

تأثیر پریوتیک ایمونووال روی برخی فاکتورهای تولیدمثلی و رشد در ماهی مولی (*Poecilia butleri*)

- **عباسعلی حاجی بگلو***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **ولی اله جعفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۵

چکیده

پریوتیک‌ها ترکیبات غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد و فعالیت برخی باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان خواهند داشت، اما در زمینه نقش پریوتیک‌ها در رابطه با فاکتورهای تولیدمثلی و رشد در ماهیان زینتی مطالعات اندکی انجام شده است. در این آزمایش از ماهیان مولی با سن ۲۰ هفتهگی استفاده شد. آزمایش در قالب ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. بدین منظور ۴ جیره غذایی شامل تیمار ۱ (شاهد)، ۲، ۳ و ۴ که به ترتیب حاوی ۰، ۱۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ایمونووال تهیه شد. ماهی‌ها به مدت ۲۶ هفته، روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن و در ۳ نوبت غذایی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که طول و وزن نهایی مولدین در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P < 0/01$). در تیمار شاهد میزان هم‌آوری نسبی، شاخص گنادوسوماتیک، طول و وزن لاروهای متولد شده به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای ۳ و ۴ بود ($P < 0/01$). هم‌چنین پریوتیک مذکور تأثیری روی نسبت‌های جنسی نداشت. در این آزمایش با توجه به مقادیر فاکتورهای رشد و تولیدمثلی، جیره ۴ عملکرد بهتری را نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد. در مجموع استفاده از پریوتیک مذکور در جیره غذایی ماهی مولی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: پریوتیک ایمونووال، ماهی مولی، تولیدمثل



مقدمه

درجهان تقریباً ۱۵۳۹ گونه ماهی زینتی وجود دارند (Chapman و همکاران، ۲۰۰۷) که سالانه میزان تجارت جهانی ماهیان زینتی متجاوز از ۷۰۰۰ میلیون دلار می‌باشد (Andrews، ۲۰۰۶). در طول سال‌های گذشته تجارت ماهیان زینتی آب شیرین و شور رشد قابل توجهی داشته است (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷؛ Chong و همکاران، ۲۰۰۳). تولید ماهیان زینتی یک صنعت میلیون دلاری در آمریکا می‌باشد به طوری که ارزش بخش تجارت صنعت ماهیان زینتی در این کشور حدود ۱۰۰۰ میلیون دلار در سال تخمین زده می‌شود (Chapman و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش شده است که در آمد سالانه حاصل از فروش ماهیان زینتی در فلوریدا حدود ۱۷۵ میلیون دلار می‌باشد (محمدی آذرم و عابدیان کناری، ۱۳۸۸). ماهی مولی (*Poecilia butleri*) از جمله گونه‌های زنده‌زای زینتی متعلق به خانواده پونسلییده (*Poeciliidae*) است (Chong و همکاران، ۲۰۰۴) که با توجه به شکل متنوع باله‌ها، الگوهای رنگی گوناگون، مقاومت نسبتاً بالا در برابر شرایط نامساعد محیطی، سهولت نگهداری، تکثیر و تولیدمثل و نیز رژیم غذایی همه چیزخواری، مورد توجه بسیاری از پرورش دهندگان قرار گرفته است (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷؛ Ling و همکاران، ۲۰۰۶). از کشورهای اصلی صادر کننده ماهیان مذکور می‌توان به سنگاپور، مالزی، اندونزی، تایلند، هند، چین و ایالات متحده اشاره نمود (Chong و همکاران، ۲۰۰۴). یک پریبیوتیک ترکیب غذایی غیر قابل هضمی است که از طریق تحریک انتخابی، رشد و فعال کردن یک یا تعداد محدودی از باکتریای موجود در روده اثرات سودمندی روی میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد (Roberfroid و Gibson، ۱۹۹۵). کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم، پروتئین‌ها، برخی پپتیدها و نیز برخی چربی‌ها می‌توانند به عنوان گزینه‌ای برای پریبیوتیک‌ها باشند (Fooks و همکاران، ۱۹۹۹). از جمله پریبیوتیک‌هایی که می‌توان به مانان الیگوساکاریدها، رافینوز، ایمونووال، لاکتوز، الیگوفروکتوز، لاکتوسولوز و اینولین اشاره نمود. بنابراین پریبیوتیک‌ها به عنوان مکمل‌های غذایی روی وضعیت سلامت موجود، میزان رشد، ترکیب بدن و میزان مصرف غذا تأثیرگذار هستند (حاجی بگلو و سوداگر، ۱۳۸۹). واقعیت این است که در زمینه کاربرد و نقش پریبیوتیک‌ها در آبی پروری به ویژه ماهیان زینتی تحقیقات اندکی انجام شده است. بنابراین در این تحقیق اثر پریبیوتیک تجاری ایمونووال روی فاکتورهای تولیدمثلی و رشد در ماهی مولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محل اجرای این آزمایش در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در شهر فاضل آباد، استان گلستان بود. ماهیان مورد نیاز برای این آزمایش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در جاده شصت کلا، شهرستان گرگان، استان گلستان خریداری شدند. این ماهیان تقریباً همگی نابالغ و هم‌سن بوده و تقریباً دو و نیم ماه سن داشتند. ماهیان به مدت یک ماه و نیم در شرایط آزمایشی پرورش یافتند. در این دوره زمانی ماهی‌ها روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن و در دو نوبت غذایی شدند تا این که به سن تقریبی چهار ماهگی رسیدند. با مشاهده اولین علائمی که جنسیت نر و ماده ماهیان قابل تشخیص باشد، بلافاصله اقدام به جداسازی نرها از ماده‌ها شد. برای انجام این تحقیق ۱۲ آکواریوم با حجم آبی حدود ۴۵-۴۰ لیتر آماده شد. هر آکواریوم توسط ۱۰ قطعه ماهی ماده و ۳ قطعه ماهی نر ماهی‌دار شدند. به علاوه هر آکواریوم با گرفتن انشعابی از سیستم هواده مرکزی هواده می شدند.

پریبیوتیک ایمونووال از شرکت INC، ایالات متحده آمریکا خریداری شد. پریبیوتیک مذکور از دیواره سلولی سوبه‌ای از مخمر ساکارومایسس سرویسه تخلیص شده بود و حاوی ویتامین‌های خانواده B، املاح، پروتئین، الیگوساکارید و بتاگلوکان می‌باشد. در این آزمایش یک جیره غذایی پایه به عنوان جیره شاهد و سه جیره آزمایشی براساس پریبیوتیک ایمونووال در نظر گرفته شد (جدول ۱). در این آزمایش چهار سطح ایمونووال شامل: ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد در نظر گرفته شد. برای ساخت جیره‌های غذایی ابتدا تمامی اقلام غذایی مورد نیاز تهیه شده و مقدار مورد نیاز از هر یک را در داخل ظرفی مجزا کاملاً با هم مخلوط کرده و با اضافه نمودن تدریجی آب، مخلوطی خمیری شکل به دست آمد. در نهایت خمیر به دست آمده از الک به چشمه تقریباً ۰/۸ میلی متری عبور داده شد. در نهایت پلت‌های حاصل در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. سپس جیره ساخته شده را در ظروف دربسته و غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده و پس از شماره گذاری در یخچال نگهداری شدند. قبل از تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی، ابتدا طول و وزن اولیه مولدین اندازه‌گیری شد و سعی شد تا از نظر سن، طول و وزن اختلافی با یکدیگر نداشته باشند. پس از ماهی‌دار کردن آکواریوم‌ها، ماهی‌ها به صورت دستی و روزانه در دو نوبت در ساعات ۹:۳۰ صبح و ۱۶:۳۰ عصر و به میزان تقریبی ۵ درصد وزن بدن غذادهی شدند. هر روز قبل از غذادهی جداسازی و شمارش لاروهای تازه متولد شده انجام شد، هم‌چنین وزن، طول، ناهنجاری و میزان تلفات لاروهای تازه متولد شده به صورت روزانه ثبت می‌شد. هر روز نیم ساعت پس از آخرین نوبت غذادهی مدفوع و غذاهای خورده

که در آن W_f وزن نهایی، W_i وزن اولیه و t طول دوره آزمایش می‌باشد. برای محاسبه میزان هم‌آوری نسبی از فرمول زیر استفاده شد (Chong و همکاران، ۲۰۰۴):

= همآوری نسبی

میانگین وزن مولد ماده (گرم)/ میانگین تعداد لاروهای متولد شده در کل دوره آزمایش برای محاسبه شاخص گنادوسوماتیک از فرمول زیر استفاده شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

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

درصد بقای بچه ماهیان طبق فرمول زیر و در انتهای دوره محاسبه شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

$100 \times (\text{تعداد کل لاروهای متولد شده} / \text{تعداد بچه‌ماهیان زنده در پایان آزمایش}) = \text{درصد بقا}$
برای محاسبه میانگین تعداد لارو به‌ازای هر مولد ماده از فرمول زیر استفاده شد:

میانگین تعداد لارو متولد شده به ازای هر مولد ماده برابر است با تعداد لاروهای متولد شده از یک تیمار به‌خصوص در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد مولدین ماده در آن تیمار.

برای محاسبه نسبت جنسی به طریق زیر استفاده شد:

نسبت جنس ماده به نر برابر است با تعداد کل ماهیان ماده متولد شده در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد کل ماهیان نر متولد شده در کل دوره آزمایش.

برای محاسبه درصد لاروهای با ناهنجاری‌های اسکلتی و معیوب از فرمول زیر استفاده شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

= درصد لاروهای معیوب

$100 \times (\text{تعداد کل لاروهای متولد شده} / \text{تعداد کل لاروهای معیوب})$
پارامترهای کیفی آب از قبیل اکسیژن محلول در آب، pH، شوری و دما به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شدند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹ استفاده شد. تجزیه داده‌های آزمایش به‌کمک دستور PROC ANOVA انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها به‌کمک آزمون توکی Tukey و در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد که پریبوتیک ایمونووال تأثیری روی SGR نداشته است. در ماهیان ماده مولی تغذیه شده با جیره‌های پریبوتیکی، میانگین طول اولیه و وزن اولیه در هر چهار تیمار بسیار به یکدیگر نزدیک بوده و اختلاف معنی‌داری در بین آن‌ها مشاهده نشد. نتایج نشان داد که پریبوتیک مذکور تأثیری روی طول نهایی و وزن نهایی مولدین

نشده از کف آکواریوم سیفون شده و تعویض آب نیز به‌صورت روزانه و به‌میزان دوسوم کل آب هر آکواریوم انجام می‌شد.

برای اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی خام جیره، از روش AOAC (۱۹۹۰) استفاده شد.

جدول ۱: ترکیب جیره‌های غذایی پریبوتیکی و ترکیب شیمیایی آن‌ها

جیره‌های غذایی				
تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	
				مواد غذایی
۴۰٪	۴۰٪	۴۰٪	۴۰٪	پودر ماهی کیلکا
۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	آرد گندم
۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	آرد جو
۱۴٪	۱۴٪	۱۴٪	۱۴٪	آردسویا
۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	۱۰٪	آرد ذرت
۵٪	۵٪	۵٪	۵٪	روغن ماهی
۳٪	۳٪	۳٪	۳٪	روغن سویا
۳٪	۳٪	۳٪	۳٪	روغن کلزا
۲٪	۲٪	۲٪	۲٪	لیستین
۱٪	۱٪	۱٪	۱٪	مکمل معدنی
۱٪	۱٪	۱٪	۱٪	مکمل ویتامینی
۰٪/۱۷۵	۰٪/۱۷۵	۰٪/۱۷۵	۰٪/۱۷۵	دی‌کلسیم فسفات
۰٪/۲۵	۰٪/۲۵	۰٪/۲۵	۰٪/۲۵	ضدقارچ
۰	۰/۱۵	۱٪	۱/۱۵	پریبوتیک ایمونووال
ترکیب شیمیایی جیره بر حسب درصد				
۳۵/۳	۳۵/۲	۳۵/۲۲	۳۵/۱۸	پروتئین
۱۶/۹	۱۶/۴۵	۱۶/۷۲	۱۶/۶۳	چربی
۵/۱	۵/۱۲	۵/۲	۵/۱۵	خاکستر
۸/۱	۸/۱۵	۸/۴	۸/۳	رطوبت
۵۴۴۵	۵۴۴۲	۵۴۴۷	۵۴۵۱	انرژی خام (کالری بر گرم)

برای محاسبه میانگین تعداد لارو به‌ازای هر مولد ماده از فرمول

زیر استفاده شد:

میانگین تعداد لارو متولد شده به‌ازای هر مولد ماده برابر است با تعداد لاروهای متولد شده از یک تیمار به‌خصوص در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد مولدین ماده در آن تیمار. طول و وزن لاروهای تازه متولد شده در همان روز تولد اندازه‌گیری می‌شد.

برای اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه از فرمول زیر استفاده شد:

$$SGR(\%/day) = [(Ln W_f - Ln W_i) / t] \times 100$$



بیش‌ترین و در تیمار ۱ کم‌ترین میزان بود به‌علاوه بین تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری از نظر وزن لارو مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج مربوط به نسبت جنسی ماده به نر نیز نشان داد که پریبیوتیک مذکور تأثیری بر نسبت جنسی نداشته است. نتایج مربوط به هورمون‌شناسی نشان داده است که میزان هورمون‌های ۱۱-کتوتستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری باهم نداشته‌اند و بیش‌ترین آن‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان هورمون در تیمار ۳ ماهیان این تیمار، بیش‌ترین میزان عصاره ترخون را دریافت نموده بودند، مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول ۲). نتایج بافت‌شناسی نیز نشان‌دهنده تأثیر منفی عصاره ترخون بر بافت تخمدان ماهی گورامی سه‌خال بود به‌طوری‌که تصاویر مقاطع بافت‌شناسی تخمدان ماهیان تیمارهای مختلف نشان داد که ماهیان تیمار شاهد دارای تخمدان سالم هستند اما ماهیان تیمارهای استفاده‌شده از عصاره ترخون، عدم تکامل را نشان می‌دهند.

ماده نداشته است (جدول ۲). تیمارهای ۴ و ۱ به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار هم‌آوری نسبی را نشان دادند. هم‌آوری نسبی در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P < 0/01$). میانگین تعداد لارو به‌ازای هر مولد در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. کم‌ترین میزان نسبت تعداد لارو به مولد نیز در تیمار ۱ مشاهده شد. به‌علاوه بین تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد لارو به‌ازای هر مولد مشاهده نشد ($P > 0/01$). هم‌چنین براساس نتایج حاصل می‌توان مشاهده کرد که پریبیوتیک مذکور تأثیری روی درصد لاروهای معیوب نداشت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان GSI به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد ($P < 0/01$). تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین درصد بقا را نشان داد ($P < 0/05$) اما، بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). بیش‌ترین و کم‌ترین طول لارو به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ دیده شد. هم‌چنین بین تیمارهای ۳ و ۴ و نیز بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری از نظر طول لارو مشاهده نشد ($P > 0/01$). به‌طور مشابه، وزن لارو در تیمار ۴

جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین‌های عملکرد تولیدمثلی و رشد در تیمار پریبیوتیکی ایمونووال در ماهیان مولی

درصد پریبیوتیک در جیره				
۱/۵	۱	۰/۵	۰ (شاهد)	فاکتور
۰/۶۰ ± ۰/۰۰۸	۰/۶۲ ± ۰/۰۱	۰/۶۲ ± ۰/۰۱	۰/۶۳ ± ۰/۰۱	وزن اولیه مولد (گرم)
۳/۱۱ ± ۰/۰۱۴	۳/۰۵ ± ۰/۰۰۸	۳/۱۲ ± ۰/۰۲	۳/۰۵ ± ۰/۰۰۸	طول اولیه مولد (سانتی‌متر)
۱/۱۰ ± ۰/۰۰۸	۱/۱۹ ± ۰/۰۲۳	۱/۱۵ ± ۰/۰۱۱	۱/۱۴ ± ۰/۰۰۵	وزن نهایی مولد (گرم)
۳/۱۸۶ ± ۰/۲۶۸	۳/۸۳ ± ۰/۳۱۳	۳/۸۹ ± ۰/۲۶۶	۳/۹۸ ± ۰/۰۶۹	طول نهایی مولد (سانتی‌متر)
۰/۳۱ ± ۰/۰۲	۰/۳۳ ± ۰/۰۱۴	۰/۳۱ ± ۰/۰۱	۰/۳۰ ± ۰/۰۰۶	SGR (درصد/روز)
۴۵/۶۶ ± ۰/۶۶۷ ^a	۳۹/۳۳ ± ۰/۶۶۷ ^b	۳۶ ± ۱ ^b	۳۵/۳۳ ± ۱/۲۰۱ ^b	مولد/تعداد کل لارو
۳۹/۴۳ ± ۰/۹۱ ^a	۳۵/۰۱ ± ۰/۳۸۹ ^b	۳۱/۳۴ ± ۰/۹۷۲ ^b	۳۲/۰۴ ± ۱/۲۱۷ ^b	هم‌آوری نسبی
۵۰/۱۰ ± ۱/۲۵۵ ^a	۴۶/۷۴ ± ۲/۵۰۱ ^{ab}	۴۸/۲۷ ± ۱/۵۹۲ ^{ab}	۴۵/۷۷ ± ۱/۲۳۰ ^b	درصد بقا بچه ماهی
۰/۷۸ ± ۰/۹۲۱	۳/۱۰ ± ۰/۷۵۰	۴/۲۰ ± ۱/۴۱۴	۳/۳۳ ± ۰/۳۷۱	درصد لاروهای معیوب
۵/۳۸ ± ۰/۰۳۲ ^a	۵/۱۹ ± ۰/۰۲۶ ^b	۵/۰۸ ± ۰/۰۲۶ ^b	۵/۱۴ ± ۰/۰۲۸ ^b	طول لارو (میلی‌متر)
۲/۳۶ ± ۰/۰۵۲ ^a	۲/۲ ± ۰/۰۷۵ ^{ab}	۲/۲ ± ۰/۰۷۴ ^{ab}	۲/۰۱ ± ۰/۰۵۳ ^b	وزن لارو (میلی‌گرم)
۶/۱۲ ± ۰/۰۶۳ ^a	۵/۵۱ ± ۰/۰۳۳ ^b	۵/۶۲ ± ۰/۰۴۲ ^b	۵/۴۳ ± ۰/۰۲۲ ^c	GSI (%)
۳/۲۰ ± ۰/۷۱۱	۳/۱۱ ± ۰/۵۲۰	۳/۱۲ ± ۰/۴۲۳	۳/۲۳ ± ۰/۶۳۲	نسبت بچه ماهیان ماده به نر

در هر ردیف، معنی‌دار بودن میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است.

بحث

انجام شد که همگی از نظر اندازه و وزن تقریباً باهم برابر باشند. نتایج نشان می‌دهد که پریبیوتیک ایمونووال هیچ تأثیری روی وزن نهایی، طول نهایی و SGR در ماهی مولی نداشته است. براساس منابع قابل دسترس تاکنون گزارشی در رابطه با نقش پریبیوتیک ایمونووال روی پارامترهای رشد در ماهیان یافت نشد. برخلاف نتایج ما، Peng و

همان‌طور که در قسمت نتایج گفته شد، در ماهیان مولی، وزن و طول اولیه در تمامی تیمارها یکسان بود. در واقع برای کاهش میزان خطای آزمایش در همان ابتدای آزمایش، انتخاب مولدین به‌گونه‌ای



منابع

۱. حاجی بگلو، ع.ع. و سوداگر، م.، ۱۳۸۹. تأثیر پروبیوتیک پریمالاک و پربیوتیک ایمونوال بر رشد، میزان زنده‌زایی و نسبت جنسی ماهیان دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*) و پلاتی (*Xiphophorus maculatus*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان. ۷۸ صفحه.
۲. محمدی آذر، ح. و عابدیان کناری، ع.ا.، ۱۳۸۸. افزایش مقاومت ماهی زینتی تایگر بارب (*Capoeta tetrazona*) به استرس‌های فیزیکی شیمیایی محیطی آب توسط مکمل پودر گاماروس. مجله پژوهش‌های علوم دامی ایران، جلد ۱، شماره ۲. صفحات ۷۷ تا صفحه ۸۵.
۳. Andrews, C., 2006. The ornamental fish trade and fish conservation. *Journal of Fish Biology*. Vol. 37, pp: 53-59.
۴. AOAC. ۱۹۹۰. Official Methods of Analysis of AOAC, Vol. 1, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
۵. Chapman, F.A.; Fitz-coy, S.A.; Thunberg, E.M. and Adams, C.M., 2007. United States of America Trade in Ornamental Fish. *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol. 28, No. 1, pp: 1-10.
۶. Chong, A.; Hashim, R. and Ali, A., 2003. Assessment of soybean meal in diets for discus (*Symphysodonaequifasciata* HECKEL) farming through a fishmeal replacement study. *Aquacult Research*. Vol. 34, pp: 913-922.
۷. Chong, A.S.C.; Ishak, S.D. and Osman, Z.R., 2004. Hashim. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture*. Vol. 234, pp: 381-392.
۸. 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*. Vol. 16, pp: 83-97.
۹. De Schrijver, R. and Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*. *Aquaculture*. Vol. 186, pp: 107-116.
۱۰. Fooks, L.J.; Fuller, R. and Gibson, G.R., 1999. Prebiotics, Probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*. Vol. 9, pp: 53-61.
۱۱. Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. *Aquaculture Research*. Vol. 38, pp: 518-526.
۱۲. Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که پربیوتیک گروبیوتیک تأثیر مثبت بر روی عملکرد رشد در ماهیان هیبرید باس راه‌راه دارد. همان‌طور که در قسمت نتایج بیان شد، پربیوتیک ایمونوال سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی از قبیل نسبت تعداد لارو به مولد ماده، هم‌آوری نسبی، درصد بقای بچه‌ماهی، طول لارو، وزن لارو و شاخص گنادوسوماتیک در ماهیان مولی شد. در زمینه نقش پربیوتیک‌ها در عملکرد تولیدمثلی ماهیان مطالعات اندکی انجام شده است. به نظر می‌رسد با توجه به نوع ترکیبات غذایی و غیر غذایی از قبیل انواع اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، برخی عناصر کمیاب و بسیاری ترکیبات دیگر که در این محصول تجاری (ایمونوال) وجود دارد، این پربیوتیک می‌تواند سبب تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های مفید دستگاه گوارش ماهی که نقش پربیوتیکی دارند شده و در نهایت سبب تغییر ترکیب باکتریایی روده شود. لذا فعالیت باکتری‌های موجود منجر به تولید آنزیم‌های ویژه (از قبیل آمیلاز، پروتئاز و لیپاز) (Austin و Irianto، ۲۰۰۲؛ De Schrijver و Ollevier، ۲۰۰۰) برای کمک به هضم بهتر پروتئین‌ها و چربی‌ها، تولید ترکیبات مسمومیت‌زدا، تولید ویتامین‌ها، ساخت اسیدهای چرب ضروری شده و در نهایت عملکرد تولیدمثلی در ماهیان تغذیه شده با این پربیوتیک افزایش یابد. پروتئین‌ها و اسیدهای چرب از ترکیبات بسیار اساسی در تشکیل زرده بوده و وجود آن‌ها از نقطه نظر تکامل و بلوغ اووسیت‌ها و نیز افزایش نرخ زرده‌سازی بسیار ضروری می‌باشند (Dahlgren، ۱۹۸۰). در این آزمایش، پربیوتیک ایمونوال هیچ تأثیری بر روی نسبت‌های جنسی (تعداد فرزندان ماده به نر) نداشت. هم‌چنین گزارشی مبنی بر نقش پربیوتیک‌ها بر روی نسبت جنسی در ماهیان مشاهده نشد، اما به نظر می‌رسد به‌طور کلی تعداد ماهیان ماده متولد شده چند برابر ماهیان نر متولد شده بود. معمولاً در این ماهیان تعداد زاده‌های ماده بیش‌تر از نر می‌باشد. در این خصوص می‌توان دو عامل وراثت و انتخاب طبیعی را ذکر نمود. نقش عوامل وراثتی از نقطه نظر وجود برخی آلل‌های کشنده است که بر روی کروموزوم جنسی Y در این ماهیان قرار دارند. این آلل‌ها می‌توانند در همان ابتدای مراحل لاروی سبب مرگ لاروهای نر شوند (Tavolga، ۱۹۴۹). عامل دیگر می‌تواند نظریه انتخاب طبیعی باشد. اساس این نظریه این است که طبیعت هیچ‌گاه انرژی و پتانسیل خود را بی‌هوده هدر نمی‌دهد. ماهیان نر سیستم چند همسری دارند به‌نحوی که یک ماهی نر به آسانی می‌تواند با چندین ماهی ماده جفت‌گیری کند. بنابراین طبیعت نیازی نمی‌بیند که تعداد زیادی ماهی نر متولد شوند. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که پربیوتیک ایمونوال سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی در ماهیان مولی می‌شود. هر چند بر روی نسبت‌های جنسی و فاکتورهای رشد تأثیری نداشت.



- concept of prebiotics. Journal of Nutrition. Vol. 125, pp: 1401-1412.
۱۳. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Disease. Vol. 25, pp: 1-10.
۱۴. **Ling, S.; Hashim, R.; Kolkovski, S. and Shu-Chien, A.C., 2006.** Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture Research. Vol. 37, pp: 1267-1275.
۱۵. **Peng, L.; Delbert, M. and Gatlin, III., 2004.** Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotick™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture. Vol. 231, pp: 445-456.
۱۶. **Tavolga, W.N., 1949.** Embryonic development of the platyfish (*Platypoecilus*), the swordtail (*Xiphophorus helleri*) and their hybrids. American museum of natural history. Vol. 94, No. 4, pp: 227-229.

