



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره هفتم، شماره اول، بهار ۹۸

<http://jair.gonbad.ac.ir>

اثرات تغذیه با سطوح مختلف کرم خاکی (*Eisenia fetida*) بر عملکرد رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

محمد خادمی حمیدی^۱، محمد هرسیج^{۲*}، حجت‌اله جعفریان^۳، محمد فرهنگی^۲

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

^۲استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

^۳دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران

تاریخ ارسال: ۹۷/۱/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۲۱

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی استفاده از کرم خاکی (*E. fetida*) به‌عنوان مکمل غذایی بر عملکرد رشد و ترکیبات لاشه و تغییرات آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) طراحی شد. ماهیان با میانگین وزنی ۵۸ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و هر یک با ۳ تکرار جایابی شدند. بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با سطوح مختلف صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد (شاهد، T1، T2 و T3) جیره غذایی (با احتساب ۵۰٪ رطوبت) از کرم زنده به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان آزمایش، عملکرد رشد و آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی بدن، عملکرد تغذیه و آنالیز آنزیم‌های گوارشی بدن انجام شد. مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده از وزن نهایی، افزایش وزن، درصد رشد روزانه و نرخ رشد ویژه نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی بود. بیشترین مقدار وزن نهایی در تیمار T2 و کمترین آن در تیمار شاهد به‌دست آمد. مقدار پروتئین و چربی لاشه بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت. بیشترین مقدار پروتئین و چربی لاشه به‌ترتیب در تیمار T2 و T1 مشاهده شد. تفاوت آماری معنی‌داری در مقدار ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود داشت. به‌طوری‌که کمترین آن در تیمار T2 و بیشترین آن در تیمار به‌دست آمد. آنالیز آنزیم‌های گوارشی نشان داد که مقادیر آمیلاز، پروتئاز و لیپاز بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری دارد. بیشترین و کمترین مقادیر به‌دست آمده از آنها به‌ترتیب در

*نویسنده مسئول: m_harsij80@yahoo.com

تیمار T2 و شاهد بود. نتایج نشان داد که استفاده از ۵۰ درصد کرم زنده به جای جیره پایه می‌تواند منجر به افزایش بهره‌وری غذایی و فعال شدن آنزیم‌های گوارشی و بهبود رشد و ترکیبات لاشه شود.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، کرم خاکی، بهره‌وری تغذیه، آنزیم‌های گوارشی، ترکیبات شیمیایی بدن

مقدمه

افزایش جمعیت کره زمین و نیاز به تأمین غذا به‌عنوان یک اصل مهم باعث شده است که توجه مردم به امر بهره‌برداری حداکثر از منابع معطوف گردد. هدف اولیه از ساخت غذا برای ماهیان فراهم کردن مخلوطی متعادل از مواد خوراکی جهت رفع نیازهایی مانند انرژی نگهداری، رشد یا تولید مثل و سلامت می‌باشد. غذای مورد نیاز می‌بایست از خوش خوراکی لازم برخوردار بوده و فاقد ترکیبات ضد غذایی باشد، زیرا این ترکیبات مانع از عملکرد مناسب ماهی می‌شوند. اولین ماده مغذی که در ساخت غذا در نظر گرفته می‌شود پروتئین است که برای تأمین آمینو اسیدهای ضروری بدن مورد نیاز است (NRC, 2011). محدودیت منابع پروتئینی در کشور نیز به همراه نیاز مردم به تأمین غذا و تقویت بنیه اقتصادی محققین را به پا خواسته تا جایگزین مناسبی برای پودر ماهی انتخاب کنند. استفاده بیش از حد از پودر ماهی در غذای آبزیان و سایر حیوانات و از سوی دیگر افزایش فشار بر منابع ماهیان دریایی، سبب افزایش روز افزون قیمت این محصول شده است. طبق اعلام سازمان خواروبار جهانی از سال ۲۰۰۲ تا ۲۰۱۰ صید این ماهیان ۶/۵ میلیون تن کاهش داشته است (FAO, 2012). پودر ماهی به عنوان مهمترین منبع پروتئینی در غذای ماهیان مطرح بوده و تقریباً دو سوم پروتئین در غذای آبزیان را شامل می‌شود (McCoy, 1990). مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از کرم خاکی در جیره‌های غذایی آبزیان خوراکی صورت گرفته است. از کرم خاکی در تغذیه پست لارو میگوی پاسبید غربی (*Penaeus vannamei*) و میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergi*) توسط کوریا و همکاران (Correia et al., 2010) جهت افزایش رشد و نیز تسریع تخم‌ریزی در میگوهای مولد استفاده شده است. اشتیاق بالای پست لارو به تغذیه از کرم و نیز افزایش نرخ رشد میگوها، قابل توجه بود.

کرم خاکی گونه *Eisenia foetida* یکی از گونه‌هایی است که از یک سو به‌دلیل سرعت رشد و نرخ تولید مثل بالا و بلوغ زودرس و از سوی دیگر تراکم پذیری بالا در بستر پرورش، کاربرد زیادی در سطح تجاری جهت تولید ورمی کمپوست دارد (Edwards et al., 2010). براساس مطالعه تاکون و همکاران (Tacon et al., 1983) این گونه حاوی ۵۷ تا ۶۰ درصد پروتئین بوده و دارای پروفیل آمینو اسیدی مناسب به‌خصوص از نظر لیزین به عنوان اولین آمینو اسید محدودکننده، می‌باشد. کرم خاکی دارای ۶۲٪ پروتئین، ۲۰-۸٪ کربوهیدرات، ۱۰-۷٪ چربی و ۳-۲٪ خاکستر است (Shamsaei Mehrjan and Amini, 2011). نتایج پژوهش سلیمانی و همکاران (Soleimani et al., 2015) نشان داد که استفاده از

پودر کرم خاکی در سطوح ۱۰ و ۲۰ درصد جایگزینی باعث بهبود شاخص‌های رشد تاسماهی سیبری می‌شود. در مطالعه نصراله احمدی‌فر و همکاران (Ahmadifard et al., 2016) روی ماهی دم شمشیری از تیمارهای ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد کرم‌خاکی (*E. foetida*) در کنار غذای تجاری استفاده نمودند.

کرم خاکی یک منبع پروتئینی با ارزش و قابل مقایسه با پودر ماهی است که پرورش آن روی مواد غذایی کم ارزش امکان پذیر می‌باشد. علاوه بر این، کرم خاکی کاملاً با طبیعت سازگار بوده و می‌تواند راه حل مناسبی برای معضل انباشتگی کود دامی و ضایعات کشاورزی باشد. کرم خاکی بسیار سریع تکثیر یافته و می‌توان از آن به عنوان یک پروتئین غذایی برای تغذیه ماکیان و آبزیان پرورشی استفاده نمود (Edwards et al., 1980). همچنین به دلیل وجود ترکیبات مناسب اسیدهای پرچرب و اسیدهای آمینه ضروری و وجود امگا-۳ زیاد به منظور رفع نیازهای تغذیه‌ای انواع آبزیان، مورد توجه قرار گرفت که استفاده از آن را در پرورش دوران نوزادی و لاروی انواع آبزیان به دلیل هضم و جذب آسان کاربردی می‌باشد. صنعت پرورش کرم خاکی با توجه به نقش آن در مدیریت پسماند و تولید انبوه کرم خاکی و استفاده از آن در غذای حیوانات به طور قابل ملاحظه‌ای رشد کرده است (Edwards, 2004; Sogbesan and Ugwumba, 2008). کرم‌های خاکی را می‌توان با استفاده از مواد آلی و پسماندها به طور صنعتی یا در مقیاس کوچکتر تولید نمود. به واسطه فعالیت کرم‌ها این پسماندها تبدیل به کمپوست شده که محیط مناسبی برای رشد گیاهان محسوب می‌شود. به عنوان یک محصول جانبی، کرم‌ها خود قادرند منبع با ارزشی از پروتئین تلقی شده و برای تغذیه حیوانات مورد استفاده قرار گیرند. باتوجه به کمبود ذخایر پروتئینی و هزینه بالای تامین آن در خوراک آبزیان، هدف از انجام این مطالعه جایگزینی کرم خاکی به جای بخشی از پروتئین مورد نیاز ماهی بوده است.

مواد و روش‌ها

کرم خاکی زنده (*E. fetida*) پس از خریداری از کارگاه تولید کمپوست در شهرستان ساری (ساری، ایران) به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبدکاووس انتقال یافت. ابتدا برای جداسازی کرم از کمپوست، شستشوی آنها انجام شد. برای ضدعفونی و احتمال وجود آلودگی کرم‌ها با محلول نمکی ۲٪ حمام داده شد. جهت تسریع در غذاگیری و عمل بلع توسط ماهی، کرم‌ها به قطعات کوچک خرد شدند. این آزمایش به مدت ۸ هفته در آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبدکاووس به طول انجامید. در این مدت غذادهی روزانه به میزان حدود ۲٪ وزن بدن براساس وزن ماهی و دمای آب در ۳ وعده (ساعات ۹ صبح، ۱۲ ظهر و ۳ عصر) انجام شد. جهت تخلیه مدفوع و غذای باقی‌مانده تعویض آب به میزان ۲۰٪ روزانه صورت پذیرفت. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و هر کدام با ۳

تکرار انجام شد به‌طوری‌که تیمار شاهد (غذای کنسانتره و بدون مصرف کرم)، تیمار T1 (۲۵٪ کرم + ۷۵٪ کنسانتره)، T2 (۵۰٪ کرم + ۵۰٪ کنسانتره) و T3 (۷۵٪ کرم + ۲۵٪ کنسانتره) بود.

آب مخازن از آب چاه تأمین و در تمام مدت با استفاده از دستگاه هواده و سنگ هوا، هوادهی به آب صورت می‌گرفت. در طی این آزمایش پارامترهای کیفی آب شامل دما (۱۸ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن (۶ میلی‌گرم در لیتر) و پی‌اچ (۷/۵) به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. برای انجام بیومتری و نمونه‌برداری از ۲۴ ساعت قبل، غذادهی قطع شد تا دستگاه گوارش ماهیان خالی شود و بعد از صید با پودر گل میخک بیهوشی انجام شد. از تخته بیومتری با دقت ۱ میلی‌متر برای اندازه‌گیری طول و از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم برای سنجش وزن استفاده شد. در پایان دوره به‌منظور بررسی عملکرد رشد و کارآمدی غذا در بین تیمارها شاخص‌هایی مانند: وزن نهایی، وزن کسب شده درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی، سنجش بهره‌وری تغذیه، کارایی تبدیل غذا، نرخ کارایی پروتئین، نرخ کارایی چربی، وزن کبد، وزن روده و مقدار غذای مصرفی براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

افزایش وزن بدن: $BWI = wt_2 - wt_1$ (Tacon *et al.*, 1983) گرم وزن اولیه ماهی و wt_2 = گرم وزن نهایی ماهی

درصد افزایش وزن بدن: $PBWI (\%) = \{(wt_2 - wt_1) / wt_1\} \times 100$ (Bekcan, 2006) wt_1 = وزن اولیه ماهی و wt_2 = وزن نهایی ماهی (g)

نرخ رشد ویژه (درصد در روز): $SGR (\%/day) = \{(Ln wt_2 - Ln wt_1) / (t_2 - t_1)\} \times 100$ (Hevroy *et al.*, 2005) $Ln wt_2$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی؛ $Ln wt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی؛ طول دوره آزمایش $t_2 - t_1$ ؛ **رشد روزانه (گرم در روز):** $GR (g/day) = \{wt_2 - wt_1 / (t_2 - t_1)\}$ (De silva and Anderson, 1995) طول دوره آزمایش $t_2 - t_1$

فاکتور وضعیت: $CF = \{W / L_3\} \times 100$ (Bagenal, 1978) W = وزن ماهی (g)؛ L = طول ماهی (cm)؛ **درصد بازماندگی:** (Bagenal, 1978) (تعداد ماهی موجود در ابتدای دوره N_T - تعداد ماهی باقی مانده در انتهای دوره N_0) $\times 100$

ضریب تبدیل غذایی: (Hevroy *et al.*, 2005) مقدار غذای خورده شده (g) / افزایش وزن بدن (g) $FCR =$ در انتهای دوره به‌منظور تعیین ترکیبات لاشه پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، به‌طور تصادفی از هر تکرار ۳ قطعه ماهی صید گردید. ماهیان پس از بیهوشی و عمل بیومتری کشته شده و امعاء و احشاء و اجزای گوارشی خارج گردید. لاشه‌ها در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان جهت اندازه‌گیری ترکیبات بدن همچون پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر منتقل گردید. جهت آنالیز تقریبی ترکیبات بیوشیمیایی

نمونه‌ها از روش استاندارد (AOAC, 2000) استفاده شد. ترکیبات مورد نظر شامل رطوبت، چربی کل، پروتئین کل و خاکستر بود. درصد رطوبت از طریق خشک کردن ۱۰ گرم از نمونه پودر شده در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت تعیین شد (AOAC, 2000). بعد از خارج کردن بوته چینی از آون به مدت ۳۰ دقیقه آن را در دسیکاتور قرار داده تا خنک شود. نمونه باقی مانده را وزن کرده، اختلاف وزن نمونه اولیه با وزن خشک بیانگر میزان رطوبت نمونه است. میزان چربی کل به روش سوکسله تعیین شد (James, 1995). سنجش پروتئین به روش کج‌لدال (James, 1995) و با استفاده از دستگاه Kjeldtherm انجام شد. مقدار خاکستر نمونه به‌وسیله کوره الکتریکی تعیین شد (AOAC, 2000).

مقدار فعالیت آنزیم آمیلاز به روش دستی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی و مقدار فعالیت آنزیم لیپاز به روش آنزیمی، کالریمتری با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، آمیلاز براساس روش ورتینگتون (Worthington, 1993) و لیپاز براساس روش لیجیما و همکاران (Lijima *et al.*, 1998) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش از ۴ سطح مصرفی کرم خاکی زنده استفاده شد که به شرح ذیل می‌باشد (جدول ۱):

جدول ۱- سطوح کرم خاکی زنده استفاده شده در بررسی اثرات تغذیه با سطوح مختلف کرم خاکی (*E. fetida*) بر عملکرد رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

تیمارهای آزمایشی	مقدار مصرف کرم خاکی زنده
شاهد	۱۰۰٪ کنسانتره
تیمار ۱	۲۵٪ کرم + ۷۵٪ کنسانتره
تیمار ۲	۵۰٪ کرم + ۵۰٪ کنسانتره
تیمار ۳	۷۵٪ کرم + ۲۵٪ کنسانتره

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور برای بررسی توزیع نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و برای داده‌های آزمایشگاهی از شاپیرووویلک، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و برای تعیین اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون چنددامنه ال‌اس دی (LSD) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج عملکرد رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. وزن اولیه و طول اولیه بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری نداشت و مقادیر آنها به ترتیب ۵۷/۲۷ گرم و ۱۷/۳۹ سانتی‌متر بود. مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده از وزن نهایی نشان از اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$). به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در تیمار ۲ با مصرف ۵۰٪ کرم ($109/24 \pm 0/69$ گرم) و کمترین آن در تیمار شاهد بدون مصرف کرم ($89/02 \pm 1/21$ گرم) به‌دست آمد. مقدار وزن به‌دست آمده، افزایش وزن، درصد رشد روزانه بین تیمارهای مصرف‌کننده سطوح مختلف کرم در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$). بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری در مقدار نرخ رشد ویژه وجود داشت ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین مقادیر به‌دست آمده به ترتیب در تیمارهای ۲ ($1/43 \pm 0/01$ درصد در روز) و شاهد ($1/00 \pm 0/03$ درصد در روز) بود. ضریب چاقی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری نداشت به‌طوری‌که بیشترین مقدار در تیمار ۱ و کمترین مقدار در تیمار ۴ به ثبت رسید ($P > 0.05$). بازماندگی در طول دوره آزمایش ۱۰۰ درصد بود.

جدول ۲- عملکرد رشد و کارایی غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف کرم خاکی پس از ۸ هفته غذایی

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (g)	۵۷/۸۴±۰/۳۳	۵۷/۲۸±۰/۲۷	۵۷/۴۴±۰/۳۳
وزن نهایی (g)	۱۰۰/۵۹±۱/۲۵ ^c	۱۰۹/۲۴±۰/۶۹ ^a	۱۰۴/۲۹±۰/۷۴ ^b
وزن به‌دست آمده (g)	۴۲/۷۴±۱/۲۹ ^c	۵۱/۹۵±۰/۶۵ ^a	۴۶/۸۴±۰/۷۵ ^b
افزایش وزن (/.)	۰/۴۲±۰/۰۱ ^c	۰/۵۱±۰/۰۰ ^a	۰/۴۶±۰/۰۰ ^b
طول اولیه (cm)	۱۷/۳۰±۰/۵۰	۱۷/۷۳±۰/۶۲	۱۷/۵۳±۰/۷۶
طول نهایی (cm)	۲۲/۵۸±۰/۸۷	۲۳/۶۷±۱/۰۲	۲۳/۷۲±۰/۹۶
طول به‌دست آمده (cm)	۵/۲۸±۱/۲۸ ^{ab}	۵/۹۴±۱/۱۶ ^{ab}	۶/۰۶±۱/۲۵ ^a
نرخ رشد ویژه (/t)	۱/۲۲±۰/۰۳ ^c	۱/۴۳±۰/۰۱ ^a	۱/۳۲±۰/۰۱ ^b
درصد رشد روزانه	۱/۶۴±۰/۰۵ ^c	۲/۰۱±۰/۰۳ ^a	۱/۸۱±۰/۰۳ ^b
ضریب چاقی	۰/۸۵±۰/۰۵	۰/۸۳±۰/۱۱	۰/۷۸±۰/۱۰
بازماندگی (/.)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

نتایج مربوط به آنالیز ترکیبات لاشه در جدول ۳ ارائه شده است. باتوجه به نتایج به دست آمده مقدار پروتئین لاشه بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی (به جز تیمار ۳) تفاوت معنی دار آماری داشت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار پروتئین لاشه در تیمار ۲، برابر $66/12 \pm 0/29$ درصد و کمترین آن در تیمار شاهد و تیمار ۳، برابر $65/04 \pm 0/04$ درصد به دست آمد. مقدار چربی لاشه بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری داشت درحالی که بین شاهد و تیمار ۳ تفاوت مشاهده نشد. بیشترین و کمترین مقدار چربی به ترتیب در تیمارهای ۱ ($25/73 \pm 0/07$ درصد) و تیمار ۲ ($24/12 \pm 0/17$ درصد) بود. تفاوت آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر مقدار ماده خشک و خاکستر مشاهده شد ($P < 0.05$). کمترین مقدار به دست آمده در تیمار ۲ به ثبت رسید ($P < 0.05$).

جدول ۳- آنالیز ترکیبات لاشه بجه ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف کرم خاکی پس از ۸ هفته غذادهی (انحراف معیار $\pm$ میانگین)

ترکیبات	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
پروتئین	$65/05 \pm 0/11^b$	$63/55 \pm 0/33^c$	$66/12 \pm 0/29^a$	$65/04 \pm 0/17^b$
چربی	$24/58 \pm 0/21^b$	$25/73 \pm 0/07^a$	$24/12 \pm 0/17^c$	$24/61 \pm 0/15^b$
ماده خشک	$28/93 \pm 0/22^a$	$24/55 \pm 0/31^d$	$26/35 \pm 0/30^b$	$25/37 \pm 0/38^c$
خاکستر	$8/75 \pm 0/15^a$	$8/94 \pm 0/24^a$	$8/19 \pm 0/25^b$	$8/71 \pm 0/16^a$

حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

آنالیز آماری فاکتورهای تغذیه ای ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف کرم خاکی در جدول ۴ آورده شده است. مقدار ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی داری داشت به طوری که کمترین آن در تیمار ۲ ($1/50 \pm 0/01$) و بیشترین آن در تیمار ۳ ($1/95 \pm 0/03$) به دست آمد ($P < 0.05$). نرخ کارایی پروتئین بین تیمار شاهد و تیمارهای مصرف کننده کرم خاکی تفاوت آماری داشت ($P < 0.05$). همچنین با افزایش مصرف کرم در آزمایش نرخ کارایی چربی نیز افزایش یافت که مقادیر آن بین $1/86 \pm 0/06$ تا $4/22 \pm 0/06$ به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۳ بود. وزن کبد بین تیمار شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی (به جز تیمار ۱) تفاوت معنی دار نداشت ($P < 0.05$). اختلاف معنی داری از نظر غذای مصرفی بین تیمارها مشاهده شده به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار ۳ به ثبت رسید. بازماندگی تمامی واحدهای آزمایشی در این تحقیق ۱۰۰٪ بود.

جدول ۴- بهره‌وری تغذیه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف کرم خاکی پس از ۸ هفته غذادهی

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
ضریب تبدیل غذایی	$1/52 \pm 0/04^c$	$1/50 \pm 0/01^c$	$1/95 \pm 0/03^a$
نرخ کارایی چربی	$2/79 \pm 0/08^c$	$3/93 \pm 0/49^b$	$4/22 \pm 0/06^a$
نرخ کارایی پروتئین	$0/65 \pm 0/01^c$	$0/78 \pm 0/00^a$	$0/70 \pm 0/01^b$
وزن کبد	$1/28 \pm 0/34^b$	$1/78 \pm 0/27^a$	$1/88 \pm 0/34^a$
وزن روده	$1/72 \pm 0/26^a$	$1/77 \pm 0/19^a$	$1/21 \pm 0/20^b$
غذای مصرفی	$65/25 \pm 0/00^c$	$78/30 \pm 0/00^b$	$91/35 \pm 0/00^a$
بازماندگی(%)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0/05$).

آنالیز آنزیم‌های گوارشی در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین مقدار آن در تیمارهای ۲ ($732/67 \pm 50/16$) و شاهد ($247/67 \pm 16/01$) به‌دست آمد. مقدار پروتئاز در تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌دار افزایشی داشت ($P < 0/05$). همچنین مقدار لیپاز در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار داشت. بیشترین مقادیر به‌دست آمده از پروتئاز و لیپاز در تیمار ۲ به‌ترتیب برابر با $79/33 \pm 4/50$ و $34/33 \pm 3/05$ بود. کمترین مقدار این آنزیم‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۵- آنالیز آنزیم‌های روده بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف کرم خاکی پس از ۸ هفته (انحراف معیار $\pm$ میانگین)

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
آمیلاز	$247/67 \pm 16/01^d$	$732/67 \pm 50/16^a$	$604/67 \pm 20/51^b$
پروتئاز	$29/0 \pm 2/0^d$	$79/33 \pm 4/50^a$	$65/33 \pm 3/51^b$
لیپاز	$17/0 \pm 1/00^c$	$34/33 \pm 3/05^a$	$27/66 \pm 1/52^b$

حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

ارزش کرم‌های خاکی به‌عنوان منبعی از پروتئین توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Ortega *et al.*, 1996) این موجودات به‌عنوان منبع پروتئینی جدید حاصل از فعالیت تولید ورمی کمپوست به‌شمار می‌روند. پروفایل آمینو اسیدی ثبت شده از کرم‌های خاکی گویای ارزش آن‌ها جهت

تولید غذایی باکیفیت جهت تغذیه انواع حیوانات و ماهیان است. علاوه بر این از نظر ترکیب‌های آمینو اسیدی متیونین، سیستئین، فنیل آلانین و تیروزین که اهمیت خاصی در غذای حیوانات دارند، مورد توجه قرار دارند. از نظر اسیدهای چرب بلند زنجیره، محتوای مواد معدنی و ویتامین‌ها به‌ویژه نیاسین، می‌توانند ترکیبی مناسب جهت اضافه نمودن به غذای حیوانات به‌شمار آیند (Edwards et al., 2010). مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از کرم خاکی در جیره‌های غذایی آبزیان خوراکی صورت گرفته است. از کرم خاکی در تغذیه پست لارو میگوی پا سفید غربی (*Penaeus vannamei*) و میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergi*) کوریا و همکاران (Correia et al., 2010) جهت افزایش رشد و نیز تسریع تخم‌ریزی در میگوهای مولد استفاده شده است. اشتیاق بالای پست لارو به تغذیه از کرم و نیز افزایش نرخ رشد میگوها، قابل توجه بود. مطالعاتی که در زمینه استفاده از گونه *E. foetida* در غذای گربه ماهی آفریقایی توسط ددکه و همکاران (Dedeke et al., 2013) صورت گرفته حاکی از آن است که استفاده از آن در سطوح پایین باعث بهبود عملکرد رشد می‌شود. در مقابل مطالعه دیگری که روی جایگزینی پودر کرم خاکی در غذای کپور معمولی صورت گرفت، نشان داد که جایگزینی ۷۰٪ از پودر ماهی با پودر کرم خاکی به‌طور معنی‌داری بهترین عملکرد رشد را به‌همراه داشته است (Tuan et al., 2015). ضریب تبدیل غذایی یکی از مهمترین فاکتورهای تغذیه‌ای است که نشان از مقدار مصرف غذا در برابر افزایش وزن در طول دوره آزمایش دارد. در این تحقیق استفاده از کرم خاکی به‌میزان ۲۵ و ۵۰ درصد منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد شد اما باید توجه داشت که استفاده بیش از حد کرم خاکی (۷۵٪) می‌تواند اثر سوء در بهره‌وری تغذیه داشته باشد. ممکن است وجود مایع سلومیک در کرم خاکی دلیل اثرات منفی در سطوح مصرف زیاد آن باشد. نگ و همکاران (Ng et al., 2001) به بررسی پتانسیل میل‌ورم (*Tenebrio molitor*) به‌میزان ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد به‌عنوان یک منبع جایگزین پروتئین در جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) پرداختند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که استفاده از کرم تا ۸۰٪ جایگزینی باعث کاهش بهره‌وری تغذیه‌ای شد، بنابراین بهترین عملکرد در تیمار جایگزینی کرم به میزان ۲۰٪ مشاهده شد. در این راستا براساس نتایج به‌دست آمده می‌توان اظهار داشت که ۵۰ درصد استفاده از کرم خاکی زنده به جای غذای کنسانتره باعث افزایش بهره‌وری تغذیه و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد.

نرخ کارایی پروتئین در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار آن به‌ترتیب در تیمارهای ۲ و شاهد به‌دست آمد. ماهی قزل‌آلا در تیمار ۳ (۷۵ درصد کرم زنده) به‌دلیل سخت بودن بلع کرم خاکی نتوانست مصرف خوراک خوبی داشته باشد که این امر باعث کاهش کارایی تبدیل غذا شد. ولاسکوز و همکاران (Velasquez et al., 1991) پودر

کرم خاکی را در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد جایگزین پودر ماهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نمودند. نتایج نشان داد هیچ کدام از جیره‌ها برای سلامت ماهیان مضر و زیان آور نبوده است. جایگزینی در سطوح ۲۵ و ۵۰ درصد میزان رشد بالاتری نسبت به جیره شاهد (۰٪ کرم خاکی) داشت. همچنین ضریب تبدیل خوراک و نسبت راندمان پروتئین برای این سطوح جایگزینی بهتر از جیره شاهد بود. مطالعات زیادی در خصوص استفاده از کرم خاکی در تغذیه ماهی به‌عنوان ماده خوراکی با ارزش غذایی مطلوب انجام شده است (Velasquez et al., 1991; Cardenete et al., 1993). ثابت گردید با اضافه کردن پودر کرم خاکی در غذای ماهیان به‌خوبی قابل پذیرش است و تا سطح مشخص تأثیر منفی بر روی رشد ندارد (Velasquez et al., 1991; Óscar Pereira and Gomes, 1995). در این مطالعه مصرف کرم خاکی تا ۵۰٪ توانست بر عملکرد رشد اثر مثبت بگذارد. در همین راستا، توآن و همکاران (Tuan et al., 2015) در مطالعه کرم خاکی به‌عنوان منبع پروتئین جایگزین در جیره ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio L.*) نشان دادند که جایگزینی ۷۰٪ از پودر ماهی با پودر کرم خاکی به‌طور معنی‌داری بهترین عملکرد رشد را داشتند. تحقیقات صورت‌گرفته روی جایگزینی کرم خاکی ناشی از ارزش تغذیه‌ای بالای آن می‌باشد به‌طور مثال هیلتون (Hilton, 1983) بیان داشت که جایگزینی پودر کرم خاکی با پودر ماهی در غذای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تا سطح ۵۰٪ هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار از نظر رشد با گروه شاهد ایجاد نمی‌کند. همچنین گومز و اسکار (Óscar Pereira and Gomes, 1995) با جایگزینی کرم‌های خاکی منجمد در غذای قزل‌آلای رنگین کمان با سطوح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد بیان داشتند که هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر وزن نهایی بین تیمارها مشاهده نشد که در تضاد با مطالعه حاضر بود.

در این تحقیق مصرف کرم در همه سطوح توانست باعث افزایش معنی‌دار فاکتورهای رشد نسبت به تیمار شاهد شود. بیشترین مقدار وزن نهایی در تیمار ۲ با مصرف ۵۰٪ کرم و کمترین آن در تیمار شاهد بدون مصرف کرم به‌دست آمد. در همین راستا، تاگون و همکاران (Tacon et al., 1983) گزارش کردند که پودر کرم خاکی قابلیت جایگزینی در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ درصد با پودر ماهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را داشته و حتی در برخی آزمایشات توانسته است افزایش وزن بیشتری را بدون این که اثرات نامطلوبی بر عملکرد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان داشته باشد ایجاد نماید.

بکارگیری کرم خاکی در جیره غذایی می‌تواند بر ترکیبات لاشه اثر گذار باشد و البته لازم است که برای دست یافتن مقدار مناسب و دقیق مصرف باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد. در این مطالعه آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی بدن نشان داد که مقدار پروتئین و چربی لاشه بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار آماری داشت. بیشترین مقدار پروتئین و چربی لاشه به‌ترتیب در تیمار ۲ و ۱ به‌دست آمد. گاسکو و همکاران (Gasco et al., 2016)، گزارش کردند که بکارگیری کرم (*Tenebrio*

(*Dicentrarchus labrax* L.) به میزان ۲۵ و ۵۰ درصد در رژیم غذایی ماهی باس دریایی باعث کاهش عملکرد رشد، افزایش غیرمعنی دار ترکیبات بیوشیمیایی، اسید چرب اشباع شده و اسید چرب کل می شود. تاکنون و همکاران (Tacon et al., 1983) ارزش غذایی سه نوع کرم خاکی *E. fetida*، *Allobohara longa* و *Lumbricus terrestris* را در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان به جای پودر ماهی هرینگ مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که ماهی هایی که پلت ۵۰٪ پودر کرم خاکی ایزینیا فتیدا مصرف کرده بودند، میزان رشد آنها همانند میزان رشد در تیمار ۱۰۰٪ پلت با پودر ماهی هرینگ بود. همچنین مقدار چربی لاشه ماهی هایی که با جیره حاوی کرم *L. terrestris* و *A. longa* تغذیه شدند پایین بود. موافق با این گزارش، با افزایش سطح مصرف کرم خاکی مقدار چربی نیز کاهش یافت. محققین مؤسسه آبی پروری دانشگاه استرلینگ اسکاتلند گزارش دادند که کرم های خاکی دارای ارزش غذایی و پروتئینی بیشتری نسبت به غذاهای دستی هستند و جزء غذاهای مناسب و مفید جهت تغذیه انواع ماهیان قزل آلا می باشند. ولاسکوز و همکاران (Velasquez et al., 1991) پودر کرم خاکی گونه ایزینیا فتیدا را که در سطوح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰٪ جایگزین پودر ماهی کرده بودند مشاهده نمودند که ترکیبات شیمیایی گوشت فیله ماهی تفاوت معنی داری بین جیره ها از نظر ماده خشک، پروتئین و خاکستر وجود ندارد اما کاهش معنی داری از نظر محتوی چربی بدن یا گوشت فیله همراه با افزایش پودر کرم خاکی در جیره مشاهده شد. شاید تناقض در نتایج محققین به دلیل نوع گونه کرم، نحوه مصرف آن (پودر و یا زنده)، نوع آبی (گرم آبی و یا سردآبی) و شرایط آزمایشی باشد. نتایج آنالیز آماری به دست آمده نشان داد که استفاده از ۵۰٪ کرم زنده به جای جیره پایه می تواند باعث بهبود رشد و ترکیبات لاشه شود. کرم خاکی با داشتن پروتئین بالا (۴۵ تا ۷۰ درصد) و اسیدهای چرب مناسب می تواند تأثیر مثبتی بر رشد غدد جنسی و میزان باروری ماهی داشته باشد (Rezvani et al., 2011). آنالیز آنزیم های گوارشی نشان داد که مقادیر آمیلاز، پروتئاز و لیپاز بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی دار آماری دارد. بیشترین مقادیر به دست آمده از آنها در تیمار ۲ بوده است و کمترین مقدار این آنزیم ها در تیمار شاهد مشاهده شد. در همین راستا نگوین و همکاران (Nguyen et al., 2010) نیز از پودر کرم خاکی به عنوان یک منبع پروتئینی در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان استفاده کردند که به نتایج مشابهی دست یافتند.

باتوجه به اهمیت شناسایی منابع خوراکی جدید و استفاده از آنها در تغذیه ماهی، در مطالعه حاضر از کرم خاکی گونه *E. fetida* به عنوان یک ماده خوراکی پروتئینی در جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان استفاده گردید. در این راستا اثرات کاربرد کرم خاکی بر بهره وری تغذیه و آنالیز آنزیم های گوارشی مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی بهترین میزان استفاده از کرم خاکی ۲۵ و ۵۰ درصد بود که با افزایش میزان مصرف آن، اثرات منفی در فاکتورهای تغذیه ای و همچنین ترشح آنزیم های روده به وجود آمد.

منابع

- Ahmadifard N., Sotoudeh M., Imani A. 2016. Effect of commercial food replacement with earthworm (*Eisenia foetida*) on growth, survival, the number of larvae and their resistance to salinity stress in swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 25(3): 231-241. (In Persian).
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Horwitz W. 18th edition 2006, Washington, DC, USA. 1018 P.
- Bagenal T. 1978. Methods of Assessment of Fish Production in Freshwater. Blackwell. Scientific pub. Oxford, London, UK. 229 P.
- Bekcan S.D. 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. Bamidgheh, 58(2): 137-142.
- Correia C.J., Murphy J.G., Irons J.G., Vasi A.E. 2010. The behavioral economics of substance use: Research on the relationship between substance use and alternative reinforces. Journal of Behavioral Health and Medicine, 3: 216-237.
- De Silva S.S., Anderson T. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Springer Science & Business Media. Springer Netherlands. 320 P.
- Dedeke G., Owa S., Olurin K., Akinfe A., Awotedu O. 2013. Partial replacement of fish meal by earthworm meal (*Libyodrilus violaceus*) in diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. International Journal of Fisheries and Aquaculture, 5: 229-233.
- Edwards C.A. 2004. Earthworm Ecology: the Use of Earthworms in the Breakdown of Organic Wastes to Produce Vermicomposts and Animal Feed Protein. 2nd edition. CRC Press. USA. 448 P.
- Edwards C.A., Arancon N.Q., Sherman R.L. 2010. Vermiculture Technology; Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management, CRC press. USA. 578 P.
- Edwards F.N., Hartenstein R., Kplan. D.L. 1980. Growth of the earthworm *Eisenia foetida* in relation to population density and food rationing. Oikos, 305: 95-98.
- FAO. 2012. The State of Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 182 P.
- Gasco L., Henry M., Piccolo G., Marono S., Gai F., Renna M., Lussiana C., Antonopoulou E., Mola P., Chatzifotis S. 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent. Animal Feed Science and Technology, 220: 34-45.
- Hevroy E.M., Espe M., Waagb R., Sandnes K., Ruud, M., Hemre G.I. 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11: 301-313.

- Hilton J. 1983. Potential of freeze-dried worm meal as a replacement for fish meal in trout diet formulaions. *Aquaculture*, 32: 277-283.
- James C.J. 1995. *The Analytical Chemistry of Foods*. Chapman and Hall Press, New York, USA. 86 P.
- Lijima N., Tanaka S., Ota Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated Lipase from the hepatopancreas of red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59-69.
- McCoy H.D. 1990. Fishmeal-the critical ingredient in aquaculture feeds. *Aquaculture*, 16: 43-50.
- 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.
- Nguyen C.T., Langenbacher A., Hsieh M., Chen J.N. 2010. The Paf1 complex component Leol is essential for cardiac and neural crest development in zebrafish. *Developmental Biology*, 341(1): 167-175.
- NRC. 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. The National Academic Press, Washington, DC, USA. 392 P.
- Ortega C.M., Reyes O.A., Mendoza M.G. 1996. Chemical composition of earthworm (*Eisenia foetida* and *Lumbricus rubellus*) silages. *Archivos Latino Americanos de Nutricion*, 46: 325-328.
- Óscar Pereira J., Gomes E.F. 1995. Growth of rainbow trout fed a diet supplemented with earthworms, after chemical treatment. *Aquaculture International*, 3: 36-42.
- Rezvani A., Mojazi Amiri B., Manouchehri H., Abadian R. 2011. Measurement of Gonadal DevelOpment of *Astronotusocellatus* (Cuvier, 1829) as a Result of Feeding Earthworm (*Eisenia foetida*). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 1(1): 11-13.
- Shamsaei Mehrjan M., Amini Sh. 2011. Producing possibility of earth worm (*Eisenia foetida*) in warm water fish farms in order to apply in common carp feeding. *Journal of Fisheries (Islamic Azad University, Azad Shahr Branch)*, 5(3): 109-117. (In Persian).
- Sogbesan A., Ugwumba A. 2008. Nutritional values of some non-conventional animal protein feedstuffs used as fishmeal supplement in aquaculture practices in Nigeria. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 159-164.
- Soleimani M., Sajadi M., Falahatkar B. 2015. Replacement of fish powder with earthworm powder in diets of Siberian daisies and its effect on growth performance, food efficiency and carcass composition. *Journal of Aquatic Ecology*, 5(3): 21-30. (In Persian).
- 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.

- Tuan N.N., Pucher J., Becker K., Focken U. 2015. Earthworm powder as an alternative protein source in diets for common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*, 47(9): 2917-2927.
- Velasquez L., Ibanez I., Herrera C., Oyarzun M. 1991. A note on the nutritional evaluation of worm meal (*Eisenia feotida*) in diets for rainbow trout. *Animal Production*, 53: 119-122.
- Worthington C.C. 1993. *Worthington Enzyme Manual*. Enzymes and related Biochemicals. Worthington Chemical. New Jersey, USA. 730 P.