

اثر پریمالاک بر شاخص گنادوسوماتیک و هماوری نسبی در ماهی دم شمشیری (*Xiphophorous helleri*)

دکتر عباسعلی حاجی بگلو

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

*alihajibeglou@gmail.com

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۴

چکیده

در رابطه با نقش پروبیوتیک‌ها در آبرزی پروری مطالعات زیادی انجام شده است، اما در زمینه اثر آنها بر فعالیت‌های تولیدمثلی ماهیان زینتی، مطالعات اندکی انجام شده است. در مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک پریمالاک روی برخی شاخص‌های تولیدمثلی در ماهی دم شمشیری مورد آزمایش قرار گرفت. بدین منظور ماهیان مولد نر و ماده دم شمشیری با ۴ رژیم غذایی شامل ۰ (شاهد)، ۰/۴، ۰/۹ و ۱/۴ گرم پروبیوتیک پریمالاک در هر کیلوگرم غذا (با ۳ تکرار) به میزان روزانه ۵٪ وزن بدن و در ۲ نوبت به مدت ۳ ماه تغذیه شدند. در پایان آزمایش فاکتورهای مربوط به شاخص گنادوسوماتیک، تعداد لارو به ازای هر مولد، هم‌آوری نسبی، درصد بقا بچه‌ماهی، درصد لاروهای معیوب مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که شاخص گنادوسوماتیک و هم‌آوری نسبی در تیمار ۰/۴ گرم به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). بالاترین و پایین‌ترین درصد بقا به ترتیب در تیمارهای ۰/۴ و شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین درصد لاروهای معیوب در تیمار شاهد دیده شد. در مجموع نتایج داد پروبیوتیک پریمالاک سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی در ماهیان دم شمشیری می‌شود.

کلمات کلیدی: ماهی دم شمشیری، پریمالاک، شاخص گنادوسوماتیک و هم‌آوری نسبی.

مقدمه

در طول چهار دهه‌ی گذشته تجارت جهانی ماهیان زینتی رشد قابل توجهی داشته است (Ghosh et al., 2007). در این میان برخی از کشورها به خوبی توانسته‌اند از پتانسیل‌های خود استفاده بهینه را ببرند. در کشور سریلانکا بخش صادرات ماهیان زینتی در سال ۱۹۹۸ حدود یک درصد نیاز جهانی بوده است (Wijesekara and Yakupitiyage, 2001). در ایالات متحده ۳۲ گونه از ماهیان زینتی تجارت قابل توجهی دارند که ارزش بخش تجارت ماهیان زینتی در این کشور در حدود ۱۰۰۰ میلیون دلار در سال می‌باشد (Ng and Tan, 1997; Chapman et al., 2007). گونه‌های زنده‌زای متعلق به خانواده‌ی پوئسیلیده (از قبیل گویی، مولی، دم‌شمشیری و پلانی) از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند (Chong et al., 2004). باتوجه به تنوع رنگ، تنوع الگوهای باله، مقاومت نسبتاً بالا در برابر شرایط نامساعد محیطی، سهولت تکثیر و تولیدمثل و نیز رژیم غذایی همه‌چیزخواری، ماهیان دم‌شمشیری توانسته‌اند نظر علاقمندان زیادی را به خود جلب کنند (Ghosh et al., 2007; Ling et al., 2006). میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میزان مناسب مورد استفاده قرار گیرند، می‌توانند سبب بهبود وضعیت سلامت میزان شوند (Ghosh et al., 2008). اغلب پروبیوتیک‌ها به صورت مکمل - های غذایی زنده‌ای است که در جیره غذایی افزوده شده و قابلیت زنده ماندن در هنگام عبور از دستگاه گوارش تا رسیدن به محل عملشان را دارا هستند (Fuller, 1992). به عبارت دیگر یکی از خصوصیات اصلی برای یک پروبیوتیک این است که توانایی قرار گرفتن در ناحیه‌ی مناسب از دستگاه گوارش را داشته باشد و همچنین توانایی تکثیر و کلون شدن را داشته باشد (Verschuere et al., 2000). در مورد مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها نظریات گوناگونی وجود دارد. پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق رقابت برای دستیابی به مواد مغذی، رقابت در جایگاه‌های اتصال، تغییر در متابولیسم باکتری‌ها و یا تحریک سیستم ایمنی میزبان مانع از تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا در لوله گوارش میزبان شوند (Merrifield et al., 2010). به علاوه عقیده بر این است که بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیکی تأثیر مثبت بر روی رشد موجودات دارند که این امر از طریق تولید ویتامین‌ها، افزایش قابلیت

جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب و نیز تولید آنزیم‌های گوارشی مهم می‌باشد (Skrodenyte -Arbaciauskiene et al., 2008). از جمله نقش‌های دیگری که برای پروبیوتیک‌ها بیان شده است می‌توان به تولید ترکیبات مسمومیت زدا، تجزیه ذرات غیر قابل هضم و تحریک اشتها در میزبان اشاره نمود (Iranto and Austin, 2002). در زمینه رقابت برای چسبیدن به محل‌های اتصال باید بیان داشت که حضور پروبیوتیک در مخاط روده می‌تواند تأثیر منفی بر روی اتصال سایر باکتری‌ها از قبیل باکتری‌های بیماری‌زا شود. این رقابت می‌تواند به صورت رقابت برای تصاحب مکان، دسترسی به منابع انرژی بیشتر و یا ترکیبی از هر دو باشد. (Khan and Ansari, 2007). بنابراین از آنجا که تاکنون مطالعات اندکی در زمینه اثر پروبیوتیک‌ها بر فعالیت‌های تولیدمثلی در ماهیان انجام شده است، در این تحقیق اثر پروبیوتیک پرمالاک بر عملکرد تولیدمثلی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد نیاز برای این آزمایش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در جاده شصت‌کلا، شهر گرگان، استان گلستان خریداری شدند. پروبیوتیک تجاری پرمالاک از شرکت بازرگانی نیک‌اندیشان فرجاد تهران خریداری شد. پرمالاک دارای ۴ گونه باکتری با نسبت‌های برابر شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*)، *لاکتوباسیلوس کازئی* (*Lactobacillus casei*)، *انتروکوکوس فاسیوم* (*Enterococcus faecium*) و *بایفیدو باکتریوم ترموفیلوم* (*Bifidobacterium thermophilum*) می‌باشد. برای انجام این تحقیق ۱۲ آکواریوم ۴۰ لیتری تهیه شد و هر یک با ۱۰ قطعه ماهی ماده و ۳ قطعه ماهی نر ماهی‌دار شدند. در این آزمایش چهار سطح پروبیوتیک پرمالاک شامل ۰ (شاهد)، ۰/۴ (تیمار ۲)، ۰/۹ (تیمار ۳) و ۱/۴ (تیمار ۴) گرم بر کیلوگرم جیره در نظر گرفته شد (جدول ۱). ماهی‌ها روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن و در دو نوبت غذایی شدند. هر روز قبل از غذایی جداسازی و شمارش لاروهای تازه متولد شده انجام می‌شد. در این آزمایش مقادیر مربوط به میانگین دما، pH، شوری و اکسیژن محلول در آب به ترتیب ۲۴/۳ درجه سانتی‌گراد، ۷/۶۳، ۰/۴۳ و ۷/۱ میلی گرم در لیتر بود.

جدول ۱: ترکیب جیره‌های غذایی و ترکیب شیمیایی آنها

جیره‌های غذایی			
تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
مواد غذایی			
آرد ماهی کیلکا	٪۴۰	٪۴۰	٪۴۰
آرد گندم	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰
آرد جو	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰
آردسویا	٪۱۴	٪۱۴	٪۱۴
آرد ذرت	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰
روغن ماهی	٪۵	٪۵	٪۵
روغن سویا	٪۳	٪۳	٪۳
روغن کلزا	٪۳	٪۳	٪۳
لیستین	٪۲	٪۲	٪۲
مکمل معدنی*	٪۱	٪۱	٪۱
مکمل ویتامینی**	٪۱	٪۱	٪۱
دی‌کلسیم فسفات	٪۰/۷۵	٪۰/۷۵	٪۰/۷۵
ضد قارچ	٪۰/۲۵	٪۰/۲۵	٪۰/۲۵
پروبیوتیک پریمالاک	۰	٪۰/۰۴	٪۰/۱
ترکیب شیمیایی جیره بر حسب درصد			
پروتئین	۳۴/۹	۳۴/۸۱	۳۴/۹۵
چربی	۱۶/۳	۱۶/۳۷	۱۶/۴۵
خاکستر	۱۰/۴۱	۱۰/۷۰	۱۰/۲۵
رطوبت	۸/۴	۸/۲	۸/۱
انرژی خام (کالری بر گرم)	۵۴۵۱	۵۴۴۵	۵۴۴۲

* مقدار عناصر موجود در مکمل معدنی: منیزیم ۳۹ میلی‌گرم، آهن ۶۰ میلی‌گرم، مس ۹ میلی‌گرم، روی ۹۰ میلی‌گرم، سلنیوم ۰/۷۵ میلی‌گرم، ید ۳ میلی‌گرم، کبالت ۰/۷۵ میلی‌گرم، کولین کلرید ۱۸۰۰ IU.

** مقدار عناصر موجود در مکمل ویتامینی: ویتامین A، ۹۰۰۰ IU؛ ویتامین D₃، ۶۰۰۰ IU؛ ویتامین E، ۶۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K₃، ۱۵ میلی‌گرم؛ ویتامین C، ۷۸۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁، ۴۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B₂، ۴۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B₆، ۷۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ اینوسیتول ۳۶۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۷۸۰ میلی‌گرم؛ پانتوتنیک اسید ۱۳۵ میلی‌گرم؛ نیاسین ۴۵۰ میلی‌گرم؛ فولیک اسید ۲۴ میلی‌گرم؛ بیوتین ۲/۴ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان ۷۵ میلی‌گرم.

برای محاسبه میانگین تعداد لارو به ازای هر مولد ماده از فرمول زیر استفاده شد:

میانگین تعداد لارو متولد شده به ازای هر مولد ماده = تعداد لاروهای متولد شده از یک تیمار بخصوص در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد مولدین ماده در آن تیمار.

برای محاسبه درصد لاروهای با ناهنجاری‌های اسکلتی و معیوب از فرمول زیر استفاده شد (Ghosh et al., 2007):

$100 \times (\text{تعداد کل لاروهای متولد شده} / \text{تعداد کل لاروهای معیوب}) = \text{درصد لاروهای معیوب}$

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم افزار SAS نسخه ۹ استفاده شد. تجزیه داده‌های آزمایش به کمک دستور PROC ANOVA

برای محاسبه میانگین تعداد لارو به ازای هر مولد ماده از فرمول زیر استفاده شد:

میانگین تعداد لارو متولد شده به ازای هر مولد ماده = تعداد لاروهای متولد شده از یک تیمار بخصوص در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد مولدین ماده در آن تیمار.

برای محاسبه میزان هم‌آوری نسبی از فرمول زیر استفاده شد (Chong et al., 2004):

میانگین وزن مولد ماده (گرم) / میانگین تعداد لاروهای متولد شده در کل دوره آزمایش = هم‌آوری نسبی

برای محاسبه شاخص گنادوسوماتیک از فرمول زیر استفاده شد (Ghosh et al., 2007):

$GSI = 100 \times (\text{وزن مولد ماده} / \text{وزن تخمدان})$

انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها به کمک آزمون توکی (Tukey) و در سطح اعتماد ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد که میانگین تعداد لارو به ازای هر مولد در تیمار ۲ بیشترین و در تیمار ۱ کمترین مقدار می‌باشد ($P > 0.05$). همآوری نسبی در تیمار ۲ بالاترین و در تیمار ۱ پایین‌ترین مقدار مشاهده شد ($P > 0.05$). بالاترین و پایین‌ترین درصد بقا به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۱ (شاهد) مشاهده شد. همچنین بین تیمارهای ۱، ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری در درصد بقا ملاحظه نشد ($P > 0.05$). نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین درصد لاروهای معیوب به ترتیب در تیمارهای ۱ (شاهد) و ۲ مشاهده شد. به علاوه بین تیمارهای ۱، ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). تیمار ۲ به طور معنی‌داری میزان GSI بیشتری را نشان داد. همچنین کمترین میزان GSI در تیمار ۱ مشاهده شد ($P < 0.01$). به علاوه بین تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری در میزان GSI مشاهده نشد ($P > 0.01$) (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین‌های عملکرد تولیدمثلی در تیمارهای پروبیوتیکی پرمالاک در ماهیان دم شمشیری

فاکتور	تیمار			
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴
مولد/تعداد کل لارو	$102 \pm 3/464^b$	$150 \pm 6/928^a$	$120 \pm 13/856^{ab}$	$108 \pm 10/392^b$
همآوری نسبی	$29/25 \pm 1/066^b$	$42/128 \pm 1/877^a$	$34/21 \pm 4/06^{ab}$	$31/15 \pm 2/869^b$
درصد بقا بچه‌ماهی	$45/16 \pm 0/969^b$	$65/43 \pm 1/101^a$	$52/59 \pm 7/668^{ab}$	$48/64 \pm 2/577^b$
درصد لاروهای معیوب	$8/92 \pm 1/437^a$	$2/71 \pm 0/511^b$	$5/25 \pm 1/109^{ab}$	$6/81 \pm 1/749^{ab}$
GSI (%)	$9/98 \pm 0/028^c$	$11/09 \pm 0/005^a$	$10/63 \pm 0/011^b$	$10/67 \pm 0/031^b$

در هر ردیف، معنی دار بودن میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است

بحث

نتایج حاکی از تاثیر مثبت پروبیوتیک پرمالاک بر افزایش عملکرد تولیدمثلی در ماهی دم شمشیری می‌باشد. باکتری‌های پروبیوتیکی با قرار گرفتن در روده و کلون شدن در محل مناسب سبب ساخت ترکیبات غذایی ضروری (پروتئین‌ها و اسیدهای چرب) و تولید آنزیم‌های ویژه (آمیلاز، پروتئاز و لیپاز) در دستگاه گوارش می‌زبان می‌شوند (Khan and Ansari, Irianto and Austin, 2002). این آنزیم‌ها احتمالاً در نهایت منجر به افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده و کارایی تغذیه در ماهی می‌زبان به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. De Schrijver و Ollevier (۲۰۰۰) گزارش کردند که بچه‌ماهیان/اسکاتالموس/ماکسیموس (*Scophthalmus maximus*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی باکتری پروبیوتیکی ویبریو پروتئولیتیکوس (*Vibrio proteolyticus*)، سبب افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین‌ها در روده‌ی این ماهیان می‌شود. پروتئین‌ها و اسیدهای چرب از ترکیبات بسیار اساسی در تشکیل زرده بوده و وجود آنها در جیره ی غذایی ماهیان مولد از نقطه‌نظر تکامل و بلوغ اووسیت‌ها و نیز افزایش نرخ زرده‌سازی بسیار ضروری می‌باشند (Rasadhari et al., 2008). اسیدهای چرب علاوه بر نقشی که در بحث فیزیولوژی تولیدمثل در ماهیان دارند، در تأمین انرژی مورد نیاز برای فعالیت‌های تولیدمثلی نیز نقش دارد. علاوه بر موارد فوق، باکتری

های پروبیوتیکی در تولید ویتامین‌های گروه B و نیز برخی فاکتورهای ناشناخته ویژه که همگی در افزایش کارایی تولیدمثل مؤثر هستند، نقش دارند (Rasadhari et al., 2008). تولید لاروهای سالم با کمترین میزان ناهنجاریها، علاوه بر وراثت، به تغذیه و عوامل محیطی نیز بستگی دارد. در رابطه با تغذیه، متعادل بودن جیره ی غذایی مولدین به‌ویژه از نظر اسیدهای چرب ضروری بسیار قابل توجه می‌باشد. بنابراین نقش باکتری‌های پروبیوتیکی روده در تولید اسیدهای چرب ضروری در روده در اینجا اهمیت می‌یابد (Irianto and Austin, 2002). مطالعات گوناگونی در خصوص اهمیت متعادل بون جیره‌ی غذایی مولدین از نظر اسیدهای چرب ضروری (اسید آراشیدونیک، اسید دوکازاهگزانوئیک و اسید ایکوزاپنتانوئیک) به‌منظور دستیابی به لاروهای با کیفیت بالا انجام شده است (Mazorra et al., 2003). ساخت ویتامین‌های گروه B به ویژه B₁ (تیامین) و ویتامین B₁₂ توسط باکتری‌های باسیلوس سابیلیس (*Bacillus subtilis*) در روده می‌تواند سبب کاهش تعداد لاروهای مرده و لاروهای معیوب و با ناهنجاری اسکلتی می‌شود. همچنین میزان تلفات لاروی را نیز کاهش می‌دهد (Ghosh et al., 2007). پروبیوتیک پرمالاک نیز احتمالاً توانایی تولید آنزیم‌های ویژه، تحریک دستگاه گوارش می‌زبان برای تولید آنزیم‌های خاص که در هضم پروتئین‌ها و چربی‌ها مؤثر هستند، تولید برخی ویتامین‌ها، تولید اسیدهای چرب ضروری، ترکیبات سمومیت‌زدا و رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا و غیرمفید را دارا

- helleri* (Poeciliidae). Aquaculture Research, 37: 1267-1275.
- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J., Papanikos, N., Porter, M., Bromage, N., 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture, 227: 21-33.
- Merrifield, D., Bradley, G., Harper, G., Baker, R., Munn, C., Davies, S., 2011. Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Aquaculture Nutrition. 1: 73-90.
- Ng, P.K.L., Tan, H.H., 1997. Freshwater fishes of Southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issue. Aquar. Sci. Conserv. 1, 79-90.
- Rasdhari, M., Parekh, T., Dave, N., Patel, V., Subhash, R., 2008. Evaluation of various physico-chemical Properties of *Hibiscus saffordii* and *Lactobacillus casei* incorporated probiotic yogurt. Pakistan Journal of Biological Sciences, 119(17): 2101-2108.
- Rico-Mora, R., Voltolina, D., Villaescusa-Celaya, J.A., 1998. Biological control of *Vibrio alginolyticus* in *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) cultures. Aquacultural Engineering, 19: 1-6.
- Skrodenyte-Arbaciauskiene, V., Sruoga, A., Butkauskas, D., Krupskelis, K., 2008. Phylogenetic analysis of intestinal bacteria of freshwater salmon (*Salmo salar*) and sea trout (*Salmo trutta*) and diet. Fisheries Science, 74: 1307-1314.
- Tavolga, W.N., 1949. Embryonic development of the platyfish (*Platyepocilus*), the swordtail (*Xiphophorus helleri*) and their hybrids. American museum of natural history, Volume 94, Article 4.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biocontrol agents in aquaculture. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 64: 655-671.
- Wijesekara, R.G.S., Yakupitiyage, A., 2001. Ornamental Fish Industry in Sri Lanka: Present Status and Future Trades. Aquarium Sciences and Conservation, Vol. 3, No. 4. (13 December 2001) Pp: 241-252.
- می‌باشد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که پروبیوتیک پریمالاک سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی در ماهیان دم‌شمشیری می‌شود.
- ### منابع
- Chapman, F.A., Fitz-Coy, S.A., Thunberg, E.M., Adams, C.M., 1997. United States of America trade in ornamental fish. J. World Aquac. Soc. 28: 1-10.
- Chapman, F.A., Fitz-coy, S.A., Thunberg, E.M., Adams, C.M., 2007. United States of America Trade in Ornamental Fish. Journal of the World Aquaculture Society, Volume 28, Issue 1, Pp: 1-10.
- Chong, A.S.C., Ishak, S.D., Osman, Z.R., 2004. Hashim. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture, 234: 381-392.
- De Schrijver, R., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*. Aquaculture, 186: 107-116.
- Fuller, R., 1992. Probiotics. The Scientific Basis. Chapman and Hall, London, UK, 398 p.
- Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, 180: 147-165.
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female live bearing ornamental fish. Aquaculture Research, 38: 518-526.
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. Aquaculture Nutrition, 14: 289-299.
- Irianto, A., Austin, B., 2002. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. FishDis., 25: 1-10.
- Khan, S.H., Ansari, F.A., 2007. Probiotics the friendly bacteria with market potential in global market. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(1): 71-76.
- Ling, S., Hashim, R., Kolkovski, S., Shu-Chien, A.C., 2006. Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus*