نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir
ISSN: 2423-6349
دوره ۱۳، شماره ۳، صفحات ۵۵-۴۰

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

# تأثیر غنی‌سازی روتیفر *Brachionus plicatilis* با اسید چرب ضروری DHA به روش‌های دستی و تجاری بر رشد، بقا و برخی فعالیت‌های آنزیمی لارو دلقک‌ماهی دُم زرد (*Amphiprion clarkii*)

**فاطمه حسین‌پوردلاور[۱]، محمد نیرومند[۲]*، وحید مرشدی[۳]، رضا گاموری[۴] و امید صفری[۵]**

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
۲- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۳- گروه شیلات و زیست شناسی دریا، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
۴- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۵- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۸
پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۸

نویسنده مسئول مکاتبه:
**محمد نیرومند**، گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

ایمیل:
mohamad_niromand@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه تأثیر دو روش غنی‌سازی دستی و تجاری روتیفر با اسید چرب ضروری دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) بر بقا، عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی لاروهای دلقک ماهی دُم زرد (*Amphiprion clarkii*) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و به مدت ۱۰ روز انجام شد و لاروها با روتیفر *B. plicatilis* تحت سه تیمار تغذیه شدند: روتیفر غنی‌سازی‌شده با DHA به روش تجاری، روتیفر غنی‌سازی‌شده با DHA به روش دستی (امولسیون دست‌ساز) و گروه شاهد بدون غنی‌سازی، هر تیمار در سه تکرار اجرا شد.. نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رشد نشان داد که طول استاندارد و وزن مرطوب لاروها به طور معنی‌داری به ترتیب در غنی‌سازی تجاری و دستی روتیفرها با DHA افزایش یافت. درصد بقا لاروها در طول دوره پرورش تحت تأثیر هیچ یک از روش‌های غنی‌سازی قرار نگرفت. با توجه به نتایج این مطالعه، غنی-سازی تجاری روتیفرها با DHA منجر به افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های گوارشی لیپاز، پروتئاز و فسفاتاز قلیایی لاروها در مقایسه با تیمارهای غنی‌سازی دستی و گروه شاهد شد. هم‌چنین بیشترین میزان تولید مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز در غنی‌سازی تجاری مشاهده شد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از غنی‌سازی تجاری روتیفرها به طور مشخصی موجب بهبود عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی-اکسیدانی شدند، لذا این استراتژی تغذیه برای مدیریت تغذیه لاروهای این گونه توصیه می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** دلقک ماهی، غذای زنده، آنزیم‌های گوارشی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

## مقدمه

یکی از مشکلات موجود در پرورش ماهیان دریایی، پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی است که به دلایل فیزیولوژیک و ساختاری در لاروها با رشد بطئی و تلفات بالا همراه است (Giri *et al*., 2002). در پرورش لارو آبزیان اصلی‌ترین مسئله، تأمین غذایی مناسب با کیفیت بالاست که به راحتی توسط لارو ماهیان جذب و هضم شود (Kim *et al*., 1996). چربی‌ها و اسیدهای آمینه منابع اصلی انرژی متابولیک در طول مراحل جنینی و لاروی قبل از تغذیه فعال در ماهیان هستند (Park *et al*., 2006). در زمان تفریخ، لاروهای دارای کیسه زرده دارای سطوح بالایی از این منابع انرژی هستند؛ اما میزان آن‌ها در طول مرحله تغذیه درونی به طور چشمگیری کاهش می‌یابند؛ بنابراین لارو با تغذیه آغازین، به غذای زنده‌ای نیاز دارد که به اندازه کافی این منابع انرژی را دارا باشد (Evans *et al*., 2000). از طرف دیگر به دلیل عدم تناسب اندازه دهان لارو بسیاری از ماهیان دریایی و برخی از ماهیان آب شیرین با ذرات غذای کنسانتره و عدم تأمین نیازهای غذایی لاروها توسط



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]
[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

این نوع مواد غذایی، استفاده از آن‌ها در مراحل اولیه لارو آبزیان امکان‌پذیر نمی‌باشد در حالی که استفاده از غذای زنده در پرورش لارو آبزیان مختلف نه تنها نیازهای غذایی جانور را تأمین می‌کند، بلکه به دلیل همخوانی این نوع غذاها با رژیم غذایی طبیعی ماهی، بیشتر قابل‌پذیرش و استفاده است (Park *et al*., 2006)؛ لذا پرورش موفقیت‌آمیز آبزیان به قابلیت دسترسی به غذای مناسب مطابق با نیازهای آن‌ها بستگی دارد تا بتواند رشد و خصوصاً سلامتی را در مراحل نوزادی و لاروی تضمین نماید.

استفاده از غذای زنده به عنوان غذای آغازین در بسیاری از گونه‌های ماهیان دریایی جهت بهبود وضعیت تغذیه‌ای، ضریب رشد و کاهش میزان تلفات لاروها از پیشرفت شایان توجهی در امر آبزی‌پروری برخوردار می‌باشد (Muhamad Shaleh *et al*., 2024). امروزه در بین غذاهای زنده مورد استفاده در تغذیه آبزیان مختلف از جمله پرورش ماهیان دریایی و آکواریومی از روتیفر در سطح وسیعی به عنوان غذای آغازین استفاده می‌شود. روتیفرها به دلیل اندازه کوچک، محتوای غذایی، قابلیت هضم و سرعت تولیدمثل بالا در تغذیه لارو آبزیان داری اهمیت زیادی می‌باشند. هم‌چنین این موجودات غذایی زنده اغلب فاقد مواد مغذی ضروری مانند اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه زنجیره بلند (دکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید) هستند که برای رشد بهینه لاروها ضروری هستند (Das *et al*., 2012)؛ لذا غنی‌سازی روتیفرها جهت بالا بردن ارزش غذایی آن امری ضروری است.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که اسیدهای چرب ضروری از قبیل DHA در تغذیه لارو ماهیان دریایی اهمیت زیادی دارند (Hernández-Cruz *et al*., 1999, Izquierdo *et al*., 2013, Kotani *et al*., 2013 & Fu *et al*., 2021). این اسیدهای چرب جزء فسفولیپیدها هستند که ساختار حساسی دارند و از اجزای فیزیولوژیک غشای سلول‌های اکثر بافت‌ها به شمار می‌روند (Park *et al*. 2006). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که DHA بر عملکرد رشد، مقاومت در برابر استرس، رشد اسکلت‌ها در دوره دگردیسی، بهبود رشد عصبی، توسعه سیستم بینایی، ایمنی، آنتی‌اکسیدانی، رنگ‌دانه و نرخ بقا در لاروها نقش دارد (Watanabe *et al*., 1993).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نیاز به DHA در رژیم غذایی در بین گونه‌های ماهی متفاوت است به طوری که نیاز به DHA در لارو ماهیان آب سردی مثل ماهی کفشک دم زرد (*Limanda ferruginea*) و هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*) بالا اما در ماهی توربوت *Scophthalmus maximus* کمتر می‌باشد (Park *et al*., 2006). مرشدی و همکاران (۲۰۲۳) نیز گزارش کرده‌اند که اگرچه DHA برای رشد لارو ماهیان دریایی ضروری است؛ اما سطوح بیش از حد آن می‌تواند منجر به عوارض جانبی مانند کاهش نرخ بقا شود؛ بنابراین، درک سطوح و روش‌های بهینه غنی‌سازی DHA برای بهبود تکنیک‌های پرورش لارو حیاتی است (Morshedi *et al*., 2024).

شقایق ماهی کلارکی یا دلقک ماهی دُم زرد (*Amphiprion clarkii*, Bennett 1830) در میان گونه‌های ماهیان آکواریومی آب شور (دریایی)، محبوب‌ترین گونه در تجارت آکواریوم و ماهیان زینتی است. آن‌ها به دلیل رنگ‌های روشن، اندازه کوچک و دامنه تحمل قابل توجه خود مشهور هستند. دلقک ماهی‌ها ارزش اقتصادی مهمی در خلیج فارس دارند و کاندیدای بالقوه‌ای برای پرورش ماهیان زینتی در سواحل و آب دریا هستند. هم‌چنین این ماهیان دارای مزایای دیگری مانند سرعت رشد بالا و سازگاری با شوری و دما هستند. مشکل اصلی پرورش دلقک ماهی وابستگی به غذای زنده در طول پرورش مراحل لاروی است (Morshedi *et al*., 2024).

مطالعات کمی در مورد تأثیر غنی‌سازی غذای زنده با اسیدهای چرب ضروری بر رشد، بقا و سلامت دلقک ماهی‌ها وجود دارد (Dhaneesh *et al*., 2017; Basford *et al*., 2020). Basford و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند که رشد و میزان بقا در لاروهای شقایق ماهی نوار پهن (*Amphiprion latezonatus*) تغذیه شده با غذای زنده غنی‌سازی شده با DHA بهبود نیافت. هم‌چنین در مطالعه دیگری مرشدی و همکاران (۲۰۲۳) به نتایج مشابهی در مورد دلقک ماهی دُم زرد دست یافتند. با اینکه پژوهش‌های نسبتاً زیادی اثربخشی روش‌های مختلف غنی‌سازی غذای زنده با DHA، از جمله امولسیون‌های دستی و آماده‌سازی تجاری را در لارو ماهیان مختلف مورد بررسی قرار داده است؛ اما تاکنون مطالعه‌ای به مقایسه این دو روش غنی‌سازی نپرداخته است؛ از طرفی امولسیون‌های DHA تجاری اغلب گران‌قیمت هستند و امکان کنترل دقیق ترکیب و غلظت اسیدهای چرب را محدود می‌کنند، در



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

حالی که استفاده از امولسیون دستی این امکان را فراهم می‌آورد تا غنی‌سازی روتیفر مطابق نیازهای فیزیولوژیکی لاروها بهینه شود. لذا هدف مطالعه حاضر پر کردن این شکاف با مقایسه دو روش غنی‌سازی - امولسیون‌های دستی در مقابل آماده‌سازی‌های تجاری با تمرکز بر تأثیرات مربوطه بر عملکرد رشد، میزان بقا، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در لارو دلقک ماهی زرد دُم زرد است.

## مواد و روش‌ها

### تأمین و نگهداری ماهیان

در پژوهش حاضر لاروهای تازه به تغذیه افتاده (تغذیه بیرونی) حاصل از القای مصنوعی ۷ عدد ماهی مولد دلقک ماهی دم زرد با نسبت ۲ نر به ۳ ماده با طول متوسط ۸-۶ سانتی‌متر در سالن آبزی‌پروری شرکت آبزی‌پروری شرکت تبسم ساحل قشم واقع در پارک بیوتکنولوژی خلیج فارس تهیه شد. مولدین دلقک ماهی پس از فراهم آوردن شرایط تکثیر (دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی/ ۱۰ ساعت تاریکی، دما ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۰ گرم در لیتر و اسیدیته ۸/۵-۸) و قرار دادن گلدان‌هایی در کف مخازن تحریک به تولیدمثل شدند. پس از تخم‌ریزی، گلدان‌های حاوی تخم پیش از تفریخ به آکواریوم‌های شیشه‌ای ۸۰ لیتری با دیواره‌های مشکی منتقل شدند. در این مرحله تخم‌ها در تاریکی کامل و بدون هیچ‌گونه تعویض آب و هوادهی آرام (۰/۳ ± ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول) در دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد پس از ۲۴ ساعت تفریخ شدند. لاروهای هچ شده در هر مخزن شمارش شدند و تراکم محاسبه شد. لاروها (با وزن متوسط ۰/۰۵ ± ۱/۴۸ میلی-گرم) پس از تفریخ به مدت ۲۴ ساعت تا زمان باز شدن دهان در شرایط تاریکی نگه داشته شدند، سپس شدت نور با تنظیم فاصله منبع نور از سطح آب به تدریج به میزان ۷۰۰ لوکس افزایش پیدا کرد (این افزایش در طول یک دوره ۳ روزه (از روز ۰ تا روز ۳ پس از تفریخ) به تدریج اعمال شد، به طوری که در پایان روز سوم شدت نور به ۷۰۰ لوکس رسید.). لازم به ذکر است که ۲۴ ساعت اولیه پس از تفریخ لاروها به عنوان روز صفر در نظر گرفته شد. دوره نوری از روز اول تا انتهای دوره به صورت ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی به صورت مصنوعی و با لامپ‌های فلورسنت اعمال شد.

در روز اول پس از تفریخ تعویض آبی در مخازن پرورشی (آکواریوم‌های شیشه‌ای ۸۰ لیتری) صورت نگرفت و از روز دوم کف مخازن با سیفون کردن برای جمع‌آوری لاروهای مرده و غذای رسوب کرده تمیز شد و روزانه ۲۰-۱۰ درصد از حجم آب مخازن بدون ایجاد مزاحمت برای لاروها تعویض شد و آب مخازن پرورش لارو به آرامی یک بار در روز با یک سیستم قطره‌ای جایگزین شد. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، شوری، اکسیژن محلول و اسیدیته به ترتیب ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد، ۳۰-۲۸ گرم در لیتر، ۸۰-۷۰ درصد اشباع و ۸/۵-۸ ثبت شد (Morshedi *et al*., 2024).

برای تغذیه لاروها از آب سبز حاوی جلبک *Nannochloropsis* Sp. (شرکت....، کشور .....) به میزان $۵*۱۰^{۴}$ عدد در میلی‌لیتر از اولین روز تا روز ۱۰ پس از تفریخ استفاده شد (جلبک‌ها در شرایط آزمایشگاهی و در دمای ۲۰–۲۵ درجه سانتی‌گراد و با نور ۱۰۰۰ لوکس رشد داده شدند و روزانه با شمارش سلولی توسط هموسیتومتر میزان مناسب رقیق و به لاروها اضافه می شد.). از روز دوم پس از تفریخ تا روز دهم از روتیفرهای *B. rotundiformis* (نوع S) و *B. plicatilis* (نوع L) غنی‌سازی‌شده با امولسیون‌های طراحی‌شده تغذیه شدند، به‌طوری که تراکم نهایی غذای زنده معادل ۱۰ روتیفر (شامل ۵ عدد *B. rotundiformis* و ۵ عدد *B. plicatilis* در هر میلی‌لیتر) بود. در تیمار شاهد، روتیفرها بدون غنی سازی مورد استفاده قرار گرفتند. افزودن غذای زنده غنی شده به مخازن پرورشی ۲ بار در روز در ساعات ۹:۰۰ و ۱۶:۰۰ انجام شد (Morshedi *et al*., 2024). جهت حفظ کیفیت آب و محاسبه درصد بازماندگی لاروها، روزانه لاروهای احتمالی مرده با سیفون خارج و نتایج آن‌ها ثبت گردید.

### غنی‌سازهای (امولسیون‌ها) آزمایشی

از روغن‌های غنی شده با اسید چرب (EPA 80% and DHA 80%, Shaanxi Pioneer Biotech Co., Ltd. (Shaanxi, China)) جهت تهیه امولسیون غنی‌ساز دستی بر اساس Villalta و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد که در آن میزان اسید چرب DHA، ۱۲۰ میلی‌گرم برگرم امولسیون می‌باشد (جدول ۱). در تیمار بعدی به‌منظور غنی‌سازی تجاری از محصول تجاری Super selco متعلق به شرکت Inve (دندرموند، بلژیک) استفاده شد و در تیمار



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

سوم از هیچ نوع غنی‌سازی استفاده نشد. لیست تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۲ آمده است.

**جدول ۱- فرمولاسیون امولسیون آزمایشی برای غنی‌سازی غذای زنده با اسید چرب DHA**

| ترکیبات | میزان ($mg.g^{-1}$) |
|---|---|
| EPA-enriched oil | ۱۰۰ |
| DHA-enriched oil | ۶۰ |
| ARA-enriched oil | ۵۰ |
| Olive oil | ۳۱۸ |
| Soy lecithin | ۴۰ |
| α-Tocopherol | ۱۲ |
| Distilled water | ۴۲۰ |

**جدول ۲- لیست تیمارهای آزمایشی**

| کد | تیمارها |
|---|---|
| **A** | شاهد |
| **B** | تغذیه لاروها با روتیفر غنی‌سازی شده با DHA به روش تجاری |
| **C** | تغذیه لاروها با روتیفر غنی‌سازی شده با DHA به روش دستی |

**غنی‌سازی غذای زنده**

ذخیره اولیه روتیفرهای مورداستفاده (*B. rotundiformis* و *B. plicatilis*) از دانشگاه خلیج‌فارس بو شهر تهیه و به آزمایشگاه شرکت آبزی‌پروری تبسم ساحل قشم منتقل شدند. در ادامه برای تأمین انبوه روتیفر موردنیاز جهت غنی سازی، از کشت متراکم دوره‌ای[1] استفاده شد. کشت روتیفرها تحت شرایط کنترل شده (میزان نور ۱۵۰۰-۱۰۰۰ لوکس، دما ۱ ± ۲۸، اسیدیته ۸/۵-۸، شوری ppt ۲۰ و با هوادهی ملایم و پیوسته) انجام شد. هم‌چنین تغذیه روتیفرها با جلبک *Nannochloropsis* sp. (۲۰-۱۵ میلیون سلول در هر میلی‌لیتر) و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (۲۵ گرم به‌ازای هر ۱۰۰ میلیون روتیفر) انجام شد. در غنی سازی دستی روزانه محلول غنی سازی حاوی اسیدهای چرب مذکور و ویتامین E (جدول ۱) به همراه امولسیفایر لیستین سویا تهیه شده و یک بار در روز برای تغذیه روتیفر مورد استفاده قرار می‌گرفت. برای غنی سازی روتیفرها، تراکم آن‌ها پیش از شروع آزمایش با نمونه‌برداری حجمی و شمارش زیر میکروسکوپ نوری تنظیم شد و حدود ۵۰۰ روتیفر در هر میلی‌لیتر در مخازن پلاستیکی ۱۰ لیتری ذخیره‌سازی گردید. سپس روتیفرها با غلظت ۰/۶ گرم در لیتر با هر یک از امولسیون‌های آزمایشی به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد غنی‌سازی شدند (Estévez *et al.*, 2017). بعد از غنی‌سازی روتیفرهای برداشت شده با آب دریا شسته شدند سپس به مدت ۶۰ ثانیه با آب شیرین برای کاهش بار باکتریایی شسته شده و برای تغذیه لارو موردا ستفاده قرار گرفتند (Eryalçın *et al.*, 2019).

**اندازه‌گیری مورفومتریک، مقدار رشد و درصد بازماندگی لاروها**

به منظور مقایسه اثرات دو روش غنی‌سازی روتیفر با اسید چرب DHA بر لارو دلقک ماهی دم زرد، شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی لاروها در پایان دوره آزمایش (۱۰ روز) مورد ارزیابی قرار گرفت. لاروها طی دوره پرورش تحت شرایط کنترل‌شده دما، شوری، اکسیژن محلول و دوره نوری، مطابق با توضیحات ارائه‌شده در بخش «تأمین و نگهداری ماهیان» نگهداری شدند. جهت بررسی شاخص رشد طول لاروها، تعداد ۳۰ عدد لارو را ابتدا در محلول فنوکسی اتانول با غلظت ۸۰۰ ppm (Mylonas *et al.*, 2005; Ross and Ross, 2008) بیهوش کرده و سپس طول آن‌ها در زیر میکروسکوپ از نوک آرواره‌ها تا انتهای نوتوکورد با استفاده از نرم‌افزار Image tools اندازه‌گیری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری وزن لاروها نیز تعداد ۳۰ عدد

1- Batch culture system



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

لارو را بیهوش و سپس وزن تر آن را (در آغاز و پایان آزمایش) محاسبه و بعد از آن به مدت ۲۴ ساعت در آون ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن خشک لاروها نیز محاسبه گشت. هم‌چنین درصد بازماندگی لاروها بر اساس نسبت تعداد لاروهای زنده در پایان آزمایش به تعداد اولیه لاروها محاسبه شد (Morsedi *et al*., 2024).

۱۰۰*تعداد لارو در شروع (SR%) درصد بازماندگی
آزمایش/ تعداد لارو در پایان آزمایش =

**سنجش شاخص‌های آنزیمی**

به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی-اکسیدانی ۵ لارو از هر تانک به‌طور مستقیم داخل مخزن نیتروژن مایع منتقل و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتی-گراد منتقل شدند.

**سنجش آنزیم‌های گوارشی**

به منظور سنجش آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز، پروتئاز و فسفاتاز قلیایی) ابتدا نمونه‌های ذوب شده بر روی یخ را دو بار با آب مقطر شستشو داده و سپس نمونه‌ها را با نسبت وزنی ۹:۱ در محلول حاوی بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی-مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و Triton X-100 ۱ درصد (اسیدیته ۷/۸) توسط هموژنایزر به مدت ۱/۵ دقیقه در کنار یخ هموژن نموده و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت g× ۳۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول رویی، جهت سنجش پروتئین محلول و فعالیت آنزیمی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Furné *et al*., 2008). میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز با استفاده از کیت تشخیصی شرکت بیونیک (تورنتو، کانادا) و بر اساس روش به‌کار رفته توسط (مرشدی و همکاران، ۲۰۲۳) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت پروتئاز به روش Anson (۱۹۳۸) و با استفاده از هموگلوبین به‌عنوان سوبسترا اندازه‌گیری شد. هم‌چنین برای تعیین سطح فعالیت فسفاتاز قلیایی از کیت-های تجاری تولید شده توسط شرکت پادکو استفاده شد. پروتئین محلول عصارهٔ آنزیمی به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد. جهت انجام این کار از آلبومین سرم گاوی (BSA[۲]) به‌عنوان استاندارد استفاده گردید.

**سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی**

به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ابتدا قطعات کوچک شده لاروها در بافر سرد تریس- کلریدریک (اسیدیته ۷/۵ و ۰/۰۲۵ مولار) و با استفاده از هموژنایزر همگن گردید. هموژنه‌های حاصل که دارای درصد حجمی/ وزنی ۱۰ درصد بودند، با سرعت g× ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل دور ریخته شده و بخش رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Morshedi *et al*., 2024). سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (MDA، CAT و SOD) با کمک دستگاه میکروپلیت ریدر (بیوتک، آمریکا) و کیت‌های تجاری تولید شده توسط شرکت نوند سلامت (ایران) انجام شد.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

طرح کلی این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS با نسخه ۲۲ و برای رسم نمودارها از نمودار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد. داده‌های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار از ۳ تکرار گزارش گردیدند. پس از تبدیل داده‌های درصدی به صورت آرکسینوس، همگنی واریانس‌ها بررسی شد. برای آنالیز داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA و برای مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey استفاده شد. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

**نتایج**

**شاخص‌های رشد لارو دلقک ماهی دُم زرد**

**طول استاندارد**

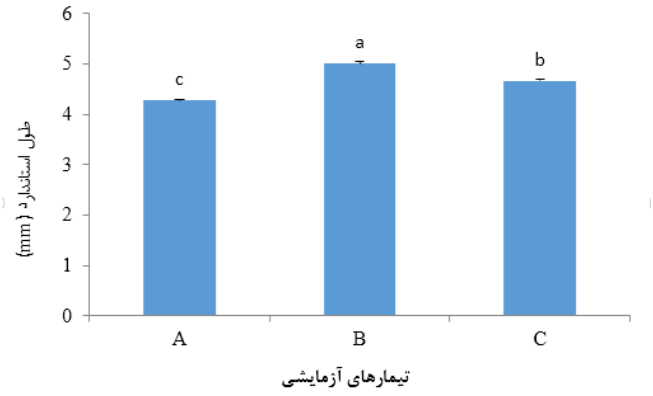
بر اساس این نمودار، طول استاندارد لارو دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفرهای غنی شده با DHA به روش-های تجاری و دستی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب در تیمار تغذیه شده با روتیفر غنی شده تجاری و تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱).

2- Bovine Serum Albumin



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

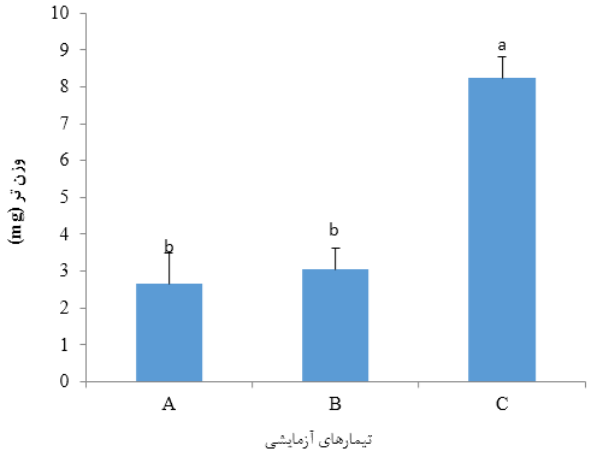



**شکل ۱- طول استاندارد لاروهای تیمارهای مختلف تا پایان دوره پرورش (A: شاهد، B: تغذیه لاروها با روتیفر غنی‌سازی شده با DHA به روش تجاری، C: تغذیه لاروها با روتیفر غنی‌سازی شده با DHA به روش دستی)**

***حروف بالانویس متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار میان گروه‌ها است.**

## وزن مرطوب

نتایج تغییرات وزن مرطوب لاروهای دلقک ماهی تغذیه شده با روتیفر غنی شده به صورت دستی و تجاری در مقایسه با تیمار شاهد در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین افزایش وزن مرطوب در لاروهای تغذیه شده با روتیفر غنی شده به روش دستی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵) و کمترین میزان رشد وزنی در لاروهای تغذیه شده با روتیفر غنی شده به روش تجاری و گروه شاهد مشاهده شد. هم‌چنین بین میزان رشد وزنی لاروهای تغذیه شده با روتیفر غنی شده تجاری و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).




**شکل ۲- وزن تر لاروهای تیمارهای مختلف تا پایان دوره پرورش**

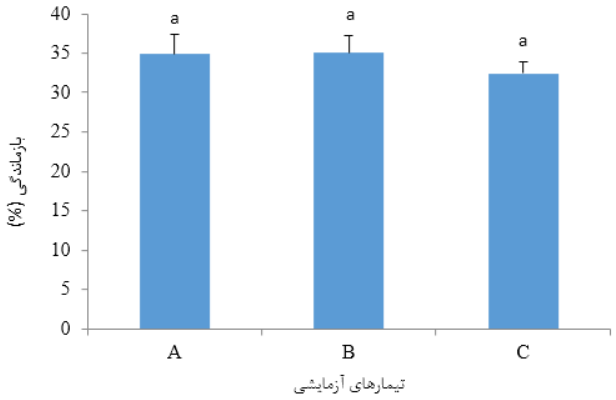
## درصد بازماندگی

نتایج درصد بازماندگی لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی شده با DHA با دو روش تجاری و دستی در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۳ نشان داده شده است. درصد بازماندگی لاروها در میان تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). کمترین میزان درصد بازماندگی در لاروهای تغذیه شده با روتیفر غنی شده به روش دستی مشاهده شد. با این حال، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از لحاظ فاکتور مذکور وجود نداشت.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

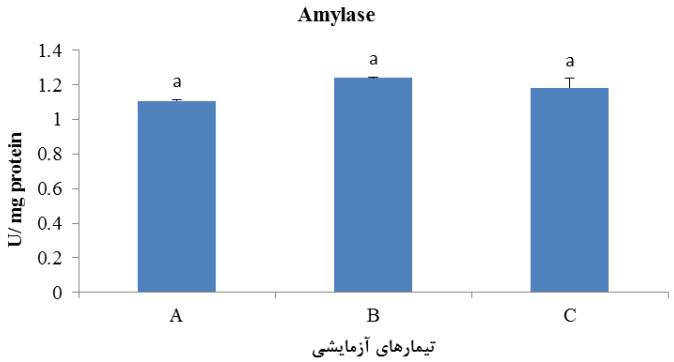



**شکل ۳- درصد بازماندگی لاروهای تیمارهای مختلف تا پایان دوره پرورش**

## فعالیت آنزیم‌های گوارشی

### آمیلاز

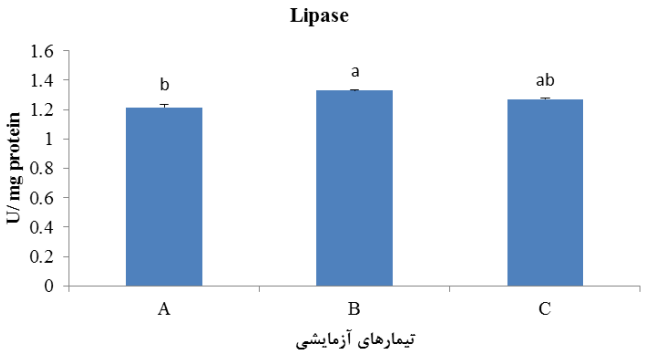
نتایج میزان فعالیت آنزیم گوارشی آمیلاز در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی شده با DHA با روش‌های تجاری و دستی در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود آنزیم مذکور اختلاف معنی‌داری در هیچ‌کدام از تیمارها در مقایسه با گروه شاهد نشان نداده است (P>۰/۰۵).




**شکل ۴- میزان آنزیم آمیلاز در تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

### لیپاز

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به دو روش تجاری و دست‌ساز در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۵ نشان‌داده‌شده است. این نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار غنی‌سازی تجاری و گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). از سوی دیگر هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی دستی و گروه شاهد و هم‌چنین بین دو تیمار غنی‌سازی تجاری و دستی وجود نداشت (P>۰/۰۵). بالاترین میزان فعالیت آنزیم مذکور در تیمار غنی‌سازی تجاری و پایین‌ترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد.




**شکل ۵- میزان آنزیم لیپاز در تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

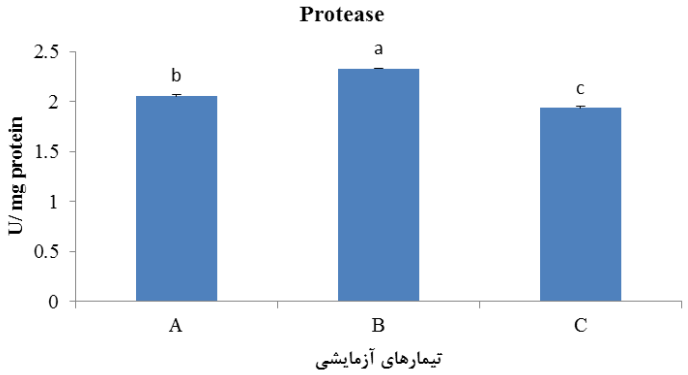


[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

**پروتئاز**

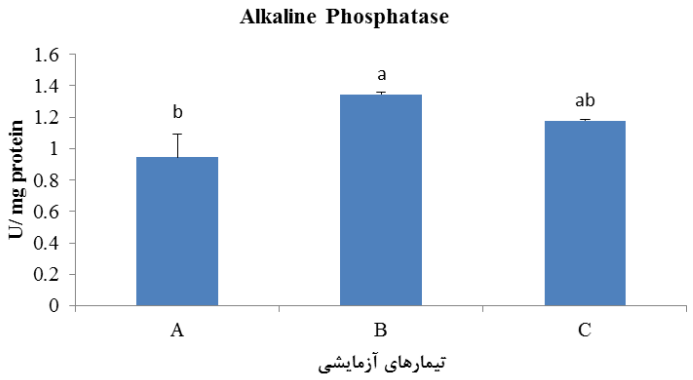
نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم گوارشی پروتئاز در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به دو روش تجاری و دست‌ساز در مقایسه با گروه شاهد در شکل۶ نشان داده شده است. نتایج حاکی از اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای غنی‌سازی دستی و تجاری در مقایسه با گروه شاهد است (P<۰/۰۵). هم‌چنین بالاترین میزان فعالیت آنزیم مذکور نیز در تیمار غنی‌سازی تجاری مشاهده شد (P<۰/۰۵). از سوی دیگر کمترین میزان فعالیت این آنزیم بعد از تیمار شاهد در تیمار غنی-سازی دستی ثبت شد.




**شکل ۶- میزان آنزیم پروتئاز در تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

**فسفاتاز قلیایی**

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم گوارشی فسفاتاز قلیایی در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی-شده با DHA به دو روش دستی و تجاری در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۷ نشان داده شده است. این نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی تجاری با تیمار شاهد داشت (P<۰/۰۵). بااین‌حال، هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی دستی و گروه شاهد و هم‌چنین بین دو تیمار غنی‌سازی دستی و گروه شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای غنی‌سازی تجاری و گروه شاهد مشاهده شد.




**شکل ۷- میزان آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

## فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

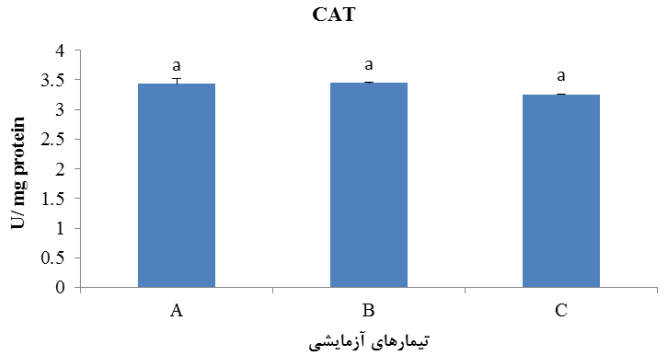
### مالون دی آلدئید

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی مالون دی آلدئید در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به دو روش دستی و تجاری در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۸ نشان داده شده است. این نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی تجاری با گروه شاهد و هم‌چنین بین دو تیمار غنی‌سازی تجاری و دستی است (P<۰/۰۵). از سوی دیگر، هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی دستی و گروه شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای غنی‌سازی تجاری و دستی مشاهده شد.

**شکل ۸- میزان مالون دی‌آلدئید در تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

### کاتالاز

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به دو روش دستی و تجاری در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۹ آورده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای غنی‌سازی با گروه شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵).




**شکل ۹- میزان کاتالاز تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

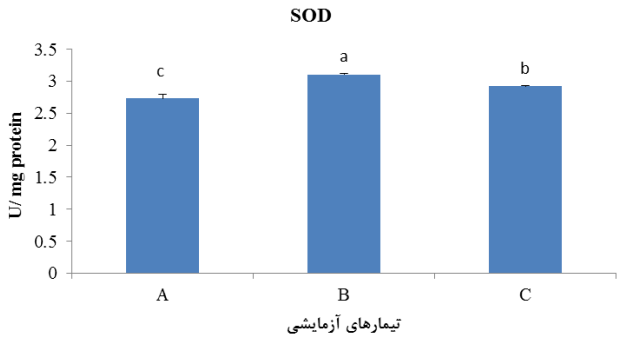
### سوپراکسیداز دیسموتاز

نتایج مربوط به بررسی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز در لاروهای دلقک ماهی دُم زرد تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به دو روش دستی و تجاری در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۱۰ نشان داده شده است. این نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای غنی‌سازی تجاری و دستی با گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای غنی‌سازی تجاری و گروه شاهد مشاهده شد.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]




**شکل ۱۰- میزان سوپراکسیداز دیسموتاز تیمارهای مختلف آزمایشی تا پایان دوره پرورش**

## بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر غنی‌سازی غذای زنده (روتیفر) با اسید چرب ضروری DHA به دو روش دستی و تجاری بر رشد، بازماندگی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی لارو دلقک ماهی دُم زرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش طول استاندارد در لاروهای تغذیه شده با روتیفر غنی شده به روش تجاری در مقایسه با روش دستی بیشتر است؛ بنابراین، می‌توان اذعان داشت که غنی‌سازی تجاری ممکن است پروفایل غذایی مؤثرتری برای ارتقای رشد از نظر طول فراهم کند که برای مراحل اولیه رشد لارو ماهیان دریایی حیاتی است (Garcia *et al*., 2001). در مقابل بررسی روند رشد وزنی لاروها نشان داد که بیشترین میزان رشد وزنی در لاروهای تغذیه شده با روتیفرهای غنی شده به روش دستی ثبت شده است؛ لذا غنی‌سازی دستی ممکن است مزایای خاصی را از نظر افزایش وزن ارائه دهد که احتمالاً به دلیل تفاوت در جذب مواد مغذی یا کارایی متابولیک در مراحل اولیه رشد است (Garcia *et al*., 2008). هم‌چنین تفاوت مشاهده‌شده بین اثرات غنی‌سازی دستی و تجاری روتیفر بر شاخص‌های رشد لاروها می‌تواند به اختلاف در ترکیب، پایداری و زیست‌فراهمی اسیدهای چرب ضروری در این دو نوع امولسیون مرتبط باشد. امولسیون‌های تجاری DHA معمولاً دارای نسبت‌های استاندارد DHA/EPA، فسفولیپیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که موجب افزایش پایداری اکسیداتیو و انتقال مؤثرتر اسیدهای چرب به غذای زنده و در نهایت به لاروها می‌شود؛ در حالی‌که امولسیون‌های دستی ممکن است از نظر یکنواختی ذرات و ثبات شیمیایی محدودیت‌هایی داشته باشند (Estévez and Kanazawa, 1996; Sargent *et al*., 1999; Izquierdo *et al*., 2006). جالب توجه است که هیچ یک از روش‌های غنی‌سازی به طور قابل‌توجهی میزان بقا لاروها را در مقایسه با گروه شاهد افزایش نداد؛ بنابراین در این تحقیق به نظر می‌رسد که شاخص‌های رشد مثل طول و وزن را می‌توان از طریق استراتژی‌های تغذیه‌ای خاص بهبود بخشید، اما بقا ممکن است تحت‌تأثیر عوامل دیگری فراتر از ترکیب جیره غذایی باشد (Lavens *et al*., 1996). از سوی دیگر، عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار در درصد بازماندگی لاروها می‌تواند ناشی از کوتاه بودن دوره تغذیه و پرورش در این پژوهش باشد، زیرا اثرات تغذیه‌ای DHA بر بقا، مقاومت در برابر تنش و بروز ناهنجاری‌های اسکلتی معمولاً در دوره‌های طولانی‌تر لاروی یا در مرحله دگردیسی آشکار می‌شود (Watanabe *et al*., 1993; Lavens and Sorgeloos, 1996; Roo *et al*., 2009; Izquierdo et al., 2013). بنابراین، به نظر می‌رسد که در بازه زمانی کوتاه‌مدت، تفاوت‌های تغذیه‌ای ناشی از روش‌های غنی سازی بیشتر در شاخص‌های رشد قابل مشاهده بوده و برای ارزیابی دقیق‌تر اثرات DHA بر بقا، انجام مطالعات بلندمدت‌تر ضروری است. هم‌راستا با نتایج حاصل از این تحقیق، در مطالعه انجام شده توسط Park و همکاران (۲۰۰۶) غنی‌سازی تجاری روتیفر با سطوح بالا DHA و استفاده آن در تغذیه لاروهای ماهی‌کاد اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*) منجر به بهبود شاخص‌های رشد (طول و وزن) گردید. هم‌چنین در این پژوهش شاخص درصد بازماندگی لاروها تحت تأثیر DHA جیره غذایی بهبود یافت که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت داشت. در حالی‌که در مطالعه دیگری که توسط Roo و همکاران (۲۰۰۹) بر روی لاروهای شانک قرمز (*Pagrus pagrus*) انجام گرفت نشان دادند که سطوح بالای DHA در غنی-سازی تجاری روتیفر هیچ‌گونه تأثیری بر میزان رشد لاروها نداشته و حتی منجر به ناهنجاری‌های اسکلتی در لاروهای مذکور شده است. نتایج مطالعه حاضر با تحقیقی دیگر که توسط مرشدی و همکاران (۲۰۲۳) بر روی لاروهای دلقک



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

ماهی دُم زردانجام گرفت مغایرت داشت. پژوهشگران مذکور نشان دادند که افزایش سطح DHA باعث افزایش میزان رشد و بقا لاروها نشد؛ بلکه حتی منجر به کاهش میزان بقا نیز شد. این یافته‌های متضاد، بر پیچیدگی نیازهای غذایی در لارو ماهیان تأکید می‌کند و نشان می‌دهد اگرچه DHA یک ماده مغذی مفید محسوب می‌شود؛ اما اثرات آن می‌تواند بسته به گونه، سطوح غنی‌سازی، طول دوره نگهداری و تغذیه باشد. هم‌چنین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که غنی‌سازی روتیفر با DHA (به دو روش تجاری و دستی) هیچ تأثیری بر فعالیت آنزیم آمیلاز در لاروهای دلقک ماهی نداشت که این نشان می‌دهد که روش‌های غنی‌سازی DHA، اعم از تجاری یا دستی، هضم کربوهیدرات‌ها را در لاروهای مذکور بهبود نمی‌بخشند. هم‌چنین بر طبق این نتایج، غنی‌سازی تجاری روتیفرها با DHA منجر به افزایش قابل‌توجهی در فعالیت آنزیم لیپاز لاروها در مقایسه با تیمارهای غنی‌سازی دستی و گروه شاهد شد. این نشان می‌دهد که در روش غنی‌سازی تجاری روتیفرها ممکن است جذب DHA بهتر صورت‌گرفته باشد که منجر به بهبود پروفایل غذایی روتیفرها شده است؛ بنابراین می‌توان اذعان نمود که DHA نقش مهمی در تحریک تولید لیپاز دارد که از طریق متابولیسم چربی‌ها ممکن است بر روند رشد و سلامت کلی لارو مؤثر باشد. بر طبق نتایج این مطالعه، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز لاروها در تیمار تغذیه شده با روتیفر غنی‌شده با DHA به روش تجاری نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود. این یافته نشان می‌دهد که فرمول غنی‌سازی تجاری مورد استفاده ممکن است حاوی مواد مغذی یا فاکتورهای رشد خاصی باشد که فرایندهای متابولیک را در روتیفرها افزایش داده و منجر به افزایش تولید آنزیم پروتئاز شده است. با توجه به این‌که کمترین میزان فعالیت آنزیمی در تیمار غنی‌سازی دستی مشاهده شده می‌توان اذعان نمود که احتمالاً روش غنی‌سازی دستی شرایط بهینه یا مواد مغذی لازم برای به حداکثر رساندن تولید آنزیم پروتئاز در لاروها را فراهم نکرده است. هم‌چنین، نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم گوارشی فسفاتاز قلیایی مشابه فعالیت آنزیم لیپاز بود. نتایج حاکی از تفاوت معنی‌داری بین تیمار غنی‌سازی تجاری و گروه شاهد بود. با توجه به این‌که آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌عنوان شاخصی از بلوغ عملکردی روده و ظرفیت جذب مواد مغذی شناخته می‌شود و افزایش فعالیت آن معمولاً با بهبود هضم، جذب مؤثرتر اسیدهای آمینه، لیپیدها و فسفر و در نهایت افزایش رشد طولی و وزنی لاروها همراه است (Zambonino Infante and Cahu, 2001; Gisbert *et al*., 2009). بر این اساس، فعالیت بالاتر فسفاتاز قلیایی در تیمار غنی‌سازی تجاری احتمالاً نشان‌دهنده تکامل بهتر دستگاه گوارش و افزایش ظرفیت جذب مواد مغذی بوده و می‌تواند توضیح‌دهنده افزایش طول استاندارد مشاهده‌شده در این تیمار باشد. در مقابل، تفاوت‌های مشاهده‌شده در الگوی رشد وزنی میان تیمارها ممکن است به اختلاف در کارایی متابولیک، نحوه تخصیص انرژی و مسیرهای مصرف مواد مغذی در مراحل اولیه رشد لاروها مرتبط باشد. در مطالعه‌ای مشابه Huang و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند استفاده از DHA در جیره غذای لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز را افزایش دادند؛ اما در میزان فعالیت آنزیم آمیلاز تغییری مشاهده نشد. این محققین گزارش کردند که این افزایش ترشح آنزیم می‌تواند جذب غذای مصرفی را توسط آبزی بهبود بخشد. هم‌چنین Castro-Ruiz و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی میزان بیان برخی از ژن‌های درگیر در گوارش لاروهای گربه‌ماهی *Pseudoplatystoma punctifer* پس از تغذیه با آرتیمای غنی شده با DHA نشان دادند که سطح بیان ژن‌های دخیل در هضم پروتئین و کربوهیدرات (ctr، amy) در گروه‌هایی که از آرتمیا غنی‌شده تغذیه می‌کردند، بالاتر بود. در مطالعات دیگر توسط Lei و همکاران (۲۰۱۶) و Yoon و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که بیشترین فعالیت آنزیم لیپاز در بچه ماهیان تغذیه شده با جیره‌های محتوی DHA مشاهده شده است که هم راستا با یافته‌های پژوهش حاضر بود. نتایج این پژوهش در راستای نتایج Wang و همکاران (۲۰۱۵) نبود، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین و فسفاتاز قلیایی) در لاروهای میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره غذایی محتوی DHA در مقایسه با گروه شاهد تغییر نیافت؛ اما تغییرات فعالیت آنزیم آمیلاز مشابه پژوهش حاضر بود. در مقابل مرشدی و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای مشابه نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف DHA در تغذیه لاروهای شانک دُم زرد (*Acanthopagrus latus*) منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئاز، لیپاز و فسفاتاز قلیایی شده



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

است؛ اما تغییرات فعالیت آنزیم آمیلاز در تناقض با نتایج پژوهش حاضر بود. هم‌چنین این محققان در پژوهش دیگری با مطالعه بر روی تأثیر سطوح مختلف DHA در تغذیه لاروهای دلقک ماهی دُم زرد نشان دادند که همبستگی مثبتی بین وزن نهایی و لیپاز، پروتئاز و لاکتات دهیدروژناز وجود داشت (Morshedi *et al*., 2024). علاوه بر آن، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اگرچه غنی‌سازی تجاری به طور معنی‌داری بر میزان تولید مالون دی آلدئید تأثیر می‌گذارد، اما تفاوت قابل‌توجهی در میزان تولید این محصول اکسیداتیو بین تیمار غنی‌سازی دستی و گروه شاهد مشاهده نشد. با توجه به این که مالون دی آلدئید محصول ثانویه پراکسیداسیون لیپیدها بوده که به صورت مستقیم می‌تواند درجه پراکسیداسیون لیپید و به طور غیرمستقیم می‌تواند سطح آسیب به سلول را نشان دهد می‌توان اذعان نمود که علی‌رغم مفید و ضروری بودن DHA در رشد و نمو لارو آبزیان دریایی عدم تعادل آن در بدن می‌تواند منجر به اثرات مضری مانند به خطر افتادن وضعیت آنتی‌اکسیدانی، تشدید بیشتر استرس اکسیداتیو و تولید مالون دی آلدئید شود (Owolabi *et al*., 2021 & Morshedi *et al*., 2024)؛ لذا به نظر می‌رسد که روش غنی‌سازی دستی در مقایسه با روش تجاری کارآمدتر بوده؛ چون منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شده است. بر طبق این نتایج، فعالیت اختصاصی کاتالاز به طور معناداری تحت‌تأثیر غنی‌سازی با DHA (روش دستی و تجاری) قرار نگرفت این نشان می‌دهد اگرچه گنجاندن DHA در تغذیه آبزیان می‌تواند مفید باشد؛ اما ممکن است تأثیری در تقویت یا مهار فعالیت آنزیم کاتالاز نداشته باشد. حتی برخی مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات امولسیون استفاده شده برای غنی‌سازی، عوامل محیطی و وضعیت فیزیولوژیک ماهی ممکن است منجر به پاسخ‌های متابولیکی متنوع و حتی بدون تغییر در سطوح آنزیم کاتالاز شوند (Lima Rocha *et al*., 2022 & García-Meilán *et al*., 2023)؛ اما نتیجه‌گیری در این باره نیازمند به مطالعات بیشتر است. هم‌چنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که روش غنی‌سازی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز دارد به‌طوری‌که فعالیت این آنزیم در تیمار غنی‌سازی تجاری بالاترین میزان را نشان داد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسیداز دیسموتاز با مکانیسم‌های فیزیولوژیک که با افزایش رادیکال‌های آزاد تحت استرس اکسیداتیو مبارزه می‌کنند، در ارتباط است؛ لذا افزایش این آنزیم می‌تواند به طور بالقوه سلامت و مقاومت لاروها را در برابر استرس اکسیداتیو بهبود بخشد. نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در لارو ماهیان تغذیه شده با جیره‌های محتوی DHA متفاوت است. برای مثال Miralles-Pérez و همکاران (۲۰۲۱) تفاوت غیرمعناداری در فعالیت سوپراکسیدازدیسموتاز و کاتالاز را در بافت کبد موش Sprague–Dawley تغذیه شده با جیره‌های غنی از DHA در مقایسه با گروه شاهد را نشان دادند. در مقابل در یافته‌های Nguyen و همکاران (۲۰۲۳) دیده شد که با افزایش سطوح DHA در جیره غذایی بچه ماهیان جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) سطوح برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز افزایش یافته است. هم‌چنین Luo و همکاران (۲۰۱۸) در نتایجی مغایر با نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که میزان آنزیم کاتالاز لاروهای تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*i) به دنبال افزایش سطوح DHA در جیره غذایی افزایش یافته است؛ اما سوپراکسیدازدیسموتاز و مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر این اسیدچرب در جیره غذایی قرار نگرفتند. در مطالعه Yadav و همکاران (۲۰۲۰) مشابه مطالعه حاضر تغییری در فعالیت آنزیم کاتالاز بچه ماهیان جوان ماهی باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) مشاهده نشد؛ اما میزان مالون دی‌آلدئید و آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در بچه ماهیان گروه شاهد بیشتر از گروهای تحت تیمار با سطوح مختلف DHA بود. Jin و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسیداز دیسموتاز در بچه ماهیان جوان شانک سیاه ژاپنی (*Pagrus major*) تحت تأثیر سطوح مختلف DHA در جیره غذایی قرار نگرفت هم‌چنین نشان دادند که با افزایش DHA میزان مالون دی‌آلدئید در لاروها افزایش یافت.

## نتیجه گیری نهایی

در این پژوهش مشخص شد نوع روش غنی‌سازی (تجاری و دست‌ساز) روتیفر با DHA می‌تواند بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی لارو دلقک ماهی دُم زرد مؤثر باشد. نتایج این پژوهش نشان داد اگرچه هر دو روش غنی‌سازی روتیفر پارامترهای رشد را بهبود بخشیدند؛ اما غنی‌سازی تجاری روتیفرها با DHA به طور قابل‌توجهی فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند لیپاز، پروتئاز



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

و آلکالین فسفاتاز را افزایش داد. علاوه بر این، غنی‌سازی تجاری منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در لاروهای مذکور شد که در سطوح اندازه‌گیری شده در سوپراکسید دیسموتاز مشهود است. علی‌رغم عدم تأثیر روش‌های غنی-سازی بر میزان بقا، این مطالعه نشان داد که غنی‌سازی تجاری روتیفرها با DHA یک استراتژی سودمند برای بهینه‌سازی مدیریت تغذیه و ارتقا رشد در لاروهای دلقک ماهی دم زرد است.

## References


Anson ML. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of general General physiologyPhysiology*, *22*(1), 79. doi.org/10.1085/jgp.22.1.79.

Basford AJ., Mos B., Francis DS., Turchini GM., White CA., & Dworjanyn S. 2020. A microalga is better than a commercial lipid emulsion at enhancing live feeds for an ornamental marine fish larva. *Aquaculture*, *523*, 735203. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735203.

Bradford Mm. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, *72*, 248-254. doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Castro-Ruiz D., Andree KB., Magris J., Fernández-Méndez C., García-Dávila C., Gisbert E., & Darias MJ. 2022. DHA-enrichment of live and compound feeds influences the incidence of cannibalism, digestive function, and growth in the neotropical catfish *Pseudoplatystoma punctifer* (Castelnau, 1855) during early life stages. *Aquaculture*, *561*, 738667. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738667.

Das P., Mandal SC., Bhagabati SK., Akhtar MS., & Singh SK. 2012. Important live food organisms and their role in aquaculture. *Frontiers in aquacultureAquaculture*, *5*(4), 69-86.

Dhaneesh KV., & Kumar TA. 2017. Oil extraction from microalgae for live prey enrichment and larviculture of clownfish *Amphiprion percula*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 97(1), 43-58. doi.org/10.1017/S0025315415002167.

Dhert P., Rombaut G., Suantika G., & Sorgeloos P. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, *200*(1-2), 129-146. doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00697-4.

Eryalçın KM. 2019. Nutritional value and production performance of the rotifer *Brachionus plicatilis* Müller, 1786 cultured with different feeds at commercial scale. *Aquaculture International*, *27*(3), 875-890. doi.org/10.1007/s10499-019-00375-5.

Estévez A., & Giménez G. 2017. Optimization of emulsion properties and enrichment conditions used in live prey enrichment. *Aquaculture Nutrition*, *23*(6), 1264-1273. 10.1111/anu.12501.

Evans RP., Zhu P., Parrish CC., & Brown JA. 2000. Lipid and amino acid metabolism during early development of marine fish. *Seafood in health and nutrition-transformation in fisheries and aquaculture: Global Perspectives, (F. Shahidi ed.). Science Tech Publishing Company, St. John's, New-foundland*, 477-493.

Fu Z., Yang R., Zhou S., Ma Z., & Zhang T. 2021. Effects of rotifers enriched with different enhancement products on larval performance and jaw deformity of golden pompano larvae *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758). *Frontiers in Marine Science*, *7*, 626071. doi.org/10.3389/fmars.2020.626071.

Furné M., García-Gallego M., Hidalgo MC., Morales AE., Domezain A., Domezain J., & Sanz A. 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *149*(4), 420-425. doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.02.002.

Garcia AS., Parrish CC., & Brown JA. 2008. A comparison among differently enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*) and their effect on Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae early growth, survival and lipid composition. *Aquaculture nutrition*, *14*(1), 14-30. doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00500.x.

García-Meilán I, Herrera-Muñoz JI., Ordóñez-Grande B., Fontanillas R., & Gallardo Á. 2023. Growth performance, digestive enzyme activities, and oxidative stress




[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

8486(96)01296-3.

Kotani T, Fushimi H, Ohta Y, Miyashima A, Sudoh KS, Hayashi M,... & Satoh S. 2013. Effect of graded levels of dietary DHA included in rotifers *Brachionus plicatilis* on larviculture performance of red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture scienceScience*, *61*(4), 321-330. doi.org/10.11233/aquaculturesci.61.321.

Lavens P., & Sorgeloos P. 1996. Manual on the production and use of live food for Aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium. 295 p.

Lei C., Ji H., Zhang J., & Li J. 2016. Effects of dietary DHA/EPA ratios on fatty acid composition, lipid metabolism-related enzyme activity, and gene expression of juvenile Grass Carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Journal of the world World aquaculture Aquaculture societySociety*, *47*(2), 287-296. doi.org/10.1111/jwas.12266.

Lima Rocha JÉ., Mendes Furtado M., Mello Neto RS., da Silva Mendes AV., Brito AKDS., Sena de Almeida JOC.,... & Martins MDCDCE. 2022. Effects of fish oil supplementation on oxidative stress biomarkers and liver damage in hypercholesterolemic rats. *Nutrients*, *14*(3), 426. doi.org/10.3390/nu14030426.

Luo L., Ai L., Liang X., Xing W., Yu H., Zheng Y.,... & Xue M. 2019. Effect of dietary DHA/EPA ratio on the early development, antioxidant response and lipid metabolism in larvae of Siberia sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt). *Aquaculture Nutrition*, *25*(1), 239-248. doi.org/10.1111/anu.12848.

Miralles-Pérez B., Méndez L., Nogués MR., Sánchez-Martos V., Fortuño-Mar À., Ramos-Romero S.,... & Romeu M. 2021. Effects of a fish oil rich in docosahexaenoic acid on cardiometabolic risk factors and oxidative stress in healthy rats. *Marine Drugs*, *19*(10), 555. doi.org/10.3390/md19100555.

Morshedi V., Eryalcin, KM., Esmaeili N., Niromand M., Gamoori R., Urku C., & Safari O. 2024. Rotifer enrichment with DHA did not improve growth and survival rate of yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larvae. *Aquaculture International*, *32*(3), 2455-2476. doi.org/10.1007/s10499-023-01279-1.

Muhamad Shaleh SR., Ismail R., Mohd Faudzi N., Shapawi R., & Fui CF. 2024. The markers in the proximal intestine of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high starch or lipid diets. *Fishes*, *8*(5), 223. doi.org/10.3390/fishes8050223.

Giri SS., Sahoo SK., Sahu BB., Sahu AK., Mohanty SN., Mukhopadhyay PK., & Ayyappan S. 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture*, *213*(1-4), 151-161. doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00012-1.

Hernández-Cruz CM, Salhi M, Bessonart M, Izquierdo MS, González MM, & Fernández-Palacios H. 1999. Rearing techniques for red porgy (*Pagrus pagrus*) during larval development. *Aquaculture*, *179*(1-4), 489-497. doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00182-9.

Huang M., Zhou Y., Ge J., Agustsson T., Li L., Gao Q., & Dong S. 2020. Fatty acid composition and digestive enzyme activities of rainbow trout in response to dietary docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) during salinity acclimation. *Journal of Ocean University of China*, *19*(6), 1430-1440. doi.org/10.1007/BF02534431.

Infante JZ., & Cahu CL. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 130(4), 477-487. doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00274-5.

Izquierdo MS, Scolamacchia M, Betancor M, Roo J, Caballero MJ, Terova G, & Witten PE. 2013. Effects of dietary DHA and α-tocopherol on bone development, early mineralisation and oxidative stress in *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) larvae. *British Journal of Nutrition*, *109*(10), 1796-1805. doi.org/10.1017/S0007114512003935.

Ji S, Li H., Huang X., Sun J., Kaneko G., & Ji H. 2024. Docosahexaenoic acid (DHA) promotes grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) muscle fiber development by activating MEK/ERK pathway in vitro and in vivo. *Aquaculture*, *579*, 740148. 10.1016/j.aquaculture. doi.org/2023.740148.

Kim J., Massee KC., & Hardy, RW. 1996. Adult Artemia as food for first feeding coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, *144*(1-3), 217-226. doi.org/10.1016/S0044-



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

John Wiley & Sons.

Sargent J., McEvoy L., Estevez A., Bell G., Bell M., Henderson J., & Tocher D. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, *179*(1-4), 217-229. doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00191-X.

Villalta M., Estévez A., & Bransden MP. 2005. Arachidonic acid enriched live prey induces albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*, *245*(1-4), 193-209. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.035.

Wang Y., Li M., Filer K., Xue Y., Ai Q., & Mai K. 2017. Replacement of fish oil with a DHA-rich Schizochytrium meal on growth performance, activities of digestive enzyme and fatty acid profile of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Aquaculture Nutrition*, *23*(5), 1113-1120. doi.org/10.1111/anu.12479.

Watanabe, T. (1993). Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *Journal of the world World aquaculture Aquaculture societySociety*, *24*(2), 152-161. doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00004.x.

Yadav AK., Rossi Jr W., Habte-Tsion HM., & Kumar V. 2020. Impacts of dietary eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) level and ratio on the growth, fatty acids composition and hepatic-antioxidant status of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, *529*, 735683. 10.1016/j.aquaculture. doi.org/2020.735683.

Yoon GR., Amjad H., Weinrauch AM., Laluk A., Suh M., & Anderson WG. 2022. Long-term effects of EPA and DHA enriched diets on digestive enzyme activity, aerobic scope, growth and survival in age-0 Lake Sturgeon (*Acipenser fulvescens*). *Aquaculture*, *552*, 737972. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737972.

Importance of Rotifer as Live Feed in Mariculture. In *Essentials of Aquaculture Practices* (pp. 41-59). Singapore: Springer Nature Singapore. doi.org/10.1007/978-981-97-6699-4_3.

Mylonas CC., Cardinaletti G., Sigelaki I., & Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. Aquaculture, 246(1-4), 467-481. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046

Nguyen TM., Thi NTT., Nguyen TH., Do TNA., & Kestemont P. 2023. Immunomodulatory effects of graded levels of docosahexaenoic acid (DHA) in common carp (*Cyprinus carpio*)–In vitro and in vivo approaches. *Fish & Shellfish Immunology*, *134*, 108585. doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108585.

Owolabi OD., & Abdulkareem SI. 2021. Antioxidant and malondialdehyde levels in the tissues of *Heterobranchus longifilis* following lethal and sublethal exposure to zinc oxide nanoparticles. *Biokemistri*, *33*(4), 273-283. doi.org/10.4314/sokjvs.v20i5.19.

Park HG., Puvanendran V., Kellett A., Parrish CC., & Brown JA. 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *ICES Journal of Marine Science*, *63*(2), 285-295. doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.10.011.

Roo FJ., Hernández-Cruz CM., Socorro JA., Fernández-Palacios H., Montero D., & Izquierdo MS. 2009. Effect of DHA content in rotifers on the occurrence of skeletal deformities in red porgy *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, *287*(1-2), 84-93. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.010.

Ross LG., & Ross B. 2009. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals.

**نحوه استناد به‌مقاله:**

حسین‌پوردلاور ف.، نیرومند م.، مرشدی و.، گاموری ر.، صفری ا. تأثیر غنی‌سازی روتیفر *Brachionus plicatilis* با اسید چرب ضروری DHA به روش‌های دستی و تجاری بر رشد، بقا و برخی فعالیت‌های آنزیمی لارو دلقک‌ماهی دُم زرد (*Amphiprion clarkii*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دانشگاه گنبد کاووس. ۱۴۰۴. ۱۳(۳): ۵۵–۴۰

Hosseinpor Delavar F., Niromand M., MorshediV., Gamouri R., Safari O. Effect of enriching *Brachionus plicatilis* Rotifers with The Essential Fatty Acid DHA Using Manual and Commercial Methods on The Growth, Ssurvival, and Certain Enzymatic Activities of Yellowtail Clownfish (*Amphiprion clarkii*) Larvae. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2025, 13(3): 40-55.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]

Journal of Applied Ichthyological Research
Vol. 13, No 3, 40-55
ISSN: 2423-6349
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

Ministry of Science Reseach and Technology
Gonbad-Kavoos University

# Effect of enriching *Brachionus plicatilis* Rotifers with The Essential Fatty Acid DHA Using Manual and Commercial Methods on The Growth, Ssurvival, and Certain Enzymatic Activities of Yellowtail Clownfish (*Amphiprion clarkii*) Larvae.

**Fatemeh Hosseinpor Delavar[1], Mohammad Niromand[2*], Vahid Morshedi[3], Reza Gamouri[4], Omid Safari[5]**

1- Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Department of Fisheries, Faculty of Marine, Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
3- Persian Gulf Research Center, Persian Gulf University, Bbushehr, Iran.
4- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
5- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Ferdowsi, Mashhad, Iran.

Type:
Original Research Paper

Paper History:
Received: 08-06-2025
Accepted: 27-06-2025

Corresponding author:

**Niromand M.** Department of Fisheries, Faculty of Marine, Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

Email:
mohamad_niromand@yahoo.com

## Abstract

In this study, the effects of manual and commercial rotifer enrichment with docosahexaenoic acid (DHA) on the survival, growth performance, digestive enzymes and antioxidant activities of yellowtail clownfish larvae (*Amphiprion clarkii*) were investigated. The experiment was conducted as a completely randomized design over 10 days, and the larvae were fed *B. plicatilis* rotifers under three treatments: rotifers enriched with DHA using a commercial method (Super Selco), rotifers enriched with DHA using a manual method (homemade emulsion), and a non-enriched control group, with each treatment replicated three times.. The results of growth parameters analysis showed that the standard length and wet weight of larvae increased significantly in commercial and manual enrichment of rotifers with DHA, respectively. Survival rates of larvae were not statistically different mong the treatments during the larviculture period. According to the results, commercial enrichment of rotifers with DHA led to a significant increase in the activity of digestive enzymes lipase, protease and alkaline phosphatase of larvae compared to manual enrichment treatments and the control group. Also, the highest amount of malondialdehyde production and activity of antioxidant enzyme superoxidase dismutase was observed in commercial enrichment. In general, the results of this study showed, the use of commercial enrichment of rotifers, significantly improved the growth parameters and digestive enzymes and antioxidants, so this feeding strategy is advisable for proper nutritional management of larvae of this species.

**Keywords:** Antioxidan activity, Clownfish. Digestive enzymes , Enrichment, Fatty acid, Live food.

[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-10-23 ]

[ DOI: 10.22034/jair.13.3.51 ]