



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian  
Aquaculture Society

## Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 4, 2022, pages: 1-13  
DOI:10.22124/janb.2022.21280.1160



### Effects of using different levels of animal and plant proteins in the diets of frog larvae (*Rana ridibunda*) during metamorphosis (tadpole to froglet)

Gholamreza Rafiee\*, Farzaneh Shoghali Niri, Arash Javanshir

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Received 18 June 2021

Revised 16 December 2021

Accepted 21 December 2021

#### KEYWORDS

Frog culture

Metamorphosis

Diet

Protein

#### ABSTRACT

Considering the global consumption of frogs and providing 95% of frogs' legs at the international level through fishing from the natural environment, environmental concerns have been given more attention. Therefore, with the aim of developing the artificial reproduction of frog, the effects of using different dietary- animal and plant proteins on metamorphosis of frog (*Rana ridibunda*) were investigated. The experimental diets were: (i) a diet containing 100% animal protein, (ii) a diet containing 100% plant protein, (iii) a diet containing 50% plant and 50% animal proteins, (iv) a diet containing 30% plant and 70% animal proteins, and (v) a diet containing 70% plant and 30% animal proteins. The tadpole fed the experimental diets in a 90-day period. The individual weight was significantly different among the treatments during the experimental period ( $p < 0.05$ ). The highest weight loss occurred in the 10th week of rearing in the 3, 3 and 1 treatments, respectively. Maximum weight loss was observed in the treatment 5 in the 12 week and in the treatment 2 in the week 13. Given the individual weight, and also the metamorphosis process and biomass of froglets, the diet containing 50% plant and 50% animal proteins nominated more capable diet for production of froglets (*Rana ridibunda*).

\*Corresponding author: ghratiee@ut.ac.ir



"مقاله پژوهشی"

## اثر مصرف جیره‌های غذایی حاوی درصد‌های متفاوت پروتئین گیاهی و حیوانی در پرورش لاروهای قورباغه *Rana ridibunda* تا تبدیل شدن به فراگلت

غلامرضا رفیعی\*، فرزانه شوقعلی نیری، آرش جوانشیر

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۸

### کلمات کلیدی

### چکیده

با توجه به مصرف جهانی قورباغه‌ها و تامین ۹۵٪ پای قورباغه‌ها در سطح بین‌المللی از طریق صید از محیط طبیعی، نگرانی‌های زیست‌محیطی بیش از پیش وارد توجه قرار گرفته است. لذا، در جهت توسعه تکثیر قورباغه در محیط‌های مصنوعی، پژوهشی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی راه‌اندازی شد و تاثیر پنج جیره غذایی حاوی درصد‌های مختلف پروتئین گیاهی و جانوری شامل ۱- حاوی ۱۰۰٪ پروتئین حیوانی ۲- حاوی ۱۰۰٪ پروتئین گیاهی ۳- ۵۰٪ پروتئین حیوانی و ۵۰٪ پروتئین گیاهی ۴- ۷۰٪ پروتئین حیوانی و ۳۰٪ پروتئین گیاهی ۵- ۳۰٪ پروتئین حیوانی و ۷۰٪ پروتئین گیاهی، بر شاخص‌های رشد نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* بررسی شد. داده‌های حاصل از آزمایش اختلاف معنی‌داری را در افزایش وزن انفرادی نوزادان در طول دوره پرورش در بین تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). افزایش وزن انفرادی بین تیمار اول با تیمار دوم و پنجم معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود، اما اختلاف موجود بین تیمارهای سوم و چهارم معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). بیشترین کاهش وزن نیز در هفته دهم پرورش به‌ترتیب در تیمارهای چهارم، سوم و اول رخ داد. در تیمار پنجم در هفته دوازدهم و در تیمار دوم در هفته سیزدهم بیشینه کاهش وزن دیده شد. با توجه به نتایج شاخص افزایش وزن نوزادان، مقایسه فرایند دگردیسی و زیتوده نوزادان، تیمار سوم با ۵۰٪ پروتئین جانوری و ۵۰٪ پروتئین گیاهی بهینه‌ترین تیمار برای پرورش نوزادان قورباغه *R. ridibunda* تا رسیدن به مرحله کامل دگردیسی بود.

## مقدمه

دوزیستان شامل ۲۴ خانواده هستند و قورباغه‌ها ۳۸۰۰ گونه را تشکیل می‌دهند. در بین قورباغه‌ها و از جنس *Rana* در تالاب انزلی گونه قورباغه مردابی معمولی<sup>۱</sup> (*Rana ridibunda*) دارای فراوانی قابل قبولی است. گونه‌های خوراکی و مناسب برای پرورش شامل ۴ قورباغه در دنیا هستند که قورباغه سبز<sup>۲</sup> (*Rana clamitans*)، قورباغه اردکی<sup>۳</sup> (*Rana palustris*)،<sup>۴</sup> (*Rana pipiens*)، قورباغه مردابی معمولی<sup>۵</sup> (*Rana ridibunda*) و قورباغه بزرگ آمریکایی<sup>۶</sup> (*Rana catesbeiana*) را شامل می‌شوند. این گونه‌ها ارزش غذایی و تجارتي بالایی دارند که برای مصرف انسانی پرورش داده می‌شوند. قورباغه بزرگ آمریکایی در سطح بین‌المللی به دلیل اندازه بزرگش و مصرف تمام بدنش مورد پذیرش است، ولی دیگر گونه‌ها فقط به خاطر تولید ران پرورش داده می‌شوند (Mirzajani, 2003).

مصرف قورباغه‌ها موجب بسیاری از نگرانی‌های زیست محیطی شده است، تا آنجا که در دهه‌های گذشته، ۹۵٪ پای قورباغه‌ها در سطح بین‌المللی از طریق صید از محیط طبیعی تأمین شده است. برای مثال، ۲۰۰ گونه قورباغه در حال حاضر برای امرار معاش استفاده می‌شوند. با وجود این، تنها ۲۰ گونه، در سطح بین‌المللی خرید و فروش می‌شوند. هر ساله میلیون‌ها قورباغه توسط کشورهای آمریکایی و اروپایی، برخلاف انقراض احتمالی آنها وارد می‌شوند. بنابراین، تولید کنترل شده پرورش قورباغه به صورت صنعتی امری ضروری است (Altherr et al., 2011).

تغذیه یکی از اساسی‌ترین مشکلات در پرورش تجاری قورباغه‌هاست. غذای قورباغه‌ها را می‌توان با توجه به مراحل مختلف زندگی، به سه نوع مختلف یعنی غذای مناسب تا رسیدن به تدپل‌ها، فراگلت‌ها و قورباغه‌های بالغ تقسیم کرد. برای تغذیه نوزادان دوزیستان و تدپل‌ها از غذاهای متنوعی استفاده می‌شود. غذا یا جیره با کیفیت مطلوب برای تدپل‌ها معمولاً شامل آرتمیا، زرده تخم مرغ پخته شده، ماهی پخته،

سبوس برنج و کاهوی پخته است. غذای فراگلت‌ها شامل کرم-های پروانه‌دار است. پرورش کرم پروانه را می‌توان با استفاده از سینی‌های چوبی محتوی ضایعات حیوانی ترکیب شده با ماهی فاسد به عنوان محیط پرورش انجام داد. بعد از تبدیل شدن تخم‌ها به کرم، فراگلت‌ها را می‌توان با استفاده از کرم-های متولد شده تغذیه کرد. غذای مناسب برای قورباغه‌های بالغ، حشرات هستند که معمولاً شکار ترجیحی محسوب می‌شوند. پیشنهاد شده است که تدپل‌ها، ماهی‌ها و خرچنگ‌ها را به عنوان بهترین غذاها برای تغذیه انتخاب می‌کنند (Culley et al. 1977). در مزارع تجاری بزرگ، غذاهای پلت تجاری ماهیان و غذای سگ نیز می‌تواند برای تغذیه قورباغه‌های در حال رشد استفاده شود.

برای تدپل‌ها و قورباغه‌های بالغ *Rana catesbeiana* فرمول‌های مختلفی برای تولید غذاهای تجاری معرفی شده است. ترکیب جیره‌های فرموله شده اغلب شامل پودر میگو، پودر ماهی، پروتئین مخمر و سویا، سبوس برنج، آب پنیر، روغن ماهی، محلول ماهی<sup>۷</sup>، مکمل ویتامینی، لینولئیک اسید، سدیم همتوفسفات و کلگین به عنوان همبند، یا پروتئین خام گیاهی (آرد سویا، گندم و ذرت) و حیوانی (پودر ماهی و پودر گوشت و شیر خشک) است (Culley et al. 1977; Fontanello et al. 1985).

اثرات مواد افزودنی در جیره روی رشد و نمو قورباغه‌ها نیز بررسی شده است. گزارش شده است که کلسیم موجود در جیره غذایی (۰/۹-۰/۵٪) برای رشد و نمو عادی اسکلت استخوانی در نوزادان *R. catesbeiana* مورد نیاز است. علاوه بر این، جیره‌های حاوی ۸-۲٪ ویتامین C، شیوع بیماری scoliosis را در نوزادان *R. catesbeiana* کاهش می‌دهد (Leibovitz et al., 1982). مواد غذایی در یک جیره برای قورباغه‌ها شامل آرد ماهی، پودر میگو، کنجاله سویا، پروتئین مخمر و سبوس برنج چربی‌زدایی شده و مواد افزودنی شامل مکمل ویتامینی، کلسیم فسفات و اسکوربیک اسید پوشش‌دار نیز به کار رفته است (Schafer, 1982).

<sup>5</sup> Marsh frog

<sup>6</sup> American Bullfrog

<sup>7</sup> Fish soluble

<sup>1</sup> Marsh frog

<sup>2</sup> Green frog

<sup>3</sup> Pickerel frog

<sup>4</sup> Northern Leopard frog



جدول ۲ جیره‌های غذایی و میانگین ترکیب بیوشیمیایی تقریبی آنها که برای تغذیه و پرورش لاروهای قورباغه *Rana ridibunda* به کار رفت.

ترکیب	جیره های آزمایشی				
	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳	جیره ۴	جیره ۵
رطوبت (%)	۱۰/۲۰	۱۰/۸۰	۱۱/۳۰	۱۱/۰۰	۱۰/۵۰
پروتئین (%)	۴۰/۹	۴۰/۷۵	۳۹/۸۰	۴۱	۴۰
چربی (%)	۱۶	۱۴/۱۰	۱۵/۰۰	۱۵/۳۰	۱۵/۵۰
خاکستر (%)	۴/۴۰	۳/۹۰	۳/۸۰	۴/۰۰	۴/۲۰
فیبر (%)	۲/۱۰	۴/۲۰	۲/۷۵	۲/۸۰	۲/۸۰

### شرح آزمایش

تعداد ۴۵۰ قطعه تدپل قورباغه مردابی معمولی از حاشیه تالاب انزلی صید، و به کارگاه تکثیر و پرورش آبیان انتقال داده شد و در مخازن پرورشی با شرایط محیطی سازگار شدند. تدپل‌ها یک هفته قبل از شروع آزمایش برای سازگار شدن به جیره‌های غذایی و دستکاری در مخازن قرار داده شدند. در طول این مدت نیز با غذای قزل‌آلا محتوی ۴۰٪ پروتئین تغذیه شدند. این آزمایش به مدت ۱۴ هفته انجام شد.

با در نظر گرفتن زمان شروع تغذیه خارجی در روز ۱۵ و تغییر و دگرذیسی در روز ۲۵، نوزادان برای یک دوره ۹۰ روزه با جیره‌های غذایی آزمایشی تغذیه شدند. از جیره‌های غذایی برای تغذیه تدپل‌ها با سطح پروتئین خام ۳۵٪ با نسبت ۱۳٪ وزن زنده تدپل‌ها، یکبار در روز و در ساعت ۱۲ استفاده شد (Seixas Filho et al. 2011b). نوزادان در ۱۵ مخزن پلاستیکی، هر یک با ظرفیت ۱۰ لیتر و با مقدار ۶ لیتر آب در کنار هم قرار داده شدند و تراکم تدپل‌ها ۵ قطعه در لیتر

- شمارش تعداد تلفات و دگرذیسی‌ها در هر تکرار
- محاسبه میانگین وزن نوزادان با تقسیم کردن وزن آنها بر تعداد نوزادان توزین شده
- زی‌توده موجود در هر تکرار = (تعداد اولیه - تعداد تلفات) × میانگین وزن نوزادان
- محاسبه مقدار غذای مصرفی = ۱۰٪ وزن زی‌توده

نوزادان قورباغه یکبار در روز با نسبت ۱۰٪ وزن زنده آنها، با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. این آزمایش به مدت ۱۴ هفته انجام شد.

### سنجش آماری

بود. دمای آب و دمای محیط در دو نوبت به‌صورت روزانه در صبح و عصر با دماسنج اندازه‌گیری شد. دمای آب در طول آزمایش حدود  $1 \pm 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  و تغییرات مقدار pH ۷/۱-۷/۵ بود. تعویض آب مخازن، تقریباً ۸۰٪ در طی ۲۴ ساعت انجام شد (Seixas Filho et al. 1997). مخازن پرورشی روزانه از طریق سیفون کردن آب تمیز نگه داشته شد و مدفوع و مواد غذایی باقی مانده از آن خارج شدند. زیست‌سنجی نوزادان هر هفته یکبار تا زمان پایان دگرذیسی و جذب دم، با اندازه‌گیری وزن و درازا و میزان بقا انجام شد. درازای بدن از دهان تا محل دم، توسط خط‌کش، زیر بینوکولار اندازه‌گیری شد. برای وزن کردن نوزادان نیز از ظروف پلاستیکی با حجم ۵ میلی‌متر آب توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. روزانه کیفیت تصویر پایین است. تدپل‌های تلف شده از ظروف خارج و تعداد تلفات در هر روز ثبت شد. برای محاسبه مقدار غذای مصرفی در هر روز مراحل عملیات زیر انجام شد:

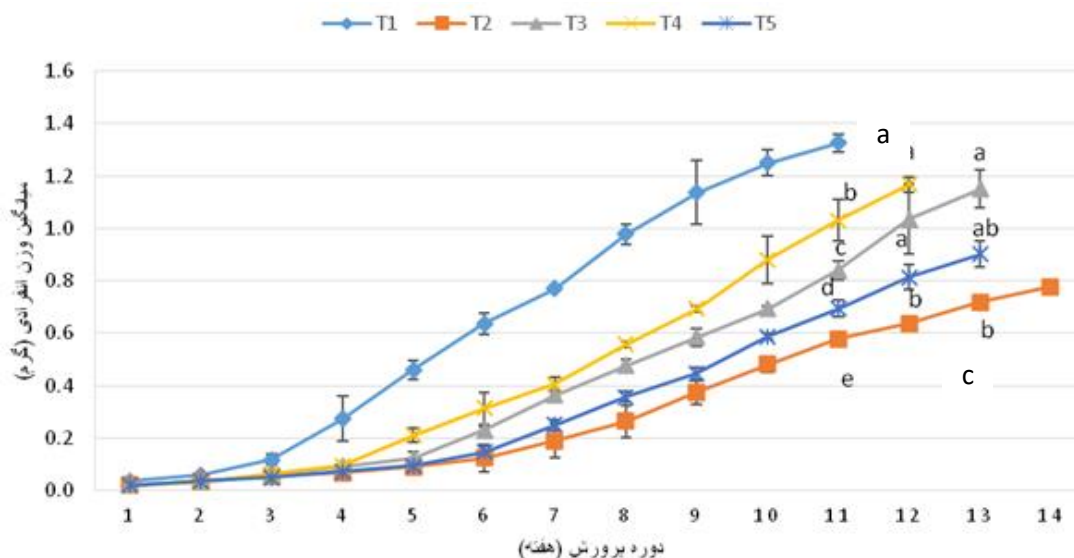
برای مقایسه میانگین داده‌ها بین تیمارهای آزمایشی از تجزیه واریانس یک طرفه One-Way ANOVA استفاده شد. تعیین سطح معنی‌دار بودن بین میانگین متغیرها در تیمارهای مختلف با آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ( $p < 0.05$ ) بررسی شد.

دارای بیشترین وزن انفرادی ( $1/325 \pm 0/035$  گرم) است. بعد از تیمار اول، به ترتیب تیمارهای چهارم، سوم، پنجم و دوم افزایش وزن انفرادی بیشتری را نشان دادند. در هفته یازدهم بین پنج تیمار غذایی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). در هفته دوازدهم بین تیمار چهارم و سوم با تیمارهای دوم و پنجم اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0/05$ ).

## نتایج

### شاخص‌های رشد

داده‌های حاصل از آزمایش اختلاف معنی‌داری را در افزایش وزن انفرادی نوزادان در طول دوره پرورش در بین تیمارها نشان داد ( $p < 0/05$ ). این داده‌ها در نمودار شکل ۱ ارائه شده است و نشان می‌دهد که تیمار اول نسبت به دیگر تیمارها



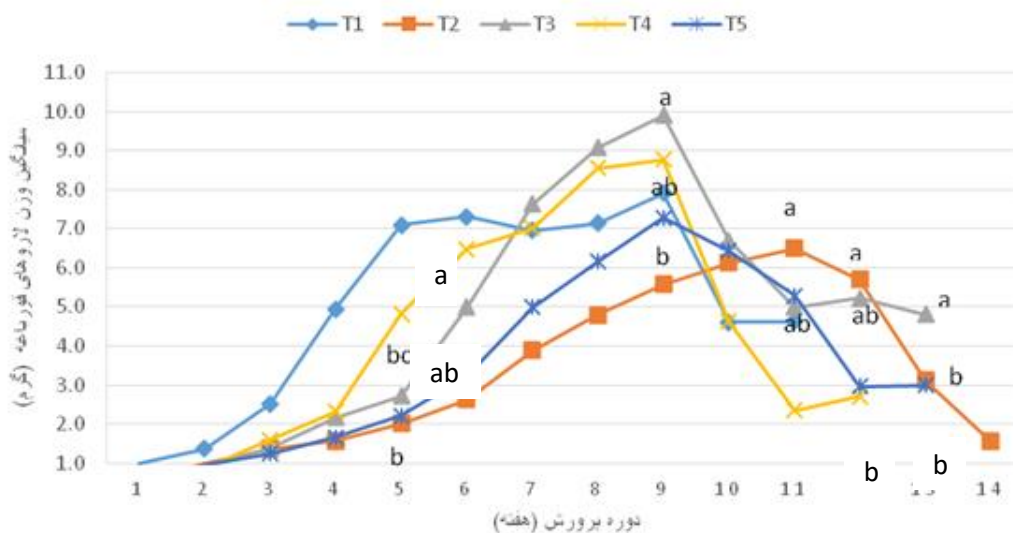
شکل ۱ میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) وزن انفرادی نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* تغذیه شده با پنج تیمار غذایی با درصد متفاوت پروتئین گیاهی و حیوانی در طی دوره پرورش.

پروتئین گیاهی) هفته نهم دارای بیشترین وزن کل ( $9/90 \pm 0/63$  گرم) و با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). تیمار چهارم (۷۰٪ پروتئین حیوانی و ۳۰٪ پروتئین گیاهی) نیز در هفته نهم دارای بیشترین وزن کل ( $8/76 \pm 1/62$  گرم) بود، اما تفاوت معنی‌داری در این هفته با هفته هفتم و هشتم مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). در تیمار پنجم (۳۰٪ پروتئین حیوانی و ۷۰٪ پروتئین گیاهی) نیز بیشترین وزن ( $7/28 \pm 0/92$  گرم) در هفته نهم و با عدم وجود تفاوت معنی‌دار با هفته هشتم و نهم مشاهده شد ( $p > 0/05$ ). در هفته پنجم، تیمار اول دارای بیشترین وزن بود که نشان داد نوزادان بیشتری به مراحل اوج دگرذیسی خود نزدیک شده‌اند. در این هفته تیمار اول ( $2/78 \pm 7/09$  گرم) با تیمارهای دوم و پنجم تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ). در

وزن کل به دلیل حضور تعداد کمتری نوزاد در هفته‌های بعدی شروع آزمایش دارای نوسان بود. بعد از حدود پنجمین هفته، سنگین‌ترین تدپل‌ها شروع به دگرذیسی کردند و از سینی‌ها خارج شدند. این امر موجب افت سریعی در میانگین وزن تدپل‌های باقی‌مانده در سینی‌ها شد. بنابراین، نوسانات هفتگی قابل توجهی در این شاخص مشاهده شد. با توجه به شکل ۲، در تیمار اول (۱۰۰٪ پروتئین حیوانی) میزان وزن کل نوزادان در هفته نهم با هفته اول، دوم، سوم و یازدهم دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). بیشترین وزن ( $3/52 \pm 7/90$  گرم) در هفته نهم مشاهده شد. در تیمار دوم (۱۰۰٪ پروتئین گیاهی) میزان وزن زی‌توده در هفته یازدهم، بیشترین ( $1/48 \pm 6/49$  گرم) بود و نسبت به دیگر هفته‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ). در تیمار سوم (۵۰٪ پروتئین حیوانی و ۵۰٪

$\pm 2/34$  گرم) با تیمارهای دوم، سوم، پنجم دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). در هفته دوازدهم تیمار دوم ( $\pm 1/1$ ) داشت ( $p < 0/05$ ). با تیمارهای چهارم و پنجم اختلاف معنی‌دار

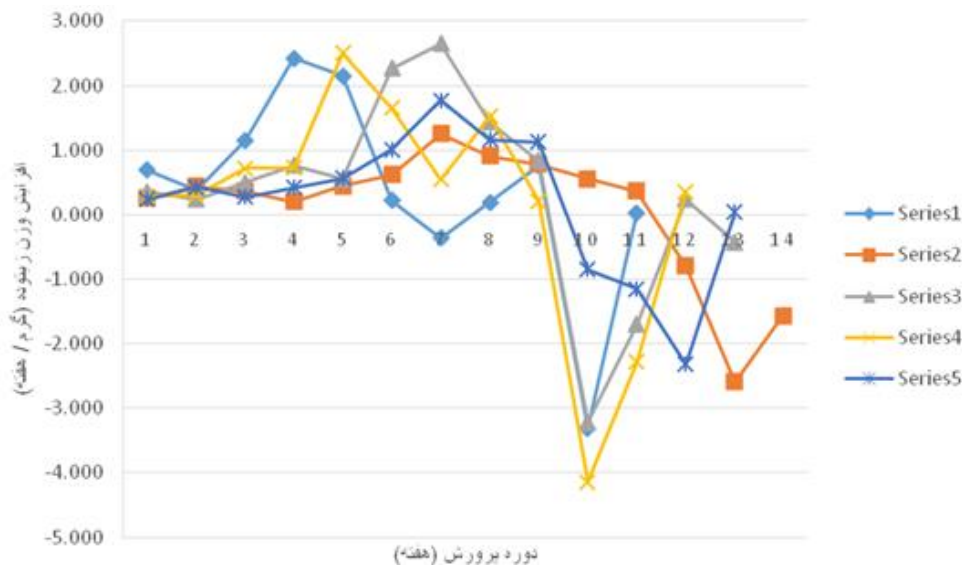
این نمودار، بیشینه افزایش وزن در هفته نهم در تیمار سوم ( $\pm 9/90$  گرم) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار دوم داشت ( $p < 0/05$ ), در حالی که بیشینه وزن کل ( $\pm 6/49$  گرم) در تیمار دوم و در هفته یازدهم و با اختلاف زیاد مشاهده شد. در هفته یازدهم تیمار چهارم ( $1/06$ )



شکل ۲ میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) وزن کل نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* تغذیه شده با ۵ تیمار غذایی مختلف با درصد متفاوت پروتئین گیاهی و حیوانی در طی دوره پرورش ۱۴ هفته‌ای.

هفته دهم پرورش به ترتیب در تیمارهای چهارم، سوم و اول رخ داد. در تیمار پنجم در هفته دوازدهم و در تیمار دوم در هفته سیزدهم بیشینه کاهش وزن دیده شد (شکل ۳).

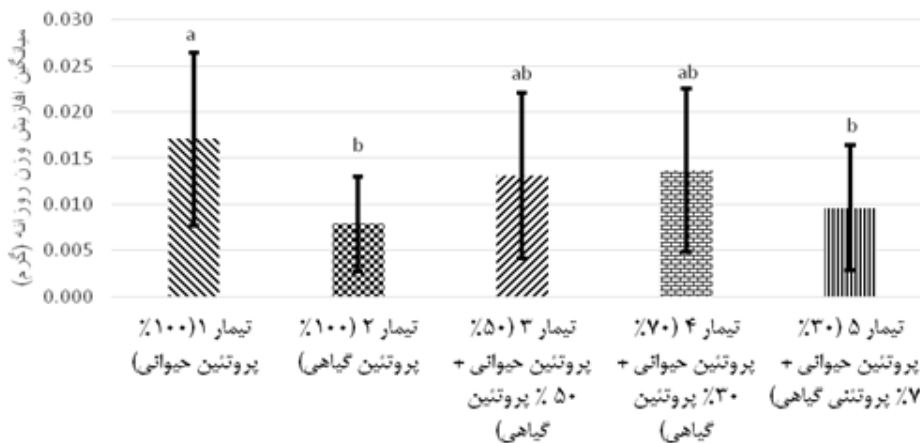
بر اساس نتایج به دست آمده، اختلاف مشاهده شده در افزایش وزن انفرادی بین تیمار اول با تیمار دوم و پنجم معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) بود، اما اختلاف موجود بین تیمارهای سوم و چهارم معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ). بیشترین کاهش وزن نیز در



شکل ۳ میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) افزایش وزن زی توده نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* تغذیه شده با ۵ تیمار غذایی با درصدهای متفاوت پروتئین حیوانی و گیاهی در دوره پرورش ۱۴ هفته‌ای.

داشت ( $p < 0.05$ )، اما بین تیمار اول با تیمارهای سوم و چهارم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بر پایه این نمودار بیشترین و کمترین افزایش وزن روزانه  $0.017 \pm 0.009$  و  $0.007 \pm 0.005$  به ترتیب در تیمار اول و دوم مشاهده شد.

با توجه به نمودار شکل ۴ اختلاف معنی‌داری در میانگین افزایش وزن روزانه نوزادان قورباغه تغذیه شده با پنج تیمار غذایی با درصد متفاوت پروتئین حیوانی و گیاهی مشاهده شد. بین تیمار اول با تیمار دوم و پنجم اختلاف معنی‌دار وجود



شکل ۴ میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) افزایش وزن روزانه نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* تغذیه شده با پنج تیمار غذایی با درصدهای متفاوت پروتئین حیوانی و گیاهی در تیمارهای مختلف.

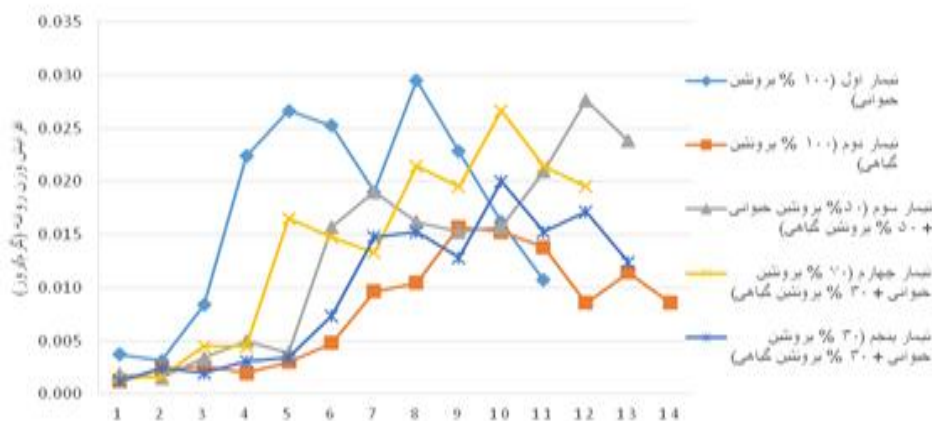
تیمار سوم تا هفته هفتم، تیمار پنجم تا هفته هشتم و در تیمار دوم تا هفته نهم دارای شبیهی افزایشی به صورت آرام در افزایش وزن روزانه و سپس نوسان افزایشی و کاهش بود.

بر اساس شکل ۵، افزایش وزن روزانه نوزادان در تیمارهای آزمایشی در هفته‌های پرورش دارای تفاوت معنی‌داری بود. در تیمار اول تا هفته ششم، در تیمار چهارم تا هفته پنجم و در



اول دارای بیشترین ( $0.11 \pm 0.2/89$ ) و تیمار دوم دارای کمترین ضریب رشد ویژه ( $0.05 \pm 0.1/96$ ) بود.

بیشترین افزایش وزن روزانه  $0.065 \pm 0.03$  گرم در روز در تیمار اول در هفته هشتم و کمترین افزایش وزن روزانه  $0.036 \pm 0.010$  گرم در روز در تیمار دوم مشاهده شد. تیمار



شکل ۵ میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) افزایش وزن روزانه نوزادان قورباغه *Rana ridibunda* تغذیه شده با پنج تیمار غذایی با درصد‌های متفاوت پروتئین حیوانی و گیاهی در دوره پرورش ۱۴ هفته‌ای.

حالی که تیمار دوم با ۱۰۰٪ پروتئین گیاهی دارای کمترین مقدار پروتئین ۴۶/۵۶٪ و بیشترین میزان چربی ۳۳/۹۶٪ بود و به ترتیب تیمارهای چهارم، سوم و پنجم قرار داشتند (جدول ۳).

سنجش بیوشیمیایی ترکیب لاشه نوزادان قورباغه اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). میزان پروتئین اولیه لاشه ۴۵/۹۱٪ بود. تیمار سوم با ۱۰۰٪ پروتئین جانوری دارای بیشترین مقدار پروتئین با ۵۶/۹۳٪ بود، در

جدول ۳ میانگین ترکیب بیوشیمیایی لاشه نوزادان قورباغه *R. ridibunda* پرورش یافته با پنج تیمار غذایی مختلف با درصد‌های متفاوت پروتئین جانوری و گیاهی در پایان آزمایش.

شاخص‌ها	۱	۲	۳	۴	۵
پروتئین	$50.1 \pm 64.2^b$	$46.1 \pm 56.43^c$	$56.0 \pm 93.74^a$	$50.1 \pm 73.3^b$	$46.1 \pm 60.11^c$
چربی	$39.1 \pm 29.31^a$	$33.1 \pm 96.66^c$	$33.3 \pm 79.61^b$	$33.1 \pm 11.66^a$	$33.3 \pm 60.31^e$

پرورشی، مصرف کنندگان معلق‌اند و از پری‌فیتون‌ها تغذیه می‌کنند، پس آنها به شکل خوبی از غذاهای طبیعی در شرایط پرورشی استفاده می‌کنند. بنابراین، کوددهی استخر پرورشی را می‌تواند یک راهکار مناسب برای افزایش غذای در دسترس برای تدپل‌ها دانست.

رشد و دگردیسی قورباغه *R. catesbeiana* با رژیم‌های مختلف غذایی اعم از فیتوپلانکتون‌ها، مخلوط غذای دستی و پلانکتون و غذای دستی نشان داده است که مخلوط پلانکتون و غذای دستی از کارایی بهتری برخوردار است و ۳۳ تا ۵۰٪

## بحث

از دیرباز و در مزارع پرورشی تجاری پرورش نوزادان یا تدپل‌های قورباغه، تهیه و تأمین غذا بخش مهم و خاصی را تشکیل داده است و دامنه گسترده‌ای از منابع پروتئینی شامل سبزیجات تازه (Culley, 1991)، تخم مرغ پخته (Flores-Nava et al., 1994) و در بسیاری از موارد غذای پلت یا حبه‌های تجاری موجود در بازار را نیز شامل شده است (Flores-Nava, 1994a; Lopes-Limo and Agostinho, 1992). عنوان شده است که تدپل‌های

نیست که می‌توان این داده‌ها را ناشی از به‌کارگیری سطح انرژی بالاتر در جیره دانست.

وجود اختلاف معنی‌دار در میزان وزن انفرادی در دوره پرورش ۱۴ هفته‌ای در هر یک از تیمارها تأکید بر ارتباط مستقیم سطح پروتئین با افزایش وزن دارد. در طی ۱۴ هفته، وزن بدن به‌طور مداوم افزایش یافت. در تیمار اول بیشینه وزن فردی به‌دست آمده، در تیمار اول و با مقدار  $0.35 \pm 1/35$  گرم مشاهده شد و بعد از آن، به‌ترتیب تیمارهای چهارم، سوم، پنجم و دوم قرار داشتند. بنابراین، بهینه و غیر بهینه‌ترین تیمار از نظر وزن انفرادی به‌دست آمده به ترتیب، تیمار اول با  $1.10$  پروتئین حیوانی و تیمار دوم با  $1.10$  پروتئین گیاهی بودند.

بیشینه افزایش وزن ( $9/90 \pm 0/63$  گرم) در تیمار سوم و در هفته نهم مشاهده شد، در حالی که بیشینه وزن کل ( $6/49 \pm 1/482$  گرم) در تیمار دوم و در هفته یازدهم و با اختلاف زیاد مشاهده شد. بنابراین، با توجه به اینکه زی‌توده یا وزن کل نوزادان در هر تیمار با استفاده از تعداد نوزادان موجود و میانگین وزن آنها در هر تیمار محاسبه می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که نوسانات ایجاد شده ممکن است احتمالاً ناشی از خروج برخی از نوزادان از مخازن پرورشی و دگردیسی زودرس آنها باشد.

پژوهش‌های Benitez-Mandujano and Flores-Nava (۱۹۹۷) روی رشد و دگردیسی قورباغه *R. catesbeiana* با رژیم‌های مختلف غذایی اعم از فیتوپلانکتون، مخلوط غذای دستی و پلانکتون و غذای دستی نشان داد که مخلوط پلانکتون و غذای دستی از کارایی بهتری برخوردار است و غذای خالص پلانکتون و یا غذای دستی به تنهایی، کمترین وزن نهایی را در نوزادان ایجاد خواهد کرد. بالاترین درازا و وزن به‌دست آمده در پرورش نوزادان *R. ridibunda* با رژیم غذایی مخلوط مشاهده شد و تیمار غذایی صرفاً گیاهی از وضعیت مناسبی برخوردار نبود (Mirzajani et al. 2003). این یافته‌ها با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد.

طبق نتایج حاصل از میزان وزن فردی، در طی زمان می‌توان مقدار افزایش وزن یا رشد را محاسبه کرد. بر اساس داده‌ها، رشد فردی نوزادان بین تیمار اول با دوم و پنجم، معنی‌دار و

نوزادان با میانگین وزن بالا در این شرایط دگردیسی می‌کنند و استفاده از غذای خالص پلانکتونی و یا غذای دستی تنها، باعث کاهش وزن در نوزادان می‌شود (Benitez-Mandujano and Flores-Nava, 1997).

در پژوهش Mazzoni و همکاران (۱۹۹۲)، میانگین بقای نوزادان تغذیه شده با جیره‌های متعادل شده، با توجه به سطوح انرژی خام، به ترتیب برای سطوح پروتئین خام ۲۵، ۳۵ و ۴۵٪، به ترتیب  $70/83$ ،  $87/50$  و  $59/17$ ٪ اعلام شد. برای جیره‌های متعادل شده با سطوح انرژی قابل سوخت و ساز و برای سطوح پروتئینی ۲۵، ۳۵ و ۴۵٪ نیز به‌ترتیب  $79/17$ ،  $80/83$  و  $87/50$  تعیین شده است. در پژوهش حاضر، نوزادان تغذیه شده با جیره ۳ تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها نشان دادند و بیشترین میانگین وزن را در دوره پرورش داشتند. با وجود این، کمترین زی‌توده و بیشترین ضریب تبدیل غذایی، با توجه به تلفات ( $3/34$ ٪) حاصل شد. این نتایج نشان می‌دهد که این جیره‌های غذایی برای این مرحله رشد تدبیل‌ها، با توجه به اطلاعات ارایه شده توسط دیگر پژوهشگران باید تحلیل و ارزیابی بیشتری شوند، چون زنده‌مانی بیشتر در تناقض با رشد بیشتر فردی قرار می‌گیرد (Seixas Filho et al. 2008).

در این پژوهش، میانگین درازا و وزن نوزادان به‌طور معنی‌دار در ارتباط با سطوح مختلف پروتئینی افزایش پیدا کرد که با نتایج دیگر پژوهشگران مطابقت دارد (Selaxs Filho, 1998a,b; Albinati, 2000; Barbosa et al. 2005). داده‌های کاربردی به دست آمده از پرورش نوزادان، برای سطوح پروتئین مختلف جیره با دو سطح متفاوت انرژی با توجه به نتایج حاصل از پژوهش‌های Culley و Sotiardis (۱۹۸۳) سطوح ۲۵-۳۵٪ پروتئین خام در جیره را پیشنهاد کرده است. با وجود این، داده‌ها مشابه یافته‌های Fontanello و همکاران (۱۹۸۲) هیچ تفاوتی را در افزایش وزن نوزادان تغذیه شده با جیره‌های محتوی ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰٪ پروتئین نشان نداده است. در این راستا Figueiredo و Calassini (۱۹۸۸) سطح ۴۰٪ پروتئین خام را گزارش کرد. این در حالی است که برای پرورش نوزادان قورباغه بزرگ آمریکایی ۲۰ و ۳۰٪ پروتئین در غذای نوزادان بهینه گزارش شده است، اگرچه سطح انرژی استفاده شده در غذا مشخص

رخ داد. این نتایج نشان می‌دهد که تیمار اول با سرعت و شیب بیشتری مراحل رشد را طی کرده و افزایش وزن روزانه بیشتری نیز دارد. به ترتیب تیمارهای چهارم، سوم و پنجم دارای شیب مناسبی در میزان افزایش وزن روزانه هستند، اما تیمار اول کمترین شیب در افزایش وزن روزانه را دارا بود. بنابراین، تغییر و یا کاهش در وزن نهایی در هفته پایانی نسبت به هفته قبل منجر به کاهش در افزایش وزن روزانه خواهد شد. بدین ترتیب، بهترین تیمار از نظر افزایش وزن روزانه به ترتیب تیمارهای اول، چهارم، سوم، پنجم و دوم بودند. به طور کلی، کاهش در افزایش وزن روزانه نوزادان در هفته‌هایی که میزان دگرذیسی بالاست، بیشتر نمود دارد و حاکی از آن است که نوزادان در زمان دگرذیسی، دیگر افزایش وزن و رشد ندارند و بیشتر انرژی خود را صرف تغییرات تکاملی و نمو در این دوره می‌کنند. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق درباره وزن گیری نوزادان *R. ridibunda* می‌توان عنوان کرد که نوزادان قورباغه با افزایش سن، تمایل بیشتری به مصرف پروتئین جانوری پیدا می‌کنند. در نتیجه، در تیمارهایی که میزان بیشتری پروتئین گیاهی دارند، از جمله تیمار دوم و پنجم، وزن نهایی انفرادی و میزان افزایش وزن انفرادی، همچنین وزن کل دارای کمینه مقدار است. در آزمایش Selaxs Filho و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین افزایش وزن به دست آمده در روز ۶۰ برابر با ۵/۰۸ گرم و در تیماری به دست آمد که میزان پروتئین در جیره ۴۰٪ بود. همچنین مشخص شده است که رشد نوزادان قورباغه با مصرف ماهی در جیره غذایی آنها افزایش می‌یابد و جیره‌هایی حاوی سیب-زمینی و گوشت ماهی نسبت به دیگر جیره‌های عاری از گوشت ماهی رشد کمتری دارند (Mirzajani, 2003).

pH و دمای آب در محدوده مناسب برای پرورش نوزادان قورباغه‌ها قرار داشتند و در مطالعات Fontanello و همکاران (۱۹۸۲) و Seixas Filhob و همکاران (۲۰۰۸) نیز این دامنه دمایی و pH گزارش شده است. مطابق با نتایج کارهای Tavares و همکاران (۲۰۰۸) بهینه‌سازی کیفیت آب در مخازن و استخرهای پرورشی، کلید موفقیت در تولید آبری‌پروری است که باید در پرورش نوزادان قورباغه نیز در پژوهش‌های آتی با دقت بیشتری بررسی شوند.

بین تیمارهای سوم و چهارم غیرمعنی بود. این نتایج نشان می‌دهد که این افزایش وزن به دلیل میزان وزن به دست آمده بیشتر در تیمار اول است، اما عدم وجود اختلاف معنی‌دار با دو تیمار چهارم و سوم حاکی از بهینه‌تر بودن این دو تیمار نسبت به تیمار اول است، زیرا تیمار چهارم با ۷۰٪ پروتئین حیوانی و ۳۰٪ پروتئین گیاهی و تیمار سوم با ۵۰٪ پروتئین حیوانی و ۵۰٪ پروتئین گیاهی به ترتیب موجب افزایش وزن نوزادان شدند.

در برخی پژوهش‌ها، مقایسه میانگین وزن بدن تدپل‌ها در انتهای دگرذیسی و تدپل‌هایی که پروتئین بیشتری (۴۳ و ۴۷٪) از جیره را دریافت کردند. نشان داده شده است که نوزادان در گروه‌های تغذیه شده با سطوح پایین‌تر پروتئین (۳۵ و ۳۹٪)، افزایش رشد بیشتری دارند. همچنین، بعد از دگرذیسی جیره‌ای با ۴۳٪ پروتئین بهترین رشد تدپل‌ها را در گونه *R. tigerina* با ۱/۹۵ گرم و در گونه *R. catesbeiana* با ۴/۷۲ گرم دارند (Sretarugsa et al., 1997).

اثبات شده است که مواد غذایی مانند کاهو و جگر که غالباً در مزارع غیرتجاری پرورش دوزیستان استفاده می‌شود، هرگز نیاز غذایی تدپل‌ها را رفع نخواهد کرد و از دیرباز نتایج کارهای پژوهشگران مشخص کرده است که استفاده از جیره‌های تازه برای پرورش متراکم نوزادان *anuran* مناسب نیست (Culley and sotiariadis, 1984).

در این پژوهش، بعد از ششمین هفته، سنگین‌ترین تدپل‌ها شروع به دگرذیسی کردند و از سینه‌ها خارج شدند و این موجب افت سریع در میانگین وزن تدپل‌های باقی‌مانده در سینه‌ها شد. میزان افزایش وزن زی‌توده نوزادان نیز به دلیل مؤثر بودن تعداد آنها در مخازن دچار نوسانات متعددی شد. با خروج نوزادان دگرذیسی کرده و با تلف شدن آنها، نوسانی در افزایش وزن زی‌توده مشاهده شد و وزن کل کاهش یافت و در نهایت، میزان افزایش وزن هر تیمار دچار کاهش شد.

میانگین افزایش وزن روزانه از تفاضل وزن نهایی و وزن اولیه نوزادان پرورشی نسبت به وزن اولیه آنها در کل روزهای پرورش به دست آمد. افزایش وزن روزانه نوزادان قورباغه *R. ridibunda* به طور کلی در تمام تیمارها روند افزایشی داشت، اما در روزهای نزدیک دگرذیسی نوسانات کاهشی نیز

## نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی شاخص افزایش وزن زی توده می توان عنوان کرد که تیمار دوم با ۱۰۰٪ پروتئین گیاهی به دلیل دارا بودن کمترین وزن نوزادان، بدترین جیره و تیمار سوم با ۵۰٪ پروتئین جانوری و ۵۰٪ پروتئین گیاهی، مناسبترین جیره برای پرورش نوزادان قورباغه *R. ridibunda* است. بنابراین، وجود درصد مناسبی از پروتئین های گیاهی در جیره غذایی نوزادان قورباغه ها، می تواند نقش مهمی در پرورش مرحله نوزادان این قورباغه داشته باشد.

## تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

## منابع

- Altherr, S., Goyenechea, A., Schubert, D.J. 2011. Canapés to extinction, the international trade in frogs' legs and its ecological impact. Pro Wildlife, Defenders of Wildlife, Animal Welfare Institute 7-11.
- Benitez-Mandujano, M. A., Flores-Nava, A. 1997. Metamorphosis and growth of *Rana catesbeiana* (Shaw) tadpoles fed live and supplementary feed, using tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), as a Biofertilizer. Aquaculture Research 28: 481-488.
- Culley, D.D.Jr. 1991. Bullfrog culture. In: Production of Aquatic Animals (ed. by Nash, C.E.). pp. 185-205. World Animal Science. C4, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Culley, J.R., Sotiariadis, P.K. 1983. Progress and problems associated with bullfrog tadpole diets and nutrition. Chicago, Lincoln Park Zoological Gardens, Chicago, 24 p.
- Culley, D.D.Jr., Meyers, S.P., Doucette, A.J., Jr. 1977. A high-density rearing system for larval anurans. Animals 6: 34-41.
- Figueiredo, M.R.C., Gallassini, F.G. 1988. Variações no ganho de peso de girinos de rã-touro-gigante (*Rana catesbeiana*, SHAW, 1802) alimentados com rações de diferentes níveis protéicos (20, 30 e 40 PB). In: Encontro Nacional De Ranicultura, 6, Rio de Janeiro, RJ. 1988. Anais...Rio de Janeiro: ARERJ, pp.355.
- Flores-Nava, A. 1994. An overview of frog farming in Mexico. In: August, Nambiar, K.P.P., Singh, T. 1994. Proceedings of the Infofish - Aquatech'94 International Conference on Aquaculture, Colombo, Sri Lanka 29-31.
- Flores-Nava, A., Olvera-Novoa, M., Gasca-Leyva, E. 1994. A comparison on the effects of three water-circulation regimes on the aquaculture of bullfrogs (*Rana catesbeiana* Shaw) tadpoles. Aquaculture 128: 105-114.
- Fontanella, D., Arruda- Soares, H., Mandelli, J.R.J., Justo, C.L., Pentead, L.A., Campos, B.E.S. 1985. Effect of protein of animal and vegetable origin on weight gain of tadpoles of *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, in experimental outdoor

میانگین ضریب رشد ویژه، داده های حاصل از افزایش وزن روزانه را نیز تأیید می کند. در طی پرورش نوزادان قورباغه *R. ridibunda* همزمان با افزایش وزن بدن، درازای بدن و درازای کل نیز افزایش یافت. درازای کل تا قبل از دگرذیسی به بیشینه مقدار خود رسید و سپس به دلیل جذب دم در فرایند خود هضمی توسط موجود دچار کاهش شد، اما طول بدن به دلیل افزایش وزن بدن و مصرف غذا تا زمان دگرذیسی روند افزایشی داشت و بعد از آن به حالت ثابت رسید، ولی درازای بدن افزایش نیافت. در مرحله دگرذیسی نوزادان انرژی خود را صرف نمو کرده و برای رشد انرژی کمتری مصرف می کنند. علاوه بر این، در این دوره زمانی به دلیل تغییرات فیزیولوژیک نیز احتیاج به تغذیه ندارند که در نهایت، منجر به کاهش وزن انفرادی، کل و حتی افزایش وزن روزانه می شود.

- conditions. *Boletín del Instituto de Pesca* 12: 43-47.
- Fontanello, D., Arruda-Soares, H., Mandelli, Jr. J., Reis, J.M., 1982. Desenvolvimento ponderal de girinos de RI-tou *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802) & ados com raqao de diferentes niveis proteicos. *Boletín Institute de Pesca, SZo Paulo* 9: 125-129.
- Leibovitz, H.E., Culley, D.D., Jr., Gaeghan, J.P. 1982. Effects of vitamin C and sodium benzoate on survival, growth and skeletal deformities of intensely cultured bullfrog larvae (*Rana catesbeiana*) reared at two pH levels. *World Mariculture Society* 13: 322-328.
- Lopes-Lima, S., Agostinho C.A., 1992. A Tecnologia de Criacao de Ras. Imprensa Universitario. Universidade Federal de Viqosa (MG). Brasil, 168 p.
- Marshall, G.A., Amborski, R.L., Culley, D.D. 1980. Calcium and pH requirments in the culture of bullfrog *Rana catesbeiana* larvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 11: 445-458.
- Mazzoni, R., Carnevia, D., Rosso, A., Salvo, M.A., Areosa, A., Antoniello, A. 1992. Estudio del porcentaje de proteínay la energía en el alimento peleteado para engorda de rana toro *Rana catesbeiana* Shaw, 1802. In: *Anais do VII Encontro Nacional de Ranicultura, Río de Janeiro, Brasil* 6-9: 185-190.
- Mirzajani, A. 2003. Biological evaluation of the frog species of *Rana ridibunda* in Anzali Lagoon for consumption and export. *Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO)*, 1-20.
- Priddy, J.M., Culley D.D., Jr. 1971. Growth of larval and juvenile *Rana pipiens* of four laboratory diets. *American Zoology* 10: 315-320.
- Priddy, J.M., Culley, D.D., Jr. 1971. The frog culture industry, past and present. *Proceeding Annual Conference Southeastern Association of Gama and Fish Commissioners* 25: 597-601.
- Schafer, S. 1982. Special diet for rearing larval anurans. *San Diego Herp Society, San Diego, California. Newsletter* 4: 2-5.
- Seixas Filho, J.T., Navarro, R.D., Riberio Garcia, S.L., DA Silva, A.C. 2013. Feeding programs for Bullfrog (*Lithabates catesbeianus-Rana catesbeiana*, Shaw 1802). *Brazilian Animal Science* 14: 17-22.
- Seixas Filho, J.T., Hipolito, M., Carvalho, V.F., Fonseca, A.M.C.R.P.M., Silva, L.N, Castagna, A.A. 2008. Alterações histopatológicas em girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais de diferentes níveis protéicos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37: 2085-2089.
- Sretarugsa, P., Luangborisut, P., Kruatrachue, M., Upatham, S. 1997. Effect of diets with various protein concentrations on growth, survival and metamorphosis of *Rana tigerina* and *R. catesbeiana*, *Journal of Science Society of Thailand* 23: 209- 224.