Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

Effect of dietary administration of *Lactobasillus plantarum* on the sex hormone estradiol and gonadal tissue in female zebrafish (*Danio rerio*)

Fatemeh Vahedi Amiri[1], Valiollah Jafari[*2], Roghieh Safari[3], Seyed Hossein Hoseinifar[4]

1. Ph.D. Student, Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: f.vahediamiri.gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: v.jafari.sh110@gmial.com
3. Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com
4. Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hossein.hoseinifar@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 03.14.2022
Revised: 05.04.2022
Accepted: 05.24.2022

Keywords:
Probiotic,
Reproduction,
Zebrafish

ABSTRACT

The present study investigates the effect of different levels of probiotic *Lactobasillus plantarum* probiotic on estradiol hormone and gonad tissue in Zebrafish (*Danio rerio*). For this purpose, 600 Zebrafish with average wight of 0.15+ 0.01 gr fed on diet supplemented with 0%, 10^5, 10^6 and 10^7 CFU/gr of probiotic for 3 months. After this period and sex determination, females fed the pervious diets for 1 month. At the end of feeding trial, tissue sections of the gonad were prepared, estradiol hormone was measured in whole body serum using RIA method. Results of this study showed no significantly increase in the amount of estradiol hormone during vitellogenesis in fish fed 10^5 CFU/gr *L. plantarum* ($P>0.05$) compare to control and significantly upward trend in 10^6 CFU/gr *L. plantarum* ($P<0.05$). However, by increasing probiotic to 10^7 CFU/g *L. plantarum* in the diet, significantly decreased ($P<0.05$). In the tissue sections, in control group, oocytes are at the end of the second and third stage of sexual maturation. In treatment fed with $1* 10^6$ CFU / g, oocytes were at the end of the third and fourth stage. The amounts of oocytes in theses stages in fish fed $1* 10^6$ CFU / g were more than fish fed other diets. The results of the present study indicated that the use of probiotics *L. pentarum* in the effective amounts can be considered as a new strategy to improve reproductive performance.

Cite this article: Vahedi Amiri, Fatemeh, Jafari, Valiollah, Safari, Roghieh, Hoseinifar, Seyed Hossein. 2023. Effect of dietary administration of *Lactobasillus plantarum* on the sex hormone estradiol and gonadal tissue in female zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11 (4), 33-42.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20038.1638
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

اثرات به‌کارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر هورمون جنسی استرادیول و بافت گنادی در جنس ماده ماهی گورخری (*Danio rerio*)

فاطمه واحدی امیری[۱]، ولی‌اله جعفری*[۲]، رقیه صفری[۳]، سید حسین حسینی‌فر[٤]

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: f.vahediamiri.gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: v.jafari.sh110@gmial.com
۳. دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com
٤. دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hossein.hoseinifar@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۱۲/۲۳
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۲/۱٤
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۳/۰۳

واژه‌های کلیدی:
پروبیوتیک،
تولیدمثل،
ماهی گورخری

چکیده

در این پژوهش تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم در جیره غذایی بر هورمون‌های جنسی استرادیول و بافت گنادی ماهی گورخری بررسی شد. بدین‌منظور تعداد ٦۰۰ قطعه بچه‌ماهی بامیانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۱٥ گرم در ٤ تیمار و ۳ تکرار با جیره‌ی غذایی پایه همراه با سه سطح پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (CFU/gr $۱۰^{٥}$، $۱۰^{٦}$ و $۱۰^{۷}$) به مدت سه ماه تغذیه شدند. در پایان دوره و مشخص شدن جنسیت، جنس ماده به مدت ۱ ماه به وسیله همان جیره‌های تغذیه شدند. در انتهای دوره از بافت گناد مقاطع بافتی تهیه و هورمون‌های استروئیدی در سرم کل بدن، به روش RIA میزان اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده افزایش این هورمون در زمان ویتلوژنز می‌باشد که در تیمار تغذیه‌شده با CFU/gr $۱۰^{٥}$ لاکتوباسیلوس پلانتاروم افزایش نسبت به تیمار کنترل را نشان داد که معنی‌دار نبود. در تیمار تغذیه‌شده با CFU/gr $۱۰^{٦}$ لاکتوباسیلوس پلانتاروم افزایش معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها مشاهده شد ($P<۰/۰٥$). اما تیمار تغذیه‌شده با CFU/gr $۱۰^{۷}$ لاکتوباسیلوس پلانتاروم روند کاهشی داشته است. در مقاطع بافتی در تیمار شاهد بیش‌تر تخمک‌ها به وضوح در مرحله دوم و سوم رسیدگی جنسی قرار دارند. در تیمار تغذیه‌شده با CFU/gr $۱۰^{٦}$ لاکتوباسیلوسپلانتاروم بخش عمده تخمک‌ها در مرحله سوم و چهارم و حتی انتهای مرحله چهارم بلوغ بودند. که نسبت به تیمارهای تغذیه‌شده با CFU/gr $۱۰^{٥}$ و CFU/gr $۱۰^{۷}$ لاکتوباسیلوس پلانتاروم این مراحل بیش‌تر مشاهده می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها لاکتوباسیلوس پلانتاروم در مقدار مؤثر می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد جدید در بهبود عملکرد تولیدمثلی مورد توجه قرار گیرد.

استناد: واحدی امیری، فاطمه، جعفری، ولی‌اله، صفری، رقیه، حسینی‌فر، سید حسین (۱۴۰۱). اثرات به‌کارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر هورمون جنسی استرادیول و بافت گنادی در جنس ماده ماهی گورخری (*Danio rerio*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۱ (۴)، ۴۲-۳۳.
DOI: 10.22069/japu.2022.20038.1638

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آبزی‌پروری به‌عنوان یکی از سریع‌ترین و امیدوارکننده‌ترین صنایع برای تامین پروتئین حیوانی و امنیت غذایی برای جمعیت جهان در حال ظهور است و نرخ رشد آبزی‌پروری بالاتر از هر روش تولید غذای دیگری است و این رشد برای مبارزه با کمبود غذایی و سوءتغذیه و تامین تقاضای روزافزون جهان برای غذا بسیار مهم خواهد بود (۱، ۲). این افزایش سریع جمعیت انسانی موجب افزایش نیاز به منابع ارزان‌قیمت پروتئین و کاهش صید ماهی از منابع طبیعی داخلی، نیاز به توسعه سریع آبزی‌پروری را ایجاد کرده است (۳). کنترل تولیدمثل، بهبود و کیفیت مولدین به‌عنوان مهم‌ترین بازتاب‌های فناورهای جدید، می‌تواند در دست‌یابی به تقاضای روزافزون و در حال رشد آبزی‌پروری در جهان مؤثر باشد. یکی از مهم‌ترین مشکلات در صنعت آبزی‌پروری جدید، تکثیر مصنوعی و تولید مواد تناسلی (تخمک و اسپرم) با کیفیت خوب می‌باشد، مطالعه و شناخت شناسه‌های هورمونی در ماهیان یکی از مهم‌ترین عوامل تشخیص فرآیندهای درگیر و تنظیم فرآیند تولیدمثل در آن‌ها می‌باشد. در ماهیان استخوانی رشد و رسیدگی تخمک‌ها شامل مراحل گوناگونی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلف از جمله هورمون‌های گنادوتروپین، پروژسترون، تستوسترون، استرادیول می‌باشند. در تولیدمثل و توسعه روند تکثیر و پرورش آبزیان علم شناخت غدد درون‌ریز ماهیان از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است و کنترل هورمون‌ها به‌عنوان یک ابزار کارآمد در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به‌کار می‌رود. در ماهیان مانند سایر مهره‌داران فرآیند تولیدمثل تحت کنترل آهنگ زیستی داخلی و عوامل محیطی است. مهم‌ترین مسیر ارتباطی بین سیستم عصبی مرکزی و اندام‌های جنسی (گنادها)، سیستم هورمونی است (٤) بنابراین پژوهش در خصوص هورمون‌های درون‌ریز و محور مغز، هیپوفیز و گناد نقش اساسی را در روشن شدن روند تولیدمثل ماهیان ایفا می‌نماید. در این بین گنادها و هورمون‌های استروئیدی مرتبط با آن بیش‌ترین تأثیر را در این روند نشان می‌دهند (۵).

پروبیوتیک‌های مفید ابزار حیاتی برای حفظ رشد طبیعی و عملکرد آبزیان به‌عنوان منبع مواد مغذی، ویتامین‌ها و آنزیم‌های گوارشی هستند که تأثیر مثبتی بر مصرف خوراک، جذب مواد مغذی و عملکرد رشد و تولیدمثل دارند (۳، ٦، ۷، ۸، ۹). پروبیوتیک‌ها می‌توانند با تحریک آنزیم‌های گوارشی و حفظ تعادل میکروب‌های روده، کارایی غذای حیوانات آبزی را افزایش دهند، که منجر به بهبود جذب و استفاده از مواد مغذی و در نهایت، بقا و رشد آن حیوانات می‌شود (۱۰، ۱۱). طبق پژوهش‌های صورت گرفته دسته‌ای از مکمل‌های غذایی (شامل پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، گیاهان و مواد مغذی) کیفیت سلول جنسی، باروی و سلامت مولدین را افزایش داده و با استفاده از این مواد تأثیراتی در بهبود پارامترهای رشد و بقاء در لارو و بچه‌ماهی مشاهده گردیده و استفاده از این مکمل‌ها می‌تواند از راهبردهای مناسب در چرخه مدیریت مزارع پرورش ماهی باشد.

ماهی گورخری (*Danio rerio*) یک ماهی با اندازه کوچک (به‌طور معمول کم‌تر از ٤٠ میلی‌متر) از خانواده کپورماهیان (*Cyprinidae*) و از گونه‌های آب شیرین مناطق گرمسیری می‌باشد. این‌گونه دارای مزایا و ویژگی‌های زیست‌شناختی خاصی ازجمله جابجایی آسان، نگهداری، تطبیق‌پذیری، چرخه عمر کوتاه و هزینه کم آن است که این موارد آن را برای مطالعات آزمایشگاهی مفید می‌سازد (۱۲).

با توجه به این‌که مطالعه‌ای در خصوص تأثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر بافت گنادهای جنسی و هورمون‌های استرادیول ماهی گورخری ماده

گزارش نشده است در پژوهش حاضر تأثیر این پروبیوتیک را بر بافت‌شناسی گناد و هورمون جنسی در طی روند بلوغ و هم‌چنین ارتباط آن‌ها با یکدیگر در ماهی گورخری تغذیه‌شده با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم انجام شده است.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهی‌های گورخری به تعداد ٦۰۰ قطعه حدود ۳۰ روزه با میانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۱۵ گرم از مرکز خصوصی تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در شصت‌کلا، استان گلستان تهیه و با پلاستیک‌های محتوی یک‌سوم آب و دوسوم هوا به مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ابتدا ماهیان جهت انگل‌زدایی و بهبود تنش ناشی از حمل‌ونقل در آب نمک (NaCl) به غلظت ۲ درصد به‌مدت ۱۵دقیقه حمام داده‌شده و در ادامه به‌مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشی عادت‌دهی شدند.

طرح آزمایش و مدیریت مخازن: ماهیان با تراکم ۵۰ قطعه بچه‌ماهی در آکواریوم‌های شیشه‌ای ۲۵۰ لیتری که نصف ظرفیت آن (۱۲۵ لیتر) آبگیری شده بود، در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ٤ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار رهاسازی گردید. آب مورد استفاده برای نگهداری ماهیان از سیستم آبرسانی به مخازن نگهداری، متصل به آب لوله‌کشی شهری (شهر گرگان) بود و این آب قبل از ورود به آکواریوم نگهداری ماهیان، در تانک‌های ذخیره آب با استفاده از تیوسولفات سدیم کلرزدایی و هوادهی شدند.

تهیه غذا و غذادهی: پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم مورداستفاده در این پژوهش از مرکز ارزیابی ذخایر زیستی تهیه می‌شود. لارو ماهیان گورخری ۳۰ روز پس از تفریخ به مدت ۳ ماه با جیره غذایی بیومار (۵۵ درصد پروتئین، ۲۱ درصد کربوهیدرات، ۱۲ درصد چربی، ۸ درصد خاکستر و ٤ درصد رطوبت) که حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ٤ تیمار آزمایشی، سه سطح پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (CFU/gr $۱۰^{۵}$، $۱۰^{٦}$ و $۱۰^{۷}$) و یک گروه شاهد (با ۳ تکرار) تغذیه شدند. بعد از این دوره و مشخص شدن جنسیت، جنس نر از آزمایش خارج و جنس ماده به‌مدت ۱ ماه به‌وسیله پروبیوتیک تغذیه شد. جهت دستیابی به سطوح پروبیوتیکی موردنظر، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (CFU/gr $۱۰^{۵}$، $۱۰^{٦}$ و $۱۰^{۷}$) در جیره غذایی به کمک محلول ژلاتین ۳ درصد با غذا مخلوط و در هوای محیط کارگاه و با رعایت نکات بهداشتی خشک شدند و تا زمان مصرف به یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. غذادهی به‌صورت دستی انجام شد و از غذاگیری ماهیان در آکواریوم اطمینان حاصل شد.

نمونه‌برداری: جهت اندازه‌گیری هورمون به‌دلیل کوچک‌بودن اندازه ماهی و امکان‌پذیرنبودن خونگیری، از کل بدن ماهی استفاده گردید. به این صورت که در شرایط کاملاً استریل بعد از بی‌هوش کردن ماهی با پودر گل میخک ۰/۵ درصد، سر و باله‌های ماهی جدا شده و بقیه بدن به تیوپ استریل منتقل و به نسبت ۱:۳ سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد به آن‌ها اضافه و سپس هموژن شدند و با دور rpm۱۰۰۰۰ در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. فاز رویی برداشته و به تیوپ انتقال داده شد و تا زمان آنالیز هورمونی در دمای ۸۰- نگهداری شدند (۱۳).

تعیین میزان هورمون‌های جنسی: مطالعه مقادیر هورمون‌های آستروئیدی ماهیان پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط به روش RIA و با استفاده از دستگاه گاماکانتر تمام اتوماتیک LKB و توسط کیت‌های هورمونی امکان‌پذیر شد (۱٤) اندازه‌گیری

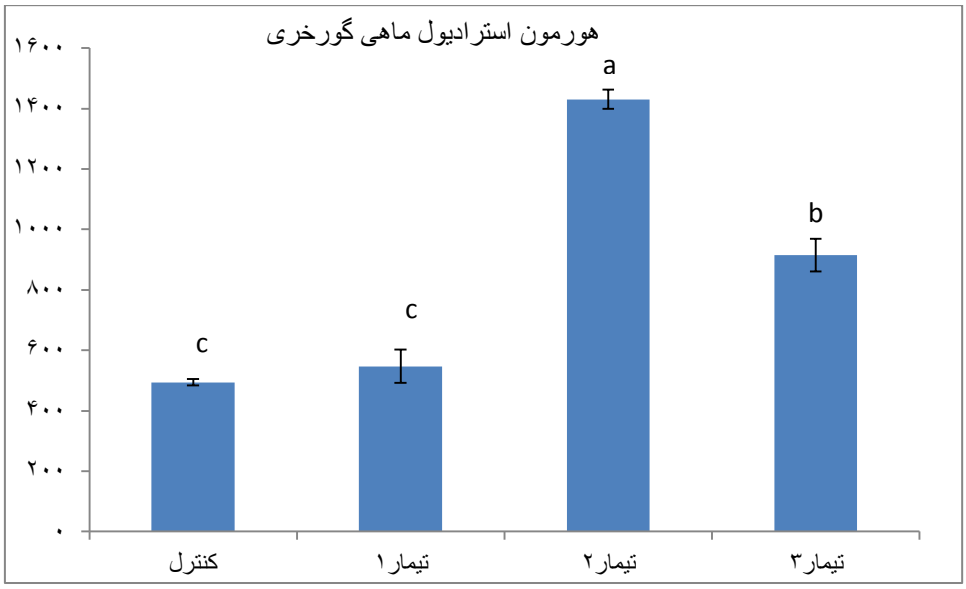
مقادیر هورمون ۱۷- بتا استرادیول با استفاده از کیت هورمونی Diasorin s.r انجام شد.

تعیین مراحل جنسی: برای تعیین مراحل جنسی ابتدا بخش‌های مختلف گنادی در فرمالین بافر نگهداری و سپس از نمونه برای استفاده در مراحل بعدی آبگیری از بافت انجام و در ادامه در گزایلن وارد شدند. بافت‌ها سپس با پارافین (دمای ذوب ۵۸-۵۶ درجه سانتی‌گراد) بر روی قالب‌های تیشیوتک قالب‌گیری و پارافینه شدند (۱۵). از قالب‌های پارافین با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌هایی باضخامت بین ۵ تا ۷ میکرون تهیه شده و روی لام‌های چسب زده شده قرار گرفتند و پس از حذف پارافین و آبگیری بافت، توسط هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی و در نهایت اسلایدها- تثبیت شدند (۱۶). سپس اسلایدهای بافت‌های تهیه‌شده توسط میکروسکوپ نوری (مدل نیکون TS100) آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشکده شیلات و محیط‌زیست مورد مطالعه قرار گرفت و با استفاده از میکروسکوپ نوری، از نمونه‌ها عکس‌هایی با بزرگ‌نمایی (۱۰X) تهیه شد و این تصاویر به‌صورت کیفی بررسی گردید.

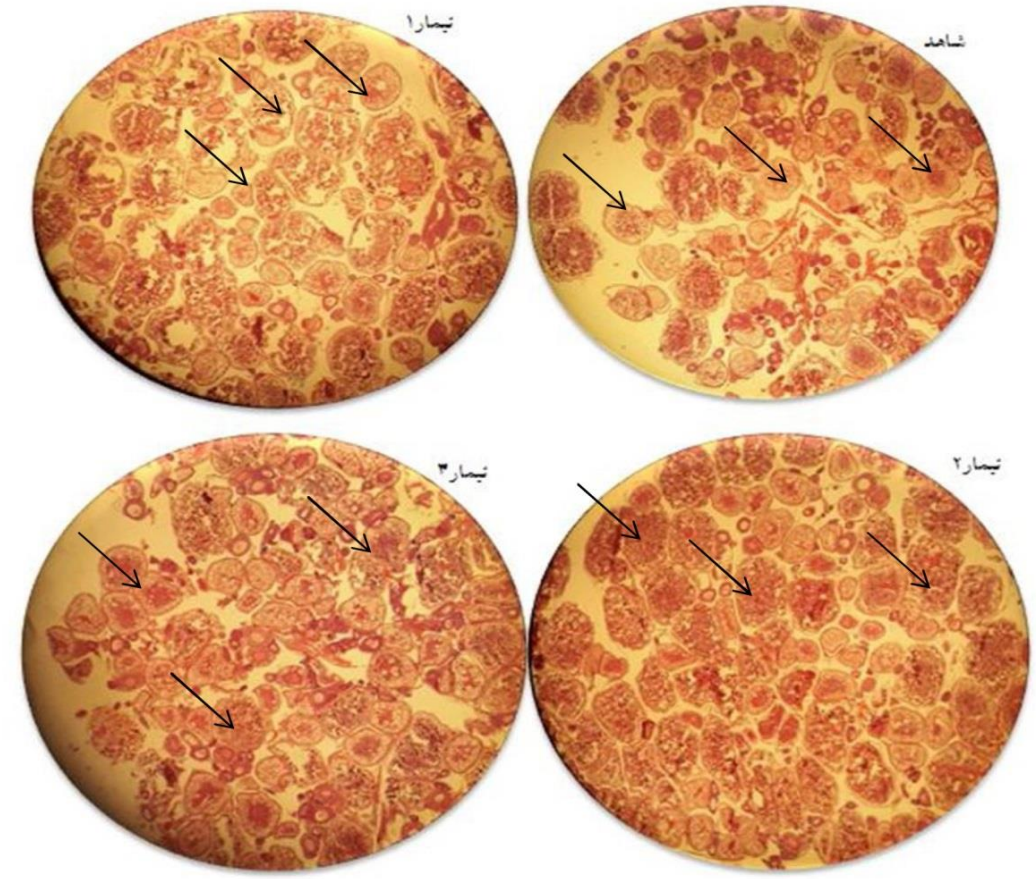
تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: جهت مطالعات هورمونی و مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ ترسیم شد.

نتایج

تغییرات هورمون‌های آستروئیدی: ۱۷- بتا استرادیول: مطالعه غلظت سرمی استرادیول نشان‌دهنده افزایش این هورمون در زمان زردسازی می‌باشد که در تیمار تغذیه شده با 10^6 CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم افزایش معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). غلظت استرادیول از تیمار شاهد تا تیمار تغذیه شده با 10^6 CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم روندی افزایشی دارد ولی در تیمار تغذیه‌شده با 10^7 CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم این روند کاهشی بود.



شکل ۱- تغییرات افزایش معنی‌دار سطح هورمون استرادیول در ماهی گورخری تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم (کنترل (شاهد)، تیمار ۱ (پروبیوتیک 10^5)، تیمار ۲ (پروبیوتیک 10^6)، تیمار ۳ (پروبیوتیک 10^7)).



شکل ۲- مراحل تکامل تخمک، بافت تخمدان ماهی گورخری (*Danio rerio*) در پایان دوره آزمایش (بزرگنمایی x10) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین).

همان‌طوری که مقاطع بافتی نشان می‌دهند، به‌طور طبیعی در تمام تیمارها مراحل مختلف قابل روئیت است. در تیمار کنترل بیش‌تر اووسیت‌ها به‌طور واضح در مرحله دوم و سوم قرار دارند. در این بخش پروتوپلاسم تخمک در حال رشد است، در این مرحله مواد کروماتینی در داخل تخمک قرار دارند،هستک‌ها به تعداد زیاد و به اندازه کوچک در مجاورت دیواره داخلی غشاء هسته قرار می‌گیرند، واکوئل‌ها و لایه نازک فولیکولی به دور هسته تشکیل شده در تیمار تغذیه‌شده با 10^{6} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌طور واضح بخش عمده اووسیت‌ها در مرحله سوم و چهارم و حتی انتهای مرحله چهارم قرار دارند در این مرحله بیش‌تر هستک‌ها در نواحی مختلف هسته پراکنده و تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد، ضخامت لایه فولیکولی افزایش یافته تخمک‌ها بیش‌تر رشد نموده و قطرشان افزایش می‌یابد، اجسام زرده تجمع یافته، واکوئل‌ها نیز با هم ادغام شده و یک واکوئل بزرگ را تشکیل می‌دهد، که نسبت به تیمار تغذیه‌شده با 10^{5} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار تغذیه‌شده با 10^{7} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم این مراحل

بیش‌تر مشاهده می‌شود. درصورتی‌که تیمار تغذیه‌شده با 10^{7} CFU/gr اکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به تیمار تغذیه‌شده با 10^{5} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم اووسیت‌های در انتهای مرحله سوم بیش‌تری مشاهده می‌شود (شکل ۲).

بحث

پروبیوتیک‌ها به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده شناخته می‌شوند که وقتی به مقدار کافی تجویز شوند، برای سلامتی میزبان مفید هستند. امروزه پروبیوتیک‌ها برای تولید پایدار و سازگار با محیط‌زیست در بسیاری از بخش‌ها مورد استفاده‌می‌باشند. آن‌ها هم‌چنین موجودات رایجی بوده‌اند که در آبزی‌پروری به‌عنوان محرک رشد، تحمل تنش، مهار عوامل بیماری‌زا و قابلیت هضم مواد مغذی و بهبود کیفیت آب و عملکرد تولیدمثلی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

کارنوالی و همکاران (۲۰۱۷) اثرات پروبیوتیک‌ها را بر کنترل یکپارچه متابولیسم ماهی بررسی کردند و در این بررسی نشان دادند که تجویز پروبیوتیک اثرات مثبتی بر تولیدمثل و کیفیت گامت گورخرماهی ایجاد می‌کند (۱۷). پژوهش‌های علمی نشان داده که نوسانات هورمون‌ها در ماهیان به تغذیه، رشد و سیکل‌های تولیدمثلی آن‌ها مرتبط است (۱۸). در دهه‌های اخیر علم شناخت غدد درون‌ریز با تغییرات اساسی وارد مرحله جدیدی شده است که در دانش امروز به‌عنوان توسعه روند تکثیر و پرورش آبزیان و کنترل تولیدمثل ماهیان از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای به خود اختصاص داده است. به‌طوری‌که در جهت تکثیر و پرورش آبزیان از کنترل هورمونی به‌عنوان یک ابزار کارآمد بهره‌گیری می‌شود، در پژوهش حاضر نتایج حاصل از مطالعات هورمونی بیانگر افزایش معنی‌دار بودن هورمون استرادیول در زمان ویتلوژنز می‌باشد که در تیمار تغذیه‌شده با 10^{6} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم افزایش معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها نشان می‌دهد غلظت استرادیول از تیمار شاهد تا تیمار تغذیه‌شده با 10^{6} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم روند افزایشی دارد و از تیمار تغذیه‌شده با 10^{7} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم روند کاهشی می‌گیرد. که حتی در نمونه‌های بافتی گناد ماهی ماده بیانگر این امر می‌باشد، با توجه به این‌که در تمام تیمارها مراحل رسیدگی جنسی مختلف قابل روئیت است. در تیمار شاهد بیش‌تر اووسیت‌ها به‌طور واضح در مرحله دوم و سوم قرار دارند. در تیمار تغذیه‌شده با 10^{6} CFU/gr لاکتوباسیلوسپلانتاروم به‌طور واضح بخش عمده اووسیت‌ها در مرحله سوم و چهارم و حتی انتهای مرحله چهارم قرار دارند که نسبت به تیمار تغذیه‌شده با 10^{5} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم و تیمار تغذیه‌شده با 10^{7} CFU/gr لاکتوباسیلوس پلانتاروم این مراحل بیش‌تر مشاهده می‌شود.

با توجه به این‌که در ماهیان استخوانی گنادوتروپین‌ها از طریق استروئیدها در تنظیم ویتلوژنز و بلوغ نهایی اووسیت‌ها نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. و هم‌چنین ۱۷- بتا استرادیول (E2) باعث تحریک سنتز و ترشح ویتلوژنین در کبد و تجمع آن در اووسیت‌ها می‌شود ارتباط بین تغییرات سطوح پلاسمای استروئیدهای گنادی و رشد اووسیت‌ها در تعدادی از ماهیان آب شیرین مانند گربه‌ماهی، کپور معمولی و ماهی آزاد به خوبی به اثبات رسیده است. رشد اووسیت‌ها در تخمدان و افزایش GSI با تغییر در سطوح E2 ارتباط دارد سطوح E2 در گونه‌های مختلف با فعالیت ویتلوژنیک افزایش می‌یابد و در سومین مرحله زرده‌سازی به بیش‌ترین حد خود می‌رسد (۱۹). با توجه به یافته‌های علمی توسط حبیبی (۲۰۰۲) ارتباط بین هورمون‌های گناد وتروپینی و استروئیدی را با مراحل رسیدگی تخمک، ویتلوژنز، اوولاسیون و تخم‌ریزی به این صورت بیان نمود که میزان

استرادیول در مرحله ویتلوژنز، میزان تستوسترون (T) در مرحله مهاجرت Germinal Vesicle (GV) به قطب حیوانی، پروژسترون 17-20 BP قبل از مرحله اوولاسیون به بالاترین سطوح خود در بدن ماهی می‌رسند که در نتیجه هورمون‌های استروئیدی اثرات معنی‌داری بر رشد گنادها دارند (۲۰) و هم‌چنین پژوهش‌گران نشان دادند که پروبیوتیک می‌تواند سطوح هورمون‌های تولیدمثلی ماهیان، از جمله، استرادیول و هورمون رشد را افزایش دهد، بنابراین رشد فولیکول را تنظیم می‌کند (۲۱، ۲۲) باتوجه به این‌که به خوبی شناخته شده است که تغذیه بر تمام رویدادهای تولیدمثلی تأثیر می‌گذارد و هم‌چنین برای شروع فرآیندهای تولیدمثل، که معمولاً به عنوان بلوغ و گامتوژنز نامیده می‌شود. ارتباط نزدیکی با در دسترس بودن انرژی در ماهیان دارد. در نتیجه در دسترس بودن سطح مواد غذای نقش کلیدی در کیفیت تولیدمثل دارد (۲۳). از طرفی دیگر در مطالعات گذشته مشخص شده است که رژیم‌های غذایی فاقد عناصر کمیاب مکمل یا با سطوح کاهش یافته لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب، ویتامین‌های C و E و کاروتنوئیدها تخمک‌هایی با کیفیت پایین‌تری نسبت به جیره‌های تولید شده توسط ماهی‌هایی که فرمولاسیون متعادل تری دریافت می‌کنند، تولید می‌کند (۲٤). علاوه بر این، عدم تعادل این اجزا بر تولیدمثل در فرآیندهای مختلف مانند کیفیت تخم، باروری، میزان تخم‌ریزی و میزان بقای لارو تأثیر می‌گذارد (۲٤، ۲۵). از آن‌جایی‌که پروبیوتیک‌ها به عنوان افزودنی‌های غذایی به هضم مناسب خوراک کمک می‌کنند و مواد مغذی را برای رشد سریع‌تر و تولید بیش‌تر در دسترس قرار می‌دهد (۳)، بنابراین احتمالاً می‌توان بهبود وضعیت تولیدمثلی در دسترس بودن اسیدهای چرب ضروری به‌ویژه اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی باشد که می‌توانند در زرده‌سازی مورد استفاده قرار گیرند نسبت داد.

گیوک چینی و همکاران (۲۰۱۰a,b,c) گزارش کردند که تغذیه ماهی گورخری (*Danio rerio*) با جیره‌های حاوی Lb. rhamnosus (به میزان 10^6 CFU/gr در گرم) به مدت ۱۰ روز به‌طور معنی‌داری سبب افزایش اوولاسیون، زنده‌مانی تخم‌ها و باروری آن شده و تولیدمثل را بهبود بخشیده است (۲٦، ۲۷، ۲۸). و در پژوهشی مشابه آن در سال ۲۰۱۱ مشخص شد که میزان گنادوسوماتیک و باروری این ماهی را افزایش می‌دهد (۲۹). در همین پژوهش علاوه‌بر آن‌چه گفته شد در مطالعه بافت‌شناسی تخمدان ماهی‌های تیمار شده با پروبیوتیک افزایش در فولیکول‌های در حال زرده‌سازی نشان داده شده است (۲٦، ۲۹). در بررسی‌های سدنی و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobasillus casei*) در جیره غذایی بر مقاطع بافتی در تیمار تغذیه‌شده با 10^7 CFU/gr لاکتوباسیلوس کازئی اووسیت‌ها در مرحله آخر رسیدگی جنسی یعنی مرحله پنجم جنسی (هسته اووسیت کاملاً ناپدیدشده و تخمک‌ها آماده اوولاسیون و لقاح) مشاهده شدند که بیش‌ترین تأثیر را در این مقدار داشته است (۳۰). در مطالعات رحمان و همکاران (۲۰۱۸) اثرات پروبیوتیک‌ها بر تولیدمثل گربه‌ماهی کره‌ای (*Ompok pabda*) با جیره‌های حاوی سطوح مختلف ۰ (به‌عنوان شاهد)، ۰/٦، ۰/۸ و ۱/۰ گرم بر کیلوگرم که با پروبیوتیک تغذیه شدند بررسی گردید که نتایج نشان‌دهنده اثرات مفید پروبیوتیک‌ها بر عملکرد تولیدمثلی است (۳۱). البته میزان باروری و بقای لارو به‌طور قابل‌توجه با تجویز پروبیوتیک افزایش یافته است اما در ماهیانی که با پروبیوتیک (۰/۸ گرم) تغذیه می‌شوند، به‌طور قابل‌توجهی کم‌تر است. جالب‌توجه این‌که تیمار سوم برخلاف

تیمار دوم کم‌ترین اثر را به همراه داشت. بنابراین می‌توان گفت که استفاده از غلظت بالاتر پروبیوتیک در رژیم غذایی همیشه منجر به اثرات مثبت نمی‌شود. در مجموع مطالعه هورمونی و بافت‌شناسی گناد ماهیان تغذیه‌شده با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم بهبود وضعیت تولیدمثلی در ماهی گورخری را نشان داد. که در این پژوهش مقدار مناسب تغذیه این ماهی 10^6 CFU/gr لاکتوباسیلوسپلانتاروم می‌باشد بنابراین استفاده از پروبیوتیک‌ها در دز مناسب می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد جدید در بهبود عملکرد تولیدمثلی موردتوجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و هم‌چنین از همکاری صمیمانه آقای دکتر علی جافرنوده و سایر همکاران محترم ایشان در آزمایشگاه این دانشگاه که در به ثمر رساندن نتایج این مطالعه یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

1.FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the Sustainable Development Goals, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
2.FAO. 2020. Sustainability in action, state of world fisheries and aquaculture 2020. Rome.
3.El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Patra, A.K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M.A., and Abdel-Latif, H.M. 2021. The functionality of probiotics in aquaculture: an overview. Fish Shellfish Immunol. 117: 36-52.
4.Oryan, S.H., Parivar, K., Yekrangeyian, A., and Hossienzade, H. 1997. Seasonal cycles variation of gonadal development and plasma sex steroids levels in Trichiurus lepturus. Iran Sci. Fish. J. 7: 49-67.
5.Poortenaar, C.W., Hooker, S.H., and Sharp, N. 2001. Assessment of yellowtail king Fish (seriola lalandi lalandi) reproductive physiology, as a basis for aquaculture development. Aquac. Res. 201: 271-286.
6.Dawood, M.A., El-Dakar, A., Mohsen, M., Abdelraouf, E., Koshio, S., Ishikawa, M., and Yokoyama, S. 2014. Effects of using exogenous digestive enzymes or natural enhancer mixture on growth, feed utilization, and body composition of rabbitfish, Siganus rivulatus. J. Agric. Sci. Technol. 4(3B).
7.Lauriano, E.R., Pergolizzi, S., Capillo, G., Kuciel, M., Alesci, A., and Faggio, C. 2016. Immunohistochemical characterization of Toll-like receptor 2 in gut epithelial cells and macrophages of goldfish Carassius auratus fed with a high-cholesterol diet. Fish Shellfish Immunol. 59: 250-255.
8.Aragona, M., Lauriano, E.R., Pergolizzi, S., and Faggio, C.J.N.P.R. 2018. Opuntia *ficus-indica* (L.) Miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. Nat. Prod. Res. 32: 17. 2037-2049.
9.Nath, S., Matozzo, V., Bhandari, D., and Faggio, C. 2019. Growth and liver histology of Channa punctatus exposed to a common biofertilizer. Nat. Prod. Res. 33: 11. 1591-1598.
10.Irianto, A., and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. J. Fish Dis. 25: 11. 633-642.
11.Dawood, M.A., and Koshio, S. 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. Aquac. Res. 454: 243-251.
12.Ribas, L., and Piferrer, F. 2014. The zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research. Rev. Aquac. 6: 4. 209-240.
13.Shahsavani, D., Mohri, M., and Gholipour Kanani, H. 2010. Determination of normal values of some blood serum

enzymes in Acipenser stellatus Pallas. Fish Physiol. Biochem. 36: 1. 39-43.
14. Evans, D.H., Claiborne, J.B., and Currie, S. eds. 2013. Fish Physiol. CRC press.
15. Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J.V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Matos, P., and Fontaínhas-Fernandes, A. 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. Pesqui. Vet. Bras. 27: 3.103-109.
16. Fanta, E., Rios, F.S.A., Romão, S., Vianna, A.C.C., and Freiberger, S. 2003. Histopathology of the fish Corydoras paleatus contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. Ecotoxicol. Environ. Saf. 54: 2. 119-130.
17. Carnevali, O., Maradonna, F., and Gioacchini, G. 2017. Integrated control of fish metabolism, wellbeing and reproduction: the role of probiotic. Aquac. Res. 472: 144-155.
18. Matty, A.L. 1985. Fish Endocrinology, croom Helm london, 160p.
19. Lee, W.K., and Yang, S.W. 2002. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass Lateolabrax maculatus (Jeom-nong-eo). Aquac. Res. 207: 1-2. 169-183.
20. Habibi, H.R. 2002. Fish Reproduction Physiology Workshop, Rasht.
21. Zhou, Y., Li, S., Pang, Q., and Miao, Z. 2020. Bacillus amyloliquefaciens BLCC1-0238 can effectively improve laying performance and egg quality via enhancing immunity and regulating reproductive hormones of laying hens. Probiotics Antimicrob. 12: 1. 246-52.
22. Zhao, S., Zhang, K., Ding, X., Celi, P., Yan, L., and Bai, S. 2019. The impact of dietary supplementation of different feed additives on performances of broiler breeders characterized by different egg-laying rate. Poult. Sci. 98: 11. 6091-9.
23. Carnevali, L., Krug, B., Amant, F., Van Pee, D., Gérard, V., De Béthune, X., and Spinewine, A. 2013. Performance of the adverse drug event trigger tool and the global trigger tool for identifying adverse drug events: experience in a Belgian hospital. Ann. Pharmacother. 47: 11. 1414-1419.
24. Watanabe, T., and Kiron, V. 1995. Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream. Broodstock management and egg and larval quality. pp. 154-195.
25. Bromage, N.R. 1995. Broodstock management and seed quality-general considerations. Brood-stock management and egg and larval quality. pp. 1-24.
26. Gioacchini, G., Maradonna, F., Lombardo, F., Bizzaro, D., Olivotto, I., and Carnevali, O. 2010a. Increase of fecundity by probiotic administration in zebrafish (*Danio rerio*). Reprod. 140: 6. 953-959.
27. Gioacchini, G., Bizzaro, D., Giorgini, E., Ferraris, P., Sabbatini, S., and Carnevali, O. 2010b. Oocytes maturation induction by *Lactobacillus rhamnosus* in *Danio rerio*: in vivo and in vitro studies. Hum. Reprod. 25: I205-I206.
28. Gioacchini, G., Giorgini, E., Ferraris, P., Tosi, G., Bizzarro, D., Silvi, S., and Carnevali, O. 2010c. Could probiotics improve fecundity *Danio rerio* as case of study. J. Biotechnol. 150: 59-60.
29. Gioacchini, G., Lombardo, F., Merrifield, D.L., Silvi, S., Cresci, A., Avella, M.A., and Carnevali, O. 2011. Effects of probiotic on zebrafish reproduction. J. Aquac. Res. Dev. S. 1.
30. Sadani, A., Safari, R., Imanpour, M.R., and Jafar Nodeh, A. 2018. Effect of dietary administration of Lactobacillus casei on reproduction related genes expression (Vitellogenin and Estrogen Receptor) in female zebrafish (*Danio rerio*). Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources.
31. Rahman, M.L., Akhter, S., Mallik, M.K.M., and Rashid, I. 2018. Probiotic enrich dietary effect on the reproduction of butter catfish, *Ompok pabda* (Hamilton, 1872). Int. J. Curr. Res. 7: 2. 866-873.