

اثر جایگزینی کنجاله سویای خوراک با کنجاله تخمیری کانولا بر بافت کبد و روده بچه ماهیان تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*)

کیانوش کلانتر نیستانی، احمد ایمانی*، کوروش سروی مغانلو

گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر سطوح مختلف جایگزینی کنجاله سویای خوراک با کانولای تخمیر شده توسط باکتری جنس باسیلوس جدا شده از رسوبات دریای خزر بر بافت‌های کبد و روده بچه ماهیان تیلاپای نیل انجام گرفت. بدین منظور ۲۲۵ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی $1/9 \pm 0/05$ گرم در ۵ تیمار آزمایشی شامل تیمار ۱، خوراک بدون کانولای تخمیر شده (گروه شاهد)، تیمار ۲، خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده، تیمار ۳، خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیر شده، تیمار ۴، خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیر شده و تیمار ۵، خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده، به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. براساس نتایج به دست آمده از بافت‌شناسی کبد، تفاوتی از نظر شاخص‌های آسیب‌شناسی این بافت مانند دژنره‌شدگی هیپاتوسیت‌ها، تغییرات چربی، التهاب، تغییر شکل هیپاتوسیت‌ها و خون‌ریزی مشاهده نشد ($P > 0/05$). همچنین نتایج بافت‌شناسی روده نیز نشان داد که از نظر عارضه‌های نکروز و التهاب تفاوت آماری معنی‌داری میان گروه‌های آزمایشی وجود نداشت ($P > 0/05$). به‌طور کلی می‌توان چنین نتیجه گرفت که امکان جایگزینی کامل کنجاله سویا با کنجاله تخمیر شده کانولا وجود دارد، به‌نحوی که محصول تولیدی تا ۵۰ درصد کل جیره را شامل شود.

کلید واژگان: کنجاله سویا، کانولای تخمیر شده، بافت‌شناسی کبد و روده، تیلاپای نیل، باسیلوس

مقدمه

افزایش تولید آبزیان با استفاده از روش‌های پرورش متراکم، وابسته به غذای دستی و یافتن منابع پروتئینی گیاهی مناسب است (Mohammadi et al., 2020). کنجاله‌های به‌دست آمده از دانه‌های روغنی به‌دلیل تولید بالای جهانی و قیمت پایین، گزینه مناسب‌تری محسوب می‌شوند (Mwachireya et al., 1999). در این میان، کنجاله کائولا نسبت به سایر منابع پروتئین حیوانی و گیاهی، ارزان قیمت بوده، محتوای پروتئین بالایی داشته و در دسترس است (خانی و همکاران، ۱۴۰۲; Mohammadi et al., 2020). کائولا در مقایسه با سایر پروتئین‌های گیاهی اسیدهای آمینه بالاتری داشته و قابلیت هضم بالایی نیز دارند (Turchini et al., 2009). همچنین کائولا دارای کولین، بیوتین، اسید فولیک، نیاسین، ریوفلاوین و تیامین بالایی نیز است (Lim et al., 2008; Enami, 2011). از کنجاله کائولا در خوراک انواع ماهیان مانند تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) (محسنی و ملک‌پور، ۱۳۹۷)، ماهی سیم (*Megalobrama amblycephala*) (Zhou و همکاران، ۲۰۱۸)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (شفایی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸) و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Mohammadi و همکاران، ۲۰۲۱) استفاده شده است. البته در استفاده از منابع گیاهی علاوه بر قیمت و محتوای پروتئین، بایستی به الگوی اسیدهای آمینه و توازن آن‌ها، قابلیت هضم و محتوای عوامل ضدتغذیه‌ای آن‌ها نیز توجه داشت (Gatlin et al., 2007; Hardy, 2010). مشخص شده است که استفاده از کائولا در خوراک آبزیان دارای محدودیت‌هایی است که می‌توان به مواد ضدتغذیه‌ای و میزان بالای اسید اروسیک (۵۵-۲۵٪ از کل اسیدهای چرب) و گلوکوزینولات اشاره کرد (Lim et al., 2008). گلوکوزینولات و مشتقات آن باعث کاهش رشد، اختلال در عملکرد غده تیروئید، کاهش ترشح هورمون‌های تیروئیدی و آسیب‌های کبدی و کلیوی می‌شوند (Francis et al., 2011). از طرفی کنجاله کائولا مانند دیگر دانه‌های روغنی دارای ترکیبات فنولی می‌باشد. از دیگر عوامل ضدتغذیه‌ای کائولا، الیاف (فیبرها) هستند. پلی‌ساکارید کنجاله کائولا شامل نشاسته و انواع غیرنشاسته‌ای (Non-Starch Polysaccharide) می‌باشد. قسمت غیرنشاسته‌ای شامل پلی‌ساکاریدهای نامحلول در شوینده اسیدی (Acid

Detergent Fiber)، پلی‌ساکاریدهای نامحلول در شوینده خنثی (Neutral Detergent Fiber) و پلی‌ساکاریدهای محلول و نامحلول در آب است (Liu et al., 1998; Lim et al., 2008; Singh et al., 2013). این ترکیبات با اتصال به پروتئین و مواد معدنی از دسترسی زیستی و نیز قابلیت هضم آن‌ها می‌کاهد (Liu et al., 1998). تیلاپیا و سایر گونه‌های آبزیان به‌دلیل نداشتن آنزیم فیتاز، قادر به استفاده از فسفر فیتاتی نیستند (Lim et al., 2008). بنابراین باید قابلیت هضم مواد غذایی بالا بوده و همچنین جذب و دسترسی به آن‌ها آسان باشد. این مهم فقط با مدیریت جیره و ساخت مناسب‌ترین خوراک از لحاظ ترکیب اجزاء سازنده و قابلیت هضم مناسب آن‌ها فراهم می‌شود (Lucas et al., 2019). استفاده از مکمل فیتاز در خوراک باعث افزایش قابلیت هضم فیتات و دسترسی به مواد معدنی در گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است (Rodehutschord and Pfeffer, 1997; Li and Robinson, 1995). البته، امروزه استفاده از آنزیم فیتاز تولید شده توسط گونه‌های باکتری باسیلوس با توجه به تحمل بالا نسبت به تغییرات pH و دما قابل توصیه است. این باکتری‌ها از طیف وسیعی از مواد به‌عنوان منابع مواد مغذی استفاده می‌کنند و به انواع محدودیت‌های محیطی نظیر دما، pH و شوری مقاوم هستند (Alcaraz et al., 2010).

بافت‌شناسی شاخه‌ای از زیست‌شناسی و شامل بررسی میکروسکوپی مقاطع بافت‌های رنگ‌آمیزی شده نازک (۵ تا ۷ میکرومتر) به‌منظور مطالعه ساختار بافتی و ارتباط با کارکرد آن‌ها است. بافت‌شناسی می‌تواند علائمی از بیماری را که در بررسی‌های چشمی قابل شناسایی نیست، تشخیص و می‌تواند در نظارت بهداشتی ماهیان مدنظر قرار گیرد (ابراهیم زاده موسوی و همکاران، ۱۳۹۲). مطالعه بافت‌های دستگاه گوارش در ماهی‌ها می‌تواند جنبه‌های مشخصی از فیزیولوژی تغذیه‌ای را روشن نموده و به حل مشکلات تغذیه‌ای و همچنین تهیه یک خوراک با قابلیت‌های تغذیه‌ای مناسب برای هر گونه از ماهی‌ها، مؤثر باشد (Furne et al., 2001).

برخلاف آزادماهیان که خوراک آن‌ها بایستی حاوی سطوح بالا و با کیفیت پروتئین و چربی باشد (پوراحد انزایی و همکاران، ۱۴۰۱)، تیلاپیا دارای عادت غذایی گیاه‌خواری و همه‌چیزخواری

جدول ۱- محتوای مواد ضدتغذیه‌ای و تجزیه تقریبی کانولا پیش و پس از تخمیر با باکتری جنس باسیلوس

ترکیب	پیش از تخمیر	پس از تخمیر
ترکیبات فنلی (%)	۲/۳۲	۱/۶۳
تانن (%)	۰/۰۶	۰/۰۳
اسید فایتیک (%)	۶	۳/۶۰
ADF (%)	۲۳/۷۰	۱۸/۶۰
NDF (%)	۲۸/۱۰	۲۵/۸۰
پروتئین (%)	۳۶/۴۴	۳۹/۳۸
چربی (%)	۸/۹۰	۹/۲۰
ماده خشک (%)	۹۲/۷۲	۹۶/۴۲

ساعت نگه‌داری شدند. پس از طی مدت زمان لازم جهت تخمیر، عمل شستشوی کنجاله سه بار با آب مقطر انجام و در نهایت به کمک فشرده‌سازی تا حد امکان رطوبت کنجاله گرفته شد. محصول به‌دست آمده در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد توسط آون به‌طور کامل خشک شد. مواد ضدتغذیه‌ای کانولا شامل کل ترکیبات فنلی، تانن و اسید فایتیک با استفاده از روش عصاره‌گیری و جذب نوری به روش De Boland و همکاران (۱۹۷۵) و ADF و NDF قبل و بعد از تخمیر با دستگاه فایبرتک به روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شدند (جدول ۱).

ساخت خوراک‌های آزمایشی و شروع دوره پرورش: در این مرحله خوراک‌های آزمایشی براساس نیازهای غذایی بچه ماهیان تیلاپپای نیل تنظیم (NRC, 2011) شدند. سپس تجزیه تقریبی خوراک نیز (پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت و انرژی) براساس AOAC (۲۰۰۵) صورت گرفت (جدول ۲). مطالعه حاضر در قالب ۵ تیمار و در سه تکرار روی ماهی تیلاپپای نیل تک جنس نر با میانگین وزنی $1/9 \pm 0/05$ گرم به مدت ۸ هفته انجام شد. بدین منظور در تانک‌های ۱۰۰ لیتری که ۵۰ درصد آب‌گیری شده بودند، ۱۵ قطعه بچه‌ماهی رها سازی شدند. دمای محیط پرورش توسط بخاری‌های الکتریکی در ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و غذادهی ماهیان در طول دوره پرورش در حد سیری و روزانه در سه نوبت انجام پذیرفت.

آماده‌سازی نمونه‌های کبد و روده جهت بافت‌شناسی: به‌منظور نمونه‌برداری از بافت‌های کبد و روده ماهیان، در پایان دوره آزمایش غذادهی ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع شد و سه قطعه ماهی از هر مخزن به‌صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از پودر گل میخک با غلظت ۲۵۰ ppm بیپوش شدند (Figueiredo-Silva et al., 2010). سپس بافت‌های کبد و روده از ماهیان نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها

با خوراک حاوی فیبر و کربوهیدرات بالا بوده و نیز دارای سرعت رشد مطلوب و اقتصادی است. میزان کربوهیدرات خوراک ماهی تیلاپپا می‌تواند تا ۲۰ الی ۴۰ درصد افزایش یابد (Lucas et al., 2019). گونه‌های تیلاپپا بعد از جذب کیسه زرده توانایی پذیرش غذای دستی را دارند که این ویژگی سبب تسهیل پرورش آن‌ها می‌گردد. پرورش این ماهیان به‌دلیل سازگاری بالا به شرایط مختلف محیطی، تغذیه و رشد مطلوب با خوراک کیفیت پایین، انتخاب مناسبی جهت توسعه آبی‌پروری محسوب شده است (رجبی پور و همکاران، ۱۳۹۵)؛ به‌طوری که گونه‌های مختلف آن، به‌ویژه تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*) جزو دومین گونه پرورشی در دنیا و مهم‌ترین گونه آبی‌پروری تجاری در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به شمار می‌روند (FAO, 2016). در این پژوهش سعی شد از باکتری باسیلوس جدا شده از رسوبات دریای خزر برای تخمیر کنجاله کانولا و در نتیجه کاهش محتوای مواد ضدتغذیه‌ای آن استفاده شود. در نهایت محصول حاصل در سطوح مختلف با کنجاله سویا موجود در خوراک بچه ماهیان انگشت‌قد تیلاپپای نیل جایگزین شد. در نهایت، تأثیر تغذیه با خوراک‌های آزمایشی بر بافت کبد و روده ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تخمیر کنجاله کانولا: بدین منظور کنجاله کانولا آسیاب شد و ذرات با اندازه کمتر از ۴۰۰ میکرون برای تلقیح و سرانجام تخمیر با باکتری *Bacillus sp.* جدا شده از رسوبات دریای خزر که توان تولید فیتاز دارد، استفاده شد (خانی و همکاران، ۱۴۰۲). در ادامه ۵۰ درصد رطوبت به کنجاله اضافه و باکتری باسیلوس جدا شده از رسوبات بستر دریای خزر با تراکم 10^5 cfu.g^{-1} به کانولا افزوده شد. سپس ارلن‌های حاوی باکتری و کنجاله در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲

جدول ۲- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش

مواد خوراکی (%)	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
پودر ماهی (کیلکا)	۸	۸	۸	۸	۸
کنجاله سویا	۳۶	۲۷/۳	۱۸/۳	۹/۵	۰/۷
پودر خون	۵	۵	۵	۵	۵
کنجاله کانولای تخمیری	۰	۱۲/۵	۲۵	۳۷/۵	۵۰
مخمر	۵	۵	۵	۵	۵
گلوتن گندم	۵	۵	۵	۵	۵
آرد گندم	۱۵	۱۱/۲	۷/۸	۴/۱	۰/۵
نشاسته ذرت	۵	۵	۵	۵	۵
ملاس	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
روغن ماهی کیلکا	۲/۹	۲/۹	۲/۹	۲/۹	۲/۹
روغن سویا	۲/۹	۲/۹	۲/۸	۲/۸	۲/۸
مکمل اسید آمینه	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل مواد معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
متیونین	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ترئونین	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
لیزین	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶
دی کلسیم فسفات	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ویتامین C	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ویتامین E	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
کولین کلراید	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴

ترکیب شیمیایی خوراک (%)

پروتئین خام	۲۸/۰۸	۲۸/۱۱	۲۸/۰۶	۲۸/۰۵	۲۸/۰۷
چربی	۹/۰۱	۹/۰۶	۹/۰۲	۹/۰۷	۹/۰۲
فیبر خام	۳/۲۱	۳/۸۵	۴/۴۸	۵/۱۲	۵/۷۶
خاکستر	۶/۵۵	۶/۸۱	۷/۰۷	۷/۳۲	۷/۶۰
عصاره عاری از ازت	۴۲/۸۳	۴۱/۳۰	۳۹/۹۳	۳۸/۴۲	۳۶/۹۹
انرژی ناخالص (MJ/kg)	۱۵/۲۶	۱۵/۶۱	۱۵/۹۷	۱۶/۳۳	۱۶/۶۷

نتایج

بافت‌شناسی کبد: نتایج نیمه کمی بافت‌شناسی کبد ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای تخمیرشده (جدول ۳) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در دژنره‌شدگی سلول‌ها و شاخص تغییرات چربی بافت کبد بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که عارضه التهاب در تیمارهای مختلف آزمایشی دارای اختلاف معنی‌دار آماری نبود ($P > 0.05$). مشابه این نتیجه برای عارضه‌های تغییر شکل هپاتوسیت‌ها و خون‌ریزی نیز به‌دست آمد و اختلاف معنی‌داری برای این شاخص‌ها در تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین تصاویر مربوط به برش‌های بافتی مورد بررسی در شکل ۱ ارائه شده است.

همان‌طور که در بررسی نتایج نیمه کمی مشخص بود، بافت‌شناسی کبد ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای تخمیرشده (شکل ۱) نیز نشان داد که در تیمار ۱

در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. نمونه‌های برداشت شده به‌منظور تهیه مقطع بافتی جهت بررسی آسیب به آزمایشگاه آسیب‌شناسی منتقل شده و بعد از آماده‌سازی بافت‌ها و بلوک‌های پارافینی، برش‌های بافتی به ضخامت ۴ میکرون تهیه شدند. در ادامه نمونه‌ها با روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی و لام‌های تهیه شده به‌وسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (Iwashita et al., 2008).

آنالیز آماری: پژوهش حاضر به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از آزمون ناپارامتریک و برای مقایسه میان‌های تیمارهای مختلف از آزمون کروسکال والیس (Kruskal-Wallis) استفاده و نتایج به‌صورت میان±فاصله میان چارکی (Median±IQR) و میانگین رتبه (Mean Rank) ارائه گردید. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۳- آسیب‌های بافت کبد بچه ماهیان تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای تخمیر شده بر اساس امتیازدهی نیمه کمی (Mean Rank, Median±IQR)

P value	Mean Rank (میانگین رتبه)	Median±IQR (فاصله میان چارکی ± میان)	تیمار	شاخص
۰/۹۹۸	۷/۸۳	۱±۱	۱	دژنره شدگی هپاتوسیت‌ها
	۷/۸۳	۱±۱	۲	
	۷/۸۳	۱±۱	۳	
	۸/۶۷	۲±۱	۴	
	۷/۸۳	۱±۱	۵	
۰/۹۹۶	۷/۶۷	۱±۱	۱	تغییرات چربی هپاتوسیت‌ها
	۸/۵	۲±۱	۲	
	۷/۶۷	۱±۱	۳	
	۸/۵	۲±۱	۴	
	۷/۶۷	۱±۱	۵	
۰/۹۹۸	۷/۸۳	۱±۱	۱	التهاب
	۷/۸۳	۱±۱	۲	
	۷/۸۳	۱±۱	۳	
	۸/۶۷	۲±۱	۴	
	۷/۸۳	۱±۱	۵	
۰/۹۹۶	۷/۶۷	۱±۱	۱	تغییر شکل هپاتوسیت
	۸/۵	۲±۱	۲	
	۷/۶۷	۱±۱	۳	
	۸/۵	۲±۱	۴	
	۷/۶۷	۱±۱	۵	
۰/۹۹۸	۷/۸۳	۱±۱	۱	خون‌ریزی
	۸/۶۷	۲±۱	۲	
	۷/۸۳	۱±۱	۳	
	۷/۸۳	۱±۱	۴	
	۷/۸۳	۱±۱	۵	

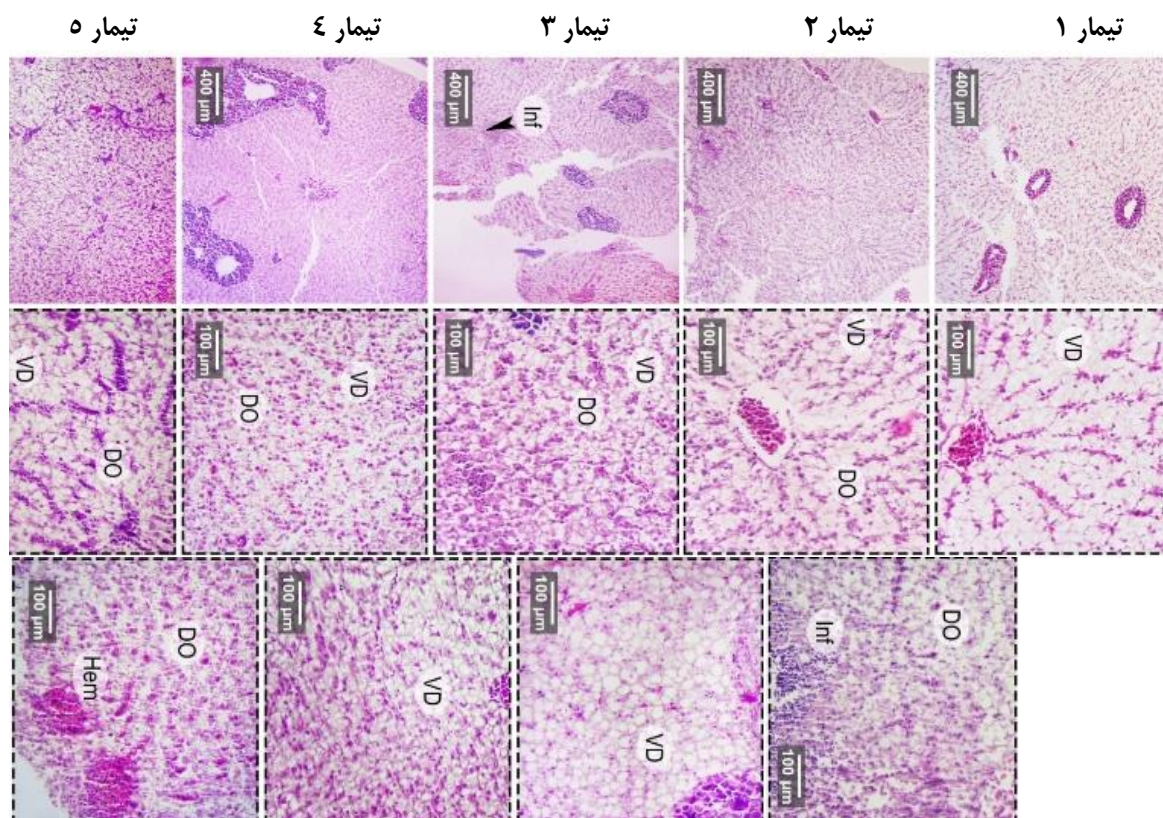
تیمار ۱: شاهد، ۲: خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۳: خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۴: خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۵: خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده.

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از کنجاله کانولا در خوراک ماهیان به واسطه داشتن گلوکوزینولات و ترکیبات ضدتغذیه‌ای از جمله تانن، فیبر و فیتات دارای محدودیت است (Lim et al., 2008). گلوکوزینولات باعث کاهش رشد، اختلال در عملکرد غده تیروئید، کاهش ترشح هورمون‌های تیروئیدی و آسیب‌های کبدی و کلیوی می‌شود (Francis et al., 2011). از طرفی، ترکیبات ضدتغذیه‌ای با اتصال به پروتئین و مواد معدنی از دسترسی زیستی و نیز قابلیت هضم آن‌ها می‌کاهد، و از این طریق بر فیزیولوژی ماهیان اثر سوء دارند (Liu et al., 1998). البته مشخص شده است که تخمیر کنجاله کانولا می‌تواند با کاهش آثار ضدتغذیه‌ای منجر به بهبود کیفیت خوراک شود (Francis et al., 2001; Plaipetch and Yakupitiyage, 2012).

(شاهد) دژنره شدگی خفیف سلول‌ها، در تیمارهای ۲ (خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده) و ۴ (خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیر شده) عارضه‌های دژنره شدگی و هپاتوسیت، در تیمار ۳ (خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیر شده) دژنره شدگی، هپاتوسیت و التهاب و در تیمار ۵ (خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده) دژنره شدگی، هپاتوسیت و خون‌ریزی مشاهده شد.

بافت‌شناسی روده: نتایج نیمه کمی بافت‌شناسی روده ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای تخمیر شده (جدول ۴) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در شاخص نکروز بافتی و همچنین التهاب بافت روده بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین تصاویر مربوط به برش‌های بافتی مورد بررسی در شکل ۲ مشاهده می‌شود.



شکل ۱- آسیب‌های بافت کبد بچه‌ماهیان تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای تخمیرشده. تیمار ۱: شاهد، ۲: خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۳: خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیرشده، ۴: خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیرشده و ۵: خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیرشده. دژنره‌شدگی هیپاتوسیت‌ها (VD)، تغییرات چربی (FC)، التهاب (Inf)، تغییر شکل هیپاتوسیت (DO)، خون‌ریزی (Hem). رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰.

جدول ۴- آسیب‌های بافت روده بچه‌ماهیان تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سطوح مختلف

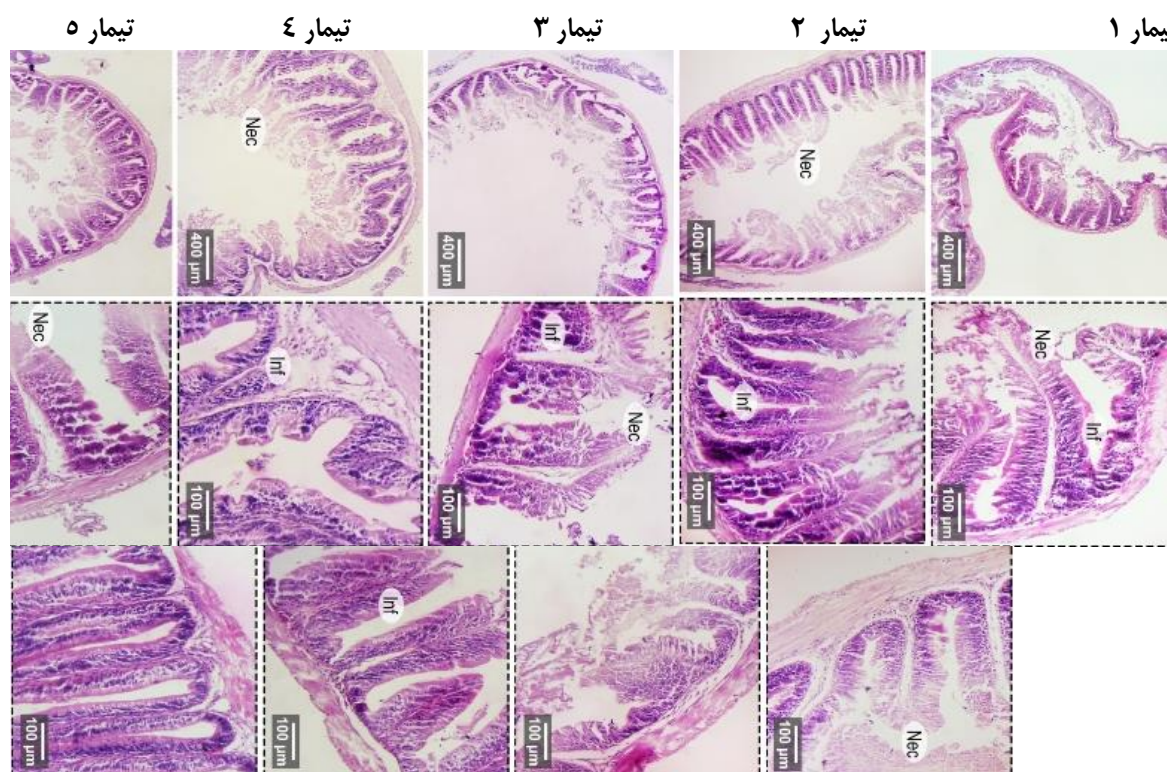
کانولای تخمیرشده بر اساس امتیازدهی نیمه کمی (Mean Rank, Median±IQR)

شاخص	تیمار	Median±IQR (فاصله میان چارکی ± میان)	Mean Rank (میانگین رتبه)	P value
نکروز	۱	۱±۱	۷/۸۳	۰/۹۹۸
	۲	۲±۱	۸/۶۷	
	۳	۱±۱	۷/۸۳	
	۴	۱±۱	۷/۸۳	
	۵	۱±۱	۷/۸۳	
التهاب	۱	۱±۱	۷/۶۷	۰/۹۹۶
	۲	۲±۱	۸/۵	
	۳	۱±۱	۷/۶۷	
	۴	۱±۱	۷/۶۷	
	۵	۲±۱	۸/۵	

تیمار ۱: شاهد، ۲: خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۳: خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیرشده، ۴: خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیرشده، ۵: خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیرشده

ماهیان با خوراکی‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کانولای تخمیرشده اثر قابل ملاحظه‌ای از نظر نوع و شدت آسیب‌های بافتی مورد بررسی در مقایسه با گروه شاهد نداشت. این نتایج با برخی یافته‌های پیشین در مورد امکان

مطالعه بافت‌شناسی دستگاه گوارش ماهیان می‌تواند به حل مشکلات تغذیه‌ای و همچنین تهیه یک خوراک با قابلیت‌های تغذیه‌ای مناسب برای هر گونه مؤثر باشد (Furne et al., 2001). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه



شکل ۲- آسیب‌های بافت روده بچه ماهیان تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با سطوح مختلف کانولای میرشده. تیمار ۱: شاهد، ۲: خوراک حاوی ۱۲/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۳: خوراک حاوی ۲۵ درصد کانولای تخمیر شده، خوراک حاوی ۳۷/۵ درصد کانولای تخمیر شده، ۵: خوراک حاوی ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده. نکروز (N) و التهاب (Inf). رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰.

در مطالعه Przybyl و همکاران (۲۰۰۶) نیز امکان این جایگزینی در خوراک تاسماهیان استرلیاد مشاهده و مشخص گردید که درصد‌های بیشتر منجر به کاهش رشد و تغییر در ترکیبات تقریبی لاشه شدند. همچنین مطالعه باقرزاده و همکاران (۱۴۰۲) نیز نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر کنجاله کانولای تخمیر شده به میزان ۵۰ درصد در خوراک بچه ماهیان انگشت قد تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) بدون اثر منفی بر شاخص‌های فیزیولوژی امکان پذیر است. استفاده از کانولای تخمیر شده در مطالعات Cheng و همکاران (۲۰۱۰) بر ماهیان سی‌باس ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*) و Dossou و همکاران (۲۰۱۸) بر بچه ماهیان تیلاپای نیل اثر منفی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی نداشت. همچنین در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۶) تخمیر کنجاله سویا با استفاده از باسیلوس *Lactobacillus plantarum* منجر به کاهش قابل توجهی از الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم مانند ساکارز، رافینوز و استاچیوز و همچنین تانن، مهارکننده های تریپسین و گلاسیسین شد و استفاده از آن در خوراک

جایگزینی منابع گیاهی با پودر ماهی خوراک مطابقت داشت. نتایج مطالعه محسنی و ملک پور (۱۳۹۷)، نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر کنجاله کانولا به میزان ۲۰ درصد در خوراک تاسماهیان سبیری (*Acipenser baerii*) امکان پذیر بود و میزان بیش از آن بر شاخص‌های رشد، قابلیت هضم و اشتهای ماهیان اثر منفی داشت. مشابه این نتایج، جایگزینی به میزان ۳۰ درصد در خوراک بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مطالعه Burel و همکاران (۲۰۰۰) به دست آمد. آن‌ها گزارش دادند که جایگزینی بیش از ۳۰ درصد علاوه بر اثر سوء بر شاخص‌های رشد، بر سطح هورمون‌های غده تیروئید نیز اثر داشت. همچنین مطالعه شفایی پور و همکاران (۱۳۸۸)، نشان داد که امکان جایگزینی پودر ماهی با پودر کنجاله کانولا به میزان ۵۰ درصد در خوراک تاسماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) وجود دارد. مقدار بیش از ۵۰ درصد جایگزینی بر شاخص‌های رشد اثر منفی داشت و از طرفی باعث تغییرات در سطح هورمون‌های تیروئیدی، کلاسترول و اسیدهای چرب بافت کبد شد. مشابه این نتایج

Liebert 2004). همچنین می‌تواند بخش قابل توجهی از فسفر فیتاتی را در دسترس موجود زنده قرار دهد، که در بهبود کیفیت خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی موثر است (Singh et al., 2013).

به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین بیان نمود که کانولای تخمیر شده توسط باکتری‌های جنس باسیلوس جداسازی شده از رسوبات دریای خزر، با توجه به کاهش محتوای برخی از مواد ضد تغذیه‌ای آن، می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده در خوراک آبزیانی چون ماهی تیلاپیا باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از ۵۰ درصد کانولای تخمیر شده در خوراک ماهیان تیلاپیای نیل اثر منفی قابل توجهی بر بافت‌های کبد و روده ماهیان طی ۸ هفته تغذیه با خوراک‌های آزمایشی نداشته و امکان جایگزینی کامل کنجاله سویا با کنجاله تخمیر شده کانولا، به‌نحوی که تا ۵۰ درصد خوراک را شامل شود، میسر است.

ماهی کفشک (*Scophthalmus maximus*) تا سطح ۴۵ درصد اثری بر بافت‌شناسی روده و فعالیت آن نداشت. تخمیر کنجاله سویا با استفاده از باکتری جنس باسیلوس در مطالعه Yamamoto و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که در ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۴۷ درصد کنجاله سویای تخمیر شده، آسیب و تغییرات ریخت‌شناسی بافت‌های کبد و روده مشاهده نشد. باکتری‌های جنس باسیلوس گرم مثبت بوده و از طیف وسیع بسترهای آلی و معدنی به‌عنوان منابع مغذی استفاده می‌کنند و به محدودیت‌های محیطی مقاوم هستند. تخمیر کنجاله کانولا با استفاده از گونه‌های باکتری باسیلوس با توجه به مقاومت نسبت به محدوده گسترده pH و دما جهت کاهش مواد ضدتغذیه‌ای و ترکیبات فیبری توصیه شده است (Alcaraz et al., 2010). استفاده از تخمیر میکروبی در خوراک حاوی منابع گیاهی باعث به حداکثر رسیدن قابلیت هضم و افزایش رشد و جذب پروتئین، فسفر، کلسیم و منیزیم در ماهیان تیلاپیای نیل می‌شود (Portz and

منابع

- ابراهیم زاده موسوی ح.، رحمتی هولاسو ه.، شکرپور س. (مترجم). ۱۳۹۲. اطلس بافت شناسی ماهی انتشارات دانشگاه تهران. ۲۲۷ صفحه.
- باقرزاده ن.، ایمانی ا.، سروی مغاللو ک.، محمدی م. ۱۴۰۲. اثر سطوح مختلف کنجاله کانولای تخمیر شده خوراک بر رشد، کرایبی خوراک، ترکیب لاشه و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه ماهیان انگشت قد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۳۲(۲): ۸۲-۶۹.
- پوراحد انزابی م.، سروی مغاللو ک.، ایمانی ا.، طهماسبی ر. ۱۴۰۱. اثر حفاظتی مکمل ویتامینی E و C در کاهش آثار روغن ماهی اکسید شده بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۳۱(۵): ۶۶-۵۳.
- خانی ا. م.، ایمانی ا.، محسنی م.، شیخ بگلو ن. ۱۴۰۲. تغذیه با سطوح مختلف کانولای تخمیر شده با *Bacillus sp.* رسوبات دریای خزر بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیکی کبد ماهیان انگشت قد تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*). *شیلات*. ۷۶(۴): ۶۲۵-۶۱۱.
- رجبی پور ف.، حسن‌نیا م.، شائنی ن.، محمدی م.، سر سنگی ح.، جعفری م.، نجار م.، بهمنش ش.، اخیکان و.، شفیعی مبارکه ج. ۱۳۹۵. پرورش تیلاپیا در قفس در برخی منابع آبی (استخرهای پرورش و ذخیره آب کشاورزی) حوزه بافق. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور ۴۹۷۲۱، ۳۷ صفحه.
- شفای پور آ.، یآوری و.، غفله مرمضی ج.، فلاحتکار ب.، گرجی پور ع. ۱۳۸۸. بررسی اثرات سطوح متفاوت کنجاله کلزا (کانولا) بر رشد، ترکیب لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۱۸(۱): ۱۰۰-۸۱.
- محسنی م.، قربانزاده ف.، سید علیپور ب. ۱۳۹۶. تولید فیتاز از عصاره سبوس برنج به کمک سویه‌های باسیلوس جدا شده از رسوبات بستر دریای مازندران. *مجله پژوهش‌های سلولی و ملکولی*. ۳(۴): ۴۸۷-۴۷۶.
- محسنی م.، ملک پور م. ۱۳۹۷. جایگزینی پودر ماهی با کنجاله کانولا و تاثیر آن بر عملکرد رشد، قابلیت هضم، برخی پارامترهای

- خونی و سطح هورمون‌های تیروئیدی تاس ماهی سبیری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران. ۱۳۵-۱۴۹: (۵)۳۷.
- Alcaraz L.D., Moreno-Hagelsieb G., Eguiarte L.E., Souza V., Herrera-Estrella L., Olmedo G. 2010.** Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. *BMC genomics* 11(1), 332.
- AOAC. 2005.** Official methods of analysis of association of official agriculture chemists. 18th ed, Washington, Gaithersburg 25 p.
- Burel C., Boujard T., Escaffre A.M., Kaushik S.J., Boeuf G., Mol K.A., Van der Geyten S., KuEhn E.R. 2000.** Dietary low-glucosinolate rapeseed meal affects thyroid status and nutrient utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition* 83 (6), 653-664.
- Cheng Z., Ai Q., Mai K., Xu W., Ma H., Li Y., Zhang J. 2010.** Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 305(1-4), 102-108.
- De Boland A.R., Garner G.B., O'Dell B.L. 1975.** Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23(6), 1186-1189.
- Dossou S., Koshio S., Ishikawa M., Yokoyama S., Dawood M.A.O., El Basuini M.F., El-Hais A.M., Olivier A. 2018.** Effect of partial replacement of fish meal by fermented rapeseed meal on growth, immune response and oxidative condition of red sea bream juvenile, *Pagrus major*. *Aquaculture* 490(1), 228-235.
- Enami H. 2011.** A review of using canola/rapeseed meal in aquaculture feeding. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 6(1), 22-36.
- FAO. 2016.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome, 200 p.
- Figureiredo-Silva A., Corraze G., Borges P., Valente L. 2010.** Dietary protein/lipid level and protein source effects on growth, tissue composition and lipid metabolism of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture Nutrition* 16(2), 173-187.
- Francis G., Makkar H.P., Becker K. 2001.** Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199(3-4), 197-227. .
- Furne M., Hidalgo M.C., Lopez A., Garcia- Gallego M., Morales A.E., Kolkovski S. 2001.** Digestive Enzymes in Fish Larvae and Juveniles, Implications and Applications to Formulated Diets. *Aquaculture* 200, 181-201.
- Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Nelson R. 2007.** Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38(6), 551-579.
- Hardy R.W. 2010.** Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* 41(5), 770-776.
- Iwashita Y., Suzuki N., Yamamoto T., Shibata J., Isokawa K., Soon A.H., Ikehata Y., Furuita H., Sugita T., Goto T. 2008.** Supplemental effect of cholytaurine and soybean lecithin to a soybean meal-based fish meal-free diet on the hepatic and intestinal morphology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science* 74, 1083-1095.
- Li M.H., Robinson E.H. 1997.** Microbial Phytase Can Replace Inorganic Phosphorus Supplements in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* Diets 1. *Journal of the World Aquaculture Society* 28(4), 402-406.
- Lim C., Webster C.D., Lee C.S. 2008.** Alternative protein sources in aquaculture diets: Haworth Press New York 1st, 594P.
- Liu B.L., Rafiq A., Tzeng Y.M., Rob A. 1998.** The induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme and Microbial Technology* 22(5), 415-424.
- Lucas J.S., Southgate P.C., Tucker C.S. 2019.** Aquaculture: farming aquatic animals and plants. Wiley-Blackwell, edition 3, 664.
- Mohammadi M., Imani A., Farhangi M., Gharaei A., Hafezieh M. 2020.** Replacement of fishmeal with processed canola meal in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance, mucosal innate immunity, hepatic oxidative status, liver and intestine histology. *Aquaculture* 518, 734824.
- Mohammadi M., Imani A., Farhangi M., Gharaei A., Hafezieh M. 2021.** Efficacy of various processed canola meals to replace fish meal in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* diet: Growth

- performance, digestive enzymes, immune parameters, and liver antioxidative status. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 21(4), 966-986.
- Mwachireya S., Beames R., Higgs D., Dosanjh B. 1999.** Digestibility of canola protein products derived from the physical, enzymatic and chemical processing of commercial canola meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) held in fresh water. *Aquaculture Nutrition* 5(2), 73-82.
- NRC National Research Council. 2011.** Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, New York, USA.
- Plaipetch P., Yakupitiyage A. 2012.** Use of yeast-fermented canola meal to replace fishmeal in the diet of Asian sea bass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Journal of Aquaculture Research and Development* 3(2), 1000125.
- Portz L., Liebert F. 2004.** Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 88(9-10), 311-320.
- Przyby A., Mazurkiewicz J., Rozek W. 2006.** Partial substitution of fish meal with soybean protein concentrates and extracted rapeseed meal in the diet of sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Journal of Applied Ichthyology* 22, 298-302.
- Rodehutsord M., Pfeffer E. 1995.** Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Science and Technology* 31(10), 143-147.
- Singh N.K., Joshi D.K., Gupta R.K. 2013.** Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. *Jundishapur Journal of Microbiology* 6(5).
- Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.K. 2009.** Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1(1), 10-57.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10), 3583-3597.
- Wang L., Zhou H., He R., Xu W., Mai K., He G. 2016.** Effects of soybean meal fermentation by *Lactobacillus plantarum* P8 on growth, immune responses, and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 464, 87-94.
- Yamamoto T., Iwashita Y., Matsunari H., Sugita T., Furuita H., Akimoto A., Suzuki N. 2010.** Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 309(1-4), 173-180.
- Zhou Q.L., Habte-Tsion H.M., Ge X., Xie J., Ren M., Liu B., Pan, L. 2018.** Graded replacing fishmeal with canola meal in diets affects growth and target of rapamycin pathway gene expression of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture Nutrition* 24(1), 300-309.

The effect of replacing dietary soybean meal with fermented canola meal on histology of the liver and intestine of Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*)

Kianoosh Kalantar Nistanaki, Ahmad Imani*, Kourosh Sarvi Moghanlou

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: a.imani@urmia.ac.ir

Received: 3.Feb.2024

Accepted: 12.May.2024

Abstract

The present study was carried out to investigate the effect of replacing soybean meal with canola fermented by *Bacillus* sp. isolated from Caspian Sea sediments on the liver and intestine tissues of Nile tilapia fingerlings. A total of 225 spicemns with an average weight of 1.9 ± 0.05 g were fed five different experimnetal diets including, treatment 1, diet without fermented canola, treatment 2, diet containing 12.5% fermented canola, treatment 3, diet containing 25% fermented canola, treatment 4, diet containing 37.5% fermented canola and treatment 5, diet containing 50% fermented canola, for 8 weeks. The results revealed that there were no statistically significant differences regarding pathological changes in the liver tissue such as hepatocyte degeneration, liver fatty change, inflammation, disorganized hepatocytes and haemorrhage among different experimnetal groups ($P>0.05$). Intestinal tissue examination also showed that no significant differences were observed regarding inflammation and tissue necrosis scores ($P>0.05$). In conclusion, it was possible to completely replace soybean meal by fermented canola meal in Nile tilapia fingerlings diet to the extent that the product constituted 50% of the finished feed.

Keywords: Soybean meal, Fermented canola, Histology of the liver and intestinal, Nile tilapia, *Bacillus*