

اثر غذای خشک غنی شده با ترکیب عصاره‌های گیاهی بر القای تغییر جنسیت و زنده‌مانی بچه‌ماهی جنگجوی سیامی (*Betta splendens*)

عرفان علیانپور^۱، عبدالمحمد عابدیان کناری^{۱*}، نگار توکلی زانیانی^۱، آرش استقلالیان^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، ایران

۲- مزرعه ماهیان زینتی موج سبز، قلعه نو، ری، تهران، ایران

چکیده

در ماهی جنگجوی سیامی (*Betta splendens*) جنس نر نسبت به جنس ماده برتری ظاهری و ارزش اقتصادی بالاتری دارد. یکی از روش‌های نوین و دوست‌دار محیط زیست جهت رسیدن به جمعیت غالب نر در این ماهیان و القای تغییر جنسیت استفاده از عصاره گیاهان است. این مطالعه به بررسی استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی (زنجبیل، خارخاسک و جینسینگ) جهت القای تغییر جنسیت در ماهی جنگجوی سیامی در دوزهای صفر (کنترل)، ۱۵۰ (T₁)، ۳۰۰ (T₂) و ۶۰۰ (T₃) میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک پرداخته است. در انتهای دوره پرورش ۶۰ روزه میزان تغییر جنسیت بررسی گردید. میزان نرسازی در تمامی گروه‌های تیمار نسبت به گروه شاهد بیشتر بود، بین گروه‌های تیمار تفاوت معناداری وجود داشت. بهترین عملکرد نرسازی متعلق به تیمار با دوزهای T₂ و T₃ به میزان به ترتیب ۹۶/۶۷±۲/۳۳ و ۹۶/۹۰±۲/۷۶ درصد بود. کمترین میزان نرسازی متعلق به گروه شاهد به میزان ۴۴/۵۳±۴/۷۱ بود. بالاترین میزان زنده‌مانی در گروه‌های T₁ و T₂ به ترتیب ۱۰۰ و ۹۸/۸۹±۱/۹۲ درصد و کمترین میزان زنده‌مانی در تیمار T₃ به میزان ۶۸/۸۹±۵/۰۹ درصد ثبت شد. به‌طور کلی بهترین عملکرد در میزان نرسازی و نرخ زنده‌مانی در گروه T₂ با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک مشاهده شد.

کلیدواژه‌ها: ماهی جنگجوی سیامی، تغذیه ماهی، عصاره‌های گیاهی، تغییر جنسیت، زنده‌مانی

مقدمه

صنعت ماهیان زینتی به عنوان بخشی پویا از آبرزی پروری، سهم قابل توجهی در اقتصاد جهانی ایفا می‌کند. به گزارش FAO در سال ۲۰۲۳ صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی حدود ۱۵ درصد از سهم آبرزی پروری را شامل می‌شود که همچنان نرخ تولید این دسته از ماهیان روند صعودی دارد. طبق آخرین داده‌های موجود تولید ماهیان زینتی در سطح جهانی روند رو به رشدی داشته است؛ دلیل اصلی این رشد افزایش تقاضا در بازار جهانی آبریان زینتی خانگی و افزایش سرمایه‌گذاری‌های بخش‌های دولتی و خصوصی در این صنعت بوده است. تولید ماهیان زینتی طی دهه گذشته سالانه حدود ۵ تا ۷ درصد رشد داشته است به نحوی که تولید جهانی ماهیان زینتی به بیش از ۴۰۰ میلیون قطعه در سال رسیده است. (FAO, 2023). در میان گونه‌های پرطرفدار، ماهی جنگجوی سیامی (*Betta splendens*) به دلیل ویژگی‌های ظاهری منحصر به فرد، جایگاه ویژه‌ای دارد؛ به طوری که ارزش اقتصادی جنس نر به دلیل رنگ آمیزی و باله‌های برجسته، می‌تواند چندین برابر جنس ماده باشد (Monvises et al., 1997; Piferrer & Lim, 2009). در راستای افزایش بهره‌وری، دستیابی به جمعیت‌های تک‌جنس نر یکی از راهبردهای کلیدی در این صنعت است. روش‌های سنتی جهت القای تغییر جنسیت عمدتاً بر پایه استفاده از هورمون‌های استروئیدی یا مهار آنزیم آروماتاز استوارند (Kipourous et al., 2011). با این حال، استفاده از این ترکیبات با چالش‌هایی نظیر نرخ بالای تلفات و آلودگی‌های زیست‌محیطی همراه است (Piferrer, 2001). این محدودیت‌ها، ضرورت شناسایی جایگزین‌های ایمن و دوست‌دار محیط‌زیست را بیش از پیش نمایان می‌سازد. در همین

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۰

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۵/۰۳/۲۰

*نویسنده مسئول:

aabedian@modares.ac.ir

راستا، استفاده از ترکیبات گیاهی با منشأ طبیعی به دلیل دارا بودن فیتواستروژن‌ها و مواد مؤثره محرک تولید تستوسترون، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Janalizadeh et al., 2019). عصاره‌هایی نظیر زنجبیل (*Zingiber officinale*)، خارخاسک (*Tribulus terrestris*) و جینسینگ (*Panax notoginseng*) با کاهش فعالیت آنزیم آروماتاز، پتانسیل بالایی در تغییر جنسیت دارند (Moharram & Sagheer, 2017). خارخاسک با دارا بودن ساپونین‌های استروئیدی به‌ویژه پروتودیوسین، نقش کلیدی در تنظیم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و القای نرینه‌سازی دارد. در کنار آن، زنجبیل با دارا بودن فنول‌هایی همچون جینجرول و شوگانول، ضمن حمایت از سطح هورمونی، با خواص آنتی‌اکسیدانی و تعدیل سیستم ایمنی، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. در نهایت، جینسینگ با جینسنوزیدها، علاوه بر تقویت سیستم عصبی و غدد درون‌ریز، با بهبود وضعیت متابولیک و ایمنی، اثربخشی ترکیب را تکمیل می‌کند. ترکیب این سه گیاه با بهره‌گیری از مکانیسم‌های هم‌افزا، رویکردی پایدار را فراهم می‌آورد که نه تنها بر القای نرینه‌سازی متمرکز است، بلکه با بهبود سلامت عمومی، کاهش استرس و افزایش نرخ زنده‌مانی، موجب بهبود مدیریت تولید آبزیان می‌شود (Chakraborty & Hancz, 2011; Korkmaz et al., 2017). علی‌رغم مزایای ذکر شده، تحقیقات محدودی در زمینه بهره‌گیری از ترکیب عصاره‌های گیاهی در غنی‌سازی غذای لاروهای ماهی جنگجوی سیامی صورت گرفته است. با توجه به اهمیت اقتصادی این گونه، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کارایی استفاده از ترکیب عصاره‌های فوق در غنی‌سازی غذا بر نرخ نرسازی و زنده‌مانی لاروها در سه دوز آزمایشی طراحی و اجرا گردید. فرضیه اصلی این پژوهش آن است که ترکیبات گیاهی مذکور می‌توانند ضمن ارتقای شاخص‌های زیستی، جایگزینی کارآمد، ایمن و مقرون‌به‌صرفه برای روش‌های هورمونی در صنعت تکثیر و پرورش این ماهی باشند.

مواد و روش‌ها

محل انجام پژوهش

این پژوهش در مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی و غذای زنده آبزیان موج سبز واقع در استان تهران انجام شد. شاخص‌های کیفی آب روزانه اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱- شاخص‌های کیفی آب دوره پرورش

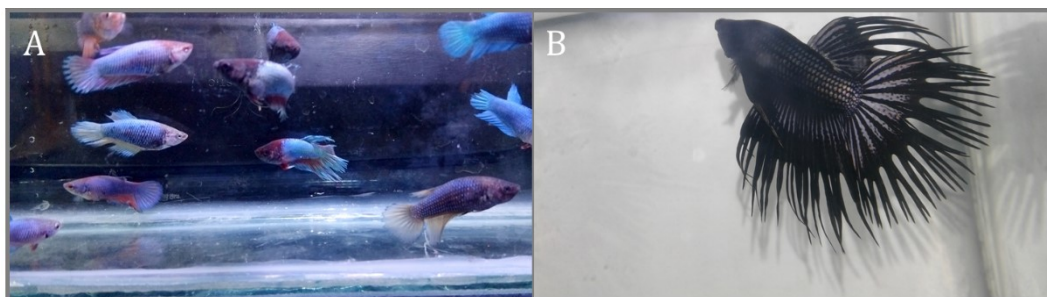
Table 1- Water quality indicators during the cultivation period

ردیف	نوع شاخص	مقدار
1	Temperature	29 ± 1 (°C)
2	TDS (Total Dissolved Solids)	125 ± 10 (ppm)
3	EC (Electrical Conductivity)	260 ± 20 (μS/cm)
4	pH	7.5 ± 0.5
5	(Dissolved Oxygen) DO	6 ± 0.5 (mg/l)
6	Relative Humidity	60 ± 10 (%)

انتخاب مولدین، انجام فرایند تکثیر و آماده سازی بچه ماهیان و شاخص‌های مورد ارزیابی

تعداد ۲۰ قطعه ماهی مولد ماده و ۱۰ قطعه ماهی مولد نر جنگجوی سیامی با میانگین سنی ۴ الی ۶ ماه از کشور مالزی خریداری شد و به مزرعه موج سبز (تهران - ایران) منتقل شد (شکل ۱). تکثیر ماهی جنگجوی سیامی به صورت طبیعی و در ظروف ۱۰ لیتری انجام شد. ابتدا نر به مدت ۲۴ ساعت در مخزن قرار گرفت و سپس ماده به آن اضافه شد. در ابتدا ماهی نر و ماده با استفاده از شبکه‌های توری از یکدیگر جدا شدند، اما برای انتقال فرومون‌های جنسی، آب در بین آنها در انتقال و جریان بود. پس از مشاهده علائم ظاهری مبنی بر تمایل ماهی نر مانند ساخت لانه‌های حبابی، شبکه جدا کننده برداشته شد و ماهیان در کنار یکدیگر قرار گرفتند. پس از اتمام فرایند تخم‌ریزی که بین ۲۴ الی ۳۶ ساعت

به طول انجامید، مولد ماده خارج و مولد نر به مدت ۳-۴ روز از تخمها و لاروهای تازه متولد شده مراقبت کرد. این فرایند به دلیل حساسیت بالا، در یک نوبت و بصورت کاملاً همزمان برای اطمینان از همسن بودن لاروها انجام شد.



شکل ۱- مولدین مورد استفاده در این پژوهش: (A) مولد جنس ماده، (B) مولد جنس نر (تصاویر توسط نگارندگان ثبت شده است)
Figure 1 - Breeders used in this study: (A) Female breeder, (B) Male breeder (Images were taken by the authors)

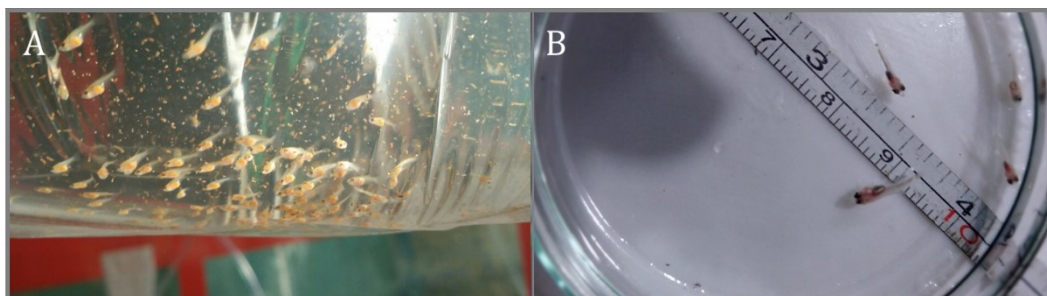
لاروهای تازه متولد شده ۳ الی ۴ روز از کیسه زرده تغذیه کردند و پس از شروع شنای آزاد مولد نر از مخزن خارج شد. همزمان با شنای آزاد لاروهای تغذیه با غذای زنده (آرتیمیا و روتیفر) آغاز شد و حدود ۱۰ روز ادامه داشت. دوره پرورش از سن ۱۵ روزه آغاز و به مدت ۶۰ روز ادامه داشت (شکل ۲). در پایان دوره پرورش میزان تلفات و نرسازی ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت (Forsatkar and et al., 2015).

رابطه ۱- نرخ زنده مانى لاروها در طول دوره پرورش

$$100 \times (\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}) = \text{نرخ زندهمانی (Survival rate)}$$

رابطه ۲- میزان نرسازی

$$100 \times (\text{تعداد تلفات} - \text{تعداد ماهیان ابتدای دوره}) / \text{تعداد ماهی نر} = \text{میزان نرسازی (درصد)}$$



شکل ۲- لاروهای تولید شده: (A) لارو حاوی کیسه زرده، (B) لارو در ابتدای دوره پرورش (تصاویر توسط نگارندگان ثبت شده است).
Figure 2- Produced larvae: (A) larva containing yolk sac, (B) larva at the beginning of the rearing period (images recorded by the authors)

تهیه عصاره‌های گیاهی

مقدار ۱۰۰ گرم از هر یک از گیاهان زنجبیل، خارخاسک و جینسینگ تهیه شد (گیاه کالا بیهق - ایران). پس از خشک شدن در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و آسیاب شدن، به پودر تبدیل شد. سپس با نسبت پنج به یک (پنج قسمت حلال و یک قسمت عصاره گیاهی)؛ اتانول ۷۵ درصد به عنوان حلال به پودرها اضافه گردید و مخلوط به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده

از مگنت مغناطیسی هم زده شد. در ادامه، عصاره با استفاده از کاغذ صافی واتمن و قیف بوخنر صاف گردید. مایع حاصله در دستگاه روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا الکل پرانی انجام شود. عصاره‌های گیاهی حاصله در بالن‌های حجمی درب‌دار اتوکلاو شده ریخته شده، اطراف آن‌ها با فویل آلومینیومی پوشانده شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند (Biwell et al., 2023).

تهیه خوراک حاوی عصاره گیاهی و شرایط غذایی، تیماربندی و نگهداری ماهیان

جهت انجام این پژوهش از غذای خشک تجاری (آغازین SFT00) با متوسط اندازه ۰/۳ تا ۰/۵ میلی‌متر استفاده شد. ترکیب شیمیایی جیره غذایی محاسبه شد و در جدول ۲ نشان داده شده‌است. (AOAC, 2005).

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره غذایی (درصد)

Table 2- Chemical composition of the diet (percentage)

Carbohydrate	ASH	Crude Fat	Crude Protein	Moisture
19	11	13	52	5

کربوهیدرات (%) = (پروتئین + چربی + خاکستر + رطوبت) - ۱۰۰ (Azarm et al., 2013).

$$\text{Carbohydrate (\%)} = (\text{protein} + \text{fat} + \text{ash} + \text{moisture}) - 100 \text{ (Azarm et al., 2013)}$$

برای افزودن ترکیب عصاره‌های گیاهی به خوراک در دوزهای ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم (در هر دوز به نسبت مساوی از هر سه گیاه استفاده شد) بر روی یک کیلوگرم خوراک اسپری شد، در تیمار شاهد برای ایجاد شرایط یکسان در جیره غذایی صرفاً حلال بر روی خوراک اسپری شد و در ادامه بعد از ۴ ساعت قرار دادن خوراک در آون ۴۰ درجه، الکل و رطوبت به صورت کامل حذف گردید (Stewart et al., 2001). جیره غذایی غنی شده عصاره‌های گیاهی طبق تیماربندی صورت گرفته ساخته شد و تا زمان استفاده در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد در جدول ۳ تیمارهای آزمایشی نمایش داده شده است.

جدول ۳- گروه‌های آزمایشی

Table 3- Experimental groups

Dosage of the combination of three plant extracts (mg/kg feed)	Test groups
Without additive	Control (Zero)
150	T1
300	T2
600	T3

در این پژوهش، پس از انجام ۱۰ تکثیر هم‌زمان، مجموعاً ۳۶۰ قطعه لارو هم‌سن به طور تصادفی در ۱۲ مخزن ۱۰ لیتری توزیع شدند. این مخازن شامل یک تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی با دوزهای متفاوت ترکیب عصاره‌های گیاهی بودند که هر تیمار دارای ۳ تکرار بود. دوره پرورش در سن ۱۵ روزه هم‌زمان با شروع تغذیه با غذای خشک آغاز شد. در ۱۵ روز اول، ماهیان صرفاً با آرتمیا در ۴-۵ وعده روزانه تغذیه شدند. پس از آن، طی چند روز، تغذیه به تدریج به غذای خشک تغییر یافت؛ به طوری که غذای تیمار شاهد فاقد افزودنی بود، اما در تیمارهای آزمایشی، ترکیب عصاره‌های گیاهی روی غذای خشک اسپری شد. این رژیم غذایی تا پایان دوره پرورش ادامه یافت و هر سه روز یکبار از آرتمیا

به عنوان مکمل استفاده شد. تعویض روزانه ۳۰ تا ۵۰ درصد آب مخازن انجام شد. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال شد. پس از حدود ۶۰ روز، ماهیان نر از طریق صفات ظاهری اولیه شناسایی شدند (شکل ۳). به دلیل تکامل پیدا نکردن اندام لابیرنت (Labyrinth organ) در این گونه در سنین پایین، ماهیان توانایی دریافت اکسیژن از هوا را نداشته و نیاز اکسیژنی آنها از محیط آبی دریافت می‌شود به همین دلیل مخازن اجتماعی به سیستم هوادهی مجهز شدند اما با افزایش سن و تکامل اندام لابیرنت، مخازن نگهداری انفرادی نیازی به هوادهی ندارند و ماهیان اکسیژن مورد نیاز خود را از هوا دریافت می‌کند. دمای آب نیز در طول دوره پرورش 29 ± 1 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد، در فرایند تکثیر نیز دمای آب بصورت ثابت بر روی ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. (Forsatkar and Nematollahi, 2013).



شکل ۳- ماهیان تولید شده در گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش (تصاویر توسط نگارندگان ثبت شده است).

Figure 3 - Fish produced in experimental groups at the end of the rearing period (images were recorded by the authors)

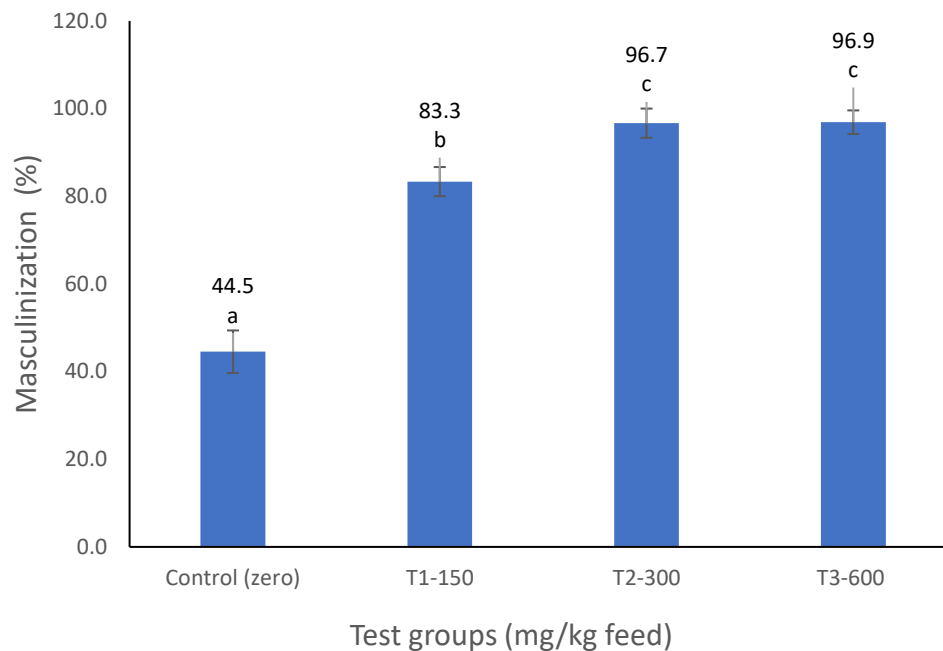
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها در این پژوهش که در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد، از نرم‌افزار آماری SPSS 27 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه One-way ANOVA تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به رشد و سایر پارامترها انجام شد و همچنین اختلاف بین میانگین‌ها، به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد بررسی قرار گرفت. معنی‌داری در همه بررسی‌ها، در سطح ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نرسازی

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش در نرسازی ماهی جنگجوی سیامی، تمامی تیمارهای حاوی ترکیب عصاره‌های گیاهی نسبت به گروه شاهد، موجب افزایش میزان نرسازی شدند (شکل ۴). در گروه شاهد (بدون افزودنی)، میانگین نرسازی برابر با $4/71 \pm 44/53$ درصد بود. در تیمار T1 با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره، میانگین نرسازی $3/33 \pm 83/33$ درصد افزایش یافت. این میزان در تیمار T2 با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره به $3/33 \pm 96/67$ درصد و در تیمار T3 با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم به $2/76 \pm 96/90$ درصد رسید. بیشترین میزان نرسازی در تیمار T3 مشاهده شد. با این حال، تفاوت میانگین نرسازی بین تیمارهای T2 و T3 از نظر آماری معنادار نبود. بطور کلی تمامی تیمارهای حاوی ترکیب عصاره‌های گیاهی در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معناداری در میزان نرسازی نشان دادند ($P < 0/05$). در مجموع نتایج بیانگر آن است که استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌صورت ترکیبی می‌تواند نقش مؤثری در القای تغییر جنسیت در ماهی زینتی جنگجوی سیامی داشته باشد.

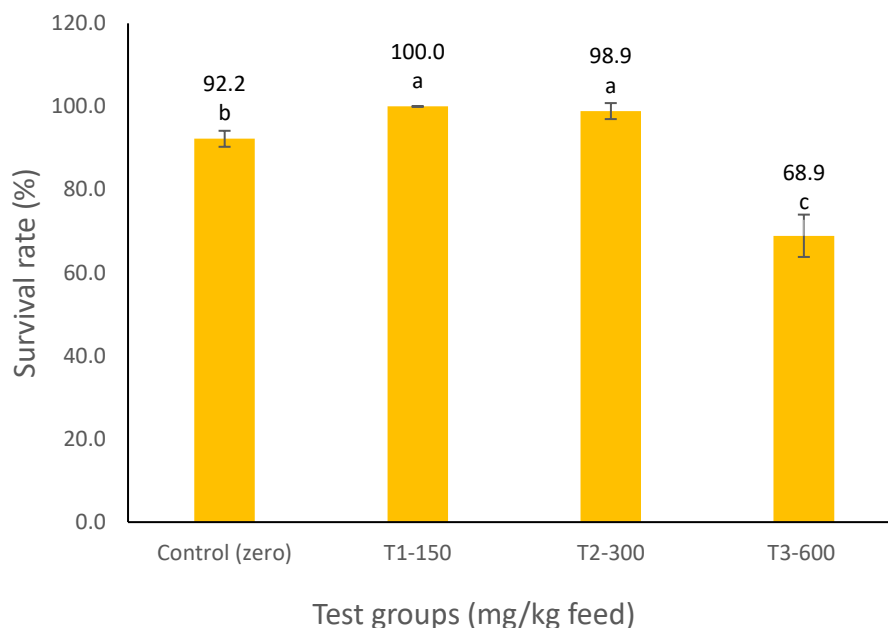


شکل ۴- میانگین میزان نرسازی ماهیان. میزان نرسازی در پایان دوره پس از مصرف ترکیب عصاره‌های گیاهی در دوزهای ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان دهنده وجود اختلاف معنادار در بین تیمارها است

Figure 4- Average masculinization rate of fish. Masculinization rate at the end of the period after consuming the herbal extract combination at doses of 0, 150, 300, and 600 mg/kg feed (mean $\pm$ standard deviation). Different letters indicate significant differences among treatments

زنده‌مانی

نتایج بررسی در صد زنده‌مانی نشان داد که تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری بر میزان زنده‌مانی ماهی جنگجوی سیامی داشتند. میانگین نرخ زنده‌مانی در تیمارها به ترتیب در T₁ برابر ۱۰۰ در صد، در T₂ برابر $98/89 \pm 1/92$ در صد، در گروه شاهد برابر با $92/22 \pm 1/92$ در صد و در گروه T₃ برابر با $68/89 \pm 5/09$ بود. تیمارهای T₁ و T₂ در یک گروه آماری قرار گرفتند و بین آن‌ها اختلاف معناداری مشاهده نشد، اما هر دو نسبت به T₃ و تا حدی نسبت به شاهد، درصد زنده‌مانی بالاتری نشان دادند. تیمار T₃ کمترین میزان زنده‌مانی را داشت و با سایر تیمارها تفاوت معنادار نشان داد. (شکل ۵). نتایج به دست آمده از در صد زنده‌مانی نشان می‌دهد که استفاده از عصاره‌های گیاهی در دوزهای بالا و غیر بهینه علی‌رغم اینکه باعث بروز نرسازی می‌شود؛ نرخ تلفات نیز افزایش می‌دهد و در روش استفاده از این عصاره‌های گیاهی به منظور رسیدن به درصد بالای نرسازی می‌بایست دوز بهینه استفاده شود.



شکل ۵- میانگین میزان درصد زنده مانی. میزان زنده مانی در پایان دوره پس از مصرف ترکیب عصاره‌های گیاهی در دوزهای ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک (انحراف معیار $\pm$ میانگین). حروف انگلیسی متفاوت، نشان دهنده وجود اختلاف معنادار در بین تیمارها است.

Figure 5- Average survival rate. Survival rate at the end of the period after consuming the herbal extract combination at doses of 0, 150, 300 and 600 mg/kg feed (mean $\pm$ standard deviation). Different letters indicate significant differences among treatments

بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی درصد ماهیان نر (نرسازی) نشان داد که استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی تأثیر معناداری در جهت نزدیک کردن نسبت جنس به سمت نر دارد. همان‌طور که داده‌ها نشان می‌دهند، بیشترین میزان نرسازی متعلق به تیمار T_2 و T_3 با میانگین میزان نرسازی به ترتیب $96/67 \pm 3/33$ درصد و $96/90 \pm 2/76$ درصد است که اختلاف آماری معناداری با یکدیگر نداشتند ($P < 0/05$). کمترین میزان نرسازی متعلق به گروه شاهد به میزان $44/53 \pm 4/71$ درصد و تیمار T_1 به میزان $83/33 \pm 3/33$ درصد بود که با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معناداری نداشتند ($P < 0/05$). در این تحقیق هیچ کدام از دوزهای عصاره‌های گیاهی نتوانست نرسازی ۱۰۰ درصدی داشته باشد. در مطالعه (Cek and et al., 2007) اثر نرسازی با گیاه خارخاسک بر روی ماهی گوپی مورد ارزیابی قرار گرفت که بالاترین میزان نرسازی ۸۰ درصد گزارش شد، همچنین در یافته‌های پژوهش (Janalizade and et al., 2019; Arfah and et al., 2013) که از گیاهان به‌عنوان مواد تغییر جنسیت در ماهی استفاده شده است نیز نرسازی ۱۰۰ درصدی صورت نگرفت که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. اما با این حال استفاده از گیاهان در دوزهای بالاتر ممکن است نتایج نزدیک‌تر به ۱۰۰ درصد نرسازی را مانند روش استفاده از هورمون‌های شیمیایی در پی داشته باشد (Kipoiros and et al., 2011; Pandian and Kavumpurath, 1995). نتایج تأیید می‌کند که عصاره‌های گیاهی در شرایط مناسب توان تحریکی نزدیک به هورمون سنتتیک را برای القای صفات جنسی نر دارند. این اثرات ترکیبی ممکن است به سبب وجود ترکیبات زیست فعال متفاوت در گیاهان مختلف باشد که بر مسیرهای هورمونی و آنزیم‌هایی مانند آروماتاز تأثیر می‌گذارند. به‌عنوان مثال، عصاره‌های گیاهی ممکن است دارای فیتواستروژن‌ها یا مهارکننده‌های آروماتاز باشند که تولید استروژن را کاهش داده و به افزایش هورمون‌های مردانه کمک کنند.

همچنین ممکن است عصاره‌ها باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های آندروژن یا تسهیل در فعالیت هورمونی مردانه شوند (Sahin and Duru, 2010).

نتایج حاصل از بررسی شاخص زنده‌مانی نشان داد که تیمارهای حاوی ترکیب عصاره‌های گیاهی تأثیر مثبت و معناداری بر زنده‌مانی ماهیان داشتند به‌ویژه تیمار T_1 با ثبت ۱۰۰ درصد زنده‌مانی که بالاترین میزان زنده‌مانی را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. رتبه دوم به تیمار T_2 با میزان $98/89 \pm 1/92$ درصد ثبت شد این در حالی است که تیمار T_3 کمترین میزان زنده‌مانی را به خود اختصاص داد ($68/89 \pm 5/09$ درصد) و در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت ($P < 0/05$). نتایج به‌دست‌آمده از تیمار شاهد نیز نشان داد که اگرچه میانگین زنده‌مانی در این گروه ($92/22 \pm 1/92$ درصد) نسبتاً مطلوب بود، اما همچنان به طور معناداری پایین‌تر از تیمارهای T_1 و T_2 قرار گرفت. بهبود شاخص زنده‌مانی در تیمارهای غنی‌شده با عصاره‌های گیاهی می‌تواند ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی، ایمنی‌زایی و ضد استرس این ترکیبات باشد که در مطالعات متعددی بر آبریان گزارش شده‌است. برای مثال Arshad و همکاران (2023) نشان دادند که افزودن زنجبیل به جیره غذایی کپور معمولی منجر به بهبود زنده‌مانی و کاهش حساسیت به استرس محیطی شد. همچنین (Lin and et al., 2025)، گزارش کردند که استفاده از مکمل جینسینگ در تغذیه *Pelteobagrus fulvidraco* سبب ارتقای وضعیت سلامت عمومی، بهبود شاخص‌های ایمنی و افزایش نرخ زنده‌مانی گردید. افزون بر این، اثرات مثبت استفاده هم‌زمان از چند گیاه دارویی بر تقویت زنده‌مانی و سلامت لاروها پیش‌تر در مطالعات مختلفی به اثبات رسیده است (Ahmad and et al., 2024) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. در خصوص تیمار T_3 با وجود اینکه از نظر میزان نرسازی، نتایج مطلوبی در این گروه مشاهده شد اما بررسی شاخص زنده‌مانی نشان می‌دهد که دوز مورد استفاده در این تیمار دوز بهینه نیست و باعث بروز تلفات در ماهیان شده است. در مجموع بررسی زنده‌مانی ماهیان نشان داد استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی در دوز بهینه نقش مؤثری در ارتقای زنده‌مانی ماهی جنگجوی سیامی دارد. به نظر می‌رسد که هم‌افزایی بین ترکیبات فعال موجود در گیاهان می‌تواند اثرات حفاظتی قابل توجهی بر روی عملکرد شاخص زنده‌مانی ماهیان جنگجوی سیامی داشته باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی می‌تواند نرخ نرسازی قابل توجهی در بچه ماهیان جنگجوی سیامی در زمان استفاده از غذای خشک به همراه داشته باشد، علاوه بر این؛ استفاده از عصاره‌های گیاهی در دوز بهینه باعث افزایش نرخ زنده‌مانی در بچه ماهیان جنگجوی سیامی شده است اما می‌بایست به این موضوع توجه داشت که به‌کارگیری از ترکیب عصاره‌های گیاهی دارای محدودیت دوز است همان‌طور که در نتایج این پژوهش به‌دست آمد بهترین دوز برای استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک است؛ دوزهای بالاتر (۶۰۰ میلی‌گرم) باعث بروز تلفات شد و همچنین دوزهای پایین‌تر (۱۵۰ میلی‌گرم) نرخ نرسازی کمتری را به همراه داشت. بر پایه این نتایج استفاده از ترکیب عصاره‌های گیاهی در دوز بهینه برای القای نرسازی در بچه ماهیان جنگجوی سیامی توصیه می‌گردد. جهت کاربرد علمی می‌بایست دوزهای مورد مطالعه در سنین پایین‌تر و با استفاده از غنی‌سازی غذای زنده (آرتمیا و روتیفر) به‌عنوان غذای اولیه و تأثیر آنها بر روی پارامترهای رشد در این گونه تعیین شود. تا دوزهای مؤثر و فرمولاسیون‌های ایمن و اقتصادی پیشنهاد گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از عوامل مزرعه موج سبز (تهران - ایران) که در جهت انجام این پژوهش، یاری‌رسان بودند، کمال تشکر را دارند.

تأییدیه اخلاقی: این پژوهش با شناسه اخلاق MIR.MODARES.AEC.1403.044 دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: هزینه‌های انجام این پژوهش از طریق مزرعه موج سبز (تهران - ایران) فراهم شده است.

سهم نویسندگان: عرفان علیانپور: ارائه طرح پژوهش، نمونه‌برداری، انجام دادن کارهای آزمایشگاهی، تجمیع و تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش نسخه اولیه مقاله، ویرایش و تصحیح نسخه نهایی مقاله. عبدالمحمد عابدیان کناری: استاد راهنما، طراحی پژوهش، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش، تصحیح و ویرایش نسخه نهایی مقاله. نگار توکلی زانیانی: انجام کارهای آزمایشگاهی، نمونه‌برداری، فراهم آوردن داده، تجزیه و تحلیل داده‌ها. آرش استقلالیان: همکار پژوهشی، فراهم نمودن ملزومات پژوهش، ویرایش و بررسی نسخه نهایی مقاله.

منابع

1. Ahmad, I., Irm, M., Ahmed, I., Haoran, Y., Taj, S., Bhat, T. A., Khan, S. K., Puswal, S. M., Khalil, H. S., Sopjani, M., & Peres, H. (2024). Role of ginger in fish nutrition with special emphasis on growth, health, gut and liver morphology. *Journal of the World Aquaculture Society*, 55(6), Article e13101.
2. AOAC. (2005). Official methods of analysis of the AOAC International (18th ed.). AOAC International.
3. Arfah, H., Tri, S. D., & Asep, B. (2013). Maskulinisasi Ikan Cupang (*Betta splendens*) Melalui Perendaman Embrio dalam Ekstrak Purwoceng (*Pimpinella alpina*). *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Jurnal Akuakultur Indonesia*, 12(2), 144–149.
4. Arshad, M. U., Pandey, A., Holeyappa, S. A., & Mandal, A. (2023). Efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) supplemented diet on growth, proximate composition and haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio* fingerlings. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 23(1), 143–150.
5. Azarm, H. M., Kenari, A. A., & Hedayati, M. (2013). Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture Research*, 44(4), 634–644.
6. Bitwell, C., Indra, S.S., Luke, C., & Kakoma, M.K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585.
7. Cek, S., Turan, F., & Atik, E. (2007). The effects of Gokshura, *Tribulus terrestris* on sex reversal of guppy, *Poecilia reticulata*. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 10(5), 718–725.
8. Chakraborty, S. B., & Hancz, C. (2011). Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture*, 3(3), 103–119.
9. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2023). The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2022 – Sustainable fisheries and aquaculture for food security and nutrition. Rome: FAO.
10. Forsatkar, M. N., & Nematollahi, M. A. (2013). Effect of incubation temperature on the embryonic and larval development of the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Scientific – Research Journal of Animal Environment*, 5(1), (in Persian).
11. Forsatkar, M. N., Nematollahi, M. A., & Majazi Amiri, B. (2015). Nonviolent behaviors and testosterone concentrations in warrior fish (*Betta splendens*) following exposure to fluoxetine. *Shilat. Iranian Journal of Natural Resources*, 32–45, (in Persian).

12. Janalizadeh, E., Manoucheri, H., & Changizi, R. (2019). A comparison with *Tribulus terrestris* extract fish immersion and bioencapsulation of enriched artemia on sex reversing of fighter fish (*Betta splendens*). Journal of Survey in Fisheries Sciences, 5(2), 89–87.
13. Janalizadeh, E., Manoucheri, H., & Changizi, R. (2019). A comparison with *Tribulus terrestris* extract fish immersion and bioencapsulation of enriched artemia on sex reversing of fighter fish (*Betta splendens*). Journal of Survey in Fisheries Sciences, 5(2), 89–87.
14. Kipouros, K., Paschos, I., Gouva, E., Ergolavou, A., & Perdikaris, C. (2011). Masculinization of the ornamental Siamese fighting fish with oral hormonal administration. ScienceAsia, 37(3), 277–280.
15. Kipouros, K., Paschos, I., Gouva, E., Ergolavou, A., & Perdikaris, C. (2011). Masculinization of the ornamental Siamese fighting fish with oral hormonal administration. ScienceAsia, 37(3), 277–280.
16. Korkmaz, A., Acar, U., Yilmaz, S., Duman, M., & Hancz, G. (2017). Effects of dietary ginseng (*Panax ginseng*) extract on growth performance, immune response and disease resistance of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). Fish and Shellfish Immunology, 60, 428–435.
17. Lin, W., Xu, H., Ma, X., Yin, Z., Wang, A., Qiu, J., & Li, M. (2025). Effects of Astragalus–Ginseng dietary supplementation on the growth and stress resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fishes, 10(5), Article 208.
18. Moharram, A., & Al-Sagheer, A. A. (2017). Effect of some medicinal plant extracts on sex reversal in fish: a review. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 5(2), 164–169.
19. Monvises, A., Nuangsaeng, B., Sriwattanarothai, N., & Panijpan, B. (2009). The Siamese fighting fish: well-known generally but little-known scientifically. ScienceAsia, 35(1), 8–16.
20. Pandian, T. J., & Sheela, S. G. (1995). Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture, 138(1–4), 1–22.
21. Piferrer, F. (2001). Endocrine disruption in fish: an overview of the topic and a review of the effects of estrogens and androgens on sex differentiation in fish. Aquaculture, 197(1–4), 29–51.
22. Piferrer, F., & Lim, L. C. (1997). Application of sex reversal technology in ornamental fish culture. Aquarium Sciences and Conservation, 1(2), 113–118.
23. Sahin, A., & Duru, M. (2010). Effects of *Tribulus terrestris* (puncture vine) supplementation on performance and digestive system of broiler chicks. Journal of Agricultural Sciences, 16(4), 271–277.
24. Stewart, A. B., Spicer, A. V., Inskeep, E. K., & Dailey, R. A. (2001). Steroid hormone enrichment of Artemia nauplii. Aquaculture, 202(1–2), 177–181.

The effect of dry feed enriched with plant extracts on the induction of sex reversal and survival of Siamese fighting fish (*Betta splendens*) fry

Erfan Alianpour ¹, Abdolmohammad Abedian Kenari ^{1*}, Negar Tavakoli Zaniani ¹, Arash Esteghlalian ²

1- Aquaculture Department, Natural Resources and Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran

2- Moj Sabz Ornamental Fish Farm, Qale No, Rey, Tehran, Iran

ABSTRACT

In Siamese fighting fish (*Betta splendens*), males exhibit greater phenotypic appeal and higher economic value than females. One of the novel and eco-friendly approaches to achieve a male-dominated population and induce sex reversal is the use of plant extracts. This study investigated the efficacy of a combination of herbal extracts (Ginger, Tribulus and Ginseng) in inducing sex reversal in *Betta splendens* fry at dietary concentrations of zero (control), 150 (T1), 300 (T2) and 600 (T3) mg/kg of feed. At the end of the 60-day rearing period, the sex reversal rate was evaluated. The masculinization rate was higher in all treatment groups compared to the control group, with significant differences observed among the treatments. The highest masculinization performance was observed in groups T₂ and T₃, with rates of $96.67 \pm 3.33\%$ and $96.90 \pm 2.76\%$, respectively. The lowest masculinization rate was recorded in the control group ($44.53 \pm 4.71\%$). Regarding survival, the highest rates were observed in groups T₁ and T₂ (100% and $98.89 \pm 1.92\%$, respectively), while the lowest survival rate was recorded in group T₃ ($68.89 \pm 5.09\%$). In conclusion, the optimal performance in both masculinization rate and survival was achieved in group T₂ (300 mg/kg of feed).

KEYWORDS: *Betta splendens*, Fish Feeding, Herbal extracts, Sex reversal, Survival rate

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 21 March 2026

Revised: 21 April 2026

Accepted: 31 May 2026

ePublished: 10 June 2026

* Corresponding Author:

Email address: aabedian@modares.ac.ir

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513