در
امور دام و آبزیان شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵
پژوهش و سازندگی

تاثیر گلوکوسینولات موجود در جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بر سرم خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان

(*Oncorhynchus mykiss*)

• **امید صفری**، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
• **فتح‌الله بلداجی**، استاد گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
• **عبدالمجید حاجی‌مرادلو**، استادیار گروه شیلات، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸٤

E-mail:

چکیده

منابع پروتئین گیاهی نقش مهمی را در کاهش هزینه جیره‌های غذایی بر عهده دارند. علاوه بر این، استفاده از این منابع در جیره غذایی ماهی اثرات متابولیکی مختلفی دارد. در این تحقیق از کنجاله کانولا(حاوی ۱۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک) در ۵ سطح جایگزینی ۱۰،۲۰،۳۰،۴۰و۵۰ درصد به جای آرد ماهی همراه با جیره شاهد در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. کلیه جیره‌ها محتوی انرژی و پروتئین یکسانی داشتند. تعداد ۲۱۶ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن متوسط ۱۵±۱۰۰ گرم انتخاب و در ۱۸ وان(هر وان ۱۲ قطعه) جای گرفتند و پس از ۲ هفته سازگاری، به مدت ۵۶ روز با ۶ جیره آزمایشی تغذیه شدند. در روز ۵۶ آزمایش، از هر تیمار بطور تصادفی ۶ ماهی انتخاب، بیهوش و سپس از آن‌ها خونگیری شد. غلظت هورمون محرک تیروئید (TSH)، تیروکسین (T۴) و تری یدوتیرونین (T_3) سرم خون ماهیان اندازه گیری شد. برای تجزیه اطلاعات از نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن ($p>0/05$) صورت گرفت. جایگزینی کنجاله کانولا تا سطح ۵۰ درصد منجر به تغییرات برغلظت هورمون‌های محرک تیروئید (TSH)، تیروکسین (T_4)، تری یدوتیرونین (T_3) و نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین(T_3/T_4) سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنجاله کانولا در مقایسه با سرم خون ماهیان جیره شاهد نشد ($p>0/05$). مقایسه جیره‌های حاوی کنجاله کانولا نشان داد که مقدار گلوکوسینولاتی که بر غلظت تیروکسین و تری یدوتیرونین تاثیر می‌گذارد به ترتیب ۰/۶۲۵و ۲/۵ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره است. این نتایج نشان می‌دهد که کنجاله کانولا تا حدود ۴۰ درصد قابل جایگزینی به جای آرد ماهی جیره شاهد است.

کلمات کلیدی: قزل آلا، کنجاله کانولا، گلوکوسینولات، هورمون محرک تیروئید، تیروکسین و تری یدوتیرونین

Pajouhesh & Sazandegi No 73 pp: 68-176

Effect of glucosinolate in diets containing canola meal on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) blood serum

By: O. Safary. Former Graduted Student. Faculty of Fishery and Environment Science. Gorgan University. F. Boldaji, Prof. Facul of Rang Manage. And Water., Gorgan University of Agric. Scien. Nat. Rcsour. Gorgan. Iran. A. Hajimoradloo. Assoc. Prof. Facult. of Fishery and Envi. Scien. Gorgan Univ. of Agic. Scien. Nat Resourc Gorgan. Iran.

Vegetative protein sources have an important role on reducing cost of diet. Use of these sources have also different metabolic effects. A 56 days feeding trial was conducted with rainbow trout to examine the effects of substitution of canola meal (containing 12.5µmol Glucosinolate/g DM) with fishmeal in diets. Canola meal was substituted by fishmeal at 5 levels 10,20,30,40 and 50 percentage. Each diet was assigned to triplicate groups in a completely randomized design with a control diet. Diets were isonitrogenous and isoenergetic. Two hundred and sixteen fishes with average weight 100±15g were used in this trial. Twelve fishes were randomly assigned to each of 18 tanks and were acclimated in these plastic tanks to the experimental conditions two weeks before treatment began. After 56 days from each diet, 6 fishes were chosen, stunned and bled.Concentrations of serum thyroid stimulating hormone (TSH), thyroxine (T_4) and triiodothyronine (T_3) were measured. Substitution of canola meal to 50 percent caused no significant difference in TSH, T_4, T_3 concentrations and T_3/T_4 ratio of fish feeding canola meal in comparison with conrol fish ($p>0.05$) .Comparisons of diets containing canola meal showed that influencing levels of Glucosinolate quantity on T_4 and T_3 concentrations were 0.625 and 2.5µmol/g DM diet,respectively. These results showed that fishmeal of control diet was replaceable by canola meal at level of 40 percentage.

Keywords: Rainbow trout, Canola meal, Glucosinolate, Thyroid stimulating hormone,Thyroxine and Triiodothyronine

مقدمه

در پرورش قزل آلا، غذا تقریباً نصف هزینه‌های تولیدی را شامل می‌شود. ۶۷ درصد هزینه غذا را منابع پروتئینی جیره تشکیل می‌دهد(۱۸). به خاطر خوشخوراکی و ارزش غذایی بالای آرد ماهی، در تهیه غذای تجاری آزاد ماهیان ۲۵ تا ۶۵ درصد جیره از آن استفاده می‌شود (۲۳). با این حال آرد ماهی به علت گرانی با صرفه جویی زیادی در تهیه غذای ماهی استفاده می‌گردد (۱۹). لذا از منابع پروتئین گیاهی به منظور تعدیل هزینه تولید و کاهش وابستگی به آرد ماهی استفاده می‌شود. اگر چه تاثیرات احتمالی دیگر مانند عدم تعادل در اسیدهای آمینه ضروری گوگرددار (۱۲)، انرژی، قابلیت دسترسی پایین فسفر و اثرات متابولیکی عوامل ضد مغذی(۱۵) را نیز نباید نادیده گرفت.

در ارزیابی کلی پتانسیل یک منبع جدید پروتئینی در جیره حیوانات باید ملاحظه‌های ویژه‌ای در مورد قابلیت دسترسی، قیمت، ارزش غذایی(۱۳، ۱۸) و قابلیت هضم(۱۸) اعمال شود.

کنجاله کانولا از جمله منابع پروتئین گیاهی می‌باشد که جایگزین مناسبی به جای آرد ماهی است. کلزا گیاهی است از خانواده چلیپائیان جنس براسیکا (Brassica) که به شکل وسیعی در کشورهایی مانند کانادا، آمریکا، هندوستان و چین کشت می‌گردد(۳). بنا به تعریف، کانولا کلزایی است که کمتر از ۲ درصد اسید اروسیک در روغن استخراج شده از دانه و نیز کمتر از ۳۰ میکرومول بر گرم ماده خشک، گلوکوسینولات در کنجاله داشته باشد(۱۸، ۲۴). کلزا از نظر مقدار جهانی تولید دانه روغنی، کنجاله و روغن خام به ترتیب در مقام سوم، دوم و سوم در سال زراعی۲۰۰۲-۲۰۰۱ بوده است(۱).

کشت کلزا به صورت آزمایشی و محدود از اواخر دهه چهل شمسی در ایران آغاز گردید، این تلاش‌ها از حدود ۲۰سال پیش به صورت موثرتری جهت انتخاب ارقام مناسب کشت در ایران ادامه یافت(۲). از آن زمان تا کنون ارقام اصلاح شده دو صفر از جمله کالورت (Kalvert)، اوکاپی(Okapi) و طلایه به صورت زمستانه و آپشن (Option) وهایولا۴۰۱ (Hyola) به صورت بهاره کشت می‌شوند(۲).

میزان تولید کلزا در ایران در سال ۸۱ نسبت به سال ۷۵ حدود ۲۶ برابر رشد داشت و همچنین سطح زیر کشت کلزا افزایش حدود ۲۰ برابر را نشان می‌دهد (۲). مقدار گلوکوسینولات در دانه کلزای ایرانی در سال ۸۱ نسبت به سال۷۷، ۷۷/۳ درصد کاهش داشته و همچنین میزان اسید اروسیک در روغن کلزای ایرانی در این سال ۹۰/۴ درصد کمتر از سال ۷۷ بوده است (۲). اکنون کلزای ایرانی با کیفیت تعریف شده برای کانولا، تولید می‌شود (۲).

از جمله عوامل ضد تغذیه ای موجود در کنجاله کانولا گلوکوسینولات می‌باشد که استفاده از این کنجاله را محدود می‌کند. گلوکوسینولات، به طور معمول تیوگلوکوسیدهایی هستند که در گیاهان خانواده کلمیان از جمله کلم، کلم بروکلی، گل کلم، دانه‌های روغنی مثل کلزا، چاشنی‌هایی مثل خردل و سبزیجاتی مثل کلم پیچ وجود دارند(۱۷).

حضور گلوکوسینولات در جیره باعث اختلال در عملکرد تیروئید در

انسان، موش، گاو، خوک و جوجه همراه با اثرات زیان آور بر رشد می‌شود (۱۰، ۱۶). گلوکوسینولات به طور مستقیم مسئول اثرات مخرب بر عملکرد تیروئید نیست (۱۰، ۲۲)، اما سمیت آن به دلیل تولیدات مشتق شده از آن شامل آنیون‌های تیوسیانات، ونیل اکسازولیدین تیون و ایزوتیوسیانات است. این ترکیبها اساساً در طی عمل آوری کنجاله کلزا توسط آنزیم میروزیناز(که یک آنزیم هیدرولیتیکی ویژه گیاهان است) در درجه حرارت‌های بالا و یا فعالیت‌های میکروبی روده ایجاد می‌شود (۲۱).

در ماهی قزل آلا نقش فلور میکروبی روده کم اهمیت و قابل اغماض است. آنیون‌های تیوسیانات با آنیون ید برای انتقال به غشای سلول و یا پیوند با بقایای تیروزین تیروگلوبولین رقابت می‌کنند. ونیل اکسازولیدین تیون از واکنش نرمال دو ملکول دی یدوتیرونین (DIT) برای تشکیل تیروکسین و یا در مقادیر کمتر از واکنش دی یدوتیرونین با مونوید و تیرونین برای تشکیل تری یدوتیرونین (T_3) ممانعت می‌کند. عمل ایزوتیوسیانات به میزان تبدیلش به ونیل اکسازولیدین تیون و یا آنیون‌های تیوسیانات وابسته است (۱۰).

تیروئیدهای ماهیان تحت تیمار حالت هیپرپلازی واضح و هیپرتروفی فولیکولی که حاکی از فعالیت بیش از حد نرمال تیروئید است، را نشان دادند و ماهی تلاش می‌کند که سطوح هورمون‌های تیروئیدی خون را از طریق افزایش فعالیت غده تیروئید حفظ کند. قزل آلای کوچک(تقریبا ۲ گرمی) حساسیت ویژه‌ای به میزان بقایای گلوکوسینولات در کنجاله کانولا دارد. میزان کل گلوکوسینولات(۱۷۲ میکروگرم از ۳- بوتینیل ایزوتیوسیانات بر گرم) اثرات مخربی بر این ماهی‌ها داشت (۱۸).

تیمار حرارتی در کاهش مقدار گلوکوسینولات جیره (در کنجاله کلزا از ۴۰ تا ۲۶ میکرومول بر گرم بعد از پخت و فشار) موثر است(۸ ، ۱۰). عصاره‌گیری با آب روشی ارزان قیمت برای کاهش میزان گلوکوسینولات است(۱۵).

در این تحقیق با فرض استفاده از کنجاله کانولا به جای آرد ماهی در کاهش هزینه جیره‌ها به بحث سلامت ماهی برای دستیابی به بیشترین رشد پرداخته شد و اختلال‌های فیزیولوژیکی ناشی از این نوع جایگزینی را بر غلظت هورمون محرک تیروئید(TSH) ، تیروکسین(T_4) و تری یدوتیرونین(T_3) سرم خون ماهیان تحت تیمار بررسی و تاثیر گلوکوسینولات موجود در جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بر سرم خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان تعیین شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تکثیر و پرورش آبزیان اصفهان واقع در ۱۰ کیلومتری جنوب غربی شهر اصفهان به اجرا در آمد. تعداد ۲۱۶ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن متوسط۱۵±۱۰۰ گرم انتخاب و در ۱۸ وان (هر وان ۱۲ قطعه) قطر دهانه ۷۰ سانتی متر و ارتفاع ۴۰ سانتی متر(به حجم ۱۵۰ لیتر) و دبی آب ورودی ۰/۲ لیتر بر ثانیه جای گرفتند و پس از دو هفته سازگاری، به مدت ۵۶ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. وزن ماهیان بعد از بیهوشی در فواصل زمانی ۱۴ روزه با استفاده از گل میخک به غلظت ppm ۱۰۰ با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شد(۴).

از کنجاله کانولا(حاوی۱۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک) در ۵ سطح جایگزینی ۱۰،۲۰،۳۰،۴۰، ۵۰ درصد به جای آرد ماهی جیره شاهد(حاوی ۵۰ درصد آرد ماهی) به همراه یک جیره شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل (فاکتور اول و دوم به ترتیب جیره و زمان بودند) در ۳ تکرار استفاده شد. تمام جیره‌ها حاوی انرژی و پروتئین یکسانی بودند(جدول ۱).

میزان پروتئین و انرژی قابل سوخت و ساز مورد نیاز قزل آلا به ترتیب ۴۰ درصد و ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم در نظر گرفته شد(۲۵).

بعد از فرمولـه کـردن جیره‌ها طبق احتیاجات غذایی ماهی(۲۵)، تجزیه تقریبی مواد مغذی جیره‌ها طبق روش AOAC (۶) صورت گرفت(جدول۲).

مکمل بکاررفته در این تحقیق در هر کیلوگرم غذا تامین کننده مواد زیر است: منیزیم ، ۱۰۰میلی گرم؛ روی ۶۰ میلی گرم؛ آهن ۴۰ میلی گرم؛ مس ۵ میلی گرم؛ کبالت۰/۱میلی گرم؛ ید ۱میلی گرم؛ آنتی اکسیدان،۱۰۰ میلی گرم؛ ویتامین ایی۳۰ میلی گرم ویتامین کا ۳ میلی گرم ؛ تیامین ، ۲میلی گرم ؛ ریبوفلاوین ۷ میلی گرم؛ پیریدوکسین ،۳ میلی گرم ؛ پانتوتنیک اسید ۱۸میلی گرم ؛ نیاسین ۴۰ میلی گرم؛ فولاسین ۱/۵میلی گرم؛ کولین۶۰۰ میلی گرم؛ بیوتین ۰/۷میلی گرم و سیانوکوبالامین ۰/۰۲میلی گرم (تهیه شده از شرکت کیمیا رشد).

ازهر ۷ جیره آزمایشی به طور تصادفی نمونه برداری شد و پس از آسیاب بوسیله مولینکس مدل SGDG ساخت فرانسه، توزین و سپس با الک با شماره چشمه ۱ میلی متر غربال و سپس درآون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت جهت رسیدن به وزن ثابت قرارداده شد. بعد از خشک شدن درصد رطوبت و ماده خشک محاسبه شد.

درصد پروتئین خام(۶/۲۵ × N) به روش کلدال و با استفاده از دستگاه Elementary Analyser NA۲۰۰۰، چربی به روش سوکسله، انرژی خام با استفاده از بمب کالریمتر مدل Parr، خاکستر با سوزاندن در حرارت ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت در کوره الکتریکی، کلسیم بوسیله تیتراسیون با محلول پرمنگنات پتاسیم و کل فسفر به روش اسپکتروفتومتری ترکیب فسفو وانامولیبدات بعد از جمع آوری مواد معدنی و هضم اسیدی تعیین شد(۶).

گلوکوسینولات موجود در کنجاله کانولا در این تحقیق بر اساس روش اندازه گیری گلوکز (Glucose assay) حاصل از شکستن تیوگلوکوسید(گ لوکوسینولات) توسط آنزیم مایروزیناز می‌باشد (۲۶). برای اندازه گیری میزان گلوکوسینولات ۲ نمونه از کنجاله کانولا و ۵ نمونه جیره انتخاب و به آزمایشگاه تجزیه مواد شرکت سهامی‌توسعه کشت و صنعت دانه‌های روغنی در تهران برده شد.

لازم به ذکر است که مقدار گلوکوسینولات موجود در کنجاله کانولا و جیرهای حاوی۱۰،۲۰،۳۰،۴۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولای جایگزین شده به جای آرد ماهی به ترتیب ۱۲/۵ ،۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۱/۸۷۵، ۲/۵ و ۳/۱۲۵میکرومول بر گرم ماده خشک بود.

خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگهای ۲/۵ سی سی و بدون استفاده از مواد ضد انعقادی یک ساعت بعد از وعده غذایی صبح در پایان دوره آزمایش(به تعداد ۲ قطعه ماهی به ازای هر وان) انجام گرفت(۱۰).

سرم نمونه‌های خون با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید و تا انجام آزمایش‌های مورد نظر در دمای ۲۰ درجه

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و اجزای تشکیل دهنده جیره های غذایی(بر حسب درصد)

اجزای جیره	شاهد	۱۰ ٪ کنجاله کانولا	۲۰ ٪کنجاله کانولا	۳۰ ٪کنجاله کانولا	۴۰ ٪کنجاله کانولا	۵۰ ٪کنجاله کانولا
آرد ماهی	۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵
کنجاله کانولا	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
پودر گوشت	۱۳/۱۶	۱۵/۹	۱۹/۵۱	۲۲/۵	۲۵/۷	۲۹
گندم	۲	۱/۶۴	۱/۵	۲	۱/۵	۱/۵
ذرت	۲۶/۵	۲۴	۱۹/۴۳	۱۵/۸۹	۱۲/۵۶	۹/۱۱
ملاس	۲	۲	۲	۲	۲	۲
روغن ذرت	۴	۴	۵	۵	۵/۵۱	۵/۵۱
متیونین(۹۹٪)	۰/۶۹	۰/۷۴	۰/۷۹	۰/۸۴	۰/۸۹	۰/۹۴
لیزین(۹۸/۵٪)	۰/۴۹	۰/۵۶	۰/۶۱	۰/۶۱	۰/۶۸	۰/۷۸
مکمل	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
کولین(۷۰٪)	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
ویتامین E	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲
ویتامین C	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
نمک	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷

جدول۲- نتایج تجزیه شیمیایی خوراک‌ها (بر حسب درصد)

جیره	ماده خشک	پروتئین	چربی	خاکستر	کلسیم	فسفر	عصاره بدون ازت	فیبر
شاهد	۹۴/۸	۴۵/۳	۱۲	۱۶	۳/۳	۱/۶۵	۲۰/۰۳	۱/۴۷
٪۱۰کنجاله	۹۵	۴۵	۱۰/۶	۱۴	۲/۶۵	۱/۳۵	۲۳/۴۲	۱/۹۸
٪۲۰کنجاله	۹۴/۸	۴۷/۵	۱۱/۲	۱۶	۳/۲	۱/۴	۱۷/۶۴	۲/۴۶
٪۳۰کنجاله	۹۳/۸	۴۳	۱۱	۱۳	۲/۶	۱/۲	۲۳/۸۴	۲/۹۶
٪۴۰کنجاله	۹۴/۶	۴۳/۲	۱۲/۹	۱۵	۳	۱/۳	۲۰/۰۳	۳/۴۷
٪۵۰کنجاله	۹۴/۸	۴۳/۵	۱۳/۵	۱۵	۳	۱/۴	۱۸/۸۱	۳/۹۹

سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای تعیین هورمون‌های محرک تیروئید(TSH)، تیروکسین(T_4)، تری یدوتیرونین (T_3) از روش الیزا (Enzyme Liked Immunoassay Asorbant) (۵) و به ترتیب از کیت‌های T_4، TSH و T_3 که محصول مشترک شرکت شیمی‌دارویی داروپخش(سهامی‌عام) و شرکت تولیدی-تحقیقاتی پیشتاز طب زمان بودند، استفاده گردید.

میانگین معیارهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی به استخرهادر طول مدت آزمایش از این قرار تعیین گردید: pH:۷/۵-۸، mg/Lit ۷-۹/۵: اکسیژن محلول ، ۱۲/۱تا۱۴ درجه سانتیگراد دمای آب، mg/Lit ۵/۶-۶/۱ دی اکسید کربن، ٪۹۹-۸۸ درجه اشباع ، mg/Lit ۰/۰۱ ≥ آمونیاک.

در پایان آزمایش، نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار(۲۷)SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد انجام شد.

نتایج

همانگونه که در جدول۳ ارائه شده است، تاثیر جیره‌های حاوی کنجاله کانولا (جداول ۱ و ۲) بر غلظت هورمون محرک تیروئید تفاوت آماری معنی‌داری را با جیره شاهد نشان نداد ($p>0/05$). هر چند مقدار غلظت هورمون محرک تیروئید در جیره‌های حاوی کنجاله کانولای جایگزین شده به جز جیره حاوی ۲۰درصد در بقیه جیره‌ها نسبت به جیره شاهد بیشتر بود ولی این تفاوت در مقدار از نظر آماری معنی‌دار نبود($p>0/05$). روند بدین ترتیب بود که غلظت هورمون محرک تیروئید در جیره شاهد۲/۶ ودر جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بطور میانگین ۸/۰۰ mIUL (به جز جیره ۲۰ درصد) اندازه گیری شد.

لازم به ذکر است که وزن ماهیان خونگیری شده به عنوان کوواریت(covariate) بر غلظت هورمون‌های مورد بحث معنی دار نبود($p>0/05$) و اثر وزن در محاسبات لحاظ نشد.

جیره‌های حاوی کنجاله کانولا تفاوت آماری معنی داری را بر غلظت هورمون تری یدوتیرونین با جیره شاهد ایجاد نکردند($p>0/05$). هر چند مقدار غلظت هورمون تری یدوتیرونین در جیره‌های حاوی کنجاله کانولای جایگزین شده به جز جیره حاوی ۵۰درصد در بقیه جیره‌ها(mIU/L ۱/۹) نسبت به جیره شاهد(mIU/L ۱/۸) به مقدار جزئی (۵/۵ درصد) بیشتر بود ولی این تفاوت در مقدار از نظر آماری معنی دار نبود(جدول۳).

تاثیر جیره‌های حاوی کنجاله کانولا برغلظت هورمون تیروکسین باعث ایجاد تفاوت آماری معنی داری با جیره شاهد نشد($p>0/05$) ولی غلظت هورمون تیروکسین سرم خون ماهیان جیره حاوی ۴۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت آماری معنی داری را با جیره‌های حاوی ۱۰،۳۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولا نشان داد ($p<0/05$). غلظت هورمون تیروکسین سرم خون ماهیان جیره شاهد۷ و در جیره‌های حاوی کنجاله کانولا به ترتیب ترکیب ۹/۱، ۴/۸، ۸/۳، ۲/۶ و ۷/۸ نانوگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد(جدول۳).

با عنایت به جدول۳ مشاهده می‌شود که جیره حاوی ۲۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت آماری معنی داری را بر نسبت غلظت هورمون‌های تری یدوتیرونین به تیروکسین با جیره شاهد و دیگر جیره‌های آزمایشی حاوی۱۰،۳۰،۴۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولا نشان داد($p<0/05$) ولی بقیه جیره‌های حاوی کنجاله کانولا با یکدیگر و با جیره شاهد باعث ایجاد تفاوت معنی داری نشد($p>0/05$). بیشترین مقدار این نسبت در جیره حاوی ۴۰

جدول۳- میانگین اثر جایگزینی کنجاله کانولا بر غلظت هورمون‌های محرک تیروئید، تری یدوتیرونین، تیروکسین و نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین

جیره	هورمون محرک	تری یدوتیرونین	تیروکسین	نسبت تری یدوتیرونین
	تیروئید (m IU/L)	(ng/ml)	(ng/ml)	به تیروکسین
شاهد	۲/۶۱±۴/۳۵ a	۱/۸۱±۰/۴۳ a	۷/۰±۰/۱۶ ab	۰/۲۶±۰/۱۵ b
۱۰ ٪کنجاله	۱۳/۷۴±۴/۳۳ a	۱/۸۹±۰/۴۲ a	۹/۱±۰/۱۶ a	۰/۲۰±۰/۱۵ b
۲۰ ٪کنجاله	۰/۳۲±۴/۳۳ a	۱/۹۱±۰/۴۳ a	۴/۸±۰/۱۶ ab	۰/۳۹±۰/۱۵ a
۳۰ ٪کنجاله	۵/۹۱±۴/۲۶ a	۱/۸۵±۰/۴۲ a	۸/۳±۰/۱۶ a	۰/۲۲±۰/۱۴ b
۴۰ ٪کنجاله	۱۳/۹۵±۴/۲۷ a	۱/۸۶±۰/۴۲ a	۲/۶±۰/۱۶ b	۰/۷۱±۰/۱۴ b
۵۰ ٪کنجاله	۹/۵۸±۴/۲۹ a	۱/۶۲±۰/۴۲ a	۷/۸±۰/۱۶ a	۰/۲۰±۰/۱۴ b

* ستون‌هایی با حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوتی با هم ندارند.

جدول۴- میانگین اثر جیره های حاوی کنجاله کانولا بر غلظت هورمون‌های تری یدوتیرونین، تیروکسین و نسبت‌تری یدوتیرونین به تیروکسین

جیره	تری یدوتیرونین	تیروکسین	نسبت تری یدوتیرونین
	(ng/ml)	(ng/ml)	به تیروکسین
۱۰ ٪ کنجاله کانولا	۱/۹±۰/۴۲ ab	۹/۱±۰/۱۶ a	۰/۲۱±۰/۱۵ b
۲۰ ٪ کنجاله کانولا	۱/۹±۰/۴۳ ab	۴/۸±۰/۱۶ bc	۰/۴±۰/۱۵ a
۳۰ ٪ کنجاله کانولا	۱/۸۵±۰/۴۲ ab	۸/۳±۰/۱۶ ab	۰/۲۳±۰/۱۴ b
۴۰ ٪ کنجاله کانولا	۱/۹±۰/۴۲ ab	۲/۷±۰/۱۶ c	۰/۷۳±۰/۱۴ ab
۵۰ ٪ کنجاله کانولا	۱/۶±۰/۴۲ a	۷/۸±۰/۱۶ ab	۰/۲۰±۰/۱۴ ab

* ستون‌هایی با حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوتی با هم ندارند

درصد کنجاله کانولای جایگزین شده (۰/۷) و کمترین نسبت در جیره‌های حاوی ۱۰و۵۰ درصد کنجاله کانولا(۰/۲) مشاهده شد.

برای تعیین آستانه حساسیت قزل آلا به گلوکوسینولات موجود درجیره‌های حاوی کنجاله کانولا و تاثیر گلوکوسینولات بر وضعیت تیروئید و رشد، جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بطور مستقل مورد مقایسه قرار گرفت.

همانگونه که در جدول۴ ارائه شده است تاثیر جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بر غلظت هورمون تری یدوتیرونین سرم خون ماهیان آزمایشی تفاوت آماری معنی داری را با یکدیگر نشان ندادند ($p>0/05$). روند بدین ترتیب بود که با افزایش استفاده از کنجاله کانولا در جیره‌ها تا سطح۴۰درصد جایگزینی به جای آرد ماهی (حاوی ۰/۶۲۵ تا ۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره) غلظت هورمون تری یدوتیرونین تقریبا ثابت (۱/۹ نانوگرم بر میلی لیتر) بود و سپس در جیره محتوی۵۰ درصد کنجاله که حاوی ۳/۱ میکروکول گلوکوسینولات بر گرم جیره بود، به میزان ۱/۶ نانوگرم بر میلی لیتر (۱۵ درصد) کاهش یافت.

تاثیر جیره‌های حاوی کنجاله کانولا بر غلظت هورمون تیروکسین سرم خون ماهیان آزمایشی متغییر بود(جدول۴). بدین ترتیب که جیره حاوی ۱۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت معنی داری را با جیره‌های حاوی ۲۰ و ۴۰ درصد کنجاله کانولا نشان دادند($p<0/05$) ولی همین جیره (۱۰ درصد کنجاله کانولا) تفاوت معنی داری را با جیره‌های حاوی ۳۰ و۵۰ درصد نشان نداد($p>0/05$). بیشترین میزان غلظت هورمون تیروکسین سرم خون ماهیان متعلق به جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله کانولا(۹/۱ نانوگرم بر میلی لیتر) و کمترین آن متعلق به جیره حاوی ۴۰ درصد کنجاله کانولا (۲/۷ نانوگرم بر میلی لیتر) می‌باشد.

جیره حاوی ۲۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت آماری معنی داری را بر نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین با جیره‌های محتوی ۱۰ و ۳۰ درصد کنجاله کانولا نشان داد($p<0/05$) ولی با جیره‌های دارای ۴۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولا نشان نداد($p>0/05$). بیشترین مقدار این نسبت (۰/۷۳) در جیره حاوی۴۰ درصد کنجاله کانولای جایگزین شده به جای آرد ماهی مشاهده شد(جدول۴).

تفاوت معنی داری بین غلظت تری یدوتیرونین سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنجاله کانولا(حاوی ۱۲/۵ میکرومول بر گرم ماده خشک در جیره) وجود نداشت(جدول۴). بررسی این روند نشان داد که حداکثر میزان ۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره باعث ایجاد اختلال بر عملکرد تیروئید نمی‌شود هر چند جیره حاوی ۵۰ درصد کنجاله کانولا به جای آرد ماهی در این تحقیق که حاوی ۳/۱ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره بود، غلظت تری یدوتیرونین پایین تری را نشان داد که این تفاوت در راستای نقش جبرانی آنزیم دیودیناز در تنظیم غلظت تری یدوتیرونین پلاسمای خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنجاله کانولا قابل توجیه است.

بحث

نتایج تحقیق حاضر، نتایج Mawson و همکاران (۲۲) را تائید می‌کند. نامبردگان بیان نمودند که مصرف کنجاله کانولا حاوی گلوکوسینولات باعث کاهش آزاد سازی هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. دلیل این امر فقدان غلظت هورمون محرک تیروئید نیست بلکه به دلیل توقف فعالیت فولیکولهای تیروئیدی می‌باشد. مقدار پایین گلوکوسینولات نیز در کنجاله کانولای مورد استفاده در تحقیق حاضر(۱۲/۵ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره) نیز در حدی نبوده که بر مقدار هورمون محرک تیروئید تاثیری بگذارد.

مقدار بالای هورمون محرک تیروئید خون ماهیان مصرف کننده از کنجاله کانولا نسبت به جیره شاهد، طبق گزارش Buyel و همکاران (۷) به دلیل استفاده از کنجاله کانولای حاوی گلوکوسینولات بالا می‌باشد که باعث هیپرتروفی تیروئید و افزایش آزادسازی هورمون محرک تیروئید می‌گردد. در تحقیق حاضر نیز به جزء جیره حاوی ۲۰ درصد کنجاله کانولا به جای آرد ماهی، در بقیه جیره‌هامقدار این هورمون نسبت به جیره شاهد بالاتر بود. کاهش مقدار هورمون محرک تیروئید در جیره حاوی ۲۰ درصد کنجاله کانولای مورد آزمایش می‌تواند به دلیل تفاوت غلظت آنیون‌هایی مثل تیوسیانات و مشتقات دیگر گلوکوسینولات و یا خطای آزمایش باشد.

طبق گزارش‌های Eales (۲۴) و Mackenzie (۲۰) تفاوت آماری معنی دار در جیره‌های حاوی کنجاله کانولا نسبت به جیره شاهد مشاهده نشد. نامبردگان بیان کردند که کربوهیدرات عامل تنظیم کننده مهمی‌بر ترشح تیروکسین است. در ضمن پروتئین نیز به عنوان سیگنال عمل می‌کند تا تیروکسین را به شکل تری یدوتیرونین فعال کند. با توجه به محتوی نیتروژن یکسان جیره‌ها، شباهت ترکیب اسید آمینه کنجاله کانولا با آرد ماهی باعث عدم تحریک تری یدوتیرونین شده است.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج Burel و همکاران(۱۰) همخوانی ندارد. نامبردگان بیان کردند که استفاده از سطوح بالای کنجاله کانولا(۳۰ درصد) اثرات قابل توجهی بر غلظت تری یدوتیرونین ایجاد می‌کند ولی در تحقیق حاضر حتی استفاده از ۵۰ درصد کنجاله کانولا به جای آرد ماهی باعث ایجاد تفاوت معنی داری بر غلظت تیروکسین و تری یدوتیرونین نسبت به جیره شاهد نشد که این امر می‌تواند به دلیل مقدار کم گلوکوسینولات و تولیدات هیدرولیزی موجود در کنجاله مورد آزمایش(۱۲/۵ میکرومول بر گرم ماده خشک) باشد. نامبردگان بیان نمودند که حتی استفاده از ۱۰ درصد کنجاله کانولا باعث اختلال در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید می‌شود. اگرچه بعد از ۸۰ روز، رشد کاهش می‌یابد که در مجموع مقدار کم ماده ضد تغذیه ای(گلوکوسینولات) در جیره‌های آزمایشی (از ۰/۶۲۵ تا ۳/۱۲۵ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره) همراه با دوره آزمایش کوتاه(۵۶ روز) باعث شد که تغییری برغلظت این هورمون‌ها مشاهده نشود.

از طرفی عدم مشاهده تفاوت آماری معنی دار بر غلظت تری یدوتیرونین نسبت به جیره شاهد طبق استنباط Burel و همکاران(۹، ۱۰) مربوط به نقش آنزیم دیودیناز در تنظیم غلظت تری یدوتیرونین پلاسمای خون ماهیان مصرف کننده از جیره‌های حاوی کنجاله کانولا می‌باشد. نامبردگان اعلام نمودند که کاهش غلظت تیروکسین و تری یدو تیرونین به غلظت تولیدات هیدرولیزی گلوکوسینولات در این نوع جیره‌ها وابسته است و تغییر در فعالیت این آنزیم به جبران کمبود غلظت هورمون تری یدوتیرونین کمک می‌کند.

Cameron و همکاران (۱۱) نیز بیان نمودند که علی رغم اینکه غلظت تیروکسین و تری یدوتیرونین سرم غیر حساس به تغییر در ترکیب جیره است، فعالیت آنزیم دیودیناز به کیفیت و هم کمیت پروتئین جیره بسیار حساس است. بنابراین شاخص حساس تری برای بررسی وضعیت تیروئید است. تغییر در وضعیت آنزیم دیودیناز پاسخ‌های جبرانی تیروئید را منعکس می‌کند تا وضعیت یکنواختی(هموستازی) هورمون‌های تیروئیدی با تغییر در شرایط مختلف حفظ شود.

تفاوت معنی داری بین غلظت تری یدوتیرونین سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنجاله کانولا(حاوی ۱۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک در جیره) وجود نداشت (جدول۴).

بررسی این روند نشان داد که حداکثر میزان ۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره باعث ایجاد اختلال بر عملکرد تیروئید نمی‌شود هرچند جیره حاوی ۵۰ درصد کنجاله کانولا به جای آرد ماهی در این تحقیق که حاوی ۳/۱ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره بود، غلظت تری یدوتیرونین پایین تری را نشان داد که این تفاوت در راستای نقش جبرانی آنزیم دیودیناز در تنظیم غلظت تری یدوتیرونین پلاسمای خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی قابل توجیه است.

نتایج تحقیق حاضر، نتایج Burel و همکاران(۱۰) را تائید می‌کند. براساس نتایج کار نامبردگان استفاده از جیره حاوی کنجاله کانولا حاوی ۱/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره باعث کاهش غلظت تیروکسین سرم خون ماهیان می‌شود. در تحقیق حاضر حداکثر دامنه تحمل گلوکوسینولات ۰/۶۲۵ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره بود اگرچه روند خاصی بین تاثیر گلوکوسینولات بر تیروکسین دیده نشد که می‌تواند به دلیل تفاوت گلوکوسینولات کنجاله کانولای مورد آزمایش در تولید ترکیبات هیدرولیزی مختلف باشد.

نتایج تحقیق حاضر، گزارش Burel و همکاران(۱۰) را تائید می‌کند. نامبردگان بیان کردند در رابطه با عملکرد رشد در قزل آلا دامنه قابل تحمل گلوکوسینولات۳/۷ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره و یا کمتر از آن است. در تحقیق حاضر نیز دامنه تحمل ۲/۵ میکرومول بر گرم ماده خشک جیره برآورد می‌شود(جدول ۴) تا باعث ایجاد تفاوت آماری معنی داری بر سرم خون ماهیان آزمایشی نگردد.

برخی محققین دامنه تحمل ۲-۱ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره و یا حتی ۱۰میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره را گزارش کرده اند که مقایسه نتایج به دلیل تفاوت در ارزش غذایی کنجاله کانولای مصرفی، ترکیب گلوکوسینولات و تولیدات هیدرولیزی موجود در آن‌هارا مشکل می‌سازد.

نتایج پژوهش حاضر با نتایج Burel و همکاران(۱۰) همخوانی دارد. نامبردگان گزارش کردند حساسیت قزل آلا به گلوکوسینولات مشابه حیوانات تک معده ای مثل موش(۴- ۰/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره)، خوک(۳-۲ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره) و جوجه در حال رشد(۱/۴میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره) است اما حساسیت بیشتری نسبت حیوانات نشخوارکننده مثل گاو(۸ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک جیره) دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از اداره کل شیلات اصفهان که امکان اجرای این طرح را فراهم نمودند و پرسنل محترم ایستگاه تکثیر و پرورش آبزیان اصفهان تقدیر و تشکر بعمل می‌آید. از محققین خارج کشور از جمله دکتر ایلز و هیگز که کمک فراوان به اینجانب کردند نیز تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱ - حاجی زاده، ع.۱۳۸۱؛ بررسی جایگاه دانه‌های روغنی در اقتصاد ملی.ماهنامه صنعت روغن نباتی و دانه‌های روغنی. پیش شماره بهمن. صفحه۱۴-۱۱.

۲ - صفافر، ح.۱۳۸۳؛ استفاده از کنجاله کلزا در تغذیه دام، طیور و آبزیان.انتشارات جامعه نو.۵۶ صفحه.

۳ - عزیزی، م. سلطانی. ا. و خاوری خراسانی،س.۱۳۷۸؛ کلزا ، فیزیولوژی، زراعت، به نژادی و تکنولوژی زیستی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۲۳۵-۲۳۰.

۴ - مهرابی، ی. ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی گل درخت میخک (*Szygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی.شماره۴۰.

۵ - نصیری، م. همتی، پ. نجات، رضا.۱۳۶۶. اندوکرینولوژی. انتشارات جهاد دانشگاهی. دانشگاه علوم پزشکی تهران.

6- Association of Official Analytical Chemists.1990; Official Methods of Analysis.15th ed.Washington DC.

7- Burel, C., Boujard,T., Corraze,G., et al., 1998; Incorporation of high levels of extuded lupin in diets for rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*): Nutrition value and effect on thyroid status.Aquaculture,163:325-345.

8-Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S. J., Boeuf, G.,VanDer Geyten, S., Mol, k .A., Kuhn, E.R., Quinsac, A., Krouti, M. and Ribailler, D.,2000a; Potential of plant-protein sources as fish meal substitude in diets for turbot (*Psetta maxima*): Growth, nutrient utilization and thyroid status.Aquaculture,188: 363-382.

9- Burel,C.,Boujard,T.,Tulli,F.,Kaushik,S.J.,2000b. Digestability of extruded peas, extruded lupin and rapeseed meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture,188: 285-298.

10-Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S.J., Boeuf, G., VanDer Geyten, S., Mol, k. A., Kuhn, E. R., Quinsac, A., Krouti, M. and Ribailler, D., 2001; Effects of rapeseed meal-glucosinolates on thyroid metabolism and Feed utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and comparative Endocrinology,124:343-358.

11-Cameron, C., Gurure, R., Reddy, K., Moccia, R. and Leatherland, J. 2002. Correlation between dietary lipid:protein raio and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic char (*Salvelinus alpinus*). Aquaculture Research,33:383-394.

12- Da Silva,J.G. and Oliva-Teles,A.,1998; Apparent digestability coefficient of feedstuffs in seabass (*Dicentrarchus labrax*)

juvenile. Aquatic living resources,11:187-191.

13- Dong, F. M., R. W. Hardy, N. F. Haard, F. T. Barrow, B. A. Rasco,W. T. Fairgrieve and I. P. Foster., 1993; Chemical composition and protein digestability of poultry By-products meals for salmonid diets, Aquaculture,116:149-158.

14- Eales, J. G., Brown, S. B., 1993; Measurment and regulation of thyroid status in teleost fish.Reviews in Fish Biology and Fisheries,3:299-347.

15- Francis, G., Makkar, H. P. S., Becker, k., 2001; Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredient and their effects in fish.Aquaculture,199:197-227.

16- Gomes, E., Boujard, T., Boeuf, G., Solari, A., and Lebail, P.-Y.,1997; Individual diurnal plasma profiles of thyroid hormones in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to cortisol, growth hormone and growth rate.Gen.Comp.Endo crinol,107:74-83.

17- Halver, J. E. (eds). 1989; Fish nutrition (2ndedn). Academic Press, New york, 725 pp.

18- Higgs, D.A. et al.1995;ChapterII.Use of rapeseed/canola protein products in finish diets.In: Nutrition and Utilization technology in aquaculture.Sessa,D. and Lim,C.(eds).

19- Lovell,T.,1989; Nutrition and feeding of fish.Auburn University,Van Nostrand Reinhold,New York,260pp.

20- Mackenzie, D. S., VanPutte, C. M., Leiner, K. A., 1998; Nutrient regulation of endocrine function in fish.Aquaculture,161:3-25.

21- Mawson,R.,Heaney,R.K.,Zdunczyk, Z., and Kozloska,H.,1993; Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects.PartI. Rapeseed production and chemistry of glucosinolates.Nahrung,37: 131-140.

22- Mawson,R.,Heaney,R.K.,Zdunczyk, Z., and Kozloska,H.,1994; Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects.Part4. Goitrogenicity and internal organ abnormalities in animals.Nahrung,38: 178-191.

23- Murai,T.,1992; Protein nutrition of rainbow trout.Aquaculture, 100:191-207.

24- Naczk, M. and Shahidi, F., 1990; Canola and rapeseed: Production, chemistry, nutrition and processing technology,edited by Shahidi,F. and Reinhold,N.,New York,pp.335.

25- NRC (National Research Council,USA) .1993; Nutrient Requirements of fish. National Academy of sciences,Washington.

26- Quinsac,A.,Ribailler,D.Elfakir,C.Lafosse,M.,Dreux,M.,1991; A new approach to the study of glucosinolate by isocratic liquid chromatography :Part I.Rapid determination of desulfated derives of rapeseed glucosinolates.J.Assoc.off.Anal.chem,74:932-939.

27- SAS, Institute .1993; SAS user'guide: Statistic. SAS ins, Inc Cary, NC.