Archive of SID

مطالعه ریخت‌شناسی ماهی شاه کولی (*Alburnus chalcoides*) در طی رشد

- **مسرور ذاکری‌نسب:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **شهلا جمیلی*:** موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- **علیرضا ولی‌پور:** پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران
- **سیدمحمدرضا فاطمی:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- **احسان رمضانی‌فرد:** گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۷

چکیده

ماهی شاه کولی با نام علمی *Alburnus chalcoides* (Gueldenstaedt, 1772) متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) از ماهیان استخوانی با ارزش دریای خزر است. بررسی زمان شروع غذادهی، یکی از موارد قابل توجه درخصوص رشد لارو می باشد. در واقع، مشخص کردن روز باز شدن دهان ماهی و روز شروع تغذیه فعال و غذای مصنوعی (پلت) بر رشد ماهی موثر است مخصوصاً این‌که ماهی شاه کولی بیش‌تر از منابع پروتئینی تغذیه می‌کند و این سرعت هضم و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد. ماهی شاه کولی از روز پنجم بعد از تفریخ دهانش باز شد و به شکل یک شکاف دیده می‌شد. به‌منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی لاروها و بچه‌ماهی‌ها ۱۰ عدد نمونه درنظر گرفته شد. طول لارو در این روز ۲/۲±٤/٦ میلی‌متر و وزن ۰/۰۱۰ گرم است و در این روز لارو می‌تواند از غذای محیطی داخل آب استفاده کند اما با توجه به این‌که سایز دهان این ماهی در روز هشتم به اندازه مناسبی می‌رسد و این اندازه ۸٤ میکرومتر است (طول ٤/٤±٥/٥ میلی‌متر و وزن ۰/۰۱۳ گرم). این روز به‌عنوان شروع تغذیه پلت محاسبه شد که می‌توان علاوه بر غذای محیطی از غذای پلت (دستی) نیز برای لارو استفاده کرد. هدف از انجام این تحقیق تعیین زمان مناسب شروع غذادهی به ماهی می‌باشد.

کلمات کلیدی: ماهی شاه کولی، مورفولوژی، رشد، تغذیه

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shahlajamili45@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شروع تغذیه فعال در لارو ماهیان با غذای زنده از قبیل جلبک‌ها، روتیفر و ناپلی آرتمیا صورت می‌گیرد. اگرچه غذای زنده به‌علت ارزش غذایی بالا می‌تواند تاثیر به‌سزایی روی رشد، بقا و سلامتی لارو داشته باشد، اما به‌علت هزینه بالای تولید و تجهیزات آزمایشگاهی مطالعات بسیار زیادی برای تولید *micro diets* (غذای خشک)، در تغذیه لارو ماهیان به هنگام شروع تغذیه فعال،در حال انجام است. از مراحل مهم تکثیر ماهیان، مرحله تعیین شروع تغذیه فعال است که دارای اهمیت زیادی است (Gawlicka و همکاران، ۲۰۰۰). ماهی شاه کولی بیش‌تر از بی‌مهرگان آبزی تغذیه می‌کند. هم‌چنین از فیتوپلانکون‌هایی مانند *cyanophyta*،دیاتومه،کلروفیت‌و اسپیروژیر وسخت‌پوستان، پاروپایان، دافنی و به‌خصوص لارو شیرونومید تغذیه می‌کند. معمولاً در ابتدای شروع تغذیه خارجی از روتیفر و ناپلی آرتمیا استفاده می‌کند (Winkler، ۱۹۹۲). لب پایین این ماهی به‌دلیل این‌که یک ماهی سطح‌زی (تغذیه کننده از سطح آب) می‌باشد جلوتر است. منبع غذای این ماهی بیش‌تر پلانکتون‌خوار به سمت زئوپلانکتون می‌باشد و بدین صورت از منابع غنی از پروتئین بهره می‌برد. بیش‌ترین جیره غذایی ماهی‌شاه‌کولی‌مربوط‌به سه‌راسته ازفیتوپلانکتون‌ها ازجمله کریزوفیتا، کلروفیتا و سیانوفیتامی‌باشدوبیش‌ترین‌زئوپلانکتون‌هامربوط‌به دافنی، پاروپایان‌وشیرونومیداست(Rajabinezhadو Azari-Takami، ۲۰۰۹). درزمینه‌مورفولوژی‌مطالعات مختلفی انجام شده که می‌توان به مطالعه Dos-Santos و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ماهی *Schizodon knerii*، Jafari و همکاران (۲۰۰۹) روی *Rutilus Frisii*، Hazzaa و Hussein (۲۰۰۷)بر روی *Barbus luteus* اشاره کرد.مشخص کردن‌زمان غذادهی به ماهی مهم است زیرا در غیر این صورت از همان روز اول لاروی ممکن است غذادهی شروع شود که این باعث می‌شود لارو نتواند هیچ استفاده‌ای از آن داشته باشد زیرا دهان بسته بوده و غذا بدون استفاده می‌ماند. هدف از انجام این تحقیق بررسی زمان بازشدن دهان و تعیین زمان مناسب شروع غذادهی به ماهی می‌باشد. زیرا زمان دقیق و به موقع غذادهی می‌تواند اثر مستقیم بر روی رشد ماهی از دوره لاروی تا بلوغ را داشته باشد.

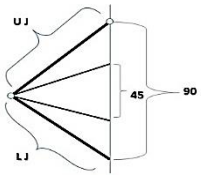
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ماهی شاه کولی در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت به‌مدت ۳ ماه از فروردین تا خرداد سال ۱۳۹۵ انجام شد.نمونه‌برداری در روزهای بعد از تخم‌گشایی ازلارو یک روزه تا سه ماهگی انجام شد که این روزها به قرار زیر است. تعداد لارو هم‌زمان با بالا رفتن سن کاهش یافت. روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ (یک ماهگی)، ۴۰، ۵۰، ۶۰ (دو ماهگی)، ۷۵، ۹۰ (سه ماهگی). به‌منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی لاروها و بچه‌ماهی‌ها ۱۰ عدد نمونه درنظر گرفته شده و ابتدا نمونه‌ها در اتانول ۷۰ درصد فیکس‌شده‌وطول استاندارد(SL)آن‌ها با کولیس‌دقت ۰/۰۲ و وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم ثبت شد. سپس توسط دوربین canon قابل نصب بر روی استریو میکروسکوپ عکس‌برداری از نمونه‌ها انجام شد (Yaghoubi، ۲۰۱۴). برای اندازه‌گیری طول فک بالا و پایین، نمونه‌ها در گلوتار آلدئید ۴ درصد ثابت شدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگه‌داری شدند. بعد از ۲۴ ساعت با محلول بافر Sodium cacodylate نمونه‌ها شسته و در تترا اکسید اوسمیوم‌بافر ۱ درصدبرای‌حذف ثابت‌کننده‌ها قرارگرفتند.برای بررسی اندازه دهان و شکاف دهانی از رابطه دو ضلع و یک زاویه استفاده می‌کنیم. در این حالت دهان ماهی در شرایط عادی و نرمال در زاویه ۴۵ درجه قرار می‌گیرد.دراین شرایط بهترین‌حالت دهان برای دریافت ذرات غذایی می‌باشد (شکل۱). در شرایط به‌غیر از حالت مطلوب اندازه دهان ۹۰ درجه درنظر گرفته می‌شود (Ramezani-Fard و همکاران، ۲۰۱۱). در مرحله بعد با استفاده از دستگاه فریز درایر (Christ آلمان. مدل Alpha 1.4 plus) نمونه‌ها خشک شدند. خشک کردن به این دلیل انجام می‌شود که نمونه‌ها قبل از روکش‌دهی با طلا باید کاملاً عاری از رطوبت باشد. پس از خشک کردن به‌دلیل اندازه بسیار کوچک نمونه‌ها ابتدا تمامی آن‌ها از ناحیه دم در داخل خمیر فیکس شدند به‌طوری که دهان ماهی به سمت بالا و برای عکس‌برداری آماده شود. سپس خمیر بر روی کاغذ آلومینیوم (فویل) قرار گرفته و فویل بر روی نوار چسب کربن قرار گرفت و نوار چسب بر روی پایه‌های سربی قرار داده شد (شکل۲). نمونه‌ها با دستگاه پوشش طلا روکش داده شد و از تمام مراحل نمونه‌برداری برای بررسی بخش حفره دهانی به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی SEM عکس تهیه شد. این مطالعه برای هر نمونه با ۳ بار تکرار انجام شد (Ramezani-Fard و همکاران، ۲۰۱۱).

نحوه محاسبه اندازه دهان: اندازه دهان به‌صورت دو ضلع و یک زاویه محاسبه می‌شود. فرمول محاسبه دهان به‌شرح زیر است:

$a2 = x2 + y2 – 2xy \cos A$

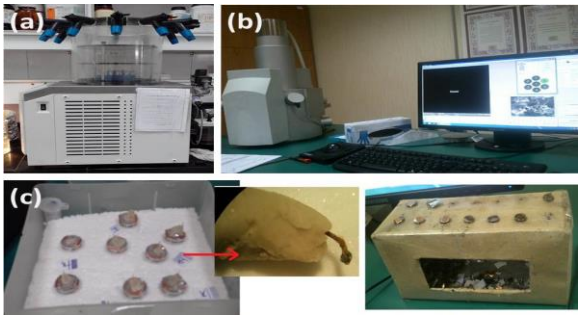
a:ضلع‌مجهول،x:اندازه‌لب‌بالا، y: اندازه لب پایین، COS A: زاویه دهان



شکل ۱: دو خط سیاه باریک دو ضلع دهان ماهی در شرایط عادی با زاویه ۴۵ درجه و دو خط تیره در شرایط استرس زا با زاویه ۹۰ درجه

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: (a) دستگاه فریز درایر. (b) میکروسکوپ الکترونی SEM (c) قرار دادن نمونه روی پایه و پوشش‌دهی با طلا

نتایج

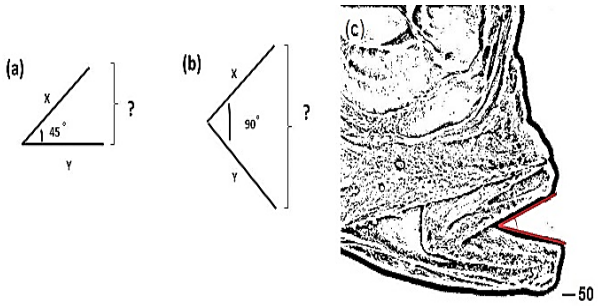
ویژگی‌های مورفولوژیک دهان: دهان ماهی در حالت عادی در حالت زاویه ۴۵ درجه باز می‌شود و نسبت به این اندازه ماهی غذای مورد نیاز خود را استفاده می‌کند. اگر دهان ماهی را همانند زیر در نظر بگیریم(شکل a و ۳b) در این‌صورت ضلع x اندازه لب بالایی ماهی است و ضلع Y اندازه لب پایین ماهی می‌باشد. در این صورت با توجه به داشتن اندازه دو ضلع و یک زاویه (۴۵ درجه) می‌توان ضلع سوم یعنی اندازه‌ای که دهان ماهی در حالت عادی برای گرفتن غذا باز می‌شود را پیدا کرد. حال اگر ماهی در شرایط خارج از شرایط عادی، تحت استرس یا شرایط محیطی مجبور باشد دهان را بیش‌تر باز کند در این حالت زاویه حداکثری که دهان ماهی باز می‌شود زاویه ۹۰ درجه خواهد بود. بنابراین با توجه به فرمول ذکر شده و قرار دادن زاویه ۹۰ درجه به جای زاویه ۴۵ درجه می‌توان حداکثر اندازه دهان ماهی در حالت باز شده را محاسبه کرد. انجام این مراحل برای یافتن سایز دهان ماهی در بهترین حالت برای دریافت غذای مناسب بوده که تحت شرایط طبیعی و شرایط استرس‌زا می‌تواند بررسی شود. بر این اساس COS A در شرایط عادی ۴۵ درجه و حداکثر زاویه باز شدن دهان ماهی ۹۰ می‌باشد یعنی COS A را ۹۰ درجه درنظر می‌گیریم. برای نمونه نحوه محاسبه دهان بر روی (شکل ۳c)، در روز پنجاه آمده که اندازه دهان (فک بالا و پایین) مشخص شده است. محاسبات اندازه دهان در جداول زیر می‌باشد (جدول۱و۲). با توجه به این محاسبات بهترین زمان برای غذادهی روز هشتم در دوره لاروی بوده که روز شروع تغذیه پلت (دستی) می‌باشد. در این روز اندازه دهان ۸۴ میکرومتر محاسبه شد. هم‌چنین در روز ۲۰ (زمان تشکیل لب‌ها) سایز مناسب غذا برای دوره نوجوانی در شرایط طبیعی ۱۶۸ میکرومتر (زاویه ۴۵) و در شرایط استرس‌زا ۳۰۷ میکرومتر (زاویه ۹۰) بوده است.

جدول ۱: اندازه حفره دهان لارو ماهی از روز ۷ تا ۱۵

سن لارو	طول کل (میلی‌متر)	سایز حفره دهان (میکرومتر)
روز ۷	۵/۲	۷۲
روز ۸	۵/۵	۸۴
روز ۱۰	۵/۸	۹۷
روز ۱۵	۶/۳	۱۳۶

جدول۲: اندازه دهان با در نظر گرفتن زاویه ۴۵ و ۹۰ درجه از روز ۲۰ (تشکیل لب‌ها)

		اندازه طول فک (میکرومتر)		شکاف دهان (Ø میکرومتر)	
سن لارو	طول کل (میلی‌متر)	فک پایین	فک بالا	۴۵ درجه	۹۰ درجه
روز ۲۰	۷/۴	۲۰۰	۲۳۳	۱۶۸	۳۰۷
روز ۲۵	۹/۲	۲۷۸	۲۷۲	۲۰۵	۳۷۹
روز ۳۰	۱۲/۸	۲۹۱	۲۸۳	۲۱۹	۴۰۵
روز ۴۰	۱۷/۴	۳۵۴	۳۳۶	۲۶۴	۴۸۸
روز ۵۰	۲۶/۱	۴۰۸	۳۹۲	۳۰۶	۵۶۵
روز ۶۰	۳۳/۴	۵۰۰	۴۶۰	۳۶۹	۶۷۹



شکل ۳: نحوه محاسبه اندازه دهان. (a) دهان ماهی در حالت عادی (b) دهان ماهی در حالت حداکثر اندازه. (c) اندازه دهان در روز پنجاه با درنظر گرفتن دو ضلع و یک زاویه

www.SID.ir

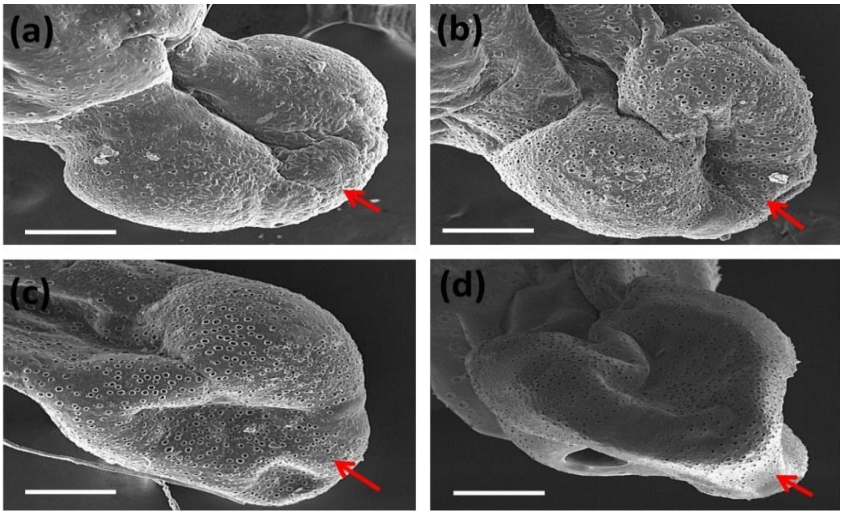
Archive of SID

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی دهان ماهی شاه کولی: باتوجه به عکس‌های میکروسکوپ الکترونی SEM، دهان ماهی شاه کولی از روز اول تا چهارم بسته بود (شکل ۴) اما در روز پنجم شکافی از حفره دهانی دیده شد که از سلول‌های اپیتلیوم سنگفرشی ساده تشکیل شده بود (شکل ۵). روز پنجم هم‌زمان با باز شدن دهان روز شروع تغذیه فعال (خارجی) می‌باشد. در روز هفتم و هشتم دهان به شکل حفره بود و زاویه باز شدن دهان روز هشتم، ۸۴ میکرومتر می‌باشد (جدول۱). در روز دهم دهان به شکل هلالی تغییر یافت. در روز پانزدهم حفره دهانی نسبت به‌روزهای قبل بازتر شد. در روز بیستم لب‌ها تشکیل شد (شکل۶). در روز بیست و پنجم فرم لب‌ها کاملاً مشخص‌تر شد و تشخیص دو لب بالا و پایین نسبت به‌هم مشهود بود. در این روز پاپیلاها به‌طور واضحی بر روی لب‌ها مشخص بود. در روز سی‌ام، فوقانی (انتهایی) بودن لبهای زیرین مشهودتر دیده شد (شکل۷). از روز ۴۰ تا ۹۰ تغییر زیادی دیده نشد و فقط فرم لب‌ها واضح‌تر شده و اندازه آن با توجه به اندازه ماهی بزرگ‌تر شد (شکل۸).

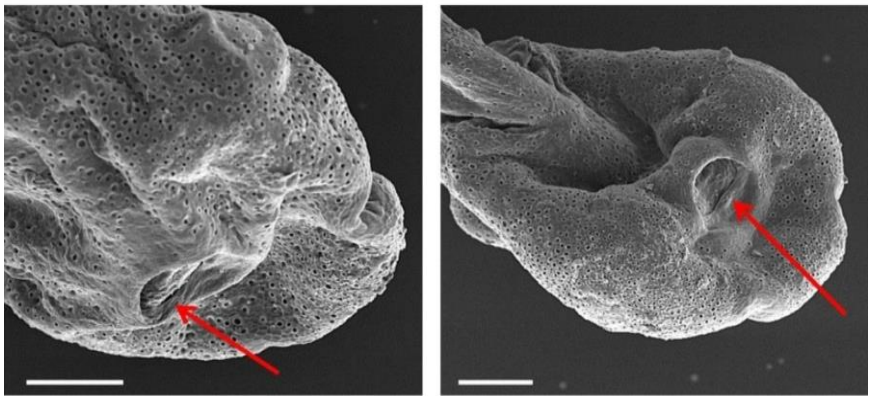
شکل ظاهری شاه کولی: درخصوص طول و وزن ماهی دو نمودار از روز ۱ بعد از تفریخ تا نود روزگی نمودار رسم گردید (شکل ۹ و ۱۰). از نظر ظاهری در اولین روز بعد از تفریخ لاروها کاملاً در کف مخزن بی‌حرکت بوده و بدنشان شفاف و چشم‌ها بی‌رنگ بود (شکل ۱۲a). طول استاندارد لارو ۶/۴±۲/۸ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۰۲ گرم بود. در این روز دهان بسته بود. در روز دوم بدن هم‌چنان شفاف اما گره قلبی و مغز مشخص بود (شکل ۱۲b). طول استاندارد لارو ۳/۸±۳/۵ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۰۵ گرم بود. دهان در این روز نیز بسته بود. روز سوم بدن لارو شفاف و چشم‌ها کمی برجسته‌تر شد (شکل ۱۲c). طول لارو ۱/۸±۳/۹ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۰۷ گرم بوده و دهان بسته بود. روز چهارم چشم‌ها سیاه رنگ شد و اعصاب محیطی در داخل بدن مشخص بوده و دم به شکل گرد تشکیل شده بود (شکل ۱۲d). لارو تا حدودی حرکت داشت. طول لارو ۶/۲±۴/۲ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۰۸ گرم بود. روز پنجم شکاف دهان لارو باز شده بود. باله سینه‌ای در این روز شکل گرفته و لارو توانایی شنای عمودی به سطح آب را داشت. شروع تغذیه فعال (خارجی) هم‌زمان با باز شدن دهان ماهی در این روز بود(شکل ۱۳a). طول لارو ۲/۲±۴/۶ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۱۰ گرم محاسبه شد. در روز هفتم کیسه زرده کشیده‌تر شده و اولین دانه‌های ملانوفوری بر روی سر دیده می‌شد (شکل ۱۳b). طول لارو ۶/۸±۵/۲ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۱۲ گرم بود. روز هشتم جذب دو سوم کیسه زرده اتفاق افتاد (شکل ۱۳c). شروع تغذیه پلت (دستی) در این روز بود. سایز مناسب دهان برای یک رژیم غذایی مناسب در این روز بوده که ۸۴ میکرومتر است. طول لارو ۴/۴±۵/۵ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۱۳ گرم بوده است. روز دهم کیسه زرده کاملاً جذب شده و چشم‌ها نسبت به روزهای قبل‌تر فاصله گرفته و دانه‌های ملانوفوری بیش‌تر بر روی سر دیده می‌شد (شکل ۱۳d). طول لارو ۳/۸±۵/۸ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۱۵ گرم بود. در روز پانزدهم بدن هم‌چنان شفاف بود و غذایی که لارو خورده بود داخل بدن دیده می‌شد. دانه‌های ملانوفوری از حالت پراکنده خارج‌شده و به‌صورت منظم در دو طرف بدن دیده می‌شد (شکل ۱۴a). طول لارو ۸/۲±۶/۳ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۲۸ گرم بود. روز بیستم لب‌ها تشکیل شده و به سمت جلو فرم گرفته بود (شکل ۱۴b). طول لارو ۱/۴ ± ۷/۴ میلی متر و وزن آن ۰/۰۳۳ گرم بود. روز بیست و پنجم دم کاملاً از حالت گرد خارج شده و به شکل اصلی دم دیده می‌شد (شکل ۱۴c). طول لارو ۱/۸±۹/۲ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۴۸ گرم بود. در روز سی ام شاه‌کولی از حالت لاروی خارج شده و به شکل بچه‌ماهی تغییر کرده بود (شکل ۱۵a). چشم‌ها به شکل اصلی خود دیده شده و رنگی شده بود. پوست تا حدودی بر سطح بدن تشکیل شده بود. بر اساس نمودار هیستوگرام در این روز طول و وزن شاه کولی دارای رشد خوبی نسبت به روزهای قبل داشته و از این روز به بعد روند افزایشی چشمگیری در آن دیده شد. طول شاه کولی ۰/۶±۱۲/۸ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۶۳ گرم بود. شنای بچه‌ماهی سریع بود. در روز چهلم پوست به‌طور کامل بر سطح بدن تشکیل شده و دیگر داخل بدن دیده نمی‌شد (شکل ۱۵b). طول شاه کولی ۰/۲±۱۷/۴ میلی‌متر و وزن آن ۰/۰۸۹ گرم بود. در روز پنجاه طول ۱/۲±۲۶/۱ میلی‌متر و وزن ۰/۱۷۴ گرم بود. پوست زیر شکم از حالت خاکستری به رنگ سفید دیده می‌شد. روز شصت یا دو ماهگی طول ماهی ۰/۶±۳۳/۴ میلی‌متر و وزن آن ۰/۲۵۹ گرم محاسبه شد. بدن ماهی تا حدودی کشیده‌تر دیده می‌شد. در روز هفتاد و پنج طول ماهی ۱/۲±۴۰/۶۲ میلی‌متر و وزن آن ۰/۳۴۱ گرم بود. پوست از حالت خاکستری به رنگ سبز زیتونی تغییر کرده بود (شکل ۱۵c). روز نود (سه ماهگی) ماهی شاه کولی دارای رشد وزنی خوبی بوده که ۰/۵۷۵ گرم بوده و طول آن ۴/۲±۵۲/۱۴ میلی‌متر بود.

www.SID.ir

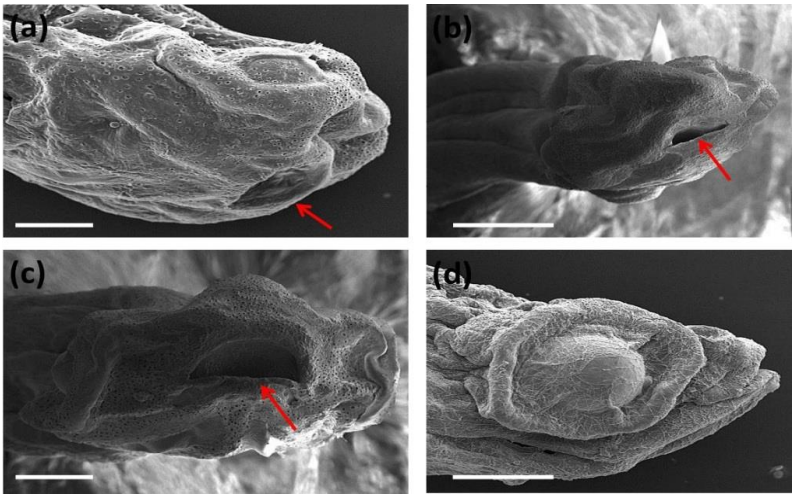
Archive of SID



شکل ۴: تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از دهان ماهی شاه کولی از روز اول تا چهارم. خطوط مقیاس در تمام شکل‌ها ۱۰۰ میکرومتر فلش‌ها جایگاه دهان را نشان می‌دهد. (a) روز اول پس از تفریخ (b) روز دوم (c) روز سوم (d) روز چهارم



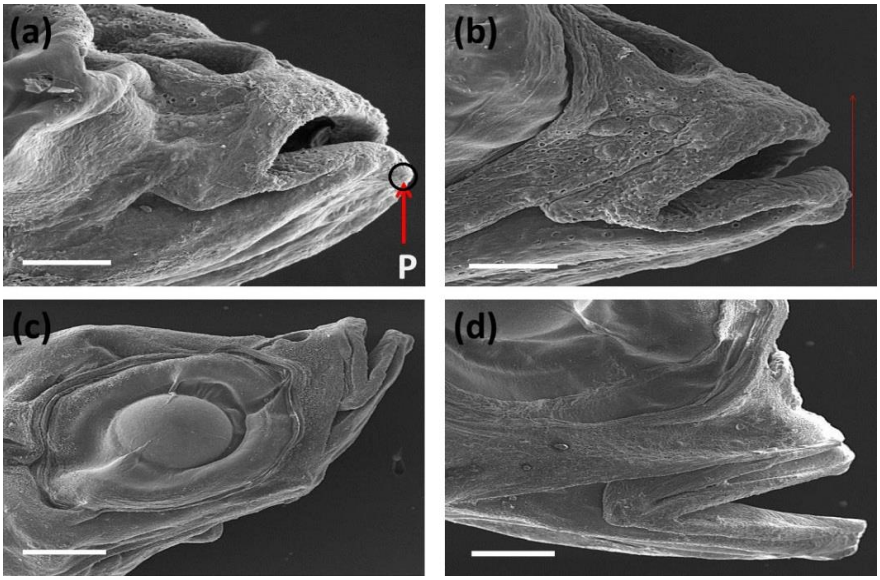
شکل ۵: روز پنجم. شکاف دهانی باز شده و سلول‌های سقف دهان مشخص. فلش‌ها جایگاه دهان را نشان می‌دهد. خط مقیاس در هر دو تصویر ۱۰۰ میکرومتر



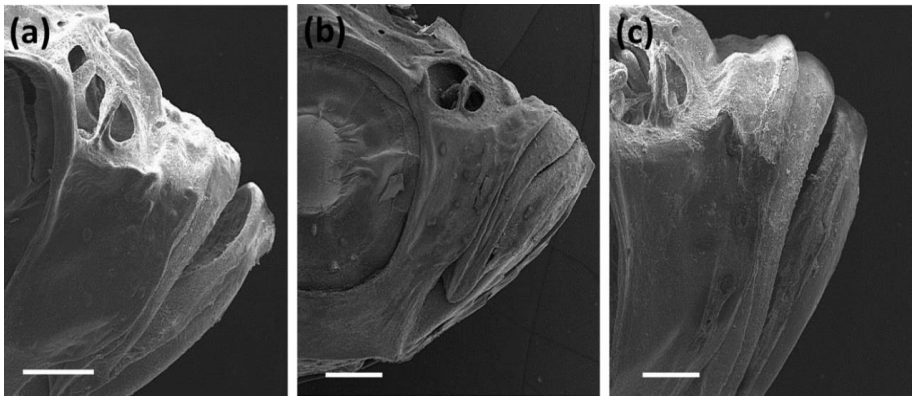
شکل ۶: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روز (هفتم- هشتم)، دهم، پانزدهم و بیستم دهان شاه کولی. (a)روز هفتم. خط مقیاس= ۱۰۰. میکرومتر (b)روز دهم. خط مقیاس= ۲۰۰ میکرومتر (c)روز پانزده. خط مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر (d) روز بیست. خط مقیاس= ۲۰۰ میکرومتر

www.SID.ir

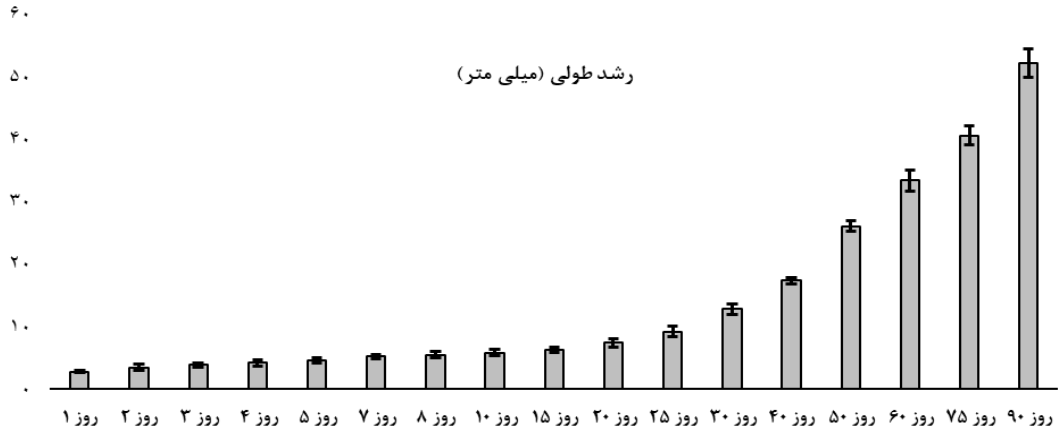
Archive of SID



شکل ۷:روز بیست و پنجم، سی،چهل و پنجاه دهان شاه کولی.(a) روز ۲۵. خط مقیاس= ۱۰۰ میکرومتر. P = پاپیلا (b)روز ۳۰. خط مقیاس= ۱۰۰ میکرومتر. (فلش:فوقانی بودن لب پایین نسبت به بالا)(c)روز ۴۰. خط مقیاس= ۲۰۰ میکرومتر. (d) روز ۵۰. خط مقیاس- ۲۰۰ میکرومتر



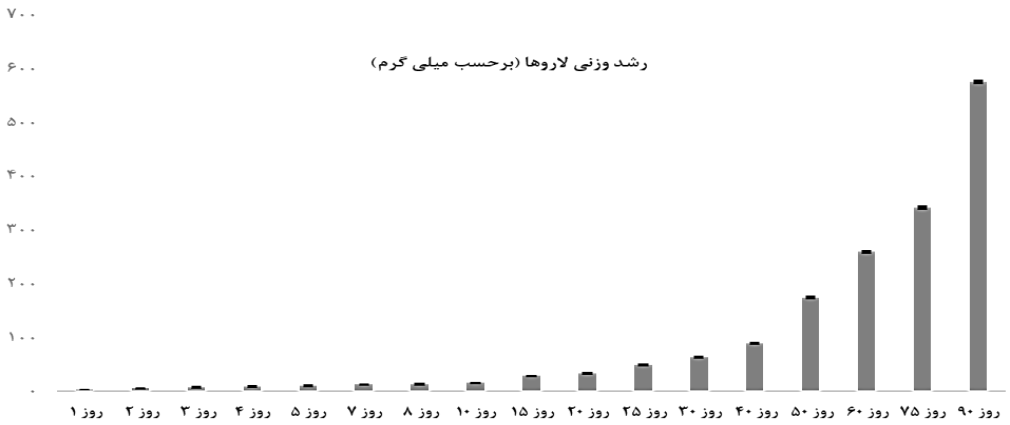
شکل ۸: تصاویر میکروسکوپ الکترونی از روز شصت، هفتاد و پنج و نود دهان ماهی شاه کولی. (a) روز شصت. خط مقیاس= ۲۰۰ میکرومتر (b) روز هفتاد و پنج. خط مقیاس= ۵۰۰ میکرومتر. (c) روز نود. خط مقیاس= ۵۰۰ میکرومتر



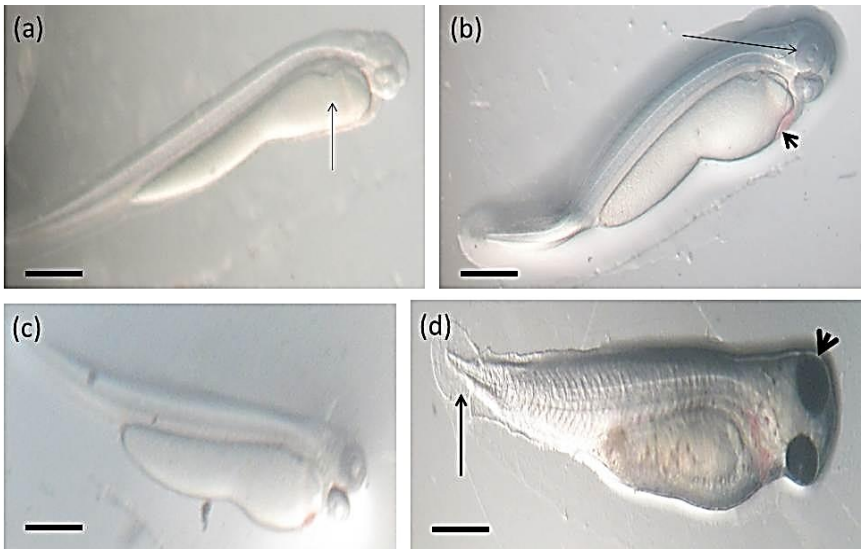
شکل ۹: نمودار هیستوگرام - رشد طولی لارو از یک روزگی تا سه ماهگی

www.SID.ir

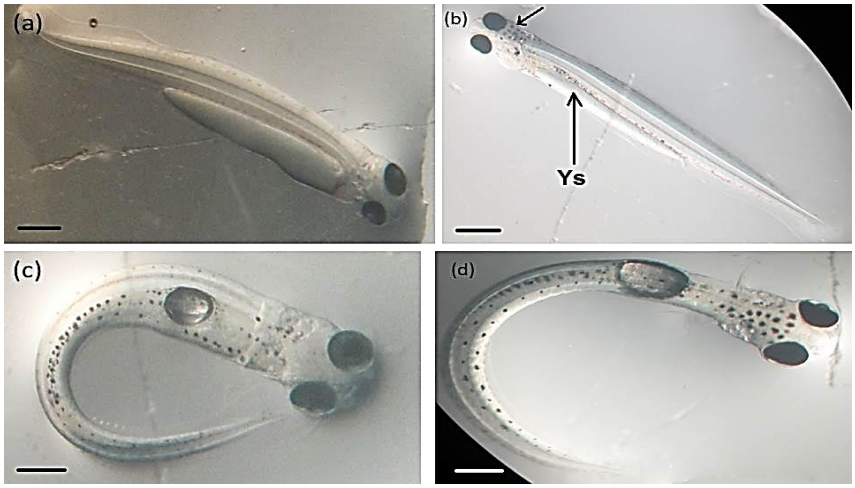
Archive of SID



شکل ۱۰: نمودار هیستوگرام – رشد وزنی لارو از یک روزگی تا سه ماهگی



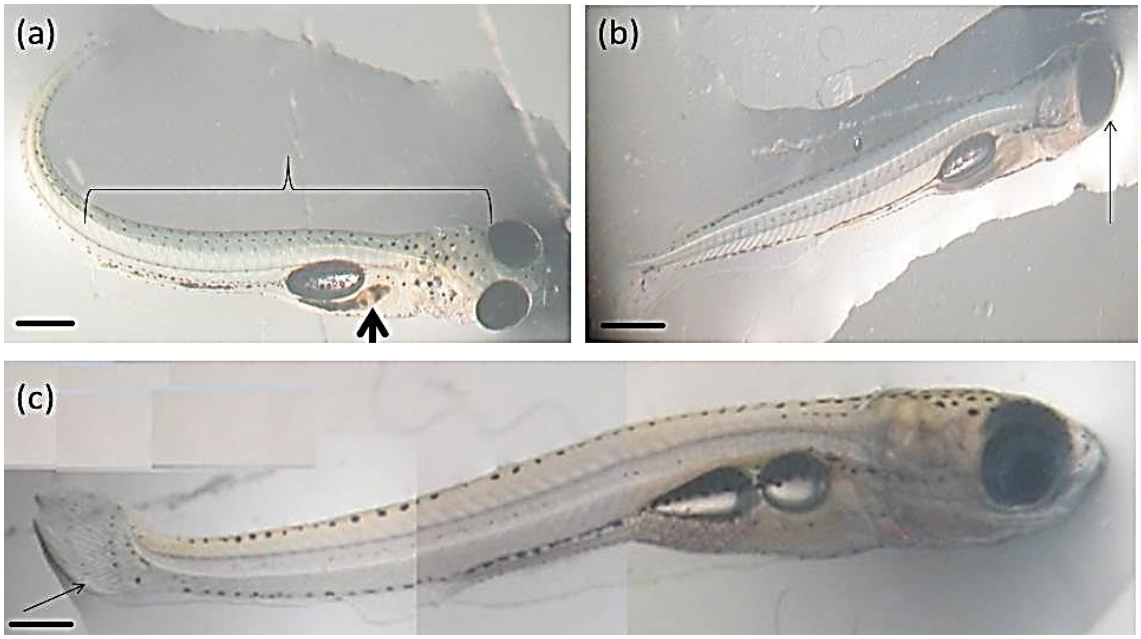
شکل ۱۲: (a) روز اول لاروی. فلش: کیسه زرده (b) روز دوم لاروی. فلش بلند مغز و فلش کوتاه گره قلبی (c) روز سوم لاروی. (d) روز چهارم. فلش بلند دم و فلش کوتاه سیاه شدن چشم‌ها. تهیه تصاویر با استفاده از استریومیکروسکوپ. خط مقیاس تمام تصاویر= ۱ سانتی‌متر



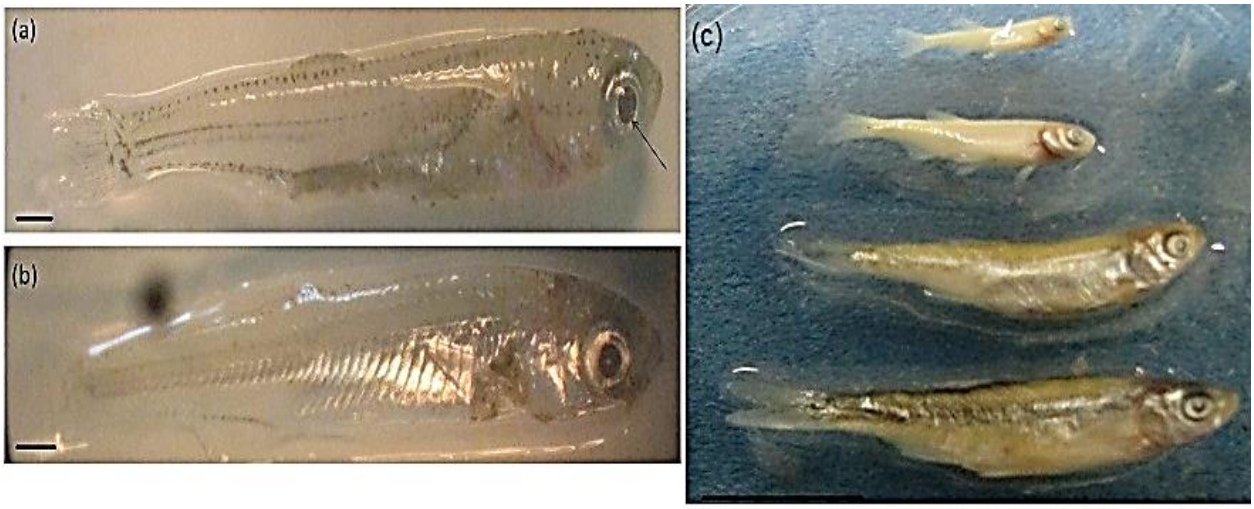
شکل ۱۳: (a) روز پنجم لاروی. (b) روز هفتم. فلش کوتاه اولین دانه‌های ملانوفوری بر روی سر (Ys= کیسه زرده کشیده‌تر شده است). (c) روز هشتم لاروی. (d) روز دهم. تهیه تصاویر با استفاده از استریومیکروسکوپ. خط مقیاس تمام تصاویر = ۱ سانتی‌متر

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱۴: (a) روز پانزدهم. فلش غذای خورده شده توسط لارو. آکولاد: منظم شدن ملانوفورها در دو طرف بدن. (b) روز بیستم. فلش: چشم (c) روز بیست و پنجم. شکل گرفتن دم. تهیه تصاویر با استفاده از استریومیکروسکوپ. خط مقیاس تمام تصاویر = ۱ سانتی‌متر



شکل ۱۵: (a) روز سی‌ام.چشم‌ها رنگی شده. (b) روز چهلم. تشکیل پوست. تصاویر با استفاده از استریومیکروسکوپ. خط مقیاس تمام تصاویر = ۱ سانتی‌متر. ۵۰، ۶۰، ۷۵، ۹۰. تغییرات زیادی دیده نشد و فقط رنگ بدن به سبز زیتونی تغییر کرد. خط مقیاس= ۵ سانتی‌متر

بحث

نتایج نشان می‌دهد که شروع تغذیه فعال(خارجی) در روز پنجم، هم‌زمان با باز شدن دهان اتفاق افتاد. در ادامه شروع تغذیه پلت (دستی) از اوایل روز هشتم (جذب دو سوم کیسه زرده) پیش‌بینی می‌شود. کیسه زرده از روز اول بعد از تفریخ به شکل اشکی کشیده و بزرگ در زیر بدن مشاهده شد. این کیسه هم‌چنان تا بعد از باز شدن دهان نیز از بین نرفت و به شکل یک نوار باریک در زیر بدن دیده می‌شد که در روز دهم کاملاً جذب شد. زمان جذب کیسه زرده بسته به گونه، مقدار محتویات کیسه، زمان شروع تغذیه فعال و نیاز لارو به غذامی‌باشد(Kim و همکاران، ۲۰۰۱؛ Ronnestod و همکاران، ۱۹۹۸). این مساله حتی بسیار وابسته به دمای محیط آب نیز می‌باشد (Yaghoubi و همکاران، ۲۰۱۴). در اولین روزهای بعد از تفریخ بدن لارو کاملاً شفاف بوده و کم‌کم چشم‌ها سیاه شده و لکه‌های ملانوفوری

www.SID.ir

Archive of SID

در بدن به خصوص بر روی سر و بر پشت بدن ظاهر شد. هم‌زمان با باز شدن دهان لارو شنای عمودی به سطح آب داشته و باله سینه‌ای و دمی تشکیل شده بود. فرم لب‌ها و دهان در روز بیستم شکل گرفته و در روز سی به شکل بچه‌ماهی دیده شد و در روز چهلم پوست کاملاً تشکیل شده بود. از این روز به بعد طیف رنگی پوست به رنگ زیتونی به‌خصوص در پشت بدن دیده می‌شد. رشد طولی و وزنی این ماهی دارای روند افزایشی و از روز سی‌ام به بعد بیش‌تر مشهود بود. در زمینه مورفولوژی مطالعات مختلفی انجام شده که می‌توان به مطالعه Dos-Santos و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ماهی *Schizodon knerii*، Jafari وهمکاران (۲۰۰۹) روی *Rutilus Frisii*، Hazzaa و Hussein (۲۰۰۷) بر روی *Barbus luteus*، Ronnestad و همکاران (۲۰۰۰) بر روی ماهی *Paralichthys olivaceus*، Gozlan و همکاران (۱۹۹۹) بر روی *Chondrostoma toxostoma*، Theilacker(۱۹۷۸)برروی *Trachurus symmericus*، مطالعه Yaghobi و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ماهی کلمه را می‌توان اشاره کرد. درخصوص دهان دهان ماهی شاه‌کولی باید گفت که دهان در روز پنجم پس از تفریخ باز شد درحالی‌که He و همکاران(۲۰۱۲)در ماهی *Oplegnathus fasciatus* در روز سوم بعد از تفریخ، در ماهی سفید در روز سوم بعد از تخم‌گشایی Khoshnood و همکاران(۲۰۱۴)ودرماهی Malaysian mahseer, *Tor. tambroides* Ramezani-Fard و همکاران(۲۰۱۱)از روز ۱ بعد از تفریخ دهان باز شد. لارو ماهی *Diplodus puntazzo* تا روز دوم بعد از تفریخ از ذخایر کیسه زرده استفاده کرده و در روز سوم بعد از تفریخ دهان باز شد Okan-Kamaci و همکاران(۲۰۱۰). دهان ماهی شاه‌کولی در روز ۸ (شروع مصرف‌تغذیه پلت) به‌شکل حفره بوده و ۸۴ میکرومتر می‌باشد. این روز به‌عنوان روز مناسب برای شروع رژیم غذایی به‌صورت پلت می‌باشد که بهترین روز غذادهی توسط تکثیر دهنده است. در ماهی *Tor tambroides* این عدد ۲۸۷ میکرومتر در روز هفتم مناسب برای یک رژیم‌غذایی مناسب می‌باشد.در روز ۲۰ که لب‌های شاه‌کولی شکل گرفته اندازه لب بالا و پایین در شرایط معمولی و ۱۶۸ و استرس ۳۰۷ میکرومتر می‌باشد این در حالی است که در ماهی *Tor tambroides* این اندازه‌ها در زمان تشکیل لب‌ها ۲۴۸ و ۴۱۳ گزارش شده است (Ramezani-Fardوهمکاران(۲۰۱۱). Dubrowski و Bardega(۱۹۸۴) پیشنهادکردند که اندازه مواد غذایی و یا طعمه‌ای که از طریق لاروهای ماهی مصرف می‌شود نیز تحت تاثیر تراکم مواد غذایی بوده و به این مسئله مرتبط است. در این مطالعه او مشاهده کرد که اندازه ذرات غذایی (زوپلانکتون) در روده لارو *Coregonus pollan*، ۲۶-۱۳٪ از اندازه دهانی بهره برده و لارو در شرایط طبیعی دریایی بوده است این درحالی است که در شرایط آکواریوم با تراکم غذای زیاد لارو همین ماهی طعمه‌های بزرگ‌تر (زوپلانکتون) را انتخاب کرده و از ۴۰-۶۰٪ اندازه دهانی خود استفاده کرده است. در مورد مورفولوژی و شکل ظاهری لارو می‌توان گفت که لارو، در ماهی شاه کولی و ماهی سفید (Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۴) به شکل کشیده با کیسه‌زرده اشکی شکل بوده اما در کپور نقره‌ای و سرگنده کیسه زرده به شکل گرد در بخش جلویی بدن بوده و لارو دور کیسه به شکل هلالی گزارش شد (Chapman و George، ۲۰۱۱). ماهی شاه‌کولی در دوره لاروی دارای کیسه‌زرده بزرگی بوده که در جلوی بدن دیده شد، باله‌ها و دم در روز ۴-۵ قابل‌تشخیص بود و درابتدا بدن‌لارو شفاف و چشم‌ها بی‌رنگ بود اما در طی تکامل به تدریج اندام‌های بدن تشکیل شده و کیسه زرده کم‌کم جمع شد و تا یک ماهگی پوست بدن تشکیل شد و دیگر داخل بدن قابل مشاهده نبود به‌علاوه طول و وزن این ماهی در طی رشد افزایش‌داشت‌این‌هادرحالی است‌که در مورد ماهی‌سفید (Khoshnood و همکاران، ۲۰۱۴) نیز همین موارد گزارش شده یعنی لارو این ماهی نیز در ابتدا دارای بدنی شفاف بوده و کیسه زرده به شکل اشک دیده شده اما ملانوفورها و باله‌های سینه‌ای و دمی از ابتدا قابل ملاحظه بوده ولی در شاه‌کولی یک هفته بعد از تفریخ ملانوفورها دیده شد. نکته قابل ذکر این است که مدت زمان تفریخ ماهی شاه‌کولی کم بوده و ۳ الی ۴ روز می‌باشد و این ماهی سریعاً از تخم خارج شده و بیش‌تر مراحل‌تکوین را بعد از تفریخ طی می‌کند درحالی‌که بسیاری از ماهیان مدت زمان تفریخ زیادی دارند. برای مثال در ماهی سفید بعد از لقاح، ۱۰ روز طول می‌کشد تا تخم‌گشایی اتفاق بیافتد. لارو شاه‌کولی بسیار ریز بوده و تقریباً از روز ۳۰ به بعد رشد قابل ملاحظه‌ای داشت. طول لارو این ماهی در روز اول بعد از تفریخ ۲/۸ میلی‌متر بوده (ماهی بالغ ۱۳ تا ۳۰ سانتی‌متر) و در ماهی سفید ۶/۲۷ (ماهی بالغ ۴۰ تا ۷۰ سانتی-متر)، کپور سرگنده ۵/۵ میلی‌متر (بالغ ۳۷ تا ۱۱۰ سانتی‌متر) و کپور نقره‌ای ۷/۷ میلی‌متر (بالغ ۳۸ تا ۱۱۷ سانتی‌متر) گزارش شده است. یکی از عوامل مهم در اندازه لاروها حرارت آب و دما می‌باشد که می‌تواند بر روی رشد ماهی اثر بگذارد (Chapman و George، ۲۰۱۱). لارو شاه کولی در روز ۲۰ به طول ۷/۴ رسید. از انجام این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تعیین زمان مناسب غذادهی بسیار مهم بوده که بر روی رشد ماهی متاثر از رژیم غذایی تاثیر می‌گذارد. در واقع باز شدن دهان ماهی و شروع تغذیه و نوع غذایی که لارو استفاده می‌کند بر روی طول و وزن ماهی نیز موثر است مخصوصاً این‌که این ماهی از منابع غذایی پرپروتئین استفاده می‌کند که این سرعت هضم و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد. هم‌چنین مشخص شدن زمان شروع غذادهی باعث می‌شود تا از غذادهی از روز اول به ماهی‌جلوگیری شود که‌در کاهش‌هزینه‌های پرورش‌دهنده و یا تکثیرکنندگان‌ماهیان بسیار کارآمد است. ماهی شاه‌کولی از روز پنجم بعد از تفریخ می‌تواند از

www.SID.ir

Archive of SID

غذای محیطی داخل آب استفاده کند اما با توجه به این‌که سایز دهان در روز هشتم به اندازه مناسبی می‌رسد این روز به‌عنوان شروع تغذیه پلت محاسبه شد که می‌توان علاوه بر غذای محیطی از غذای پلت (دستی) نیز استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری‌رشت، پرسنل محترم آزمایشگاه مجتمع رازی بخش شیلات و بیولوژی‌دریا دردانشگاه‌آزادعلوم و تحقیقات‌و پرسنل‌محترم آزمایشگاه متالوژی کرج، که در انجام مراحل کار همکاری داشته‌اند صمیمانه قدردانی و تشکر می‌گردد.

منابع

۱. **Chakrabarti, R.; Rathore, R.M.; Mittal, P. and Kumar, S., 2006.** Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp and bighead carp hybrid, during early ontogeny. Aquaculture. Vol. 253, pp: 694-702.

۲. **Chapman, D.C. and George, A., 2011.** Developmental rate and behavior of early life stages of Bighead Carp and Silver Carp. 62 p.

۳. **Dabrowski, K. and Bardega, R., 1984.** Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. Aquaculture. Vol. 40, pp: 41-46.

۴. **Dos-Santos, M.; Arantes, F.; Santiago, K. and Dos-santos, E.J., 2015.** Morphological characteristics of the digestive tract of *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875), (Characiformes: Anostomidae): An anatomical, histological and histochemical study. Vol. 87, No. 2, pp: 867-878.

۵. **Gawlicka, A.; Parent, B.; Horn, M.H.; Ross, N.; Opstad, I. and Torrissen, O.J., 2000.** Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. Aquaculture. Vol. 184, pp: 303-314.

۶. **Gozlan, E.R.; Gordon, H. and Noel, T., 1999.** Early development of the sofie, *Chondrostoma toxostoma*. Environmental biology of fishes. Vol. 56, pp: 67-77.

۷. **Hazzaa, R. and Hussein, A., 2007.** Larval Development of Himri, *Barbus luteus* (Cyprinidae: Cypriniformes) Reared in the Laboratory. Turkish Journal of Zoology. Vol. 31, pp: 27-33.

۸. **He, T.; Xiao, Zh.; Liu, Q.; Ma, D.; Xu, Sh.; Xiao, Y. and Li, J., 2012.** Ontogeny of the digestive tract and enzymes in rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. J. Fish Physiol Biochem. Vol. 38, pp: 297-308.

۹. **Jafari, M.; Kamarudin, M.S.; Saad, C.R.; Arshad, A.; Oryan, S. and Bahmani, M., 2009.** Development of Morphology in Hatchery-Reared *Rutilus frisii kutum* Larvae. European Journal of Scientific Research. Vol. 38, No. 2, pp: 296-305.

۱۰. **Kim, B.G.; Divakaran, S.; Brown, C.L. and Ostrowski, A., 2001.** Comparative digestive enzyme ontogeny in two marine larval fishes: Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) and bluefin trevally (*Caranx melampygus*). Journal of Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 24, pp: 225-241.

۱۱. **Khoshnood, Z.; Jamili, SH.; Khodabandeh, S.; Mashinchian moradi, A. and Motalebi, A., 2014.** Studying the Structure and Ultrastructure and Immunolocalization of the Gill Chloride cells in Caspian Kutum, Rutilus frisii kutum Fry. Journal of Animal Researches, Vol. 27, No. 4, pp: 498- 508.

۱۲. **Rajabi Nezhad, R. and Azari Takami, G., 2009.** A study of feeding habits of Caspian Shemaya (Shah-Koolee) Chalcalburnus chalcoides (Guldenstadt, 1772) in the Sefidrood river. Journal of marine biology. Vol. 1, No. 3, pp: 45-63.

۱۳. **Ramezani-Fard, E.; Kamarudin, M.S.; Harmin, S.A.; Saad, C.R.; Abd Satar, M.K. and Daud, S.K., 2011.** Ontogenic development of the mouth and digestive tract in larval Malaysian mahseer, *Tor tambroides* Bleeker,1854. Applied Ichthyology. Vol. 27, pp: 920-927.

۱۴. **Ronnestad, R.; Dominguez, R.P. and Tanaka, M., 2000.** Ontogeny of digestive tract functionality in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* studied by in vivo microinjection: pH and assimilation of free amino acids. Fish physiology and biochemistry. Vol. 22, pp: 225-235.

۱۵. **Ronnestad, I.; Koven, W.M.; Tandler, A.; Harel, M. and Fyhn, H.J, 1998.** Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. Vol. 162, pp: 157-170.

۱۶. **Theilacker, A., 1978.** Effect of star vatton on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus* larvae. Fishery bulletin. Vol. 76, No. 2, pp: 403-414.

۱۷. **Okan Kamaci, H.; Suzer, C.; Coban, D.; Saka, S. and Firat, K., 2010.** Organogenesis of exocrine pancreas in sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) larvae: characterization of trypsin expression. J. Fish Physiol Biochem. Vol. 36, pp: 993-1000.

۱۸. **Winkler, H. and Orellana, C.P., 1992.** The costs of mixed prey for a planktivorous cyprinid, *Chalcalburnus chalcoides* mento. Journal of biology Environmental Fish. Vol. 35, No. 1, pp: 85-93.

۱۹. **Yaghoubi, M.; Amiri, B.; Nematollahi, M.A. and Yelghi, S., 2014.** Histological development of the alimentary channel of Caspian Roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Journal of Fisheries. Vol. 67, No. 4, pp: 625- 639.

www.SID.ir