

## تأثیر جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر وضعیت تولید مثلی مولدین، بقای لارو، عملکرد رشد بچه ماهیان سورم طلایی (*Heros severus*)

حامد غفاری فارسانی<sup>۱</sup>، سید حسین حسینی فر<sup>۲</sup>، پگاه قشلاقی<sup>۳</sup>، سعید شهبازی ناصرآباد<sup>۴</sup>

۱-دانشجوی دکتری شیلات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

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

۳-کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران

۴-کارشناسی ارشد شیلات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یاسوج، یاسوج، ایران

نویسنده مسئول: hoseinifar@gau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۲۱

### چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات سطوح مختلف مکمل غذایی پروبیوتیک پریمالاک بر عملکرد تولید مثلی مولدین، بقای لارو و همچنین پارامترهای رشد و بهره وری غذایی و بازماندگی بچه ماهیان سورم طلایی بود. آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب ۱ گروه شاهد و ۳ تیمار آزمایشی شامل سطوح ۱، ۲/۵ و ۵ گرم پروبیوتیک پریمالاک در هر کیلوگرم جیره در دو فاز جداگانه، که فاز اول بر روی مولدین و لاروها حاصل از تولید مثل آنها و فاز دوم آزمایش که بررسی اثر پروبیوتیک بر فاکتورهای رشد، بهره وری غذایی بر روی بچه ماهیان با میانگین وزنی ۰/۷ گرم اعمال شد. هر تیمار با ۳ تکرار و به تعداد ۴۰ عدد بچه ماهی در هر ظرف پلاستیکی انجام شد. در فاز اول مولدین قبل از اولین تخم ریزی تا ۵ دوره متواالی تخم ریزی با مکمل پروبیوتیکی پریمالاک تعذیه شدند و شاخصهای تولید مثلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در فاز دوم بچه ماهیان به مدت ۶۰ روز با تیمارهای فوق تعذیه شدند و سپس نمونه برداری از تیمارهای مختلف جهت بررسی فاکتورهای - مورد نظر انجام شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک پریمالاک عملکرد تولید مثلی از جمله درصد لفاح، هم‌آوری کاری، درصد تخم گشایی و بازماندگی لارو را به شکل معنی‌داری افزایش داد ( $P<0.05$ ). همچنین در ماهیان تعذیه شده با سطوح ۲/۵ و ۵ گرم پریمالاک در هر کیلوگرم جیره پارامترهای رشد از قبیل وزن نهایی، میانگین افزایش وزن، افزایش طول و نرخ رشد ویژه به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P<0.05$ ). همچنین ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بهره‌وری پروتئینی به شکل معنی‌داری در گروههای تعذیه شده با پریمالاک بهبود یافته بود. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پروبیوتیک پریمالاک یک مکمل غذایی مناسب جهت استفاده در مولدین و همچنین هجری‌های ماهی زینتی جهت بهبود پارامترهای رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهیان سورم است.

**وازگان کلیدی:** پروبیوتیک پریمالاک، تولید مثل، هم‌آوری، رشد و زنده‌مانی، سورم طلایی (*Heros severus*)

### مقدمه

ماهیان زینتی، مولدین یکی از ارکان اصلی کارگاه می‌باشند، که همواره تلاش مدیریت کارگاه در جهت افزایش هم‌آوری مولدین و بقاء و بازماندگی لاروها بوده است که در این میان استفاده از رژیم‌های غذایی متفاوت و استفاده از مکمل‌های غذایی نقش مهمی را بازی می‌کنند (موسوی و همکاران، ۱۳۸۸؛ مرادخانی و همکاران، ۱۳۸۷).

شاخصهای مختلفی برای ارزیابی کیفیت وضعیت تولیدمثلی در ماهیان وجود دارد، که از این موارد می‌توان به شاخص هایی نظیر شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری نسبی، هم‌آوری کاری،

تکثیر و پرورش ماهیان زینتی یکی از شاخه‌های صنعت آبزی پروری است که امروزه به خوبی رونق یافته و به تجاری سودآور تبدیل شده است. ماهی سورم طلایی (*Cichlasoma heros*) یکی از گونه‌های محبوب و در دسترس است که متعلق به خانواده *Cichlidae* می‌باشد. به طور کلی اعضای متعلق به این جنس بومی آمریکای مرکزی هستند ولی در شرایط آکواریوم به خوبی قادر به زندگی و تولید مثل خواهد بود. در هر کارگاه تکثیر و پرورش

موفقیت در تکثیر بستگی به دسترسی به غذای مناسب جهت تغذیه مولдин دارد تا سلامتی و رشد را هم برای مولдин و هم برای نوزادان آن فراهم آورد (Giri et al., 2002). از طرف دیگر ماهیان آکواریومی همواره در معرض استرس‌های بیولوژیک مانند عوامل بیماری زای باکتریایی، قارچی و انگلی و همچنین انواع استرس‌های غیر بیولوژیک همچون عدم تهویه و تصفیه مناسب در آکواریوم، انواع تنفس‌های سرمایی و گرمایی، افزایش غلظت متابولیت‌ها نظیر آمونیاک قرار دارند (پوردادود و همکاران ۱۳۸۹) تغییرات هورمونی به دنبال استرس‌های وارد شده و همچنین ضعف‌های تغذیه‌ای به دنبال عدم رعایت اصول غذاده‌ی و عدم استفاده از جیره اختصاصی هر گونه در آکواریوم باعث تضعیف هرچه بیشتر سیستم ایمنی ماهیان موجود در آکواریوم از مهمترین عوامل مرگ و میر در آکواریوم‌ها محسوب می‌شوند (Barton and Iwama 1991). بنابراین استفاده از مکمل‌های غذایی مناسب که هم بتوانند به بهبود کیفیت باروری و بهبود سلامت مولдин کمک کنند و هم بتوانند بهبود پارامترهای رشد و بقاء در لارو و بچه ماهیان را به دنبال داشته باشد می‌تواند از استراتژی‌های مناسب در مدیریت کارگاه تکثیر ماهیان زینتی باشد.

پروبیوتیک‌ها ترکیبات فرا سودمندی هستند که از طریق مختلف بر جنبه‌های فیزیولوژیک میزان خود تاثیر می‌گذارند. در مطالعات گذشته که بر روی ماهیان پرورشی انجام شده است تاثیرات سودمند پروبیوتیک‌ها بر پارامترهای رشد، بهبود ضریب تبدیل غذایی، بهبود فلور میکروبی بر بافت شناسی روده، بهبود سیستم ایمنی و همچنین افزایش بقای بچه ماهیان در شرایط نرمال پرورش و همچنین پس از مواجه با عوامل بیماری‌زا به اثبات رسیده است (Gram et al., 1999). در زمینه استفاده از مکمل‌های غذایی در صنعت تکثیر و پروش ماهیان زینتی به ویژه در ایران مطالعات کمتری صورت گرفته است. با این وجود در مطالعه‌ای که توسط پور

میزان باروری یا درصد لقاد و همچنین درصد تخم‌گشایی اشاره کرد که برای تعیین کیفیت وضعیت تولید مثلی مولдин ماده کاربرد دارد. شاخص‌های تولید مثلی تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله شرایط استرسی، عوامل محیطی مثل شرایط فیزیکو شیمیایی آب، رژیم‌های نوری مختلف اغلب از کمبودهای مواد غذایی در جیره مولдин تاثیر می‌پذیرد. درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی لاروها نیز می‌تواند به عنوان برخی دیگر از شاخص‌های کیفی تخم در نظر گرفته شوند. دو فاکتور اخیر نیز به شدت تحت تاثیر رژیم غذایی مولдин می‌باشد که به طور مستقیم بر کیفیت اسپرم تولید شده و همچنین کیفیت ترکیب غذایی محتوای کیسه زرده تاثیر می‌گذارد و این خود یکی از فاکتورهایی است که به شکل موثر بر بازماندگی لاروهای با کیسه تاثیر می‌گذارد (Fernández-Palacios et al., 1995; Izquierdo et al., 2001) سورم طلایی قبل از مطالعه قرار گرفته است و مشخص شده است که همانند سایر سیچلاید ماهیان آمریکای مرکزی حوضه آمازون به طور معمول در سنین کمتر از ۲ سالگی زمانیکه سایز آنها به حدود ۸ تا ۱۰ سانتیمتر میرسد بالغ می‌شوند و در طول دوره زندگی به طور همزمان با فواصل زمانی ۱۴ تا ۲۱ روز تخم‌ریزی کرده و در هر بار تعداد قابل توجهی تخم تولید می‌کنند (Mazerolle et al., 1995). در گونه‌های ماهیان آکواریومی تروپیکال به دلیل تخم‌ریزی‌های مداوم مولдин پس از تخم‌ریزی‌های متوالی ضعیف شده، به همین نسبت میزان هم‌آوری، درصد لقاد و همچنین کیفیت تخم‌گشایی و متعاقباً بازماندگی لارو کاهش می‌یابد. علاوه بر این در مطالعات گذشته مشخص شده است که طول دوره تخم‌ریزی و همچنین کیفیت تxm‌ها از سن، اندازه ماهی، شرایط فیزیولوژیکی، شرایط تغذیه‌ای و همچنین برخی شرایط و فاکتورهای محیطی تاثیر می‌پذیرد (Woodhead 1960; Degani and Yehuda 2011).

روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی (L:۱۴، D:۱۰)، در تمام طول دوره آزمایش هم در فاز اول و هم در فاز دوم آزمایش دمای آب در  $27 \pm 4$  درجه سانتی گراد، pH ۷/۷ و سختی همواره کمتر از ۱۵۵ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم ثابت تنظیم شد. آزمایش در چهار تیمار و هر تیمار با سه تکرار انجام شد. برای رسیدن به حداکثر تاثیر تیمارها بر روی مولدین به محض جadasازی مولدین به تانک جدید اعمال تیمار شروع می شد چون رسیدگی همه مولدین به طور همزمان ممکن نبود پس از جadasازی هر مولد اعمال تیمار شروع می شد که از جadasازی اولین مولد تا اخرين مولد ۸ روز طول کشید. کمترین مدت زمان برای مولدین تحت تیمار ۱۳ روز قبل از تخمريزی و بيشترین زمانی که مولدین تحت تیمار بودند ۲۱ روز بود.

### غذا و غذاده‌ی

برای تغذیه مولدین از غذای شماره ۳ و برای تغذیه بچه ماهیان از غذای شماره ۱ شرکت بیومار فرانسه (Biomar) استفاده شد (پورداوود و همکاران، ۱۳۸۹). ترکیب تقریبی جیره‌های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. گروه های تغذیه‌ای شامل (۱) گروه شاهد (جیره تجاری بدون پروبیوتیک) (۲) گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۱/۰ درصد پریمالاک (۳) گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۲ درصد پریمالاک (۴) گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد پریمالاک. برای اضافه کردن پروبیوتیک پریمالاک به جیره تجاری مقدار مورد نظر از پروبیوتیک برای هر تیمار در ۱۰ میلی لیتر آب قطره ترکیب گردید و سپس بر روی پلیت‌های غذا اسپری شد. پلیت‌های غذایی به مدت ۸ ساعت در هوای آزاد در دمای محیط نگهداری شدند سپس غذای هر تیمار به طور جداگانه در کيسه‌های پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (فغانی لنگرودی، ۱۳۸۹). غذاده‌ی چهار مرتبه در روز در ساعت ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ بر اساس ۵٪ وزن بدن انجام می شد.

داوود و همکاران (۱۳۸۹) انجام شد، مشخص شد که مخمر نانوایی به شکل موثری بهبود پارامترهای رشد و بقای بچه ماهیان سورم را به دنبال داشته است. در مطالعه‌ای که بر روی ماهی پلاتی انجام شد استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک به شکل موثری بهبود عملکرد تولید مثلی را به همراه داشته است (Hajibeglu and Sudagar, 2012). علاوه بر این در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ماهی زبرا انجام شد مشخص شد استفاده از مکمل غذایی پروبیوتیکی در جیره غذایی مولدین باعث بهبود شاخص گنادوسوماتیک و همچنین بهبود بیان ژن‌های مرتبط با تولید مثل را نیز به همراه داشته است (Gioacchini et al., 2011).

از آنجایی که رسیدن به بالاترین حد توان تولید مثلی ماهیان مولد و بالاترین سطح بقاء لاروها و بچه ماهیان تا رسیدن به سایز بازاری در زمینه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی دارای اهمیت به سزاوی است این تحقیق با هدف بررسی اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر پارامترهای هم‌آوری، درصد تخم‌گشایی، بقای لارو و فاصله زمانی بین تخم‌ریزی و همچنین بهبود رشد و بقای بچه ماهیان تا سن ۶۰ روزگاری انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### ماهی

جهت انجام این آزمایش از ۱۲ جفت مولد سورم طلایی که به رسیدگی جنسی رسیده بودند ولی اولین تخم‌ریزی را انجام نداده بودند استفاده شد. جفت‌های مولد تقریباً هم اندازه و هم سن بودند و مولدین به طور انتخابی جفت خود را انتخاب کردند، مولدین از تانک نگهداری پیش مولدین، پس از انتخاب جفت خود به تانک مخصوص نگهداری مولدین انتقال داده شدند. آکواریوم نگهداری مولدین دارای حجم ۶۰ لیتر بود که توسط یک سنگ هوا که به پمپ هوای مرکزی متصل بود هوادهی می شد و روزانه به میزان ۱۰٪ حجم آب از کف سیفون و با آب تازه جایگزین می شد. دوره روشنایی نیز به صورت ۱۴ ساعت

جدول ۱: آنالیز تقریبی جیره‌های مختلف

ترکیب شیمیایی جیره‌های مختلف	سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر اساس درصد در جیره			
آزمایشی	۰/۰	۰/۱	۰/۲	۰/۵
رطوبت	%۹/۶	%۹/۸	%۹/۳	%۹/۵
خاکستر	%۱۱/۴۳	%۱۱/۲۱	%۱۲/۱۲	%۱۱/۷۸
چربی	%۱۵	%۱۴/۴۳	%۱۵/۲۱	%۱۴/۶۹
پروتئین	%۰/۴۵	%۰/۴۴/۱۳	%۰/۴۴/۱۱	%۰/۴۵/۱۶

در قسمت دوم آزمایش که به مدت ۶۰ روز به طول انجامید، پس از اینکه از شروع تغذیه فعال بچه ماهیان به مدت ۵ روز با ناپلی آرتیمای تازه تخم‌گشایی شده تغذیه شدند تا لاروها قادر به دریافت غذای تجاری پودری شدند. سپس لاروهای به دست آمده از مولدین تغذیه شده با جیره تجاری (گروه شاهد) به ۱۲ عدد آکواریوم مجزا که هر گروه که شامل ۵۰ عدد لارو بود به انتقال داده شدند. این بخش از آزمایش نیز شامل ۴ گروه به ۳ نکرار بود. یک گروه با غذای تجاری که بصورت پودر تبدیل شده بود تغذیه شدند و گروههای دیگر با جیره‌ی غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک (۱، ۰/۵ و ۰/۱۵ گرم پروبیوتیک در هر کیلوگرم جیره) تغذیه شدند. در طی این دوره در طی نیمه اول دوره پرورش میزان غذا دهی بر اساس ۰/۱۵٪ وزن بدن و در نیمه دوم پرورش بر اساس ۱۰٪ بیومس زنده موجود در تانک انجام شد، در فواصل زمانی هر دو هفته یکبار زیست سنجی انجام می‌شد و میزان غذا نیز بر اساس بیومس جدید محاسبه می‌شد، غذادهی با میزان غذای مشخص شده در ۶ وعده در ساعت ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ انجام شد. در پایان دوره فاکتورهای رشدی شامل میانگین وزن نهایی، میانگین طول نهایی، شاخص رشد روزانه و همچنین درصد زنده‌مانی بچه ماهیان محاسبه شد.

### نمونه برداشی و ثبت داده‌ها

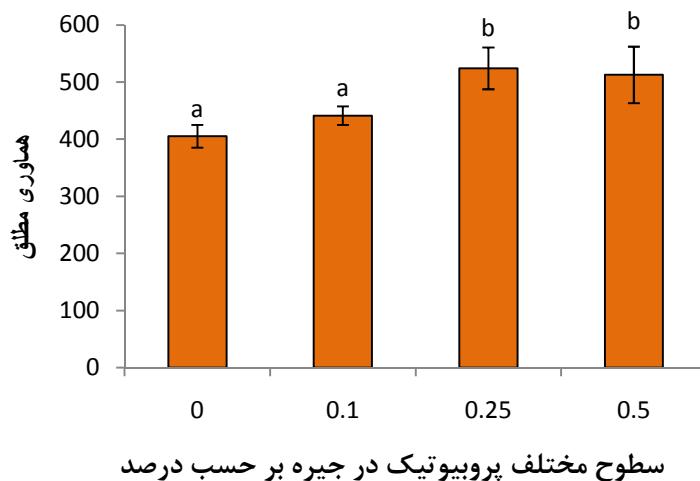
کنترل وضعیت رسیدگی مولدین ماده هر روز از طریق مشاهده ظاهری وضعیت برآمدگی ناحیه شکم و همچنین وضعیت بیرون زدگی لوله تخم‌بر بررسی می‌شود و در مراحل پایانی رسیدگی اووسیت‌ها بررسی تخم‌ریزی مولدین در فواصل زمانی کوتاه‌تر انجام می‌شود. زمان دقیق تخم‌ریزی جفت‌هایی که در آکواریوم و بر روی بستر مناسب قرار گرفته بودند ثبت شد و پس از پایان عمل تخم‌ریزی با دقت تخم‌ها شمارش شد، برای دقت در کار از صفحه‌ای که بر روی آن تخم‌ریزی صورت گرفته عکس گرفته و سپس از روی عکس نیز به طور دقیق‌تر تعداد کل تخم شمارش و به عنوان هماوری کاری در نظر گرفته شد. تعدادی از تخم‌ها نیز در کف آکواریوم ریخته شد که تعداد آنها نیز برای فاکتور هم‌آوری شمارش شدند. برای محاسبه درصد لقادح ۶ ساعت بعد از تخم‌ریزی تخم‌های سفید شده به عنوان تخم‌های لقادح نیافته شمارش شدند. در پایان دوره انکوباسیون یعنی پس از ۴۸ ساعت تخم‌های تخم‌گشایی نشده و مرده (چسبیده بر روی بستر) پس از خارج کردن بستر تخم‌ریزی از مخزن به دقت شمارش شدند. پس از ۴ تا ۵ روز که کیسه زرد به طور کامل جذب شد و لاروها شروع به شناخت فعال کردند میزان آنها نیز شمارش شد و میزان بقای لارو و میزان تبدیل لارو به بچه ماهی محاسبه شد (mossavi et al., 2010).

نمودارها نشان می دهند هم‌آوری کاری در گروه تغذیه شده با سطح ۲/۵ و ۰/۵ گرم در کیلوگرم پریمالاک نسبت به سایر گروهها بالاتر بوده است ( $P<0.05$ ). میزان درصد لقاح و همچنین درصد تخم‌گشایی در همه گروههای تغذیه شده با پروفیوتوک پریمالاک افزایش یافته بود ولی بالاترین سطح برای درصد لقاح به شکل معنی‌دار ( $P<0.05$ ) در گروه تغذیه شده با سطح ۱ و ۰/۵ گرم پریمالاک و برای درصد تخم‌گشایی در گروه تغذیه شده با سطح ۲/۵ و ۰/۵ گرم پریمالاک دیده شد. نتایج نشان می دهد که فواصل زمانی بین دو تخم‌ریزی متواتی در مولدین تغذیه شده با پروفیوتوک پریمالاک به شکل معنی‌داری ( $P<0.05$ ) در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته بود.

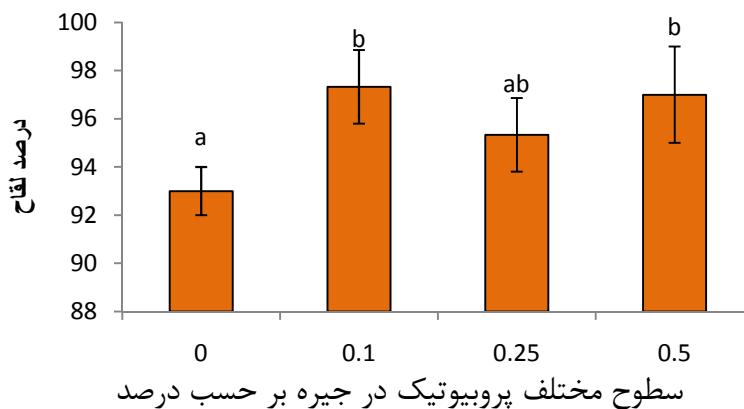
نتایج و داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش ابتدا تحت آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و همچنین نرمال بودن داده‌ها نیز چک شد. سپس جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح ( $p<0.05$ ) استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری و جهت رسم نمودار از نرم افزار Excel و SPSS استفاده شد.

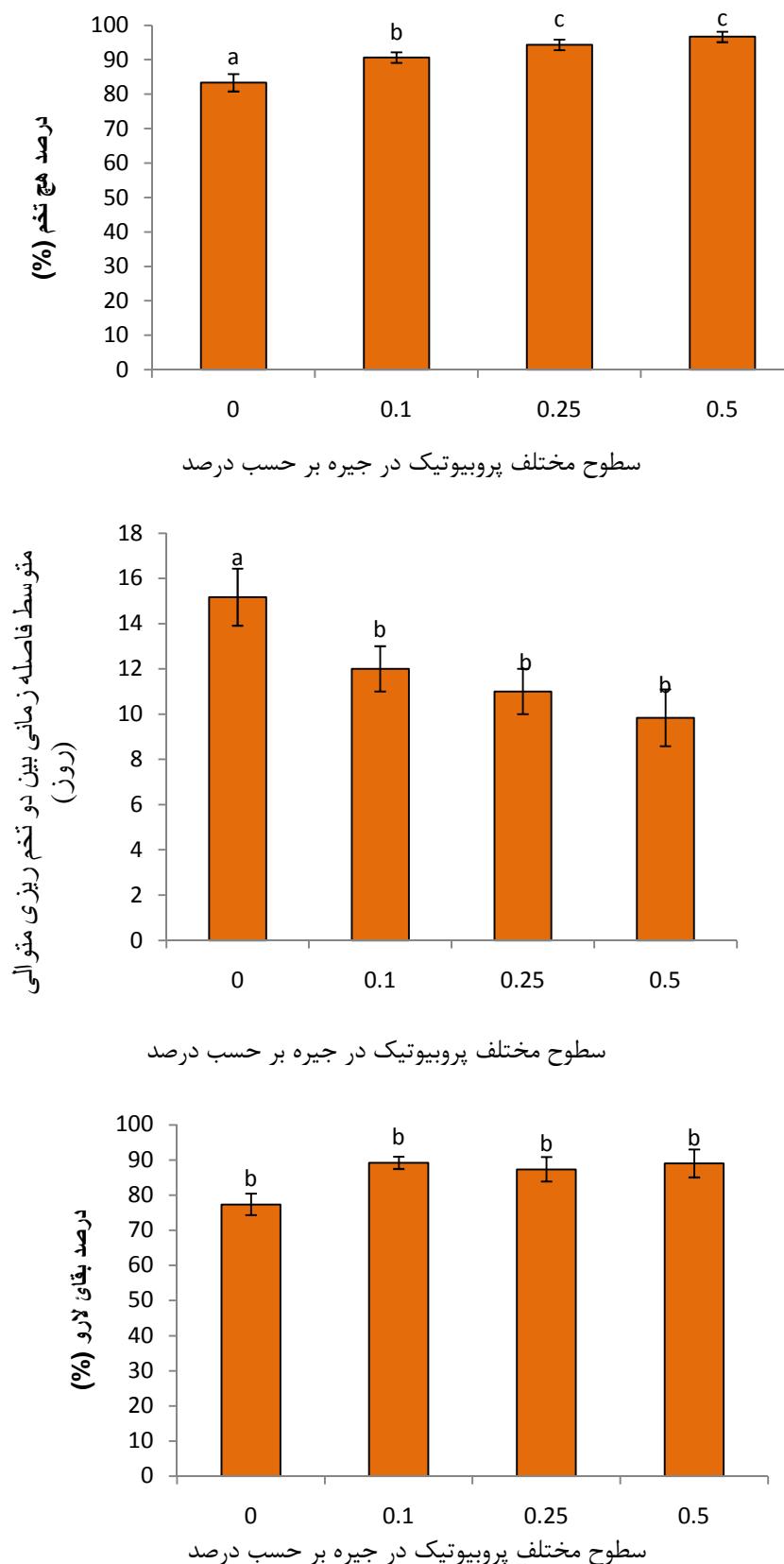
### نتایج

نتایج مقایسه میانگین فاکتورهای هم‌آوری، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و بازماندگی لارو و متوسط فاصله بین دو تخم‌ریزی در مدت زمان انجام پنج تخم‌ریزی در شکل ۱ آورده شده است. همانطور که



سطوح مختلف پروفیوتوک در جیره بر حسب درصد

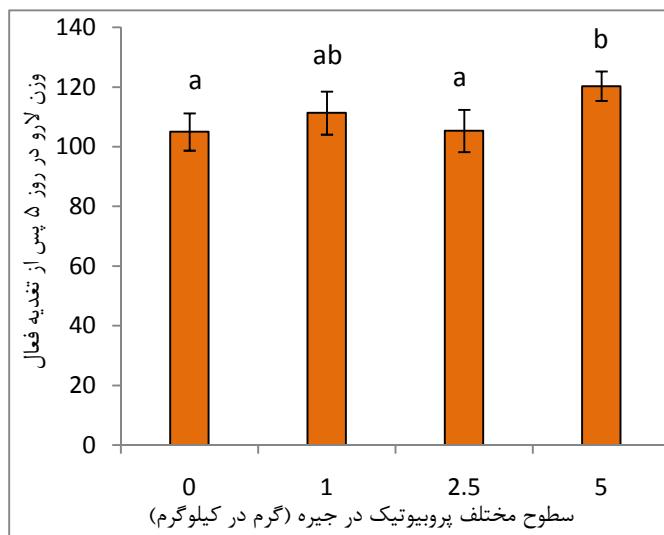




شکل ۱. نتایج مقایسه میانگین فاکتورهای هماوری، درصد تخم‌گشایی و بازماندگی لارو و متوسط فاصله بین دو تخم‌ریزی درمدت زمان پنج تخم‌ریزی

تغذیه شده بودند تا ۵ روز پس از تغذیه فعال دارای وزن بالاتری نسبت به سایر گروهها بودند ( $P<0.05$ ).

شکل ۲ نمودار وزن لاروها در روز ۵ پس از تغذیه فعال حاصل از مولدین (نر و ماده) تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این بخش مطالعه نشان می‌دهد، لاروهایی که مولدین آنها با سطح ۵ گرم پروبیوتیک پریمالاک در هر کیلوگرم جیره



شکل ۲. نمودار وزن لاروها در روز ۵ پس از تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک

در گروههای تغذیه شده با سطح ۲/۵ و ۵ گرم پریمالاک در جیره به شکل معنی‌داری در مقایسه با سایر گروهها افزایش یافته بود. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که پروبیوتیک پریمالاک به شکل معنی‌داری ضریب تبدیل غذایی و ضریب تبدیل پروتئینی را بهبود داده است.

نتایج حاصل از اثر پروبیوتیک پریمالاک بر پارامترهای رشدی و بهره‌وری غذایی در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. نتایج حاصل از این مطالعه یک افزایش وابسته به دز را طول بچه ماهیان تغذیه شده با پریمالاک در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد که میزان وزن نهایی، افزایش وزن کل و شاخص رشد روزانه

جدول ۲. نتایج حاصل از اثر جیره های حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر پارامترهای رشدی و بهره‌وری غذایی

سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک در جیره (گرم در هر کیلوگرم جیره)				
طول اولیه (میلی- متر)	طول نهایی (میلی- متر)	وزن اولیه	وزن نهایی	افزایش وزن کل
۳/۷۳ <sup>a</sup>	۳/۴۶ <sup>a</sup>	۰/۶۹ <sup>a</sup>	۰/۶۸ <sup>a</sup>	۰/۰۹ <sup>a</sup>
۲۴/۷ <sup>d</sup>	۲۲/۱۷ <sup>d</sup>	۳/۷۹ <sup>d</sup>	۳/۵۹ <sup>d</sup>	۰/۱۰ <sup>d</sup>
۳/۱۱ <sup>d</sup>	۲/۹۴ <sup>d</sup>	۶/۷ <sup>d</sup>	۶/۳۷ <sup>d</sup>	۰/۳۷ <sup>d</sup>
۲/۱۶ <sup>a</sup>	۲/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۹۷ <sup>a</sup>	۰/۹۹ <sup>a</sup>	۰/۰۲ <sup>a</sup>
۱/۱۲ <sup>d</sup>	۱/۲۴ <sup>d</sup>	۰/۹۷ <sup>a</sup>	۰/۹۹ <sup>a</sup>	۰/۰۲ <sup>a</sup>
میزان غذای مصرفی				
۰/۵۶ <sup>a</sup>	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۷۴ <sup>a</sup>	۲/۷۴ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>
۰/۴۵ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل غذایی				
۰/۵۱ <sup>b</sup>	۰/۵۱ <sup>b</sup>	۰/۷۴ <sup>a</sup>	۰/۷۴ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>a</sup>
شاخص رشد روزانه				
۱/۱۳ <sup>b</sup>	۱/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>a</sup>
ضریب تبدیل پروتئین				
۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>a</sup>

پروبیوتیک پریمالاک به شکل معنی‌داری پارامترهای باروری مولدین ماده را بهبود بخشیده است. هم راستا با نتایج حاصل از مطالعه اخیر (Abasali and Mohamad 2011) نشان دادند که شاخص گندادوسوماتیک، باروری، تولید لارو و بقای لارو در *(Xiphophorus maculatus)* ماهیان پلاتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل پریمالاک به شکل معنی‌داری بهبود یافته بوند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ماهی دم شمشیری *(Xiphophorus helleri)* انجام شد، نشان دادند که سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک به شکل معنی‌داری شاخص‌های گندادوسوماتیک، باروری و Abasali and Mohamad 2010 بقای لارو را افزایش داده بود (Mohamad 2010). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی ماهی زبرا *(Danio rerio)* انجام شد مشخص شد *Lactobacillus rhamnosus* که پروبیوتیک IMC 501® به شکل معنی‌داری میزان شاخص گندادوسوماتیک و باروری این ماهی را افزایش داده بود. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش شاخص گندادوسوماتیک و باروری در ارتباط با افزایش میزان بیان ژن‌های سیتوکروم p19، ویتلوزین کبدی و همچنین ایزوفورم آلفا رسپتورهای استردادیول بوده است (Gioacchini et al., 2011).

در زمینه اثر پروبیوتیک‌ها و به صورت کلی تغییر فلور باکتریایی دستگاه گوارش بر شاخص‌های هم‌آوری و تولید مثلی ماهیان اطلاعات کمی در دسترس است و مکانیسم عمل اینکه چگونه بهبود فلور باکتریایی روده به دنبال استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی بر فاکتورهای تولید مثلی و باروری مولدین اثر می‌گذارد به خوبی مشخص نشده است. ولی با این وجود Ghosh و همکاران (Ghosh et al., 2007) نشان دادند که اضافه کردن پروبیوتیک *Bacillus subtilis* به شکل معنی‌داری وضعیت تولید مثلی ۴ گونه از ماهیان آکواریومی را بهبود بخشیده بود. این نکته قبلاً به اثبات رسیده است که تغذیه مولدین در طی مراحل مختلف تاثیرات مختلفی بر کیفیت

## بحث

تاثیر جیره‌های حاوی مکمل‌های غذایی به خصوص انواع پروبیوتیک‌ها بر جنبه‌های مختلف زیستی و فیزیولوژیک ماهیان پرورشی آب شور و شیرین و همینطور میگو به کرات در سطح جهان مورد ارزیابی قرار گرفته است، اما در ارتباط با ماهیان زینتی فعالیت‌های کمتری انجام گرفته است (Gatesoupe, 1999; Zhou, et al., 2009; Ringø, et al., 1998). در فاز اول این تحقیق تاثیر مثبت جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر فاکتورهای تولید مثل شامل درصد هم‌آوری، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی، درصد بازماندگی لارو، زمان بین دو تخم‌ریزی و وزن لارو در روز پنج پس از تغذیه فعل در مولدین ماهی سورم نشان داده شد. همچنین در قسمت دوم آزمایش تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک پریمالاک بر فاکتورهای عملکرد رشد و بهره‌وری غذایی، برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و بقاء در بچه ماهیان ماهی سوروم مورد بررسی قرار گرفت.

مطالعات قبلی به خوبی نشان داده‌اند که جیره‌های غذایی با ترکیبات مختلف به شکل معنی‌داری پارامترهای تولید مثلی، باروری و کیفیت تخم و لارو را در مولدین ماده به خصوص در مورد ماهیان تخم ریز مداوم با دوره‌های کوتاه تخم‌ریزی که فرایند زرده سازی (ویتلوزین) و رهاسازی تخمک (اوولاسیون) در مدت زمان کوتاه‌تری اتفاق می‌افتد نسبت به ماهیانی که در طول سال فقط یکبار تخم‌ریزی می‌کنند، می‌توانند تحت تاثیر قرار دهند (Washburn, Frye et al. 1990; Izquierdo, Fernandez-Palacios et al. 2001; Ghosh, Sinha et al. 2007). در مطالعات گذشته نیز این نکته به اثبات رسیده است که جیره‌های غنی به خصوص از نظر میزان پروتئین به شکل موثری می‌توانند در ماهیان تخم‌ریز مداوم فواصل بین دو تخم‌ریزی را کوتاه‌تر کنند (Degani, 1993). نتایج حاصل از مطالعه اخیر نشان داد که جیره‌های حاوی سطوح مختلف

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تمام شاخص‌های رشد شامل طول نهایی، میزان افزایش وزن و شاخص رشد روزانه در بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲/۵ و ۵ گرم در هر کیلوگرم جیره به شکل معنی‌داری در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش یافته بود. در همین راستا مطالعه‌ای که قبلاً انجام شد نشان داد که مخمر نانوایی به عنوان یک افروزنی پروبیوتیکی در سطح ۲ گرم در هر کیلوگرم جیره باعث بهبود پارامترهای رشدی و بهره‌وری غذایی شده بود. فعالی لنگرودی نشان داد که در کپور ماهیان تعذیه شده با سطح ۱ و ۵ گرم در هر کیلوگرم پروبیوتیک پریمالاک بالاترین میزان شاخص رشد روزانه (SGR) و پایین‌ترین سطح ضریب تبدیل غذایی (FCR) مشاهده شد (فعالی لنگرودی، ۱۳۸۹).

Gatesoupe طریق بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش که این نیز به نوبه خود آنزیم‌های گوارشی و همچنین تولید برخی از ویتامین‌ها را تحریک می‌کند، باعث افزایش رشد در گونه آبزی می‌شوند (Gatesoupe, 1999). قبلاً این نکته به خوبی تایید شده است که پروبیوتیک‌ها باعث تغییر فلور میکروبی روده به سمت باکتری‌های تخمیر کننده می‌شود. انجام تخمیر در دستگاه گوارش باعث تولید متابولیت‌هایی از جمله های چرب کوتاه زنجیر مثل پروپیونات، استات، بوتیرات و اسید لاکتیک می‌شوند که این ترکیبات به اندام‌هایی که در متابولیسم نقش بازی می‌کنند مثل کبد انتقال داده می‌شوند و از این طریق می‌توانند بر بهبود رشد میزبان اثر گذار باشند.

به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که پروبیوتیک تجاری پریمالاک که به صورت ترکیبی از سویه‌های مختلف باکتری‌های مفید است به شکل معنی‌داری وضعیت باروری و تولید مثلی ماهیان سورم طلایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نتایج نشان داد که سطوح ۲/۵ و ۵ گرم پریمالاک در هر کیلوگرم جیره بهترین اثر را بر فاکتورهای تولید مثلی از جمله

تخمک تولیدی دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که ترکیب غذایی زرده و کیفیت تخمک به شکل معنی‌داری تحت تاثیر جیره غذایی مولدین است. ویتلوزنین یا پروتئین زرده ساز تحت تاثیر هورمون ۱۷ بتا استرادایبول در کبد ساخته شده و از طریق جریان خون به گناد انتقال داده می‌شود. از طرفی دیگر در مطالعات گذشته مشخص شده است که یکی از مکانیسم‌های عمل باکتری‌های پروبیوتیک تحریک فرایند تخمیر در دستگاه گوارش میزبان می‌باشد، که در طی این فرایند متابولیت‌هایی از جمله اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در دستگاه گوارش تولید شده و از طریق جریان خون به کبد انتقال داده می‌شود که این ممکن است بر کیفیت پروتئین ویتلوزنین تولید شده در نتیجه کیفیت تخمک تاثیر گذارد (Dahlgren 1980; Goldin and Gorbach 1999). نتایج در مطالعه‌ای که قبلاً بر روی ماهی آنجل و سوروم انجام شده است مشخص شده است که استفاده از غذای زنده آرتمیا در جیره غذایی چه به شکل غنی شده و غنی نشده توانایی افزایش هم‌آوری و بهبود برخی از پارامترهای زادآوری را نسبت به غذای فرموله شده تجاری دارا می‌باشد (موسوی و همکاران ۱۳۸۸؛ مراد خانی و همکاران ۱۳۸۷).

مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با تاثیر پروبیوتیک‌ها بر فاکتورهای رشد، بهره‌وری غذایی و سایر جنبه‌های فیزیولوژیک گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی انجام شده است (جعفریان و همکاران، ۱۳۸۸) ولی با این وجود نسبتاً مطالعات کمتری در مورد اثر پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشدی و بهره‌وری غذایی ماهیان زینتی به ویژه در مرحله لاروی و بچه ماهیان انجام شده است. بنابراین در قسمت دوم این آزمایش به بررسی اثر پروبیوتیک پریمالاک بر شاخص‌های رشد و بهره‌وری غذایی در بچه ماهیان سورم طلایی پرداخته شد. نتایج حاصل از قسمت دوم این آزمایش نشان می‌دهد که جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پریمالاک بهبود پارامترهای رشد و بهره‌وری غذایی را در بچه ماهیان سورم طلایی به دنبال داشته است.

- Ahmdifar, E., R. Akrami, A. Ghelichi and A. M. Zarejabad (2011) Effects of different dietary prebiotic inulin levels on bloodserum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology* 20 (5), 447-451.
- Asadi, M., Mirvaghefei, A., Nematollahi, M., Banaee, M., Ahmadi, K., (2012) Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal* 2, 32-39.
- Barton, B. A. and G. K. Iwama (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases* 1, 3-26.
- Chong, A. S., S. D. Ishak, Z. Osman and R. Hashim (2004) Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri*(Poeciliidae). *Aquaculture* 234 (1), 381-392.
- Dahlgren B.T. (1980) The effects of three different dietary protein levels on the fecundity in the guppy, *Poecilia reticulata* (Peters). *Journal of Fish Biology* 16, 83-97.
- Degani, G. (1993) Growth and body composition of juveniles of *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein)(Pisces; Cichlidae) at different densities and diets. *Aquaculture Research* 24 (6), 725-730.
- Degani, G. and Y. Yehuda (2011) Effects of diets on reproduction of angelfish, *Pterophyllum scalare* (Cichlidae). *Indian Journal of Fisheries* 43 (2), 121-126.
- Fernández-Palacios, H., M. S. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi and J. M. Vergara (1995) Effect of n- 3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132 (3), 325-337.
- Gatesoupe, F. (1999) The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180 (1), 147-165.
- Ghosh, S., A. Sinha and C. Sahu (2007) Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing

میزان همآوری، درصد باروری، درصد تخمگشایی و باقی لاروها داشته است. همچنین در قسمت دوم این آزمایش نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک پریمالاک در جیره احتمالاً از طریق بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش باعث بهبود کارایی تغذیه و همچنین بهبود رشد در بچه ماهیان می شود.

#### منابع

- پورداود، م.، سجادی، م.، و بحری، ا.، ۱۳۸۹. بررسی اثرات جیره های غذایی حاوی مخمر ساکلارومایسیس سروپریزا بر رشد، زنده مانی و مقاومت در برابر استرس های محیطی ماهی سوروم(*Heros severus*). *مجله علمی آبزیان و شیلات*، ۱(۱): ۲۳-۳۱.
- فغانی لنگرودی، ح.، ۱۳۸۹. مقایسه پروبیوتیکهای تجاری پروتکسین و پریمالاک در رشد و بقاء کپور معمولی دریای خزر. *مجله بیولوژی دریا*، ۶(۲): ۶۵-۷۴.
- مرادخانی، ز.، متینفر، ع.، سلطانی، م.، و موسوی ثابت، ح.، ۱۳۸۷. تاثیر کاربرد آرتمیا ارومیانا بالغ غنی شده با اسید چرب غیر اشباع بلند زنجیره و اسید اسکوربیک بر زادآوری ماهی سوروم (*Cichlasoma severum*). *مجله علمی پژوهشی شیلات*، ۲(۴): ۱۵-۲۲.
- موسوی ثابت. س.، ح.، ارشاد لنگرودی، م.، فلاحتکار، ب.، و مرادخانی. ز.، ۱۳۸۸. تاثیر آرتمیا ارومیانای غنی شده با اسید چرب غیر اشباع و اسید اسکوربیک بر عملکرد تولید مثلی ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*). *پژوهش های مجله علوم و فنون دریایی*، ۴(۴): ۶۱-۶۹.

- Abasali, H. and S. Mohamad (2010) Effect of dietary supplementation with probiotic on reproductive performance of female livebearing ornamental fish. *Research Journal of Animal Sciences* 4 (4), 103-107.
- Abasali, H. and S. Mohamad (2011) Effect of dietary probiotic level on the reproductive performance of female platy *Xiphophorus maculatus*. *Agricultural Journal* 6 (3), 119-123.

- Mazerolle, A., M. Weiss and A. Konings (1995) Cichlids Yearbook. *Cichlids Yearbook 5.*
- Washburn, B. S., D. J. Frye, S. S. Hung, S. I. Doroshovand F. S. Conte (1990) Dietary effects on tissue composition, oogenesis and the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 90 (2), 179-195.
- Woodhead, A. D. (1960) Nutrition and reproductive capacity in fish. *Proceedings of the Nutrition Society* 19 (01), 23-28.
- Zhou, X.-x., Y.-b. Wang and W.-f. Li (2009) Effect of probiotic on larvae shrimp (*penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 287 (3), 349-353.
- ornamental fish. *Aquaculture Research* 38 (5), 518-526.
- Gioacchini, G., F. Lombardo, D. Merrifield, S. Silvi, A. Cresci, M. Avella and O. Carnevali (2011) Effects of probiotics on Zebrafish reproduction. *J Aquac Res Development* S1, 2.
- Giri, S., S. Sahoo, B. Sahu, A. Sahu, S. Mohanty, P. Mukhopadhyay and S. Ayyappan (2002) Larval survival and growth in Wallago attu(Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture* 213(1), 151-161.
- Goldin B.R. & Gorbach S.L. (1992) Probiotics for humans. In: Probiotics. *The Scientific Basis* (ed. by R. Fuller), pp.355-376. Chapman & Hall, NewYork, NY, USA.
- Gram, Lone, Jette Melchiorsen, Bettina Spanggaard, Ingrid Huber, and Torben F. Nielsen. (1999) Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a Possible Probiotic Treatment of Fish. *Applied and Environmental Microbiology* 65, no. 3, 969-973.
- Izquierdo, M., H. Fernandez-Palacios and A. Tacon (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197 (1), 25-42.
- Luquet, P. and T. Watanabe (1986) Interaction nutrition-reproduction in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 2 (1), 121-129.

## The effects of different levels of dietary probiotic Primalac on reproductive status of spawners, survival of larvae and growth performance of Golden Severum, (*Heros severus*) fry

**Hamed Ghafari Farsani<sup>1</sup>, Hossein HosseiniFar<sup>2</sup>, Pegah Gheshlaghi<sup>3</sup>, Saeid Shahbazi Naserabad<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. Student of Fisheries, Young Researchers and Elites club, Islamic Azad University, ShahreKord Branch, ShahreKord, Iran.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

<sup>3</sup>M.Sc. of Fisheries, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Islamic Azad University of Tehran Research, Tehran, Iran.

<sup>4</sup>M.Sc. of Fisheries, Young Researchers and Elites club, Islamic Azad University, Yasouj Branch, Yasouj, Iran.

\*Corresponding author : hoseinifar@gau.ac.ir

Received: 2016/7/11

Accepted:2016/10/22

### Abstract

The aim of the present study was to determine the effects of different levels of probiotic feed supplement (Primalac) on reproductive performance, survival of larvae as well as growth performance and feed utilization, body composition and survival rate of Golden Severum, (*Heros severus*) fry. The study was performed in a completely randomize design with 1 control group and 3 experimental groups include different level (1, 2.5 and 5 g per kg) of Primalac as probiotic. The study was performed in two separate phases: in first phased on spawners and their larvae and in second phase on performance and feed utilization, body composition of fry. Treatments repeated in triplicates with stocking density of 40 fish per experimental unit. In first phase, spawners were fed on primalac before the first spawning till 5 spawning cycle and reproductive performance parameters were measured. In second phase, fry were fed on experimental diets for 60 days and sampled for determination of above mentioned parameters. The results showed that Primalac significantly increased reproductive performance parameters include fertilization rate, absolute fecundity, hatching rate as well as survival of larvae ( $P < 0.05$ ). Also, feeding fish with 2.5 or 5 g  $\text{kg}^{-1}$  primalac remarkably improved growth parameters (Final weight, weight gain, length increase, SGR) ( $P < 0.05$ ). Furthermore, feed conversion ratio as well as PER were improved in primalac fed fish ( $P < 0.05$ ). Also, primalac increased total protein, albumin, globulin and total glucose if fry body ( $P < 0.05$ ). The results of the present study, revealed that primalac is a suitable probiotic to be used for spawners as well as in hatcheries to improve growth performance and FCR of Golden Severum. Biochemical parameters also showed that primalac improved physiological status of fry.

**Key words:** Probiotic, Primalac, Reproduction, Fecundity, Growth and survival, Golden Severum (*Heros severus*)