

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۶

ص ۳۲۸-۳۱۳

تأثیر جایگزینی زود هنگام غذای زنده با غذای خشک در

عملکرد لارو ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*)

- ❖ سمیرا ناظم‌رعایا: دانشجوی گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
- ❖ محمدعلی نعمت‌اللهی*: دانشیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
- ❖ راضیه یزدان‌پرست: استاد گروه بیوشیمی مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
- ❖ حمید فرحمند: دانشیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
- ❖ قدرت میرزاده: دکتری شیلات سازمان شیلات استان هرمزگان، بندرعباس

چکیده

در این مطالعه امکان جایگزینی زود هنگام غذای زنده با خشک از روز ۲۵ (تیمار شاهد) به روز ۱۸ (تیمار زود هنگام) پس از تفریح و تأثیر آن در شاخص‌های رشد، نرخ بقا و کیفیت لارو ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*) بررسی شده است. برای اندازه‌گیری نرخ رشد تا پیش از آغاز آزمایش، نمونه‌برداری از لاروها در روزهای ۰، ۲، ۴، ۱۰، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ و بعد از آن در روزهای ۲۵، ۳۲ و ۳۹ و برای نرخ بقا و هم‌جنس‌خواری و کیفیت لارو در روز ۳۹ پس از تفریح صورت گرفت. نتایج نشان داد با آن‌که نرخ رشد ویژه در فاصله آغاز جایگزینی غذا تا انتهای دوره پرورش در تیمار شاهد نسبت به زود هنگام به شکل معنی‌داری ($p < 0/05$) بیشتر است، اما در کل دوره پرورش بین دو تیمار تفاوت معنی‌داری ($p > 0/05$) ندارد. نرخ رشد نسبی در تیمار شاهد با روندی یکسان، ولی در تیمار زود هنگام با روند افزایشی معنی‌دار ($p < 0/05$) پیش می‌رود. جایگزینی زود هنگام تأثیر معنی‌داری در نرخ بقا و هم‌جنس‌خواری و کیفیت لاروها نداشت ($p > 0/05$). این نتایج بیان‌گر امکان جایگزینی غذای زنده با خشک در لارو ماهی صیبتی از روز هجدهم پس از تفریح بدون کاهش در نرخ رشد ویژه، نرخ بقا و کیفیت لارو است که برای پرورش‌دهنده نیز اقتصادی‌تر است.

واژگان کلیدی: صیبتی، *Sparidentex hasta*، جایگزینی غذا، رشد، بقا.

۱. مقدمه

موجودات زنده غذایی مانند روتیفر^۱ و آرتمیا^۲ در صنعت پرورش لارو بیشتر گونه‌های ماهیان دریایی به کار می‌روند و برای تولید موفقیت‌آمیز لارو اهمیت بسیاری دارند (Baskerville-Bridges and Kling, 2000)، اما کاربرد غذای زنده در پرورش لارو دربرگیرنده هزینه‌های بالاتر تولید، ارزش غذایی نامطمئن (Hamlin and Kling, 2001) و بار باکتریایی بالاست (Kim et al., 2004). بر اساس برآوردهای پیشین تولید آرتمیا بخش اعظم هزینه‌های تولید و پرورش لارو حدود ۸۰٪ هزینه‌های تولید غذای زنده یا ۴۰٪ کل هزینه‌های غذا را طی سه ماه اول پرورش دربر می‌گیرد (Baskerville-Bridges and Kling, 2000). کاهش وابستگی به غذاهای زنده، هزینه‌ها و مشکلات مربوط به پرورش لارو را کاهش می‌دهد و سرمایه‌گذاری پرسودتری را در آبی‌پروری فراهم می‌کند (Hamlin and Kling, 2001). همچنین، غذاهای تجاری خشک می‌توانند نگرانی‌های مربوط به هزینه و ارزش غذایی ضعیف غذای زنده را برطرف کنند (Puvanendran et al., 2006).

در تولید انبوه بیشتر ماهیان دریایی، «جایگزینی غذای زنده با غذای خشک»^۳ دوره‌ای حیاتی است (Rosenlund et al., 1997). شکلی از این جایگزینی تغذیه هم‌زمان است، به صورتی که غذای زنده به تدریج با مقادیر رو به افزایش غذای خشک جایگزین می‌شود. این جایگزینی موجب رشد و بقای

بهرتر لارو ماهیان دریایی در مقایسه با زمانی می‌شود که غذای زنده به تنهایی به کار می‌رود (Chang et al., 2006). جیره‌های خشک می‌توانند تعادل ترکیبات غذایی غذای زنده را به‌ویژه در مورد اسیدهای آمینه متعادل کنند، چون اسیدهای آمینه به‌آسانی در غذای زنده تغییر می‌کنند (Rønnestad et al., 1999). همچنین، مشخص شده که تغذیه با جیره‌های غذایی خشک در تغییر اندازه لارو در مخزن پرورش و در نتیجه در نرخ هم‌جنس‌خواری مؤثر است (Curnow et al., 2006). از سوی دیگر، غذای زنده می‌تواند در هضم و جذب غذاهای خشک مؤثر باشد (Kolkovski et al., 1997)، به طوری که هضم را از راه تحریک پاسخ‌های درون‌ریز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kowen et al., 2001). همچنین، تغذیه هم‌زمان عملکرد تغذیه‌ای لارو را بهبود می‌بخشد و باعث سهولت در انتقال زودهنگام به سوی غذاهای خشک به تنهایی می‌شود (Chang et al., 2006).

به طور معمول در ماهیان دریایی، جایگزینی غذای زنده با غذای خشک، به طور موفقیت‌آمیزی پس از چندین هفته خروج از تخم و در برخی از گونه‌های ماهی آب شیرین زودتر انجام می‌گیرد. بیشتر مواقع، جایگزینی غذای زنده با غذای خشک در لارو ماهیان دریایی تا زمانی که دگردیسی آغاز یا حتی کامل نشود، صورت نمی‌گیرد. اگر میزان رشد و بقا ثابت بماند یا حتی بهتر هم نشود، کاهش زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک از نظر اقتصادی دارای برتری خواهد بود (Félix and Ryckeghem, 1999; Puvanendran et al., 2006).

پیش از این نیز، امکان موفقیت تغذیه زودهنگام در

1. *Branchionus sp*
2. *Artemia sp*
3. weaning

منظور در دهه‌های اخیر، تولید این گونه در سواحل جنوبی ایران و کشورهای عربی خلیج فارس (Hussain et al., 1981) افزایش قابل توجهی داشته است، به طوری که از ۱۱/۵ تن در سال ۲۰۰۰ به ۱۳۰۰ تن در سال ۲۰۱۲ رسیده است (RAIS). با افزایش تولید این گونه، مشکلات مربوط به مراحل اولیه پرورش (مرحله لاروی) و هزینه‌های بالای سرمایه‌گذاری مربوط به پرورش غذای زنده و غنی‌سازی آن در این بخش همچنان پابرجاست. هدف این مقاله بررسی تأثیر کاهش دوره مصرف غذای زنده و کاهش زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک در عملکرد لارو ماهی صیبتی از نظر شاخص‌های نرخ رشد، بقا، هم‌جنس‌خواری و کیفیت آن برای بهبود روش پرورش و در نتیجه کاهش هزینه‌های تولید است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. پرورش لارو و طرح آزمایش

نمونه‌های لارو مورد استفاده در این مطالعه از کارگاه تکثیر ماهیان دریایی واقع در روستای بندر معلم از توابع بندر لنگه در استان هرمزگان تأمین شدند. مولدان صیبتی با روش صید گوشگیر در مناطق جنگل‌های حرا واقع در بندر خمیر در فاصله توراندازی یک‌ساعته صید شدند. هر ۷-۸ قطعه مولد در مخازن ۳۰۰ لیتری حاوی آب دریا قرار داده شد و با قایق به ساحل منتقل شد. سپس، این مولدان به سرعت درون مخازن یک‌تنی همراه با هوادهی به محل کارگاه ذکرشده در بالا منتقل شدند و بعد از انتقال به کارگاه، در استخرهای بتنی گرد با قطر چهار متر نگهداری شدند. برای تکثیر نیمه طبیعی لاروها،

گونه‌های مختلفی مانند باس مخطط، *Morone saxatilis* (Chu and Ozkizilcik, 1999)؛ درام قرمز، *Sciaenops ocellatus* (Lazo et al., 2000)؛ سیم دریایی سرطلایی، *Sparus aurata* (Yúfera et al., 2000)؛ هالیبوت اطلس، *Hippoglossus hippoglossus* (Næss et al., 2001)؛ کفشک زمستانی *Pseudopleuronectes americanus* (Ben Khemis et al., 2003)؛ کفشک زبان‌گاو، *Cynoglossus semilaevis* (Chang et al., 2006)؛ باراموندی، *L. calcarifer* (Curnow et al., 2006)؛ سیم سفید، *Diplodus sargus* (Guerreiro et al., 2010)؛ کویا، *Rachycentron canadum* (Nhu et al., 2010) بررسی شده است. گرچه زمان آغاز آن مختص هر گونه بر اساس بلوغ سیستم هضمی آن است (Zambonino Infante and Cahu, 2001).

با توجه به مشکلات مربوط به صید بی‌رویه و وارد آمدن فشار بر گونه‌های مهم و تجاری خلیج فارس و خطر کاهش جمعیت‌های آن‌ها از یک سو، و افزایش قیمت و نیاز بالا از سوی دیگر، چند سالی است که به تکثیر و پرورش ماهیان دریایی در خط ساحلی جنوب کشور روی آورده شده است. صیبتی، ماهی بستری متعلق به مناطق گرمسیری با نام علمی *Sparidentex hasta* (Valenciennes, 1820) از خانواده شانک‌ماهیان^۱ و راسته سوف‌ماهی شکلان^۲ (Bauchot and Smith, 1984) است که بومی خورهای بندر امام و ماهشهر بوده و در استان خوزستان و کشور کویت از بازارپسندی بسیار بالایی برخوردار است و در شرایط پرورشی رشد به نسبت سریعی دارد (Teng et al., 1999). بدین

1. Sparidae
2. Perciformes

غذای زنده با غذای خشک، بسته به تیمار شاهد یا زوددهنگام، به لاروها داده شد. زمان آغاز جایگزینی تدریجی غذای زنده با غذای دستی با اندازه ۱۰۰ میکرون (Coppens Feeds for Aquaculture, Helmond, Netherlands) در سه مخزن تیمار شاهد و سه مخزن تیمار زوددهنگام به ترتیب روزهای ۲۵ و ۱۸ پس از تفریح در نظر گرفته شد، که این دوره انتقالی تدریجی از غذای زنده به غذای خشک به مدت هفت روز با مقدار رو به کاهش آرتیمیا (کاهش ۲۰ درصد روزانه از پنج روز پیش از تکمیل زمان جایگزینی غذای زنده با غذای خشک) و رو به افزایش غذای خشک (به تدریج از ۵-۲ g برای هر مخزن در هر روز) همراه بود و پس از گذشتن این دوره در هر دو تیمار شاهد و زوددهنگام لاروها تا انتهای دوره پرورش (۳۹ روزگی) فقط با غذای خشک تغذیه شدند. روز ۲۵ پس از تفریح به منزله شاهد روزی است که در مطالعه پیشین درباره این گونه به مثابه زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با خشک (Teng et al., 1999) در کارگاه محل پژوهش در نظر گرفته می شد.

نوردهی با استفاده از لامپ‌های فلورسنت در بالای سر مخزن‌ها صورت می گرفت و دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی: تاریکی) در نظر گرفته شد. مقدار غذای زنده در مخازن پرورشی در هر چهار ساعت دوره نوری با نمونه برداری از مخازن کنترل می شد و به طور یکنواخت اضافه می شد. مقدار مورد نیاز غذای خشک در دو نوبت پیش از ارائه غذای زنده با قراردادن آن بین دو انگشت شست و اشاره به مخزن اضافه می شد. در ساعت‌های شبانه هیچ غذادهی صورت نمی گرفت. مواد پوسیده و زائد کف

غذای مناسب و شرایط جزرومدی در استخر برای مولدان فراهم شد. جفت گیری در اوایل شب صورت گرفت و تخمک و اسپرم در آب رها شدند. پس از انجام دادن عمل لقاح در استخر، صبح روز بعد تخم‌های لقاح یافته به وسیله توری جمع کننده (150μ) جمع آوری شدند و پس از ضد عفونی و شمارش به مخزن‌های ۳۰۰ لیتری استوانه‌ای از پیش آب گیری شده انتقال یافتند. تا زمان تخم گشایی، که حدود ۲۴ ساعت پس از انتقال تخم‌ها به مخازن بود، دما و اکسیژن محلول مخزن‌ها به طور مرتب بازرسی می شد. دما در دوره زمانی انکوباسیون $20 \pm 0.5^\circ C$ و اکسیژن ۵ ppm بود. هیچ تعویض آبی در این زمان صورت نگرفت و هوادهی ملایم با قرارگیری سنگ هوا در مرکز مخزن برای جلوگیری از اصابت لاروها به دیواره مخزن انجام شد.

روش پرورش لاروها بر اساس روش توصیه شده پیشین برای ماهی صبیتی (Teng et al., 1999) با اندکی تغییر صورت گرفت. تعداد ۲۴۰۰۰ قطعه لارو با تراکم ۸۰ عدد در لیتر در هر مخزن ۵۰۰ لیتری فایبرگلاس (حاوی ۳۰۰ لیتر آب) ذخیره سازی شد. لاروها به مدت دو روز با کیسه زرده تغذیه کردند. نانوکلوپسیس با غلظت $10^6 \times 10^{-5}$ سلول در میلی لیتر از روز اول تا روز شانزدهم پس از تفریح به مخزن پرورش لارو افزوده شد. روتیفر از روز دوم تا روز دهم پس از تفریح (S-type، به مقدار ۵-۱۰ عدد در میلی لیتر) و از روز دهم تا روز شانزدهم پس از تفریح (L-type به مقدار ۱۶-۱۰ عدد در میلی لیتر)، و ناپلی آرتیمای غنی شده با DHA Selco (INVE Aquaculture NV, Belgium) از روز سیزدهم (۷-۲ عدد در میلی لیتر) تا آخرین روز دوره انتقال تدریجی

مخزن همچنین، لاروهای مرده با سیفون کردن روزانه خارج می‌شدند. لاروهای مرده شمارش و ثبت می‌شدند. پارامترهای فیزیکیوشیمیایی آب مانند اکسیژن (6 ± 0.5 ppm)، شوری (34 ± 0.5 ppt)، PH ($7.7-8.1$) و دما (21 ± 1 °C) روزانه کنترل و ثبت می‌شد.

۲۰۱۲). همچنین، برای اندازه‌گیری وزن، تعداد ۲۰ عدد لارو به طور تصادفی نمونه‌برداری شدند. پس از بی‌حس کردن لاروها با آب یخ و شست‌وشوی آنها با آب مقطر، روی توری با قطر 150μ قرار داده شدند و با کاغذ خشک‌کن از زیر رطوبت اضافی آنها گرفته شد و در نهایت با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0.01 میلی‌گرم (HTR, ViBRA Japan) وزن آنها محاسبه شد. از داده‌های وزن برای تعیین «نرخ رشد نسبی»^۱ (RGR) (درصد در روز) برای هر فاصله زمانی بعد از آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای ساختگی بر اساس معادله ۲ استفاده شد:

$$RGR = (e^g - 1) \times 100 \quad (2)$$

که «g» در این معادله «نرخ رشد آنی»^۲ است که خود آن از معادله ۳ به دست می‌آید.

$$g = \frac{\ln w_t - \ln w_0}{t - t_0} \quad (3)$$

همچنین، نرخ رشد ویژه (SGR) در انتهای دوره پرورش (۳۹ روزگی) برای هر دو تیمار بر اساس معادله ۴ تعیین شد:

$$SGR = \left(\frac{\ln w_t}{t} - \frac{\ln w_0}{t_0} \right) \times 100 \quad (4)$$

در این معادله w_0 و w_t به ترتیب وزن نهایی و وزن اولیه و $t - t_0$ فاصله زمانی بین دو وزن است (Ricker, 1968). درصد نرخ بقا در هر دو تیمار شاهد و زودهنگام در انتهای دوره پرورش نیز محاسبه شد.

کیفیت لارو صیبتی در انتهای دوره لاروی با استفاده از «شاخص تجمعی استرس»^۳ (CSI) و «نرخ مرگ‌ومیر» با کمی اصلاح در روش پیشین قراردادن

نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری طول کل و وزن تر لاروها در روزهای ۰، ۲، ۴، ۱۰، ۱۴ و ۱۸ پس از تفریح برای تعیین وضعیت رشد لاروها پیش از آغاز جایگزینی غذای زنده با خشک صورت پذیرفت. همچنین، درصد نرخ بقا تا پیش از آغاز آزمایش در روز هجدهم پس از تفریح بر اساس معادله ۱ محاسبه شد (Nhu et al., 2010).

۲.۲ ارزیابی رشد، درصد بقا و کیفیت لارو

نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری طول کل و وزن تر لاروها در روزهای ۰، ۲، ۴، ۱۰، ۱۴ و ۱۸ پس از تفریح برای تعیین وضعیت رشد لاروها پیش از آغاز جایگزینی غذای زنده با خشک صورت پذیرفت. همچنین، درصد نرخ بقا تا پیش از آغاز آزمایش در روز هجدهم پس از تفریح بر اساس معادله ۱ محاسبه شد (Nhu et al., 2010).

$$Su (\%) = \frac{F + S}{I} \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله، Su نرخ بقا، F تعداد لارو زنده در انتهای دوره، S مجموع تعداد لارو نمونه‌برداری شده در دوره پرورش و I تعداد لارو اولیه است. به منظور بررسی تأثیر زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک، نمونه‌برداری‌ها از زمان آغاز آن در تیمار شاهد تا دو هفته بعد یعنی در روزهای ۲۵، ۳۲ و ۳۹ پس از تفریح برای هر دو تیمار شاهد و زودهنگام صورت گرفت.

پس از نمونه‌برداری تصادفی ۳۰ عدد لارو، به وسیله دوربین عکاسی دیجیتال (Canon, 14 X Power shot SX210IS) متصل به لوپ از آنها عکس برداری شد و با استفاده از نرم‌افزار آنالیز عکس ImageJ (نسخه ۱/۲۹، کشور آمریکا) طول کل آنها بر حسب میلی‌متر محاسبه شد (Schneider et al.,

1. Relative growth rate
2. Instantaneous growth rate
3. Cumulative Stress Index

شاخص تجمعی استرس و مرگ‌ومیر بیشتر باشد، کیفیت لاروها پایین‌تر است. نرخ هم‌جنس‌خواری نیز با توجه به معادله ۶ مشخص می‌شود (Nhu *et al.*, 2009).

$$C(\%) = \frac{100 \times (I - S - F - M)}{I} \quad (۶)$$

که در این معادله C نرخ هم‌جنس‌خواری، I تعداد اولیه لارو، S تعداد نمونه‌برداری شده در دوره پرورش، F تعداد نهایی و M تعداد لارو مرده با مرگ‌ومیر طبیعی است.

۳.۲. تجزیه آماری

نخست، برای بررسی توزیع یکنواخت و همگنی واریانس داده‌ها به ترتیب از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و لئون استفاده شد. سپس، برای تعیین تفاوت معنی‌دار در داده‌های طول کل و وزن تر بین هفته‌های نمونه‌برداری آزمون واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و روش مقایسه میانگین Tukey در سطح معنی‌داری ($\alpha = 5\%$) به کار برده شد. همچنین، برای مقایسه پارامترهای طول کل، وزن تر، نرخ رشد نسبی و ویژه، نرخ مرگ‌ومیر و نرخ بقا از روز ۱۸ تا ۳۹ پس از تفریح، نرخ هم‌جنس‌خواری، شاخص تجمعی استرس و نرخ مرگ‌ومیر در آزمون شوری بین دو تیمار شاهد و زوددهنگام در هر زمان نمونه‌برداری از آزمون t-student در سطح معنی‌داری ($\alpha = 5\%$) استفاده شد. همه این آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۵، کشور آمریکا) صورت پذیرفت. همه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند و به صورت میانگین \pm انحراف معیار (SD) نشان داده شده‌اند.

لاروها در معرض شوک (Dhert *et al.*, 1992) ارزیابی شد. شاخص تجمعی استرس بیان‌گر شرایط فیزیولوژیک لاروها و حساسیتشان به استرس است. مزیت استفاده از آن در این است که روند نرخ مرگ‌ومیر را در نظر می‌گیرد و می‌تواند شرایط لاروها را بهتر انعکاس دهد. هرچه تعداد لاروهای مرده در یک فاصله زمانی مشخص بیشتر باشد، نسبت به زمانی که همین تعداد مرگ‌ومیر در فواصل زمانی بیشتری پنخس شود، شاخص تجمعی استرس بیشتر می‌شود، که بیان‌گر کیفیت ضعیف‌تر لاروهاست. در این آزمایش لاروهای ۳۹ روزه در آب با شوری g/lit ۶۰ به مدت یک ساعت قرار داده شدند. برای جلوگیری از تغییر دمای آب و جلوگیری از ایجاد استرس اضافی، از همان آب مخزن استفاده شد و نمک NaCl برای ایجاد شوری مورد نظر افزوده شد. از هر مخزن تعداد ده عدد لارو به طور تصادفی نمونه‌برداری شدند و در ظرفی با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر از آب شور قرار داده شدند. تعداد لاروهای مرده هر سه دقیقه تا دقیقه ۶۰ شمارش شدند. شاخص تجمعی استرس از «مجموع نرخ‌های مرگ‌ومیر»^۱ در هر فاصله زمانی سه دقیقه‌ای به دست می‌آید. نرخ مرگ‌ومیر با توجه به معادله ۵ محاسبه می‌شود. برای فواصل زمانی بعدی به جای تعداد اولیه لارو، تعداد لارو زنده باقی‌مانده پس از هر سه دقیقه در معادله جایگزین می‌شود.

$$M(\%) = \frac{D}{I} \times 100 \quad (۵)$$

که در این معادله M نرخ مرگ‌ومیر، D تعداد لاروهای مرده و I تعداد اولیه لارو است. هر چقدر

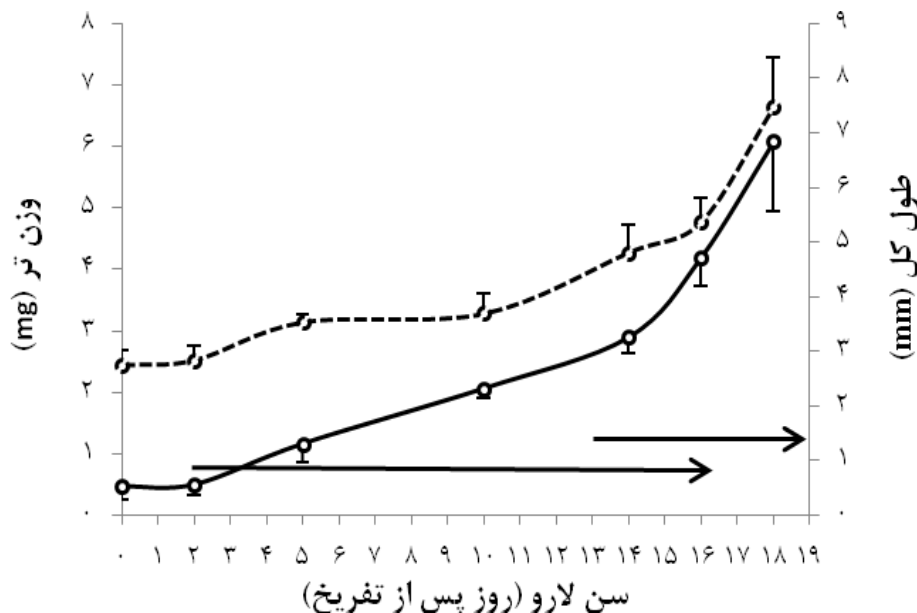
1. Σ (Mortality)

۳. نتایج

رشد طولی و وزنی لارو ماهی صیبتی تا روز هجدهم پس از تفریح در نمودار ۱ نشان داده شده است. دو دوره رشدی مشخص طولی و وزنی یکی با افزایش ملایم تا پیش از روز چهاردهم پس از تفریح و دیگری پس از این روز با افزایش قابل توجه تا روز هجدهم پس از تفریح دیده می‌شود. این موضوع منطبق با زمان ارائه آرتمیا به منزله غذای زنده در مخزن‌هاست. میانگین نرخ بقا در شش مخزن اولیه نگهداری لاروها از زمان تفریح تا روز هجدهم پس از آن $9/37 \pm 0/78\%$ بود.

همان طور که در جدول ۱ دیده می‌شود، از روز هجدهم به بعد و در دوره آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک نیز افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) رشد

طولی و وزنی در لارو صیبتی در هر دو تیمار شاهد و زود هنگام دیده می‌شود. به طوری که، در روز اول پس از تفریح از مقدار $2/75$ mm در شاخص رشد طولی و از مقدار $0/5$ mg در شاخص رشد وزنی به مقادیر $17/98$ mm، $14/67$ mm و $32/94$ mg، $20/57$ به ترتیب در تیمارهای شاهد و زود هنگام رسید. نرخ رشد نسبی، که نشان‌دهنده مقدار رشد در پایان هر هفته است، بین هفته‌های نمونه‌برداری در تیمار شاهد معنی‌دار نیست ($p > 0/05$) و تقریباً بین همه هفته‌ها نرخ یکسانی دارد، ولی در تیمار زود هنگام با افزایش زمان افزایش معنی‌دار ($< 0/05$) نشان می‌دهد؛ به طوری که در روز ۳۹ مقدار آن سه برابر روز ۲۵ است و در واقع کمبود رشد در هفته آخر جبران شده است.



نمودار ۱. نمودار رشد طولی (نقطه چین) و رشد وزنی (ساده) (میانگین \pm انحراف معیار) لارو ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*) تا روز هجدهم پس از تفریح. پیکان‌های روی نمودار از پایین به بالا به ترتیب نشان‌دهنده زمان آغاز و روند تغذیه با غذای زنده روتیفر و آرتمیاست.

جدول ۱. مقایسه رشد لارو صیبتی (*S. hasta*) از زمان جایگزینی غذای زنده با غذای خشک تا دو هفته پس آن

| تیمار زود هنگام | تیمار شاهد | شاخص | زمان |
|------------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------------|
| $۷/۶۳ \pm ۰/۳۲^b$ | $۱۱/۴۱ \pm ۰/۳۳^a$ | طول کل (mm) | ۲۵ روز پس از تفریخ (هفته ۰) * |
| $۵/۵۳ \pm ۰/۴۵^b$ | $۹/۸۳ \pm ۱/۵۳^a$ | وزن تر (mg) | |
| $۴/۰۶ \pm ۲/۲۸^{b,B}$ | $۱۲/۸۷ \pm ۲/۱^a$ | نرخ رشد نسبی (% در روز) | |
| $۱۱/۶۹ \pm ۰/۲۵^b$ | $۱۵/۳۴ \pm ۰/۴۸^a$ | طول کل (mm) | ۳۲ روز پس از تفریخ (هفته ۱) ** |
| $۸/۸۷ \pm ۰/۴۷^b$ | $۱۷/۸۳ \pm ۱/۳۶^a$ | وزن تر (mg) | |
| $۷ \pm ۱/۶۴^{a,B}$ | $۸/۹۸ \pm ۲/۲^a$ | نرخ رشد نسبی (% در روز) | |
| $۱۴/۶۷ \pm ۰/۱۳^b$ | $۱۷/۹۸ \pm ۰/۱۴^a$ | طول کل (mm) | ۳۹ روز پس از تفریخ (هفته ۲) *** |
| $۲۰/۵۷ \pm ۰/۳۵^b$ | $۳۲/۹۴ \pm ۱/۳۴^a$ | وزن تر (mg) | |
| $۱۲/۸۷ \pm ۱/۰۸^{a,A}$ | $۹/۲ \pm ۱/۷۳^b$ | نرخ رشد نسبی (% در روز) | |
| $۷/۶ \pm ۰/۴۵^b$ | $۹/۸۲ \pm ۰/۳۵^a$ | نرخ رشد ویژه (% در روز) | |

یکسان نبودن تعداد * به طور جداگانه در هر یک از تیمارهای شاهد و زود هنگام به معنای تفاوت معنی دار در شاخص های طول کل و وزن تر (رشد طولی و وزنی) بین هفته های ۰-۲ است ($p < ۰/۰۵$).

^{A,B} حروف بزرگ متفاوت لاتین در تیمار زود هنگام بیانگر تفاوت معنی دار در شاخص نرخ رشد نسبی بین هفته های ۰-۲ است ($p < ۰/۰۵$).
^{a,b} حروف کوچک متفاوت لاتین در هر زمان نمونه برداری به معنای تفاوت معنی دار بین دو تیمار شاهد و زود هنگام در هر شاخص است ($p < ۰/۰۵$).

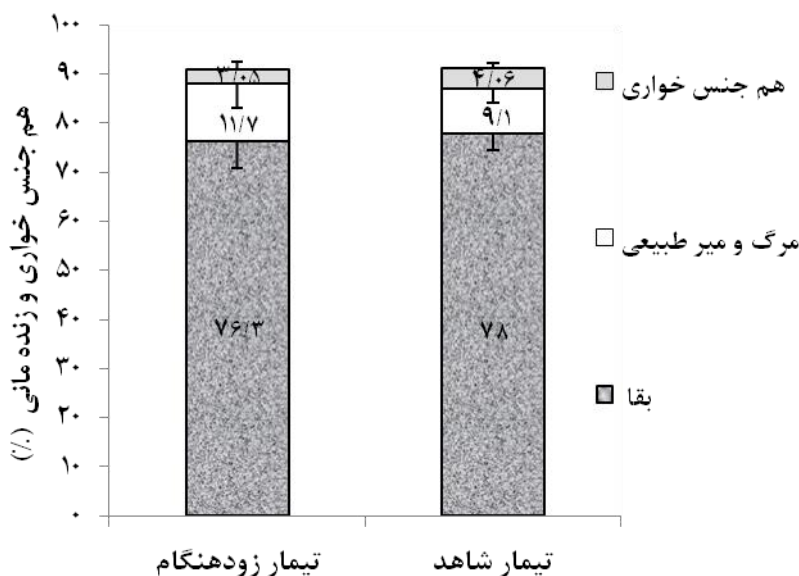
تفریخ در تیمار شاهد نسبت به زود هنگام به شکل معنی داری ($p < ۰/۰۵$) بیشتر است (جدول ۱).

نتایج عملکرد و کیفیت لارو در پایان دوره پرورش با دو تیمار شاهد و زود هنگام در جدول ۲ نشان داده شده است. جایگزینی زود هنگام غذای زنده با خشک در نرخ بقا مؤثر نبوده است به طوری که، تفاوت معنی داری در نرخ بقا بین دو تیمار دیده نمی شود ($p > ۰/۰۵$). مقدار نرخ رشد ویژه از روز اول تا روز ۳۹ پس از تفریخ نشان داده شده است. با وجود آن که مقدار آن در تیمار شاهد بیشتر از تیمار زود هنگام است، ولی این تفاوت معنی دار نیست ($p > ۰/۰۵$). در تعیین کیفیت لاروها با آزمون شوری، تفاوت معنی داری در نرخ مرگ و میر و شاخص تجمع استرس بین دو تیمار مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$).

در دو هفته اول پس از جایگزینی غذای زنده با غذای خشک، لاروهای تیمار شاهد وزنی حدود دو برابر تیمار زود هنگام دارند؛ هرچند در هفته آخر این تفاوت کاهش می یابد (۱/۵ برابر)، ولی همچنان تا پایان دوره لاروهای تیمار شاهد به طور معنی داری ($p < ۰/۰۵$) از لاروهای تیمار زود هنگام سنگین ترند. در همه زمان ها لاروهای تیمار شاهد به طور معنی داری ($p < ۰/۰۵$) رشد طولی بیشتری نسبت به تیمار زود هنگام دارند. نرخ رشد نسبی در هفته اول در تیمار شاهد سه برابر تیمار زود هنگام است ($p < ۰/۰۵$)، ولی در هفته دوم مقدار آن بین دو تیمار تفاوت معنی داری ندارد ($p > ۰/۰۵$) و در نهایت در هفته سوم مقدار آن در تیمار زود هنگام به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد می شود ($p < ۰/۰۵$). نرخ رشد ویژه در فاصله زمانی روز ۱۸-۳۹ پس از

جدول ۲. عملکرد و کیفیت لارو ماهی صیبتی در آزمایش استرس شوری (۶۰ g/l/h) در پایان دوره پرورش (روز ۳۹ پس از تفریح)

| تیمار | نرخ بقا در پایان دوره پرورش (%) | نرخ رشد ویژه (% در روز) | نرخ مرگ و میر (%) | زنده‌مانی لارو در آزمون شوری شاخص تجمعی استرس |
|----------|---------------------------------|-------------------------|-------------------|---|
| شاهد | ۸/۱۹±۰/۸۷ | ۱۱/۰۷±۱/۰۳ | ۳۶/۶۷±۵/۷۷ | ۴۵/۱±۸/۵۶ |
| زودهنگام | ۷/۹۲±۰/۴۲ | ۹/۹±۱/۰۷ | ۳۶/۶۷±۵/۷۷ | ۵۲/۲۵±۱۱/۱۸ |



نمودار ۲. مقایسه نرخ مرگ و میر طبیعی، بقا و هم جنس خواری (میانگین ± انحراف معیار) بین دو تیمار شاهد و زودهنگام از روز ۱۸-۳۹ پس از تفریح.

۴. بحث و نتیجه گیری

رشد لارو ماهی صیبتی (*S. hasta*) همچون دیگر گونه‌های شانک ماهیان مطالعه شده مانند شانک قرمز، *Pagrus pagrus* (Suzer et al., 2007)؛ پاندورای معمولی، *Pagellus erythrinus* (Suzer et al., 2006)؛ سیم دریایی پوزه باریک، *Diplodus puntazzo* (Suzer et al., 2007)؛ سیم دریایی خال مشکی، *Pagellus bogaraveo* (Ribeiro et al., 2008)؛ دنتکس معمولی، *Dentex dentex* (Gisbert et al., 2009) و سیم دریایی سفید، *Diplodus sargus* (Guerreiro et al., 2010) به شکل نمایی است. این گونه به نظر می‌رسد که پس از معرفی

برای تعیین نرخ هم جنس خواری در روز ۳۹، نرخ مرگ و میر طبیعی و بقا در فاصله زمانی روز ۱۸-۳۹ محاسبه شد (نمودار ۲). از تعداد لاروهای باقی مانده از روز اول تا روز هجدهم پس از تفریح، غیر از لاروهایی که طی زمان نمونه برداری شدند یا مردند، بیش از ۷۵٪ آن‌ها تا پایان آزمایش زنده ماندند و تعدادی که ناپدید شدند طعمه دیگر لاروها شده بودند. تیمار غذایی تأثیر معنی داری در نرخ مرگ و میر طبیعی، بقا و هم جنس خواری نداشت ($p > 0/05$).

نیست، اما در تیمار زودهنگام آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک در سن کمتر لاروها نقش مهم‌تری در کاهش مقدار رشد نسبی بازی می‌کند. از سویی، قابلیت رشد جبرانی در لارویی که زودتر با غذای خشک تغذیه شده است وجود دارد؛ به طوری که مقدار رشد نسبی در هفته آخر در تیمار زودهنگام از تیمار شاهد پیشی می‌گیرد. گرچه الگوی افزایشی و معنی‌دار نرخ رشد نسبی در تیمار زودهنگام در هفته آخر توانایی رشد جبرانی لاروهای جوان را نشان می‌دهد، اما به دلیل پایین‌بودن بسیار نرخ رشد نسبی در هفته اول، همچنان نرخ رشد ویژه در فاصله آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک تا انتهای دوره پرورش در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد کمتر است.

همان‌طور که نشان داده شد، نرخ رشد ویژه در این گونه ۱۱/۰۷ درصد در روز است که در مقایسه با گونه‌های مشابه از این خانواده مانند ۴/۲ درصد در روز در سیم دریایی سفید (Guerreiro *et al.*, 2010) و ۵/۹ درصد در روز در سیم دریایی پوزه باریک (Suzer *et al.*, 2007) بسیار بیشتر است؛ با توجه به آن‌که پیش از این سیم دریایی پوزه باریک با این نرخ رشد ویژه جزء گونه‌های با رشد سریع مطرح شده است، صبیتی را می‌توان جزء گونه‌های با رشد سریع در نظر گرفت. هرچند نرخ رشد ویژه در پایان دوره پرورش در تیمار شاهد بیشتر از تیمار زودهنگام است، اما این اختلاف بین دو تیمار معنی‌دار نیست و ارائه زودتر غذای خشک در جیره تأثیر منفی در آن نداشته است. در مطالعات پیشین نتایج متفاوت است، چنانکه در کاد اطلس (*Gadus morhua* - Baskerville-) (Bridges and Kling, 2000)، سیم دریایی سفید

آرتمیا در رژیم غذایی لارو صبیتی افزایش مشخص‌تری در شاخص‌های طول کل و وزن تر مشاهده می‌شود در مقایسه با دوره زمانی که فقط روتیفر ارائه می‌شود. در واقع این تفاوت در مقدار رشد می‌تواند بیشتر به اولویت تخصیص منابع انرژی در دسترس به تغییرات فیزیولوژیکی و تکوینی نسبت به افزایش اندازه در مراحل اولیه تکاملی لاروی (Zouiten *et al.*, 2008) تا تغییر نوع غذا مربوط باشد. هرچند در مراحل پیشرفته‌تر لاروی با تکوین دستگاه گوارش تغییر نوع غذا از زنده به خشک منجر به افزایش رشد در لاروها شده است.

در این مطالعه، لاروهای ۳۹ روزه تیمار شاهد از نظر رشد طولی بزرگ‌تر از لاروهای هم‌سن در مطالعه پیشین (۱۷ mm) (Teng *et al.*, 1999) بودند. آنچه باعث تعجب شده این است که هر دو دسته لارو در شرایط یکسانی از نظر روش تغذیه‌ای قرار داشتند و دما در مطالعه پیشین (۲۶ °C) بالاتر از این مطالعه بود. به نظر می‌رسد که این تفاوت اندازه می‌تواند به ویژگی‌های ژنتیکی لاروها مربوط باشد.

همان‌طور که مشاهده شد، از زمان جایگزینی غذای زنده با غذای خشک تا دو هفته پس از آن لاروهای تیمار شاهد نرخ رشد بهتری را در مقایسه با لاروهای تیمار زودهنگام نشان دادند. تأثیر آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک الگوی رشد یکسانی را در هر دو تیمار شاهد و زودهنگام به همراه دارد، به طوری که در هفته پس از آغاز آن در هر یک از دو تیمار مقدار رشد نسبی کاهش می‌یابد. این الگو در لارو سیم دریایی سفید نیز مشاهده شده است (Guerreiro *et al.*, 2010). هرچند این کاهش در تیمار شاهد بین هفته‌های نمونه‌برداری معنی‌دار

این واقعیت است که تغییر رژیم غذایی از غذای زنده به خشک عامل مرگ و میر و کاهش نرخ بقا نیست. با توجه به ثبت روزانه تعداد لاروهای مرده، مرگ و میر در دو زمان بیشتر بود: یکی در زمان تغییر رژیم غذایی از روتیفر به آرتمیا و دیگری با بیشترین مقدار مربوط به روزهای اولیه تکامل لاروی در فاصله روزهای ۱۰-۷ پس از تفریح بود. این زمانی است که لاروها به کف مخزن می‌روند و پس از آن برای تورم کیسه شنا به سطح آب می‌آیند. به نظر می‌رسد دلیل افزایش نرخ مرگ و میر و تأثیر در نرخ بقا به این مرحله تکاملی وابسته است و باید برای بهبود آن مطالعات بیشتری انجام گیرد. دلیلی که می‌توان برای نرخ پایین‌تر بقا در این مطالعه نسبت به مطالعه پیشین (Teng *et al.*, 1999) ذکر کرد، احتمالاً کیفیت ضعیف تخم (تخم‌گیری از مولدان در انتهای فصل) یا بیماری‌های محیطی است. همچنین، در این مطالعه تفاوتی در نرخ بقا در انتهای دوره پرورش بین دو تیمار شاهد و زودهنگام مشاهده نشد. آغاز زودهنگام جایگزینی غذای زنده با غذای خشک در گونه‌های دیگری مانند فلاندر جنوبی (Faulk and Holt, 2009) و کفشک معمولی (Bonaldo *et al.*, 2011) نیز تأثیر زیان‌باری در نرخ بقا نداشته است. به علاوه، در فاصله آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک تا پایان دوره پرورش، نرخ بقا در هر دو تیمار تفاوت معنی‌داری از هم ندارد. بقای نسبتاً بالا (بیش از ۷۵ درصد) در این فاصله در هر دو تیمار زودهنگام و شاهد بیان‌گر توانایی تطبیق‌پذیری مناسب لارو صیبتی با جیره خشک است. پیش از این نیز سازگاری سریع به غذای خشک دلیلی برای نرخ بقای بالا در تیمار زودهنگام در سیم دریایی سفید (Guerreiro *et al.*, 2010) و

(Guerreiro *et al.*, 2010) و فلاندر جنوبی (Faulk and Holt, 2009) *Paralichthys lethostigma* کاهش زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک اثر منفی در نرخ رشد ویژه داشته و باعث کاهش آن شده است، اما در سوف شنی *Sander lucioperca* (Kestemont *et al.*, 2007) و اسنوک چرب *Centropomus parallelus* (Alves Jr *et al.*, 2006) همانند صیبتی تأثیری منفی نداشته است.

نرخ بقا در این مطالعه تا روز هجدهم پس از تفریح ۹/۴ درصد و در پایان دوره پرورش حدود ۸ درصد بود که نسبت به برخی گونه‌های دیگر شانک ماهیان مانند پاندورای معمولی (۲۱/۲ درصد) (Suzer *et al.*, 2006) و سیم دریایی پوزه‌باریک (۲۱/۷ درصد) (Suzer *et al.*, 2007) اندک بود. از طرفی مقدار آن با سیم دریایی سفید (۶ درصد) (Guerreiro *et al.*, 2010) تفاوت چندانی نداشت. هرچند در دنتکس معمولی مقدار آن تا روز هجدهم پس از تفریح ۱۵/۴۳-۴/۷۸ درصد و تا روز ۳۶ پس از تفریح ۱-۱/۵۵-۰/۵ درصد گزارش شده است (Crespo *et al.*, 2001). در مطالعه پیشین درباره این گونه و فقط تغذیه با غذای زنده نرخ بقا در لاروهای ۶۰ روزه ۱۲/۳-۸/۹ درصد گزارش شده است (Teng *et al.*, 1999). نرخ بقای اندک معمولاً در گونه‌های جدید دیده می‌شود که ضرورت تحقیق درباره نیازهای پرورش، کیفیت تخم، شرایط مولدان و دیگر عوامل را می‌طلبد (Guerreiro *et al.*, 2010). در این مطالعه تلاش بسیاری برای برقراری شرایط بهینه پرورش صورت گرفت. بالا بودن نرخ بقا در فاصله زمانی جایگزینی غذای زنده با غذای خشک حاکی از

ایجاد کند؛ اگرچه تغذیه زود هنگام با غذای خشک در باراموندی نرخ هم جنس خواری را به شکل معنی داری کاهش داده است (Curnow et al., 2006).

یکی از اهداف اصلی آبرزی پروری جایگزینی زود هنگام غذای زنده با غذای خشک است و این موضوع در مورد لارو برخی از ماهیان دریایی به طور موفقیت آمیزی محقق شده است (Zambonino-Infante et al., 2008). زمان بندی تغذیه هم زمان و نسبت غذایی آن از یک سو و خوش خوراکی و هضم پذیری جیره های ساختگی از سوی دیگر، نقش تعیین کننده ای در موفقیت جایگزینی غذای زنده با غذای خشک دارد (Chu and Ozkizilcik, 1999; Faulk et al., 2007). همچنین، پذیرش غذای خشک در تغذیه هم زمان زود هنگام به تکامل سیستم هضمی لارو بستگی دارد. الگوی فعالیت آنزیمی هم وابسته به سن است که می تواند با نوع جیره تغییر کند (Cahu and Zambonino Infante, 2001). در این مطالعه از غذای خشکی استفاده شد که برای شانک ماهیان طراحی و ساخته شده است و این دلیلی برای موفقیت در جایگزینی زود هنگام غذای زنده با غذای خشک شده در این گونه است. همان طور که پیش از این گفته شد، اگر میزان رشد و بقا ثابت بماند یا حتی بهتر هم نشود، کاهش زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با غذای خشک از نظر اقتصادی دارای برتری خواهد بود. روی هم رفته نتایج موفقیت آمیز مربوط به نبود تفاوت معنی دار بین دو تیمار بیان گر آن است که امکان تغذیه هم زمان زود هنگام لارو ماهی صبیتی تا روز هجدهم پس از تفریح بدون آسیب رساندن به نرخ رشد ویژه، نرخ بقا و کیفیت لارو در پایان دوره پرورش وجود دارد. این مطالعه

سازگاری دیر هنگام به غذای خشک عامل مرگ و میر بالا در پاندورای معمولی (Suzer et al., 2006) بیان شده است.

همان طور که مشاهده شد با وجود آن که نرخ مرگ و میر در هر دو تیمار یکسان است، اما مقدار شاخص تجمعی استرس در تیمار زود هنگام بیشتر از تیمار شاهد است؛ البته تفاوت معنی داری از هم ندارند. بدین معنا که نه تنها جایگزینی زود هنگام غذای خشک با غذای زنده تأثیری در افزایش نرخ مرگ و میر لاروها نداشته است، بلکه لاروهای تیمار زود هنگام از نظر کیفیت تفاوتی با لاروهای تیمار شاهد ندارند. پیش از این نیز کاهش زمان آغاز جایگزینی غذای زنده با خشک در کویا تا روز هشتم پس از تفریح (Nhu et al., 2010) و در کفشک معمولی تا روز ۲۴ پس از تفریح (Bonaldo et al., 2011) تأثیری در نرخ مرگ و میر، شاخص تجمعی استرس و در نتیجه کیفیت لاروها نداشته است.

تفاوت اندازه لاروها در مخزن مهم ترین عامل ایجاد هم جنس خواری است (Nhu et al., 2010). در مطالعه پیشین درباره این گونه نرخ هم جنس خواری در روز ۴۰ پس از تفریح ۲۱ درصد با روش مشاهده باله دمی آسیب دیده برآورد شده است (Teng et al., 1999). در این مطالعه نوع غذای خشک ارائه شده باعث کاهش نرخ هم جنس خواری در هر دو تیمار نسبت به مطالعه پیشین شده است، اما توانایی غذای خشک برای کاهش تفاوت اندازه بین لاروها در تیمار زود هنگام چندان مؤثر نبوده است، چون با وجود آن که نرخ هم جنس خواری را در آن تا حدی کاهش داده است، اما نتوانسته تفاوت معنی داری با تیمار شاهد

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از مؤسس و مدیر کارگاه تکثیر ماهیان دریایی بندر معلم، جناب آقایان مهندس ذبایح نجف‌آبادی و مهندس صداقت برای همکاری فراوان و فراهم کردن بستر این پژوهش همچنین، جناب آقای دکتر ایگدری برای استفاده از امکانات آزمایشگاه تکوین و بیوسیستماتیک تشکر و قدردانی می‌کنند.

بدون در نظر گرفتن الگوی آنزیمی در این گونه انجام شده است. چه بسا با آگاهی از سیر تکامل آنزیمی در این گونه امکان جایگزینی زودهنگام غذای زنده با غذای خشک در زمانی کمتر از هجده روز پس از تفریخ نیز فراهم آید.

References

- [1]. Alves Jr, T.T., Cerqueira, V.R., Brown, J.A., 2006. Early weaning of fat snook (*Centropomus parallelus* Poey 1864) larvae. *Aquaculture* 253, 334-342.
- [2]. Baskerville-Bridges, B., Kling, L.J., 2000. Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture* 189, 109-117.
- [3]. Bauchot, M.L., Smith, M.M., 1984. FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean (Fishing Area 51). In: Fischer, W., Bianchi, G. (Eds.), Rome, pp.
- [4]. Ben Khemis, I., Audet, C., Fournier, R., De La Noüe, J., 2003. Early weaning of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum) larvae on a commercial microencapsulated diet. *Aquaculture Research* 34, 445-452.
- [5]. Bonaldo, A., Parma, L., Badiani, A., Serratore, P., Gatta, P.P., 2011. Very early weaning of common sole (*Solea solea* L.) larvae by means of different feeding regimes and three commercial microdiets: Influence on performances, metamorphosis development and tank hygiene. *Aquaculture* 321, 237-244.
- [6]. Cahu, C., Zambonino Infante, J., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200, 161-180.
- [7]. Chang, Q., Liang, M., Wang, J., Chen, S., Zhang, X., Liu, X., 2006. Influence of larval co-feeding with live and inert diets on weaning the tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Aquaculture Nutrition* 12, 135-139.
- [8]. Chu, F.-L.E., Ozkizilcik, S., 1999. Acceptability of complex microencapsulated diets by striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. *Journal of experimental marine biology and ecology* 237, 1-9.
- [9]. Crespo, S., Marín de Mateo, M., Santamaría, C.A., Sala, R., Grau, A., Pastor, E., 2001. Histopathological observations during larval rearing of common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae). *Aquaculture* 192, 121-132.
- [10]. Curnow, J., King, J., Bosmans, J., Kolkovski, S., 2006. The effect of reduced *Artemia* and rotifer use facilitated by a new microdiet in the rearing of barramundi *Lates calcarifer* (BLOCH) larvae. *Aquaculture* 257, 204-213.
- [11]. Curnow, J., King, J., Partridge, G., Kolkovski, S., 2006. Effects of two commercial microdiets on growth and survival of barramundi (*Lates calcarifer* Bloch) larvae within various early weaning protocols. *Aquaculture Nutrition* 12, 247-255.
- [12]. Faulk, C.K., Holt, G.J., 2009. Early weaning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, larvae and ontogeny of selected digestive enzymes. *Aquaculture* 296, 213-218.
- [13]. Félix, M.G., Ryckeghem, V., 1999. Cofeeding of phospholipids to turbot *Scophthalmus maximus* L. larvae as a tool to reduce live food consumption. *Aquaculture Nutrition* 5, 237-245.
- [14]. Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A., 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. *Aquaculture* 287, 381-387.
- [15]. Guerreiro, I., de Vareilles, M., Pousão-Ferreira, P., Rodrigues, V., Dinis, M.T., Ribeiro, L., 2010. Effect of age-at-weaning on digestive capacity of white seabream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture* 300, 194-205.

- [16]. Hamlin, H., Kling, L., 2001. The culture and early weaning of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) using a microparticulate diet. *Aquaculture* 201, 61-72.
- [17]. Hussain, N., Akatsu, S., El-Zahr, C., 1981. Spawning, egg and early larval development, and growth of *Acanthopagrus cuvieri* (Sparidae). *Aquaculture* 22, 125-136.
- [18]. Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., Imorou Toko, I., 2007. Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. *Aquaculture* 264, 197-204.
- [19]. Kim, D.H., Han, H.J., Kim, S.M., Lee, D.C., Park, S.I., 2004. Bacterial enteritis and the development of the larval digestive tract in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). *Journal of fish diseases* 27, 497-505.
- [20]. Kolkovski, S., Tandler, A., Izquierdo, M., 1997. Effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 148, 313-322.
- [21]. Kowen, W., Kolkovski, S., Hadas, E., Gamsiz, K., Tandler, A., 2001. Advances and development of micro diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*: a review. *Aquaculture* 197, 107-121.
- [22]. Lazo, J.P., Dinis, M.T., Holt, G.J., Faulk, C., Arnold, C.R., 2000. Co-feeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 188, 339-351.
- [23]. Næss, T., Hamre, K., Holm, J., 2001. Successful early weaning of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in small shallow raceway systems. *Aquaculture Research* 32, 163-168.
- [24]. Nhu, V.C., Dierckens, K., Nguyen, H.T., Hoang, T.M.T., Le, T.L., Tran, M.T., Nys, C., Sorgeloos, P., 2010. Effect of early co-feeding and different weaning diets on the performance of cobia (*Rachycentron canadum*) larvae and juveniles. *Aquaculture* 305, 52-58.
- [25]. Nhu, V.C., Dierckens, K., Nguyen, T.H., Tran, M.T., Sorgeloos, P., 2009. Can umbrella-stage *Artemia franciscana* substitute enriched rotifers for Cobia (*Rachycentron canadum*) fish larvae? *Aquaculture* 289, 64-69.
- [26]. Puvanendran, V., Burt, A.L., Brown, J.A., 2006. Can Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae be weaned faster onto dry feed at higher temperatures? *Aquaculture* 255, 334-340.
- [27]. RAIS, Annual Aquaculture Statistics. <http://www.raisaquaculture.net/index.php?id=344&L=txewlpzrnil>. Accessed 25 Jul, 2014.
- [28]. Ribeiro, L., Couto, A., Olmedo, M., Álvarez-Blázquez, B., Linares, F., Valente, L.M., 2008. Digestive enzyme activity at different developmental stages of blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich 1768). *Aquaculture Research* 39, 339-346.
- [29]. Rønnestad, I., Thorsen, A., Finn, R.N., 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177, 201-216.
- [30]. Rosenlund, G., Stoss, J., Talbot, C., 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture* 155, 183-191.
- [31]. Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Meth* 9, 671-675.
- [32]. Suzer, C., Aktülün, S., Çoban, D., Okan Kamacı, H., Saka, Ş., Fırat, K., Albaz, A., 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 148, 470-477.

- [33]. Suzer, C., Firat, K., Saka, Ş., 2006. Ontogenic development of the digestive enzymes in common pandora, *Pagellus erythrinus*, L. larvae. *Aquaculture Research* 37, 1565-1571.
- [34]. Suzer, C., Kamaci, H.O., Çoban, D., Saka, Ş., Firat, K., Özkara, B., Özkara, A., 2007. Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus*, L.) during larval development under culture conditions. *Aquaculture Research* 38, 1778-1785.
- [35]. Teng, S.-K., El-Zahr, C., Al-Abdul-Elah, K., Almatar, S., 1999. Pilot-scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentex hasta* (Valenciennes), in Kuwait. *Aquaculture* 178, 27-41.
- [36]. Yúfera, Fernández, D., Pascual, Sarasquete, Moyano, Díaz, Alarcón, García, G., Parra, 2000. Towards an inert diet for first-feeding gilthead seabream *Sparus aurata* L. larvae. *Aquaculture Nutrition* 6, 143-152.
- [37]. Zambonino Infante, J., Cahu, C., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130, 477-487.
- [38]. Zouiten, D., Khemis, I.B., Besbes, R., Cahu, C., 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in "mesocosms". *Aquaculture* 279, 166-172.