



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 3, 2021, pages: 11-26



Effects of casein blood substitute feed on growth, survival and reproduction of native Iranian medical leech, *Hirudo orientalis*

Abbas Torabiyani¹, Majidreza Khoshkholgh^{*1}, Sajad Nazari²

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

2- Shahid Motahary Cold-water Fishes Genetic and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yasouj, Kohgiluyeh and Boyer Ahmad, Iran

Received 10 May 2021

Revised 11 September 2021

Accepted 16 September 2021

KEYWORDS

Medicinal leech

Nutrition

Casein

Growth factors

Hirudo orientalis

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of casein blood substitute feed on the growth, survival and reproduction of *Hirudo orientalis*. At first, 100 leeches with an average weight of 3 g were reproduced. The growth indices of 200 leeches (with an initial weight of 0.038 ± 0.012 g) were measured during 10 months and also reproductive characteristics of 50 leeches during the 8th to 10th months. Leeches were fed at 30-day intervals under two treatments: using fresh blood (T₁) or blood substitute feed (T₂). During the rearing period, the growth of blood-fed leeches (T₁) was significantly ($p < 0.05$) faster than the blood substitutes-fed group (T₂). In the 10th month, the two groups exhibited an 18% weight difference with each other. Although the amount of weight, length, diameter and number of cocoons produced in T₁ were higher than T₂, however the differences were not statistically significant ($p < 0.05$). Survival rate was higher in T₁ during growth and reproduction. Fertility was diagnosed in almost all adults in T₁ (98%) and in most leeches of T₂ (91%). The number of infants in T₁ was significantly ($p < 0.05$) higher than T₂. It can be concluded that casein blood substitute feed causes less growth, reproduction and survival rate compared to fresh blood ($p < 0.05$) in *H. orientalis*. However, due to health and breeding problems, using fresh blood in the reproduction and breeding time intervals of the leeches on the one hand, and the proximity of the results of the two treatments on the other hand, it can be concluded that the blood substitute feed reduces production costs, facilitates feeding of leeches and producing hygienic leeches, hence.

*Corresponding author: majidreza@guilan.ac.ir



"مقاله پژوهشی"

اثر غذای جایگزین خون کازئینه بر رشد، بقا و زادآوری زالوی طبی بومی ایران، *Hirudo orientalis*

عباس ترابیان^۱، مجیدرضا خوش خلق^{۱*}، سجاد نظری^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

۲- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری، یاسوج، کهگیلویه و بویراحمد

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر غذای جایگزین خون کازئینه بر رشد، بقا و تولیدمثل زالوی اورینتالیس (*Hirudo orientalis*) انجام شد. ابتدا ۱۰۰ زالو با میانگین وزن ۳ گرم تکثیر شدند. از نوزادان حاصل شده (با وزن اولیه 0.12 ± 0.38 گرم)، عوامل رشد برای ۲۰۰ زالو در طی ۱۰ ماه و مشخصات زادآوری برای ۵۰ زالو در طی ماه‌های ۸ تا ۱۰ اندازه‌گیری شد. زالوها در دو تیمار استفاده از خون تازه (T₁) و استفاده از غذای جایگزین خون (T₂) در فواصل ۳۰ روز یک بار تغذیه شدند. در طی دوره پرورش، رشد زالوهای تیمار T₁ نسبت به T₂ به‌طور معنی‌دار ($p < 0.05$) سریع‌تر بود و در ماه دهم، دو تیمار با یکدیگر ۱۸٪ اختلاف وزن داشتند. اگرچه مقدار وزن، درازا، قطر و تعداد پیله تولیدی در T₁ از T₂ بیشتر بود، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) نداشتند. میزان بقا در T₁ در طی دوره رشد و تولیدمثل بیشتر بود. باروری تقریباً در همه زالوهای بالغ T₁ (۹۸٪) و غالب زالوهای T₂ (۹۱٪) تشخیص داده شد. تعداد نوزادان در T₁ به‌طور معنی‌دار ($p < 0.05$) بیش از تیمار T₂ بود. می‌توان نتیجه گرفت که غذای جایگزین خون کازئینه (T₂) در مقایسه با استفاده از خون تازه (T₁)، سبب تولید کمتر عوامل رشد، تولیدمثل و بقای کمتر ($p < 0.05$) در زالوی اورینتالیس می‌شود، اما با توجه به مشکلات بهداشتی و پرورشی، کاربرد خون تازه از یک طرف و نزدیکی نتایج دو تیمار تغذیه‌ای از سوی دیگر، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از غذای جایگزین خون سبب کاهش هزینه تولید، تسهیل غذادهی به زالوها و تولید زالوی بهداشتی می‌شود.

Hirudo orientalis

مقدمه

تعداد زالوهای شناسایی شده تاکنون از ۸۰۰ گونه فراتر رفته (Ceylan et al. 2021)، اما تنها تعداد کمی از آنها زالوی طبی هستند (Sket and Trontelj, 2007). سابقه کاربرد زالوی طبی به قرن‌ها قبل برمی‌گردد (Phillips and Siddall, 2009) و امروزه نیز در طب مدرن و سنتی و در دامپزشکی و تولید محصولات آرایشی و بهداشتی و در حوزه‌های مطالعات علوم زیستی به‌عنوان جانور مدل استفاده می‌شود (Petrauskiene, 2008). زالوهای پزشکی شناخته شده و رایج در تجارت جهانی به جنس *Hirudo* تعلق دارند (Saglam, 2011; CITES, 2020) که شامل ۸ گونه از جمله *Hirudo orientalis* هستند. اطلاع دقیقی از میزان تولید و مصرف زالوی طبی در جهان در دسترس نیست. بریتانیا سالیانه ۳ میلیون عدد زالو وارد کرده و مصرف سالیانه زالو در روسیه به ۳۰ میلیون عدد می‌رسد (Utevsky et al. 2010; Ceylan et al. 2021).

با وجود اهمیت زیاد این گونه ارزشمند ملی، گسترش آلودگی‌های زیست‌محیطی، حذف میزبان‌های اصلی آنها از بدنه‌های آبی برای نوشیدن آب و صید بی‌رویه و بالاتر از حد توان ترمیم ذخایر طبیعی زالو به منظور بهره‌برداری از آنها در زمینه‌های مختلف علوم پزشکی، بیوشیمی، سم‌شناسی، صیادی، طب سنتی، جانور مدل و موارد مصرف روزافزون دیگر در جهان و همچنین صادرات بی‌رویه و غیرمجاز این حیوان به دیگر کشورها موجب شده تا این گونه مهم در فهرست موجودات در معرض خطر انقراض قرار گیرد (CITES, 2020) و لزوم توجه به تکثیر و پرورش مصنوعی آن را بیش از پیش آشکار کند. اطلاع از خصوصیات زیستی جاندار برای حفاظت از گونه‌های بومی بسیار مهم است تا هم‌زمان با حفاظت از زیست‌بوم‌های طبیعی جاندار، عملیات مدیریت حفاظت پایدار در باره موجود زنده به‌درستی انجام شود (Maleki Sadabadi et al. 2017). برای مثال، اطلاع از رفتارهای تولیدمثلی گونه، به ارتقا و بهبود پرورش، تکثیر و اقدامات تجاری مرتبط با جاندار هدف کمک می‌کند (Ceylan, 2020). بیشتر مطالعات زیست‌شناسی صورت گرفته درباره زالوهای طبی، امروزه بر گونه‌های *H. medicinalis*، *H. verbana* و *H. orientalis* تمرکز

یافته است (Malek et al. 2019; Manav et al. 2019) و تاکنون زیست‌شناسی رشد و تولیدمثل اورینتالیس در کشور بررسی نشده و مطالعه تغذیه‌ای بر این گونه ارزشمند بومی که به‌طور طبیعی در زیست‌بوم‌های کشور وجود دارد (جدیدفرد، ۱۳۹۳) و از مهمترین زالوهای طبی جهان بوده و نقش مهمی در تجارت جهانی این صنعت دارد (Saglam, 2011; CITES, 2020) انجام نشده است. مصرف خون در پرورش زالو محدودیت‌های قانونی، بهداشتی، اقتصادی، پرورشی، کاربردی و عملکردی داشته و ضمن اینکه فعالیت پرورشی زالو را محدود و مشکل می‌کند سبب کاهش بهره‌وری اقتصادی می‌شود. فروش و مصرف زالوهایی که با خون تغذیه شده‌اند، در بسیاری از کشورها منع قانونی داشته و از ارزش اقتصادی بسیار کمتری برخوردار است (Utevskaya and Atramentova, 2002). در حالی که غذای جایگزین خون را می‌توان در هر زمان و به هر مقدار که مورد نیاز است، به‌راحتی تهیه و استفاده کرد. نگهداری، آماده سازی و مصرف آن آسان بوده و کاربرد آن هم از نظر هزینه تولید و هم از نظر ارزش افزوده ناشی از قابلیت صادراتی زالوی تغذیه شده با آن، توجیه اقتصادی دارد. هدف مطالعه حاضر، بررسی مقایسه‌ای رشد، بقا و تولیدمثل زالوی طبی بومی کشور، *H. orientalis* تحت تأثیر مصرف خون و نیز رژیم غذایی جایگزین خون کازئینه بود که برای اولین بار انجام شده است.

مواد و روش‌ها

زمان، مکان و برنامه مطالعه

مطالعه حاضر در شهر رشت (گیلان) طی سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ در سه دوره متوالی انجام شد. در دوره اول، زالوهای با وزن متوسط ۳ گرم در اردیبهشت ماه از زیستگاه طبیعی آنها جمع‌آوری، و طی ماه‌های خرداد تا شهریور ۱۳۹۹ در این تحقیق تکثیر شده و از نوزادان حاصل، در مرحله دوم برای سنجش عوامل رشد در طی ماه‌های مهر ۱۳۹۹ تا تیر ۱۴۰۰ و در مرحله سوم تحقیق برای سنجش شاخص‌های تولیدمثل در طی ماه‌های خرداد تا تیر ۱۴۰۰ استفاده شد.

تهیه زالوهای مولد

تأمین رطوبت کافی بر روی خزّه (توسط دو بار افشانه آب به فواصل ۱۲ ساعت در صبح و شب) برای جلوگیری از مرگ جنین‌های داخل پبله‌ها (Ceylan et al. 2021) نگهداری شدند.

تعیین خصوصیات رشد

خصوصیات رشد زالوها در طی ۱۰ ماه توسط ۲۰۰ عدد زالوی نوزاد تخم‌گشایی شده در این تحقیق بررسی شد. زالوها هر ۳۰ روز یک بار با خون تازه گوساله و غذای جایگزین خون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در روده گوسفند تغذیه شدند. فرزندان در ظروف ۱۰ لیتری (دارای ۵ لیتر آب کلرزدایی شده) با تراکم ۳۰ زالو در هر ظرف قرار داده شدند و تراکم نگهداری بسته به میزان رشد در طی دوره سه بار تقلیل یافت. خون از کشتارگاه صنعتی دام رشت تهیه شد. سپس، بر اساس روش متداول مورد استفاده محققان (Zhang et al. 2008; Malek et al. 2019; Manav et al. 2019) برای جلوگیری از انعقاد خون تازه از ۶ میلی‌لیتر هپارین به ازای هر لیتر خون استفاده شد. غذای جایگزین خون با فرمولاسیون اختراع ۱۰۳۳۶۳ به شرح جدول ۱ تهیه و مصرف شد.

زالوهای مولد گونه اورینتالیس (۱۰۰ عدد) از صیادان محلی زالو در زیستگاه طبیعی گونه فوق در شهر سنقر در استان گیلان تهیه شد و به مدت یک ماه در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰٪ و دوره روشنایی-تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت و تعویض آب یک روز در میان، دوره سازگاری را طی کردند و سپس بر اساس روش متداول مورد استفاده محققان (Wilkin and Scofield, 1991; Davies and Mcloughlin, 1996; Utevskaia, 1998; Saglam, 2011) به شرح زیر، پرورش و تکثیر انجام شد. در ابتدا، تغذیه زالوها برای فراهم شدن شرایط فیزیولوژیک لازم برای رشد و تکثیر انجام شد که این امر زالوهای بالغ را در حضور شرایط مناسب محیطی فراهم شده، به تولیدمثل تشویق می‌کند (Ceylan et al. 2021)، سپس، زالوها در مخزن جفت‌گیری (ظرف پت) با حجم ۱۰ لیتر، مقدار آبیگری ۸ لیتر و تراکم ۶ زالو قرار گرفتند و بعد از یک ماه، زالوهای جفت‌گیری کرده از روی وضعیت کمربند تناسلی، شناسایی شده (Wilkin, 1989) و به صورت انفرادی در ظروف پت ۱۰ لیتری با خزّه اسفانوم مرطوب نگهداری شدند. پبله‌های تولیدی به مخزن نگهداری پبله‌ها با خزّه مشابه انتقال داده شده و به مدت یک ماه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با

جدول ۱ مواد تشکیل دهنده غذای جایگزین خون (تیمار T₂).

ماده مغذی	مقدار (گرم)	ماده مغذی	مقدار (گرم)
آب	۸۶۳	اسید سیتریک	۰/۰۲
کازئین	۱۱۵	نمک	۸/۷۵
ویتامین‌ها	۱	بیکربنات	۰/۵۴
عناصر کمیاب و مواد معدنی	۱	کلرید سدیم	۰/۱۶
گلیسرول	۲/۲	کلرید پتاسیم	۰/۰۵
لسیتین	۲/۲	دکستروز	۰/۷۱
آمینواسیدها*	۴/۲	سایر مواد**	۱/۱۷

* شامل اسیدهای آمینه آرژینین، گلايسين، متيونين، تيروزين، هيستيدين، تريپتوفان و لوسين.

** ديگر مواد شامل DHEA و امگا ۳

۱۵ دقیقه بیهوش شدند و درازای آنها با استفاده از یک کولیس (با دقت ۰/۱ سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد (Ceylan and Cetinkaya, 2017; Ceylan, 2020; Ceylan

وزن بدن (گرم) با استفاده از ترازوی حساس (۰/۰۰۱ گرم)، قبل و بعد از تغذیه تعیین شد. زالوها در یک محلول با غلظت ۱/۵ تا ۳ گرم فنوکسی اتانول در هر لیتر آب به مدت ۵ تا

نرخ‌های رشد با استفاده از نرخ رشد مطلق، نرخ رشد نسبی و نرخ رشد ویژه توسط فرمول‌های زیر (Ceylan et al. 2021) اندازه‌گیری شد:

(et al. 2021). در اثر محلول بیهوشی، رفلکس استفراغ در بعضی از زالوهای تغذیه شده اتفاق افتاد (Ceylan et al. 2021). لذا، اندازه‌گیری طول قبل از تغذیه، تنها در ۳۰ عدد از زالوها در هر تیمار انجام شد.

طول اولیه بدن - طول نهایی بدن = نرخ رشد مطلق در طول بدن (سانتی‌متر)

وزن اولیه بدن - وزن نهایی بدن = نرخ رشد مطلق در وزن بدن (گرم)

$100 \times \frac{\text{طول اولیه بدن} - \text{طول نهایی بدن}}{\text{طول اولیه بدن}}$ = نرخ رشد نسبی در طول بدن (%)

$100 \times \frac{\text{وزن اولیه بدن} - \text{وزن نهایی بدن}}{\text{وزن اولیه بدن}}$ = نرخ رشد نسبی در وزن بدن (%)

$100 \times \frac{\text{روزها}}{\text{لگاریتم طبیعی طول اولیه بدن} - \text{لگاریتم طبیعی طول نهایی بدن}}$ = نرخ رشد ویژه در طول بدن (% در روز)

$100 \times \frac{\text{روزها}}{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه بدن} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی بدن}}$ = نرخ رشد ویژه در وزن بدن (% در روز)

ضریب چاقی توسط فرمول زیر (Ricker, 1975) محاسبه شد:

$100 \times \frac{\text{طول بدن}}{\text{وزن بدن}}$ = ضریب چاقی

انکوبا سیون در ۱/۵ میلی لیتر لیتر محلول فنوکسی اتانول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد (Davies and Mcloughlin, 1996; Ceylan et al. 2015; Ceylan and Cetinkaya, 2017).

تعیین خصوصیات تولیدمثلی

خصوصیات تولیدمثلی با استفاده از ۵۰ عدد زالوی مولد (برای هر یک از تیمارها) که در ماه هشتم به بلوغ جنسی رسیده بودند، بررسی شد. سن، درازا و وزن بدن زالوها در زمان شروع بارداری ثبت شد. زالوهای مولد به‌طور انفرادی در ظرف‌های ۱۰ لیتری که مخزنی به گنجایش ۲ لیتر در آن با خزه مرطوب پر شده بود، قرار داده شدند. عملکرد تولیدمثلی به مدت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد (Davies and Mcloughlin, 1996; Coyne and Orr, 2004; Utevsky et al. 2010; Ceylan et al. 2015; Manav et al. 2019; Xiong et al. 2020). ظروف نگهداری مولدین دو بار در هفته برای حضور پیلها بررسی شدند. در طی دوره، وزن بدن مولدین و وزن پیلها توسط ترازوی حساس (۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد.

نرخ بقا

میزان مرگ‌ومیر ثبت، و نرخ بقا برای هر دو دوره رشد و تولیدمثل با استفاده از فرمول زیر (Wilkin and Scofield, 1991; Petrauskiene et al. 2011) مشخص شد.

$100 \times \frac{200}{\text{تعداد زالوها در پایان دوره}}$ = نرخ بقا (%)

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل همبستگی برای ارزیابی اثرات رشد و تولیدمثل انجام، و نرمال بودن با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف سنجش شد. همبستگی بین متغیرها در داده‌های با توزیع نرمال با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون و در داده‌های با توزیع غیرنرمال با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن ارزیابی شد. حضور و قدرت رابطه بین متغیرها با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیون تحلیل شد. تفاوت رشد و تولیدمثل بین تیمارها با استفاده از آزمون T یا آزمون من-ویتنی با توجه به تحلیل نرمالیتی انجام شد. سطح

قطر و درازای پیلها با استفاده از کولیس دقیق (۰/۰۱ میلی‌متر) تعیین شد. پیلها به مدت ۳۰ روز به‌طور جداگانه در ظروف ۳۵۰ میلی‌لیتری که تا نیمه با خزه مرطوب پر شده بود، نگهداری شدند. در پایان مدت نگهداری، پیلهایی که به‌طور طبیعی تخم‌گذاری نشده بودند، به‌طور دستی باز شده و تعداد فرزندان، وزن بدن (با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۰۱ گرم)، درازا (با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱ میلی‌متر) و ضریب چاقی فرزندان مشخص شد. درازای بدن فرزندان بعد از

بعد از ۱۰ ماه (۴۰ هفته)، میانگین وزن بدن نمونه‌های اورینتالیس بالغ تیمار T_1 $1/58 \pm 5/92$ (کمینه = $3/81$ ، بیشینه = $9/5$) گرم و برای T_2 $1/45 \pm 5/25$ (کمینه = $2/64$ ، بیشینه = $8/41$) گرم بود. در پایان مرحله رشد (۴۰ هفتگی)، طول بدن و ضریب چاقی T_1 به ترتیب $3/51 \pm 13/25$ (کمینه = $6/708$ و بیشینه = $20/63$) سانتی‌متر و $0/17 \pm 0/311$ (کمینه = $0/099$ و بیشینه = $0/99$) بود. درازای بدن و ضریب چاقی تیمار T_2 به ترتیب $3/27 \pm 11/88$ (کمینه = $5/85$ و بیشینه = $19/51$) سانتی‌متر و $0/23 \pm 0/409$ (کمینه = $0/11$ و بیشینه = $1/37$) بود. وزن‌های ماهانه بدن، درازای بدن و ضریب چاقی در جدول ۲ نشان داده شده است. نوزادان تیمار T_1 از T_2 سریع‌تر رشد کردند. از نظر وزن و درازای بدن، بین تیمارها در طی دوره رشد تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0/05$). به‌طور کلی ضریب چاقی (میانگین \pm انحراف معیار) در زالوهای T_1 کمتر بود.

برای تیمار T_1 ، موارد استفراغ خون در ۵۷ ظرف در ۳۶ روز مختلف و برای تیمار T_2 ، در ۵۲ ظرف در ۳۳ روز مختلف اتفاق افتاد. در حین غذادهی ماهانه با خون (تیمار T_1)، استفراغ خون، تا $6/1 \pm 14/3$ روز پس از تغذیه و در تیمار T_2 ، تا $4/7 \pm 13/1$ روز پس از تغذیه دوام آورد.

معنی‌داری $\alpha = 0/05$ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با برنامه SPSS نسخه ۲۶ انجام شد.

مجوزهای قانونی

از آنجا که اورینتالیس از زالوهای بومی بوده و در زمره گونه‌های تحت حفاظت کنوانسیون بین‌المللی تجارت گونه‌های در معرض خطر جانوران وحشی و گیاهی (CITES) است، زالوهای مورد نیاز از پرورش دهنده دارای صلاحیت و با مجوز قانونی (شرکت زالوپروان) و تحت نظر سازمان شیلات و حفاظت محیط‌زیست از صیادان محلی زالو در زیستگاه طبیعی گونه‌های مذکور در استان گیلان تهیه شدند.

بیانیه اخلاق

مطالعه حاضر تحت شرایط و مقررات آیین‌نامه اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی و با رعایت دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در امور علمی انجام شده است.

نتایج

جدول ۲ تغییرات هفتگی در وزن و درازای بدن و ضریب چاقی زالوهای اورینتالیس تغذیه شده با خون (T₁) و غذای جایگزین خون (T₂) (میانگین ± انحراف استاندارد).

ضریب چاقی				طول بدن (سانتی‌متر)				وزن بدن (گرم)				هفته‌ها
df	t	T ₂	T ₁	df	t	T ₂	T ₁	df	t	T ₂	T ₁	
۹۸	۰	۱/۱۱۶ ± ۰/۶۱۹	۱/۱۱۶ ± ۰/۶۱۹	۹۸	۰	۱/۶۰۴ ± ۰/۴۲۵	۱/۶۰۴ ± ۰/۴۲۵	۹۸	۰	۰/۰۳۸ ± ۰/۰۱۲	۰/۰۳۸ ± ۰/۰۱۲	۰
۹۸	۲/۹۷۲	۱/۰۳۴ ± ۰/۵۷۲ ^a	۰/۷۳۸ ± ۰/۴۱۳ ^b	۹۸	۲/۸۶۵	۱/۷۲۳ ± ۰/۴۶۱ ^a	۲/۰۰۸ ± ۰/۵۳۳ ^b	۹۸	۳/۰۲۴	۱/۰۴۱ ± ۰/۰۱۱ ^a	۰/۰۴۹ ± ۰/۰۱۳ ^b	۲
۹۸	۳/۴۷۵	۰/۶۸ ± ۰/۳۷۵ ^a	۰/۴۵۷ ± ۰/۲۵۴ ^b	۹۸	۳/۱۴۴	۲/۱۲۲ ± ۰/۵۷۷ ^a	۲/۵۱۳ ± ۰/۶۶۶ ^b	۹۸	۲/۹۸۵	۰/۰۵ ± ۰/۰۱۳ ^a	۰/۰۵۹ ± ۰/۰۱۶ ^b	۴
۹۸	۳/۳۷۹	۰/۸۲۱ ± ۰/۴۵۵ ^a	۰/۵۵۷ ± ۰/۳۱۱ ^b	۹۸	۳/۰۹۳	۲/۵۳۱ ± ۰/۶۸۸ ^a	۲/۹۹ ± ۰/۷۹۲ ^b	۹۸	۳/۰۰۹	۰/۱۰۳ ± ۰/۰۲۷ ^a	۰/۱۲۱ ± ۰/۰۳۲ ^b	۶
۹۸	۳/۳۵۱	۰/۵۱۸ ± ۰/۲۸۸ ^a	۰/۳۵۲ ± ۰/۱۹۶ ^b	۹۸	۲/۹۹۵	۲/۸۷۱ ± ۰/۷۸۷ ^a	۳/۳۷۵ ± ۰/۸۹۴ ^b	۹۸	۲/۸۷۴	۰/۰۹۴ ± ۰/۰۲۵ ^a	۰/۱۱ ± ۰/۰۲۹ ^b	۸
۹۸	۳/۱۶۴	۰/۷۶ ± ۰/۴۲۷ ^a	۰/۵۲۸ ± ۰/۲۹۴ ^b	۹۸	۲/۹۳	۳/۵۲۵ ± ۰/۹۶۷ ^a	۴/۱۳ ± ۱/۰۹۴ ^b	۹۸	۳/۰۷۳	۰/۲۵۷ ± ۰/۰۶۸ ^a	۰/۳۰۳ ± ۰/۰۸۱ ^b	۱۰
۹۸	۳/۱۵۵	۰/۴۵۷ ± ۰/۲۵۸ ^a	۰/۳۱۷ ± ۰/۱۷۶ ^b	۹۸	۲/۸۷۱	۴/۱۳۵ ± ۱/۱۳۳ ^a	۴/۸۲۸ ± ۱/۲۷۹ ^b	۹۸	۲/۸۸۴	۰/۲۴۹ ± ۰/۰۶۷ ^a	۰/۲۹۱ ± ۰/۰۷۸ ^b	۱۲
۹۸	۳/۱۶۸	۱/۰۳۴ ± ۰/۵۸۲ ^a	۰/۷۱۸ ± ۰/۳۹۹ ^b	۹۸	۲/۸۰۳	۴/۵۲ ± ۱/۲۳۹ ^a	۵/۲۵۹ ± ۱/۳۹۴ ^b	۹۸	۲/۶۸۹	۰/۷۳۷ ± ۰/۱۹۶ ^a	۰/۸۵ ± ۰/۰۲۲ ^b	۱۴
۹۸	۳/۰۲۷	۰/۸۰۸ ± ۰/۴۵۷ ^a	۰/۵۷ ± ۰/۳۱۷ ^b	۹۸	۲/۷۳۴	۴/۸۸۳ ± ۱/۳۳۹ ^a	۵/۶۶ ± ۱/۵ ^b	۹۸	۲/۷۸۷	۰/۷۲۶ ± ۰/۱۹۳ ^a	۰/۸۴۳ ± ۰/۲۲۶ ^b	۱۶
۹۸	۲/۰۸۶	۱/۰۹۴ ± ۰/۶۲۱ ^a	۰/۷۷۲ ± ۰/۴۲۹ ^b	۹۸	۲/۶۶۴	۵/۴۰۴ ± ۱/۴۸۲ ^a	۶/۲۴ ± ۱/۶۵۴ ^b	۹۸	۲/۶۰۱	۱/۳۳۱ ± ۰/۳۵۵ ^a	۱/۵۳ ± ۰/۴۱ ^b	۱۸
۹۸	۲/۸۵۱	۰/۸۵۱ ± ۰/۴۸۵ ^a	۰/۶۱۲ ± ۰/۳۴ ^b	۹۸	۲/۵۹۶	۵/۸۰۳ ± ۱/۵۹۳ ^a	۶/۶۷۷ ± ۱/۷۶۹ ^b	۹۸	۲/۷۴۸	۱/۲۸۱ ± ۰/۳۴۳ ^a	۱/۴۸۵ ± ۰/۳۹۸ ^b	۲۰
۹۸	۲/۸۶۷	۱/۱۳۱ ± ۰/۶۴۶ ^a	۰/۸۱۱ ± ۰/۴۵۱ ^b	۹۸	۲/۵۳۶	۶/۳۸۱ ± ۱/۷۵ ^a	۷/۳۱۷ ± ۱/۹۳۹ ^b	۹۸	۲/۵۲۶	۲/۲۶۲ ± ۰/۶۰۳ ^a	۲/۵۹ ± ۰/۶۹۴ ^b	۲۲
۹۸	۲/۷۳۹	۰/۹۰۱ ± ۰/۵۱۷ ^a	۰/۶۵۵ ± ۰/۳۶۴ ^b	۹۸	۲/۴۷۱	۶/۸۰۹ ± ۱/۸۶۹ ^a	۷/۷۸۲ ± ۲/۰۶۲ ^b	۹۸	۲/۶۲۳	۲/۱۸۷ ± ۰/۵۸۳ ^a	۲/۵۱۸ ± ۰/۶۷۵ ^b	۲۴
۹۸	۲/۶۵۴	۰/۹۱۶ ± ۰/۵۲۹ ^a	۰/۶۷۲ ± ۰/۳۷۳ ^b	۹۸	۲/۴۱۳	۷/۷۱۱ ± ۲/۱۱۷ ^a	۸/۷۸۵ ± ۲/۳۲۸ ^b	۹۸	۲/۶۲۲	۳/۲۲۵ ± ۰/۸۶ ^a	۳/۷۱۳ ± ۰/۹۹۵ ^b	۲۶
۹۸	۲/۴۰۹	۰/۶۰۶ ± ۰/۳۵۳ ^a	۰/۴۵۷ ± ۰/۲۵۴ ^b	۹۸	۲/۳۵	۸/۶۳۲ ± ۲/۳۷۱ ^a	۹/۸۰۱ ± ۲/۵۹۷ ^b	۹۸	۲/۹۷۱	۲/۹۹۴ ± ۰/۷۹۷ ^a	۳/۵۱۳ ± ۰/۹۴۱ ^b	۲۸
۹۸	۲/۵۹۶	۰/۶۷۷ ± ۰/۳۹۳ ^a	۰/۵ ± ۰/۲۷۸ ^b	۹۸	۲/۲۸۳	۹/۱۵۷ ± ۲/۵۱۸ ^a	۱۰/۳۵۹ ± ۲/۷۴۵ ^b	۹۸	۲/۳۶	۳/۹۹۶ ± ۱/۰۶۹ ^a	۴/۵۳۶ ± ۱/۲۱۶ ^b	۳۰
۹۸	۲/۳۱۸	۰/۵۴۶ ± ۰/۳۲۲ ^a	۰/۴۱۶ ± ۰/۲۳۱ ^b	۹۸	۲/۲۱۶	۹/۷۱۳ ± ۲/۶۷۳ ^a	۱۰/۹۵ ± ۲/۹۰۲ ^b	۹۸	۲/۷۷۲	۳/۸۳۹ ± ۱/۰۲۶ ^a	۴/۴۵۶ ± ۱/۱۹۴ ^b	۳۲
۹۸	۲/۴۸۸	۰/۵۸۸ ± ۰/۳۴۴ ^a	۰/۴۳۹ ± ۰/۲۴۴ ^b	۹۸	۲/۱۵۱	۱۰/۳۴۱ ± ۲/۸۱۹ ^a	۱۱/۵۰۴ ± ۳/۰۴۹ ^b	۹۸	۲/۳۱۴	۴/۸۴۷ ± ۱/۳۹۳ ^a	۵/۴۵۸ ± ۱/۴۶۳ ^b	۳۴
۹۸	۲/۴۱۹	۰/۴۸۶ ± ۰/۲۸۵ ^a	۰/۳۶۶ ± ۰/۲۰۳ ^b	۹۸	۲/۱۴۴	۱۰/۷۹۶ ± ۲/۹۷۳ ^a	۱۲/۱۲۳ ± ۳/۲۳۱ ^b	۹۸	۲/۳۵۵	۴/۶۸۹ ± ۱/۳۴۹ ^a	۵/۳۱۹ ± ۱/۴۲۵ ^b	۳۶
۹۸	۲/۳۳۵	۰/۵۰۵ ± ۰/۲۹۷ ^a	۰/۳۸۴ ± ۰/۲۱۳ ^b	۹۸	۲/۰۸۳	۱۱/۱۷۳ ± ۰/۷۷ ^a	۱۲/۵۰۴ ± ۳/۳۱۴ ^b	۹۸	۲/۳۴۲	۵/۳۹۹ ± ۱/۴۴۱ ^a	۶/۱۲۲ ± ۱/۶۴۱ ^b	۳۸
۹۸	۲/۳۱۱	۰/۴۰۹ ± ۰/۲۳۹ ^a	۰/۳۱۱ ± ۰/۱۷۳ ^b	۹۸	۲/۰۲۰	۱۱/۸۸۵ ± ۳/۲۷۵ ^a	۱۳/۲۵۷ ± ۳/۵۱۳ ^b	۹۸	۲/۲۰۹	۵/۲۵۹ ± ۱/۴۰۵ ^a	۵/۹۲۲ ± ۱/۵۸۷ ^b	۴۰

تفاوت‌های بین میانگین وزن و درازای بدن و ضریب چاقی که با حروف مختلف در یک خط نشان داده شدند، از نظر آماری با توجه به آزمون t معنی‌دار هستند (P < ۰/۰۵).

مقادیر نرخ رشد مطلق، نرخ رشد نسبی و نرخ رشد ویژه در T_1 در مقایسه با T_2 بیشتر بود (جدول ۳).

جدول ۳ نرخ‌های رشد در درازا و وزن بدن زالوهای اورینتالیس T_1 و T_2 .

df	t	T_2	T_1	نرخ‌های رشد
۹۸	۲/۳۰۹	$۱۰/۲۸ \pm ۲/۸۵۱^a$	$۱۱/۶۵۳ \pm ۳/۰۸۷^b$	نرخ رشد مطلق در طول بدن (سانتی‌متر)
۹۸	۲/۲۲۴	$۵/۲۲۲ \pm ۱/۳۹۶^a$	$۵/۸۸۴ \pm ۱/۵۷۷^b$	نرخ رشد مطلق در وزن بدن (گرم)
۹۸	۴۵/۱۶۶	$۶۳۸/۸ \pm ۱۳/۶۶۸^a$	$۷۲۶/۱۱ \pm ۰/۰۰۱^b$	نرخ رشد نسبی در طول بدن (%)
۹۸	۳۱/۰۶۹	$۱۳۸۹۴/۱۸۲ \pm ۳۶۸/۳۲۲^a$	$\pm ۱۵۷/۷۴۷^b$	نرخ رشد نسبی در وزن بدن (%)
۹۸	۴۲/۸۸۷	$۰/۷۱۴ \pm ۰/۰۰۶^a$	$۱۵۶۵/۹۸۲$	نرخ رشد ویژه در طول بدن (% در روز)
۹۸	۳۱/۹۷۸	$۱/۷۶۴ \pm ۰/۰۰۹^a$	$۰/۷۵۴ \pm ۰/۰۰۱^b$	نرخ رشد ویژه در وزن بدن (% در روز)
			$۱/۸۰۷ \pm ۰/۰۰۴^b$	

تفاوت‌های بین میانگین که با حروف مختلف در یک خط نشان داده شدند از نظر آماری با توجه به آزمون t معنی‌دار هستند ($p < ۰/۰۵$).

درازای بدن ۴/۹۵ سانتی‌متر در تیمار T_1 و ۱/۵۵ گرم و ۴/۳۲ سانتی‌متر در T_2 بود. تغییر ماهانه بارداری در جدول ۴ آورده شده است.

بارداری در ماه ۶ آغاز و در ماه ۱۱ به پایان رسید. بالاترین نرخ بارداری در ماه نهم با ۹۸٪ در تیمار T_1 و ۹۱٪ در T_2 دیده شد که نشان از رسیدن به اندازه بلوغ در اغلب زالوها است. کوچکترین زالوی باردار دارای وزن بدن ۱/۷۸ گرم و

جدول ۴ تغییرات ماهانه بارداری (%) در زالوهای اورینتالیس تیمارهای T_1 و T_2 .

ماه‌ها (سن زالو)	زالوهای باردار تیمار T_1 (%)	زالوهای باردار تیمار T_2 (%)
۵	۰	۰
۶	۶	۳
۷	۷۴	۶۳
۸	۹۲	۸۴
۹	۹۸	۹۱
۱۰	۹۴	۸۷
۱۱	۱۰	۶
۱۲	۰	۰

گرچه زالوهای مولد هر دو تیمار در هفته اول دوره تولیدمثل شروع به پیله‌گذاری کردند، اولین پیله‌ها پس از $۸/۷۸ \pm ۱۳/۷۷$ روز در تیمار T_1 و $۷/۶ \pm ۱۴/۳۱$ روز در تیمار T_2 قرار داده شد. تناوب پیله‌گذاری فردی با توجه به اولین پیله گذاشته شده تعیین شد و $۶/۴ \pm ۱۱/۱۷$ روز در تیمار T_1 و $۵/۳ \pm ۱۱/۶$ روز در تیمار T_2 بود. اتمام پیله‌گذاری در هر دو

در پایان دوره پیله‌گذاری که به مدت ۸ هفته به درازا انجامید، کاهش وزن بدن زالوهای تیمار T_1 $۲/۵۳ \pm ۰/۶۸$ و در تیمار T_2 $۰/۵۸ \pm ۰/۴۳/۰۷$ و در تیمار T_2 $۰/۰۱ \pm ۰/۰۵۸$ گرم به میزان $۰/۰۱ \pm ۰/۴۳/۰۷$ و در تیمار T_2 $۰/۰۵ \pm ۰/۰۵۸$ وجود داشت (جدول ۵).

تیمار در هفته چهارم آغاز شد و آخرین پیله گذاشته شده در هفته هشتم بود. بازده تولید پیله در هر زالوی مولد بین ۱ تا ۹ در نوسان بود و بین دو تیمار، تفاوت معنی‌داری از نظر عملکرد تولید پیله وجود نداشت ($t = 1/054$, $df = 98$ و $p < 0/05$). تفاوت معنی‌داری از نظر وزن پیله و کلیه فراسنجه‌های ریخت شناسی پیله (بجز تعداد نوزاد) بین دو تیمار وجود نداشت (جدول ۶). اندازه پیله با گذشت زمان

به تدریج کاهش یافت، اگرچه در مراحل اولیه دوره تولیدمثل در هر دو گونه بارزتر بود. وزن پیله در هفته اول $0/14 \pm 0/43$ گرم بود و به تدریج تا پایان دوره به $0/16 \pm 0/28$ گرم کاهش یافت. بین وزن زالوی مولد و وزن پیله ($0/829$ ، $r = 0/956$) و درازای پیله ($r = 0/956$) همبستگی مثبت وجود داشت ($p < 0/001$).

جدول ۵ تغییرات هفتگی وزن بدن زالوهای اورینتالیس مولد تیمارهای T_1 و T_2 در دوره پیله‌گذاری.

df	t	وزن تیمار T_2 (گرم)	وزن تیمار T_1 (گرم)	هفته‌ها
۹۸	۲/۷۷۲	$3/839 \pm 1/026^a$	$4/456 \pm 1/194^b$	اولیه
۹۸	۲/۷۷۸	$3/502 \pm 0/936^a$	$4/068 \pm 1/09^b$	۱
۹۸	۲/۷۸	$3/121 \pm 0/834^a$	$3/624 \pm 0/971^b$	۲
۹۸	۲/۷۸۷	$2/714 \pm 0/726^a$	$3/153 \pm 0/845^b$	۳
۹۸	۲/۷۵۵	$2/384 \pm 0/638^a$	$2/765 \pm 0/741^b$	۴
۹۸	۲/۷۸۷	$2/136 \pm 0/571^a$	$2/481 \pm 0/665^b$	۵
۹۸	۲/۷۸۲	$1/939 \pm 0/518^a$	$2/252 \pm 0/603^b$	۶
۹۸	۲/۷۹۴	$1/759 \pm 0/469^a$	$2/044 \pm 0/548^b$	۷
۹۸	۲/۷۶	$1/655 \pm 0/442^a$	$1/919 \pm 0/514^b$	۸

تفاوت‌های بین میانگین که با حروف مختلف در یک خط نشان داده شدند، از نظر آماری با توجه به آزمون T معنی‌دار هستند ($p < 0/05$).

جدول ۶ تعداد، وضعیت سلامت و فراسنجه‌های ریخت‌سنجی پیله‌ها در بارداری و پیله‌گذاری زالوی اورینتالیس در تیمارهای T_1 و T_2 .

df	t	تیمار T_2	تیمار T_1	فراسنجه‌ها
		۸۰/۶	۸۲/۵	درصد زالوهای مولد که پیله گذاشتند
		۱۵۵	۱۷۰	تعداد کل پیله‌ها
۹۸	۱/۰۵۴	$3/11 \pm 1/29$	$3/4 \pm 1/413$	تعداد پیله به ازای زالوهای پیله گذاشته
		۲/۲۸	۲/۵۷	تعداد پیله به ازای همه زالوها
		۱۷/۶۶	۲۳/۴۶	تعداد نوزاد به ازای همه زالوها
۹۸	۳/۰۰۱	$24/034 \pm 9/99^a$	$30/965 \pm 12/874^b$	تعداد نوزاد به ازای زالوهای پیله گذاشته
		۱۱/۸	۱۲/۹	ضریب استحصال نوزاد از پیله
		۳۱/۷	۲۹/۴	نرخ ناهنجاری و عدم تخم‌گذاری (/.)
۹۸	۰/۵۶۸	$0/399 \pm 0/27$	$0/43 \pm 0/28$	وزن پیله (گرم)
۹۸	۱/۹۵	$12/34 \pm 2/18$	$13/21 \pm 2/29$	درازای پیله (میلی‌متر)
۹۸	۱/۴۹۶	$8/16 \pm 1/94$	$8/76 \pm 2/08$	قطر پیله (میلی‌متر)
۹۸	۰/۰۸	$1/54 \pm 0/23$	$1/504 \pm 0/24$	نسبت درازا به قطر پیله

تفاوت‌های بین میانگین که با حروف مختلف در یک خط نشان داده شدند، از نظر آماری با توجه به آزمون t معنی‌دار هستند ($p < 0/001$).

کرد. میزبان‌ها ممکن است ابزارهایی را برای نگهداری میکروبی‌های مفید یا انتقال آن‌ها به فرزندان ایجاد کنند که بر وراثت‌پذیری و روش‌های انتقال این میکروبی‌ها تأثیر می‌گذارد. نقش ژن LCT در هضم لاکتوز در بزرگسالان و ژن AMY1 در هضم نشاسته توسط آمیلاز بزاقی از سازگاری‌های ناشی از تغییر در رژیم غذایی هستند. تنوع آلی این ژن‌ها و تنوع ترکیبی و عملکردی جمعیت میکروبی روده با یکدیگر مرتبط و بر هم تأثیرگذار بوده و توان بالقوه تأثیرگذاری بر تنوع در همان صفت تطبیقی در میزبان را دارد. به نظر می‌رسد مکانیسم‌های میزبانی می‌توانند عملکردهای مفید جمعیت میکروبی را در طی سازگاری به کار گیرند و جمعیت میکروبی ممکن است فنوتیپ و عملکرد میزبان را تغییر دهد و در سازگاری‌های ژنتیکی و تکامل جاندار، بدون نیاز به تکامل همزمان نقش ایفا کند (Suzuki and Ley, 2020). با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان دریافت که با وجود تفاوت‌های معنی‌داری که در شاخص‌های رشد دو رژیم غذایی در طی دوره دیده شد، تفاوت شاخص‌های رشد در ابتدای دوره بیشتر بود و در طول دوره و در نیمه دوم پرورش به یکدیگر نزدیک شد و به نظر می‌رسد با افزایش سن و در طی مسیر تطبیقی و بهبود عملکرد فیزیولوژی یک و ژنتیکی زالو و نیز جامعه میکروبی ساکن در دستگاه گوارش زالو، قابلیت هضم و جذب بهتری برای غذای جایگزین خون فراهم شده است.

بر اساس داده‌های تحقیق، تفاوت وزن دو تیمار از ابتدای ماه به سمت انتهای ماه بیشتر می‌شد. این امر به نظر می‌رسد ناشی از قابلیت حداکثری زالو در ابتدای ماه در دریافت غذا (نرخ تغذیه ۲ تا ۴ برابر وزن بدن بسته به سن و مرحله رشد در این تحقیق) و رسیدن به بیشینه وزن ناشی از تغذیه باشد که سبب کمترین دامنه تفاوت وزنی در بین دو تیمار بعد از تغذیه شد و در طی ماه و با حذف مواد زاید غذا از بدن، این تفاوت در دو تیمار افزایش یافت که ممکن است ناشی از کیفیت تغذیه‌ای کمتر و ضریب تبدیل غذایی بالاتر جیره جایگزین خون نسبت به خون باشد، به طوری که قابلیت هضم و جذب کمتر را سبب شده و تفاوت وزن بیشتر را در دو تیمار در پایان ماه ایجاد کرد.

در مجموع ۱۵۴۸ نوزاد در تیمار T1 و ۱۲۰۱ نوزاد در تیمار T2 مشاهده شد. تعداد نوزادان به ازای زالوهای پيله گذاشته در دو تیمار تفاوت معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). با در نظر گرفتن پيله‌هایی که حداقل یک زالو از آن تخم‌گشایی شده باشد، کارایی (پيله / فرزند) در تیمار T1 $1/41 \pm 12/9$ (کمینه = ۱ و بیشینه = ۱۹) و در تیمار T2 $1/63 \pm 11/3$ (کمینه = ۱ و بیشینه = ۱۹) بود. با وجود این، کارایی در تیمار T1 $9/1$ (کمینه = ۰ و بیشینه = ۱۹) و در تیمار T2 $7/7$ (کمینه = ۰ و بیشینه = ۱۹) بود (جدول ۶).

در دوره رشد (تا ۸ ماهگی) فقط ۵٪ T1 تلف شدند (نرخ بازماندگی = ۹۵٪)، در حالی که تلفات دوره رشد در T2 $7/5$ بود (نرخ بازماندگی = ۹۲٪). میزان بقای دو تیمار تغذیه‌ای در دوره تولیدمثل (۸ تا ۱۰ ماهگی) فرقی نداشته و میزان تلفات در پایان دوره دو ماهه تولیدمثل معادل ۵٪ بود، به طوری که نرخ بازماندگی تیمار T1 به ۹۴٪ و تیمار T2 به ۹۲٪ رسید.

بحث

ترکیب و ساختار غذا، نقش بسزایی در عملکرد تغذیه‌ای و کارکردی آن دارد (Sensoy, 2021). در این پژوهش و منطبق با پیشینه سازگاری و تکاملی زالو برای رژیم غذایی خونخواری شاهد هستیم که از ابتدا تا پایان دوره، نمونه‌های T1 از نظر وزن و درازای بدن عملکرد بهتری داشتند.

هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش زالو نتیجه فرایندهای فیزیوشیمیایی و میکروبی است که مصرف غذا، تجزیه آن به واحدهای قابل جذب، جذب و انتقال مواد مغذی در بدن و دفع ضایعات را هدایت می‌کند. جامعه میکروبی داخل بدن زالو به وضعیت سلامت میزبان و نیز تغییرات محیط زندگی خود حساس بوده و از طریق تغییر در ارزش غذایی غذای دریافتی و تأثیر بر حساسیت و تحمل میزبان به بیماری و عوامل محیطی، می‌توانند قابلیت سازگاری میزبان را تغییر دهند (Suzuki and Ley, 2020). عملکردهای مفید جمعیت میکروبی برای میزبان ممکن است به طور تصادفی ایجاد شوند، یا از محیط به دست آیند و می‌توان آن‌ها را بدون اعمال کنترل ژنتیکی میزبان بر روی آن‌ها استفاده

اگرچه ممکن است تقاضاهای مختلفی در صنعت و یا تجارت برای مصرف زالو وجود داشته باشد، اما زالوی کمتر از ۱ تا ۱/۵ گرم به طور مداوم در زالو درمانی و مصارف پزشکی ترجیح داده می‌شود (Ceylan and Cetinkaya, 2017). زالوهای طبی الگوی رشد پرنوسان را نشان می‌دهند (Wilkin and Scofield, 1991) و بسته به مرحله رشد، کاهش وزن ۱۷ تا ۴۶٪ در طی ۱ ماه بین دوره‌های تغذیه اتفاق می‌افتد (Manav et al. 2019)، برای یک زالو درمانی موفق، ایمن و سالم، یک دوره قرنطینه ۳-۴ ماهه برای اطمینان از گرسنگی کافی زالو و مهار عوامل بیماری‌زای احتمالی که خطر ابتلا به بیماری میزبان را در هنگام مصرف خون توسط زالو را دارند، لازم است (von Rheinbaben et al. 2014). بر این اساس، حداقل ضروری است که زالو در آخرین تغذیه قبل از دوره قرنطینه به وزن بدن ۱/۷-۳ گرم برسد، به طوری که نهایتاً وزن زالوها به ۱-۱/۵ گرم کاهش می‌یابد. با در نظر گرفتن تقاضای بخش برای اندازه زالو و مدل رشد زالوی طبی، رسیدن به وزن نهایی هدف تغذیه (۱/۷-۳ گرم) قبل از دوره قرنطینه، مزیت مهمی برای زالوی طبی بومی ایران *H. orientalis* است که بر اساس نتایج این تحقیق در سن هفت‌ماهگی به وزن قبل از تغذیه $2/51 \pm 0/94$ گرم در تیمار T₁ و $2/99 \pm 0/79$ گرم در T₂ دست پیدا کردند.

دستگاه گوارش، زیست‌بومی پیچیده است که میزبان یک جامعه میکروبی متنوع و بسیار تکامل یافته همزیست از باکتری‌ها، قارچ‌ها، آرکی‌ها، پروتیسست‌ها، کرم‌ها و ویروس‌هاست. این دستگاه بیش از همه تحت تأثیر رژیم غذایی و به دنبال آن، عواملی چون وضعیت فیزیولوژیک جاندار، ریتم شبانه‌روزی، فعالیت بدنی و میزان سلامت جاندار است. به طور مشابه، وجود و پیشرفت بیماری ممکن است فراوانی و تنوع جامعه میکروبی را تغییر دهد. بیماری‌های مختلفی با ترکیب و عملکرد غیر طبیعی جامعه میکروبی مرتبط هستند. تغییرات در تنوع جامعه میکروبی ممکن است فراوانی باکتری‌های مفید را کاهش دهد و در عین حال به رشد میکروارگانیسم‌های بالقوه بیماری‌زا کمک کند و به تبع آن، ممکن است بر متابولیسم میزبان تأثیر بیشتری بگذارد. ثبات و تنوع جامعه میکروبی نیز در سنین

مختلف متفاوت است. با تنوع بیشتر ریزموجودات مرتبط با بزرگسالی و تحت عادات و شرایط زیستی سالم و مناسب، بر میزان سلامت و ثبات میزبان و جامعه میکروبی همزیست افزوده می‌شود (Aya et al. 2021). تمایل به کاهش استفراغ خون به‌عنوان تابعی از زمان را می‌توان با بازتاب غالب روند آسیب‌شناختی (Frolov and Litvinenko, 2015) ناشی از تعارض بین خون مصرف شده و ریزمحیط‌زیست بافتی (tissue microenvironment) در مراحل اول پس از تغذیه توضیح داد. بروز استفراغ خون حتی پس از ۶۶ روز (Ceylan and Erbatur, 2012)، نشان می‌دهد که رفلکس استفراغ خون ممکن است حتی در مراحل پیشرفته فرآیند هضم نیز تحریک شود. مطابق نتایج این تحقیق، استفراغ خون به‌طور کلی در ۱۰ روز اول پس از تغذیه رخ داده است، که این یک رفتار معمول در زالوی طبی است و با نتایج پژوهش‌های دیگر منطبق است (Ceylan and Erbatur, 2012; von Rheinbaben et al. 2014; Manav et al. 2019; Ceylan, 2021). زالوهای تیمار T₁ و T₂ به ترتیب تا ۱۴/۳ و ۱۳/۱ روز بعد از تغذیه واکنش استفراغ خون را در این تحقیق از خود نشان دادند. اعضای جمعیت میکروبی بدن زالو با همکاری و رقابتی که با یکدیگر دارند، سبب ایجاد یک جامعه متعادل میکروبی و حفظ سلامت میزبان می‌شوند. میکروب‌های بیماری‌زا که به هنگام تغذیه وارد بدن زالو شده و یا با تغییر شرایط محیط گوارش زالو پس از تغذیه، فرصت فعالیت یافته‌اند، سبب برهم زدن مکانیسم‌های همکاری و یا فرار از مکانیسم‌های رقابتی شده و سبب ایجاد عفونت، التهاب، تغییرات و یا عدم تعادل در محیط دستگاه گوارش یا میزبان می‌شوند (Guo et al. 2020) و این امر می‌تواند علت مشکلات بعد از تغذیه نظیر استفراغ خون باشد. بر اساس نتایج این تحقیق، میزان استفراغ در زالوهای تیمار T₁ در حدود ۹٪ بیش از زالوهای T₂ بود. با توجه به قابلیت فسادپذیری و آلودگی خون تازه، این امر ممکن است ناشی از عوامل میکروبی موجود در خون تازه، آلودگی خون در حین کشتار دام و یا آلودگی خون در طی فرایند تغذیه زالو باشد.

میزان رشد زالو به فراسنجه‌های محیطی و رژیم غذایی بستگی دارد. نرخ رشد ویژه در وزن بدن زالوهای تیمار T₁ و

شده است (Utevsky et al. 2009; Utevsky et al. 2010; Petrauskienė et al. 2011; Ceylan et al. 2015). واقعیت این است که با بیش از ۴۰٪ کاهش وزن بدن در زالوهای مولد در طی دوره تولیدمثل، هنوز تلاش برای تولیدمثل توسط زالوی اورینتالیس نشان داده می‌شود و این ثابت می‌کند که زالوی طبی بومی ایران، موجود زنده با قابلیت تولیدمثل بی‌شینه است. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، توصیه می‌شود که این زالو به دلیل عملکرد باروری بالا با وجود اندازه نسبتاً کوچک آن در فهرست موجودات استراتژیک (R-selected species) در نظر گرفته شود. بازده پیله در هر زالوی مولد تیمار T₂ $1/29 \pm 3/11$ پیله \ زالو و در تیمار T₁ $1/41 \pm 3/43$ پیله \ زالو بود. طبق مطالعات قبلی که در جنس *Hirudo* انجام شده است، کمترین کارایی پیله با $0/29 \pm 1/71$ پیله \ زالو در گونه مدیسینالایس (Davies and McLoughlin, 1996) و $0/35 \pm 2/53$ پیله \ زالو در گونه اورینتالیس (Petrauskienė et al. 2011) بود. همچنین، بیشترین کارایی پیله با $0/59 \pm 4/39$ پیله \ زالو در گونه مدیسینالایس و $0/39 \pm 3/07$ پیله \ زالو در اورینتالیس بود (Petrauskienė et al. 2011). تعداد پیله تولیدی و تعداد زالوی تولید شده از هر پیله در تیمار T₂ در مقایسه با تیمار T₁ به‌طور قابل توجهی کمتر بود. تعداد نوزادان به ازای زالوهای پیله گذاشته در دو تیمار با $30/96$ عدد در تیمار T₁ در مقایسه با $24/03$ عدد در تیمار T₂ تفاوت معنی‌دار داشتند. تعداد پیله و زالوی نوزاد بیشتر در تیمار T₁ را می‌توان ناشی از ارزش تغذیه‌ای مطلوب‌تر خون در رشد، بقا و تولید مثل در زالوها دانست که ناشی از روند تطبیقی دیرینه زالو و جامعه میکروبی ساکن در بدن آن در استفاده از خون برای هموستاز بدن و کسب عوامل زیستی مختلف در حد بهینه است.

تغییر شکل در پیله‌ها را می‌توان در زیستگاه‌های طبیعی زالوهای طبی نیز مشاهده کرد (Ceylan, 2020). در مطالعه حاضر، عدم تخم‌گذاری در $29/4$ ٪ از پیله‌های تیمار T₁ و $31/7$ ٪ از پیله‌های تیمار T₂ دیده شد که شامل پیله‌هایی بودند که تغییر شکل یافته و یا ظاهر سالمی داشته، ولی فاقد تخم قابل تخم‌گذاری بودند. از آنجا که

T₂ در این تحقیق به ترتیب $1/807$ و $1/764$ گرم بود، درحالی‌که در *Hirudinaria manillensis* و *Whitmania pigra* به ترتیب $3/92$ و $7/24$ گرم (Zhang et al. 2008; Wang et al. 2017) و برای *H. verbana* و *Hirudo sulukii* به ترتیب $2/51$ و $2/7$ گرم گزارش شده است (Ceylan, 2021) که به نظر می‌رسد این تفاوت، ناشی از سن زالوها، گونه و شرایط پرورش است. زالوهای طبی به محض شروع تغذیه اقدام به تغلیظ خون کرده (Wenning, 1996) و طی دو هفته بعد از تغذیه حدود ۴۰ تا ۵۰٪ افزایش وزن بدن حاصل از تغذیه را از دست داده و سپس به تعادل می‌رسند (Petrauskienė, 2001; Petrauskienė, 2004). صرف‌نظر از رشد جهش‌وار در چند ماه نخست زندگی (تا ماه چهارم)، میزان افزایش وزن ماهانه از حدود ۶۰٪ در ماه پنجم به حدود ۱۰٪ در ماه دهم کاهش یافت. این امر مبین این مطلب است که با افزایش سن زالوهای طبی، میزان رشد به‌سرعت کاهش یافته است. نرخ تغذیه و رشد کمتر در زالوهای مسن و بزرگتر را می‌توان با افزایش وزن کمتر نسبت به کل وزن بدن توضیح داد. از طرف دیگر، انرژی بیشتری برای رشد نسبت به تولید مثل در زالوهای کوچکتر مورد نیاز است.

در پایان دوره تولیدمثل، وزن بدن زالوهای مولد $43/07$ ٪ در تیمار T₁ و $43/09$ ٪ در تیمار T₂ کاهش یافت. مقدار کاهش وزن بدن *H. verbana* در مطالعات قبلی انجام شده ۵۰ تا ۶۶٪ (Ceylan, 2020) گزارش شده که با نتایج این تحقیق هم‌سو بوده است، در حالی که گزارشی (Malek et al. 2019) از عدم کاهش معنی‌دار وزن مولدین اورینتالیس در هنگام پیله‌گذاری ارائه شده که با پیشینه در دسترس و نتایج این تحقیق هم‌سو نیست. این تفاوت ممکن است ناشی از درازای دوره تولیدمثل مورد مطالعه، تفاوت گونه، تفاوت خصوصیات زیستی و تفاوت‌های شرایط محیطی و روش پرورش باشد.

H. verbana به دلیل توانایی زنده ماندن در شرایط بی‌ثبات محیطی، رشد بالا و عملکرد تولیدمثل، به‌عنوان یک موجود زنده استراتژیک با پیشینه ظرفیت تولیدمثل ارزیابی

کمیته تلفات گزارش شده یعنی ۲/۵۴٪ (Petrauskiene et al. 2011) بیشتر، و از بیشینه ۱۴/۳٪ (Malek et al. 2019) کمتر است. این تفاوت‌ها به نظر می‌رسد ناشی از روش و شرایط نگهداری و پرورش، نوع غذا و تعداد نوبت غذایی، مقدار غذای دریافت شده و نیز سن زالوی استفاده شده باشد.

نتیجه‌گیری

به‌رغم زودتر رسیدن به اندازه مورد نیاز در بخش درمان (زالوی طبی)، رسیدن به بلوغ تولیدمثلی در سال اول برای تقریباً همه زالوها، داشتن دوره‌های تولیدمثل طولانی‌تر، ادامه تولیدمثل با تلفات کمتر، داشتن بازده تبدیل پیل به نوزاد بالا و فرزندان با ناهنجاری ریختی پایین، ویژگی‌های برتر تغذیه زالوی گونه اورینتالیس با خون پستانداران در مقایسه با استفاده از غذای جایگزین کازئینه مورد استفاده در این تحقیق است. با وجود این، دسترسی آسان به غذای جایگزین خون، امکان بهبود و ارتقای خواص تغذیه‌ای آن، متناسب با شرایط زیستی و پرورشی مورد نیاز زالوی طبی، حذف خطر انتقال بیماری ناشی از مصرف خون آلوده به بیماری در چرخه پرورش یا اقدامات درمانی و پزشکی و کاهش هزینه تولید از نظر ریالی و کاری را می‌توان از مزیت‌های غذای جایگزین خون برشمرد. در راستای یافته‌های مطالعه حاضر با هدف بررسی خواص زیست‌شناسی *H. orientalis* تحت رژیم غذای جایگزین خون، توصیه می‌شود تا مطالعات بیشتری برای بهبود شرایط پرورش و اصلاح و ارتقای ویژگی‌های ضعیف پرورشی زالوهای بومی ایران به‌خصوص در مورد تولیدمثل انجام شود. همچنین، انجام مطالعات بیشتری در تطبیق نیازمندی‌های زیستی و تغذیه‌ای زالوی طبی با خصوصیات غذای فرموله شده تجاری جایگزین خون از نظر جذابیت تغذیه‌ای و خوش‌خوراکی غذا، و همچنین، بهبود قابلیت هضم و جذب غذا و ارتقای ماندگاری غذا در دستگاه گوارش زالو پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع

تخم‌گشایی به‌طور کلی در پیل‌هایی که تغییر شکل ریختی دارند، اتفاق نمی‌افتد، بنابراین تصور می‌شود که موارد ناهنجاری ریختی در فرزندان باید مستقل از پیل‌ها ارزیابی شود. بر اساس مطالعات قبلی، نرخ غیرطبیعی در فرزندان ۵/۳٪ تا ۸٪ (Ceylan, 2020) گزارش شده بود. با تأکید بر اینکه افزایش سن مولد باعث افزایش تعداد فرزندان مبتلا به ناهنجاری‌های ریختی نیز می‌شود. در نتیجه، استفاده از زالوهای مولد جوان را پیشنهاد می‌کنیم که باعث می‌شود ناهنجاری‌های ریختی در تعداد کمتری از فرزندان حاصل شده به نمایش گذاشته شود. همبستگی بین وزن بدن زالوهای مولد و فراسنجه‌های اندازه پیل، فرصتی را برای تخمین اندازه پیل از وزن بدن زالوهای مولد و توزیع وزن زالوی مولد از اندازه پیل در هر دو شرایط کنترل شده و در زیستگاه‌های طبیعی فراهم می‌کند.

لایه اسفنجی اطراف پیل، عملکردهای حیاتی مختلفی مانند محافظت از پیل در برابر شکارچیان (Wilkin, 1989) و جلوگیری از اتلاف رطوبت را که ممکن است منجر به مرگ جنینی در طی دوره تخم‌گشایی شود، انجام می‌دهد (Saidel et al. 2018)، بنابراین، بررسی اثرات محیط‌های مختلف پیل‌گذاری و شرایط مختلف پرورش بر میزان تغییر شکل و تخم‌گشایی پیل در زالوی بومی ایران *H. orientalis*، مشابه مطالعه انجام شده در گونه *H. verbana* (Ugural and Serezli, 2020)، ممکن است مفید باشد.

بازماندگی با افزایش سن در طی دوره به تدریج کاسته شد. یک یافته مهم مطالعه حاضر این است که بیشتر مرگ‌ومیرها در دو تیمار تغذیه‌ای و خصوصاً تیمار T₂ در طی دوره رشد و تا رسیدن به سن ۸ ماهگی رخ داده است. این در حالی است که مطالعات قبلی بیشتر تلفات زالو را در ماه‌های نزدیک بلوغ یا در هنگام تولیدمثل و آغاز بارداری گزارش کرده‌اند (Petrauskiene et al. 2011; Malek et al. 2019, Manav et al. 2019). بقا در مرحله رشد در تیمار T₁ و T₂ به ترتیب معادل ۹۵٪ و ۹۲/۵٪ بود، در حالی که میزان تلفات در دوره تولیدمثل (ماه‌های هشتم تا دهم) تفاوتی در دو تیمار نداشته و معادل ۰/۵٪ بود. میزان تلفات گونه اورینتالیس در این تحقیق (۵ تا ۷/۵٪) از میزان

جدیدفرد، ع. ۱۳۹۳. بررسی امکان پرورش آزمایشگاهی زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*) با استفاده از جیره‌ها و افزودنی‌های غذایی مختلف. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، ۱۲۸ ص.

Aya, V., Florez, A., Perez, L., Ramirez, J.D. 2021. Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. Plos One 16: 1-21.

Ceylan, M. 2020. Effects of maternal age on reproductive performance of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. Animal Reproduction Science 218: 1-6.

Ceylan, M., Cetinkaya, O. 2017. Investigation on the collection and economy of medicinal leeches from wetlands around Lake Egirdir, Turkey. Turkiye Parazitolojii Dergisi 41: 96-101.

Ceylan, M., Erbatur, I. 2012. A study on nutrition of medicinal leech (*Hirudo verbana* Carena, 1820): Cannibalism? Su Urunleri Dergisi 29: 167-170.

Ceylan, M., Cetinkaya, O., Kucukkara, R., Akcimen, U. 2015. Reproduction efficiency of the medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 15: 411-418.

Ceylan, M., Kucukkara, R., Erbatur, I., Karatas, E., Tunc, M., Saglam, N. 2021. Growth, survival and reproduction of the Turkish medicinal leech, *Hirudo sulukii*. Invertebrate Reproduction and Development 65: 57-68.

CITES. 2020. CITES Trade Database. https://trade.cites.org/en/cites_trade/CITES Dec 15ed. Downloaded on 15 December 2020.

Coyne, J.A., Orr, H.A. 2004. Speciation. Sinauer Associates, Massachusetts, 533 p.
Davies, R., Mcloughlin, N. 1996. The effects of feeding regime on the growth and reproduction of the medicinal leech

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

منابع

Hirudo medicinalis. Freshwater Biology 36: 563-568

Frolov, A.K., Litvinenko, R.A. 2015. Basic morphofunctional features of pharmaceutical leech (*Hirudo verbana* Carena, 1820) tissues in various forms of response after hirudotherapeutic procedures. Annals of Parasitology 61: 27-35.

Guo, Y., Kitamoto, S., Kamada, N. 2020. Microbial adaptation to the healthy and inflamed gut environments. Gut Microbes 12: 1-15.

Luca, F., Perry, G.H., Di Rienzo, A. 2010. Evolutionary adaptations to dietary changes. Annual Review of Nutrition 30: 291-314.

Malek, M., Jafarifar, F., Roohi Aminjan, A., Salehi, H., Parsa, H. 2019. Culture of a new medicinal leech: growth, survival and reproduction of *Hirudo orientalis* Utevsky and Trontelj, 2005 under laboratory conditions. Journal of Natural History 53: 627-637.

Maleki Sadabadi, Z., Ejtehadi, H., Abrishamchi, P., Vaezi, J., Erfanian Taleii Noghan, M.B. 2017. Comparative study of autecological, morphological, anatomical and karyological characteristics of *Acanthophyllum ejtehadii* Mahmoudi and Vaezi (Caryophyllaceae): a rare endemic in Iran. Taiwania 62: 321-330.

Manav, M., Ceylan, M., Buyukcapar, H.M. 2019. Investigation of reproductive efficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820 fed with mammalian and poultry blood. Animal Reproduction Science 206: 27-37.

- Petrauskiene, L. 2001. Water toxicity assessment using medicinal leeches. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 4: 203-208.
- Petrauskiene, L. 2004. The medicinal leech as a convenient tool for water toxicity assessment. *Environmental Toxicology* 19: 336-341.
- Petrauskiene, L. 2008. The use of the medicinal leech (*Hirudo* sp.) in ecotoxicological and other scientific research-a short review. *Lauterbornia* 65: 163-175.
- Petrauskiene, L., Utevska, O., Utevsky, S. 2011. Reproductive biology and ecological strategies of three species of medicinal leeches (genus *Hirudo*). *Journal of Natural History* 45: 737-747.
- Phillips, A.J., Siddall, M.E. 2009. Poly-paraphyly of Hirudinidae: many lineages of medicinal leeches. *BMC Evolutionary Biology* 9: 1-11.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 382 p.
- Saglam, N. 2011. Protection and sustainability, exportation of some species of medicinal leeches (*Hirudo medicinalis* L., 1758 and *Hirudo verbana* Carena, 1820). *Journal of Fisheries Sciences* 5: 1-15.
- Saidel, W.M., Saglam, N., Salas-de la Cruz, D., Saunders, R., Shain, D.H. 2018. Elaborate ultrastructure of the *Hirudo* (Annelida: Hirudinae) cocoon surface. *Journal of Morphology* 279: 545-553.
- Sensoy, I. 2021. A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. *Current Research in Food Science* 4: 308-319.
- Sket, B., Trontelj, P. 2007. Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater. *Freshwater Animal Diversity Assessment* 595: 129-137.
- Suzuki, T.A., Ley, R.E. 2020. The role of the microbiota in human genetic adaptation. *Science* 370: 6521.
- Ugural, B., Serezli, R. 2020. Effects of various environments on number of cocoon and offspring in breeding of southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 207-211.
- Utevska, O. 1998. Analysis of reproductive ability. *Vestnik Zoologii* 32: 119-122.
- Utevska, O., Atramentova, L. 2002. Heritability of reproductive traits in the medicinal leech *Hirudo medicinalis*. *Russian Journal of Genetics* 38: 44-49.
- Utevsky, S., Kovalenko, N., Doroshenko, K., Petrauskiene, L., Klymenko, V. 2009. Chromosome numbers for three species of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Systematic Parasitology* 74: 95-102.
- Utevsky, S., Zagnajster, M., Atemasov, A., Zineko, O., Utevska, O., Utevsky, A., Trontelj, P. 2010. Distribution and status of medicinal leeches (genus *Hirudo*) in the Western Palaearctic: Anthropogenic, ecological, or historical effects? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 20: 198-210.
- von Rheinbaben, F., Riebe, O., Koehnlein, J., Werner, S. 2014. Viral infection risks for patients using the finished product *Hirudo verbana* (medicinal leech). *Parasitology Research* 113: 4199-4205.
- Wang, J., Guo, Q.S., Shi, H.Z., Liu, F., Li, M.M., Yan, S.M. 2017. Effects of light spectrum and intensity on growth, survival and physiology of leech (*Whitmania pigra*) larvae under the rearing conditions. *Aquaculture Research* 48: 3329-3339.
- Wenning, A. 1996. Managing high salt loads: from neuron to urine in the leech. *Physiological Zoology* 69: 719-745.

- Wilkin, P. 1989. The medicinal leech, *Hirudo medicinalis* (L.) (Hirudinea: Gnathobdellae), at Dungeness, Kent. Botanical Journal of the Linnean Society 101: 45-57.
- Wilkin, P., Scofield, A. 1991. Growth of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*, under natural and laboratory conditions. Freshwater Biology 25: 547-553.
- Xiong, L., Wang, S., Wang, Q., Wang, J. 2020. Reproduction efficiency of the leech *Whitmania pigra* and multiple paternity revealed by microsatellite analyses. Invertebrate Reproduction and Development 64: 201-207.
- Zhang, B., Lin, Q., Lin, J., Chu, X., Lu, J. 2008. Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, *Hirudinaria manillensis* Lesson, 1842. Aquaculture 276: 198-204 .