اثر درصدهای مختلف غذادهی بر عملکرد رشد و تولید مثل ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*)

نگین بیرانوند[۱]، محمد سوداگر*[۱]، شهرام دادگر[۲]، محمد مازندرانی[۱]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۲

چکیده

تغذیه ماهیان یکی از مهم‌ترین عوامل در آبزی پرروری محسوب شده و در این خصوص مطالعات زیادی انجام شده است، اما در زمینه تاثیر درصدهای مختلف غذادهی بر عملکرد تولید مثلی ماهیان، مطالعات اندکی صورت گرفته است. تحقیق حاضربه منظور تعیین اثر درصدهای غذادهی بر عملکرد تولید مثلی ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*) انجام گردید. در این پژوهش ۱۸۰ قطعه ماهی ۲/۵ ماهه دم شمشیری (۴۵ نر و ۱۳۵ ماده) در ۱۵عدد آکواریوم به ابعاد ۶۰*۴۰*۳۰ سانتی‌متر شامل: ۵ تیمار و۳ تکرار و با شرایط یکسان پرورشی توزیع شدند. ماهیان در تیمار های مختلف با درصدهای متفاوت (۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ درصد وزن بدن) به صورت ۳ بار در روز، با غذای تجاری (ساخت شرکت بیومار فرانسه) به مدت چهار ماه غذادهی و عملکرد تولید مثلی (زمان رسیدگی جنسی، زمان تولید اولین لارو و تعداد لاروهای حاصله) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد، اولین و بیش ترین لارو تولید شده مربوط به تیمار T_3 بوده که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$)؛ همچنین کم ترین تعداد لاروهای حاصله در تیمار T_1 ثبت شد، با این‌حال اختلاف معنی-داری با تیمار T_2 نداشت ($P>۰/۰۵$). از سوی دیگر بین تیمار T_4، T_5 و T_2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$). نتیجه تحقیق نشان داد بهترین درصد غذادهی جهت بهترین عملکرد تولید مثلی ۲درصد وزن بدن می باشد.

کلمات کلیدی: ماهی دم شمشیری، عملکرد تولید مثلی، درصدهای غذادهی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). sudagar@gau.ac.ir

مقدمه

آبزی پروری در سال های اخیر رشد و توسعه قابل توجهی داشته است. به طوری که نرخ رشد سالانه آن بیش‌تر از سایر صنایع بوده است (FAO, 2014). صنعت ماهیان زینتی در بسیاری از کشورهای جهان از جمله فعالیت های مهم محسوب شده و به عنوان یک پشتیبان صادراتی برای کشورهای در حال توسعه بوده (Sampaio *et al*., 2015) به طوری که، ارزش صادرات ماهیان زینتی در سال ۲۰۱۰ برابر با ۳۴۲ میلیون دلار بوده است (Tissera, 2012). در میان ماهیان زینتی، گونه‌های زنده‌زای متعلق به خانواده‌ی پوئسیلیده[1] مانند: گوپی، مولی، دم‌شمشیری و پلاتی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند (Chong *et al*., 2004) ماهیان دم شمشیری با توجه به تنوع رنگ، تنوع الگوی باله‌ها، مقاومت نسبتا بالا در شرایط نامساعد محیطی، سهولت تکثیر و تولید مثل و نیز رژیم غذایی همه چیز خواری توانسته‌اند نظر علاقه‌مندان زیادی را به خود جلب کنند (Ghosh *et al*., 2007). ماهی دم‌شمشیری یکی از ماهیان آب شیرین و زنده‌زا و همه‌چیزخوار بوده و می‌توانند از منابع گیاهی (مانند جلبک‌ها)، سخت‌پوستان کوچک و حشرات آبزی تغذیه کنند. طول کل این ماهی به ۱۴ سانتی‌متر می رسد. از نظر تنوع رنگ بدن، ماهیان دم‌شمشیری ممکن است به رنگ قرمز، زرد، سیاه، خاکستری یا زیتونی دیده شوند (Tamaru *et al*., 2001; Wischnath, 1993).

تغذیه در ماهیان از اهمیت قابل توجه ای برخوردار بوده و یکی از بخش های پر هزینه محسوب شده و بخش عمده ای از هزینه های جاری مرحله پرورش را به خود اختصاص می‌دهد (Boock *et al*., 2016). تغذیه بهینه و اصولی در بیش‌تر موارد به درستی جیره بندی غذایی، استراتژی تغذیه و بهره گیری از تکنولوژی غذادهی، بستگی دارد (Mendez *et al*., 2016). اندازه و وزن ماهی مهم ترین عواملی هستند که سطح تغذیه و میزان انرژی پایه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Jobling, 1994). اگرچه اغلب فرض بر این است که تغذیه ی ماهیان زینتی به مقدار کم و در سراسر طول روز منجر به بازده مناسب غذایی خواهد شد، تحقیقات هنوز برای اثبات این فرضیه بدرستی پاسخگو نبوده و مدیریت تغذیه در بسیاری کشورها در حال تحقیق است ومعمولا داده های به دست آمده از تحقیقات آبزی پروری گونه های خوراکی برای گونه های زینتی نیز به کار برده می‌شود که اغلب ثابت شده است که به خاطر اختلاف در گونه ها و تغییر در فرمولاسیون جیره ی غذایی نمی تواند چندان مناسب باشد (Priestley *et al*., 2006)؛ همچنین تاثیر برخی از افزودنی ها (سلحشوری و همکاران، ۱۳۹۶) و جایگزینی برخی مواد بر شاخص های رشد ماهیان کارهای ارزنده ای انجام شده است (مولودی نیا و همکاران، ۱۳۹۷).

غذادهی بیش از حد نیز به لحاظ اقتصادی و زیستی مناسب نبوده، زیرا سبب هدر رفت غذا و کاهش کیفیت آب محیط پرورشی و بروز برخی بیماری می‌گردد که برای مقابله با آن ها به هزینه های بیش‌تر دیگری، نیاز است (Mendez *et al*., 2016). به طور کلی ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای غذادهی هضم پذیری کم‌تری نشان می‌دهند (Windell *et al*., 197)، همچنین غذادهی اندک موجب کاهش تولید می‌گردد (New, 2009)، در نتیجه، نرخ رشد ویژه و

[1]- *Poeciliidae*

ضریب تبدیل غذایی می‌تواند مستقیما مرتبط با میزان و درصد غذادهی باشد. لذا کیفیت غذا و درصد غذادهی مهم‌ترین بخش علم تغذیه ی ماهی می‌باشند. استراژی مناسب غذادهی، رشد، بقا و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشیده و به کاهش ضایعات غذایی و تفاوت در اندازه ماهیان کمک کرده و در نهایت سبب بازدهی تولید می شود (Dumas and France, 2010)؛ از تمامی شاخص های تغذیه، سطح تغذیه، مهم‌ترین متغیر تأثیرگذار برعملکرد تولید مثلی ماهی است (Lovell, 2002). تولید مثل ماهیان تحت تاثیر فاکتورهای زیادی بوده که کیفیت غذا، کمیت، ترکیب و اندازه ی جیره ی روزانه و دفعات غذادهی از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد (هاتفی، ۱۳۹۱).

با توجه به اهمیت ماهیان زینتی، تلاش‌های گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف به‌منظور افزایش کمی و کیفی این موجودات صورت گرفته است؛ یکی از این زمینه‌ها، فعالیت تولیدمثلی آن‌ها می‌باشد؛ به‌عبارت دیگر هرچه دانش ما در این زمینه افزایش یابد، امکان دست یابی به میزان تولید بیش‌تر و با کیفیت بالاتر فراهم خواهد شد (حاجی بگلو و همکاران، ۱۳۹۳)؛ بنابراین مهم است که قادر به پیشگویی غذادهی مطلوب مرتبط با گونه و اندازه ی ماهی بود. اگرچه اغلب میزان تغذیه و درصد غذادهی مطلوب برای اندازه های مختلف، تحت شرایط محیطی و پرورشی متفاوت تعیین می‌شوند.

مواد و روش ها

این آزمایش از مهر ماه ۱۳۹۶ تا اسفند ماه ۱۳۹۶ به مدت ۶ ماه در مرکز آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. برای انجام این آزمایش ۱۸۰ قطعه ماهی دو و نیم ماهه دم شمشیری از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در جاده شصت‌کلا، شهرستان گرگان، استان گلستان خریداری و به محل انجام آزمایش منتقل شدند. پس از انتقال بچه ماهیان به سالن آبزی‌پروری پس از هم‌دما کردن آب درون کیسه‌ی حمل و نقل بچه ماهیان با آب آکواریوم ، ماهیان به ۱۵ عدد آکواریوم با ابعاد ۶۰*۴۰*۳۰ سانتی متر با ظرفیت آبگیری ۵۰ لیتر آبگیری انتقال داده شدند. آکواریوم ها توسط پمپ هواده مرکزی به طور یکسان هوادهی و هر آکواریوم به یک دماسنج و یک فیلتر تصفیه مجهز بوده و شرایط برای همه آکواریوم ها یکسان بود. ماهیانی که برای این آزمایش تهیه شد همگی نابالغ و هم سن بوده و حدود دو و نیم ماه سن داشتند. این ماهیان به مدت یک ماه و نیم در شرایط آزمایشی پرورش یافتند. در این دوره‌ی زمانی، ماهی‌ها روزانه در حد سیری و در سه نوبت غذادهی می‌شدند تا این که به سن تقریبی چهار ماهگی رسیدند. با مشاهده اولین علائمی که جنسیت نر و ماده ماهیان قابل تشخیص باشد، بلافاصله اقدام به جداسازی نرها از ماده ها گردید. معیار بررسی برای تفکیک جنسیت تغییر شکل باله مخرجی و تشکیل گنوپودیوم بود (حاجی بگلو و همکاران، ۱۳۹۳). در واقع هدف از این کار دست یابی به مولدین باکره بود. پس از شناسایی و جداسازی ماهیان بالغ باکره، اقدام به ماهی‌دار کردن آکواریوم‌ها و شروع تغذیه با جیره‌های آزمایشی شد. در این آزمایش از جیره غذایی تجاری ساخت شرکت بیومار فرانسه با درصد های مختلف غذادهی با نسبت های ۱٪، ۲٪، ۳٪، ۴٪، ۵٪ وزن بدن ماهی استفاده شد. قبل از تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی، ابتدا طول و

وزن اولیه مولدین اندازه‌گیری و سعی شد تا از نظر طول و وزن اختلافی با یکدیگر نداشته باشند. اجزا و ترکیبات تقریبی جیره آزمایشی ساخت شرکت بیومار فرانسه به شکل گرانوله، ۳/۰-۲/۰ میلی متر در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱: آنالیز تقریبی جیره غذایی مورد استفاده در آزمایش

ترکیبات جیره	مقادیر (٪)
پروتئین	۴۰
کربوهیدرات	۲۷
چربی خام	۷
فیبر خام	۶
خاکستر	۱۰
رطوبت	۱۰

در هر آکواریوم در ابتدا ۹ ماهی ماده و پس از ۱۰ روز که با جیره آزمایشی تغذیه شدند ۳ ماهی نر به هر آکواریوم اضافه شد. پس از ماهی‌دار کردن آکواریوم‌ها، ماهی‌ها به‌صورت دستی و روزانه در سه نوبت در ساعات ۸:۳۰ و ۱۱:۳۰ صبح و ۱۴:۳۰ بعد از ظهر و بر اساس درصد های تعریف شده در پروژه به مدت سه ماه غذادهی شدند. بعد از یک ماه قفس‌ها داخل هر آکواریوم قرار داده شد. هر روز قبل از غذادهی، جداسازی و شمارش لاروهای تازه متولد شده انجام و به صورت روزانه ثبت می‌شد.

با توجه به اهمیت عوامل محیطی از جمله: دما، pH، شوری و اکسیژن محلول در آب و اهمیت آن‌ها بر میزان تغذیه و در نهایت عملکرد تولید مثلی ماهی ها، این عوامل در طول دوره‌ی آزمایش به طور دقیق اندازه‌گیری گردید (جدول ۲).

جدول۲: برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب

فاکتور	میانگین
اکسیژن محلول (میلی گرم در لیتر)	۷/۳۱ ± ۰/۲۰
شوری (ppt)	۰/۴۷ ± ۰/۰۵
دما (درجه سانتی گراد)	۲۵/۲۰ ± ۰/۵۸
pH	۷/۵۱ ±۰/۱۶

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی[1] با کمک آزمون دانکن و آنالیز واریانس یک طرفه One Way Anova با ۵ تیمار و ۳ تکرار در سطح ۵ درصد انجام شد. در پایان برای تجزیه‌ی آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه۲۴ استفاده شد.

[1] Completely Randomized Design

نتایج

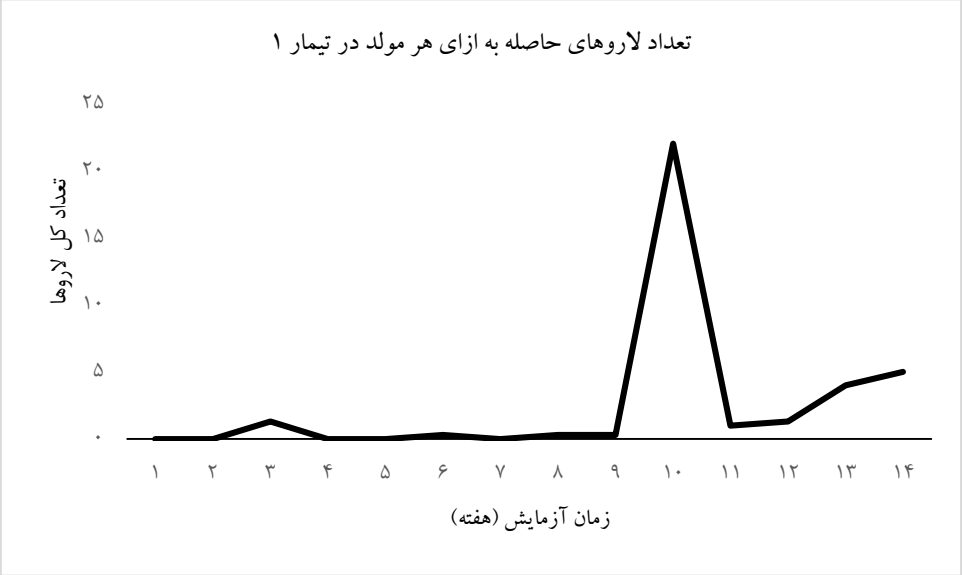
بررسی عملکرد تولید مثلی ماهیان دم شمشیری

با بررسی تعداد لاروهای حاصله در تیمارهای مختلف به ازای هر مولد و همچنین تعداد کل لاروهای تولید شده در تیمار های مورد آزمایش(جدول ۳)، حداقل تعداد لارو زایش شده توسط مولد دم شمشیری در تیمار ۱ و حداکثر آن در تیمار ۳ مشاهده گردیدو با سایر تیمار ها اختلاف معنی داری را نشان داده است ($P<۰/۰۵$). این در حالی است که بین تیمار ۲، ۴ و ۵ اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$). اگر چه تعدا لارو بدست آمده از تیمار ۵ بیش تر را تیمار ۲ و ۴ بوده است.

جدول۳: تعداد لاروهای متولد شده در تیمارهای مختلف در مدت پژوهش

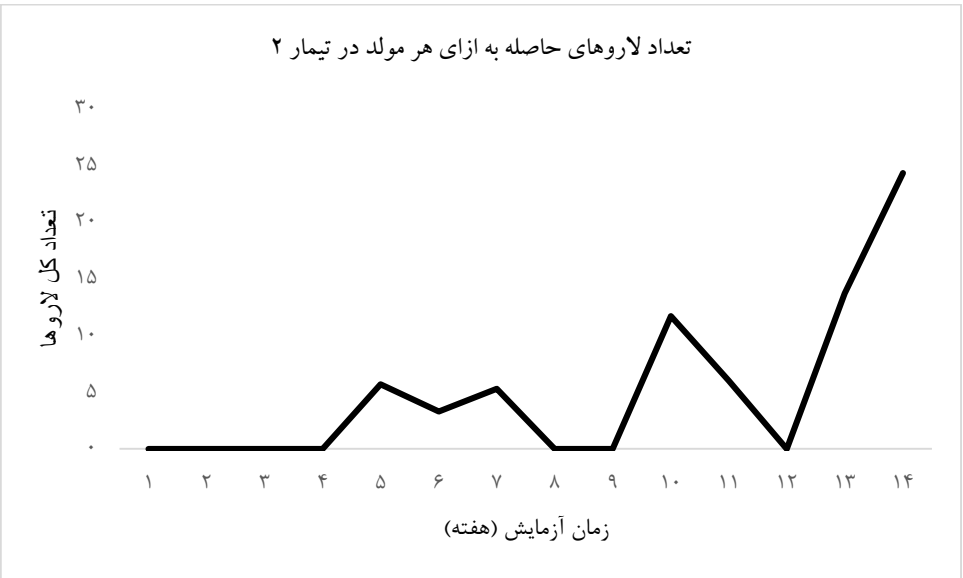
تیمار	میانگین لاروهای تولید شده در تیمارهای مختلف به ازای هر مولد	تعداد کل لاروهای تولید شده در هر تیمار
تیمار ۱	۱۹±۲[a]	۵۱۶±۹ [a]
تیمار۲	۳۷±۵[b]	۱۰۰۹±۱۷ [b]
تیمار۳	۶۴±۶ [c]	۱۷۳۴±۱۳ [c]
تیمار۴	۳۰±۱ [b]	۷۱۸±۱۱ [b]
تیمار۵	۳۹±۳ [b]	۱۰۵۶±۲۱ [b]

اولین نوزاد در تیمار T_1 پس از گذشت ۲۵ روز از شروع تغذیه با جیره‌های آزمایشی متولد شد. در این تیمار تا پایان دوره آزمایش مجموعاً ۵۱۶ نوزاد متولد گردید که به طور میانگین به ازای هر مولد ماده ۱۹ قطعه بچه ماهی بود. در تیمار T_2 اولین تولد پس از گذشت ۳۴ روز رخ داد و در نهایت ۱۰۰۹ قطعه لارو در این تیمار به دنیا آمدند که به طور میانگین ۳۷ قطعه بچه ماهی به ازای هر مولد می‌باشد. در تیمار T_3 اولین بچه ماهی پس از گذشت ۲۰ روز متولد و نهایتاً ۱۷۳۴ لارو و به طور میانگین ۶۴ قطعه لارو به ازای هر مولد به دنیا آمد در تیمار T_4 اولین تولد پس از ۲۹ روز اتفاق افتاد و نهایتاً ۸۱۸ لارو و به طور میانگین ۳۰ قطعه لاور به ازای هر مولد متولد شدند. در تیمار T5 اولین تولد پس از گذشت ۵۰ روز صورت گرفت و در نهایت ۱۰۵۶ قطعه لارو متولد گردید که به طور میانگین ۳۹ قطعه بچه ماهی به ازای هر مولد می‌باشد. به طور کلی، تعداد لاروهای زایش شده در تیمار T_3 نسبت به سایر تیمارهای اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) و بیشترین تعداد لارو در این تیمار متولد شد. علاوه براین، کم ترین تعداد لاروهای حاصل در تیمار T_1 ثبت شد، با این‌حال اختلاف معنی‌داری با تیمار T_2 نداشت ($P>۰/۰۵$). از سوی دیگر بین تیمار T_4، T_5 و T_2 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).



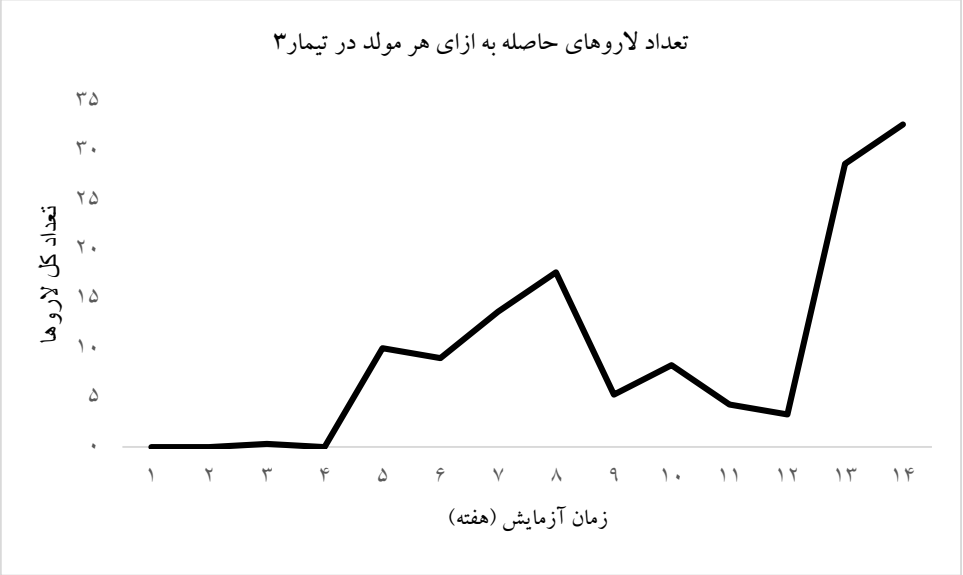
شکل ۱: تعداد لاروهای حاصله هر مولد در تیمار ۱

با توجه به شکل ۱، تعداد لاروهای حاصل در تیمار ۱ در ۹ هفته اول بسیار پایین بوده و از هفته نهم تا یازدهم افزایش زیادی در تولید لارو مشاهده شده و پس از آن تا هفته سیزدهم میزان زنده زایی مولدین دم شمشیری کاهش و از هفته سیزدهم مجددا با افزایش ثبت گردید.



شکل ۲: تعداد لاروهای حاصله هر مولد در تیمار ۲

با توجه به شکل ۲، در تیمار ۲ در چهار هفته اول زنده زایی صورت نگرفته است و از هفته چهارم تا ششم تعداد لاروها افزایش یافته و پس از آن در هفته هفتم افزایش مشاهده گردید. در هفته هشتم تا نهم زنده زایی متوقف شده و در هفته دهم افزایش زنده زایی مشاهده گردید و از هفته سیزدهم مجددا با افزایش روبرو بود.



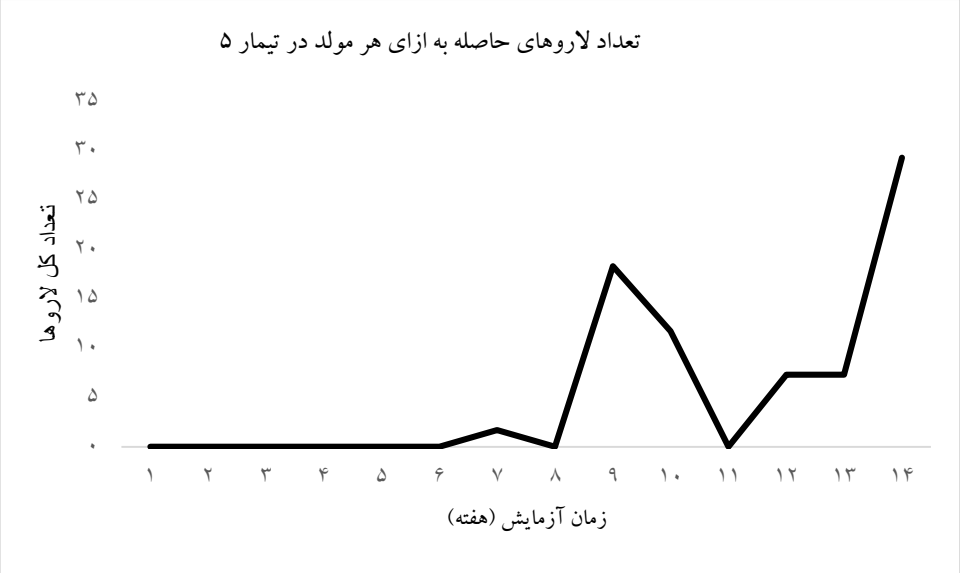
شکل۳: تعداد لاروهای حاصله هر مولد در تیمار ۳

با توجه به شکل ۳ در تیمار ۳ در چهار هفته اول زنده زایی مشاهده نشده و از هفته چهارم تا ششم و از هفته ششم تا هشتم افزایش داشته و پس از آن تا هفته نهم میزان زنده زایی مولدین دم شمشیری کاهش و در هفته دهم افزایش یافته و از هفته سیزدهم مجددا افزایش ثبت گردید.

شکل ۴. تعداد لاروهای حاصله در تیمار ۴

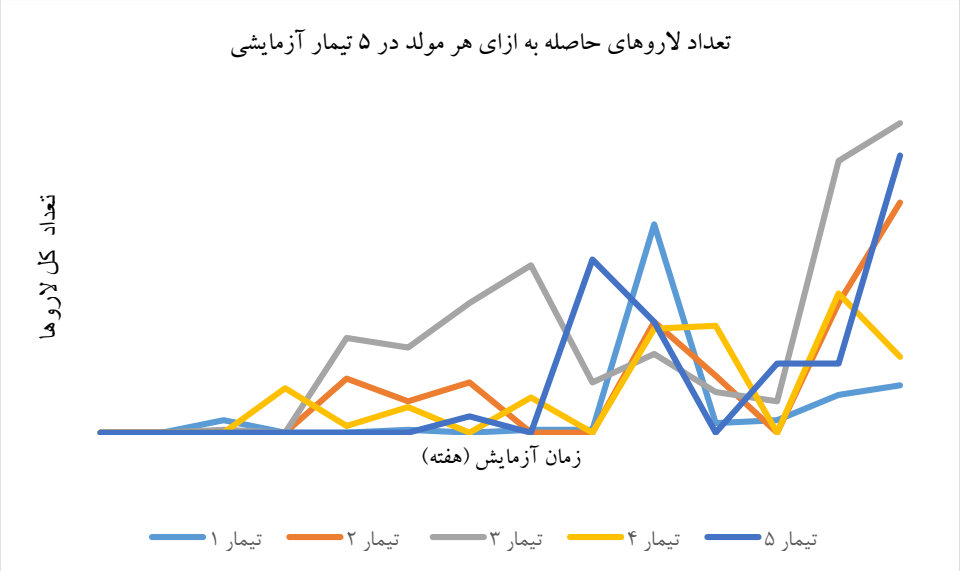
با توجه به شکل ۴ در تیمار ۴ در سه هفته اول زنده زایی مشاهده نشد، از هفته چهارم تا هفته نهم تعداد لاروها به طور متناوب زیاد و کم شده است و در هفته دهم و یازدهم میزان زنده زایی به طور قابل توجهی افزایش یافته و پس از آن در هفته دوازدهم کاهش زنده

زایی مشاهده گردید و از هفته سیزدهم دوباره افزایش زنده زایی ثبت گردید.



شکل ۵. تعداد لاروهای حاصله هر مولد در تیمار ۵

با توجه به شکل ۵، در تیمار ۵ از هفته اول تا هفته ششم هیچ گونه زنده زایی مشاهده نگردید و تا هفته هشتم تعداد لاروهای حاصله بسیار پایین بوده و از هفته نهم تا یازدهم زنده زایی افزایش پیدا کرده و پس از آن تا هفته چهاردهم روند زنده زایی صعودی بوده است.



شکل ۶. تعداد لاروهای حاصله مولدین ۵ تیمار آزمایشی

با توجه به شکل ۶، تا هفته چهارم پس از بلوغ جنسی زنده زایی در مولدین بسیار کم بوده و از هفته چهارم تا هفته هشتم اولین پیک زنده زایی مشاهده گردید. دومین پیک زنده زایی در هفته دهم تا یازدهم

و سومین پیک از هفته دوازدهم تا چهاردهم مشاهده گردید.

بحث

مطالعات گذشته نشان داد غذادهی بهینه برای تغذیه ی گونه های زینتی امری ضروری است. غذادهی مناسب باعث افزایش رشد ، بقای ماهی و عملکرد تولید مثلی شده و میزان ضایعات غذایی را به حداقل رسانده و در نهایت موجب افزایش تولید می‌شود (Goddard, 1996)؛ تعادل بین بهترین عملکرد ماهی و استفاده ی بهینه از غذا از موارد مهم در امر پرورش است. با تغذیه مناسب، انتظار می‌رود رشد و ضریب تبدیل غذایی به دلیل تنظیم جذب غذا با تقاضای انرژی بهبود یابند (Abid and Ahmad, 2009). از تمامی شاخص های مدیریت تغذیه، تعیین سطح مطلوب غذادهی، مهم‌ترین متغیر تأثیرگذار بر عملکرد تولید مثل ماهی و ضریب تبدیل غذا است (Lovell, 2002).

نتایج این آزمایش نشان داد که درصدهای مختلف غذادهی در عملکرد تولید مثلی ماهی دم شمشیری موثر بوده و تعیین درصد مناسب و مطلوب غذادهی به منظور دست یابی به سوددهی بیش‌تر و عملکرد بهتر ضروری می‌باشد (De Silva and Anderson, 1995). به گونه ای که تعداد لارو و زمان بلوغ در ماهی دم شمشیری در تیمار های مختلف غذادهی متفاوت بود. با توجه به نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر بالاترین نرخ زنده زایی در تیمار ۳٪ و اولین نوزاد متولد شده نیز در تیمار ۳٪ مشاهده گردید که نشان دهنده تاثیر به سزای میزان غذا در عملکرد تولید مثلی ماهی دم شمشیری می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر مطابق با نتایج به دست آمده توسط اتفاق دوست و نویریان (۱۳۹۵) در خصوص اثر درصدهای متفاوت غذادهی بر شاخص های رشد، ضریب تبدیل غذایی و ترکیب شیمیایی بدن میگوی رودخانه ای شرق (*Macobrachium nipponense*) که بیان نمودند که تیمار ۳ درصد غذادهی بیش‌ترین میزان افزایش رشد و بازماندگی را داشت. درچه حرارت از عوامل مهم تاثیرگذار بر سرعت رشد و درصد غذادهی میگوها بوده که با افزایش این عامل درصد غذاگیری افزایش یافته و بالطبع نیاز به درصدهای غذایی جیره آن ها نیز بیشتر می‌گردد. این امر نشان می‌دهد که با افزایش درصد غذادهی به بالاتر از ۳ درصد، مقدار غذای بیش‌تری در اثر کاهش کیفیت آب از دسترس ماهی ها خارج و با موضوع تسریع روند زنده زایی ماهی ها در تیمار ۳ درصد غذادهی مطابقت داشت.

یوسف پورپیربازاری و همکاران (۱۳۷۹) در بررسی تعیین بهترین درصد غذادهی نسبت به وزن توده زنده بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نشان دادند؛ بهترین درصد غذای پیشنهادی ۳ تا ۴ درصد وزن توده بدن ماهیان بوده است. والی الزهرانی و همکاران (۲۰۱۳)؛ نیز در بررسی تاثیر درصد های غذادهی بر رشد ماهی (*Epinephelus polyphekadion*) بیان کردند که رشد ماهیانی که به میزان ۲، ۳ و ۴ درصد وزن در طول روز غذا دریافت کرده اند به طور معنا داری بیش‌تر از سایر تیمارها بوده است. این اختلاف جزئی با مطالعه حاضر ممکن است تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر: کیفیت غذا، میزان مصرف آن و دمای آب و احتمالا تحت تاثیر نظم غذادهی و ترکیبات جیره غذایی مورد استفاده باشد (Hung, 1991).

Robinson و Li (۲۰۰۷) میـزان تغذیـه روزانـه گربـه مـاهی حوضـچه ای (catfish) را بررسـی کردنـد. نتایج نشان داد که اثر متقابل معنا داری بین اندازه بدن و سطوح غذادهی بر میزان رشد، هضـم پـذیری و ضـریب تبدیل غذایی وجـود دارد؛ همچنـین دهقـان و همکـاران (۱۳۹۴) تأثیر وزن بدن و سطوح غذادهی (در دو گـروه وزنی و سه سطح غذادهی)؛ برای ماهیان کوچـک ۰/۵، ۱/۰۷ و ۱/۷۲ درصـد وزن بـدن و بـرای ماهیـان بـزرگ ۰/۴، ۱/۰۷ و ۱/۰۳ درصـد وزن بـدن (بـه ترتیـب بـرای تیمار متابولیسم پایه، بینابینی و اشباع) بر عملکـرد رشـد، ترکیب لاشه و قابلیـت هضـم پـذیری مـاهی قـزل آلای رنگـین کمـان (*Oncorhynchus mykiss*) را بررسـی کردند؛ نتایج نشان دهنده ی اثـر متقابـل معنـا داری بـین اندازه بـدن و سـطوح غـذادهی بـر میـزان افـزایش وزن، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه بـود و اگرچـه غـذادهی در حد اشـباع، رشـد حـداکثر را بـه دنبـال داشـت، ولـی بـا کاهش کارایی تبدیل غذا و افزایش مواد آلاینده در هر گروه وزنی همراه بود که با نتایج پژوهش حاضـر اسـت که همواره باید سطوحی از درصدهای غذادهی انتخـاب گـردد کـه نسـبت متوسـطی از شـاخص هـای رشـد و مطلوبیت کیفیت آب محیط پرورشی را به همـراه داشـته باشد؛ مطابقت داشت.

محسنی و همکاران (۱۳۸۴) بـا مطالعـه درصـدهای مختلـف غـذادهی (۱، ۲، ۳ و ۴ درصـد بـر اسـاس وزن تـوده بـدن) در کـارایی میـزان غـذای بچـه فیـل ماهیـان پرورشی (*Huso huso*)، مشاهده کردند کـه در شـرایط یکسـان پرورشـی افـزایش درصـد غـذادهی بـا میـزان مصـرف غـذا رابطـه مسـتقیم و بـا مقـادیر کـارایی غـذا، ضریب تبدیل غذایی، شاخص رشد ویژه رابطه معکوس دارد که بیـانگر ایـن امـر بـود کـه افـزایش نسـبت هـای غذادهی تا حد بهینه سبب افزایش شاخص هـای رشـد و تغذیه ای شده و بیش‌تر از نسبت مورد نیاز، موجب هدر رفت خوراک و کاهش کیفیت آب می‌شود کـه مطـابق با نتایج بررسی های فوق می‌باشد.

Cunha و همکـاران (۲۰۱۳) نیـز تـاثیر درصـدهای مختلـف غـذادهی را روی رشـد مـاهی پومپـانو نابـالغ (juvenile pompano) بررسی کردند، نتـایج نشـان داد کـه درصـد افـزایش وزن و ضـریب تبـدیل غـذایی در ماهیانی که ۸٪ وزن بدنشان در روز تغذیه شدند به طـور معنی داری بالاتر از گروه های دیگر بود و ماهیـانی کـه به میزان ۴٪ وزن بدنشـان در روز تغذیـه شـده بودنـد بـه طور قابل توجهی کم‌ترین رشد را داشـته انـد؛ همچنـین Ribeiro و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایشی مطلوب ترین سـطح غـذادهی آنجـل آب شـیرین (freshwater angelfish) را بررسـی کردنـد. مطالعـات حـاکی از آن بود که میـزان غـذادهی روزانـه روی رونـد رشـد مـاهی تاثیر می‌گذارد و بیش‌ترین نرخ رشد مربوط بـه ماهیـانی است که به میزان روزانه ۶ یـا ۹ درصـد وزن بـدن خـود غذا دریافت کرده بودند که با نتایج مطالعـات آزمـایش فـوق در بررسـی درصـدهای غـذادهی روی عملکـرد تولیدمثلی ماهی دم شمشیری مغـایرت داشـت؛ ایـن امـر ممکن است به شرایط فیزیولوژیک مربوط به متابولیسـم هضم به علت افزایش ضـایعات غـذایی در هنگـامی کـه میزان غذادهی بیش‌تر از میزان سیر شدن باشد، برگـردد. رشد ماهی و میزان تبدیل مواد غذایی تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر کیفیـت غـذا، میـزان مصـرف آن و دمـای آب قرار دارد. غـذادهی بـیش از حـد از نظـر زیسـتی و اقتصادی اصولی نمی‌باشد، زیرا ماهیان غذای بیش‌تـر از حد نیاز خود مصرف می‌کنند.

عزیزیان فارسانی (۱۳۸۸) آزمایشی روی بررسی تاثیر درصدهای مختلف غذادهی بر روند رشد، بازده تولید و ترکیب لاشه تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) انجام داد، نتایج حاکی از آن بود که تیمار ۱ درصد وزن بدن غذادهی در روز، مقدار مناسب تغذیه ی تاس ماهی *سیبری* بوده است. دلیل این تفاوت را می‌توان چنین بیان نمود که میزان متابولیسم بدن و رشد ماهیان تحت تاثیر دمای آب قرار می‌گیرد، از این رو تغذیه مطلوب ماهیان پرورشی در دماهای مختلف آب، متفاوت می‌باشد (Hung and Lutes, 1987).

همچنین میزان تغذیه را روی رشد، ترکیب بدن و میزان هضم پذیری ماهی کپور علفخوار (juvenile grass carp) بررسی کردند نتایج نشان داد که میزان رشد و هضم پذیری به طور معنی داری تحت تاثیر میزان غذادهی است و با افزایش درصدهای غذادهی، میزان رشد و هضم پذیری کاهش یافت. در این آزمایش، مطلوب ترین سطح غذادهی ۱/۹۷٪ وزن بدن ماهیان در روز بود که با نتایج مطالعه فوق همخوانی نداشت؛ در واقع در برخی ماهیان عوامل رفتاری موجب افزایش روابط متقابل تغذیه ای بین ماهیان و کاهش سطح تغذیه؛ همچنین کاهش سهم ماهیان ضعیف تر در کسب غذا و ایجاد طبقات مختلف وزنی و قلمرو های داخلی خواهد شد (Jobling, 1994).

نتایج مطالعه حاضر نشان دادکه عملکرد تولید مثلی ماهی دم شمشیری می تواند تحت تاثیر درصدهای غذادهی قرار بگیرد و مطلوب ترین سطح تغذیه، ۳ درصد وزن بدن ماهی دم شمشیری می‌باشد که دارای بالاترین نرخ زادآوری بوده است.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. اتفاق دوست، م. و علاف نویریان، ح.، ۱۳۹۵. اثر درصدهای غذادهی متفاوت بر شاخص های رشد، ضریب تبدیل غذایی و ترکیب شیمیایی بدن میگوی رودخانه ای شرق *Macobrachium nipponense*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۵): ۹۷-۱۱۲.

۲. حاجی بگلو ع.، سوداگر م.، حسینی س.ع. و جعفری س.م.، ۱۳۹۳. بررسی اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی *Corchorus olitorius* برروی برخی فاکتورهای تولیدمثلی و رشد در ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*). فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری، ۶(۴): ۵۶-۴۷.

۳. دهقان، ا.، کرامت،ع.، اورجی، ح. و جانی خلیلی، خ.، ۱۳۹۴. تأثیر وسن بدن وسطوح غذادهی بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و قابلیت هضم پذیری ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علمی- پژوهشی علوم و فنون شیلات، ۴(۱): ۴۳-۵۲.

۴. سلحشوری، ا.، فلاحتکار، ب. و عفت پناه، ا.، ۱۳۹۶. تاثیر سطوح پروتئین جیره بر عملکرد رشد و شاخص های خونی بچه فیل ماهی (*Huso huso*). نشریه توسعه آبزی پروری. ۱۱(۱): ۵۱-۶۲.

۵. عزیزیان فارسانی، و.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر درصد های مختلف غذادهی بر روند رشد ، بازده تولید و ترکیب لاشه تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*)، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۰۲ صفحه.

۶. محسنی، م.، بهمنی، م.، پورکاظمی، م.، پورعلی فشتمی، ح. و ارشد، ع.، ۱۳۸۴. تعیین مناسب ترین درصد غذادهی در پرورش گوشتی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) در حوضچه های فایبرگلاس. مجله علمی شیلات ایران، ۱۴(۴): ۱۶۵-۱۸۰.

۷. مولودی نیا، ب.، علاف نویریان، ح. و سجادی، م. م. ، ۱۳۹۷. جایگزینی آرد ماهی با پودر ضایعات طیور و تأثیر آن بر عملکرد رشد، نرخ بقا و شاخص‌های خونی بچه تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۲(۱): ۷۵-۸۷.

۸. هاتفی، ش.، ۱۳۹۱. اثر دفعات غذادهی بر رسیدگی جنسی و کیفیت تخم در ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، ۶۸ صفحه.

۹. یوسف پورپیربازاری، ح. و آق تومان، و.، ۱۳۷۹. مطالعه تعیین بهترین درصد تغذیه (غذادهی) نسبت به وزن توده زنده در تاسماهی ایران (*Acipenser persicus*). مجله علوم شیلاتی ایران، ۲(۱): ۹۱-۱۰۴.

10. Abid, M., and Ahmad, M.S., 2009. Efficacy of feeding frequency on growth and survival of (*Labero rohita*) fingerlings under intensive rearing. The journal of Animal and Plant Sciences, 19: 111-113.
11. Boock, M.V., de Almeida Marques, H.L., Mallasen, M., Barros, H.P., Moraes-Valenti, P. and Valenti W.C., 2016. Effects of prawn stocking density and feeding management on rice–prawn culture. Aquaculture, 451: 480-487.
12. Chong, A.S.C., Ishak, S.D. and Osman, Z.R., 2004. Hashim. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture, 234: 381–392.
13. Cunha, V.L., Shei, M.R.P., Okamoto, M.H., Rodrigues, R.V., and Sampaio, L.A., 2013. Feeding rate and frequency on juvenile pompano growth. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48(8): 950-954.
14. De Silva S.S. and T.A. Anderson, 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman and Hall Aquaculture Series, London, 319 pp.
15. Dumas, A., and France, J., 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going. 161-181. Aquaculture Research, 41,161–181.
16. FAO, 2014. Fishery Statistics Yearbook. Catches and Landings. The state of food insecurity in the world, Retrieved Feb. 2014. FAO, Rome, Italy. ISBN: 978-92-5-108275-1.
17. Ghosh, S., Sinha, A. and Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research, 38: 518-526.

18. Goddard S., 1996. Feed Management in Intensive Aquaculture, Chapman and Hall, New York, 194 pp.
19. Hung. S.S.O., 1991. Nutrition and feeding of hatchery-produceedings juvenile sturgeon (*Acipenser transmontanus*): an overview. In: P Wihhiot (Ed), proceeding of the First International Symposium on the sturgeon, Cemagref, Bordeau, France, Pp: 65-77.
20. Hung S.S.O.and Lutes P.B., 1987. Optimum feeding rate of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20°C. Aquaculture, 65: 307-317
21. Jobling, M., 1994. Fish Bioenergetics. Chapman and Hall, London, 309p. Li, H.W. and Brocksen, R.W., 1977. Approaches to the analysis of energetic costs of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of Fish Biology, 11: 329-341.
22. Lovell, RT., 2002. Diet and fish husbandry. In: Halver, JD; Hardy, RW (Eds.) Fish nutrition. 3ed. San Diego: Academic Press, 704-755.
23. New, M.B., 2009. History and global status of freshwater prawn farming. Freshwater prawns: biology and farming, 194: 16-40.
24. Priestley, S. M., Stevenson, A. E., and Alexander, A. G., 2006. The influence of feeding frequency on growth and body condition of the common goldfish (*Carassius auatus*). The American Society for Nutrition, 136: 1979-1981.
25. Ribeiro, Felipe de Azevedo Silva, Vasquez, Leonardo Avendaño, Fernandes, João Batista Kochenborger, and Sakomura, Nilva Kazue., 2012. Feeding level and frequency for freshwater angelfish. Revista Brasileira de Zootecnia, 41(6): 1550-1554.
26. Robinson, E.H and Li, M.H., 2007. Effects of fish size and feeding frequency on *catfish production*. Mississippi. Agricultural and Forestry Experiment Station Research Report, 24(2): 4 pp.
27. Sampaio, F.D.F., Freire, C., Sampaio, T., Vinicius, M., Vitule, R.S. and Favaro, L., 2015. The precautionary principle and its approach to risk analysis and quarantine related to the trade of marine ornamental fishes in Brazil. Marine Policy, 51: 163-168.
28. Tamaru, C.S., Cole, B., Bailey, R., Brown C. and Ako, H., 2001. A manual for the commercial production of the swordtail, *Xiphophorus hellerii*. CTSA Publication No. 128. University of Hawaii Sea Grant Extension Service, Honolulu, Hawaii.
29. Tissera, K., 2012. The Global Ornamental Fish Industry: An outlook on the First Decade of the New Millennium. International Conference on the Global Ornamental Fish Industry –Way Forward. February, Cochin, Kerala, India.
30. Windell, J. T., Foltz, J. W. and Sarokon, J. A., 1978. Effect of fish size, temperature, and amount fed on nutrient digestibility of a pelleted diet by rainbow trout, (*Salmo gairdneri*). Transactions of the American Fisheries Society, (107:4): 613-616.
31. Wischnath, L., 1993. Atlas of livebearers of the world.Tropical Fish Hobbyist Publications, Inc., Neptune City, NJ.

تنظیم اسمزی ماهی سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) طی دوره سازگاری در آب شیرین

سعید حاجی رضائی*[۱]، محمد حسین خانجانی[۱]

۱- گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۲۶

چکیده

در تحقیق حاضر، روند سازگاری بچه ماهیان سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) در آب شیرین با استفاده از شاخص های فیزیولوژیک تنظیم اسمزی شامل: سطوح هورمون‌های تیروئیدی و کورتیزول خون، فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش و غلظت یون-های سدیم و کلر پلاسمای خون مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، تعداد ۶۰ عدد بچه ماهی سی بس آسیایی در سه مخزن ۳۰۰ لیتری با تراکم ۲۰ عدد ماهی در هر مخزن توزیع شدند. خونگیری از ماهیان در دو مرحله انجام شد: مرحله ۱) قبل از سازگاری در آب شیرین (مرحله آب دریا) و مرحله ۲) بعد از ۲۴ ساعت سازگاری در آب شیرین. طبق نتایج، فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش به طور معنی-داری طی دوره سازگاری با آب شیرین افزایش نشان داد ($P<0.05$). هورمون‌های تیروئیدی افزایش معنی‌داری را طی ۲۴ ساعت سازگاری در آب شیرین نشان دادند ($P<0.05$). همچنین سطوح هورمون کورتیزول تغییر معنی‌داری طی دوره سازگاری نداشتند ($P>0.05$). غلظت یون-های سدیم و کلر پلاسما به طور معنی‌داری طی دوره سازگاری در آب شیرین کاهش یافتند ($P<0.05$). علاوه براین، میزان ۱۰٪ تلفات طی دوره سازگاری مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان دادند که بچه ماهیان سی بس توانایی سازگاری با شوک آب شیرین را دارند زیرا فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase و سطوح هورمون‌های تیروئیدی افزایش معنی‌داری را نشان دادند. با این وجود، تعادل یون ها طی ۲۴ ساعت رخ نداد که این موضوع نشان می دهد که احتمالا افزایش مدت زمان سازگاری به بالاتر از ۲۴ ساعت می تواند به برقراری مطلوب تعادل یونی کمک کند.

کلمات کلیدی: شوری، تنظیم اسمزی، سی بس آسیایی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) shajirezaee@ujiroft.ac.ir

مقدمه

ماهی سی بس آسیایی در سرتاسر بخش های شمال و جنوب آسیا تا استرالیا و شرق آفریقا پراکنش دارد. این گونه در آب‌های ساحلی، مصب‌ها و لاگون‌ها زیست می کند و معمولا در اعماق ۱۰ تا ۵۰ متر یافت می‌شود (Kandan, 2009). ماهی سی بس آسیایی گونه ای یوری هالین و کاتادروموس (دریا کوچ) می‌باشد و جمعیت‌های آن در آب‌های شیرین، لب شور و دریایی شامل رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، لاگون‌ها، مصب‌ها و آب-های ساحلی یافت می‌شوند (Matthew, 2009). ماهی سی بس عمده رشد خود را تا ۲-۳ سالگی در منابع آب شیرین مانند رودخانه‌ها و دریاچه‌ها که به دریا ارتباط دارند سپری می کند. این ماهی نرخ رشد بالایی داشته و اغلب در مدت ۲-۳ سال تا وزن ۳-۵ کیلوگرم می‌رسد. ماهیان بالغ (۳-۴ ساله) برای گذراندن دوره بلوغ گنادها و متعاقبا تخمریزی به سمت دریا مهاجرت می‌کنند (Mathew, 2009; Jerry, 2013). لاروهای سی بس همراه با مد آب و سایر جریان‌های دریایی وارد مصب-ها می شوند. تکامل لاروی در مصب شروع و تا رسیدن به به بالادست رودخانه ادامه می یابد. ماهی سی بس یک شکارچی فرصت طلب بوده و ماهی و سخت پوستان سهم عمده غذای ماهیان بالغ را تشکیل می دهد (Mathew, 2009; Jerry, 2013).

در حال حاضر، ماهی سی بس به صورت گسترده در آسیای جنوب شرقی و عمدتا در قفس و به صورت کشت توام با گونه‌هایی شامل هامورماهیان و سرخوماهیان پرورش داده می شود. طبق آمار سازمان فاو، تولید جهانی ماهی سی بس آسیایی از حدود ۱۲۰۰۰ تن در سال ۱۹۹۰ به حدود ۵۷۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۶ رشد داشته است (Grey, 1987). در حال حاضر، اهمیت تجاری ماهی سی بس آسیایی موجب آن شده است که این گونه جهت پرورش به سایر کشورهای آسیایی بخصوص ایران معرفی شود.

همانطور که قبلا بیان شد، سی بس آسیایی به عنوان یک گونه یوری هالین قادر به تحمل طیف گسترده‌ای از تغییرات شوری از ۰ تا شوری دریا (بالای ۳۰ گرم بر لیتر) می‌باشد. با این وجود اطلاعات محدودی در مورد فیزیولوژی تنظیم اسمزی این گونه بخصوص در آب شیرین وجود دارد. با توجه به اینکه اغلب منابع آب‌های داخلی مناسب برای پرورش در ایران مربوط به بخش آب شیرین می باشد، لازم است که توانایی سازگاری این گونه در محیط آب شیرین به لحاظ تنظیم اسمزی بررسی شود.

در ماهیان مهاجر، تنظیم اسمزی در محیط آب شیرین و دریا مکانیسم متفاوتی را تجربه می‌کند. در محیط آب شیرین به دلیل بالاتر بودن غلظت املاح در مایعات بدن نسبت به محیط تمایل به دفع یون‌ها و جذب آب وجود دارد. ولی در محیط آب شور به دلیل بالاتر بودن غلظت املاح محیط مایعات بدن تمایل به جذب یون‌ها و دفع آب وجود دارد. به طور کلی تنظیم اسمزی در محیط آب شور و شیرین تحت تاثیر عوامل مختلف فیزیولوژیک نظیر هورمون‌ها و آنزیم‌ها قرار دارد که محل فعالیت آن ها سلول های کلرآید و کانال‌های تبادلی در سطح بافت آبشش می باشد. هورمون‌هایی مانند کورتیزول، پرولاکتین و هورمون-های شبه انسولین. همچنین آنزیم Na^+/K^+-ATPase مهمترین آنزیم دخیل در تبادل یون‌ها در سطح سلول های کلرآید می‌باشد (McCormick, 2001; Manzon, 2002).

در سی بس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، انتقال ماهیان از آب شیرین به شور موجب کاهش یون-های سدیم و کلر و افزایش فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase شد (Jensen *et al*., 1998). همچنین انتقال ماهیان از شوری ۱۵ گرم/لیتر به آب شیرین موجب افزایش فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase تا دو برابر شد (Jensen *et al*., 1998).

همچنین تعداد سلول های کلرآید در ماهی سی بس اروپایی طی سازگاری با آب شیرین افزایش معنی-داری را نشان داد (Varsamos *et al*., 2002).

هدف از تحقیق حاضر بررسی روند سازگاری بچه‌ماهیان سی بس آسیایی در آب شیرین با استفاده از برخی شاخص‌های فیزیولوژیک تنظیم اسمزی شامل: سطوح هورمون‌ها درخون، فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش و غلظت یون‌های سدیم و کلر پلاسمای خون می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند اطلاعاتی اولیه در مورد روند فیزیولوژیک تنظیم اسمزی ماهی سی بس آسیایی در آب شیرین ارائه دهد.

مواد و روش ها

طراحی آزمایش

تحقیق حاضر در کارگاه تکثیر مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور-چابهار انجام شد. بچه ماهیان سی بس آسیایی با میانگین وزنی ۰/۴ ± ۲/۲ گرم از بخش خصوصی (مجتمع تکثیر ماهیان دریایی- بوشهر) در خرداد ماه سال ۱۳۹۱ خریداری و پس از کسب گواهی سلامت از اداره دامپزشکی استان و شهرستان چابهار به کارگاه تکثیر مرکز تحقیقات منتقل شدند. در کارگاه، ماهیان به مدت ۳ روز در مخازن ۲۰۰۰ لیتری محتوی آب دریای ضد عفونی شده با کلر با شرایط کارگاه سازگاری یافتند. بعد از پایان دوره سازگاری، ماهیان به مدت ۱ ماه (فاز نرسری) تا وزن ۱۰-۱۲ گرم پرورش داده شدند. در طول یک ماه دوره نرسری بچه ماهیان تا حد اشتها و در ۴ نوبت در شبانه روز با غذای آغازین تجاری قزل آلا SFT_1 تغذیه شدند. ترکیب غذایی جیره SFT_1 در جدول ۱ ارائه شده است. عملیات تعویض آب و رقم بندی بچه ماهیان به ترتیب هر دو روز و هر هفته یکبار انجام شد.

جدول۱: ترکیب و خصوصیات فیزیکی جیره تجاری استفاده شده در تحقیق

نوع جیره	ترکیب غذایی و بافت جیره							
	پروتئین خام ٪	چربی ٪	خاکستر ٪	فیبر ٪	فسفر ٪	رطوبت ٪	شکل فیزیکی	اندازه (میلیمتر)
SFT1	۴۸	۱۲	۱۴	۲/۵	۱/۵	۱۱	گرانول	۱/۶-۱/۲

با اتمام فاز نرسری، تعداد ۶۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱/۱±۱۱/۴ گرم به ۳ مخزن ۳۰۰ لیتری محتوی آب دریا (شوری ۳۴ گرم/لیتر) با تراکم ۲۰ عدد در هر مخزن منتقل شدند. بعد از ۳ روز سازگاری در آب شور، از هر مخزن تعداد ۱۰ عدد ماهی جهت خونگیری و برداشت نمونه آبشش نمونه‌برداری شدند. سپس باقی مانده ماهیان هر مخزن به طور جداگانه به ۳ مخزن ۳۰۰ لیتری محتوی آب شیرین ضد عفونی شده منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در آب شیرین، از باقی مانده ماهیان خونگیری با روش قطع ساقه دمی انجام گرفت. در هر مرحله خونگیری، نمونه‌های خون بلافاصله توسط سانتریفیوژ یخچالدار (g × ۱۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه)

در دمای ۴ درجه سانتریفیوز شده و سپس نمونه‌های پلاسمای خون بلافاصله در فریزر $-80^{o}C$ تا انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند.

در طول دوره آزمایش مخازن به صورت پیوسته با استفاده از دو عدد سنگ هوا جهت حفظ سطح مطلوب اکسیژن هوادهی شدند. همچنین در طول ۲۴ ساعت آزمایش مواجه با آب شیرین غذادهی ماهیان متوقف شد.

آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی

سنجش هورمون

هورمون‌های تیروئیدی (T_3 و T_4) و کورتیزول با استفاده از روش رادیو-ایمنو-اسی (Radioimmunoassay) که بر اساس رقابت بین آنتی ژن نمونه (هورمون) و آنتی ژن رادیواکتیو (هورمون نشانه دار) در اتصال به آنتی بادی هورمون می باشد اندازه‌گیری شدند. برای سنجش کورتیزول، ۵۰۰ میکرولیتر آنتی بادی یا آنتی سرم به تویوپ های جداگانه (میکرو تویوپ های استاندارد، نمونه و کنترل) اضافه شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر آنتی ژن رادیواکتیو (^{125}I-Cortisol) به تویوپ‌های حاوی آنتی بادی اضافه شد. بعد از آن، ۱۰۰ میکرولیتر از هر استاندارد (۶ استاندارد شامل ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۶۵۰، ۱۶۰۰ نانوگرم/لیتر کورتیزول)، کنترل و نمونه پلاسمای خون به تویوپ های مربوط به خود اضافه و مجموعه به مدت دو ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. بعد از دو ساعت انکوباسیون، رک حاوی تویوپ‌ها وارونه شد تا مایع رویی آن خارج شود و سپس تویوپ‌ها در همان حالت وارونه روی یک کاغذ جاذب به مدت دو دقیقه قرار داده شدند. بعد از دو دقیقه قرار دادن روی کاغذ جاذب، تویوپ‌ها جهت خواندن غلظت آنتی ژن‌های رادیواکتیو که هنوز به آنتی بادی‌ها متصل می‌باشند به دستگاه گاماکانتر منتقل شدند. در نهایت میزان هورمون در هر نمونه خون از کسر کردن غلظت کل آنتی ژن رادیواکتیو مورد استفاده از غلظت آنتی ژن رادیواکتیو که هنوز در اتصال به آنتی بادی می‌باشد محاسبه شد. مراحل سنجش هورمون های تیروئیدی کاملا مشابه هورمون کورتیزول بود و تفاوت‌ها تنها در نوع (^{125}I-T_3, ^{125}I-T_4) و غلظت آنتی ژن نشانه دار (۱۰۰ میکرولیتر)، میزان مصرف استاندارد (۱۰۰ میکرولیتر) و غلظت های استاندارد بود.

سنجش فعالیت آنزیم Na^{+}/K^{+}-ATPase

فعالیت آنزیم Na^{+}/K^{+}-ATPase آبشش بر اساس هیدرولیز آدنوزین تری فسفات (ATP) و تولید فسفات غیر آلی (Pi) مطابق روش Zaugg (۱۹۸۲) و McCormick (۱۹۹۳) انجام شد. در این روش میزان فعالیت آنزیمNa^{+}/K^{+}-ATPase از تفریق میزان تولید فسفر آلی (محصول هیدرولیز محتوای آدنوزین تری فسفات) در حضور و عدم حضور Ouabain محاسبه و به صورت میکرومول بر میلی گرم پروتئین در ساعت ($\mu molPi.mg\ protein^{-1}.h^{-1}$) بیان شد.

سنجش یون های سدیم و کلر

یون سدیم پلاسمای خون با استفاده از روش اسپکتروسکوپی نشری شعله‌ای (FlamePhotometry) و بوسیله دستگاه فلیم فتومتر(FlamePhotometer) (مدل php7 ساخت شرکت Jenwey، انگلستان) طبق روش Handy و Depledge (۱۹۹۹) انجام شد. برای این منظور ابتدا نمونه‌های پلاسما (هر نمونه ۱۰۰

میکرولیتر) با استفاده از آب مقطر به میزان ۳۰۰ بار رقیق شدند. سپس محلول‌های استاندارد سدیم (۰/۵ و ۱ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم در ۰/۲ درصد کلرید پتاسیم) آماده و بعد از اسیدی ساختن آن‌ها با استفاده از یک قطره اسید نیتریک غلیظ، در بطری‌های پلی تن و تیره رنگ نگهداری شدند. در نهایت با استفاده از محلول شاهد سدیم، نمونه‌ها به دستگاه فلیم فتومتر معرفی و غلظت یون سدیم در طول موج ۵۸۹ نانومتر بر حسب میلی مول بر لیتر قرائت شد.

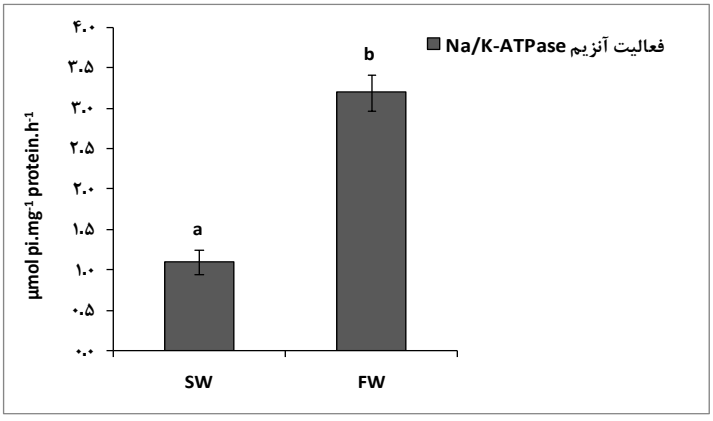
یون کلر با روش کالری متری مورد سنجش قرار گرفت (Handy and Depledge, 1999). اساس این روش تیتراسیون نمونه‌های پلاسمای خون به وسیله نیترات نقره و رسوب یون کلر می‌باشد. در این روش میزان کلر نمونه بر اساس مقدار نیترات نقره مصرف شده محاسبه می‌شود. روش کار به صورت مختصر به این صورت می باشد که ۰/۰۱ میلی لیتر محلول کرومات پتاسیم (۵٪) به ۰/۱ میلی لیتر از نمونه مورد آزمایش اضافه و سپس توسط محلول استاندارد نیترات نقره (۰/۰۱۲۱ نرمال) تا تشکیل رسوب قرمز آجری تیتر می شود. همچنین بعنوان شاهد از ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر حاوی کربنات کلسیم استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

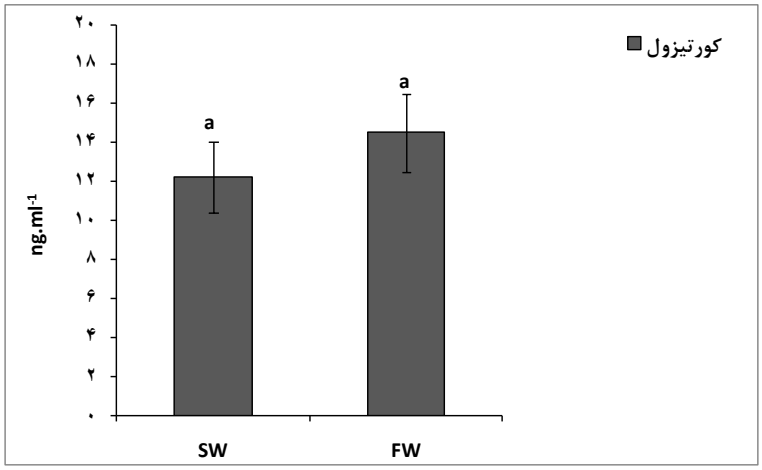
کلیه اطلاعات جمع آوری شده جهت تجزیه و تحلیل وارد برنامه EXCEL گردید. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها و سپس بررسی اختلافات آماری بین میانگین‌ها به ترتیب از تحلیل Kolmogorov-Smirnov و آزمون t مستقل در نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

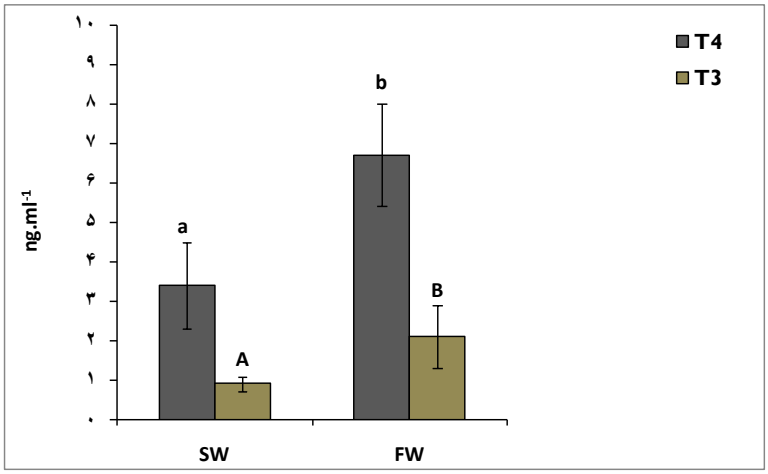
فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش به طور معنی‌داری طی دوره سازگاری با آب شیرین افزایش نشان داد ($P<0.05$) (شکل ۱، $P<0.05$). سطوح هورمون کورتیزول تغییر معنی‌داری طی دوره سازگاری با آب شیرین نشان ندادند (شکل ۲، $P>0.05$). هورمون‌های تیروئیدی افزایش معنی‌داری را طی ۲۴ سازگاری در آب شیرین نشان دادند (شکل ۳، $P<0.05$). غلظت یون‌های سدیم و کلر پلاسما به طور معنی‌داری طی دوره سازگاری با آب شیرین کاهش یافتند (شکل ۴، $P<0.05$). علاوه براین، میزان ۱۰٪ تلفات طی دوره سازگاری با آب شیرین ثبت شد.



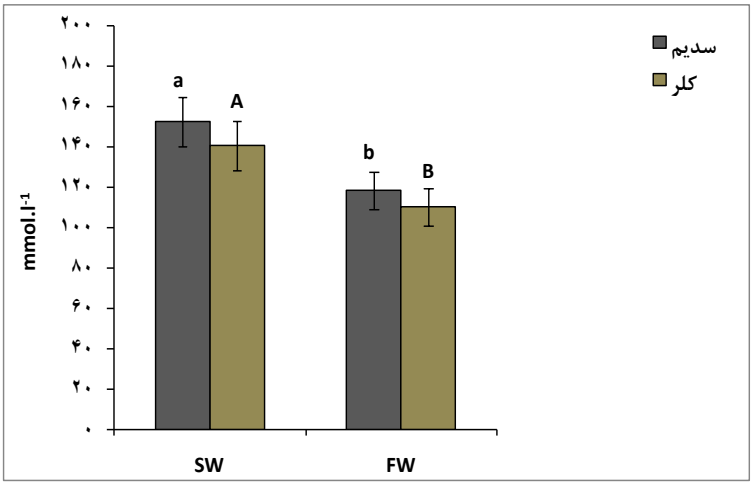
شکل ۱: تغیرات فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش طی ۲۴ ساعت سازگاری ماهی سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) در آب شیرین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد. SW : آب دریا و FW : آب شیرین.



شکل ۲. تغیرات هورمون کورتیزول خون طی ۲۴ ساعت سازگاری ماهی سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) در آب شیرین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد.SW : آب دریا و FW : آب شیرین.



شکل ۳ . تغیرات هورمون‌های تیروئیدی خون طی ۲۴ ساعت سازگاری ماهی سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) در آب شیرین.حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد.SW : آب دریا و FW : آب شیرین.



شکل ۴ . تغیرات یون‌های سدیم و کلر خون طی ۲۴ ساعت سازگاری ماهی سی بس آسیایی (*Lates calcarifer*) در آب شیرین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) بین میانگین‌ها می باشد.SW : آب دریا و FW : آب شیرین.

بحث

طی چند سال اخیر، تمایل جهت پرورش ماهی سی بس آسیایی در منابع آب شیرین در ایران افزایش یافته است. با این وجود تاکنون اطلاعات کافی در مورد نحوه سازگاری این گونه در آب شیرین ارائه نشده است. ماهی سی بس آسیایی به عنوان یک گونه یوری هالین قادر به تحمل شوری از ۰گرم/لیتر تا بالای ۳۰ گرم/لیتر (آب دریا) می‌باشد. در این تحقیق، قابلیت سازگاری ماهی سی بس آسیایی در آب شیرین با اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیک تنظیم اسمزی مورد بررسی قرار گرفت.

طبق نتایج، سطوح هورمون کورتیزول تغییر معنی-داری طی ۲۴ ساعت سازگاری با آب شیرین نشان ندادند. هورمون کورتیزول در ماهیان معمولا در پاسخ به استرس و در اثر تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-کلیه ترشح می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997). علاوه براین، مطالعات متعددی این هورمون را به عنوان هورمون تنظیم اسمزی در آب شور معرفی کرده اند (McCormick, 2001). طی سازگاری در آب شور، هورمون کورتیزول با تاثیر بر آبشش موجب افزایش تعداد سلول‌های کلرآید و نیز افزایش فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase و نهایتا دفع یون‌های سدیم و کلر اضافی از بدن ماهی می شود (Foskett *et al*., 1983; McCormick, 2001). در این تحقیق، عدم تغییر در سطوح هورمون کورتیزول می‌تواند ناشی از نقش پایین این هورمون در سازگاری ماهی با آب شیرین باشد. در آب شیرین معمولا هورمون پرولاکتین به عنوان هورمون تنظیم کننده تعادل اسمزی شناخته می‌شود (Manzon, 2002; Sakamoto and McCormick, 2006). علاوه بر این ممکن است که سطوح هورمون کورتیزول طی ۲۴ ساعت سازگاری با آب شیرین به سطوح اولیه خود باز گشته باشد.

در این مطالعه، سطوح هورمون‌های تیروئیدی افزایش معنی‌داری را طی دوره سازگاری در آب شیرین نشان دادند که این موضوع حاکی از نقش کلیدی هورمون‌های تیروئیدی در سازگاری ماهی سی بس در محیط هایپوتونیک (آب شیرین) می‌باشد. در ماهیان استخوانی، هورمون‌های تیروئیدی در طیف وسیعی از فرآیند های فیزیولوژیک شامل رشد، دگردیسی، تولید مثل و تنظیم اسمزی نقش دارند (Yamano, 2005). نقش هورمون‌های تیروئید به خوبی در سازگاری ماهیان در آب شیرین و شور تایید شده است (Peter *et al*., 2000; McCormick, 2001). علاوه بر این، هورمون‌های تیروئیدی به عنوان هورمون-های متابولیک نیز شناخته می شوند که از این لحاظ در مسیرهای تامین انرژی نقش کلیدی دارند (Yamano, 2005). فرآیند تنظیم اسمزی و سازگاری از یک محیط هایپرتونیک (آب شور) به یک محیط هایپوتونیک تحمیل کننده نوعی استرس و نیاز انرژتیک می‌باشد که مشخص شده هورمون‌های تیروئیدی در تامین این نیاز انرژتیک نقش اساسی دارند (Peter *et al*., 2000; McCormick, 2001).

در ماهیان استخوانی، افزایش فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش به عنوان یک سازگاری جهت تنظیم اسمزی در محیط هایپرتونیک به طور گسترده گزارش شده است (Evans *et al*., 1999). در سطح سلول‌های کلرآید ماهی، این آنزیم در کنار کانال Na/K/Cl دفع فعال یون‌های سدیم و کلر را در آب شور برعهده دارد (Evans *et al*., 1999). در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم Na^+/K^+-ATPase آبشش به طور

معنی‌داری طی ۲۴ ساعت سازگاری در آب شیرین افزایش یافت که این افزایش فعالیت می‌تواند جهت سازگاری اسمزی در آب شیرین باشد. در آب شیرین افزایش تعداد سلول‌های کلرآید نوع آلفا و متعاقبا بازجذب سدیم و کلر به عنوان یک استراتوژی جهت جلوگیری از تراوش یون ها به محیط هایپوتونیک شناخته شده است (Perry, 1997).

یون‌های سدیم و کلر به عنوان مهمترین یون‌های تنظیم کننده اسمولالیته مایعات بدن ماهیان استخوانی شناخته می‌شوند (Evans and Claiborne, 2009). در مطالعه حاضر، غلظت یون‌های سدیم و کلر کاهش معنی‌داری را طی ۲۴ ساعت سازگاری در آب شیرین نشان دادند. کاهش این یون‌ها می‌تواند ناشی از خروج آن‌ها در نتیجه شیب غلظت بالا از محیط هایپرتونیک مایعات بدن ماهی به محیط هایپوتونیک آب شیرین باشد. طبق نتایج این تحقیق، بازگشت یون‌ها به سطوح اولیه (در آب شور) طی ۲۴ ساعت مواجه با آب شیرین رخ نداد که این موضوع نشان می دهد که احتمالا مدت زمان سازگاری بیشتری لازم می باشد تا تعادل یونی به طور مطلوب برقرار گردد.

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان دادند که که بچه‌ماهیان سی بس آسیایی توانایی سازگاری با شوک آب شیرین را دارند. با این وجود مدت زمان بیشتری لازم می باشد تا تعادل یونی در خون به طور مطلوب برقرار گردد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Evans, D.H., Claiborne, J.B., 2009. Osmotic and ionic regulation in fishes. Osmotic and ionic regulation: cells and animals, 1: 295-366.
2. Evans, D.H., Piermarini, P.M., Potts, W.T. W., 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. Journal of Experimental Zoology, 283(7): 641-652.
3. Foskett, J.K., Bern, H.A., Machen, T.E., Conner, M., 1983. Chloride cells and the hormonal control of teleost fish osmoregulation. Journal of experimental Biology, 106(1): 255-281.
4. Grey, D.L., 1987. An overview of Lates calcarifer in Australia and Asia. Management of wild and cultured sea bass/barramundi, 15-21.
5. Handy, R.D., Depledge, M.H., 1999. Physiological responses: their measurement and use as environmental biomarkers in ecotoxicology. Ecotoxicology 8, 329–349.
6. Jerry, D. R., 2013. Biology and culture of Asian seabass Lates calcarifer. Boca Raton, United states: CRC Press.15-21
7. Jensen, M.K., Madsen, S.S., Kristiansen, K., 1998. Osmoregulation and salinity effects on the expression and activity of Na+, K+- ATPase in the gills of European sea bass, Dicentrarchus labrax (L.). Journal of Experimental Zoology, 282(3): 290-300.
8. Kandan, S., 2009. Commercialization of Asian seabass, Lates calcarifer as a candidate species for cage culture in India.
9. Manzon, L.A., 2002. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review. General and comparative endocrinology, 125 (2): 291-310.
10. Mathew, G., 2009. Taxonomy, identification and biology of seabass (Lates calcarifer). In: Course manual: National training on cage culture of seabass. Kochi, India: CMFRI & NFDB. 38-43.
11. McCormick, S. D., 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. American zoologist, 41(4): 781-794.

12. McCormick, S.D., 1993. Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na+, K+-ATPase activity. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50(3): 656-658.
13. Perry, S.F., 1997. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. Annual Review of Physiology, 59(1): 325-347.
14. Peter, M.S., Lock, R.A., Bonga, S.E.W., 2000. Evidence for an osmoregulatory role of thyroid hormones in the freshwater Mozambique tilapia Oreochromis mossambicus. General and Comparative Endocrinology, 120(2): 157-167.
15. Sakamoto, T., McCormick, S.D., 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. General and comparative endocrinology, 147(1): 24-30.
16. Varsamos, S., Diaz, J. P., Charmantier, G.U.Y., Flik, G., Blasco, C., Connes, R., 2002. Branchial chloride cells in sea bass (Dicentrarchus labrax) adapted to fresh water, seawater, and doubly concentrated seawater. Journal of Experimental Zoology, 293(1): 12-26.
17. Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. Physiological reviews, 77(3): 591-625.
18. Yamano, K., 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ, 39(3): 161-168.
19. Zaugg, W.S., 1982. A simplified preparation for adenosine triphosphate determination in gill tissue. *Canadian* Journal of *Fisheries* and *Aquatic* Sciences, 39: 215-217.

مروری بر وضعیت و الزامات توسعه پرورش ماهی در قفس در ایران و جهان

عادل حسین‌جانی*[۱]، محمد صیادبورانی[۱]، علیرضا ولی پور[۱]، محدثه احمدنژاد[۱]

۱- پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۷

چکیده

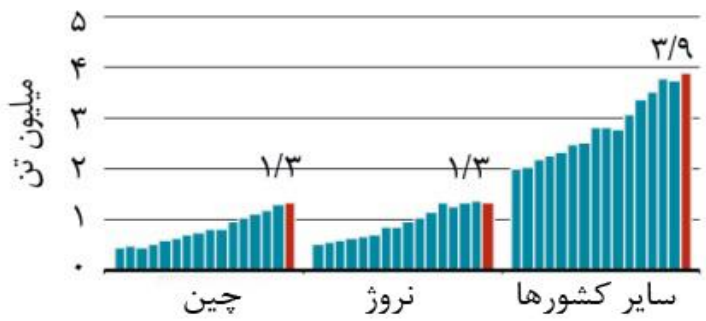
در سالهای اخیر پرورش ماهی در قفس به عنوان یک نوآوری در دنیا معرفی شده است. اگرچه خواستگاه استفاده از این فناوری به دو قرن پیش در آسیا برای نگهداری و حمل ماهیان باز می گردد اما معرفی این روش بعنوان صنعت نوین در آبزی پروری به دهه اواخر دهه هفتاد و اوایل دهه هشتاد میلادی و با پیشگام شدن کشور نروژ صورت گرفته است. امروزه با توجه به افزایش جمعیت، تغییرات اقلیمی در جهان و توجه بیشتر به بهره وری در مصرف آب، توجه در حوزه آبزی پروری به سوی توسعه و استفاده از سیستمهای متراکم بوده است. با توجه به وجود منابع آبی متعدد از قبیل دریاچه ها، مخازن، رودخانه ها و نوار ساحلی، استفاده از فناوریهای موجود در صنعت آبزی پروری در قفس می تواند بخشی از دغدغه های موجود در تولید و توسعه را مرتفع نماید. بر اساس آمار سازمان FAO در سال ۲۰۱۶ پرورش آبزیان در قفس ۳۵ درصد از کل تولید آبزی پروری در جهان را به خود اختصاص داده است. در ایران نیز با توجه به ورود این فناوری و فعالیتهای نوپا در کشور، بر اساس آمار شیلات ایران در سال ۱۳۹۵ مقدار ۱۰۱۶۲ تن ماهی در کشور از این صنعت تولید و گزارش گردیده است که نسبت به تولید کل آبزی پروری در کشور ۲/۲ درصد را به خود اختصاص می دهد. موفقیت و توسعه پرورش ماهی در قفس به عوامل مختلفی بستگی دارد. پایداری اقتصادی یک صنعت نیازمند شناخت موانع، مزایا و معایب پیش روی آن است. توجه به بازار فروش، افزایش سرمایه گذاری بخش خصوصی، مدیریت و نظارت دولت از جمله چالشهای آبزی پروری در این صنعت است که ضروری است در راستای توسعه این صنعت مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پرورش ماهی در قفس، آبزی پروری، ایران.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) Adel_nd@Yahoo.com

مقدمه

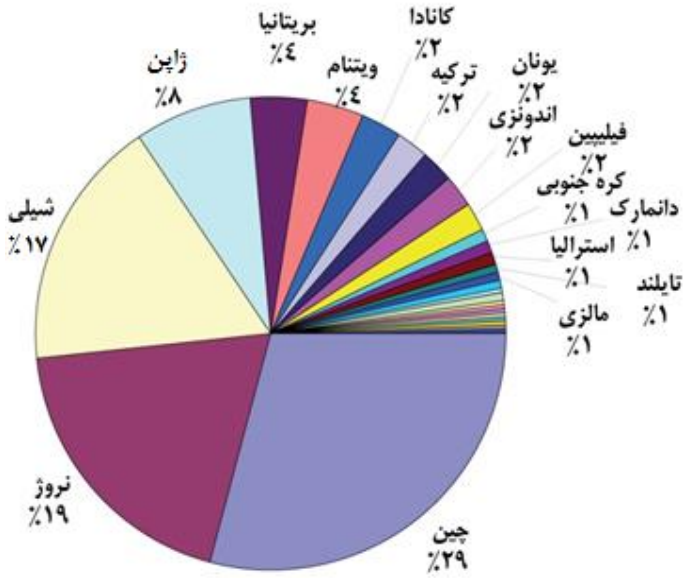
در سالیان اخیر پرورش آبزیان در محیط‌های محصور و قفس نوآوری محسوب می‌گردد. با اینکه تاریخچه استفاده از این فناوری به حدود دو قرن در منطقه جنوب شرقی آسیا می‌رسد اما معرفی تجاری این صنعت توسط محققین و پرورش دهندگان نروژی و در دهه هفتاد میلادی صورت گرفته‌است (Pillay and Kutty, 2005). پرورش ماهی در قفس در دو دهه اخیر به سرعت رشد کرده‌است و با توجه به افزایش جمعیت و تقاضای روزافزون غذا، پیش بینی می‌گردد میزان مصرف آبزیان از ۶۲/۵ میلیون تن در سال ۱۹۹۷ با رشد ۵۷ درصدی به مقدار ۹۸/۶ میلیون تن در سال ۲۰۲۰ افزایش یابد (Delgado *et al.*, 2003). امروزه با توجه به توسعه صنعت آبزی پروری، رویکرد به سوی سیستم‌های پرورش متراکم ماهی رو به افزایش است که این امر با در نظر گرفتن عواملی همچون رقابت در تولید، افزایش بهره‌وری در واحد سطح و گسترش استفاده از مناطق مناسب از جمله دریاچه‌ها، مناطق ساحلی و منابع پشت سد پیشرفت چشمگیری داشته‌است (FAO, 2007). همانگونه که ذکر شد در سالیان اخیر با توجه به قابلیت استقرار و به‌کارگیری قفس‌های پرورش ماهی در مخازن پشت سد، رودخانه‌ها و دریاها و همچنین محدود کردن ماهیان پرورشی در این ساختار، کنترل و برداشت راحت از آن استقبال پرورش دهندگان از این فناوری را به همراه داشته‌است (Kumar & Karnatak, 2014; Beveridge, 2004). اگرچه اطلاعات دقیقی در مورد واحدهای پرورش ماهی در قفس وجود ندارد اما ۶۲ کشور عضو سازمان FAO اطلاعاتی در مورد پرورش ماهی در قفس ارایه داده‌اند که نشانگر فعالیتهای مستقیم ۲۵ کشور و اعلام آمادگی ۳۷ کشور برای برنامه ریزی و فعالیت در این زمینه باتوجه به توانمندی هایشان می باشد (FAO, 2007). بر اساس آمار ۲۸/۷ میلیون تن به ارزش ۶۷/۴ میلیارد دلار از تولیدات آبزیان در سال ۲۰۱۶ به پرورش آبزیان در قفس در جهان اختصاص داشته‌است. در حال حاضر کشورهای چین و نروژ هر یک با تولید ۱/۳ میلیون تن آبزی پروری در قفس‌های دریایی در حدود ۶۶/۷ درصد از کل تولید آبزی پروری در قفس دنیا را تشکیل می‌دهند (FAO, 2018). در این راستا در ایران نیز در برنامه ششم توسعه کشور، پرورش و تولید ۸۰۰ هزار تن آبزیان به ویژه ماهی و میگو هدف‌گذاری گردیده‌است که از این مقدار ۲۰۰ هزار تن به بخش پرورش ماهی در قفس تعلق خواهد داشت (برنامه ششم توسعه، ۱۳۹۵).



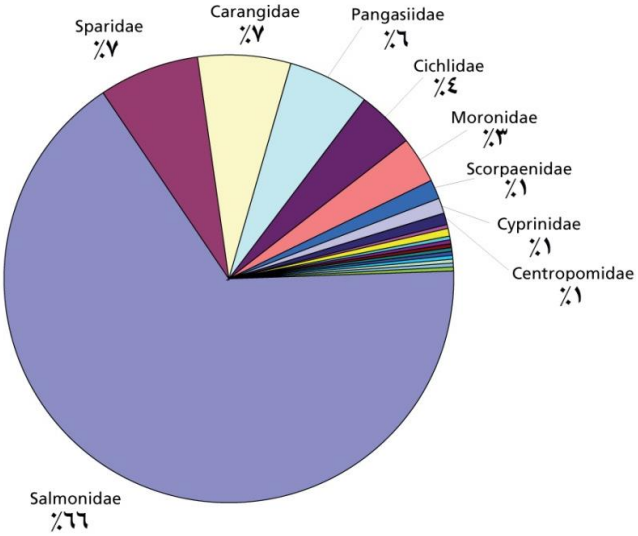
شکل ۱: آمار تولید چین و نروژ در آبزی پروری در قفس‌های دریایی (FAO, 2018).

اولین سوابقی که از شیوه های پرورش آبزیان در قفس ثبت گردیده‌است به اواخر قرن ۱۸۰۰ در آسیای جنوب شرقی و در دریاچه های آب شیرین باز می-گردد. برای مثال از اواخر قرن ۱۹ میلادی در منطقه Great Lake کامبوج از قفس های شناور ساخته شده از نی خیزران برای پرورش ماهی سرماری (*Channa striata*) و گربه ماهی و با تغذیه از مازاد مواد آشپزخانه ها استفاده می‌شد. تعیین دقیق مبدا تحقیقات و پرورش نوین آبزیان در قفس دشواراست اما اعتقاد بر این است که تحقیقات اولیه در این موضوع در دانشگاه Kinki در ژاپن و با پرورش ماهی دم زرد (*Seriola quinqueradiata*) صورت گرفت که منجر به گسترش این صنعت در سراسر جهان و تبدیل آن به یک صنعت مهم شد. براساس سوابق موجود تحقیقات جدی در زمینه پرورش ماهی در قفس توسط دانشگاه‌های آمریکا در سال ۱۹۶۰ آغاز گردید (Halwart *et al.*, 2007; Beveridge, 2004). در اوایل دهه ۶۰ میلادی در کشور نروژ بصورت تجاری از قفس برای پرورش ماهی آزاد اقیانوس اطلس استفاده شد. همچنین از سال ۱۹۶۵ موسسه White fish در اسکاتلند پرورش آزمایشی ماهی آزاد در قفس را آغاز کرد. در حال حاضر، با توجه به محدودیت های فراوان در بهره برداری از منابع آبی و با توجه به توسعه پرورش ماهی در قفس، جایگزینی آن با فعالیت های صیادی در اغلب کشورها آغاز گردیده‌است و در بسیاری از کشورها از پرورش ماهی در قفس جهت استفاده بهینه از منابع آبی و آبگیر ها و دریاچه ها استفاده می‌شود (Woo *et al.*, 2002). سوابق فعالیتهای اولیه در ایران در پرورش ماهی در قفس بصورت ابتدایی به دهه پنجاه خورشیدی در دریاچه پشت سد دز باز می‌گردد. در دهه هفتاد خورشیدی و با استقرار قفس‌های داربستی در خلیج گرگان نیز اقدام به پرورش ماهیان خاویاری و قزل آلای رنگین کمان گردید (Abdolhay *et al.*, 2016). باتوجه به نیازهای کشور به تولید پروتئین و همچنین توسعه صنعت پرورش ماهی در قفس در دنیا طرح امکان سنجی آبزی پروری دریایی توسط مدیران وقت شیلات ایران و با همکاری شرکت نروژی Refa در شمال و جنوب کشور انجام شد (Besharat and Rezvani, 2006). براساس گزارش سازمان جهانی FAO/NACA در سال ۱۳۷۵ در ایران اولین بار ماهیانی از خانواده کپورماهیان، تاس ماهیان و آزاد ماهیان و گونه ماهی آزاد دزیای خزر به روش Cage Culture پرورش یافته‌اند (Rimmer, 2006). پس از وقفه ای چند ساله پیرو تصمیمات مدیران شیلاتی کشور فعالیت-های حرفه‌ای در این زمینه از آغاز دهه نود خورشیدی در استان‌های ساحلی شمال و جنوب کشور انجام گرفت. امروزه پرورش دهندگان ماهی در قفس با نگاهی ویژه به پرورش گونه هایی با ارزش اقتصادی بالا می پردازند که از آن جمله می توان به گونه هایی از خانواده آزادماهیان مانند Atlantic salmon، Coho Salmon، Chinook salmon و همچنین گونه هایی از خانواده ماهیان دریایی مانند Sea bream ژاپنی، Cobia، گونه هایی از ماهیان آب شیرین مانند قزل آلای رنگین کمان اشاره نمود. همچنین در سال‌های اخیر پرورش کپورماهیان چینی، مارماهی و تیلاپیا در قفس‌های مستقر در منابع آبی شیرین از اقبال عمومی خوبی در بین پرورش دهندگان برخوردار بوده‌است و در بسیاری از این موارد همچنان از روش‌های سنتی پرورش ماهی در قفس به ویژه در آسیا جنوب شرقی استفاده می‌گردد (Pillay and Kutty, 2005). در حال

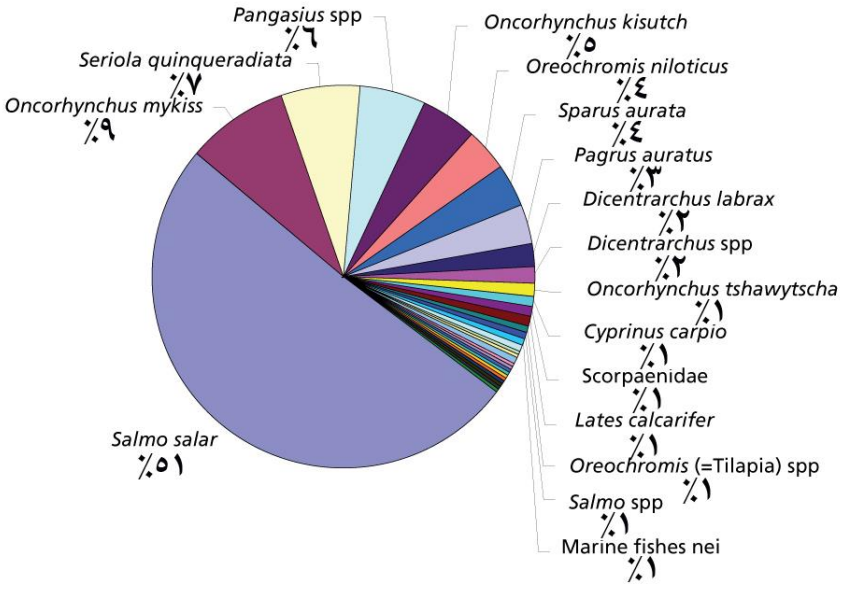
حاضر در دنیا از نظر تنوع ۴۰ خانواده از ماهیان در قفس پرورش داده می‌شوند اما فقط ۵ خانواده Sparidea، Salmonidae، Carangidae، Pangasiidae و Cichlidae بیش از ۹۰ درصد از گونه‌های پرورشی در صنعت پرورش ماهی در قفس را به خود اختصاص می-دهند که از این مقدار ۶۶ درصد از کل تولیدات به خانواده Salmonidae تعلق دارد. گونه *Salmo salar* حدود ۵۱ درصد از کل تولید پرورش ماهی در قفس را تشکیل می‌دهد. چهار گونه مهم دیگر شامل قزل آلای رنگین کمان، Amberjack، Amberjack ژاپنی، Pangasius spp و Coho حدود ۲۱ درصد از کل تولیدات را تشکیل می دهند (FAO, 2018).



شکل۲: کشورهای مطرح پرورش دهنده ماهی در قفس (FAO, 2018).



شکل ۳: مهمترین خانواده های ماهی برای پرورش در قفس در دنیا (FAO, 2018).



شکل ۴: مهمترین گونه های ماهی برای پرورش در قفس در دنیا (FAO, 2018).

همانگونه که ذکر گردید آنچه در توسعه این صنعت در سالیان اخیر اهمیت داشته است توجه پرورش دهندگان به گونه هایی است که از نظر اقتصادی از بازارپسندی ویژه‌ای برخوردار هستند. در این میان آزادماهیان از موفقیت تجاری قابل توجهی برخوردار بوده‌اند (Forster, 2006). عواملی همچون توسعه سیستم‌های پرورش مقرون به صرفه و ساده از لحاظ ساختاری، دسترسی به مناطق ساحلی گسترده ، بازاریابی صحیح، دور ریز و ضایعات کم ماهی آزاد در مقایسه با بسیاری از ماهیان (بیش از ۶۰ درصد ماهی سالمون تبدیل به فیله می‌شود) و واکسیناسیون و سلامت ماهیان مورد استفاده از جمله عواملی است که سبب رشد پرورش ماهی سالمون در دو کشور نروژ و شیلی گردیده‌است (Tacon and Halwart, 2007).

چالش‌های پیش روی صنعت آبزی پروری در قفس در ایران و جهان

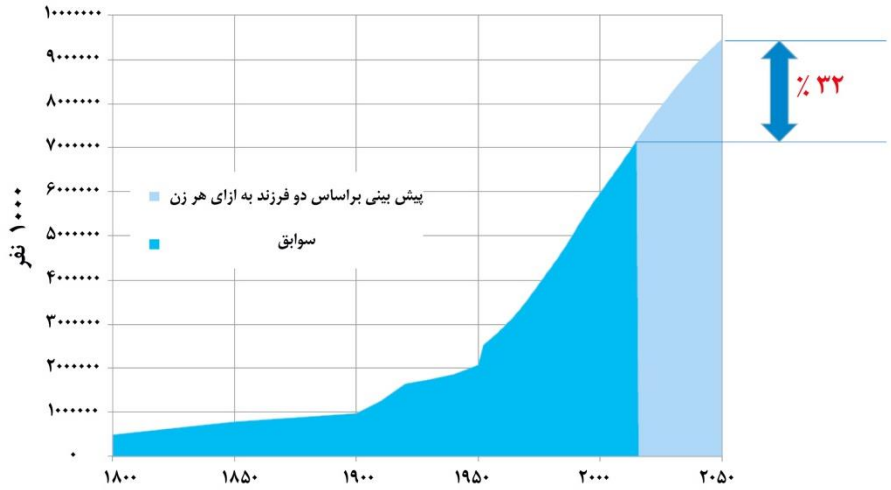
در سالیان اخیر علیرغم استقبال گسترده پرورش-دهندگان و سرمایه‌گذاران حوزه شیلاتی به پرورش ماهی در قفس و همچنین سود مناسب آن، این شیوه با چالش‌های متعددی روبرو بوده‌است. اگرچه در این میان این صنعت با ایجاد فرصت‌های شغلی، افزایش اشتغال زایی و سایر موقعیت‌های اجتماعی، تولید غذای سالم در دسترس، ارز آوری و استفاده بهینه از منابع آبی مزایای فراوانی به همراه داشته است. اما ورود بار آلی ناشی از مواد غذایی خورده نشده و فضولات ماهیان قفس و تاثیرات منفی و مثبت احتمالی بر کیفیت آب و ساختار محیط زیست محل استقرار قفس، انتقال بیماری‌های مشترک بین محیط پرورش و وحشی، جذب و عادت پذیری ماهیان بومی منطقه استقرار قفس به غذای مصرف نشده در اطراف سازه ها و در نتیجه تغییرات رژیم غذایی آنها، عدم دسترسی و تامین بچه ماهی دریایی با شرایط مناسب به منظور ذخیره سازی

در قفس های پرورش، تداخلات ژنتیکی احتمالی جمعیت‌های بومی و وحشی و همچنین تداخل کاربری-ها در سواحل و معابر مشترک با سایر بهره برداران از نوار ساحلی مانند صیادان، کشتیرانی و ... از جمله چالش‌های اساسی صنعت پرورش آبزیان در قفس می باشد که نیازمند توجه و برنامه ریزی های دقیق مدیریتی در این خصوص می باشد (Goodland,1997; Chen *et al*.,2006; Ferguson *et al*., 2007; Asche and Tveteras, 2004; Naylor *et al*., 2005; FAO, 2006; Ottolenghi *et al*., 2007 ; Mente *et al*.,2006;). در ایران پرورش ماهی در قفس علیرغم سابقه ای در حدود نیم قرن همچنان روشی نوپا محسوب می گردد. با وجود ورود رسمی و حرفه ای پرورش دهندگان، با سابقه ای در حدود یک دهه، همچنان نواقص و ابهاماتی در این زمینه وجود دارد. براساس مطالعات اولیه انجام شده تحت عنوان مطالعه چارچوب اصلی توسعه آبزی پروری در قفسهای دریایی در ایران توسط پژوهشگران نروژی در سواحل شمال و جنوب کشور، پتانسیل آبزی پروری در قفس در دریای خزر ۴۴۰ هزار تن و در دریای عمان و خلیج فارس ۴۷۰ تن تعیین گردید (Besharat and Rezvani, 2006). آنچه مسلم است باتوجه به نوپا بودن این روش در کشور جایگاه قابل ملاحظه ای برای ایران در تولیدات پروش ماهی در قفس نمی‌توان متصور بود اما همانگونه که ذکر گردید بدلیل پتانسیل مناسب به منظور توسعه با وجود ۵۸۰۰ کیلومتر خط ساحلی در شمال و جنوب کشور استفاده از این توانایی با نگاهی به توسعه پایدار، برنامه ریزی در این بخش از توسعه آبزی پروری را برجسته می سازد. اما علیرغم پتانسیل های یاد شده مواردی از جمله آلودگی های پتروشیمی بویژه در منطقه خلیج فارس و دریای عمان، کمبود نقدینگی پرورش دهندگان، عدم حمایت بانکی جهت فراهم کردن تسهیلات مورد نیاز، عدم معرفی و دستیابی به گونه مناسب جهت معرفی به قفس در دریا، عدم تعیین استانداردها، عدم آمایش دریا و تعیین مناطق مناسب استقرار قفس‌ها، عدم وجود سازه‌های مناسب با ساختار دریایی به‌ویژه در دریای خزر و همچنین فناوری نوپای تولید تجهیزات پرورش ماهی در قفس در داخل کشور از جمله موانعی است که در توسعه پرورش ماهی در قفس در کشور می توان از آنها نام برد که می‌تواند ریسک سرمایه‌گذاری در این صنعت در کشور را افزایش دهد و نیازمند برنامه های دقیق مدیریتی برای کاهش خسارات احتمالی به سرمایه‌گذاران می‌باشد.

چشم انداز صنعت پرورش ماهی در قفس

براساس پیش بینی سازمان ملل، جمعیت جهان در حد فاصل سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۵۰ میلادی با نرخ رشد ۳۲ درصدی مواجه خواهد بود و این بدین معناست که بشر در سال ۲۰۵۰ با چالش تامین غذا برای جمعیت دنیا مواجه خواهد شد و با شرایط حال حاضر نیاز به افزایش ۶۹ درصدی تولید غذا برای نسل آتی است که این امر با تغییر رژیم غذایی و تولید بیشتر برای جبران این کمبود همراه خواهد بود (World population prospects, 2019). در دهه های اخیر آبزی پروری بخش مهمی از فعالیت‌های کشاورزی در تولید غذا محسوب می‌شود که توجه زیادی از سرمایه گذاران را به خود جلب کرده‌است. آبزی پروری به‌عنوان یک فعالیت در حال رشد کمکی برای پر کردن شکاف تامین ماهی و غذا برای جمعیت رو به رشد جهان و کاهش فشار بر منابع و ذخایر طبیعی محسوب می‌گردد. به طوریکه بر اساس پیش بینی های سازمان فائو این

صنعت می‌تواند از ۴۰ میلیون تن مقدار تامین نیاز پروتیین آبزیان در سال ۲۰۰۸ به رقم ۸۲ میلیون تن در سال ۲۰۵۰ دست یابد (حسین جانی و همکاران، ۱۳۹۶).



شکل ۵: چشم انداز افزایش جمعیت جهان (World population prospects, 2019).

پرورش ماهی در قفس از پتانسیل توسعه ای بالایی برخوردار است. در برخی از کشورهای آسیایی این روش بعنوان آبزی پروری کوچک مقیاس برای بهبود معیشت خانواده های روستایی محسوب می گردد. اما آنچه باید مورد توجه قرار گیرد نحوه مدیریت پرورش ماهی در این روش و رفع اشکالاتی از قبیل کاهش اتلاف انرژی، بهینه سازی غذادهی و استفاده از گونه هایی با ارزش اقتصادی بالا می‌باشد (Halwart *et al.*, 2007). در برخی از کشورها به ویژه در قاره آفریقا رشد این صنعت و پرورش متراکم سبب بروز مشکلاتی در مناطق استقرار قفس های پرورش ماهی گردیده است که حل این مشکل نیازمند تقویت بخش نظارت توسط سازمانهای ذی صلاح است. همچنین توسعه پرورش متراکم در این صنعت و افزایش تولید اگرچه منافع و مزایایی به همراه دارد اما در صورت عدم وجود برنامه ریزی مناسب می تواند منجر به حاشیه راندن پرورش دهندگان و تولیدکنندگان در مقیاس های کوچک گردد (Rana and Telfer, 2006). با توجه به مباحث مطرح شده روشن است این روش در همه جوانب به تکامل بیشتری نیاز دارد و نیازمند استفاده و بهره‌گیری از مناطق عمیق‌تری از دریا به منظور کاهش اثرات زیست محیطی و همچنین آلودگی‌های بصری است (Kapetsky and Aguilar-Manjarrez, 2007; Lisac, 2006). در این راستا استفاده از پرورش آبزیانی که در سطوح مختلف تروفی مانند انواع صدف، جلبکهای دریایی و ... بطور زنجیروار از یکدیگر بهره مند می گردند می‌تواند بخشی از مشکلات احتمالی را کاهش دهد (Ridler *et al.*, 2007; Rimmer, 2006; Whitmarsh *et al.*, 2006).

بحث

آنچه مسلم است توسعه صنعت آبزی پروری در قفس مجموعه ای از سیاستهای سازمانهای دولتی و ذی نفعان است که به عنوان بازیگران درگیر این عرصه و

در تکمیل این فرایند نقش اساسی ایفا می کنند. بنابراین شناسایی دقیق بازیگران در چرخه سیاست‌گزاری و همچنین نقاط قوت و ضعف آن می تواند منجر به آگاهی به ویژه در مبحث بهره برداری چند منظوره از مناطق دریایی گردد. اعمال اصول مدیریتی به منظور بهره برداری از منابع دریایی و تدوین قوانین خاص در این زمینه می تواند عاملی در کاهش ریسک و همچنین توسعه پایدار در صنعت پرورش ماهی در قفس باشد (Pahl-Wostl, 2009). تدوین مقررات و ضوابط مرتبط با پرورش ماهی در قفس از جمله اقدامات ضروری است که باید توسط مراجع ذی صلاح شیلاتی و محیط زیستی کشور صورت گیرد. در برخی از کشورها بدین منظور مقرراتی با توجه به شرایط محیطی و اقلیمی تنظیم و ابلاغ گردیده است که الگوبرداری و بومی-سازی از آن می‌تواند در کشور ما نیز راه‌گشا باشد. برای مثال بر اساس دستورالعمل استاندارد بین المللی شماره ۲۰۰۵/۷ استفاده از قفس پرورش ماهی باید حداکثر در ۱٪ از کل سطح آب منبع آبی صورت گیرد و یا بر اساس قطعنامه شماره ۲۰۰۹/۴۱۳ شورای ملی محیط زیست برزیل حداکثر عمق ساختمان قفس زیر آب نباید از ۱/۷۵ متر بیشتر باشد و محدودیت انتشار فسفر و کلروفیل a در مناطق استقرار قفس ها حداکثر ۳۰ میکروگرم در لیتر تعیین گردیده‌است (Gunkel *et al.*,2015). به عقیده Gunkel و همکاران (۲۰۱۵) برای محاسبه حد ظرفیت و توان مناطق استقرار قفس‌های پرورش باید مواردی از جمله میزان تخلیه پساب‌های ناشی از پرورش، میزان رسوب، عمق تور قفس، فاصله بین قفس‌ها، غلظت مواد مغذی ناشی از پرورش ماهی (فسفر و نیتروژن)، غلظت اکسیژن مورد مطالعه قرارگیرند. برای مثال بر اساس مطالعات داد و همکاران (۱۳۹۸) میزان فراوانی، زی توده و شاخص تنوع گونه ای در محل استقرار قفس‌های پرورش ماهی به مراتب کمتر که می‌تواند به دلیل فعالیت پرورش ماهی و ته نشست مواد غذایی و تأثیر آن بر بستر باشد. همچنین مطالعات کریمیان و همکاران (۱۳۹۶) نشان داد فراوانی و تراکم گونه‌های پلانکتونی در فصول مختلف و با توجه به دوره‌های پرورش متفاوت بوده است. بنابراین برای کاهش آسیب ناشی از بار مواد آلی حاصل از پرورش باید از مواد غذایی با کیفیت و ضریب تبدیل مناسب استفاده گردد. در این میان استفاده از گونه هایی با ضریب رشد بالا و با قابلیت تحمل تغییرات شرایط محیطی از جمله عواملی است که در معرفی گونه برای پرورش ماهی در قفس باید مد نظر قرار گیرد. بر اساس نظر برخی از پژوهشگران از جمله Bezerra و Angelini(۲۰۱۶) به دلیل احتمال اختلاط ژنتیکی و انتقال بیماری تولید گونه‌های بومی توصیه می‌شود و ضروری است به منظور ارتقای سطح بهره‌وری در پرورش گونه‌های بومی پژوهش‌های بنیادی درزمینه به-گزینی و اهلی‌سازی به منظور افزایش سرعت رشد و همچنین تهیه خوراک اختصاصی این گونه ها صورت گیرد به طوری که این امر برای تولید کنندگان سودآور بوده و تولید محصولات غیر بومی نیز متوقف گردد. بر همین اساس توجه به گونه‌های با ارزش و منحصر به‌فرد در کشور با قابلیت ارزآوری مانند ماهی آزاد دریای خزر و تاسماهیان به منظور پرورش در قفس در دریای خزر می تواند در توسعه این صنعت در حوزه شمالی کشور راه گشا باشد. از سویی دیگر محاسبه هزینه ها، ارزیابی مزایا و چالش های مدیریتی و ارزیابی اثرات منفی احتمالی این توسعه نیز باید صورت گیرد. درک عدم قطعیت در مورد استفاده از منابع انرژی تجدیدپذیر

که قابلیت بهره‌برداری چند منظوره را دارند و همیشه از پیچیدگی‌های خاصی برخوردارند به ویژه در فناوری های نوظهور مانند پرورش ماهی در قفس باید با حساسیت بالاتری از سوی مدیران شیلاتی مورد توجه قرار گیرد. فرار ماهیان از محیط محصور پرورش یکی از تهدیدات اصلی برای تنوع زیستی گونه‌های ماهی بومی است. فرارها عمدتا ناشی از حوادث ناشی از خرابی در تجهیزات است و می‌تواند در عملیات مدیریتی مانند ذخیره‌سازی، برداشت و زیست سنجی نیز رخ دهد. این نکات توجه بیشتری از سوی پرورش دهندگان را می‌طلبد، به‌ویژه هنگامی که گونه‌های ذخیره‌سازی شده غیر بومی بوده و یا از نظر ژنتیکی اصلاح شده هستند (Orsi & Agostinho, 1999; Zanatta *et al*., 2010; Azevedo-Santos *et al*., 2011; Pelicice *et al*., 2014). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که گونه های هیبریدی ممکن است بارور باشند و هنگامی که این گونه ها فرار می‌کنند می‌توانند با ماهیان بومی اختلاط نژادی برقرار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی را با مشکل روبرو نمایند (Agostinho *et al*., 2007; Hashimoto *et al*., 2016). از جمله موارد رخ داده در این زمینه می‌توان به مشکلات ناشی از فرار ماهیان تیلاپیا گونه های Oreochromis niloticus و Lates niloticus پرورشی در قفس در دریاچه های Victoria و Kyoga در شرق آفریقا و که منجر به انقراض گونه های بومی و بروز مشکلات اقتصادی و اجتماعی در منطقه شد اشاره نمود (Ogutu-Ohwayo, 1990). از دیگر مواردی که باید مورد توجه قرار گیرد این نکته است که پیش از سرمایه‌گذاری، برآورد ظرفیت تولید در مناطق مورد نظر به منظور پرورش، انتخاب گونه های مناسب و بازارپسند برای پرورش و فناوری مناسب با منطقه نیز باید مورد بررسی کارشناسی صحیح قرارگیرد (Krause and Stead., 2017). یکی از چالش‌های اصلی برای آبزی پروری در قفس، تعیین محدودیت هایی برای استفاده چندگانه از منابع آبی است که تولید پایدار را در طولانی مدت تضمین می‌کند (Garcia *et al*., 2014). عموما سایت‌های پرورش ماهی در قفس برای کارآیی ایمن و دسترسی آسان به مراکز خدماتی از جمله مراکز تامین نهاده ها، ذخیره سازی، صید و انتقال ماهیان و بازار در مناطقی کم عمق و نزدیک به ساحل مستقر می‌گردند (Stickney, 2002). امروزه در کشورهای پیش رو در صنعت آبزی پروری در قفس با مکان‌یابی دریایی و استقرار سیستم‌های انرژی تجدید پذیر مانند توربین‌های بادی، مبدل انرژی امواج و سکوهای شناور اقدام به تجمیع کاربری‌های مختلف و همچنین ساخت تجهیزاتی مانند سیلوهای خوراک ماهی، تجهیزات غذادهی اتوماتیک ، برداشت مکانیزه، فرآوری و بسته بندی محصولات تولید شده از آبزیان و تصفیه فاضلاب در کنار این فعالیت می‌نمایند (Chu et al., 2020). از سویی دیگر باید تعاملات بین المللی به منظور استفاده منطقی و منطبق با توسعه پایدار از منابع آبی مشترک برقرار گردد. مباحث مهمی همچون بازاریابی و صادرات نیز از جمله مواردی است که باید مورد توجه ذی نفعان و برنامه ریزان شیلاتی قرار گیرد (Wever *et al*., 2015). همانگونه که اشاره شد ایران با دارا بودن نوار ساحلی در شمال و جنوب کشور و منابع آبی داخلی همانند دریاچه های پشت سد از توان مناسبی به منظور استفاده از صنعت پرورش ماهی در قفس را دارد اما با توجه به موارد ذکر شده پیرامون چالشها و الزامات پیش و پس از سرمایه گذاری در این

صنعت، ضروری است به منظور پیشگیری از مشکلات احتمالی آتی پژوهشهای بنیادی در این زمینه توسط مدیران و برنامه ریزان شیلاتی صورت گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. قانون برنامه پنج ساله ششم توسعه اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی جمهوری اسلامی ایران (۱۴۰۰-۱۳۹۶).

۲. داد، س.، جعفریان، ح.، فارابی، م.، پاتیمار، ر.، هرسیچ، م. و فرزانه، ا.، ۱۳۹۸. اثرات پرورش ماهی در قفس‌های شناور بر رسوبات بستر و ساختار اجتماعات بزرگ بی‌مهرگان کفزی در جنوب دریای خزر، کلارآباد. مجله توسعه آبزی پروری، ۱۳(۱): ۶۱-۷۷.

۳. حسین‌جانی، ع.، صیادبورانی، م. و سهرابی، ت.، ۱۳۹۶. اهمیت انتخاب مکان مناسب و ظرفیت سنجی در سرمایه گذاری های توسعه آبزی پروری در قفس های دریایی. پنجمین کنفرانس ماهی‌شناسی ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل.

۴. کریمیان، ع.، ذاکری، م.، فارابی، م.، حقی، م. و کوچنین، پ.، ۱۳۹۶. اثر پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در قفس شناور بر ساختار جمعیت زئوپلانکتونی منطقه عباس‌آباد، در جنوب دریای خزر. مجله توسعه آبزی پروری، ۱۱.(۳): ۷۵-۹۴.

5. Abdolhay, H., Pourkazemi, M. and Seyedi Ghomi, M.K., 2016. Briefing Report on rainbow trout culture in cages in the Caspian Sea. Iranian Fisheries Organization. 28 pp.
6. Agostinho, A.A., Gomes, L.C. and Pelicice, F.M., 2007. Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil.
7. Asche, F. and Tveteras, S., 2004. On the relationship between aquaculture and reduction fisheries. Journal of Agricultural Economics, 55(2): 245–265.
8. Azevedo-Santos, V.M.D., Rigolin-Sá, O. and Pelicice, F.M., 2011. Growing, losing or introducing? Cage aquaculture as a vector for the introduction of non-native fish in Furnas Reservoir, Minas Gerais, Brazil. Neotropical Ichthyology, 9(4), pp.915-919.
9. Besharat, K. and Rezvani, S., 2006. "Islamic Republic of Iran." The future of mariculture: a regional approach for responsible development in the Asia-Pacific region. 181.
10. Beveridge, M., 2004. Cage Aquaculture, third edition.Oxford, UK, Blackwell Publishing Ltd. 368 pp.
11. Bezerra, L.A.V. and Angelini, R., 2016. Aquicultura de tilápia no Brasil: produção ilimitada pela ciência. Boletim da Associação Brasileira de Limnologia, 42, pp.17-24.
12. Chen, J., Guang, C., Xu, H., Chen, Z., Xu, P., Yan, X., Wang, Y. & Liu, J., 2016. A review of cage and pen aquaculture: China.
13. Chu, Y.I., Wang, C.M., Park, J.C. and Lader, P.F., 2020. Review of cage and containment tank designs for offshore fish farming. Aquaculture, p.734928.
14. Delgado, C.L., Wada, N., Rosegrant, M.W., Meijer, S. & Ahmed, M., 2003. Fish to 2020: Supply and
15. FAO. 2006b. FAO Statistical Database, FAOSTAT (available at http://faostat.fao.org).
16. FAO. 2006c. Asia-Pacific Fishery Commission Regional Consultative Forum

Meeting, 16-19 August 2006, Kuala Lumpur, Malaysia. Bangkok, FAO Regional Office for Asia and the Pacific.
17. FAO. 2006d. State of World Aquaculture 2006. FAO Technical Paper 500. Rome, FAO. 134 pp.
18. FAO. 2007. Fishstat Plus: Universal software for fishery statistical time series. Aquaculture production:
19. FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
20. Ferguson, A., Fleming, I.A., Hindar, K., Skaala, Ø., Mc Ginnity, P., Cross, T. & Prodöhl, P., 2007. Farm escapes. In E. Verspoor, L. Stradmeyer & J. Nielsen (eds), Atlantic Salmon: Genetics, conservation and management, pp. 367–409. Oxford, Blackwell Publishing Ltd.
21. Forster, J.R., 2006. Paper presented at the Annual Meeting of the Hawaii Aquaculture Association, Hawaii Institute of Marine Biology, Oahu, Hawaii, USA, June 15th, 2006.
22. Garcia, F., Kimpara, J.M., Valenti, W.C. and Ambrosio, L.A., 2014. Emergy assessment of tilapia cage farming in a hydroelectric reservoir. Ecological Engineering, 68, pp.72-79.
23. Goodland, R., 1997. Environmental sustainability in agriculture: diet matters. Ecological Economics, 23:189–200.
24. Gunkel, G., Matta, E., Selge, F., da Silva, G.M.N. and do Carmo Sobral, M., 2015. Carrying capacity limits of net cage aquaculture in Brazilian reservoirs. Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online), (36), pp.128-144.
25. Halwart, M., Soto, D. and Arthur, J.R. (eds.)., 2007. Cage aquaculture – Regional reviews and global overview.FAO Fisheries Technical Paper. No. 498. Rome, FAO. 241 pp.
26. Hashimoto, D.T., Mendonça, F.F., Senhorini, J.A., de Oliveira, C., Foresti, F. and Porto-Foresti, F., 2011. Molecular diagnostic methods for identifying Serrasalmid fish (Pacu, Pirapitinga, and Tambaqui) and their hybrids in the Brazilian aquaculture industry. Aquaculture, 321(1-2), pp.49-53.
27. Kapetsky, J.M. and Aguilar-Manjarrez, J., 2007. Geographic information systems, remote sensing and mapping for the development and management of marine aquaculture (No. 458). Food & Agriculture Org.
28. Krause, G. and Stead, S.M., 2017. Governance and Offshore Aquaculture in Multi-resource Use Settings. In Aquaculture Perspective of Multi-Use Sites in the Open Ocean (pp. 149-162). Springer, Cham.
29. Kumar, V. and Karnatak, G., 2014. Engineering consideration for cage aquaculture. IOSR Journal of Engineering, 4(6), pp.11-18.
30. Lisac, D., 2006. Open-sea farming: operational constraints. In Book of Abstracts, 2nd International Symposium on Cage Aquaculture in Asia (CAA2), 3-8 July 2006, Hangzhou, China, p.63. (Proceedings - in press).
31. Mente, E., Pierce, G.J., Santos, M.B. & Neofitou, C., 2006. Effect of feed and feeding in culture of salmonids on the marine aquatic environment: a synthesis for European aquaculture. Aquaculture International, 14: 499–522.
32. Naylor, R., Hindar, K., Fleming, I.A., Goldburg, R., Williams, S., Volpe, J., Whoriskey, F., Eagle, J., Kelso, D. & Mangel, M., 2005. Fugitive salmon: assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture. BioScience, 55: 427–437.
33. Ogutu-Ohwayo, R., 1990. The decline of the native fishes of lakes Victoria and Kyoga (East Africa) and the impact of introduced species, especially the Nile perch, *Lates niloticus*, and the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Environmental Biology of Fishes, 1990, 27(2): 81-96.
34. Orsi, M.L. and Agostinho, Â.A., 1999. Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, 16(2): 557-560.

35. Ottolenghi, F., Silvestri, C., Giordano, P., Lovatelli, A. & New, M.B., 2004. Capture-based aquaculture: The fattening of eels, groupers, tunas and yellowtails.FAO Rome. 308 pp.
36. Pahl-Wostl, C., 2009. A conceptual framework for analysing adaptive capacity and multi-level learning processes in resource governance regimes. Global Environmental Change, 19: 354–365.
37. Pelicice, F.M., Vitule, J.R.S., Lima Junior, D.P., Orsi, M.L. and Agostinho, A.A., 2014. Serious new threat to Brazilian freshwater ecosystems: the naturalization of nonnative fish by decree. Conservation Letters, 7(1): 55-60.
38. Pillay, T.V.R. & Kutty, M.N., 2005. Aquaculture: Principles and Practices, Second Edition. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, England, 624 pp.
39. Rana, K. & Telfer, T., 2006. Primary drivers for cageculture and their relevance for African cage culture.In M. Halwart and J.F. Moehl (eds). FAO Regional Technical Expert Workshop on Cage Culture in Africa. Entebbe, Uganda, 20–23 October 2004, pp.99–107. FAO Fisheries roceedings. No. 6. FAO Rome. 113 pp.
40. Ridler, N., Barrington, K., Robinson, B., Wowchuk, M., Chopin, T., Robinson, S., Page, F., Reid, G., Szemerda, M., Sewuster, J. & Boyne-Travis, S., 2007. Integrated multitrophic aquaculture: Canadian project combines salmon, mussels, kelps.Global Aquaculture Advocate, 10(2): 52–55.
41. Rimmer, M.A., 2006. Regional review of existing major mariculture species and farming technologies.Paper presented for the FAO/NACA Regional Mariculture Workshop, 7-11 March 2006, Guangdong, China (in press)
42. Rimmer, M.A., 2006. Regional review of existing major mariculture species and farming technologies.Paper presented for the FAO/NACA Regional Mariculture Workshop, 7-11 March 2006, Guangdong, China.
43. Stickney, R.R., 2002. Impacts of cage and net-pen culture on water quality and benthic communities. Aquaculture and the Environment in the United States (Ed. byJ.R.Tomasso), 105–18, US Aquaculture Society, Louisiana.
44. Tacon, A.G. and Halwart, M., 2007. Cage aquaculture: a global overview. FAO Fisheries Technical Paper, 498, p.3.
45. Wever, L., Krause, G., & Buck, B.H., 2015. Lessons from stakeholder dialogues on marine aquaculture in offshore wind farms: Perceived potentials, constraints and research gaps. Marine Policy, 51: 251–259.
46. Whitmarsh, D.J., Cook, E.J. & Black, K.D., 2006. Searching for sustainability in aquaculture: An investigation into the economic prospects for an integrated salmon-mussel production system.Marine Policy, 30: 293–298.
47. Whitmarsh, D.J., Cook, E.J. & Black, K.D. 2006.Searching for sustainability in aquaculture: An investigation into the economic prospects for an integrated salmon-mussel production system. Marine Policy, 30: 293–298.
48. Woo, P.T.K., Bruno, D.W. & Lim, L.H.S. (eds). 2002. Diseases and disorders of finfish in cage culture.
49. Zanatta, A., Langeani, F., Ramos, I., Silva, R. and Carvalhoh, E., 2016. Pisces, Siluriformes, Ictaluridae, Ictalurus punctatus (Rafinesque, 1818): first record in middle Paranapanema river reservoir, aquaculture and exotic species dispersion. Check List, 6(4), 589-591.

اثرات پودرکنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و ایمنی موکوس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinius caroio*)

رقیه صفری*[۱]، محمدرضا ایمانپور[۱]، ولی اله جعفری[۱]، شبنم نژاد مقدم[۱]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
صندوق پستی: ۵۷۴۷۸-۴۹۱۷۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۶

چکیده

در این مطالعه اثر پودر کنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF1) و ایمنی موکوس (ایمنوگلوبولین و آلکالین فسفاتاز) ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور ۱۸۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۲± ۱۲/۵ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم پودر کنسانتره ماءالشعیر (۴ تیمار و ۳ تکرار) تغذیه شدند. در انتهای دوره، RNA از بافت‌های کبد و مغز استخراج، سنتزcDNA با استفاده از کیت Suprime Script RTase انجام و سنجش بیان ژن‌های مرتبط با رشد GH (در بافت مغز) وIGF1 (در بافت کبد) با استفاده از Real Time PCR انجام شد. شاخص‌های ایمنی موکوس (ایمنوگلوبولین و آلکالین فسفاتاز) با استفاده از کیت بررسی شد. بررسی بیان ژن GH موید افزایش معنی‌دار بیان این ژن در ماهیان تغذیه‌شده با پودر کنسانتره ماءالشعیر در مقایسه با تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P<۰/۰۵). میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ایمونو گلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌ها در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعیر به‌طور معنی‌داری بالاتراز تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج این مطالعه، استفاده از پودر کنسانتره ماءالشعیر می‌تواند ایمنی و رشد را در کپور معمولی بهبود دهد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، پودر کنسانتره ماءالشعیر، ایمنی، بیان ژن رشد.

* عهده‌دار مکاتبات (✉): fisheriessafari@yahoo.com

مقدمه

در طی چنددهه گذشته، صنعت آبزی‌پروری دارای سریع‌ترین رشد در بخش تولید مواد غذایی در جهان می‌باشد. تولید ماهی در طول دوره پرورش با عوامل محدودکننده از جمله بیماری‌ها و شرایط نامطلوب روبرو است. باتوجه به این‌که افزایش رشد و بازدهی همراه با پیش‌گیری از بیماری در مزارع آبزی‌پروری یکی از راه‌کارهای مدیریتی است و تغذیه نیز یکی از فاکتورهای اصلی هزینه در آبزی‌پروری می‌باشد (۶۰ تا ۷۰ درصد هزینه‌ی کل تولید)، لذا استفاده از رژیم‌های غذایی مناسب که با بهبود عملکرد رشد و ایمنی بتواند اثرات مطلوب را ایجاد نماید یکی از ضرورت‌ها در بحث مدیریت تغذیه و بهداشتی مزارع پرورشی آبزی‌پروری است. تمایل شدید به حذف آنتی بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به‌علت هزینه بالا، ایجاد مقاومت دارویی، مشکلات زیست محیطی، پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است توجه به محرک‌های ایمنی به‌عنوان جایگزینی برای درمان آنتی بیوتیکی بیشتر مورد توجه واقع گردد (Ardo *et al*., 2008; Liu, 2013;). امروزه تلاش بر این است که مکمل‌های غذایی با منشأ طبیعی نظیر پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، گیاهان و عصاره‌های آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. ماءالشعیر نوشیدنی است که از عصاره جوانه جو بدست می‌آید. غلاتی مانند جو منابع خوبی از بتا گلوکان، آرابینوگزیلان و الیگوساکاریدهایی مثل گالاکتو و فروکتو الیگوساکارید و نشاسته مقاوم هستند که می‌توانند به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل نموده و به‌طور انتخابی رشد لاکتوباسیلوس و بیفیدو باکتریوم حاضر در کولون روده را تحریک نمایند (Devoutly *et al*., 2006; درجانی و ماهونگ، ۱۳۹۰؛ راستی و عزیزی، ۱۳۹۰؛ واحدی امیری و همکاران، ۱۳۹۷و باعثی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین ماءالشعیر به علت دارا بودن مالت و رازک سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف است (Vinson *et al*., 2003). پری‌بیوتیک‌ها پلی‌ساکاریدهای غیرقابل‌هضم‌اند که به‌طور غیرمستقیم و انتخابی با تأثیر بر پروبیوتیک‌ها باعث تغییر فلور باکتریایی مفید و همزیست در دستگاه گوارش ماهی می‌شود و درنتیجه سبب بهبود رشد و سلامتی میزبان می‌گردد (Ringo *et al*., 2014). پودر کنسانتره ماءالشعیر محصولی است که ازخشک نمودن عصاره مالت تولید شده و امروز به‌عنوان مکمل غذایی در جیره غذایی طیور استفاده می‌گردد. مطالعات متعددی در خصوص اثر مثبت ماءالشعیر بر انسان گزارش شده است که می‌توان به بهبود متابولیسم چربی‌ها، پیش‌گیری از استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی که منجر به اثرات حفاظتی در قلب می‌گردد، اشاره نمود (Polak *et al*., 2013; Lourdes *et al*., 2013).

هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین (IGFs)، هورمون اصلی تنظیم کننده رشد حیوانات است. هورمون رشد از غده هیپوفیز می‌تواند با فعالیت مستقیم روی بافت هدف رشد را تحریک کند. گزارش شده است که سطوح IGF1، سطح تغذیه و نرخ رشد باهم در ارتباط می‌باشند (Beckman *et al*., 2004). غده هیپوفیز با ترشح هورمون رشد (GH) موجب تحریک کبد جهت تولید IGF1 با فعال کردن گیرنده‌های GH می‌شود. با این‌حال دست‌کاری جیره‌های غذایی موجب افزایش پاسخ گیرنده‌های GH در بافت کبد می‌شوند. بنابراین می‌توان سطح IGF1 را با تحت‌تأثیر قرار دادن

عوامل و فرایندهای مؤثر بر تولید آن کنترل نمود (Beckman, 2011).

ایمنی موکوسی یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیر اختصاصی می‌باشد و به‌عنوان یک مخزن بیولوژیکی متشکل از مواد فعال و مولکول‌های ایمنی متعدد از جمله لیزوزیم، پروتئین‌ها، ایمنوگلوبین‌ها، آنزیم‌ها، لکتین و غیره می‌باشد و در زمان آسیب بافتی و تهاجم عوامل بیماری‌زا اثرات مستقیمی بر پاتوژن‌ها دارند (Palaksha *et al*., 2008).

مطالعات متنوعی در رابطه با تأثیر جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک بر رشد و تقویت عملکرد ایمنی در گونه‌های مختلف ماهی انجام شده است (Torrecillas *et* al., 2007; Gultepe *et al*., 2010; Ghobadi *et al*., 2013; Sirimanapong *et al*., 2015)، اما تاکنون در زمینه استفاده پودر کنسانتره ماءالشعیر در آبزی‌پروری مطالعه‌ای انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تغذیه‌ای پودر کنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس ماهی کپور معمولی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه، ذخیره‌سازی و تقسیم ماهیان

این مطالعه طی مدت ۶۰ روز و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ۳۶۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۲± ۱۲/۵ گرم از پرورش ماهیان گرمابی در استان گلستان تهیه شدند و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۲٪ ضدعفونی و به‌مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با شرایط پرورش با غذای پایه تغذیه شدند. ماهیان پس از توزین، بطور تصادفی در ۱۲ وان ۴۰۰ لیتری با تراکم ۳۰ قطعه در هر وان (۴ تیمار و ۳ تکرار) توزیع شدند. دمای آب ۲±۲۵درجه سانتی‌گراد، اکسیژن و pH آب به‌ترتیب ۰/۱۵± ۷/۹ میلی‌گرم بر لیتر و۰/۲± ۷ بود.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی

پودر کنسانتره ماءالشعیر از شرکت نیرو مالت خراسان تهیه شد. باتوجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی هر یک از مخازن پرورشی، جیره غذایی حاوی سطوح مختلف از پودر کنسانتره ماءالشعیر با دوزهای ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد، با پودر کردن غذای پایه و افزودن این میزان به غذا، سپس مخلوط به‌هم زده شد تا به‌صورت همگن درآید و سپس با استفاده دستگاه غذاساز به اندازه مورد نظر آماده شده و در مجاورت جریان هوای ملایم که توسط فن ایجاد گردیده بود خشک شد. جیره تهیه‌شده تا زمان استفاده در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. غذادهی در ۳ نوبت بر اساس ۳ درصد وزن بدن انجام می‌شد.

جدول۱: ترکیب و درصد اجزاء جیره تجاری مورد استفاده در تغذیه ماهیان

اجزای جیره	پروتئین خام	چربی	فیبر	خاکستر	رطوبت	فسفر
درصد اجزاء جیره(٪)	۳۲	۸	۶	۱۰	۱۰	۱

نمونه برداری

در پایان دوره نمونه‌برداری از ماهیان مورد آزمایش، هر تیمار و تکرارهای آن (تعداد ۳ نمونه از هر تکرار)، به‌طور تصادفی انجام پذیرفت.

نمونه برداری، استخراج RNA و سنتز cDNA

جهت بررسی میزان بیان ژن مرتبط با رشد (GH و IGF1) در شرایط استریل از بافت‌های مغز و کبد نمونه‌برداری صورت گرفت. ماهیان در زمان نمونه برداری ابتدا توسط پودر گل میخک با دوز ppm ۲۰۰ بیهوش و کشته شدند. سپس بافت‌های مورد نظر جدا شده و داخل تیوپ‌های از قبل استریل‌شده قرار گرفته و بلافاصله تیوپ‌ها به تانک ازت انتقال داده شدند. در پایان نمونه‌برداری نمونه‌ها تا زمان استفاده جهت استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج RNA نمونه‌ها با استفاده از هاون چینی (در داخل هاون مقداری ازت مایع قرار داده شد) کوبیده شدند تا پودر شوند. استخراج RNA با استفاده از کیت Biozol انجام گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ و با الکتروفورز ژل آگاروز سنجیده شد. جهت سنتز cDNA از کیت Suprime Script RTase استفاده شد. cDNA های سنتز شده تا شروع آزمایش‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. واکنش qPCR بعد از بهینه‌سازی دما و مواد مصرفی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از پرایمر qPCR طراحی شده برای ژن‌های مورد نظر و ژن رفرنس بتا اکتین (Safari *et al*., 2016) (جدول ۲) توسط کیت سایبر گرین در دستگاه iQ5 شرکت (BIO-RAD, USA) و با استفاده از نرم‌افزار بایورد iQ5 اپتیکال برای هر نمونه در ۳ تکرار بیولوژیکی و ۳ تکرار تکنیکی انجام شد. از آن‌جایی‌که در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد محصول غیراختصاصی و دایمر مشاهده نشد، این دما به‌عنوان دمای واکنش در نظر گرفته شد.

جدول ۲: توالی آغازگرهای استفاده شده

نام پرایمر	مشخصات پرایمر	کارایی پرایمر	دمای اتصال
GH	Forward: TCTTCGCATCTCTTTTCACC Reverse: AGTCGGCCAGCTTCTCA	٪۹۹	۶۰
IGF1	Forward: GGCATTGGTGTGATGTCTTT Reverse: ATATCCTGTCGGTTTGCTG	٪۹۹	۶۰
B-ctin	Forward: GACATCAGGGTGTCATGGTTGGT Reverse: CTCAAACATGATCTGTGTCAT	٪۹۹	۶۰

جمع‌آوری موکوس

جهت جمع‌آوری موکوس در انتهای دوره، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید. موکوس با استفاده از محلول نمک (مرک آلمان) ۵۰ میلی‌مولار از نمونه‌ها در طی زمان ۳ دقیقه در پلاستیک جمع‌آوری و توسط دستگاه سانتریفیوژ (5810R Eppendorf, Engelsdorf, Germany) با دور ۱۵۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند، سپس مایع سطحی جمع‌آوری و به لوله‌های استریل منتقل شده و جهت انجام آزمایشات بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Subramanian *et al.*, 2007).

سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز

سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت تولید شده توسط شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, Libera S12) در طول موج ۴۱۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه تعیین گردید (Bessey *et al.*, 1946).

اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل

جهت اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل، میزان پروتئین سرم تعیین‌شده و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجدداً توسط روش بردفورد اندازه‌گیری گردید. میزان ایمنوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلایکول محاسبه شد (Siwicki and Anderson, 1993).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده های ژنتیکی

داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ ($\Delta\Delta Ct$) برابر است با ΔCt ژن هدف منهای ΔCt کالیبراتور) آنالیز و سچس توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد تست شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

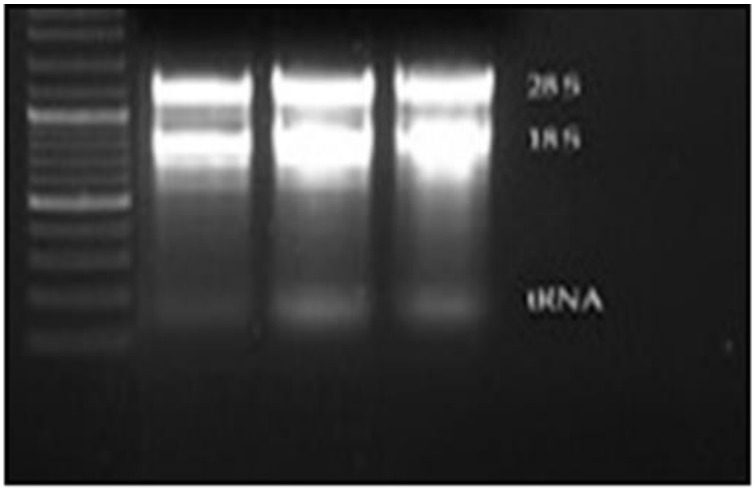
داده های ایمنی

جهت آنالیز داده های ایمنی موکوسی نیز از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد. بدین منظور ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف تست شد و آزمون لون نیز جهت بررسی برابری واریانس‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد.

نتایج

بررسی کیفی و کمی RNA

نتایج کیفی RNA استخراج‌شده از مغز ماهیان کپور معمولی تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر دو باند S ۱۸rRNA و ۲۸S را با وضوح بالا نشان داد (شکل ۱).

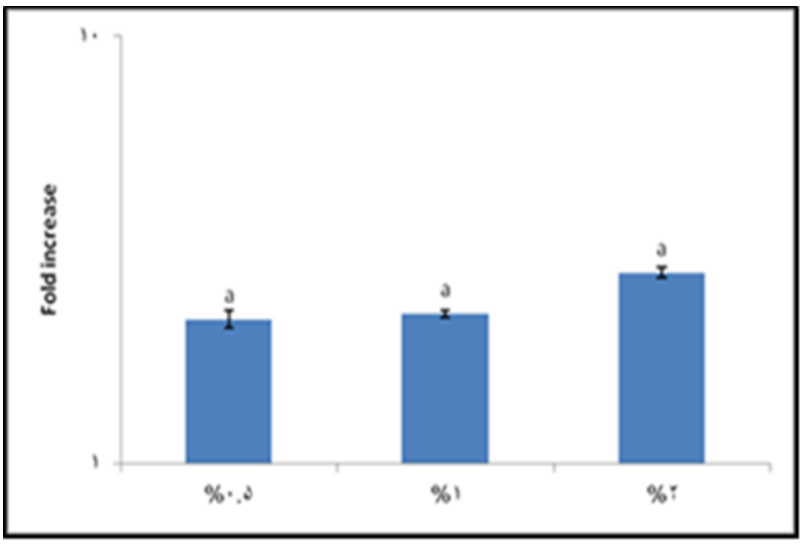


شکل ۱: کیفیت RNA استخراج شده از مغز ماهی کپور روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید. در نمونه‌های استخراج شده دوباند متعلق به ۱۸S rRNA و ۲۸S می‌باشند.

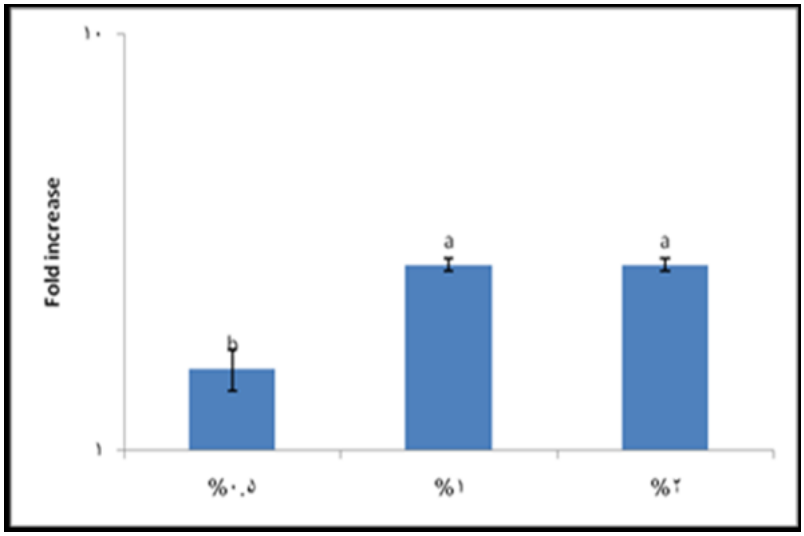
نسبت شدت جذب در نمونه‌های RNA استخراج شده در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۲/۱ –۱/۸ قرار داشت و هم‌چنین میزان جذب در طول موج‌های ۲۳۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ نیز بیانگر قابلیت مناسب RNA در نمونه‌های مورد بررسی بود.

نتایج ارزیابی بیان ژن‌ها

نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF1 و GH) در این تحقیق موید افزایش معنی‌دار بیان ژن GH در ماهیان تغذیه‌شده با پودر کنسانتره ماءالشعیر در مقایسه با تیمار شاهد بود ($P\leq ۰/۰۵$). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P\geq ۰/۰۵$) (شکل ۲ و ۳).



شکل۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با کنسانتره ماءالشعیر. حروف کوچک اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بین تیمارها را نشان می‌دهد.



شکل۳: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با کنسانتره ماءالشعیر. حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها را نشان می‌دهد

ارزیابی شاخص‌های موکوس

میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ایمونو گلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌های تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعیر به‌طور معنی‌داری بالاتراز تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول۳- میزان آلکالین فسفاتاز و ایمونوگلوبولین کل در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر (میانگین± انحراف معیار)

	سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر			
	صفر	۰/۵ درصد	۱ درصد	۲ درصد
آلکالین فسفاتاز قلیایی (IU/I)	۹± ۱ c	۱۱±۲ c	۱۹± ۰/۸ b	۲۴± ۱/۵ a
ایمونوگلوبولین کل	۲۲± ۱/۵ d	۲۵± ۱/۱ c	۳۲± ۱ b	۳۴/۵± ۲ a

بحث

همان‌طورکه در بخش نتایج نشان داده شده است بررسی بیان ژن‌های مرتبط با رشد (GH و IGF1) در مطالعه حاضر نشان داد تغذیه ماهی کپورمعمولی به‌مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی حاوی پودرکنسانتره ماءالشعیرسبب افزایش بیان ژن‌های مذکور در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد شد، هر چند که این میزان افزایش بیان فقط در ژن GH معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد کنسانتره ماءالشعیر به دلیل داشتن گلوکان به‌عنوان یک پری-بیوتیک طبیعی عمل نموده و تأثیر مثبتی بر بیان ژن‌های

رشد در ماهی کپور نشان داده است. اثرات مثبت گلوکان بر رشد و ایمنی آبزیان مشخص‌شده است (Misra *et al.*, 2006؛ Welker *et al.*, 2007؛ روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Kuhlwein *et al.*, 2014). نتایج حاصل از بررسی حاصل با تحقیقات صورت‌گرفته درحیوانات تک‌معده‌ای که پری‌بیوتیک سبب بهبود سطح بیان ژن IGF1 و افزایش رشد می‌گردد مطابقت دارد. Kareem و همکاران (۲۰۱۶) با تجویز خوراکی پری‌بیوتیک اینولین به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، بیشترین میزان بیان ژن (IGF-l) را در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده نمودند. نتایج تحقیقات اکرمی و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید به‌ویژه در سطح ۳ درصد جیره آغازین لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش مقاومت در مقابله با استرس‌های محیطی شد. ماهی سیم دریایی (*Sparus aurat*) تغذیه شده با پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید عملکرد رشد بهتری را نسبت به تیمار شاهد داشتند (Gultepe *et al.*, 2010). Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۲)، از پری‌بیوتیک قارچ (*Inonotus obliquus*) در سطوح ۰/۱ و ۱ درصد در جیره ماهی هامور (*Epinephelus bruneus*) به‌مدت چهار هفته استفاده کردند که باعث افزایش رشد در تیمارهای حاوی قارچ نسبت به گروه شاهد شد. در بررسی Ghobadi و همکاران (۲۰۱۳) اثر مثبت سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شد. Kuhlwein و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند که اضافه کردن بتاگلوکان به جیره کپور معمولی سبب افزایش معنی‌دار رشد نسبت به تیمار شاهد می‌شود.

پژوهش Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثرات مکمل‌های غذایی گالاکتوالیگوساکارید (GOS)، *Pediococcus acidilactici* و ترکیب *P. acidilactici* و GOS بر پاسخ ایمنی ذاتی، مخاط پوست و همچنین مقاومت در برابر بیماری قزل‌آلای رنگین‌کمان حاکی از افزایش قابل توجه پارامترهای پاسخ ایمنی در ایمنی ذاتی و موکوس سطح پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان در سه رژیم غذایی مذکور است. پری‌بیوتیک‌ها ازطریق مکانیسم‌های مختلفی باعث بهبود متابولیسم مواد غذایی و در نتیجه افزایش رشد و همچنین بهبود وضعیت ایمنی در ماهی می‌شوند. یکی از عملکردهای مهم پری‌بیوتیک‌ها در روده میزبان، تولید اسیدهای چرب غیراشباع است که محرک رشد برخی ارگانیزم‌های مفید می‌باشد (Ringo *et al.*, 2014). درواقع پری‌بیوتیک‌ها از طریق تحریک رشد یا فعال کردن گونه‌های باکتریایی مفیدی که در روده وجود دارند سبب بهبود بافت‌های لمفوئیدی در ارتباط با دستگاه گوارش می‌شوند که درنتیجه بهبود وضعیت سلامت میزبان را به‌دنبال دارد (Kiron, 2012)، همچنین افزایش باکتری‌های مفید روده، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی ازجمله آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در دستگاه گوارش می‌شود (Sako *et al.*, 2013؛ مرشدی و همکاران، ۱۳۹۴). ازسوی دیگر استفاده از جیره غذایی حاوی پری‌بیوتیک، افزایش جذب مواد معدنی را نیز به دنبال خواهد داشت (Vazquez *et al.*, 2005) و این موارد خود به معنی افزایش کارایی دستگاه گوارش و درنتیجه بهبود رشد و عملکرد میزبان است. اگرچه اختلافات جزئی در تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی بین ترکیبات پری‌بیوتیکی مختلف ناشی از نوع ترکیب، ساختارو منبع استحصال پری‌بیوتیک وجود

دارد اما احتمالاً از طریق مکانیسم یکسانی می‌توانند بر سیستم ایمنی گونه آبزی اثرگذارند (Zhou *et al.*, 2010).

موکوس به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فعال ایمنی همچون لیزوزیم، پروتئین‌ها، ایمنوگلوبولین‌ها، آنزیم‌ها، لکتین و غیره به‌عنوان یک عامل مؤثر در سیستم ایمنی می‌باشد (Palaksha *et al.*, 2008). نتایج مطالعه حاضر نشان داد به‌کارگیری سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر در جیره ماهی کپور معمولی سبب افزایش معنی‌ادار میزان آلکالین فسفاتاز وایمونوگلوبولین کل موکوس در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد گردید ($P<0/05$). ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی‌بادی-های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم‌شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت فوری و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. تغییر در سطوح ایمونوگلوبولین سرم خون به تبع استفاده از محرک‌های ایمنی گزارش شده است. آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی به‌دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی شناخته می‌شود و نیز در بهبود زخم و عفونت‌های انگلی نقش محافظتی دارد (Subramanian *et al.*, 2007). نتایج حاصل از بررسی Khodadadian Zou و همکاران (۲۰۱۶) بر اثر پری-بیوتیکی پودر قارچ در جیره بر ایمنی موکوس بچه‌ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان فعالیت ایمنوگلوبولین کل موکوس نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی از خود نشان داد. در بررسی عادل و همکاران (۱۳۹۳) افزایش میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز قلیائی و ایمنوگلوبولین موکوس در جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک گروبیوتیک گزارش شد. به‌طوری‌که همزمان با افزایش غلظت پری‌بیوتیک مصرفی میزان این شاخص‌ها نیز روندی افزایشی داشته است. در بررسی اثر پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید در تغذیه ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های ایمنی موکوس ازجمله ایمنوگلوبولین و آلکالین‌فسفاتاز در تیمارهای تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان دادند (Kolangi Miandare, *et al.*, 2016). همچنین نتایج مشابهی در اثر استفاده از مکمل‌های غذایی دیگر مانند پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوس در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Panigrahi *et al.*, 2004) و پروبیوتیک اسیدلاکتیکی کاستروديوم در جیره غذایی ماهی (*Miichthys miiuy*) (Song *et al.*, 2006) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماهی تایگر بارب (*Pentius tetrazona*) (Roosta and Hoseinifar, 2016) گزارش شده است.

باتوجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پودر کنسانتره ماءالشعیر می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد و ایمنی در ماهی کپور شود و شرکت‌های تولید غذای آبزیان می‌توانند جهت بهبود جیره غذایی، از این ماده طبیعی در فرمولاسیون غذایی خود استفاده نمایند.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی شرکت نیرو مالت خراسان انجام شده است و نویسندگان کمال تشکر را ازمدیریت آن شرکت دارند.

منابع

۱. اکرمی، ر.، ابراهیمی، ع.ر.، شاملوفر، م. و رازقی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Wabaum, 1976) در برابر استرس‌های محیطی. نشریه پژوهش‌های ماه شناسی کاربردی، ۲(۳): ۴۲-۲۹.

۲. باعثی، ف.، آبرومند، ع.، ضیائی نژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تاثیر لاکتوباسیلوس‌های تجاری بر پارامترهای رشد، بقا و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۰(۴): ۴۹-۳۹.

۳. درجانی ، پ. و صادقی ماهونگ، ع.ر.، ۱۳۹۰. استفاده از جو و غلات حاوی بتاگلوکان به عنوان غذاهای عملگرا. اولین سمینار ملی امنیت مواد غذایی دانشگاه سوادکوه، ۷-۱.

۴. راستی، ش. و عزیزی، م.ح.، ۱۳۹۰. استخراج بتا-گلوکان جو و تاثیر آن بر برخی خواص رئولوژیکی خمیر گندم. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۶(۴): ۵۸-۵۱.

۵. عادل، م.، صفری، ر.، نعمت‌الهی، ا.، یگانه، س. و احمدوند، ش.، ۱۳۹۳. تاثیر سطوح مختلف پربیوتیک گروبیوتیک بر فعالیت ضد باکتریایی و برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۳): ۱۱۰-۹۹.

۶. مرشدی، و.، آق، ن.، مرمضی، ج.، نوری، ف. و محمدیان، ت.، ۱۳۹۴. بررسی فعالیت‌ها آنزیم‌های گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده بچه‌ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) در پاسخ به سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۸(۴): ۴۷-۳۷.

۷. واحدی امیری، ف.، صفری، ر.، شعبانی، ع.، حسینی‌فر، س. ح. وکلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۷. اثرات به‌کارگیری عصاره هیدروالکلی آنغوزه در جیره بر بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی اکسیدانی و رشد در ماهی گورخری (*Danio* rerio). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲(۱): ۹۸-۸۹.

8. Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Varadi, L., Szigeti, G. & Jeney, Z., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against (*Aeromonas hydrophila*). Aquaculture, 275: 26-33.
9. Beckman, B.R., Shimizu, M.G., Gadberry, B.A., Parkins, P.J. & Cooper, KA., 2004. The effect of temperature change on the relations among plasma IGF-1, 41- kDa IGFBP and growth rate in post smolt coho salmon. Aquaculture, 241: 601–19.
10. Beckman, B.R., 2011. Perspectives on concordant and discordant relations between insulin-like growth factor 1 (IGF1) and growth in fishes. General and Comparative Endocrinology, 170(2): 233–52.
11. Bessey, O.A., Lowry, O.H. & Brock, M.J., 1946. Rapid coloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimeters of serum. Biological Chemistry, 164: 321–329.
12. Devoutly, K., StewartS, H. & Theakston, J.A., 2006. Is beer the drink of choice for women with alcohol use problems? Positive alcohol outcome expectancies as a function of beverage type. Addictive Behaviors, 31(7): 1133-43.
13. Ghobadi, Sh., Amani Denji, K., Akrami, R., Razeghi Mansour, M. & Shoaei, R.,

2013. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition and intestinal microflora in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile. Journal of Development Aquaculture, Islamic Azad University, Lahijan Branch, 7: 73-85.

14. Gultepe, N., Salnur, S., Hossu, B. & Hisar, O., 2010. Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition, 17: 482-487.
15. Harikrishnan, R., Balasundaram, C. & Heo, M.S., 2012. Effect of Inonotus obliquus enriched diet on hematology, immune response and disease protection in kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) against *Vibrio harveyi*. Aquaculture, 344-349, 48-53.
16. Hoseinifar, S.H. & Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Sharifian, M., Esteban, M.A., 2015. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish and Shellfish Immunology, 45: 27-32.
17. Kareem, K.Y., Loh, T.C., Foo, H.L., Akit, H. & Samsudin, A.A., 2016. Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR Mrna expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. BMC Veterinary Research, 12: 163, 1-10.
18. Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Animal Feed Science and Technology, 173: 111–133.
19. Khodadadian Zou, H., Hoseinifar, H. & Kolangi Miandare, H., Hajimoradloo, A.B., 2016. *Agaricus bisporus* powder improved cutaneous mucosal and serum immune parameters and up-regulated intestinal cytokines gene expression in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish and Shellfish Immunology, 1-16.
20. Kolangi Miandare, H., Farvardin, SH., Shabani, A., Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of galacto oligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Fish and shellfish immunology, 55: 479-483.
21. Kuhlwein, H., Merrifield, D., Rawling, M., Foey, A. & Davies, S., 2014. Effects of dietary β- (1,3)(1, 6)- D- glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato- immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of Animal Physiology and animal nutrition, 98: 279-289.
22. Liu, B., 2013. Effects of mannan oligosaccharide on the physiological responses, HSP70 gene expression and disease resistance of Allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) under *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and shellfish immunology, 34(6): 1395-1403.
23. Lourdes, F., Rafael, B., Carmen, G., Cristina, S., Ana Beatriz, R. & Carmen, B., 2013. Effects of beer, Hops (*Humulus lupulus*) on total antioxidant capacity in plasma of stressed subjects. Cell Membranes and Free Radical Research, 5 (1): 232-235.
24. Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. & Pattnaik, P., 2006. Effect of multiple injections of ß-glucan on non-specific immune response and disease resistance in (*Labeo rohita*) fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 20: 305-319.
25. Palaksha, K, J., Shin, G.W., Kim, Y.R. & Jung, T.S., 2008. "Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)," Fish and Shellfish Immunology, 24(4): 479–488.
26. Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, H. & Sugita, H., 2004. Immune responses in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) induced by a potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Veterinary Immunology and Immunopathology, 102: 379-388.

27. Polak, J., Bartoszek, M. & Stanimirova, A., 2013. Study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. Food Chemistry, 141(3): 3042-9.
28. Ringo, E., Dimitroglou, A. & Hosseinifar, S. H., 2014. Prebiotics in Finfish: An Update. Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics. Wiley-Blackwell scientific Publication. 360 pp.
29. Roosta, Z. & Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of Tiger barb (*Pentius tetrazona*). Aquaculture Research, 47: 1682–1686.
30. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Nezhadmoghadam, SH. & Jafar Node, A., 2016. Transciptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula (*Ferula assafoetida*). Fish and Shellfish Immunology, 31: 1-16.
31. Sako, T., Matsumoto, K. & Tanaka, R., 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal, 9: 69–80.
32. Sirimanapong, W., Adams, A., Ooi, E.L., Green, D.M., Nguyen, D.K., Browdy, C.L., Collet, B. & Thompson, K.D., 2015. The effects of feeding immuno stimulant β-glucan on the immune response of *Pangasianodon hypophthalmus*. Fish and Shellfish Immunology, 45: 357-366.
33. Siwicki, A. & Anderson, D., 1993. Nonspecific defence mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and manocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum, Fish Disease diagnostic preservation method. 105-111.
34. Song, Z., Wu, T., Cai, L., Zhang, L. & Zheng, X., 2006. Effects of dietary supplementation with *Clostridium butyricumon* the growth performance and humoral immune response in (*Miichthys miiuy*). Journal of Zhejiang University B, 7(7): 596-602.
35. Subramanian, S., MacKinnon, S.L. & Ross, N.W., 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology B, 148(3): 256–263.
36. Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. & Izquierdo, M.S., 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunology, 23: 969-981.
37. Vazquez, J.A., Gonzalez, M. & Murado, M., 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture, 245: 149-161.
38. Vinson, J.A., Mandarano, M., Hirst, M., Trevithick, J.R.: Bose, P., 2003. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Beers and the effect of two types of beer on an animal model of atherosclerosis. Journal of Food Chemistry, 51: 5528-5533.
39. Welker, T., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. & Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and (*Edwardsiella ictaluri*) challenge in channel catfish, (*Ictalurus punctatus*), fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcompanents. Journal of the World Aquaculture Society, 38(1): 24-35.
40. Zhou, Q.C., Buentello, J.A. & Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 309: 253-257.

مقایسه اثر ضد قارچی محلول هوواسان تی آر ۵۰ (Huwa-San TR-50) با سبز مالاشیت و فرمالین در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان از انکوباسیون تا تفریخ

محمدمیثم صلاح[۱]، سید محمدجلیل ذریه زهرا[۲]، ابوالفضل سپهداری*[۲]، سید عبدالحمید حسینی[۱]، عیسی فلاحت ناصرآباد[۱]، ابوالحسن راستیان نسب[۱]

۱- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۱۹

چکیده

هواسان تی آر – ۵۰ یک ضد عفونی کننده بر پایه پراکسید هیدروژن می باشد . هر لیتر از این ترکیب حاوی ۵۷۰ گرم پراکسید هیدروژن بوده ونظر به ناپایداری این محلول ، یون نقره به عنوان تثبیت کننده به میزان ۰/۳۶ گرم به آن اضافه گردیده است . هدف از این مطالعه بررسی تعیین کارایی این محلول در مهار و کاهش تلفات ناشی از آلودگی قارچی در هچری ماهیان قزل الای رنگین کمان طی دوره انکوباسیون، در مقایسه با سبز مالاشیت و فرمالین بود. برای انجام این کار از ۲۷ تراف کالیفرنیایی در ۹ تیمار و سه تکرار استفاده گردید و در هر تراف تعداد ۷۰۰ عدد تخم لقاح یافته ماهی قزل آلای رنگین کمان ذخیره سازی گردید. . در این بررسی ۵ تیمار با پنج دوز مختلف هوآسان تی آر ۵۰ (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام) ، یک تیمار با مالاشیت گرین با دوز ۲ پی پی ام و یک تیمار با فرمالین با دوز ۱۰۰۰پی پی ام، که به مدت ۳۰ دقیقه از طریق حمام دادن ضد عفونی شدند؛ یک تیمار شاهد مثبت (آلوده به قارچ و بدون درمان دارویی) و یک تیمار شاهد منفی (غیر آلوده به قارچ و بدون درمان دارویی) نیز در نظر گرفته شد. در طول دوره انکوباسیون شرایط برای تمامی تیمارها یکسان بود طی این بررسی مشخص شد . کمترین میزان قارچ زدگی تخم ها در دوز ۳۰۰ پی پی ام هواسان تی ار ۵۰ مشاهده گردید که با تیمارهای مالاشیت و فرمالین ، اختلاف معنی داری از نظر آماری نداشت همچنین بالاترین درصد بازماندگی تخم ها تا مرحله چشم زدگی نیز مربوط به تیمار ۳۰۰ پی پی ام بود که با تمام تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده دوز ۳۰۰ پی پی ام هوواسان مناسب ترین غلظت برای ضد عفونی کردن تخم ها است .

کلمات کلیدی: آلودگی قارچی، ضدعفونی، دوره انکوباسیون، محلول هوواسان، تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) asepahdari@yahoo.com

مقدمه

تولید لاروماهیان با کیفیت لازمه افزایش تولیدات آبزی پروری در مزارع پرورش ماهیان می باشد (Kjorsvik *et al.*, 1990). این امر باعث شده تا حساسیت خاصی به مراحل تولیدمثلی ماهیان مانند رسیدگی جنسی، تخم ریزی و دوره رشد و نمو (از مرحله لقاح تا جذب کیسه زرده) در بین آبزی پروران ایجاد شود، به طوری که تولید لاروهای با کیفیت بالا باعث افزایش تولید و سود اقتصادی پرورش دهندگان ماهی شده است. بیشترین خسارت های اقتصادی در آبزی پروری ناشی از بروز بیماری های باکتریایی و قارچی است (Meyer, 1991). که ضررهای اقتصادی قابل ملاحظه ای را در صنعت تکثیر و پرورش ماهی ایجاد کرده است (Bly *et al*., 1992; Pottinger and Day, 1999). به نحوی که خسارت های ناشی از این بیماری ها در صنعت پرورش آزادماهیان در دنیا، سالانه حدود ده میلیون پوند برآورد شده است (Hussein and Hatai, 2002). محافظت و پیشگیری از عوامل بیماری زا، مهم ترین، آسان ترین و کم هزینه ترین روش جلوگیری از صدمات و ضایعات ناشی از بیماری ها در مراکز تکثیر و پرورش است. بنابراین ضروری است که در تحقیقات شیلاتی توجه ویژه ای به موضوعات بهداشتی در زمینه تولید محصولات سالم و با کیفیت مبذول گردد. تخم ماهی می تواند برای انتقال بیماری از مولدین به نوزادان و بین هچری ها به علت احتمال وجود عوامل بیماری زای فرصت طلب، به عنوان یک ناقل مطرح باشد (Atanasov *et al.*, 2011).

عفونت های قارچی، یکی از رایج ترین عوامل تلفات در ماهیان آب شیرین به ویژه در طول مدت انکوباسیون تخم ها و بچه ماهی ها قبل از جذب کیسه زرده می باشد. در این راستا، مدیریت بهداشتی صحیح، کاهش تراکم، خارج کردن تخم های قارچ زده از تراف ها و ضد عفونی کردن تخم ها از جمله اقدامات پیشگیری کننده اساسی در کنترل عفونت های قارچی در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان می باشند. تأمین آب با کیفیت، یکی از شاخص های مهم در سیستم های پرورش ماهی به روش متراکم است. روش های ضد عفونی نمودن آب جهت کاهش بار میکروبی آب ورودی و یا جلوگیری از شکوفایی میکروارگانیسم های بیماریزا شامل آنتی بیوتیک درمانی، ازن درمانی، فیلتراسیون، و استفاده از اشعه UV است. ولی هر یک از این روش ها معایب خاصی همچون صرف هزینه زیاد، نیاز به دستگاه های پیشرفته، تولید باقی مانده های سمی، ظهور گونه های مقاوم میکروارگانیسم ها و غیره دارند. در عمل هدف از ضد عفونی کاهش عوامل بیماریزا تا سطح قابل قبول و جلوگیری از ازدیاد آنها تا حد بیماریزایی و کنترل ورود عوامل بیماریزا در طی دوران تکثیر و پرورش می باشد. در صنعت تکثیر و پرورش ماهی برای پیشگیری از آلودگی های قارچی در تخم ها در طی دوره انکوباسیون از مواد ضد عفونی کننده متعددی استفاده می شود که از جمله آنها می توان به سبز مالاشیت، فرمالین، آب اکسیژنه یا پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، پرمنگنات پتاسیم، ترکیبات یدوفور و غیره اشاره نمود. یکی از رایج ترین مواد شیمیایی جهت درمان و یا پیشگیری از این عارضه به خصوص در مورد تخم آزاد ماهیان مالاشیت سبز می باشد که به دلیل اثرات مطلوب قارچ کشی آن همواره مورد توجه دست اندرکاران تکثیر و پرورش ماهی در ایران و جهان بوده است (Kitancharoen *et al.*, 1998). Vanwest در سال

۲۰۰۶ مالاشیت گرین را ماده ای سرطانزا معرفی کرد. اداره غذا و دارو در آمریکا (FAD) از سال ۱۹۹۱ میلادی پس از مشخص شدن اثرات سرطانزائی، ناقص الخلقه زایی و تجزیه آهسته آن در طبیعت کاربرد این ماده شیمیایی را برای آبزیانی که مصرف انسانی دارند ممنوع اعلام کرده است (Kitancharoen *et al.*, 1998).

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر ضدعفونی کنندگی ماده هوواسان تی آر۵۰ (یک محصول از نسل جدید ترکیبات ضدعفونی کننده اکولوژیکی تولید شرکت Roam Chemie بلژیک می باشد) در تخم های ماهی قزل آلای رنگین کمان و مقایسه تاثیرات ضد قارچی و میزان کارآیی آن با فرمالین و مالاشیت گرین به انجام رسید . ترکیبات این ماده شامل ۵۰ درصد پراکسید هیدروژن به عنوان ضدعفونی کننده اصلی به همراه یون نقره کلوئیدی (۳۲۰ppm) و به صورت مایع شفاف می باشد.

.

مواد و روشها

طراحی تیمارها: در این تحقیق ۹ تیمار آزمایشی مشتمل بر ۵ تیمار از محلول هواسان تی آر ۵۰ با غلظت های ۵۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm و تیمارهای مالاشیت سبز و فرمالین با دزهای معمول مورد استفاده به ترتیب ۲ و ۱۰۰۰ ppm و با منظور نمودن کنترل های مثبت و منفی طبق اطلاعات مندرج در جدول شماره ۱ اقدام شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

برای ذخیره سازی تخم ها از ترافهای کالیفرنیایی (ابعاد۷۰×۳۵×۲۰cm) استفاده گردید. عمق هر تراف ۲۰cm ، ارتفاع آب روی تخم ۱۰cm و دبی آب ورودی به هر تراف ۴ تا ۶ لیتر در دقیقه بود. تخم سبز ماهی قزل آلای رنگین کمان به تعداد ۷۰۰ عدد به هر تراف انتقال یافت. جهت ارزیابی عملکرد ترکیبات ضد قارچ تحت ازمون از روش حمام به شرح جدول (۱) استفاده شد. میزان آب ترافها در طی ۳۰ دقیقه درمان حدود ۲۵۰ لیتر محاسبه شد.

جدول ۱: داروهای ضدعفونی کننده و دز مصرفی آنها در تیمارهای آزمایشی

ردیف	تیمار	میزان مصرف	مدت زمان
تیمار ۱	محلول هوواسان	۵۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۲	محلول هوواسان	۱۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۳	محلول هوواسان	۲۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۴	محلول هوواسان	۳۰۰ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۵	محلول هوواسان	۵۰۰ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۶	مالاشیت گرین	۲ ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۷	فرمالین	۱۰۰۰ppm	۳۰ دقیقه
تیمار ۸	شاهد مثبت (با آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-
تیمار ۹	شاهد منفی (بدون آلودگی)	بدون هیچ ماده ضد عفونی کننده	-

در طول دوره ۲۰ روزه تا چشم زدگی به منظور ایجاد شرایط یکسان برای تمامی تیمارها خواص فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول، سختی و قلیائیت ، قبل و پس از هر آزمایش اندازه

گیری و ثبت گردید. جهت مواجهه تخم ها با قارچ، ۶ پس از انتقال تخمها به تراف هانسبت به آلوده کردن تخمها با قارچ (۲۰۰۰ عدد نگهداری شده در یک آکواریوم) به مدت ۲ تا ۵ دقیقه اقدام و تعداد تخمهای تلف شده در طول دوره ثبت شدند (به جز تیمار شاهد منفی).

نمونه برداری و جداسازی قارچ ساپرولگنیا از هچری

از آنجایی که استوک این قارچ قابل لیوفیلیز شدن نیست ضروری بود تا نمونه قارچ از تخم¬های قارچ زده جداسازی گردد. بدین منظور از تخم های قارچ زده در مرکز که تحت درمان با ترکیبات ضدقارچی قرار نگرفته بودند نمونه تهیه گردید. در آزمایشگاه نمونه های تخم با آب مقطر استریل شستشو داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۸ درجه سانتیگراد (منطبق با دمای هچری) در ظروف حاوی آب مقطر استریل و آنتی بیوتیک (ممانعت از رشد عوامل باکتریایی همراه با تخم) گرمخانه گذاری گردید. پس از آن نمونه ها مجددا با آب مقطر استریل شستشو داده شده و بصورت تلقیحی در محیط گلوکز یست اکستراکت آگار (YGC) بصورت تلقیحی کشت داده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۱۸ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری گردید. برای خالص سازی پرگنه از حاشیه پرگنه های رشد کرده با استفاده از اسکالپل استریل نمونه برداشته و مجددا پاساژ داده شد و با تهیه لام میکروسکوپی و اطمینان از خلوص پرگنه کشت نهایی انجام و نمونه خالص تهیه گردید (قیاسی، ۱۳۸۷). از نمونه های کشت داده شده جهت ایجاد آلودگی در شاهد مثبت استفاده گردید.

۷۲ ساعت پس از انتقال تخم ها به ترافها تا زمان چشم زدگی ضدعفونی در تیمارهای مختلف به صورت یک روز در میان و برای مدت ۳۰ دقیقه به روش حمام دادن به تعداد ۸ مرتبه در طی ۲۰۰ درجه روز انجام گرفت. تعداد تخمهای تلف شده طی مراحل انکوباسیون قبل از آغاز هر نوبت آزمایش در تیمارهای مختلف شمارش و ثبت گردید. تخم های صدمه دیده و سفید شده از تخم های سالم به روش سیفون کردن جدا گردید.

تعیین درصد چشم زدگی تخم ها: تا زمان چشم زدگی تخم ها، تخم های صدمه دیده و سفید شده از تخم های سالم جدا گردید (به روش سیفون کردن) و نسبت به تمیز کردن سینی ها و تراف ها اقدام شد و تخم ها مجددا به محل قبلی خود جهت تفریخ برگردانده شده. درصد چشم زدگی تخم ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

(۱۰۰ × [(مرگ و میر ابتدایی- تعداد کل تخمها / تعداد تخمهای چشم زده] = درصد چشم زدگی

تعیین درصد تفریخ: حدود ۳۳۰درجه روز پس از لقاح، تفریخ تخم ها صورت گرفت. برای تعیین درصد تفریخ از طریق نمونه برداری و شمارش لاروهای تفریخ بر طبق رابطه زیر اقدام گردید (Geffen and Evans, 2000).

(۱۰۰ × [تعداد تخمهای چشم زده / تعداد تخمهای تفریخ شده] = درصد تفریخ

تعیین درصد ناهنجاری: میزان ناهنجاری لاروها ۱۷ روز پس از تفریخ تخمها یعنی در زمانی که لاروها قادر به شنای عمودی در سینی ها شدند، با استفاده از فرمول ذیل تعیین شد:

(۱۰۰ × [تعداد تخمهای تفریخ شده /لاروهای ناهنجار] = درصد ناهنجاری ها (Arndt *et al*., 2001)

تعیین درصد قارچ زدگی: تعداد توده های قارچ و تعداد تخمها در هر توده به عنوان شاخص شدت آلودگی نیز محاسبه و ثبت گردید که از طریق فرمول ذیل محاسبه گردید:

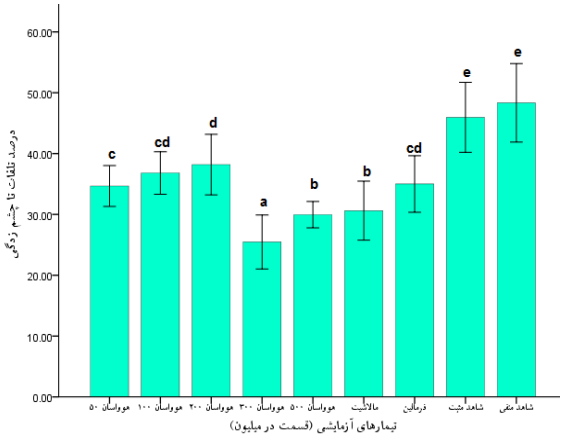
۱۰۰ × [تعداد کل تخمها / تعداد تخمهای قارچ زده] = درصد قارچ زدگی (Barnes *et al*., 1998)

تجزیه و تحلیل آماری:. داده ها توسط برنامه اکسل Excel و با استفاده از نرم افزار SPSS و به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها به وسیله تست چند دامنه دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

درصد تلفات تا چشم زدگی

نتایج درصد تلفات تا مرحله چشم زدگی در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۱ ارائه شده است. بر این اساس کمترین میزان درصد تلفات در زمان چشم زدگی یعنی روز ۲۰ بعد از لقاح، به ترتیب در تیمارهای هوواسان با دوز ppm ۳۰۰ هوواسان ppm ۵۰۰ (۰/۸۷±۲۹/۹۵ درصد) و مالاشیت ppm ۲ (۱/۹۵±۳۰/۶۱ درصد) به دست آمد. همانگونه که در نمودار نشان داده شده است میزان تلفات در تیمار ppm ۳۰۰ از همه تیمارها به صورت معنی داری کمتر می باشد. همچنین بیشترین تلفات نیز به ترتیب در تیمارهای شاهد منفی (۲/۵۹±۴۸/۳۳) و شاهد مثبت (۱۱/۴۱±۴۵/۹۵) مشاهده گردید به نحوی که تیمار شاهد منفی فقط با تیمارشاهد مثبت دارای اختلاف معنی دار نبود و در مقایسه با سایر تیمارها از اختلاف معنی داری برخوردارربود (P>۰/۰۵).



شکل ۱: درصد تلفات تخم چشم زده ماهی قزل الای رنگین کمان در تیمارهای آزمایشی مختلف

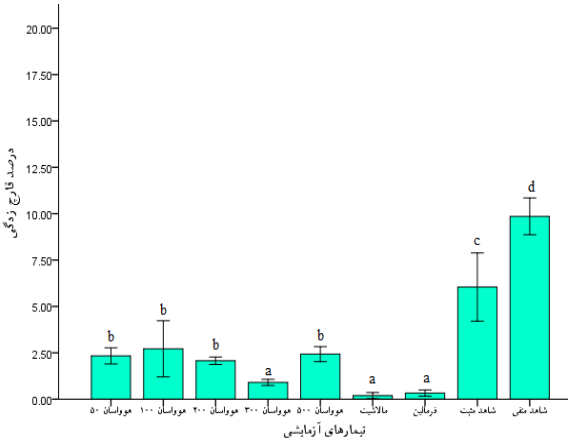
درصد چشم زدگی، تفریخ و ناهنجاری:

نتایج مربوط به درصد چشم زدگی، تفریخ و ناهنجاری لاروها در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می شود، هوواسان ppm۳۰۰ با میانگین ۳/۰۷ ± ۷۴/۵۲ دارای بالاترین درصد چشم زدگی در بین تیمارهای آزمایشی بود(P>۰/۰۵). همچنین بالاترین میزان تفریخ به ترتیب در تیمارهای مالاشیت (۱/۱۷ ± ۹۵/۴۸)، هوواسان ppm۱۰۰ و هوواسان ppm۳۰۰ مشاهده گردید. میزان ناهنجاری نیز در تیمارهای مختلف بین ۰/۶۵ درصد در تیمار هوواسان ppm۵۰ و ۲/۱۲ درصد در تیمار هوواسان ppm۵۰۰ متغیر بوده و اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نگردید.

جدول ۲ : درصد چشم زدگی، درصد تفریخ و درصد ناهنجاری در تیمارهای مختلف آزمایشی (درصد ± انحراف معیار)

ردیف	تیمار	چشم زدگی(میانگین ± انحراف معیار)	تفریخ (میانگین ± انحراف معیار)	ناهنجاری(میانگین ± انحراف معیار)
تیمار ۱	هوواسان ۵۰ ppm	۶۵/۳۳ ± ۱/۳۵^{c}	۸۹/۳۶ ± ۰/۴۴^{a}	**۰/۶۵ ±۰ /۷۵^{a}**
تیمار ۲	هوواسان ۱۰۰ ppm	۶۳/۱۹ ± ۱/۴^{bc}	۹۳/۸۳ ±۱/۳۳^{bc}	**۱/۲۹ ±۱/۲۵^{a}**
تیمار ۳	هوواسان ۲۰۰ ppm	۶۱/۸ ±۲^{b}	۹۰/۷۱ ± ۳/۳۴^{ab}	**۱/۸۸± ۰/۶۱^{a}**
تیمار ۴	هوواسان ۳۰۰ ppm	۷۴/۵۲ ±۱/۷۸^{e}	۹۲/۷۰ ± ۱/۲۹^{abc}	**۱/۰۸ ± /۶۶ ^{a}**
تیمار ۵	هوواسان ۵۰۰ ppm	۷۰/۰۴ ± ۰/۸۷^{d}	۸۹/۶۷±۱/۶۵^{a}	**۲/۱۲±۰/۴۶^{a}**
تیمار ۶	مالاشیت سبز	۶۹/۳۸ ± ۱/۹۵^{d}	۹۵/۴۸ ± ۱/۱۷^{c}	**۱ ± ۰/۱۲^{a}**
تیمار ۷	فرمالین	۶۵/۰۰ ±۱/۸۶^{bc}	۹۲/۵۳ ± ۱/۴۷^{abc}	**۰/۷۹ ± ۰/۲۹ ^{a}**
تیمار ۸	شاهد مثبت(با آلودگی)	۵۴/۰۴ ±۲/۳۱^{a}	۹۰/۹۲ ±۱/۷۳^{ab}	**۰/۹۷ ±۰/۹۴^{a}**
تیمار ۹	**شاهد منفی(بدون آلودگی)**	**۵۱/۶۶ ±۲/۵۹^{a}**	**۹۱/۳۹ ± ۱/۷۸^{ab}**	**۱/۶۲ ± ۰/۶۶^{a}**

درصد قارچ زدگی: محاسبه درصد قارچ زدگی با شمارش تعداد تخم های قارچ زده در طی دوره آزمایش انجام گرفت (شکل ۲). همانگونه که در نمودار ذیل مشاهده می شود، بیشترین درصد قارچ زدگی در بین تیمارها مربوط به تیمار شاهد منفی بود، این در حالی است که کمترین این میزان به ترتیب در تیمارهای مالاشیت(۰/۰۸±۰/۱۹) ، فرمالین(۰/۰۷±۰/۳۳)، هوواسان ۳۰۰ ppm (۰/۰۸±۰/۹) و هوواسان ۲۰۰ ppm (۰/۱±۲/۰۷)گزارش گردید(P>۰/۰۵).



شکل ۲ : درصد تخم های تلف شده در اثر آلودگی قارچی در تیمارهای آزمایشی

بحث

جستجو و به کار بردن داروی مناسبی که ضمن کارایی مطلوب، دارای کم ترین اثرات سمی باشد همواره در جهت مبارزه با بیماری های قارچی از اهمیت بالایی برخوردار بوده است. این مسأله به ویژه در ماهی قزل آلای رنگین کمان که گونه اصلی پرورشی در کشور ما است اهمیتی مضاعف دارد.. به علت دمای پائین آب و همچنین مدت زمان طولانی انکوباسیون، همواره آلودگی قارچی تخمهای لقاح یافته تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان یکی از عمده ترین دلایل تلفات می باشد (Sharifpour *et al.*, 2016). ماده موثر ضدعفونی کننده در ترکیب هواسان پراکسید هیدروژن است. پراکسید هیدروژن به صورت درمان روزانه در کنترل عفونت های قارچی موثر است (Gaikowski *et al.*, 1988; Arndt *et al.*, 2001). پراکسید هیدروژن یکی از مواد شیمیایی امیدبخش در درمان ساپرولگنیا است (Marking *et al.*, 1994; Fitzpatrick *et al.*, 1995; Mitchell and Collins, 1997) و دارای حداقل اثرات بر محیط زیست است. از

این ماده در مان تخم گربه ماهی استفاده شده است (Durborow *et al*., 2003). این ماده در آب به هیدروژن، اکسیژن و آب تجزیه می شود (Marking *et al*., 1994). درمان با دوز ۰/۵ تا ۱ درصد به مدت ۱۵ تا ۶۰ دقیقه منجر به کنترل رشد قارچ ها بر روی تخم های ماهی قزل آلای رنگین کمان شده است (Schreier *et al*., 1996 1996; Barnes *et al*., 1998). محققین مختلف به بررسی اثرات قارچ کشی پراکسید هیدروژن پرداخته اند. میرواقفی و همکاران (۱۳۸۴)، عنوان نموده اند که غلظتی از پراکسید هیدروژن که برای کنترل رشد قارچ بر روی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان در یک کارگاه موثر تشخیص داده می شود، ممکن است بسته به نوع منبع آبی ، خصوصیات شیمیایی آب و تراکم اسپورهای قارچی در کارگاه دیگر متفاوت باشد. این محققین در یک کارگاه دوز ۲۵۰ و در دیگری دوز ۱۰۰۰ را برای کنترل کامل قارچ به دست آوردند که دلیل آن را مرتبط با سختی آب عنوان نموده اند.

در پژوهش حاضر نیز اثرات قارچ کشی ماده هواسان تایید شد. به طوری که در بین تیمارهای هوواسان کمترین میزان قارچ زدگی تخم ها در تیمار هوواسان با دوز ppm۳۰۰، ppm مشاهده گردید که با تیمارهای مالاشیت و فرمالین که سابقاً به عنوان قارچ کشهای قوی مورد استفاده قرار می گرفتند و امروزه به دلیل سرطانزا بوده کاربرد آنها ممنوع شده است، اختلاف معنی داری نشان ندادد. لازم به ذکر است که این پژوهش در شرایط متداول انکوباسیون تخم قزل آلا و با استفاده از تراف های کالیفرنیایی و جریان آب و شرایط معمول انکوباسیون اجرا شد و در نتیجه مشابه روش درمان معمول تخم در شرایط کاری است. در این پژوهش در هر تراف تعداد ۴۰۰۰ عدد تخم قرار داشت در حالی که در شرایط معمول حدود ۲۰۰۰۰ تا ۴۰۰۰۰ عدد است. در نتیجه در این پژوهش فشار و تراکمی که تخم ها در شرایط طبیعی تجربه می کنند در اینجا اعمال نشد. شاید بتوان دلیل توصیه به اجرای کار بر روی تراکم متعارف تخم در تکثیر را در مطالعه Khoshkho و Hemati Matin (۲۰۱۳) نیز مشخص نمود. این محققین در مطالعه خود بر روی اثرات قارچ کشی ماده هواسان بر روی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان به این نتیجه رسیدند که دوز ۷ میلی گرم درلیتر این ماده قابلیت کنترل عفونت قارچی را در تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان ندارد.

یون نقره کلوئیدی دیگر ماده تشکیل دهنده هواسان بود. این ماده یکی از ترکیباتی است که جهت درمان عفونت های باکتریایی و قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان استفاده شده است (soltani *et al*., 2009; Soltani *et al*., 2011) گزارش دادند که با استفاده از ۴ میلی گرم در لیتر یون نقره کلوئیدی (AgNPs) به مدت ۳۰ دقیقه و به صورت روزانه، میانگین درصد تفریخ تخم قزل آلا به ۱/۵±۴۸/۶ درصد رسید و این در حالی بود که گروه شاهد مثبت با تیمار مالاشیت سبز با دوز ۲ میلی گرم در لیتر به مدت ۲۰ دقیقه دارای میانگین درصد تفریخ ۰/۲±۶۴/۷ بود و گروه کنترل منفی بدون استفاده از ماده ضدعفونی کننده ۰/۲±۵/۱ بود.

تاثیر سایر فاکتورها از جمله میزان مواد آلی، کیفیت آب نیز باید مورد نظر قرار گیرد. همانند تمامی مواد شیمیایی دیگر در زمان کار با ماده هواسان باید مسائل بهداشتی و ایمنی کار با این ماده رعایت شود. لازم به ذکر است که غلظت و طول مدت پیشنهاد شده داروهای مورد بررسی در این پژوهش در شرایط ویژه

این آزمایش ارایه شده است و در هر حال برای اطمینان از بی خطر بودن تیمارهای درمانی یک آزمایش اولیه قبل از انجام تیمار دارویی در مقیاس وسیع توصیه می شود؛ چرا که داروهای شیمیایی را نمی توان همیشه با یک معیار به کار برد، زیرا کارایی و سمیت این مواد در حضور مواد آلی و شرایط فیزیکوشیمیایی آب متغیر است (Rach *et al*., 1997).

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. قیاسی، م.، ۱۳۸۷. تعیین الگوی مولکولی و پروتئینی قارچهای آبزی بیماریزا (ساپرولگنیا) جداشده از تخم های آلوده ماهیان خاویاری و استخوانی مراکز تکثیر و پرورش استان مازندران، پایان نامه دکترای تخصصی، دانشگاه تهران. ۱۳۴ صفحه.

2. Arndt, C., Gaill, F. & Felbeck, H., 2001. Anaerobic sulfur metabolism in thiotrophic symbioses. Journal of Experimental Biology, 204: 741-750.
3. Atanasov, A., Rusenova, N., Staykov, Y., Nikolov, G., Pavlov, A., Stratev, D. & Raichev, E., 2011. Chemical surface disinfection of fungal type fish egg incubators. Agricultural science and technology, 3: 21-284.
4. Barnes, M.E., Ewing, D.E., Cordes, R.J. & Young, G.L., 1998. Observations on hydrogen peroxide control of saprolegnia spp. during rainbow trout egg incubation. The Progressive Fish-Culturist, 60(1): 67-70.
5. Bly, J. E., Lowson, L. A., Dale, D. J. & Szalai, A. J., Durborow, R. M. and Clem, L. W. Clem., 1992. Winter Saprolegniasis in channel catfish. Diseases of Aquatic Organisms.13.pp. 155-164.
6. Fitzpatrick, M.S., Schreck, C.B. & Chitwood, R.L., 1995. Evaluation of three candidate fungicides for treatment of adult spring chinook salmon. Prog. Fish Cult. 57:153–155.
7. Gaikowski, M.P., Rach, J.J., Olson, J.J., Ramsay, R.T., & Wolgamood, M., 1998. Toxicity of hydrogen peroxide treatments to rainbow trout eggs. Journal of Aquatic Animal Health, 10: 241–251.
8. Geffen, A.J. & Evans, J.P., 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sexreversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 182: 61–72.
9. Hussein, M.M.A., Hatai, K., 2002. Pathogenicity of Saprolegnia species associated with outbreaks of salmonid saprolegniasis in Japan. Fish Sci, 68: 1067–1072.
10. Khoshkho Zh and Hemati Matin, R. 2013. Efficacy of Medication Therapy to Control of Saprolegniasis on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Eggs. Global Veterinaria, 10 (1): 80-83.
11. Kitancharoen, N., Yamaoto, A. & Hatai, K., 1998. Effect of Sodium Chlorid, Hydrogen peroxide and Malachit green on Fungal infection in Rainbow trout eegs. Biocontrol Science. 3(2): 113-115.
12. Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, 26: 71–113.
13. Marking, L.L, Rach, J.J, & Schreier, T.M., 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. Prog. Fish Cult. 56:225–231.
14. Meyer, F.P., 1991. Aquaculture disease and health management. J. Anim. Sci, 69: 4201-4208.
15. Mitchell, A.J., Collins, C.B., 1997. Review of the therapeutic uses of hydrogen peroxide in fish production. Aquacult. Mag, 23:74–79.
16. Pottinger, T.G. & Day, J.G., 1999. A Saprolegnia parasitica challenge system for rainbow trout: assessment of pyceze as

an anti-fungal agent for both fish and ova. Dis. Aquat. Organ, 36:129–141.
17. Rach, J.J., T.M. Schreier., G.E. Howe & S. D. Redman., 1997. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. Prog. Fish-Cul. 59: 41-46.
18. Schreier T.M., J.J. Rach, & G.E. Howe., 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Aquaculture, 140: 323-331.
19. Sharifpour, I., Kakoolaki, S., Mehrabi, M.R., Gheyasi. & M., Najjar Lashkari, S., 2016. Evaluation of the effects of different concentrations of neutral anolyte on fungal infected eggs in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in comparison with green malachite, Iranian Journal Fisheries Sciences, 15(1): 91-99.
20. Soltani, M., Esfandiary, M., Sajadi, M. M., Khazraeenia, S., Bahonar, A. R. & Ahari, H., 2011. Effect of nanosilver particles on hatchability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg and survival of the produced larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(1): 167-176.
21. Soltani, M., Ghodratnema, M., Ahari, H., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Atee, M., Dastmalchi, F. & Rahman Nia, J., 2009. The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, Streptococcus iniae, Lactococcus garvieae, Yersinia ruckeri and Aeromonas hydrophila. International Journal of Veterinary Research, 3(2): 137-142.
22. Vanwest, P., 2006. Saproleegnia Parasitica, an Oomycete Pathogen With a fishy appetite. New challenges for an old problem. Mycologist, 20: 330-337.

اثر مکمل نمک در جیره غذایی بر تغییر بافت‌های آبشش و کلیه بچه ماهی سفید *Rutilus kutum*

سیدمحمدوحید فارابی*[۱]، عباس متین‌فر[۲]، شهریار بهروزی[۲]، منصور شریفیان[۲]، محمود قانعی تهرانی[۲]

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

۲- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱

چکیده

در این تحقیق از مکمل نمک در خوراک بچه‌ماهیان سفید (حدود یک گرم) در محیط آب شیرین به منظور تأثیر بر آبشش و کلیه برای تحریک سیستم تنظیم اسمزی استفاده گردید. هدف از این تحقیق، افزایش نرخ بقاء بچه ماهیان به هنگام رهاسازی به آب لب‌شور بود. میانگین وزن اولیه بچه ماهیان ۰/۰۱±۰/۹۱ گرم (میانگین±خطای استاندارد) بود. آزمایش در دو مرحله انجام شد. در مرحله یک بچه ماهیان به مدت ۱۵ روز در آب شیرین با غذای تجاری و مکمل نمک کلرید سدیم در ۴ تیمار (تیمار شاهد بدون مکمل نمک، ۵، ۷ و ۱۰ درصد) تغذیه شدند. هر تیمار شامل ۳ تکرار بود. در مرحله دو به آب لب‌شور دریای خزر (۱۲/۵ گرم در هزار) انتقال و به مدت ۲۸ روز با غذای تجاری بدون مکمل نمک تغذیه گردیدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای مرحله یک تغییری در بافت کلیه مشاهده نشد. اما، اختلاف معنی داری بین اندازه گلومرول و لوله های کلیوی بین دو محیط آب شیرین و لب‌شور (بین مرحله یک و دو) مشهود بود ($P<۰/۰۵$). در مرحله یک سلول‌های جانبی آماده تبدیل به سلول کلراید در آبشش در تیمارهای تغذیه شده با مکمل نمکی مشهود بود. در پایان مرحله دو تعداد سلول های کلراید آبشش در تیمار شاهد کمتر از تیمارهای تغذیه شده با مکمل نمک در مرحله یک بود ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که بچه‌ماهیان در تغذیه از مکمل۵ درصد نمک کلرید سدیم در جیره غذایی در مقابل تیمارهای دیگر از نرخ بازماندگی بیشتری برخوردار بودند ($P<۰/۰۵$). بنابراین تغذیه ماهیان سفید انگشت قد در آب شیرین با سطوح پایین مکمل نمک در جیره غذایی سبب تحریک فیزیولوژی و مقاومت ماهی در برابر محیط آب شور می گردد.

کلمات کلیدی: بچه‌ماهیان سفید، مکمل نمک، نرخ بازماندگی، آبشش، کلیه.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) smv_farabi@hotmail.com

مقدمه

ماهی سفید از گروه ماهیان رود کوچ بوده و جهت تکثیر به آب شیرین رودخانه مهاجرت می کند. از آنجا که رودخانه های کرانه جنوبی دریای خزر به واسطه تخریب زیستگاه و آلودگی، توان اکولوژیک لازم برای تامین بچه ماهیان سفید را ندارند (رضوی صیاد، ۱۳۷۴؛ کرباسی و همکاران، ۱۳۸۹؛ امینی رنجبر و هادیان، ۱۳۸۷؛Emadi, 1979). لذا این ماهی در شرایط کنونی، نیازمند حفاظت گردید (عبدلی و نادری، ۱۳۸۷) و تکثیر مصنوعی به عنوان یکی از روش‌های حفظ شرایط موجود می باشد. سالانه میلیون‌ها قطعه بچه‌ماهی حاصل از تکثیر مصنوعی پس از پرورش اولیه به رودخانه‌های حوضه جنوبی دریای خزر رهاسازی می گردند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۴). در سراسر دنیا نیز برنامه هایی برای تولید انبوه ماهیان وحشی در مراکز تکثیر و رهاسازی بچه‌ماهیان به محیط‌های طبیعی جهت افزایش میزان صید تجاری شکل گرفته است (Bell *et al*. 2006). یکی از عمده‌ترین مشکلات در بازسازی ذخایر ماهیان مربوط به تلفات بچه‌ماهیان در زمان رهاسازی از مراکز تکثیر به محیط‌های طبیعی است (Suboski and Templeton, 1989). زیرا بیشترین تلفات بچه‌ماهیان در هنگام ورود به محیط طبیعی اتفاق می‌افتد (Olla *et al*., 1998) و در این راستا بیشترین تلفات مربوط به چند روز اول و یا چند هفته اول، بعد از رهاسازی است (Howell, 1994). ضعف شرایط فیزیولوژی و سازگاری ماهیان حاصل از تکثیر مصنوعی به محیط جدید از مهمترین عوامل مرگ و میر بچه‌ماهیان در مراحل اولیه زندگی است (Munro and Bell, 1997). این عوامل ممکن است از نارسایی غذایی حاصل گردد، همانطور که محیسنی و همکاران (۱۳۹۵) عدم موفقیت بچه ماهیان (نیم گرمی) گرسنه در سازش‌پذیری با آب لب‌شور دریای خزر را نشان دادند. زیرا ظرفیت سازش پذیری ماهیان استخوانی یوری هالین به تغییرات شوری محیط به محتوای انرژی بدن ماهی وابسته است (Sangiao-Alvarellos *et al*., 2005). شوری یکی از عوامل مهم در محیط زیست ماهیان محسوب می گردد و ماهیان در مهاجرت به همراه تغییر شوری محیط نیازمند مکانیسمی جهت سازگاری یا تنظیم اسمزی در شرایط جدید هستند (ستاری، ۱۳۸۱). اگرچه سیستم تنظیم اسمزی در ماهیان با کمک سلول های پوششی معده ای_ روده‌ای[1] و کلیه صورت می‌پذیرد، اما آبشش‌ها مهمترین مکان تبادل و تنظیم یون‌ها می‌باشند (Evans *et al*., 1999). تنظیم فشار اسمزی فرآیند پیچیده‌ای است که بطور همزمان سبب تغییرات بافتی، هورمونی، یونی، آنزیمی و متابولیتی موجودات آبزی می‌شود و نتیجه این تغییرات در میزان تلفات ظاهر می گردد (Evans, 2002). یکی از روش‌های متداول در دنیا برای تحریک سیستم تنظیم اسمزی در بچه‌ماهیان قبل از انتقال به آب شور، تغذیه با استفاده از نمک در جیره غذایی است. بررسی Zaugg و همکاران (۱۹۸۳) نشان داد که در استفاده از جیره نمکی (۷٪ کلرید سدیم، ۵٪ کلرید سدیم و ۲٪ کلرید پتاسیم) در تغذیه بچه‌ماهیان (*Oncorhynchus tshawytscha*) Chinook salmon، به مدت ۲۸ روز، میزان فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase آبشش و میزان بقاء بچه ماهیان تغذیه شده با جیره نمکی در انتقال مستقیم از آب شیرین به آب دریا افزایش داشته است. Pellertier و Besner (۱۹۹۲) در تغذیه از جیره نمکی در ماهی Brook charr (*Salvelinus fontinalis*) نشان

[1] Gastrointestinal epithelium

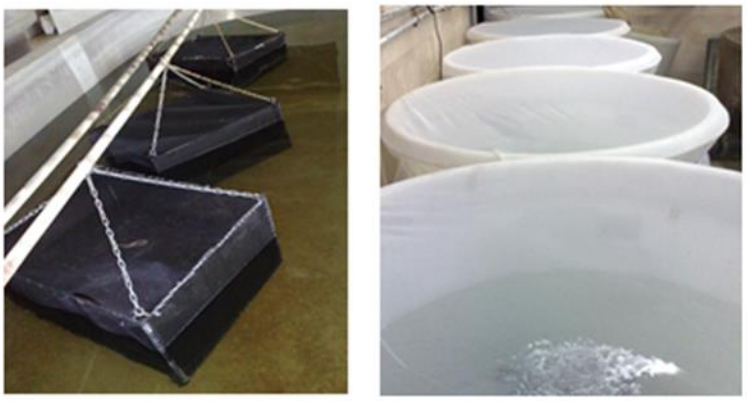
دادند که ٪۸ و ٪۱۲ کلرید سدیم در جیره و تغذیه به‌مدت ۶ هفته و همچنین نگهداری بچه ماهیان به‌مدت ۶ روز در آب لب شور سبب سازگاری بهتر و افزایش بقاء بچه ماهیان ٪۹۰-۲۵ در انتقال از آب شیرین به آب شور دریا شد. Perry و همکاران (۲۰۰۶) در استفاده از جیره نمکی در ماهی بعنوان فریب ماهی در آب شیرین نام بردند، که سبب می‌گردد تا ماهی اندام‌های مربوط به تنظیم اسمزی را فعال نماید. در بررسی پاتولوژی (TEM) و ایمنوهیستولوژی بافت آبشش ماهی قزل آلای رنگین‌کمان نشان داد که درصد سطوح سلول های کلراید (MRC) و فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase در تغذیه ماهیان با ٪۱۱ کلرید سدیم در جیره افزایش یافته است. در نتیجه‌گیری عنوان نمودند که جیره نمکی در محیط آب شیرین سبب آمادگی بچه ماهیان جهت آداپتاسیون با آب شور شده و ساختمان آبشش را تغییر می‌دهد. Santos و همکاران (۲۰۱۴) اثر مکمل نمک کلرید سدیم (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد از وزن خشک جیره اصلی) را بر روی تغییرات بافت آبشش و تنظیم اسمزی بچه ماهی Cobia در آب لب-شور (۵ گرم در لیتر) مورد ارزیابی قرار دادند. بررسی آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم Na+,K+-ATPase در گروه بدون مکمل نمک بیشتر بود و در مقابل تعداد سلول‌های کلراید در گروه استفاده کننده از مکمل نمکی بیشتر بود، به‌طوری‌که در جیره مکمل ٪۱۰ نمک کلرید سدیم تعداد سلول به ۴۱ عدد در میلی‌متر مربع رسید، در صورتی‌که، در گروه بدون استفاده از مکمل نمک ۱۶ عدد در میلی‌متر مربع بود. این فرآیند سبب کاهش مصرف انرژی در جریان تنظیم اسمزی می‌گردد و بر رشد بچه‌ماهیان تأثیرگذار است. Mzengereza و Kang'ombe (۲۰۱۵) اثر مکمل نمک کلرید سدیم (۰، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) را بر رشد، بقاء و تغذیه عملی برای تعیین بازدهی غذا بر بچه‌ماهیان ۱۲/۳۲±۰/۳۴ گرمی گونه *Oreochromis shiranus* (Trewavas, 1941) در مدت ۹۰ روز مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد بیشترین بقاء در گروه بدون مکمل نمکی (۹۷/۷ درصد) و کمترین بقاء در گروه مکمل نمکی ٪۱ (۹۴/۸ درصد) بدست آمد. این مطالعه نشان داد که مکمل نمک کلرید سدیم می‌تواند رشد ماهی را ارتقاء ببخشد و از سوی دیگر مقادیر زیادتر مکمل نمکی کلرید سدیم (٪۲) سبب رشد منفی در این ماهی گردد.

بنابراین، هدف از این پژوهش تحریک و فعال-سازی سیستم تنظیم اسمزی بچه‌ماهیان سفید با استفاده از نمک در جیره غذایی در آب شیرین در قبل از ورود به آب لب شور دریا بوده که سبب کاهش تلفات احتمالی آن‌ها هنگام رهاسازی به محیط طبیعی می-گردد.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهیان از مجتمع تکثیر و پرورش شهید رجایی در فاصله ۱۵ کیلومتری شهرستان ساری در استان مازندران واقع در حوضه جنوبی دریای خزر با دامنه وزنی ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم تهیه و به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال یافت. آب شیرین از رودخانه تجن و آب لب‌شور از دریای خزر تأمین گردید. جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز محیط آزمایش از پمپ هواساز مرکزی استفاده گردید. طی دوره آزمایشات پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب (اکسیژن محلول، pH، دمای آب، شوری و یون آمونیوم) با استفاده از دستگاه دیجیتال (Palintest مدل ۷۵۰۰)

ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها در دو مرحله انجام شد. مرحله یک در مخازن مدور ۳۰۰ لیتری، محتوی ۱۲۰ لیتر آب شیرین و مرحله دو در قفس‌های شناور با حجم ۶۰ لیتر مستقر در مخازن ۱۶ متر مربعی با حجم آبگیری ۸۰۰۰ لیتر(۰/۵×۴×۴ متر) و آب لب‌شور دریای خزر انجام شد (شکل۱). جریان آب در مخازن ۳۰۰ لیتری مدور، ۳ لیتر در دقیقه و در شبانه روز ۵۰ درصد آب آن‌ها تعویض گردید. جریان آب در مخزن ۱۶ متر مربعی ۰/۵ لیتر در ثانیه و در شبانه‌روز حدود ۰/۱۲ آب مخزن تعویض گردید، زیرا به‌ازای هر ماهی حدود ۲۲ لیتر آب در مخزن موجود بود. هر تیمار آزمایشی شامل سه تکرار و در مرحله یک هر تکرار دارای ۶۰ قطعه بچه‌ماهی با تراکم یک قطعه بچه‌ماهی در دو لیتر آب و در مرحله دو به تعداد ۳۰ قطعه در هر قفس بود.



شکل ۱: محیط آزمایش در آب شیرین (راست: وان های ۳۰۰ لیتری) و لب‌شور (چپ: قفس های ۶۰ لیتری در مخزن ۱۶ متر مربعی)

در شروع آزمایش (مرحله یک) پس از انتقال و بیومتری اولیه، بچه ماهیان به‌مدت ۳ روز جهت پذیرش محیط جدید، نگهداری و غذادهی شدند. سپس ۲۴ ساعت قبل از معرفی بچه‌ماهیان به تیمارهای آزمایشی، غذادهی قطع گردید (McKenzi *et al.*, 1999).

در مرحله یک آزمایش بچه‌ماهیان در یک گروه وزنی (۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم) و با تغذیه از چهار سطح مکمل نمک کلرید سدیم در جیره غذایی (۰، ۵، ۷ و ۱۰ درصد جیره پایه) در آب شیرین به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. در ادامه و در مرحله دو بچه‌ماهیان در چهار گروه فوق‌الذکر در آب لب‌شور دریای خزر (شوری ۰/۲۱±۱۲/۵ گرم در هزار) در مدت ۲۸ روز و با تغذیه از جیره پایه، جهت تعیین درصد بازماندگی نگهداری و مورد ارزیابی قرارگرفتند (Zaugg *et al.*, 1983; Perry *et al.*, 2006; Mzengereza and Kang'ombe, 2015).

غذای پودری بچه‌ماهی سفید از غذای متداول مجتمع تکثیر شهید رجائی ساری که در کارخانه غذای دام و آبزیان واقع در شهرستان ساری تولید شده، استفاده گردید. حدود ترکیبات غذا شامل: رطوبت ۱۰ درصد، پروتئین خام[1] ۳۷ درصد، چربی[2] ۱۱ درصد، خاکستر[3] ۱۲ درصد و ازت آزاد[4] ۳۰ درصد و با انرژی ۳۳۰۰ کالری بر کیلوگرم[5] بود.

[1] Crude Protein
[2] EE (Eter Extract)
[3] Ash
[4] NFE(Nitrogen Free Extract)
[5] SFK

جیره نمکی از طریق تهیه محلول نمک در آب و با استفاده از اسپری روی غذای خشک، آماده شد. پس از اسپری محلول نمک روی غذا، غذای حاوی نمک در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. بدین‌ترتیب جیره نمکی در سه نسبت (۵، ۷ و ۱۰ درصد) تهیه گردید.

در مرحله یک بچه‌ماهیان به‌مدت ۱۰ روز به‌تدریج با غذای آزمایشی (بدون نمک و با نمک) تغذیه شدند. به‌طوری‌که جهت حصول تیمارهای آزمایشی ٪۵ نمک: پنج روز غذای بدون نمک و از روز ششم تا دهم هر روز ٪۱ نمک به غذا اضافه گردید. بنابراین، در تیمار ٪۷ نمک: از روز چهارم و در تیمار ٪۱۰ نمک از روز اول تا روز دهم به میزان ٪۱ نمک اضافه شد. سپس از روز دهم به‌مدت ۵ روز تا روز پانزدهم بچه-ماهیان با مکمل نمکی طبق درصدهای نهایی فوق تغذیه گردیدند. جهت کسب انرژی مساوی توسط بچه‌ماهیان از خوراک در تیمارهای آزمایشی، نمک اضافی به درصد جیره پایه افزوده شد (Mzengereza and Kang'ombe, 2015). غذادهی به نسبت ۴ درصد میانگین وزن بدن ماهیان در تیمار یک (شاهد و بدون استفاده از مکمل غذایی) و براساس وزن ماهی تعیین و در دو نوبت صبح و عصر غذادهی بچه‌ماهیان صورت گرفت (جدول. ۱).

در مرحله دو بچه‌ماهیان در ابتدا به مخزن ۱۶متر مربعی حاوی آب شیرین منتقل و بتدریج آب لب شور دریای خزر در طول ۴۸ ساعت افزوده و کاملاً جایگزین آب شیرین گردید (شکل ۱). سپس بچه-ماهیان به‌مدت ۲۸ روز (مرحله دوم) با غذای پایه (بدون مکمل نمک) در آب لب‌شور دریای خزر نگهداری و تغذیه شدند (جدول ۱) و در پایان آزمایش درصد بازماندگی تیمارهای آزمایشی تعیین شد (Ai *et al*., 2006).

جدول۱: معرفی بچه ماهیان سفید در دو مرحله آزمایش (آب شیرین و لب‌شور) در تیمار ها

وزن اولیه (میلی‌گرم)	مراحل آزمایش	شوری آب محیط آزمایش	تغذیه تیمارها	
۸۰۰-۱۰۰۰	مرحله یک	آب شیرین	تیمار۱	تغذیه بدون مکمل نمکی
			تیمار ۲	تغذیه با مکمل نمکی ۵ درصد
			تیمار ۳	تغذیه با مکمل نمکی ۷ درصد
			تیمار ۴	تغذیه با مکمل نمکی ۱۰ درصد
۱/۲۵±۰/۰۱	مرحله دو	آب لب‌شور	تیمار۱ تیمار ۲ تیمار ۳ تیمار ۴	انتقال بچه‌ماهیان با ترکیب مرحله یک آزمایش به مرحله دو آزمایش و تغذیه با غذای پایه (بدون مکمل نمک)

در پایان مرحله یک و دو آزمایش جهت تهیه مقطع و بررسی بافت‌های آبشش و کلیه به‌تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی به‌صورت تصادفی از هر تیمار نمونه-برداری به‌عمل آمد. نمونه به‌طور کامل[1] در فرمالین‌بافر خنثی ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و کاملاً تثبیت گردید (پوستی و مرادی، ۱۳۸۵: پوستی و مروستی، ۱۳۷۸). در ابتدا نمونه های تثبیت شده توسط دستگاه اتوتکنیکال (Shandon مدل ۱۰۰۰ : Citadel ساخت انگلستان) آماده‌سازی و برای قالب‌گیری با پارافین آماده گردید. برش بافت با میکروتوم دوار (Shandon ساخت انگلستان) به ضخامت ۶ میکرومتر به‌عمل آمد و روی لام قرار داده شد. بعد از برش جهت ذوب‌شدن پارافین، به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰ – ۵۴ درجه سانتی‌گراد به داخل آون (Memmert ساخت آلمان) انتقال داده‌شد. سپس به‌روش رنگ-آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی و جهت بررسی‌های میکروسکوپی آماده گردید (پوستی و مرادی، ۱۳۸۵؛ Roberts, 2001؛ Bancroft and Gamble, 2002). قابل ذکر است که از قسمت میانی کلیه مقطع بافتی تهیه شد. سپس سلول-های آبشش و کلیه بچه ماهیان بر اساس بافت شناسی کاربردی (Young and Heath, 2000) و اطلس هیستوپاتولوژی ماهی (Takashima and Hibiya, 2001) مورد بررسی قرار گرفتند. قطر بزرگ گلومرول بر حسب میکرومتر در برش‌های بافتی کلیه میانی بچه-ماهیان در تیمارهای مختلف مرحله یک و دو آزمایش اندازه گیری شد (Charmi *et al*., 2009; Krayushkina *et al*., 1996; Cataldi *et al*., 1995). همچنین اندازه‌گیری قطر سلول‌های کلراید آبششی (بزرگترین قطر) در پایان مرحله یک و دو انجام شد. اندازه‌گیری پس از عکس‌برداری از مقاطع گرفته شده با استفاده از میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی ۴۰۰ (۱۰×۴۰)، با استفاده از نرم افزار: KLONK Image Measurment (12.2.1.8) انجام شد.

در این بررسی از طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل (CRD[2]) استفاده گردید و جهت ثبت اطلاعات و تعیین آمار توصیفی داده ها از نرم‌افزار Excel, 2010 و جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از برنامه آماری Spss (Version.18) استفاده شد. درصد بازماندگی، اندازه و تعداد سلول‌های کلراید آبشش و اندازه گلومرول کلیه تحت آزمون F مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه میانگین پارامتر های مورد سنجش در تیمارهای آزمایشی پس از معنی‌دار بودن، از طریق آزمون دانکن[3] و مقایسه مرحله یک و دو با استفاده از آزمون t در سطح پنج درصد صورت گرفت.

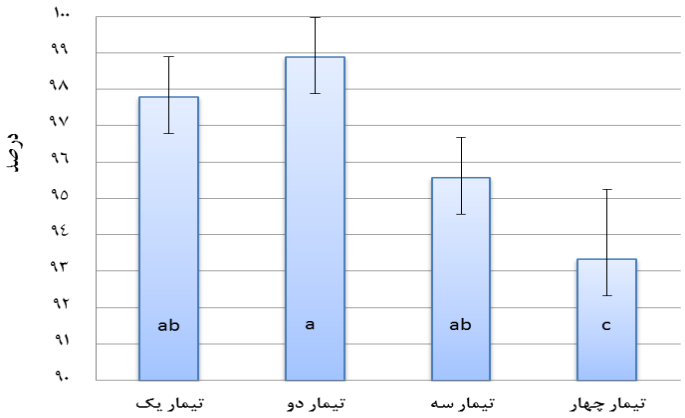
نتایج

تلفات در بچه‌ماهیان سفید در تیمارهای آزمایشی مرحله یک (۱۵ روز اول) مشاهده نشد. نتایج نشان داد که بچه‌ماهیان سفید در استفاده از مکمل نمک در جیره غذایی به‌نسبت ۵، ۷ و ۱۰ درصد مقاوم بودند. در مرحله دو تلفات محدودی در تیمارهای آزمایشی طی ۲۸ روز دوره پرورش رخ داد. در نتیجه درصد بقاء بچه‌ماهیان در تیمارهای آزمایشی طی دوره آزمایش (یک و دو) به‌مدت ۴۳ روز به‌شرح شکل ۲ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین درصد بقاء در تیمار ۲ و کمترین درصد بقاء در تیمار ۴ بدست آمد ($P<0/05$) و سه تیمار ۱، ۲

[1] Whole - body

[2] Complete Random Design
[3] Duncan Test

و ۳ دارای اختلاف معنی داری نبودند(P>۰/۰۵)، (شکل ۲).



شکل ۲. درصد بقاء بچه‌ماهیان سفید در پایان ۴۳ روز تغذیه با مکمل نمکی در آب شیرین و پرورش در آب لب‌شور بدون مکمل نمکی در تیمارهای آزمایشی (خطای استاندارد±میانگین)

(تیمار۱: بدون مکمل نمکی در مرحله یک، تیمار۲، ۳ و ۴: به‌ترتیب استفاده از مکمل نمکی در مرحله یک آزمایش به‌میزان ۵، ۷ و ۱۰ درصد جیره پایه، حروف لاتین نماینده اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است)

بررسی‌ها نشان داد که در بافت کلیه بچه‌ماهیان سفید در هر دو مرحله آزمایش با مکمل نمکی و بدون آن (شاهد)، اکثر فضای کلیوی را توبول‌های مزونفریک احاطه کرده‌اند. همچنین گلومرول نیز در تیمارهای آزمایشی در دو مرحله مشاهده گردید. اما تفاوتی در مقاطع بافتی کلیه در مرحله یک و دو آزمایش بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید و کلیه بچه‌ماهیان سفید تغییری با استفاده از جیره نمکی در این آزمایش نشان نداد، اما تفاوت‌هایی در اندازه گلومرول‌ها و فضای داخلی لوله‌های پروکسیمال و دیستال در مرحله دو آزمایش نسبت به مرحله یک در تمام تیمارهای آزمایشی مشاهده شد (جدول۲)، (شکل۳).

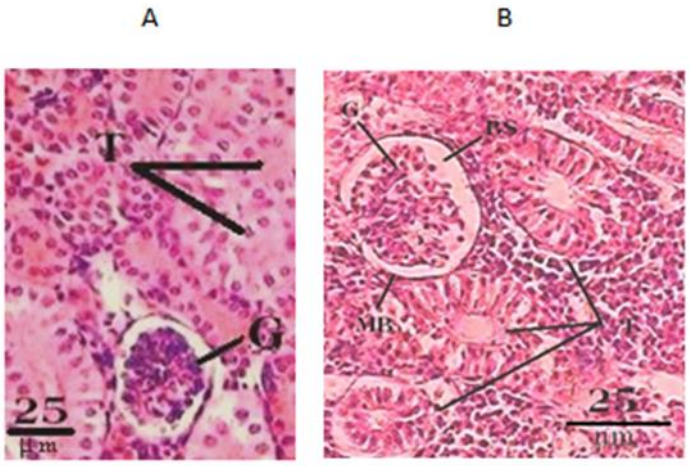
جدول۲: اندازه گلومرول (بر حسب میکرومتر) در برش‌های قسمت میانی کلیه بچه‌ماهیان سفید در آب شیرین و لب‌شور

تیمارهای آزمایشی	آب شیرین			آب لب شور		
	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین
یک	۳۲/۲	۴۳/۵	۳۶/۳±۱/۲۳	۲۵/۴	۳۲/۴	۲۶/۹±۰/۶۴
دو	۳۱/۵	۴۳/۳	۳۶/۱±۱/۱۳	۲۵/۳	۳۲/۶	۲۶/۶±۰/۶۹
سه	۳۱/۶	۴۲/۷	۳۶/۱±۱/۰	۲۴/۴	۳۳/۷	۲۷/۱±۰/۹۵
چهار	۳۱/۱	۴۲/۸	۳۶/۱±۱/۰۳	۲۳/۹	۳۱/۳	۲۶/۵±۰/۷۱

✹آب شیرین: تیمار یک بدون تغذیه از مکمل نمکی و تیمار دو، سه و چهار با استفاده از مکمل نمکی بترتیب به‌مقدار ۵، ۷ و ۱۰ درصد غذا به مدت ۱۵ روز، آب لب شور دریای خزر: تغذیه بدون مکمل نمکی به مدت ۲۸ روز

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین اندازه گلومرول بافت کلیه در تیمارها در آب شیرین و همچنین در آب شور وجود نداشت (P>۰/۰۵). اما بین اندازه گلومرول در مرحله یک (آب شیرین) و مرحله دو (آب لب‌شور) تحت آزمون t اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد وجود داشت (P<۰/۰۵).

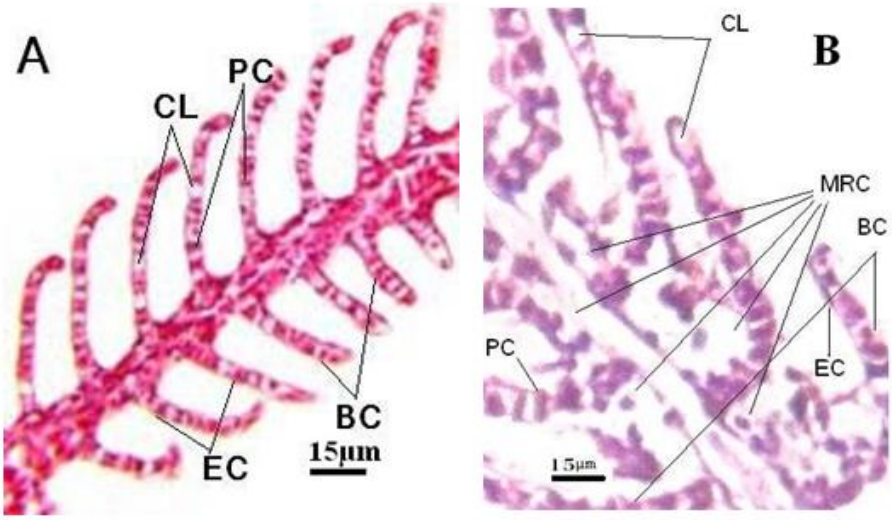
همچنین در هر چهار تیمار در مرحله دو آزمایش افزایش اندازه لوله‌های کلیه و فضای داخلی آن‌ها در آب لب‌شور نسبت به آب شیرین مشهود بود.



شکل ۳: مقطع میکروسکوپی بافت کلیه بچه‌ماهی سفید در آب شیرین (A: مرحله یک، ۱/۲۵ گرم) و پس از ۲۸ روز پرورش در آب لب‌شور دریای خزر با شوری ۱۲/۵ گرم در هزار (B: مرحله دو، ۲ گرم)
(تثبیت شده در فرمالین و رنگ‌آمیزی به‌روش هماتوکسلین ائوزین، بزرگ نمائی ۴۰۰x)
گلومرول (G: Glomerulus)، توبول (T: Tubules)، فضای بومن (BS: Bowmans Space)، جسم مالپیگی (MB: Malpighian Body)

سلول‌های کلراید (MRC[1]) در بافت آبشش بچه ماهیان سفید در آب‌شیرین و لب‌شور، مشاهده گردید و تیغه های ثانویه غیرطبیعی در تیمارهای آزمایشی مشهود نبود. همچنین سلول‌های کلراید در بخش پایه تیغه‌های ثانویه مشاهده شدند (شکل۴). در ماهیان تغذیه شده با مکمل نمکی در آب شیرین، در بافت آبشش برآمدگی‌هایی حاصل از سلول‌های آماده[2] تبدیل به سلول‌های کلراید وجود داشت، به‌طوری‌که در تیمار چهار بزرگترین قطر برآمدگی و در تیمار یک کوچکترین قطر برآمدگی ($P<0/05$) مشاهده گردید و اندازه این برآمدگی‌ها در تیمارهای دو و سه نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ($P>0/05$). اندازه سلول کلراید در آب لب‌شور در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری نبود ($P>0/05$). همچنین تعداد سلول‌های کلراید در گروه های تغذیه شده با مکمل نمکی (تیمارهای دو، سه و چهار) بیشتر بود، به‌طوری‌که میانگین تعداد سلول‌های کلراید در این گروه ۴۸۴۶ عدد در میلی‌متر مربع و درصورتی‌که در گروه شاهد ۳۵۰۰ عدد در میلی‌متر مربع بود. این فرآیند سبب تنظیم بهتر اسمزی در ماهیان می‌گردد (جدول ۴).

[1] MRC: Mitochondria-Rich Cells
[2] Accessory cells



شکل۴: مقطع میکروسکوپی بافت آبشش بچه ماهی سفید (۲گرمی) در آب شیرین (**A**) و لب‌شور (**B**) ۱۲/۵ گرم در هزار (رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین ائوزین)

سلول پیلار (PC: Pillar Cell)، سلول اپیتلیال (EC: Epithelial Cell)، سلول خونی (BC: Blood Cell)، سلول میتوکندری (MRC: Mitochondria-Rich Cell)، حفره باریک (CL: Capillary Lumen)

جدول ۳: اندازه و تعداد سلول و بر آمدگی سلولی کلراید آبشش بچه‌ماهیان سفید در آب شیرین و آب لب شور (در آب شیرین تیمار یک بدون تغذیه از مکمل نمکی و تیمار دو، سه و چهار با استفاده از مکمل نمکی کلرید سدیم به‌ترتیب به مقدار ۵، ۷ و ۱۰ درصد غذا و تغذیه در آب لب‌شور بدون مکمل نمکی)

شرح	تیمارهای آزمایشی	آب شیرین (بر آمدگی سلولی)	آب لب‌شور (سلول)
اندازه (میکرومتر)	یک	۵/۴۴±۰/۰۶ c	۸/۰۱±۰/۱۱ a
	دو	۶/۴۷±۰/۰۶ ab	۸/۰۵±۰/۱۰ a
	سه	۶/۵۶±۰/۰۶ ab	۸/۰۶±۰/۱۰ a
	چهار	۶/۸۴±۰/۰۷ a	۸/۰۷±۰/۱۰ a
تعداد (در میلی‌متر مربع)	یک	–	۳۵۰۰±۱۴۸ b
	دو	–	۴۸۶۰±۱۸۰ a
	سه	–	۴۸۰۰±۱۶۴ a
	چهار	–	۴۸۸۰±۱۶۶ a

✹حروف لاتین در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها تحت آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد

بحث

به‌طور کلی، با ورود ماهی از آب‌شیرین به آب‌شور تغییراتی در سیستم تنظیم یونی- اسمزی ماهیان رود کوچ بوجود می‌آید. این فرآیند سبب تغییر حالت از هایپراسموتیک (در آب شیرین) به‌حالت هیپواسموتیک (در آب شور) در ماهی می‌گردد (Hwang *et al.*, 2007). همچنین در عرصه تعادل با محیط جدید، علاوه بر دخالت پیام‌های عصبی و هورمونی، ماهیان نیازمند تغییراتی در اندام‌های مختلف جهت سازش‌پذیری با محیط جدید هستند. این قابلیت ها به جنس، گونه، سن و اندازه (وزن و طول) هر ماهی بستگی دارد و در طی این فرآیند یون‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم وارد بدن ماهی گشته و ماهی جهت بقاء و حفظ تعادل نیازمند دفع آن از طریق آبشش (یون‌های تک ظرفیتی) و کلیه (یون‌های دو ظرفیتی) است. این مکانیسم مورد تأیید گزارشات علمی متعددی است (Svasand *et al.*, 2000; Sanchez-Lamadrid, 2002; Farabi *et al.*, 2007 and 2009).

اما آنچه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت، استفاده از مکمل نمکی برای تحریک سیستم تنظیم_یونی اسمزی برای آمادگی معرفی بچه‌ماهیان سفید از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر بوده است که توسط Perry و همکاران (۲۰۰۶) از آن بعنوان فریب ماهی در آب‌شیرین نام بردند، بدین ترتیب که با این عمل ماهی اندام مربوط به تنظیم یونی- اسمزی خود را فعال نماید. آن‌ها نشان دادند که اندازه سلول کلراید آبشش و همچنین میزان فعالیت آنزیم $Na^+ + K^+$ - ATPase در تغذیه ماهیان با مکمل ۱۱٪ کلرید سدیم در جیره افزایش یافته است. این فرآیند توسط دانشمندان متعددی و با استفاده از درصدهای مختلفی از مکمل نمکی در گونه‌های مختلف ماهی با اندازه‌های متفاوت مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج مشابه‌ای در برداشته است. به‌طوری‌که مکمل نمکی در جیره غذایی ماهی در محیط آب شیرین سبب آمادگی بچه‌ماهیان جهت سازگاری با آب شور شده و ساختمان اندام‌های دخیل در تنظیم یونی- اسمزی را تغییر می‌دهد و بر کارایی رشد ماهی نیز مؤثر است (Applebaum and Jesuarockiaraj, 2009: Keshavanath *et al.*, 2012: Santos *et al.*, 2014: Mzengereza and Kang'ombe, 2015).

ماهی سفید از جمله ماهیان رودکوچ است و بچه-ماهیان جهت ادامه زندگی مجبور به مهاجرت از آب شیرین، به آب لب‌شور دریای خزر هستند. یکی از سنجش های اصلی در سازش‌پذیری این بچه‌ماهیان به محیط جدید، آمادگی لازم برای پذیرش آب لب‌شور است. گزارشات علمی متعددی حاکی از پذیرش بهتر محیط آب شور با افزایش وزن بچه‌ماهی سفید وجود دارد (ایمانپور، ۱۳۸۴: عنایت غلامپور [1] و همکاران، ۱۳۹۰: صیادبورانی، ۱۳۸۹: فارابی و همکاران، ۱۳۹۳: صیادبورانی و همکاران، ۱۳۹۳).

به‌طور کلی، سلول‌های کلراید آبششی در پاسخ به تغییرات شوری محیط تغییراتی در اندازه، تعداد، شکل و نحوه توزیع آن‌ها پدید آمده و به‌طور کلی توسعه پیدا نموده و به‌شکل قابل توجهی افزایش در تعداد و اندازه آن‌ها ایجاد می‌گردد (McCormick, 2001: Wang *et al.*, 2009).

ایمانپور (۱۳۸۴)، با بررسی تنش شوری روی بچه-ماهیان سفید ۰/۵ تا سه گرم و امیری و همکاران (۱۳۸۷) بر بچه‌ماهیان سفید یک گرمی در شوری‌های ۱۰ppt و کمتر از آن نشان دادند که توانایی سازگاری

[1] Hosseini

(درصد بازماندگی بیش از ۹۵ درصد) و رشد خوبی برای بچه‌ماهیان در چنین شرایطی وجود دارد. البته ایمانپور (۱۳۸۴) نشان داد که با افزایش وزن از ۰/۵ تا ۳ گرم تعداد سلول‌های کلراید به‌طور معنی داری افزایش داشته است که به‌عبارتی با درصد بازماندگی بچه‌ماهیان و افزایش تعداد و قطر سلول‌های کلراید در مرحله دو آزمایش (آب لب شور) در این بررسی مطابقت دارد (جدول۳).

اما بررسی های بافتی آبشش و کلیه در این تحقیق نشان داد که بچه ماهیان تحت تغذیه از مکمل نمک کلرید سدیم (مرحله یک) و تنش شوری آب (مرحله دو)، تغییراتی در ساختار آن‌ها پدید آمد. بررسی‌های فارابی و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که برخی از بچه-ماهیان سفید کمتر از یک گرم بخصوص در اوزان کمتر از ۰/۵ گرم در انتقال مستقیم از آب شیرین به آب لب‌شور دریای‌خزر به میزان بیشتری دچار تخریب بافت آبششی شدند. اما در این بررسی تخریب در بافت آبشش مشاهده نگردید. دلیل این موضوع ممکن است بواسطه معرفی بچه‌ماهیان بیش از ۱/۲۵ گرم به آب لب-شور باشد که با مطالعات بهروزی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد.

Daborn و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که در زمان انتقال ماهی از آب شیرین به شور، سلول‌های کلراید آبششی از تمایز سلول‌های سنگفرشی ایجاد می‌شوند و پس از تماس با آب شور نرخ این تمایز افزایش یافته و با گذشت زمان تعداد سلول‌های کلراید آبششی افزایش می‌یابد. همچنین Foskett و همکاران (۱۹۸۱) نشان دادند که پس از گذشت چند روز مواجهه با آب شور، تعداد سلول‌های کلراید به حد ثابتی رسیده و از این پس نرخ افزایش در اندازه سلول تسریع می‌گردد. در این بررسی با تغذیه تیمارهای ۲، ۳ و ۴ از مکمل نمک در مرحله یک آزمایش در محیط آب شیرین برآمدگی‌هایی در سلول‌های آماده تبدیل[1] به سلول‌های کلراید بوجود آمد، که این پدیده در تیمار یک یا شاهد (بدون تغذیه از مکمل نمک) مشاهده نگردید. این برآمدگی در تیمار شماره چهار با درصد بالاتر(۱۰٪) تغذیه از مکمل نمکی مشهودتر بوده است (جدول ۳). اما اندازه این سلول‌ها پس از گذشت ۲۸ روز دوره پرورش در آب لب‌شور در چهارتیمار آزمایشی در پایان مرحله دو فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P>0/05$). به‌نظر می‌رسد که در این مدت بچه‌ماهیان سفید در تیمار شاهد توانایی لازم جهت تنظیم یونی- اسمزی را کسب نموده‌اند. این نتیجه با بررسی‌های محیسنی و همکاران (۱۳۹۵) بر بچه‌ماهی سفید مطابقت دارد. بررسی آن‌ها نشان داد که بچه‌ماهی سفید در مواجهه با آب لب‌شور تا روز چهارم مواجهه با آب لب‌سور، افزایش تعداد سلول‌های کلراید آبششی در آن‌ها مشهود است و پس از آن تا روز هفتم، به سطح نسبتاً ثابتی می‌رسند. همچنین نشان دادند که تعداد سلول‌های کلراید آبششی در ماهیان تغذیه‌شده تا روز چهارم مواجهه با آب لب‌شور بیشتر از ماهیانی بود که تا روز چهارم تغذیه نشدند. اطلاعات بدست آمده آن‌ها با مطالعاتFoskett و همکاران (۱۹۸۱) در بررسی میزان تمایز سلول‌های کلراید آبششی در ماهی سیچلید (*Sarothodon mossambicus*) در زمان تطبیق با آب شور مطابقت دارد. ماهی سیچلید (*Sarothodon mossambicus*) تنها تا روز سوم پس از مواجهه با آب شور افزایشی در تعداد سلول‌های کلراید آبششی نشان داده است. همچنین Trombetti و همکاران (۱۹۹۶)

[1] Accessory cells

تاثیر مکمل نمکی کلرید سدیم (۱۰٪) بر تنظیم اسمزی ماهی قزل آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم $(Na^+ + K^+)$-ATPase آبششی در تغذیه با مکمل نمکی کلرید سدیم بیشتر، ولی تعداد سلول‌های کلراید آبششی در پایان آزمایش در دو گروه اختلاف معنی‌دار نداشت. اما در این بررسی در تغذیه از مکمل نمکی در آب‌شیرین سبب گردید که در ۲۸ روز پرورش بچه-ماهیان سفید در آب لب‌شور تعداد سلول‌های کلراید آبششی نسبت به تیمار شاهد از افزایش معنی‌داری برخوردار گردد ($P<0/05$)، (جدول ۳). نتایج این تحقیق با بررسی‌های Santos و همکاران (۲۰۱۴) در تغذیه از مکمل نمک کلرید سدیم بر روی تغییرات بافت آبشش و تنظیم اسمزی بچه ماهی Cobia در آب لب‌شور و افزایش تعداد سلول های کلراید در گروه استفاده کننده از مکمل نمکی مطابقت دارد. آن‌ها معتقدند که این فرآیند سبب کاهش مصرف انرژی در جریان تنظیم اسمزی می‌گردد و بر رشد بچه ماهیان تاثیرگذار است. زیرا توسعه تعداد و اندازه سلول‌های کلراید آبششی، افزایش سطح فعالیت آنزیم پمپ سدیم پتاسیم آبششی را به دنبال دارد. مطالعات Fontainhas-Fernandes و همکاران (۲۰۰۰) نیز به نتایج مشابهی تغذیه از مکمل نمکی و انتقال به آب لب‌شور در ماهی نیل تیلاپیا دست یافتند.

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر جیره نمکی در آب شیرین در افزایش تعداد سلول کلراید در بافت آبشش در مواجهه با آب لب‌شور در گونه‌های مختلف و احتمالاً در اندازه‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد. ولی تأثیر آن به‌طورکلی سبب تغییر در عملکرد آبشش برای تنظیم بهتر یونی- اسمزی در مواجهه با آب شور و یا لب‌شور می‌گردد.

کلیه ماهیان به‌عنوان یکی از مهمترین اندام‌های بدن ماهی جهت سازگاری موجود با محیط‌های مختلف است (Sveltana, 2006). بافت کلیه بچه‌ماهیان سفید در مرحله یک آزمایش تغییر نکرده است و با ورود بچه‌ماهیان به آب لب‌شور تغییراتی در بافت کلیه در چهارتیمار آزمایشی با افزایش حفره داخلی توبول‌های کلیوی (پروکسیمال و دیستال) و همچنین کاهش قطر گلومرول‌ها (شکل۳) و در راستای سازش‌پذیری در آب لب‌شور مشاهده گردید. عدم تغییر ساختار کلیه در مرحله یک احتمالاً بدلیل عدم وظیفه‌مندی کلیه در دفع یون‌های تک ظرفیتی (یون سدیم و کلر) است. زیرا در تنظیم یونی - اسمزی در محیط آب شیرین، عمدتاً جذب یون‌های تک ظرفیتی برای انتقال به سرم خون ماهیان از آبشش‌ها و از کلیه‌ها دفع زیاد آب صورت می‌گیرد و در تنظیم یونی - اسمزی ماهیان در محیط آب شور نیز عمدتاً ترشح یون های تک ظرفیتی مازاد سرم خون ماهیان به آب از آبشش‌ها و ترشح یون‌های دوظرفیتی از کلیه‌ها صورت می‌گیرد (McCormick, 2001).

در تحقیقی که توسط Stoskopf (۱۹۹۳) انجام شد، نشان داد که اندازه گلومرول‌ها در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت می‌باشد، اما ماهیان استخوانی آب شیرین از تعداد گلومرول بیشتر و بزرگتری نسبت به ماهیان دریازی برخوردارند. در این بررسی تغییر اندازه گلومرول بچه ماهیان سفید در اندازه‌های مختلف و در آب لب‌شور نسبت به آب شیرین مشاهده گردید (جدول ۲).

قهرمان‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) در دو محیط آب لب‌شور (دریای خزر ۸/۴۹ گرم در لیتر) و آب شیرین (رودخانه خشکرود) درمقایسه بافت‌شناسی کلیه (قدامی، میانی و خلفی) مولدین ماهی سفید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که از نظر تعداد لوله-های کلیوی ماهی سفید اختلاف معنی‌داری بین دو محیط نداشتند (P>۰/۰۵) و میانگین اندازه لوله‌های دیستال، جمع کننده و شبکه گلومرولی در آب شیرین به طور معنی‌داری بزرگتر از آب لب‌شور بود (P<۰/۰۵). میانگین اندازه لوله‌های پروگسیمال در آب دریا نسبت به آب شیرین بیشتر بود. اگر چه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در نتیجه لوله‌های کلیوی در ماهی سفید بعد از مهاجرت به آب شیرین جهت سازگاری با محیط جدید تغییر می‌کند. این تغییرات در واقع مکانیزم تحمل ماهی سفید در مواجه با شرایط هیپواسمتیک است.

بنابراین، با توجه به تغییر محیط از آب شیرین به آب لب‌شور دریای خزر، ساختار کلیه بچه‌ماهیان سفید نیز تغییر نمود. اما در استفاده از مکمل نمک کلرید سدیم در مدت آزمایش تغییری در بافت کلیه در مرحله یک آزمایش در محیط آب شیرین مشاهده نشد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. امیری، ا.، صیاد بورانی، م.، مرادی، م. و پور غلامی، ا.، ۱۳۸۷. اثر شوری‌های مختلف بر رشد و ماندگاری بچه ماهی سفید انگشت قد (*Rutilus frisii kutum*) مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۱):۲۱-۳۰.

۲. امینی رنجبر، غ. و هادیان، ا.، ۱۳۸۷. بررسی میزان ددت در رسوبات رودخانه سفیدرود (حد فاصل سد تاریک تا بندر کیاشهر). مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، ۸۱: ۸۶-۸۱.

۳. ایمانپور،م .ر.،۱۳۸۴. اثرات طیف نور ، دوره های نوری و غنی سازی روی پرورش لاروی و تنظیم اسمزی بچه ماهیان سفید *Rutilus frisii kutum*. رساله دوره دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۰۸ ص.

۴. بهروزی، ش.، فارابی، س.م.و.، هدایتی فرد، م. و شریفیان، م.، ۱۳۹۴. بررسی اثر شوری بر نرخ بازماندگی و تغییرات بافت کلیه بچه ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. نشریه دامپزشکی در پژوهش سازندگی، ۱۰۷: ۳۱ تا ۳۷.

۵. پوستی، ا و م. و مرادی، ا.، ۱۳۸۵. روش های آزمایشگاهی بافت شناسی، انتشارات دانشگاه تهران. ۲۹۶ص.

۶. پوستی، ا.ع. و مروستی، ص.، ۱۳۷۸. اطلس بافت شناسی ماهی (اشکال طبیعی و آسیب‌شناسی) انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ ص.

۷. رضوی صیاد، ب. ۱۳۷۴. ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)، انتشارات وزارت جهادکشاورزی، مؤسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۸۶ صفحه.

۸. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۴. سازمان شیلات ایران، معاونت توسعه مدیریت و منابع، دفتر برنامه و بودجه. ۶۴ ص. ۲۸ /۱۰/ ۱۳۹۴.

http://www.khzshilat.ir/Content/media/image/2016/01/795_orig.pdf

۹. ستاری،م.۱۳۸۱، ماهی شناسی(۱). تشریح و فیزیولوژی، انتشارات نقش مهر، چاپ اول. ۶۵۹ ص.

۱۰. صیادبورانی، م.، ۱۳۸۹. تعیین اندازه مناسب رهاسازی بچه‌ماهی سفید از طریق ارزیابی قابلیت های تنظیم اسمزی. پروژه موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور. ۹۴ صفحه.

۱۱. صیادبورانی، م.، احمد نژاد. م.، مقصودیه کهن، ح.، دژندیان، س. و شریفیان، م. ۱۳۹۳. بررسی فراوانی و پراکنش سلول‌های کلراید آبشش بچه-ماهیان سفید در مواجهه با شوری آب دریای خزر. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۲):۴۴-۳۵.

۱۲. عبدلی،ا. و نادری، م. ۱۳۸۷. تنوع زیستی ماهیان حوضه جنوبی دریای خزر. انتشارات علمی آبزیان. ۲۳۸ ص.

۱۳. عنایت غلامپور، ط.، ایمانپور، م. ر.، حسینی، س. ع. و ب. شعبانپور.، ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص های رشد، میزان بازماندگی، غذا گیری و پارامترهای خونی در بچه ماهیان سفید *Rutilus frisii kutum* . مجله زیست شناسی ایران، ۲۴(۴): ۵۳۹-۵۴۹.

۱۴. فارابی، س.م.و.، بهروزی، ش.، قانعی تهرانی، م.، رمضانی، ح.، آذری، ع.ح.، شکوری، م.، نجف پور، ش.، واحدی، ف.، نصرالله تبار، ع.، ملایی، ح.، علوی، ا. و معاضدی، ج.، ۱۳۹۳. تعیین درصد مقاومت بچه ماهی سفید (۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلیگرمی) به شوری، گل آلودگی و کاهش اکسیژن در آب. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۶۶ ص.

۱۵. قهرمان‌زاده، ز.، بانی، ع.، ایمانپور نمین، ج. و حلاجیان، ع.، ۱۳۹۳. مقایسه بافت شناسی لوله های کلیوی مولدین ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* در دو محیط لب شور (دریای خزر) و آب شیرین (رودخانه خشکرود). مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷(۱): ۱۳۴-۱۴۲.

۱۶. کرباسی، ع.، نبی بیدهندی، غ.، غضبان، ف. و کوکبی حبیب زاده، ش.، ۱۳۸۹. تفکیک شمایی عناصر و بررسی شدت آلودگی در رسوبات رودخانه سیاهرود. محیط شناسی، سال ۳۶(۵۳): ۲۰-۱۱.

۱۷. محیسنی، م.، بنایی، م.، نعمت دوست حقی، ب. و فارابی. س.م.و.، ۱۳۹۵. اثر محرومیت غذایی بر توسعه سلول‌های کلراید آبششی در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) در مواجهه با تنش شوری. مجله بوم شناسی آبزیان، ۵(۴): ۸۸-۹۷.

۱۸. محیسنی. م، فارابی. س.م.و.، بنایی. م. و نعمت دوست حقی. ب.، ۱۳۹۵. اثر گرسنگی بر تغییر الکترولیت‌های بدن بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) طی سازگاری با آب شور. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۱۲۴-۱۱۱.

19. Ai, Q., Mai K, Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H. & Zhang, L., 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea)*. Aquaculture, 260: pp. 255-263.
20. Applebaum, S. & Jesuarockiaraj, A., 2009. Salt incorporated diets for enhancing growth performance and survival in gilthead sea bream Sparus aurata L.

juveniles reared in low saline brackish water. Scienria Marina, 73(S1): 213-217.
21. Bancroft. J. D. & Gamble. M., 2002. Theary and practice of histological techniques. Churchill Livingston, 796 p.
22. Bell, J.D., Bartley, D.M., Lorenzen, K. & Loneragan, N.R., 2006. Restocking and Stock Enhancement of Coastal Fisheries: Potential, Problems and Progress. Fish Res 80:1–8
23. Cataldi, E., Ciccotti, E., Dimarco Disan, P., Disantano, O., Bronzi, P. & Cataudella, S., 1995. Acclimation trials of juvenile Italian sturgeon to different salinities: Morpho-physiological descriptors. Journal of Fish Biology, 47: 609-618.
24. Charmi, A., Bahmani, M., Sajjadi, M.M. & Kazemi. R., 2009. Morpho-histological study of kidney in farmed iuvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Pakistan Journal of Biological Sciences, 12(1): 11-18.
25. Daborn, K., Cozzi, R. & Marshall, W., 2001. Dynamics of pavement cell–chloride cell interactions during abrupt salinity change in Fundulus heteroclitus. Journal of Experimental Biology, 204(11): 1889-1899.
26. Emadi, H., 1979. The state of the fishing and reproduction of the kutum, Rutilus frisii kutum, in the Caspian Sea of Iran. Journal of Ichthyology, 19(4): 151-154.
27. Evans, D.H., 2002. The physiology of fishes. CRC Press, New York.York, pp. 91-239.
28. Evans, D. H., Piermarini. P.M. & Potts, W.T.W., 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. Journal of Experimental Zoology, 283: 641-652.
29. Farabi. S.M.V., Hajimoradloo, A. & Bahmani, M., 2007. Study on salinity tolerance and some physiological indicators of ion-osmoregulatory system in juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) in the south Caspian Sea: Effects of age and size. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 6(2): 15-32.143.
30. Farabi. S.M.V., Najafpour, Sh. & Najafpour, G. D., 2009. Aspect of Osmotic-ions Regulation in Juvenile Ship, Acipenser nudiventris (Lovetsky, 1828) in the Southeast of Caspian Sea. World applied sciences Journal, 7(9): 1090-1096.
31. Fontainhas-Fernandes. A., Russell-Pinto, F., Gomes, E., Reis-Henriques, Ma.A. & Coimbra, J., 2000. The effect of dietary sodium chloride on some osmoregulatory parameters of the teleost, Oreochromis niloticus, after transfer from freshwater to seawater. Fish Physiology and Biochemistry, 23(4): 307-316.
32. Foskett, J.K., Logesdon, C.D., Turner, T., Mochen, T.E. & Bern, H.A., 1981. Differention o the chloride cell extrusion mechanism during seawater adaptation of a teleost fish, the cichlid Sarothodon mossambicus, Journal of Experimental biology, 94: 209-224.
33. Hwang, P.P., Lee, T.H., 2007. New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 148: 479-497.
34. Howell, B.R., 1994. Fitness of hatchery-reared fish for survival in the sea. Aquaculture and Fisheries Management. 25: 3-17.
35. Keshavanath, P., Oishi, C.A., Leao da Fonseca, F.A., Affonso, E.G. & Filho, M.P., 2012. Growth Response of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Fingerlings to Salt (Sodium Chloride) Supplemented Diets. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 7: pp. 439-446.
36. Krayushkina, L.S., Panov, A.A., Gerasomov, A.A. & Potts, W.T.W., 1996. Changes in sodium, calcium and magnesium ion concentrations in sturgeon (*Huso huso*) urine and in kidney morphology. Journal of Computational Biology, B, 165: 527-533.
37. Mzengereza, K. & Kang'ombe, J., 2015. Effect of Dietary Salt (Sodium Chloride) Supplementation on growth, survival and feed utilization of Oreochromis shiranus (Trewavas, 1941). Journal of Aquaculture Research and Development, 7:1. 8.
38. McCormick, S.D., 1990. Cortisol directly stimulates differentiation of chloride cells in tilapia opercular membrane. 259: R857-863.

39. McKenzi, D.J., Cataldi, E., Di Marco, P., Mandlich, A., Romano, P., Ansferri, S., Bronzi, P. & Cataudella, S., 1999. Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon Acipenser naccarii.II: Morpho_physiological adjustments to hyperosmotic environment. Journal of Applied Ichthyology, 15: 61_66.
40. Munro, J.L. & Bell, J.D., 1997. Enhancement of marine fisheries resources. Reviwes in Fisheries Science, 5: 185-222.
41. Olla, B.L., Davis, M.W. & Ryer, C.H., 1998 Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioral survival skills. B. Mar. Sci. 62: 531- 550.
42. Pellertier, D. & Besner, M., 1992. The effect of salty diets and gradual transfer to sea water on osmotic adaptation, gill Na+, K+-ATPase activation, and survival of brook charr, Salvelinus fontinalis, Mitchill. Journal of Fish Biology. 141: 791-803.
43. Perry, S.F., Rivero-Lopez, L., McNeill, B. & Wilson, J.M., 2006. Fooling a freshwater fish: How dietary salt loading transforms the trout gill into a seawater phenotype. Journal of Experimental Biology, 209: 4591-4596.
44. Roberts, R. J., 2001. Fish pathology. 3nd ed. W. B. Sunders, London. 472p.
45. Sanchez-Lamadrid, A., 2002. Stock enhancement of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.): assessment of season, fish size and place of release in SW Spanish coast. Aquaculture, 210:187-202.
46. Sangiao-Alvarellos, S., Arjona, F.J., Martín del Río, M.P., Míguez, J.M., Mancera, J.M. & Soengas, J.L., 2005. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in Sparus auratus. Jounal of Experimental Biololgy, 208: 4291-4304.
47. Santos, R.A., Bianchini, A., Jorge, M.B., Romano, L.A., Sampaio, L.A. & Tesser, M.B., 2014. Cobia Rachycentron canadum L. reared in low-salinity water: does dietary sodium chloride affect growth and osmoregulation? Aquaculture Research, 45(4): 4: 728-735.
48. Stoskopf, M. K., 1993. Fish medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Co., p. 882.
49. Suboski, M. D., Templeton, J. J., 1989. Life skills training for hatchery fish: social learning and survival. Fisheries Research, 7, 343e352.
50. Svasand, T., Kristiansen, T.S. Pedersen, T., Salvanes, A.G.V., En-gelsen, R., Nævdal, N. & Nødtvedt, M., 2000. The enhancement of cod stocks. Fish and Fisheries, 1: 173-205.
51. Sveltana, F., 2006. Normal kidney development in normal medaka fish. http://www.jsps.go.jp/english/e-plaza/e-sdialogue/03_data/Dr_Fedorova.pdf.
52. Takashima, F. & Hibiya, T., 2001. An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features. 1th Edn., Kodansha Ltd., New york, p: 234
53. Trombetti, F., Ventrella, V., Pagliarani, A., Ballestrazzi, R., Galeotti, M., Trigari, G., Pirini M. & Borgatti, A.R., 1996. Response of rainbow trout gill (Na^++K^+)-ATPase and chloride cells to T 3 and NaCI administration. Fish Physiology and Biochemistry, 15(3): 265-274.
54. Wang, P.J., Lin, C.H., Hwang, L.Y., Huang, C.L., Lee, T.H. & Hwang, P.P., 2009. Differential responses in gills of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 152: 544-551.
55. Young, B. & Heath, J., 2000. Functional Histology, a text and colour Atlas. 4th Edn., New York: Churchill Livengstone, Pp: 252-298.
56. Zaugg, W.S., Roley, D.D., Prentice, E.F., Gores, K.X. & Waknitz, F.W., 1983. Increased seawater survival and contribution to the fishery of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by supplemental dietary salt. Aquaculture, 32: 183-188

ارزیابی تغییرات برخی شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی زمستان گذرانی

مریم قیاسی*[۱]، نغمه سلیمانی[۲]، لیدا شجاعی[۲]، محمد بینایی[۱]

۱ – پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۲ – گروه شیلات، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۳۰

چکیده

باتوجه به کاهش شدید و یا عدم تغذیه ماهیان کپور طی زمستان و تاثیرات سوء تغذیه بر سلامت ماهیان، هدف از این مطالعه تعیین تاثیر تغییرات شاخص‌های خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور معمولی طی زمستان گذرانی بود. جهت انجام این مطالعه از ماهیان کپور معمولی طی دو مرحله، اسفند ۱۳۹۵ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم) و اردیبهشت ۱۳۹۶ (از ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزن ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم) (در مجموع ۶۰ ماهی) از یک استخر پرورشی در منطقه بهشهر صید و خونگیری انجام شد. طی این بررسی میزان گلبولهای قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط سلولی(MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی(MCHC)، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK) و فعالیت لیزوزیم سرم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تعداد گلبولهای قرمز و سفید، هماتوکریت گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK) کلسترول، تری‌گلیسرید، IgM تام سرم و فعالیت لیزوزیم در نمونه های بدست آمده در اسفند بطور معنی داری ($P\leq 0.05$) کمتر از اردیبهشت بود. همچنین میزان هموگلوبین،آلبومین، MCV، MCH و MCHC علیرغم تفاوت عددی فاقد تفاوت معنی‌دار بودند. نتایج این بررسی نشان داد که کاهش شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی در طی زمستان گذرانی که احتمالا به به دلیل کاهش متابولیسم و عدم تغذیه ماهیان کپور بوده امری اجتناب ناپذیر است و همین امر می‌تواند یکی از علل احتمالی تلفات ماهیان طی زمستان و افزایش حساسیت آنها به بعضی از بیماریهای عفونی باشد. لذا توصیه می‌شود پرورش دهندگان با افزایش دما و شروع تغذیه فعال ماهیان از جیره‌های با کیفیت و حاوی محرک‌های ایمنی جهت جبران سریع‌تر شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی استفاده نمایند.

کلمات کلیدی: زمستان گذرانی، کپور، کراتین فسفوکیناز، هموگلوبین، لیزوزیم.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) ghiasimaryam4@gmail.com

مقدمه

ماهی کپور معمولی از خانواده Cyprinidae با نام علمی *Cyprinus carpio* یکی ازماهیان پرورشی مهم اقتصادی در آب شیرین است که به دلیل سهولت پرورش، بطور وسیعی در جهان پرورش داده می‌شود و جزء سومین گونه معرفی شده به صنعت آبزی‌پروری در دنیا است. این گونه نسبت به تغییرات دمای آب، اکسیژن محلول و گل آلودگی از تحمل بالایی برخوردار بوده و نسبت به دیگر آبزیان پرورشی از سازش بیشتری در برابر تغییرات نامناسب محیطی برخوردار است (هرسیج و آدینه، ۱۳۹۶). ماهی کپور از گروه ماهیان گرم آبی بوده و دمای مناسب رشد و تغذیه آن بین ۲۸ – ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. با کاهش دمای آب نیازمندی ماهی کپور به انرژی کم شده و ظرفیت هضم مواد غذایی آن نیز کاهش می‌یابد (Bauera and Schlot, 2004).

پرورش ماهی کپور در ایران و بسیاری از نقاط جهان در استخرهای خاکی و یا آببندان انجام می‌شود و در کشورهایی که چهار فصل مشخص دارند (برخلاف کشورهای واقع در مناطق استوایی) کاهش دمای آب در فصل زمستان در استخرهای خاکی و یا آب‌بندان‌ها به گونه‌ای است که ماهیان دست از تغذیه برداشته و یا میزان آن به حداقل ممکن می‌رسد (Watt *et al.*, 1988). هنگامی که دمای آب به کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، متابولیسم ماهی به شدت کاهش یافته و در حرارت کمتر از ۸ درجه سانتی‌گراد حرکت و تغذیه ماهی کپور به حداقل و یا صفر می‌رسد (Prchal *et al.*, 2018). ماهیان کپور طی زمستان گذرانی رفتارهای مشخصی را از خود نشان می‌دهند که شامل قرار گرفتن در گروه‌های دسته جمعی، رفتن به قعر استخر و سپری کردن زمستان در محل استقرار بدون حرکت و تغذیه است (Bauera and Schlot, 2004).

در شرایط زمستان گذرانی، این ماهیان از انرژی کاتابولیسمی به عنوان راه تامین انرژی استفاده می‌کنند، به این ترتیب که ابتدا از ذخایر چربی سپس از ذخایر گلی‌کوژن موجود در کبد و عضلات و در نهایت از پروتئین عضلات استفاده نموده و این امر موجب کاهش وزن آنها می‌شود و البته در این زمان نیازمندی ماهی به کالری نیز در حداقل مقدار ممکن است (Urbànek *et al.*,2010; Bauera and Schlot, 2004). مطالعات نشان داده که تغییرات متابولیکی بوجود آمده طی دوره زمستان گذرانی بستگی به طول دوره و مدت زمان آن دارد. اصولا ماهیان به دلیل خونسرد بودن تحمل بیشتری در برابر گرسنگی دارند و انرژی مورد نیاز متابولیسمی آنها تنها ۲۰ – ۱۰٪ یک جانور خون گرم در سایز و وزن مشابه است (McCue, 2010). در کپور ماهیان با متابولیزه شدن چربی و پروتئین‌ها و ایجاد روند گلیکونئوژنزیس کاهش در ترکیبات چربی و پروتئینی سرم طی دوره زمستان گذرانی ایجاد می‌شود (Al-Niaeem *et al.*, 2010).

فاکتورهای خونی و سرمی شاخصی مهم در ارزیابی وضعیت فیزولوژی ماهیان است و اغلب از آنها در جهت ارزیابی سلامت و کفایت سیستم ایمنی ماهی استفاده می‌شود. بسیاری از مطالعات نشان داده است که طی مدت زمستان گذرانی به دلیل کاهش تغذیه و افت متابولیسم در ماهیان کپور روند خونسازی و فعالیت سیستم ایمنی ماهیان با نقصان روبرو شده و طی این مدت با کاهش تعداد گلبولهای خونی اکسیژن رسانی بافتی و نیز عملکرد سیستم ایمنی در ماهیان کپور

تضعیف می‌شود (Kondera *et al.*, 2017). با کاهش عملکرد و ضعف سیستم ایمنی حساسیت ماهیان نسبت به بروز برخی بیماری‌های عفونی افزایش یافته و شاید به همین دلیل باشد که بروز بعضی از بیماری‌ها در ماهیان کپور مانند ویرمی بهاره کپور ماهیان (SVC)[1] و نیز بروز تلفات ناشی از هرپس ویروس ماهی کوی(KHV)[2] در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال ماهیان کپور دامن‌گیر آنها می‌شود (Ahne *et al.*, 2002; Svetlana *et al.*, 2004; Ødegård *et al.*, 2010; Prchal *et al.*, 2018; Phelps *et al.*, 2012).

هرچند زمستان گذرانی موجب افت وزن و کاهش شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان کپور می‌شود ولی مطالعات نشان داده است با افزایش دما و تغذیه فعال، ماهیان افزایش وزن یافته و این شاخص‌ها به شرایط مناسب بازگشته و حساسیت ماهیان به عوامل عفونی خصوصا دو بیماری ویروسی ذکر شده عملا از بین می‌رود (Arslan *et al.*, 2015).

از آنجایی که تاکنون اطلاعاتی در خصوص ارزیابی تغییرات شاخص‌های خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور در مدت زمستان گذرانی در استان مازندران در دست نبود، در این بررسی ارزیابی این شاخص‌ها در ماهیان کپور در زمان زمستان گذرانی و بعد از آن مورد ارزیابی قرار گرفته است تا اطلاعات اولیه در خصوص تغییرات تابلو خونی و برخی از شاخص‌های سرمی و ایمنی ماهیان کپور را طی این مدت در اختیار قرار دهد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

تعداد ۳۰ قطعه ماهی کپور پرورشی با میانگین وزن ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم در اسفند ۱۳۹۵ (قبل از آغاز تغذیه فعال در دوره زمستان گذرانی) و ۳۰ قطعه دیگر با میانگین وزن ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم در اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ (شروع تغذیه فعال) از یک استخر یک هکتاری در منطقه بهشهر صید شدند. در زمان نمونه برداری در اسفند ماه میزان دما، pH و اکسیژن محلول به ترتیب ۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، ۸/۳ و ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر و میزان دما، pH و اکسیژن محلول در اردیبهشت به ترتیب ۱۹/۴ درجه سانتی‌گراد، ۸/۵ و ۷/۹ میلی‌گرم در لیتر بود.

خون‌گیری

پس از صید، ماهیان با استفاده از پودر گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند. خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ استریل انجام شد و یک و نیم میلی‌لیتر خون از سیاهرگ ساقه دمی گرفته شد. میزان نیم میلی لیتر از خون گرفته شده به میکروتیوب حاوی ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۲ میلی گرم در هر لیتر خون) و بقیه آن به میکروتیوب فاقد هپارین منتقل شد. نمونه‌ها در کنار یخ سریعاً به آزمایشگاه خون‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر فرستاده شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای شمارش گلبول قرمز و سفید، نمونه با محلول ریس به نسبت ۱ به ۲۰۰ (برای گلبول قرمز) و ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) رقیق شده و در نهایت سلولها با

[1] - Spring Viremia of Carp
[2] - Koi herpes virus

استفاده از لام هموسیتومتر شمارش شدند. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰rpm) با استفاده از خط-کش مخصوص قرائت گردید. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین اندازه‌گیری شد (Blaxhall and Daisley, 1973). محاسبه شاخص‌های خونی شامل حجم متوسط سلولی(MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی(MCHC) بر اساس فرمول و میزان گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت انجام گردید (Binaii *et al.*, 2014).

اندازه گیری شاخص‌های سرمی

ارزیابی فاکتورهای سرمی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام سرم، آلبومین، IgM تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP) و کراتین فسفوکیناز (CPK) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر(Eurolayzer ساخت بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد (Binaii *et al.*, 2014). برای تعیین میزان فعالیت لیزوزیم سرم از روش ارایه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) استفاده شد. سطح فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما، آمریکا) و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده از آزمایش شاخص‌های خونی و سرمی جهت آنالیز آماری در نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ ثبت گردید و جهت تعیین وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار بین داده ها از آزمون independent T- test استفاده گردید (Zar, 2007).

نتایج

در این بررسی میانگین وزن ماهیان صید شده در اسفند ۱۴/۷ ± ۱۵۲/۳ گرم بود در حالیکه میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت ۱۳/۲ ± ۱۸۱/۲ گرم بود. اگرچه تفاوت معنی داری بین میانگین وزن وجود نداشت ولی میانگین وزن ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه از نظر عدی بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند بود.

طی این بررسی مشخص گردید که تعداد گلبول-های قرمز و سفید و هماتوکریت در ماهیان کپور صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این شاخص‌ها در ماهیان کپور صید شده در اردیبهشت بوده ($P\leq 0.05$) ولی میزان هموگلوبین و حجم متوسط سلولی(MCV) علی‌رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت فاقد تفاوت معنی دار بین دو گروه بود ($P\geq 0.05$). میزان متوسط هموگلوبین سلولی(MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) نشان داد علی رغم افزایش عددی این شاخص‌ها در ماهیان صید شده در اسفند ماه تفاوت معنی داری با شاخص‌های فوق در ماهیان صید شده در اردیبهشت وجود ندارد ($P\geq 0.05$). نتایج مربوط به شاخص‌های خونی در جدول ۱ آمده است. در ارزیابی شاخص‌های سرمی مشخص گردید که میزان گلوکز، پروتئین تام سرم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهیان صید شده در اسفند بطور معنی داری کمتر از میزان این

شاخص‌ها در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه است($P\leq0.05$) و میزان آلبومین علی رغم افزایش عددی در ماهیان صید شده در اردیبهشت تفاوت معنی داری با ماهیان صید شده در اسفند ندارد($P\geq0.05$). نتایج مربوط به شاخص‌های سرمی در جدول ۲ آمده است.

در ارزیابی شاخصهای ایمنی، نتایج این بررسی نشان داد که میزان IgM تام سرم و لیزوزیم در ماهیان صید شده در اردیبهشت ماه بطور معنی داری بیشتر از ماهیان صید شده در اسفند ماه بوده است ($P\leq0.05$) (شکل‌های ۱ و ۲).

جدول۱: مقایسه میانگین شاخص‌های خونی کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت

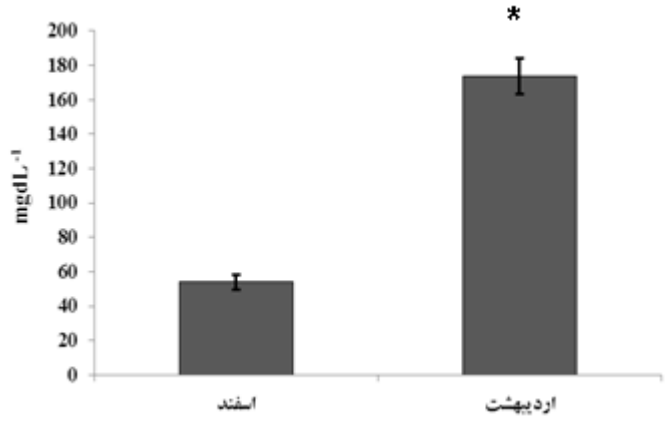
شاخص	اسفند	اردیبهشت	t - test	
			P	t - value
گلبول قرمز $\times 10^5$ (سلول در میلی متر مکعب)	۱/۳۴ ± ۰/۰۴	۲/۱۱ ± ۰/۸۹*	۰/۰۰۳	-۷/۷۲۶
گلبول سفید $\times 10^3$ (سلول در میلی متر مکعب)	۷/۸۶ ± ۰/۳۷	۱۳/۵۲ ± ۰/۵۵*	۰/۰۱۹	-۱۰/۰۶۵
هماتوکریت (درصد)	۲۸/۴۵ ± ۰/۷۰	۳۸/۶۵ ± ۱/۳۷*	۰/۰۰۱	- ۶/۶۰۰
هموگلوبین (gdL^{-1})	۹/۸۹± ۰/۱۳	۱۰/۰۳ ± ۰/۱۴*	۰/۰۹۱	- ۸/۰۵۲
متوسط حجم گلبولی (MCV) (فمتولیتر)	۲۱۳/۶۷ ± ۲/۸۸	۲۲۰/۱۵ ±۱ /۳۸	۰/۰۶۲	- ۲/۰۳۳
وزن هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)	۷۳/۳۳ ± ۱/۲۹	۵۲/۷۲ ± ۱/۶۸	۰/۵۸۸	- ۱۱/۸۰۶
غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (درصد)	۳۴/۳۹ ± ۰/۶۵	۲۳/۹۵ ± ۰/۵۲	۰/۴۹۷	- ۱۲/۳۶۰

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است

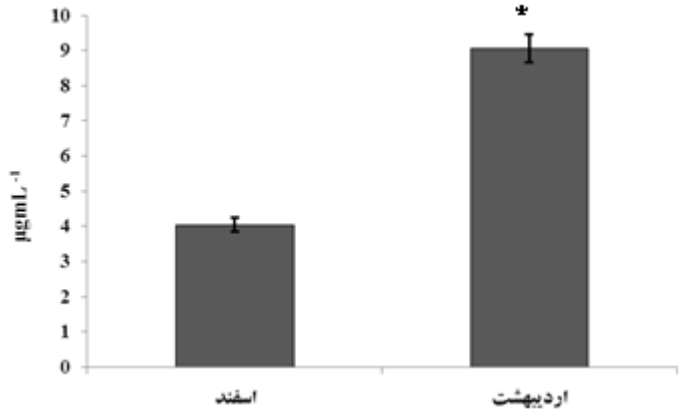
جدول ۲: مقایسه میانگین شاخصهای سرمی کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت

شاخص	اسفند	اردیبهشت	t - test	
			P	t - value
گلوکز ($mgdL^{-1}$)	۶۰/۶۸ ± ۳/۸۱	۱۳۰/۶۷ ± ۱/۲۲*	۰/۰۰۶	-۵/۹۰۵
تری‌گلیسرید ($mgdL^{-1}$)	۱۳۷/۲۰± ۷/۱۱	۲۲۸/۳۱ ±۱۲/۴۰*	۰/۰۴۵	-۳/۵۸۵
کلسترول ($mgdL^{-1}$)	۱۷۷/۰۸ ± ۸/۱۰	۲۰۳/۰۳ ±۱۱/۶۰*	۰/۰۴۱	-۶/۲۱۰
پروتئین تام سرم (gdL^{-1})	۲/۷۴ ± ۰/۰۹	۴/۳۶ ± ۰/۲۸*	۰/۰۰۱	-۵/۴۱۲
آلبومین (gdL^{-1})	۱/۴۴ ± ۰/۰۹	۲/۲ ± ۰/۰۹	۰/۱۹۲	-۶/۰۴
ALP ($IUdL^{-1}$)	۱۵/۴ ± ۴/۱	۴۹/۴ ± ۱۲/۵*	۰/۰۰۰	-۱۵/۲۶۷
CPK ($IUdL^{-1}$)	۸۳۸۴/۵۵ ± ۷۸۰/۵۲	۱۹۲۸۷/۸۰ ±۲۸۱۵/۸۹*	۰/۰۰۰	-۳/۷۳۱

وجود علامت* در هر ردیف نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است



شکل ۱ – مقایسه میانگین IgM تام سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت
(وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است)



شکل ۲ – مقایسه میانگین فعالیت لیزوزیم سرم کپور ماهیان پرورشی طی ماه های اسفند و اردیبهشت
(وجود علامت* روی ستون نشانه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است)

بحث

مطالعات مربوط به اثرات زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بر شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان با نتایج متناقضی همراه بوده است. در حقیقت اثرات فیزیولوژی زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت بطور قابل توجهی به گونه، سن ماهی و نیز طول دوره محرومیت غذایی مرتبط است(Sultan *et al.*, 2013). براساس نتایج حاصل از این بررسی مشخص شد که پدیده زمستان گذرانی موجب تغییراتی در تابلو خونی، سرمی و ایمنی ماهیان کپور شده ولی با افزایش دما و تغذیه مجدد ماهیان، روند صعودی معنی‌دار در این شاخص‌ها ایجاد شده است. نتایج این مطالعه نشان داد میزان گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در اسفند از کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت برخوردار بود و البته این نغییرات در کنار کاهش میزان MCV گلبولهای قرمز در اسفند بود. در مطالعات Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) که بر روی تغییرات فصلی تابلو خونی لای ماهی (*Tinca tinca*) (گونه‌ای از خانواده کپور ماهیان) انجام دادند مشخص شد که میزان گلبولهای قرمز و هماتوکریت در زمستان در کمترین مقدار در مقایسه با فصول دیگر سال بود. Kondera و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که زمستان

گذرانی در ماهی کپور کاهش معنی‌داری در میزان هموگلوبین ایجاد نمی‌نماید ولی بطور معنی‌داری موجب کاهش گلبول‌های قرمز و هماتوکریت می‌شود. در بررسی‌هایی که در خصوص ساختار خونی ماهیان در زمستان گذرانی و یا گرسنگی طولانی مدت انجام شده مشخص شده است که به دلیل محرومیت ماهی از ترکیبات غذایی از یک سو روند تولید گلبول‌های قرمز کند می‌شود و از سوی دیگر سرعت انهدام گلبول‌های قرمز تولید شده کاهش یافته و در نتیجه حجم بالایی از گلبول‌های قرمز خون ماهی در طی این مدت به دلیل عدم جایگزینی با سلولهای جوان، پیر هستند. این ر حالی است که حجم گلبول‌های قرمز جوان بیشتر از گلبول‌های پیر است(Rios *et al.*, 2005; Svobodova´*et al.*, 2008). احتمالا کمتر بودن میزان MCV در اسفند در مقایسه با اردیبهشت به همین خاطر باشد.

براساس نتایج مطالعه حاضر میزان گلبول‌های سفید، IgM تام سرم و لیزوزیم به عنوان شاخص‌های ایمنی ماهیان در اسفند کاهش معنی‌داری در مقایسه با اردیبهشت داشته است. دما به عنوان یک عامل تعیین کننده در عملکرد پاسخ‌های ایمنی موجودات خونسرد از جمله ماهیان شناخته شده است و این نقش عمدتا به اثر تعیین کننده دما بر فعالیت کتالیکی آنزیم‌ها باز می‌گردد (Klyachko *et al.*, 1998). براساس مطالعات مختلف، کاهش دما اثرات سرکوب کنندگی بر سیستم ایمنی ماهیان کپور دارد و این اثر ممانعت کنندگی هم بر سیستم ایمنی هومورال و هم سلولی کاملا به اثبات رسیده است (Szumiec and Pilarczyk, 2001). بررسی‌ها نشان داده است که تولید IgM در دمای ۱۰ – ۵ درجه سانتی‌گراد در ماهیان کپور کاملا سرکوب و متوقف می‌شود (Ahne *et al.*, 2002). همچنین با کاهش دما تخریب ایمونوگلوبولین‌ها در ماهیان کپور افزایش می‌یابد (Svetlana et al., 2004; Varga *et al.*, 2016). Sala-Rabanal و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند با نگهداری ماهیان سوف سرطلایی (*Sparus aurata*) در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز تعداد گلبول‌های سفید ماهیان بطور معنی داری در مقایسه با ماهیان نگهداری شده در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. به نظر میرسد کاهش دما در شرایط زمستان گذرانی بر گلبول‌های سفید تاثیرات مشابه با گلبول‌های قرمز ایجاد می‌کند و طی این مدت به دلیل اختلال در روند تولید گلبول‌های خونی (اریتروپویزیس)، تعداد گلبول‌های خونی اعم از سفید و قرمز کاهش می‌یابد (Kondera *et al.*, 2017). لیزوزیم یک مولکول دفاعی مهم در ایمنی ذاتی کپور ماهیان است. این ترکیب با خاصیت موکولیتیکی از لکوسیتهای خون ترشح شده و مستقیما موجب تخریب دیواره باکتریهای گرم مثبت می‌شود ولی در تخریب باکتریهای گرم منفی نیازمند کمپلمان است(Bayne and Gerwick, 2001). میزان لیزوزیم در ماهی کپور بزرگ هندی (*Labeo rohita*) به شدت تحت تاثیر درجه حرارت محیط است بطوری‌که در تابستان و فصل بارندگی میزان این ترکیب در بالاترین مقدار خود است ولی در زمستان به حداقل مقدار خود میرسد و یکی از دلایل حساسیت کپور بزرگ هندی به بسیاری از عفونت‌ها در فصل سرما به دلیل پایین بودن میزان لیزوزیم در زمستان نسبت داده شده است(Bayne and Gerwick, 2001; Das and Das, 1997).

براساس نتایج این مطالعه میزان پروتئین تام سرم، گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید ماهیان در اسفند بطور

معنی‌داری کمتر از اردیبهشت بود. مطالعات مختلف نشان داده است که طی زمستان گذرانی ماهیان کپور برای حفظ بقا ابتدا ذخایر چربی و سپس به دنبال آن از گلیکوژن و در نهایت از ذخایر پروتئینی خود برای بقا استفاده می‌نمایند (Prchal *et al.*, 2018). Guijarro و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در لای ماهی طی زمستان گذرانی نسبت به سایر فصول بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. در مطالعه انجام شده بر روی بچه ماهیان کپور نگهداری شده در شرایط سرما مشخص گردید میزان پروتئین تام سرم، تری‌گلیسرید و کلسترول بطور معنی داری طی ۱۲ هفته نگهداری کاهش معنی‌داری داشته‌اند. این در حالی بود که میزان آلبومین تغییر کاهشی اندکی داشت (Varga *et al.*, 2016). به نظر می‌رسد از آنجایی که آلبومین نقش بسیار مهمی در نقل و انتقال مواد مغذی در خون داشته و مسئول حفظ فشار کلوئیدی خون است لذا در فرایند زمستان گذرانی و حتی طی گرسنگی طولانی مدت برای حفظ حیات ماهی کمتر دستخوش تغییر می‌شود (Michelis *et al.*, 2006).

در ارزیابی آنزیمهای سرمی در این مطالعه میزان ALT و CPK کاهش معنی‌داری در اسفند نسبت به اردیبهشت داشت. مهمترین وظیفه CPK تامین منابع غنی از فسفوکراتین برای سلولها (خصوصا سلول‌های ماهیچه و مغز) است تا انرژی لازم برای فعالیت‌های سلول را با تولید ATP فراهم کند. در واقع این آنزیم با کنترل گلیکولیز منبع انرژی مناسب را در اختیار سلول قرار می‌دهد. تغییرات این آنزیم در سرم تابع تغییرات سوبسترای این آنزیم می‌باشد (Witzemann, 1985). با توجه به کاهش منابع تولید انرژی و سوبسترای این آنزیم در ماهیان در اسفند ماه (کاهش گلوکز، تری-گلیسرید و کلسترول) به نظر می‌رسد کاهش این آنزیم قابل توجیه است و این امر پاسخگوی بیحالی و کم تحرکی ماهیان در زمستان نیز می‌تواند باشد. ALP از دسته آنزیم‌های متصل به غشا سلول است که نقش آن برداشتن عامل فسفات از استرهای آلی حاوی فسفات و نیز تسهیل حرکت مواد از غشا سلول است. از مهمترین موارد کاهش این آنزیم می‌توان به کمبود اسید فولیک ، ویتامین C، سوء تغذیه یا مصرف اندک پروتئین اشاره نمود (Percin and Konyalioglu, 2008) که به دلیل عدم تغذیه طولانی مدت ماهیان در طی زمستان گذرانی قابل توجیه است.

در یک نتیجه‌گیری کلی مشخص است که طی زمستان‌گذرانی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان کپور به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرند ولی بتدریج با افزایش دما و تغذیه فعال این شاخص‌ها بتدریج افزایش می‌یابند. مطالعات مختلف نشان داده به دلیل کاهش شاخصهای ایمنی، ماهیان در این زمان بسیار حساس به بروز برخی بیماریهای عفونی از جمله بیماریهای ویروسی مانند SVC و KHV هستند. لیکن مطالعات نشان داده است تغذیه ماهیان کپور با جیره های حاوی پروتئین بیشتر و عوامل محرک ایمنی از جمله پروبیوتیکها (باعثی و همکاران، ۱۳۹۵) در پایان دوره زمستان گذرانی و آغاز تغذیه فعال کمک شایانی به بهبود هرچه سریعتر این شاخص‌ها نموده و موجب می-گردد تا آنها سریع‌تر به دامنه نرمال خود برگشته و با افزایش مقاومت ماهیان حساسیت آنها را در برابر عوامل عفونی یاد شده کاهش دهند (Bocioc *et al.*,2015). لذا توصیه می‌شود در مراکز تکثیر و پرورش ماهیان کپور با آغاز تغذیه فعال پرورش دهندگان از جیره‌های

غذایی با کیفیت در کنار عوامل محرک ایمنی استفاده نمایند تا با روند بهبود شاخص‌های نامبرده در حداقل زمان ممکن ماهیان در برابر بروز بیماریهای عفونی احتمالی از مقاومت بیشتری برخوردار گردند.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. باعثی، ف.، آبرومند، ع.، سعید ضیائینژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تاثیر لاکتوباسیلهای پروبیوتیکی تجاری بر پارامترهای رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۰(۴): ۴۱-۴۸.

۲. هرسیج، م. و آدینه، ح.، ۱۳۹۶. امکان سنجی پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در پساب تصفیه شده از ضایعات کشتارگاهی طیور: بررسی کیفیت آب، عملکرد رشد و ترکیبات بدن، نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۳): ۱۲۳ – ۱۳۵.

3. Ahne, W., Bjorklund, H.V., Essbauer, S., Fijan, N., Kurath, G. & Winton, J.R., 2002. Spring viremia of carp (SVC). Diseases Aquatic Organisms, 52: 261–272.
4. Al-Niaeem, K. S., AL-Hamadan, Q. H., AL-Tameemi, R. A., 2010. Histopathological changes in the intestine, liver and pancreas of the common carp Cyprinus carpio during starvation. Proceding of 6th International Conference of Biology Science (Zoology), 6: 1- 6.
5. Arslan, G., Sahin, T., Hisar, O. & Hisar, S.A., 2015. Effects of low temperature and starvation on plasma cortisol, triiodothyronine, thyroxine, thyroid-stimulating hormone and prolactin levels of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin, 4(2): 5-9.
6. Bauera, C. & Schlott, G., 2004. Overwintering of farmed common carp (*Cyprinus carpio* L.) in the ponds of a central European aquaculture facility—measurement of activity by radio telemetry. Aquaculture, 241: 301–317.
7. Bayne, C.J., Gerwick, L., 2001. The acute phase response and innate immunity of ¢sh. Developmental and Comparative Immunology, 25:725-743.
8. Bocioc, E., Cristea, V., Patriche, N., Grecu, I., Placintă, S., Mocanu, M. & Tiberiu, M., 2015. Assessment of the effect of temperature on the carp physiology (*Cyprinus carpio*, L., 1758) fed with probiotics in condition of a recirculating aquaculture system. Animal Science and Biotechnologies, 48 (2): 97-103.
9. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S.E.,Taghavi,M.J. & Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (Urtica dioica). Fish and Sellfish Immunology, 36: 46-51.
10. Blaxhall, P.C. & Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-81.
11. Das, M.K. & Das, R.K., 1997. Disease caused by bacteria. In: Fish and Prawn Diseases in India, Diagnosis and Control (ed. byM.K. Das & R.K. Das), Inland Fisheries Society, Barrackpore, West Bengal, India.
12. Ellis, A.E., 1990. In: Stolen, JS., Fletcher, TC., Anderson, DP., Robertson, BS., Van Muisvinkel WR., editors. Lysozyme assay in techniques in fish immunology. Fair Haven, NJ, USA: SOS Publications.

13. Guijarro, A.I., Lopez-Patiño, M.A., Pinillos, M.L., Isorna, E., De Pedro, N., Alonso-Gomez, A.L., Alonso – Bedate, M. & Delgado, M.J., 2003. Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench. Journal of Fish Biology, 62: 803–815.
14. Klyachko, O.S. & Ozernyuk, N.D., 1998. Functional and structural properties of lactate dehydrogenase form embryos of different fishes". Comparative Biochemistry and Physiology, 119: 77-80.
15. Kondera, E., Kościuszko, A., Dmowska, A. & Małgorzata, W., 2017. Haematological and haematopoietic effects of feeding different diets and starvation in common carp *Cyprinus carpio*. Journal of Applied Animal Research, 45(1): 623–628.
16. McCue, M.D., 2010. Starvation physiology, reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. Comparative Biochemistry and Physiology A, 156:1–18.
17. Michaelis, K., Hoffmann, M.M., Dreis, S., Herbert, E., Alyautdin, R.N., Michaelis, M., Kreuter, J. & Langer, K., 2006. Covalent linkage of apolipoprotein E to albumin nanoparticles strongly nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 317:1246–1253.
18. Ødegård, J., Olesen, I., Dixon, P., Jeney, Z., Nielsen, H. M., Way, K., Joiner, C., Jeney, G., Ardó, L., Rónyai, A. & Gjerde, B., 2010, Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains. II: Resistance to koi herpesvirus and *Aeromonas hydrophila* and their relationship with pond survival. Aquaculture, 304:7–13.
19. Percin. F. & Konyalioglu. S., 2008. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean, Aquaculture Research, 39: 945-953.
20. Phelps, N.B.D., Armién, A.G., Mor, S.K., Goyal, S.M., Warg, J.V., Bhagyam, R. & Monahan, T., 2012. Spring Viremia of Carp Virus in Minnehaha Creek, Minnesota. Journal of Aquatic Animal Health, 24,232–237.
21. Prchal, M., Kause, A., Vandeputte, M., Gela, D., Allamellou J.M., Kumar, G., Bestin, A., Bugeon, J., Zhao, J. & Kocour, M., 2018. The genetics of overwintering performance in two-year old common carp and its relation to performance until market size. PLoS One. 13(5): e0197820.
22. Rios, F.S., Oba, E.T., Fernandes, M.N., Kalinin, A.L. & Rantin, F.T., 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, Hoplias malabaricus (*Characiformes, Erythrinidae*). Comparativen Biochemistry and Physiology A, 140: 281–287.
23. Sala-Rabanal, M., Sánchez, J., Ibarz, A., Fernández-Borràs, J., Blasco, J. & Gallardo, M.A., 2003. Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, 29:105–115.
24. Sultan, F.A.M., 2013. Effect of starvation on oxygen consumption and some blood parameters of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). Basrah Journal of Agricultural Sciences, 26 (2): 20-36.
25. Svettana, J., Dobrila, J. D. & Jevićv, R., 2004. Dissemination of spring viremia of of carp (SVC) in Serbia during the period 1999 – 2002. Acta Veterinaria, 54(4), 289-299.
26. Svobodovà, Z., Kroupov, H., Modrà, H., Flajšhans, M., Randàk, T., Savina, L. V. & Gela, D., 2008. Haematological profile of common carp spawners of various breeds. Journal of Applied Ichthyology, 24: 55–59.
27. Szumiec, M.A. & Pilarczyk, A., 2001. Effect of temperature decrease on carp, *Cyprinus carpio* L. culture in a temperate climate. Pt. 1. Survival of carp juvenile in ponds and swim bladder inflammation. Archives of Polish Fisheries, 9 (1): 87-96.
28. Urbánek, M., Hartvich, P., Vácha, F. & Rost, M., 2010. Investigation of fat content in market size common carp (*Cyprinus carpio*) flesh during the growing season. Aquaculture Nutrition, 16: 511-519.

29. Varga, D., Hancz, Cs., Molnár, T. & Szabó, A., 2016. Alterations in serum metabolites and enzymes of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) during long-term starvation. Acta Agraria Kaposváriensis, 20(1):36-39.
30. Watt, P.W., Marshall, P.A., Heap, S.P., Loughna P.T. & Goldspink, G., 1988. Protein synthesis in tissues of fed and starved carp, acclimated to different temperatures. Fish Physiology and Biochemistry, 4(4):165-173.
31. Witzemann, V., 1985. Creatine phosphokinase: isoenzymes in Torpedo marmorata. European Journal of Biochemistry, 150: 201 -210.
32. Zar, J.H., 2007. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey.

تنوع و فراوانی گونه‌ای فیتوپلانکتون‌های استخرهای پرورش میگو گمیشان- جنوب‌شرق دریای خزر

آرزو ناعمی[۱]، رحمان پاتیمار*[۲]، محمد هرسیج[۳]، سعید یلقی[۴]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

۲- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۸

چکیده

علاوه بر آگاهی از میزان تولیدات اولیه و بررسی زنجیره‌های غذایی ترکیب و تراکم فیتوپلانکتون‌ها در استخرهای پرورش میگو به دلیل شناخت رژیم غذایی آبزیان و بالارفتن تولید در استخرها اهمیت زیادی دارند. به منظور فراهم نمودن اطلاعات جدید در مورد فیتوپلانکتون-های استخرهای پرورش میگو، این مطالعه برای تعیین ترکیب گونه‌ای و فراوانی فیتوپلانکتون‌ها دراستخرهای پرورش میگوی گمیشان (جنوب شرقی دریای خزر) در سه نقطه تعیین شده (نزدیک ورودی، میانی، نزدیک خروجی)، به صورت ماهانه طی دوره پرورش از اردیبهشت تا مهر ماه ۱۳۹۵ به اجرا درآمد. نمونه‌برداری با استفاده ازبطری‌های یک لیتری در لایه‌های سطحی آب استخرها انجام شد. نتایج نشان داد که در مجموع ۲۳ جنس متعلق به ۶ شاخه از فیتوپلانکتون‌ها وجود دارند. جنس‌های غالب از جامعه‌ی فیتوپلانکتون‌ها شامل *Nitzschia* از باسیلاریوفیتا، *Pridinium* از دینوفیتا، *Aphanotece* و *Anabena* از سیانوفیتا و *Chlamydomonas* از کلروفیتا بودند. به طور کلی جنس-های غالب شامل ۶۶ درصد کل فراوانی جامعه فیتوپلانکتون است. بالاترین تراکم متوسط در شاخه Dinophyta با ۵۰ درصد مشاهده شد وکم‌ترین آن شاخه‌های Cryptophyta و Euglenophyta با ۱ درصد کل فیتوپلانکتون‌ها بودند. بیش‌ترین و کم‌ترین فراوانی فیتوپلانکتون‌ها در استخرهای میانی مشاهده شدند.

کلمات کلیدی: فیتوپلانکتون، تراکم، پرورش میگو، گمیشان.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) rpatimar@yahoo.com

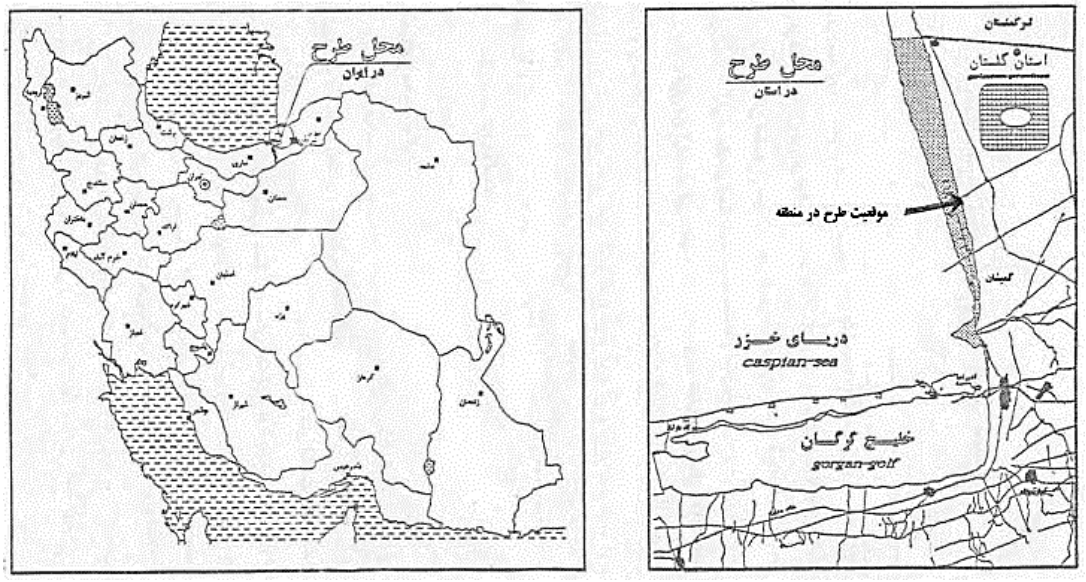
مقدمه

حیات در تمام اکوسیستم‌های آبی (شور و شیرین) از تولیدکنندگان آغاز شده و جانوران نیز به این تولیدکنندگان وابسته هستند. فیتوپلانکتون‌ها بزرگ-ترین تولیدکنندگان اولیه در منابع آبی هستند که منبع مهم غذایی برای موجودات دیگر به شمار می‌آیند (اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹). اطلاع از نوع و ترکیب جمعیت فیتوپلانکتونی این امکان را فراهم می‌نماید تا علاوه بر آگاهی از میزان تولیدات از پویایی جمعیت و چرخه‌ی زندگی آبزیان نیز اطلاعاتی را کسب نماییم. بنابراین شناخت این موجودات در هر منبع آبی از این نظر از اهمیت ویژه‌ای برخورداراست (Ajuonu *et al*., 2011; Sipauba-Tavares *et al*., 2010). فیتوپلانکتون‌ها به عنوان یکی از اجزاء اولیه بیولوژیکی در انتقال انرژی به ارگانیزم‌های واقع در سطوح بالای زنجیره‌های انرژی در اکوسیستم‌های آبی مطرح می-باشند (Saravanakumar *et al*., 2008; Tiwari and Chauhan, 2006). فیتوپلانکتون‌ها در سطح آب به لحاظ سطح تروفی و تولید اولیه اهمیت دارند به‌عبارت دیگر ترکیب گونه‌ای فیتوپلانکتون‌ها از طریق توالی فصلی، تنوع زیستی و گونه‌های بیواندیکاتور و شاخص‌های زیستی با تروفی آب مرتبط می‌شوند (Bellinger and Sigee, 2010). از سویی دیگر شناسایی و تعیین تراکم فیتوپلانکتون‌ها به همراه بررسی زنجیره‌های غذایی آبی به دلیل آگاهی از رژیم غذایی آبزیان اهمیت بسیاری دارد (صلواتیان و همکاران، ۱۳۸۹). آن‌ها همچنین نقش مهمی را در چرخه مواد غذایی اکوسیستم‌های آبی که سبب کنترل بر رشد، ظرفیت تولیدمثل و خصوصیات جمعیت گروه‌های زیستی دیگر می‌شوند را ایفا می‌کنند (Gayateri *et al*., 2011). به دلیل ارزش بالای فیتوپلانکتون‌ها تاکنون مطالعات مختلفی در ایران و جهان انجام شده است، به عنوان مثال گنجیان و همکاران (۱۳۸۷) طی سال‌های ۸۳ و ۸۴ در آب‌های حوضه جنوبی دریای خزر مجموع ۱۶۳ گونه فیتوپلانکتون از پنج شاخه را شناسایی کردند که بیش‌ترین تنوع گونه‌ای ۴۳ درصد و تراکم ۴۷ درصد به شاخه باسیلاریوفیتا تعلق داشت.درمطالعات فیتوپلانکتونی سبک‌آرا و همکاران (۱۳۹۵) به منظور امکان سنجی آبزی پروری در سد پامچی در شهرستان اردبیل در مجموع ۴ شاخه و ۳۲ جنس شناسایی شدندکه بیشترین فراوانی را شاخه باسیلاریوفیتا داشت. قریب‌خانی و همکاران (۱۳۸۸) تنوع ، تراکم و فراوانی فیتوپلانکتون‌های تالاب استیل آستارا را از بهار ۱۳۸۷ تا زمستان ۱۳۸۷ به مدت یک سال بررسی کردند، بررسی تغییرات فصلی نشان داد که در فصل تابستان ۱۰ شاخه و ۲۵ جنس و در فصل پاییز ۵ شاخه و ۱۰ جنس شناسایی شدند که به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تنوع فیتوپلانکتونی را دارا بودند. مطالعه ترکیب و فراوانی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها در استخرهای خاکی میگوی پاسفید دلوار بوشهر توسط بختیاری و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد که جنس‌های غالب از جامعه‌ی فیتوپلانکتونی شامل *Naricula cosinodiscus*، *Nitschia*، *Rhizo solenia*، *Pleuro sigma* از دیاتوم-ها، جنس‌های *Peridinium* و *Ceratium* از دینوفلاژلاته‌ها، جنس *Osillatoria* از سیانوفیتا و جنس *Nannochloropsis* از کلروفیتا بودند. در بررسی فراوانی و تنوع زیستی جامعه فیتوپلانکتونی استخرهای پرورش ماهی که توسط کمالی و همکاران (۱۳۹۲) انجام شد، در مجموع ۷ خانواده و ۳۹ جنس از فیتوپلانکتون‌ها شناسایی شدند که از این میان ۱۸ جنس

به خانواده کلروفیتا، ۱۰ جنس به خانواده سیانوفیتا، ۶ جنس به خانواده باسیلاریوفیتا، ۲ جنس به خانواده اوگلنافیتا، یک جنس به خانواده دینوفیتا و یک جنس به خانواده کریزوفیتا متعلق بودند. طی مطالعاتی که باقری و همکاران (۱۳۹۴) بر روی فیتوپلانکتون‌ها و تغییرات موادمغذی در دریای خزر (منطقه گیلان) در طول سال‌های ۲۰۰۴-۲۰۰۳ داشتند، ۷۵ گونه فیتوپلانکتون مشخص شدند که دیاتومه‌ها بیش‌ترین فراوانی را داشتند. Naz و Turkman (۲۰۰۵) توزیع فصلی ارگانیسم‌های فیتوپلانکتونی در دریاچه گولباسی (GOLBASI) را بررسی کردند که ۲۴ گونه متعلق به شاخه باسیلاریوفیتا، ۲ گونه به شاخه پروفیتا، ۲ گونه به شاخه کلروفیتا، ۲ گونه به شاخه سیانوفیتا و یک گونه به شاخه کریزوفیتا تعلق‌داشتند. ترکیب گونه‌ای و توالی فصلی فیتوپلانکتون‌ها در دریاچه کاستوریا (یونان) در طول دوره نوامبر ۱۹۹۸ تا اکتبر ۱۹۹۹ توسط Moustaka (۲۰۰۷) مورد بررسی قرار گرفت در مجموع ۶۷ گونه شناخته‌شدند که سیانوباکتری‌ها غالب بودند. بر اساس مطالعاتی که توسط Babu و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تنوع فیتوپلانکتون‌ها درآبزی‌پروری و آب‌های مجاور تالاب در ایستگاه‌های مختلف سواحل جنوب‌شرقی هند صورت گرفته ۱۰۱ گونه فیتوپلانکتون ثبت شد که ۷۶ گونه متعلق به دیاتوم‌ها، ۱۷ گونه دینوفلاژله‌ها، ۵ گونه سیانوفیتا، ۲ گونه کلروفیتا و یک گونه سیکلوفلاژلاتا می‌باشد. در استخرهای پرورشی میگو بخصوص در استخرهای پرورش میگوی گمیشان از نوع و ترکیب جمعیت فیتوپلانکتون‌ها در هنگام ذخیره سازی پست لارو اطلاعات چندانی در دسترس نیست، لذا با توجه به اهمیت موضوع، در تحقیق حاضر سعی شده است تا ترکیب گونه ای فیتوپلانکتون‌های مجتمع میگوی گمیشان در طی دوره ۶ ماهه، در سال ۱۳۹۵ بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضردر طی ماه‌های پرورش در استخرهای خاکی مجتمع پرورش میگوی گمیشان واقع در فاصله ۱۷ کیلومتری شمال شهر گمیشان و در جنوب‌شرقی دریای خزر صورت گرفت(شکل ۱).



شکل۱: موقعیت مکانی مجتمع پرورش میگوی گمیشان

تعداد۶ استخر(استخرهای ۱۲-۹-۸-۵-۴-۱) هر کدام به مساحت ۱ هکتار با عمق ۱/۵ متر در این تحقیق بررسی‌شد.

نمونه‌برداری از آب استخرها به صورت ماهانه (اردیبهشت تا مهر) از سه ایستگاه در هر استخر به صورت مستقیم نزدیک ورودی، میانی و نزدیک خروجی انجام گرفت. ازهراستخر سه لیتر آب با استفاده از بطری‌های شیشه‌ای تیره از لایه‌های سطحی آب(۵۰-۳۰ سانتی متری) جمع‌آوری شد(نصراله زاده ساروی و همکاران، ۱۳۹۲) و از مجموع این سه ایستگاه یک نمونه شاخص به حجم یک لیتر تهیه شد و بلافاصله بوسیله ۵۰ میلی لیتر فرمالین خنثی به ازای هر لیتر آب فیکس شدند. سپس نمونه‌ها جهت آماده‌سازی به آزمایشگاه منتقل و در دمای ثابت آزمایشگاه در مکان تاریک به مدت ۱۴-۱۰ روز نگه‌داری شدند تا کاملا رسوب نمایند. سپس مقدار ۷۰۰ سی‌سی از نمونه‌ی فیکس شده از قسمت بالایی آن سیفون شده و ۳۰۰ سی‌سی باقی‌مانده به ظروف ۱۰ و ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و به حجم نهایی ۳۰ سی‌سی رسانده‌شد.

برای شناسایی فیتوپلانکتون‌ها مقدار معینی از نمونه روی لام سجویک اضافه شد و زیر میکروسکوپ تمام میدان‌های دید برای شناسایی فیتوپلانکتون‌ها مشاهده-گردید و هر ارگانیسمی را که فیتوپلانکتون بود با استفاده از کلیدهای شناسایی مصور مختلف ازجمله اسماعیلی ساری (۱۳۷۹)، Boney (۱۹۸۸)،Bellinger و Sigee (۲۰۱۰، ۲۰۱۵)، Hillary Belcher و Erica Soleil (۱۹۷۶) و کلیدهای شناسایی موجود در مرکز تحقیقات شیلات موردبررسی قرارگرفته و شناسایی‌شد. به‌وسیله میکروسکوپ اینورت و میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی x۴۰ شناسایی فیتوپلانکتون‌ها صورت گرفت. مقایسه فراوانی شاخه‌های فیتوپلانکتون بین ماه-ها و ایستگاه‌ها در هر ماه از طریق آزمون کای اسکور(X^2) نشان داده شد. تجزیه و تحلیل داده ها و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excell و SPSS انجام شد.

نتایج

درنتیجه بررسی‌های جامعه‌ی فیتوپلانکتونی در این تحقیق به‌طورکلی از ۶ استخر موردبررسی ۲۳ جنس شناسایی شد که متعلق به ۶ شاخه می‌باشد. ۸ جنس به شاخه‌ی Bacillariophyta، ۶ جنس به شاخه‌ی Cyanophyta، ۵ جنس به شاخه‌ی Chlorophyta، ۲ جنس به شاخه‌ی Dinophyta، ۱ جنس به شاخه‌ی Cryptophyta و ۱ جنس به شاخه‌ی Euglenophyta تعلق‌گرفت (جدول ۱).

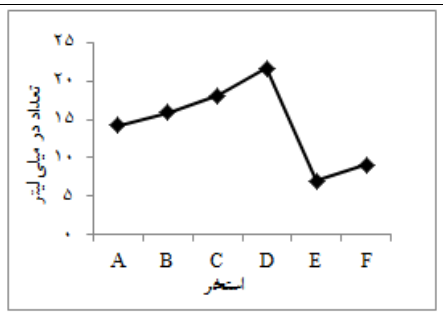
میانگین تراکم ماهانه فیتوپلانکتون‌های استخرهای مورد مطالعه را در شکل‌های ۲ تا ۷ مشاهده می‌کنید، در خرداد ماه میزان تراکم جوامع فیتوپلانکتونی افزایش یافته و به‌تدریج با رسیدن به پایان مرحله پرورش در مهر ماه تراکم جوامع فیتوپلانکتونی کم شده است. در مجموع استخر D با ۱۶/۰۱ دارای بالاترین و استخر E دارای کم‌ترین مقدار میانگین تراکم نهایی بودند (شکل ۸). همچنین درصد فراوانی شاخه‌های مختلف فیتوپلانکتونی به ترتیب ۲۰، ۱۷، ۱۲، ۵۰ و ۱ برای شاخه‌های Chlorophyta، Cyanophyta، Bacillariophyta، Dinophyta، Cryptophyta و Euglenophyta بود (شکل ۹).

از لحاظ درصد غالبیت کل جنس Chlamydomonas با ۶۳ در صد جنس غالب شاخه Chlorophyta را تشکیل داده بود. همچنین

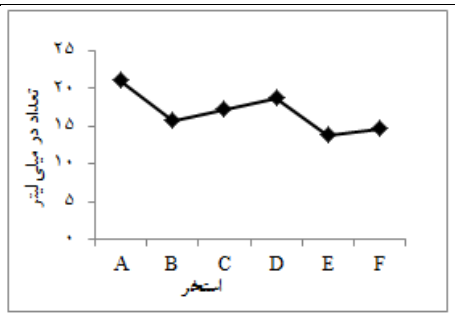
جنس‌های Aphanotece و Anabena با ۳۴ درصد غالبترین جنس‌های شاخه Cyanophyta بودند.جنس Nitzschia از شاخه Bacillariophyta با ۳۷ در صد جزو جنس‌های غالب بود. در شاخه Dinophyta جنس غالب را Pridinium با ۹۶ در صد تشکیل داده بود. به طور کلی از مجموع ۲۳ جنس مورد شناسایی تعداد ۵ جنس از جنس‌های غالب در بین ۴ شاخه نسبت به جنس‌های شاخه‌های دیگر حدود ۶۶ در صد تراکم فیتوپلانکتونی را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۰). مقایسه فراوانی برای همه‌ی شاخه‌های فیتوپلانکتون بین تمام ماه‌ها از طریق آزمون کای‌اسکورنشان داد که بین شاخه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0.05$)(جدول ۲). هم‌چنین درمقایسه فراوانی فیتوپلانکتون برای همه‌ی شاخه‌های بین ایستگاه‌ها در هرماه از طریق آزمون کای‌اسکور نشان داد که اختلاف معنی‌دار بین شاخه‌ها وجود داشت ($P<0.05$) (جدول ۳).

جدول ۱: جنس‌های فیتوپلانکتونی شناسایی شده دراستخرهای پرورش میگوی گمیشان- ۱۳۹۵

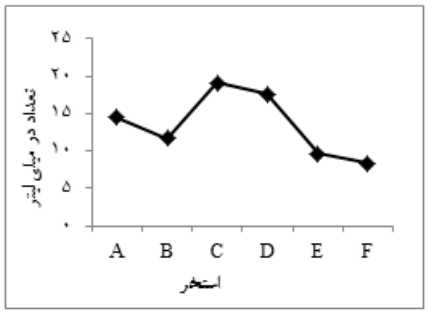
Chlorophyta	Cyanophyta	Bacillariophyta	Dinophyta	Cryptophyta	Euglenophyta
Ankistrodesmus	*Aphanotece*	*Cyclotella*	*Pridinium*	*Cryptomonas*	*Euglena*
Chlamydomonas	*Anabena*	*Cymbella*	*Ceratium*		
Oocystis	*Lyngbya*	*Chetocerous*			
Senadesmus	*Ocillatoria*	*Fragillaria*			
Tetradron	*Raphidiopsis*	*Gyrosigma*			
	Spirulina	*Nitzschia*			
		Navicula			
		Surirella			



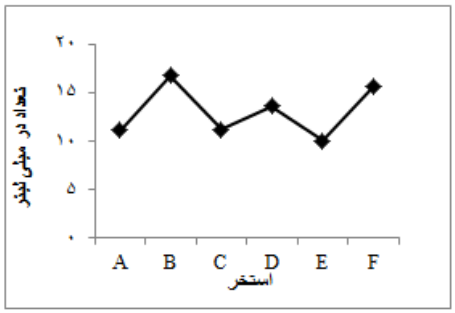
شکل ۲-تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها در اردیبهشت ماه



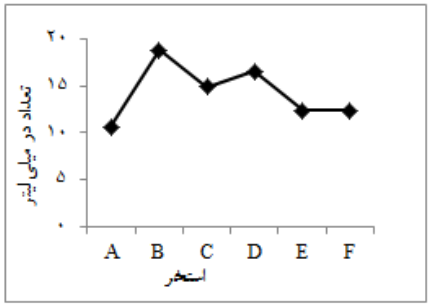
شکل ۳-تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها درخرداد ماه



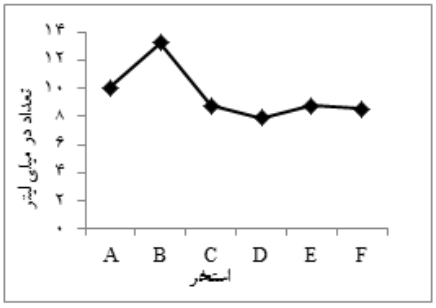
شکل ۴-تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها درتیر ماه



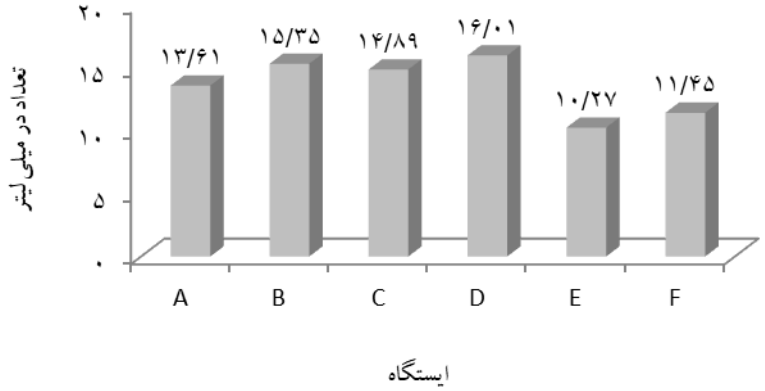
شکل ۵-تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها درمرداد ما



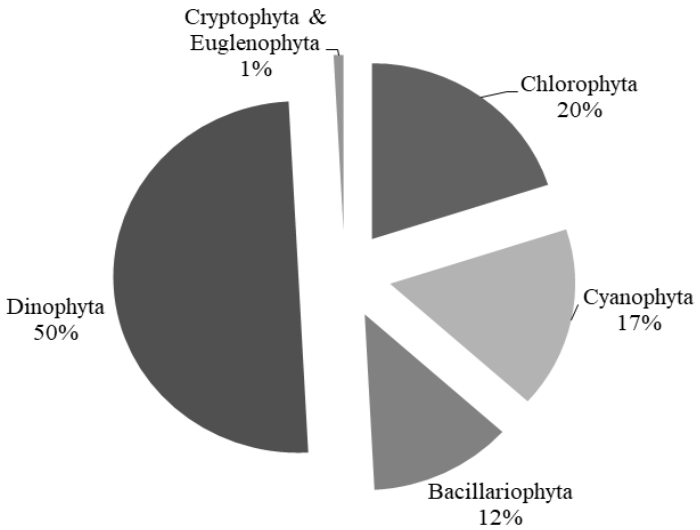
شکل ۶- تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها درشهریور ماه



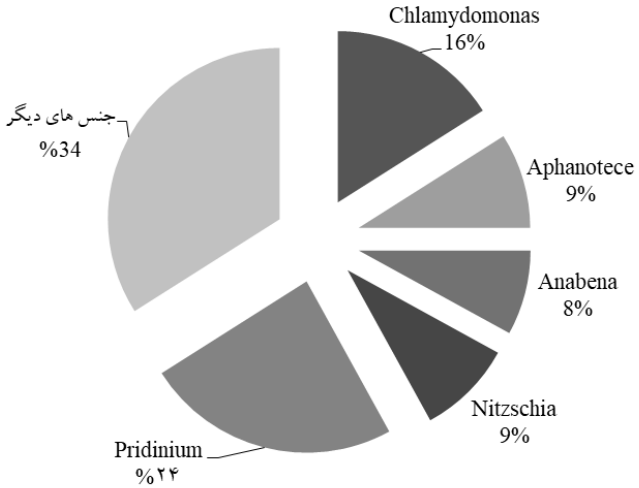
شکل ۷- تراکم جوامع فیتوپلانکتونی استخرها درمهر ماه



شکل ۸ – میانگین تراکم نهایی جوامع فیتوپلانکتونی در استخرهای مورد بررسی



شکل ۹ – نمودار فراوانی درصد شاخه‌های مختلف فیتوپلانکتونی استخرهای مجتمع پرورش میگوی گمیشان



شکل ۱۰ – نمودار فراوانی جنس‌های غالب فیتوپلانکتونی استخرهای مجتمع پرورش میگوی گمیشان

جدول۲- تغییرات بین شاخه‌های فیتوپلانکتون موجودبین ماه‌ها

	Cyanophyta	Chlorophyta	Bacillariophyta	Dinophyta	Cryptophyta	Euglenophyta
Chi-squar	۱/۶۵۵	۴/۳۸۳	۴/۵۵۳	۷/۳۷۱	۱/۹۴۳	۱/۱۶۵
df	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
sig	۰	۰	۰	۰	۰	۰

جدول۳-تغییرات بین شاخه‌های فیتوپلانکتون موجود بین ایستگاه‌ها در هر ماه

	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر
Chi-square	۷/۷۰۳	۷/۷۱	۸/۴۶۶	۸/۶۰۵	۹/۹۹۱	۴/۷۶۴
df	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
sig	۰	۰	۰	۰	۰	۰

بحث

در این پژوهش ۲۳ جنس از ۶ شاخه ی فیتوپلانکتون‌ها شناسایی شدند هم‌چنین با بررسی که برروی جوامع فیتوپلانکتونی در استخرهای مجتمع پرورش میگوی گمیشان انجام‌شد مشخص گردید که تراکم Dinophyta از دیگر جوامع فیتوپلانکتونی استخرهای پرورش میگو بیشتر است ولی از لحاظ تنوع زیستی شاخه Bacillariophyta بیشترین تنوع را دارد. تراکم فیتوپلانکتون‌ها در ماه‌های اول بالا وبانزدیک شدن به فصل برداشت کاهش یافت. همچنین استخر D

دارای بیشترین تراکم و استخر E کم‌ترین تراکم فیتوپلانکتونی را دارد. با توجه به پژوهش‌های صورت-گرفته چوبیان و همکاران (۱۳۸۴) تعداد ۲۲ جنس از کارگاه یوسف پور و ۲۱ جنس از کارگاه شهید بهشتی از ۵ شاخه کلروفیتا، سیانوفیتا، کریزوفیتا،کریپتوفیتا و اگلنافیتا گزارش نمودند که در بیش‌تر نمونه‌های موردبررسی جنس Schroederia از شاخه کلروفیتا گروه غالب را تشکیل می‌داد. Sen و Sonmez(۲۰۰۶) بامطالعه خود درمجموع۹۳جنس معرفی نمودند که ۶۴جنس آن‌ها متعلق به شاخه باسیلاریوفیتا، ۱۴ جنس مربوط به شاخه کلروفیتا ، ۹جنس متعلق به شاخه سیانوقیتا و ۶ جنس متعلق به خانواده اوگلنافیتا بود. سبک آرا و مکارمی (۱۳۹۲) نیز در مطالعات قیتوپلانکتونی خود در دریاچه سد ارس ۴ شاخه و ۴۱ جنس شناسایی کردندکه غالبیت با شاخه باسیلاریوفیتا می‌باشد که هردو مطالعه با نتایج تحقیق حاضر که ازلحاظ تنوع زیستی شاخه باسیلاریوفیتا غالب بود یکسان می‌باشد. سراجی در سال ۱۳۷۹ در بررسی بر روی فیتوپلانکتون‌های منطقه بندرعباس گزارش‌کرد که تراکم فیتوپلانکتون‌ها در ماه‌های خنک سال بیشتر از ماه‌های گرم سال است که نتایج پژوهش حاضر تراکم فیتوپلانکتون ها را در ماه‌های گرم سال بیش‌تر از ماه‌های خنک سال نشان می‌دهد. اختلاف‌های موجود بین نتایج این پژوهش با نتایج سایر پژوهشگران می‌تواند در نوع، سن و تراکم ذخیره‌سازی گونه‌های پرورشی، اقلیم منطقه، فصل‌های مختلف پرورش، سن استخرها، بیوماس ماکروفیت‌ها در استخرها، مدیریت کود دهی، نوع خاک بستر، منبع تأمین آب و سایر رابطه‌های ناشناخته باشد(Soon park and Wung shin, 2007). مطالعاتی که مخلوق و همکاران (۱۳۹۰) انجام دادند، نشان داد که گونه‌های جدید به دلیل توانایی شکوفا شدن، تولید سم و نیز مواد شیمیایی دارای خاصیت آلوپاتی بر روی اکولوژی و اقتصاد منطقه و نیز سلامت انسان، اثرات منفی می‌گذارند؛ بنابراین شناسایی و برآورد جمعیت و گستردگی مکانی این گونه‌ها در منطقه موردمطالعه ضروری می‌باشد. تغییرات فصلی فیتوپلانکتون ها در تالاب ساحلی وابسته به دریای مدیترانه توسط Bec و همکاران (۲۰۰۵) از فوریه ۱۹۹۹ تا ژانویه ۲۰۰۰ موردبررسی قرارگرفت و نتایج بررسی نشان داد که در طول ماه‌های مختلف نوسانات مواد مغذی وجود داشته که در تراکم فیتوپلانکتون ها تأثیرگذار بوده است. به این صورت که بیش‌ترین تعداد در ماه آوریل و ژانویه و کم‌ترین تعداد را در ماه‌های می رؤیت کردند. جنس‌های شاخه Dinophyta براساس ساختار و نحوه حرکت خود به گونه‌ای در لایه های آب قرار می‌گیرند که بتوانند در تمام مناطقی که نور نفوذ کرده غنی از مواد مغذی هستند قرارگرفته و از آن استفاده نمایند (Carter *et al*., 2005). دیاتومه‌ها در آب‌های سرد زندگی می‌کنند و در زمستان به حداکثرتعداد خود می‌رسند در حالی که دیاتوم‌های دیگر در آب‌های گرمسیری زندگی می‌کنند دیاتومه‌ها در مقایسه با شاخه‌های دیگرفیتوپلانکتون بیش‌ترین رشد را در فصول مختلف دارند و هم‌چنین دارای بیش ترین تراکم نیز هستند (Ganjian and Makhlough, 2003; Ganjian *et al*., 2004). Cyanophyta بیشتردر آب‌های گرم و غنی از مواد مغذی یافت‌می‌شوند و در آب‌های سرد بین رسوبات رفته و تکثیر نمی‌شوند (مشائی، ۱۳۸۵). قدرت رقابتی شاخه باسیلاریوفیتا نسبت به دینوفیتاها بیش‌تر می‌باشد و با افزایش شدت نور و دما بیش‌تر می‌شود همچنین از نظر اقتصادی دیاتومه‌ها

مهم‌ترین فیتوپلانکتون‌ها برای تغذیه آبزیان هستند (عبدل زاده و همکاران، ۱۳۸۸). در بیش‌تر مطالعات صورت گرفته توسط محققان یکی ازشاخه‌های کلروفیتا، سیانوفیتا و باسیلاریوفیتا غالب بودند. در میان انواع زیاد فیتوپلانکتون‌ها هر کدام در یک سری شرایط مطلوب خود افزایش می‌یابند و آن‌هایی که نمی‌توانند با شرایط موجود برای این گونه رقابت‌کنند کاهش جمعیت خواهندداشت. وقتی چند گونه با هم افزایش جمعیت نشان می‌دهند نشان دهنده این است که نیازهای مشابهی دارند (قریب خانی و همکاران، ۱۳۸۸). عوامل مختلفی هم چون فیتوپلانکتون‌ها و جوامع دیگر پلانکتونی، پتانسیل رشد ژنتیکی، روش پرورش، فاکتورهای زیست محیطی و مواد مغذی در رشد آبزیان تاثیر دارند (Ponce-Palafox *et al*., 2010). افزایش تراکم فیتوپلانکتون‌هادر ابتدای دوره پرورش ممکن است به دلایل مختلف مثل کوددهی، نور و دمای مناسب که به صورت مستقیم و غیرمستقیم که رشد وتکثیر فیتوپلانکتون‌ها را تشدید می‌کند باشد و کم شدن تراکم در ماه آخر در طی دوره پرورش می‌تواند به دلیل افزایش تراکم میگو، کم شدن موادمغذی برای تغذیه فیتوپلانکتون‌ها و نوسانات شرایط محیطی و غیره باشد. هم‌چنین کم بودن یک گونه مفید برای میگو در داخل آب می‌تواند در اثر تغذیه میگو از آن نیز باشد. روش‌های مدیریتی از قبیل تراکم ذخیره‌سازی، کوددهی، غذادهی در استخرهای پرورش میگوو هم-چنین به دلیل عمق کم استخرهای پرورشی میگو، میزان مواد مغذی در استخر بالا رفته و در نتیجه باعث افزایش فیتوپلانکتون‌هادر استخرها می‌شود بنابراین استخرهای مجتمع پرورش میگوی گمیشان نسبت به منابع آبی دیگر از نظر تنوع زیستی مقدار بالایی را دارند. در بررسی کلی، حضور فیتوپلانکتون‌های مفید و بالابردن میزان آن‌ها در استخرهای پرورش میگودر رشد وبقا پست لاروها و افزایش میزان تولید در استخرها می‌تواند مفید واقع شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر علی‌اکبریان، جناب آقای مهندس مختوم، جناب آقای مهندس پورصوفی، جناب آقای شافعی به لحاظ همکاری‌های ارزنده تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

۱. اسماعیلی ساری، ع.، ۱۳۷۹. باکتری‌ها ، جلبک ها و بی‌مهرگان آب شیرین. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی. ۵۱۶ صفحه.

۲. بختیاری، ن.، فرهادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن. و محمدی، م.، ۱۳۹۱. بررسی ترکیب و فراوانی فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌های استخرهای خاکی پرورش میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannami*). مجله منابع طبیعی ایران، نشریه شیلات. ۶۵(۳): ۲۵۷-۲۶۹.

۳. چوبیان، ف.، نیکوئیان، ع.ر.، روفچائی، ر.، ارشد، ع.، صادقی راد، م.، حدادی مقدم، ک. و پژند، ذ.، ۱۳۸۴. مقایسه فراوانی پلانکتون‌ها و کفزیان کارگاه‌های پرورش تاس ماهیان و بررسی نقش آ-نها در ضریب چاقی بچه ماهیان. مجله علمی شیلات ایران، ۴(۱): ۵۱-۶۴۱.

۴. سبک‌آرا، ج. و مکارمی، م.، ۱۳۹۲. پراکنش و فراوانی پلانکتونی و نقش آنها در پرورش ماهی در

دریاچه سد ارس. مجله توسعه آبزی‌پروری. ۷(۲): ۴۱-۵۹.

۵. سبک‌آرا، ج.، مکارمی، م.، ولی‌پور، ع.ر.، ۱۳۹۵. جوامع پلانکتونی پایاب سد یامچی به منظور امکان سنجی آبزی‌پروری در شهرستان اردبیل. مجله توسعه آبزی‌پروری، ۱۰(۱): ۷۱-۸۹.

۶. سراجی، ف، ۱۳۷۹. تراکم و تنوع جمعیت پلانکتونی در مناطق شرقی و مرکزی و غربی بندرعباس. مجله علمی شیلات ایران، ۴۵(): ۱۵-۲۶.

۷. صلواتیان، س. م.، عبداله پوربی ریا، ح.، نظامی بلوچی، ش.، مکارمی، م. و پورغلامی مقدم، ا.، ۱۳۸۹. ترکیب گونه‌ای وتراکم فیتوپلانکتونی در دریاچه پشت سد لار. مجله اکوبیولوژی تالابف ۲(۳): ۲۶-۳۸.

۸. عبدل زاده، ا.، رمضان نژاد قادی، ر و. و صادقی پور، ح ر.، ۱۳۸۸. مقدمه‌ای برجلبک‌ها، قارچ‌ها و گلسنگ‌ها(تالوفیت‌ها). دانشگاه گلستان. گرگان. ۴۵۷ صفحه.

۹. قریب خانی، م.، تاتینا، م.، رمضانپور، ز. و چوبیان، ف.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ، تراکم و فراوانی فیتوپلانکتون‌های تالاب استیل آستارا. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. ۳(۴):۱-۱۵.

۱۰. کمالی، م.، ۱۳۹۲. فراوانی و تنوع زیستی فیتوپلاکتون های استخرهای پرورش ماهیان گرمابی. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. سال هشتم. شماره دوم، تابستان، ص ۱۹-۲۸.

۱۱. گنجیان، ع.، مزنا، ن.، خیرون، ی.، فضلی، ح.، فارابی، س.م.، روحی، ا.، مکرمی، ع.و. و لاریمی، ا.ز.، ۱۳۸۷. تأثیر شانه‌دار *Mnemiopsis leidyi* بر روی ساختار جمعیتی فیتوپلانکتون حوضه جنوبی دریای خزر. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر. ۵(۲): ۲۹-۳۸.

۱۲. مخلوق، آ.، نصراله زاده ساروی، ح.، پورغلام، ر. و رحمتی، ر.، ۱۳۹۰. معرفی گونه های سمی و مضر جدید فیتوپلانکتون در آب های سواحل ایرانی حوزه جنوبی دریای خزر. مجله علوم زیستی، ۵(۲): ۷۷-۹۳.

۱۳. مشائی، ن.، ۱۳۸۵. بررسی پراکنش وفراوانی پلانکتون‌های گیاهی خور باهوکلات. مجله پژوهش و سازندگی(امور دام و آبزیان)، ۷۰: ۱۵-۲۲.

۱۴. نصراله زاده ساروی، ح.، مخلوق، آ.، واحدی، ف.، نصراله تبار، ع. و علومی، ی.،۱۳۹۲. بررسی مطالعه نسبت‌های استوکیومتر ماکرونوترینت در محدودیت رشد فیتوپلانکتون در سواحل ایران حوزه جنوبی دریای خزر. مجله زیست شناسی دریا دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۱۷(۵): ۷۱-۸۶.

15. Ajuonu, N., Ukaonu, S.U., Oluwajoba, E.O., Mbawuike, B.E., Wiliams, A.B. & Myade, E.F., 2011. The abundance and distribution of plankton species in the bonny estuary, Nigeria, 154: 177-19.

16. Babu, A., Varadharajan, D., Vengadesh-perumal, N., Thilagavathi, B., Manikandarajan, T., Sampathkumar, P. & Balasubramanian, T., 2013. Diversity of phytoplankton in different stations from Muthupettai, south-east coastof India. J. Marine Sci Res Dev 3:3.

17. Bellinger, E. G. and D. C. Sigee., 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. John Wiley &Sons Ltd, 271 p.

18. Bec, B., Husseini-Ratrema, J., Collos, Y., Souchu, P. & Vaquer, A., 2005. Phytoplankton seasonal dynamics in a Mediterranean coastal lagoon: emphasison the Pico eukaryote community. J. Plan. Re. 27(9): 881-894.
19. Boney, A.D., 1989. Phytoplankton. Edward annoid. British library cataloguing publication data, 118 p.
20. Carter, C.M., Ross, A.H., Schiel, Howard-Williams, C. & Hayden, B., 2005. In situmicrocosm experiment on the influence of nitrate and light on phytoplankton community composition, National Institute of water and Atmospheric Research Ltd., New Zealand. pp.1-13.
21. Ganjian, A., & Makhlogh A., 2003a. Distribution the dominant groups of phytoplankton (Chrysophyta and pyrrophyta) in the southern part of the Caspian Sea. Iranian FisheriesScientific Journal, 12(1): 103-116.
22. Ganjian, A., Fazli, H., Mokhlogh, A. & Kiyhansani, A., 2004. The distribution survey of phytoplankton in the southern part of CaspianSea, Environmental Sciences, 1 (4): 65-72.
23. Gayatheri, N., Rajashekhar, M., Kaneez, F., Vijaykumar, K., Rat, A., & Mahesh, B., 2011. Hydrochemistry and Plankton Diversity of Tungabhadra Reservoir Bellary District, Karnataka. Internationa Journal of Zoological Reseatch, 1(1): 1-7.
24. Moustaka-Gouni, M., 2007. Phytoplankton species succession in a shallow Miditerranean lake (L, kastario, Greece): steady-state dominance of limnothrix Redekei, Microcystis aeruginosa and cylindrospermopsis raciborskii. Hydrobiologia. January. 2007. 575: 129-140.
25. Naz, M., and Turkman, M., 2005. Phytoplankton Biomass and Species Composition of Lake Golbasi (Hatay-Turkey). Turkish Journal of Biology, 29: 49-56.
26. Saravanakumar, A., J. SeshSerebiah, G. A. Thivakaran and M. Rajkumar., 2008. Benthic macrofaunal assemblage in algal communities from four lakes of different trophic state. Arch. Hydrobiol. 488.
27. Sipaúba-Tavares, L.H., Donadon, A.R.V. & Milan, R.N., 2011. Water quality and plankton populations in an earthen polyculture pond. Brazil. J. Biol. 71 (4): 845-855.
28. Sen, B. & Sonmez, F., 2006. A study on the algae in fish ponds and their seasonal variations. International Journal of Science and Technology, 1: 25-33.
29. Soon Park, K., and Wung Shin, H., 2007. Studies on phyto and zooplankton composition and its relation to fish productivity in a west coast fish pond ecosystem. J. Environ. Biol. 28 (2): 415-422..
30. Tiwari, A. and S. V. S. Chauhan., 2006. Seasonal phytoplanktonic diversity of Kitham Lake. Journal of nvironmental Biology, 29(2): 233-236.

اثر کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

امید یزدی[۱]، اسماعیل پیرعلی خیرآبادی*[۱]، روح اله رحیمی[۱]، مهرداد فتح الهی[۱]، سیده عاطفه میراحمدی[۱]

۱- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۸

چکیده

کرم خاکی *Eisenia fetida* جزو گونه‌های مهم تجاری است که پرورش آن در چند سال گذشته در جهان و ایران افزایش پیدا کرده است. تهیه غذا در تولید متراکم، مهم‌ترین فرآیند در پرورش آبزیان به شمار می‌آید و هزینه آن به طور معمول ۶۰-۳۰ درصدکل هزینه های لازم را برای سیستم‌های پرورش ماهی و سخت پوستان تشکیل می‌دهد. استفاده از غذاهای زنده به لحاظ حفظ ارزش غذایی تا زمان مصرف، دارا بودن آنزیم‌های گوارشی و کمک به هضم راحت‌تر غذا به هنگام مصرف و کاربردهای ارزشمند دیگر مورد توجه می‌باشد. این بررسی به منظور استفاده از کرم خاکی در تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان انجام گردید. در این تحقیق اثر سطوح مختلف کرم خاکی بر روی شاخص‌های رشد و هماتولوژی ماهی قزل آلای رنگین کمان اندازه‌گیری شد. ۳۶۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی ۱۰ گرم در ۴ تیمار آزمایشی (هر تیمار ۹۰ ماهی) تقسیم شدند. چهار جیره غذایی حاوی ۱۰، ۲۰، ۳۰ درصد و یک جیره بدون کرم خاکی به عنوان شاهد در یک دوره پرورش ۱۰ هفته ای مورداستفاده قرارگرفت. از نظر آماری بین جیره‌های حاوی سطوح‌مختلف کرم‌خاکی تفاوت معناداری در هیچ‌یک از شاخص‌های رشد و هماتولوژِی وجود نداشت. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش و سادگی پرورش کرم خاکی می توان کرم خاکی را تا سطح ۳۰ درصد در جیره ماهی قزل آلا به کار برد بدون آنکه اثرات منفی روی رشد این ماهی داشته باشد.

کلمات کلیدی: کرم‌خاکی(*Eisenia fetida*)، قزل‌آلای‌رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)، تغییرات رشد، فاکتورهای‌خونی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) esmaeil_pirali@yahoo.com

مقدمه

پرورش آبزیان به عنوان یکی از فعالیت‌های مهم تولیدی در بسیاری از کشورهای جهان محسوب می‌شود. در این ارتباط کمبود منابع آبی سبب شده است که در بیشترین کشورها پرورش متراکم جایگزین روش های نیمه متراکم و گسترده گردد (فهیم دژبان،۱۳۹۲). تهیه غذا در تولید متراکم مهم‌ترین فرآیند در پرورش آبزیان به‌شمار می‌آید و هزینه آن به طورمعمول ۶۰-۳۰٪ کل هزینه های لازم را برای سیستم های پرورش ماهی و سخت‌پوستان تشکیل می‌دهد (افشار مازندران، ۱۳۸۱). بنابراین مطالعه در این زمینه از اهمیت ویژه ای برخورداراست.

امروزه ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان به عنوان مهمترین ماهی پرورشی در ایران محسوب می‌گردد (خارا و همکاران، ۱۳۹۲). تغذیه یکی از مهم‌ترین جوانب پرورش ماهی قزل‌آلا بوده و قادر خواهدبود تا وضعیت سلامتی و عملکرد رشد در ماهیان‌پرورشی را تحت تاثیر قراردهد (ایمان‌پور و همکاران، ۱۳۹۸). قزل‌آلای‌رنگین‌کمان از نظر تغذیه‌ای گونه‌ای گوشت-خوار محسوب می‌شود که از نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ماهیان‌ریز و بسیاری دیگر از انواع آبزیان‌کفزی و شناور تغذیه می‌نمایند. در شرایط پرورشی بایستی غذای قزل-آلا شامل کلیه اجزا غذایی لازم و مورد نیاز باشد تا بتوان رشد خوب و مرگ و میر پایین از آن انتظار داشت. غذای کامل قزل آلا در سیستم پرورشی مخلوطی است از پودر ماهی، آردهای گیاهی که با مواد معدنی و ویتامین های خالص مخلوط می شود (صالحی، ۱۳۹۰). ترکیبات هر ماده غذایی بویژه میزان پروتئین، عامل مهمی در انتخاب آن به عنوان غذا در صنعت کشت و پرورش آبزیان می باشد. منابع پروتئینی در جیره علاوه بر اینکه بخش مهمی از جیره آبزیان را به خود اختصاص می دهند، گران‌ترین بخش جیره نیز محسوب می‌گردند. استفاده از غذاهای زنده به لحاظ حفظ ارزش غذایی تا زمان مصرف، دارا بودن آنزیم های گوارشی و کمک به هضم راحت تر غذا به هنگام مصرف و کاربردهای ارزشمند دیگر، مورد توجه می باشد. در بین انواع غذاهای زنده، استفاده از برخی از کرم‌ها و کرمی‌شکلان روند افزایشی پیدا کرده است (صفرخانلو،۱۳۸۳).

کرم‌خاکی *Eisenia foetida* از انواع غذاهای زنده ای است که با ترکیبات پروتئینی(اسیدهایآمینه) واسیدهای‌چرب خود قادر به تأمین نیازهای تغذیه‌ای آبزیان می‌باشد. میزان چربی به نسبت کم آن (۱۱-۹ درصد) در مقایسه با سایر غذاهای زنده در کنار درصد بالای پروتئین (۶۳-۵۹ درصد)، کرم‌خاکی را در ردیف غذاهای با ارزش قرار داده‌است (Ng *et al.*, 2001). ترکیبات مناسب اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری و وجود امگا ۳ زیاد در این موجود، استفاده از آن را نسبت به منابع گیاهی متمایز ساخته است (Ng *et al.*, 2001). هضم و جذب آسان کرم‌خاکی، علاوه بر دیگر خصوصیات مفید آن، استفاده آن را در پرورش دوران نوزادی و لاروی انواع آبزیان، کاربردی ساخته است. استفاده از غذای زنده در تغذیه آبزیان باعث افزایش رشد و درصدبقا، تحمل بیشتر نوسانات محیطی و بیماری و جذب بهتر پروتئین در بدن می‌گردد (Ng *et al.*, 2002). استفاده از کرم‌خاکی بویژه در تغذیه بچه ماهیان می‌توان علاوه بر تامین احتیاجات غذایی آن‌ها صرفه‌جویی قابل‌توجهی در هزینه‌های تغذیه آبزیان به‌عمل‌آورد (William *et al.*, 2000) .

سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ تأثیر جایگزینی پودر ماهی با پودر کرم‌خاکی در جیره غذایی بر عملکرد رشد و کارایی تبدیل در بچه تاس‌ماهیان سیبری به مدت ۱۲ هفته بررسی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان‌داد که تیمار ۱۰ درصد و ۲۰ بالاترین وزن نهایی را در بین سایر تیمارها داشتند.

Tacon و همکاران در سال۱۹۸۳ ارزش غذایی سه نوع کرم‌خاکی شامل *Allolobophora longa*، *Lumbricus terrestris* و *Eisenia fetida* را در جیره قزل آلای‌رنگین‌کمان به‌جای پودر ماهی هرینگ مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که میزان رشد ماهی‌هایی که پلت حاوی ۵۰ درصد پودر کرم‌خاکی آیزنیا فتیدا مصرف کرده‌بودند، همانند میزان رشد در تیمار پلت ۱۰۰ درصد ماهی هرینگ بود. Yang و همکاران، در سال ۲۰۰۱، که در تغذیه ماهی آب‌شیرین رودخانه‌ای چین *Mystus guttatus* از کرم‌خاکی استفاده‌کردند، رشد بهتری در مقایسه با گروه شاهد، به وضوح مشاهده‌گردید.

بنابراین استفاده از کرم‌خاکی در تغذیه ماهی قزل آلا می‌تواند بر روی فاکتورهای رشد این ماهی تاثیرگذار باشد .

بافت خون شاخص مهمی برای وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان می‌باشد و تجزیه و تحلیل شاخص‌های خونی راهنمای با ارزشی در ارزیابی وضعیت زیستی آبزیان می‌باشد (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین می توان بیان داشت که تغذیه ماهی به عنوان یکی از شرایط محیطی قابل تغییر می تواند بر روی فاکتورهای خونی تاثیرگذار بوده و در نتیجه بررسی این فاکتورها می‌تواند در روند بررسی سلامت ماهی نقش موثری را ایفا نماید.

مواد و روش‌ها

همه مراحل عملی و اجرایی این تحقیق از آذرماه تا اسفند ماه ۱۳۹۳ در مرکز علمی‌کاربردی نگین واقع در شهرکرد به انجام‌رسید. نمونه های خون برای بررسی های لازم به آزمایشگاه شیلات دانشگاه شهرکرد منتقل شد. مراحل تجزیه و تحلیل‌های آماری در دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه شهرکرد انجام‌گرفت.

در آذر ماه سال ۱۳۹۳، ۵۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین‌وزنی ۱۰ گرم به مخازن‌پرورشی با حجم ۵۵۰ لیتر منتقل و به مدت ۲ هفته سازگاری با محیط با استفاده از غذای کارخانه کیمیاگران تغذیه صورت‌گرفت. سپس ۳۶۰ قطعه ماهی با ظاهر سالم و وزن متوسط ۰/۸۵± ۱۰/۳ گرم انتخاب‌گردید و به تعداد ۳۰ قطعه در هر واحدآزمایشی با حجم ۵۵۰ لیتر که به صورت کاملا تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص یافته بود منتقل شده و به مدت ۱۰ هفته مورد آزمایش قرارگرفتند. ضمنا در طول دوره آزمایش کلیه پارامترهای فیزیک و شیمی آب به صورت منظم اندازه‌گیری شدند و میانگین پارامتر های مربوطه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول۱: میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب طی دوره‌ی پرورش.

فاکتور	میانگین	بیشترین	کمترین
اکسیژن محلول (درصد اشباع شدگی)	٪۹۹	٪۱۰۰	٪۹۸
دما (درجه سانتی گراد)	۱۴	۱۵	۱۳
pH	۷/۵	۸	۷

این آزمایش در قالب طرح تصادفی با ۴ تیمار (هرکدام با سه تکرار) به انجام رسید. تیماربندی آزمایش به صورت زیر بود (رحیمی و همکارن، ۱۳۸۹).

تیمار A : مخلوط ۷۰٪ غذای تجاری و ۳۰٪ کرم‌خاکی
تیمار B : مخلوط ۸۰٪ غذای تجاری و ۲۰٪ کرم‌خاکی
تیمار C : مخلوط ۹۰٪ غذای تجاری و ۱۰٪ کرم‌خاکی
تیمارD : کنسانتره تجاری (به عنوان شاهد)

به این ترتیب بچه ماهیان به مدت ۱۰ هفته به وسیله تیمارهای یاد شده غذادهی شدند.

کرم‌خاکی موردنیاز برای انجام این آزمایش از شرکت کهربای‌حیات شهرکرد خریداری گردید. در رابطه با ساخت جیره، ابتدا غذای آسیاب‌گردید سپس با توجه به فرمول جیره با مقدار مشخص از کرم‌خاکی چرخ شده مخلوط و پس از بدست‌آوردن مخلوط همگن و اضافه‌کردن آب مورد نیاز، مخلوط به دست آمده از چرخ گوشت با چشمه ۲ میلی متر عبور داده شد. سپس غذای ساخته شده در هوای آزاد خشک و برای ذخیره‌سازی بسته‌بندی شد . غذادهی به صورت دستی در سه‌نوبت در ساعت‌های ۰۰: ۰۹ ، ۰۰:۱۴ و ۰۰:۱۹ انجام‌گردید. میزان غذای مورداستفاده برای هر واحدپرورشی ۳ درصد از وزن بدن بود که با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم (EJ-1500 AND) اندازه‌گیری شد.

زیست‌سنجی ماهیان در تمام تیمارها هر دوهفته یک‌بار انجام‌گرفت، ماهی‌ها از ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی تغذیه نمی‌شدند و برای بیهوشی آن‌ها از پودر گل‌میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده‌شد. وزن همه‌ی ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول آن‌ها با خط‌کش معمولی با دقت ۰/۱ سانتیمتر اندازه‌گیری شد.

به‌منظور بررسی پارامترهای رشد و تغذیه، پس از هر زیست‌سنجی شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (BWI)، نرخ رشدویژه (SGR%) Special Growth Rate، درصد بازماندگی و شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر ضریب تبدیل‌غذایی (FCR) Food Conversion Rate، با استفاده از فرمول های زیر محاسبه شدند.

۱- افزایش وزن بدن (De silva & Anderson, 1995)

$BWI = Wt_2 - Wt_1$

Wt_1= گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2= گرم وزن نهایی ماهی

۲- نرخ رشد ویژه (Hevroy *et al*., 2005)

$SGR(\%/day) = [(LnWt_2 - LnWt_1) / t_2 - t_1] \times 100$

$LnWt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

$LnWt_2$ = لگاریتم طبیعی نهایی ماهی

$t_2 - t_1$ = طول دوره آزمایش

۳- درصد بقاء (Bilton & Robins, 1973)

$$\text{Survival Rate} = (N_t / N_0) \times 100$$

N_0 = تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش

N1 = تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش

و برای محاسبه شاخص‌های تغذیه ای از فرمول زیر استفاده گردید:

ضریب تبدیل غذایی (Hevroy *et al.*, 2005)

$$\text{FCR} = \text{dry feed eaten (g)} / \text{live weight gain (g)}$$

dry feed eaten (g) = غذای خشک مصرف شده (گرم)

live weight gain (g) = وزن بدست آمده ماهی (گرم)

بعد از قطع غذا به مدت ۱۴ ساعت عملیات خون-گیری در پایان دوره از ناحیه ساقه دمی و با استفاده از ماده‌ی بیهوشی پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به ازای هرلیتر آب و در شرایط یکسان برای نمونه‌ها انجام‌گرفت. از هر تکرار بطور تصادفی۳ قطعه ماهی انتخاب گردید (در کل ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار) و زیست‌سنجی نمونه (ثبت طول کل و وزن کل) انجام شد (رحیمی و همکاران.، ۱۳۸۹).

به منظور مطالعات خون‌شناسی، برای جلوگیری از لخته شدن در تیوب‌های آغشته به هپارین ریخته و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شدند و به مدت ۴ ساعت در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده، به آزمایشگاه شیلات دانشگاه شهرکرد منتقل و بلافاصله فاکتورهای خونی شامل مقادیر WBC، RBC، هموگلوبین و درصد هماتوکریت اندازه‌گیری و محاسبه شد (Houston, 1990). همچنین پلاسمای‌خون توسط دستگاه سانتریفیوژ Eppendorf (به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm) جداسازی Cataldi *et al.*, (1998) و نمونه‌ها در دمای ۲۰° c- نگهداری شدند.

برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده‌گردید. ابتدا بیش از دوسوم لوله موئینه هپارینه از خون منعقد نشده پرشد و یک طرف لوله با خمیر ویژه بسته می‌شد. سپس لوله‌ها را درون دستگاه سانتریفوژ میکروهماتوکریت قرار داده می‌شد و با سرعت 7000 به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ-گردید و مقدار حجم‌سلولی یا هماتوکریت هر نمونه‌ی خون به وسیله خط‌کش ویژه هماتوکریت خوانده شد.

سنجش مقدار هموگلوبین هر نمونه‌ی خون به وسیله‌ی کیت مخصوص شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) انجام شد. مقدار جذب نور به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر ثبت و غلظت هموگلوبین محاسبه شد.

برای شمارش گلبول قرمز از پیپت‌های حباب‌دار (ملانژور) قرمز استفاده گردید. تعداد گلبول قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون لخته نشده با محلول ریس (رقت ۱/۲۰۰) شمارش شد. از مربع-میانی (۵ خانه وسط) لام نئوبار برای شمارش گلبول قرمز استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی متر مکعب خون محاسبه گردید.

برای شمارش گلبول‌سفید از پیپت‌های حباب-دار(ملانژور) سفید استفاده‌گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام‌نئوبار بعد از رقیق‌سازی خون لخته نشده با محلول‌ریس (رقت ۱/۵۰) شمارش‌شد. سپس بر روی پیپت ملانژور سفید ریخته‌شد. از۴ مربع کناری لام‌نئوبار برای شمارش گلبول‌سفید استفاده و عدد بدست‌آمده در عدد ۵۰ ضرب‌شد. تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه‌گردید (حامدی و همکاران.، ۱۳۹۴).

به منظور گسترش افتراقی گلبول های سفید بعد از تهیه گسترش خونی از روش (Blaxhall and Daisley, 1973) استفاده گردید .

و در نهایت بررسی داده‌های آماری به‌دست‌آمده و رسم نمودارهای مربوط به نتایج تحت ویندوز XP با استفاده از نرم افزارهای Microsoft Excell 2010 و Spss Statistics 17.0 صورت‌پذیرفت. وضعیت نرمال-بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک بررسی-شد. ارائه میانگین داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار (Mean± Se) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمونهای آنالیز واریانس یکطرفه و دانکن در سطح خطای ۰/۰۵صورت گرفت.

نتایج

شاخص‌های رشد

درصد بازماندگی

وضعیت شنا و تغذیه ماهیان بطور روزانه بررسی-گردید. هیچ‌گونه تغییرات رفتاری در ماهیان دیده نشد و وضعیت شناوری و حرکات ماهیان طبیعی بود. در طول دوره ۳۰ روزه‌ی آزمایش دو مورد تلفات از گروه شاهد و یک مورد در تیمار ۲۰ درصد دیده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

ضریب رشد ویژه

میزان SGR در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما با این حال بیشترین مقدار آن ۰/۰۳ ± ۳/۳۱ درگروه شاهد و کمترین میزان در تیمار ۳۰ درصد کرم خاکی ، ۰/۰۸ ± ۳/۲۰ دیده شد.

جدول ۲. پارامترهای اندازه گیری شده رشد در آزمایش(Mean± SE)

	٪۳۰ کرم خاکی	٪۲۰ کرم خاکی	٪۱۰ کرم خاکی	شاهد
FCR	۱/۸۵ ± ۰/۱^{a}	۱/۸۱ ± ۰/۰۴^{a}	۱/۸۲ ± ۰/۰۵^{a}	۱/۷۳ ± ۰/۱۰^{a}
SGR	۳/۲۰ ± ۰/۰۸^{a}	۳/۲۵ ± ۰/۰۲^{a}	۳/۲۴ ± ۰/۰۶^{a}	۳/۳۱ ± ۰/۰۳^{a}
وزن اولیه	۱۰/۲۶ ± ۰/۲۰^{a}	۱۰/۲۳ ± ۰/۱۵^{a}	۱۰/۲۱ ± ۰/۱۶^{a}	۲۰۰۱۰ ± ۰^{a}
وزن نهایی	۶۳/۰۶ ± ۰/۹۶^{a}	۶۳/۴ ± ۰/۶^{a}	۶۳/۱۶ ± ۱/۰۴^{a}	۶۴/۶۶ ± ۰/۵۷^{a}
افزایش وزن	۵۲/۰۰ ±۱/۲^{a}	۵۳/۱۶ ۱±۰/۱^{a}	۵۲/۹۳ ± ۰/۹^{a}	۵۴/۴۳ ± ۰/۶۳^{a}
درصد غذای خورده شده روزانه	۲/۵^{a}	۲/۵۶ ±۰/۳۳^{a}	۲/۶ ± ۰/۱^{a}	۲/۷۳ ± ۰/۸۸^{a}
درصد بقا	۱۰۰^{a}	۹۹/۴۴ ± ۰/۵۵^{a}	۱۰۰^{a}	۹۸/۸۸ ± ۰/۵۵^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف می‌باشد.(P>0.5)

شاخص های خونی

اثرات جای‌گزینی درصدهای مختلف کرم خاکی در جیره ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان بر روی فاکتورهای خونی شامل هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول-های سفید و قرمز، شمارش افتراقی گلبول‌های‌سفید و شاخص‌های گلبول قرمز جدول ۳ ارائه شده است:

جدول ۳- پارامترهای هماتولوژی اندازه گیری شده

تیمارها	۳۰٪ کرم خاکی	۲۰٪ کرم خاکی	۱۰٪ کرم خاکی	شاهد
RBC($\times10^5$/µl)	۰/۶۵ ± ۰/۰۰۹^a	۰/۶۳ ± ۰/۰۰۸^a	۰/۶۲ ± ۰/۰۴^a	۰/۶۲ ± ۰/۰۰۷^a
WBC($\times10^3$/µl)	۱۹/۰۶ ± ۰/۰۵^a	۱۸/۹۸ ± ۰/۰۱^a	۱۸/۹۴ ± ۰/۰۲^a	۱۹/۰۵ ± ۰/۰۶^a
Hb(g/dl)	۶/۶۶ ± ۰/۱^a	۶/۸۴ ± ۰/۰۸^a	۶/۷۲ ± ۰/۰۷^a	۶/۸۰ ± ۰/۰۵^a
Hc(%)	۳۵/۳۳ ± ۱/۲^a	۳۷/۳۳ ± ۱/۴^a	۳۶/۶۶ ± ۰/۶۶^a	۳۶/۶۶۳ ± ۰/۸۸^a
Lym(%)	۸۷/۳۳ ± ۱/۳۰^a	۸۶/۶۶ ± ۱/۸۸^a	۸۶/۳۳ ± ۱/۵۱^a	۸۶/۶۶ ± ۰/۵۷^a
Neu(%)	۱۲/۶ ± ۱/۳۳^a	۱۲/۸ ± ۱/۹۱^a	۱۲/۹ ± ۱/۲۵^a	۱۲/۰۰ ± ۰/۷۷^a
Mon(%)	۰/۹۳ ± ۰/۰۸^a	۱/۰۳ ± ۰/۰۶^a	۱/۰۶ ± ۰/۰۸^a	۰/۸۳ ± ۰/۳۳^a
Eos(%)	۰	۰/۴۳ ± ۰/۲۴^a	۰/۳۳ ± ۰/۰۸^a	۰

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

بحث

درصد بازماندگی

نتایج مربوط به نرخ بازماندگی در تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد تفاوت معناداری در میزان زنده-مانی مشاهده نشده است. اگر چه از نظر عددی کم‌ترین مقدار مربوط به گروه شاهد می باشد. نتایج تحقیق حاضر با پژوهش Olele بر روی جای‌گزینی کرم‌خاکی در جیره غذایی ماهی Hetroclaris در سال ۲۰۱۱ هم-خوانی دارد. هم‌چنین مطالعه سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ نتایج نشان داد تلفاتی در تیمارهای جایگزینی کرم‌خاکی در جیره غذایی تاس‌ماهی‌سیبری وجودنداشت و درصد بازماندگی همه تیمارها ۱۰۰ بود. نتایج تحقیق Monebi و همکاران در سال ۲۰۱۳ اختلاف معناداری را بین تیمارهای جای‌گزینی کرم-خاکی در جیره ماهی Hetroclaris نشان‌داد. در این پژوهش بیش‌ترین نرخ بقا در تیمار ۲۵ درصد جایگزینی کرم خاکی مشاهده شد. دلیل این امر را می-توان به تفاوت در شرایط محیطی و بهداشتی محل نگه-داری ماهیان و مدیریت تغذیه در طول دوره پرورش نسبت داد.

شاخص های رشد

مقایسه افزایش وزن در تیمارهای مختلف نشان داد که از لحاظ آماری تفاوت معناداری بین گروه شاهد با سایر تیمارها دیده نمی‌شود. درتحقیق Farahi وهمکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ماهی *Pterophyllum lictenstine*، افزایش معناداری در وزن ماهیان گروه شاهد نسبت به تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد جای‌گزینی کرم‌خاکی مشاهده شد. در تحقیق Monebi و همکاران در سال ۲۰۱۲ تفاوت معناداری در افزایش وزن بین همه تیمارها مشاهده شد به گونه‌ای که بیش‌ترین وزن در تیمار ۷۵ درصد جایگزینی و کم‌ترین آن در تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی مشاهده شد. نتایج تحقیق سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر روی تاس‌ماهی-سیبری نشان داد بیش‌ترین افزایش‌وزن در تیمار ۱۰ درصد کرمخاکی مشاهده شده که با گروه شاهد و تیمارهای ۲۰ درصد و ۳۰ درصد اختلاف معناداری نداشت اما اختلافش با تیمار ۴۰ درصد که کم‌ترین افزایش رشد را داشت، معنادار بود. در تحقیق Olele و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی ماهی Hetroclaris بیشترین وزن به دست آمده در تیمار ۵۰ درصد کرم

خاکی مشاهده شد که با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معناداری داشت. در تحقیق Beg و همکاران در سال ۲۰۱۶ روی کپور ماهیان هندی *Catla catla*، *Labeo rohito* و *Cirrhinus mrigala* نیز تیمار ۵۰ درصد کرم‌خاکی به صورت معنادار افزایش رشد را نسبت به سایر تیمارها نشان‌داد.

بررسی نتایج در مورد ضریب تبدیل غذایی نیز نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین هیچ کدام از تیمارها دیده نشد. اگر چه تفاوت آماری داده‌ها معنادار نیست اما از لحاظ عددی کم‌ترین ضریب‌تبدیل غذایی مربوط به گروه‌شاهد است. بر خلاف نتایج پژوهش-حاضر، در تحقیق Monebi و همکاران در سال ۲۰۱۲ که بر روی ماهی Hetroclaris انجام شد، تفاوت معنادار بین گروه شاهد و تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی کرم خاکی مشاهده شد به طوری که FCR در تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی افزایش چشم‌گیری نشان داد اما تیمار شاهد با تیمارهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد جایگزینی کرم خاکی تفاوت معناداری نداشتند. Sogbesan و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان‌کردند که جایگزینی ۲۵ درصد کرم‌خاکی در جیره ماهی *Hetrobrachnus lonifilis*i باعث ایجاد تفاوت معناداری در ضریب تبدیل غذایی با گروه شاهد و سایر تیمارها می‌شود. مطالعه Sakthika و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ماهی *Mystus montanus* نیز نشان‌داد جایگزینی کرم خاکی‌ای که به وسیله گیاه‌آبزی hyacina پرورش یافته‌بودند سبب بروز کاهش معنادار ضریب تبدیل غذایی نسبت به کرم خاکی پرورش یافته بر روی ضایعات کشاورزی می‌شود. سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ با جایگزینی کرم خاکی در غذای تاس-ماهی‌سیبری *Acipenser baerii* گزارش‌کردند افزایش معناداری در FCR بین تیمار ۴۰ درصد جایگزینی با سایر تیمارها دیده‌شد. Olele و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش‌کردند با جایگزینی کرم‌خاکی در غذای ماهی *Hetroclaris* افزایش معناداری در FCR بین گروه ۵۰ درصد با گروه شاهد و سایر تیمارها دیده شد. در مطالعه روی سه گونه از کپورماهیان‌هندی *Catla catla*، *Labeo rohito* و *Cirrhinus mrigala* توسط Beg و همکاران در سال ۲۰۱۶ نتایج مشخص‌کرد جایگزینی کرم خاکی در جیره غذایی ماهیان سبب ایجاد اختلاف معنادار ضریب تبدیل غذایی بین تیمار ۵۰ درصد جایگزینی با سایر تیمارها در هر سه گونه ماهی می‌شود. یافته‌های تحقیق حاضر با هیچ کدام از پژوهش های ذکر شده در بالا همخوانی‌ندارد. عدم تطابق در نتایج گزارش شده توسط محققین را می‌توان به نوع گونه پرورشی، درصدهای مختلف به‌کار رفته ی کرم خاکی در جیره، نوع ماده اولیه به‌کار رفته در جیره تجاری، طول دوره پرورش، رفتارهای تغذیه ای گونه و مدیریت تغذیه در طول دوره پرورش نسبت داد که ممکن است بر تأثیرات متفاوت جای‌گزینی کرم خاکی در جیره مؤثر باشد.

همان گونه که از نتایج مندرج در جدول ۱ نمایان است ضریب رشد ویژه در بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد اختلاف معناداری نشان نداد.

در تحقیق Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ماهی *Pterophyllum lictenstine* تفاوت معناداری بین گروه شاهد، تیمار ۵۰ درصد کرم خاکی و تیمار ۱۰۰ درصد کرم خاکی در ضریب رشد ویژه دیده شد. در این آزمایش بیشترین ضریب رشد ویژه در گروه شاهد دیده شد. در سال ۲۰۱۲ Monebi و همکاران گزارش کردند که جایگزینی کرم خاکی در

جیره ماهی Hetroclaris سبب ایجاد اختلاف معنادار بین تیمارهای آزمایشی می‌شود. بیشترین SGR در تیمار ۲۵ درصد کرم خاکی مشاهده شد که تفاوت معناداری با همه تیمارها داشت. Sogbesan و همکاران در سال ۲۰۰۸ با جایگزینی کرم خاکی در جیره *Hetrobrachinus longifilisi* گزارش کردند تفاوت معناداری بین تیمارها دیده شد و بیشترین ضریب رشد ویژه در تیمار ۲۰ درصد کرم خاکی دیده شد. نتایج تحقیق Sakthika و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد افزایش معناداری در ضریب رشد ویژه در تیماری که حاوی کرم خاکی پرورش یافته به وسیله گیاه hyacina بود، نسبت به گروه شاهد و تیماری که کرم خاکی مورد استفاده در آن به وسیله ضایعات کشاورزی پرورش یافته بود، مشاهده شد. نتایج تحقیق سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴نشان داد جای‌گزینی کرم‌خاکی در جیره غذایی تاس‌ماهی‌سیبری سبب بروز اختلاف معنادار در ضریب رشد ویژه تیمارهای آزمایشی شد و بیشترین ضریب رشد ویژه در تیمار ۲۰ درصد جایگزینی کرم خاکی مشاهده شد. نتایج تحقیق Olele و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داد جایگزینی کرم خاکی در جیره غذایی ماهی Hetroclaris باعث افزایش معنادار ضریب رشد ویژه در تیمار ۵۰ درصد جایگزینی کرم خاکی با سایر تیمارها شد. Beg و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ افزایش معنادار ضریب رشد ویژه را در تیمار ۵۰ درصد جایگزینی کرم خاکی در سه گونه از کپور ماهیان هندی *Catla catla* ، *Labeo rohito* و *Cirrhinus mrigala* گزارش کردند.

بررسی نتایج در مورد غذای خورده شده روزانه نشان می‌دهد تفاوت معناداری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. اگرچه با افزایش کرم‌خاکی در جیره، مقدار غذای خورده شده کاهش یافته است اما تفاوت آماری داده ها معنادار نیست. از لحاظ عددی بیشترین ضریب غذای خورده شده روزانه در گروه شاهد مشاهده شد. همسو با نتایج مطالعه ی حاضر سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بیان کردند جایگزینی کرم خاکی در جیره تاس ماهی سیبری باعث کاهش مصرف غذا در تیمارهای کرم خاکی شد .کمترین غذای خورده شده در تیمار ۴۰ درصد جایگزینی دیده شد و گروه شاهد بیشترین مصرف غذا را داشتند.

کاهش مصرف غذا احتمالاً به خاطر پایین بودن خوش خوراکی غذا بوده است. یکی از دلایلی که بر خوش خوراکی کرم های خاکی تأثیرگذار است وجود مایع سلومیک آنها می باشد. Tacon و همکاران در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که به خاطر وجود مایع سلومیک، زمانی که از مقادیر بالای کرم خاکی استفاده شود بر خوش خوراکی غذا تأثیر گذاشته و باعث کاهش وزن ماهیان خواهد شد. مایع سلومیک حاوی پروتئین های خاصی می باشد که روی سیستم ایمنی تأثیر گذار است. (Kauscke *et al*, 2007). از سوی دیگر خوش خوراکی گونه های مختلف کرم خاکی با هم تفاوت دارد. بر اساس پژوهش Tacon و همکاران در سال ۱۹۸۳ ماهیان قزل آلای رنگین کمان که از کرم خاکی منجمد *Allolobophora longa* و *Lumbricus terrestis* تغذیه کرده بودند بهتر از گروه شاهد رشد کردند این در حال است که ماهیان تغذیه شده *E.fotida* رشد کمتری داشتند. البته با به کار بردن روش هایی مانند استفاده صحیح از حرارت در تولید پودر کرم خاکی می توان خوش خوراکی آن را افزایش داد (Tacon, 1983). علاوه بر وجود مایع سلومیک ممکن است عوامل دیگری نیز درکاهش رشد ماهیان نقش

داشته باشد. با توجه به این که کرم های خاکی در بسترهای دارای مواد آلی پرورش داده می شوند چنانچه بستر مورد استفاده دارای فلزات سنگین و ترکیبات مضر باشد، این ترکیبات در بافتهای کرم خاکی تجمع خواهند کرد. گزارشاتی در مورد تجمع برخی فلزات مانند آهن، روی، سرب و کادمیوم (Stafford 1984, Paoletti *et al.*, 2003) در بافت کرم های خاکی که در خاک آلوده زیست می کنند وجود دارد. طبق گزارش Stafford در سال ۱۹۸۴ وجود این ترکیبات در کرم خاکی و استفاده از سطوح بالای آن در غذا آلودگی غذا را در پی داشته و به دنبال آن عملکرد رشد ماهیان را تحت تأثیر قرار خواهد داد.

کمبود آسیدهای آمینه لیزین ، متیونین و سیستئن در کرم خاکی نیز یکی از دلایل کاهش رشد در تیمارهایی است که درصد بالایی از کرم خاکی در جیره آنها به کار رفته است (Tacon *et al.*, 1983, Pereira *et al.*, 1995).

یکی دیگر از عامل کاهش رشد در تیمارهای حاوی کرم خاکی را به وجود ترکیبات کیتین در کرم خاکی نسبت داده اند. کیتین یک پلیمر گلوکز آمین غیر قابل حل در آب است که در کوتیکول کرم خاکی وجود د ارد (Beg *et al.*, 2016). مطالعات زیادی نشان می دهد که کیتین باعث کاهش رشد ماهی می شود. کاهش رشد ۲ درصدی در ماهی تیلاپیای تغذیه شده با جیره حاوی کیتین در مطالعه Shiau در سال ۱۹۹۷ گزارش شد. کاهش رشد ماهی *Labeo rohito* تغذیه شده با کرم خاکی خام و کرم خاکی کاسترد شده در مطالعه Mohanata و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز شاهدی بر این ادعا است.

شاخص های خونی

شاخص‌های خونی در ماهیان می‌تواند متاثر از مواردی چون گونه پرورشی، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی باشد (Brunt and Austin, 2005). یکی از روش‌های بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک ماهیان تعیین شاخص-های خون‌شناسی است که نسبت به روش‌های دیگر ساده‌تر و کم هزینه‌تر می‌باشد (رحیمی بشر و همکاران، ۱۳۸۶). بررسی شاخص‌های خون‌شناسی ابزاری را جهت مدیریت آسان تر سلامت ماهی فراهم کرده است که می‌تواند در بررسی اثرات محیطی مورد استفاده قرار بگیرد، از جمله عوامل موثر بر تعداد گلبولهای سفید می توان به بیماری ها، التهاب، استرس، دما، وضعیت تغذیه ای (Bullis, 1993) سن و جنس (کامگار و همکاران، ۱۳۷۸) اشاره کرد. تغییرات فاکتورهای خونی همراه با تغییر فاکتورهای محیطی امری غیرقابل انکار است و در ماهیان به دلیل خونسرد بودن آن‌ها، این امر آشکارتر می باشد (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۱).

در میان سلول‌های خونی، گلبول‌های سفید نقش ایمنی را به عهده دارند و از ترکیبات کلیدی گلبول‌های دفاعی هستند. گلبول‌های سفید جزء سازوکار ایمنی غیر اختصاصی (سلولی) به شمار می‌آیند. تعداد گلبول‌های سفید در خون ماهیان از لحاظ تعداد کمتر (۱۵۰ تا ۲۰۰ هزار عدد در میلی متر مکعب) از گلبول‌های قرمز می-باشد (سلطانی، ۱۳۸۷). در مطالعه ای حاضر علیرغم افزایش عددی گلبول های سفید در تیمار ۳۰ درصد کرم خاکی، تعداد گلبول های سفید در تیمارهای مختلف از نظر آماری اختلاف معناداری نشان نداد. در مطالعه ای که توسط Rawling و همکاران بر ۲۰۱۲

روی تأثیر جای گزینی کرم خاکی در جیره ماهی کپور معمولی انجام شد، نتایج افزایش معناداری را در تعداد گلبول های سفید تیمارها در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. تحقیقات زیادی در زمینه بررسی اثر استفاده از کرم خاکی بر پارامترهای هماتولوژیکی در ماهیان انجام نشده است، از این رو منابعی جهت مقایسه و تفسیر نتایج وجود ندارد.

تعداد گلبول های قرمز در آزمایش جاری بین گروه شاهد و هیچ یک از تیمارها اختلاف معناداری نداشت ولی روند کمی تغییرات این پارامتر با تیمارهای اعمال شده آهنگ متناسبی را نشان داد به گونه ای که بیشترین مقدار گلبول قرمز مربوط به تیمار ۳۰ درصد کرم خاکی و کمترین مقدار آن مربوط به گروه شاهد بود. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند اختلاف معناداری در تعداد گلبول های قرمز بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد.

سنجش غلظت هموگلوبین خون ماهیان در هفته انتهای آزمایش اختلاف معناداری را میان گروههای آزمایشی نشان نداد ولی تغییرات این پارامتر از نوسان زیادی برخوردار بود که با تیمارهای اعمال شده آهنگ متناسبی را نشان نداد. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند افزایش معناداری در مقدار هموگلوبین بین تیمار کرم خاکی با گروه شاهد مشاهده شد.

درصد هماتوکریت سنجش شده از خون تیمارهای آزمایشی در پایان دوره آزمایش بین گروه شاهد و سایر تیمارها بدون اختلاف معنادار بود و در روند تغییرات آن شکل نامنظمی مشاهده شد به طوری که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار ۲۰ درصد کرم خاکی و کمترین آن مربوط به تیمار ۳۰ درصد بود. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند اختلاف معناداری در میزان هماتوکریت بین تیمارهای اعمال شده با گروه شاهد مشاهده نشد.

انواع گلبول‌های سفید ماهیان شامل لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها (ماکروفاژها)، ترومبوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها (بازوفیل، نوتروفیل و ائوزینوفیل) است که همگی سلول‌های فاگوسیتی هستند که بیشترین نقش را در فاگوسیتوز ماکروفاژها و بعد از آن نوتروفیل‌ها بر عهده دارند (سلطانی، ۱۳۸۷). در این پژوهش در شمارش افتراقی اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P>0/05$).

بر اساس یافته های دیگر پژوهشگران مشاهده می شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارات و تراکم) و عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبزی، سیکل تولید مثلی، وضعیت بلوغ، سن، جنسو شرایط تغذیه ای)، زمان نمونه گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش های اندازه گیری می تواند بر پارامترهای خون تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند. احتمالا این عوامل تناقض به وجود آمده در گزارش مربوط به شاخص های هماتولوژیکی در تحقیق Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با نتایج تحقیق پیش رو را توجیه می کند

اطلاعات کمی در مورد شاخص های خونی ماهیان در پاسخ به جایگزینی کرم خاکی در جیره ماهیان وجود دارد اما با توجه به نتایج به دست آمده احتمال

می رود که شاخص های خونی سنجش شده در تیمارها تحت تأثیر جیره های ساخته شده با درصدهای مختلف کرم خاکی قرار نگرفته اند و در پایان آزمایش تمام گروهها از نظر آماری بدون هیچگونه اختلاف معنی دار هستند. برای رسیدن به نتیجه قطعی در خصوص چگونگی تغییرات شاخص های هماتولوژی هنگام اضافه کردن کرم خاکی در جیره لازم است درصدهای بیشتری از کرم خاکی در جیره جایگزین شود و طول دوره پرورش افزایش یابد تا بتوان در خصوص تغییرات شاخص های هماتولوژی هنگام جایگزینی کرم خاکی در جیره ماهیان قضاوت کرد.

نتیجه گیری کلی

استفاده از کرم خاکی به عنوان غذای زنده در تغذیه آبزیان مختلف مانند ماهی و سخت پوستانی که رژیم گوشتخواری دارند، می تواند مناسب باشد. نتایج بدست آمده از بررسی ۷۰ روزه تأثیر جای گزینی درصدهای مختلف کرم خاکی در جیره قزل آلای رنگین کمان نشان داد اختلاف معناداری در شاخص های رشد و هماتولوژی بین هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که جایگزین کردن کرم خاکی در جیره ی ماهی قزل آلای رنگین کمان تا سطح ۲۰ درصد تأثیر منفی روی عملکرد رشد و کارایی غذا ندارد و با توجه به سادگی روش پرورش و تجهیزات کم مورد نیاز پرور کرم خاکی و در نتیجه مقرون به صرفه بودن نسبت به غذای تجاری به نظر می رسد که بتوان تا ۳۰ درصد کرم خاکی را جایگزین غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان کرد بنابراین اگر چه نتایج آزمایش تاثیر مثبت و معناداری را در رابطه با استفاده از کرم خاکی در جیره ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان نشان نمی دهد ولی به دلیل تولید ساده کرم خاکی و نیاز به تجهیزات بسیار کم جهت تولید و هزینه های بسیار پایین آن، این امکان فراهم می آید که بتوان به دلایل توجیه اقتصادی و کاهش هزینه های تولید قزل‌آلا از این گونه جهت تغذیه استفاده نمود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۱. راهنمای عملی دارویی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش. صفحه ۲۱۶ .
۲. ایمان‌پور، م،ر.، روحی، ز. و ایمان‌پور، س.، ۱۳۹۸. اثر مکمل گیاهی سنگروویت بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون،بازماندگی و مقاومت به تنش در بچه‌ماهیان قزل‌آلای‌رنگین-کمان، نشریه علمی توسعه آبزی‌پروری، ۱۳(۴): ۲۷-۳۶.
۳. بهمنی، م. و یوسفی جوردهی، ا.، ۱۳۹۰. قابلیت سازگاری لارو های ۲۰ روزه تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در شوری‌های مختلف. مجله زیست شناسی ایران، ۲۴(۲۵): ۶۷۸-۶۶۹.
۴. جمالزاده، ح.، کیوان، ا.، جمیلی، ش.، عریان، ش. و سعیدی، ع.، ۱۳۸۱. بررسی فاکتورهای خونی آزاد ماهی دریای خزر(*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات، ۱۱(۱): ۳۴-۲۵.

۵. حامدی، ش.، رحیمی، ر.، نفیسی بهابادی، م. و عضدی، م. ۱۳۹۴. تاثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های خونشناسی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*). مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۸(۳): ۲۱ -۳۳.

۶. خارا، ح.، محمدزاده، و.، قیاسی، م. و رهبر، م. ۱۳۹۲، بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و سرمی خون ماهیان قزل‌آلای رنگین کمانفاقد و واجد عفونت باکتریایی (در مزارع پرورشیاستان مازندران)، مجله توسعه آبزی‌پروری، ۷(۲):

۷. رحیمی، ر.، فرهنگی، م.، مجازی امیری، ب.، رضایی، ف.، صدوق نیری، ع. و کریمی، م. ر.، ۱۳۸۹. اثر محرومیت غذایی و غذادهی مجدد بر هورمون های تیروئیدی و عملکرد رشد در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhunchus mykiss*). مجله شیلات ایران، ۱۹(۱): ۳۹-۵۰.

۸. رحیمی بشر، م.، تهرانی فرد، ا.، قاسمی نژاد، ا.، علیپور، و.و فلاح چای، م.، ۱۳۸۶. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frissii Kutum*) در مراحل مختلف رشد گنادی. مجله علوم، ۱(۳): ۵۶-۴۵.

۹. سلطانی، م.، ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان وسخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.

۱۰. سلیمانی، م.، سجادی، م.م.، فلاحتکار، ب.، یزدانی م.ح.، ۱۳۹۴. جایگزینی پودر ماهی با پودر کرم خاکی *Eisenia foetida* در جیره غذایی بچه تاس ماهی و تأثیر آن بر عملکرد رشد، کارایی غذا و ترکیبات لاشه. مجله بوم شناسی آبزیان، ۵(۳): ۲۱-۳۰.

۱۱. صالحی، م.، ۱۳۹۰. راهنمای کاربردی پرورش عملی قزل آلا. انتشارات علمی آبزیان. ۱۴۸ صفحه.

۱۲. صفرخانلو، ل.، نگارستان، ح.، عمادی، ح. و معینی، س.، ۱۳۸۳. بررسی ارزش غذایی دو گونه کرم خاکی غالب ایران *Dendrobaena veneta* *Eisenia foetida*. مجله علوم و فنون دریایی، ۵(۱۳): ۳۵-۴۰.

۱۳. فهیم دژبان، ی.، ۱۳۹۲. دستورالعمل کاربردی تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان. نشر دانشگاه آزاد اسلامی سوادکوه. مازندران. صفحه ۱۵۶.

۱۴. کامگار، م.، حبیبی، ف.، لطفی نژاد، ح.، سعیدی، ع. ا.، پورغلام، ر. و یوسفیان، م.۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی. ۴۴: ۱۳۳-۱۳۱.

15. Beg, M., Mandal, B. & Moulick, S., 2016. Potential of earthworm meal as a replacement of fish meal for Indian major carps. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 4(3): 357-361.
16. Bilton, H.T. & Robins, G.L., 1973. The facts of starvation and subsequent feeding on survival and growth of Fulton channel sockeye salmon fry (*Oncorhynchus nerka*). J. Fish Res. Board Can. 30: 1-5.
17. Brunt, J. & Austin, B., 2005. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 28: 693-701.
18. Brown, J. A., Rankin, J. C. & Yokota, S. D., 1993. Glomerular haemodynamics of filtration in single nephrons of non mammalian vertebrates. In New Insights in Vertebrate Kidney Function. 5(3): 1–14.

earthworm (*Eisinia foethda*) as dietary protein for rohu (*Labeo rohito*). Congent Food and Agriculture. 2:1-13.
29. Ng, W.K., Liew. F.L., Ang, L.P. & Wong. K.W., 2001. Potential of mealworm (Tenebrio molitor) as an alternative protein source in practical diets for African catfish. Clarias gariepinus. Aquaculture Research, 32: 273-280.
30. Ng, W.K., 2002. Earthworm as a potentional feed for fishes. J. Fishing Chemistry. 132: 200-212.
31. Paoletti, M.G., Buscardo, E., Vanderjagt, D.J., Pastuszyn, A., Pizzofer-Rato, L., Huang, Y.S., Chuang, L.T., Millson, M., Cerda, H., Torres, F. & Glew, R.H., 2003. Nutrient content of earthworms consumed by Ye'Kuana Amerindians of the Alto Orinoco of Venezuela. Proceedings. Biological sciences, 270: 249-257.
32. Pereira, JO., Gomes, E.F., 1995. Growth of rainbow trout fed a diet supplemented with earthworms, after chemical treatment. Aquac. Int. 3:36-42.
33. Rawling, M.D., Merrifieled, D.L., Snellgrove, H. & Adams, A., 2012. Haemato-Immunological and growtu response of mirror carp (cyprinus carpio) fed tropical earthworm meal in experimental diet. Fish and Sellfish Immunology. 32: 1002-1007.
34. Olele, N.f., 2011. Growth response of hetroclaris fingerlings fed on earthworm meal in hatchery tanks. J Life Sci. 3(2): 131-136
35. Sakthika, T., Ronald, J ., Kumar, S., 2014. Growth of mystus monatus fed with two diffrent earthworm meal. International Journal of Enviromental Sciences 4(4): 551-557.
36. Shiau, S.Y., 1997. Utilization of carbohydrates in warmwater fish—with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. Aquaculture, 151(1-4): 79-96.
37. Sogbesan, O.A., Ugwumba, A.A.A., Madu, C.T., Eze, S.S., Isa, J., 2007. Culture and utilization of Earthworm as Animal Protein Supplement in the Diet of Heteroclarias longifilis Fingerlings.
19. Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W., 1983. Routine hematological methods for use with fish blood. Fish Biology. 5: 771-781.
20. Bullis, C., 1993. Organizational socialization research: Enabling, constraining, and shifting perspectives. Communications Monographs, 60: 10-17.
21. Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A. & Cataudella, S., 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes); effects of temperature and stress. Comparative Biochemestry and Physiology. 121: 351–354.
22. De Silva, S.S. & Anderson, T., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture Chapman and Hall London, 319.
23. Farahi, A., Kasiri, M., Talebi A. & Sudagar M., 2012. Effect of different types on growth, spawning and larval survival in angel fish. AACL BIOFLUX.3. 4: 229-303.
24. Hayashi, C.G.S., Goncalves, V.R.B. Furuya, M. Y. & Nagae, C. M., 1999. Utilization of different foods during feed training with fingerlings of (*Pseudoplatystoma corruscans*). J. Aquaculture.1: 258-267.
25. Hevroy, E.M. & Espe, M., Waagbo R., Sandness K., Rund M., Hemre G., 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture. Nutr. 11: 301-313.
26. Houston, A.H., 1990. Blood and circulation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.), Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Maryland, pp. 273–334.
27. Kauschke, E., Mohrig, W. & Cooper, E.L., 2007. Coelomic fluid proteins as basic components of innate immunity in earthworms. European Journal of Soil Biology 43: S110-S115.
1. Monebi, C.O. & Ugwumba, A.A., 2013. Utilization of the earthworm, Eudilus eugeniae in the diet of hetroclaris fingerlings. International Journal of Fisheries and Aquaculture. 52:19-25.
28. Mohanat, K., Subramanian, S. & Korikanathimath, V. 2016. Potential of

Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2(6):375-386.
38. Stafford E., Tacon, A. 1984. Nutritive value of the earthworm, *Dendrodrilus subrubicundus*, grown on domestic sewage, in trout diets. Agricultural Wastes. 9: 249-266.
39. Tacon, A., Stafford, E., Edwards, C., 1983. A preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for rainbow trout. Aquaculture, 35: 187-199.
40. Tacon, A.G. & Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. Aquaculture, 285: 146-158.
41. William, T., Roger, W., 2000. Culrure of earthworm for bait or fish food. UF Journal, 23:50-55.
42. Yang, J., Lin. Y, J. & Liang, C.Z., 2001. Analysis and evaluation on nutrition of natural forages of *Mystus guttatus*. Journal of Zhanjiang Ocean University. 21(2): 19-22.

مقایسه میزان رشد و پروفایل اسید چرب کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با مدفوع و غذای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

محمد یوسفی گراکویی[۱]، ابوالقاسم کمالی*[۱]، مهدی سلطانی[۲]

۱- گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۷

چکیده

مزارع پرورش ماهی قزل آلا همواره مقادیر زیادی مواد آلی ارگانیک به صورت ضایعات دفعی وارد محیط زیست می کنند. اگر این ضایعات ارگانیک به عنوان یک منبع غذایی برای تولید یک ارگانیسم ثانویه مانند کرم دریایی *Nereis diversicolor* مورد استفاده قرار گیرد، تعیین اثر این مواد ارگانیک بر روی عملکرد رشد و ارزش غذایی کرم‌های نرئیس تغذیه کننده از آنها حائز اهمیت می‌باشد. در این تحقیق ۲ تیمار با ۳ تکرار با تراکم ۱۰۰۰ کرم در متر مربع برای ۶۰ روز در شرایط یکسان پرورشی (دمای آب ^{o}C ۰/۶±۱۷/۷۱، اکسیژن ۰/۱۶±۷/۷۷ میلی‌گرم در لیتر، pH ۰/۰۹±۷/۹۶) نگهداری شدند. تیمار اول با مدفوع تولید شده توسط قزل آلای رنگین کمان و تیمار دوم با غذای تجاری قزل آلا (فرادانه) تغذیه شدند. نتایج نشان داد که کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی از نظر عملکرد رشد در طی ۶۰ روز درتمامی فاکتورهای رشد و بازماندگی شرایط بهتری نسبت به کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی داشتند. اسیدهای چرب اصلی در هر دو گروه کرم‌ها، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید اولئیک (C18:1 n9c) و اسید لینولئیک (C18:2 n6c) بودند. نسبت DHA/EPA نیز در هر دو گروه از کرم‌ها کمتر از یک (تیمار اول۰/۲۲ ±۰/۴۰ درصد و تیمار دوم ۰/۱۸ ±۰/۵۹ درصد) بود. به‌طور کلی میزان اسیدهای چرب اصلی، DHA، EPA و نسبت DHA/EPA در نمونه‌های کرم تغذیه شده با غذای ماهی، بالاتر از نمونه‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی بود. بنابراین امکان پرورش این گونه از کرم‌های نرئیس با مدفوع قزل‌آلای رنگین‌کمان وجود دارد، ولی برای رسیدن به رشد مناسب احتمالاً به مدت زمان بیشتری برای پرورش نیاز خواهد بود که با توجه به این‌که هیچ هزینه‌ای برای غذادهی انجام نمی‌شود، می‌تواند حائز اهمیت باشد.

کلمات کلیدی: *Nereis diversicolor*، قزل‌آلای رنگین‌کمان، مدفوع ماهی، غذای ماهی، عملکرد رشد، اسیدچرب.

* عهده‌دار مکاتبات (✉) kamali.abolghasem@gmail.com

مقدمه

شبکه‌های غذایی ساختارهای پیچیده‌ای هستند که از موجودات متعلق به سطوح مختلف غذایی تشکیل شده‌اند (Belgrano, 2005). از ضایعات ناشی از مزارع پرورش ماهی می‌توان به عنوان منبع غذایی برای سطوح پایین‌تر شبکه غذایی استفاده کرده و موجودات ثانویه و با ارزش اقتصادی تولید کرد (Bischoff *et al*., 2009). به علت گستردگی پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان همواره مقدار زیادی از مواد آلی به صورت مدفوع یا غذای خورده نشده وارد اکوسیستم‌های آبی شده و منجر به آلودگی محیط زیست می‌گردند. چنانچه بتوان از این ضایعات تولید شده به عنوان منبع غذایی برای تولید یک موجود ثانویه و با ارزش اقتصادی بالا مانند کرم نرئیس استفاده کرد، ضمن افزایش تولید با کمترین هزینه، بارآلودگی ناشی از مزارع پرورش ماهی نیز کاهش می‌یابد. کرم *Nereis diversicolor* از شاخه کرم‌های حلقوی (Annelidae) و از جمله پرتارانی (Polychaeta) است که در تغذیه انواع ماهیان اقتصادی کفزی‌خوار و میگو استفاده می‌شود و به‌دلیل تغذیه از مواد آلی پوسیده و یا مواد دفعی سایر جانوران (Batista *et al*., 2003) از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. این کرم می‌تواند رژیم غذایی خود را از فیلترفیدر (Harley, 1950; Wells and Dales, 1951; Riisgård, 1991; Riisgard and Vedel, 1993) به گوشت‌خواری، گیاه‌خواری، دیتریت‌خواری و حتی هم‌نوع‌خواری تغییر دهد (Esselink and Zwarts, 1989; Esnault *et al*., 1990). این موجود نسبت به نوسانات فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مختلف مانند دما (۰–۲۸/۸ °C) ، شوری (۰–۳۴ ppt) و اکسیژن (۲ میلی‌گرم به بالا) تحمل بالایی دارد (پژند و همکاران ۱۳۸۲ و ۱۳۸۸; Ozoh, 1990; Smith, 1964) و در دریای کاسپین نیز زندگی می‌کند (Taheri. *et al*., 2012; Leppakoski *et al*., 2002; Ghasemi *et al*., 2013). بنابراین گونه‌ای مناسب و در دسترس برای اجرای طرح‌های پرورش مشترک با سایر آبزیان از جمله قزل آلای رنگین کمان می‌باشد.

از سوی دیگر کرم‌های نرئیس در صنعت به عنوان منابع بسیار خوبی از اسیدهای چرب اشباع نشده (PUFAs) با ارزش بوده و به طور بالقوه‌ای برای مکمل روغن ماهی به عنوان منابع غذایی حاوی ترکیبات اسیدهای چرب ضروری کاربرد دارند (Costa Olive *et al*., *et al*., 2000; Lytle *et al*., 1990; 2000). این اسیدهای چرب نقش مهمی در تعیین مولدین و عملکرد لارو، هم در پرورش ماهی‌های دریایی و هم میگوی penaeid بازی می‌کنند (Izquierdo *et al*., 2001; Wouters *et al*., 2001). نتایج برخی تحقیقات نشان داد که رژیم غذایی حاوی *Nereis diversicolor* منجر به افزایش تعداد تخم‌ها در هر تخم‌ریزی برای ماده‌ها و افزایش بازماندگی تخم و بقای لاروی در میگو (Briggs *et al*., 1993)، بلوغ در میگوهای پرورشی و کفشک ماهیان (Luis and Ponte, 1993) می‌گردد. Luis و Passos (۱۹۹۵) محتوای چربی و ترکیب اسیدهای چرب *Nereis diversicolor* را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس گزارش آن‌ها محتوای چربی کل بین حداکثر ۱۹/۳ درصد وزن خشک در فوریه تا حداقل ۶/۶ درصد در ماه آگوست متغیر بود. همچنین اسیدهای چرب اصلی شامل C16:0 ، C18:1n-9، C18:2n-6 و C20:5n-3 بودند. Santos و همکاران (۲۰۱۶) نیز اعلام کردند که ترکیب تغذیه‌ای کرم *Nereis diversicolor* انعکاسی از ترکیب جیره غذایی شامل چربی، پروتئین و

پروفایل اسیدهای چرب می‌باشد. از آنجایی که ترکیبات اسیدچرب کرم‌های نرئیس تحت تاثیر نوع غذای مصرف شده توسط آن‌ها تغییر می‌کنند (Luis and Passos, 1995)، بنابراین مشخص شدن ترکیبات اسیدچرب کرم‌هایی که از مدفوع ماهی تغذیه می‌کنند جهت مشخص شدن ارزش تغذیه‌ای آن‌ها حائز اهمیت می‌باشد.

مطالعات صورت گرفته توسط Honda و Kikuchi(۲۰۰۲) بر روی کرم پرتار *Perinereis nuntia vallata* نشان داد که این گونه قادر به تغذیه از مدفوع ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) می‌باشد و نیمی از نیتروژن دفع شده را به بافت بدن کرم تبدیل می‌کند. همچنین Batista و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادندکه *Nereis diversicolor* از برخی ضایعات به عنوان منبع غذای اولیه استفاده می‌کنند و رشد قابل ملاحظه‌ای را از تغذیه از ذرات خروجی به عنوان یک ماده مغذی با ارزش مانند اسیدهای چرب نشان می‌دهند. García-Alonso و همکاران (۲۰۰۸)، امکان پرورش این گونه‌ها را با استفاده از ضایعات پرورش مارماهی به عنوان یک منبع تغذیه ارزیابی کردند به طوری که حدود ۲۰ درصد افزایش در بیومس کرم‌ها توسط آن‌ها به دست آمد. همچنین Bischoff و همکاران در سال (۲۰۰۹) کرم *Nereis diversicolor* را در مخازن تصفیه‌ای که دریافت کننده ضایعات یک سیستم پرورش چرخشی سیم دریایی بوده پرورش دادند. Palmer (۲۰۱۰) رشد و بقای دو گونه از پرتاران *Perinereis nuntia* و *Perinerei helleri* را در بسترهای شن و ماسه که دریافت کننده ضایعات از استخرهای نگهداری میگو بوده مورد ارزیابی قرار داد و توانست ۷۵ درصد میزان Tss در آب خروجی را کاهش دهد. Brown و همکاران (۲۰۱۱) رشد و همچنین ترکیبات مغذی *Nereis virens* که با ضایعات ناشی از یک سیستم پرورش چرخشی از ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس(*Hippoglossus hippoglossus*) پرورش یافته بود را، بررسی کردند. آنها در مطالعات خود کرم‌های پرتار *Nereis virens* با وزن اولیه ۰/۳۷ گرم را به دو گروه تقسیم نمودند به طوری که یک گروه با جیره تجاری مخصوص کرم و گروه دیگر با مدفوع و غذای خورده نشده ماهی مورد تغذیه قرار گرفتند، در پایان آزمایش و پس از ۷۱ روز، وزن نهایی کرم‌ها به ترتیب به ۲/۴۲ و ۲/۳۳ گرم و میزان پروتئین آن‌ها نیز به ترتیب به ۶۱/۹ و ۵۹/۶ درصد رسید. توسط Palmer و همکاران (۲۰۱۴) نیز مطالعاتی در خصوص وضعیت تغذیه‌ای کرم‌های پرتار پرورش یافته در فیلترهای شنی حاوی فضولات آبزیان دریایی انجام شد و نتایج نشان داد که کرم‌ها از مواد دفعی و غذای خورده نشده ماهیان تغذیه کرده و مواد غذایی با ارزش مانند اسیدهای چرب را بازیافت می‌نمایند.Pajand و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که کرم پرتار *Nereis diversicolor* یک کاندیدا با پتانسیل عالی برای پرورش توأم با فیل ماهی و بازیافت ضایعات ناشی از پرورش آن‌ها می‌باشد به طوری که نرخ رشد ویژه ۳/۴۰ درصد در روز در مدت ۸ هفته و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد توسط آن‌ها به دست آمد. آن‌ها همچنین نشان دادند که با افزایش رشد این کرم‌ها میزان تجزیه مواد آلی موجود در رسوبات افزایش و در نتیجه اثرات منفی ناشی از آن‌ها کاهش می‌یابد. به طور کلی در بسیاری از تحقیقات قبلی، نشان داده شده که *Nereis diversicolor* تغذیه شده با مدفوع ماهی

درصد بالایی از اسیدهای چرب دفع شده توسط ماهی را بازیافت می‌نماید.

بنابراین در این تحقیق از مدفوع قزل‌آلا برای تغذیه این کرم‌ها استفاده شد و میزان رشد، بقا و پروفایل اسیدچرب آن‌ها با کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مقایسه گردید. همچنین پروفایل اسیدچرب غذا و مدفوع ماهی قزل‌آلا را مشخص کرده تا تغییرات آن‌ها را نسبت به کرم‌های تغذیه کننده از آن‌ها بررسی کنیم. هدف از این تحقیق بررسی امکان رشد کرم‌های نرئیس تولید شده با مدفوع قزل آلای رنگین کمان و همچنین مقایسه کیفیت اسیدهای چرب آن‌ها با کرم‌های تولید شده با غذای ماهی قزل‌آلا می‌باشد که در نهایت باعث کاهش آلودگی ناشی از مزارع پرورش ماهی قزل‌آلا شده و در راستای دست‌یابی به توسعه پایدار می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در شرکت دانش بنیان زیست پالایشگر خزر واقع در شهرستان سنگر و با لاروهای کرم *Nereis diversicolor* تهیه شده از این شرکت با وزن ۵۰-۱۰ میلی‌گرم انجام شد. دو تیمار با ۳ تکرار و با تراکم ۱۰۰۰ کرم در متر مربع مورد استفاده قرار گرفت. تیمار اول با مدفوع جمع‌آوری شده (به روش سیفون کردن از کف) از وان نگهداری قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی ۱۵ عدد ماهی ۱۰۰ گرمی و تیمار دوم با غذای اکسترود مخصوص قزل‌آلا (شرکت فرادانه، GTF1 با سایز mm ۰/۴±۵؛ ۴۲-۳۸ درصد پروتئین خام، ۱۷-۱۳ درصد چربی خام، ۴-۲ درصد فیبر خام، ۱۱-۷ درصد خاکستر، ۱۱-۵ درصد رطوبت و ۱/۵-۱ درصد فسفر) هرکدام به میزان ۳/۵ درصد وزن بدن کرم‌ها (Parandavar *et al.*, 2015) به صورت روزانه و به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. برای آماده‌سازی محیط پرورش کرم‌های نرئیس از وان‌های با اندازه ۲۰×۴۰×۶۰ سانتی‌متر استفاده شد. ماسه مورد استفاده برای ایجاد بستر مناسب کرم‌ها در تشتک‌ها، از سواحل دریای خزر جمع‌آوری شده و پس از شستشو و استریل کردن با حرارت بالا با عمق ۷ سانتی‌متر به داخل تشتک‌ها وارد شده و سپس آب‌گیری شدند. آب مورد نیاز در این آزمایش از آب چاه تأمین شد. دبی مورد نیاز برای این آزمایش برای کرم‌ها به میزان ۲-۱ لیتر در دقیقه بود. میزان pH (۷/۹۶±۰/۰۹)، اکسیژن (۷/۷۷±۰/۱۶mg/l) و دمای آب (۱۷/۷۱±۰/۶°C) با استفاده از دستگاه پرتابل و آنالیز کننده (HQ 40d, Hach-Lange, USA) و به طور روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. همچنین کرم‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه‌گیری و بیومتری شده و طول و وزن آن‌ها ثبت گردید. در این آزمایش برای هوادهی در هر یک از تشتک‌ها از سنگ هوای متصل به شبکه هواده مرکزی استفاده شد. پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت لاشه کرمها و مدفوع و غذای ماهی در انتهای تحقیق آنالیز شدند. آنالیز پروتئین و خاکستر به ترتیب با دستگاه کجلدال مدل BAP40 ساخت آلمان و آنالیز چربی و رطوبت به ترتیب با دستگاه سوکسله مدل BOHR ساخت آلمان و آون به روش AOAC (1995) در آزمایشگاه وایرومد رشت اندازه‌گیری شد (AOAC, 1995). عملکرد رشد کرم‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت:

۱- نرخ رشد ویژه (Pajand *et al.*, 2017)

$$SGR\ (\%/day) = 100 \times (\ln W_f - \ln W_i) / t$$

لگاریتم طبیعی متوسط بیوماس اولیه lnW_i و lnW_f:
مدت زمان پرورش (روز) t:و نهایی (گرم) ،

۲- ضریب بازده غذایی (Batista *et al*., 2003)

FER = $(W_f - W_i)$(افزایش وزن مرطوب g / وزن خشک مدفوع تغذیه شده g)

- درصد افزایش وزن بدن (Parandavar *et al*., 2015)

$WG (\%) = [(W_f - W_i)/W_i] \times 100$

WG: درصد افزایش وزن ، W_i: وزن اولیه (گرم) ،
W_f:وزن نهایی (گرم)

۴- رشد روزانه (Hung *et al*., 1989)

$GR (g/day) = (W_f - W_i)/n$

w_i = متوسط وزن اولیه در هر تانک، w_f = متوسط وزن نهایی در هر تانک، n = تعداد روزهای پرورش

۵- بازماندگی (Wahli *et al*., 2003)

SR (%) = (تعداد کل / تعداد موجودات زنده مانده) × ۱۰۰ (موجودات ذخیره شده (اولیه)

۶- افزایش بیومس (Pajand *et al*., 2017)

Biomass gain (g/m^2) = بیومس نهایی – بیومس اولیه

استخراج اسیدهای چرب از تمامی نمونه‌های کرم، غذا و مدفوع ماهی با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم انجام گرفت (Howel *et al*., 195). برای تعیین ترکیب اسیدهای چرب به منظور مشتق سازی اسیدهای چرب از روش به کار رفته توسط Santos و همکاران (۲۰۱۶) استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه‌های Excel و SPSS استفاده گردید. جهت تست توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کلموگروف- اسمیرنف استفاده شد. بنابراین جهت مقایسه درصد نرخ رشد ویژه، افزایش وزن ، FER و سایر فاکتورها، در اثر تغذیه، در تیمارهای مورد بررسی، از آزمون T-student استفاده شد. تمامی داده-های به‌دست آمده در نرم افزار Excel ثبت و بانک اطلاعاتی حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تحت آنالیز قرار گرفتند.

نتایج

با توجه به جدول ۱ نتایج این آزمایش نشان داد که طول و وزن نهایی و افزایش بیومس کرم‌ها و همچنین پارامترهای درصد بازماندگی، SGR، FER، WG% و GR در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی به طور معنی‌داری از لحاظ آماری بالاتر از کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی بوده ($P<0/05$) و کرم‌هایی که در طی ۶۰ روز با غذای ماهی تغذیه شدند از نظر عملکرد رشد وضعیت بهتری داشته‌اند.

جدول۱: مقایسه پارامترهای رشد و بقای کرم پرتار *Nereis diversicolor* تغذیه شده با مدفوع و غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان در مدت ۶۰ روز.

شاخص / تیمار	T_1	T_2
	کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی	کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی
میانگین طول نهایی (cm)	۳/۸۱±۰/۱۳^{a}	۶/۷۳±۰/۵۳^{b}
میانگین وزن نهایی (g)	۰/۰۸۰±۰/۰۰۱^{a}	۰/۲۰۶±۰/۰۲۳^{b}
بیومس ابتدایی (g/m^2)	۲۰±۰/۰۰	۲۰±۰/۰۰
بیومس نهایی (g/m^2)	۵۸/۴۱۲±۹/۶۲۲^{a}	۱۸۵/۵۹۹±۱۳/۲۵۷^{b}
افزایش بیومس (g/m^2)	۳۸/۴۱۲±۹/۶۲۲^{a}	۱۶۵/۵۹۹±۱۳/۲۵۷^{b}
تراکم اولیه (ind/m^2)	۱۰۰۰±۰/۰۰	۱۰۰۰±۰/۰۰
تراکم نهایی (ind/m^2)	۷۲۸/۰۰۳±۱۱۱/۴۹۹^{a}	۹۰۵/۳۳۳±۳۸/۸۵۰^{b}
ضریب رشد ویژه (SGR%/day)	۲/۳۱۴±۰/۰۲۴^{a}	۳/۸۷۷±۰/۱۹۱^{b}
ضریب بازده غذایی (FER)	۰/۱۲۵±۰/۰۰۲^{a}	۰/۳۸۷±۰/۰۴۸^{b}
در صد افزایش وزن بدن (WG%)	۳۰۰/۷۶۷±۵/۷۲۶^{a}	۹۲۸/۳۳۳±۱۱۵/۹۰۲^{b}
رشد روزانه (GR g/day)	۵/۰۱۳±۰/۰۹۵^{a}	۱۵/۴۷۲±۱/۹۳۲^{b}
بازماندگی (%)	۷۲/۸۰±۱۱/۱۵^{a}	۹۰/۵۳۳±۳/۸۸۵^{b}

حروف a و b نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد

همان‌طوری که در جدول ۲ نشان داده شده است، از نظر میزان مواد مغذی و ارزش غذایی، بعد از آنالیز لاشه هر دو گروه از کرم‌های تغذیه شده با غذا و مدفوع ماهی و همچنین آنالیز مدفوع و غذای ماهی مشخص شد که درمدفوع ماهی نیز مقادیر قابل توجهی چربی و پروتئین وجود دارد اما مقدار آن‌ها نسبت به غذای ماهی کمتر می‌باشد. علاوه بر این آنالیز لاشه هر دو گروه از کرم‌ها حاکی از آن است که چربی کل، پروتئین کل و میزان خاکستر در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی کمی بالاتر از کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی است (جدول۲).

جدول ۲: آنالیز نهایی ترکیبات غذای ماهی، مدفوع ماهی و لاشه کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با مدفوع و غذای ماهی قزل آلای رنگین‌کمان

نمونه / متغیر	T_1	T_2		
	کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی	کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی	مدفوع ماهی قزل‌آلا	غذای ماهی قزل‌آلا
چربی کل (٪)	۴/۰۲±۰/۳۲	۴/۵۴±۰/۲۰	۴/۱۲±۰/۲۳	۱۵/۶۴±۰/۱۶
پروتئین کل (٪)	۷/۷۱±۰/۴۱	۷/۸۳±۰/۱۱	۳/۰۲±۰/۳۷	۴۱/۴۷±۰/۶۶
خاکستر (٪)	۱/۶۰±۰/۲۹	۱/۸۴±۰/۲۶	۴/۴۸±۰/۲۲	۸/۰۵±۰/۰۷
رطوبت (٪)	۸۶/۹۸±۰/۴۰	۸۶/۷۹±۰/۶۱	۸۷/۳۵±۰/۴۴	۷/۳۰±۰/۱۴

شکل ۱: نمودار مقایسه میزان پروتئین و چربی کل در کرم‌های نرئیس تغذیه شده با غذا و مدفوع ماهی قزل آلای رنگین‌کمان

بر طبق جدول ۳ پروفایل اسیدچرب در مدفوع ماهی دارای ۱۴ اسیدچرب، در غذای ماهی و کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی دارای ۱۷ اسیدچرب و در کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی دارای ۱۶ اسیدچرب بود. اسیدهای چرب اصلی در همه نمونه‌ها اسیدپالمیتیک C16:0، اسید اولئیک C18:1 n9c و اسید آلفا لینولئیک C18:2 n6c می‌باشد. بالاترین مقدار اسیدپالمیتیک در مدفوع ماهی به میزان ۰/۱۰ ± ۲۴/۹۲ درصد، بالاترین مقدار اسید اولئیک و اسید آلفا لینولئیک در غذای ماهی به ترتیب به میزان ۰/۱۵ ± ۳۰/۸۷ درصد و ۰/۹۱ ± ۳۵/۳۵ درصد بود. در کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی مقدار اسیدهای چرب C12:0، C14:0، C18:0، C20:0، C22:0، C24:0، C18:1 n9t، C20:1، C18:2 n6c و C18:2 n6t بیشتر از کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی بود. از سوی دیگر مقدار اسیدهای چرب C16:0، C16:1، C18:1 n9c، C18:3 n3، C20:5 n3 (EPA) و C22:6 n3 (DHA) در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی بیشتر از کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی بود. همچنین اسیدچرب C17:0 در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی به میزان

۰/۱۲±۰/۵۰ درصد وجود داشت درحالی‌که در کرم- های تغذیه شده با مدفوع ماهی دیده نشد.

جدول۳: پروفایل اسیدهای چرب (SD± %) غذا و مدفوع ماهی قزل آلای رنگین‌کمان و کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با آن‌ها.

نمونه / اسیدچرب	T_1	T_2	مدفوع ماهی قزل آلا	غذای ماهی قزل آلا
	کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی	کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی		
C12:0	۰/۰۹±۰/۷۹	۰/۰۲±۰/۱۰	۰/۰۲±۰/۰۸	۰/۰۶±۰/۶۷
C14:0	۰/۰۴±۵/۰۵	۰/۱۴±۳/۷۶	۰/۰۵±۳/۴۵	۰/۱۰±۳/۱۰
C16:0	۰/۲۲±۱۴/۵۱	۰/۸۹±۱۶/۰۵	۰/۱۰±۲۴/۹۲	۰/۱۵±۱۳/۱۵
C17:0	۰/۰۰	۰/۱۲±۰/۵۰	۰/۰۰	۰/۱۶±۰/۵۲
C18:0	۰/۳۰±۹/۲۱	۰/۵۵±۷/۹۲	۰/۳۶±۱۲/۴۰	۰/۱۵±۴/۵۳
C20:0	۰/۱۵±۲/۹۰	۰/۰۸±۰/۳۶	۰/۱۰±۲/۷۰	۰/۰۶±۰/۴۷
C22:0	۰/۰۹±۱/۰۰	۰/۰۲±۰/۰۸	۰/۱۲±۰/۶۳	۰/۰۶±۰/۳۳
C24:0	۰/۰۸±۰/۷۱	۰/۰۲±۰/۱۱	۰/۱۰±۰/۴۰	۰/۰۰±۰/۱۰
C16:1	۰/۰۲±۰/۱۹	۰/۰۳±۰/۳۱	۰/۰۲±۰/۲۱	۰/۰۴±۰/۳۳
C18:1 n9c	۲/۲۳±۲۳/۰۲	۳/۷۰±۲۸/۱۲	۰/۶۰±۱۸/۹۳	۰/۱۵±۳۰/۸۷
C18:1 n9t	۰/۰۲±۰/۱۶	۰/۰۳±۰/۱۰	۰/۰۰	۰/۰۲±۰/۱۱
C20:1	۰/۲۳±۱/۶۰	۰/۰۶±۰/۲۲	۰/۰۶±۰/۹۳	۰/۰۶±۰/۱۷
C18:2 n6c	۳/۱۹±۲۴/۹۰	۱/۸۳±۲۲/۸۷	۰/۳۶±۱۷/۷۰	۰/۹۱±۳۵/۳۵
C18:2 n6t	۰/۳۲±۱/۴۰	۰/۲۱±۰/۸۱	۰/۰۰	۰/۰۱±۰/۱۲
C18:3 n3	۰/۳۲±۸/۵۰	۰/۵۶±۹/۶۴	۰/۳۳±۵/۳۷	۰/۲۰±۳/۳۳
C20:5 n3 (EPA)	۰/۴۹±۴/۳۰	۰/۶۲±۵/۶۹	۰/۱۰±۱/۲۰	۰/۱۰±۲/۷۹
C22:6 n3 (DHA)	۱/۰۶±۱/۷۲	۱/۱۸±۳/۳۴	۰/۵۷±۳/۷۹	۰/۲۳±۴/۰۴
∑ Saturated (SFA)	۰/۱۲±۳۴/۱۸	۰/۲۱±۳۷/۸۸	۰/۷۴±۴۴/۵۸	۰/۳۷±۲۲/۸۷
∑ Monounsaturated	۱/۹۶±۲۴/۹۷	۳/۶۴±۲۵/۷۵	۰/۵۹±۲۰/۰۷	۰/۲۱±۳۱/۴۷
∑Polyunsaturated(PUFA)	۱/۹۹±۴۰/۸۲	۳/۴۵±۳۶/۳۴	۰/۹۸±۲۸/۰۷	۰/۵۸±۴۵/۶۳
DHA/EPA	۰/۲۲±۰/۴۰	۰/۱۸±۰/۵۹	۰/۴۹±۳/۱۷	۰/۰۳±۱/۴۴
ω-3:ω-6	۰/۱۱±۰/۵۵	۰/۰۵±۰/۷۹	۰/۰۵±۰/۵۹	۰/۰۲±۰/۲۹

بحث

نرخ رشد ویژه در کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با غذای ماهی در این آزمایش بالاتر از کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی در طی ۶۰ روز بود. نرخ رشد ویژه کرم‌های نرئیس در این آزمایش در ارتباط با غذای ماهی(۰/۱۹۱±۳/۸۷۷ درصد در روز) کمی بیشتر از نتایج به دست آمده توسط Pajand و همکاران (۲۰۱۷) بود که نرخ رشد ویژه برای کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با غذای خورده نشده توسط فیل ماهی را معادل ۰/۲۹±۳/۳۹ درصد در هر روز، در مدت ۸ هفته و در دمای ۲۳ درجه سانتی-گراد تعیین کردند. همچنین در آزمایش ما، این فاکتور برای کرم‌هایی که با مدفوع ماهی قزل‌آلا تغذیه شدند(۰/۰۲۴±۲/۳۱۴ درصد در روز)، کمتر از نتایج

حاصل از تحقیق Pajand و همکاران (۲۰۱۷) برای کرم‌های تغذیه شده با مدفوع فیل ماهی بود که نرخ رشد ویژه را معادل ۰/۱۵±۳/۴۰ درصد در هر روز در مدت ۸ هفته تعیین کردند. همچنین Brown و همکاران (۲۰۱۱)، نرخ رشد ویژه برای کرم‌های *Nereis virens* تغذیه شده با مدفوع ماهی هالیبوت را حدود ۳ درصد در روز در طی ۷۱ روز و Honda and Kikuchi (۲۰۰۲)، برابر با ۱/۶۶ درصد در هر روز برای کرم‌های *Perinereis nuntia vallata* تغذیه شده با مدفوع ماهی فلاندر اعلام کردند. میزان افزایش بیومس کرم‌ها در گروه کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی معادل ۹/۶۲۲±۳۸/۴۱۲ گرم در متر مربع به دست آمد که حدود ۱/۹ برابر بیومس اولیه بود در حالی‌که این افزایش بیومس در گروه کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی معادل ۱۳/۲۵۷±۱۶۵/۵۹۹ گرم در متر مربع تعیین شد که حدود ۸/۳ برابر بیومس اولیه بود که نشان دهنده شرایط بهتر رشد در آن‌ها می باشد (جدول ۱). در این آزمایش درصد بقای کرم‌های نرئیس در گروه تغذیه شده با مدفوع ماهی ۱۱/۱۵±۷۲/۸۰ درصد و در گروه تغذیه شده با غذای ماهی ۳/۸۹±۹۰/۵۳ درصد بود (جدول ۲). همچنین Pajand و همکاران (۲۰۱۷)، درصد بقا در کرم‌های نرئیس تغذیه شده با مدفوع فیل ماهی را معادل ۴/۴۰±۶۰/۴۰ درصد و در کرم‌های تغذیه شده با غذای خورده نشده توسط فیل ماهی معادل ۴/۸۲±۹۲/۴۶ درصد تعیین کردند. این کاهش بقا در گروه کرم‌های تغذیه شده با مدفوع می‌تواند به علت تلفات ناشی ازکمبود غذا و یا بروز پدیده هم‌نوع-خواری در اثر گرسنگی کشیدن باشد(Batista *et al.*, 2003; Hartmann-Schröder, 1996).

در این تحقیق میزان پروتئین کل در وزنِ تر کرم-های تغذیه شده با مدفوع ماهی معادل ۰/۴۱±۷/۷۱ درصد و در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی ۰/۱۱±۷/۸۳ درصد بود. این میزان توسط Santos و همکاران (۲۰۱۶)، برای کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با جیره‌های غذایی تجاری Moist sole و Aquagold به‌ترتیب برابر ۰/۸۲±۸/۸۷ درصد و ۱/۲۱±۸/۶۵ درصد بود. همچنین میزان چربی کل در وزنِ تر، در آزمایش ما معادل ۰/۳۲±۴/۰۲ درصد برای کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی و ۰/۲۰±۴/۵۲ درصد برای کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی بود (جدول ۲). این میزان توسط Luis and Passos (۱۹۹۵)، برای کرم‌های *Nereis diversicolor* بین ۴/۴ درصد در ماه فوریه و ۱/۹ درصد در ماه آگوست اندازه‌گیری شد. در این آزمایش مشخص شد که مدفوع قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب ضروری می‌باشد (جدول ۳). بنابراین از طریق بازیافت ضایعات تولید شده توسط مزارع پرورش ماهی می‌توان به آبزی‌پروری پایدار و حداکثر بهره‌وری از امکانات موجود دست یافت. این کار توسط کرم‌های *Nereis diversicolor* قابل انجام می‌باشد (Brown *et al.*, 2011; García-Alonso *et al.*, 2008; Bischoff *et al.*, 2009; Bradshaw *et al.*, 1990; Palmer, 2010).

اسید پالمیتیک (C16:0) در بین اسیدهای چرب اشباع در نمونه‌های کرم، اسیدچرب اصلی بود و مقدار آن در کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی معادل ۰/۲۲±۱۴/۵۱ درصد و در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی معادل ۰/۸۹±۱۶/۰۵ درصد بود (جدول ۳). Pajand و همکاران (۲۰۱۷)، Luis and Passos

(۱۹۹۵)، García-Alonso و همکـــاران (۲۰۰۸) و Bischoff و همکـاران (۲۰۰۹)، نشـان دادنـد کـه اسـید پالمیتیک یکی از فراوان‌ترین اسیدهای چرب در کـرم-هـای *Nereis diversicolor* مـی‌باشـد. اسـید اولئیـک (C18:1 n9c) در بـین اسـیدهای چـرب MUFA در نمونه‌های کرم، اسیدچـرب اصـلی بـود و مقـدار آن در کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی معادل ۲۳/۰۲±۲/۲۳ درصد و در کرم‌های تغذیه شده با غـذای مـاهی معـادل ۲۸/۱۲±۳/۷۰ درصد بود (جدول ۳). مقـدار ایـن اسـید-چـرب توســط Pajand و همکــاران (۲۰۱۷) معــادل ۳۱/۰۹±۱/۰۰ درصد برای کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی و ۳۴/۴۴±۲/۰۶ درصد برای کرم‌های تغذیه شـده با غذای ماهی تعیین شد. اسـید لینولئیـک (C18:2 n6c) در بـین اسـیدهای چـرب PUFA در نمونـه‌هـای کـرم، اسیدچرب اصلی بـود و مقـدار آن در کـرم‌هـای تغذیـه شده با مدفوع مـاهی معـادل ۲۴/۹۰±۳/۱۹ درصـد و در کرم‌های تغذیه شده با غذای ماهی معـادل ۲۲/۸۷±۱/۸۳ درصد بود (جـدول ۳). مقـدار ایـن اسـیدچـرب توسـط Pajand و همکــاران (۲۰۱۷)، معــادل ۲۶/۷۰±۶/۰۵ درصد بـرای کـرم‌هـای تغذیـه شـده بـا مـدفوع مـاهی و ۲۰/۵۲±۵/۲۵ درصد برای کرم‌های تغذیه شده با غـذای ماهی تعیین شد.

مقدار EPA در هر دو گروه از کرم‌هـا در مقایسـه با مقدار آن در غذا و مدفوع ماهی افزایش داشـت. ایـن افزایش به وسیله غنی‌سازی انتخابی این اسیدچرب یا بـه وسـیله سـنتز PUFAهـا توسـط کـرم‌هـای *Nereis diversicolor* توضیح داده می‌شود (Hastings *et al*., 2001; Tocher *et al*., 2004; Vásquez *et al*., 2014). همچنـین در هـر دو گـروه کـرم‌هـا نسـبت DHA/EPA کمتر از یـک بـود. از آنجـایی کـه معمـولاً ارگانیسم‌های دریایی گوشت‌خوار دارای نسبت بالاتری هستند، این نسبت کمتر از یک می‌تواند بـه علـت رفتـار تغذیه‌ای همه‌چیزخواری این موجودات باشـد (Santos *et al*., 2016). در مطالعـات قبلـی ثابـت شـده کـه اگـر مقادیر EPA و DHA در غذا پـایین باشـد ایـن کـرم‌هـا قادر به سنتز مجدد آن‌ها می‌باشند و چنانچه مقدار آن‌هـا در جیره‌های غذایی زیاد باشند این کـرم‌هـا تقریبـاً قـادر به حفظ همه EPA موجود در غذا می‌باشند در حالی‌کـه تنها ۵۰ درصد از DHA را متابولیز می‌کننـد (Costa *et al*., 2000).

نتایج تحقیـق حاضـر نشـان داد کـه میـزان رشـد و پروفایل اسیدچرب کرم‌های تغذیه شده با غـذای مـاهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در نهایت شرایط بهتری از کـرم-های تغذیه شـده بـا مـدفوع ایـن مـاهی در طـی ۶۰ روز آزمایش دارند. بنابراین برای این‌که کرم‌های تغذیه شده با مدفوع ماهی به رشد مناسـب‌تـری برسـند، احتمـالاً بـه مدت زمان بیشتری برای پرورش نیاز خواهند داشت کـه با توجه به این‌که هیچ هزینه‌ای برای غذادهی این کرم‌ها صـورت نمـی‌گیـرد، در صـورتی‌کـه پـرورش دهنـده محدودیت زمانی برای پرورش این کرم‌ها نداشته باشد، بـا مراقبـت، کنتـرل و حفـظ ثبـات در شـرایط پـرورش امکان تولید آن‌ها با رشـد مناسـب و در نهایـت بیـومس کـافی را خواهـد داشـت کـه مـی‌توانـد هـم از لحـاظ اقتصادی و هم از لحاظ زیسـت محیطـی حـائظ اهمیـت باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر ذبیح اله پژند مدیریت محترم شرکت دانش بنیان زیست پالایشگر خزر و جناب آقای

باقری و سایر عزیزانی که در انجام این کار مارا یاری فرمودند نهایت سپاس‌گزاری و تشکر را داریم.

منابع

۱. پژند، ذ.ا.، عمادی، ح.، نگارستان، ح.، پرند آور، ح.، چوبیان، ف. و حدادی مقدم، ک.، ۱۳۸۲. بررسی امکان دستیابی به بیوتکنیک پرورش کرم نرئیس (*Nereis diversicolor*). گزارش نهایی پروژه. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۸ صفحه.

۲. پژند، ذ.ا.، حدادی مقدم، ک.، چوبیان، ف.، روفچایی، ر. و پرندآور، ح.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر دما، شوری و دوره نوری در القاء رسیدگی جنسی و رفتارهای تولیدمثلی کرم نرئیس (*Nereis diversicolor*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۸(۳): ۳۰-۱۱.

3. AOAC., 1995. Official Methods of Analysis (16th edn). AOAC International Publishers, Arlington VA.
4. Batista, F.M., Costa, P.F.E., Matias, D., Joaquim, S., Massapina, C., Passos, A.M., Pousao Ferreira, P. & Cancela da Fonseca, L., 2003. Preliminary results on the growth and survival of the polachaete Nereis diversicolor (O. F. Müller, 1776), when fed with faeces from the carpet sheel clam Ruditapes decussatus (L., 1758). Bol. Inst. Esp. Oceanogr, 19: 443–446.
5. Belgrano, A., 2005. Aquatic food webs' ecology: old and new challenges. In: Belgrano, A., Scharler, U.M., Dunne, J., Ulamovicz, R.E. (Eds.), Aquatic Food Webs. Oxford University Press, Oxford.
6. Bischoff, A.A., Fink, P. & Waller, U., 2009. The fatty acid composition of Nereis diversicolor cultured in an integrated recirculated system: possible implications for aquaculture. Aquaculture, 296: 271–276.
7. Bradshaw S. A., O'Hara S. C. M., Corner E. D. S. & Eglinton G., 1990. Dietary lipid changes during herbivory and coprophagy by the marine invertebrate *Nereis diversicolor*. Joirnal of marine biology. Assoc. U.K. 70: 771-787.
8. Brown, N., Eddy, S. & Plaud, S., 2011. Utilization of waste from a marine recirculating fish culture system as a feed source for the polychaete worm, *Nereis virens*. Aquaculture, 322-323, 177–183.
9. Esnault, G., Retière, C. & Lambert, R. 1990. Food resource partitioning in a population of *Nereis diversicolor* (Annelida, Polychaeta) under experimental conditions. Proceedings of the 24th European Marine Biology Symposium, 453-467.
10. Esselink, P. & Zwarts, L. 1989. Seasonal trend in burrow depth and tidal variation in feeding activity of *Nereis diversicolor*. Marine Ecology Progress Series, 56: 243-254.
11. Costa, P.F.E., Narciso, L. & Cancela da Fonseca, L., 2000. Growth, survival and fatty acid profile of Nereis diversicolor (O.F. Mueller, 1776) fed on six different diets. Bulltin of Marine Science, 67: 337–343.
12. García-Alonso, J., Müller, C.T. & Hardege, J.D., 2008. Influence of food regimes and seasonality on fatty acid composition in the ragworm. Aquatic Biology, 4: 7–13.
13. Ghasemi, A.F., Taheri, M. & Jam, A., 2013. Does the introduced polychaete Alitta succinea establish in the Caspian Sea? Helgol. Mar. Res. 67(4): 715-720.
14. Harley, M.B. 1950. Occurrence of a filter-feeding mechanism in the polychaete *Nereis diversicolor*. Nature, 165, 734-735.
15. Hartmann-Schröder, G., 1996. Annelida, Borstenwürmer, Polychaeta. Gustav Fischer Verlag, Jena. 201–204.
16. Hastings, N., Agaba, M., Tocher, D. R. Leaver, M. J., Dick, J. R., Sargent, J. R., &Teale, A. J., 2001. A vertebrate fatty acid desaturase with Delta 5 and Delta 6 activities. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(25): 14304–14309.
17. Honda, H. & Kikuchi, K., 2002. Nitrogen budget of polychaete Perinereis nuntia

vallata fed on the feces of Japanese flounder. Fisheries Science, 68: 1304–1308.
18. Howell, C.R. &R.D Stipanovic., 1995. Mechanism in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*-induced cotton seedling disease by *Gliocladium virens*: Antibiosis. Phytopathology, 85: 469-472.
19. Hung, S.S.O., Fynn-Aikins, F.K., Lutes, P.B. & Xu, R., 1989. Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate sources. Journal of Nutrition, 119: 727-733.
20. Izquierdo, M.S., Fernàndez-Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture, 197: 25–42.
21. Leppakoski, E., Gollasch, S. &Olenin, S. (eds)., 2002b. Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impacts and Management. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 583 pp.
22. Luis, O. J. & Ponte, A. C., 1993. Control of reproduction of the shrimp Penaeus kerathurus held in captivity. Journal of the World Aquaculture Society, 24: 31–39.
23. Luis, O.J. & Passos, A.M., 1995. Seasonal changes in lipid content and composition of the polychaete Nereis (Hediste) diversicolor. Comparative Biochemestry and Physiology. 111: 579–586.
24. Lytle, J.S., Lytle, T.F. & Ogle, J.T., 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of Penaeus vannamei. Aquaculture, 89: 287–299.
25. Olive, P. J. W., Islam, M. D. & Cowin, P. B. D., 2000. Cultured Polychaeta: A dietary resource to increase penaeid hatchery performance. AQUA 2000 Responsible Aquaculture in the New Millenium. European Aquaculture Society Special Publication 28, pp523.
26. Ozoh, P. T. E., &Jones, N. V., 1990. Capacity adaptation of Hediste (Nereis) diversicolor embryogenesis to salinity, temperature and copper. Marine Environmental Research, 29(3): 227–243.
27. Pajand, Z. O., Soltani, M., Bahmani, M., & Kamali, A., 2017. The role of polychaete Nereis diversicolor in bioremediation of wastewater and its growth performance and fatty acid composition in an integrated culture system with Huso huso (Linnaeus, 1758). Aquaculture Research, 48(10): 5271–5279.
28. Palmer, P.J., 2010. Polychaete-assisted sand filters. Aquaculture, 306, 369–377.
29. Palmer, P.J., Wang, S., Houlihan, A., and Brock, I., 2014. Nutritional status of a nereidid polychaete cultured in sand filters of mariculture wastewater. Aquaculture nutrition, 20: 675-691.
30. Parandavar, H., Kim, K. H. & Kim, C. H., 2015. Effects of rearing density on growth of the polychaete rockworm Marphysa sanguinea. Fisheries and Aquatic Science, 18(1): 57–63.
31. Riisgård, H. U., 1991. Suspension feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*. Marine Ecology Progress Series, 70: 29-37.
32. Riisgard, H. U. & Vedel, A., 1993. Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics. Marine Ecolology Progeres Series, 100: 145-152.
33. Santos, A., Granada, L., Baptista, T., Anjos, C., Simões, T., Tecelão, C. & Pombo, A., 2016. Effect of three diets on the growth and fatty acid profile of the common ragworm Hediste diversicolor (O.F. Müller, 1776). Aquaculture, 465: 37–42.
34. Smith, R. I., 1964. On the early development of Nereis diversicolor in different salinities. Journal Morphology. 114: 437–464.
35. Taheri, M., Foshtomi, M., Noranian, M. & Mira, S.S., 2012. Spatial distribution and biodiversity of macrofauna in the southeast of the Caspian Sea, Gorgan Bay in relation to environmental conditions. Ocean Science Journal, 47(2):113–122.
36. Tocher, D.R., Fonseca-Madrigal, J., Dick, J.R., Ng, W.-K., Bell, J.G. & Campell, P.J., 2004. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative

Biochemestry and Physiology. Pt. B, 137: 49–63.
37. Vásquez, V., Krieg, M., Lockhead, D. & Goodman, M.B., 2014. Phospholipids that contain polyunsaturated fatty acids enhance neuronal cell mechanics and touch sensation. Cell Rep. 6: 70–80.
38. Wahli, T., Verlhac, V., Girling, P., Gabaudan, J. & Aebischer, C., 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 225 (1-4): 371-86.
39. Wells, G. P. & Dales, R. P., 1951. Spontaneous activity patterns in animal behaviour: the irrigation of the burrow in the polychaetes *Chaetopterus variopedatus* Renier and *Nereis diversicolor* O.F. Müller. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 29: 661-679.
40. Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J. & Sorgeloos, P., 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture, 202: 1–21.