بررسی اثرات کلومیفن در جیره‌ی غذایی و تاثیر آن بر فاکتور رشد ماهی گورامی (*Trichogaster trichopterus*)

الهام جوادی[۱]، شهرام شرفی[۱*]، بابک مقدسی[۲]

۱- گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
۲- گروه زیست دریا، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
*مسئول مکاتبات: shahramsharafi2003@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۵

چکیده

ترکیبات دارویی در رشد ماهیان زینتی نقش کاربردی دارند. مطالعه اثرات کلومیفن، در جیره مواد غذایی و فاکتورهای رشد در گونه های ماهی گورامی (*Trichogaster trichopterusr*) این بررسی انجام شد هدف از انجام این پژوهش افزایش رشد ماهیان زینتی (*Trichogaster trichopterus*) در کارگاه‌های تکثیر و پرورش، در بازه زمانی کوتاهتر و هزینه تمام شده کمتر بوده است. تعداد ۱٤۰ قطعه بچه ماهی گورامی سه خال در ٤ گروه (یک گروه شاهد و سه گروه تیمار) به مدت دو ماه با جیره غذایی حاوی کلومیفن (با مقادیر ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره خشک) غذادهی شدند. زیست سنجی (وزن کل و طول استاندارد) هر دو هفته یک بار و محاسبه شاخص‌های رشد ماهیان در پایان دوره دو ماهه انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از کلومیفن در جیره غذایی بر روی پارامترهای رشد (افزایش وزن نهایی، درصد افزایش وزن، میزان رشد ویژه، میزان بازده پروتئین و میانگین رشد روزانه) تأثیر مثبت و معنی‌داری داشته و ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌داری کاهش نیافت. بنابراین کلومیفن می‌تواند در رژیم غذایی ماهی گورامی سه خال گونه *Trichogaster trichopterus* استفاده شود.

کلمات کلیدی: ماهی گورامی سه خال، رشد، کلومیفن، *Trichogaster trichopterus*.

مقدمه

نگهداری ماهیان زینتی از دیرباز برای عموم یک سرگرمی بوده است. به نظر می‌رسد که در یک هزار سال قبل، چینی‌ها اولین کسانی بودند که به نگهداری ماهیان اقدام نموده‌اند. این سرگرمی در نیمه قرن نوزدهم بعد از شکل‌گیری و توسعه مکان‌های عمومی نگهداری ماهیان زینتی رونق گرفت [۱]. امروزه جاذبه‌های گردشگری و افزایش درآمد حاصل از صادرات ماهیان آکواریومی باعث کسب منابع ارزی هنگفتی در کشورهایی همچون سریلانکا و فیلیپین شده است، به طوری که علاوه بر نگهداری آنها به عنوان سرگرمی، تاثیر نگهداری و تماشای گونه‌هایی از آن بر روان انسان و تسکین روانی او از سوی علم پزشکی به اثبات رسیده است [۲]. گورامی سه خال متعلق به زیر راسته‌ی آنابانتوئید بوده و عموماً به عنوان ماهیان لابیرنت دار شناخته می‌شوند. مهم‌ترین خصوصیت این ماهی‌ها وجود یک عضو تنفسی فرعی به نام لابیرنت است. لابیرنت چسبیده به حفره‌ی آبششی است و از غشاهای چندلایه که در یک چهارچوب استخوانی قرار دارد تشکیل شده است. بافت ظریف آن دارای تراکم زیادی از مویرگ‌های خونی بوده و بیشتر شبیه شش موجودات خشکی‌زی عمل می‌کند. اگر یک ماهی لابیرنت دار به هوا دسترسی نداشته باشد خفه می‌شود زیرا آبشش به تنهایی اکسیژن کافی را برای ماهی تامین نمی‌کنند. مشخصات ظاهری ماهی گورامی سه خال (شکل ۱) آن را به عنوان نمونه‌ای مناسب برای نگهداری و پرورش معرفی کرده است. شرایط نگهداری این ماهی آسان و براحتی در شرایط آزمایشگاهی قابل رشد و تکثیر است [۱]. ویژگی-

های جنس‌های نر و ماده و همچنین رفتار و زمان تولیدمثل و نحوه رشد و تکثیر این ماهی از موضوعات مورد علاقه پرورش‌دهندگان و جمع‌آوری‌کنندگان ماهیان زینتی است [۱، ۳]. ضمن اینکه ماهی گورامی سه خال یکی از گونه‌های با ارزش زینتی است که دارای ارزش ریالی خوبی در بازار این نوع از ماهیان است [۱].

شکل ۱ -گورامی سه خال نر در بالا و گورامی سه خال ماده در پایین

با توجه به بازار پر فروش ماهیان زینتی دستیابی به روش-هایی که بتواند در زمان کوتاهتر و با صرف هزینه کمتر ماهیان زینتی را در اختیار مشتریان قرار دهد در فهرست فعالیت‌های تجارتی شیلات قرار گرفته است. از این رو استفاده از مکمل‌های غذایی و دارویی که بتواند در زمان کوتاهتر و با سرعت بیشتری نمونه ماهیان را به بازار اماده نماید در فهرست تحقیقات شیلاتی قرار گرفته است. کلومیفن با نام تجاری (Clomid، Milophene و Serophene) می‌باشد و جزء گروه دارویی محرک تخمک‌گذاری و دارای ترکیبات غیراستروئیدی ضد استروژن بوده و با افزایش آزاد شدن FSH و LH از هیپوفیز، باعث افزایش رسیدن فولیکول تخمدان و تخمک‌گذاری و نیز رشد جسم زرد می‌گردد [۹، ۱۳]. همچنین در درمان موارد انسانی جنس نر که تعداد اسپرم در آنها پایین می‌باشد و مقدار تستوسترون در آنها پایین‌تر از حد نرمال است کاربرد دارد. زمانی که آقایان کلومید مصرف می‌کنند با افزایش ترشح هورمون LH مواجه می-شوند که ای امر سبب می‌شود تولید تستوسترون طبیعی در بدنشان بالا برود. ورزشکاران با استفاده از این قابلیت ویژه کلومید می‌توانند در پایان دوره مصرف استروئید (یعنی همان زمانی که ترشح تستوسترون آندروژنی کاهش یافته است) بهره برده و ترشح تستوسترون آندروژنی بدن خود را به سطح نرمال برگردانند و همچنین سبب افزایش وزن نیز می‌شود [۱۲]. بنابراین با هدف افزایش رشد ماهیان زینتی در کارگاه‌های تکثیر و پرورش، در بازه زمانی کوتاهتر و هزینه تمام شده کمتر، این نمونه مورد بررسی و انتخاب شد تا اثر کلومیفن به عنوان داروی قابل بررسی در جیره‌ی غذایی و تاثیر در فاکتور رشد ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این تحقیق بر اساس جدول ۱، ۱٤۰ قطعه بچه ماهی گورامی سه خال در ٤ گروه ۳۰ قطعه‌ای تقسیم‌بندی گردید. به منظور ایجاد شرایط تثبیت وضعیت و حفظ سلامت و سازگاری با محیط جدید به مدت یک هفته ماهی‌ها در آب بدون کلر نگهداری شدند. تغذیه ماهیان با توجه به بهترین ساعات تغذیه ماهیان در چهار نوبت در روز (ساعات ۹:۰۰، ۱۱:۰۰، ۱۳:۰۰ و۱۵:۰۰) و بر اساس ۵٪ از وزن ماهیان هر تانک با افزودن مقادیر کلومیفن به غذای پایه به مقدار بر اساس جدول ۱ انجام شد.

خوراک پایه در هر نوبت با توجه به میزان افزایش وزن بدن و طول ماهی به صورت دست‌ساز حاوی ٪۵۰ پروتئین، ٪۱۵ چربی، ٪۱/۵ فیبر تهیه و به ماهی‌ها داده شده است. حجم آب هر یک از مخازن نگهداری ماهیان مورد بررسی در این پژوهش ۱٦۰ لیتر بوده که برای حفظ کیفیت آن در هر مخزن یک بیوفیلتر ابری قرار داده شد و روزانه مقدار ۱۰ درصد آب هر مخزن سیفون و با آب شهری کلرزدایی شده جایگزین شده است. همچنین

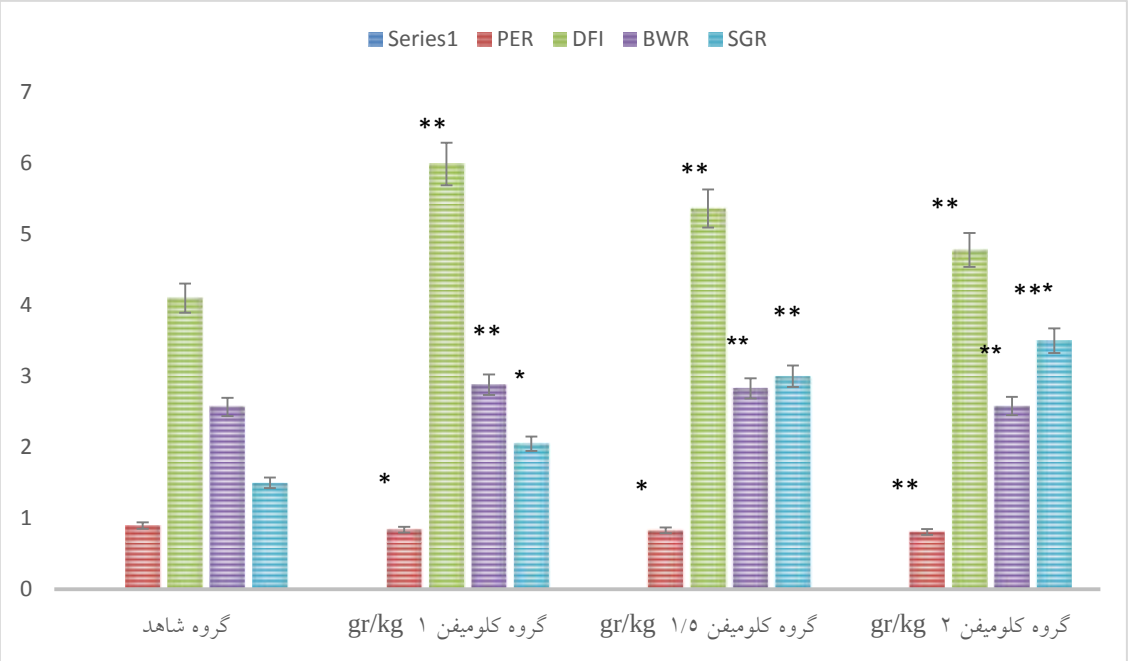
شستشوی بیوفیلتر ابری به صورت هفتگی انجام شده است. سیستم هوادهی هر یک از مخازن نگه داری ماهیان (علاوه بر فیلتر ابری) شامل یک عدد سنگ هوای متصل به پمپ هوای مرکزی کارگاه بوده و در طول دوره بررسی درجه حرارت آب حدود ۲۸ درجه سانتیگراد و دوره روشنایی ۹ ساعت در شبانه روز در نظر گرفته شده است. ماهیان موجود در هر تانک با استفاده از ترازو دیجیتال و خط‌کش بیومتری هر دو هفته یکبار سنجش شده و بیومتری شدند و شاخص‌های زیست سنجی شامل طول استاندارد (S.L) و وزن کل بدن (B.W)، با استفاده از خط کش مدرج (با دقت ۱ میلی‌متر) و ترازوی دیجیتال (با دقت۰/۱ گرم) انجام شد. همچنین شاخص‌های رشد و تغذیه، درصد بقا، ضریب تبدیل غذایی نیز محاسبه شد (فاکتورهای رشدی مورد بررسی اعم از (PER یا نسبت کارآیی پروتئین، DFI یا میزان درصد غذایی که در روز خورده شده، PBWI یا درصد افزایش وزن ماهی، BWI یا افزایش وزن بدست آمده، SGR یا ضریب رشد ویژه، CF یا شاخص وضعیت نسبت طول و وزن، ADG یا میزان رشد روزانه و SR یا درصد بقا بوده است). سنجش تغییرات و مطالعات آماری از طرح کاملا تصادفی با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه انجام شد. جهت مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال (P ≤۰/۰۵) انجام گرفت .جهت تعیین همبستگی بین سطوح مختلف کلومیفن و برخی پارامترهای رشد و تغذیه‌های از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد. نرم افزار آماری SPSS 16 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و نرم افزار Excel 2013 برای رسم نمودار استفاده شد.

جدول ۱- گروه‌های شاهد، تیمار، مقادیر کلومیفن و غذای پایه مورد استفاده در تانک پرورش

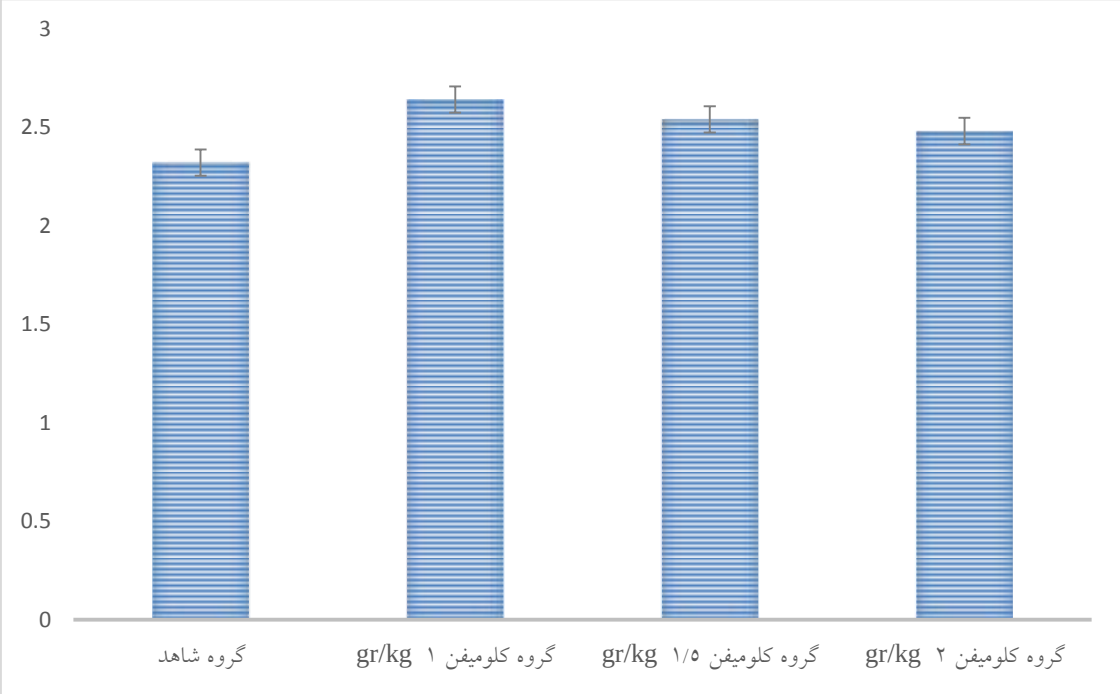
نام گروه	تعداد گروه	نوع جیره غذایی	مقدار غذای پایه بر حسب g	مقدار کلومیفن بر حسب w/w (٪)
شاهد	۳۰	غذای پایه	۱۰۰۰	-
تیمار۱		غذای پایه + کلومیفن		۰/۱
تیمار۲				۰/۱۵
تیمار۳				۰/۲

نتایج

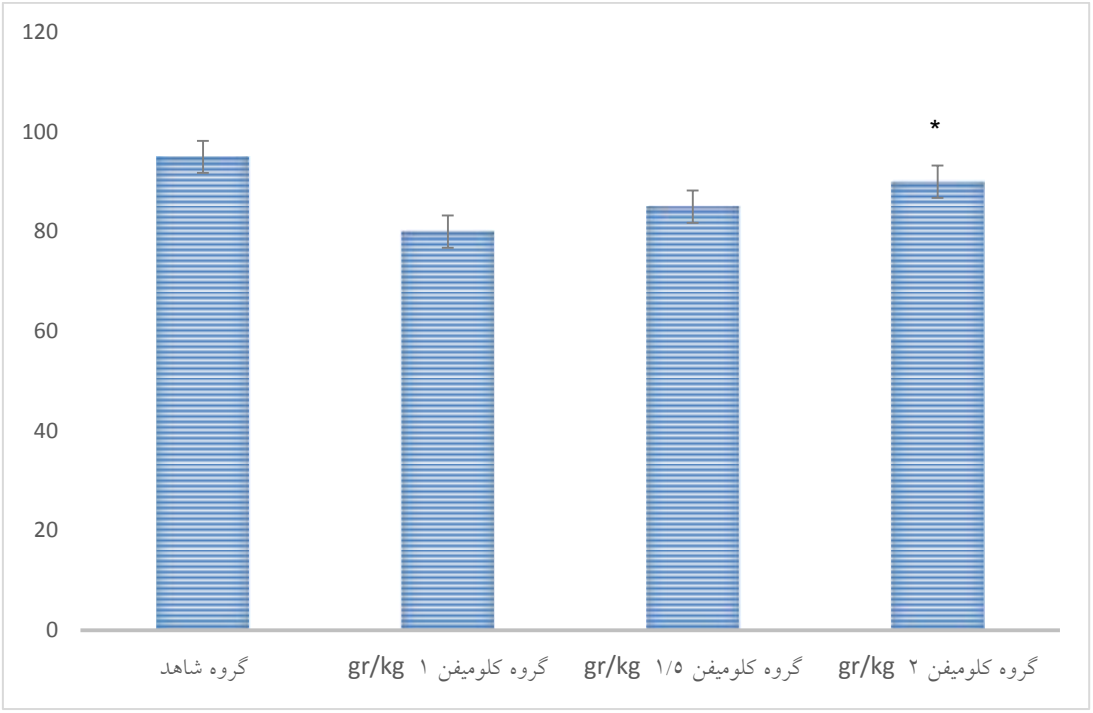
با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش کلومیفن در دوزهای ۲ گرم در کیلوگرم بالاترین اثر را در رشد ماهی نشان داده است. تصویر شماره دو مقایسه نسبت کارایی پروتئین، درصد غذای خورده شده در روز و درصد افزایش وزن در گروه‌های شاهد و تیمار شده با کلومیفن را نشان می‌دهد. مقایسه میانگین و انحراف معیار نسبت کارایی پروتئین، درصد غذای خورده شده در روز و درصد افزایش وزن بین گروه‌های شاهد و گروه‌های تیمار شده با دوزهای ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلومیفن نتایج نشان داده است که افزایش معنی‌داری در نسبت کارایی پروتئین، میزان درصد غذای خورده شده در روز و همچنین سبب افزایش وزن و ضریب رشد متوسط بدست آمده در ماهیان تیمار شده با کلومیفن می‌باشد (شکل ۲) و کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی هیچ یک از گروه‌ها دیده نمی‌شود (شکل ۳). همچنین درصد بقا در گروه شاهد ۹۵ درصد، در گروه کلومیفن با دوز ۱ میلیگرم بر کیلوگرم ٪۸۰ درصد، در گروه کلومیفن با دوز ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۸۵ درصد و در گروه کلومیفن با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۹۰ درصد می-باشند که این نتایج نشان می‌دهد هرچه دوز داروی مصرفی افزایش یافت درصد بقا نیز افزایش می‌یابد (شکل ٤).



شکل۲- نتایج حاصل از مقایسه شاخص‌های رشد و تغذیه



شکل۳-نتایج حاصل از مقایسه ضریب تبدیل غذایی



شکل٤- نتایج حاصل از مقایسه درصد بقا

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از کلومیفن در جیره غذایی سبب افزایش نسبی شاخص‌های رشد و تغذیه در ماهی گورامی ۳ خال مورد بررسی شده گردید که علت استفاده از کلومیفن را در پژوهش حاضر، می‌توان تحریک غده هیپوفیز، افزایش هورمون رشد، تحریک هورمون گنادوتروپین و افزایش پروستاگلاندین‌ها و افزایش تولید تیروکسین که همگی این عوامل افزایش رشد را به همراه دارد، دانست [۸، ۱۱].

در این تحقیق از سه دوز ۱، ۱/۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم کلومیفن استفاده شد، که هرچه دوز داروی مصرفی افزایش یافت فاکتورهای رشد مورد بررسی اعم از نسبت کارآیی پروتئین، میزان درصد غذایی که در روز خورده شده، درصد افزایش وزن ماهی، افزایش وزن بدست آمده، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت نسبت طول و وزن، میزان رشد روزانه و درصد بقا افزایش معنی‌دار یافت. اما هیچ کاهش معنی‌داری در میزان FCR یا ضریب تبدیل غذایی دیده نشد. این تغییرات نشان از آن دارد که هرچه عدد ضریب تبدیل غذایی عددی کوچکتر و به عدد یک نزدیکتر باشد نشان از وضعیت مطلوب تغذیه، غذادهی می‌باشد. ضریب تبدیل‌های بالا و در حال نوسان می‌تواند بیانگر مشکلات توام مربوط به تغذیه، روش‌های غذادهی، وقوع بیماری و یا از بین رفتن کیفیت آب استخر باشد [۷]. همچنین با توجه به تحقیقات انجام شده وجود فعالیت آنزیم‌های DMT – هموسیستئین متیل نشان می‌دهد که مکمل‌های غذایی ابتدا به پروتئین کبد هپاتوپانکراس کمک می‌کند و در هپاتوپانکراس گروه متیل به هموسیستئین تبدیل شد که از طریق DMT – هموسیستئین متیل، متیونین تشکیل شود، بعد از آن باعث فعالیت غده هیپوفیز و افزایش هورمون رشد می‌شود. همچنین وجود پروتئین در رژیم غذایی ماهیان از اهمیت قابل توجهی برخوردار است چرا که در مکمل‌های غذایی نیز بدلیل وجود پروتئین باعث افزایش پارامترهای رشد گردید [۵]. در تحقیقی به بررسی اثر کلومیفن سیترات و تستوسترون در رشد و توسعه ماهیان آزاد چینوک،

پرداخته شد که در این تحقیق علت افزایش پارامترهای رشد را وجود کلومیفن ذکر کردند و کلومیفن را آگونیست تستوسترون معرفی کردند [۷].

نیکخو و همکاران در سال۲۰۱۲ به ارزیابی فاکتورهای رشد و بهبود درصد بقاء در بچه ماهی کپور وحشی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با رژیم حاوی پروبیوتیک آکوالاز در رویارویی با باکتری بیماری‌زای استرپتوکوکوس پرداختند و نتایج خود را اینگونه بیان داشتند که در بررسی شاخص‌های رشد مانند افزایش وزن و طول، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و بازده مصرف پروتئین، بچه ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱/۵ و ۲ کیلوگرم اکوالاز در هر تن غذای خشک بهترین رشد را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($p<۰/۰۵$) که نتایج این تحقیق نیز با نتایج حاصل از پروژه ما هم خوانی داشت [٤].

مرفلید و همکاران در سال ۲۰۰۹ به ارزیابی Chlorogloepsis به عنوان مکمل غذایی میکروبی جدید برای تیلاپیایی قرمز پرداخته اند. آنها نتایج خود را اینگونه بیان کردند که مکمل‌های غذایی سلول‌های میکروبی مانند yeast و باکتری در ارتقا عملکرد در رشد، کارکرد گوارشی و ترکیب بدنی گونه‌های ماهی مفید شناخته شده است که این شامل تیلاپیا هم است که با نتایج حاصل از این پروژه نیز همخوانی داشت [۱۰].

هرناندز و همکارانش (۲۰۰۵) به بررسی مکمل‌های مونوکلسیم فسفات در یک رژیم غذایی پائین برای ماهی استخوانی رنگین کمان براساس رشد، بهره‌وری تغذیه و باگذاری کل فسفر پرداخته که در این مطالعه به منظور اصلاح روش‌های حداقل ساز، اتلاف خروجی فسفر در آب و ذخیره یک نرخ رشد مناسب در ماهی استخوانی رنگین کمان یک تغذیه با استفاده از ۳ تست رژیم غذایی تشکیل شده که با تهیه‌ی پایین وعده غذایی ماهی (fm) مواد با پروتئین پایین (کنسانتره سویایی) بدون چربی، گلوتن ذرت، پودر پروپو در خون، و سطوح مختلف مونوکلسیم فسفات به عنوان یک مکمل (۰/۵ تا ۱ درصد رژیم غذایی که ۰/۱ و ۲ میلی‌گرم را دارا بودند، تهیه شد و ماهی‌ها در طی ١٤ و ٢٤ هفته تغذیه شدند [٦].

نتایج نشان داد که رژیم غذایی فرموله شده با پروتئین بالا سبب بهبود و تسریع وضعیت فاکتورهای رشد در ماهیان گورامی سه خال شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به آزمایشات انجام شده و بکارگیری دوزهای مختلف کلومیفن، نشان داده است که با افزایش دوز کلومیفن به عنوان مکمل، پارامترهای رشد افزایش یافته است. از آنجایی که یکی از اهداف متخصصین اصلاح الگوی غذایی و افزایش عملکرد در میزان رشد آبزیان از جمله ماهیان است، شاید بتوان با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مصرف کلومیفن برای بهبود وضعیت رشد ماهیان توصیه کرد.

منابع

۱- بیهقی، پ.، عمادی ح. ۱۳۸۷. ماهی‌های آکواریومی. انتشارات علمی آبزیان، تهران.

۲- عادلی ا. ۱۳۸۹. بازار مبادلات ماهیان زینتی ایران و جهان. نخستین همایش ماهیان زینتی ایران، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صفحات ۲۵-۲۰.

۳- عمادی، ح. ۱۳۸۷. غذا و تغذیه ی ماهی‌های آکواریومی، تهران، انتشارات علمی آبزیان.

٤- نیکخو م.، یوسفیان م.، صفری ر.، وثوقی ع. ۱۳۸۹. ارزیابی فاکتورهای رشد و بهبود درصد بقا در بچه ماهی کپور وحشی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با رژیم حاوی پروبیوتیک آکوآلاز در رویارویی با باکتری بیماری زا استرپتوکوکوس. مجله آبزیان و شیلات، شماره ۱، صفحات ۸۲-۷۳.

5. Fuller R. (1989), Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.

6. Lam T.J. (1982), Applications of Endocrinology to Fish Culture. Canadian

growth factor type 1 receptors in rainbow trout (*Oncorthynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology*, 2011: 270-280.

11. Merrifeld D., Guroy D., Guroy B., Emery M., Liewellyn C., Skill S., Davies S.J. (2010), Preliminary assessment of chlorogloeopsis as a novel microbial dietary supplement for red tilapia (*Oreochromis nilticus*). *Aquaculture*, 299(1): 128-133.

12. Nekoubin H., Gharedaashi M., Imanpour M.R., Noufersti H., Asghari Moghadam A.R. (2012), The infiuence of synbiotic (Biomin imbo) on growth factors and survival rate of zebra fish (Danio rerio) larvae via supplementation with biomar. *Global Veterinaria*, 8(5): 503-506.

13. Schreck C.B., Fowler L.G. (1982), Growth and reproductive development in fall chinook salmon: effects of sex hormones and their antagonists. *Aquaculture*, 26(3): 253-263.

Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 39(1): 111-137.

7. Hernandez A., Shuichi S., Viswanath K. (2005), Effect of monocalcium phosphate supplementation in a low fish meal diet for rainbow trout based on growth, feed utilization, and total phosphorus loading. *Fisheries Science*, 71: 817-822.

8. http/www.DrugBank,Clomifene.Updated on April 19, 2011

9. Lisendly M., Tilor K. (2010), Effect of clomiphene citrate on growth factors in fish Oscars. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B, 150: 180-189.

10. Lindsey A., Norbeck M.A. (2011), Sheridan, an in vitro model for evaluating peripheral regulation of growth in fish : Effects of 17 β-Estradiol and testosterone on the expression of growth hormone receptors, insulin- like growth factors, and insulin – like