

"مقاله پژوهشی"

اثرات متقابل بستر و جیره‌های پروتئینی مختلف بر رشد و زادآوری کرم

سفید (*Enchytraeus albidus* Henle 1837)بابک تیزکار^{۱*}، سهیل علی‌نژاد^۲، افشار ذوقی شلمانی^۱، محمود حافظیه^۳

۱- بخش شیلات، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۲- موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۴

چکیده

در این تحقیق اثرات متقابل بستر زیستی و میزان پروتئین جیره بر میزان رشد و زادآوری کرم سفید بررسی شد. دو بستر هموسی و خاک ترکیبی (۷۰ درصد هموس و ۳۰ درصد پیت ماس) و سه جیره غذایی با میزان ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد پروتئین در قالب ۶ تیمار و ۳ تکرار از هر یک در نظر گرفته شد. ۱۸ عدد جعبه پلاستیکی با ابعاد ۱۵×۲۰×۳۰ سانتی‌متر با خاک‌های مورد اشاره تا ارتفاع ۸ سانتی‌متر پر شدند. پس از آماده سازی بستر و جیره‌های تعیین شده، در هر تکرار ۱۰ گرم کرم به عنوان ذخیره اولیه رهاسازی شد. کرم‌ها به مدت ۳ ماه با جیره‌های آزمایشی و بر اساس ۱۰ درصد وزن زنده تغذیه شدند. طی آزمایش میانگین وزنی کرم‌ها در تمامی تکرارها یک‌بار اندازه‌گیری شد. در پایان، تعداد لارو، تعداد کرم‌های دارای حلقه زایشی، نرخ افزایش مولدین، تعداد لارو به ازای هر مولد، وزن انفرادی مولدین (میلی‌گرم)، وزن زنده نهایی (گرم)، تعداد مولدین نهایی و قیمت تمام شده غذا برای هر کیلوگرم کرم محاسبه شد. نتایج نشان داد در برخی از پارامترهای رشد و زادآوری، بین بسترها و جیره‌های غذایی مختلف اثرات متقابلی وجود دارد، به نحوی که در میزان وزن زنده نهایی، نرخ افزایش مولدین، تعداد مولدین نهایی، ضریب ویژه تعداد و هزینه تمام شده غذا، اثرات متقابل معنی‌داری دیده شد ($p < 0.05$). مولدین دارای حلقه زایشی با افزایش میزان پروتئین جیره روند افزایشی از خود نشان دادند ($p < 0.05$). کرم‌ها در بستر ترکیبی عملکرد رشد بهتری نسبت به بستر هموسی داشتند، به نحوی که تعداد لارو، تعداد مولدین دارای حلقه‌های زایشی، وزن نهایی لارو و ضریب رشد وزنی کرم‌ها در این نوع بستر به طور معنی‌داری بیشتر از بستر هموسی بود ($p < 0.05$).

کلمات کلیدی: کرم سفید (*Enchytraeus albidus*)، بستر رشد، پروتئین جیره، غذای زنده، ماهی زینتی

مقدمه

در بسیاری از منابع آبی‌پروری اشاره شده است که برای یک آبی‌پروری موفق و پایدار دو شرط اساسی لازم و ملزوم یکدیگرند اول آنکه گونه مورد نظر باید به خوبی در محیط محصور تکثیر شود دوم آنکه بچه‌های تولیدشده به خوبی تغذیه شده و زنده بمانند. لذا برای توسعه آبی‌پروری شناخت غذا برای هر گونه و در هر مرحله از زندگی اهمیت فراوانی دارد. پرورش ماهی‌ها زمانی موفقیت‌آمیز خواهد بود که با غذاهای طبیعی زنده توأم گردد، به طوری که پرورش بسیاری از آبزیان بدون غذای زنده عملاً امکان‌پذیر نیست (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۶). شریعتی (۱۳۸۹) بیان کرد که به‌کارگیری غذاهای ترکیبی غیر زنده جهت بچه ماهیان خاویاری فقط با استفاده از غذاهای زنده امکان‌پذیر است. از مزایای کاربرد غذای زنده می‌توان به هضم و جذب آسان، تأمین میکروالمان‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب و سایر فاکتورهای ضروری تغذیه، ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی، رشد کافی گنادهای تناسلی و قابلیت تولید نسل بیشتر و بهتر و کمک به هضم و جذب غذای کنسانتره اشاره نمود (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۶).

کرم‌های کم‌تار اولیگوخت یکی از منابع غذایی جایگزین در تغذیه ماهیان به شمار می‌روند (Walsh, 2012; Walsh et al., 2015; Holmstrup et al., 2020). این جانوران با حدود ۴۰ گونه از جنس‌های مختلف در خاک، آب‌های شیرین، آب‌های مصبی و سواحل آب‌های دریایی مناطق آب و هوایی معتدله دنیا زیست دارند (Stephenson, 1972) مطرح‌ترین گونه کرم‌های اولیگوخت که قابلیت تکثیر آسان و ارزان

دارد، کرم *Enchytaerus albidus* است که به نام عمومی کرم سفید معروف هستند. آنها با توجه به اندازه مختلف و تغذیه آسان به عنوان غذای زنده مناسب برای ماهیان کوچک و حتی بزرگ‌تر مورد توجه قرار دارند (Memis, 2004). کرم سفید یکی از انواع غذاهای زنده است که در تغذیه ماهیان آب شیرین و ماهیان دریایی به خصوص در تغذیه ماهیان آکواریومی و بچه ماهیان خاویاری مورد استفاده قرار می‌گیرند (Walsh, 2012; Fairchild et al., 2017; Bahrioglu et al., 2022). این کرم دارای حدود ۷۰ درصد پروتئین، ۱۴/۵ درصد چربی، ۵/۵ درصد خاکستر و ۱۰ درصد کربوهیدرات در وزن خشک است (Greene, 1999). امروزه قیمت غذاهای تر وارد شده به کشور مانند کرم خونی، کرم تویفکس و آرتمیا بسیار بالا و مقرون به صرفه نیست. کرم سفید از دیرباز جهت پرورش ماهیان خاویاری در کشور در مقیاس بسیار محدود تولید می‌شده. با توجه به ارزش بالای غذایی این کرم‌ها و نیاز بسیاری از تکثیر و پرورش دهندگان ماهیان خاویاری و زینتی، تولید این کرم‌ها با هزینه پایین می‌تواند از واردات کرم‌های خونی به کشور جلوگیری نماید. تحقیقات گذشتگان نشان داده است که منابع غذایی متنوع در رشد و زادآوری این کرم تأثیر می‌کند (Amorim et al., 2005). به‌علاوه این کرم‌ها با توجه به نوع رفتار زندگی و فیزیولوژی زیستی‌شان در بسترهای مختلف می‌توانند ضرایب زادآوری متنوعی داشته باشند. در این تحقیق بنا بر آن است که با مقایسه دو مکان متفاوت زیستی و متفاوتی را ایجاد جیره‌های غذایی که به لحاظ ارزش پروتئینی با یکدیگر متفاوت‌اند؛ بهترین بستر برای پرورش و جیره غذایی پروتئینی برای کرم‌های مورد آزمایش تعیین شود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر متقابل جیره غذایی و بستر محل زیست کرم‌ها، سه جیره غذایی با سطوح پروتئینی ۲۰، ۲۵، ۳۰ و دو بستر خاکی شامل ۱- هوموس (خاک هوموس) و ۲- خاک ترکیبی ۷۰ به ۳۰ هوموس و خاک پیت ماس در نظر گرفته شد. این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و از هر تیمار ۳ تکرار اجرا گردید.

به جهت ساخت غذاهای مختلف سه نوع جیره غذایی دست‌ساز با اقلام غذایی درج شده در جدول ۱ در آزمایشگاه ساخته شدند. سیب‌زمینی، نخود و چغندر به مدت ۲ ساعت در آب گرم پخته شده سپس به وسیله دستگاه چرخ گوشت به طور کامل له و پس از آن پودر ماهی و آرد گندم و سبوس با درصدهای اشاره شده در جدول ۱ به آن اضافه شدند. جیره‌های آزمایشی به صورت خمیر سفت و به طور جداگانه بسته‌بندی و در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

دو بستر هوموسی و ترکیبی جهت استقرار کرم‌ها در نظر گرفته شد. به ترکیب مواد آلی و معدنی خاک‌ها در جدول ۲ اشاره شده است.

جهت استقرار کرم‌ها در تیمارهای مختلف ۱۸ (۶ تیمار با ۳ تکرار) سبد پلاستیکی با ابعاد ۱۵×۲۰×۳۰ سانتیمتر تهیه و در محل اجرای پروژه قرار داده شد. به منظور حذف تخم کرم‌ها و حشرات ناخواسته در خاک‌های تهیه شده؛ قبل از تیمار بندی، خاک‌ها در دستگاه خشک کن با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ دقیقه حرارت داده شدند. پس از این مرحله و توزین خاک‌ها، مقداری از خاک به منظور تولید خاک ترکیبی به میزان ۷۰ درصد خاک هوموسی و ۳۰ درصد خاک پیت ماس به صورت حجمی ترکیب

شدند. در داخل ۹ جعبه خاک هوموسی و در ۹ جعبه دیگر خاک ترکیبی به میزان ۲۴۰۰ سانتی‌متر مکعب ریخته شد. قبل از انتقال کرم‌ها به مکان‌های پرورش رطوبت خاک با آب پاش دستی تا حد ۴۵ درصد با دستگاه رطوبت‌سنج SWM ۵۰۰۰ شرکت Step System تنظیم شد. به منظور تنظیم دمای محیط (۲۰ درجه سانتی‌گراد) با توجه به فصل انجام تحقیق از بخاری گازی همراه با ترموستات استفاده شد.

میزان درجه حرارت محیط و خاک، به صورت روزانه و مقدار pH و رطوبت خاک به صورت هفتگی بررسی و ثبت گردید. جهت جلوگیری از نفوذ نور مستقیم خورشید به داخل مکان آزمایش از پرده سیاه و نصب بر روی پنجره‌ها استفاده شد.

با روش گریز از گرما، کرم‌های ذخیره شده در بانک مادری، جداسازی و با الک چشمه ۵۰۰ میکرون کرم‌های مورد نظر برای تیمارها انتخاب و به هر تکرار مقدار ۱۰ گرم کرم اضافه شد. کرم‌های جدا شده به لحاظ وزنی و طولی یکسان بودند.

جیره‌های غذایی آماده شده به صورت خمیر (۳۰ درصد رطوبت) هر هفته به میزان ۶۰ درصد وزن توده زنده کرم‌ها محاسبه و به مدت ۳ ماه به آن‌ها خورانده شد. مقدار غذا به صورت ماهیانه پس از انجام بیومتری (زیست‌سنجی) اصلاح می‌گردید. در پایان هر ماه کرم‌های هر جعبه به روش گریز از گرما از جعبه‌ها جدا شده و پس از شستشوی کامل با ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم توزین و جهت ادامه مسیر در بستر قبلی قرار می‌گرفتند. بر اساس میانگین وزن ایجاد شده غذای ماه بعد تنظیم می‌شد (یزدی و همکاران، ۱۳۹۹).

جدول ۱: مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌های غذایی و ترکیبات شیمیایی آنها به درصد

ماده غذایی	جیره ۲۰	جیره ۲۵	جیره ۳۰
سیب‌زمینی	۳۰	۳۰	۳۰
چغندر	۵	۵	۵
نخود	۸	۸	۸
پودر ماهی	۲۵	۳۵	۴۲
آرد گندم	۱۵	۱۵	۱۵
پوسته برنج	۱۷	۷	۰
ترکیب شیمیایی جیره			
پروتئین	۱۹/۱±۱۲/۱۲	۲۴/۱±۱۲/۷۴	۲۹/۱±۱۸/۵۶
چربی	۱۲/۱±۵۲/۸۷	۱۱/۲±۱۲/۲۲	۱۰/۱±۱۲/۲۲
رطوبت	۱۶/۱±۰۲/۷۲	۱۵/۱±۱۲/۳۵	۱۳/۱±۱۱/۵۲
خاکستر	۱۲/۲±۱۲/۰۲	۱۱/۱±۱۲/۲۲	۱۰/۱±۱۲/۱۸

جدول ۲: ترکیبات بسترهای مورد استفاده در آزمایش

مشخصات خاک	هدایت الکتریکی	واکنش خاک	کربن آلی	فسفر	پتاسیم
	ds/m	pH	درصد	درصد	درصد
هوموسی	۱/۰۴۵	۶/۶۵	۳/۵	۱۲/۳۱	۲۶۴/۰۷
ترکیبی	۱/۰۸۹	۶/۶۶	۴/۵	۱۰/۵۰	۱۸۰/۸۱

۳- شاخص نرخ رشد ویژه تعداد (Helland *et al.*, 1996)

$100 \times \{ \text{مدت زمان دوره} / (\text{تعداد اولیه} - \text{Ln} - \text{تعداد نهایی}) \}$
 $\text{Ln} = \{ \text{شاخص نرخ رشد ویژه تعداد} \}$

۴- شاخص نرخ رشد ویژه وزنی (Helland *et al.*, 1996)

$100 \times \{ \text{مدت زمان دوره} / (\text{وزن اولیه} - \text{Ln} - \text{وزن نهایی}) \}$
 $\text{Ln} = \{ \text{شاخص نرخ رشد ویژه تعداد} \}$

میزان هزینه تولید هر کیلوگرم کرم در تیمارهای مختلف در پایان دوره بر اساس رابطه زیر تعیین شد:

در پایان آزمایش (ماه سوم) پارامترهای میزان بازماندگی مولدین، تعداد نوزاد به ازای هر والد، شاخص نرخ رشد ویژه، تعداد و شاخص نرخ رشد ویژه وزنی به صورت زیر تعیین گردید:

۱- نرخ افزایش مولدین (Bilton and Robins, 1988)
 $100 \times (\text{تعداد مولدین در ابتدا} / \text{تعداد مولدین در ابتدا} - \text{تعداد مولدین در انتها}) = \text{نرخ افزایش مولدین (درصد)}$

۲- تعداد نوزادان به ازای هر والد (Garg *et al.*, 2005)

$100 \times (\text{تعداد کرم‌های دارای حلقه‌های زایشی} / \text{تعداد نوزادان}) = \text{تعداد نوزادان به ازای هر والد}$

بودند، چه در خاک هوموسی و چه در خاک ترکیبی، کمتر از جیره‌های ۲۵ درصد به بالا بود. لازم به ذکر است که در بین جیره‌های پروتئین ۲۵ درصد، تعداد مولدین در خاک‌های ترکیبی به طور معنی‌داری بیشتر از خاک هوموسی بود ($p < 0/05$).

بیشترین میانگن وزنی کرم سفید تولیدشده ($429/40 \pm 17/18$) گرم در مترمربع در تیمار با پروتئین ۳۰ درصد و خاک ترکیبی مشاهده شد ($p < 0/05$) که البته مقدار آن تفاوت معنی‌داری را با تیمار پروتئین ۲۵ درصد در خاک ترکیبی نشان نداد ($p \geq 0/05$).

بیشترین نرخ افزایش مولدین (درصد) در تیمارهایی که خاک ترکیبی و پروتئین ۲۵ و ۳۰ درصد داشتند دیده شد که مقدار آن به وضوح و به طور معنی‌داری از تیمار پروتئین ۲۰ درصد و به خصوص زمانی که کرم سفید در بسترهای هوموسی قرار می‌گرفتند؛ بیشتر بود. تنها در زمانی که پروتئین جیره ۳۰ درصد بود و در بستر هوموسی میزان نرخ افزایش مولدین با تیمار پروتئین ۲۵ درصد و خاک ترکیبی اختلافی را نشان نداد ($p \geq 0/05$) (جدول ۴). همچنین در پی افزایش نرخ تعداد مولدین در تیمارهای مختلف و وجود اثر متقابل برای این عامل، ضریب رشد ویژه (تعداد) در تیمارهای مختلف نیز دارای اثر متقابلی بود ($p < 0/05$). نتایج نشان داد که در خاک هوموسی اثر متقابلی بین ضریب رشد ویژه و تعداد مولدین دیده می‌شود ($p < 0/05$) به نحوی که در خاک هوموسی بین جیره پروتئین ۲۰ و ۳۰ درصد، ضریب رشد ویژه تعداد مولدین در پایان آزمایش متفاوت بود ($p < 0/05$). این نتایج همچنان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بستر ترکیبی بین جیره با پروتئین ۲۵ و ۳۰ درصد بود ($p \geq 0/05$) و نرخ ضریب رشد ویژه (تعداد) در این خاک و پروتئین‌های ۲۵ و ۳۰

۱۰۰۰× {افزایش بیومس کرم (کیلوگرم) / قیمت غذای خورده شده در طول دوره (ریال)} = قیمت هر کیلوگرم (ریال).

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب یک طرح کامل تصادفی دو طرفه برنامه‌ریزی و اجرا گردید. جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگراف سیمرنوف استفاده شد. پس از تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه Two Way - Anova و در سطح $\alpha = 0/05$ جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده گردید. جهت مقایسه گروه‌های همگن از آزمون دانکن استفاده شد. داده‌ها بر اساس میانگین و انحراف معیار ارائه شده است. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS شماره ۲۰ و نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

اثرات متقابل پروتئین جیره و نوع بستر

نتایج حاصله نشان داد که در بعضی از مؤلفه‌ها بین پروتئین جیره و نوع بستر محل پرورش اثر متقابلی وجود دارد (جدول ۳).

در پایان آزمایش تعداد مولدین در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p < 0/05$). نتایج به دست آمده اثر متقابل معنی‌داری را بین پروتئین جیره و بستر محل زیست کرم‌ها برای تعداد مولدین در پایان آزمایش نشان داد ($p < 0/05$). به نحوی که بیشترین افزایش تعداد مولدین در تیمار پروتئین ۳۰ درصد و بستر خاک ترکیبی مشاهده شد ($p < 0/05$). این نتایج همچنین نشان داد که تعداد مولدین در پایان آزمایش در تیمارهایی که دارای پروتئین جیره ۲۰ درصد

($p < 0/05$) که البته تعداد این مولدین در تیمارهای ۲۵ و ۳۰ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p \geq 0/05$). اگرچه میانگین وزن انفرادی مولدین در تیمار پروتئین ۳۰ درصد کمتر از تیمارهای دیگر بود ولی میانگین وزن انفرادی کرم‌ها به لحاظ آماری در تیمارهای مختلف تفاوتی را نشان ندادند. ($p \geq 0/05$). به علاوه میانگین تعداد لارو به ازای هر مولد نیز بیانگر تعداد زایمان بیشتر هر مولد در تیمار با پروتئین ۲۰ و ۲۵ درصد نسبت به مولدین تیمار پروتئین ۳۰ درصد بود ($p < 0/05$).

نرخ زادآوری مولدین در تیمارهای پروتئین ۲۰ و ۲۵ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت ($p \geq 0/05$). ولی بین درصد ضریب رشد وزنی مولدین تیمارهای پروتئین ۲۰ و ۲۵ درصد با تیمار پروتئین ۳۰ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/05$) (جدول ۵).

اثر بستر

نتایج نشان داد که کرم‌های مولد در بسترهای ترکیبی زادآوری بیشتری داشته و تعداد لارو در مترمربع در پایان دوره در این نوع بستر بیشتر از بستر هوموسی بود ($p < 0/05$). به همین ترتیب میانگین تعداد مولدین دارای حلقه‌های زایشی در بستر ترکیبی به طور معنی‌داری نسبت به بستر هوموسی بیشتر بود ($p < 0/05$). بزرگ‌تر بودن وزن نهایی کرم‌های پرورش‌یافته در بسترهای ترکیبی نسبت به بستر هوموسی در تمامی تیمارها قابل مشاهده بود ($p < 0/05$) که این امر باعث افزایش بیوماس نهایی تولید نیز شد.

همین طور عدم وجود اختلاف معنی‌دار در نرخ تولید لارو توسط هر مولد در بسترهای مختلف نیز در بسترهای مختلف پرورشی مشاهده گردید ($p \geq 0/05$). با توجه به بزرگ‌تر بودن وزن کرم‌ها در تیمار خاک ترکیبی، نرخ ضریب رشد وزنی کرم‌ها در بستر خاک ترکیبی نیز بیشتر از بستر هوموسی بود. ($p < 0/05$) (جدول ۶).

درصد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی مقدار این ضریب در پروتئین ۲۰ درصد در خاک ترکیبی کمتر از مقدار آن در جیره‌های ۲۵ و ۳۰ درصد بود ($p < 0/05$). محاسبات میزان بیوماس نهایی کرم تولیدشده در مترمربع و هزینه غذای مصرفی در طول دوره مشخص نمود که هزینه تولید هر کیلوگرم کرم در خاک ترکیبی به طور معنی‌داری نسبت به خاک هوموسی پایین‌تر بود ($p < 0/05$) و به علاوه در خاک هوموسی با افزایش پروتئین جیره ۲۵ درصد، هزینه افزایش‌یافته ($p < 0/05$) ولی در سطح پروتئین ۳۰ درصد هزینه یک کیلوگرم کرم با هزینه آن در پروتئین ۲۰ درصد تفاوت معنی‌داری ندارد ($p \geq 0/05$). در خاک ترکیبی هزینه تولید در پروتئین‌های مختلف جیره اختلافی را نشان نداد ($p \geq 0/05$)، به عبارت دیگر هزینه تولید در خاک ترکیبی برای تولید یک کیلوگرم کرم، تقریباً یکسان است ($p \geq 0/05$) (جدول ۴).

اثر جیره

همان طوری که در جدول ۳ مشاهده می‌شود در بعضی از پارامترهای مورد بررسی اثر متقابلی بین جیره و نوع بستر مشاهده نگردید ولی اثرات جیره در بعضی از پارامترها اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۵). نتایج نشان داد که اثر جیره بر تعداد لارو تولید شده در پایان دوره معنی‌دار نبوده و علی‌رغم اینکه تعداد لارو در جیره‌های پروتئین بالاتر رقم بیشتری را نشان دادند ولی این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. ($p \geq 0/05$). پس از شمارش کرم‌های بزرگ و جداسازی آن‌ها از لاروها، مشاهده شد که تعداد مولدین دارای حلقه زایشی در تیمارهایی که از جیره‌های با پروتئین بالاتر استفاده کرده‌اند بیشتر بود

جدول ۵: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) پارامترهای رشد و زادآوری در جیره‌های پروتئینی مختلف

پارامترهای تولیدمثلی	پروتئین جیره	انحراف معیار ± میانگین
تعداد لارو نهایی (مترمربع)	جیره ۲۰	۵۸۵۵۱/۴۰۷±۶۷/۹۱
	جیره ۲۵	۶۷۶۷۶/۳۳۲±۶۷/۰۴
تعداد مولدین دارای حلقه زایشی (مترمربع)	جیره ۲۰	۲۹۵۲۰/۱۶۰±۰/۰۴ ^a
	جیره ۲۵	۳۳۸۸۰/۳۶۵±۰/۱۰ ^{ab}
وزن نهایی (میلی گرم)	جیره ۲۰	۶/۰±۹۶/۳۱
	جیره ۲۵	۶/۰±۸۳/۲۷
تعداد لارو به ازای هر مولد (درصد)	جیره ۲۰	۱۹۹/۱۳±۳۵/۹۴ ^b
	جیره ۲۵	۲۰۶/۱۴±۶۵/۰۲ ^b
ضریب رشد وزنی (درصد)	جیره ۲۰	۰/۰±۱۱/۰۳ ^a
	جیره ۲۵	۰/۰±۰۸/۰۳ ^a
	جیره ۲۰	۰/۰±۰۷/۰۴ ^b
	جیره ۳۰	۴۲۲۶۵/۳۲۲±۰/۶۹ ^b
	جیره ۳۰	۶/۰±۲۲/۱۳
	جیره ۳۰	۱۶۵/۸±۹۳/۳۴ ^a

جدول ۶- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) پارامترهای رشد و زادآوری در بسترهای مختلف

پارامترهای تولیدمثلی	نوع خاک	انحراف معیار ± میانگین
تعداد لارو (مترمربع)	هوموس	۵۷۵۶۴/۲۳۵±۴۴/۲۹ ^a
	ترکیبی	۷۲۷۸۵/۲۰۱±۵۵/۷۷ ^b
تعداد مولدین دارای حلقه زایشی (مترمربع)	هوموس	۲۹۶۱۵/۱۶۸±۵۶/۱۱ ^a
	ترکیبی	۴۰۸۲۷/۲۷۰±۷۸/۲۵ ^b
وزن نهایی (میلی گرم)	هوموس	۶/۰±۳۴/۱۴ ^a
	ترکیبی	۷/۰±۰۰/۲۴ ^b
تعداد لارو به ازای هر مولد (درصد)	هوموس	۱۹۸/۱۲±۴۷/۵۱
	ترکیبی	۱۸۲/۹±۸۱/۳۵
ضریب رشد وزنی (درصد)	هوموس	۰/۰±۰۵/۰۲ ^a
	ترکیبی	۰/۰±۱۳/۰۴ ^b

بحث

تکثیر گونه‌های آبزیان همیشه با موفقیت همراه نیست. از جمله دلایل آن پیچیدگی تهیه غذای مناسب در مراحل رشد و تناسب آن با رژیم غذایی آن موجود است. همواره در تولید انبوه آبزیان نیازمند غذای باکیفیت و قیمت باصرفه هستیم. البته در بعضی از گونه‌های باارزش تجاری مانند ماهیان خاویاری و برخی ماهیان زینتی، هزینه بالا برای تولید غذا به خصوص در دوران لاروی و انگشت قدی امری اجتناب‌ناپذیر است. کرم سفید یکی از بهترین غذاهای زنده برای پرورش ماهیان ارزشمند در زمان لاروی و نوزادی است (Holmstrup et al., 2022; Yanik et al., 2017). از گذشته نویسندگان بسیاری در خصوص تولید انبوه این کرم توضیحاتی داده‌اند (Fairchilda et al., 2017). در این تحقیق اثرات متقابل بین نوع جیره و بستر محل زیست کرم‌ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌دهنده وجود اثرات متقابل معنی‌داری بر روی بعضی از فاکتورهای رشد بود. این نتایج نشان داد کرم‌های سفید در جیره‌های با پروتئین بالاتر و خاک ترکیبی که از مخلوط خاک هوموسی و خاک پیت-ماس تشکیل شده بود؛ رشد و زادآوری بهتری داشتند. در تحقیقات گذشته مشخص شده بود که تغییرات محل زیست این کرم‌ها می‌تواند به شدت روی زادآوری آنها مؤثر باشد (Amorim et al., 2008). افزایش شوری و فلزات سنگین مثل سرب و کادمیم در خاک می‌تواند برای کرم‌ها کشنده باشد (Amorim et al., 2005). رفتارهای جفت‌گیری و زادآوری کرم‌ها در بسترهای مختلف و همچنین شرایط مختلف زیستی به شدت متفاوت و متغیر است (Novais et al., 2010). به دلیل سرعت بالا در تکثیر و زادآوری این گونه گاهی اوقات

از آن‌ها به عنوان لایه اول آزمایش‌های سم‌شناسی استفاده می‌شود (Natal-da-Luz et al., 2009; Amorim and scott-Fordsmamel, 2012). علاوه بر این تحقیقات انجام شده توسط Fairchilda و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده است که ترکیبات مختلف غذایی می‌تواند باعث تغییر در میزان رشد و زادآوری این کرم باشد.

خاک‌های هوموسی در طبقه‌بندی خاک جزو طبقه‌ای محسوب می‌شوند که یک لایه ویژه برای کنش و واکنش بین خاک، گیاه و میکروارگانیسم زنده محسوب می‌شود (Zanella et al., 2018; Waez- Mousavi and Habashi, 2012). کرم‌ها و بسیاری از میکروارگانیسم‌های مستقر در خاک هوموسی می‌توانند بسیاری از تبادلات یونی و غذایی خود را در این خاک به خوبی انجام دهند (Zanella et al., 2018).

نتایج بیانگر عدم وجود اثر متقابل معنی‌دار تعداد لاروهای تولیدشده بین جیره‌های استفاده‌شده و بسترهای محل زندگی کرم‌ها بود. همچنین نتایج بررسی‌های مستقل نشان داد که میانگین تولید لاروهای تولیدشده در جیره‌های مختلف نیز اختلاف معنی‌داری نداشته و در پایان دوره آزمایش تعداد لاروها در جیره‌های پروتئینی مختلف نزدیک به هم بودند؛ اگرچه مقدار عددی تعداد لاروها در تیمارهای با پروتئین ۲۵ و ۳۰ درصد بالاتر از تیمار ۲۰ درصد بود. البته این نتیجه با توجه به ظرفیت محدود بستر پرورش در تیمارها قابل توجیه است چرا که محدودیت فضای زیستی در مکان‌های پرورشی باعث کاهش زادآوری در پایان آزمایش شده و این امر در اختلاف تعداد لاروها در زمان پایانی خود را بروز داده است. احتمالاً در صورت بزرگ‌تر بودن مکان پرورش کرم‌ها شاهد افزایش بیشتر

غذایی با پروتئین ۳۰ درصد تعداد این لاروها در پایان دوره به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار با جیره ۲۰ درصد بود و این امر نشان‌دهنده نرخ بالاتر زادآوری کرم‌ها در این تیمارها بود؛ ولی در پایان هفته هشتم به علت محدودیت فضای زیستی تعداد لاروهای تولیدشده در جیره‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین در بسترهای ترکیبی تعداد مولدین دارای حلقه‌های زایشی به مراتب بیشتر از بستر هوموسی بود. این نتایج تأییدی است بر نتایج حاصل‌شده توسط Wencai و همکاران (۲۰۲۱) که اثر افزایش زادآوری کرم‌ها را در بسترهای با کمترین تنش مورد تأیید قرار داد (یوسفی گراکویی و همکاران، ۱۳۹۹).

در این تحقیق بر خلاف نتایج به دست آمده توسط امراء و همکاران (۱۳۹۶) تعداد لارو (نوزاد) به ازای هر مولد رابطه مستقیم با تعداد کرم‌های دارای حلقه زایشی نداشت، به عبارت دیگر کرم‌هایی که با جیره‌های پروتئین ۳۰ درصد تغذیه کرده بودند تعداد نوزاد کمتری را در پایان مرحله آزمایش تولید کردند و همین امر باعث شد. نرخ تعداد نوزاد به ازای هر مولد در تیمار با پروتئین ۳۰ درصد کمتر از تیمارهای دیگر شود. در تحقیقات نشان داده شد که پارامترهای استرس‌زایی مثل افزایش ناگهانی حرارت می‌تواند باعث کاهش نرخ زادآوری مولدین گردد (Wencai et al., 2021). Pieper و Roithmeier در سال ۲۰۰۹ نتیجه گرفتند که با افزایش تراکم کرم‌ها در بستر محل زیست از شدت زادآوری آن‌ها کاسته می‌شود که این نتیجه با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

میانگین وزنی کرم‌های بالغ در تیمارهای غذایی مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و این امر بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار ضریب رشد وزنی

زادآوری و تعداد بیشتر لاروها در پایان دوره آزمایش خواهیم بود. Sine Trane و همکاران (۲۰۱۳) به اثرات متقابل تراکم بیش از حد و شوری خاک در میزان زادآوری کرم‌های سفید اشاره کرده‌اند. از آنجایی که در بسترهای ترکیبی فضای زیستی بیشتر از بسترهای هوموسی بود؛ تعداد لاروها در پایان زمان آزمایش تفاوت آشکاری را نشان دادند. نتایج به دست آمده به خوبی بیانگر عملکرد متفاوت زادآوری در بسترهای مختلف رشد بود به نحوی که تعداد لارو تولیدشده در بسترهای ترکیبی به طور معنی‌داری بیشتر از بستر هوموسی بود. این امر تأییدی بر مناسب تر بودن خاک‌های سبک‌تر و پر خلل و فرج برای رشد این کرم‌هاست. به همین علت مشاهده شد که ضریب ویژه (تعداد) کرم‌ها در بستر ترکیبی بیشتر از بستر هوموسی بود. البته آذربایجانی و همکاران (۱۳۹۴) با انجام تحقیق بر روی بسترهای متفاوت برای پرورش کرم خاکی (*Eisenia foetida*) مشاهده کردند که در بسترهای با خاک سبک، تعداد کرم‌های نابالغ بیشتری در پایان تحقیق تولید گردید. علت این امر می‌تواند تفاوت در میزان فضای کشت کرم‌ها در این تحقیق به لحاظ مساحت زیر کشت با تحقیق انجام شده باشد. امراء و همکاران (۱۳۹۶) با تحقیق مشابهی روی گونه کرم خاکی (*E. foetida*) به این نتیجه رسیدند که در بسترهای با جنس ۵۰ درصد کاه و ۵۰ درصد کود گوسفندی، تعداد نوزادان در پایان آزمایش بیشتر از تیمارهای دیگر که بستری متراکم‌تر داشتند ایجاد شده بود.

در این تحقیق با افزایش پروتئین جیره، تعداد مولدینی که دارای حلقه زایشی بوده و قابلیت تخم‌ریزی داشتند افزایش یافت. به نحوی که در جیره

نسبت به خاک هوموسی را می‌توان در تولید بیشتر بیوماس کرم در پایان مرحله آزمایش دانست و این افزایش به اندازه‌ای بود که قیمت بیشتر غذای با پروتئین ۳۰ درصد را نسبت به دیگر غذاها جبران می‌کرد. در خاتمه با توجه به تعیین ضرایب رشد کرم سفید و برآورد هزینه غذای پرورش کرم‌ها توصیه می‌شود که برای پرورش این کرم از جیره‌های با پروتئین بالای ۲۵ درصد و بسترهای ترکیبی استفاده شود.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

منابع

- آذربایجانی، ع.، علامه، س.ک. سپهداری، ا.، ۱۳۸۹. تأثیر جیره و بسترهای مختلف بر رشد و تکثیر کرم خاکی (*Eisenia fetida*) به منظور استفاده در آبی‌پروری. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۳)، ۶۹-۷۴.
- امراء، م.ع.، بیابانی، ع.، قلی زاده ع. وفایی تبار، م.، ۱۳۹۶. بررسی افزایش وزن و برخی شاخص‌های رشد کرم خاکی در ورمی کمپوست حاصل از کودهای آلی مختلف. نشریه زیست‌شناسی خاک، ۵(۱)، ۳۷-۲۹.
- بهمنی، م.، پورعلی، ح.ر.، یوسفی، ا.، یزدانی، م.ع.، پژند، ذ. شناور، ع.، ۱۳۹۶. راهنمای جامع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس ماهیان دریای خزر. ۳۲۰ ص.

کرم‌های بالغ تولیدشده در تیمارهای مختلف بود علت این امر آن است که در هر سه تیمار غذایی، زمانی که کرم‌ها به لحاظ طول و وزن به اندازه مشخصی می‌رسند (۶-۶/۵ میلی گرم) وارد مرحله بلوغ شده و زادآوری در آن‌ها آغاز می‌شود (حسین نیا و همکاران ۱۳۹۳) و این امر باعث متوقف شدن رشد جسمانی در کرم‌ها شده و افزایش پروتئین جیره نمی‌تواند منجر به تولید کرم‌های بزرگ‌تر شود؛ ولی نتایج به‌دست آمده نشان داد که علی‌رغم یکسان بودن وزن و ضریب رشد وزنی کرم‌ها در تیمارهای غذایی مختلف، متوسط وزن کرم‌های بالغ تولید شده و ضریب رشد وزنی آن‌ها در پایان آزمایش در بستر ترکیبی به طور معنی‌داری بیشتر از بستر هوموسی بود. علت این امر را می‌توان وجود فضای زیستی بیشتر (Waez-Mousavi et al., 2012) و شرایط اکسیژنی مناسب‌تر (Fairchild et al., 2017) در خاک ترکیبی دانست.

تعداد مولدین نهایی، بیوماس کل کرم‌های تولید شده و به تبع آن هزینه غذای مصرف‌شده برای هر کیلوگرم کرم اثر متقابلی را در جیره و بسترهای مختلف نشان دادند. این نتایج به نوعی بازخورد اثرات متقابل جیره و بستر محل زیست کرم‌ها بود به نوعی که در نتایج مشخص گردید با افزایش پروتئین جیره در بستر ترکیبی عملکرد و راندمان تولید بالاتر است. با افزایش پروتئین جیره، قیمت تمام‌شده کرم تغییر چندانی پیدا نمی‌کند ولی میانگین قیمت تمام‌شده در خاک هوموسی با خاک ترکیبی اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. نتایج نشان‌دهنده آن است که بیشترین اختلاف قیمت تمام‌شده کرم بین خاک هوموسی و خاک ترکیبی در جیره پروتئین ۲۵ درصد وجود دارد. علت کمتر بودن قیمت تمام‌شده کرم‌های در خاک ترکیبی

- and Plant-Based Diets on the Growth and Nutritional Composition of White Worms (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837) in Various Substrates. *Pakistan Journal of Zoology*, 55(2), 563-570.
12. Bilton, H.T., Robins, G.L., 1973. The effects of starvation and subsequent feeding on survival and growth of fulton channel sockeye salmon fry (*Oncorhynchus nerka*) fry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 30, 1-5.
13. Fairchild, E.A., Bergman, A.M., Trushenskib, J.T., 2017. Production and nutritional composition of white worms (*Enchytraeus albidus*) fed different low-cost feeds. *Aquaculture*, 481, 16-24.
14. Garg, V.K., Chand, S., Chhillar, A. Yadav, A., 2005. Growth and reproduction of *Eisenia foetida* in various animal wastes during vermicomposting. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2, 51-59.
15. Grene, J., 1999. *Whiteworms*. The Boston Aquarium Society, (<http://www.bostonaquariumsociety.org/html/daphnian/jen0399.htm>). March 1999.
16. Helland, S.J., Grisdale, B., Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of Fish in tanka. *Aquaculture*, 139, 157-163.
17. Holmstrup, M., Mathilde, H., Slotsbo, S., 2020. Salinity of the growth medium is important for production potential and nutritional value of white worms (*Enchytraeus albidus* Henle). *Aquaculture Research*, 51(7), 2885-2892.
18. Holmstrup, M.E., Gadeberg, S.F., Engell-Sørensen, K., Slotsbo, S., Holmstrup, M., 2022. A new strategy in rearing of European flounder: using live *Enchytraeus albidus* to enhance juvenile growth. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8 (11), 1333 – 1341.
19. Memis, D., Celikkale, M.S., E. Ercan., 2004. The effect of different diets on the white worm (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837) reproduction. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 4, 5-7.
20. Novais, S.C., Amadeu M.V.M. Soares., Amorim, M., 2010. *Enchytraeus albidus* ۴. حسین نیا، ا. آذری تاکامی، ق.، یوسفی جوردھی، ا. بهمنی، م.، ۱۳۹۳، فرمولاسیون نوین جیره‌های مختلف غذایی جهت تغذیه، تکثیر و پرورش کرم سفید (*Enchytraeus albidus* Henle, 1837). *مجله علوم و فنون دریایی*، ۱۳(۴)، ۲۳-۲۸.
۵. شریعتی، ا.، ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، ۲۰۶ ص.
۶. یزدی، ا.، پیرعلی خیر آبادی، ا.، رحیمی، ر.، فتح الهی، م.، میر احمدی، س.، ۱۳۹۹. اثر کرم خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *نشریه توسعه آبی پروری*، ۱۴(۱)، ۱۰۵-۱۱۹.
۷. یوسفی گراکویی، م.، کمالی، ا.، سلطانی، م.، ۱۳۹۹. مقایسه میزان رشد کرم‌های *Nereis diversicolor* تغذیه شده با مدفوع و غذای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. *نشریه توسعه آبی پروری*، ۱۴(۱)، ۱۱۹-۱۳۱.
8. Amorim, M.J.B., Römbke, J., Soares, A.M.V.M., 2005. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. 2005 Apr; 59(4), 501-10.
9. Amorim, M.J.B., Novais, S. Römbke, J. Soares, A.M.V.M., 2008. *Enchytraeus albidus* (enchytraeidae): A test organism in a standardised avoidance test? Effects of different chemical substances. *Environment International*, 34, 363-371.
10. Amorim, M.J., Scott-Fordsmand, J.J., 2012. Toxicity of copper nanoparticles and CuCl₂ salt to *Enchytraeus albidus* worms: survival, reproduction and avoidance responses. *Environment Pollution*, 164, 164-168.
11. Bahrioglu, E., Hac Isa, M., Cengiz, S. Ercan, E., 2023. The Effect of Fish Meal

30. Walsh, M.L., Fairchild, E.A., Rennels, N. and W.H. Howell., 2015. The effects of live and artificial diets on feeding performance of winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, in the hatchery. *Journal of World Aquaculture Society*, 46(1), 61-68.
31. Yanik, T., Mahmut Kocaman, E., Pirol, A. Mammadov, J., Ucar, A., Parlak, V., Alak, G., Atamanalp, M., 2017. Evaluation effects of addition of white worm (*Enchytraeus albidus* henle, 1837) to diets on growth of Brown trout fry (*Salmo trutta fario*). *Current Trends in Natural Sciences*, 6(12), 272-276.
32. Zanella, A., Ponge, J.F., Jabiol, B., Sartori, G., Kolb, E., Le Bayon, R.C., Gobat, J.M., Aubert, M., De Waal, R., Van Delft, B., Vacca, A., 2018. Humusica, article 5: Terrestrial humus systems and forms—Keys of classification of humus systems and forms. *Applied Soil Ecology*, 122, 75-86.
- (Oligochaeta) Exposed to Several Toxicants: Effects on Survival, Reproduction and Avoidance Behaviour. *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry Biological Responses to Contaminants*, Eds. 237–242.
21. Natal-da-Luz, T., Tidona, S., van Gestel, C.A.M., Morais, P. V. Sousa, J.P., 2009. The use of collembola avoidance tests to characterize sewage sludges as soil amendments. *Chemosphere*, 77(11), 1526-1533.
22. Rothmeier, O., pieper, S. 2009. Influence of Enchytraeidae (*Enchytraeus albidus*) and compaction on nutrient mobilization in an urban soil. *Pedobiologia*, 53, 1(25), 29-40.
23. Sine Thrane, J., Holmstrup, M. Givskov Sørensen, J., 2013. High temperature tolerance and heat hardening ability in *Enchytraeus albidus* Henle, 1837 (Oligochaeta) show no interaction with lipophilic organic pollutants. *Soil Organisms*, 85 (2), 75-83.
24. Stephenson, J., 1972. *The oligochaeta*. Clarendon Press, Oxford, 978 pp.
25. Waez-Mousavi, S.M., Habashi, H., 2012. Evaluating humus forms variation in an unmanaged mixed beech forest using two different classification methods. *Forest-Biogeosciences and Forestry*, 5(5), 272.
26. Dai, W., Slotsbo, S., Holmstrup, M., 2021. Thermal optimum for mass production of the live feed organism *Enchytraeus albidus*. *Journal of Thermal Biology*, 97, 102865.
27. Walsh, M.L., 2012. Potential of white worms, *Enchytraeus albidus*, as a component for aquaculture and stock enhancement feeds. *World Aquaculture Magazine*, 43 (3), 44–46.
28. Walsh, M.L., 2012. Examining conditioning strategies for flatfis stock enhancement to promote feeding success. Ph.D. dissertation, University of New Hampshire, Durham, NH, USA.
29. Walsh, M.L., 2012. Examining conditioning strategies for flatfis stock enhancement to promote feeding success. Ph.D. dissertation, University of New Hampshire, Durham, NH, USA.

Comparison Interaction effects of substrate and different protein diets on the growth and reproduction of white worm (*Enchytraeus albidus* Henle 1837)

Tizkar, B.^{1*}, Alinezhad, S.², Zoughi Shalmani, A.¹, Hafezieh, M.³

1- Aquatics and Fisheries Research Department, Guilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Rasht, Iran.

2- Institute of Agricultural Education and Extension, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

3- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Received: 16 October 2023 Accepted: 19 December 2023

Abstract

This study focuses on the interactive effects of biological substrate and diet protein reserve on the growth parameters and reproduction of white worm (*Enchytraeus albidus*). Two substrates including humus and loamy soil (a mix of %70 humus and %30 peat moss) were used with three diets (with %20, %25 and %30 protein concentrations) followed by the use of 18 plastic boxes (30×20×15 cm) filled with 8cm depth of the afore mentioned soils. Upon preparing the substrate and the designated diets, a primary stock of 10 gram of the worms were released in each treatment. The worms were fed with the experimental diets for three months based on %60 of their biomass. Weight biometrics of worms in all treatments was conducted once during the course of study. At the end, calculations were made on larval number, the number of larvae with generative cycle, brood stock increment rate, the number of larvae as per each brood stock, individual brood stock weight (mg), final biomass (in grams), ultimate brood stock number and the production cost of the diet per each kilogram of worm. The results showed interactive effects on certain growth and reproductive parameters among various substrates and the nutrition diets, revealing significant interactive effects on final biomass, brood stock increment rate, ultimate brood stock number, special coefficient No and diet production cost ($p < 0.05$). The brood stock with generative cycle showed a rising trend with the increase in diet protein reserve ($p < 0.05$). White worms in the mixed substrate had better growth performance than those of in humus with significantly higher larval number, brood stock with generative cycle, final larval weight and weight growth coefficient ($p < 0.05$).

Keywords: White worm (*Enchytraeus albidus*), growth substrate, diet protein, live feed, ornamental fish

* Corresponding Author: b.tizkar@areeo.ac.ir