تأثیر جایگزینی پودر ماهی با سطوح مختلف پودر نخود پرتودهی شده و بدون پرتودهی در جیره غذایی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بر شاخص های رشد و هورمون های تیروئیدی (T3 و T4)

رقیه رضامند[۱]*، رضا عسگری[۲]

srezamand@yahoo.com

۱-گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه- ارومیه- ایران
۲-گروه منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه محیط زیست، کرج

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۳

لغات کلیدی: *Oncorhynchus mykiss* ، نخود، پرتودهی، رشد، هورمون های تیروئیدی (T3 و T4)

آبزی پروری در طی ۳ دهه گذشته رشد بسیار بالایی در مقایسه با سایر منابع پروتئین جانوری جهت تامین نیاز جوامع بشری داشته است (FAO, 2010). رشد پایدار آبزی پروری به مقدار زیادی وابسته به تامین نهاده های غذایی مناسب و امن برای آبزیان پرورشی می باشد ولی در حال حاضر، پرورش انواع آبزیان وابستگی زیادی به وجود پودر و روغن ماهی در جیره غذایی دارد (Tacon & Metian, 2009). تاکنون با توجه به محدودیت های تولید پودر و روغن ماهی، تحقیقات زیادی در خصوص جایگزینی آنها با سایر منابع پروتئین جانوری و همچنین منابع پروتئین گیاهی انجام شده است (Thiessen *et al.*, 2004; Gatlin *et al.*, 2007). دانه نخود *Cicer artinum* گیاهی است از خانواده Fabacea که به شکل وسیعی در کشورهایی مختلف کشت می‌گردد. در مقایسه با سایر منابع پروتئین گیاهی، نخود به دلیل انرژی بالا، پروتئین متوسط (۲۲-۲۴ درصد) و لایزین بالا (۱/۶درصد)، به راحتی می‌تواند دستکاری و فرآوری شده (Bautista-Teruel *et al.*, 2003) و برای کاهش هزینه و توسعه رژیم غذایی در صنعت تجاری تغذیه ماهی جایگزین شود. دانه نخود مانند بسیاری ازمنابع پروتئینی گیاهی در بردارنده عوامل ضد تغذیه ای است که ممکن است عملکرد رشد و مصرف پروتئین را در آزاد ماهیان محدود کند. نخود ها در مقایسه با سایر حبوبات، عموماً شامل مقادیر پایین‌تری از کربوهیدراتها و عوامل ضدتغذیه‌ای هستند (Penn *et al.*, 2011). عمده ترین عوامل ضد تغذیه‌ای نخود مهار کننده پروتئاز، لکتین، تانن، سیانوژنز، اسید فایتیک ، ساپونین و آنتی ویتامین‌ها است (Francis *et al.*, 2001). ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از گونه‌های با ارزش تجاری و مهمترین گونه پرورشی کشور محسوب می‌شود و اولین اقدام در پرورش این ماهی تهیه و تدارک یک جیره غذایی اختصاصی بوده که در برگیرنده نیازهای غذایی آن باشد. به علاوه، جیره غذایی باید از بیشترین کیفیت و کمترین هزینه برای نیل به حداکثر رشد برخوردار باشد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تاثیر جایگزینی نخود به عنوان منبع پروتئینی جایگزین پودر ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بر پارامترهای رشد و مقادیر هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4) بود.

برای این منظور ابتدا تعداد ۲۴۵ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین ۴±۶۰ گرم وزنی به صورت تصادفی به هفت گروه تقسیم شدند. همچنین اسیدهای آمینه لایزین و متیونین به تمام جیره های آزمایشی اضافه شدند. اجزاء تشکیل دهنده و ترکیب بیوشیمیایی تیمارهای آزمایش به ترتیب در جداول ۱ و ۲ آورده شده است. هر گروه دارای سه تکرار بوده و پرورش در حوضچه-های ۳۰۰ لیتری از جنس پلی اتیلن و با تراکم ۳۵ قطعه در هر حوضچه صورت گرفت به مدت هشت هفته پرورش یافتند. ترکیب بیوشیمیایی غذای مورد استفاده در این دوره شامل ۳۸ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی خام، ۱۰ درصد خاکستر، ۱۱ درصد رطوبت، ۴ درصد فیبر و ۱/۱ درصد فسفر بود.

جدول ۱: اجزای تشکیل دهنده جیره‌های غذایی (بر حسب درصد)

اجزای جیره	نسبت جایگزینی نخود پرتو بدون دهی (٪)			نسبت جایگزینی نخود پرتو دهی شده (٪)			جیره شاهد
	۲۰	۳۰	۴۰	۲۰	۳۰	۴۰	
پودر ماهی	۴۰	۳۵	۳۰	۴۰	۳۵	۳۰	۵۰
پودر نخود	۱۰	۱۵	۲۰	۱۰	۱۵	۲۰	۰
کنجاله سویا	۶	۴	۴	۶	۴	۴	۸
آرد گندم	۸/۷۳	۶	۴/۸	۸/۷۳	۶	۶	۱۴/۵
گلوتن گندم	۱۸/۶۷	۲۳	۲۵/۵	۱۸/۶۷	۲۳	۲۰/۵	۱۰/۸۹
روغن ماهی	۹	۹	۷/۴	۹	۹	۷/۴	۹/۷۵
روغن سویا	۴	۴	۳/۸	۴	۴	۳/۸	۴
مخلوط مکمل ویتامینی[۱]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
مخلوط مواد معدنی[۲]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
دی کلسیم فسفات	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۶
لایزین(۹۸٪)	۰/۷	۱	۱/۴	۰/۷	۱	۱/۴	۰
میتونین(۹۸٪)	۰/۴	۰/۵	۰/۶	۰/۴	۰/۵	۰/۶	۰
بنتونیت	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

[۱] مخلوط مکمل ویتامینی شامل: ویتامین A ۱۶۰۰۰۰۰، ویتامین D3 ۴۰۰۰۰۰، کولین کلراید ۱۲۰۰۰، نیاسین ۴۰۰۰، ریبوفلاوین ۸۰۰۰، پیریدوکسین ۴۰۰۰، فولیک اسید۲۰۰۰، ویتامین B_{12} ۸۰۰۰، بیوتین mg ۱، اینوزیتول ۲۰۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰۰، ویتامین B_2 ۸۰۰۰، ویتامین K_3 ۲۰۰۰ و ویتامین E ۴۰۰۰۰ (mg یا IU /kg غذا).

[۲] مخلوط مکمل معدنی شامل: آهن ۲۶ گرم، روی ۱۲/۵ گرم، سلنیوم ۲ رم، کبالت ۴۸۰ میلی گرم، مس ۴/۲، منگنز ۱۵/۸، ید ۱ گرم

جدول ۲: ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی در تیمارهای مختلف (اعداد به درصد)

اجزای جیره	نسبت جایگزینی نخود پرتو بدون دهی (٪)			نسبت جایگزینی نخود پرتو دهی شده (٪)			جیره شاهد
	۲۰	۳۰	۴۰	۲۰	۳۰	۴۰	
ماده خشک	۹۱/۴	۹۲/۱	۹۱/۸۵	۹۱/۴	۹۲/۱	۹۱/۸۵	۹۲/۲
پروتئین خام	۵۳/۳۳	۵۳/۱۶	۵۳/۰۶	۵۳/۳۳	۵۳/۱۶	۵۳/۰۶	۵۳/۵۸
چربی خام	۱۲/۲۰	۱۲/۸۰	۱۳/۱۵	۱۲/۲۰	۱۲/۸۰	۱۳/۱۵	۱۳/۲۰
خاکستر	۵/۸۳	۶/۱۹	۵/۷۲	۵/۸۳	۶/۱۹	۵/۷۲	۵/۵۴
کربوهیدرات [۱]	۲۰/۴۰	۱۹/۹۵	۱۹/۸۹	۲۰/۴۰	۱۹/۹۵	۱۹/۸۹	۱۹/۸۸
انرژی [۲]	۴۹۸۱	۵۰۲۵	۵۰۴۹	۴۹۸۱	۵۰۲۵	۵۰۴۹	۵۰۸۳

[۱] کربوهیدرات = (رطوبت+ خاکستر+ چربی+ پروتئین)- ۱۰۰

[۲] انرژی بر حسب کیلوکالری درگرم

دانه نخود مورد استفاده در این تحقیق از گیاه نخود کابلی (*Cicer arietinum* L.) بود. دانه‌های تهیه شده جهت پرتودهی و نیز آنالیز های شیمیایی به پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی اتمی منتقل شدند. پرتودهی با پرتوهای گاما با دستگاه "گاماسل"(Gamasl) و پرتوتابی الکترونی با استفاده از دستگاه رودوترون(Rhodotron) انجام شد (Holm & Berry, 1970). نمونه های پرتودهی شده با هر یک از روش های فوق مورد آنالیز شیمیایی قرار گرفتند و پروتئین خام، چربی، رطوبت و خاکستر آنها تعیین گردید. نتایج حاصله در جدول۳ ارائه شده است. در نهایت، بر اساس آنالیزهای انجام شده، پرتودهی با الکترون با دوز ۳۰ کیلوگری به عنوان بهترین روش عمل آوری نخود در این بررسی انتخاب شد.

زیست سنجی نمونه ها و اندازه گیری هورمون تیروکسین، تری یدوتایرونین و نسبت تیروکسین به تری یدوتایرونین

زیست سنجی ماهیان در روزهای صفر و ۵۶ مطالعه انجام شد. همچنین، در پایان دوره پرورش یعنی در روز ۵۶ خونگیری از ماهیان انجام گرفت. اندازه گیری هورمون‌های تیروئیدی با استفاده از کیت های ایمنوتک (فرانسه) و با روش Radioimmunoassay **(**RIA**)** انجام شد (Burel *et al*., 2001).

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) ، نرم افزار SPSS (نسخه ۱۵) استفاده گردید. و برای بررسی سطح معنی داری از آزمون توکی (آزمون اختلاف حقیقی که به طور مخفف HSD نامیده می‌شود) استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی دار بودن آزمون ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج مربوط به آنالیز شاخص‌های رشد در جدول ۲ آورده شده است. بعلاوه، مقادیر اندازه گیری شده هورمون‌های T3 و T4 و همچنین نسبت T3/T4 در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر جایگزینی نخود (معمولی و پرتودهی شده) برهورمون تری یدوتیرونین، تیروکسین و نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین (نانوگرم بر میلی لیتر).

گروه های آزمایشی	تری یدوتیرونین (T3)	تیروکسین (T4)	T3/ T4
تیمار شاهد	۴/۸۲ ±۰/۲ b	۶/۵۷ ± ۱/۳ a	۰/۷۳ ±۰/۱۳ a
تیمار۱	۸/۳۴±۰/۵ a	۷/۹۵ ±۱/۶ a	۱/۰۵ ±۰/۳ a
تیمار۲	۶/۴۴±۰/۴ b	۷/۲۰ ±۱/۳ a	۰/۸۹ ±۰/۳ a
تیمار۳	۵/۴۷±۰/۱ b	۶/۳۴± ۱/۰۳ a	۰/۸۶ ±۰/۰۸ a
تیمار۴	۶/۱۹ ±۰/۳ b	۷/۴۲ ±۱/۱ a	۰/۸۳ ±۰/۱ a
تیمار۵	۶/۴۱ ±۰/۱ b	۶/۳۹ ± ۱/۵ a	۱/۰۱ ±۰/۳ a
تیمار۶	۵/۲۳ ±۱/۱ b	۶/۷۰± ۱/۲ a	۰/۷۸ ± ۰/۲ a

تیمارها: ۱ (۲۰ درصد نخود بدون پرتو دهی)؛ ۲ (۳۰ درصد نخود بدون پرتو دهی)؛ ۳ (۴۰ درصد نخود بدون پرتو دهی)؛ ۴ (۲۰درصد نخود پرتودهی شده)؛ ۵ (۳۰ درصد نخود پرتودهی شده)؛ ۶ (۴۰ درصد نخود پرتودهی شده)؛ ۷ (شاهد)؛ حروف مختلف نمایانگر تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد بررسی می باشد ($p<0.05$).

در مطالعه حاضر، استفاده از پودر نخود (*Cicer arietinum* L.) به جای پودر ماهی با جایگزینی تا حد ۴۰ درصد موفقیت آمیز بود و تاثیر منفی بر رشد ماهیان مورد بررسی نداشت، که با نتایج Carter و Hauler (۲۰۰۰)، Pereira و همکاران (۲۰۰۲)، Borlongan و همکاران (۲۰۰۳) و Stephan (۲۰۱۰) که به ترتیب در مورد جایگزینی پودر ماهی با لوپین و کنسانتره پروتئینی نخود (*Pisum sativum*) Field pea در جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس، جایگزینی پودر ماهی با نخود خام یا نخود اکسترود شده (*Pisum sativum*) Field pea در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، جایگزینی پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی نخود در جیره غذایی ماهی آزاد اقیانوس اطلس و جایگزینی پودر ماهی با پروتئین نخود در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مطالعه شده همخوانی دارد. در مطالعه حاضر، رشد در دو گروه ماهیان تغذیه شده با پودر نخود پرتودهی شده و بدون پرتودهی تفاوت معنی داری در میزان رشد مشاهده نشد. گزارش شده است که وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای نمی‌تواند علت اصلی کاهش رشد در ماهیان باشند (Cai, 2006). Vilhelmsson و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با پروتئین سویای‌کنسانتره با سطوح پایین ترکیبات ضد-تغذیه‌ای، عملکرد رشد قابل مقایسه‌ای با ماهیان تغذیه‌شده با جیره های غذایی حاوی پودر ماهی داشت. این موضوع در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد. همچنین، Cameron و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که در ماهیان Arctic charr [1] و قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره های غذایی یکسان از نظر انرژی، چربی و پروتئین، مقادیرT3 و T4 تفاوت معنی داری را نشان ندادند.همچنین، علت افزایش معنی دار میزان T3 در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ درصد نخود بدون پرتو دهی در مقایسه با تیمارهای دیگر، می‌تواند تبدیل T4 به T3 در این مدت زمان در این تیمار و یا اختلال در عملکرد تیروئید در سایر تیمارها باشد. در این ارتباط، در مطالعه Burel و همکاران (۲۰۰۱) مشخص شد که جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا به میزان بیش از ۵۰ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، سبب

[1] *Salvelinus alpinus*

اختلال در عملکرد تیروئید و کاهش رشد گردید و نتیجه گیری شد که دلیل این امر ممکن است کاهش فعالیت زیستی هورمون تری‌یدوتایرونین در استفاده از پروتئین، انرژی و فسفر جیره بوده است. بعلاوه، از آنجا که در تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری بین غلظت هورمون تیروکسین در تیمارهای با نخود بدون پرتو دهی و پرتودهی شده و نیز، با جیره شاهد (غذای دستی بدون نخود) مشاهده نشد، می‌توان چنین گفت که ممکن است میزان مواد ضدتغذیه‌ای موجود در گونه نخود مورد استفاده در حدی نبوده که بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید تأثیر گذار باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از دانه نخود به عنوان یک منبع پروتئینی ارزان و در دسترس، می‌تواند در ساخت جیره های غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد توجه قرار گیرد.

منابع

Bautista-Terue, M.N., Eusebio, P.S. and Welsh, T.P., 2003. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture, 225, 121–131.

Burel, C., Boujarda, T., Kaushika, S.J. Boeuf, G., Mol, K.A., Van der Geyten, S., Darrasc, V.M., Kühnc, R., Pradet-Baladed, B., Querate, B., Quinsac, A., Kroutif, M. and Ribaillier, D., 2001. Effects of Rapeseed Meal-Glucosinolates on Thyroid metabolism and feed utilization in Rainbow Trout. General and Comparative Endocrinology, 124(3), 343-358.

Borlongan, I.G., Eusebio, P.S. and Welsh, T., 2003. Potential of feed pea (*Pisum sativum*) meal as a protein source in practical diets for milkfish (*Chanos chanos Forsskal*). Aquaculture, 225, 89–98.

Cai, Y.H., 2006. Effects of antinutritional factors in soybean on the growth performance and digestive physiology of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Dissertation for the Master Degree, Qingdao: Ocean University of China.

Cameron, C., Gurure, R., Reddy, K., Moccia, R. and Leatherland, J., 2002. Correlation between dietary lipid: Protein rations and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpines* (*Linnaeus*). Aquaculture Research, 33, 383-394.

Carter, C.G. and Hauler, R.C., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture, 185, 299-311.

FAO, 2010. FAOSTAT agriculture database **.** Accssed at http//faostat.fao.org/ site/567/default.aspx#ancor. February 1-2, 2013.

Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 199, 197-227.

Gatlin, D.M., Barrows, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G.K., Nelson, R., Overtuf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E., J., Stone, D., Wilson, R. and Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in

aquafeeds: A review. Aquaculture Research, 38, 551-579.

Holm, N.W. and Berry, R.J., 1970. Manual on radiation dosimetry. Dekker, New York.

Penn, M.H., Bendiksen, E.A., Campbell, P. and Krogdahl, A., 2011. High level of dietary pea protein concentrate induces enteropathy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture,310, 267–273.

Pereira, O., Rosa, E., Pires, M.A. and Fontainhas-Fernandes, A., 2002. Brassica by-products in diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their effects on performance, body composition, thyroid status and liver histology. Animal Feed Science and Technology, 101, 171–182.

Stephanie, A., Nilson, A. and Drew, D., 2010. Effect of dietary inclusion rate of canola products on the growth performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Paper presented at the 3rd International Symposium on the Fish Nutrition and Feeding. Qingdao, China, June 1-4, 2010.

Tacon, A.G.J., and Metian M., 2009. Fishing for feed or fishing for food: Increasing global competition for small pelagic forage fish. AMBIO: Journal of the Human Environment, 38, 294-302.

Thiessen, D.L., Maenz , D.D., Newkirk, R.W., Classen, H.L. and Drew, M.D., 2004. Replacement of fishmeal by canola protein concentrate in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 10, 379-388.

Vilhelmsson, O.T., Martin1, S.A.M., Medale, F., Kaushik, S.G. and Houlihan D.F., 2004. Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). British Journal of Nutrition, 92, 71–80.

Effects of replacing fish meal with different levels of irradiated and non-irradiated pea powder on growth indices and thyroid hormones (T3 and T4) of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Rezamand R.[1*]; Asgari R.[2]

srezamand@yahoo.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
2-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Pea, Irradiation, Growth, Thyroid hormones (T3 and T4)

Abstract

Effects of replacement of irradiated and non-irradiated pea powder with fish meal as an alternative protein source in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet were investigated on growth parameters and thyroid hormones (T3 and T4) levels. For this purpose, 245 rainbow trouts with an average 60 ±4 g weight of were randomly divided into seven treatments. Dietary treatments included 20, 30 and 40% replacement of fish meal with peas without irradiation, 20, 30 and 40% replacement of fish meal with pea-irradiated (to reduce anti-nutritional factors) and no manual feed peas (control treatment), respectively. To eliminate anti-nutritional compounds peas, the electron beams were used. Fish rearing was done in 300 l fish tank for 8 weeks. Bioassays were conducted on days zero and 56. Bioassay tests were conducted at the beginning and at the end of the experiment. Also on day 56, the blood samples of the fish were undertaken to determine the amount of thyroid hormone. Results showed that irradiated and non-irradiated pea replacement up to 40% in the diet of Rainbow trout had no negative impact on fish growth parameters compared with the control diet. Furthermore, the use of irradiated and non-irradiated peas up to 40% had no negative impact on thyroid hormone secretion. The results showed that pea powder as a vegetable protein is a good substitute for fish meal in Rainbow trout diet.