

"مقاله پژوهشی"

تأثیر دفعات غذادهی و نوع رژیم غذایی بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی و بازماندگی لارو فیل ماهی (*Huso huso*)

رضا قربانی واقعی^{*}، ایوب یوسفی جوردهی^۱، ذبیح اله پزند^۱، محمود محسنی^۱، مریم منصف شکری^۱

۱- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۹

چکیده

هدف از انجام تحقیق، تعیین تأثیر دفعات غذادهی بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی و بازماندگی لاروهای فیل ماهی (*Huso huso*) بود. بدین منظور تعداد کل ۱۰۸۰۰ لارو فیل ماهی، ۷ روز پس از تفریح با میانگین وزن 0.048 ± 0.001 گرم، به طور تصادفی در ۳۶ مخزن ۵۰۰ لیتری فایبرگلاس حاوی ۱۰۰ لیتر آب چاه، به مدت ۳۱ روز با تناوب زمانی ۶ و ۱۲ بار در شبانه‌روز با استفاده از غذاهای ناپلی آرتمیا، بیومس آرتمیا، دافنی، لارو کرم شیرونومید و غذای فرموله شده پرورش داده شدند. نتایج نشان داد که، تغذیه لاروها با لارو شیرونومید و یا بیومس آرتمیا به ترتیب توانست موجب افزایش درصد بازماندگی و وزن لاروها گردد. میانگین درصد بازماندگی در روزهای مختلف پس از تخم‌گشایی لاروها در زمان ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در اغلب تیمارها، به‌طور معنی‌داری بیشتر از ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز بود ($p < 0.05$). در مجموع میانگین وزن لاروها در تیمارهای مختلف، در زمان ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز نسبت به ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). در اغلب تیمارها، پروتئین خام لاشه لاروها، در زمان ۱۲ بار و ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). در ارتباط با چربی خام لاشه لاروها، در زمان ۱۲ و ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز، در ۵۰ درصد تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p < 0.05$). فعالیت آنزیم‌های پپسین، تریپسین و لیپاز در زمان ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در اغلب تیمارها، بطور معنی‌داری بیش از ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز بود ($p < 0.05$). در مجموع غذادهی لاروها بصورت ۱۲ بار در شبانه‌روز بر ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز از جنبه‌های بهبود بازماندگی لاروها، شاخص وضعیت و فعالیت آنزیم‌ها ارجحیت داشت.

کلمات کلیدی: فیل ماهی، لارو، دفعات غذادهی، کیفیت لاشه، شاخص‌های رشد، بازماندگی

* عهده‌دار مکاتبات: ghorbani_v2@yahoo.com

مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) از ویژگی‌های مناسبی از جمله نسبت رشد بالا، سازش پذیری به شرایط محیطی و ارزش بالای گوشت و خاویار برخوردار می‌باشد. روند رو به افزایش پرورش این گونه به عنوان اصلی‌ترین گونه پرورشی در داخل کشور، نیازمند تأمین تعداد کافی بچه فیل ماهی جهت پاسخ گویی به نیاز مزارع پرورش ماهیان خاویاری می‌باشد. لذا افزایش راندمان تولید این ماهی از اهمیت زیادی برخوردار است. یکی از چالش‌های اساسی در زمینه پرورش لارو اغلب ماهیان، موضوع تغذیه و پرورش آنها در مراحل لاروی و دفعات غذایی آنها می‌باشد. با وجود اهمیت زیاد دفعات غذایی در مرحله لاروی، به این موضوع در تحقیقات بخوبی پرداخته نشده است. انجام تحقیقات در زمینه تاثیر استراتژی تغذیه (دفعات غذایی و نوع غذا) بر لارو ماهیان حائز اهمیت می‌باشد (Bauman and Woodward, 2016). دفعات مناسب غذایی به اندازه ماهی بستگی داشته و دفعات کم غذایی و یا غیر منظم می‌تواند موجب بروز هم نوع خواری در ماهیان، کاهش ضریب بهره وری و افزایش هزینه گردد. در مجموع، نسبت غذایی و دفعات مناسب غذایی، به نوع سیستم پرورش، گونه و اندازه ماهی بستگی دارد (Imanpoor and Khoshnoodifar, 2013). دفعات مناسب غذایی می‌تواند به رشد و متابولیسم ماهی کمک نماید (Hue et al., 2020). همچنین دفعات مناسب غذایی، می‌تواند باعث رشد بهتر، نرخ بقای بالاتر و ضریب تغییرات پایین‌تر و کاهش ضریب خوراک و انتشار آلاینده‌ها گردد. از طرفی، تغذیه بیش از حد باعث کاهش اکسیژن محلول در آب شده و به سرعت نیتروژن آمونیاکی را افزایش داده و در نتیجه موجب

اختلال در متابولیسم لیپید و افزایش حساسیت به باکتری‌های بیماری‌زا در ماهی می‌گردد. برعکس، مقدار و دفعات ناکافی غذایی، باعث افزایش حالت تهاجمی درون گونه‌ای، تاخیر رشد، کاهش فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز کبد و کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌شود (Guan et al., 2022). دفعات تغذیه بر رشد، مصرف غذا، راندمان و نرخ تبدیل خوراک، ترکیب شیمیایی بدن، بقای ماهی و کیفیت آب تاثیر می‌گذارد. ماهیان جوان برای رشد مطلوب، به دفعات غذایی بیشتری نیازمنداند. با این حال، تغذیه بیش از حد، تجمع چربی در امعاء و احشاء را افزایش، ضریب غذایی را کاهش، موجب بدتر شدن کیفیت آب و افزایش هزینه‌های تولید می‌گردد. به بیان دیگر، دفعات کم غذایی، نمی‌تواند مواد مغذی مورد نیاز برای رشد و بازماندگی طبیعی ماهی را فراهم و بنابراین موجب ناهمگونی اندازه، هم نوع خواری و همچنین موجب آسیب اکسیداتیو و سرکوب سیستم ایمنی می‌شود (Hu et al., 2020). تغذیه تاس ماهیان می‌تواند با تاثیر بر شاخص‌های رشد موجب تغییر در میزان تولید گردد (احمدی و همکاران، ۱۴۰۲). به منظور افزایش راندمان تولید، تغذیه لاروها از نظر نوع، کمیت و کیفیت مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است (حدادی مقدم و همکاران، ۱۳۹۳).

در ارتباط با تاثیر دفعات غذایی بر ماهیان تحقیقاتی انجام شده است. از جمله، Tiril و Alagil (۲۰۰۹)، تاثیر ۲ و ۶ بار غذایی در شبانه روز را بر قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن اولیه ۹۵/۲ گرم، بررسی و در نتیجه گزارش نمودند که از نظر وزن و ضریب تبدیل غذایی، در زمان افزایش دفعات غذایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده

تغذیه، بر ترکیب بدن دارای اثرات معنی داری نبود. کوچکی و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی تأثیر دفعات مختلف غذادهی (۲، ۴ و ۶ بار در شبانه روز) بر ماهی شیب جوان (*A. nudiventris*) بیان نمودند غذادهی ۴ بار در شبانه روز موجب ایجاد حداکثر میزان رشد در ماهیان گردید. یزدانی ساداتی و همکاران (۱۳۹۵) اثر دفعات غذادهی بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی بچه ماهی شیب (*Acipenser nudiventris*) پرورشی را بررسی نمودند. احمدی و همکاران (۱۴۰۱) تأثیر دفعات غذادهی (۲، ۴ و ۶ بار در روز) را بر بچه ماهی ازون برون مورد بررسی قرار داده و غذادهی ۴ بار در روز را جهت تحمل شرایط مختلف محیطی توصیه نمودند. با توجه به موارد ذکر شده، هدف از انجام تحقیق حاضر، تعیین تأثیر دفعات غذادهی بر شاخص‌های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی لارو فیل ماهی بود.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش و روش غذادهی

پژوهش حاضر در بخش آبی‌پروری انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری (گیلان، رشت، ایران) انجام شد. ۱۰۸۰۰ لارو فیل ماهی، ۷ روز پس از تفریخ با میانگین وزن 0.048 ± 0.001 گرم، به طور تصادفی در ۳۶ مخزن فایبرگلاس (۱۰۳ سانتی‌متر طول \times عرض ۱۰۰ \times ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر) حاوی ۱۰۰ لیتر آب چاه (۳۰۰ لارو در هر مخزن) نگهداری و لاروها در یک سیستم جریان‌دار (۳ لیتر در دقیقه در هر مخزن) پرورش داده شدند. هر مخزن مجهز به ۱ عدد سنگ هوا برای تأمین اکسیژن و معلق نگه داشتن غذا بود. پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، فیبر و رطوبت غذای فرموله

نشد. Woodward و Bauman (۲۰۱۶) با بررسی تأثیر ۳ و ۱۲ بار تغذیه در شبانه روز بر لارو تاسماهی دریاچه ای (*Acipenser fulvescens*) بیان نمودند میزان افزایش وزن و طول در لاروهای با ۳ بار تغذیه، بطور معنی‌داری بیش از ۱۲ بار تغذیه بود و دفعات غذادهی تأثیر معنی داری بر بازماندگی لاروها نداشت. Daudpota و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر ۲، ۳، ۴ و ۵ بار تغذیه در شبانه روز را بر تیلایای نیل ۱ گرمی مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیانگر، افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب پروتئین و غذایی بالاتر، در ۵ و ۶ بار غذادهی در شبانه روز نسبت به سایر دفعات غذادهی بود. Trushenski و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر دفعات ۱ و ۳ بار غذادهی در شبانه روز را بر میزان رشد ماهی بیل جوان اقیانوس اطلس (*Chaetodipterus faber*) مورد بررسی قرار داده، و در نتیجه بیان نمودند وزن حاصله، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و مصرف غذا بطور معنی داری تحت تأثیر دفعات غذادهی قرار گرفته و میزان رشد در زمان افزایش دفعات غذادهی افزایش یافت. Imanpoor و Khoshnodifar (۲۰۱۳)، تأثیر دفعات غذادهی را بر شاخص‌های رشد ماهی کلمه (با وزن اولیه ۱/۳ گرم) مورد بررسی قرار داده (۲، ۳ و ۴ بار در شبانه روز) و به این موضوع که، دفعات غذادهی تأثیر معنی داری بر شاخص‌های رشد نداشته اشاره داشتند. Luo و همکاران (۲۰۱۵)، تأثیر دفعات غذادهی (۲، ۴ و ۶ بار غذادهی در شبانه روز) را بر شاخص‌های رشد ماهی خاویاری دورگه جوان (*A. baeri*) \times ♀ *Acipenser schrenckii* ♂ با وزن اولیه ۷/۷۹ گرم را بررسی نموده و پس از ۱۲ هفته گزارش بیان نمودند دفعات غذادهی بطور معنی داری بر وزن حاصله و ضریب رشد ویژه تأثیر گذاشته، ولی تغییر دفعات

رژیم‌های غذایی مختلف از ۱۴ تا ۳۸ روز پس از تفریخ مورد آزمایش قرار گرفتند. تحقیق با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار در هر تیمار طراحی شد. غذادهی در ۶ تیمار، ۱۲ بار در شبانه روز و در ۶ تیمار دیگر ۶ بار در شبانه روز به شرح ذیل (جدول ۱) انجام گردید.

شده میکرو باند تولید شده به ترتیب ۴۸/۷۸، ۱۷/۳۱، ۱۶/۰۶، ۲/۰۴ و ۵/۸۵ درصد بود (Ghorbani Vaghei *et al.*, 2023). دمای آب، اکسیژن محلول و pH به ترتیب (میانگین \pm انحراف معیار) $19/46 \pm 18/0$ درجه سانتی‌گراد، $8/32 \pm 0/34$ میلی‌گرم در لیتر و $7/0 \pm 31/06$ اندازه‌گیری شد. لاروها ۶ و ۱۲ بار در شبانه روز تغذیه گردیدند.

جدول ۱: رژیم‌های غذایی و درصد غذادهی لاروهای فیل ماهی در شبانه روز

تیمارها	رژیم غذایی و روزهای تغذیه لارو	درصد غذادهی به لاروها در شبانه روز
۱	ناپلی آرتمیا ارومیاننا زنده (از روز ۷ تا ۲۵ پس از تفریخ) + لارو شیرونومید منجمد (از روز ۱۴ تا ۲۵ پس از تفریخ) + غذای فرموله شده (از روز ۱۴ تا ۳۸ پس از تفریخ).	ناپلی آرتمیا و لارو شیرونومید هر یک ۳۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان. غذای میکروذره ای ۲۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان.
۲	ناپلی‌های آرتمیا ارومیاننا زنده (از روز ۷ تا ۲۵ پس از تفریخ) + بیومس آرتمیا منجمد (از روز ۱۴ تا ۲۵ پس از تفریخ) + غذای فرموله شده (از روز ۱۴ تا ۳۸ پس از تفریخ).	ناپلی آرتمیا و بیومس آرتمیا هر یک ۳۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان. غذای میکروذره ای ۲۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان.
۳	ناپلی آرتمیا ارومیاننا زنده (از روز ۷ تا ۲۵ پس از تفریخ) + دافنی زنده (از روز ۱۴ تا ۳۸ پس از تفریخ) + غذای فرموله شده (از روز ۱۴ تا ۳۸ پس از تفریخ).	ناپلی آرتمیا و دافنی هر یک ۳۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان. غذای میکروذره ای ۲۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان.
۴	ناپلی‌های آرتمیا ارومیاننا زنده (از روز ۷ تا ۲۵ پس از تفریخ) + لارو شیرونومید منجمد و بیومس آرتمیای منجمد (از روز ۱۴ تا ۲۵ پس از تفریخ) + غذای فرموله شده (از روز ۱۴ تا ۳۸ پس از تفریخ).	ناپلی آرتمیا ۳۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان. لارو شیرونومید و بیومس آرتمیا هر یک ۱۵ درصد بیومس لاروها، در شروع تا هر یک ۵ درصد در پایان. غذای میکروذره ای ۲۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان.
۵	ناپلی‌های آرتمیا ارومیاننا زنده (از روز ۷ تا ۲۵ پس از تفریخ) + لارو شیرونومید منجمد و بیومس آرتمیای منجمد (از روز ۱۴ تا ۲۵ پس از تفریخ).	ناپلی آرتمیا ۳۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۱۰ درصد بیومس لاروها در پایان. لارو شیرونومید و بیومس آرتمیا هر یک ۱۵ درصد بیومس لاروها، در شروع تا هر یک ۵ درصد در پایان.
۶	۱۰۰ درصد غذای فرموله شده	۲۰ درصد بیومس لاروها در شروع تا ۵ درصد بیومس لاروها در پایان.

تأمین لارو

تخمک‌ها در نتیجه تکثیر یک مولد ماده فیل‌ماهی (با وزن ۴۴/۵ کیلوگرم) حاصل شد. برای بارورسازی تخمک‌ها از اسپرم ۳ مولد نر فیل‌ماهی (محدوده وزن ۳/۷-۲۲/۳۲ کیلوگرم) استفاده گردید. تزریق هورمون به مولد ماده در دو مرحله ($LHRH-A_2, 5 \mu g kg^{-1}$) برای مولد نر در یک مرحله انجام گرفت (Ghorbani Vaghei et al., 2023). تزریق مولد ماده در فاصله زمانی ۹-۱۲ ساعت در دمای آب ۱۴-۱۲ درجه سانتی‌گراد بترتیب به میزان ۱۰ و ۹۰ درصد انجام شد. تزریق هورمون به مولدین نر همزمان با دومین تزریق مولد ماده انجام گرفت. برای انجام عمل لقاح، تخمک و اسپرم (۱۰ میلی‌لیتر اسپرم به ازای ۱ کیلوگرم تخمک) به مدت ۵ دقیقه هم زده شدند. برای رفع چسبندگی تخم‌های لقاح یافته، ۸۰ گرم کائولن (رس سفید نرم) در ۴ لیتر آب حل و بر روی ۱ کیلوگرم تخمک ریخته شد. تخم‌ها در آب حاوی کائولن به مدت ۱ ساعت با دست هم زده شدند. در مدت ۱ ساعت، چند بار آب حاوی کائولن قبلی تخلیه و آب حاوی کائولن جدید افزوده شد. پس از یک ساعت، تخم‌ها با آب شیرین چند بار شستشو داده شدند و سپس به انکوباتور مک دونالد منتقل گردیدند (Ghorbani Vaghei et al., 2023).

انجام نمونه‌برداری و تعیین شاخص‌ها

نمونه‌برداری از لاروها برای تعیین میانگین وزن بدن، میانگین طول و نسبت بازماندگی در روزهای مختلف پس از تفریح پس از تفریح انجام گرفت. بدین منظور، در فواصل هر هفته یکبار، تعداد ۱۰ لارو را بطور تصادفی با ساچوک کوچک گرفته و با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (مدل GF-300

AND) وزن لاروها و با استفاده از یک خط‌کشی بیومتری با دقت ۱ میلی‌متر طول آنها اندازه‌گیری گردید. در انتهای تحقیق (۳۸ روز پس از تفریح) از لاروها جهت اندازه‌گیری ترکیب لاشه نمونه‌گیری بعمل آمد. لاروهای نمونه‌برداری شده، پس از شستشو با آب مقطر، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌ها با استفاده از فرمول‌های ذیل انجام شد (Ghorbani Vaghei et al., 2019).
نسبت بازماندگی (درصد) = تعداد لارو زنده/تعداد لارو معرفی شده در ابتدا $\times 100$
ضریب رشد ویژه (درصد) = لگاریتم نپری وزن نهایی - لگاریتم نپری وزن اولیه /تعداد روزهای پرورش $\times 100$
ضریب وضعیت = وزن ماهی (گرم) / طول ماهی (سانتی‌متر)^۳

آنالیز لاشه

درصد رطوبت، ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر و چربی خام لاشه لاروها اندازه‌گیری شد (AOAC., 1990). برای اندازه‌گیری رطوبت نمونه، نمونه چرخ شده را در آون قرار داده و پس از سرد شدن مجدداً وزن نمونه اندازه‌گیری و میزان رطوبت آن مشخص شد. برای تعیین درصد ماده خشک، ابتدا نمونه‌ها قبل از خشک شدن وزن شده و سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. پس از انتقال به دسیکاتور، درصد ماده خشک با اختلاف وزن محاسبه شد. میزان پروتئین نمونه‌ها به روش کج‌لدال با دستگاه Kjeldal اتوماتیک (Kjeltec Analyzer Unit 2300) تعیین شد. برای تعیین خاکستر، نمونه پودر خشک شده به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد. برای تعیین میزان چربی نمونه‌ها، از دستگاه سوکسوله استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

توسط اسپکتروفوتومتر (مدل ۶۵۰۵ محصول شرکت Jenway انگلستان) سنجیده شدند. فعالیت آنزیم بصورت میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید. این نشانگر، میکرومول از محصول است که توسط یک آنزیم در یک زمان معین (دقیقه) در شرایط معین به ازای هر میلی‌گرم پروتئین کل تشکیل می‌شود.

تجزیه و تحلیل آماری

از طرح کاملاً تصادفی برای انجام تحقیق استفاده شد. ابتدا با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه (ANOVA) وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشخص گردید ($p < 0.05$). نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. داده‌ها بصورت (میانگین \pm انحراف معیار) تعیین گردید. جهت مقایسه دو تایی تأثیر دفعات غذایی بر شاخص‌ها از آزمون T-test استفاده گردید. از نسخه SPSS 20.0 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

مقایسه شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی لاروها

نتایج حاصله از جنبه مقایسه تأثیر دفعات ۶ و ۱۲ بار غذایی در شبانه روز لاروها نشان داد که میانگین درصد بازماندگی تیمارها، در زمان ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز بجز در تیمارهای ۵ و ۶ به طور معنی‌داری بیش از غذایی ۶ بار در شبانه روز بود ($p < 0.05$). در زمان ۶ بار غذایی در شبانه روز درصد بازماندگی در تیمار ۵ به طور معنی‌داری بیش از غذایی ۱۲ بار در شبانه‌روز بود. در تیمار ۶ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۲). در پایان دوره تحقیق، میانگین

نمونه‌برداری از لاروها قبل از اولین تغذیه روزانه در صبح انجام گرفت (Kolkovski, 2001). در اولین مرحله نمونه برداری با توجه به وزن پایین لاروها، تعداد ۷ عدد لارو از هر مخزن برداشته و پس از جداسازی سر، دم و پوست، مابقی تنه ماهی همگن سازی شد. در مراحل بعدی و با افزایش رشد لاروها تعداد کمتری نمونه با هدف سنجش فعالیت های آنزیمی گرفته شد. به طوریکه در پایان دوره، تعداد ۲ عدد لارو از هر مخزن برداشته و کل لوله گوارش برای مراحل بعدی همگن سازی شد.

نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان انجام آنالیز در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه پودر شده با نسبت (۱:۱۰ w/v) با محلول M ۰/۱۵ کلرید سدیم مخلوط و توسط هاون چینی هموژن شد. برای جلوگیری از تأثیر دمای محیط بر کارایی آنزیم‌ها، تمامی این مراحل بر روی یخ صورت گرفت. سپس ویال‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد در 15000 دور در دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (مدل D ۵۴۱۵ محصول شرکت eppendorf ژاپن) قرار گرفتند. تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم تریپسین (بنزوئیل-ال-آرژنین-پی-نیتروآنیلید به عنوان سوبسترا) از روش Torrisson و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز (نشاسته به عنوان سوبسترا) با روش Brenfeld (۱۹۵۵) تعیین شد. فعالیت آنزیم‌های لیپاز و پپسین (به ترتیب پارانیتروفیل مریستات و هموگلوبین به عنوان سوبسترا) با استفاده از روش Iijima و همکاران (۱۹۹۸) و Anson (۱۹۳۸) اندازه‌گیری و تمامی آنزیم‌ها و غلظت پروتئین با روش طیف سنجی

فعالیت آنزیم‌های گوارشی لاروها در زمان- های ۶ و ۱۲ بار غذایی در شبانه روز

در بررسی فعالیت آنزیم‌ها در زمان ۱۲ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز، فعالیت آنزیم پپسین در تیمارهای ۱، ۴ و ۵ و در زمان ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمارهای ۲، ۳ و ۶ به طور معنی‌داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. فعالیت آنزیم تریپسین در زمان ۱۲ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز، در تیمارهای ۳، ۴ و ۵ و در زمان ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمارهای ۲ و ۶ بصورت معنی‌داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. فعالیت آنزیم لیپاز، در زمان ۱۲ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز، در ۱، ۳، ۴، ۵ و ۶ و در زمان ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمار ۲ به طور معنی‌داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز، در زمان ۱۲ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز، در تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶ و در زمان ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمار ۲ به طور معنی‌داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود (جدول ۴).

وزن لاروها، در زمان ۱۲ بار غذایی در تیمارهای ۴ و ۵ و در زمان ۶ بار غذایی، در تیمارهای ۱ و ۶ بطور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.05$). در پایان دوره تحقیق، میانگین طول لاروها در زمان ۱۲ بار غذایی در تیمار ۶، و در زمان ۶ بار غذایی، در تیمارهای ۱ و ۲ بطور معنی‌داری بیشتر بود. در پایان دوره تحقیق، ضریب رشد ویژه در زمان ۱۲ بار غذایی در تیمار ۵ و در ۶ بار غذایی در تیمار ۱ بطور معنی‌داری بیشتر بود. در پایان دوره تحقیق، شاخص وضعیت لاروها، در زمان غذایی ۱۲ بار در شبانه‌روز، بجز در تیمار ۶ به طور معنی‌داری بیش از تیمارهای ۶ بار غذایی بود.

آنالیز لاشه لاروها در زمان‌های ۶ و ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز

در مقایسه آنالیز لاشه لاروها، در زمان غذایی ۱۲ بار و ۶ بار در شبانه‌روز، درصد پروتئین خام در زمان ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز در تیمارهای ۳ و ۵ و در زمان غذایی ۶ بار در شبانه‌روز در تیمارهای ۱ و ۴ به طور معنی‌داری بیشتر بودند. درصد چربی خام لاشه لارو، در زمان ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز در تیمارهای ۲ و ۴ و در زمان ۶ بار غذایی در شبانه‌روز در تیمارهای ۳، ۵ و ۶ نسبت به هم به طور معنی‌داری بیشتر بودند. درصد خاکستر خام لاشه در زمان غذایی ۱۲ بار در شبانه‌روز در تیمارهای ۳، ۵ و ۶ و در زمان ۶ بار غذایی در شبانه‌روز در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ نسبت به هم به طور معنی‌داری بیشتر بودند. درصد ماده خشک لاشه، در زمان غذایی ۱۲ بار در شبانه‌روز در تیمارهای ۱، ۳ و ۴ و در زمان ۶ بار غذایی در تیمارهای ۲ و ۵ نسبت به هم به طور معنی‌داری بیشتر بودند (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های رشد لاروها (میانگین ± انحراف معیار) در زمان ۶ و ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در پایان دوره تحقیق

شاخص تیمار	وزن (گرم)	طول (سانتی متر)	ضریب رشد ویژه (درصد)	شاخص وضعیت		بازماندگی (درصد)	
				۶	۱۲	۶	۱۲
دفعات غذادهی در شبانه‌روز							
				۶	۱۲	۶	۱۲
۱	۰/۷۴۱±۰/۰۴۱ ^a	۰/۹۵۴±۰/۰۶۸ ^b	۶/۰۹±۰/۰۵ ^a	۶/۷۷±۰/۲۳ ^b	۸/۸۰۵±۰/۲۸۱ ^a	۹/۶۱۵±۰/۱۳۲ ^b	۰/۳۰۷±۰/۰۰۹ ^a
۲	۱/۰۶۶±۰/۰۳۴ ^a	۱/۱۰۴±۰/۲۲۴ ^a	۶/۹۸±۰/۱۸ ^a	۷/۲۵±۰/۶۱ ^b	۱۰/۰۴۶±۰/۰۱۹ ^a	۱۰/۱۱۶±۰/۷۶۹ ^a	۰/۲۸۸±۰/۰۱۳ ^a
۳	۰/۸۳۸±۰/۰۲۳ ^a	۰/۸۷۴±۰/۰۱۳ ^a	۶/۴۸±۰/۱۸ ^a	۶/۵۸±۰/۱۳ ^a	۹/۲۰۴±۰/۱۹۱ ^a	۹/۳۴۱±۰/۱۵۰ ^a	۰/۳۰۷±۰/۰۰۳ ^a
۴	۱/۰۴۵±۰/۰۴۴ ^b	۰/۹۵۹±۰/۰۰۷ ^a	۶/۷۷±۰/۱۱ ^a	۶/۸۸±۰/۱ ^a	۹/۹۱۵±۰/۱۹۵ ^a	۹/۶۴۰±۰/۰۹۵ ^a	۰/۲۹۴±۰/۰۱۵ ^a
۵	۱/۰۴۴±۰/۰۲۷ ^b	۰/۸۹۷±۰/۰۰۲۶ ^a	۶/۶۳±۰/۱۷ ^a	۶/۸۳±۰/۰۱ ^a	۹/۸۶۹±۰/۱۱۶ ^b	۹/۳۸۰±۰/۱۱۹ ^a	۰/۲۸۱±۰/۰۰۷ ^a
۶	۱/۲۳۰±۰/۰۲۲ ^a	۱/۳۲۴±۰/۰۴۳ ^b	۷/۳۴±۰/۱۲ ^b	۵/۹۸±۰/۰۸ ^a	۱۰/۴۲۱±۰/۱۳۵ ^a	۱۰/۶۵۷±۰/۱۹۱ ^a	۰/۶۱۸±۰/۰۴۶ ^b

در هر ردیف اعداد فاقد یک حرف مشترک از حروف a و b، دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

جدول ۳: آنالیز لاشه لاروها (میانگین ± انحراف معیار) در زمان‌های ۶ و ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در پایان دوره تحقیق

شاخص تیمارها	پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	خاکستر (درصد)	ماده خشک (درصد)	دفعات غذادهی در شبانه‌روز	
					۶	۱۲
۱	۶۳/۶۴±۰/۰۲ ^a	۶۴/۰۴±۰/۱۴ ^b	۱۰/۹۳±۰/۰۱ ^a	۱۱/۳۵±۰/۲۱ ^a	۱۰/۳۴±۰/۰۲ ^a	۱۱/۴۰±۰/۳۸ ^b
۲	۶۴/۲۱±۰/۰۳ ^a	۱۲/۰۶±۰/۰۲ ^b	۱۰/۹۸±۰/۲۲ ^a	۱۰/۳۳±۰/۰۲ ^a	۱۰/۳۳±۰/۰۲ ^a	۱۲/۱۱±۰/۲۱ ^b
۳	۶۶/۱۷±۰/۰۳ ^b	۶۳/۶۰±۰/۳۰ ^a	۹/۲۵±۰/۰۳ ^a	۱۲/۴۷±۰/۱۸ ^b	۱۲/۲۱±۰/۰۱ ^b	۱۰/۹۳±۰/۱۶ ^a
۴	۶۶/۰۷±۰/۰۳ ^a	۶۶/۷۳±۰/۲۵ ^b	۱۳/۲۴±۰/۰۲ ^b	۱۰/۵۸±۰/۳۰ ^a	۱۰/۹۳±۰/۰۳ ^a	۱۱/۶۴±۰/۳۳ ^b
۵	۶۵/۴۶±۰/۰۲ ^b	۶۳/۴۳±۰/۳۳ ^a	۹/۲۱±۰/۰۱ ^a	۱۳/۵۶±۰/۳۱ ^b	۱۰/۵۴±۰/۳۳ ^a	۱۱/۷۷±۰/۰۱ ^b
۶	۶۳/۸۴±۰/۰۲ ^a	۶۳/۶۵±۰/۰۲ ^a	۱۴/۱۷±۰/۲۵ ^a	۲۷/۴۲±۰/۳۷ ^b	۱۰/۰۶±۰/۰۲ ^b	۹/۳۲±۰/۳۱ ^a

در هر ردیف اعداد فاقد یک حرف مشترک از حروف a و b، دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

جدول ۴: فعالیت آنزیم‌ها (میانگین \pm انحراف معیار) در زمان‌های ۶ و ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در پایان دوره تحقیق (بر حسب میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین).

شماره تیمارها	شاخص‌ها	دفعات غذادهی در شبانه‌روز							
		پیسین		تریپسین		لیپاز		آلفا- آمیلاز	
		۶	۱۲	۶	۱۲	۶	۱۲	۶	۱۲
۱		۱۵۳۵/۱۷ \pm ۹۵/۶۷ ^a	۲۴/۴۲ \pm ۲/۳۲ ^a	۲۳/۷۵ \pm ۱/۹۲ ^a	۶۰۷/۳۶ \pm ۱۴/۹۶ ^b	۲۵۸/۲۶ \pm ۹/۴۸ ^a	۱۶۶۰/۶ \pm ۲۱/۸۴ ^a	۱۸۳/۵۳ \pm ۱۲/۴۴ ^a	۲۷۳۰/۳۶ \pm ۶۳۶/۲۴ ^b
۲		۲۳۸۷/۰۷ \pm ۱۴۲/۴۳ ^b	۷/۷۴ \pm ۰/۹۷ ^a	۳۰/۷۲ \pm ۰/۸۹ ^b	۱۰۶/۵۱ \pm ۱۱/۶۴ ^a	۲۵۲/۹۶ \pm ۱۰/۱۳ ^b	۴۶/۰۴ \pm ۴/۶۶ ^a	۲۱۸/۱۵ \pm ۱۱/۹۴ ^b	۵۶۶/۹۱ \pm ۱۰۴/۸۴ ^a
۳		۲۲۶۱/۴۹۰ \pm ۴۳۳/۷۰ ^b	۲۷/۸۳ \pm ۱/۵۰ ^b	۱۱/۴۶ \pm ۳/۲۶۳ ^a	۲۲۲/۱۰ \pm ۶/۹۱ ^b	۱۹۵/۱۵ \pm ۱۰/۵۴ ^a	۱۷۰/۳۹ \pm ۴/۷۶ ^b	۸۶/۳۸ \pm ۶/۲۵ ^a	۱۴۳۱/۶۵ \pm ۴۰/۳۴ ^a
۴		۱۴۷۱/۵۶ \pm ۲۱۲/۲۶ ^a	۲۸/۴۷ \pm ۲/۷۹ ^b	۸/۲۰ \pm ۰/۹۴ ^a	۳۸۸/۴۱ \pm ۱۱/۸۸ ^b	۱۱۷/۴۲ \pm ۹/۵۴ ^a	۱۶۸/۸۴ \pm ۸/۰۶ ^b	۹۹/۱۷ \pm ۱۱/۵۱ ^a	۲۱۷۱/۰۴ \pm ۸۶/۰۹ ^b
۵		۱۱۰۰/۲۶ \pm ۵۶/۸۵ ^a	۲۱/۶۱ \pm ۰/۶۲ ^b	۱۲/۸۱ \pm ۲/۰۶ ^a	۲۹۴/۷۶ \pm ۹/۵۳ ^b	۸۶/۱۳ \pm ۵/۱۸ ^a	۲۰۰/۵۷ \pm ۴/۶۳ ^b	۱۵۶/۴۷ \pm ۹/۹۷ ^a	۲۰۲۸/۷۰ \pm ۸۴/۲۵ ^b
۶		۱۶۸۶/۸۴ \pm ۲۱۳/۷۷ ^b	۱۵/۶۱ \pm ۰/۷۵ ^a	۲۰/۷۲ \pm ۱/۹۵ ^b	۲۳۸/۶۸ \pm ۲/۹۴ ^b	۱۳۹/۳۱ \pm ۶/۰۵ ^a	۱۲۱/۲۶ \pm ۲/۵۶ ^b	۱۰۰/۰۳ \pm ۴/۷۸ ^a	۱۰۴۱/۲۷ \pm ۳۴/۹۱ ^a

در هر ردیف اعداد فاقد یک حرف مشترک از حروف a و b، دارای اختلاف معنی دار آماری می باشند ($p < 0.05$).

بحث

یکی از موارد مهم در پرورش لارو ماهی، میزان بازماندگی لارو بوده (Kumar Pradhan *et al.*, 2014) و هدف افزایش درصد بازماندگی، بهبود عملکرد رشد و کیفیت لارو است (Gisbert *et al.*, 2018). با وجود اینکه استانداردی برای دفعات غذادهی لاروها تاکنون ارائه نگردیده، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع دفعات غذادهی ۱۲ بار در شبانه‌روز از عملکرد بهتری نسبت به غذادهی ۶ بار در شبانه‌روز برخوردار بود. در همین ارتباط Gisbert (۲۰۱۸)، گزارش نموده که دفعات غذادهی برای لارو ماهی خاویاری از اوزان ۰/۰۴-۰/۰۶، ۰/۰۷-۰/۰۵ و ۰/۰۵-۰/۰۲ گرم، می‌تواند به ترتیب ۱۲، ۲۴ و ۶ بار در شبانه‌روز باشد. این مهم بیانگر این موضوع است که می‌توان با افزایش وزن لاروها دفعات غذادهی آنها را کاهش داد.

در تحقیق حاضر، میانگین درصد بازماندگی تیمارها، در زمان ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز بجز در

تیمارهای ۵ و ۶ به طور معنی داری بیش از دفعات غذادهی ۶ بار در شبانه‌روز بود. در ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز درصد بازماندگی در تیمار ۵ به طور معنی داری بیشتر از دفعات غذادهی ۱۲ بار در شبانه‌روز بود. در تیمار ۶ تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. در همین راستا، جنبه‌های مثبت تغذیه لاروهای فیل ماهی از لارو شیرونومید و دافنی در ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز، خود را نشان داد. دافنیا ماگنا یک غذای زنده مهم برای تغذیه لارو ماهیان آب شیرین بوده و علاوه بر اینکه منبع خوبی از پروتئین است، حاوی آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئینازها، پپتیدازها، آمیلازها، لیپازها و حتی سلولز نیز می‌باشد (Esmaili Fereidouni *et al.*, 2013). دافنیا ماگنا حاوی مقدار زیادی پروتئین حیوانی (۳۰/۸ تا ۶۱ درصد) و مقدار قابل توجهی ویتامین، آنتی‌اکسیدان، اسیدهای چرب غیر اشباع و کیتوزان است. ویژگی‌های تغذیه‌ای لارو شیرونومید، از نظر سطح بالای پروتئین و وجود اکثر اسیدهای آمینه ضروری در آن، باعث شده که

به خوراک مناسبی برای لارو ماهیان خاویاری تبدیل شود (Hamidoghli *et al.*, 2014). همسو با نتایج تحقیق حاضر، جعفریان و همکاران (۱۳۹۲)، گزارش نمودند که، تغذیه لارو تاس ماهی روسی با ترکیبی از دافنی و ناپلی آرتمیا دارای اثرات مطلوبی بر لاروها بودند. در ارتباط با دفعات غذادهی، Bauman و Woodward (۲۰۱۶) بیان نمودند درصد بازماندگی لاروهای تاس ماهی دریاچه ای در نتیجه دفعات مختلف غذادهی (۳ و ۱۲ بار در شبانه روز) تفاوت معنی داری نداشته اند. البته در این بین نقش رژیم های مختلف غذایی، شرایط تحقیق و نوع گونه ماهی می تواند تاثیر گذار باشد.

در تحقیق حاضر، میزان بازماندگی پایین لاروهایی که فقط با غذای فرموله شده، در مقایسه با سایر جیره های غذایی تغذیه شدند، با تحقیق Agh و همکاران (۲۰۱۳) که میزان بقای پایین لاروها را ناشی از گرسنگی لاروها و خالی بودن دستگاه گوارش به دلیل جاذبیت اندک غذای فرموله دانسته اند منطبق می باشد. در همین ارتباط و در بیان دلیل رشد بیشتر لاروها در این تیمار نسبت به سایر رژیم های غذایی، باید ذکر نمود که، تراکم بیشتر لاروها می تواند منجر به افزایش رقابت برای غذا و فضا شده و در نتیجه مصرف انرژی بیشتر منجر به متابولیسم بالاتر و کاهش رشد می شود (Djellata *et al.*, 2021).

در پایان دوره تحقیق (۳۸ روز پس از تفریخ) میانگین وزن لاروها، در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز در تیمارهای ۴ و ۵ و در ۶ بار غذادهی در شبانه روز، در تیمارهای ۱ و ۶ بطور معنی داری در مقایسه با هم بیشتر بود. در مجموع، این موضوع نشان می دهد که تاثیر مثبت دفعات غذادهی بر میانگین وزن لاروها بجز در تیمارهای ۱، ۳ و ۶ در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز نسبت به ۶ بار غذادهی در شبانه روز محسوس تر بود. میانگین وزن لاروها، در تیمار ۲

نیز قابل توجه بوده و نشانگر نقش بیومس آرتمیا در افزایش میانگین وزن بدن لارو بود. در همین ارتباط عفت پناه کمایی و همکاران (۱۴۰۰) بیان نمودند لاروهای تاس ماهی ایرانی در زمان تغذیه با لارو شیرونومید از رشد و بازماندگی بالاتری برخوردار بودند. با توجه به تفاوت گونه ماهی در تحقیق حاضر و تحقیق ذکر شده، این موضوع نشانگر، نقش مثبت تغذیه از لارو شیرونومید می باشد. ضریب رشد ویژه در ۱۲ بار غذادهی در تیمار ۵ و در ۶ بار غذادهی در تیمار ۱ بطور معنی داری بیشتر بود. این موضوع نشانگر نقش استفاده از غذاهای ترکیبی در ۱۲ بار غذادهی و لارو شیرونومید در ۶ بار غذادهی در افزایش ضریب رشد ویژه می باشد. در همین ارتباط Daudpota و همکاران (۲۰۱۶) بیان نمودند افزایش وزن و ضریب رشد ویژه تیلایپای نیل با وزن اولیه ۱ گرم در ۴ و ۵ بار غذادهی در شبانه روز نسبت به ۲ و ۳ بار غذادهی در شبانه روز بیشتر بود.

شاخص وضعیت لاروها، در زمان غذادهی ۱۲ بار در شبانه روز، بجز در تیمار ۶ بطور معنی داری بیشتر از ۶ بار غذادهی در شبانه روز بود. این موضوع نشانگر نقش مثبت لارو شیرونومید، بیومس آرتمیا و غذاهای ترکیبی در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز بر شاخص وضعیت لاروها بود. همچنین در ۶ بار غذادهی در شبانه روز، تغذیه از دافنی و استفاده ترکیبی از غذاهای زنده (شیرونومید و بیومس آرتمیا بدون غذای فرموله شده) و غذای فرموله شده توانست موجب بهبود شاخص وضعیت گردد. از آنجایی که تغذیه لارو فیل ماهی با لارو شیرونومید و بیومس آرتمیا می تواند به ترتیب موجب افزایش بازماندگی و وزن لاروها گردد، لذا استفاده ترکیبی از آنها توانست، علاوه بر افزایش وزن لاروها، موجب افزایش بازماندگی آنها نیز شود. همچنین با توجه به اختصاصات تغذیه ای

ذکر شده برای دافنی، بهبود ضریب وضعیت لاروهای ماهی در نتیجه تغذیه با دافنی (۶ بار غذادهی در شبانه روز) دور از انتظار نبود (Ghorbani Vaghei *et al.*, 2023). با توجه به وابستگی شاخص وضعیت به وزن و طول لاروها، افزایش بازماندگی لاروها در اغلب تیمارهای ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز نسبت به ۶ بار غذادهی در شبانه روز، موجب کاهش اندک وزن در زمان ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز (در برخی تیمارها) نسبت به ۶ بار غذادهی در شبانه روز گردید. این موضوع توانست بر شاخص وضعیت لاروها تأثیر بگذارد. این شاخص، یکی دیگر از عوامل مهم در پرورش لارو ماهی‌های شکارچی است. زیرا تغییرات این شاخص می‌تواند همجنس‌خواری را تشدید کند (Ljubobratovic *et al.*, 2015). این موضوع نشان دهنده اثرات مثبت استفاده ترکیبی از غذاهای زنده به تنهایی یا همراه با غذای فرموله شده بود.

تغییر جیره غذایی بر میزان ترکیب لاشه لاروها در برخی تیمارها تأثیر معنی‌داری داشت. در مقایسه آنالیز لاشه لاروها، در دفعات ۶ و ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز، درصد پروتئین خام در ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در تیمارهای ۳ و ۵ و در ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز در تیمارهای ۱ و ۴ بطور معنی‌داری در مقایسه با هم بیشتر بودند. این موضوع نشانگر تأثیر دافنی و استفاده ترکیبی از غذاهای زنده در زمان افزایش دفعات غذادهی می‌باشد. در زمان کاهش دفعات غذادهی نقش شیره‌نومید و استفاده ترکیبی از غذاهای زنده و غذای فرموله شده بیشتر خود را نشان داده است. درصد چربی خام لاشه لاروها، در ۱۲ بار غذادهی در شبانه‌روز در تیمارهای ۲ و ۴ و در ۶ بار غذادهی در شبانه‌روز در تیمارهای ۳، ۵ و ۶ نسبت به هم بطور معنی‌داری بیشتر

بودند. افزایش دفعات غذادهی، در زمان تغذیه لاروها با جیره حاوی بیومس آرتمیا و استفاده ترکیبی از غذاهای زنده و میکروذره‌ای موجب افزایش میزان چربی لاشه لاروها گردید. همچنین کاهش دفعات غذادهی موجب گردید که لاشه لاروها در نتیجه تغذیه با دافنی، غذاهای زنده ترکیبی و غذای فرموله شده از درصد چربی بالاتری برخوردار باشند. درصد خاکستر خام لاشه در زمان غذادهی ۱۲ بار در شبانه روز در تیمارهای ۳، ۵ و ۶ و در زمان ۶ بار غذادهی در شبانه روز در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ به صورت معنی‌داری بیشتر بودند. این موضوع نشان‌گر افزایش درصد خاکستر در نتیجه تغذیه لاروها با دافنی، ترکیبی از غذاهای زنده و غذای فرموله شده در زمان غذادهی ۱۲ بار در شبانه روز بود. همچنین در نتیجه کاهش دفعات غذادهی، درصد خاکستر خام لاشه لارو، در نتیجه تغذیه با شیره‌نومید، بیومس آرتمیا و ترکیبی از غذاهای زنده و فرموله شده افزایش یافت. در همین ارتباط عفت پناه کماهی و همکاران (۱۴۰۰) در بررسی تغذیه آغازین با غذاهای زنده مختلف لارو تاس ماهی ایرانی، بیان نمودند تغذیه اولیه لارو ماهی با لارو شیره‌نومید، بر روی ترکیب لاشه لارو در مرحله عادت دهی اثر گذار بوده، بطوری که درصد چربی و خاکستر در تیمار تغذیه شده با شیره‌نومید بالاتر از تیمار آرتمیا + دافنی بود.

درصد ماده خشک لاشه لاروها، در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز در تیمارهای ۱، ۳ و ۴ و در ۶ بار غذادهی در تیمارهای ۲ و ۵ نسبت به هم بطور معنی‌داری بیشتر بودند. لذا در نتیجه افزایش دفعات غذادهی، با تغذیه لاروها از شیره‌نومید، دافنی و ترکیبی از غذاهای زنده و میکروذره‌ای درصد ماده خشک لاشه بیشتر گردید. همچنین، درصد ماده خشک لاشه لاروها، با کاهش

دفعات غذادهی و در نتیجه تغذیه لاروها با جیره حاوی بیومس آرتمیا و ترکیبی از بیومس آرتمیا، شیرونومید و ناپلی آرتمیا نیز افزایش یافت. تفاوت در ماده خشک تیمارها می تواند از تغییر رطوبت حاصله از نسبت تغذیه ناشی گردد (Imtiaz, 2018).

ترکیب بدن ماهی اغلب به عنوان شاخص کیفیت گوشت و سلامت ماهی استفاده می شود. نوع رژیم غذایی، سرعت تغذیه، میزان رشد و دمای آب به عنوان عوامل موثر بر ترکیب بدن شناخته می شوند. مقدار بیشتر پروتئین لاشه و چربی خام کمتر در تیمارهای ذکر شده نشان می دهد که احتمالاً ماهی پروتئین بافتی بیشتری را نسبت به مقدار اولیه ذخیره و از چربی برای تأمین انرژی، بیشتر از پروتئین استفاده نموده است (Imtiaz, 2018). در مطالعه حاضر، بطور کلی در تیمارهای تحقیق با ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز میزان مصرف چربی و ذخیره پروتئین بیش از ۶ بار غذادهی در شبانه روز بود. کمتر بودن مقدار خاکستر در برخی تیمارها احتمالاً می تواند نشانگر توده عضلانی کمتر بدن و نسبت بیشتر توده استخوانی لاروها در رژیم های غذایی ذکر شده باشد (Imtiaz, 2018). تفاوت معنی داری از نظر وزن خشک در اکثر رژیم های غذایی مشاهده شد. تفاوت در ماده خشک تیمارها می تواند از تغییر رطوبت حاصله از نسبت تغذیه ناشی گردد (Imtiaz, 2018).

در بررسی فعالیت آنزیم ها در پایان دوره تحقیق، در ۱۲ بار غذادهی لاروها در شبانه روز، فعالیت آنزیم پپسین در تیمارهای ۱، ۴ و ۵ و در زمان ۶ بار غذادهی در شبانه روز در تیمارهای ۲، ۳ و ۶ بطور معنی داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. این موضوع نشانگر نقش استفاده از لارو شیرونومید و غذای ترکیبی (همراه یا

بدون غذای فرموله شده) در افزایش فعالیت آنزیم پپسین در زمان ۱۲ بار غذادهی بود. در تایید نقش مثبت لارو شیرونومید بیان گردیده که، لارو شیرونومید دارای سطح پروتئین بالا و ضروری ترین اسیدهای آمینه بوده و لذا غذای مناسبی برای لارو ماهیان خاویاری است (Hamidoghli et al., 2014). همچنین نقش تغذیه ترکیبی لاروهای فیل ماهی با لارو شیرونومید، بیومس آرتمیا، همراه با غذای فرموله شده و یا بدون غذای فرموله شده هم توانست موجب افزایش فعالیت آنزیم پپسین گردد. نقش بیومس آرتمیا نیز در این بین قابل توجه بوده، و یک منبع غذایی با مقادیر بالای پروتئین خام و چربی خام می باشد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم پپسین با کاهش دفعات غذادهی (۶ بار غذادهی در شبانه روز) در تیمارهای ذکر شده نشان دهنده نقش بیومس آرتمیا، دافنی و غذای فرموله شده بر فعالیت این آنزیم است. دافنی نیز به عنوان یک منبع خوب پروتئینی و آنزیم های گوارشی می تواند در پرورش لارو ماهیان نقش موثری داشته باشد. فعالیت آنزیم تریپسین در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز، در تیمارهای ۳، ۴ و ۵ و در ۶ بار غذادهی لاروها در شبانه روز در تیمارهای ۲ و ۶ بطور معنی داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. تاثیر تیمارها بر فعالیت این آنزیم تقریباً مشابه تأثیر بر فعالیت آنزیم پپسین بود. تفاوت فعالیت آنزیم با تغییر دفعات غذادهی، نشانگر نقش دافنی و استفاده از غذاهای ترکیبی (همراه یا بدون غذای میکروذره ای) در ۱۲ بار غذادهی در شبانه روز و نقش بیومس آرتمیا و غذای میکروذره ای با کاهش دفعات غذادهی (۶ بار در شبانه روز) بود. در همین ارتباط بیان گردیده که، کمبود اسیدهای آمینه ای که مسئول سنتز و ترشح تریپسین هستند، می توانند منجر به عدم فعالیت مناسب آنزیم

تواند، ناشی از تغذیه لاروها در فواصل زمانی کمتر و نیاز به فعالیت بالای آنزیم جهت هضم غذای خورده شده بوده باشد. در همین ارتباط بیان گردیده که، تغییر استراتژی تغذیه می‌تواند بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز تأثیر بگذارد (Torfi mozanzadeh et al., 2021).

در مجموع، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغییر رژیم غذایی می‌تواند بر عملکرد رشد، به ویژه میزان بازماندگی تأثیرگذار باشد. تغذیه لارو فیله ماهی با لارو کرم شیرونومید باعث افزایش میزان بازماندگی، ترکیب لاشه لارو و فعالیت آنزیم‌های پپسین، تریپسین و لیپاز در زمان ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز گردید. همچنین تغذیه لاروها با بیومس آرتمیا منجر به افزایش وزن لاروها و فعالیت آنزیم‌ها در زمان ۶ بار غذایی شد. استفاده از غذای فرموله شده به تنهایی برای تغذیه لاروها باعث کاهش شدید میزان بازماندگی و فعالیت آنزیم‌ها گردید. در مجموع با توجه به قیمت کمتر و فراوان‌تر بودن بیومس آرتمیا و سهولت تأمین آن نسبت به لارو شیرونومید، می‌توان در تغذیه لاروها از مقادیر بیشتر بیومس آرتمیا جهت تغذیه لاروها استفاده نمود، و میزان لارو شیرونومید مورد نیاز را به میزان قابل توجه‌ای کاهش داد. در مجموع افزایش دفعات غذایی لاروها (۱۲ بار در شبانه روز) موجب افزایش بازماندگی لاروها، شاخص وضعیت و فعالیت آنزیم‌ها نسبت به غذایی ۶ بار در شبانه روز گردید.

سپاسگزاری

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

تریپسین شوند (Quin et al., 2022). در مطالعه حاضر، تغییر در سطوح فعالیت پپسین و تریپسین نشان داد که نوع رژیم غذایی می‌تواند، سطح فعالیت آنزیم را به طور قابل توجهی تغییر دهد.

فعالیت آنزیم لیپاز، در زمان ۱۲ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز، در تیمارهای ۱، ۳، ۴، ۵ و ۶ و در ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمار ۲ بطور معنی-داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. این وضعیت نشانگر نقش همه رژیم‌های غذایی مورد استفاده (بجز تیمار ۲) در افزایش فعالیت آنزیم لیپاز در زمان ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز بود. این در حالی است که فعالیت آنزیم لیپاز در زمان تغذیه لاروها با بیومس آرتمیا در زمان ۶ بار تغذیه در شبانه‌روز نسبت به ۱۲ بار غذایی بیشتر بود. فعالیت لیپاز در لارو چندین گونه ماهی از جمله *Acipenser fulvescens* گزارش شده است (Golchinfar, 2011). تغییر فعالیت آنزیم لیپاز از همان الگوی فعالیت آنزیم تریپسین پیروی نموده و مقادیر بیش از حد پروتئین ممکن است به تجمع رسوبات چربی منجر گشته و در نتیجه فعالیت لیپاز را مهار کند (Quin et al., 2022). فعالیت آنزیم آمیلاز در لارو چندین گونه ماهی از جمله *A. fulvescens* گزارش شده است (Golchinfar et Zótowska, et al., 1999; al., 2011). در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز، در ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز، در تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶ و در ۶ بار غذایی لاروها در شبانه‌روز در تیمار ۲ بطور معنی داری نسبت به یکدیگر بیشتر بود. فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در زمان ۱۲ و ۶ بار غذایی در شبانه‌روز از وضعیت مشابه آنزیم لیپاز برخوردار بود. بیشتر بودن سطح فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز، در اغلب تیمارها در ۱۲ بار غذایی در شبانه‌روز، احتمالاً می-

منابع

۱. احمدی، س. م.، وهابزاده، ه.، خارا، ح.، پزند، ذ.، صیاد بورانی، م.، ۱۴۰۱. تأثیر دفعات غذادهی و شوری بر فاکتورهای خونی، ایمنی و شاخص‌های استرس بچه ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*). فصلنامه علمی محیط زیست جانوری، ۱۱۴(۱)، ۱۷۹-۱۹۰.
۲. احمدی، س. م.، وهابزاده، ه.، خارا، ح.، پزند، ذ.، صیاد بورانی، م.، ۱۴۰۲. سازگاری اسمری و شاخص‌های هیستومتری بافت آبشش بچه ماهی اوزون برون پرورشی در پاسخ به تیمارهای شوری محیط و دفعات غذادهی روزانه. نشریه توسعه آبی پروری، ۱۷(۴)، ۱-۱۲.
۳. جعفریان، ح.، جعفریان، س.، مختومی، ن.، ۱۳۹۲. بکارگیری دافنیا ماگنا (*Daphnia magna*) و ناپلی آرتمیا در تغذیه آغازین لارو ماهی چالباش *Acipenser guldenstadtii* نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی، ۲(۱)، ۶۲-۸۶.
۴. حدادی مقدم، ک.، پزند، ذ.، محسنی، م.، چوبیان، ف.، ۱۳۹۳. تأثیر سطوح مختلف غذایی روتیفر *Brachionus plicatilis* و ناپلیوس آرتمیا *Artemia parthenogenetica* بر میزان رشد و بازماندگی لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه توسعه آبی پروری، ۸(۳)، ۴۱-۳۱.
۵. عفت پناه کماهی، ا.، فلاحتکار، ب.، سجادی، م.، منصف شکری، م.، ۱۴۰۰. غذای آغازین تاس ماهی ایرانی با غذاهای زنده مختلف و تأثیر آن بر شاخص‌های رشد، بقا، ترکیب بیوشیمیایی و اسید چرب لاشه در مرحله عادت‌دهی به غذای مصنوعی با استفاده از شیرونومید. شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۴(۱)، ۱۱۹-۱۳۷.
۶. کوچکی، ل.، ذاکری، م.، موسوی، س. م.، کشتکار، ا.، ۱۳۹۲. تأثیر میزان و دفعات غذادهی بر شاخص‌های رشد ماهی شپ جوان (*Acipenser nudiventris*). همایش ملی جانوری ایران، رشت، دانشگاه گیلان، ۱۳۰-۱۲۷.
۷. یزدانی ساداتی، م. ع.، جعفری، م.، خارا، ۱۳۹۵. تأثیر دفعات غذادهی بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی بچه ماهی شپ (*Acipenser nudiventris*) پرورشی. مجله اقیانوس‌شناسی، ۲۵(۲)، ۹۴-۸۷.
8. AOAC., 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Published by Association of Official Analytical Chemist, Virginia, USA, 771 p.
9. Agh, N., Noori, F., Irani, A., Van Stappen, G.P., Sorgeloos, P., 2013. Fine-tuning of feeding practices for hatchery produced Persian sturgeon, *Acipenser persicus* and Beluga sturgeon, *Huso huso*. Aquaculture Research, 44, 335-344.
10. Anson, M.L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and Cathepsin with haemoglobin. Journal of General Physiology, 22, 79-89.
11. Bauman, J. M., Woodward, B. M., 2016. Effects of Family, Feeding Frequency, and Alternate Food Type on Body Size and Survival of Hatchery-Produced and Wild-Caught Lake Sturgeon Larvae. North American Journal of Aquaculture, 78, 136-144.
12. Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 7(72), 248-54.
13. Bernfeld, P., 1995. Methods Enzymol., 1, 149-151.
14. Daudpota, A. M., Abbas, G., Illahi Bux Kalhor, I. B., Shah, S. S. A., Kalhor, H., Muhammad Hafeez-ur-Rehman, M.,

- Larvae. *quaculture Research*, 2023, 1-14,
21. Guan, M., Zhang, D., Sun, X., Shu, D., Rao, J., Tang, D., 2022. Effect of feeding frequency on growth performance, feed transit and digestive enzyme activity of *Acipenser dabryanus* juveniles. *Aquaculture research*, 53, 5885-5901,
 22. Hamidoghli, A., Falahatkar, B., Khoshkholgh, M., Sahragard, A., 2014. Production and Enrichment of Chironomid Larva with Different Levels of Vitamin C and Effects on Performance of Persian Sturgeon Larvae. *North American Journal of Aquaculture*, 76 (3), 289-295.
 23. Hu, Y., Xiao, K., Yang, J., Liu, X., Wang, B., Zeng, Q., Du, H., 2022. Effects of feeding frequency on juvenile Chinese sturgeon *Acipenser sinensis*. *Scientific Reports*, 10:17399, 1-14,
 24. Imtiaz, A., 2018. Effects of feeding levels on growth performance, feed utilization, body composition, energy and protein maintenance requirement of fingerling, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 17(4), 745-762.
 25. Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagurus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18 (1), 59-69.
 26. Imanpoor, M. R., Khoshnoodifar, Kh., 2013. Effect of Temperature and Feeding Frequency on Growth Performances of Roach (*Rutilus rutilus caspicus*). *World Applied Sciences Journal*, 28 (9), 1233-1237.
 27. Kolkovski, S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets, *Aquaculture*. 200 (1), 181-201.
 28. Kumar Pradhan., P., Jena, J., Mitra, G., Sood., N., Gisbert, G., 2014. Effects of different weaning strategies on survival, growth and digestive system development in butter catfish, *Ompok bimaculatus* (Bloch) larvae, *Aquaculture*. 424-425, 120-130.
 29. Ljubobratovic, U., Kucska, B., Feledi, T., Poleksic, V., Markovic, Z., Lenhardt, M., Ghaffar, A., 2016. Effect of Feeding Frequency on Growth Performance, Feed Utilization and Body Composition of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Reared in Low Salinity Water. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(1), 171-177.
 15. Djellata, A., Samira Sarih, S., Hernández-Cruz, C. M., Martínez-Rodríguez, G., Neda Gilannejad, N., Javier Roo, J., 2021. The effect of different co-feeding protocols on greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso 1810) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 27 (5), 1761-1776.
 16. Esmaili Fereidouni, A., Fathi, N., Kazem Khalesi, M., 2013. Enrichment of *Daphnia magna* with Canola Oil and its Effects on the Growth, Survival and Stress Resistance of the Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*) Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 119-126.
 17. Golchinfar F., Zamani A., Hajimoradloo A., Madani R., 2011. Assessment of digestive enzymes activity during the fry development of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*: from hatching to primary stages after yolk sac absorption. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(3), 403-414,
 18. Gisbert, E., Solovyev, M. M., Bonpunt, E., Mauduit, C., 2018. Weaning in Siberian Sturgeon Larvae. In book: *The Siberian Sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869) Farming*, 2, 59-72.
 19. Ghorbani Vaghei, R., Shenavar Masouleh A.R., Alipour A.R., Yeganeh H., 2019. Effects of *Artemia nauplii* enrichment with a bacterial species (*Weissiella koreensis*) on growth performance and survival rate of stellate sturgeon larvae (*Acipenser stellatus*). *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 5 (2), 1-10.
 20. Ghorbani Vaghei, R., Yousefi Jourdehi, A., Pajand, Z., Monsef Shokri, M., Mohseni, M., 2023. Effects of Different Feeding Regimes on Growth Performance, Survival Rate, Carcass Composition, Fatty Acids Profile, and Digestive Enzyme Activities of Great Sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758)

- Peteri, A., Kumar, S., Ronyani, A., 2015. Effects of weaning strategies on growth and survival of Pikeperch, *Sander lucioperca*, Larvae. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15, 325-331.
30. Luo, L., Li, T., Xing, W., Xue, M., Ma, Z., J, N., Li, W., 2015. Effects of feeding rates and feeding frequency on the growth performances of juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser schrenckii* Brandt♀ × *A. baeri* Brandt♂. Aquaculture, 448, 229-233.
31. Qian J, Xiao L, Feng K, Li W, Liao C, Zhang, T., Liu, J., 2022. Effect of dietary protein levels on the growth, enzyme activity, and immunological status of *Culter mongolicus* fingerlings. PLoS ONE 17(2): e0263507.
32. Torfi mozanazadeh, M., Nafisi Bahabadi, M., Morshedi, V., Azodi, M., Agh, N., Gisbert, E., 2021. Weaning strategies affect larval performance in yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*). Aquaculture, 539, 1-14,
33. Torrissen, K., Lied, E., Espe, M., 1994. Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. Journal of Fish Biology, 45 (6), 1087-1104.
34. Tiril, S. U., Alagil, F., 2009. Effects of feeding frequency on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a high lipid diet. Turkish journal of veterinary and animal sciences, 33(4), 317-322,
35. Trushenski, J., Rombenso, A., Schwarz, M. H., Bowzer, J., Gause, B., Delbos, B., Sampaio, L. A., 2012. Feeding Rate and Frequency Affect Growth of Juvenile Atlantic Spadefish. North American Journal of Aquaculture, 74, 107-112.
36. Zótowska, K., Kolman, R., Lopieńska-Biernat, E., Kolman, H., 1999. Activity of digestive enzyme in Siberian sturgeon juvenile (*Acipenser baerii* Brandt). A preliminary study. Archives of Polish Fisheries, 7 (1), 201-211.

The effects of feeding frequency and type of feeding regime, on growth performance, carcass composition, some digestive enzymes activity and survival rate of beluga (*Huso huso*) larvae

Ghorbani Vaghei, R.^{1*}, Yousefi Jourdehi, A.¹, Pazhand, Z.¹, Mohseni, M.¹, Monsef Shokri, M.¹

1- International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

Received: 30 December 2023 Accepted: 5 March 2024

Abstract

The aim of the research was to determine the effect of feeding frequency on growth indicators, carcass composition, activity of some digestive enzymes and survival of beluga (*Huso huso*) larvae. For this purpose, the total number of 10800 beluga larvae, with initial weight of 0.048±0.001 g, were randomly stocked in 36 500-liter fiberglass tanks containing 100 liters of well water, for 31 days with a feeding frequency of 6 and 12 times a day using *Artemia* nauplii, *Artemia* biomass, *Daphnia*, chironomid larvae and formulated diet were reared. The results showed that, feeding larvae with chironomid larvae or *Artemia* biomass, could increase the survival rate and weight of larvae, respectively. The survival percentage of the treatments on different days after hatching of the larvae during 12 times of feeding per day in most treatments was significantly higher than that of 6 times of feeding per day ($p<0.05$). The average weight of larvae in different treatments, when feeding 12 times a day compared to feeding 6 times a day, had no statistically significant difference ($p>0.05$). In most treatments, carcass protein content of larvae, during 12 and 6 times feeding a day, had no statistically significant difference ($p>0.05$). But the carcass fat content, during 12 times feeding per day in half of treatments, was significantly higher than 6 times feeding per day ($p<0.05$). The activity of pepsin, trypsin and lipase enzymes, during 12 times feeding a day was significantly more than 6 times a day feeding. Totally, feeding larvae 12 times a day was preferable to feeding 6 times a day, based on improvement of survival of larvae, condition factor and activity of enzymes.

Keywords: Beluga, Larvae, Feeding Frequency, Growth Performance, Carcass Quality, Survival.

* Corresponding Author: ghorbani_v2@yahoo.com