تأثیر آرتمیای غنی شده با بتائین و غذای خشک بتائین دار بر رشد، بقا، مقاومت محیطی و ترکیب شیمیایی بدن لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)

مریم معزی [۱]، محمد اسدی [۲]، میر مسعود سجادی [۳]، ساجده مزارعی [۲]، ایمان سوری نژاد [۲] و هادی دهقانی [۳]

۱. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس
۲. گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس
۳. گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر بتائین بر شاخص های رشد، درصد بقا، مقاومت در برابر تنشهای محیطی شوری (۴۵ و ۱۰ قسمت در هزار)، دما (۴۲ درجه سانتی گراد)، فرمالین (۱۵۰ قسمت در میلیون) و ترکیب شیمیایی بدن لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) انجام شد. آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تیمار غذایی با ۳ تکرار در ۱۲ مخزن ۱۸ لیتری انجام گرفت. تیمارهای غذایی عبارت بودند از ناپلیوس تازه آرتمیا و غذای خشک (تیمار شاهد)، ناپلیوس آرتمیای غنی شده با بتائین و غذای خشک (تیمار۱)، ناپلیوس تازه آرتمیا و غذای خشک حاوی بتائین (به مقدار ۰/۸درصد جیره) (تیمار۲) و ناپلی آرتمیای غنی شده با بتائین و غذای خشک حاوی بتائین (به مقدار ۰/۸درصد جیره) (تیمار ۳). میگوها ۶ بار در روز، هر ۴ ساعت یکبار تغذیه می شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) رشد و درصد بقای لاروها بطور معنی داری نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود ($p <$ ۰/۰۵). در آزمایش های مقاومت به شرایط محیطی نیز تیمارهای حاوی بتائین درصد بقای بالاتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p <$ ۰/۰۵). تجزیه لاشه بدن میگوها اختلاف معنی داری را از نظر میزان پروتئین، چربی و خاکستر بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($p >$ ۰/۰۵). تحقیق حاضر نشان می دهد که غنی کردن ناپلیوس آرتمیا با بتائین و یا اضافه نمودن بتائین به جیره می تواند تاثیر مطلوبی بر شاخص های رشد، بازماندگی و مقاومت به شرایط محیطی در لاروهای میگوی سفید هندی داشته باشد.

واژگان کلیدی: بتائین، غنی سازی آرتمیا، رشد و بازماندگی، میگوی سفید هندی

۱. مقدمه

تکثیر و پرورش میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) به عنوان گونه غالب پرورشی در دهه اخیر در ایران بسیار مورد توجه بوده است (عابدیان و همکاران،۱۳۸۱). با توسعه طرحهای پرورش میگو نیاز به لاروهای با کیفیت مناسب و قوی روز به روز افزایش می یابد. از آنجا که پرورش میگو اغلب در مراحل لاروی دارای تلفات بوده و این مرحله بسیار حساس و مهم می باشد، بنابراین استفاده از غذای زنده و همچنین غنی سازی آنها با مواد غذایی غنی تر در تغذیه آغازین، می تواند به بهبود وضعیت تغذیه ای، ضریب رشد و کاهش میزان تلفات لاروها کمک شایانی نماید (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹، یحیوی و همکاران، ۱۳۸۵و1998 ,.Sorgeloos *et al*).

بتائین یک اسمولیت آلی می باشد که توسط سلول جذب شده و با تأثیر بر روی جذب، دفع و تعویض یونهای مایع داخل سلولی فشار اسمزی را تنظیم می کنند و هیچ اثر منفی بر سلول و فعالیتهای آن ندارد (Felix and Sudharsan, 2004). بتائین با تنظیم فشار اسمزی به حفظ آب درون سلول کمک می کند و بنابراین انرژی کمتری صرف تعادل اسمزی می شود (Eklund *et al*., 2005; Virtanen and Soivio, 1985). به عبارت دیگر وقتی بتائین در غذا وجود داشته باشد، از فعالیت پمپ سدیم- پتاسیم (Na^+/K^+-ATPase)که تعادل اسمزی را با صرف انرژی سلولها حفظ می نماید کاسته شده و این انرژی می تواند در جهت تولید در بدن مورد استفاده قرار گرفته و در نتیجه ساخت پروتئین و رشد را در سلول ها تحریک کند (Moeckel *et al*., 2002). به علاوه استفاده از مواد غذایی غنی تر و ترکیبات اسمولیتی نظیر بتائین در تحمل نوسانات شوری و حرارتی مؤثر می باشد (Polat and Beklevik, 1999; Lee and Meyers, 1997). از این رو با توجه به نوسانات شوری که یکی از مشکلات اساسی صنعت پرورش میگو در کشورمان محسوب می شود استفاده از بتائین در جیره غذای میگوها می تواند مفید واقع گردد.

بتائین بطور مستقیم نقش متیل دهندگی (وظیفه اصلی متابولیکی و فیزیولوژیکی) را در بدن ایفا می کند (Polat and Beklevik, 1999)، که با توجه به این خاصیت در ساخت موادی نظیر متیونین و اسیدآمینه گلیسین و کارنیتین که باعث پروتئین سازی، رشد و همچنین اکسیداسیون چربیها و عدم تجمع آنها در بدن می شوند نقش دارد و در نتیجه نسبت ماهیچه به چربی در بدن بالا می رود (Eklund *et al*., 2005 ; Kasper *et al*., 2002). همچنین بتائین به عنوان یک متیل دهنده می تواند بخشی از وظیفه متیونین را به عنوان متیل دهنده انجام دهد بنابراین متیونین بیشتری می تواند صرف پروتئین سازی و رشد شود (Eklund *et al*., 2005 and Kidd *et al*., 1997). همچنین بتائین در جذب ویتامین ها و بالا بردن مقاومت آبزیان تاثیر بسزایی دارد (افشار مازندران، ۱۳۸۱). به علاوه بتائین بعنوان یک جاذب غذایی (Food attractant) مطرح است که از این مواد به عنوان محرک حس چشایی و بویایی میگو و ماهی در غذای آنها استفاده می شود (Normandes *et al*., 2006).

مطالعات متعددی تأثیر مثبت مصرف بتائین بر رشد و بقا در میگوی سفید هندی (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Jasmine *et al*., Elamparithy, 1995 ;1993)، میگوی ببری سیاه (Dy Penaflorida & Virtanen, 1996) فیل ماهیان جوان (سوداگر، ۱۳۸۴) و ماهی قزل آلا (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰؛ Jones & Hara, 2001) را گزارش کرده اند. همچنین تأثیر بتائین در کاهش مرگ و میر در برابر استرس شوری و دما در میگوی سفید هندی (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹)، ماهی قزل آلا (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰؛ Virtanen *et al*., 1989 ; Polat & Beklevik, 1999) و ماهی آزاد (Virtanen & Soivio, 1985) به اثبات رسیده است.

همچنین افزایش جذب غذا با افزودن بتائین به عنوان جاذب در جیره غذایی میگوی سفید هندی (Jasmaine, 1992)، میگوی چینی (*Penaeus*

(*orientalis*) (Chen and Nansheng, 1996)، میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) (Harpaz, 1997)، قزل آلای رنگین کمان (Jones and Hara, 2001)، فلاندر (*Pleuronectes americanus*) (Melanie *et al*., 2000)، ماهی طلایی (*Carassius auratus*) (Xue and Cui, 2001) و مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) (Mackie and Mitchell, 1983) تایید شده است. به علاوه بتائین نقش مهمی در حفظ تعادل اسمزی هنگام مواجهه آبزی با تنش شوری (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Castro *et al*., 1998; Clarke *et al*., 1994; Eklund *et al*., 2005) و دما (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹ و Eklund *et al*., 2005) در آبزیان دارد. مطالعات متعددی نیز تاثیر مثبت بتائین را در کاهش مرگ و میر در استرس شوری را در ماهی قزل آلای رنگین کمان (Polat and Beklavik, 1999 and Virtanen *et al*., 1994) و ماهی آزاد (Virtanen *et al*., 1994; Virtanen *et al*., 1989 and Castro *et al*., 1998)گزارش نموده اند.

یکی از روشهای معمول برای ارزیابی کیفیت پست لاروهای میگو استفاده از آزمایش تنش های محیطی می باشد که پست لاروهایی که دارای بقا بالاتری در این تحقیقات باشند از نظر کیفیت و سلامت وضعیت بهتری را دارا هستند (Rees *et al*., 1994; Samocha *et al*., 1998). Dehert و همکاران (۱۹۹۲) استفاده از تست های استرس را به عنوان یک ابزار در ارزیابی کیفیت لارو ماهیان و سخت پوستان پیشنهاد نموده اند. همچنین عده ای از پژوهشگران گزارش کرده اند که پست لاروهایی که در شرایط تستهای استرس بقا بالاتری از خود نشان می دهند دارای کیفیت بهتری می باشند (Samocha *et al*., 1998).آزمایشهای تنش های محیطی نظیر قرار گرفتن در معرض فرمالین، ترکیبی از دما و شوری های پایین و بالا و اکسیژن محلول کم جهت سنجش کیفیت پست لارو بکار گرفته می شوند (Iberra *et al*.,1998; Samocha *et al*.,1998).

با توجه به مطالب گفته شده در این پژوهش تأثیر آرتمیای غنی شده با بتائین بر رشد، بقا، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت در برابر تنشهای محیطی در لاروهای میگوی سفید هندی در مرکز توسعه آبزیان بندر کلاهی (شهرستان میناب) مورد بررسی قرار گرفت که تاکنون اطلاعات مستندی در مورد بکارگیری این روش و تاثیر آن در میگوی سفید هندی در دست نیست.

۲. مواد و روش ها

جهت تأمین ناپلی آرتمیا (*Artemia franciscana*) مورد نیاز برای غذادهی، از سیست شرکت INVE تایلند با تخم گشایی ۷۰ درصد استفاده گردید. سیستها پس از ضد عفونی در ۳ ظرف ۲ لیتری که با آب دریای فیلتر شده (شوری ۳۰ قسمت در هزار) آبگیری شده بود، قرار گرفتند و در شرایط مناسب (روشنایی ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۱±۲۹ درجه سانتی گراد) طبق روشهای استاندارد پوسته زدایی و تخم گشایی شدند (حافظیه،۱۳۸۲؛ Sorgeloos *et al*., 1998). ناپلیوس های تخم گشایی شده از مرحله اینستار II جهت غنی سازی به ظروف ۲ لیتری (تراکم ۲۰۰ عدد ناپلی در میلی لیتر) انتقال داده شدند و با اقتباس از روش Merchie *et al* (1997) به صورت ذیل غنی سازی گردیدند (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹).

برای تهیه امولسیون غنی ساز میزان ۰/۳ گرم بتائین شرکت دانیسکو آلمان در هاون چینی کاملاً پودر گردید و سپس با ۱۰۰ میلی لیتر آب دریای فیلتر شده ولرم مخلوط و توسط همزن مغناطیسی به مدت ۲ دقیقه کاملاً مخلوط شد تا بصورت امولسیون قابل مصرف آماده شود. سپس امولسیون به ظروف ۲ لیتری غنی سازی منتقل گردید و حجم آن با آب دریای فیلتر شده به ۱ لیتر رسانده شد. برای هر وعده غذا دهی ناپلیوس ها بعد از ۶ ساعت غنی سازی بوسیله الک ۱۵۰ میکرون برداشت شده و پس از

شستشو با آب شیرین برای تغذیه لاروها استفاده شدند (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹).

ابتدا بتائین با هاون چینی کاملا پودر شده و به مقدار ۰/۸ درصد جیره غذای خشک (جدول۱) بتائین به آن افزوده (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Jasmaine,1992) و با مخلوط کن برقی کاملا مخلوط گردید.

جدول۱. آنالیز تقریبی غذای کنسانتره مورد استفاده در تیمارها (محصول شرکت INVE تایلند) به درصد

نوع / ترکیبات	غذای ZM	غذای MPL	غذای PL
پروتئین (حداقل)	۴۸	۴۸	۴۹
چربی خام (حداقل)	۱۳	۹	۸
فیبر خام (حداکثر)	۲/۵	۲/۵	۲/۵
کربوهیدرات (حداکثر)	۸	۹	۹

(ZM = مرحله زوا - مایسیس، MPL = مرحله مایسیس - پست لارو، PL = مرحله پست لارو)

ناپلیوس های تازه تخم گشایی شده میگوی سفید هندی از شش مولد مختلف، از کارگاه میگو پروران بندر کوهستک تأمین و به مرکز بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی (میناب) منتقل گردید. ناپلیوس ها تا رسیدن به مرحله زوا III در مخازن ۳۰۰ لیتری نگه داری شده و سپس از مرحله مایسیس I در مخازن پلاستیکی سفید رنگ ۲۰ لیتری که از قبل آب فیلتر شده دریا با شوری ۳۰ تا ۳۲ قسمت در هزار همراه با هوادهی در آن برقرار بود و به میزان ۸ لیتر آبگیری شده بود به نسبت ۵۰ لارو در هر لیتر ذخیره سازی شدند. از این مرحله (مایسیسI) لاروها با توجه به تیمارهای طراحی شده از ناپلیوس آرتمیا (۲ تا ۳۸ عدد در میلی لیتر) و غذای خشک (۱ تا ۴ میلی گرم در لیتر) بر اساس مراحل لاروی هر ۴ ساعت یکبار (۳ نوبت غذای زنده و ۳ نوبت غذای خشک بصورت یکی در میان) تا مرحله PL14 تغذیه گردیدند (Stottrup and Mc Evoy, 2003). این مخازن در ۴ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار در قالب یک طرح کاملا تصادفی به شرح ذیل آماده شده و با تیمارهای غذایی زیر پرورش داده شدند:

تیمار شاهد: لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس تازه آرتمیا و غذای خشک معمولی

تیمار۱: لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با بتائین و غذای خشک معمولی

تیمار۲: لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس تازه آرتمیا و غذای خشک حاوی بتائین (۰/۸درصد)

تیمار ۳: لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با بتائین و غذای خشک حاوی بتائین (۰/۸درصد)

اکسیژن محلول، pH، شوری و دمای آب روزانه دو بار صبح و عصر مورد بررسی قرار گرفت. اکسیژن محلول، دما و pH با استفاده از دستگاه های اکسیژن متر و pH متر دیجیتال WTW و شوری با استفاده از شوری سنج چشمی ATAGO اندازه گیری شدند.

در پایان آزمایش تعدادی لارو از هر تکرار بطور تصادفی برداشت شده و وزن تر و طول کل آنها تعیین و ثبت گردید. برای برآورد طول کل تعداد ۲۰ عدد لارو برداشت شده و طول کل آنها با کولیس (با دقت ۰/۰۵ میلی متر) اندازه گیری شد. جهت بر آورد وزن تر تعداد ۹۰ عدد لارو برداشت شده و پس از خشک شدن روی کاغذ خشک کن وزن تر آنها با ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) اندازه گیری شد.

جدول ۲- میزان غذادهی در مراحل مختلف لاروی (براساس حجم آب) (Stottrup & Mc Evoy, 2003).

مرحله لاروی / غذا	M_1	M_2	M_3	PL M_3-۱	PL_1	PL_2	PL_3	PL_4	PL_5	PL_6	PL_7	PL_8	PL_9	PL_{10}	PL_{11}	PL_{12}	PL_{13}	PL_{14}
ناپلیوس آرتمیا (عدد در میلی لیتر)	۲	۳	۴	۵	۶	۱۰	۱۴	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۲۶	۲۸	۳۰	۳۲	۳۴	۳۶	۳۸
غذای کنسانتره (میلی گرم در لیتر)	۱	۱	۱	۱	۱	۱/۵	۱/۵	۲	۲	۲/۵	۲/۵	۳	۳	۳/۵	۳/۵	۴	۴	۴

(M = مرحله زوا ، M-PL = مرحله مایسیس - پست لارو، PL = مرحله پست لارو)

در پایان آزمایش از طریق رابطه SR= (S-D)/S × 100 درصد بازماندگی تعیین گردید (Felix & Sudharsan, 2004):

در این رابطه SR (Survival Rate) = درصد بازماندگی؛ S = تعداد نمونه های مورد آزمایش؛ D= تعداد تلفات می باشد.

پس از پایان دوره پرورش، برای سنجش میزان مقاومت لاروها در برابر شرایط محیطی و در نهایت برآورد کیفیت لاروهای تولید شده، از هر تکرار ۵۰ عدد لارو برای آزمایش بصورت تصادفی انتخاب شدند. بدین منظور در ۲ تشت ۲۰ لیتری حدود ۱۰ لیتر آب محیط پرورش ریخته شد و یک سنگ هوا برای هوادهی درون هر تشت قرار داده شد و ۹ الک کوچک درون تشت ها گذاشته شد بطوریکه سطح آب مقداری پایین تر از لبه بالایی الک ها بود. از شوری ۱۰ و۵۰ قسمت در هزار (به مدت یک ساعت) به عنوان تست شوری پایین و بالا، از فرمالین۱۰۰ قسمت در میلیون (به مدت یک و نیم ساعت) به عنوان تست استرس فرمالین (اسدی و همکاران، ۱۳۸۵؛ Kontara *et al.*, 1997; Palacios *et al.*, 2004)، و از دمای ۴۲ درجه سانتی گراد (به مدت نیم ساعت) برای تست دما (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹) استفاده گردید. لاروها پس از برقراری شرایط مورد نظر به داخل الک های کوچک داخل تشت ها منتقل و میزان بازماندگی آنها پس از پایان زمان مربوط به هر آزمایش ثبت گردید.میزان پروتئین، چربی و خاکستر لاشه میگوها از طریق روش استاندارد AOAC (1985) اندازه گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای توکی (Tukey) در سطح ۹۵ درصد استفاده شد. محاسبه آماری و ترسیم نمودارها با استفاده از بسته نرم افزاری Excel انجام شد.

۳. نتایج

تأثیر بتائین بر شاخص های رشد (طول کل و وزن تر) و درصد بقا همانطور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است، مثبت بوده و باعث بهبود شاخص های رشد گردیده است. نتایج این آزمایش نشان داد که میانگین طول کل در تمامی تیمارها با یکدیگر دارای اختلاف معنی دار بودند ($p<۰/۰۵$)، بطوریکه تیمار ۱ بیشترین میانگین طول کل (۲۱/۹۵ میلی متر) و پس از آن تیمار ۳ (۲۰/۱۴ میلی متر) و در مرتبه سوم تیمار ۲ (۱۹/۰۶ میلی متر) قرار داشت

و کمترین میانگین طول کل به تیمار شاهد (۱۶/۴۳ میلی متر) تعلق داشت. نتایج وزن تر نشان داد که تیمار ۱ با بیشترین میانگین وزن تر (۳۳/۵۸ میلی گرم) و بعد از آن تیمار ۳ (۳۱/۹۷ میلی گرم) دارای اختلاف معنی داری نسبت به تیمار ۲ (۲۶/۷۱ میلی گرم) و شاهد (۲۴/۱۳ میلی گرم) بودند ($p<۰/۰۵$). با اینکه تیمار ۱ میانگین وزن تر بیشتری را نسبت به تیمار ۳ نشان داد اما اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده نگردید. تیمار ۲ نیز نسبت به تیمار شاهد همین حالت را داشت ($p>۰/۰۵$). همچنین نتایج مربوط به میزان درصد بقاء نشان داد تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۷۱/۰۸، ۶۹/۹۵ و ۶۹/۹۳) درصد بقاء بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند و اختلاف معنی داری را با آن نشان دادند ($p<۰/۰۵$).

جدول۳. میانگین شاخص های رشد و بقاءلاروهای میگوی سفید هندی در پایان دوره آزمایش (تعداد تکرار در هر گروه n=۳)

تیمار / معیار	شاهد	تیمار۱	تیمار۲	تیمار ۳
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین
طول کل (میلی متر)	۱۶/۴۳ ± ۰/۹۹^{d}	۲۱/۹۵ ± ۰/۸۸^{a}	۱۹/۰۶ ± ۰/۵۸^{c}	۲۰/۱۴ ± ۰/۷۲^{b}
وزن تر (میلی گرم)	۲۴/۱۳ ± ۰/۵۲^{b}	۳۳/۵۸ ± ۲/۴۶^{a}	۲۶/۷۱ ± ۰/۵۶^{b}	۳۱/۹۷ ± ۰/۵۹^{a}
نرخ بقاء (درصد)	۶۳/۰۰ ± ۲/۷۸^{b}	۷۱/۰۸ ± ۱/۶۶^{a}	۶۹/۹۵ ± ۰/۹۰^{a}	۶۹/۹۳ ± ۱/۰۲^{a}

اعداد در هر سطر با نمایه متفاوت، دارای اختلاف معنی دار می باشند ($p<۰/۰۵$).

داده های مربوط به درصد بقای لاروها در آزمایشات مقاومت به شوری ۱۰ و ۴۵ قسمت در هزار (در مدت یک و نیم ساعت)، دمای ۴۲ درجه سانتی گراد (در مدت نیم ساعت) و فرمالین ۱۵۰ قسمت در میلیون (در مدت یک ساعت) در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج آزمایش مقاومت شوری ۱۰ قسمت در هزار نشان داد که بیشترین درصد بقا، مربوط به تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و۳ به ترتیب ۹۶/۱۸، ۹۳/۰۸ و ۹۴/۸۵ درصد) بوده است بصورتی که با تیمار شاهد (۷۲/۴۰ درصد) تفاوت معنی داری داشتند ($p<۰/۰۵$). اما اختلاف بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با یکدیگر معنی دار نبود ($p>۰/۰۵$). میانگین درصد بقا در آزمایش مقاومت شوری ۴۵ قسمت در هزار، بین تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۰۰/۰۰، ۹۹/۴۱ و ۱۰۰/۰۰ درصد) با تیمار شاهد تفاوت معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). ولی بین تیمارهای بتائین دار با یکدیگر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در آزمایش مقاومت دما نیز تیمارهای بتائین دار (تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب به تر تیب ۱۰۰/۰۰، ۹۷/۴۱ و ۹۹/۳۹ درصد) بقا بیشتری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند بطوریکه تفاوت بین آنها معنی دار بود ($p<۰/۰۵$) اما اختلاف درصد بقا بین تیمارهای بتائین دار معنی دار نبود ($p>۰/۰۵$). در آزمایش مقاومت فرمالین بیشترین میزان میانگین درصد بقا مربوط به تیمار ۱ (۹۷/۲۶ درصد) بود که با تیمار ۲ (۹۲/۵۴ درصد) و شاهد (۸۹/۲۱ درصد) اختلاف معنی داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$)، اما بین تیمار ۲ و تیمار شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید و همچنین تیمارها ی ۱ و ۳ با یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند ($p>۰/۰۵$).

نتایج مربوط به پروتئین، چربی و خاکستر لاشه لاروهای میگوها در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. در هیچکدام از ترکیبات بدن لاروهای میگوی سفید هندی اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).

جدول۴. میانگین درصد بقا لاروهای میگوی سفید هندی در آزمایش مقاومت شوری (یک و نیم ساعت)، دما (نیم ساعت) و فرمالین (یک ساعت) (تعداد تکرار در هر گروه n=۳)

تیمار / آزمایش	شاهد	تیمار۱	تیمار۲	تیمار ۳
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین
شوری ۱۰ قسمت در هزار	۷۲/۴۰ ± ۸ /۷۲[b]	۹۶/۱۸ ± ۳/۱۹[a]	۹۳/۰۸ ± ۰/۴۳[a]	۹۴/۸۵ ± ۳/۲۶[a]
شوری ۴۵ قسمت در هزار	۹۳/۸۷ ± ۰/۴۸[b]	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰[a]	۹۹/۴۱ ± ۱/۰۱[a]	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰[a]
دمای ۴۲ درجه سانتی گراد	۸۴/۹۳ ± ۲/۷۵[b]	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰[a]	۹۷/۴۱ ± ۰/۷۱[a]	۹۹/۳۹ ± ۱/۰۸[a]
فرمالین ۱۵۰ قسمت در میلیون	۸۹/۲۱ ± ۱/۳۰[c]	۹۷/۲۶ ± ۱/۱۸[a]	۹۲/۵۴ ± ۱/۰۶[bc]	۹۴/۰۹ ± ۱/۳۸[ab]

اعداد در هر سطر با نمایه متفاوت، دارای اختلاف معنی دار می باشند (p<۰/۰۵).

جدول ۵: مقایسه میانگین ترکیبات بدن لاروهای میگوی سفید هندی (درصد ماده خشک) (تعداد تکرار در هر گروه n=۳)

تیمار / استرس	شاهد	تیمار۱	تیمار۲	تیمار ۳
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین
پروتئین (٪)	۷۱/۲۲ ± ۰ /۲۷[a]	۷۳/۵۸ ± ۰/۳۸[a]	۷۲/۹۶ ± ۰/۲۱[a]	۷۳/۰۹ ± ۰/۱۹[a]
چربی (٪)	۱۳/۴۰ ± ۰/۱۲[a]	۱۲/۰۰ ± ۰/۱۹[a]	۱۲/۱۲ ± ۰/۱۴[a]	۱۱/۹۲ ± ۰/۱۷[a]
خاکستر (٪)	۱۰/۴۳ ± ۰/۲۱[a]	۹/۹۵ ± ۰/۳۱[a]	۱۰/۲۱ ± ۰/۱۸[a]	۱۰/۳۹ ± ۰/۱۱[a]

اعداد در هر سطر با نمایه متفاوت، دارای اختلاف معنی دار می باشند (p<۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر از ناپلیوس آرتمیا بعنوان یک حامل برای انتقال بتائین به لاروهای میگوی سفید هندی استفاده شد. نتایج به دست آمده حاکی از بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشد (طول کل، وزن تر) در تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱،۲ و ۳) نسبت به تیمار شاهد می باشد. افزایش رشد در نتیجه افزودن بتائین به جیره میگوی سفید هندی (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹) و ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰) نیز مشاهده شده است. با توجه به اینکه بتائین بعنوان جاذب، باعث تحریک حس چشایی آبزیان و افزایش مصرف غذا می‌شود (Normandes *et al*., 2006)، ممکن است این افزایش رشد به این خاصیت بتائین مربوط باشد. همانطور که Jasmaine در سال ۱۹۹۲ با اضافه کردن بتائین به مقدار ۰/۴، ۰/۸ و۱/۲ درصد جیره میگوی سفید هندی به این نتیجه رسید که بهترین دوز ۰/۸ درصد می باشد و بتائین باعث افزایش رشد و تسریع در آهنگ پوست‌اندازی می‌شود. نتایج مشابهی در استفاده از بتائین بر روی میگوی سفید هندی (Jasmine *et al*., 1993; Elamparithy, 1995) و میگوی ببری سیاه (Dy Penaflorida and Virtanen, 1996) گزارش گردیده است که بیان می نمایند وجود بتائین در جیره غذایی، گرفتن غذا از محیط را افزایش داده و باعث افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در آبزیان می گردد.

خاصیت دیگر بتائین که این افزایش در شاخص‌های رشد را می‌توان به آن نسبت داد، نقش متیل دهندگی بتائین در بدن است. گروه های متیل در ساخت موادی نظیر متیونین و اسید آمینه گلیسین

که باعث پروتئین‌سازی و رشد عضلات می‌شوند نقش مهمی دارند و همچنین در ساخت کارنیتین که سبب اکسیداسیون چربی‌ها و عدم تجمع آنها می‌گردد در نتیجه میزان عضلات و ماهیچه‌های بدن افزایش می‌یابد (Eklund *et al*, 2005; Kasper *et al*., 2002; Polat & Beklevik, 1999). همانطور که نیرومند و همکاران (۱۳۹۰)، صادقی (۱۳۸۳) و Virtanen و Soivio در سال ۱۹۸۵، بتائین را در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان استفاده کرده و نتیجه گرفتند که بتائین اثر مثبتی بر شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه (افزایش پروتئین و کاهش چربی) دارد.

داده‌های بدست آمده در مورد درصد بقا لاروها در پایان دوره آزمایش، افزایش معنی‌داری را در تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) نسبت به تیمار شاهد نشان داد. اثر بتائین به عنوان افزایش دهنده درصد بقا در میگوی سفید هندی از طریق روتیفر غنی شده و غذای کنسانتره (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹) و قزل‌آلای رنگین‌کمان در سطوح مختلف ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد جیره غذایی (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰) گزارش شده است. نظیر همین نتایج، در مطالعه ای بر روی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) اضافه نمودن مواد جاذب (بتائین، متیونین و مخلوط بتائین + متیونین به نسبت مساوی) در سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به جیره غذایی، افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش درصد بقا را باعث شده است (سوداگر، ۱۳۸۴).

افزودن بتائین به جیره علیرغم افزایش اندک در میزان پروتئین در تیمارهای حاوی بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳)، تفاوت معنی‌داری بر روی تجزیه تقریبی ترکیب لاشه لاروهای میگوی سفید هندی نداشت. نیرومند و همکاران در سال ۱۳۹۰ بتائین را در سه سطح مختلف ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد به جیره بچه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان افزودند و اعلام کردند که سطوح ۰/۸ و ۱/۲ بر روی محتوی پروتئین، چربی، خاکستر و ماده خشک بدن اثر معنی‌داری ندارد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. اما اعلام کردند که جیره با سطح بتائین ۰/۴ باعث افزایش پروتئین لاشه بصورت معنی‌داری نسبت به جیره فاقد بتائین می‌گردد.

آزمایشات مقاومت محیطی معمولاً جهت ارزیابی کیفیت لاروهای میگو بکار می‌رود و معیاری برای سنجش کیفیت و سلامت لاروها می‌باشد بطوری‌که پست لاروهایی که درصد بقاء بالاتری نسبت به این تنش‌ها دارند دارای سلامت و کیفیت بهتر هستند و لاروهای قوی‌تری نیز می‌باشند (Rees *et al*., 1994; Samocha *et al*., 1998). تأثیر بتائین در رابطه با مقاومت نسبت به تنشهای محیطی تأیید شده و بعنوان یک اسمولیت آلی در حفظ تعادل یونی و اسمزی نقش بسیار مهمی را ایفا می کند (Eklund *et al*., 2005; Virtanen & Soivio, 1985).

نتایج کسب شده در آزمایشات مقاومت شوری پایین و بالا (۱۰ و ۴۵ قسمت در هزار) و دما (۴۲ درجه سانتی‌گراد) حاکی از این است که گروه های تغذیه شده با بتائین (تیمارهای ۱، ۲ و ۳)، برتری معنی‌داری در بازماندگی نسبت به تیمار شاهد داشتند. نتایج در آزمایشات مقاومت فرمالین (۱۵۰ قسمت در میلیون)، نشان داد که درصد بقا در تیمارهای ۱ و ۳، افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت لیکن در تیمار ۲ با وجود افزایش بازماندگی نسبت به تیمار شاهد، اختلاف معنی‌دار نبود. نتایج مشابهی در لارو میگوی سفید هندی (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹) و بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (نیرومند و همکاران، ۱۳۹۰) گزارش شده است. از آنجا که بتائین یک اسمولیت آلی است، افزایش بازماندگی در لاروهای تغذیه شده با بتائین منطقی به نظر می رسد (Eklund *et al*., 2005). به علاوه در تحقیقات دیگر گزارش شده است که بتائین قابلیت زیادی در تنظیم تعادل اسمزی هنگام افزایش دما و شوری در ماهی دارد (Eklund *et al*., 2005). بتائین در آبزیان علاوه بر اینکه باعث ترغیب در خوردن غذا می شود، در سلول های ماهیچه ذخیره

شده و در برابر تغییرات شوری مفید واقع می شود (Clarke et. al.,1994) در همین راستا Polat و Beklavik در سال ۱۹۹۹ بیان نمودند تغذیه لارو قزل آلای رنگین کمان با مکمل غذایی بتائین به مدت چند هفته قبل از انتقال به آب دریا باعث افزایش بازماندگی و رشد این ماهیان در فاز آب شور می شود.

با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش می توان نتیجه گرفت که مصرف بتائین در جیره غذایی لاروهای میگوی سفید هندی از طریق آرتمیای غنی شده و یا اضافه نمودن به جیره خشک در رشد، بازماندگی و مقاومت لاروها مؤثر بوده و به نظر می آید مصرف این ماده برای تولید لاروهای مقاوم و با کیفیت بالا با توجه به شرایط نامناسب محیطی حاکم بر اغلب مناطق مستعد پرورش میگو در کشور مناسب باشد.

تشکر و قدر دانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از زحمات بی شائبه جناب آقای مهندس سعید مسندانی معاونت وقت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات هرمزگان، مهندس قاسمی و مهندس خلیل حیدری کارشناسان شیلات بندر کلاهی کمال تشکر و سپاسگزاری را داشته باشند.

منابع

اسدی، م.، آذری تاکامی، ق.، سجادی، م.، معزی، م. و نیرومند، م. ۱۳۸۹. اثر روتیفر غنی شده با بتائین و غذای کنسانتره حاوی بتائین بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس در لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، صفحات ۱۰-۱.

افشار مازندران، ن. ۱۳۸۱. راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران، انتشارات نوربخش، تهران، ۲۱۶ ص.

حافظیه، م . ۱۳۸۲. آرتمیا، میگوی آب شور، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی و روابط بین الملل، تهران، ص:۶۴-۴.

عابدیان، ع.، آذری تاکامی، ق.، نیکخواه، ع.، بن سعد، ع. و غفله مرمضی، ج. ۱۳۸۱. بررسی اثرات سطوح مختلف پروتئین و شوری بر رشد و بازماندگی بچه میگوی سفید هندی، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۶ و ۵۷، صفحات ۷۱-۶۴.

یحیوی، م. آذری تاکامی، ق. و وثوقی، غ. ۱۳۸۵. بررسی مقاومت به استرسهای شوری و فرمالین در پست لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با اسید چرب غیر اشباع(DHA, EPA) و ویتامین C، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره چهارم (ب)، صفحات ۵۳۰-۵۱۹.

نیرومند، م.، سجادی، م.، یحیوی، م. و اسدی، م. ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف بتائین جیره بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه های ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تحت تنشهای محیطی، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱، صفحات ۱۴۶-۱۳۵.

سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، آلکسویچ پانوماریف، س.، محمودزاده، ه.، عابدیان کناری، ع. و حسینی، س.ع. ۱۳۸۴. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان (*Huso huso* Linnaeus,1758). مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲: ۵۰-۴۱.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1985. Official Methods of Analysis AOAC. Washington, DC. 1263 p.

Bengtson, D.A., Leger, P.H. and Sorgeloos, P. 1991. Use of artemia as a food source for aquaculture. In: Artemia Biology. (Eds). Browne, R.A., Sorgeloos, P. and Trotman ,C.N.A. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, USA. 250-280pp.

Castro, H., Battaglia, J. and Virtanen, E. 1998. Effects of finnstim on growth and sea water adaptation of coho salmon. Aquaculture. 168: 423-429.

Chen, U., Nansheng, Y. 1996. Chemoreception in the ingestion behavior of

cues: results from a new bioassay. Journal of Fish Biology. 27(4): 495-504.

Kasper, C.S., White, M.R. and Brown, P. B. 2002. Betaine can replace choline in diets for juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 205: 119-126.

Kidd, M.T., Ferket, P.R. and Garlich, D.J. 1997. Nutritional and osmorgulatory of betaine. Department of Poultry Science, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina 27695- 7608-USA.

Kontara, E., Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1997. Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *Penaeus monodon* postlarvae. *In:* Lavens, P., Iaspers, E., Roeland, I. (Eds), Larvi 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium. European Aquaculture Society, Ghent, 204-208.

Melanie, F., John, B. and John, C. 2000. Feeding stimulant for juvenile winter flounders. North American Journal of Aquaculture. 62: 157-160.

Merchie, G., Lavens, P., Verrethy, J., Ollevier, F., Nelis, H., Deleenheer, A., Storch, V. and Sorgeloos, P. 1997. The effects of supplemental ascorbic acid in enriched live food for *Clarias gariepinus* larvae at start feeding. Aquaculture. 151: 245-258.

Mackie, A.M. and Mitchell, A.I., 1983. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for the juvenile European eel, Anguilla anguilla (L.). J. Fish. Biol. 22: 425-430.

Moeckel, G.W., Shadman, R., Fogel, J.M. and Sadrzadeh, S.M.H. 2002. Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocyte membrane ATPases. Life Sciences. 71: 2413-2433.

Normandes, E. B., Barreto, R.E., Carvalho, R.F. and Delicio, H.C. 2006. Effects of betaine on the growth of the fish piaucu, *Leporinus macrocephalus*. Brazilian Archives of Biology Technology. 49: 757-762.

Lee, P.G. and Meyers, S.P. 1997. Chemoattraction and feeding stimulation. In: Crustacean Nutrition (D Abramo, L.R., Conklin, D. E. & Akiyama, D. M. Eds.), PP. 292-352. World Aquaculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA.

Palacios, E.A., Bonilla, A., Perez, I.S., Racotta, R. and Civera, R. 2004. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannami*) juvenile of Penaeus orientalis. Biochem. Physiol., 88c (2): 257-262.

Clarke, W.C., Virtanen, E., Blackburn, J. and Higgs, D.A. 1994. **E**ffects of a dietary betaine/ amino-acid additive on growth and seawater adaptation in yearling Chinook salmon. Aquaculture. 121: 137-145.

Dy Penaflorida, V. and Virtanen, E. 1996. Growth, survival and feed conversion of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) fed a betaine amino acid additive. Isr. J. Aquacultur. Bamidgeh. 48: 3-9.

Dehert, P., Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1992. Stress evaluation a tool for quality control of hatchery produced shrimp and fish fry. Aquaculture. Europ. 17: 6-10.

Eklund, M., Bauer, E., Wanatu, J. and Mosenthin, R. 2005. Potential of nutritional and physiological functions of betaine in livestock. Nutr. Res. Rev. 18: 31-48.

Elamparithy, R. 1995. Influence of selected additives on pellet quality and biogrowth parameters of penaeid shrimp juveniles. MSc Thesis, Tanuvas. 75P.

Felix, N. and Sudharsan, M. 2004. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Nutrition. 10: 193-197.

Harpaz, S. 1997. Enhancement of growth in juvenile freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii through the use of a chemoattractant. Aquaculture. 156: 221-231.

Iberra, A.M., Palacios, E., Perez- Rostro, C.I., Ramirez, J.L., Hernandez- Herrera, R. and Racotta, I.S. 1998. Effect of family variance for resistance to low oxygen and low salinity of pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, postlarvae. World Aquaculture Society, Las VEGAS, USA.

Jasmaine, G.I. 1992. Effect of feed stimulants on the biochemical composition and growth of Indian white prawn *Penaeus indicu*s. Aquaculture. 132: 225-230.

Jasmine, G.I., Pillai, S.P. and Athithan, S. 1993. Effect of feeding stimulants on the biochemical composition and growth of Indian white prawn *Penaeus indicus*. *In*: From Discovery to Comercialization, (eds. M. Carrillo, L. Dahle, J.Morales, P. Sorgeloos, N. Svennevig & J. Wyban), Vol. 19, 139P. Oostende Beligium European Aquaculture Society, Torremolinos, Spain

Jones, K.A. and Hara, T.J. 2001. Behavioral responses of fishes to chemical

Virtanen, E., Hole, R., Resink, J.W., Slinning, K.E. and Junnia, M. 1994. Betaine / amino acid additive enhances the seawater performance of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fed standard fish- meal – based diets. Aquaculture. 124: 220.

Virtanen, E., Junial, M. and Soivio, A. 1989. Effect of food containing betaine amino acid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 83: 109-122.

Virtanen, E. and Soivio, A. 1985. The patterns of T3, T4 cortisol and Na- K-ATP ase during smoltification of hatchery-reared *Salmo salar* and comparison with wild smolts. Aquaculture. 45: 97-109.

Wahli, T., Verlhac, V., Gabaudan, J., Schuep, W. and Meier, W. 1998. Influence of combined vitamin C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbaum). J. Fish Dis. 21: 127-137.

Xue, M. and Cui, Y. 2001. Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (Carassius auratus gibelio), fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal. Aqauculture. 198: 281-292.

postlarvae to low salinity. Journal of Experimental Marine Biology. And Ecol. 299: 201-215.

Polat, A. and Beklavik, G. 1999. The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives. In: Feed Manufacturing in the Mediterranean Region: Recent Advances in Research and Technology Zaragoza (Brufu, J. & Tacon, A. eds), CIHEAM, IAMZ, Spain. 217-220PP.

Rees, J.F., Cure, K., Piyativatitivorakul, S., Sorgeloos, P. and Menasveta, P. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on Artemia enrichment. Aquaculture. 122: 193-207.

Samocha, T.M., Guajardo, H., Lawrence, A.L., Castille, F.L., Speed, M., Mckee, D.A. and Page, K.I. 1998. A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae. Aquaculture. 165: 233-242.

Sorgeloos, P., Coulteau, P., Dhert, P., Merchie, G. and Larens, P. 1998. Use of brine shrimp, *Artemia* spp., in larval crustacean nutrition: A Review. Rev. Fish. Sci. 6: 55-68.

Stottrup, J.G. and Mc Evoy, L.A. 2003. Live Feeds in Marine Aquaculture, Black Well Science Ltd, 318P.