زیست‌شناسی جانوری، سال چهاردهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۱، صفحات ۱۵۲- ۱۳۵

**مقاله پژوهشی**

# بررسی مقایسه‌ای عصاره هیپوفیز، LHRH و تیروکسین بر استروئیدهای جنسی، هیستوشیمی بافت تخمدان و اسیدهای چرب مولد مولد ماده روهو (*Labeo rohita*)

**احسان اسلامی زاده، حدیده معبودی*، لاله رومیانی، مهران جواهری بابلی، مژده چله مال دزفول نژاد**

گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات: mailto:h.mabudi@iauahvaz.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1934909.1269

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۵

**چکیده**

این مطالعه با هدف بررسی اثر مقایسه‌ای هورمون‌های هیپوفیز، LHRH و تیروکسین بر شاخص‌های هورمونی و اسیدهای چرب تخمدان ماهی مولد ماده روهو (*Labeo rohita*) انجام شد. هورمون تیروکسین با دوزهای ۲، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم به ازای هر گرم وزن بدن ماهی مولد در یک تزریق در نظر گرفته شد. در زمان بین تزریق اول و دوم، بعد از تزریق دوم و بعد از تخم‌کشی سطح هورمون‌های استرادیول، تستوسترون، ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون، کورتیزول و LH بالاترین سطح خود را به ترتیب در هیپوفیز و تیمار دریافت کننده دوز ۵۰ میکروگرم وزن بدن و کمترین میزان خود را در تیمارهای دریافت کننده LHRH و شاهد داشتند ($p$ <۰/۰۵). در بین تیمارهای دریافت کننده تیروکسین، افزایش سطح تیروکسین توانست هورمون‌های محرک فرآیند رسیدگی را به شکل معنی‌داری افزایش دهد. تیمار دریافت کننده هیپوفیز و تیمار تیروکسین دریافت کننده ۵۰ میکروگرم با مقدار ۱۶/۷۰ و ۱۵/۹۹ درصد وزن خشک بالاترین میزان پروتئین تخمدان و دو تیمار LHRH و شاهد کمترین سطح پروتئین تخمدان را داشتند. تیمارهای دریافت کننده تیروکسین به شکل معنی‌داری مقدار بالاتری چربی در مقایسه با هیپوفیز، LHRH و شاهد داشت. اسیدهای چرب اشباع اسید چرب C16:0 با مقادیر بین ۲۸/۴۴-۲۱/۱۶ درصد وزن خشک، اسید چرب C24:0 با محدوده‌ی ۱۹/۶۰-۱۶/۱۵ درصد وزن خشک و اسید چرب C22:0 ۱۱/۱۷-۷/۳۴ درصد وزن خشک فراوانترین اسیدهای چرب اشباع بودند. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (ΣSUF) با مقادیر ۶۳/۱۵ و ۵۸/۷۳ درصد وزن خشک به تیمار دریافت کننده هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم و کمترین میزان این پارامتر با ۵۴/۵۵ و ۵۰/۱۴ درصد وزن خشک به تیمار شاهد و دریافت کننده LHRH تعلق داشت. دو تیمار هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین، مجموع اسید چرب امگا ۶ (Σω6) و ۳ (Σω3) بالاتری داشتند ($p$ <۰/۰۵). هورمون هیپوفیز و به دنبال آن هورمون تیروکسین با دوز ۵۰ میکروگرم در مقایسه با دوزهای پایین تیروکسین و نیز LHRH کارایی بالاتری در افزایش سطح هورمون‌های جنسی دخیل در فرآیند رسیدگی جنسی و نیز ترکیب اسیدهای چرب تخمدان ماهی مولد روهو دارند.

**کلمات کلیدی**: هیپوفیز، LHRH، تیروکسین، هورمون، اسیدهای چرب، ماده روهو (*Labeo rohita*).

**مقدمه**

تقریبا تمام ماهیان در محیط استخرهای پرورشی، عملکرد تولید مثلی ضعیفی را از خود نشان می‌دهند از این رو مطالعه بیشتر مکانیزم‌های کنترل فعالیت تولید مثلی در ماهیان که امکان تنظیم دوره‌های جنسی را ممکن می‌سازد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۴). غالباً در جنس ماده، ناتوانی در بلوغ نهایی

اووسیت‌ها، تخمک‌گذاری و تخم‌ریزی وجود دارد و در جنس نر ممکن است اسپرم با کیفیت ضعیف تولید می‌شود. این عملکردهای ضعیف ناشی از این واقعیت است که ماهی در شرایط اسارات، شرایط تخم‌ریزی طبیعی را تجربه نکرده است و هورمون‌های لازمه ترشح نشده است (۳). لذا ارائه هر گونه راه حل، جهت بالا بردن کیفیت تکثیر که موجب افزایش درصد لقاح، تفریخ یا بازماندگی لاروها و نیز افزایش درصد بازگشت شیلاتی شود حائز اهمیت است.

سیستم غدد درون ریز، پیوستگی تدریجی نسبی را بین محیط خارجی و وضعیت داخلی بدن ایجاد می‌کند. در نتیجه رفتارهای تولیدمثلی به خوبی با رسیدگی جنسی و شرایط محیطی مطلوب هم زمان گردیده است. هیپوفیز از سال ۱۹۳۰ در تحریک تولیدمثل و وادار کردن ماهی به تخم‌ریزی مورد استفاده قرار گرفته است. هیپوفیز استخراجی از ماهیان بالغ و آماده تولید مثل به طور موفقی برای تکثیر گونه‌های مختلفی از ماهیان استفاد شده است (۸)، اما فعالیت‌های غیر قابل پیش‌بینی این هورمون، تهیه هیپوفیز و تنوع در موفقیت استفاده از عصاره هیپوفیز، استفاده از گنادوتروپین انسانی را رواج داده است. دسترسی آسان و اثر بخشی قابل قبول این هورمون در القای تخم ریزی تعداد زیادی از گونه‌های ماهی سبب کاربرد بیشتر این هورمون شدن است. اما قیمت بالا و عدم کارایی این هورمون برای برخی از گونه‌ها، محققان را وادار به تکثیر با هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین (LHRH یا GnRH) کرد (۷). LHRH و آنالوگ‌های آن به تنهایی یا در ترکیب با هورمون‌های دیگر، سال‌های زیادی است که جهت القا تخم ریزی ماهیان استفاده می‌شوند (۳).

غده تیروئید متشکل از فولیکول‌های متعددی است که توسط دو نوع عمده از یاخته‌های پوششی پوشیده شده است: یاخته‌های فولیکولی که $T_3$ و $T_4$ را ترشح می‌کنند و یاخته‌های فولیکولی یا یاخته‌های C که کلسی تونین را ترشح می‌کنند (۳۲). مطالعات مختلف نشان داده است که هورمون‌های مترشحه از تیروئید با تاثیرات عمیق و گسترده‌ی مستقیم و غیر مستقیم بر تولید مثل، می‌تواند به شکلی موثرتری در مقایسه با سایر هورمون‌ها بر روی فرآیند تولید مثل تاثیر بگذارند (۳۹،۱۳،۱٤). هورمون‌های تیروئیدی شامل تیروکسین ($T_4$) و تری‌یدو تیرونین ($T_3$) هورمون‌هایی مشتق شده از اسید آمینه تیروزین می‌باشند که توسط غده تیروئید ساخته و ترشح می‌شوند (۷). تعداد اندام‌ها، دستگاه‌های بدن و روند سوخت و سازی که تحت تاثیر این هورمون‌ها قرار می‌گیرند، بیش از هر هورمون دیگری است. در ماهیان این هورمون‌ها بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک نظیر رشد و نمو، متابولیسم، تنظیم اسمزی، دگردیسی، مصرف اکسیژن، تولید مثل و باروی را در ارتباط و هماهنگی با سایر هورمون‌ها تنظیم می‌کنند (۱۰). همچنین در ماهیان پهن دیده شده است که در طول دوره دگردیسی، باعث توسعه دستگاه گوارش ماهی می‌گردد (۱۰). این هورمون‌ها در خون ماهیان ماده براساس چرخه‌های تولید مثلی تغییر می‌کنند. آن‌ها به درون تخمدان منتقل می‌شوند و در طول بلوغ تخمدان، در تخمک تجمع می‌یابند و به لارو نیز منتقل می‌شوند (۱۲). علاوه بر این، هورمون‌های تیروئیدی در بقا، رشد و توسعه لارو ماهیانی که چنین دگردیسی‌هایی را ندارند، نیز اثر می‌گذارد (۹).

کپور ماهیان هندی از انواع ماهیان گرم‌آبی محسوب می‌شوند که پس از کپور ماهیان چینی در دنیا مقام دوم تولید را به خود اختصاص می‌دهند (۲۸). ماهی روهو (*Labeo rohita*) در میان کپور ماهیان هندی یک ماهی ممتاز است و به عنوان یکی از خوشمزه‌ترین کپور ماهیان پرورشی در قاره هند مورد توجه است. گزارشات متعدد بر تاثیر مثبت ترکیب تلفیقی

گونه‌هایی از کپور ماهیان هندی و چینی در استخرهای خاکی نسبت به کشت کپور ماهیان چینی به تنهایی دارد که می‌تواند تولید ماهی را به شدت افزایش دهد (٤٠). از این رو استفاده از گونه‌های جدید که هم از تولید مناسبی برخوردار بوده و از مقاومت بیشتری در مقابل شرایط محیطی برخوردار باشند می‌تواند به توسعه این صنعت و مقابله با تهدیدات موجود بیانجامد (۲۸). با توجه به اینکه این گونه غیر بومی ایران است، تکثیر و تولید این گونه و تولید لارو با کیفیت با استفاده از تکنیک‌های هورمونی از موارد ضروری برای پیشرفت در آبزی‌پروری این دسته از ماهیان ارزشمند است. ضمنا مطالعات بسیار کمی در خصوص اثر هورمون‌های تیروئیدی بر تکثیر و تولید مثل این ماهی انجام شده است. از این رو هدف از این تحقیق، بررسی القا هیپوفیر، LHRH و تیروکسین بر مولدین ماده روهو (ماهی کپور هندی)( *Labeo rohita*) می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**مولدین:** از مولدین ۰/۵۸ ± ۳ کیلویی روهو استفاده شد. ماهیان ماده با شکم متورم و نرم، رنگ صورتی قرمز و برآمدگی نوک مجرای تناسلی شناسایی شدند. این ماهیان به مخازن سیمانی نگهداری هچری منتقل و با ۳۰ سی‌سی اتیلن گلیکول در ۱۰۰ لیتر بی‌هوش شدند (۲۹). تعداد مولدین برای هر تیمار و شاهد، ٦ عدد بود.

**آماده‌سازی هورمون تیروکسین:** تیروکسین با نام تجاری Thyroxine Sodium یا T4 (ایران هورمون، ایران) خریداری شد. هورمون تیروکسین با دوزهای ۲، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم به ازاری هر گرم وزن بدن ماهی مولد و براساس مطالعات Jamili و همکاران (۲۰۰٦)(۱۹) و Khalil و همکاران (۲۰۱۱)(٢٤) در نظر گرفته شد.

**گروه‌های تیمار مورد مطالعه:** شامل ٤ گروه بودند.

۱- هورمون تیروکسین: جهت مولد ماده با وزن ۹۵۰ گرم وزن دوز ۲ میکروگرم به صورت ذیل تهیه شد. میکروگرم هورمون ۱۹۰۰=۹۵۰×۲، میلی‌گرم هورمون ۱/۹= ۱۰۰۰÷ ۹۵۰، گرم هورمون ۰/۰۰۰۹۱ = ۱۰۰۰ ÷ ۰/۹۵. هورمون مذکور در ۱ سی‌سی محلول دی متیل سولفواکساید حل شد. دوزهای ۲، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم بر گرم وزن نیز بر این اساس تهیه گردید.

۲- هورمون هیپوفیز: طی دو مرحله، مرحله اول ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مرحله دوم ۱۲ ساعت بعد ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم.

۳- هورمون LHRH: به میزان دوز درج شده (۰/٤ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن ماده) در مقاله Naeem و همکاران (۲۰۱۳) با موضوع القا تخم‌ریزی با استفاده از LRHR analogue تزریق شد (۲۹). ماهیان پس از تزریق در تانک‌های با چرخش آب قرار گرفتند.

٤- به مولدین تیمار شاهد، بدون تزریق هورمون بوده و آب مقطر به مولدین تزریق شد. تزریق در زیر باله‌ی جانبی ماهی انجام شد. هر تیمار، دارای ۳ تکرار بود.

**بررسی تغییرات هورمونی در مولدین ماده روهو:** خونگیری در زمان‌های قبل از تزریق، بین تزریق اول و دوم، بعد از تزریق دوم و بعد از تخم‌کشی انجام شد. خونگیری از ماهیان مولد با سرنگ پلاستیکی ۵ میلی‌لیتری و از ساقه دمی انجام و نمونه‌های خون در ظروف ایزوله حاوی یخ به ازمایشگاه منتقل شد. سرم نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه بدست آمد. نمونه‌های سرم مربوط به هر ماهی تا زمان انجام سنجش‌های هورمونی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۳٤). جهت اندازه‌گیری تستوسترون و ۱۷ بتا- استرادیول از کیت هورمونی Spectria (فنلاند) استفاده

شد. مقادیر کورتیزول به روش RIA، اندازه‌گیری ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون از کیت هورمونی Immunotech (فرانسه) و هورمون LH با استفاده از کیت‌های Immunotech (فرانسه) و ردیاب I125 به روش رادیوایمنواسی (RIA) مورد بررسی قرار گرفت.

**هیستوشیمی تخمدان:** جهت انجام مطالعات هیستوشیمیایی، نمونه‌های بافت تخمدان در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در تخمدان به روش AOAC (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد (۵). اندازه‌گیری رطوبت نمونه‌ها از طریق خشک کردن آنها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون تا دستیابی به یک وزن ثابت، صورت گرفت. تعیین مقدار خاکستر نیز از طریق سوزاندن نمونه‌ها در دمای ۵۵۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۲ ساعت در کوره الکتریکی و مقدار پروتئین نمونه‌ها (نیتروژن کل×٦/۲۵) از طریق روش کجلدال و بعد از هضم نمونه‌ها در اسید سولفوریک ۹۸ درصد تعیین گردید. برای استخراج چربی نمونه‌ها از سوکسله و از روش حل چربی نمونه در اتر استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** برای محاسبات آماری در محیط نرم افزار SPSS23 استفاده شد. آنالیز واریانس یک طرفه به منظور بررسی اختلاف بین میانگین متغیرهای هورمونی، ترکیب بافتی و اسیدهای چرب تخمدان و تست تکمیلی توکی به منظور بررسی مقایسات چندگانه بکار برده شدند. تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد در نظر گرفته شد و داده‌ها به صورت میانگین ±انحراف استاندارد گزارش شدند.

## نتایج

**استروئیدهای جنسی:** بر اساس نتایج اندازه‌گیری هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی (جدول ۱)، هورمون‌های استرادیول، تستوسترون، کورتیزول، ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون و LH قبل از تزریق بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در زمان بین تزریق اول و دوم، بعد از تزریق دوم و بعد از تخمک‌کشی سطح هورمون‌های استرادیول، تستوسترون، ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون و LH بالاترین سطح خود را به ترتیب در هیپوفیز و تیمار دریافت کننده دوز ۵۰ میکروگرم وزن بدن و کمترین میزان خود را در تیمارهای دریافت کننده LHRH و شاهد داشتند ($p$ <۰/۰۵). در بین تیمارهای دریافت کننده تیروکسین، افزایش سطح تیروکسین توانست هورمون‌های محرک فرآیند رسیدگی را نسبت به سایر تیمارها به شکل معنی‌داری افزایش دهد ($p$ <۰/۰۵). براساس شکل ۱، بالاترین سطح هورمون استرادیول در تیمارهای دریافت کننده ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین و هیپوفیز اندازه-گیری شد. تیمار شاهد و LHRH در زمان‌های بعد از تزریق اول و دوم و بعد از تخمک‌کشی کمترین سطح هورمون استرادیول را داشتند ($p$ <۰/۰۵). در دو تیمار هیپوفیز و ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین بعد از تزریق دوم، در تیمار دوز ۲ میکروگرم وزن بدن تیروکسین بعد از تخمک‌کشی، در تیمار دریافت کننده دوز ۱۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین بعد از تزریق بالاترین سطح هورمون استرادیول را داشتند در حالی که دو تیمار LHRH و شاهد قبل از تزریق بالاترین سطح هورمون استرادیول را نشان دادند ($p$ <۰/۰۵).

روند تغییرات تستوسترون در ٦ تیمار مورد بررسی در شکل ۲ بررسی شده است. بالاترین سطح هورمون تستوسترون در تیمارهای دریافت کننده تیروکسین، هیپوفیز، LHRH و شاهد در ماهیان ماده قبل از تزریق اندازه‌گیری شد ($p$ <۰/۰۵) و پس از تزریق روندی کاهشی در تمامی تیمارها داشت ($p$ <۰/۰۵). در تیمار شاهد و LHRH سطح این هورمون بین تزریق اول و دوم، بعد از تزریق دوم و بعد از تخمک‌کشی اختلاف

معنی‌داری نداشتند ($p > ۰/۰۵$) و در مقایسه با سایر تیمارها کمترین مقدار را نشان دادند ($p <۰/۰۵$). بالاترین سطح این هورمون بعد از تزریق در دو تیمار هیپوفیز و تیمار دریافت کننده دوز ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین و در زمان بعد از تخم‌کشی اندازه‌گیری شد ($p <۰/۰۵$).

کورتیزول به عنوان یک هورمون بازدارنده، در تیمارهای دریافت کننده تیروکسین و هیپوفیز در زمان قبل از تزریق و بعد از تزریقات و تخم‌کشی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p <۰/۰۵$). دو تیمار LHRH و شاهد، بعد از تخم‌کشی پایین‌ترین سطح هورمون کورتیزول را در مقایسه با سایر زمان‌های نمونه‌برداری داشتند ($p <۰/۰۵$).

روند تغییرات هورمون کورتیزول در ماهی ماده روهو در شکل ۳ نشان داده شده است. پایین‌ترین سطح هورمون ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون در دو تیمار شاهد و LHRH و بالاترین سطح این هورمون در دو تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین و هیپوفیز اندازه‌گیری شد ($p <۰/۰۵$). همچنین براساس روند تغییرات این هورمون در شکل ٤، در هر ٦ تیمار مورد بررسی، بعد از تزریق دوم و بعد از تخم‌کشی بالاترین سطح هورمون ۱۷-آلفا هیدروکسی پروژسترون و قبل از تزریق کمترین میزان این هورمون را داشتند ($p <۰/۰۵$).

هورمون LH در زمان قبل از تزریق با اختلاف معنی-دار و افزایش قابل توجهی در زمان‌های بعد از تزریق و تخم‌کشی، بالاترین مقدار را داشت ($p <۰/۰۵$). بالاترین سطح این هورمون در تمام تیمارها بعد از تزریق دوم اندازه‌گیری شد (شکل ۵).

**اسیدهای چرب**: روند تغییرات اسیدهای چرب در ٦ تیمار مورد بررسی، در جدول ۲ نشان داده شده است. در بخش اسیدهای چرب اشباع اسید چرب C16:0 با مقادیر بین ۲۸/٤٤-۲۱/۱٦ درصد وزن خشک، اسید چرب C24:0 با محدوده‌ی ۱۹/٦۰-۱٦/۱۵ درصد وزن خشک و اسید چرب C22:0 ۷/۳٤-۱۱/۱۷ درصد وزن خشک فراوانترین اسیدهای چرب اشباع بودند. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (ΣSUF) با مقادیر ٦۳/۱۵ و ۵۸/۷۳ درصد وزن خشک به تیمار دریافت کننده هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم بر وزن بدن و کمترین میزان این پارامتر با ۵٤/۵۵ و ۵۰/۱٤ درصد وزن خشک به تیمار شاهد و دریافت کننده LHRH تعلق داشت. اسیدهای چرب اشباع C18:0 بین تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت ($p > ۰/۰۵$).

از بین ۹ اسید چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه، ٤ اسید چرب اشباع C18:0، C17:1، C16:1، C18:1n9t و C18:1n7t بین ۳ تیمار دریافت کننده تیروکسین، تیمار دریافت کننده هورمون هیپوفیز، LHRH و شاهد اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p > ۰/۰۵$). اسیدهای چرب C17:1 و C18:1n9c با محدوده‌ی ٤/۷۷-۳/٤۳ و ۵/٤۰-۳/۲۸ درصد وزن خشک و اسید چرب C24:1n9 با محدوده‌ی ۰/۱۸-۰/۰۳ درصد وزن خشک به ترتیب بالاترین و کمترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع را داشتند. مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه، با محدوده‌ای ۱۲/۲۷- ۸/۸۲ درصد وزن خشک بالاترین میزان را در تیمار دریافت کننده هیپوفیز با مقدار ۱/۰٤±۱۲/۲۷ درصد وزن خشک و کمترین میزان را در تیمار شاهد ۰/٦۱±۸/۸۲ درصد وزن خشک نشان دادند ($p$ ۰/۰۵ >).

اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (ΣPUF) به دو گروه اسیدهای چرب امگا ٦ (۷ نوع اسید چرب) و اسیدهای چرب امگا ۳ (٤ نوع اسید چرب) تقسیم شدند که اسیدهای چرب C20:2n6، C18:2n6c و C22:2n6 با محدوده‌های بین ٤/٦۰-۳/۵۵، ۱/۹۱- ۰/٦۷ و ۲/٦۸-۱/۲۲ درصد وزن خشک بالاترین

مقدار اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه را داشتند ($p$ <۰/۰۵). در خصوص اسیدهای چرب امگا ٦، اسید چرب C22:6n3 با ۱۲/۳۵-۸/۰۳ درصد وزن خشک فراوان‌ترین اسید چرب بود. دو تیمار هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین، مجموع اسید چرب امگا ٦ (Σω6) و ۳ (Σω3) بالاتری داشتند ($p$ <۰/۰۵).

**هیستوشیمی بافت تخمدان:** ترکیب هیستوشیمیایی تخمدان در جدول ۳، نشان داده شده است. رطوبت و خاکستر بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار نداشت ($p$ > ۰/۰۵). تیمار دریافت کننده پروتئین با مقدار ۱٦/۷۰ درصد و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم وزن بدن تیروکسین با ۱۵/۹۹ درصد بالاترین میزان پروتئین تخمدان را داشت ($p$ <۰/۰۵). دو تیمار LHRH و شاهد کمترین سطح پروتئین تخمدان را داشتند ($p$ <۰/۰۵). در خصوص چربی، تیمارهای دریافت کننده تیروکسین به شکل معنی‌داری مقدار بالاتری در مقایسه با هیپوفیز، LHRH و شاهد داشت ($p$ <۰/۰۵).

جدول ۱- روند تغییرات هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی ماهی روهو تحت تیمار با هورمون‌ها

| | پارامترها (نانوگرم بر میلی لیتر)/گروه‌ها | شاهد | تیروکسین (میکروگرم وزن بدن) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | دوز ۲ | دوز ۱۰ | دوز ۵۰ |
| ماده قبل از تزریق | استرادیول | ۲۹۳/۰۳±۱۸/۰۸ $^{a}$ | ۳٤۰/۵۳±۲۲/۰۵ $^{a}$ | ۳٤٤/۵۱±۵/۹۹ $^{a}$ | ۳۱٦/۷٤±۱٦/۱۸ $^{a}$ |
| | تستوسترون | ۲/۱۵±۰/۰۳ $^{a}$ | ۳/۷۹±۰/۲۱ $^{a}$ | ۳/۸٦±۰/۲۲ $^{a}$ | ۳/۰۲±۰/۰۱ $^{a}$ |
| | کورتیزول | ۱٦/۱۱±۱/۳۱ $^{a}$ | ۱٦/۰۸±۰/۷۹ $^{a}$ | ۱٦/۹۵±۰/۸۲ $^{a}$ | ۱۷/۱۵±۰/۵۲ $^{a}$ |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۷±۰/۰۰۰۰۲ $^{a}$ | ۰/۰۰۰۹±۰/۰۰۰۲ $^{a}$ | ۰/۰۰۱۳±۰/۰۰۰۰۱ $^{a}$ | ۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۰۰۲ $^{a}$ |
| | LH | ۲۷۳/۰۳±۳۸/۰۸ $^{a}$ | ۲۹۰/۵۳±٤۰/۵۹ $^{a}$ | ۳۱۱/۱۸±۳۳/٤۳ $^{a}$ | ۳۳۳/٤۰±۳۲/۲۱ $^{a}$ |
| بین تزریق اول و دوم | استرادیول | ۱۹۹/۷٤±۱۳/٤۹ $^{e}$ | ۳۰٤/۰۵±۱٦/۸۸ $^{c}$ | ۳۷٤/۹۳±۱۸/۰۷ $^{b}$ | ٤۰۰/۲۱±۱۵/۱۹ $^{b}$ |
| | تستوسترون | ۰/۰۳±۰/۰۰۲ $^{f}$ | ۰/۱۹±۰/۰۰۲ $^{d}$ | ۰/۲٤±۰/۰۰٦ $^{c}$ | ۰/۷٤±۰/۰۰۸ $^{b}$ |
| | کورتیزول | ۱۵/۰۸±۰/۹۸ $^{c}$ | ۱٦/۵۳±۱/۱٦ $^{b}$ | ۱۷/۲۹±۱/۱٤ $^{b}$ | ۱۷/٦۵±۰/۸٦ $^{b}$ |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۲±۰/۰۰۰ $^{d}$ | ۰/٤۳±۰/۰۰٤ $^{b}$ | ۰/٤۵± ۰/۰۲ $^{b}$ | ۰/٦۳±۰/۰۲ $^{a}$ |
| | LH | ۰/۰۲±۰/۰۰۷ $^{f}$ | ۰/۱۱±۰/۰۰۵ $^{d}$ | ۰/۱۳±۰/۰۰٦ $^{c}$ | ۰/۱۸±۰/۰۱ $^{b}$ |
| بعد از تزریق دوم | استرادیول | ۱۵۱/۲۹±۱٤/۵٤ $^{f}$ | ۳۱۹/۳۰±۲٤/٤۲ $^{d}$ | ۵۸۲/۱۱±۵۸/۳۲ $^{c}$ | ۹۹۳/۱٦±۸٦/۵۹ $^{b}$ |
| | تستوسترون | ۰/۰۱±۰/۰۰۱ $^{f}$ | ۰/۳٤±۰/۰۰۷ $^{d}$ | ۰/۷۸±۰/۰۱ $^{c}$ | ۱/۰۷±۰/۰۲ $^{b}$ |
| | کورتیزول | ۱٤/۱۵±۱/۱٦ $^{d}$ | ۱٦/۵٦±۱/۰۹ $^{b}$ | ۱۷/٦۹±۱/۵۲ $^{b}$ | ۱۷/۹۹±۰/۸۵ $^{b}$ |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰٤±۰/۰۰۲ $^{f}$ | ۰/۷۰±۰/۰۷ $^{d}$ | ۱/۱۳±۰/۰٤ $^{c}$ | ۱/٦۹±۰/۰۲ $^{b}$ |
| | LH | ٤/۰۸±۱/٤٦ $^{f}$ | ۵/۲۹±۰/۳۳ $^{d}$ | ۸/۳۰±۰/۹٤ $^{c}$ | ۱٤/۲۲±۱/٤۲ $^{b}$ |
| بعد از تخم کشی | استرادیول | ۱۳۳/٦٦±۵٤/۳٤ $^{e}$ | ۵۱۵/۷۷±۳۲/۲۳ $^{c}$ | ۵٤٦/۵۷±٤۸/۱۳ $^{c}$ | ٦۹۸/٦٦±۲٦/۸۳ $^{b}$ |
| | تستوسترون | ۰/۰۱± ۰/۰۰٤ $^{f}$ | ۰/۱۰۸±۰/۰۲ $^{d}$ | ۰/۷۳±۰/۰۳ $^{c}$ | ۱/٤۱±۰/۰۳ $^{b}$ |
| | کورتیزول | ۱۰/۸۵±۰/۹۳ $^{e}$ | ۱٤/٦٦±۰/۹۸ $^{d}$ | ۱۵/٦۵±۰/۹۹ $^{c}$ | ۱٦/٦۸±۰/۸۲ $^{b}$ |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۳ $^{f}$ | ۰/۳۸±۰/۰۰۲ $^{d}$ | ۰/۹٤±۰/۰۰۲ $^{c}$ | ۱/۲٤±۰/۰۰۳ $^{b}$ |
| | LH | ۲/۰۷±۰/۵۲ $^{d}$ | ٤/٤۱±۰/۲٦ $^{b}$ | ٤/٦۳±۰/۳۳ $^{b}$ | ۵/۵٦±۰/۵٦ $^{a}$ |

حروف غیر مشابه به معنی‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها است ($p$ <۰/۰۵).

جدول ۲- روند تغییرات هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی ماهی روهو تحت تیمار با هورمون‌ها

| | پارامترها (نانوگرم بر میلی لیتر)/گروه‌ها | شاهد | هیپوفیز | LHRH |
|---|---|---|---|---|
| ماده قبل از تزریق | استرادیول | ۲۹۳/۰۳±۱۸/۰۸ a | ۳۳٤/٥٦±۲۲/٤٥ a | ۳۸٤/۱۹±۱۱/۰٦ a |
| | تستوسترون | ۲/۱٥±۰/۰۳ a | ۳/۳۸±۰/۱۳ a | ۳/۱۸±۰/۰٤ a |
| | کورتیزول | ۱٦/۱۱±۱/۳۱ a | ۱۷/٥۱±۱/٤۰ a | ۱٥/۷٥±۱/۰٥ a |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۷±۰/۰۰۰۰۲ a | ۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۰۲ a | ۰/۰۰۰۹±۰/۰۰۰۰۲ a |
| | LH | ۲۷۳/۰۳±۳۸/۰۸ a | ۳۰۷/۸۹±۲۳/۸۸ a | ۳۰٤/۱۹±۲۱/۰٦ a |
| بین تزریق اول و دوم | استرادیول | ۱۹۹/۷٤±۱۳/٤۹ e | ٤۷۸/٤٤±۱۷/۱۳ a | ۲۲٥/٥۸±۲۱/۸۲ d |
| | تستوسترون | ۰/۰۳±۰/۰۰۲ f | ۲/٤۹±۰/۳۳ a | ۰/۰۹±۰/۰۰۱ e |
| | کورتیزول | ۱٥/۰۸±۰/۹۸ c | ۱۹/۹٦±۰/۸۹ a | ۱٦/۳۹±۰/۸۳ b |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۲±۰/۰۰۰ d | ۰/۷۰±۰/۰۷ a | ۰/۰۰۰٦±۰/۰۰۰ c |
| | LH | ۰/۰۲±۰/۰۰۷ f | ۰/۲٤±۰/۰۰٥ a | ۰/۰٦±۰/۰۰۹ e |
| بعد از تزریق دوم | استرادیول | ۱٥۱/۲۹±۱٤/٥٤ f | ۱۰۱٦/۳۳±٦۱/۷ a | ۲۰۱±۲۰/۳٤ e |
| | تستوسترون | ۰/۰۱±۰/۰۰۱ f | ۲/٤٥±۰/٤٥ a | ۰/۰۳±۰/۰۰۸ e |
| | کورتیزول | ۱٤/۱٥±۱/۱٦ d | ۲۰/۰٤±۰/۷۸ a | ۱٦/۱۳±۱/۲۸ c |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰٤±۰/۰۰۲ f | ۳/۱۲±۰/٦۰ a | ۰/۱۹±۰/۰۰۲ e |
| | LH | ٤/۰۸±۱/٤٦ f | ۲۹/٦٥±۳/۸۷ a | ٥/۳۰±۰/۹۰ e |
| بعد از تخم کشی | استرادیول | ۱۳۳/٦٦±٥٤/۳٤ e | ۹۷۹/۳۳±۲٦/۹۹ a | ۲۳۲/٤۹±۲٦/۰۳ d |
| | تستوسترون | ۰/۰۱± ۰/۰۰٤ f | ۳/٤۰±۰/٦۱ a | ۰/۰٥±۰/۰۰۲ e |
| | کورتیزول | ۱۰/۸٥±۰/۹۳ e | ۱۸/۸۱±۰/۷۲ a | ۱۲/٦۲±۱/٥۳ d |
| | ۱۷- آلفا هیدروکسی پروژسترون | ۰/۰۰۰۱±۰/۰۰۳ f | ۲/۲٤±۰/۷۱ a | ۰/۰٤±۰/۰۰۱ e |
| | LH | ۲/۰۷±۰/٥۲ d | ٦/۲۱± ۱/۰۳ a | ۳/۱۳±۰/۱٦ c |

حروف غیر مشابه به معنی‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها است ($p$ <۰/۰۵).

جدول ۳- ترکیب اسیدهای چرب تخمدان ماهی ماده روهو تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی

| | پارامتر / تیمار | تیروکسین (میکروگرم وزن بدن) دوز ۲ | دوز ۱۰ | دوز ۵۰ | هیپوفیز | LHRH | شاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| اسیدهای چرب اشباع | C12:0 | ۰/۰٦±۰/۰۰۰۷ c | ۰/۱۰±۰/۰۱ a | ۰/۰۷±۰/۰۰۸ b | ۰/۰٥±۰/۰۰۷ d | ۰/۰٥±۰/۰۰٦ d | ۰/۰۲±۰/۰۰۷ e |
| | C14:0 | ۰/٥۰±۰/۰۷ d | ۱/۱۲±۰/۰۱ a | ۰/۰٦٤±۰/۰۷ c | ۰/٦۷±۰/۰٤ c | ۰/۷۲±۰/۰٦ b | ۰/۷۲±۰/۰۸ b |
| | C16:0 | ۲۱/٥۹±۲/۸۸ c | ۲۳/۲۹±۰/۳۱ b | ۲۳/۷۸±۰/٥۱ b | ۲۸/٤٤±۰/۹۸ a | ۲۱/۱٦±۲/۱۷ c | ۲۱/٤۲±۲/٦٦ c |
| | 17:0 | ۳/۱۲±۰/۲۲ bc | ٤/۳٦±۰/۱۱ a | ۳/۳۸±۰/۲۲ b | ۳/۹۷±۰/٥۹ b | ۳/۷۱±۰/٥٦ b | ۳/۰٤±۰/۳۷ c |
| | C18:0 | ۱/۱۳±۰/۲۳ a | ۱/۰٤±۰/۰۱ a | ۰/۸۰±۰/۰٥ a | ۰/۹۳±۰/۰۸ a | ۰/۹٤±۰/۰۷ a | ۰/۹۳±۰/۱۸ a |
| | C20:0 | ۰/٤۱±۰/۰٤ c | ۰/۸۱±۰/۰۱ a | ۰/۳۷±۰/۰۸ c | ۰/٤۹±۰/۰۸ bc | ۰/٥۲±۰/۰۱ b | ۰/٥۲±۰/۰۷ b |
| | C22:0 | ۱۱/۱۷±۰/۲۹ a | ۹/۱٦±۰/۰۱ b | ۱۰/۱٤±۰/٦۳ ab | ۸/۸۷±۰/۰۸ c | ۹/٥۲±۰/۰۷ b | ۷/۳٤±۰/۳۳ d |
| | C21:0 | ۰/۱۳±۰/۰۲ b | ۰/۱۳±۰/۰۰۹ b | ۰/۱۲±۰/۰۱ b | ۰/۱۳±۰/۰۲ ab | ۰/۱٥±۰/۰۲ a | ۰/۱۰±۰/۰۲ b |
| | C24:0 | ۱۸/۲۸±۰/٤۰ bc | ۱۷/۹±۰/٤۱ c | ۱۹/٤۳±۰/٤۷ a | ۱۹/٦۰±۰/۲۷ a | ۱۷/۷۸±۰/۱٥ c | ۱٦/۱٥±۰/۲۱ d |
| چرب غیر اشباع با یک | C17:1 | ٤/٤٦±۰/۸٥ | ٤/۱۸±۰/۱۱ a | ٤/۲۷±۰/۷۹ a | ٤/٥٥±۰/٥ a | ٤/۷۷±۰/٤۳ a | ۳/٤۳±۰/٦۰ a |
| | C16:1 | ۰/۰۸±۰/۰۲ a | ۰/۰٦±۰/۰۲ a | ۰/۰۷±۰/۰۲ a | ۰/۱۰±۰/۰۳ a | ۰/۱۱±۰/۰۲ a | ۰/۰۸±۰/۰۱ a |

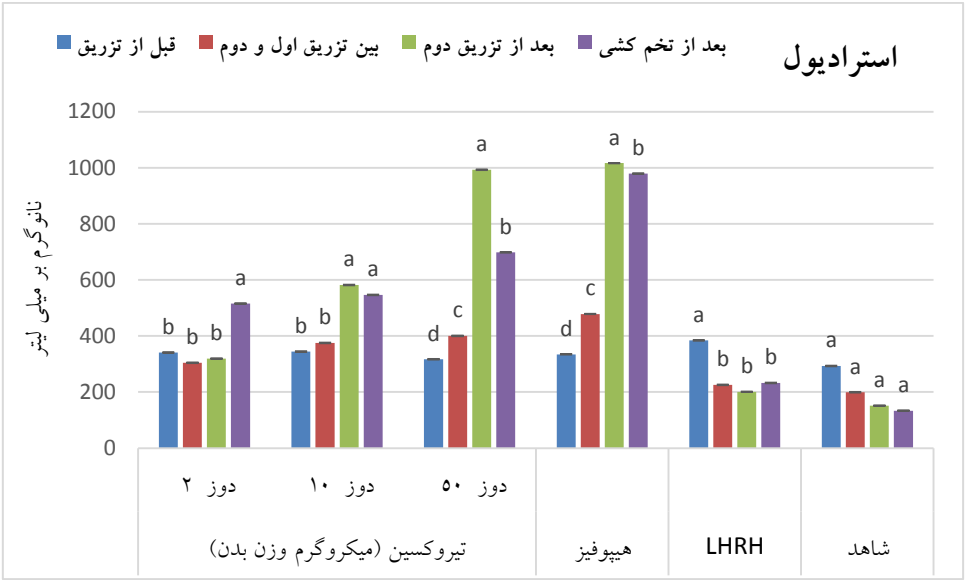
| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C18:1n9t | ۰/۱٤±۰/۰۰۷ a | ۰/۱۲±۰/۰۰۹ a | ۰/۱۰±۰/۰۳ a | ۰/۱۲±۰/۰۲ a | ۰/۱۲±۰/۰۳ a | ۰/۱۰±۰/۰۱ a |
| | C18:1n9c | ٤/٦۷±۰/۵۵ ab | ٤/۷±۰/۲٤ b | ٤/۹۸±۰/٤۷ ab | ۵/٤۰±۰/۸۸ a | ۳/۳۳±۰/۱۲ c | ۳/۲۸±۰/۰۷ c |
| | C18:1n7t | ۰/۰۷±۰/۰۲ a | | ۰/۰۸±۰/۰۱ a | ۰/۰۹±۰/۰۳ a | ۰/۰۹±۰/۰۲ a | ۰/۰۷±۰/۰۱ a |
| | C18:1n7c | ۰/۵۳±۰/۰٦ a | | | ۰/۰٦±۰/۰۰۱ b | ۰/۰٦±۰/۰۲ b | ۰/۰٤±۰/۰۰۰۹ c |
| | C 20:1n | ۰/٦۳±۰/۰۹ c | ۱/۳۵±۰/۱۹ a | ۰/٦۷±۰/۰٦ c | ۰/۹۱±۰/۱۷ b | ۰/۸۸±۰/۱۵ b | ۰/۹۹±۰/۰۵ b |
| | C22:1n9 | ۰/۹۷±۰/۰٤ b | ۰/۷۲±۰/۰۷ d | ۰/۸٤±۰/۰۳ c | ۰/۹۷±۰/۰۳ b | ۱/۰۷±۰/۰٤ a | ۰/۷٦±۰/۰۳ d |
| | C24:1n9 | ۰/۰۳±۰/۰۰۷ e | ۰/۱۸±۰/۰۰۵ a | ۰/۰٤±۰/۰۰٦ d | ۰/۰۷±۰/۰۰۲ c | ۰/۰۸±۰/۰۰۲ b | ۰/۰۷±۰/۰۰۱ c |
| اسیدهای چرب امگا 6 | C18:2n6t | ۱/۰۲±۰/۱۲ a | ۰/۲۸±۰/۰٤ c | ۱/۰۵±۰/۱۱ a | ۱/۱۱±۰/۲۳ a | ۱/۰٤±۰/۲۰ a | ۰/۵۲±۰/۰۵ b |
| | C18:2n6c | ۱/۸۲±۰/۱۷ a | ۰/٦۷±۰/۰۸ b | ۱/۷۹±۰/۱۱ a | ۱/۸۷±۰/۳۱ a | ۱/۹۱±۰/۲۸ a | ۱/۳۷±۰/۱۸ a |
| | C20:2n6 | ٤/٤۰±۰/۳٤ a | ۳/۲۷±۰/۳٤ b | ٤/۵۱±۰/۲۳ a | ٤/٦۰±۰/٦٤ a | ٤/۵۳±۰/۵۳ a | ۳/۵۵±۰/۵۳ b |
| | C20:3n6 | ۰/۵٦±۰/۰٤ a | | | ۰/۰۸±۰/۰۰۱ b | ۰/۰۷±۰/۰۱ c | ۰/۰٤±۰/۰۰۸ d |
| | C20:4n6 | ۰/۲۹±۰/۰۰۱ d | ۰/۳۳±۰/۰۰٤ c | ۰/٤۲±۰/۰۰٦ b | ۰/٦٤±۰/۰۰٦ a | ۰/۳۲±۰/۰۰٤ c | ۰/۲۲±۰/۰۰٤ e |
| | C22:2n6 | ۱/۲۲±۰/۰۷ c | ۱/۲۸±۰/۰۸ c | ۱/۵۵±۰/۰۰۵ b | ۲/٦۸±۰/۰٦ a | ۱/٤۹±۰/۰۸ b | ۱/٤٦±۰/۰۵ b |
| | C18:3n6 | ۰/۱۹±۰/۰۰۲c | | ۰/۱۷±۰/۰۰۲ d | ۰/۳±۰/۰۰۱ a | ۰/۲۵±۰/۰۰۷ b | ۰/۱۳±۰/۰۰۳ e |
| اسیدهای چرب امگا 3 | C18:3n3 | ۱/٤۸±۰/۰۱ b | ۰/۹٤±۰/۰۰۱ c | ۱/۷۹±۰/۰۸ a | ۱/۷٦±۰/۰٤ a | ۱/۸۰±۰/۰۵ a | ۱/٤۲±۰/۰٤ b |
| | C20:3n3 | ۱/۷۵±۰/۰۰۵ b | ۱/۸۲±۰/۰۱ b | ۱/۱۲±۰/۰٤ c | ۲/۹۸±۰/۰٤ a | ۱/۹۵±۰/۰۵ b | ۱/۸۷±۰/۰۷ b |
| | C20:5n3 | ۱/۱۱±۰/۱۰ c | ۱/۲۳±۰/۱۳ c | ۱/۵۷±۰/۰۹ b | ۱/۷۷±۰/۰۳ a | ۱/۲۰±۰/۱۱ c | ۱/۱۹±۰/۰٦ c |
| | C22:6n3 | ۹/۲۳±۰/٤۷ c | ۱۰/٤۳±۰/۷۸ c | ۱۱/۲۳±۰/۱۷ b | ۱۲/۳۵±۰/٦۸ a | ۸/۲۵±۰/۱٤ d | ۸/۰۳±۰/۸۸ d |
| | ΣSUF | ۵٦/٤±۱/۷٤ b | ۵۷/۹±۱/۳۵ b | ۵۸/۷۳±۲/۲۱ ab | ٦۳/۱۵±۲/۰۱ a | ۵٤/۵۵±۳/۲۳ bc | ۵۰/۱٤±۱/۳۱ c |
| | ΣMUF | ۱۱/۵۸±۰/٤۳ b | ۱۱/۳۱±۰/۵٤ b | ۱۱/۰۵±۰/۹۵ b | ۱۲/۲۷±۱/۰٤ a | ۱۰/۵۱±۱/۰۱ c | ۸/۸۲±۰/٦۱ d |
| | ΣPUF | ۲/۰۵±۰/۸٦ a | ۲/٦۰±۰/۷۳ a | ۲/۵۲±۰/۰۸ a | ۲/۷٤±۰/۳۳ a | ۱/۹۷±۰/۵۰ ab | ۱/۷±۰/۰۳ b |
| | ΣPUF/ ΣSUF | ۰/۰۳ | ۰/۰٤ | ۰/۰٤ | ۰/۰٤ | ۰/۰۳ | ۰/۰۳ |
| | Σω6 | ۸/۹۸±۰/۷۰ c | ۹/۰۳±۰/٦۳ bc | ۹/٤۹±۰/۵۹ b | ۱۱/۲۸±۰/۰۱ a | ۸/۵۱±۰/۲۳ c | ٦/۱۹±۰/۵٦ d |
| | Σω3 | ۱۳/۵۷±۱/۲٤ bc | ۱٤/٤۲±۲/۲۸bc | ۱۵/۷۱±۱/۲۰ b | ۱۸/۸٦±۱/۰۲ a | ۱۳/۲±۱/۱۱ bc | ۱۲/۵۱±۱/۲۳ c |
| | Σω3/ Σω6 | ۳/۲٤ | ۳/٤٦ | ۳/۳۸ | ۳/٤۳ | ۲/۸۹ | ۳/۷٦ |

حروف غیر مشابه به معنی‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

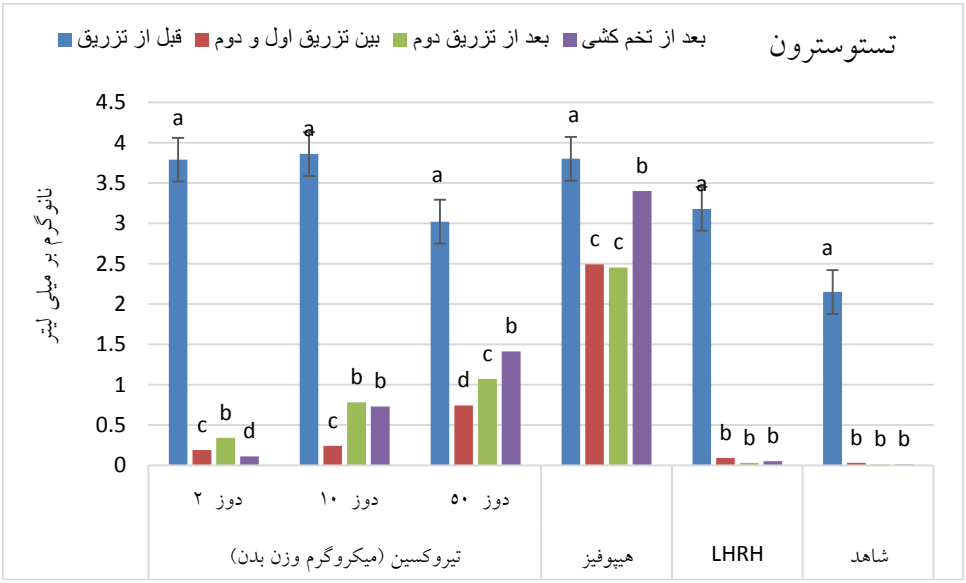
جدول ٤ ترکیب هیستوشیمیایی تخمدان ماهی روهو تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی

| پارامتر | تیمار | تیروکسین (میکروگرم وزن بدن) | | | هیپوفیز | LHRH | شاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | دوز ۲ | دوز ۱۰ | دوز ۵۰ | | | |
| درصد وزن خشک | پروتئین | ۱۵/۱۰±۰/۰٦ d | ۱۵/۳۸±۰/۰٤ c | ۱۵/۹۹±۰/۰۳ b | ۱٦/۷۰±۰/۱۱ a | ۱۵/۵۲±۰/۰۹ c | ۱۵/۲۹±۰/۰۷ c |
| | چربی | ۱/۱٦±۰/۰۱ b | ۱/۱۷±۰/۰۱ b | ۱/۳٦±۰/۰۲ a | ۱/۱۰±۰/۰۱ c | ۱/۰۸±۰/۰۳ c | ۱/۰٦±۰/۰۱ c |
| | رطوبت | ۸۱/٦۷±۰/۱۲ a | ۸۱/۳۷±۰/۰٦ a | ۸۰/۵۱±۰/۱۱ a | ۸۰/۰۷±۰/۱۰ a | ۸۱/٦۵±۰/۱۰ a | ۸۱/۵۲±۰/۰۷ a |
| | خاکستر | ۲/۰۸±۰/۰۱ a | ۲/۰۸±۰/۰۲ a | ۲/۱٤±۰/۰۳ a | ۲/۱۳±۰/۰۱ a | ۲/۱۰±۰/۰۲ a | ۲/۰۷±۰/۰۲ a |

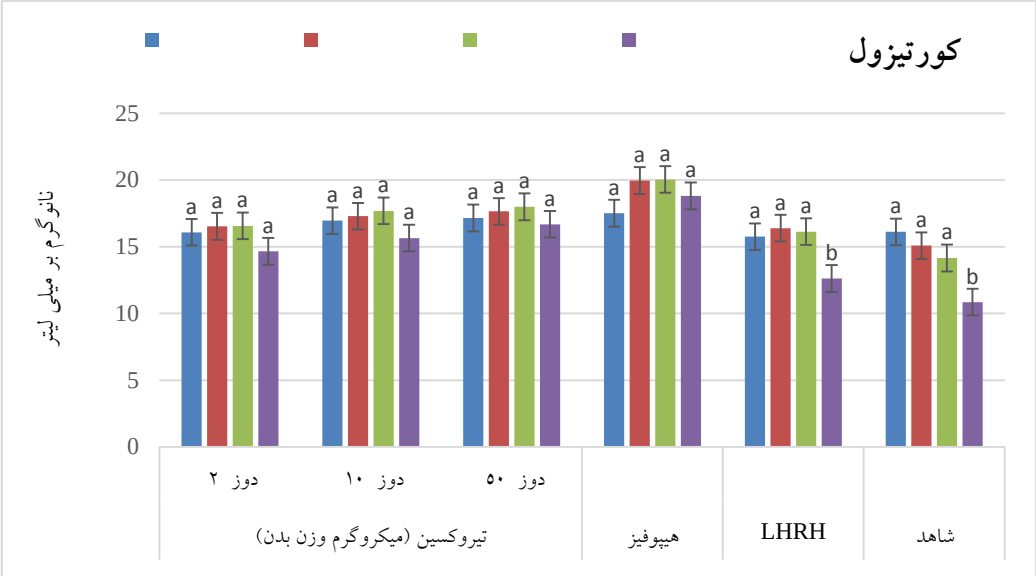
حروف غیر مشابه به معنی‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



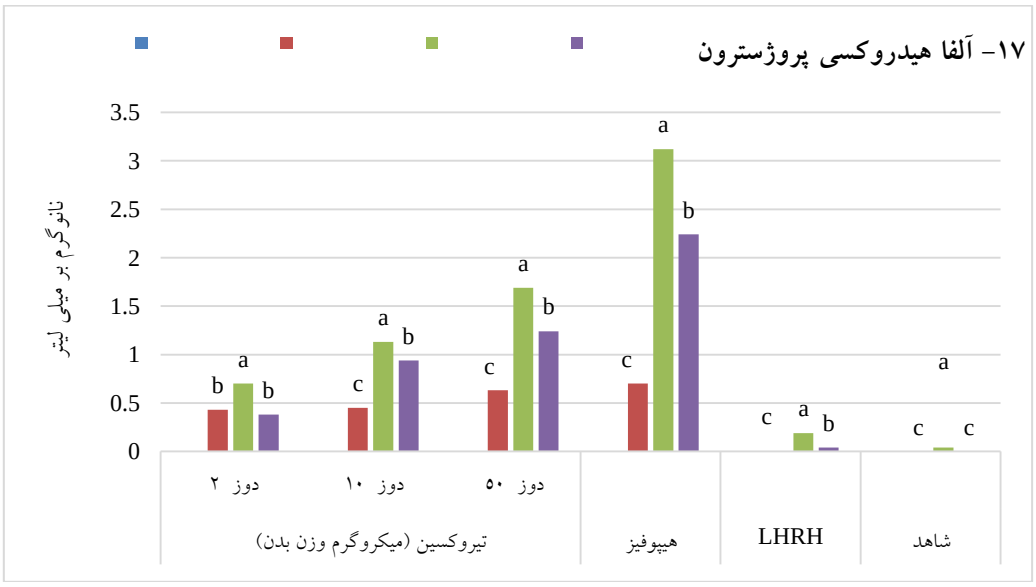

شکل ۱- روند تغییرات هورمون استرادیول در ماهی ماده روهو (*Labeo rohita*) تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی



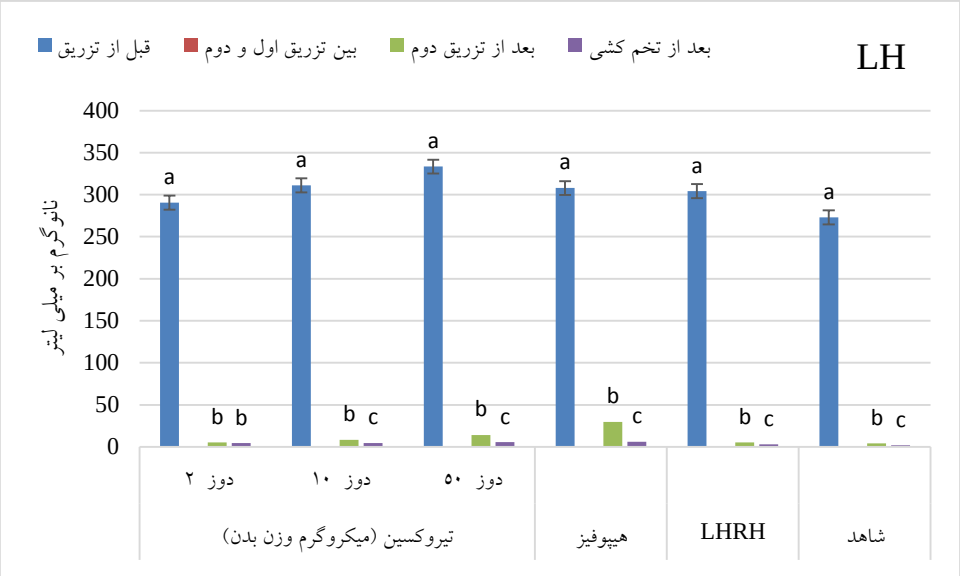

شکل ۲- روند تغییرات هورمون تستوسترون در ماهی ماده روهو (*Labeo rohita*) تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی




شکل ۳- روند تغییرات هورمون کورتیزول در ماهی ماده روهو (*Labeo rohita*) تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی




شکل ٤- روند تغییرات هورمون ۱۷-آلفا هیدروکسی پروژسترون در ماهی ماده روهو (*Labeo rohita*) تحت تیمار با هورمون-های موثر در رسیدگی جنسی




شکل ۵- روند تغییرات هورمون LH در ماهی ماده روهو (*Labeo rohita*) تحت تیمار با هورمون‌های موثر در رسیدگی جنسی

**بحث**

تستوسترون به عنوان یک آندروژن قوی در سلول‌های گرانولوزای فولیکولار، به عنوان یک پیش‌ساز در ساخت استرادیول عمل می‌کند (۲۲) و سطوح بالای آن قبل از شروع بلوغ اووسیت از طریق فیدبک مثبت باعث افزایش گنادوتروپین قبل از اوولاسیون شده و افزایش گنادوتروپین، تولید استروئید را در بلوغ نهایی اووسیت را القا می‌کند (۳۱).

چنین روندی در مطالعه‌ی حاضر در مورد خصوص روند تغییرات استرادیول و تسترون نیز دیده می‌شود به شکلی که در تمامی تیمارها (تیروکسین، هیپوفیز، LHRH و شاهد) تستوسترون پیش از تزریق و پیش از شروع مراحل رسیدگی تخمدان بالاترین سطح خود را داشت و بعد از تزریق تا مرحله بعد از تخم‌کشی روند کاهشی نشان داد. که نشان دهنده‌ی نقش این هورمون در ساخت سایر هورمون‌های استروئیدی است (۲۹). به دنبال آن، هورمون استرادیول تولید شده در فولیکول تخمدان، بعد از تزریق دوم هر سه هورمون افزایش پیدا کرده و سپس بعد از تخم‌کشی کاهش یافت. هورمون استرادیول در افزایش ویتلوژنز نقش داشته و به عنوان یک بازدارنده در بروز پدیده آپوپتوسیس (۳۹) فولیکول‌ها عمل می‌کند. سطح بالاتر این هورمون در تیمارهای دریافت کننده هیپوفیز در مقایسه با تیمارهای تیروکسین و نیز LHRH کارایی بالاتر هیپوفیز را در پدیده رسیدگی جنسی تایید می‌کند. در مطالعه‌ی Maboudi و همکاران (۲۰۱۸) تزریق هورمون LHRH به صورت ترکیب با عصاره هیپوفیز توانست رسیدگی جنسی را در مولدین شیربت (*Arabibarbus grypus*) القا کند (۲۷). بیشترین میزان هورمون ۱۷ آلفا-هیدروکسی پروژسترون در زمان تجزیه هسته زاینده، به هم پیوستن قطرات چربی و حل شدن دانه‌های زرده در مرحله بلوغ نهایی است (۱۸) که افزایش تولید هورمون ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون بعد از تزریق دوم و پیش از تخم‌کشی بخصوص در تیمارهای تیروکسین و هیپوفیز تائید کننده وجود فعالیت آنزیمی در غشا تخمک و سنتز استروئیدهای

جنسی برای دستیابی به رسیدگی تخمک‌ها است. در بسیاری از گونه‌ها طی ویتلوژنز میزان استروژن پلاسما و به ویژه استرادیول، که با رشد اووسیت‌های ویتلوژنین مرتبط است، افزایش یافته است (۳۵،۱۷) که با روند مشاهده شده در مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. در گزارش Leatherland و همکاران (۱۹۹۲) (۲۶) عنوان شده است که تزریق تیروکسین به مولدین ماده قزل‌آلا coho (*Oncorhynchus kisutsch*) با تحریک به افزایش سایر هورمون‌های مرتبط با رسیدگی تخمک‌ها، فرآیند رسیدگی را تسریع می‌کند. با توجه به داده‌های بدست آمده افزایش سطح تیروکسین از ۲ میکروگرم وزن بدن به ۵۰ میکروگرم وزن بدن تاثیر معنی‌داری بر افزایش سطح این هورمون داشت اما در مقایسه با هیپوفیز هر سه تیمار با اختلاف معنی‌دار سطح هورمون ۱۷ آلفا–هیدروکسی پروژسترون پایین‌تری داشتند ($p$ <۰/۰۵). مقادیر هورمون ۱۷ آلفا–هیدروکسی پروژسترون در تیمار LHRH در مقایسه با شاهد بالاتر بود اما با اختلاف معنی‌دار بسیار زیاد، از تیمارهای دریافت کننده هورمون تیروکسین و هیپوفیز سطح هورمون کمتر داشت ($p$ <۰/۰۵). یکی از دلایل این موضوع را می‌توان با توجه به مکان اثر هورمون‌های تزریق شده در محور HPG عنوان کرد (۱۶).

هورمون هیپوفیز دارای اثر مستقیم بر روی گناد است و هورمون تیروکسین تحت کنترل هورمون‌های تحریک کننده تیروئید (TSH) از فولیکول‌های تیروئیدی آزاد شده و در فعالیت‌های رسیدگی تخمدان موثر است (۱)، در حالی که هورمون LHRH دارای اثر محرک روی هیپوفیز مولدین است که این موضوع زمان رسیدگی و واکنش‌های زنجیره‌ای هورمونی را افزایش می‌دهد و سبب می‌شود هورمون هیپوفیز در مقایسه با دو هورمون دیگر مسیر کوتاه‌تر و اثر قوی‌تری جهت اعمال دستورات رسیدگی جنسی داشته باشد (٤).

در مطالعه‌ی Abdollahpour و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی اثر تزریق هورمون تیروکسین بر عملکرد رشد و تولید مثل مولدین ماده استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) گزارش کردند که استفاده از دوزهای بالاتر، اثر آنابولیک از خود داشته در حالی که دوزهای پایین‌تر این هورمون، کارایی مصرف را کاهش داده و اثرات کاتابولیک دارند و منجر به بروز ناهنجاری شدند (۱).

این نتیجه بخصوص در بخش ترکیبات بافتی ابتدای بافت تخمدان و درصد بالاتر پروتئین در تیمارهای دریافت کننده دوز ۵۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن تیروکسین در مقایسه با دوزهای ۲ و ۱۰ قابل مشاهده است. مطالعات مختلف نشان داده است که دوزهای مناسب تیروکسین از طریق افزایش سنتز پروتئین، گلیکوژنز و ارتباط سینرژیست با سایر هورمون‌های رشد اثرات خود را اعمال می‌کند اما در دوزهای پایین منجر به کاهش رشد و کاتابولیسم پروتئین می‌شوند (۱۰) به شکلی که تیمار دریافت کننده ۲ میکروگرم وزن بدن در مقایسه با سایر تیمارها و نیز شاهد کمترین سطح پروتئین تخمدان را داشت (P<۰/۰۵). در واقع هورمون‌های تیروئیدی در مرحله بیان ژن با افزایش بیان هورمون‌های رشد و IGF-I، و در نتیجه افزایش تولید این هورمون‌ها، پروتئین‌سازی را افزایش می‌دهند (۳۳) که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر در تیمارهایی با دوز ۱۰ و ۵۰ میکروگرم وزن بدن هم‌خوانی دارد. همچنین با توجه به نقش هورمون‌های تیروئیدی در افزایش تولید ترکیبات گلیکوفسفو لیپوپروتئینی که پیش‌ساز ویتلوژنین زرده تخمک هستند (۳۷)، بالاتر بودن سطح چربی تخمدان در تیمارهای دریافت کننده تیروکسین در مقایسه با سایر تیمارها قابل توجیه است. مقایسه کارایی هورمون‌ها

در میزان ذخیره‌ی پروتئین در بافت تخمدان نیز تایید کننده کارایی بالاتر هورمون هیپوفیز در مقایسه با تیروکسین و نیز کارایی پایین‌تر LHRH در افزایش سطح پروتئین تخمدان به عنوان یک شاخص موثر در تامین نیاز پروتئینی تخمک‌ها در مولدین ماده روهو (*Labeo rohita*) دارد. در مطالعه‌ی القای اوولاسیون در مولدین فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از هورمون LHRH-A، موفقیت استفاده از هورمون LHRH تحت تاثیر دوز مورد استفاده و نیز استفاده از یک مهارکننده آنتاگونیست دوپامین دانستند که می‌تواند توجیه کننده عملکرد پایین این هورمون در ماهی روهو باشد (۲۳). در مطالعه‌ی Khormian و همکاران (۲۰۱۹)، در بررسی اثر تیمار هورمونی LHRH بر روی تخمریزی ماهی شانک باله زرد غربی (*Acanthopagrus arabicus*)، این تیمار هورمونی را به عنوان تیماری با طولانی‌ترین دوره‌ی رسیدگی در مقایسه با سایر تیمارها ذکر کردند که می‌تواند روندی هورمونی مشابه دو تیمار شاهد و LHRH را توجیه کند (۳۲).

روند تغییرات کورتیزول عدم اختلاف معنی‌دار بین میزان این پارامتر در مراحل قبل از تزریق، بین دو تزریق اول و دوم، بعد از تزریق دوم و بعد از تخم‌کشی را در تیمارهای دریافت کننده هیپوفیز و نیز تیمارهای دریافت کننده دوزهای مختلف تیروکسین را نشان می‌دهد ($p$ >۰/۰۵). تیمارهای دریافت کننده LHRH و شاهد، زمان بین دو تزریق اول و دوم و بعد از تخم‌کشی کمترین سطح این هورمون را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند (P<۰/۰۵). همچنین سطح این هورمون در این دو تیمار در مقایسه با سایر تیمارها (دریافت کننده هیپوفیز و تیروکسین) پایین‌تر بود($p$ <۰/۰۵). با توجه به تاثیر بروز استرس بر روی مقادیر کورتیزول (۹)، به نظر می‌رسد تزریق هورمون‌های هیپوفیز و تیروکسین شرایط استرس‌زای بیشتری را در مقایسه با LHRH برای مولدین روهو ایجاد می‌کند. همچنین یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که هر چند بین زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵) اما زمان بین تزریق اول و دوم و بعد از تزریق دوم در هر ٦ تیمار بالاترین سطح هورمون کورتیزول را داشتند که این موضوع با توجه به دستکاری مولدین در طی تزریق هورمون، قابل توجیه خواهد بود.

دوپامین به عنوان یک ترانسیمترکاتکول آمینی ترکیبی است که در زمان بروز استرس نظیر زمان تزریق هورمون و یا دستکاری مولدین، از ترشح هورمون‌های گنادوتروپینی نظیر LH جلوگیری کرده و مانع از رسیدگی جنسی در مولدین می‌شود (۹).

روند تغییرات هورمون LH نیز نشان دهنده‌ی نقش بازدارندگی ترکیبات دوپامینی است. به شکلی که در تمام تیمارها پیش از تزریق هورمون‌های رسیدگی جنسی، سطح LH در مقایسه با زمان تزریق به شکل معنی‌داری بالاتر بود ($p$ <۰/۰۵) اما پس از تزریق روند کاهشی پیدا کرده و پش از افزایش در زمان بعد از تزریق دوم، در مرحله بعد از تخم‌کشی نیز کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد بروز استرس عامل بروز ترشح ترکیبات بازدارندگی دوپامینی شده و سطح هورمون‌های گنادوترپینی را کاهش داده است. چنین روندی سبب شده است که در اکثر مطالعات از ترکیبات آنتاگونیست دوپامین با هورمون‌های رسیدگی جنسی نظیر GnRH (۳٦،٦)، LHRH (۲۳) و حتی هیپوفیز (۲۰) استفاده شود(P<۰/۰۵). با توجه به روند تغییرات LH، تیمار هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم بر گرم وزن بدن تیروکسین بالاترین سطح هورمون LH را در مقایسه با تیمارهای دیگر داشتند ($p$ <۰/۰۵).

اسیدهای چرب در سیکل تولید مثل و تولید تخمک تقش بسیار مهمی را دارند و به صورت‌های مختلفی

متابولیزه شده و بعضی از اشکال این ترکیبات در اندام‌های جنسی ذخیره می‌شوند (۲۱).

در هر ٦ تیمار، اسیدهای چرب C24:0 و C22:6n3 (DHA) دو اسید چرب غالب بودند. همچنین دو اسید C18:1n9c و C17:1 نیز در مقایسه با سایر اسیدهای چرب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. DHA از اسیدهای چرب ضروری و مهم در ساختار تخمک است که بالاترین مقدار خود را در تیمار دریافت کننده هیپوفیز و سپس تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم تیروکسین داشت. اسید اسکوربیک اسید (C20:4n-6) به عنوان یکی از مهم‌ترین اسیدهای چرب در مسیر تولید مثل (37) و یکی از اسیدهای چرب ضروری برای تولید پروستاگلاندین‌ها است که با سنتز استروئیدها در تخمدان، بلوغ تخمک را تحریک می‌کند (۳۸).

در بین تیمارهای مورد بررسی تیمار هیپوفیز با ۰/٦٤ درصد و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم تیروکسین با ۰/٤۲ درصد بالاترین مقادیر را داشتند که با توجه به درصد بالاتر هورمون‌های استرادیول و تسترون در این دو تیمار و نقشی که در ویتلوژن دارند، یافته‌ها با یکدیگر، هم‌خوانی دارد.

Ebrahimi و همکاران (۲۰۱٦) حضور مقادیر بالایی از اسیدهای چرب EPA (C20:5n3) و DHA (C22:6n3) در اووسیت‌ها را نشان‌دهندگی رسیدگی بالا ذکر کرد. در مطالعه‌ی حاضر بررسی میزان اسیدهای چرب تخمدان نشان می‌دهد که این دو اسید چرب به ترتیب با مقادیر ۱/۷۷ و ۱۲/۳۵ درصد وزن خشک در تیمار هیپوفیز و ۱/۵۷ و ۱۱/۲۳ درصد وزن خشک در تیمار دریافت‌کننده‌ی ۵۰ میکروگرم تیروکسین در مقایسه با شاهد و تیمارهای دریافت کننده LHRH و تیمارهای دریافت کننده ۲ و ۱۰ میکروگرم تیروکسین بالاترین مقادیر را داشت ($p$ ۰/۰۵ >) که نشان‌دهنده‌ی تاثیر بالاتر این دو تیمار هورمونی در رسیدگی جنسی ماهیان مولد روهو دارد.

مجموع اسیدهای چرب اشباع (ΣSUF) به عنوان مهمترین منبع انرژی متابولیکی در هنگام رشد و شکل گیری تخمک هستند که در فصل تخمریزی به حداکثر خود می‌رسد. نقش اصلی این دسته از اسیدها در فعالیت‌های مربوط به شکل‌گیری و رشد تخمک در جنس ماده و فعالیت‌های تولیدمثلی می‌باشد (۱۵).

با توجه به اعداد بدست آمده و با توجه به روند ترشح هورمون استرادیول به عنوان هورمون دخیل در ویتلوژنین، تیمار دریافت کننده هیپوفیز با ٦۱/۳۳ درصد وزن خشک و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم تیروکسین با ۵۸/۹ درصد وزن خشک، بالاترین میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع را داشتند که این ذخیره تخمدان با توجه به نقش اسیدهای چرب در مراحل تکوین و نمو تخمک اهمیت بسیار زیادی دارد.

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه‌ی انجام شده می‌توان بیان کرد که هورمون هیپوفیز و تیمار دریافت کننده ۵۰ میکروگرم تیروکسین با توجه به شاخص‌های هورمونی تولیدمثل در مقایسه با دوزهای پایین‌تر تیروکسین و نیز هورمون LHRH جهت القا رسیدگی در مولدین روهو مناسب‌تر می‌باشد. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که هیپوفیز در مقایسه با تیروکسین بر روی فرآیند فیزیولوژیک تولیدمثل روهو تاثیر بالاتری دارد.

## منابع

1. Abdollahpour H., Falahatkar B., Efatpanah I., Meknatkhah B. 2017. Effect of intraperitoneal thyroxine injection on hematological indices in Sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* broodstock: a

and their early development. *Journal of Aquaculture Research and Development*, (4): 186-190.

9. Drose S., Brandt U., Wittig I. 2014. Mitochondrial respiratory chain complexes as sources and targets of thiol-based redox-regulation. *Biochimical et Biophysica Acta*, 1844: 1344-1354.

10. Eales J.G., Delvin R., Higgs D.A., Mcleese J.M., Oakes J.D., Plohman J. 2004. Thyroid function in growth hormone transgenic coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Zoology*, 82: 1225-1229.

11. Ebrahimi G., Virtual Amiri B., Rafiei G., Shabani A. 2016. Histological and biochemical characteristics of mature oocytes of Iranian sturgeon breeders (*Acipenser persicus*). Fi*sheries Iranian Journal of Natural Resources*. 70: 203-189.

12. Figueira TR, BarrosMH, Camargo AA, Castilho RF, Ferreira JC, Kowaltowski AJ., 2013. Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: from molecular mechanisms to human health. *Antioxid Redox Signal*, 18: 2029-2074.

13. Flood D.E.K., Fernandino J.I., Langlois V.S. 2013. Thyroid hormones in male reproductive development: Evidence for direct crosstalk between the androgen and thyroid hormone axes. *Genernal and Comparative Endocrinology*, 192: 2-14

14. Habibi H.R., Nelson E.R., Allan E.R.O. 2010. New insights into thyroid hormone function and modulation of reproduction in goldfish. *Genernal and Comparative Endocrinology*, 175: 19-26

15. Henderson R.J., Tocher, D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress Lipid Research*, 26: 281-347.

16. Heraedi A., Prayitno S.B., Yuniarti T. 2018. The Effect of Different Thyroxine Hormone (T4) Concentration on The Growth, Survival, and Pigment Development of Pink Zebra Fish Larvae preliminary result. 8th International Symposium on Sturgeons, Vienna, Austria.

2. Agha Mohammadpour P., Maboudi H., Javadzadeh N. 2017. The effect of salinity stress on growth rate, hematological parameters and survival of *Arabibarbus grypus*. *Animal Physiology and Development*, 45: 27-13.

3. Ahmadnezhad M., Oryan S., Sahafi H.H., Khara H. 2013. Effect of Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH-A2) Plus Pimozide and Chlorpromazine on Ovarian Development and Levels of Gonad Steroid Hormones in Female Kutum *Rutilus frisiikutum*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 95-100

4. Al Zaidy F., Al-Noorm S., Jasim, B.M. 2017. The effect of hormone type and amount of dose on gonadotropin hormones levels in blood plasma of common carp *(Cyprinus carpio)* during artificial spawning processes. *Iraqi Journal Aquaculture*, 41(1): 41-28

5. AOAC International 1995, Official methods of analysis of AOAC (International Association of Analytical Communities). Arlington, VA, USA.

6. Bosak Kahkesh F., Yooneszadeh Feshalami M., Amiri F., Nickpey M. 2010. Effect of Ovaprim, Ovatide, HCG, LHRH-A2, LHRHA2+CPE and Carp Pituitary in Benni *(Barbus sharpeyi)* Artificial Breeding. *Global Veterinaria*, 5(4): 209-214.

7. Cioffi F., Senese R., Petito G., Lasala P., de Lange P., Silvestri E., Lombardi A., Moreno M., Goglia F., Lanni, A. 2019. Both 3,3′ ,5-triiodothyronine and 3,5-diodo-L-thyronine Are Able to Repair Mitochondrial DNA Damage but by Different Mechanisms, *Frontiers in Endocrinology*, 10:216-225.

8. Dhara K., Saha N.C. 2013. Controlled breeding of Asian catfish *Clarias batrachus* using pituitary gland extracts and ovaprim at different temperatures, latency periods

LHRH-A and its combination with dopamine antagonists. *Iranian Journal of Fisheries*, 13: 144-129.

24. 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.

25. Khormian S., Kochinin P., Yavari W., Solati A.P. 2019. The effect of hormonal treatments on spawning and quality of larvae produced by *Acanthopagrus arabicus*. *Iranian Journal of Fisheries*, 28: 46-37.

26. Leatherland J., Barret S. 1993. Investigation into the development of the pituitary gland _ thyroid tissue axis and distribution of tissue thyroid hormone content in embryonic coho salmon (*Oncorhynchus kisutsch*) from Lake Ontario. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 149-159

27. Maboudi H., Javadzadeh N., Savari A., Taghia Azhir M. 2016. Comparison of the effect of three-stage injection of pituitary gland extract and LHRHa2 hormone with two-stage injection of pituitary extract on some tissue, reproductive and sex steroids of male and female Arabibarbus grypus. *Journal of Animal Physiology and Development*, 11: 26-17.

28. Mortazavizadeh S.A., Amiri F., Youneszadeh Fashalami M., Hosseinzadeh Sahafi H., Hooshmand H. 2013. Comparison of replacement ratio of Indian carp with conventional carp in earthen pond of Khuzestan province. *Iranian Journal of Fisheries*, 22: 128-117.

29. Naeem M., Zunber A., Ashraf M., Ahmad W., Ishtiaq A., Najam-ul-Hasan H. 2013. Induced breeding of *Labeo rohita* through single application of ovaprim-C at Faisalabad Hatchery, Pakistan. *African Journal of Biotechnology*,12: 2722-2726.

(*Brachydanio reiro)*. *Omni-Akuatika*, 14(2): 21-28

17. Imanpoor M.R., Taghizadeh V., Khodadoust A., Roohi Z. 2018. Effect of fish size and seasonal changes on gonadal steroid hormones in pike brood stocks (*Esox lucius*). *Nova Biologica Reperta*, 5: 65-71.

18. Ismail R., Mourad M.M., Negm R.N., Assem S.S. 2017. Effect of prolonged exposure to thyroxine on growth, puberty timing and ovarian structure in female red tilapia (*Oreochromis sp.*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 3: 313–320.

19. Jamili S., Toloui M.H., Qanatparast Q., Jazbi Zadeh A. 2006. Investigation of the effect of thyroxine hormone on female sexual predisposition and acceleration of growth and development of eggs and larvae of rainbow trout, Amur, Phytophagous and Caspian fish sauce. *Iran Fisheries Research Institute*, 5: 22-30.

20. Jasemzadeh A., Maboudi H., Askarizazi A., Basak Kahkesh F. 2016. Comparison of the effect of evaprim hormone and pituitary gland extract of carp on reproductive indices of phytophagous fish (*Hipophthalmichthys molitrix*). *Journal of New Technologies in Aquaculture Development*, 10: 1-10.

21. Jerez S., Rodríguez C., Cejas J.R., Bolaños A., Lorenzo A. 2006. Lipid dynamics and plasma level changes of 17 β-estradiol and testosterone during the spawning season of gilthead seabream (*Sparus aurata*) females of different ages. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143: 180-189.

22. Kagawa H., Young G., Naghama Y. 1984. Invitro estradiol-17β and testosterone production by ovarian follicls of gold fish (*carassius carassius*). *General and Comparative Endocrinology*, 54:139-143.

23. Kashani Sabet A., Eryan Sh., Bahmani M. 2004. Induction of ovulation in phytophage generators (*Hypophthalmichthys molitrix*) using

30. Piñuela C., Rendón C., Gonzalez de Canales M.L., Sarasquete C. 2004. Development of the Senegal sole, (*Solea senegalensis*) forebrain. *European Journal of Histochemical*, 48: 377-384

31. Rankin J.C., pitcher T.J., Duggan R.T. 1983. Control processes in fish physiology. Croom Helm. 298p

32. Scheibye-Knudsen M., Fang E.F., Croteau D.L., Wilson D.M., Bohr V.A. 2015· Protecting the mitochondrial powerhouse. *Trends in Cell Biology*, 25:158-170

33. 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.

34. Serajian S., Zamini A.A., Yousefian M., Saeedi A.A., Jafari, A. 2007. Comparative study of serum levels of some sex steroid hormones in preterm and adult breeders of Caspian golden mullet (*Liza auratus*). *Fisheries Magazine*, 3: 1-9.

35. Taghizadeh V., Imanpoor M.R., Mehdinejad N. 2013. Study the seasonal steroid hormones of common carp in Caspian Sea. Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5: 282-285

36. Teymouri M., Mohammadi Zadeh F., Bahri A. 2016. Artificial reproduction of serum (Cichlasomaseverum sp) using carp pituitary hormone extract (CPE) and synthetic hormone GnRHa. *Journal of Aquaculture Development*, 12: 40-31.

37. Tocher D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11: 107-184

38. Tocher D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41: 717-732

39. Tovo-Neto A., Rodrigues M., Habibi H., Nobrega R. 2018. Thyroid hormone actions on male reproductive system of teleost fish. *Genernal and Comparative Endocrinology*, 265: 230-236

40. Urbinati E.C., Vasques L.H., Senhorini J.A., Souza V.L., Gonçalves F.D. 2008. Larval performance of matrinxã, (*Brycon amazonicus*), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. *Aquaculture Research*, 39: 1355-1359.

# Comparative Study of Pituitary Extract, LHRH, and Thyroxine on Sex steroids, Histochemistry and (Labeo rohita) Producing Fatty Acids

Ehsan Eslamizadeh, Hodeidah Maboudi*, Laleh Rumiani, Mehran Javaheri Babli, Mojdeh Chaleh Mal Dezfulnejad

Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

**Abstract**

This study aimed at assessing the comparative effect of pituitary hormones, LHRH, and thyroxine on hormonal indices and ovarian fatty acids of *Labeo rohita*. Blood samples were taken before injection, between the first and second injection, after the second injection and after ovulation, using a 5 ml plastic syringe from the tail stem. According to the measurement results, at the time between the first and second injections, after the second injection and after ovulation, the levels of estradiol, testosterone, 17-alpha hydroxy progesterone, cortisol and LH reached their peak levels in the pituitary and treatment receiving 50 µg dose had the lowest body weight in treatments receiving LHRH and control ($P < 0.05$). Among thyroxine-receiving treatments, increasing thyroxine levels could significantly increase the hormones stimulating the maturation process ($P < 0.05$). Pituitary receiving treatment and thyroxine receiving 50 µg per body weight had the highest amount of ovarian protein ($P < 0.05$), with 16.70 and 15.99% dry weight and two LHRH and control treatments had the lowest ovarian protein level ($P < 0.05$). Regarding fat, thyroxine-receiving treatments had a significantly higher amount compared to pituitary, LHRH, and control ($P < 0.05$). The highest amount of saturated fatty acids (ΣSUF) with values of 63.15 and 58.73% of dry weight to the pituitary receiving treatment and receiving 50 µg per body weight and the lowest amount of this parameter with 54.55 and 50.14% dry weight belonged to the control and LHRH recipient, respectively. C17: 1 and C18: 1n9c fatty acids in the range of 3.43-4.77 and 3.28-5.40% of dry weight and C24: 1n9 fatty acids in the range of 0.03-0.18% by dry weight had the highest and lowest levels of unsaturated fatty acids (ΣPUF), respectively. Both pituitary and 50 µg treatments of thyroxine had higher total omega-6 (Σω6) and 3 (Σω3) fatty acids ($P < 0.05$). The results of the present study revealed that pituitary hormone followed by thyroxine at a dose of 50 µg per body weight compared to low doses of thyroxine and LHRH were more effective in increasing the level of sex hormones involved in the process of sexual maturation and the combination of acids.

**Keywords:** Pituitary, LHRH, Thyroxine, Hormone, Fatty acids, Labeo rohita