اثر افزودن پروبیوتیک بتاپلاس® در جیره بر عملکرد تولیدمثلی مولدین فرشته‌ماهی آب شیرین (*Pterophyllum scalare*)

زینب آقایی[۱]، رضا فرضی[۲]، سهیل ایگدری[۳] و سیدحامد موسوی‌ثابت[۴]*

۱) دانش‌آموخته کارشناسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۲) دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۳) دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴) دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
*رایانامه نویسنده مسئول مکاتبات: mosavii.h@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تاثیر پروبیوتیک بتاپلاس® جیره بر فاکتورهای هماوری، درصد تفریخ تخم، درصد بازماندگی لارو و فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی در فرشته ماهی آب شیرین (*Pterophyllum scalare*) انجام شد. آزمایش با ۳ گروه غذایی شامل جیره پایه بدون افزودن پروبیوتیک بتاپلاس، جیره پایه به همراه ۰/۵ گرم پروبیوتیک بتاپلاس به ازای هر کیلوگرم غذا و جیره پایه به همراه ۱ گرم پروبیوتیک بتاپلاس به ازای هر کیلوگرم غذا و هر تیمار با ۴ تکرار انجام شد. در این پژوهش ۱۲ جفت ماهی مولد آنجل در ۱۲ مخزن شیشه‌ای با حجم ۵۰ لیتر در دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذادهی ۳ بار در روز و با فاصله زمانی ۸ ساعت صورت گرفت. نتایج این بررسی نشان داد بیشترین میزان هماوری کاری با میانگین ۴۳/۹۲ ± ۴۵۰/۳ عدد تخم و درصد تفریخ ۰/۹۴ ± ۹۵/۸۰ و درصد بازماندگی لارو ۲/۱۰ ± ۹۴/۷۵ در ماهیان تغذیه شده با ۱۰ گرم پروبیوتیک بتاپلاس به ازای هر کیلوگرم غذا بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین نتایج بررسی نشان داد کمترین فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی با میانگین ۰/۷۷ ± ۵/۵۶ روز در تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم پروبیوتیک بتاپلاس به ازای هر کیلوگرم مشاهده شد که با تیمار های دیگر اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمود استفاده از ۱۰ گرم پروبیوتیک بتاپلاس به ازای هر کیلوگرم غذا سبب افزایش کارایی تولیدمثلی و کاهش مدت زمان لازم برای تخم‌ریزی در این ماهی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک بتاپلاس، درصدتفریخ، درصد بازماندگی، فرشته‌ماهی، هماوری.

مقدمه

افزایش علاقه‌مندی عموم به تکثیر و پرورش ماهیان زینتی باعث افزایش تجارت این ماهیان در سطح بین‌المللی شده است (Ahire *et al*., 2019). طبق گزارش سازمان جهانی غذا، کل صنعت ماهیان زینتی حدود ۱۵ میلیارد دلار ارزش جهانی را به خود اختصاص داده است که صادرات آن بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۱ از ۱۸ میلیون دلار به ۳۷۲ میلیون دلار افزایش یافته است (Ladisa *et al*., 2017). اما به‌دلیل عدم مدیریت صحیح نظیر حمل‌ونقل، کیفیت آب نامناسب، جیره غذایی نامناسب، روش تغذیه ناکارآمد، روش‌های تکثیر سنتی و ورود مولدین عقیم و همچنین بیماری این صنعت دچار خسارت شدید ۷۳ درصدی شده است (Stevens *et al*., 2017). ناکافی بودن هر یک از این پارامترها سبب توسعه بیماری و افزایش تلفات در ماهیان می‌شود (Lewbart, 2001). با توجه به اینکه مولدین ماهیان پرورشی و آکواریومی، پس از تخم‌ریزی ضعیف می‌شوند، به همین میزان نسبت هماوری، درصد لقاح، درصد تفریخ و همچنین میزان بازماندگی لاروها کاهش می‌یابد. از آنجایی که

ماهیان مولد از اصلی‌ترین سرمایه‌های سالن‌های هچری می‌باشند، به نحوی که هر گونه تغییر و کاهش میزان زاد و ولد و باوری آنها، می‌تواند بازدهی کارگاه تکثیر را تحت تاثیر قرار دهد (Giri *et al*., 2002; Mousavi-Sabet, *et al*., 2010). اساسی‌ترین مرحله پرورش، دسترسی به جیره غذای مناسب و با کیفیت می‌باشد (Giri *et al*., 2002)، از طرف دیگر این جیره باید از مرحله مولدین تا مرحله نوزادی مورد پذیرش ماهی و همچنین به راحتی هضم شود (Kim *et al*., 1996; Giri *et al*., 2002).

امروزه آبزی‌پروری بر اساس فناوری زیستی جدید بنا شده و استفاده از باکتری‌های زنده مفید (پروبیوتیک) در آبزی‌پروری رواج پیدا کرده است. پروبیوتیک‌ها در واقع باکتری‌های زنده‌ای هستند که به مقدار مورد نیاز وارد بدن میزبان شده و از طریق فلور میکروبی تاثیرات مثبتی را به همراه دارند (Lara-flores *et al*., 2003). این باکتری‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده تاثیرات سودمندی را بر میزبان می‌گذارند (Gibbons *et al*., 2002). استفاده از پروبیوتیک‌ها به جای آنتی‌بیوتیک در پرورش ماهیان آب‌های شور و شیرین رایج است و در پرورش ماهیان یکی از مسایل مهم مدیریت تغذیه و فاکتورهای تغذیه‌ای می‌باشد. معمولا پروبیوتیک‌ها به باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی اطلاق می‌شود که به‌منظور افزایش مقاومت در برابر ارگانیسم‌های پاتوژن مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gibson & Rober-froid, 1995).

گونه‌هایی از میکروارگانیسم‌ها که می‌توانند به صورت ترکیب با مواد غذایی مصرف شوند شامل *Aspergillus niger*، *Aspergillus oryzae*، *Bacillus coagulans*، *Bacillus lentus*، *Bacillus licheniformis*، *Bacillus pumilus*، *Bacillus subtilis*، *Bacterius Amphilus* می‌باشند (Gibbons *et al*., 2002). یک پروبیوتیک موثر باید در شرایط محیطی مختلف و متفاوت، خاصیت خود را حفظ نموده، در اشکال مختلف به صورت فعال باقی مانده، به عنوان یک محصول زنده امکان تولید آن در سطح صنعتی موجود باشد، در انبار و محل مصرف در مزارع به مدت‌های طولانی قابل نگهداری باشد، در روده تاثیر خود را حفظ نماید و بر سلامتی میزبان تاثیر مثبت داشته باشد (Gibbons *et al*., 2002). یک میکروارگانیسم به‌منظور داشتن فعالیت مناسب و مطلوب باید با غلظت مناسب و کافی در جیره غذایی مصرف شود. بسیاری از میکروبیولوژیست‌ها دریافته‌اند میکروارگانیسم‌هایی که با غلظت‌های کمتر از 10^6 تا 10^7 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم از فلور روده وجود دارند، توانایی ایجاد تعادل بین خود و باکتری‌های ساکن در فلور روده‌ای را نداشته و نمی‌توانند یک فعالیت مناسب و همچنین اثر قابل قبولی بر میزبان داشته باشند (Barry & Yang, 2008; Zhou *et al*., 2009; Ai *et al*., 2011).

فرشته‌ماهی آب شیرین (*Pterophyllum scalare*) از پرطرفدارترین ماهیان زینتی متعلق به خانواده سیکلیده می‌باشد و بومی آمریکای مرکزی است، ولی در هر نوع شرایطی مطابق با شرایط اقلیمی آن نواحی قادر به زندگی است. این ماهی به‌طور معمول در کمتر از ۱ سالگی بالغ می‌شود و در طول دوره زندگی به‌طور میانگین ۱۰–۱۵ بار تخم‌ریزی کرده و در هر بار تعداد قابل توجهی تخم تولید می کند، اما مولدین پس از تخم‌ریزی‌های متوالی ضعیف شده و به همین نسبت از میزان هماوری، درصد لقاح، درصد تفریخ و متعاقب آن بازماندگی لاروها نیز کاهش می‌یابد (Girii *et al*., 2002). Hajibiglu و Sudagar (۲۰۱۱) به‌منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک پریمالاک بر کارایی تولیدمثلی مولدین ماهی پلاتی در طول دوره تولیدمثلی داشتند، اعلام نمودند افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی مولدین باعث افزایش فاکتورهای هماوری، نرخ تفریخ تخم‌ها و بازماندگی لاروها می‌شود. از دیگر مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر پروبیوتیک جیره در غذای مولدین می‌توان به بررسی Lombardo و همکاران (۲۰۱۱) اشاره نمود که نتایج بررسی‌های آنها نشان داد افزودن پروبیوتیک IMC501 باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی و افزایش نرخ بقا لاروها می‌شود. با توجه به اینکه مولدین در هر کارگاه اصلی‌ترین سرمایه برای ادامه تولید و سرمایه‌گذاری هستند، هر گونه تغییر در سیستم پرورش و یا نقصان در تغذیه که بتواند موجب کاهش میزان زادآوری آنها شود در نهایت می‌تواند بر بازده اقتصادی آن کارگاه تاثیر منفی

بگذارد. از این رو مطالعات متعددی در زمینه استفاده از انواع پروبیوتیک‌ها در مولدین صورت گرفته تا از خسارت‌های ناشی از مولدین ضعیف و تولید تخم و لاروهای بی‌کیفیت جلوگیری شود (نوری و همکاران، ۱۳۸۹؛ موسوی‌ثابت و همکاران، ۱۳۹۷؛ Ghosh *et al*., 2007; Mousavi-Sabet *et al*., 2009; Fekrandish *et al*., 2010; Lombardo *et al*., 2011).

با توجه به نتایج برخی از مطالعات در زمینه تاثیر پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های گنادوستوماتیک، هماوری نسبی، تولید لارو و بازماندگی لارو، می‌توان بیان نمود پروبیوتیک‌های ترکیب شده در جیره مولدین باعث افزایش کارایی تولیدمثلی در آنها می‌گردد (Ghosh *et al*., 2007). پروبیوتیک‌ها در ارتباط با پروتئین‌ها و اسیدهای چرب جیره مولدین هستند و فاکتورهای وابسته به مواد تناسلی مانند رشد و تکامل بهتر اووسیت‌ها، رسیدگی جنسی و نرخ ویتلوژنز را بهبود می‌بخشند و در نتیجه استفاده آنها، تخم‌های بزرگتری تولید می‌شود (Wang, 2007). پروبیوتیک‌های باکتریایی میکس شده با جیره غذایی، مواد غذایی ضروری نظیر (پروتئین‌ها و اسیدهای چرب ضروری) و آنزیم‌هایی مانند آمیلاز، پروتئاز و لیپاز که قابلیت هضم را بهبود می‌بخشند را دارا می‌باشند که موجب افزایش نرخ مواد مغذی می‌گردند (Ling *et al*., 2006; Merrifeld *et al*., 2010). با توجه به اینکه پروتئین‌ها و اسیدهای چرب جز اصلی و مهم محتویات مایع منی می‌باشند، حضور این مواد باعث تولید اووسیت‌های بهتر و با کیفیت‌تر می‌شود (Ling *et al*. 2006). پروبیوتیک‌های ترکیب شده در جیره غذایی سبب بالانس ترکیبات اشباع نشده می‌شود. بالانس اسیدهای چرب مانند آراشیدونیک اسید، اکوزاپنتانوئیک اسید و همچنین دکوزاهگزانوئیک اسید در ماهی باعث تضمین بهینه شدن کارایی تولیدمثلی می‌گردد و در نهایت باعث افزایش کیفیت لاروهای تولیدی می‌شود (Merrifeld *et al*., 2010). لازم به ذکر است اسیدهای چرب ضروری می‌توانند علاوه بر تامین انرژی سبب تقویت تخم‌ریزی شوند (Ling *et al*., 2006). طبق بررسی‌های صورت گرفته باکتری‌های پروبیوتیکی بر روی تولید ویتامین‌های گروه B تاثیر مضاعفی می‌گذارند، از همین رو تولید این گروه از ویتامین‌ها در روده نقش به‌سزایی در نرخ بقا لاروها دارد (Ghosh *et al*., 2007; Fekrandish *et al*., 2010). پروبیوتیک‌ها به‌دلیل فعال‌سازی سیستم نوروآندوکراین تولیدمثل را تنظیم و همچنین فاکتورهای موضعی که سبب توسعه و بلوغ تخم‌های می‌شوند را کنترل می‌نمایند. با توجه به مطالب ذکر شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر پروبیوتیک بتاپلاس جیره بر فاکتورهای هماوری، درصد تفریخ تخم، درصد بازماندگی لارو و فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی در فرشته‌ماهی آب شیرین (*Pterophyllum scalare*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به مدت ۴۰ روز در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی بهار (شهر تهران) در سال ۱۳۹۴ انجام شد. در این پژوهش از پروبیوتیک بتاپلاس که حاوی *Bacillus licheniformis* (DSM5749)، *Bacillus subtilis* (DSM5750) و بتائین تشکیل شده است به جیره غذایی مورد نظر اضافه شد. در این مطالعه از ۱۲ جفت ماهی مولد آنجل یا فرشته‌ماهی *P. scalare* که از لحاظ سلامت کاملا مورد بررسی قرار گرفته بودند در ۳ تیمار شاهد (فاقد بتاپلاس)، ۰/۵ درصد بتاپلاس و ۱ درصد بتاپلاس (با ۴ تکرار برای هر تیمار) توزیع شدند. جهت نگهداری مولدین از مخازن شیشه‌ای ۵۰ لیتری با ابعاد ۳۰×۴۰×۵۰ سانتی‌متر و برای فرآیند انکوباسیون تخم‌ها از آکواریوم ۳۰ لیتری استفاده شد. هر مخزن مجهز به یک انشعاب هواده منشعب از یک لوله اصلی متصل به دستگاه هواده مرکزی بود. با توجه به اینکه آب مورد نیاز کارگاه از آب لوله‌کشی شهری تامین می‌گردید، به‌منظور کلرزدایی ۴۸ ساعت در مخزنی جمع‌آوری شده و سپس مورد استفاده قرار گرفت. فاکتورهایی مانند اکسیژن محلول، دما و pH در طول دوره ثابت و به‌ترتیب ۷ میلی‌گرم، ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد، و ۸/۳–۷/۵ بودند. ماهیان در بازه زمانی مطالعه مرتب از نظر شاخص‌های سلامت ظاهری و رفتاری تحت نظر بودند. به‌منظور مهیا نمودن بستر تخم‌ریزی، تحریک تخم‌ریزی مولدین و جمع‌آوری بهتر تخم‌ها برای هر جفت مولد در هر مخزن یک لوله pvc به قطر ۳ سانتی‌متر قرار داده شد. غذای این ماهیان از یک نوع

غذای تجاری مخصوص ماهیان زینتی (با ۴۰ درصد پروتئین خام و ۸ درصد چربی ساخت شرکت انرژی) به‌صورت پلت تا حد سیری در هر وعده در اختیارشان قرار داده شد. در گروه شاهد روغن بدون پروبیوتیک به خوراک اضافه شد، بنابراین تفاوت تیمارها فقط در مقدار پروبیوتیک بود (Becker *et al*., 1999).

غذادهی ۳ مرتبه در روز در ساعات ۸ صبح، ۴ بعدازظهر و ۱۲ شب صورت گرفت. در طول این دوره، در ۱۰ روز ابتدایی شمارش تخم‌ها صورت نگرفت، بدین جهت که مولدین به شرایط پایداری رسیده باشند و بتوان اثر واقعی پروبیوتیک بتاپلاس را مورد ارزیابی قرار داد. پس از پایان ۱۰ روز، جهت تعیین میزان هماوری، لوله‌های حاوی تخم مولدین بعد از حصول اطمینان از پایان تخم‌ریزی پس از هر دوره تخم‌ریزی جمع‌آوری شده و در یک ظرف آب قرار داده شدند و با سرعت و با استفاده از لوپ (Olympus, Tokyo, Olympus) به‌طور دقیق مورد شمارش قرار گرفتند. هر لوله به صورت جداگانه در مخازن ۳۰ لیتری آب Ro (آب تصفیه شده بدون سختی) به اضافه آب لوله‌کشی و همچنین متیلن بلو (جهت جلوگیری از قارچ‌زدگی) و به دور از نور مستقیم قرار داده شد. بعد از ۲ روز که تخم‌ها تفریخ شدند، تعداد تخم‌های باقی‌مانده روی لوله که لقاح نیافته بودند و یا پس از لقاح مرده بودند شمارش گردیدند تا درصد تفریخ مشخص گردد، زیرا تخم‌ها پس از تفریخ از لوله جدا شده و به کف مخزن می‌افتند و پس از کسر تعداد تخم‌های لقاح نیافته عدد تقریبی تخم‌های لقاح یافته به‌دست آمد. بعد از گذشت ۴ الی ۵ روز که کیسه زرده جذب شد ماهیان شروع به شنای فعال کردند که با شمارش آنها میزان بازماندگی لارو مشخص گردید (Mousavi-Sabet *et al*., 2010). برای تغذیه در این زمان از ناپلی آرتمیای (*Artemia franciscana*) تازه هچ شده استفاده شد. از سیست آرتمیا فرانسیسکانا (NABS: North American Brine Shrimp) با ۱۰۰ درصد خلوص مورد استفاده قرار گرفت. بعد از هر دوره ۲۴ ساعت معمولا هوادهی متوقف شده و پس از اینکه بسیاری از ناپلیوس‌ها ته‌نشین شدند، با سیفون کردن جمع‌آوری شدند. ناپلیوس‌ها با آب شیرین شستشو و سپس برای تهیه تراکم مورد نظر و یا تنظیم آن در طی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. پس از گذشت یک هفته لاروها به مخازن بزرگ‌تر انتقال داده شدند و ارزیابی جهت بررسی میزان تلفات صورت گرفت، همچنین برای محاسبه تعداد دفعات تخم‌ریزی و مدت زمان بین تخم‌ریزی‌های متوالی نیز تاریخ دقیق تخم‌ریزی‌ها، دفعات تخم‌ریزی و فاصله هر بار تخم‌ریزی برای تیمارهای مختلف ثبت و محاسبه شد.

آنالیز آماری

از نرم‌افزار SPSS[1] برای آنالیز آماری استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] انجام شد. ابتدا برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Smirnov-Kolmogorov و همگنی داده‌ها با آزمون Levene مورد بررسی قرار گرفت. سپس وجود یا عدم‌وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه ای Tukey در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج مقایسه میانگین ± انحراف‌معیار (SD) فاکتورهای هماوری، درصد تفریخ، بازماندگی لاروها و فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی برای انجام ۵ دوره تخم‌ریزی در جدول (۱) به‌طور خلاصه آورده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس به جیره مولد ماهی *P. scalare* تاثیر معنی‌داری بر روی پارامترهای تولیدمثلی دارد ($P<۰/۰۵$). از لحاظ هماوری مولدین تغذیه شده با جیره ۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس در هر کیلوگرم جیره غذایی نسبت به تیمار ۱ و شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. هر چند هماوری مولدین تغذیه شده با ۰/۵ درصد پروبیوتیک بتاپلاس در کیلوگرم جیره غذایی نسبت به تیمار ۲ میزان کمتری بود، اما نسبت به شاهد این اختلاف معنی‌دار بود. همچنین بررسی درصد تفریخ تخم‌ها نشان داد بیشترین میزان تفریخ تخم برای مولدین تغذیه شده با ۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس می‌باشد. هر چند این میزان تفریخ تخم اختلاف چندانی با تیمار ۲ نشان نداد اما اختلاف این دو تیمار با شاهد معنی‌دار بود. در بررسی درصد بازماندگی لاروها اختلاف چندانی بین تیمار ۱ و ۲ وجود نداشت، اما این

1 Version 22, IBM, Armonk, NY, USA
2 One-way ANOVA

اختلاف با تیمار شاهد معنی‌دار بود. کمترین فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی برای تیمار تغذیه شده با ۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس در کیلوگرم جیره غذایی بود که این اختلاف فاصله با تیمار ۱ و شاهد معنی‌دار بود. بنابراین تیمار شماره ۲، تغذیه شده با غذای کنستانتره به همراه روغن و ۱ درصد پروبیوتیک بتاپلاس با میانگین هماوری ۴۵۰/۴، درصد تفریخ تخم ۹۵/۸۰، درصد بازماندگی لارو ۹۴/۷۵ و با کمترین فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی ۵/۷۷ دارای بالاترین بازدهی در مقایسه با سایر تیمارها بود.

جدول ۱. مقایسه میانگین ± انحراف‌معیار (SD) فاکتورهای مورد بررسی ماهی *P. scalare*

پارامترها	شاهد (فاقد بتاپلاس)	۰/۵ درصد بتاپلاس	۱ درصد بتاپلاس
هماوری	۲۷۲/۶۲ ± ۳۶/۴۰^{a}	۴۱۵ ± ۳۷/۶۴^{b}	۴۵۰/۳ ± ۴۳/۹۲^{c}
درصد تفریخ	۸۸/۵۵ ± ۱/۵۶^{a}	۹۳/۳۷ ± ۱/۴۱^{b}	۹۵/۸۰ ± ۰/۹۴^{b}
درصد بازماندگی لاروها	۷۰/۹۵ ± ۱۲/۴^{a}	۹۴/۴۰ ± ۱/۳۶^{b}	۹۴/۷۵ ± ۲/۱۰^{b}
فاصله تخم‌ریزی‌های متوالی (روز)	۸/۴۷ ± ۱/۱۸^{c}	۶/۳۱ ± ۰/۲۳^{b}	۵/۵۶ ± ۰/۷۷^{a}

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف‌های معنی‌دار هستند ($P \leq 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌ها، سم‌زدایی از جیره غذایی و یا تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم سبب تحریک اشتها می‌شود و در نتیجه باعث ایجاد شرایط تغذیه‌ای مناسب در ماهی می‌گردد (Irianto & Austin, 2002). دلیل این امر را می‌توان به آنزیم‌های پروتئولیتیک و پپتیدلیتیک تولید شده توسط باکتری‌های موجود در پروبیوتیک‌های مصرفی است که موجب هیدرولیز شدن ماکرومولکول‌های پروتئینی به پپتیدها و آمینواسدها می‌شود (Fuller & Perdigon, 2003). امروزه استفاده از مواد جاذب به‌عنوان مکمل غذایی در جیره غذایی اکثر گونه‌ها مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج مطلوبی در بحث افزایش میزان مصرف غذا، افزایش رشد، افزایش کارایی تولیدمثل و همچنین افزایش نرخ بقا به‌دست آمده است. از زمانیکه پروبیوتیک‌ها برای اولین بار در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گرفتند تا کنون مطالعات زیادی بر روی این ماده صورت پذیرفته و تمامی این مطالعات توانایی این مواد را در بهبود و افزایش میزان رشد و باروری و بازماندگی لاروها اثبات نموده است (Lara-flores *et al.*, 2003). تاثیر پروبیوتیک‌ها بر روی گونه‌های مختلف ماهیان پرورشی و همچنین میگو به کرات در سطح جهان مورد ارزیابی قرار گرفته است، اما در ارتباط با ماهیان زینتی تحقیقات کمی انجام شده است. فواید اضافه نمودن پروبیوتیک‌ها به غذای ماهیان متفاوت است که از آن جمله می‌توان به بهبود ارزش غذایی ماهیان، مشارکت آنزیمی در هضم، ممانعت در مقابل میکروب‌های پاتوژن، بهبود ترکیبات آنزیم‌های گوارشی، مهار میکروارگانیسم‌های پاتوژن، فعالیت آنزیم‌های موتاژنیک و ضد کارسینوژنیک، افزایش بازماندگی، بهبود فاکتورهای رشدی و افزایش پاسخ‌های ایمنی اشاره نمود، ضمنا بهبود کیفیت آب نیز ارتباط خاصی با پروبیوتیک‌ها دارد (Wang, 2007).

نتایج این بررسی نشان داد افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس به جیره مولد ماهی *P. scalare* اثر معنی‌داری بر برخی عوامل تولیدمثلی دارد و مولدینی که از جیره دارای یک درصد پروبیوتیک بتاپلاس تغذیه کرده‌اند، دارای بالاترین میزان هماوری هستند. برخی از مطالعات نشان دادند که پروبیوتیک‌ها تاثیر به‌سزایی بر شاخص‌های گنادوستوماتیک، هماوری نسبی، تولید لارو و بازماندگی لارو دارند. در نتیجه پروبیوتیک‌های ترکیب شده در جیره مولدین باعث افزایش کارایی تولیدمثلی در آنها می‌شود (Ghosh *et al.*, 2007). پروبیوتیک‌ها در ارتباط با پروتئین‌ها و اسیدهای چرب جیره مولدین هستند و فاکتورهای وابسته به مواد تناسلی مانند توسعه بهتر اووسیت‌ها، رسیدگی جنسی و نرخ ویتلوژنز را بهبود می‌بخشند و در نتیجه استفاده آنها، تخم‌های بزرگتری تولید می‌شود (Ling *et al*. 2006; Ghosh *et al.*, 2007; Wang, 2007; Merrifeld *et al*. 2010). پروبیوتیک‌های باکتریایی ترکیب شده با غذا، مواد غذایی

ضروری (پروتیئن‌ها و اسیدهای ضروری) و آنزیم‌هایی همچون آمیلاز، پروتئاز و لیپاز که قابلیت هضم را بهبود می‌بخشند را دارا است که باعث افزایش نرخ مواد مغذی می‌شود (Gatesoup, 2008).

همچنین پروبیوتیک‌ها باعث تغییر فعالیت‌های روده و مورفولوژی آن می‌شوند که این موضوع در ماهی قزل‌آلا گزارش شده است (Merrifeld *et al*., 2010). پروتئین‌ها و اسیدهای چرب جز اصلی و مهم محتویات نطفه هستند و حضور این مواد باعث تولید اووسیت‌های بهتر می‌شود (Carnevali *et al*., 1998; Ling *et al*. 2006). پروبیوتیک‌های ترکیب شده در جیره باعث بالانس ترکیبات اشباع نشده رژیم غذایی می‌شوند. بالانس اسیدهای چرب مانند آراشیدونیک‌اسید، اکوزاپنتانوئیک‌اسید و دکوزاهگزانوئیک‌اسید در ماهی باعث تضمین بهینه شدن کارایی تولیدمثلی می‌گردد و باعث افزایش کیفیت لاروها می‌شود (Merrifeld *et al*., 2010). علاوه بر این اسیدهای چرب ضروری می‌توانند تولید انرژی کنند و فعالیت‌های تخم‌ریزی را تقویت نمایند (Ling *et al*., 2006). همچنین باکتری‌های پروبیوتیکی بر روی تولید ویتامین‌های گروه B تاثیر می‌گذارند، از این‌رو تولید ویتامین‌های گروه B در روده توسط پروبیوتیک‌ها می‌تواند دلیلی بر نرخ بقا در لاروها باشد (Ghosh *et al*., 2007; Fekrandish *et al*., 2010). نقش تحریک‌کنندگی پروبیوتیک‌ها در کارایی تولیدمثل احتمالا به علت فعال‌سازی سیستم نوروآندوکراین است که تولیدمثل را تنظیم می‌کند و همچنین فاکتورهای موضعی که توسعه و بلوغ تخم‌ها را کنترل می‌نماید. Hajibiglu و Sudagar (۲۰۱۱) تاثیر پروبیوتیک پریمالاک را بر افزایش کارایی تولیدمثلی مولدین ماهی پلاتی در طول دوره تولیدمثلی اثبات کردند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر پروبیوتیک IMC501 باعث بهبود فاکتورهای هماوری، نرخ تفریخ تخم و بازماندگی لاروها شده است (Lombardo *et al*., 2011).

در این بررسی با مطالعه تاثیر مصرف پروبیوتیک بتاپلاس با ترکیبات مختلفی از انواع باکتری‌ها شامل انواع *Bacillus licheniformis* (DSM5749)، *Bacillus subtilis* (DSM5750) و بتائین روی فاکتورهای مهم هماوری، درصد لقاح، درصد تفریخ، درصد بازماندگی لارو و فاصله بین تخم‌ریزی‌های متوالی در ماهی *P. scalare* این نتیجه حاصل شد که پروبیوتیک بتاپلاس در جیره غذایی این ماهی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا باعث افزایش هماوری و درصد تفریخ تخم‌ها و افزایش تعداد لاروها و کاهش فاصله تخم‌ریزی‌های متوالی می‌گردد. این مطالعه اولین آزمایشی است که در آن تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس بر شاخص‌های تولیدمثلی *P. scalare* مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین مطالعات تکمیلی بیشتری نظیر فاکتورهای ایمنی، بیان ژن و همچنین فاکتورهای ایمنی مولدین و لاروهای تولید شده برای تایید این یافته‌ها و نیز در خصوص نحوه تاثیر جیره‌های دارای سطوح مختلف پروبیوتیک بتاپلاس در این گونه و سایر گونه‌ها می‌بایست انجام گردد.

منابع

سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، آلکسویچ پانوماریف؛ س.، محمودزاده، ه.، عابدیان، ع.، حسینی، س. ع. (۱۳۸۴) بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان (*Huso huso* Linnaeus, 1758). مجله علمی شیلات ایران، ۴ (۲): ۴۱-۵۰.

فکر اندیش، ح.، عابدیان کناری، ع. ح.، متین فر، ع.، منفرد، ن.، دهقانی، ع.ع. (۱۳۸۵) تاثیر بتالین و متیونین در جیره بر تحریک غذاگیری میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). پژوهش و سازندگی، ۱۹ (۴): ۱۳۶-۱۴۱.

موسوی‌ثابت، ح.، حیدری، ع. و سلحشوری، ل. (۱۳۹۷) تاثیر بتائین جیره بر عملکرد تولیدمثلی مولدین نر و ماده سورم (*Heros severus*). نشریه تغذیه آبزیان، ۴(۱): ۳۸-۴۵.

نوری، ف.، فیروزبخش، ف. و سلطانی، م. (۱۳۸۹) بررسی اثر پروبیوتیک پروتکسین بر عملکرد رشد و بازماندگی ماهی زینتی اسکار (*Astronotus ocellatus*). فصلنامه علمی تحقیقات منابع طبیعی تجدیدشونده، ۱(۱): ۳۱-۴۰.

Ahire, J.J., Mokashe, N.U. and Chaudhari, B.L. (2019) Effect of dietary probiotic

Girri, S.S., Sahoo, S.K.B.B., Saha, A.K., Mohanty, S.N., Mohanty, P.K. and Ayyappan, S. (2002) Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schnider): Effect of light, photoperiod and feeding regime. Aquaculture, 213(1-4): 157-161.

Hajibiglu, A. and Sudagar, M. (2011) Effect of dietary probiotic level on the reproductive performance of famale platy *Xiphophorus maculatus*. Agricultural Journal 6(3):119-123.

Irianto A. and Austin B. (2002) Probiotics in aquaculture: Reviews. Journal of Fish Diseases, 25(11): 633–642.

Kim, J., Massee, K.C. and Hardy, R.W. (1996) Adult Artemia as food for first feeding coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture, 144(1-3): 217-226.

Ladisa, C., Bruni, M. and Lovatelli, A. (2017) Overview of ornamental species aquaculture. FAO Aquaculture Newsletter, (56), 39-39.

Lara-flores, M., olvera-Novoa, M.A., Guzman-mendez, B. and ELopez Madrid, W. (2003) Use of the bacteria *Stereptoccus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and *Theyeastsaccharomyces cerensiae* as growth promotrs in Nile tilapia (*Oreochromisni loticus*). Aquaculture, 216(1-4): 193-201.

Lewbart, G.A. (2001) Bacteria and ornamental fish. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 10(1): 48-56.

Ling, S., Hashim, R., Kolkovski S. and shu-Chieu, A.C. (2006) Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproduction performance of female swardtails *Xiphophorus helleri* (poecilidae). Aquaculture Research, 37(13): 1267-1275.

Lombardo, F., Gioacchini, G. and Carnevali, O. (2011) Probiotic-Based Nutritional effects on killifish Reproduction. Aquaculture Research, 39(2): 213-222.

Merrifeld, D., Herpergm, L. and Dimitroglou, A. (2010) Possible in fluence of probiotic adhesion to in the stinal mucusa on the activity and morphology of rainbow trout (*oncorhinchus mykiss*) enterocytes. Aquaculture Research, 41(8): 1268-1272.

Lactobacillus helveticus on growth performance, antioxidant levels, and absorption of essential trace elements in goldfish (*Carassius auratus*). Probiotics and antimicrobial proteins, 11(2): 559-568.

Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J. and Zhang, W. (2011) Effects of dietary supplementation of Bacillus subtilis and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*, 317(1-4): 155-161.

Barry, T.P. and Yang, M. (2008) Effects of anti-phospholipase A2 on the growth of rainbow trout. North American Journal of Aquaculture, 70(2): 236-239.

Becker, K., Schreiber, S., Angoni, C. and Blum, R. (1999) Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* + *Oreochromis aureus* hybrid to L-carnitine measured over a full fattening cycle under commercial conditions. *Aquaculture*, 174(3-4): 313-322.

Carnevali, O., Mosconi, G. and Centonze, F. (1998) Infuenceof diet on yolk protein components in sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Scientia Marina, 62(4): 311-318.

Fuller R. and Perdigon G. (2003) Gut flora, immunity and health. Blackwell publishing, 276p.

Gatesoupe F.J. (2008) Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. J Mole Microbiol Biotechnol, 14 (1-3): 107- 14.

Ghosh, S., Sinha, A. and Sahu, C. (2007) Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research, 38(5): 518-526.

Gibbons, S., Ohlendorf, B. and johnsen, I. (2002) The genus *Hypericum* – A valuable resource of anti stafilococus leades. Fitoterapia, 73(4): 300-304.

Gibson, G.R. and Rober-froid, M.B. (1995) Dietary modulation of the colonic microbacteria: Introducing the concept of probiotics. Journal of Nutrition, 125(6): 1401-1412.

Mousavi-Sabet, H., Ershad, H., Falahatkar, B. and Moradkhani, Z. (2010) Effect of enriched *Artemia urmiana* with highly unsaturated fatty acid and vitamin C on the reproduction performance of Pterophyllum scalare. JOURNAL OF MARINE SCIENCE AND TECHNOLOGY RESEARCH , 4(4): 61-69.

Stevens, C.H., Croft, D.P., Paull, G.C. and Tyler, C.R. (2017) Stress and welfare in ornamental fishes: What can be learned from aquaculture. Journal of Fish Biology ,91(2): 409-428.

Wang, Y. (2007) Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Peneus vannamei*. Aquaculture, 269(1-4): 259-264.

Zhou, X.X., Wang, Y.B. and Li, W.F. (2009) Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture, 287(3-4): 349-353.

Effect of dietary BetaPlus® probiotic on reproductive performance of freshwater Angel fish (*Pterophyllum scalare*)

Zeynab Aghaee[1], Reza Farzi[2], Soheil Eagderi[3], Hamed Mousavi-Sabet[4]

1) B.Sc. Graduated, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran.
2) PhD Student, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran.
3) Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran.
4) Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran. *Corresponding Author Email Address: mosavii.h@gmail.com

Date of Submission: 2022/02/09 Date of Acceptance: 2022/04/15

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of dietary BetaPlus® probiotic on fecundity, fertilization, hatching, larvae survival rates and interval times among continuous spawning in the Angel fish (*Pterophyllum scalare*). The experiment was performed with three dietary groups including the basal diet without BetaPlus® probiotic, the basal diet with 5g BetaPlus® probiotic per kg of feed and the basal diet with 10g BetaPlus® probiotic per kg of feed and each treatment has four replicates. In this study, 12 pairs of Angel fish brood stocks were kept in 12 aquariums with 50 liters volume at a temperature of 28±1°C. The feeding rate was done two times a day with an interval of 8 h. The results showed that the highest practical fecundity with average of 450.3±43.92 eggs, 95.80±0.94 % hatching rate, and 94.75±2.10% larvae survival rate were observed in the fish fed with 10 10g BetaPlus® probiotic per kg of feed, which were significantly different from the control group. Also, the shortest interval times between continuous spawning with average of 5.56±0.77 days was observed in the treatment fed with 10g BetaPlus® probiotic per kilogram of diet, which was significantly different from other treatments. In general, it can be concluded that using BetaPlus® probiotic with 10 g per kg of diet increases reproductive efficiency and reduces the time required for spawning in Angel fish.

Keywords: Angel fish, BetaPlus probiotic, Fecundity, Hatching rate, Larvae survival.