

اثر کرم خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

امید یزدی^۱، اسماعیل پیرعلی خیرآبادی*^۱، روح‌اله رحیمی^۱، مهرداد فتح‌الهی^۱، سیده عاطفه میراحمدی^۱
^۱- گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۸

چکیده

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

کلمات کلیدی: کرم خاکی (*Eisenia fetida*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تغییرات رشد، فاکتورهای خونی.

مقدمه

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

امروزه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به عنوان مهم‌ترین ماهی پرورشی در ایران محسوب می‌گردد (خارا و همکاران، ۱۳۹۲). تغذیه یکی از مهم‌ترین جوانب پرورش ماهی قزل‌آلا بوده و قادر خواهد بود تا وضعیت سلامتی و عملکرد رشد در ماهیان پرورشی را تحت تاثیر قرار دهد (ایمان‌پور و همکاران، ۱۳۹۸). قزل‌آلای رنگین کمان از نظر تغذیه‌ای گونه‌ای گوشت-خوار محسوب می‌شود که از نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ماهیان ریز و بسیاری دیگر از انواع آبزیان کفزی و شناور تغذیه می‌نمایند. در شرایط پرورشی بایستی غذای قزل-آلا شامل کلیه اجزا غذایی لازم و مورد نیاز باشد تا بتوان رشد خوب و مرگ و میر پایین از آن انتظار داشت. غذای کامل قزل‌آلا در سیستم پرورشی مخلوطی است از پودر ماهی، آردهای گیاهی که با مواد معدنی و ویتامین‌های خالص مخلوط می‌شود (صالحی، ۱۳۹۰). ترکیبات هر ماده غذایی بویژه میزان پروتئین، عامل مهمی در انتخاب آن به عنوان غذا در صنعت کشت و پرورش آبزیان می‌باشد. منابع پروتئینی

در جیره علاوه بر اینکه بخش مهمی از جیره آبزیان را به خود اختصاص می‌دهند، گران‌ترین بخش جیره نیز محسوب می‌گردند. استفاده از غذاهای زنده به لحاظ حفظ ارزش غذایی تا زمان مصرف، دارا بودن آنزیم‌های گوارشی و کمک به هضم راحت تر غذا به هنگام مصرف و کاربردهای ارزشمند دیگر، مورد توجه می‌باشد. در بین انواع غذاهای زنده، استفاده از برخی از کرم‌ها و کرمی‌شکلان روند افزایشی پیدا کرده است (صفرخانلو، ۱۳۸۳).

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

بیان داشت که تغذیه ماهی به عنوان یکی از شرایط محیطی قابل تغییر می‌تواند بر روی فاکتورهای خونی تاثیرگذار بوده و در نتیجه بررسی این فاکتورها می‌تواند در روند بررسی سلامت ماهی نقش موثری را ایفا نماید.

مواد و روش‌ها

همه مراحل عملی و اجرایی این تحقیق از آذرماه تا اسفند ماه ۱۳۹۳ در مرکز علمی کاربردی نگین واقع در شهرکرد به انجام رسید. نمونه‌های خون برای بررسی‌های لازم به آزمایشگاه شیلات دانشگاه شهرکرد منتقل شد. مراحل تجزیه و تحلیل‌های آماری در دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. در آذر ماه سال ۱۳۹۳، ۵۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی ۱۰ گرم به مخازن پرورشی با حجم ۵۵۰ لیتر منتقل و به مدت ۲ هفته سازگاری با محیط با استفاده از غذای کارخانه کیمیاگران تغذیه صورت گرفت. سپس ۳۶۰ قطعه ماهی با ظاهر سالم و وزن متوسط $10/85 \pm 0/3$ گرم انتخاب گردید و به تعداد ۳۰ قطعه در هر واحد آزمایشی با حجم ۵۵۰ لیتر که به صورت کاملاً تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص یافته بود منتقل شده و به مدت ۱۰ هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. ضمناً در طول دوره آزمایش کلیه پارامترهای فیزیکی و شیمی آب به صورت منظم اندازه‌گیری شدند و میانگین پارامترهای مربوطه در جدول ۱ آورده شده است.

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

Tacon و همکاران در سال ۱۹۸۳ ارزش غذایی سه نوع کرم‌خاکی شامل *Allolobophora longa*، *Lumbricus terrestris* و *Eisenia fetida* را در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان به جای پودر ماهی هرینگ مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که میزان رشد ماهی‌هایی که پلت حاوی ۵۰ درصد پودر کرم‌خاکی آیزنیا فتیدا مصرف کرده بودند، همانند میزان رشد در تیمار پلت ۱۰۰ درصد ماهی هرینگ بود. Yang و همکاران، در سال ۲۰۰۱، که در تغذیه ماهی آب‌شیرین رودخانه‌ای چین *Mystus guttatus* از کرم‌خاکی استفاده کردند، رشد بهتری در مقایسه با گروه شاهد، به وضوح مشاهده گردید.

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

بافت خون شاخص مهمی برای وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت، بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان می‌باشد و تجزیه و تحلیل شاخص‌های خونی راهنمای با ارزشی در ارزیابی وضعیت زیستی آبزیان می‌باشد (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین می‌توان

جدول ۱: میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب طی دوره‌ی پرورش.

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

از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم (EJ-1500 AND) اندازه گیری شد.

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

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

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

$$BWI = Wt_2 - Wt_1$$

Wt₁ = گرم وزن اولیه ماهی

Wt₂ = گرم وزن نهایی ماهی

۲- نرخ رشد ویژه (Hevroy et al., 2005)

$$SGR(\% / \text{day}) = [(\ln Wt_2 - \ln Wt_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$$

LnWt₁ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

LnWt₂ = لگاریتم طبیعی نهایی ماهی

t₂ - t₁ = طول دوره آزمایش

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

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

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

کرم‌خاکی موردنیاز برای انجام این آزمایش از شرکت کهربای حیات شهرکرد خریداری گردید. در رابطه با ساخت جیره، ابتدا غذای آسیاب‌گردید سپس با توجه به فرمول جیره با مقدار مشخص از کرم‌خاکی چرخ شده مخلوط و پس از بدست آوردن مخلوط همگن و اضافه کردن آب مورد نیاز، مخلوط به دست آمده از چرخ گوشت با چشمه ۲ میلی‌متر عبور داده شد. سپس غذای ساخته شده در هوای آزاد خشک و برای ذخیره‌سازی بسته‌بندی شد. غذادهی به صورت دستی در سه‌نوبت در ساعت‌های ۰۹:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۹:۰۰ انجام گردید. میزان غذای مورد استفاده برای هر واحد پرورشی ۳ درصد از وزن بدن بود که با استفاده

لوله موئینه هپارینه از خون منعقد نشده پرشد و یک طرف لوله با خمیر ویژه بسته می‌شد. سپس لوله‌ها را درون دستگاه سانتریفوژ میکروهماتوکریت قرار داده می‌شد و با سرعت 7000 به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ-گردید و مقدار حجم سلولی یا هماتوکریت هر نمونه‌ی خون به وسیله خط کش ویژه هماتوکریت خوانده شد.

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

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

برای شمارش گلبول سفید از پیت‌های حباب-دار (ملانژور) سفید استفاده گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون لخته نشده با محلول ریس (رقت ۱/۵۰) شمارش شد. سپس بر روی پیت ملانژور سفید ریخته‌شد. از ۴ مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول سفید استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۵۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی متر مکعب خون محاسبه گردید (حامدی و همکاران، ۱۳۹۴).

۳- درصد بقاء (Bilton & Robins, 1973)

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

N_0 = تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش

N_1 = تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش

و برای محاسبه شاخص‌های تغذیه‌ای از فرمول زیر استفاده گردید:

ضریب تبدیل غذایی (Hevroy et al., 2005)

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

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

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

بعد از قطع غذا به مدت ۱۴ ساعت عملیات خون-

گیری در پایان دوره از ناحیه ساقه دمی و با استفاده از ماده‌ی بیهوشی پودر گل میخک (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) به ازای هر لیتر آب و در شرایط یکسان برای نمونه‌ها انجام گرفت. از هر تکرار بطور تصادفی ۳ قطعه ماهی انتخاب گردید (در کل ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار) و زیست‌سنجی نمونه (ثبت طول کل و وزن کل) انجام شد (رحیمی و همکاران، ۱۳۸۹).

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

برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده گردید. ابتدا بیش از دوسوم

نتایج شاخص‌های رشد درصد بازماندگی

وضعیت شنا و تغذیه ماهیان بطور روزانه بررسی - گردید. هیچ گونه تغییرات رفتاری در ماهیان دیده نشد و وضعیت شناوری و حرکات ماهیان طبیعی بود. در طول دوره ۳۰ روزهی آزمایش دو مورد تلفات از گروه شاهد و یک مورد در تیمار ۲۰ درصد دیده شد که از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0.05$).

ضریب رشد ویژه

میزان SGR در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0.05$)، اما با این حال بیشترین مقدار آن 0.03 ± 0.31 در گروه شاهد و کمترین میزان در تیمار ۳۰ درصد کرم خاکی، 0.08 ± 0.20 دیده شد.

به منظور گسترش افتراقی گلبول‌های سفید بعد از تهیه گسترش خونی از روش (Blaxhall and Daisley, 1973) استفاده گردید. و در نهایت بررسی داده‌های آماری به دست آمده و رسم نمودارهای مربوط به نتایج تحت ویندوز XP با استفاده از نرم افزارهای Microsoft Excell 2010 و Spss Statistics 17.0 صورت پذیرفت. وضعیت نرمال - بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک بررسی - شد. ارائه میانگین داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار ($Mean \pm Se$) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمونهای آنالیز واریانس یکطرفه و دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ صورت گرفت.

جدول ۲. پارامترهای اندازه گیری شده رشد در آزمایش ($Mean \pm SE$)

شاهد	۱۰٪ کرم خاکی	۲۰٪ کرم خاکی	۳۰٪ کرم خاکی	
1.73 ± 0.10^a	1.82 ± 0.05^a	1.81 ± 0.04^a	1.85 ± 0.11^a	FCR
3.31 ± 0.03^a	3.24 ± 0.06^a	3.25 ± 0.02^a	3.20 ± 0.08^a	SGR
20.10 ± 0.0^a	10.21 ± 0.16^a	10.23 ± 0.15^a	10.26 ± 0.20^a	وزن اولیه
64.66 ± 0.57^a	63.16 ± 1.04^a	63.4 ± 0.6^a	63.06 ± 0.96^a	وزن نهایی
54.43 ± 0.63^a	52.93 ± 0.9^a	53.16 ± 0.1^a	52.00 ± 1.2^a	افزایش وزن
2.73 ± 0.88^a	2.6 ± 0.1^a	2.56 ± 0.33^a	2.5^a	درصد غذای خورده شده روزانه
98.88 ± 0.55^a	100^a	99.44 ± 0.55^a	100^a	درصد بقا

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

خونی شامل هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول - های سفید و قرمز، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید و شاخص‌های گلبول قرمز جدول ۳ ارائه شده است:

شاخص‌های خونی

اثرات جای‌گزینی درصدهای مختلف کرم خاکی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر روی فاکتورهای

جدول ۳- پارامترهای هماتولوژی اندازه‌گیری شده

شاهد	۱۰٪ کرم‌خاکی	۲۰٪ کرم‌خاکی	۳۰٪ کرم‌خاکی	تیمارها
0.62 ± 0.07^a	0.62 ± 0.04^a	0.63 ± 0.08^a	0.65 ± 0.09^a	RBC($\times 10^5/\mu\text{l}$)
19.05 ± 0.06^a	18.94 ± 0.02^a	18.98 ± 0.01^a	19.06 ± 0.05^a	WBC($\times 10^3/\mu\text{l}$)
6.80 ± 0.05^a	6.72 ± 0.07^a	6.84 ± 0.08^a	6.66 ± 0.1^a	Hb(g/dl)
36.663 ± 0.88^a	36.66 ± 0.66^a	37.33 ± 1.4^a	35.33 ± 1.2^a	Hc(%)
86.66 ± 0.57^a	86.33 ± 1.51^a	86.66 ± 1.88^a	87.33 ± 1.30^a	Lym(%)
12.00 ± 0.77^a	12.9 ± 1.25^a	12.8 ± 1.91^a	12.6 ± 1.33^a	Neu(%)
0.83 ± 0.33^a	1.06 ± 0.08^a	1.03 ± 0.06^a	0.93 ± 0.08^a	Mon(%)
.	0.33 ± 0.08^a	0.43 ± 0.24^a	.	Eos(%)

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

بحث

درصد بازماندگی

نتایج مربوط به نرخ بازماندگی در تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد تفاوت معناداری در میزان زنده‌مانی مشاهده نشده است. اگر چه از نظر عددی کم‌ترین مقدار مربوط به گروه شاهد می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر با پژوهش Olele بر روی جای‌گزینی کرم‌خاکی در جیره غذایی ماهی *Hetroclaris* در سال ۲۰۱۱ هم‌خوانی دارد. هم‌چنین مطالعه سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ نتایج نشان داد تلفاتی در تیمارهای جایگزینی کرم‌خاکی در جیره غذایی تاس‌ماهی سبیری وجود نداشت و درصد بازماندگی همه تیمارها ۱۰۰ بود. نتایج تحقیق Monebi و همکاران در سال ۲۰۱۳ اختلاف معناداری را بین تیمارهای جای‌گزینی کرم‌خاکی در جیره ماهی *Hetroclaris* نشان داد. در این پژوهش بیش‌ترین نرخ بقا در تیمار ۲۵ درصد جایگزینی کرم‌خاکی مشاهده شد. دلیل این امر را می‌توان به تفاوت در شرایط محیطی و بهداشتی محل نگه‌داری ماهیان و مدیریت تغذیه در طول دوره پرورش نسبت داد.

شاخص‌های رشد

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

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

بررسی نتایج در مورد ضریب تبدیل غذایی نیز نشان می دهد که اختلاف معناداری بین هیچ کدام از تیمارها دیده نشد. اگر چه تفاوت آماری داده ها معنادار نیست اما از لحاظ عددی کم ترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه شاهد است. بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، در تحقیق Monebi و همکاران در سال ۲۰۱۲ که بر روی ماهی *Hetroclaris* انجام شد، تفاوت معنادار بین گروه شاهد و تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی کرم خاکی مشاهده شد به طوری که FCR در تیمار ۱۰۰ درصد جایگزینی افزایش چشم گیری نشان داد اما تیمار شاهد با تیمارهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد جایگزینی کرم خاکی تفاوت معناداری نداشتند. Sogbesan و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان کردند که جایگزینی ۲۵ درصد کرم خاکی در جیره ماهی *Hetrobrachus* باعث ایجاد تفاوت معناداری در ضریب تبدیل غذایی با گروه شاهد و سایر تیمارها می شود. مطالعه Sakthika و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ماهی *Mystus montanus* نیز نشان داد جایگزینی کرم خاکی ای که به وسیله گیاه آبی *hyacina* پرورش یافته بودند سبب بروز کاهش معنادار ضریب تبدیل غذایی نسبت به کرم خاکی پرورش یافته بر روی ضایعات کشاورزی می شود. سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ با جایگزینی کرم خاکی در غذای تاس- ماهی سبیری *Acipenser baerii* گزارش کردند افزایش

معناداری در FCR بین تیمار ۴۰ درصد جایگزینی با سایر تیمارها دیده شد. Olele و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند با جایگزینی کرم خاکی در غذای ماهی *Hetroclaris* افزایش معناداری در FCR بین گروه ۵۰ درصد با گروه شاهد و سایر تیمارها دیده شد. در مطالعه روی سه گونه از کپور ماهیان هندی *Catla catla*، *Labeo rohito* و *Cirrhinus mrigala* توسط Beg و همکاران در سال ۲۰۱۶ نتایج مشخص کرد جایگزینی کرم خاکی در جیره غذایی ماهیان سبب ایجاد اختلاف معنادار ضریب تبدیل غذایی بین تیمار ۵۰ درصد جایگزینی با سایر تیمارها در هر سه گونه ماهی می شود. یافته های تحقیق حاضر با هیچ کدام از پژوهش های ذکر شده در بالا همخوانی ندارد. عدم تطابق در نتایج گزارش شده توسط محققین را می توان به نوع گونه پرورشی، درصد های مختلف به کار رفته ی کرم خاکی در جیره، نوع ماده اولیه به کار رفته در جیره تجاری، طول دوره پرورش، رفتارهای تغذیه ای گونه و مدیریت تغذیه در طول دوره پرورش نسبت داد که ممکن است بر تأثیرات متفاوت جایگزینی کرم خاکی در جیره مؤثر باشد.

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

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

مقدار غذای خورده شده کاهش یافته است اما تفاوت آماری داده‌ها معنادار نیست. از لحاظ عددی بیشترین ضریب غذای خورده شده روزانه در گروه شاهد مشاهده شد. همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر سلیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بیان کردند جایگزینی کرم‌خاکی در جیره تاس ماهی سبیری باعث کاهش مصرف غذا در تیمارهای کرم‌خاکی شد. کمترین غذای خورده شده در تیمار ۴۰ درصد جایگزینی دیده شد و گروه شاهد بیشترین مصرف غذا را داشتند.

کاهش مصرف غذا احتمالاً به خاطر پایین بودن خوش‌خوراکی غذا بوده است. یکی از دلایلی که بر خوش‌خوراکی کرم‌های خاکی تأثیرگذار است وجود مایع سلومیک آنها می‌باشد. Tacon و همکاران در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که به خاطر وجود مایع سلومیک، زمانی که از مقادیر بالای کرم‌خاکی استفاده شود بر خوش‌خوراکی غذا تأثیر گذاشته و باعث کاهش وزن ماهیان خواهد شد. مایع سلومیک حاوی پروتئین‌های خاصی می‌باشد که روی سیستم ایمنی تأثیر گذار است. (Kauscke *et al*, 2007). از سوی دیگر خوش‌خوراکی گونه‌های مختلف کرم‌خاکی با هم تفاوت دارد. بر اساس پژوهش Tacon و همکاران در سال ۱۹۸۳ ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان که از کرم‌خاکی منجمد *Allolobophora longa* و *Lumbricus terrestris* تغذیه کرده بودند بهتر از گروه شاهد رشد کردند این در حال است که ماهیان تغذیه شده *E. fetida* رشد کمتری داشتند. البته با به کار بردن روش‌هایی مانند استفاده صحیح از حرارت در تولید پودر کرم‌خاکی می‌توان خوش‌خوراکی آن را افزایش داد (Tacon, 1983). علاوه بر وجود مایع سلومیک ممکن است عوامل دیگری نیز در کاهش رشد ماهیان نقش

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

بررسی نتایج در مورد غذای خورده شده روزانه نشان می‌دهد تفاوت معناداری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. اگرچه با افزایش کرم‌خاکی در جیره،

شاخص های خونی

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

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

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

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

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

میزان آن مربوط به تیمار ۲۰ درصد کرم‌خاکی و کمترین آن مربوط به تیمار ۳۰ درصد بود. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم‌خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند اختلاف معناداری در میزان هماتوکریت بین تیمارهای اعمال شده با گروه شاهد مشاهده نشد.

انواع گلبول‌های سفید ماهیان شامل لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها (ماکروفاژها)، ترومبوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها (بازوفیل، نوتروفیل و ائوزینوفیل) است که همگی سلول‌های فاگوسیتی هستند که بیشترین نقش را در فاگوسیتوز ماکروفاژها و بعد از آن نوتروفیل‌ها بر عهده دارند (سلطانی، ۱۳۸۷). در این پژوهش در شمارش افتراقی اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بر اساس یافته‌های دیگر پژوهشگران مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم) و عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبزی، سیکل تولید مثلی، وضعیت بلوغ، سن، جنس شرایط تغذیه‌ای)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌تواند بر پارامترهای خون تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند. احتمالاً این عوامل تناقض به وجود آمده در گزارش مربوط به شاخص‌های هماتولوژیکی در تحقیق Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با نتایج تحقیق پیش‌رو را توجیه می‌کند

اطلاعات کمی در مورد شاخص‌های خونی ماهیان در پاسخ به جایگزینی کرم‌خاکی در جیره ماهیان وجود دارد اما با توجه به نتایج به دست آمده احتمال

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

تعداد گلبول‌های قرمز در آزمایش جاری بین گروه شاهد و هیچ‌یک از تیمارها اختلاف معناداری نداشت ولی روند کمی تغییرات این پارامتر با تیمارهای اعمال شده آهنگ متناسبی را نشان داد به گونه‌ای که بیشترین مقدار گلبول قرمز مربوط به تیمار ۳۰ درصد کرم‌خاکی و کمترین مقدار آن مربوط به گروه شاهد بود. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم‌خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند اختلاف معناداری در تعداد گلبول‌های قرمز بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد. سنجش غلظت هموگلوبین خون ماهیان در هفته‌های آزمایش اختلاف معناداری را میان گروه‌های آزمایشی نشان نداد ولی تغییرات این پارامتر از نوسان زیادی برخوردار بود که با تیمارهای اعمال شده آهنگ متناسبی را نشان نداد. Rawling و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر جایگزینی کرم‌خاکی در جیره ماهی کپور معمولی گزارش کردند افزایش معناداری در مقدار هموگلوبین بین تیمار کرم‌خاکی با گروه شاهد مشاهده شد.

درصد هماتوکریت سنجش شده از خون تیمارهای آزمایشی در پایان دوره آزمایش بین گروه شاهد و سایر تیمارها بدون اختلاف معنادار بود و در روند تغییرات آن شکل نامنظمی مشاهده شد به طوری که بیشترین

در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان نشان نمی دهد ولی به دلیل تولید ساده کرم خاکی و نیاز به تجهیزات بسیار کم جهت تولید و هزینه های بسیار پایین آن، این امکان فراهم می آید که بتوان به دلایل توجیه اقتصادی و کاهش هزینه های تولید قزل آلا از این گونه جهت تغذیه استفاده نمود.

سپاسگزاری

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

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

نتیجه گیری کلی

استفاده از کرم خاکی به عنوان غذای زنده در تغذیه آبزیان مختلف مانند ماهی و سخت پوستانی که رژیم گوشتخواری دارند، می تواند مناسب باشد. نتایج بدست آمده از بررسی ۷۰ روزه تأثیر جایگزینی درصدهای مختلف کرم خاکی در جیره قزل آلا رنگین کمان نشان داد اختلاف معناداری در شاخص های رشد و هماتولوژی بین هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که جایگزین کردن کرم خاکی در جیره ی ماهی قزل آلا رنگین کمان تا سطح ۲۰ درصد تأثیر منفی روی عملکرد رشد و کارایی غذا ندارد و با توجه به سادگی روش پرورش و تجهیزات کم مورد نیاز پرور کرم خاکی و در نتیجه مقرون به صرفه بودن نسبت به غذای تجاری به نظر می رسد که بتوان تا ۳۰ درصد کرم خاکی را جایگزین غذای ماهی قزل آلا رنگین کمان کرد بنابراین اگر چه نتایج آزمایش تاثیر مثبت و معناداری را در رابطه با استفاده از کرم خاکی

منابع

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

۵. حامدی، ش.، رحیمی، ر.، نفیسی بهابادی، م. و عضدی، م. ۱۳۹۴. تاثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*). مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۸(۳): ۲۱-۳۳.
۶. خارا، ح.، محمدزاده، و.، قیاسی، م. و رهبر، م. ۱۳۹۲، بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و سرمی خون ماهیان قزل‌آلای رنگین کمانفاقد و واجد عفونت باکتریایی (در مزارع پرورشیاستان مازندران)، مجله توسعه آبی‌پروری، ۷(۲): ۳۳-۳۵.
۷. رحیمی، ر.، فرهنگ، م.، مجازی امیری، ب.، رضایی، ف.، صدوق نیری، ع. و کریمی، م. ر.، ۱۳۸۹. اثر محرومیت غذایی و غذادهی مجدد بر هورمون‌های تیروئیدی و عملکرد رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله شیلات ایران، ۱۹(۱): ۳۹-۵۰.
۸. رحیمی بشر، م.، تهرانی فرد، ا.، قاسمی نژاد، ا.، علیپور، و. و فلاح چای، م.، ۱۳۸۶. تعیین برخی از فاکتورهای خونی ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frissii Kutum*) در مراحل مختلف رشد گنادی. مجله علوم، ۱(۳): ۴۵-۵۶.
۹. سلطانی، م.، ۱۳۸۷. ایمنی‌شناسی ماهیان وسخت پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.
۱۰. سلیمانی، م.، سجادی، م.م.، فلاحتکار، ب.، یزدانی، م.ح.، ۱۳۹۴. جایگزینی پودر ماهی با پودر کرم‌خاکی *Eisenia foetida* در جیره غذایی بچه تاس ماهی و تأثیر آن بر عملکرد رشد، کارایی غذا و ترکیبات لاشه. مجله بوم‌شناسی آبیان، ۵(۳): ۲۱-۳۰.
۱۱. صالحی، م.، ۱۳۹۰. راهنمای کاربردی پرورش عملی قزل‌آلا. انتشارات علمی آبیان. ۱۴۸ صفحه.
۱۲. صفرخانلو، ل.، نگارستان، ح.، عمادی، ح. و معینی، س.، ۱۳۸۳. بررسی ارزش غذایی دو گونه کرم‌خاکی غالب ایران *Dendrobaena veneta* *Eisenia foetida*. مجله علوم و فنون دریایی، ۵(۱۳): ۳۵-۴۰.
۱۳. فهیم دژبان، ی.، ۱۳۹۲. دستورالعمل کاربردی تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان. نشر دانشگاه آزاد اسلامی سوادکوه. مازندران. صفحه ۱۵۶.
۱۴. کامگار، م.، حبیبی، ف.، لطفی نژاد، ح.، سعیدی، ع. ا.، پورغلام، ر. و یوسفیان، م. ۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول‌های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی. ۴۴: ۱۳۳-۱۳۱.
15. Beg, M., Mandal, B. & Moulick, S., 2016. Potential of earthworm meal as a replacement of fish meal for Indian major carps. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 4(3): 357-361.
16. Bilton, H.T. & Robins, G.L., 1973. The facts of starvation and subsequent feeding on survival and growth of Fulton channel sockeye salmon fry (*Oncorhynchus nerka*). J. Fish Res. Board Can. 30: 1-5.
17. Brunt, J. & Austin, B., 2005. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 28: 693-701.
18. Brown, J. A., Rankin, J. C. & Yokota, S. D., 1993. Glomerular haemodynamics of filtration in single nephrons of non mammalian vertebrates. In New Insights in Vertebrate Kidney Function. 5(3): 1-14.

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

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