University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 6, No. 4, 2021, pages: 39-50

Application of dietary copepod, *Acanthocyclops trajani* in the first feeding of beluga larvae (*Huso huso*)

Rahimeh Rahmati[1*], Abolghasem Esmaeili Fereidouni[2], Hosseinali Nouri[3]

1- Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Sari, Mazandaran, Iran

2- Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran

3- Reconstruction and Conservation of Genetic Aquatic Resources Center of Shahid Rajaei, Sari, Mazandaran Fisheries, Mazandaran, Iran

Received 18 August 2020 Accepted 23 November 2020

KEYWORDS

Fatty acid

Copepod

Huso huso

DHA

ABSTRACT

This study was carried out regarding the effects of cyclopoid copepod *Acanthocyclops trajani* on first feeding of beluga larvae (*Huso huso*). The treatments comprised a control diet containing *Artemia* naupli and *Daphnia magna* and a combined diet containing *Artemia* naupli, *Daphnia magna* and *A. trajani*. The results of this study indicated that the average length, body weight and specific growth rate in larvae of control and combined diets were not significantly different. In spite of the fact that, *A. trajani* was significantly different in the amount of n-3 fatty acids in comparison with the other live feeds in this study, but indicated more effectiveness in survival rates (80%) of beluga larvae, as a supplement. Furthermore, the combined diet was significantly different in DHA, in comparison with control diet. This study indicated that freshwater copepod is potential supplemental live food, to increase nutritional value from the point of view in terms of essential fatty acids and survival rate of valuable fish larvae such as beluga.

*Corresponding author: rahmati764@gmail.com

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال ششم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۹، صفحات ۵۰-۳۹

"مقاله پژوهشی"

استفاده از پاروپای *Acanthocyclops trajani* در تغذیه آغازین نوزاد فیل ماهی (*Huso huso*)

رحیمه رحمتی*[۱]، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی[۲]، حسینعلی نوری[۳]

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی، ساری، مازندران

۲- دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

۳- مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی، اداره کل شیلات مازندران، ساری، مازندران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۰۳

چکیده

این مطالعه بر تأثیر استفاده از غذای زنده سیکلوپوئید پاروپای *Acanthocyclops trajani* در تغذیه آغازین نوزاد فیل ماهی (*Huso huso*) انجام شد. رژیم های غذایی مورد آزمون شامل ترکیب *Artemia naupli* و *Daphnia magna* (گروه شاهد) و ترکیب *Artemia* naupli، *Daphnia magna* و *A. trajani* (تیمار ترکیبی) بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که طول، وزن بدن و میانگین سرعت رشد ویژه در گروه شاهد و تیمار ترکیبی تفاوت معنی‌داری نداشتند. *A. trajani* به عنوان یک مکمل رژیم غذایی، با وجود تفاوت معنی‌دار در میزان اسیدهای چرب n-3 در مقایسه با دیگر موجودات زنده در این مطالعه، تأثیر بیشتری بر میزان بقای نوزادان (۸۰٪) نشان داد. علاوه بر این، تفاوت معنی‌داری در اسید چرب ضروری DHA در نوزادان تغذیه شده از رژیم ترکیبی در مقایسه با رژیم شاهد وجود داشت. این مطالعه نشان داد که پاروپای آب شیرین به عنوان یک غذای زنده مکمل، قابلیت افزایش ارزش غذایی را به لحاظ داشتن اسیدهای چرب ضروری و بالا بردن درصد بقا در نوزاد ماهیان با ارزشی چون فیل ماهی دارد.

کلمات کلیدی

اسید چرب

پاروپا

Huso huso

DHA

نویسنده مسئول: rahmati764@gmail.com

مقدمه

نتایج مطالعات نشان داده است که مرگ و میر در مقیاس بزرگ یکی از مشکلات عمده در مراحل اولیه رشد نوزاد در بسیاری از گونه‌های دریایی (Turner et al. 1985) و گونه-های آب شیرین (Jana and Jana, 2003) در استخرهای نوزادگاهی است (Pillay and Kutty, 2005). معمولاً مرگ و میر بالای نوزادان به کمبودهای مواد مغذی یا عدم تعادل در اسیدهای چرب غیر اشباع (Polyunsaturated fatty acids) در رژیم‌های غذایی (Ghost et al. 2004)، کیفیت آب (Rice et al. 1987) و بیماری و شکار (Frimpong and LochMann, 2005) نسبت داده می‌شود. کمبود غذای زنده با ارزش غذایی مناسب و ناتوانی در کشت انبوه آنها برای تغذیه آغازین نوزاد ماهی یک عامل محدود کننده در پرورش آبزیان است (Payne and Rippingale, 2001). موجودات متداول به عنوان غذای زنده مانند روتیفر و آرتمیا دچار کمبود اسیدهای چرب غیر اشباع PUFA هستند (Rajkumar and Kumaraguru, 2006). مصرف رژیم‌های غذایی تنها راه برای به دست آوردن اسیدهای چرب ضروری (مانند EPA، DHA و ARA) در نوزادان است، زیرا نوزاد ماهی قادر به تولید این اسیدهای چرب از پیش‌سازهای آنها نیست (Bell et al. 2002).

در کارگاه‌های تکثیر ماهیان، استفاده از پاروپایان همراه با دیگر غذاهای زنده متداول برای تغذیه نوزادان، کیفیت رژیم غذایی مورد استفاده را بالا خواهد برد. ارزش غذایی بالای پاروپایان، به‌رغم زمان‌بر بودن ازدیاد نسل آن به دلیل تولیدمثل جنسی، نقش مهمی در رشد، سلامت و بقای نوزاد ماهی دارد (Aljami and Zang, 2015).

میزان بالای مرگ‌ومیر نوزاد فیل ماهی در حین پرورش که در برخی موارد از ۸۰٪ نیز عبور می‌کند (Asgari et al. 2013)، یکی از جدی‌ترین محدودیت‌های پرورش نوزاد این گونه در نظر گرفته می‌شود. معمولاً نوزاد فیل ماهی تولیدشده در کارگاه‌های تکثیر در اولین تغذیه خود از کلادوسراهایی مانند *Daphnia* sp. ، *Moina* sp. و نیز *Artemia* sp. تغذیه می‌کنند (Gisbert and Williot, 2002) که ارزش غذایی برخی از آنها اغلب برای رشد کامل ناکافی است. بنابراین، موفقیت و توسعه آبزی‌پروری در این گونه در خطر انقراض، همچنان نیاز به برخی پیشرفت‌ها در فنون پرورشی و تغذیه به‌خصوص در مراحل نوزادی دارد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات سیکلوپوئید پاروپای *Acanthocyclops trajani* به عنوان غذای زنده در اولین تغذیه نوزاد فیل ماهی *Huso huso*، یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری در ایران، ماهی مهم تجاری دریای خزر و گزینه مناسب برای آبزی‌پروری (Oveisipour and Rasco, 2011)، با تأکید بر رشد، بقا و محتوای اسیدهای چرب غیراشباع PUFA انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی ساری استان مازندران انجام شد. ده روز پس از تخم‌گشایی و در اولین مرحله تغذیه، تیمارها شروع شد. وزن و درازای نوزادان قبل از شروع آزمایش و در پایان دوره پرورش به ترتیب با استفاده از ترازو (۰/۰۱ گرم) و کولیس اندازه‌گیری شد. تغذیه نوزادان در تیمارهای این مطالعه سه بار در روز (با فاصله ۸ ساعت) انجام شد و هر تیمار دارای ۳ تکرار بود. تراکم غذای زنده برای هر تیمار ۰/۶ در هر میلی‌لیتر از آب ظرف بود. تیمارهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱ پروتکل تغذیه نوزاد فیل ماهی ۱۰ روزه (در مرحله تغذیه آغازین) در طول دوره پرورش.

تیمار	جیره غذایی
۱	*Artemia* nauplii (۵۰٪) + *Daphnia magna* (٪۵۰)
۲	(*Artemia* nauplii + *Daphnia magna*) (٪۵۰) + Copepod (٪۵۰)

در این مرحله از روش‌های مختلفی برای تهیه غذاهای زنده استفاده شد. برای تهیه اینستار یک آرتمیا، ابتدا سیست‌های *Artemia* sp. بر اساس روش استاندارد، کپسول‌زدایی و سپس در زوک‌هایی با حجم ۱۰۰ لیتر، شوری ppt ۲۸، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۲۵۰۰ لوکس و هوادهی شدید تخم‌گشایی شدند (Gomez-Gil et al. 1998). بعد از گذشت ۲۴ ساعت، ناپلیوس‌های تخم‌گشایی شده از سیست‌ها جدا و برای تغذیه نوزادان به‌کار رفتند. برای تهیه کلادوسرای *D. magna*، برداشت روزانه آنها از استخرهای خاکی پرورش دافنی در کارگاه شهید رجایی انجام شد. ضایعات از نمونه‌ها جدا، و پس از شستشو برای تغذیه نوزادان استفاده شدند.

برای تهیه پاروپای *A. trajani*، ابتدا جمع‌آوری آن از استخر خاکی پرورش ماهیان گرمابی با تور زئوپلانکتون‌گیر (۴۰۰ میکرون) انجام شد. برای شناسایی دقیق نام علمی پاروپا از کلیدهای شناسایی و منابع علمی معتبر استفاده شد (Blaha, 2010; Arthropoda, 2016). برای دستیابی به ذخیره خالص پاروپا، جداسازی ماده‌های حامل تخم، تغذیه آنها با ریزجلبک‌ها و آب سبز، تعویض روزانه آب ظروف کشت (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ لیتری) و در نهایت، انتقال به ظروف بزرگتر انجام شد (Lee et al, 2005). در ادامه، کلیه امکانات لازم برای کشت انبوه در سالن غذای زنده کارگاه شهید رجایی و در ۵ زوک ۱۰۰ لیتری فراهم شد. برای انبوه‌سازی پاروپا در این مخازن از روش کشت گروهی استفاده شد و برای تغذیه آنها از ترکیبی از ریزجلبک‌های خشک شده *Scenedesmus obliqqus* و *Spirulina maxima* (به میزان ۴/۱۸ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر آب)، همراه با هوادهی مداوم از انتهای مخزن، شرایط دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد (به کمک بخاری آکواریوم) و دوره نوری ۱۲:۱۲ (روشنایی:تاریکی) در شرایط indoor استفاده شد. تعویض آب در این مخازن هر ۳ روز یک بار انجام شد و پس از برداشت نهایتاً پاروپایان به تغذیه نوزادان رسیدند. برای برداشت این موجودات زنده از تورهای زئوپلانکتونی (با چشمه‌های تور ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرون) استفاده شد (Rahmati, 2020).

طرح آزمون

برای آزمایش از دو تیمار (هر کدام با سه تکرار) استفاده شد. آزمایش‌ها در ۶ ظرف با حجم ۲۰ لیتر انجام شد. پس از سازگاری نوزاد فیل ماهی با دمای آب مخزن (۱۸ درجه سانتی‌گراد)، ۲۰ نوزاد فیل ماهی (با وزن اولیه ۱/۶ ± ۵۵ میلی‌گرم (± خطای استاندارد) و طول اولیه ۱/۱۲ ± ۱۳/۷ میلی‌متر) در ظروف با ظرفیت ۲۰ لیتر آب با دمای ۱۸ درجه سانتی گراد و اکسیژن محلول ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. روزانه ۵۰٪ از حجم مخازن پرورش نوزاد تعویض، و بقایای بستر و مدفوع با استفاده از سیفون برداشته می‌شد. مدت زمان این مرحله ۱۴ روز بود. در پایان دوره، درازا و وزن نهایی نوزاد در تکرارهای مختلف هر تیمار اندازه‌گیری شد. میزان رشد نوزاد و میزان رشد ویژه (SGR)، درازای بدن و وزن نوزاد (به درصد در روز) با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد (Hopkins, 1992):

$$SGR = 100 \times (Ln\ SLf - Ln\ SLi) / t_2 - t_1$$

در این فرمول SLf و SLi، به ترتیب طول استاندارد نهایی و ابتدایی نوزادان (بر حسب میلی‌متر) و t_2 و t_1 طول دوره اولیه و نهایی پرورش است.

$$SGR = 100 \times (Ln\ Wf - Ln\ Wi) / t_2 - t_1$$

در این فرمول Wf و Wi، به ترتیب وزن نهایی و ابتدایی نوزادان (میلی‌متر) و t_2 و t_1 طول دوره اولیه و نهایی پرورش است. برای محاسبه میزان بازماندگی نوزادان (٪) نیز روند تلفات نوزادان در هر یک از ظروف پرورش به‌صورت روزانه ثبت و نهایتاً میانگین میزان بازماندگی برای هر تیمار محاسبه شد (Bilton and Robins, 1973).

۱۰۰ × تعداد کل نوزادان اولیه / تعداد نوزادان سالم باقیمانده = درصد بقای نوزادان

برای محاسبه درصد افزایش وزن و درازا و همچنین شاخص وضعیت نوزادان از روابط زیر استفاده شد (Hung and Lutes, 1987; Hung et al, 1989):

$$\% W = Wf - Wi / Wi \times 100$$
$$\% L = Lf - Li / Li \times 100$$
$$CF = Wf / a L^{b} \times 100$$

CF : شاخص وضعیت ،a و b شیب و عرض از مبداء است.

همچنین، از نوزادان زنده باقی‌مانده در هر یک از تیمارها تعدادی در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای سنجش اسیدهای چرب غیراشباع ذخیره شد. برای اندازه‌گیری اسید چرب مقدار ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی گرم از نمونه درون ظرف شیشه‌ای درب‌دار گذاشته شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلولی شامل ۲/۵٪ H_2SO_4 و متانول ۹۸٪ به هر ظرف اضافه (۱/۴۰، v/v)، و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از سرد شدن در دمای اتاق، ۵۰۰ میکرولیتر هگزان با ۱/۵ میلی‌لیتر NaCl ۰/۹٪ (w/v) مخلوط شده و به نمونه اضافه شد تا اسید چرب متیل استر آن استخراج شود (FAME). سپس، نمونه به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۴۰۰۰، سانتریفیوژ و بخش بالایی محلول (شامل هگزان-FAME) برداشت شد (این مرحله ۳ مرتبه تکرار شد تا بیشینه استخراج چربی از نمونه‌ها انجام شود). محلول برداشت شده به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) برای تعیین پروفایل اسید چرب تزریق شد (Miquel and Browse, 1992).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج مربوط به اندازه‌گیری‌های زیستی در نوزادان فیل ماهی و مقادیر اسیدهای چرب غیراشباعی به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 22) (SPSS, Chicago, IL, USA) انجام شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات در دو تیمار با استفاده از One-Way ANOVA (آنالیز واریانس) در سطح معنی‌دار ۵٪ پس از همگن و نرمال کردن انجام شد. از آزمون LSD نیز برای مقایسه تیمارها و نیز انواع غذاهای زنده استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد در نوزاد فیل ماهی در تیمارهای مختلف

نتایج شاخص‌های رشد نوزاد فیل ماهی در تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه و تحلیل آماری در مورد میزان رشد ویژه، درازا و وزن نوزاد فیل ماهی نشان داد که بین دو تیمار اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p>0/05$)، در حالی که میزان بقا در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). مشخصات اسیدهای چرب غیراشباعی زنجیره بلند در خوراک‌های زنده و همچنین لاشه نوزاد فیل ماهی در ۲ تیمار در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است.

جدول ۲ شاخص‌های رشد نوزاد فیل ماهی در تیمارها.

شاخص‌های رشدی	ترکیب ناپلیوس‌های آرتمیا + دافنی	ترکیب پاروپا + ناپلیوس‌های آرتمیا + دافنی
وزن اولیه (میلی‌گرم)	۵۵ ± ۱/۶	۵۵ ± ۱/۶
وزن نهایی (میلی‌گرم)	۵۸۹ ± ۱۰۱	۵۶۷ ± ۹۳
افزایش وزن (٪)	۹۶۸ ± ۱۸۳	۹۲۸ ± ۱۶[a]
نرخ رشد ویژه وزنی	۱۶/۸۱ ± ۱/۳۴	۱۶/۵۴ ± ۱/۲۳
طول اولیه (میلی‌متر)	۱۳/۷ ± ۱/۱۲	۱۳/۷ ± ۱/۱۲
طول نهایی (میلی‌متر)	۴۱ ± ۴	۴۱ ± ۳
افزایش طول (٪)	۱۹۶ ± ۳۳	۲۰۱ ± ۲۳
نرخ رشد ویژه طولی	۷/۷۱ ± ۰/۸۳	۷/۸۴ ± ۰/۵۶
فاکتور وضعیت	۱/۳۳ ± ۰/۱۰	۱/۲۵ ± ۰/۱۸
میزان بازماندگی (٪)	۵۵ ± ۵[b]	۸۰ ± ۱۰[a]

جدول ۳ مقادیر PUFA (٪) در خوراک های زنده مورد استفاده در مطالعه حاضر.

اسیدهای چرب غیر اشباع	نوع غذاهای زنده به کار رفته		
	پاروپا	دافنی	ناپلیوس‌های آرتمیا
C18:2n6 CIS	۰/۸۹ ± ۰/۳۱[c]	۵/۰۹ ± ۰/۱۴[b]	۱۸/۰۶ ± ۰/۸۲[a]
C18:3n3 (ALA)	۳/۸۸ ± ۱/۳۸	۱/۲۹ ± ۰/۰۳	۳/۳۹ ± ۰/۱۵
C20:2n6	۱/۸۰ ± ۰/۴۵	۲/۰۷ ± ۰/۰۶	۱/۰۴ ± ۰/۰۵
C20:4n6 (ARA)	۲/۸۶ ± ۱/۴۷	۲/۰۴ ± ۰/۰۵	۱/۹۸ ± ۰/۰۹
C20:3n3	۹/۹۱ ± ۶/۸۸[a]	۰/۰۶ ± ۰/۰۰[b]	۰/۲۲ ± ۰/۰۱[b]
C20:5n3 (EPA)	۳/۵۱ ± ۲/۶۵	۴/۰۹ ± ۰/۱۱	۳/۵۱ ± ۰/۱۶
C22:6n3 (DHA)	۴/۸۱ ± ۰/۴۰[a]	۳/۷۲ ± ۰/۱۰[b]	۰/۹۷ ± ۰/۰۴[c]
Sum	۲۷/۶۶	۱۸/۳۶	۲۹/۱۷
n-3	۲۲/۱۰ ± ۶/۰۱[a]	۹/۱۶ ± ۰/۲۵[b]	۸/۰۸ ± ۰/۳۷[b]
n-6	۵/۵۵ ± ۰/۷۱[b]	۹/۲۰±۰/۲۵[b]	۲۱/۰۹ ± ۰/۹۶[a]

همه مقادیر به صورت میانگین (± خطای استاندارد) (n=3) است.

حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارهاست.

ALA, alpha-linolenic acid; ARA, Arachidonic acid; EPA, Eicosapentaenoic acid; DHA, Docosahexaenoic acid.

جدول ۴ مقادیر PUFA (٪) در بدن نوزاد فیل ماهی در تیمارها.

اسیدهای چرب غیر اشباع	ناپلیوس‌های آرتمیا + دافنی + پاروپا	ناپلیوس‌های آرتمیا + دافنی
C18:2n6 CIS	۲/۴۳ ± ۰/۰۱[a]	۲/۵۴ ± ۰/۰۳[a]
C18:3n3 (ALA)	۲/۸۱ ± ۰/۰۵[a]	۵/۵۴ ± ۲/۳۲[a]
C20:2n6	۰/۲۲ ± ۰/۰۲	-
C20:4n6 (ARA)	۴/۷۲ ± ۰/۱۳[a]	۳/۶۵ ± ۰/۱۹[b]
C20:3n3	۰/۹۵ ± ۰/۴۹	۴/۰۴ ± ۲/۰۰
C20:5n3 (EPA)	۱۵/۱۰ ± ۰/۴۰[b]	۱۹/۳۲ ± ۰/۳۷[a]
C22:6n3 (DHA)	۲۱/۴۷ ± ۰/۴۷[a]	۱۶/۷۲ ± ۰/۰۰[b]
Sum	۴۷/۷۰	۵۱/۸۱
n-3/ n-6	۵/۴۸ ± ۰/۰۲[a]	۷/۳۸ ± ۰/۸۳[a]

همه مقادیر به صورت میانگین (± خطای استاندارد) (n=3) است.

علامت - نشان دهنده مقدار بسیار ناچیز اسید چرب است. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارهاست.

ALA, alpha-linolenic acid; ARA, Arachidonic acid; EPA, Eicosapentaenoic acid; DHA, Docosahexaenoic acid.

اسیدهای چرب غیر اشباعی با زنجیره طولانی (PUFA و HUFA)

هفت نوع اسید چرب اشباع نشده با زنجیره طولانی در بدن نوزادان فیل ماهی تغذیه شده در تیمارهای مختلف شناسایی شد. مقادیر متوسط اسید آراشیدونیک و اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) بین تیمارها به‌طور معنی‌دار متفاوت بود ($p<۰/۰۵$). در میان انواع مختلف اسیدهای چرب اشباع نشده و ضروری زنجیره بلند، مقدار DHA بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$).

بحث

مطالعات قبلی نشان داد که استفاده از پاروپای آب شیرین (به عنوان یک غذای زنده مکمل) می‌تواند بقا و سرعت رشد بسیاری از نوزاد ماهیان آب شیرین را بهبود بخشد (Drillet et al. 2006; Sipauba-Tavares and Pereira, 2008; Camus and Zeng, 2009). نتایج استفاده از کوپه‌پود *A. trajani* برای تغذیه نوزاد فیل ماهی در مطالعه حاضر نشان داد که میانگین طول و وزن نهایی و مقادیر نرخ رشد ویژه نوزاد فیل ماهی در تیمار شاهد (Artemia nauplii + *Daphnia magna*) و ترکیبی (*Artemia nauplii* + *Daphnia magna* + Copepod) تفاوت معنی‌داری نداشتند. نتایج نشان داد که درصد بقا در نوزادانی که از تیمار ترکیبی تغذیه کردند (۸۰٪) نسبت به گروه شاهد (۵۵٪) به‌طور قابل توجهی بالاتر بود. بیشترین تلفات نوزادان در طی رشد فیل ماهی در دو مرحله مختلف رخ می‌دهد: ابتدا در فاصله زمانی تخم‌گشایی تا شروع تغذیه خارجی (زمانی که نوزادان در روند شدید تشکیل اندام‌ها هستند) (Dettlaff et al. 1993) و سپس مرحله وینینگ (weaning) نوزادی (Asgari et al. 2013) که حساس‌ترین مراحل پرورش نوزادی در جهت کاهش میزان تلفات حائز اهمیت است. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، گنجاندن پاروپا به صورت مکمل با دیگر غذاهای زنده متعارف برای پرورش نوزاد فیل ماهی منجر به بهبود معنی‌دار بازماندگی نوزادان می‌شود. تحقیقات قبلی نشان داد که تغییرات در فعالیت لیپاز در نوزاد فیل ماهی ممکن است بیشتر مرتبط با تغییراتی در کیفیت و کمیت غذا (به عنوان نمونه در این مطالعه گنجاندن پاروپا که منبع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباعی است) تا توانایی‌های ماهی در هضم باشد. همچنین، افزایش کمی محتوای چربی جیره در حد ۴٪ طی weaning ممکن است موجب افزایش تولید لیپاز در نوزادان شود (Rønnestad and Morais, 2007; Rønnestad et al. 2013). نتایج حاصل از

مطالعات قبلی نشان داد که افزودن پاروپا به عنوان غذای زنده می‌تواند رشد و بقای نوزاد ماهی را در اولین تغذیه در مقایسه با رژیم‌های غذایی حاوی فقط غذای زنده رایج (مانند روتیفر و ناپلیوس آرتمیا) افزایش دهد (Watanabe et al. 1983; Shields et al. 1999). مطالعه انجام شده بر روی تغذیه نوزاد گربه ماهی *Clarias gariepinus* با استفاده از سیکلوپوئید پاروپاهای آب شیرین نشان داد که نوزاد تغذیه شده با جیره ترکیبی از سیکلوپوئیدها و ناپلیوس آرتمیا (۹/۱ میلی‌متر) رشد بهتری نسبت به جیره سیکلوپوئید خالص (۸/۸ میلی‌متر) دارد (Chepkwemoi et al. 2013). در مطالعه Farhadian و همکاران (۲۰۱۴) نوزاد ماهی آب شیرین *Pterophyllum scalare* در تغذیه ترکیبی از پاروپای سیکلوپوئید *Eucyclops serrulatus* و کلادوسرای *Ceriodaphnia quadrangular* نرخ رشد ویژه بالاتری (۲۳/۲ درصد در روز) نسبت به جیره پاروپای خالص (۱۹/۲ درصد در روز) در هفته اول پرورش نوزاد نشان داد که این روند در هفته‌های دوم و سوم نیز ادامه یافت. همچنین، درصد بازماندگی نوزاد ماهیان نیز در تیمار ترکیبی بیشتر بود. نرخ رشد و بازماندگی نوزاد باس دریایی *Lates calcarifer* که از ترکیب غذایی شامل ناپلیوس آرتمیا، روتیفر و سیکلوپوئید پاروپای *Cyclopina kasignete* تغذیه کردند بهبود یافت، به طوری که در این بررسی، نرخ رشد نوزادان از ۴/۹۳٪ در روز در تغذیه با ترکیب روتیفر و ناپلیوس آرتمیا به ۶/۳۵٪ در روز در ترکیب پاروپا، ناپلیوس آرتمیا و روتیفر رسید. همچنین، درصد بازماندگی نوزادان نیز از ۴۲/۶٪ در تیمار بدون پاروپا به ۶۴/۲۰٪ در تیمار دارای پاروپا ارتقا یافت (Rasdi et al. 2015).

در مطالعه Zeng و همکاران (۲۰۱۸)، این موجودات زنده در تراکم ۲ عدد در هر میلی‌لیتر، در تیمار همراه با روتیفرها، بقای نوزاد ماهی آکواریومی *Synchiropus splendidus* را از کمتر از ۶٪ در تیمار تغذیه روتیفر تنها، به ۵۰٪ رسانده و نرخ ویژه رشد نوزادی را از ۱/۹۶ به ۵/۴۸٪ در روز به طور معنی‌دار افزایش دادند. در تحقیقی دیگر، Barroso و همکاران (۲۰۱۳) در استفاده از پاروپای *Acartia tonsa* به عنوان اولین غذای زنده برای تغذیه نوزاد ماهی *Centropomus parallelus* گزارش کردند که تیمار ترکیبی شامل پاروپای *A. tonsa* و *Brachionus rotundiformis*، به صورت معنی‌داری سبب بالا بردن نرخ بازماندگی (از ۵ به ۱۶٪) و افزایش میانگین وزن نوزادان (از ۰/۷۱ به ۰/۸۴ میلی‌گرم) شد. در ماهیان تجاری خوراکی نیز Toledo و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که نوزاد ماهی هامور (*Epinephelus coioides*) زمانی که از روتیفر *Brachionus rotundiformis* همراه با ناپلیوس ترکیب چند پاروپا (*Acartia tsuensis*, *Pseudodiaptomus* sp. و *Oithona* sp.) تنها در تراکم ۰/۱ عدد در هر میلی‌لیتر تغذیه کرد، به‌طور معنادار رشد و بازماندگی فزاینده‌ای را نشان داد. به‌طور مشابه، نوزاد سرخوی قرمز (*Lutjanus campechanus*) که از ناپلیوس *Parvocalanus* sp. تغذیه کرد، به طور معنی‌دار درصد بازماندگی بیشتری را نشان داد (Shields et al. 2005).

در مطالعه اسیدهای چرب ضروری در بافت نوزادان فیل ماهی، اسیدهای چرب ARA و EPA بالاترین مقادیر را در تیمار شاهد نشان دادند و تفاوت معنی‌داری داشتند. در مطالعه Chepkwemoi و همکاران (۲۰۱۳) نیز اسید چرب EPA در نوزاد باس دریایی تغذیه شده با آرتمیا (۳/۷۱٪) بیش از نوزادان تغذیه شده با پاروپا بود. همچنین، در مطالعه Rajkumar و Kumaraguru (۲۰۰۶) نیز میزان EPA در نوزادان تغذیه شده با آرتمیا (۹/۹۸٪) بیش از نوزادان تغذیه شده با پاروپا (۸/۱۷٪) بود. مهم‌ترین اسید چرب ضروری DHA در بافت نوزادان فیل ماهی با بیشترین مقدار ۲۱/۴۷٪ در تیمار ترکیبی مشاهده شد که به‌طور معنی‌دار متفاوت از گروه شاهد بود. در مطالعه Rasdi و همکاران (۲۰۱۵) میزان DHA در نوزاد باس دریایی با تغذیه از ترکیب پاروپا، روتیفر و ناپلیوس آرتمیا (۱۲/۳۰٪) بیش از تیمار تغذیه با ترکیب پاروپا و روتیفر (۱۲٪) بود. در مطالعه Rajkumar و Kumaraguru (۲۰۰۶) نیز اسید چرب DHA در تیمار تغذیه نوزاد ماهی با پاروپا به میزان ۵ برابر افزایش یافت. مطالعه Chepkwemoi و همکاران (۲۰۱۳) نیز ترکیب اسیدهای چرب ضروری را در نوزاد ماهیان تغذیه شده با ترکیب ناپلیوس آرتمیا و سیکلوپوئید پاروپا بهتر دانست، زیرا محتوای اسیدهای چرب EPA و ALA در نوزادان تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا و محتوای اسیدهای چرب ARA و

DHA در نوزادان تغذیه شده با پاروپای خالص بالاتر بود. لذا تیمار ترکیبی محتوای متعادل‌تری از اسیدهای چرب ضروری را دارا بود.

بررسی جداگانه اسیدهای چرب *Artemia* nauplii، *Daphnia magna* و *A. trajani* نشان داد که این سه موجود زنده در مقدار اسیدهای چرب ضروری ALA، ARA و EPA تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، اما مقدار DHA در ناپلیوس آرتـمیا بسیار پایین بـود و تـفاوت معنی‌داری را با دو غذای زنده دیگر داشت. مقادیر اسیدهای چرب C20: 3n-3 و C22: 6n-3 در کلادوسرای *Daphnia magna* در مقایسه با *A. trajani* تفاوت معنی‌داری داشت. مقادیر اسیدهای چرب سری n-3 (۲۲/۱۰٪) و نسبت اسیدهای چرب n-3/n-6 (۴/۱۹٪) در *A. trajani* به طور قابل توجهی بیش از بقیه بود. در نوزادانی که از تیمار ترکیبی تغذیه کردند، درصد بقا به طور قابل توجهی بالاتـر از تیمار شاهـد بود، اگرچه تفـاوت معنی‌داری در مقدار متوسط درازا، وزن و سرعت رشد وجود نداشت. همان طور که در بررسی پروفایل اسیدهای چرب ضـروری در نـوزادان فـیل ماهی گـفته شـد، تیمـار پاروپا-ناپلیوس آرتمیا-دافنی، در مقدار اسید چرب ضروری DHA متمایز بود که درصد بقای بالا در این تیمار گویای اهمیت بسیار زیاد این اسید چرب در بازماندگی نوزادان فیل ماهی است. DHA اثرات مهمی بر مقاومت در مقابل استرس در نوزادان دارد. محتوای DHA در پاروپایان بیش از ناپلیوس آرتمیا بوده و نتایج بهتری از نظر درصد بقا، رشد و مقاومت در برابر استرس نشان می‌دهد (Fujita, 1979)، زیرا DHA در ساختار غشای سلول‌های عصبی و بینایی نقش داشته و بالاتر بودن محتوای DHA می‌تواند کارآیی بینایی نوزادان را افزایش داده و موجب بهبود و یا افزایش پاسخ نوزاد به تغذیه و نهایتاً بقای بیشتر آن شود (Chepkwemoi et al. 2013).

مطالعات Evjemo و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که اسیدهای چرب ضروری به خصوص DHA باید از طریق جیره فراهم شوند و در بدن نوزاد ماهی تولید نمی‌شوند. بالاتر بودن میزان DHA (۲۱/۴۷٪) در بدن نوزادان تغذیه کرده از تیمار ترکیبی تحت تأثیر درصد بالای این اسید چرب ضروری تا حدی در *Daphnia magna* (۳/۷۲٪) و به خصوص در *A. trajani* (۴/۸۱٪) بود که تا حد زیادی بر بازماندگی نوزادان فیل ماهی مؤثر بود. چنین روندی پیشتر در کفشک (*Hippoglossus hippoglossus*) گزارش شد، به‌طوری که درصد بالای EPA و DHA در پاروپا *Temora longicornis* باعث درصد بالایی از این اسیدهای چرب ضروری در نوزاد ماهی *Hippoglossus hippoglossus* در مقایسه با نوزاد ماهیان تغذیه کرده از *Artemia franciscana* شد (Evjemo et al. 2003). به‌طور کلی، نوزاد ماهیان در اولین تغذیه خود به اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه به عنوان منبع عمده انرژی نیاز دارند (Park et al. 2006). نوزادان تازه تخم گشایی شده (حاوی کیسه زرده) دارای سطوح بالایی از ذخیره انرژی هستند، اما ارزش غذایی بافت آنها بعد از تخم گشایی به‌سرعت نزول می‌کند (Buentello et al. 2011). نوزاد ماهیان، پلانکتون‌خوار بوده و غذای زنده مناسب را طی دوران پس از جذب کیسه زرده برای دریافت انرژی و مواد مغذی مناسب انتخاب می‌کنند. بنابراین، ترکیب غذای زنده و کیفیت آن برای رشد و توسعه نوزاد ماهیان از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Ma et al. 2013).

در مطالعه Farhadian و همکاران (۲۰۱۴)، شاخص انتخاب غذا توسط نوزاد ماهی *Pterophyllum scalare* با افزایش سن در مصرف پاروپایان *Eucyclops serrulatus* کاهش یافت. دلیل تمایل بیشتر به پاروپاها در هفته اول تغذیه فعال احتمالاً، اندازه و وزن کم ناپلیوس‌های پاروپا و توانایی پایین شکار توسط نوزاد ماهی بود. در بیشتر مطالعات آبزی‌پروری با توجه به تولیدات بالاتر، پاروپاهای آب شور برای تغذیه نوزاد ماهیان دریایی در کارگاه‌های تکثیر بررسی شدند، اما در مطالعه حاضر مشخص شد که پاروپاهای آب شیرین نیز به‌رغم تولیدات پایین‌تر، قابلیت استفاده به عنوان غذای زنده مکمل به خصوص برای بالا بردن ارزش غذایی و افزایش بازماندگی نوزاد ماهیان ارزشمندی چون فیل ماهی را داشتند.

نتیجه گیری

با توجه به دشواری‌های کشت پاروپاهای آب شیرین از لحاظ زمان‌بر بودن ازدیاد نسل و رشد جمعیتی و تولیدات پایین‌تر، نسبت به غذاهای زنده رایج، با ملاحظه نتایج مثبت این

مطالعه از نظر بالا بردن محتوای اسیدهای چرب ضروری مانند DHA و به دنبال آن، بالا بردن قابل ملاحظه بازماندگی در نوزاد ماهیان فیل ماهی، پیشنهاد می‌شود در دوره کوتاهی پس از جذب کیسه زرده، پاروپایان به عنوان غذای زنده مکمل به دیگر غذاهای زنده اضافه شوند.

سپاسگزاری

نگارش این مقاله تحقیقاتی توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزیان شهید رجایی ساری پشتیبانی شده است.

منابع

Aljami, F., Zeng, C. 2015. Evaluation of microalgal diets for the intensive cultivation of the tropical calanoid copepod, *Parvocalanus crassirostris*. Aquaculture Research 46: 1025-1038.

Arthropoda, T. 2016. Covich's freshwater invertebrates keys to Nearctic fauna, Academic Press, 711 p.

Asgari, R., Rafiee, G., Eagdari, S., Noori, F., Agh, N., Poorbagher, H., Gisbert, E. 2013. Ontogeny of the digestive enzyme activities in hatchery produced Beluga (*Huso huso*). Aquaculture 416: 33-40.

Barroso, M.V., de Carvalho, C.V.A., Antoniassi, R., Cerqueira, V.R. 2013. Use of the copepod *Acartia tonsa* as the first live food for larvae of the fat snook *Centropomus parallelus*. Aquaculture 388: 153-158.

Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P. Sargent, J.R. 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. The Journal of Nutrition 132: 222-230.

Bilton, H.T., Robins, G.L. 1973. The effects of starvation and subsequent feeding on survival and growth of fulton channel sockeye salmon fry (*Onchorhynchus nerka*) fry. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 30: 1-5.

Bláha, M. 2010. Descriptions of copepodid and adult *Acanthocyclops trajani* (Mirabdullayev & Defaye 2002) and *A. einslei* (Mirabdullayev & Defaye 2004) (Copepoda: Cyclopoida) with notes on their discrimination. Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie 177: 223-240.

Buentello, J.A., Pohlenz, C., Margulies, D., Scholey, V.P., Wexler, J.B., Tovar-Ramírez, D., Neill, W.H., Hinojosa-Baltazar, P., Gatlin, D.M. 2011. A preliminary study of digestive enzyme activities and amino acid composition of early juvenile yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). Aquaculture 312: 205-211.

Camus, T., Zeng, C. 2009. The effects of stocking density on egg production and hatching success, cannibalism rate, sex ratio and population growth of the tropical calanoid copepod *Acartia sinjiensis*. Aquaculture 287: 145-151.

Chepkwemoi, P., Bwanika, G.N., Kwetegyeka, J., Mbahizireki, G., Ndawula, L., Izaara, A.A. 2013. Fatty acid profiles and growth of African catfish larvae fed on freshwater cyclopoid copepods and artemia as live starter feed. International Journal of Aquaculture 3: 411-419.

Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I. 1993. Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 300 p.

Drillet, G., Jorgensen, N.O.G., Sorensen, T.F., Ramlov, H., Hansen, B.W. 2006. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. Aquaculture Research 37:756-772.

Evjemo, J.O., Reitan, K.I., Olsen, Y. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture 227: 191-210.

Farhadian, O., Kharamannia, R., Mahboobi Soofiani, N., Ebrahimi, E. 2014. Larval feeding behaviour of angel fish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) fed copepod *Eucyclops serrulatus* and cladoceran *Ceriodaphnia quadrangular*. Aquaculture Research 45: 1212-1223.

Frimpong, E.A., Lochmann, S.E. 2005. Mortality of fish larvae exposed to varying concentrations of cyclopoid copepods. North American Journal of Aquaculture 67: 66-71.

Fujita, S. 1979. Culture of red sea bream, *Pagrus major* and its food. Special Publication Emergency Medical Services (EMS) 14: 183-197.

Ghost, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, *Bacillus circulans*. Acta Ichthyologica et Piscatoria 34: 155-165.

Gisbert, E., Williot, P. 2002. Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon. Journal of Fish Biology 60: 1071-1077.

Gomez-Gil, B., Herrera-Vega, M.A., Aberu-Grobis, F.A., Roque, A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental Microbiology 64: 2318-2322.

Hopkins, K.D. 1992. Reporting Fish Growth: A Review of the Basics. Journal of the World Aquaculture Society 23: 173-179.

Hung, S.S.O., Lutes, P.B. 1987. Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Aquaculture 65: 307-317.

Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Storebakken, T. 1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub yearling at different feeding rates. Aquaculture 8: 147-153.

Jana, B.B., Jana, S. 2003. The potential and sustainability of aquaculture in India. Journal of Applied Aquaculture 13: 283-316.

Lee, C.S., O'Bryen, P.J., Marcus, N.H. 2005. Copepods in Aquaculture. Blackwell Publishing, 269 p.

Ma, Z., Qin, J.G., Hutchinson, W., Chen, B.N. 2013. Food consumption and selectivity by larval yellowtail kingfish *Seriola lalandi* cultured at different live feed densities. Aquaculture Nutrition 19: 523-534.

Miquel, M., Browse, J. 1992. Arabidopsis mutants deficient in polyunsaturated fatty acid synthesis (biochemical and genetic characterization of a plant oleoyl-phosphatidylcholine desaturase. The Journal of Biological Chemistry 267: 1502-1509.

Oveisipour, M., Rasco, B. 2011. Fatty acid and amino acid profiles of domestic and wild beluga (*Huso huso*) roe and impact on fertilization ratio. Journal Aquaculture Research and Development 2: 1-14.

Park, H.G., Puvanendran, V., Kellett, A., Parrish, C.C., Brown, J.A. 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). ICES Journal of Marine Science 63: 285-295.

Payne, M.F., Rippingale, R.J. 2001. Effects of salinity, cold storage and enrichment on the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Aquaculture 201: 251-262.

Pillay, T.V.R., Kutty, M.N. 2005. Aquaculture: Principles and Practices. Wiley-Blackwell, 624 p.

Rahmati, R., Fereidouni, E., Rouhi, A., Agh, N. 2020. Effects of different diets on population growth and fatty acids

composition in cyclopoid copepod *Acanthocyclops trajani* (Mirabdullayev and Defaye, 2002): A potential supplementary live food for freshwater fish larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences 19: 1447-1462.

Rajkumar, K.P., Kumaraguru, V. 2006. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): Compared to traditional live food organisms with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture 261: 649-658.

Rasdi, N.W., Qin, J.G., Li, Y. 2015. Effects of dietary microalgae on fatty acids and digestive enzymes in copepod *Cyclopina kasignete*, a potential live food for fish larvae. Aquaculture Research 47: 3254-3264.

Rice, J.A., Crowder, L.B., Binkowski, F.P. 1987. Evaluating potential sources of mortality for larval bloater (*Coregonus hoyi*): starvation and vulnerability to predation. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 44: 467-472.

Rønnestad, I., Morais, S. 2007. Digestion. In: Fin, R.N., Kapoor, B.G. 2008. Fish Larval Physiology. CRC Press 736 P.

Rønnestad, I., Yúfera, M., Ueberschär, B., Ribeiro, L., Sæle, Ø., Boglione, C. 2013. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge and gaps and bottlenecks in research. Reviews in Aquaculture 5: 559-598.

Shields, R.J., Bell, J.G., Luizi, F.S., Gara, B., Bromage, N.R., Sargent, J.R. 1999. Natural copepods are superior to enriched Artemia nauplii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. The Journal of Nutrition 129: 1186-1194.

Shields, R. J., T. Kotani, A. Molnar, K. Marion, J. Kobashigawa, and L. Tang. 2005. Intensive culture of a Calanoid copepod, Pavovalanus sp., as prey for small sub-tropical marine fish larvae. In: Lee, C.S., Bryen, P.J.O., Marcus, N.H. (Eds.) Culture of Copepods and Application to Marine Finfish Larval Rearing, Ames, Lowa: Blackwell Publishing Professional. p. 209-223.

Sipauba-Tavares, L., Pereira, A. 2008. Large scale laboratory cultures of *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma biergein* Korinek 1981 (Cladocera). Brazilian Journal of Biology 68: 875-883.

Toledo, J.D., Golez, M.S., Doi, M., Ohno, A. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*. Fisheries Science 65: 390-397.

Turner, J.T., Tester, P.A., Hettler, F. 1985. A laboratory study of predation on fish eggs and larvae by the copepods *Anomalocera ornate* and *Centropages typicus*. Marine Biology 90:1-8.

Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture 34: 115-143.

Zeng, C., Shao, L., Ricketts, A., Moorhead, J. 2018. The importance of copepods as live feed for larval of the green mandarin fish *Synchiropus splendidus*. Aquaculture 491: 65-71.