

## The effect different methods of adaptation to artificial food on growth indices, survival rate and amino acid profile Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) larvae

Ali Naghi Sarpanah,<sup>1\*</sup> Zabihollah Pajand<sup>1</sup>, Omid Hashemi<sup>2</sup>, Hossein Ali Abdolhay<sup>3</sup>, Tooraj Sohrabi<sup>1</sup>, Mahmoud Mohseni<sup>1</sup>, Mir Hamed Seyed Hassani<sup>1\*</sup>, Maryam Monsef Shokri<sup>1</sup>, Reza Ghorbani Vaghei<sup>1</sup>, Sajjad Ghasemian<sup>1</sup>, Hooshang Yeganeh<sup>1</sup>

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

2- Gwar kavir Aria Company, Rafsanjan. Kerman

3- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 22 March 2025

Accepted: 31 June 2025

### Extended Abstract:

**Introduction:** Many marine fish and sturgeon larvae lack certain protein and lipid digestive enzymes when switching from live to dry food, resulting in deformities and widespread mortality. Adaptation to dry food in larvae involves more than just substituting dry food for live food in the early stages. This method involves a step-by-step shift, starting with various live foods (typically zooplankton), then gradually decreasing their presence, and ultimately substituting them with dry food, which impacts the larvae's physiology and digestion. Food type and feeding strategy can have a significant influence on larvae growth and amino acid composition, which indirectly effects on fry survival and health, respectively. So, a variety of gradual adaptation strategies from live food to dry food have been proposed. Agh *et al.* (2013) were proposed a gradual feeding strategies Artemia nauplius to dry food that this way gradual adaptation was applied by Artemia reducing and dry food increasing on 5 to 7 days, and a combination of artemia and dry food from first feeding that proposed a strategy of gradual adaptation by mixture of live and planned food for larvae *Huso huso*, respectively. Dediu *et al.* (2011) investigated about effect of three feeding methods: formulated diet (100%), a combination of formulated diet and live food (50+50) and live food (100%: containing 75% tubifex and 25% daphnia) on the survival rate and growth indices of *Acipenser gueldenstaedtii* larvae and stated that growth indices of larvae 32 days after hatching were better than larvae fed only formulated diet (containing 58% crude protein, 12% crude fat, 0.9% fiber, and 9.8% ash). Furthermore, Mohseni *et al.* (2012) experimented with progressively introducing daphnia to dry food, chironomids to dry food, a combination of daphnia and artificial food, a combination of chironomid and dry food, gammarus to dry food, and a prepared diet, and they determined that a gradual shift to dry food for chironomus had a more beneficial impact on reducing mortality and improving growth in *Huso huso* larvae. However, no research has been conducted on the adaptation methods of Stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) to dry food.

**Materials and Methods:** The formulated diet was prepared at the Caspian Sea Fish Research Institute. Its composition included 87.13% dry matter, 51.95% protein, 14.12% lipid, 11.12% fiber, 58.3% nitrogen-free extract, and 7.45% ash. 1500 individual 8-day-old Stellate sturgeon larvae, with an average weight and length of  $0.385 \pm 0.034$  g and  $4.95 \pm 0.09$  cm, were fed in 50-liter fiberglass tanks in 5 treatments

included gradual adaptation (chironomid + dry food) (CH + DR), gradual adaptation (Artemia + dry food) (AR + DR), gradual adaptation (Artemia + chironomid) + dry food and gradual adaptation (Artemia + chironomid + dry food) + dry food (Mix CH + AR + DR) + DR and dry food (DR) in a period of 42 days, respectively. Fish were fed 25% live food and 5% dry food per body weight at 2-hour interval in day. Biometry were carried out in 7 stages (7, 14, 21, 28, 35, and 42 days). At the end of the experiment, 30% of fish population was harvested and sent to laboratory for amino acid composition analysis.

**Results and Discussion:** The highest growth index (final weight, condition factor, body weight gain percentage, specific growth rate, daily growth and protein efficiency ratio) were observed in fish fed with gradual adaptation (CH+ DR) ( $p<0.05$ ), although there was no significant difference with larvae fed with (Mix CH+AR+DR) +DR and (DR) treatments ( $p>0.05$ ). However, the highest survival percentage was observed in larvae fed with (CH+ DR) +DR (CH+AR) and (MIX CH++AR+DR) +DR groups. studies on *Scaphirhynchus albus* averaging 20.4 g, fed either pellets (1 mm, 45% protein, 19% lipid) or chironomid, showed that natural food led to a higher growth rate (12.2% per day) than dry food (0.06% per day). Also, Sturgeon that consumed chironomids exhibited a better condition factor compared to those fed dry food. According to the researchers, the higher growth index and fish acceptance of chironomids could be attributed to the fact that sturgeon larvae and fry in freshwater environments mainly consume aquatic invertebrates, especially *Chironomidae* and *Ephemeroptera*, whereas Artemia, which is grown in saltwater, is not available to sturgeon larvae naturally. In the other hand, this is agreement with findings Taati *et al.* (2018) who stated feeding *Acipenser persicus* larvae for chironomid lead to stimulating appetite and increasing growth indices due to amino acids attractant such as methionine. Also, according to Shakourian *et al.* (2011), a mixture of paste diet and chironomid larvae increased the final weight of *Acipenser persicus* larvae after 35 days. The combination live food and dry food in a paste form can improve the larvae's ability to get adaptation and accept dry food, leading to an increase in their growth rates (Gisbert *et al.*, 2018). In this study, the highest percentage of essential acids was observed in body fish that fed with gradual adaptation of (Mix CH+AR+DR)+DR ( $p<0.05$ ). The highest arginine, lysine and methionine belonged to (Mix CH+AR+DR)+DR group, However, highest threonine amount body were recorded in (CH+DR) that no significant difference with (Mix CH+AR+DR)+DR ( $p>0.05$ ), but had a significant difference with the other experimental treatments ( $p<0.05$ ). Due to rapid growth and high metabolic activity (both catabolism and anabolism), fish larvae require essential amino acids; therefore, deficiencies in these nutrients can impair growth and feed conversion ratio (Saaverda *et al.*, 2006).

**Conclusion:** According to the results obtained, it seems that the gradual adaptation strategy (breast milk+larval diet) (and (mixture of Artemia+breast milk+larval diet)+larval diet is a suitable nutritional strategy for transitioning to formulated food in ozone-bred larvae due to its positive effects on growth performance, survival, and better balance in the amino acid profile of the carcass.

**Conflict:** The authors of the article have no conflicts of interest.

**Acknowledgment:** he authors are very grateful to Mr. Ali Hoshyar and Arash Shahbari who reared and fed the fish larvae.

**Key words:** *Accipenser stellatus*, adaptation, chironomid, Artemia biomass, dry food

\* Corresponding Author: Sarpanah5050@gmail.com, mirhamedhassani@yahoo.com

## "مقاله پژوهشی"

## تاثیر شیوه‌های مختلف سازگاری به غذای مصنوعی بر شاخص‌های رشد، نرخ بقاء و پروفایل اسید آمینه لارو اوزون برون (*Acipenser stellatus*)

علی نقی سرپناه<sup>۱\*</sup>، ذبیح الله پژند<sup>۱</sup>، امید هاشمی<sup>۲</sup>، حسین عبدالحی<sup>۳</sup>، تورج سهرابی<sup>۱</sup>، محمود محسنی<sup>۱</sup>، میر حامد سید حسنی<sup>۱\*</sup>، مریم منصف شکری<sup>۱</sup>، رضا قربانی واقعی<sup>۱</sup>، سجاد قاسمیان<sup>۱</sup>، هوشنگ یگانه<sup>۱</sup>

۱- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۲- شرکت گوار کویر آریا، رفسنجان، کرمان

۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۲۲

### چکیده

تاثیر پنج شیوه سازگاری لارو تاس‌ماهی اوزون برون (*Acipenser stellatus*) به جیره مصنوعی و تاثیر آن بر شاخص‌های رشد، نرخ بقاء و ترکیبات اسیدهای آمینه این گونه مورد مطالعه قرار گرفت. ۵ تیمار (هر تیمار با سه تکرار) در نظر گرفته شد. تعداد ۱۵۰۰ عدد لارو اوزون برون ۸ روزه پس از تغذیه فعال با متوسط وزن و طول به ترتیب  $0.34 \pm 0.385$  گرم و  $4.95 \pm 0.09$  سانتی‌متر در ۱۵ وان فایبر گلاس ۵۰ لیتری در قالب ۵ تیمار تطابق تدریجی (شیرونومیده + جیره لاروی) (CH+DR) (تیمار ۱)، تطابق تدریجی (آرتمیا + جیره لاروی) (AR+DR) (تیمار ۲)، تطابق تدریجی (آرتمیا + شیرونومیده) + جیره لاروی [(CH+AR)+DR] (تیمار ۳)، تطابق تدریجی (مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی) + جیره لاروی [(MIX CH+AR+DR)+DR] (تیمار ۴) و تغذیه با غذای خشک (DR) (تیمار ۵) در طی یک دوره ۴۲ روزه مورد تغذیه قرار گرفتند. غذادهی در فواصل ۲ ساعته و به میزان ۲۵ درصد غذای زنده و ۵ درصد غذای خشک به ازای وزن بدن صورت گرفت. در فواصل ۷ روزه ۲۰ درصد از غذای زنده کاهش و ۲۰ درصد به غذای خشک اضافه شد. زیست‌سنجی ماهیان طی ۵ مرحله (روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش) انجام شد. در انتهای دوره آزمایش ۳۰ درصد از جمعیت ماهیان برداشت و جهت بررسی اسیدهای آمینه به آزمایشگاه ارسال شد. بالاترین شاخص‌های رشد (وزن نهایی، ضریب چاقی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و نسبت بازده پروتئین در ماهیان تغذیه‌شده با تطابق تدریجی تیمار ۱، مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). هر چند که دارای اختلاف معنی‌دار آماری با لاروهای تغذیه‌شده با تیمارهای ۴ و ۵ نبود ( $p > 0.05$ ). اما بیشترین درصد بقاء در لاروهای تغذیه‌شده با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ مشاهده شد. بیشترین درصد اسید آمینه‌های ضروری در لاروهای تغذیه‌شده با تطابق تدریجی تیمار ۴ مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). میزان آرژنین، لایزین و متیونین در تیمار ۴ بالاترین سطح قرار داشت. در صورتی که میزان ترئونین در لاروهای تیمار ۱ در بالاترین سطح و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴ ( $p < 0.05$ ) و دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارهای آزمایشی بود ( $p < 0.05$ ). یافته‌های این مطالعه نشان داد که راهبرد تطابق تدریجی شیرونومیده + جیره لاروی (تیمار ۱) و (مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی) + جیره لاروی (تیمار ۴) به دلیل اثرات مثبت بر عملکرد رشد، بقاء و اسید آمینه استراتژی غذایی مناسبی جهت گذار به غذای فرموله در لارو اوزون برون به‌شمار می‌آید.

**کلمات کلیدی:** اوزون برون، بقاء، پروفایل اسید آمینه، سازگاری، شاخص‌های رشد، غذای مصنوعی

\*عهده‌دار مکاتبات: مکاتبات: Sarpanah5050@gmail.com, mirhamedhassani@yahoo.com

## مقدمه

بیشترین درصد تلفات در گونه‌های ماهیان خاویاری در مرحله گذر از غذای زنده به غذای مصنوعی است (Ghorbani Vaghei et al., 2024). عموماً مرحله گذر از غذای زنده به غذای مصنوعی در واقع کلید زدن از یک نوع غذا به یک نوع غذای دیگر است و مرحله‌ای بحرانی در زندگی لارو به شمار می‌آید که نیازمند پروتوکل‌های غذایی خاص و انتقال تدریجی برای موفقیت در این پروسه است (Parma and Bonaldo, 2013). بعبارتی پروسه عادت‌دهی به غذای مصنوعی فقط جایگزین کردن غذای خشک به جای غذای زنده در مراحل اولیه زندگی نیست (Haddadi Moghadam et al., 2014)، بلکه تطابق تدریجی چند نوع غذای زنده (معمولاً زئوپلانکتون‌ها)، کاهش تدریجی آنها و جایگزین نمودن غذای خشک و بی‌جان است که پیامدهای فیزیولوژیک و گوارشی برای لارو ماهیان دارد (Chèvre et al., 2011). چون لاروهای اکثر گونه‌های ماهیان دریایی و خاویاری به دلیل دارا بودن سیستم گوارش ابتدایی فاقد برخی از آنزیم‌های هضم‌کننده پروتئین و چربی بوده و در مرحله گذر از غذای زنده به غذای خشک، لاروها به دلیل اختلال در مکانیسم بیوسنتز استروئید، کمبود متابولیسم اسیدهای آمینه و کاهش هضم و جذب مواد مغذی دچار تلفات شدید و مرگ و میر دسته جمعی می‌شوند (Zhang et al., 2022)، و از سوی دیگر نوع غذا و نحوه استراتژی تغذیه می‌تواند علاوه بر شاخص‌های رشد و بازماندگی تاثیر شگرفی بر ترکیب اسیدهای آمینه لاروها داشته باشد که بطور غیرمستقیم در بقاء و سلامت بچه‌ماهیان تولیدشده

اثرگذار است (Conceição et al., 1998). جهت حل مشکل انواع مختلفی از راهبردهای تطابق تدریجی از غذای زنده به غذای خشک پیشنهاد شده است. Mohseni و همکاران (۲۰۱۲) برای تعیین بهترین استراتژی تغذیه در عادت‌دهی لارو فیل‌ماهی (*Huso huso*) به غذای مصنوعی از تطابق تدریجی دافنی به غذای مصنوعی، شیرونومیده به غذای مصنوعی، مخلوط دافنی و غذای مصنوعی، مخلوط شیرونومیده و غذای مصنوعی، گاماروس و غذای مصنوعی و غذای فرموله شده استفاده و نتیجه گرفتند که راهبرد تدریجی انتقال شیرونومیده به غذای مصنوعی تاثیر بهتری بر کاهش درصد تلفات و افزایش شاخص‌های رشد لاروها دارد. Agh و همکاران (۲۰۱۳) در تغذیه لارو فیل‌ماهی از راهبردهای تغذیه تدریجی ناپلیوس آرتیمیا به غذای مصنوعی، تطابق تدریجی از طریق کاهش آرتیمیا و افزایش غذای مصنوعی در طی ۵ تا ۷ روز و ترکیبی از آرتیمیا و غذای مصنوعی از شروع تغذیه فعال و تغذیه آغازین با غذای مصنوعی استفاده نموده و راهبرد تطابق تدریجی مخلوطی از غذای زنده و فرموله شده را پیشنهاد، Dediu و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر سه راهبرد تغذیه: جیره فرموله شده (۱۰۰ درصد)، ترکیبی از جیره فرموله‌شده و غذای زنده (۵۰+۵۰) و غذای زنده (۱۰۰ درصد: حاوی ۷۵ درصد توبی فکس و ۲۵ درصد دافنی) را بر درصد بقاء و شاخص‌های رشد لارو تاس‌ماهی روسی را مورد بررسی قرار داده و اظهار داشتند که شاخص‌های رشد لاروها ۳۲ روز پس از تفریح تخم در تیمار تغذیه‌شده با فقط غذای فرموله شده (حاوی ۵۸ درصد پروتئین خام، ۱۲ درصد چربی خام، ۰/۹

۰/۵ لیتر در دقیقه با گذریک سیستم بیوفیلتر مکانیکی و رسوب مواد معلق وارد حوضچه های بخش پرورش لارو می گردید و آب مورد نیاز جهت پرورش لاروها را فراهم می کرد.

### تهیه و شرایط نگهداری لارو ازون برون

ابتدا، سه مولد نر و ۵ مولد ماده پرورشی ازون برون به روش القای هورمونی (هورمون LHRH-a2 با دوز ۵ میلی گرم/کیلوگرم طی دو مرحله و با وقفه ۱۲ ساعته بین هر تزریق) تکثیر شدند (Ghorbani Vaghei et al., 2023). تخم ها پس از لقاح به انکوباتورهای مک دونالد واقع در کارگاه تکثیر انستیتو منتقل شدند. پس از سپری شدن ۸۲ ساعت، لاروهای ازون برون از تخم خارج شدند. پنج روز پس از تخم گشایی، ۵۰۰۰ عدد لارو جهت گذراندن مراحل ابتدایی رشد به ترف های مستطیلی شکل ۲۵۰ لیتری انتقال داده شدند. به مدت ۸ روز، لاروها به کف حوضچه شنا کرده و به علت ویژگی نورگرایی منفی در یک نقطه از کف حوضچه در خلاف منطقه تابش نور تجمع یافتند. لاروها پس از جذب یک سوم کیسه زرده (روز هشتم پس از تخم گشایی)، به مدت ۸ روز بعد (تا روز شانزدهم پس از تخم گشایی) با ناپلی تازه تخم گشایی شده آرتمیا (*Artemia franciscana*) تغذیه شدند. پس از این دوره تعداد ۱۵۰۰ عدد لارو ازون برون با متوسط وزن و طول  $0.34 \pm 0.385$  گرم و  $4.95 \pm 0.9$  سانتی متر در ۱۵ وان فایرگلاس ۵۰ لیتری در قالب ۵ تیمار تطابق تدریجی (شیرونومیده + جیره لاروی) (CH+DR) (تیمار ۱)، تطابق تدریجی (آرتمیا + جیره لاروی) (AR+DR)

درصد فیبر و ۹/۸ درصد خاکستر) از وضعیت بهتری برخوردار بود. Jafaryan در سال ۲۰۱۶ در عادت دهی لارو تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) به غذای مصنوعی از طریق راهبردهای کاهش غذای زنده و افزایش غذای خشک (دافنی ماگنا، آرتمیا ارومیا و مخلوط آنها) ۵۰ درصد وزنی دافنی و ۵۰ درصد وزنی آرتمیا و استفاده از غذای خشک در آغاز دوره، اظهار داشتند که درصد بقاء و شاخص های رشد لارو ماهیان تغذیه شده در تیمار کاهش تدریجی از مخلوط دافنی و آرتمیا و افزایش غذای فرموله شده وضعیت بهتری نسبت به تیمار غذای دستی داشتند. این در حالی است که لارو اوزون برون در مقایسه با لارو فیل ماهی عادت پذیری بسیار پایین تری به غذای مصنوعی دارد و تاکنون شیوه های مختلف سازگاری آن به غذای مصنوعی مورد بررسی قرار نگرفته است (Ghasemi et al, 2019). از این رو این مطالعه، تاثیر پنج شیوه سازگاری لارو تاس ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) به جیره مصنوعی و تاثیر شیوه های سازگاری بر شاخص های رشد، نرخ بقاء و ترکیبات اسید آمینه لاشه را مورد بررسی قرار دادیم.

### مواد و روش ها

#### محل انجام آزمایش

مطالعه در ۱۵ وان ۵۰ لیتری فایرگلاس با حجم آبیگیری ۲۰ لیتر از تاریخ ۱۴۰۲/۳/۲۱ لغایت ۱۴۰۲/۵/۱ در بخش آبی پروری انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری (روستای شاقاجی، رشت، استان گیلان) با مشخصات جغرافیایی  $49^{\circ}42'40.8''E$  و  $37^{\circ}06'41.4''N$  اجرا شد. آب چاه با میانگین دبی

انرژی خام جیره (۲۲ کیلوژول/گرم) بر اساس انرژی خام آزاد شده از هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول)، چربی (۳۹/۵۰ کیلو ژول) و کربوهیدرات (۱۷/۲۰ کیلوژول) و مطابق با روش اندازه‌گیری استاندارد (NRC, 2011) محاسبه شد. از پودر ماهی کیلکای عمل‌آوری شده در دمای پایین (به‌عنوان منبع پروتئینی جانوری) و از کنجاله سویا به‌عنوان منبع پروتئین گیاهی استفاده شد. به‌منظور ساخت جیره، ابتدا مواد خشک پایه با استفاده از آسیاب خرد شده و سپس با چشمه ۵۰۰ میکرون الک شدند. برای مخلوط کردن اقلام غذایی، ابتدا اقلام خشک به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه همزن دوزبانه کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. سپس، مواد ریزمغذی به مخلوط اقلام خشک افزوده شد. در مرحله بعد، ترکیب مساوی از روغن گیاهی و جانوری به مخلوط حاصل اضافه و با دستگاه همزن به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شدند. در پایان کار، میزان کافی آب (۲۰ درصد) تا رسیدن به رطوبت یکنواخت به مخلوط جیره اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر با یکدیگر مخلوط شدند. مخلوط حاصل با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به رشته‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر تبدیل و با استفاده از خشک‌کن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. رشته‌ها بر اساس اندازه دهان ماهی خرد و توسط الک با چشمه های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرون دانه‌بندی شد. جیره تولیدشده به بسته‌های پلاستیکی عاری از هوا منتقل و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Mohseni *et al.*, 2012).

(تیمار ۲)، تطابق تدریجی (آرتمیا+ شیرونومیده)+جیره لاروی [(CH+AR)+DR] (تیمار ۳)، تطابق تدریجی (مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی) + جیره لاروی [(MIX CH+AR+DR)+DR] (تیمار ۴) و تغذیه با غذای خشک (DR) (تیمار ۵) در طی یک دوره ۴۲ روزه مورد تغذیه قرار گرفتند (Lee *et al.*, 2002). در طول دوره پژوهش، فراسنجه‌های کیفی آب نظیر درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH با استفاده از دستگاه دیجیتال (YK-2001DO, Lutron, Taipei, Taiwan) اندازه‌گیری شدند. مقادیر آنها به ترتیب برابر با  $17/52 \pm 0/43$ ،  $14/1 \pm 0/25$ ،  $7/51 \pm 0/54$  بود. همچنین، دوره نوری در طول مراحل پرورش ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود.

### جیره‌های غذایی

غذاهای زنده شامل لارو منجمد شیرونومیده و زی‌توده منجمد آرتمیا از شرکت گوار کویر آریا (رفسنجان، ایران) خریداری شدند. جیره فرموله در مرحله گذار با استفاده از تجهیزات کارگاه ساخت جیره انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری ساخته شد. اقلام غذایی به همراه آنالیز تقریبی جیره فرموله و غذاهای زنده به ترتیب در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. جهت تهیه جیره فرموله، ابتدا اقلام غذایی موردنیاز جهت ساخت جیره توسط شیوه‌نامه (AOAC, 2012) از نظر ترکیبات شیمیایی بررسی شدند تا اطلاعات صحیحی برای فرمولاسیون به دست آید.

جدول ۱: فرمولاسیون و ترکیب بیوشیمیایی جیره لاروی ساخته شده (درصد ماده خشک)

Table 1: Formulation and biochemical composition of prepared larval diet (percentage of dry matter)

Ingrident	Amount (%)
Fish meal <sup>1</sup>	53
Wheat gluten <sup>2</sup>	8
Casein <sup>3</sup>	4
Wheat flour <sup>2</sup>	7
Soybean meal <sup>2</sup>	6
Fish oil <sup>1</sup>	7
Soybean oil <sup>2</sup>	3
Vitamin E <sup>4</sup>	0/6
Vitamin premix <sup>4</sup>	2/1
Mineral premix <sup>4</sup>	6/1
Lysine <sup>5</sup>	2
Methionine <sup>5</sup>	1
Yeast <sup>6</sup>	2
Betaine <sup>5</sup>	0/5
Choline Chloride <sup>7</sup>	0/2
Binder <sup>8</sup>	2
<b>Total</b>	<b>100</b>

## Biochemical composition (%)

Dry matter	87/13
Protein	51/95
Lipid	14/12
Fiber	12/3
Nitrogen-free extract	11.58
Ash	7.45

۱. پودر ماهی کیلکا، کارخانه گیل پودر (انزلی، ایران)، ۲. کارخانه شهیدینه آران (اصفهان، ایران)، ۳. شرکت Sigma Chemical (سنت لوئیس، آمریکا)، ۴. شرکت سیانس (قزوین، ایران)؛ پرمیکس ویتامین: ۱۶۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ IU ویتامین D<sub>3</sub>، ۴۰ mg ویتامین E، ۲ g ویتامین K<sub>3</sub>، ۶ g ویتامین B<sub>1</sub>، ۸ g ویتامین B<sub>2</sub>، ۱۲ g کلسیم پنتوتنات، ۴۰ g ویتامین B<sub>3</sub>، ۴ g ویتامین B<sub>6</sub>، ۸ g ویتامین B<sub>12</sub>، ۰/۲۴ g H<sub>2</sub>، ۶۰ g ویتامین C، ۲۰ mg اینوزیتول و پرمیکس معدنی: ۲۶۰۰ mg منگنز، ۶۰۰ mg مس، ۶۰۰۰ mg آهن، ۴۶۰۰ mg روی، ۱۰۰ mg سلنیوم، ۱۰۰ mg ید، ۵۰ mg کبالت، ۵. شرکت Evonik industries (اسن، آلمان)، ۶. مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) شرکت کیمیاژیم (تهران، ایران)، ۷. شرکت Liaoning Biochem (تیلینگ، چین)، ۸. شرکت مهرتابان (یزد، ایران)

1. Kilka fish meal, Gilpowder Factory (Anzali, Iran), 2. Shahdineh Aran Factory (Isfahan, Iran), 3. Sigma Chemical Company (St. Louis, USA), 4. Science Company (Qazvin, Iran); Vitamin premix: 160,000 IU vitamin A, 400,000 IU vitamin D<sub>3</sub>, 40 mg vitamin E, 2 g vitamin K<sub>3</sub>, 6 g vitamin B<sub>1</sub>, 8 g vitamin B<sub>2</sub>, 12 g calcium pantothenate, 40 g vitamin B<sub>3</sub>, 4 g vitamin B<sub>6</sub>, 8 g vitamin B<sub>12</sub>, 0.24 g H<sub>2</sub>, 60 g vitamin C, 20 mg inositol and mineral premix: 2600 mg manganese, 600 mg copper, 6000 mg iron, 4600 mg zinc, 100 mg selenium, 100 mg iodine, 50 mg cobalt, 5. Evonik industries (Essen, Germany), 6. Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Kimiazym company (Tehran, Iran), 7. Liaoning Biochem company (Tiling, China), 8. Mehrtaban company (Yazd, Iran)

جدول ۲: آنالیز تقریبی غذاهای زنده در تغذیه لارو فیل ماهی (بر حسب ماده خشک؛ میانگین  $\pm$  خطای استاندارد؛  $n=3$ )

Table 2: Approximate analysis of live foods in the diet of elephantfish larvae *Acipenser stellatus* in terms of dry matter; mean  $\pm$  standard error;  $n=3$ )

Diets		Indexes (%)
Artemia biomass Frozen	Chernomid Larvae frozen	
90/06 $\pm$ 3/64	81/34 $\pm$ 3/29	moisture
57/55 $\pm$ 2/33	52/04 $\pm$ 2/10	Crude OProtein
12/07 $\pm$ 0/49	13/72 $\pm$ 0/55	Crude lipid
17/51 $\pm$ 0/71	24/92 $\pm$ 1/01	Ash

### طراحی آزمایش

این پژوهش در ۵ تیمار آزمایشی و سه تکرار، به مدت ۴۲ روز انجام شد. نمایی شماتیک از تیمارهای آزمایشی طی دوره ۴۲ روزه تغذیه لارو ازون برون در جدول ۳ آمده است. در تیمار اول تطابق تدریجی (شیرونومیده+جیره لاروی) (CH+DR) در نظر گرفته شد. در این راستا به لاروها جهت عادت پذیری به جیره فرموله از روز هفدهم پس از تخم‌گشایی به مدت ۴۲ روز با لارو منجمد شیرونومیده تغذیه شدند، به نحوی که هر شش روز، ۲۰ درصد از میزان شیرونومیده مصرفی کاسته و به جیره فرموله اضافه می‌شد. همانند تیمار اول در تیمار دوم تطابق تدریجی (آرتمیا+جیره لاروی) (AR+DR) در نظر گرفته شد و مطابق با همان روش هر شش روز ۲۰ درصد از میزان بیوماس آرتمیای مصرفی کاسته و به جیره فرموله شده اضافه می‌گردید. اما در تیمار سوم تطابق تدریجی (آرتمیا+شیرونومیده)+جیره لاروی [(CH+AR)+DR] در نظر گرفته شد که در این تیمار غذای زنده شامل ۵۰ درصد بیوماس آرتمیا و ۵۰ درصد شیرونومیده

ساطوری شده بود و همانند پروتوکل‌های قبل هر ۶ روز ۲۰ درصد از غذای زنده کاسته و به غذای فرموله شده اضافه می‌گردید و در تیمار چهارم تطابق تدریجی (مخلوط آرتمیا + شیرونومیده+جیره لاروی)+جیره لاروی [(MIX CH+AR+DR)+DR] لحاظ گردید که بسته غذای زنده شامل ۳۵ درصد شیرونومیده، ۳۵ درصد آرتمیا و ۳۰ درصد غذای خشک مخلوط شده با هم بود و هر ۶ روز ۲۰ درصد از این مخلوط کاسته و ۲۰ درصد به غذای خشک اضافه می‌گردید و در تیمار پنجم لاروها از روز هفدهم تخمه‌گشایی منحصراً با غذای خشک تغذیه شدند. درصد غذادهی با غذای زنده و جیره فرموله به ترتیب به میزان ۳۰-۲۵ درصد و ۵-۷ درصد در شبانه‌روز جیره فرموله در هر وعده تعیین شد (Mohseni et al., 2012). دفعات غذادهی روزانه ۱۲ مرتبه طی ۲۴ ساعت (با فاصله هر دو ساعت یکبار) بود و تلفات در هر حوضچه در ابتدای هر روز جمع‌آوری و شمارش شدند. حوضچه‌ها روزانه دو مرتبه در ساعات ۸:۰۰ و ۲۰:۰۰ سیفون می‌شدند.

جدول ۳. مقادیر مصرفی غذاهای زنده و جیره فرموله در تیمارهای مختلف طی ۴۲ روز تغذیه لارو ازون برون (*Acipenser stellatus*)  
 Table 3. Consumption amounts of live foods and formulated diets in different treatments during 42 days of feeding of stellate carp larvae (*Acipenser stellatus*)

Experimental Diets						diets	Treatments
35-42	28-35	21-28	14-21	7-14	1-7		
0	20	40	60	80	100	Chironomidae (%)	CH+ DR
100	80	60	40	20	0	formulated Diet (%)	
0	20	40	60	80	100	Artemia (%)	AR+DR
100	80	60	40	20	0	formulated Diet (%)	
0	20	40	60	80	100	Artemia+Chironomidae (%)	(CH+AR)+DR
100	80	60	40	20	0	formulated Diet (%)	
0	20	40	60	80	100	Mix of Artemia + chironomid + larval diet) + dry	(MIX CH+AR+DR)+ DR
100	80	60	40	20	0	formulated Diet (%)	
0	100	100	100	100	100	formulated Diet (%)	FD

۱) CH+ DR: تطابق تدریجی شیرونومیده به جیره لاروی، ۲) AR+D: تطابق تدریجی آرتمیا به جیره لاروی، ۳) (CH+AR)+DR: تطابق تدریجی مخلوط آرتمیا + شیرونومیده به جیره لاروی، ۴) تطابق تدریجی (MIX CH+AR+DR)+ DR مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی به جیره لاروی ۵) (FD) تغذیه با غذای مصنوعی

1) CH+ DR: Gradual adaptation of Chironomidae to larval diet, 2) AR+D: Gradual adaptation of Artemia to larval diet, 3) (CH+AR)+DR: Gradual adaptation of Artemia + shrimp mixture to larval diet, 4) Gradual adaptation of (MIX CH+AR+DR)+ DR (mixture Artemia + shrimp mixture + larval diet to larval diet 5) (FD) Feeding with artificial food

شرکت (Precisa, Diticen, Switzerland) با دقت

۰/۰۱ گرم و تخته زیست‌سنجی با دقت ۱

میلی‌متر استفاده شد (Falahatkar, 2015)

شاخص‌های اندازه‌گیری شامل موارد ذیل بود:

نرخ تبدیل غذایی (FCR) = غذای خشک مصرف

شده (g) / افزایش وزن (g).

نرخ کارایی پروتئین (PER) = وزن تر اضافه شده

(افزایش بیوماس) (g) به گرم) / مقدار پروتئین

مصرفی (g)

۱۰۰ × [تعداد ماهی در ابتدای دوره / تعداد ماهی در

انتهای دوره] = SR (%)

### بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای

زیست‌سنجی ماهیان طی ۷ مرحله (روزهای صفر، ۷،

۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش) انجام شد. در این راستا

تمامی ماهیان از هر حوضچه خارج و جهت بررسی

وزن و طول آنها از ترازوی دیجیتال مدل XB-1200C

شاخص وضعیت (CF) =  $100 \times (\text{وزن ماهی}) / (\text{طول})$

کل یا چنگالی<sup>۳</sup>

افزایش وزن (WG) (g) = وزن نهایی (g) - وزن اولیه

(g).

افزایش وزن بدن (BWI) (درصد) =  $(\text{افزایش وزن}) /$

$(\text{وزن ابتدایی (g)}) \times 100$

ضریب رشد ویژه (SGR) (%) در روز =  $100 \times$

(لگاریتم وزن نهایی - لگاریتم وزن اولیه) / تعداد

روز(زمان).

### آنالیز محتوای اسیدهای آمینه

در آغاز و پایان دوره تحقیق، ۳ قطعه لارو به‌طور تصادفی از هر کدام از مخازن صید و تا انجام سنجش محتوای اسیدهای آمینه لاشه در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. هیدرولیز اسیدی نمونه‌ها توسط اسید کلردریک و تحت اتمسفر نیتروژنی و در ۱۱۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. میزان لاشه همگن شده در این مرحله ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر اسید بود. ماده به‌دست آمده ۵۰ بار توسط آب مقطر رقیق‌سازی و پس از عبور از فیلتر ۰/۴۵ میکرون در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت بررسی‌های بعدی ذخیره شد. پس از رقیق‌سازی و

سوسپانسیون مجدد توسط امواج صوتی به مدت ۱۵ دقیقه، نمونه‌ها تحت دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد طی ۱۰ دقیقه در حضور کاتالیزور ACQ تجزیه شدند. جداسازی اسیدهای آمینه نیز توسط HPLC (Seri 200, Cambridge, England) انجام و در نهایت، غلظت و درصد هر کدام از اسیدهای آمینه تعیین شد (Cara et al., 2007). به منظور ارزیابی همترازی محتوای اسید آمینه لارو و جیره‌های مختلف از معادله‌های زیر استفاده شد (Teodósio et al., 2022):

$$A/E = \frac{[\text{مجموع اسید آمینه‌های ضروری}] \times 1000}{\text{ضرب A/E}}$$

$$100 \times \left[ \frac{A/E_{\text{ماهی}} - A/E_{\text{جیره}}}{A/E_{\text{ماهی}}} \right] = \text{تفاوت نسبی اسیدهای آمینه ماهی و جیره}$$

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های کسب شده در نرم‌افزار Excel ثبت و مورد پردازش قرار گرفت. سپس نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov و معنی‌دار بودن داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد سنجش قرار گرفت. در صورت مشاهده اختلاف، تست Tukey جهت مقایسه میانگین‌ها به‌عنوان Post-hoc اعمال شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار (SPSS, IBM Corp) (Version 24.0. Chicago, USA) انجام شد. سطح معنی‌دار بودن برای همه موارد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج مربوط به تاثیر راهبردهای تغذیه بر شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذا و درصد بازماندگی لارو ازون‌برون در یک دوره تغذیه ۴۲ روزه در جدول ۴ نشان داده شده است. بیشترین وزن نهایی در لاروهای تغذیه‌شده در تیمار ۱ ثبت گردید، که بطور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای ۲ و ۳ ( $p < 0.05$ ) و فاقد اختلاف معنی‌دار با لاروهای تغذیه‌شده با تیمارهای ۴ و ۵ بود ( $p > 0.05$ ). لاروهای تیمار ۱ بیشترین ضریب چاقی را داشتند که به طور معنی‌داری بیشتر از ضریب چاقی لاروهای تیمار ۲ بود ( $p < 0.05$ )، در صورتی که اختلاف معنی‌داری بین این گروه و سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد

در لاروهای تیمارهای ۴ و ۵ دارای اختلاف معنی دار آماری با تیمار ۱ نبودند ( $p>0.05$ ). اختلاف معنی داری در شاخص ضریب تبدیل غذا در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید، اما کمترین ضریب تبدیل غذا به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۴ ثبت گردید ( $p>0.05$ ). کمترین نسبت بازده پروتئین در لاروهای تیمار ۳ و بالاترین آن متعلق به لاروهای تیمار ۱ بود ( $p<0.05$ ) که فاقد اختلاف معنی دار آماری با تیمارهای ۲، ۴ و ۵ بود ( $p>0.05$ ). بیشترین درصد بقا به ترتیب در تیمارهای ۴، ۱ و ۳ ثبت گردید که دارای اختلاف معنی دار آماری با تیمارهای ۲ و ۵ بود ( $p<0.05$ ).

( $p>0.05$ ). به ترتیب بیشترین و کمترین درصد افزایش وزن بدن متعلق به لاروهای تیمارهای ۱ و ۲ ( $p>0.05$ ) و در مراتب بعد تیمارهای ۳ و ۴ قرار داشتند که فاقد اختلاف معنی دار آماری با تیمار ۱ بودند ( $p>0.05$ ). اختلاف معنی داری در مقادیر نرخ رشد ویژه در تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد ( $p>0.05$ )، اما لاروهای تیمار ۱ بیشترین نرخ رشد ویژه را داشتند و تیمارهای دیگر درجات کمتری از نرخ رشد ویژه را در لاروها ایجاد کرده بودند. به ترتیب بیشترین و کمترین رشد روزانه در لاروهای تغذیه شده تیمارهای ۱، ۲ و ۳ مشاهده گردید ( $p<0.05$ ). در صورتی که رشد روزانه

جدول ۴: شاخص‌های رشد لارو تاس ماهیان ازون برون (*Acipenser stellatus*) پس از تطابق تدریجی با رژیم‌های مختلف غذایی به جیره فرموله طی ۴۲ روز (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد، n=۳)

Table 4: Growth indices of *Acipenser stellatus* larvae after gradual adaptation to different diets and a formulated diet over 42 days (mean  $\pm$  standard error, n=3)

Indicators / Diet	Gradual adaptation (chironomid + larval diet) (CH + DR)	Gradual adaptation (Artemia + larval diet) (AR+ DR)	Gradual adaptation (Artemia + Chironomid) + Larval diet (CH + AR)+ DR	Gradual adaptation (Mix of Artemia + Chironomid + Larval diet) + Larval diet (MIX CH + AR + DR)+ DR	Dry food feeding (DR)
Initial weight (gr)	0.34 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.024	0.39 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.036
Final weight (gr)	2.45 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.82 $\pm$ 0.01	1.84 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	2.15 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	2.23 $\pm$ 0.02
Initial length (cm)	4.60 $\pm$ 0.11	4.88 $\pm$ 0.11	4.95 $\pm$ 0.28	4.75 $\pm$ 0.007	4.94 $\pm$ 0.091
Final length (cm)	8.16 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	8.36 $\pm$ 0.33 <sup>ab</sup>	7.76 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	8.36 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	8.72 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
Condition factor	0.45 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.035 <sup>b</sup>	0.39 $\pm$ 0.029 <sup>ab</sup>	0.37 $\pm$ 0.005 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Weight gain percentage (% during the period)	621.24 $\pm$ 66.56 <sup>a</sup>	36.23 $\pm$ 32.19 <sup>b</sup>	370.20 $\pm$ 35.33 <sup>b</sup>	446.99 $\pm$ 18.39 <sup>ab</sup>	457.98 $\pm$ 57.16 <sup>ab</sup>
Specific growth rate (percentage per day)	0.056 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	0.037 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.0381 $\pm$ 0/001 <sup>ab</sup>	0.0462 $\pm$ 0.001 <sup>ab</sup>	0.0481 $\pm$ 0.001 <sup>ab</sup>
Daily growth (mg/day)	5.58 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	4.49 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	4.58 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	4.99 $\pm$ 0.98 <sup>ab</sup>	5.04 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>
Food conversion ratio	3.37 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	3.93 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>	3.63 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	3.52 $\pm$ 0.04	3.83 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup>
Protein efficiency ratio	0.57 $\pm$ 0.066 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.021	0.394 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	0.515 $\pm$ 0.001 <sup>ab</sup>	0.53 $\pm$ 0.062 <sup>ab</sup>
Survival rate (%)	84.50 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	71.00 $\pm$ 1.61 <sup>b</sup>	83.50 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	90.00 $\pm$ 1.41 <sup>a</sup>	59.00 $\pm$ 1.41 <sup>c</sup>

حروف لاتین کوچک غیر مشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار آماری بین تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ).

Non-identical Latin letters in each row indicate significant differences between different treatments ( $p < 0.05$ ).

### پروفایل اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری

کمترین و بیشترین درصد آرژنین در تطابق تدریجی ۴ مشاهده شد که فاقد اختلاف معنی دار آماری با مقدار آرژنین لاروهای تیمار ۱ ( $p > 0.05$ ) و دارای اختلاف معنی دار آماری با سایر تیمارهای آزمایشی و مقدار آرژنین ثبت شده در لاشه لاروها در آغاز دوره پرورش بود ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی داری در مقدار هیستیدین لاشه لاروها مشاهده نشد، اما بیشترین مقدار هیستیدین متعلق به ماهیان تغذیه شده با تیمار ۵ بود ( $p > 0.05$ ). میزان ایزولوسین لاشه در انتهای دوره در مقایسه با آغاز دوره پرورش به طور معنی داری کاهش یافته بود و کمترین مقدار ایزولوسین لاشه متعلق به ماهیان تیمار ۵ بود ( $p < 0.05$ ). میزان لوسین لاشه در انتهای دوره در مقایسه با آغاز دوره پرورش به طور معنی داری افزایش یافته بود. بیشترین میزان لوسین لاشه در تیمار ۴ مشاهده شد که دارای اختلاف معنی دار آماری با تیمار ۱ و لاروهای آغاز دوره پرورش بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان لایزین در لاشه لاروها در انتهای دوره پرورش در تیمارهای ۴ و ۵ ثبت شد که بطور معنی داری بیشتر از تیمارهای ۳ و ۲ ( $p < 0.05$ ) و فاقد اختلاف معنی دار آماری با تیمار ۱ و لاروهای آغاز دوره پرورش بود ( $p > 0.05$ ). بیشترین میزان متیونین لاشه از آن لاروهای تیمار ۴ بود که دارای اختلاف معنی دار آماری با کلیه تیمارهای آزمایشی و لاروهای آغاز دوره پرورش بود ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی داری در میزان فنیل آلانین در لاروها در آغاز و انتهای دوره پرورش مشاهده نشد، اما لاشه لاروهای تیمار ۴ دارای بیشترین مقدار این اسید آمینه بود ( $p > 0.05$ ). درصد ترئونیندر لاشه لاروها در آغاز دوره پرورش و تیمارهای ۱ و ۴ در بالاترین مقدار بود و دارای اختلاف معنی دار با میزان ترئونین در لاشه ماهیان تیمار ۳ بود ( $p > 0.05$ ). میزان والین در لاروهای ۴۲ روزه در مقایسه با لاروهای آغاز دوره

پرورش روند افزایشی را نشان داد و بیشترین مقدار آن در ماهیان تیمار ۵ ثبت گردید ( $p < 0.05$ ). بیشترین مجموع اسید آمینه های ضروری در لاشه ماهیان تیمارهای ۴ و ۵ مشاهده شد که دارای برتری معنی دار آماری با میزان اسید آمینه های ضروری لاشه لاروهای در آغاز دوره پرورش و دارای روند تصاعدی بود ( $p > 0.05$ ). بررسی ترکیب اسیدهای آمینه لاشه لارو ازون برون در پایان دوره ۴۲ روزه گذار از غذای زنده به جیره فرموله نشان داد که اسید آمینه آلانین در لاشه لاروهای ۴۲ روزه در مقایسه با لاروها در آغاز دوره پرورش به طور معنی داری افزایش یافته و بیشترین مقدار آن در لاشه ماهیان تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در روندی معکوس مقدار اسید آسپاراتیک لاشه در لاروهای ۴۲ در مقایسه با لاروها در آغاز دوره پرورش به طور معنی داری کاهش یافت و کمترین مقدار آن در لاروهای تیمار تطابق تدریجی ۴ مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی داری در میزان گلوتامین و گلیسین لاشه در تیمارهای مختلف آزمایشی و لاروهای آغاز دوره پرورش مشاهده نشد، اما لاشه ماهیان تیمار ۲ دارای بیشترین مقدار این اسید آمینه بود ( $p > 0.05$ ). کمترین میزان پرولین در لاشه لاروهای تیمارهای ۴ و ۵ مشاهده شد که بطور معنی داری کمتر از پرولین ثبت شده در لاشه لاروها در آغاز دوره پرورش بود ( $p < 0.05$ ). میزان اسید آمینه سرین در لاروهای روز ۴۲ در مقایسه با لاروها در آغاز دوره پرورش به طور معنی داری افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در لارو تیمار تطابق تدریجی ۱ ثبت گردید ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی داری در میزان تایروزین در لاروهای یک روزه و تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد، اما مقدار آن در ماهیان تیمارهای ۴ و ۵ بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ( $p > 0.05$ ) (جدول ۵).

جدول ۵: پرو فایل اسیدهای آمینه لاشه لارو تاس ماهیان ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) در آغاز و پس از تطابق تدریجی با رژیم‌های مختلف غذایی به جیره فرموله طی ۴۲ روز  
 Table 5: Amino acid profile *Acipenser stellatus* larvae at the beginning and after gradual adaptation different diets to formulated diet over 42 days

Dry food feeding (DR)	Artemia + Gradual adaptation (Mix of Chironomid + Larval diet) + Larval diet (MIX CH + AR + DR)+ DR	Gradual adaptation (Artemia + Chironomid) + Larval diet (CH + AR)+ DR	Gradual adaptation (Artemia + larval diet) (AR+ DR)	Gradual adaptation (chironomid + larval diet) (CH + DR)	Start of expirement	Amino acid
						Essential amino acids
6.93±0.02 <sup>bc</sup>	7.83±0.07	6.57±0.12	6.67±0.02	7.45±0.33	4.41±0.24	Arginine
2.48±0.33	2.31±0.15	1.99±0.56	2.07±0.26	2.00±0.16	1.84±0.06	Histidine
3.21±0.15 <sup>c</sup>	3.93±0.47 <sup>b</sup>	3.80±0.02 <sup>b</sup>	3.80±0.07 <sup>b</sup>	3.59±0.04 <sup>bc</sup>	4.73±0.19 <sup>a</sup>	Isoleucine
7.27±0.17 <sup>abc</sup>	7.81±0.23 <sup>a</sup>	7.19±0.09 <sup>abc</sup>	7.61±0.33 <sup>ab</sup>	6.44±0.21 <sup>c</sup>	6.56±0.42 <sup>bc</sup>	Lucien
7.23±0.14 <sup>a</sup>	7.78±0.07 <sup>a</sup>	6.17±0.07 <sup>b</sup>	5.41±0.21 <sup>c</sup>	6.215±0.16 <sup>ab</sup>	7.32±0.28 <sup>a</sup>	Lysine
2.23±0.21 <sup>b</sup>	2.87±0.44 <sup>a</sup>	1.73±0.12 <sup>c</sup>	1.86±0.19 <sup>bc</sup>	1.95±0.03 <sup>bc</sup>	1.89±0.02 <sup>bc</sup>	Methionine
2.33±0.18 <sup>ab</sup>	3.83±0.04 <sup>b</sup>	3.02±0.09 <sup>ab</sup>	2.75±0.32 <sup>b</sup>	2.50±0.34 <sup>b</sup>	3.15±0.07 <sup>ab</sup>	Phenylalanine
4.50±0.46 <sup>c</sup>	6.33±0.04 <sup>ab</sup>	4.55±0.60 <sup>c</sup>	4.59±0.53 <sup>bc</sup>	6.43±0.57 <sup>a</sup>	6.42±0.26 <sup>a</sup>	Threonine
4.47±0.12 <sup>b</sup>	4.20±0.03 <sup>a</sup>	4.43±0.24 <sup>a</sup>	4.37±0.16 <sup>a</sup>	4.20±0.14 <sup>a</sup>	3.5±0.07 <sup>b</sup>	Valine
						Non-essential amino acids
7.55±0.6 <sup>a</sup>	7.19±0.12 <sup>a</sup>	6.38±0.24 <sup>a</sup>	7.46±0.17 <sup>a</sup>	7.52±0.37 <sup>a</sup>	3.57±0.45 <sup>b</sup>	Alanine
13.69±1.41 <sup>abc</sup>	9.7±0.55 <sup>c</sup>	15.94±0.58 <sup>ab</sup>	14.89±1.56 <sup>ab</sup>	12.00±0.98 <sup>bc</sup>	17.69±1.88 <sup>a</sup>	Aspartic acid
17.61±0.52	16.44±0.91	18.56±0.02	19.45±0.79	18.61±2.10	18.45±0.59 <sup>a</sup>	Glutamine
7.37±0.36	7.43±0.47	7.12±0.24	18.56±0.02	7.36±0.22	7.27±0.24	Glycine
4.00±0.21 <sup>b</sup>	4.26±0.20 <sup>b</sup>	4.75±0.26 <sup>ab</sup>	4.66±0.29 <sup>ab</sup>	4.73±0.11 <sup>ab</sup>	5.15±0.07 <sup>a</sup>	Proline
6.41±0.37 <sup>a</sup>	6.40±0.42 <sup>a</sup>	6.19±0.06 <sup>a</sup>	6.20±0.07 <sup>a</sup>	4.56±0.1 <sup>a</sup>	6.61±0.09 <sup>b</sup>	Serine
1.68±0.12	1.65±0.14	1.57±0.12	1.56±0.155	1.40±0.26	1.40±0.12	Tyrosine
41.67±1.75 <sup>ab</sup>	46.905±0.68 <sup>a</sup>	39.46±1.371 <sup>b</sup>	39.135±1.91 <sup>b</sup>	40.803±2.1 <sup>abc</sup>	39.85±1.68 <sup>c</sup>	Total essential amino acids
58.33±3.62	53.095±2.85	60.54±1.57	60.85±3.91	59.175±4.069	60.15±3.465	Total non-essential amino acids
0.71						The ratio of essential to non-essential amino acids
	0.88	0.65	0.64	0.68	0.66	
100	100	100	100	100	100	Total

حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ).

Non-identical Latin letters in each row indicate significant differences between different treatments ( $p < 0.05$ ).

## بحث

در آزمایش حاضر بالاترین شاخص های رشد، ضریب چاقی، درصد افزایش وزن بدن، رشد روزانه، نسبت بازده پروتئین در تیمار تطابق تدریجی شیرونومیده به غذای خشک مشاهده شد و در مراتب بعدی تیمارهای تطابق تدریجی (مخلوط آرتمیا+شیرونومیده+جیره لاروی)+جیره لاروی [MIX CH+AR+DR]+DR] و تغذیه با غذای خشک (DR) قرار داشتند.

ضریب تبدیل غذا (FCR) یکی از مهم ترین شاخص ها و معیار تصمیم گیری در مورد یک جیره زنده یا مصنوعی است (Fry et al., 2018). نرخ رشد ویژه (SGR) و راندمان تبدیل غذا ارتباط تنگاتنگی با هم داشته و به افزایش یا کاهش وزن ماهی وابسته است (Besson et al., 2016) در این میان منبع پروتئین نقش مهمی در رشد و نمو و در عین حال حفظ و ترمیم بافت های فرسوده بدن، رشد و عادت پذیری لارو به غذای خشک در لارو ماهیان مختلف دارد (Meena, 2021). مطالعات نشان داده که شیرونومیده، منبع خوبی از مواد مغذی، ویتامین ها و آهن است (Mclarney et al., 1974) و در حال حاضر به صورت منجمد در آبی پروری و به عنوان غذای زنده برای بسیاری از گونه های ماهی از جمله ماهیان خاویاری استفاده می شود (Sahandi, 2011). از سوی دیگر ارزش غذایی شیرونومیده بالا بوده و تجزیه و تحلیل های بیوشیمیایی نشان داده است که وزن خشک شیرونومیده حاوی ۵۶ درصد پروتئین است و این امر آبی پروران را تشویق به استفاده از آن کرده است (De La Noüe et al., 1985). James و همکاران (۱۹۹۳) گزارش دادند که استفاده از شیرونومیده منجر به به حداقل رساندن

دوره کشت و هزینه های تغذیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می شود. مطالعات Nath و همکاران (۲۰۲۱) در گونه های *Trichogaster heteropneustes fossilis* و *fasciata*, نشان داده بود که تغذیه این دو گونه با شیرونومیده (*Chironomus striatipennis*) موجب افزایش شاخص های رشد و پروتئین لاشه نسبت تویفکس و جیره تجاری ماهیان آکواریومی در این دو گونه می گردد. Bódis و همکاران (۲۰۰۷) در لارو سوف معمولی (*Sander luciperca*) در یک دوره ۱۲ روزه تطابق تدریجی به غذای خشک را با استفاده از ۴ استراتژی تغذیه شامل انتقال مستقیم به غذای خشک، استفاده ترکیبی از غذای زنده و غذای خشک، تطابق تدریجی از شیرونومیده به غذای خشک و انتقال تدریجی از دافنی به غذای خشک را مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیدند که بیشترین درصد بقاء و شاخص های رشد و کمترین درصد هم نوع خواری در طی استراتژی تغذیه انتقال تدریجی شیرونومیده به غذای خشک دیده می شود. از سوی دیگر مطالعات انجام شده در تاس ماهی رنگ پریده (*Scaphirhynchus albus*) با متوسط وزن ۲۰/۴ گرم با پلت های غذایی (۱ میلی متر، دارای ۴۵ درصد پروتئین، ۱۹ درصد چربی) و یا شیرونومیده نشان دهنده این موضوع بود که ماهیان تغذیه شده با غذای طبیعی نرخ رشد ویژه بیشتری (۲/۱۲ درصد در روز) نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره های خشک (۰/۰۶ درصد در روز) داشتند. همچنین، شاخص ضریب چاقی در ماهیان خاویاری که با شیرونومیده تغذیه کرده بودند بیشتر از ماهیان تغذیه شده با پلت بود (Valentine et al., 2017). محققین پیشنهاد نمودند که افزایش شاخص رشد و استقبال ماهیان از شیرونومیده بخاطر این

درصد پروتئین، ۱۸ درصد لیپید و آنزیم‌های گوارشی یک منبع غذایی ارزشمند برای لارو ماهیان شمار می‌آید (Leger et al., 1987)، اما بررسی‌های انجام شده در آزمایش حاضر نشان داد که مخلوط این سه ماده غذایی (شیرونومیده، آرتمیا و غذای خشک خمیری شکل) می‌تواند باعث عادت‌پذیری و تقویت بهتر آنزیم‌های گوارشی در لارو تاس‌ماهی ازون برون گردد. در این آزمایش غذای خشک نیز شاخص‌های رشد قابل قبولی ایجاد کرد. اما درصد تلفات این تیمار نسبت به تیمارهای دیگر در سطح بالایی قرار داشت که احتمالاً می‌توان آن را به تغییر قابلیت هضم و تغییر جامعه میکروبی دستگاه گوارش لارو نسبت داد (Zhang et al., 2022).

بیش از ۵۰ درصد از ترکیب لارو (وزن خشک) پروتئین است. رشد بهینه لارو ارتباط نزدیکی با میزان پروتئین موجود در جیره غذای زنده و مصنوعی، کیفیت و کمیت آن دارد (Aragão et al., 2004). از سوی دیگر لارو ماهیان به دلیل سرعت رشد بالا و نیاز به کاتابولیسم و آنابولیسم شدید نیاز بالایی به اسید آمینه‌های ضروری دارند. به طوری که عدم توازن اسید آمینه‌های ضروری در جیره غذایی می‌تواند موجب کاهش رشد و ضریب تبدیل غذا شود (Saavedra et al., 2006). این نکته در انتقال لارو از غذای زنده به غذای مصنوعی که ترکیب و پروفایل اسیدهای آمینه آن در حال تغییری باشد از اهمیت بسزایی برخوردار است. در این مطالعه بیشترین درصد آرژنین، لایزین و متیونین در لاشه لاروهای تغذیه شده با راهبردهای تغذیه (CH+ DR) و [(MIX CH++AR+DR)+DR] مشاهده شد. در میان اسیدهای آمینه ضروری، آرژنین یکی از آمینواسیدهای کاربردی در ماهیان است. این اسید آمینه

بود که لارو و بچه ماهی تاس‌ماهیان در طبیعت در محیط آب شیرین در درجه اول از بی‌مهرگان آبی، به‌ویژه گونه‌های *Chironomidae* و *Ephemeroptera* استفاده می‌کنند (Wanner et al., 2007)، در صورتی که آرتمیا عمدتاً در آب‌های شور پرورش داده شده و در محیط‌های طبیعی در دسترس لارو ماهیان خاویاری قرار ندارد. در مطالعه حاضر تطابق تدریجی (مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی) + جیره لاروی [(MIX CH+AR+DR)+DR] نیز شاخص‌های رشد قابل قبولی را در لارو ازون برون ایجاد نمود که هماهنگ با یافته‌های Taati و همکاران (۲۰۱۸) است. آنها دریافتند که غذای لارو تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) با شیرونومیده به دلیل وجود ترکیبات جاذب غنی از اسیدهای آمینه مانند متیونین موجب تحریک اشتها و افزایش شاخص‌های رشد می‌شود. اما یافته‌های Shakourian و همکاران (۲۰۱۱) پس از تغذیه آغازین لارو تاس‌ماهی ایرانی طی ۳۵ روز با جیره‌های زنده و خشک مختلف بر این نکته اذعان داشت که مصرف مخلوطی از جیره خمیری و لارو شیرونومیده سبب افزایش وزن نهایی در این گونه می‌شود. شاید به این دلیل که اگرچه اقلام غذایی طبیعی (زنده) می‌توانند آنزیم‌های گوارشی خود را به ماهیان جوان «هدا» کنند و در نتیجه بعنوان یک جزء برون‌زای آنزیم‌های گوارشی که در غذاهای فرموله شده موجود نیست، کمک کنند، اما استفاده از مخلوطی از غذای زنده و غذای خشک به شکل خمیری این مزیت را دارد که حس عادت‌پذیری و پذیرش غذای مصنوعی را در لاروها تقویت و موجب افزایش شاخص‌های رشد لارو می‌گردد (Gisbert et al., 2018). باید به این نکته توجه داشت با آن که آرتمیا به دلیل دارا بودن ۵۲

نتایج تحقیقات Babaei و همکاران (۲۰۱۱) در تغذیه لارو تاس ماهی ایرانی پس از جذب کیسه زرده (۱۰-۹ روز پس از تفریح) تا روز چهاردهم با آرتمیا (*Artemia urumina*) و سپس تا روز چهارم طبق شرایط کارگاهی با دافنی نشان دهنده این موضوع بود که به دلیل موجب فقر اسید آمینه در این دو گونه غذای زنده، در روز چهاردهم تغذیه لارو با آرتمیا مقدار اسید آمینه های آرژنین، هیستدین، لوسین و فنیل آلانین و در روز چهارم پس از تفریح و در طی تغذیه از دافنی میزان اسید آمینه فنیل آلانین در لاشه کاهش یافته بود. این در حالی است که با توجه به نتایج ارائه شده در خصوص افزایش آرژنین، لایزین و متیونین در لاشه لاروهای تغذیه شده با استراتژی های تغذیه (CH+ DR) و (MIX CH++AR+DR) به نظر می رسد که شیرونومیده از نظر اسیدهای آمینه ضروری در مقایسه با آرتمیا دارای تعادل و غنای بیشتری است (Nath et al., 2021, 2022). Kabir و همکاران (۲۰۱۵) نیز دریافتند که نبود یک یا چند اسید آمینه می تواند موجب محدودیت سنتز پروتئین و رشد در گربه ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus*) شود.

در این مطالعه میزان ترئونین در لاروهای تغذیه شده استراتژی های تغذیه (CH+ DR) و MIX و (CH++AR+DR)+DR در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی به طور معنی داری افزایش یافته بود. ترئونین یک اسید آمینه ضروری است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی از جمله رشد، کارایی خوراک، عملکرد سیستم ایمنی و کارایی غذا نقش دارد. این اسید آمینه می تواند در بهبود عملکرد گوارشی از طریق بهبود فعالیت آنزیم های گوارشی و کنترل شاخص های استرس نقش داشته باشد (Dong et

در اووه زایی، عملکرد سیستم ایمنی، دفاع آنتی اکسیدانی، محور سوماتوتروپیک، پاسخ های استرس و سم زدایی آمونیاک در ماهی نقش دارد (Hoseini et al., 2020). ماهیان آب شیرین بین ۳ تا ۸/۱ درصد پروتئین جیره به آرژنین نیاز دارند و حد بهینه آنها در ماهیان خاویاری شناخته شده نیست. متیونین و سیستین از گروه اسید آمینه های گوگرد دار هستند. وجود مقادیر کافی متیونین و سیستین برای ساخت پروتئین و سایر اعمال فیزیولوژیکی بدن لازم است و به نظر می رسد. سیستین در ماهیان یک اسید آمینه غیر ضروری است که ماهی قادر است آن را از طریق اسید آمینه های ضروری مانند متیونین جبران نماید. در صورتی که متیونین یک اسید آمینه ضروری و مورد نیاز ماهیان (Lovell, 1998) و در سنتز پروتئین و ترکیبات بیوشیمیایی سولفور ضروری و از سوی دیگر یک دهنده متیل در واکنش های شیمیایی است که می تواند متیل مورد نیاز را برای واکنش های متیل سازی مهیا سازد (Wu and Davis., 2005). مقدار مورد نیاز اسید آمینه های گوگرد دار برای اکثر ماهیان ۲ تا ۳ درصد پروتئین جیره است. همچنین لایزین یکی از ۱۰ آمینواسید ضروری است که باید در غذای ماهیان موجود باشد. تحقیقات نشان داده است که تنظیم و تعادل اسیدهای آمینه جیره غذایی منجر به افزایش رشد سیم دریایی سرطلایی و لارو *Diplodus sargus* می شود (Gómez-Requeni et al., 2003). از سوی دیگر وجود اسید آمینه های آزاد در غذا موجب افزایش ترشح آنزیم تریپسین و اسید آمینه های نظیر آرژنین و آلانین باعث تحریک اشتها می گردند (Infante and Cahu, 2007).

جهت گذار به غذای فرموله در لارو اوزون‌برون می‌باشد.

### سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خود را از آقایان علی هوشیار و آرش شهباری که پرورش و تغذیه لارو ماهیان را بر عهده داشتند ابراز می‌دارند.

### منابع

1. Agh, N., Noori, F., Irani, A., Van Stappen, G. and Sorgeloos, P., 2013. Fine tuning of feeding practices for hatchery produced Persian sturgeon, *Acipenser persicus* and Beluga sturgeon, *Huso huso*. *Aquaculture Research*, 44(3), pp.335-344. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011. 0303 1.x
2. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2012. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (19th edn). *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA, USA. 1263 p.
3. Aragão, C., Conceição, L.E., Fyhn, H.J. and Dinis, M.T., 2004. Estimated amino acid requirements during early ontogeny in fish with different life styles: gilthead seabream (*Sparus aurata*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 242(1-4), pp.589-605. DOI: 10.1016/j.aquaculture. 2004.09.015
4. Babaei, S., Abedian Kenari, A.M., Nazari, R., 2011. Study of the amino acid composition of Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*) fed with live foods of Artemia and Daphnia. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 20(2), pp.1-8. DOI:10.22092/ISFJ.2017.109986
5. Besson, M., Aubin, J., Komen, H., Poelman, M., Quillet, E., Vandeputte, M. and De Boer, I.J.M., 2016. Environmental impacts of genetic

(al., 2022). به نظر می‌رسد که در آزمایش حاضر استراتژی‌های تغذیه ذکر شده موجب بالا رفتن کارایی غذا و رشد و در نتیجه افزایش میزان بقاء لاروهای اوزون‌برون شده است.

در این تحقیق بیشترین درصد اسید آمینه‌های ضروری در لاروهای تغذیه شده با تطابق تدریجی [MIX(CH++AR+DR)+DR] مشاهده شد. مطالعات نشان داده است که راندمان رشد و تبدیل غذا در لارو را می‌توان با تغییر ترکیب اسیدهای آمینه جیره تطابقی به حداکثر رساند. در غیر این صورت عدم تعادل اسیدهای آمینه در رژیم غذایی انتقالی باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای آمینه و کاهش راندمان تبدیل غذا می‌شود (Fauconneau et al., 1992) که اگر با از دست دادن اسیدهای آمینه جیره همراه باشد به این معنی است که ذخیره اسید آمینه‌های ضروری و غیر ضروری در لاشه به طور معنی داری کاهش می‌یابد (Conceição et al., 1998). با توجه به موارد فوق به نظر می‌رسد که استراتژی‌های تغذیه (CH+ DR) و مخلوط آرتمیا + شیرونومیده + جیره لاروی) + جیره لاروی [MIX(CH++AR+DR)+DR] نقش موثری در استفاده بهینه از پروتئین و اسیدهای آمینه و ابقای آنها در لاشه لارو تاس‌ماهی اوزون‌برون داشته است.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که استراتژی تطابق تدریجی (شیرونومیده+جیره لاروی)(CH+DR) و (مخلوط آرتمیا+شیرونومیده+جیره لاروی)+جیره لاروی [CH++AR+DR)+DR] به دلیل اثرات مثبت بر عملکرد رشد، بقا و تعادل بهتر در پروفایل اسیدهای آمینه لاشه راهبرد غذایی مناسبی

- Apparent digestibility of invertebrate biomasses by rainbow trout. *Aquaculture*, 50(1-2), pp.103-112. DOI: 10.1016/0044-8486(85)90156-5
12. Dong, Y.W., Jiang, W.D., Wu, P., Liu, Y., Kuang, S.Y., Tang, and Feng, L., 2022. Nutritional digestion and absorption, metabolism fates alteration was associated with intestinal function improvement by dietary threonine in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon Idella*). *Aquaculture*, 555, pp.738194. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738194
  13. Fauconneau, B., Basseres, A. and Kaushik, S.J., 1992. Oxidation of phenylalanine and threonine in response to dietary arginine supply in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 101(2), pp.395-441 DOI: 10.1016/0300-9629(92)90552-2
  14. Falahatkar, B., 2015. Aquatic Animal Nutrition and firmulation. *Jahad Agricultural Higher Applied Scientific Education Institute publication*, Tehran. 334 p.
  15. Fry, J.P., Mailloux, N.A., Love, D.C., Milli, M.C. and Cao, L., 2018. Feed conversion efficiency in aquaculture: do we measure it correctly? *Environmental Research Letters*, 13 (2), pp.024017. DOI 10.1088/1748-9326/aaa273
  16. Ghasemi, N., Imani, A., Noori, F. and Shahrooz, R., 2020. Ontogeny of digestive tract of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) from hatching to juvenile stage: Digestive enzymes activity, stomach and proximal intestine. *Aquaculture*, 519, pp.734-751. DOI: j.aquaculture.2019.7 34751
  17. Gisbert, E., Solovyev, M., Bonpunt, E. and Mauduit, C., 2018. Weaning in Siberian sturgeon larvae. The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). 2, pp.59-72. DOI:10.1007/978-3-319-61676-6\_4
  18. Gómez-Requeni, P., Mingarro, M., Kirchner, S., Calduch-Giner, J.A., improvement of growth rate and feed conversion ratio in fish farming under rearing density and nitrogen output limitations. *Journal of Cleaner Production*, 116, pp.100-109. DOI: 10.1016/j.jclepro.2015.12.084
  6. Bódis, M., Kucska, B. and Bercsényi, M., 2007. The effect of different diets on the growth and mortality of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) in the transition from live food to formulated feed. *Aquaculture international*, 15(1), pp.83-90. DOI: 10.1007/s10499-006-9063-0.
  7. Cara, J.B., Moyano, F.J., Zambonino, J.L. and Alarcón, F.J., 2007. The whole amino acid profile as indicator of the nutritional condition in cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 13(2), pp.94-103. DOI:10.1111/j.1365-2095.2007.00459.x
  8. Chèvre, P., Saint-Sevin, J., Mercier, D., Jacobs, L. and Williot, P., 2011. Recent progress in larval rearing of the European sturgeon, *Acipenser sturio*. *Biology and Conservation of the European Sturgeon Acipenser sturio*. chap. 33. *Biology and conservation of the European sturgeon Acipenser sturio L. 1758: the reunion of the European and Atlantic sturgeons*, Springer, pp.449-453. DOI: 10.1007/978-3-642-20611-5\_33
  9. Conceição, L.E.C., Ozório, R.O.A., Suurd, E. A. and Verreth, J.A.J., 1998. Amino acid profiles and amino acid utilization in larval African catfish (*Clarias gariepinus*): effects of ontogeny and temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*. 19, pp.43-58. DOI: 10.1023/A: 100773822 8055
  10. Dediu, L., Maeranu, M., Cristea, V. and Maeranu, D., 2011. Effect of formulated diet versus live food on growth and survival of Russian sturgeon (*Acipenser guldenstaedti*) larvae starting exogenous feeding. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 68, pp.1-2.
  11. De la Noüe, J. and Choubert, G., 1985.

- developing marine fish: applications to diet formulation. *Aquaculture*, 268(1-4), pp.98-105. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.032
24. Jafaryan, H., 2016. The study of feeding parameters of Beluga (*Huso huso*) larvae fed with *Artemia* nauplii and *Daphnia*. *Journal of Fish Nutrition*, 2(1), pp.5-27. [In Persian]
25. James, R., Muthukrishnan, J. and Sampath, K., 1993. Effects of food quality on temporal and energetics cost of feeding in *Cyprinus carpio* (Pisces: Cyprinidae). *Journal of Aquaculture In the Tropics*, 8, pp.47-53.
26. Kabir, M.A., Ghaedi, A., Talpur, A.D. and Hashim, R., 2015. Effect of dietary protein levels on reproductive development and distribution of amino acids in the body tissues of female *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) broodstock in captivity. *Aquaculture Research*, 46(7), pp.1736-1747. DOI: 10.1111/are.12326
27. Lee, S., Zhai, S., Deng, D.F., Li, Y., Blaufuss, P.C., Eggold, B.T. and Binkowski, F., 2022. Feeding strategies for adapting lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) larvae to formulated diets at early life stages. *Animals*, 12(22), pp.3128. DOI:10.3390/ani12223128
28. Leger, R.S., Cooper, R.M. and Charnley, A.K., 1987. Distribution of chymoelastases and trypsin-like enzymes in five species of entomopathogenic deuteromycetes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 258(1), pp.123-131. DOI:10.1016/0003-9861(87)90329-8
29. Lovell, T., 1998. Nutrition and fish health. In *Nutrition and feeding of fish* (pp. 115-122). Boston, MA: Springer US. 265pp.
30. McLarney, W.O., Henderson, S. and Sherman, M.M., 1974. A new method for culturing *Chironomus tentans* Fabricius larvae using burlap substrate in fertilized pools, *Aquaculture*, 4, pp.267-276. DOI:10.1016/0044-8486(74)90039-8
31. Meena, D.K., Sahu, N.P., Srivastava, P. Médale, F., Corraze, G. and Pérez-Sánchez, J., 2003. Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 220(1-4), pp.749-767. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00654-3
19. Ghorbani Vaghei, R., Yousefi Jourdehi, A., Pazhand, Z., Mohseni, M. and Monsef Shokri, M., 2024. 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. *Journal of Aquaculture Development*, 18(3), pp.1-17. DOI: 10.71901/jad-2024-1-839 [In Persian]
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) larvae. *Aquaculture Research*, 4, pp.1-14. 9936622. DOI: 10.1155/2023/9936622
21. Haddadi Moghadam, K., Pazhand, Z., Mohseni, M. and Choubian, F., 2014. The effect of different dietary levels of rotifer *Brachionus plicatilis* and nauplius *Artemia parthenogenetica* on the growth and survival of Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*). *Journal of Aquaculture Development*, 8 (3), pp.31-41. [In Persian]
22. Hoseini, S.M., Yousefi, M., Mirghaed, A.T., Paray, B.A., Hoseinifar, S.H. and Van Doan, H., 2020. Effects of rearing density and dietary tryptophan supplementation on intestinal immune and antioxidant responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 528, 735537. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735537
23. Infante, J.Z. and Cahu, C.L., 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in

- 271.
38. Saavedra, M., Conceição, L.E. C., Pousão-Ferreira, P. and Dinis, M.T., 2006. Amino acid profiles of *Diplodus sargus* (L., 1758) larvae: implications for feed formulation. *Aquaculture*, 261(2), pp.587-593. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.08.016
39. Shakourian, M., Pourkazemi, M., Yazdani Sadati, M.A., Hassani, M.H.S., Pourali, H.R. and Arshad, U., 2011. Effects of replacing live food with formulated diets on growth and survival rates in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 27, pp.771-774. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2010.01632.x
40. Taati, R., Pourali Fashtami, J.R. and Sharifi Ardejani, H.A., 2018. Comparison of the effects cultured chironomid extract and the amino acid methionine, on growth, survival, and carcass composition of Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*). *Journal of Marine Biology*, 10(3), pp.1-17.
41. Teodósio, R., Aragão, C., Conceição, L. E., Dias, J. and Engrola, S., 2022. Amino acid metabolism in gilthead seabream is affected by the dietary protein to energy ratios. *Aquaculture Nutrition*, 2022(1), pp. 8230704. DOI: 10.1155/2022/8230704
42. Valentine, S.A., Bauman, J.M., Scribner, K.T., 2017. Effects of alternative food types on body size and survival of hatchery-reared Lake Sturgeon larvae. *North American Journal of Aquaculture*, 79(4), pp.275-282. DOI: 10.1080/15222055.2017.1330788
43. Wanner, G.A., Shuman, D.A. and Willis, D.W., 2007. Food habits of juvenile pallid sturgeon and adult shovelnose sturgeon in the Missouri River downstream of Fort Randall Dam, South Dakota. *Journal of Freshwater Ecology*, 22(1), pp. 81-92. DOI: 10.1080/02705060.2007.9664148
44. Wu, G. and Davis, D.A., 2005. Interrelationship among methionine, choline, and betaine in channel catfish P., Jadhav, M., Prasad, R., Mallick, R.C. and Das, B.K., 2021. Effective valorisation of facile extract matrix of *Terminalia arjuna* (Roxb) against elite microbes of aquaculture industry—a credence to bioactive principles: Can it be a sustainability paradigm in designing broad spectrum antimicrobials?. *Industrial Crops and Products*, 171, 113905. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113905
32. Mohseni, M., Pourkazemi, M., Hassani, S.H., Okorie, O.E., Min, T.S. and Bai, S.C., 2012. Effects of different three live foods on growth performance and survival rates in Beluga (*Huso huso*) larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11, pp.118-131. DOI: 20.1001.1.15622916. 2012.11.1.10.6
33. Nath, S., Samanta, S. and Das, S., 2021. Effectiveness of chironomid larvae in compare to other fish foods on growth parameters and body protein of two economically important fishes. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 36(2), pp. 147-155. DOI:10.47059/alinteri/V36I2/AJAS21128
34. Nath, S., Samanta, S., Podder, R., Weltje, L. and Modak, B.K., 2022. Ex-situ Evaluation of Chironomid Larvae as a Potential Supplementary Food in Aquaculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 92(4), pp.801-806. DOI: 10.1007/s40011-022-01377-9
35. National Research Council NRC., 2011. Nutrient requirements of fish. National Academy Press, Washington DC.265 pp.
36. Parma, L. and Bonaldo, A., 2013. Larval fish weaning. In: Qin J.G. (ed.). *Larval Fish in Aquaculture*. Nova Science Publishers, Inc, New York, USA. pp.201-222.
37. Sahandi, J., 2011. Natural food production for aquaculture: cultivation and nutrition of Chironomid larvae (Insecta, Diptera). *Advances in Environmental Sciences*, 3(3), pp. 268-

*Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36(3), pp.337-345. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2005.tb00337.x

45. Zhang, X., Liu, Y., Chen, S., Wang, B., Wu, H., Tang, N. and Li, Z., 2022. Transcriptome reveals the effects of early weaning on lipid metabolism and liver health of Yangtze Sturgeon (*Acipenser dabryanus*). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10866. DOI: 10.3390/ijms231810866