

## تأثیر درجه حرارت آب بر مدت زمان دوره تخم‌گذاری، شروع تغذیه خارجی، کارایی رشد و بازماندگی لارو ماهی سیچلاید گورخری (*Cichlasoma* *nigrofasciatum*)

علیرضا گلچین منشادی<sup>۱\*</sup>، جمشید شعاع<sup>۱</sup>، محمد ترحمی<sup>۱</sup>

۱- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳

### چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر درجه حرارت آب بر طول دوره انکوباسیون، زمان شروع تغذیه خارجی، میزان رشد و بازماندگی لاروهای سیچلاید گورخری با دو تکرار انجام شد. آزمایش‌ها در چهار گروه ماهیان مولد A، B، C و D با چهار تیمار دمایی ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد، ۲۶-۲۴ درجه سانتی‌گراد، ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد و ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد و با دو تکرار انجام پذیرفت. پس از تخم‌ریزی مولدین تا شش ساعت در آکواریوم‌ها نگه داشته شده و شمارش تعداد کل تخم‌ها تا ۱۲ ساعت پس از مشاهده اولین لاروهای جنینده به کمک یک دوربین عکسبرداری دیجیتال ادامه یافت تا تعداد نهایی لاروهای جنینده مشخص گردد. پرورش لاروها به مدت چهار ماه ادامه یافت و در پایان داده‌های به دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد اگرچه بیشترین درصد افزایش وزن، درصد رشد روزانه و نرخ رشد ویژه مربوط به بالاترین تیمار دمایی (گروه D) بود، اما بیشترین درصد تخم‌گذاری و میزان بازماندگی لاروها در ماهیان گروه C با تیمار دمایی ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. بنابراین دما تأثیر بسیار مهمی بر مدت زمان تخم‌گذاری، مدت زمان جذب کیسه زرده، فاکتورهای رشد و بازماندگی لاروهای سیچلاید گورخری داشته است. به صورتی که افزایش دما سبب افزایش رشد و کاهش مدت زمان تخم‌گذاری و شروع تغذیه خارجی گردید. نتایج بررسی آماری نشان داد بین دما و طول دوره تخم‌گذاری و دما و مدت زمان جذب کیسه زرده و دما و کارایی رشد و دما و بازماندگی لاروها رابطه معنی‌داری وجود دارد. سریع‌ترین آغاز تغذیه خارجی مربوط به گروه A، بالاترین درصد تخم‌گذاری، کمترین میزان فساد تخم و بالاترین درصد بازماندگی لاروها در انتهای دوره مربوط به گروه C بود. بدین ترتیب با توجه به اینکه بیشترین درصد تخم‌گذاری لاروها، کمترین میزان فساد تخم‌ها و بالاترین میزان بقا و ماندگاری لاروها در دمای ۲۸-۲۶ اتفاق افتاد بنظر می‌رسد بهترین دما برای تکثیر ماهی سیچلاید گورخری این دما می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** دما، زمان تخم‌گذاری، تغذیه خارجی، کارایی رشد، لارو سیچلاید گورخری.

## مقدمه

در طبیعت گونه‌های زیادی وجود دارند که از نظر فرم و رنگ چندان زیبا نیستند ولی انسان از طریق گزینش توانسته است انواع نژاد های زیبایی از آن تولید نماید. ماهیان زینتی آب شیرین، از نظر تکثیر به دو گروه تخم‌گذار و زنده‌زا تقسیم می‌شوند خانواده سیچلیده از رده ماهیان استخوانی (Osteichthyes) و زیر رده Actinopterygii و راسته راسته سوف ماهیان (Perciformes) می باشد. این خانواده به عنوان یک نمونه برجسته از تکامل مهره داران است، که بسیاری از ویژگی‌های مربوط به سادگی تکثیر و تخم‌ریزی را در خود دارند. رفتارها و تغییرات فیزیکی ناشی از گونه زایی شدید به طور مؤثری دیده می‌شود. سیچلاید-هایی که در ایران تا کنون قابل تکثیر پرورش بوده عبارتند از سیچلاید گورخری (Cichlasoma nigrofasciatum)، اسکار (Astronotus Ocellatus)، دیسکاس (Symphysodon discus) و آنجل (Pterophyllum scalare). ماهیان خانواده سیچلیده بسیار خشن هستند و دارای روحیه پرخاشگرایانه هستند اما صفت دیگر و برتر این خانواده زیبایی خیره‌کننده بیشتر جنس‌های این خانواده است (شیخیان، ۱۳۸۳). اندازه آنها از کوچک تا متوسط متغیر و شکل بدن آنها از شکل پهن و گرد تا دراز و استوانه‌ای (دوکی شکل) متفاوت است. باله پشتی آنها معمولاً بلند و دارای شعاع‌های سخت و نرم می‌باشد (شیخیان، ۱۳۷۶). مراحل اولیه تکامل ماهیان دوره‌ای بسیار مهم می‌باشد که به طور مستقیم روی رشد و بقاء بچه ماهیان حاصله از این نوزادها تأثیرگذار است. در این میان فاکتورهای مهمی می‌توانند بر روی رشد و بازماندگی بچه ماهیان تأثیرگذار باشند که یکی از مهم‌ترین آنها اثر دما می

باشد. در آبرزی پروری تمایل زیادی به بررسی اثرات این فاکتور بر روی رشد و بازماندگی ماهیان وجود دارد (Brett and Groves, 1979). دما یکی از فاکتورهای کلیدی است که مکانیسم‌های فیزیولوژیکی تمامی ارگانیسم‌ها را کنترل می‌کند. این فاکتور از طریق افزایش یا کاهش فعالیت‌های تحریک‌کنندگی آنزیم‌های هضمی و فعالیت‌های سوخت و سازی در سطوح سلولی فعالیت می‌کند (Hochachka and Somero, 1984). دما موجب حفظ رابطه مستقیم میان مقادیر رشد و سایر عملکردهای بدن مانند تنفس، مصرف غذا و دفع می‌شود (Prosser, 1991). این فاکتور از طریق تأثیر بر نرخ جذب کیسه زرده، کارایی تبدیل غذا، نرخ مصرف غذا و متابولیسم بر روی رشد ماهیان تأثیر می‌گذارد. زمانی که دما در دامنه‌های اپتیمم قرار داشته باشد، مصرف غذا و رشد نیز افزایش می‌یابد و با افزایش دما در دامنه‌های بالاتر از مقادیر اپتیمم، کاهش شدیدی در مقادیر رشد مشاهده می‌گردد (Jobling, 1997; McCarthy et al., 1999). اثرات دما در تمامی مراحل زندگی موجودات قابل اهمیت می‌باشد. بررسی‌های متعدد نشان داده که دمای انکوباسیون و دمای محیط پرورش لارو می‌تواند رشد و تکامل ماهیان را تحت تأثیر قرار دهد به طوری که انکوباسیون تخم‌ها در دماهای بالا موجب سرعت بخشیدن به زمان تخم‌گشایی می‌شود (Calvo and Johnston, 1992; Vieira and Johnston, 1996). (Johnston et al., 1998; Galloway et al., 1999). دما پس از تخم‌گشایی و ظهور لاروها نیز بر زمان جذب کیسه زرده، شروع تغذیه خارجی و رشد ماهیان مؤثر است به طوری که مدت زمان عبور از تغذیه داخلی به تغذیه خارجی به دما و گونه ماهی وابسته است.

مدت ۶ هفته به بررسی اثرات دماهای مختلف بر روی رشد ماهی کلمه انجام پذیرفت. آزمایشات در ۴ تیمار ۲۶، ۲۸، ۳۰ و ۳۲ با ۳ تکرار صورت گرفت و مشخص گردید که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر وزن و طول بدن بچه ماهیان کلمه اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد به طوری که بیشترین افزایش وزن و طول را بچه ماهیان کلمه در تیمار با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد داشتند. همچنین اختلاف معنی‌داری در میزان ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، رشد مطلق روزانه، ضریب چاقی و بازماندگی مشاهده شد. جلالی و همکاران (۱۳۸۸) نیز به منظور بررسی اثر درجه حرارت آب بر طول دوره انکوباسیون، زمان شروع تغذیه خارجی، میزان رشد و بازماندگی لاروهای تاس ماهی ایرانی در سه دمای مختلف دریافتند که مدت زمان انکوباسیون تخم‌ها در تیمار با دمای ۲۰/۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. وزن لاروها در زمان تفریح اختلاف آماری معنی‌را بین گروه‌ها نشان نداد. همچنین پایین‌ترین زمان شروع تغذیه خارجی در لاروها به ترتیب مربوط به دمای ۱۴/۵ و ۲۰/۵ درجه سانتی‌گراد بود.

با توجه به تعداد و تنوع زیاد ماهیان آکواریومی و استفاده از آنها در جهان و سود سرشار ناشی از تجارت این ماهیان، مطالعات و تحقیقات زیادی، در مورد آنها صورت گرفته، ولی متأسفانه در ایران کارهای تحقیقاتی و علمی چندانی در مورد تکثیر و پرورش، انواع ماهیان زینتی انجام نگرفته است. در این تحقیق سعی شده است اثر درجه حرارت بر طول دوره تخم‌گذاری، گشایی، شروع تغذیه خارجی، کارایی رشد و بازماندگی لارو ماهی سیچلاید گوره خری مورد بررسی قرار گیرد.

برخی از گونه‌هایی که در مناطق معتدله زندگی می‌کنند تنها در طی چند روز وارد مرحله تغذیه خارجی می‌شوند در حالی که در گونه‌های نیمه گرمسیری این مدت زمان ممکن است تنها یک روز به طول بیانجامد (Gisbert *et al.*, 2004). تغییرات دمایی می‌تواند اثرات زیادی بر روی میزان بقای تخم‌ها در زمان انکوباسیون (Laurel and Bradbury, 2006) و همچنین بر روی ساختار ژنتیکی آن‌ها (Bradbury *et al.*, 2010) و بازماندگی لاروها بطوری که در نهایت تبدیل به ماهیان بالغی در یک جمعیت شوند، دارد (Houde, 2008). اختلافاتی که میان گونه‌های مختلف ماهیان وجود دارد ضرورت بررسی اثرات دما بر روی تخم و لارو ماهیان در گونه‌های مختلف ماهیان را آشکار می‌سازد (Pena *et al.*, 2010). دما پس از تخم‌گذاری و ظهور لاروها نیز بر زمان جذب کیسه زرده، شروع تغذیه خارجی و رشد ماهیان مؤثر است به طوری که مدت زمان عبور از تغذیه داخلی به تغذیه خارجی به دما و گونه ماهی وابسته است. در تحقیق انجام شده توسط عبداللهمیان و همکاران (۱۳۹۴) تیمارهای غذایی شامل پودر خشک کرم خونی، سیست دکپسوله آرتیمیا و پودر خشک کرم خونی همراه با سیست دکپسوله آرتیمیا بود در سه شرایط دمایی ۲۷، ۲۹ و ۳۱ درجه سانتی‌گراد بر روی رشد و بقا نوزاد فرشته‌ماهی بررسی گردید. یافته‌ها نشان داد حد اکثر میانگین تغییرات طول و وزن (رشد) نوزادان فرشته‌ماهی مربوط به تمار دمایی ۳۱ درجه سانتیگراد و غذای سیست دکپسوله آرتیمیا همراه با کرم خونی خشک پودر شته و حداقل آن مربوط به تیمار دمایی ۲۷ درجه سانتیگراد و غذای سیست دکپسوله آرتیمیا بود. در بررسی دیگری توسط محمد نژاد شמושکی (۱۳۹۱) به

## مواد و روش ها

جهت بررسی تأثیر درجه حرارت آب بر مدت زمان دوره تخم‌گشایی، شروع تغذیه خارجی، کارایی رشد و بازماندگی لارو ماهی سیچلاید گورخری از ۸ عدد ماهی مولد استفاده شد. ماهیان مولد از یک تانک پرورش انتخاب شده بودند و همگی شرایط پرورش مشابهی را از نظر کیفیت آب و تغذیه گذرانده بودند و همگی نتیجه یک تخم‌ریزی بودند. سن آن‌ها ۹ تا ۱۰ ماهگی بود که علاوه بر بلوغ جنسی یکسان سایز و وزن مشابهی نیز داشتند. جهت تغذیه مولدین سیچلاید گورخری در طول دوره تحقیق از پلت‌های سیچلاید، غذای بیومار فرانسه، کرم خونی منجمد و نوزاد زنده آرتمیا استفاده شد. تغذیه نوزادان نیز با آرتمیای تازه هچ شده با اندازه تقریبی ۵۰۰ میکرون، نائوپلی آرتمیا، تخم میگوی آب شور و استارتر پلتی با ۴۰ درصد پروتئین بیومار فرانسه استفاده شد. بدین منظور از هشت جمعیت مولدین جهت شروع تخم‌ریزی طبیعی در چهار دامنه دمایی با اختلاف دو درجه سانتی‌گراد استفاده شد. گروه اول (A) درجه حرارت ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد. گروه دوم (B) درجه حرارت ۲۴ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد. گروه سوم (C) درجه حرارت ۲۶ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد. گروه چهارم (D) درجه حرارت ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد (Gisbert and Williot, 1997). اندازه تمامی آکواریوم‌ها به طول ۱۳۰، عرض ۳۵ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. با قرار دادن یک بخاری با توان ۱۰۰ وات در این محفظه و با توجه به گردش آب در کل تانک امکان یکسان‌سازی شرایط آب فراهم شد. از فیلترهای اسفنجی و سنگهای هوا جهت تهویه و تصفیه آب استفاده شد. هر تانک مجهز به یک دماسنج الکلی و دو

دماسنج برچسبی بود. نوردهی توسط مهتابی ۱۵۰۰ لوکس انجام گرفت. دستگاه مولتی متر ساخت کشور آلمان جهت بررسی درجه حرارت و pH آب استفاده شد تا تمامی این پارامترها در دامنه‌های ایتیمم قرار گیرند. عملیات سیفون کردن آکواریوم‌ها تا زمان تخم‌ریزی هر ۴۸ ساعت یک بار با جا به جایی حجم ۱۰ درصد از آب ادامه داشت. پس از بروز رفتارهای تولید مثلی نظارت‌های دقیق‌تری جهت ثبت زمان تخم‌ریزی انجام گرفت. پس از تخم‌ریزی به تعداد دفعات غذا دهی مولدین افزوده شد و به ۶ بار در ۲۴ ساعت رسید. برای جلوگیری خوردن تخم‌ها توسط والدین عملیات سیفون کردن آب تا ۶ ساعت پس از تخم‌گشایی انجام نگرفت. مولدین تا ۶ ساعت پس از زمان تخم‌گشایی در تانکها نگه داشته شدند تا با رفتارهای حمایتی خود از تخم‌ها نظیر جا به جایی و تمیز نگه داشتن تخمها و یا حتی باد زدن با باله دم‌ی و اکسیژن رسانی بهتر درصد تخم‌گشایی را بالا ببرند. دلیل خارج کردن والدین حذف جیره غذایی آن‌ها از آب‌ها جهت کاهش ضایعات و از بین رفتن خطر خوردن لاروها بود. پس از خارج کردن مولدین عملیات سیفون کردن آب و جا به جایی آن به میزان ۱۰ درصد هر ۲۴ ساعت انجام گرفت (Gisbert and Williot, 1997). پس از تخم‌ریزی شمارش تعداد کل تخم به کمک یک دوربین عکس‌برداری دیجیتال با تهیه عکس‌ها تا ۱۲ ساعت پس از مشاهده اولین لاروهای جنبنده هر ۴ ساعت ادامه یافت تا تعداد نهایی لاروهای جنبنده مشخص گردد. این تعداد بعنوان تعداد تخم‌گشایی معرفی شد. اختلاف بین تعداد کل تخم و تعداد تخم‌گشایی بیانگر تعداد فساد تخم‌ها در هر جمعیت بود. جهت مقایسه تیمارهای مختلف در صد تخم‌گشایی

معیارهای رشد اندازه گیری شده: در پایان آزمایش فاکتورهای رشد و بازماندگی مطابق روش های زیر محاسبه شدند:

تعداد تخم های فاسد شده: تعداد کل تخم ها - تعداد تخم های تفریخ شده

در صد فساد تخم ها:  $\frac{\text{تعداد تخم های فاسد شده}}{\text{تعداد کل تخم ها}} \times 100$

زمان شروع تغذیه خارجی: زمان جذب کیسه زرده توسط ۵۰ درصد تخم ها

مدت زمان جذب کیسه زرده: زمان آغاز تغذیه خارجی - زمان تخم گذاری

حجم توده شناگر:  $\frac{\text{تعداد کل شنای آزاد}}{\text{تعداد کل تخم ها}}$

نرخ رشد ویژه:  $\frac{\text{لگاریتم وزن ثانویه} - \text{لگاریتم وزن اولیه}}{\text{روزهای پرورش}} \times 100$

درصد افزایش وزن بدن:  $\frac{\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$

درصد رشد روزانه:  $\frac{\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}}{\text{روزهای پرورش}} \times 100$

درصد بازماندگی (بقا):  $\frac{\text{تعداد لاروهای ثانویه}}{\text{تعداد لاروهای اولیه}} \times 100$  (De Silva and Anderson, 1995).

### تجزیه و تحلیل آماری

وجود تفاوت آماری معنی دار دما و فاکتورهای مورد بررسی از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از برنامه (One-Way ANOVA) مشخص شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار SPSS 18 در محیط ویندوز رسم شدند.

معین گردید. با توجه به اینکه تفریخ تخم‌ها در زمان های مختلف صورت می گیرد زمان هچ شدن ۵۰ در صد از تخم ها به عنوان زمان تخم‌گذاری در نظر گرفته شد. بر این اساس زمان شمارش لاروهای جنبنده به تعداد ۱۲ ساعت از تخم های اولیه در هر جمعیت ثبت گردید. فاصله زمانی بین زمان تخم ریزی و زمان تخم-گذاری به عنوان طول دوره تخم‌گذاری معرفی گردید. با توجه به اینکه سرعت جذب کیسه زرده در لاروها متفاوت است زمان جذب کیسه زرده توسط ۵۰ در صد از لاروهای اولیه بعنوان زمان تغذیه خارجی آن جمعیت تلقی شد. فاصله زمانی بین زمان تخم‌گذاری و زمان تغذیه خارجی بیانگر مدت زمان جذب کیسه زرده قلمداد شد. نسبت بین تعداد کل شنای آزاد به تعداد تخم‌گذاری بعنوان حجم توده شناگر معرفی شد. جهت تعیین وزن اولیه ابتدا وزن یک سمپل با یک گرم آب توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم گرفته شد. سپس وزن سمپل با ۲۰ عدد از بچه ماهی های جوان چهار هفته پس از زمان تخم ریزی محاسبه شد اختلاف این دو وزن بیانگر وزن ۲۰ عدد از بچه ماهی ها بود که بطور تصادفی انتخاب شده بودند. با تقسیم کردن این وزن بر عدد ۲۰، وزن اولیه لاروها مشخص شد. چهار ماه پس از تخم ریزی وزن ۱۰ عدد از بچه ماهیان جوان جداگانه گرفته شد و میانگین این وزن‌ها به عنوان وزن ثانویه معرفی شد. عملیات شمارش بچه ماهی های جوان نیز جهت تعیین تعداد نهایی در سن ۴ ماهگی ماهی ها گرفته شد. برای مقایسه اثر دماهای مختلف بر میزان بقا از در صد ماندگاری استفاده شد (De Silva and Anderson, 1995).

## نتایج

رسید. کمترین زمان آغاز تغذیه خارجی نیز به گروه D2 و بیشترین آن به گروه A1 تعلق داشت. نرخ رشد ویژه نیز در بین گروه‌های مورد آزمایش تغییر کرد. بیشترین نرخ رشد ویژه مربوط به گروه D3 (۰/۱۸۵) و کمترین مشترکاً متعلق به سه گروه A2، A3 و B1 (۰/۲۹۹) بود. بیشترین میزان درصد افزایش وزن بدن در گروه D2 و D3 به میزان ۲/۶۵ و کمترین میزان آن مربوط به گروه A1 به میزان ۱/۴۹ بود. بازماندگی لاروها نیز بین گروه‌های مورد آزمایش تفاوت داشت. بیشترین میزان بقاء در سن چهار ماهگی در گروه C2 به میزان ۹۱/۲ درصد و کمترین میزان بقاء در سن چهار ماهگی در گروه A3 به میزان ۷۷/۳ درصد مشاهده شد.

نتایج بررسی آزمایش از زمان تخم ریزی مولدین تا لاروهای سن چهار ماهگی نشان داد مدت زمان تفریح تخم‌ها تحت تأثیر میزان دمای انکوباسیون بود به طوری که چهار تیمار دمایی ذکر شده اختلاف با یکدیگر داشتند. کمترین تفریح ۴۸ ساعت و مربوط به گروه D1 و بیشترین زمان تفریح در گروه A2 با ۷۶ ساعت مشاهده شد. تمامی تیمارهای آزمایشی در زمان شروع تغذیه خارجی با توجه به درجه حرارت‌هایی مختلف اختلاف داشتند. طول دوره تغذیه از کیسه زرده و زمان شروع تغذیه خارجی لاروهای ماهی نیز تحت تأثیر میزان دمای آب قرار گرفت به طوری که با افزایش دما، زمان جذب کیسه زرده کاهش یافت و از ۷۱ ساعت در گروه A1 به ۴۸ ساعت در گروه D2

جدول ۱: پارامترهای ثبت شده از زمان تخم ریزی تا لارو سن چهار ماهگی ماهی سیچلاید گورخری تحت تأثیر چهار دمای مختلف در چهار گروه تفکیک شده به همراه دو تکرار

شماره	فاکتور مورد بررسی	گروه A1	گروه A2	گروه A3	گروه B1	گروه B2	گروه B3	گروه C1	گروه C2	گروه C3	گروه D1	گروه D2	گروه D3
۱	درصد تخم‌گشایی	۹۱/۸	۹۰/۳	۹۰/۷	۹۰/۹	۹۲/۱	۹۳/۷	۹۴/۷	۹۶/۳	۹۵/۴	۹۴/۲	۹۱	۹۲/۸
۲	طول دوره تخم‌گشایی (ساعت)	۷۴	۷۶	۷۵	۶۵	۵۹	۶۲	۴۹	۵۳	۵۱	۴۸	۵۱	۴۹/۵
۳	تعداد کل تخم	۱۴۸	۱۵۶	۱۵۲	۱۹۸	۱۶۵	۱۷۷	۱۷۱	۱۳۷	۱۵۴	۱۳۹	۱۶۷	۱۵۳
۴	تعداد تخم‌گشایی	۱۳۶	۱۴۱	۱۳۸	۱۸۰	۱۵۲	۱۶۶	۱۶۲	۱۳۲	۱۴۷	۱۳۱	۱۵۲	۱۴۲
۵	تعداد تخم فاسد	۱۲	۱۵	۱۳	۱۸	۱۳	۱۵	۹	۵	۷	۸	۱۵	۱۱
۶	مدت زمان جذب کیسه زرده (ساعت)	۷۱	۶۷	۶۹	۶۲	۶۵	۶۳	۵۲	۵۶	۵۴	۵۴	۴۸	۵۱
۷	زمان آغاز تغذیه خارجی (ساعت)	۱۴۵	۱۴۳	۱۴۴	۱۲۷	۱۲۴	۱۲۵	۱۰۱	۱۰۹	۱۰۵	۱۰۲	۹۹	۱۰۰/۵
۸	تعداد کل شنای آزاد	۱۳۵	۱۳۷	۱۳۶	۱۶۸	۱۵۰	۱۵۹	۱۵۹	۱۲۹	۱۴۴	۱۲۸	۱۴۹	۱۳۸
۹	حجم توده شناگر	۹۱/۲	۸۷/۸	۸۹/۴	۸۴/۸	۹۰/۹	۸۹/۸	۹۲/۹	۹۴/۱	۹۳/۵	۹۲	۸۹/۲	۹۰/۱
۱۰	درصد افزایش وزن بدن	۱/۴۹	۱/۸۱	۱/۶۵	۱/۷۳	۱/۹۴	۱/۸۳	۱/۹۶	۲/۱۴	۲/۰۵	۲/۴۹	۲/۶۵	۲/۶۵
۱۱	درصد رشد روزانه	۱/۹	۱/۸	۱/۸	۱/۸	۲/۱	۱/۹	۱/۹	۲/۸	۲/۳۵	۲/۶	۲/۸	۲/۷
۱۲	نرخ رشد ویژه	۰/۱۹۵	۰/۱۸۵	۰/۱۸۵	۰/۱۸۵	۰/۲۳۶	۰/۲۳۸	۰/۲۳۸	۰/۲۸۶	۰/۲۵۲	۰/۲۷۴	۰/۲۸۶	۰/۲۹۹
۱۳	تعداد در سن یک ماهگی	۱۲۳	۱۲۷	۱۲۵	۱۶۲	۱۴۲	۱۵۲	۱۵۴	۱۲۷	۱۴۰	۱۲۳	۱۴۲	۱۳۲
۱۴	تعداد در سن ۴ ماهگی	۱۱۸	۱۲۷	۱۱۷	۱۶۱	۱۴۰	۱۵۰	۱۵۳	۱۲۵	۱۳۹	۱۲۰	۱۳۹	۱۲۹
۱۵	درصد ماندگاری لاروها در سن ۴ ماهگی	۷۹/۷	۸۱/۳	۷۷/۳	۸۱/۳	۸۴/۸	۸۲/۹	۸۸/۸	۹۱/۲	۸۹/۹	۸۶/۳	۸۳/۳	۸۴/۶

گروه A: دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد

گروه B: دمای ۲۶-۲۴ درجه سانتیگراد

گروه C: دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتیگراد

گروه D: دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد

جدول ۲: میانگین پارامترهای ثبت شده از زمان تخم‌ریزی تا لارو سن چهار ماهگی ماهی سیچلاید گورخری تحت تأثیر چهار دمای مختلف

شماره	فاکتور مورد بررسی	گروه A	انحراف معیار ±	گروه B	انحراف معیار ±	گروه C	انحراف معیار ±	گروه D	انحراف معیار ±
۱	درصد تخم‌گذاری	۹۰/۹۳	۰/۷۷	۹۲/۲۳	۱/۴	۹۵/۴۶	۰/۸	۹۲/۶۶	۱/۶
۲	طول دوره تخم‌گذاری (ساعت)	۷۵	۱	۵۱	۲	۶۲	۳	۴۹/۵	۱/۵
۳	تعداد کل تخم	۱۵۲	۴	۱۵۴	۱۷	۱۸۰	۱۶/۷	۱۵۳	۱۴
۴	تعداد تخم‌گذاری	۱۳۸/۳۳	۲/۵۱	۱۴۷	۱۵	۱۶۶	۱۴	۱۴۱/۶۶	۱۰/۵
۵	تعداد تخم فاسد	۱۳/۳۳	۱/۵۲	۷	۲	۱۵/۳۳	۲/۵۱	۱۱/۳۳	۳/۵۱
۶	مدت زمان جذب کیسه زرده (ساعت)	۶۹	۲	۵۴	۲	۶۳/۳۳	۱/۵۲	۵۱	۳
۷	زمان آغاز تغذیه خارجی (ساعت)	۱۴۴	۱	۱۰۵	۴	۱۲۵/۳۳	۱/۵۲	۱۰۰/۵	۱/۵
۸	تعداد کل شنای آزاد	۱۳۶	۱	۱۵۹	۹	۱۴۴	۱۵	۱۳۸/۳۳	۱۰/۵
۹	حجم توده شناگر	۸۹/۷۶	۲/۱۷	۸۸/۵	۳/۲۵	۹۳/۵	۶	۹۰/۴۳	۱/۴۲
۱۰	درصد افزایش وزن بدن	۱/۶۵	۰/۱۶	۱/۸۳	۰/۱	۲/۰۵	۰/۰۹	۰/۰۹۲	۲/۵۹
۱۱	درصد رشد روزانه	۱/۸۳	۰/۰۵	۱/۹۳	۰/۱۵	۲/۳۵	۰/۴۵	۲/۷	۰/۱
۱۲	نرخ رشد ویژه	۰/۱۸۸	۰/۰۰۵	۰/۲۱۹	۰/۳	۰/۲۵۸	۰/۲۴	۱/۰۹	۱/۳۸
۱۳	تعداد در سن یک ماهگی	۱۲۵	۲	۱۵۲	۱۰	۱۴۰/۳۳	۱۳/۵	۱۳۲/۳۳	۹/۵
۱۴	تعداد در سن ۴ ماهگی	۱۲۰/۶۶	۵/۵	۱۵۰/۳۳	۱۰/۵	۱۳۹	۱۴	۱۲۹/۳۳	۹/۵
۱۵	درصد ماندگاری لاروها در سن ۴ ماهگی	۷۹/۴۳	۲/۰۱	۸۳	۱/۷۵	۸۹/۹۶	۱/۲	۸۴/۷۳	۱/۵

گروه A: دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد

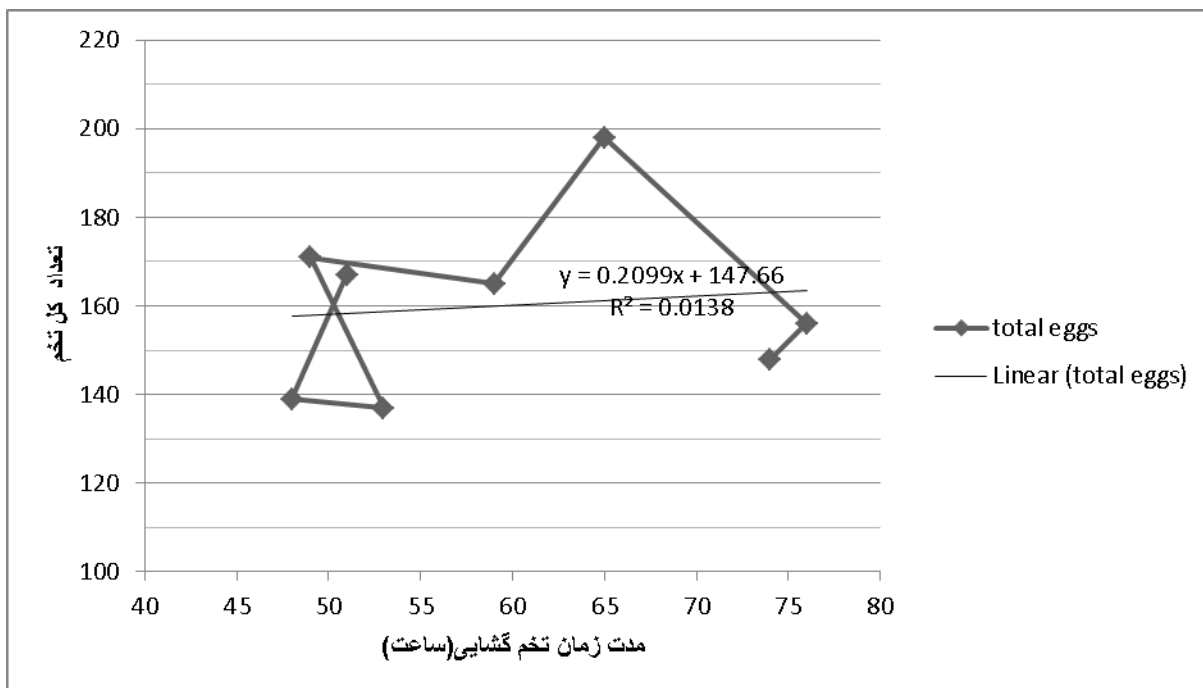
گروه B: دمای ۲۶-۲۴ درجه سانتیگراد

گروه C: دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتیگراد

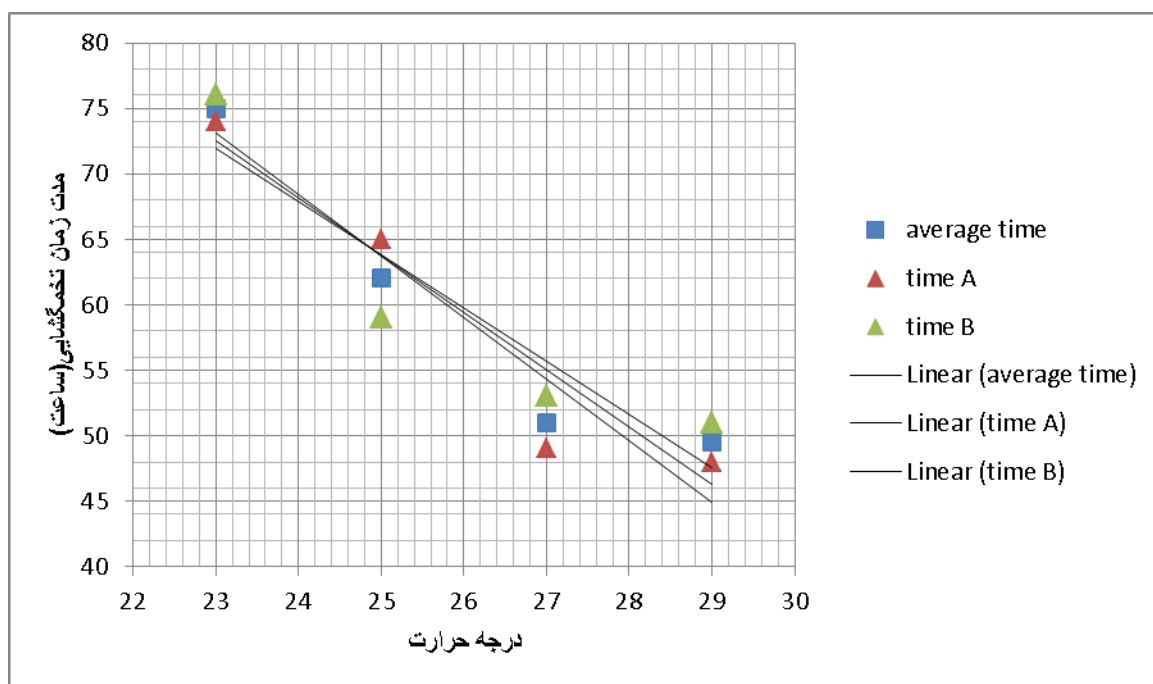
گروه D: دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد

بود. درجه حرارت میانگین هر تیمار و مدت زمان تخم‌گذاری مربوط به جمعیت حد واسط جهت بررسی چگونگی ارتباط استفاده شد.

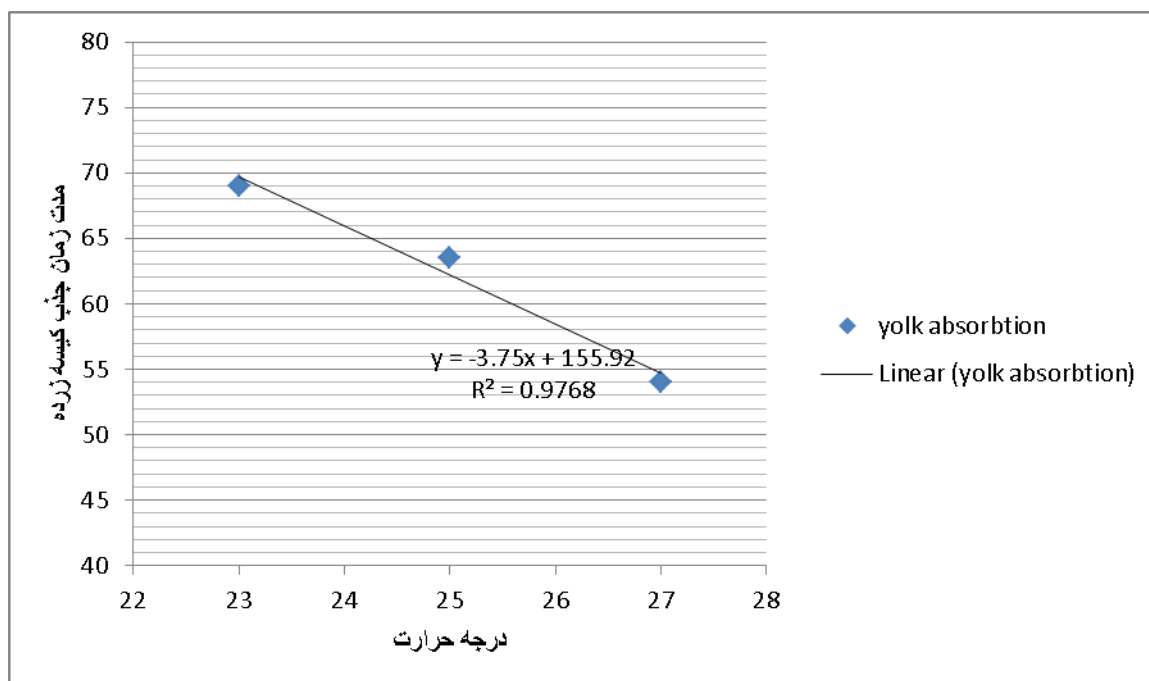
به منظور بررسی اثر درجه حرارت بر طول دوره تخم‌گذاری ابتدا ارتباط بین تعداد کل تخم‌ها و طول مدت تخم‌گذاری مورد بررسی قرار گرفت. ضریب وابستگی تعداد تخم‌ها و طول دوره تخم‌گذاری ۰/۱۳۸



شکل ۱: ارتباط تعداد تخم و مدت زمان تخم‌گذاری



شکل ۲: ارتباط درجه حرارت و مدت زمان تخم‌گذاری



شکل ۳: رابطه بین درجه حرارت و مدت زمان جذب کیسه زرده

تفریح تخم‌های شاه ماهی (*Sprattus sprattus*) که دارای اندازه مشابه بودند (۰/۹۹ میلی متر) در دماهای ۴/۳، ۲/۹، ۱۳/۲، ۱۶/۵ و ۲۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱۱/۵، ۵/۱۷، ۲/۹۵، ۲/۱۷ و ۱/۷۶ روز بود. این میزان در تاربوت (*Scophthalmus maximus*) مشابه (۱/۰۶ میلی متر) در دماهای ۱۲، ۱۰ و ۱۴/۵ درجه سانتیگراد به ترتیب ۹/۵، ۷ و ۵ روز بود. این وضعیت در کفشک ماهی (*Limanda limanda*) در دماهای ۷، ۹ و ۱۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱۲، ۷ و ۵ روز بود (Russell, 1976). بنابراین مشخص می‌شود که با افزایش درجه حرارت آب، طول دوره انکوباسیون کاهش می‌یابد و لاروها در مدت زمان کمتری ظهور پیدا می‌کنند. عبدالباقیان و همکاران (۱۳۹۴) دمای بالاتر از ۲۷ درجه سانتیگراد بر میزان رشد و بازماندگی نوزادان تأثیر مثبت داشته و در دمای ۳۱ درجه سانتیگراد بهترین نتیجه حاصل شد. مرادیان و همکاران (۱۳۹۸) طی یک بررسی در خصوص اثر

نتایج بررسی آماری نشان داد بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه بین دما و طول دوره تخم‌گذاری ( $P=0/04$ ) و دما و مدت زمان جذب کیسه زرده ( $P=0/01$ ) و دما و کارایی رشد ( $P=0/02$ ) و دما و بازماندگی لاروها ( $P=0$ ) رابطه معنی‌داری وجود دارد ( $P \leq 0/05$ ).

## بحث

نتایج نشان داد که درجه حرارت آب یک فاکتور مهم در تکامل مراحل جنینی، میزان رشد و بازماندگی لارو سیچلاید گورخری می‌باشد. افزایش دما منجر به کاهش دوره تکامل جنینی و انکوباسیون شد. ماهیان گروه D که در بالاترین دامنه حرارتی قرار داشتند کمترین زمان تفریح را نشان دادند. محققان مختلف اثرات دما روی مدت زمان انکوباسیون تخم‌های دارای اندازه مشابه را مورد بررسی قرار دادند Thompson و همکاران در سال ۱۹۸۱ نشان دادند که مدت زمان

که روی لارو *Lutris lineata* با تیمارهای ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد بر روی رشد و نمو انجام شد مشخص گردید که بیشترین رشد و نمو در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Choa et al., 2010). به طور کلی نتایج به دست آمده از این بررسی و مطالعات دیگر محققین نشان می‌دهد که دما بر روی سایر فعالیت‌های حیاتی ماهی تاثیرگذار بوده و در یک محدوده دمایی خاص داری بهترین بازده و عملکرد بر فعالیت‌های ماهی می‌باشد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که بهترین دما برای رشد و بقای ماهی سیچلاید گروه خری دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

زمان شروع تغذیه خارجی نیز همانند کوتاه شدن زمان انکوباسیون تخم‌ها و خروج لاروها از تخم و مدت زمان جذب کیسه زرده، کمترین میزان را در لاروهای گروه D نشان داد. می‌توان گفت که افزایش دما منجر به افزایش مصرف ذخایر تخم و کیسه زرده شده و بنابراین ماهیان این گروه در کمترین زمان تخم‌گشایی شده و همچنین به مرحله تغذیه خارجی وارد شدند. داده‌های مربوط به وزن لاروها و فاکتورهای رشد نیز تفاوت قابل توجهی را در دماهای مختلف نشان داد به طوری که وزن لاروها در گروهی که در دمای بالاتری قرار داشتند (گروه D) از سایر گروه‌ها بیشتر بود. از این نظر، لاروهایی که در دمای پایین‌تری قرار داشتند تقریباً نتایجی متضاد با مشاهده شد بروز دادند. همان‌طور که در مورد مدت زمان جذب کیسه زرده گفته شد، افزایش دما باعث افزایش جذب اندوخته‌های غذایی شد و احتمالاً ماهیانی که در دماهای بالا قرار داشتند خیلی سریع اندوخته غذایی خود را مصرف کردند. به طوری که با شدت یافتن میزان جذب در مراحل قبل از شروع تغذیه خارجی دچار

دماهای مختلف انکوباسیون بر تکامل، رشد، بازماندگی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان دریافتند در مراحل مختلف اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از لحاظ میزان بازماندگی مشاهده شد که نشان‌دهنده دماهای بهینه متفاوت در دوره‌های مختلف تکاملی بود. در دوره چشم‌زدگی تا تفریخ دمای ۷ و ۱۱ درجه سانتی‌گراد، در دوره تفریخ تا شروع تغذیه، دمای ۷ درجه سانتی‌گراد و در نهایت در دوره شروع تغذیه تا ۳۰ روز بعد از شروع تغذیه لاروی دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد دمای بهینه بازماندگی بودند. در بررسی دیگری توسط صادقی راد و همکاران (۱۳۹۲) در مورد تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی آب بر میزان بقای بچه ماهیان خاویاری مشخص گردید ارتباط بین غلظت اکسیژن محلول در استخرها و میزان بازماندگی بچه ماهیان معنی‌دار بوده است و کاهش غلظت اکسیژن می‌تواند به عنوان یکی از عواملی باشد که باعث کاهش مقاومت بچه ماهیان شده و آن‌ها را در مقابل عوامل پاتوژن آسیب‌پذیر نماید.

استفاده از غذای مناسب و تنوع در جیره غذایی باعث بهبود رشد و بازماندگی نوزادان می‌شود و جیره غذایی گرم خونی خشک پودر شده به همراه سیست دکپسوله آرتمیا، جیره مناسب برای رشد و بقای نوزادان است. در تحقیق انجام گرفته توسط Bommarito در سال ۲۰۱۱ روند گزینش درجه حرارت توسط ماهی سیچلاید گورخری جهت تخم‌ریزی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که دمای آبی که این ماهی جهت تخم‌ریزی انتخاب می‌کند ۲۷ درجه سانتی‌گراد است که در مقایسه با این تحقیق مطابق با گروه C می‌باشد. ضمن این که هر گونه ماهی داری یک دمای بهینه برای رشد و نمو می‌باشد، به عنوان مثال در مطالعه‌ای

نیز مؤثر بوده است. همچنین با افزایش دما، میزان بقا نیز افزایش می‌یابد و در آکواریوم‌ها با دمای ۳۱ درجه سانتی‌گراد، درصد بقا نسبت به سایر تیمارهای دمایی بیشتر بوده است. همچنین عبدالباقران و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند درصد بقا در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد کمتر از دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، بود که این موضوع به علت نوع تغذیه می‌باشد و آشکار می‌سازد که علاوه بر دما، نوع غذا نیز در میزان بقای نوزادان تأثیر داشته و از تعداد تلفات کاسته است.

با توجه به نتایج حاصل از بررسی حاضر میتوان نتیجه گرفت که اگرچه در دماهای بالاتر (گروه D) میزان رشد لاروها نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بوده است لکن بهترین دما برای تکثیر ماهی سیچلاید گورخری دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد (گروه C) می‌باشد بدلیل اینکه در این گروه بیشترین درصد تخم‌گذاری لاروها، کمترین میزان فساد تخم‌ها و بالاترین میزان بقا و ماندگاری لاروها به ثبت رسیده است.

### سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

### منابع

۱. جلالی، م. ع.، محمدی زرج آباد، ا.، ایمانپور، م.، برامی، ع.، ۱۳۸۸. اثر درجه حرارت آب بر طول دوره تخم‌گذاری، شروع تغذیه خارجی، کارایی رشد و بازماندگی لاروهای تاس با ماندگی لاروهای تاس ماهی ایرانی (*Acipenser*)

کاهش وزن شدند ولی در طی دوره مصرف غذا وزن آنها دوباره افزایش یافت و اختلاف قابل توجهی را در مقایسه با گروهی که در دمای پایین تر قرار داشتند نشان داد. این وضعیت می‌تواند بیانگر افزایش میزان مصرف غذا همراه با افزایش دما در زمان تغذیه از غذای زنده باشد و از این رو افزایش رشد را به دنبال داشت. در همین رابطه، Imsland و همکاران (۲۰۰۷) میزان رشد تاربوت را در دماهای ۱۰، ۱۴، ۱۸ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که میزان جذب غذا و رشد در دمای ۱۸ درجه بیشتر از ۱۰ درجه بود. همچنین در بررسی آنها فعالیت هورمون رشد شبه انسولین (IGF-I) که از جمله هورمون‌های مهم و تأثیرگذار بر میزان رشد می‌باشد همراه با افزایش دما، افزایش یافت و دارای اثرات مثبتی بر مقادیر رشد بود. Li و Leatherland (۲۰۰۷) نیز عملکرد نوزادان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را در دماهای مختلف از زمان انکوباسیون تا زمان جذب کیسه زرده و شروع تغذیه خارجی مورد بررسی قرار داده و بیان کردند که دما دارای اثرات مثبتی بر میزان رشد و فعالیت هورمونی می‌باشد. در این آزمایش اگرچه بررسی‌های آنزیمی و هورمونی مؤثر بر میزان رشد انجام نشد اما احتمالاً عملکرد آنزیم‌های تأثیرگذار بر رشد ماهیان و فعالیت آنها در دماهای مختلف به ویژه در دماهای بالاتر را نمی‌توان نادیده گرفت. از این رو آنالیز چنین ترکیباتی تحت دماهای مختلف و اثرات آنها بر متابولیسم و رشد ماهیان در بررسی‌های آینده ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر دما، تنوع و نوع جیره غذایی در رشد و بازماندگی نوزادان تأثیر بسزایی دارد. دما و نوع غذا در تغییرات طول و وزن نوزادان به طور توأم

- Ruzzante, D.E., Taggart, C.T., Bentzen, P., 2010. Parallel adaptive evolution of Atlantic cod on both sides of the Atlantic Ocean in response to temperature. *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences*, 277, 3725-3734.
10. Brett, J.R., Groves, T.D.D., 1979. Physiological energetics. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (Eds.), *Fish Physiology. Bioenergetics and Growth*, vol. VIII. Academic Press, New York, NY, pp. 279-351.
  11. Calvo, J., and Johnston, I.A., 1992. Influence of rearing temperature on the distribution of muscle fibre types in the turbot *Scophthalmus maximus* at metamorphosis. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, 161, 45-55.
  12. Choa, B.Y., Carter, C.G., Battaglenes, S. C., 2010. Effects of temperature regime on growth and development of post-larval striped trumpeter (*Latris lineata*). *Aquaculture*, 305, 95-101.
  13. De Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. In: *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Hall Press, London, 319p.
  14. Galloway, T.F., Kjorsvik, E., and Kryvi, H., 1999. Muscle growth in yolk-sac larvae of the Atlantic halibut as influenced by temperature in the egg and yolk-sac stage. *Journal of Fish Biology*, 55, 1.26-1043.
  15. Gisbert, E., and Williot, P., 1997. Larval behavior and effect of timing of initial on growth and survival of Siberian sturgeon larvae under small scale hatchery production. *Aquaculture*, 156, 63-76.
  16. Gisbert, E., Conklin, D.B., Piedrahita, R.H., 2004. Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *Journal of Fish Biology*, 64, 116-132.
  17. Hochachka, P.W., Somero, G.N., 1984. *Biochemical Adaptation*. Princeton University Press, New Jersey, 538p.
  18. Houde, E.D., 2008. Emerging from Hjort's shadow. *J. Northw. Atlantic Fisheries Science*, 41:53-70.
  19. Imsland, A.K., Bjornsson, B.T., Gunnarsson, S., Foss, A., and Stefansson, S.O., 2007. Temperature and salinity (*persicus*)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶(۲)، ۳۴-۲۶.
  ۲. شیخیان، م.، ۱۳۷۶. تکثیر و پرورش ماهیهای آکواریومی، انتشارات مهبان، ۸۱-۲۱.
  ۳. شیخیان، م.، ۱۳۸۳. زندگی ماهیان آکواریوم، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۸۳-۱۸.
  ۴. عبدالباقیان، س.، متین فر، ع.، جمیلی، ش.، ۱۳۹۴. اثر دما و غذا بر روی رشد و بازماندگی نوزادان فرشته ماهی (*Pterophyllum scalare*). فصل نامه علوم و تکنولوژی محسط زیست، ۱۷(۲)، ۱۵۱-۱۴۳.
  ۵. صادقی راد، م.، شناور، ع. ر.، جلیل پور، ج.، ارشد، ع.، پورعلی، ح. ر.، ۱۳۹۲. نشریه توسعه آبی پروری، ۱۷(۲)، ۷۲-۶۱.
  ۶. محمد نژاد شמושکی، م.، مازینی، م.، ۱۳۹۱. تعیین دمای مناسب رشد ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*)، فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، ۵(۴)، ۲۷-۱۷.
  ۷. مرادیان، س.ح.، تقی زاده، و.، حسین زاده صحافی، ه.، ایمان پور، م. ح.، کلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۸. اثر دماهای مختلف انکو باسیون بر تکامل، رشد، بازماندگی و برخی شاخص های فیزیولوژیک طی دوره جنینی و لاروی ماهی قزل آلائی رنگین کمان، نشریه توسعه آبی پروری، ۱۳(۱)، ۱۳۹-۱۲۱.
  8. Bommarito, B.G., 2005. Does egg size influence spawning temperature preferences in substrate spawning cichlid fishes. Master of Science, California State University, Sacramento, p.97.
  9. Bradbury I. R., Hubert, S., Higgins, B., Borza, T., Bowman, S., Paterson, I.G., RSnelgrove, P.V., Morris, C.J., Gregory, R.S., Hardie, D.C., Hutchings, J.A.,

- connectivity and MPA size. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science*, 63, 2603–2607.
24. Pena, M., Uriarte, A., Santos, M. and Ibaibarriaga L., 2010. A maximum likelihood method for obtaining incubation temperature of eggs of synchronous spawning fishes. *Fisheries Research*, 103, 9–17.
  25. Prosser, C.L., 1991. Temperature, In: Prosser, C.L. (Ed.), *Comparative Animal Physiology, Environmental and Metabolic Animal Physiology*, 4th edition. Wiley-Liss, New York, pp. 109-165.
  26. Russell, F.S., 1976. The eggs and planktonic stages of British marine fish. Academic press, London, 524p.
  27. Thompson, B.M., Milligan, S.P., and Nichols, G.H., 1981. The development rates of sprat (*Sprattus sprattus* L.) eggs over a range of temperatures. CM 1981/H: 15. Pelagic fish International Council for the Exploration of the Sea. pp. 4-6.
  28. Vieira, V.L.A., Johnston, I.A., 1996. Muscle development in the tambaqui, an important Amazonian food fish. *Journal of Fish Biology*, 49, 842-852.
  - effects on plasma insulin-like growth factor-I concentrations and growth in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 271, 546-552.
  20. Jobling, M., 1997. Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. In: Wood, C.M., McDonald, D.G. (Eds.), *Global Warming: Implications for Freshwater and Marine Fish*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 225-253.
  21. Johnston, I.A., Cole, N.J., Abercromby, M., and Vieira, V.L.A., 1998. Embryonic temperature modulates muscle growth characteristics in larval and juvenile herring (*Clupea harengus*). *Journal of Experimental Biology*, 201, 623-646.
  22. Li, M., Leatherland, J., 2007. Temperature and ration effects on components of the IGF system and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the transition from late stage embryos to early stage juveniles. *General and Comparative Endocrinology*, 155(3), 668-79.
  23. Laurel, B.J., Bradbury, I.R., 2006. “Big” concerns with high latitude marine protected areas (MPAs): trends in