و دیگر مطالعات ممکن است مرتبط به گونه ماهی، اندازه ماهی و تفاوت‌ها در شرایط آزمایشی مطالعات باشد. البته بایستی مطالعات تکمیلی در خصوص اثرات هورمون T4 بر متابولیسم آنزیم‌های کبدی و سایر هورمون‌های آنابولیک در ماهی استرلیاد صورت پذیرد تا مکانیزم دقیق عملکرد این هورمون مشخص گردد.

در مطالعه حاضر، اثر تزریق هورمون T4 بر شاخص‌های خونی مولدین ماهی استرلیاد نشان از اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از شاخص‌های خونی، مقدار RBC، Hct و Hb در تیمار T_{10} نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. در ارتباط با میزان MCH و MCV و MCHC اختلافی در بین تیمارها مشاهده نشد، اما در تیمار T_{10}، MCV بیشترین میزان را در تیمارهای تزریق شده با T4 نشان داد. در ارتباط با اثر هورمون تیروکسین بر شاخص‌های خونی در ماهیان مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته و تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر تزریق هورمون تیروکسین بر شاخص‌های خونی در ماهیان خاویاری صورت نگرفته است. Pandey و همکاران (۲۰۰۷) اثر هورمون تیروکسین را بر پارامترهای خونی در ماهی سرماری کوتوله (*Channa gachua*) مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که استفاده از هورمون تیروکسین سبب افزایش سلول‌های خونی، میزان هموگلوبین و ظرفیت نگهداری و انتقال اکسیژن گردید. اطلاعات پیرامون اثر غده تیروئید بر پارامترهای خونی در مهره‌داران بسیار اندک می‌باشد (Adeniyi and Ononoze, 1990). Gabos و همکاران (۱۹۷۳) در ماهی کپور معمولی و Mishra و همکاران (۱۹۷۷) در گربه‌ماهی نیش‌زن (*Heteropneustes fossilis*)، Mishra و همکاران (۱۹۷۷) در گربه‌ماهی راه رونده (*Clarias batrachus*) و Singh (۱۹۹۷) در گربه‌ماهی (*Mystus vittatus*) گزارش دادند که هورمون تیروکسین در کاهش و حذف رطوبت بدن تأثیر دارد و نتیجه کمبود آب بدن در این گونه‌ها باعث کاهش حجم خون می‌گردد که نهایتاً باعث افزایش مقادیر سلول‌های خونی و هموگلوبین می‌شود.

تغییرات شاخص‌های خونی در ماهیان وابسته به شرایط محیط پرورش می‌باشد. بیماری، نوع تغذیه، مکمل‌های غذایی، آلودگی، تغییرات دمایی، استرس، هورمون‌ها و وضعیت فیزیولوژیک ماهیان می‌توانند در تغییر شاخص‌های خونی مؤثر باشند. از عوامل مؤثر در تعداد گلبول‌های سفید می‌توان به بیماری‌های عفونی، التهاب، استرس، تغییرات دمایی، وضعیت تغذیه، سن، جنس و تغییر در میزان هورمون‌ها اشاره کرد (Kieffer, 2000; Rawling *et al*., 2009). مشخص‌شده است که تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین تغییرات وابسته به گونه را از خود نشان می‌دهند. این تفاوت‌ها حتی می‌توانند فصلی باشند. به‌ویژه تغییرات دما و غلظت اکسیژن محلول نیز روی این فاکتورها اثر می‌گذارند. همچنین ثابت شده است که کاهش تعداد و کیفیت گلبول‌های قرمز منجر به اختلال در تأمین اکسیژن می‌شود. به‌علاوه، گلبول‌های قرمز نقش مهمی در انتقال اکسیژن در بدن ایفا می‌کنند و مقادیر ناکافی گلبول‌های قرمز اثر منفی بر متابولیسم داشته و باعث

کاهش پروتئین کل پلاسمای خون می‌شود (Klontz, 1994; Nespolo and Rosenmann, 2002).

یکی از وظایف خون ماهیان حمل گازهای تنفسی می‌باشد که این عمل می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی، سیستم عصبی و همچنین به‌کارگیری هورمون‌های مختلف در گونه‌های مختلف ماهیان تغییر نماید. Benfey و Birion (۲۰۰۰) بیان می‌کنند که تعداد گلبول‌های قرمز در تبادل اکسیژن و میزان هموگلوبین در افزایش ظرفیت حمل‌ونقل اکسیژن اهمیت ویژه‌ای دارند و در طی کاهش تعداد گلبول قرمز، ماهی مستعد بیماری می‌شود.

هورمون های تیروئیدی اغلب نقش مهمی در ساخت سلول های قرمز خون دارند بطوری‌که آنها تولید سلول های قرمز خون و ترشح اریتروپویتین را بوسیله تحریک بیان ژن اریتروپویتین افزایش می‌دهند. علاوه بر این، اعلام شده است که هورمون‌های تیروئیدی باعث تحریک اکسیژن‌رسانی به بافت‌های مختلف بدن می‌گردند و رشد اریتروسیت‌ها را تحریک می‌کنند. همچنین هورمون های تیروئیدی غلظت اریتروسیت‌های ۲و۳ دی فسفوگلیسرات را شدت می‌بخشند و نتیجه آن افزایش یافتن مقدار اکسیژن به بافت های بدن می‌باشد (Golde *et al*., 1977; Drews, 2003; Kawa *et al*., 2010). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار RBC و Hct در تیمار T_{10} بالاتر از سایر تیمارها بود که بیانگر این موضوع است که هورمون T4 نقش کلیدی جهت بهبود این پارامتر حیاتی داشته است. علاوه بر این، هموگلوبین یکی دیگر از پارامترهای مهم می‌باشد که نشان‌دهنده وضعیت سلامت بدن است. با توجه به این موضوع که این فاکتور در تیمار T_{10} بیشتر از سایر تیمارها بود می‌توان نتیجه گرفت که هورمون T4 نقش در افزایش این عامل مهم داشته است.

در ارتباط با اثر هورمون تیروکسین بر درصد افتراقی یاخته‌های سفید در ماهیان مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته و تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر تزریق هورمون تیروکسین بر درصد افتراقی یاخته‌های سفید در ماهیان خاویاری صورت نگرفته است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پارامترهای درصد افتراقی یاخته‌های سفید، تعداد WBC، نوتروفیل و لنفوسیت در تیمار T_{10} نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. در ارتباط با میزان مونوسیت و ائوزینوفیل اختلافی در بین تیمارها مشاهده نشد.

درصد نوتروفیل به‌عنوان یک شاخص ایمنی عمومی، در شرایط عادی در پاسخ به یک محرک سیستم ایمنی افزایش می‌یابد. اما میزان لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل که موارد شاخص ایمنی اختصاصی هستند، در موارد آلودگی با یک عامل بیماری‌زای خاص افزایش می‌یابند. اثرات متقابل تحریک‌کننده میان سیستم عصبی و سیستم ایمنی مورد مطالعه قرار گرفته است. شواهد نشان می‌دهد که در پستانداران و پرندگان هورمون‌های تیروئیدی نقش ایمن‌سازی را برعهده دارند (Lam *et al*., 2005). Sahoo (۲۰۰۳) در مطالعه‌ای اثر افزودن خوراکی هورمون T3 (صفر، ۱، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن غذا) را بر بچه‌ماهی انگشت‌قد کپور روهو (*Labeo rohita*) مورد مطالعه قرار داد. نتایج نشان داد تغذیه ماهیان با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن غذا باعث بهبود رشد و افزایش تولید نوتروفیل گردید و ماهیان مقاومت بیشتری به باکتری آئروموناس هیدورفیلا نشان دادند. Lam و همکاران (۲۰۰۵) نیز

تأثیر هورمون‌های تیروئیدی را بر میزان بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی *IgLC*، *Ikaros*، *TCRAC*، *Rag1* در ماهی زبرا (*Danio rerio*) مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند هورمون‌های تیروئیدی می‌توانند بر سیستم ایمنی تأثیر بگذارند. Hawkyard و همکاران (۲۰۱۱) افزایش هورمون تیروئید را در لارو ماهیان زبرا تغذیه‌شده با ناپلی آرتمیای غنی‌شده با ید مشاهده کردند. تأثیر هورمون تیروئید بر تعدیل پاسخ‌های ایمنی ازجمله افزایش لنفوسیت‌های T (Hodkinson *et al*., 2009)، فاگوسیتوز و رهاسازی سایتوکینین (De Vito *et al*., 2011) در پستانداران اثبات شده است، اما در ماهیان مطالعات اندکی در این زمینه وجود دارد. Quesada-Garcia و همکاران (۲۰۱۴) پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به هورمون تیروئید را با تغییر در بیان ژن‌های *trb*، *cd8a*، *cd4*، *mIgM*، *csf1r* مشاهده کردند. صفری و همکاران (۱۳۹۵)، در مطالعه‌ای به‌منظور ارزیابی تأثیر تغذیه با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا غنی‌شده با یدید پتاسیم بر میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپر اکساید دیسموتاز) و ایمنی (لایزوزیم) را در ماهی زبرا مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که با توجه به تغییرات بیان ژن‌های مرتبط به‌نظر می‌رسد یدید پتاسیم می‌تواند در بهبود عملکرد سیستم ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی زبرا نقش بازی نماید.

به‌طورکلی، در ماهیان نیز همانند سایر جانوران، پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون نشانه‌ای از وضعیت فیزیولوژیک ماهی است و تحت تاثیر هورمون‌ها، مواد غذایی و ویتامین‌ها (Agrawal and Mahajan, 1983; Graff *et al*., 2002; Menezes *et al*., 2006; Andrade *et al*., 2007) و متغیرهایی مانند گونه ماهی، جنس، سن، سیکل بلوغ جنسی، شرایط تغذیه‌ای و سلامت بدن می‌توانند تغییر کنند (McCarthy *et al*., 1973) در مطالعه حاضر، تیروکسین باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در برخی از پارامترهای هماتولوژی شد. Agrawal و Mahajan (۱۹۸۳) بیان می‌کنند که کلیه و طحال از مهم‌ترین بافت‌ها در خون‌سازی می‌باشند. همچنین اعلام شده است که گلبول‌های سفید نقش مهمی در ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی ایفا می‌کنند و شمارش آنها به‌عنوان شاخص سلامت شناخته شده است. این تفاوت‌ها درباره اثرات بر پارامترهای خونی و درصد افتراقی یاخته‌های سفید در مطالعه حاضر و دیگر مطالعات ممکن است مرتبط با گونه ماهی، اندازه ماهی و تفاوت‌ها در شرایط آزمایشی مطالعات باشد. همچنین با توجه به اینکه مطالعات در مورد اثرات هورمون‌های تیروئیدی بر سیستم ایمنی ماهیان بسیار کم می‌باشد، پیشنهاد می‌گردد تحقیقاتی پیرامون اثرات این هورمون‌ها بر سیستم ایمنی دیگر ماهیان اجرا شود. البته بایستی مطالعات تکمیلی در خصوص اثرات هورمون T4 بر پارامترهایی نظیر میزان مصرف اکسیژن، IgM، C_3 و C_4 و همچنین بیان ژن‌های درگیر در سیستم ایمنی در ماهی استرلیاد صورت پذیرد تا مکانیزم دقیق عملکرد این هورمون مشخص گردد.

این مطالعه نشان داد تزریق هورمون T4 در مولدین اثر آنابولیک داشته و باعث افزایش رشد در ماهیان می‌شود و شاخص‌های رشد را در تیمار T_{10} بهبود می‌بخشد. در بررسی پارامترهای خونی و درصد افتراقی یاخته‌های سفید مشخص شد که T4 تزریق‌شده بر عمده شاخص‌ها در تیمار T_{10} تأثیر مثبتی داشته است و این امر بیان‌کننده این مسئله است که تزریق مولدین استرلیاد در

شرایط کارگاهی در قبل از فصل تولیدمثل می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد و فیزیولوژیک مولدین استرلیاد گردد و در نهایت منجر به بهبود تولیدمثل و تولید لاروهای با کیفیت مطلوب گردد. این نتایج می‌تواند راه‌گشای توسعه روش‌های نوین در بهبود عملکرد رشد و پارامترهای خونی در گونه استرلیاد باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین و کارکنان محترم مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی ماهیان دریایی شادروان یوسف‌پور سیاهکل به خاطر اختیار قراردادن ماهی، امکانات پرورش و امکانات رفاهی تشکر می‌گردد. همچنین از همکاری تمام کسانی که در انجام مراحل مختلف این تحقیق ما را یاری نمودند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نماییم. هزینه‌های مربوط به این طرح تحقیقاتی با شماره پروژه (۹۵۸۳۱۱۱۰) توسط صندوق پژوهشگران و فناوران کشور تأمین گردیده است. لذا از همکاری این سازمان نیز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. پورسعید، س.، فلاحتکار، ب.، مجازی امیری، ب.، ۱۳۹۲. اثر کاشت مکرر هورمون تری یدوتیرونین بر عملکرد فیزیولوژیک فیل ماهی ماده پرورشی (*Huso huso*). مجله علوم و فنون دریایی، ۱۲، ۹۰-۱۰۵.

۲. سلحشوری، ا.، فلاحتکار، ب.، عفت پناه، ا.، ۱۳۹۶. تاثیر سطوح پروتئین جیره بر عملکرد رشد و شاخص های خونی بچه فیل ماهی (*Huso huso*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱، ۶۲-۵۱.

3. Adeniyi, K.O., Ononoze, M.E., 1990. The effect of thyroidectomy on total and differential leucocyte counts in Rat. Journal of Environmental Zoology, 4, 140–143.
4. Agrawal, N.K., Mahajan, C.L., 1983. Pathology of vitamin B6 deficiency in *Channa punctatus* Bloch. Journal of Fish Diseases, 6, 439–450.
5. Akhavan, S.R., Salati, A.P., Falahatkar, B., Jalali, S.A.H., 2016. Changes of vitellogenin and Lipase in captive Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* females during previtellogenesis to early atresia. Fish Physiology and Biochemistry, 42, 967–978.
6. Andrade, J.A., Akifumi, E.O., Menezes G.C., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., Tavares, M., Marcon, J.M., Affonso, E.G., 2007. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. Comparative Biochemistry and Physiology, 146A, 576–580.
7. Arul, V., 1987. Effect of thyroxine on growth and food utilization in *Channa striatus*. The first Indian fisheries forum (Abstracts), Mangalore, Asian Fisheries Society. 59 p.
8. Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., de Souza, C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., de Almeida Lacerda, L., 2004. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. Aquaculture, 237, 229–236.
9. Benfey, T.J., Biron, M., 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture, 184, 167–176.
10. Birstein, V. J., Bemis, W. E., Waldman, J. R., 1997. The threatened status of acipenseriform species: a summary. In *Sturgeon Biodiversity and Conservation* (pp. 427-435). Springer, Dordrecht.
11. Biswas, A.K., Seoka, M., Tanaka, Y., Takii, K., Kumai, H., 2006. Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of

12. Brown, C. L., Doroshov, S. I., Cochran, M. D., Bern, H. A., 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. Fish Physiology and Biochemistry, 7, 295-299.
13. Dabrowski, K., Ciereszko, A. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture Research, 32, 623-638.
14. 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, 879–890.
15. Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I., 1993. Sturgeon fishes. Developmental Biology and Aquaculture, Berlin, Germany, Springer-Verlag. 300 p.
16. Drews, R.E., 2003. Critical issues in hematology: anemia, thrombocytopenia, coagulopathy, and blood product transfusions in critically ill patients. Clinics in Chest Medicine, 24, 607–622.
17. Eales, J.G., Brown, S.B., 1993. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 3, 299–347.
18. Farbridge, K.J., Leatherland, J.F., 1988. Interaction between ovine growth hormone and triiodo-L-thyronine on metabolic reserves of rainbow trout *Salmo gairdneri*. Fish Physiology and Biochemistry, 5, 141–151.
19. Gabos, M., Pora, E.A., Race, L., 1973. Effect of thyroxine (T4), TSH and thiouracil TU (thiourea) treatment on the oxygen consumption of the carp. Studii si Cercetri de Biologie, Seria Zoologie, 25, 39–43.
20. 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.
21. Ghiasi, S., Falahatkar, B., Dabrowski, K., Abasalizadeh, A., Arslan, M., 2014. Effect of thiamine injection on growth performance, hematology and germinal vesicle migration in sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* L. Aquaculture International, 22, 1563–1576.
22. Golde, D.W., Bersch, N., Chopra, I.J., Cline, M.J., 1977. Thyroid hormones stimulate erythropoiesis in vitro. Britain Journal of Haematology, 37, 173–177.
23. Graff, E., Waagbo, R., Fivelstad, S., Vermeer, C., Lie1, O., Klundeby, A., 2002. A multivariate study on the effects of dietary vitamin K, vitamin D3 and calcium, and dissolved carbon dioxide on growth, bone minerals, vitamin status and health performance in smolting Atlantic salmon *Salmo salar* L. Journal of Fish Diseases, 25, 599–614.
24. Hawkyard, M., Sæle, O., Nordgreen, A., Langdon, C., Hamre, K., 2011. Effect of iodine enrichment of Artemia sp. on their nutritional value for larval zebrafish (*Danio rerio*). Aquaculture, 316, 37–43.
25. Higgs, D.A., Fagerlund, U.H., McBride, J.R., Dye, H.M., Donaldson, E.M., 1977. Influence of combinations of bovine growth hormone, 17α-methyltestosterone, and L-thyroxine on growth of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Canadian Journal of Zoology, 55, 1048–1056.
26. Higgs, D.A., Fagerlund, U.H.M., McBride, J.R., Eales, J.G., 1979. Influence of orally administered L-thyroxine or 3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine on growth, food consumption, and food conversion of underyearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Canadian Journal of Zoology, 57, 1974–1979.
27. Higgs, D.A., Fagerlund, U.H., Eales, J.G., McBride, J.R., 1982. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. Comparative Biochemistry and Physiology, 73B, 143–176.
28. Hilton, J.W., Plisetskaya, E.M., Leatherland, J.F., 1987. Does oral 3, 5, 3′-triiodo-L-thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in juvenile red sea bream (*Pagrus major*). Aquaculture, 258, 350–356.

39. Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbányi, B., 2004. Studies on the semen biology and sperm cryopreservation in the sterlet *Acipenser ruthenus* L. Aquaculture Research, 35, 519–528.
40. Lam, T.J., 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon mossambicus* Ruppell. Aquaculture, 21, 287–291.
41. 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.
42. Luo, D., McKeown, B.A., 1991. The effect of thyroid hormone and glucocorticoids on carp growth hormone-releasing factor (GRF)-induced growth hormone (GH) release in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology, 99A, 621–626.
43. Malhotra, S., Garg, S.K., 2003. Effect of recombinant bovine growth hormone (rbGH) administration on growth, body composition and gut proteolytic enzymes activity in fingerlings of *Channa punctatus* (Bloch). Journal of Aquaculture, 11, 49–58.
44. Malhotra, S., Garg, S.K., 2004. Effect of immersion treatment in bovine insulin on growth, nutrient retention and proteolytic enzyme activity in *Channa punctatus* (Bloch). Journal of Aquaculture, 12, 35–42.
45. McCarthy, D.H., Stevensom, J.P., Roberts, M.S., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout *Salmo gairdneri*. Journal of Fish Biology, 5, 1–8.
46. McLeese, J.M., Eales, J.G., 1996. Characteristics of the Uptake of 3, 5, 3′-triiodo-l-thyronine and l-thyroxine into red blood cells of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. General and Comparative Endocrinology, 103, 200–208.
47. Menezes, J.C., Dias, M., Ono, E.A., Andrade, J.A., Brasil, L.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., Marcon J.L., Affonso, A.J., 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu rainbow trout (*Salmo gairdneri*)?. Fish Physiology and Biochemistry, 4, 113–120.
29. 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.
30. Inui, Y., Miwa, S., 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. General and Comparative Endocrinology, 60, 450–454.
31. IUCN, I., 2012. Red List of Threatened Species: Version 2011.
32. Kawa, M.P., Grymuła, K., Paczkowska, E., Baśkiewicz-Masiuk, M., Dąbkowska, E., Koziołek, M., 2010. Clinical relevance of thyroid dysfunction in human haematopoiesis: biochemical and molecular studies. Euroupean Journal of Endocrinology, 162, 295–305.
33. Kendrick, T.S., Payne, C.J., Epis, M.R., Schneider, J.R., Leedman, P.J., Klinken, S.P., Ingley, E., 2008. Erythroid defects in TRα mice. Blood, 111, 3245–3248.
34. Khalil, N.A., Allah, H.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, 320–329.
35. Kieffer, J.D., 2000. Limits to exhaustive exercise in fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 126A, 161–179.
36. Klontz, G.W., 1994. Fish hematology. Techniques in Fish Immunology, 3, 121–131.
37. Krieger, J., Hett, A.K., Fuerst, P.A., Birstein, V.J., Ludwig, A., 2006. Unusual intraindividual variation of the nuclear 18S rRNA gene is widespread within the Acipenseridae. Journal of Heredity, 97, 218–225.
38. Kumar, A., Swarup, N., Singh, D.P., 1991. Effect of thyroxine administration on growth and morphological parameters of larvae of *Cyprinus carpio* (Linn.). Journal of Agriculture Science and Research, 33, 86–92.

56. Pourkazemi, M., Skibinski, D.O., Beardmore, J., 1999. Application of mtDNA d-loop region for the study of Russian sturgeon population structure from Iranian coastline of the Caspian Sea. Journal of Applied Ichthyology, 15, 23–28.
57. Poursaeid, S., Falahatkar, B., Van Der Kraak, G., 2015. Short-term effects of cortisol implantation on blood biochemistry and thyroid hormones in previtellogenic great sturgeon *Huso huso*. Comparative Biochemistry and Physiology, 179A, 197–203.
58. Quesada-García, A., Valdehita, A., Kropf, C., Casanova-Nakayama, A., Segner, H., Navas, J. M., 2014. Thyroid signaling in immune organs and cells of the teleost fish rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & Shellfish Immunology, 38, 166–174.
59. Rawling, M.D., Merrifield, D.L., Davies, S.J., 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture, 294, 118–122.
60. 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, 118–122.
61. Saunders, R.L., McCormick, S.D., Henderson, E.B., Eales, J.G., Johnston, C.E., 1985. The effect of orally administered 3, 5, 3′-triiodo-l-thyronine on growth and salinity tolerance of Atlantic salmon (*Salmo salar* L). Aquaculture, 45, 143–156.
62. Schmid, A.C., Lutz, I., Kloas, W., Reinecke, M., 2003. Thyroid hormone stimulates hepatic IGF-I mRNA expression in a bony fish, the tilapia *Oreochromis mossambicus*, in vitro and in vivo. General and Comparative Endocrinology, 130, 129–134.
63. Singh, T.P., Lal, B., Yadav, A.K., 1997. Pesticides and fish In: Pesticides, man and biosphere. Edited by Board of Editors.

Arapaima gigas, in net culture. Comparative Biochemistry and Physiology, 145A, 274–279.
48. Mishra, N., Pandey, P.K., Datta Munshi, J.S., Singh, B.R., 1977. Haematological parameters of an airbreathing mud eel *Amphipnous cuchia* (Ham.) (Amphipnoidae; Pisces). Journal of Fish Biology, 10, 567–573.
49. Moav, B., McKeown, B.A., 1992. Thyroid hormone increases transcription of growth hormone mRNA in rainbow trout pituitary. Hormone and Metabolic Research, 24, 10–14.
50. Moon, H. L., MacKenzie, D. S., Gatlin, D. M., 1994. Effects of dietary thyroid hormones on the red drum (*Sciaenops ocellatus*). Fish Physiology and Biochemistry, 12, 369–380.
51. Nespolo, R.F., Rosenmann, M., 2002. Intraspecific allometry of haematological parameters in *Basilichthys australis*. Journal of Fish Biology, 60, 1358–1362.
52. Pandey, B.N., Pande, S.D., Pandey, P.N., 2007. Aquaculture, In Kumar, A., Pandey, B.N., (Eds.), Haematological manifestation in relation to ecophysiological adaptations in a freshwater air-breathing teleost *Channa gachua* (Ham.), hormonal regulation, pp. 137-146. New Delhi: Ashish Publishing House.
53. Piñuela, C., Rendón, C., de Canales, M.G., Sarasquete, C., 2004. Development of the Senegal sole *Solea senegalensis* forebrain. European Journal of Histochemistry, 48, 377–384.
54. Piros, B., Glogowski, J., Kolman, R., Rzemieniecki, A., Domagala, J., Horvath, A., Ciereszko, A., 2002. Biochemical characterization of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* and sterlet *Acipenser ruthenus* milt plasma and spermatozoa. Fish Physiology and Biochemistry, 26, 289–295.
55. Plisetskaya, E., Woo, N.Y., Murat, J.C., 1983. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. Comparative Biochemistry and Physiology Physiology, 74A, 179–187.

Hindustan Publishing Corporation, New Delhi, pp 197–248.
64. Stpskopf, M.K., 1993. Clinical Pathology. In Stoskopf, M.K., (Ed.), Fish Medicine. pp. 113–131. Philadelphia: Saunders Company.
65. Tatina, M., Bahmani, M., Soltani, M., Abtahi, B., Gharibkhani, M., 2010. Effects of different levels of dietary vitamin C and E on some of hematological and biochemical parameters of sterlet (*Acipenser ruthenus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 5, 1–11.
66. Urbinati, E.C., Vasques, L.H., Senhorini, J.A., Souza, V.L., Gonçalves, F.D., 2008. Larval performance of matrinxã *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. Aquaculture Research, 39, 1355–1359.
67. Valenzuela, A.E., Silva, V.M., Klempau, A.E., 2006. Qualitative and quantitative effects of constant light photoperiod on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) peripheral blood erythrocytes. Aquaculture, 251, 596–602.
68. Vijayan, M.M., Leatherland, J.F., 1989. Cortisol-induced changes in plasma glucose, protein, and thyroid hormone levels and liver glycogen content of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). Canadian Journal of Zoology, 67, 2746–2750.
69. Williot, P., Brun, R., Rouault, T., Pelard, M., Mercier, D., Ludwig, A., 2005. Artificial spawning in cultured sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites. Aquaculture, 246, 263–273.
70. Woo, N.Y.S., Chung, A.S.B., Ng, T.B., 1991. Influence of oral administration of 3, 5, 3′-triiodo-thyronine on growth, digestion, food conversion and metabolism in the underyearling red sea bream *Chrysophrys major* (Temminck & Schlegel). Journal of Fish Biology, 39, 459–468.
71. Yamano, K., 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. Japan Agricultural Research Quarterly, 39, 161–168.
72. Yücel, R., Özdemir, S., Darıyerli, N., Toplan, S., Akyolcu, M. C., Yiğit, G., 2009. Erythrocyte osmotic fragility and lipid peroxidation in experimental hyperthyroidism. Endocrine, 36, 498–502.