اثر سطوح مختلف پروتئين جيره غذايي و زمان غذادهي بر توليد آلاينده‌هاي نيتروژني در يک سازگان نيمه‌بسته پرورش ماهي قزل‌آلاي‌رنگين‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مجيد بختياري[۱]، مهرداد فرهنگي*[۲]، احمد ايماني[۳]، شفق کمال[۱] و غلامرضا رفيعي[۴]
[۱] دانش آموخته کارشناسي ارشد دانشکده منابع طبيعي، دانشگاه تهران، ايران
[۲] استاديار دانشکده منابع طبيعي دانشگاه تهران، ايران
[۳] دانشجوي دکتري رشته شيلات دانشگاه تهران، ايران
[۴] دانشيار دانشکده منابع طبيعي دانشگاه تهران، ايران

(تاريخ دريافت: ۱۳۸۸/۴/۳۰ ، تاريخ تصويب: ۱۳۸۹/۱۰/۶)

چکيده

در اين آزمايش اثر کاهش درصد پروتئين جيره در يک وعده غذايي بر توليد آلاينده‌هاي نيتروژني توسط ماهي قزل‌آلاي‌رنگين‌کمان در يک سازگان نيمه‌بسته مورد بررسي قرار گرفت. بر اين اساس جيره غذايي (آ) با سطح پروتئين ۴۱/۵ درصد و جيره غذايي (ب) با سطح پروتئين ۳۶/۵ درصد فرموله و در دو وعده غذايي صبح و عصر، در قالب چهار تيمار غذايي به ماهيان ارائه شد. تيمار ۱ (آ،آ)، در هـر دو وعده غذايي جيره غذايي (آ) را دريافت کرد، تيمار ۲ (آ،ب)، در وعده غذايي صبح جيره غذايي (آ) و در وعده غذايي عصر جيره غـذايي (ب) و تيمار ۳ (ب،آ)، در وعده غذايي صبح جيره غذايي (ب) و در وعده غذايي عصر جيره غذايي (آ) و تيمار ۴ (ب،ب)، در هر دو وعده غذايي جيره غذايي (ب) را دريافت نمودند. کاهش پروتئين خام جيره غذايي از تيمار ۱ به تيمار ۴، با نتايج مطلوبي از نظر ميزان رشد، FCR و بقاء همراه نبود اما در کاهش توليد آلاينده‌هاي نيتروژني مـوثر بـود. در کليـه تيمارهـا بـين ميـزان مـصرف نيتـروژن و توليـد آلاينده‌هاي نيتروژني همبستگي معني‌داري مشاهده شد (P<۰/۰۵ ؛r =۰/۸۱). کاهش ميزان پروتئين در يک وعده غذايي در تيمارهاي ۲ و ۳، اختلاف معني‌داري را از نظر ميزان رشد و FCR با تيمار ۱ نشان نداد. بااين حال تيمار ۳ در مقايـسه بـا تيمـار ۲ آلاينـده‌هـاي نيتروژني کمتري توليد نمود (P<۰/۰۵).

واژه هاي کليدي: سـطح پـروتئين جيـره، زمـان غـذادهي، ضـريب تبـديل غـذايي، مـواد نيتروژنـه دفعـي، قـزل‌آلاي رنگـين‌کمـان (*Oncorhynchus mykiss*)

* نويسنده مسئول: تلفن:۰۲۶۱-۲۲۴۵۹۰۹ فاکس:۰۲۶۱-۲۲۴۵۹۰۹ E-mail: farhangi@nrf.ut.ac.ir

مقدمه

يكي از نكات مهم در ارتباط با كيفيت آب در آبزي‌پروري چگونگي مواجهه با تجمع انواع مواد غير آلي و سمي حاوي نيتروژن در محيط پرورش است (Bergero *et al.*, 2001). از جمله راه‌كارهاي موثر در كاهش ميزان مواد نيتروژنه دفعي در آب مي‌توان به كاهش ميزان نيتروژن موجود در جيره غذايي و كمک به افزايش قابليت هضم مواد غذايي حاوي نيتروژن و افزايش بازده جذب آن‌ها در بدن آبزيان اشاره نمود. آبزيان و به ويژه ماهيان گوشتخوار به مقادير بيشتري از پروتئين در جيره غذايي خود نيازمندند كه مهم‌ترين دليل آن كاتابوليسم پروتئين به منظور تامين انرژي مورد نياز آن‌ها مي‌باشد (Cowey, 1995[a]; Cowey, 1995[b]; Avnimelech, 1999). انرژي توليدي از طريق آمين‌زدايي اسيدهاي آمينه حاصل و در نهايت باعث توليد آمونياک مي‌گردد (Leung *et al.*, 1999). موارد متعددي وجود دارد كه در آن‌ها ارتباط روشني بين شرايط تغذيه و ميزان آلايندگي در محيط پرورشي برقرار است. با توجه به متابوليسم و فيزيولوژي گونه پرورشي، تلفيق زمان غذادهي و تركيب جيره غذايي ممكن است منجر به نتايج مطلوبي در اين زمينه گردد.

گونه‌هاي مختلف آبزي در ساعات خاصي از روز فعاليت و به تبع آن اشتهاي بيشتري براي مصرف غذا از خود نشان مي‌دهند (Spieler, 1992; Jobling *et al.*, 1998). تحقيقات متعددي نيز دلالت بر بازده جذب بيشتر برخي از مواد مغذي (Kadri *et al.*, 1991; Baras *et al.*, 1996; Gelieau *et al.*, 1998) در ساعات مشخصي از روز دارند. رعايت زمان مناسب غذادهي باعث افزايش قابليت هضم و جذب مواد مغذي شده و خروج آن‌ها را از دستگاه گوارش كاهش مي‌دهد. در اين حالت مي‌توان پروتئين جيره غذايي را كاهش داد كه متعاقب اين امر ممكن است ميزان توليد مواد نيتروژنه دفعي را نيز كاهش داد.

در زمينه تركيب اجزاء جيره غذايي كه به منظور كاهش مواد دفعي ناشي از متابوليسم پروتئين‌ها كاربرد دارند، مي‌توان به جايگزيني پروتئين به وسيله ساير مواد انرژي‌زا اشاره نمود .هدايت آبزي به سمت تامين انرژي مورد نياز از طريق منابع غير پروتئيني جيره‌هاي غذايي امري بسيار مطلوب تلقي مي‌شود. شواهدي وجود دارند كه نشان مي‌دهند با رعايت زمان غذادهي مناسب و تنظيم ميزان انرژي در جيره غذايي مي‌توان با كاهش ميزان پروتئين جيره غذايي، مقدار توليد آلاينده‌هاي نيتروژني را تقليل داد (Heinen *et al.*, 1996; Yigit *et al.*, 2002). در مطالعه‌اي كه در مورد تاثير ميزان و همچنين زمان غذادهي در ماهي كفشک پشت سبز (*Rhombosolea tapirina*) انجام شد مشاهده گرديد كه نرخ روزانه دفع آمونياک و اوره تحت تاثير ميزان و زمان غذادهي است و توليد آمونياک حاصله در صبح كمتر از تيمارهايي بود كه در عصر غذادهي شدند (Verbeeten *et al.*, 1999). در مطالعه ديگري نشان داده شد كه ميزان توليد انرژي از چربي و يا پروتئين با توجه به زمان غذادهي در ماهيان مي‌تواند متغير باشد (Gelineau *et al.*, 1998). مكانيزم اين پديده هنوز به خوبي درک نشده است با اين حال هر گونه بهبود در اين زمينه با توجه به زمان غذادهي ممكن است به علت فرآيندهاي مختلفي از جمله كارآيي بهتر جذب مواد مغذي، اثر جايگزيني پروتئين به علت استفاده مناسب‌تر از انرژي اجزاء غير پروتئيني جيره غذايي و يا افزايش سنتز پروتئين باشد (Bolliet *et al.*, 2000).

در اين مطالعه تلاش شد تا از طريق تلفيق زمان غذا دهي و مقادير مختلف پروتئين جيره و اعمال ۴ رژيم غذايي به بخشي از جنبه‌هاي مربوط به رعايت شرايط بهينه تغذيه با هدف افزايش كارآيي مديريت تغذيه و كاهش بار آلودگي نيتروژني در يک سيستم آبزي پروري پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

اجراي آزمايش

گردش آب در هر واحد آزمايشي به صورت نيمه بسته و كاملاً مجزا از ساير واحدهاي آزمايشي انجام مي‌شد (شكل ۱). تيمارها تلفيقي از دو سطح پروتئين جيره غذايي (۴۱/۵ و۳۶/۵ درصد) و زمان غذادهي (صبح و

عصر) شامل ۴ رژيم غذايي به شرح جدول ۱ بود. آزمايش به مدت ۴۶ روز به طول انجاميد.

در ابتدا تعداد ۱۴ قطعه ماهي به صورت كاملا تصادفي در هر واحد آزمايشي توزيع شد. ماهيان در ابتدا و انتهاي دوره زيست سنجي و ميانگين وزن و طول آن‌ها در هر واحد آزمايشي تعيين گرديد. به منظور تامين شرايط دمايي و نوري با ثبات در طول دوره پرورش، اين مطالعه در يک محيط بسته انجام شد. طول روز و شب به صورت ۱۲ ساعت روشنايي و ۱۲ ساعت تاريكي تنظيم و وعده غذايي صبح يک ساعت پس از شروع روشنايي و وعده غذايي عصر يک ساعت قبل از شروع تاريكي در اختيار ماهيان قرار گرفت.

جدول ۱- رژيم‌هاي غذايي مورد استفاده در اين پژوهش

رژيم غذايي (تيمار)	درصد پروتئين در وعده غذايي صبح	درصد پروتئين در وعده غذايي عصر
رژيم غذايي (آ،آ) (تيمار ۱)	۴۱/۵	۴۱/۵
رژيم غذايي (آ،ب) (تيمار ۲)	۴۱/۵	۳۶/۵
رژيم غذايي (ب،آ) (تيمار ۳)	۳۶/۵	۴۱/۵
رژيم غذايي (ب،ب) (تيمار ۴)	۳۶/۵	۳۶/۵

شاخص‌هاي رشد از قبيل ميزان رشد (WG)، ضريب‌رشد ويژه ($SGR\ \%\ day^{-1}$)، شاخص وضعيت (CF) و ضريب تبديل غذايي (FCR)، براساس روابط زير مورد بررسي قرار گرفتند (Farhangi and Carter, 2001). از ميان پيراسنجه‌هاي فيزيكوشيميايي آب، دما (۱۷/۳۳±۰/۱۶ درجه سانتي گراد)، pH (۷/۶±۰/۰۴) و اكسيژن محلول (۷/۶±۰/۱۲ ميلي گرم در ليتر) به صورت هفتگي اندازه‌گيري شد. سرعت جريان آب در سيستم نيز معادل ۵/۴۰±۰/۰۱۸ ليتر در هر دقيقه تنظيم گرديد.

۱) WG: Weight gain = W_2-W_1

۲) SGR: Specific growth rate ($\%day^{-1}$) = $(\log_e W_2-\log_e W_1) / t \times 100$

۳) CF: Condition factor = $100\times[(\text{whole live body weight(g)}) / (\text{fork length(cm)})^3]$

۴) FCR: Feed conversion ratio = g feed intake /g live weight gain

تعيين پيراسنجه‌هاي نيتروژني آب

در طول آزمايش، تجمع آلاينده‌هاي نيتروژني در هر تيمار بررسي و براي جلوگيري از بروز سميت توسط آمونياک، از بيوفيلترهاي مجزا در هر واحد استفاده به عمل آمد. به اين ترتيب در فواصل مختلف شاخص‌هاي نيتروژن كل آمونياكي[1] نيتروژن-نيتريت[2] و نيتروژن-نيترات[3] اندازه‌گيري شدند. اندازه‌گيري اين سه پيراسنجه به دليل ارتباط آنها در تبديل به يكديگر، به صورت همزمان انجام گرفت و در بررسي آلاينده‌هاي نيتروژني و ارتباط آن‌ها با نيتروژن ورودي از طريق غذا، از مجموع آن‌ها و در اصلاح نيتروژن كل غير آلي[4] استفاده گرديد.

[1] TAN: Total Ammunia Nitrogen

[2] $N-NO_2$

[3] $N-NO_3$

[4] Total Inorganic Nitrogen (TIN)

براي ايـن منظـور از دسـتگاه فتـومتر (Hach (DR 4000 استفاده به عمل آمد. جهت تعيين آمونيوم از روش نـسلر در برنامه ۲۴۰۰ دستگاه فوق در طول مـوج ۴۲۵ نـانومتر استفاده شد. بـه منظـور تعيـين ميـزان نيتريـت از روش Diazotiation به شماره برنامه ۲۶۱۰ در طول مـوج ۵۰۷ نانومتر و از روش كاهش كادميوم با شماره برنامـه ۲۵۳۰ براي تعيين نيترات در طول مـوج ۵۰۰ نـانومتر اسـتفاده گرديد (APHA, 1998).

تهيه جيره‌هاي غذايي

پس از تعيين تركيـب شـيميايي مـواد اوليـه جيـره‌هـاي غذايي فرمولـه شـدند (Petterson *et al*., 1999). شـايان ذكر اسـت كـه جيـره‌هـاي غـذايي حـاوي ميـزان انـرژي يكساني بودند. در جدول ۲ درصـد مـواد غـذايي تـشكيل دهنده جيره‌هاي غذايي آزمايشي ارائه شده است. پـس از ساخت جيره‌هاي غذايي، آزمايش‌هـاي تجزيـه تقريبـي و همچنين تعيين سطح انرژي در جيـره‌هـا انجـام شـد. در جدول ۳ تركيب شيميايي و سطح انـرژي در جيـره‌هـاي غذايي ارائه شده‌است.

واحدهاي آزمايشي

در اين آزمايش از واحدهاي آزمايشي كه چـرخش آب در آن‌ها به طور مجزا انجام مي‌گرفت استفاده به عمـل آمـد. اجزاء اصلي هر واحد در شكل ۱ نمايش داده شـده‌اسـت. براي تهويه واحدها از يك سيستم هوادهي مركزي شـامل دو دستگاه هواده پيستوني بـه قـدرت ۱۸۵ وات اسـتفاده گرديد. كنترل دما نيز به صورت غير مـستقيم و از طريـق يك دستگاه كولر گازي با قدرت ۱۸۰۰۰ وات تامين شد.

روش‌هاي آماري مورد استفاده

در اين مطالعه از آزمون شاپيرو-ويلک به منظـور بررسـي نرمال بودن داده‌ها استفاده گرديد. كليه داده‌هاي درصدي بـه صـورت $\arcsin \sqrt{x}$ تبـديل شـدند. از آزمـون تجزيـه واريانس يک طرفه بـراي مقايـسه واريـانس تيمارهـا و از آزمون دانكن براي بررسي وجود يـا عـدم وجـود اخـتلاف معني‌دار بين ميانگين تيمارها استفاده به عمل آمد. بـراي بررسي وجود رابطه بين متغيرهـا روش رگرسـيون خطـي مورد استفاده قرار گرفت. به منظور حذف اثـر متغيرهـاي همسو از آزمـون كوواريـانس و تـست ميـانگين بنفرونـي استفاده شد. سـطح معنـي‌داري در آزمـون‌هـاي مقايـسه ميانگين ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتايج

شاخص‌هاي رشد، در صد بقاء و ضريب تبديل غذايي

نتايج مربوط به اين شاخص‌ها در جدول ۴ ارائه شده‌است. همان گونه كه در جدول مذكور مشاهده مي‌شود به جـزر ضـريب تبـديل غـذايي اخـتلاف معنـي‌داري از نظـراين شاخص‌هـا در تيمارهـاي آزمايـشي مـشاهده نگرديـد. در مورد ضريب تبديل غذايي نتـايج آزمـون دانكـن اخـتلاف معني‌داري را بين تيمارها نشان داد. با اين حال بيـشترين و كمترين ضريب تبديل غذايي به ترتيب در تيمار هاي ۴ و ۱ مشاهده شد.

تركيبات آلاينده نيتروژني در آب

از آزمـون كوواريـانس جهـت بررسـي اخـتلاف ميـانگين نيتروژن كل غير آلي تجمعي بين تيمارها با حذف اثر كل نيتـروژن ورودي از طريـق غـذا (نيتـروژن پروتئينـي)، استفاده شـد. پـيش از اجـراي ايـن آزمـون ابتـدا ارتبـاط معني‌دار مثبت بين ميزان نيتروژن دريافتي از طريق غـذا (متغير همراه[1]) و متغير نيتروژن كل غير آلـي محلـول در آب بررسي و وجود اين ارتباط درشـكل ۲ اثبـات گرديـد ($P<۰/۰۵$، $r=۰/۸۱$).

نتايج آزمون كوواريانس نشان دهنده وجود اثـر معنـي‌دار متغير همراه (نيتروژن ورودي از طريق غذا) ($P<۰/۰۵$) و وجود اختلاف معنـي‌دار بـين تيمارهـا (شـكل ۳) بعـد از حذف اثر نيتروژن غذا بود ($P<۰/۰۵$).

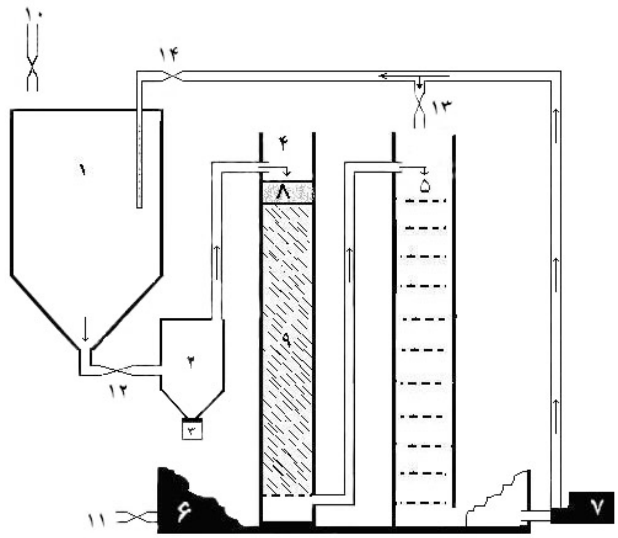
[1] Covariate

جدول۲- درصد مواد غذايي تشكيل دهنده جيره‌هاي غذايي آزمايشي

ماده غذايي	جيره۱	جيره۲
گلوتن ذرت	۱/۴	۱/۴
آرد ذرت	۱۸	۲۱
كنجاله سويا	۱۰/۷۳	۲۵/۰۰
روغن ماهي	۱۰/۵۴	۱۰/۷۰
پودر ماهي	۵۳/۰۳	۳۵/۱۰
بايندر	۳/۰۰	۳/۵۰
آنتي اكسيدان	۰/۵	۰/۵
كولين كلرايد	۰/۷۰	۰/۷۰
ويتامين C	۰/۱۰	۰/۱۰
مكمل معدني	۱/۰۰	۱/۰۰
مكمل ويتامين	۱/۰۰	۱/۰۰
كل	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۳- تركيب شيميايي و سطح انرژي در جيره‌هاي غذايي آزمايشي (انحراف معيار ± ميانگين)

تركيب (درصد)	جيره ۱	جيره ۲
پروتئين خام	۴۱/۴۹±۱/۳۱	۳۶/۵۳ ± ۰/۲۳
انرژي Kcal/Kg	۴۵۹۶/۵±۵۴/۴۵	۴۵۷۹/۵±۴۴/۵۵
چربي خام	۲۳/۷۱ ± ۰/۰۹	۲۳/۳۱ ± ۰/۲۵
كلسيم	۲/۹۸±۰/۲۴	۲/۱۶±۰/۲۲
فسفر	۱/۳۸±۰/۰۳	۱/۰۳±۰/۰۳
خاكستر	۱۴/۱۷ ± ۰/۰۸	۱۲/۳۸ ± ۰/۱۷
ماده خشك	۹۲/۷ ± ۰/۲۳	۹۱/۸ ± ۰/۱۶



شکل ۱- نماي شماتيک يک واحد آزمايشي. ۱. مخزن پرورش، ۲. سيکلون، ۳. ظرف جمع‌آوري مواد جامد، ۴. مخزن بيوفيلتر، ۵. برج گاز زدايي به قطر ۲۰ و ارتفاع مفيد ۱۳۲ سانتي متر شامل طبقاتي مشبك با چشمه ۲×۳ ميليمتر و فاصله بين طبقاتي ۸/۶ سانتي‌متر، ۶. مخزن نهايي جمع‌آوري آب، ۷. پمپ ۶۰ وات، ۸. فيلتر اسفنجي ۹. مديوم **Bee-Cell 2000** از جنس پلي استيرن۶/۹۶ متر مربع، ۱۰. شير ورودي آب تازه در هنگام تعويض آب، ۱۱. شير تخليه آب در هنگام تعويض آب ۱۲. شير خروجي مخزن پرورشي ۱۳. شير برگشت آب اضافي پمپ، ۱۴. شير تنظيم دبي ورودي به مخزن پرورشي.

جدول ۴- شاخص‌هاي رشد حاصل شده در تيمارهاي مختلف (انحراف معيار± ميانگين)*

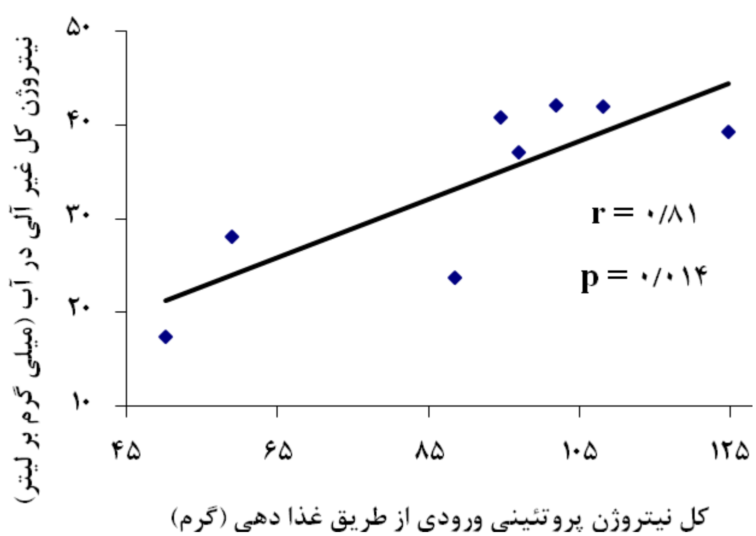
شاخص	تيمار ۱ (آ،آ)	تيمار ۲ (آ،ب)	تيمار ۳ (ب،آ)	تيمار ۴ (ب،ب)
وزن اوليه	۴۵/۸۹±۰/۵۷a	۴۶/۲۱۵±۰/۹۰a	۴۵/۵۸±۰/۴۳a	۴۵/۷۰±۰/۳۴a
افزايش وزن	۸۰/۱۳±۴/۱۰a	۵۷/۰±۱۱/۸۸a	۷۷/۶±۲۳/۴۸a	۵۰/۴±۲۸/۷۱a
ضريب رشد ويژه	۲/۲±۰/۰۵a	۱/۷۳±۰/۳۸a	۲/۱۴±۰/۴۰a	۱/۵۷±۰/۶۵a
ضريب چاقي	۱/۶۱±۰/۰۲a	۱/۵۹±۰/۰۳a	۱/۵۸±۰/۰۷a	۱/۵۲±۰/۰۶a
در صد بقاء	۹۶/۴۳±۵/۰۵a	۸۵/۱۶±۰/۷۸a	۹۲/۸۶±۱۰/۱۰a	۸۹/۲۹±۱۵/۱۵a
ضريب تبديل غذايي	۱/۴۱±۰/۱۳b	۱/۵۸±۰/۰۳ab	۱/۶۰±۰/۱۰ab	۱/۸۲±۰/۲۰a

* حروف متفاوت در هر رديف نشان دهنده وجود اختلاف معني‌دار بين تيمار هاست (P<۰/۰۵)

بحث و نتيجه‌گيري

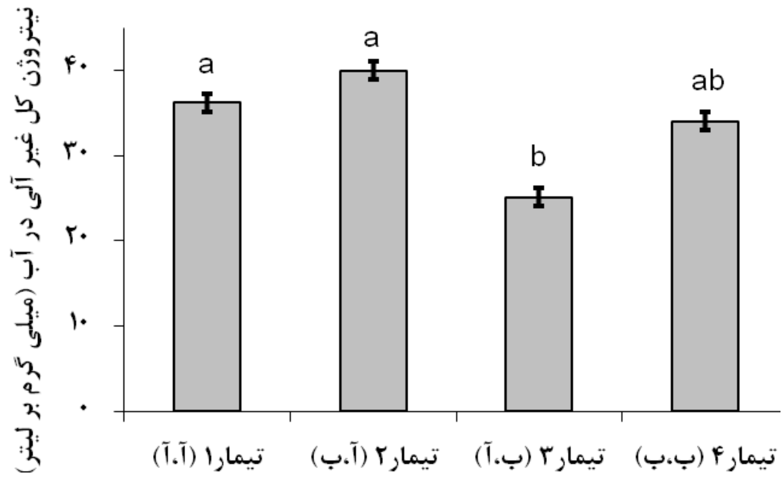
رژيم‌هاي غذايي مورد استفاده در اين آزمايش تفاوت معني‌داري از نظر رشد ايجاد نكردند. نتايج مربوط به ضريب تبديل غذايي حاكي از آن است كه با كاهش ميزان پروتئين جيره غذايي از تيمار اول به تيمار چهارم، مقدار آن افزايش يافته است. از آنجايي كه ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان در حد تامين نيازهاي غذايي خود تغذيه مي‌كند (Gelineau *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2004)، اين امر منطقي به نظر مي‌رسد.

مطالعات متعددي تغيير همسان پروتئين جيره غذايي با دفع نيتروژن را مورد تاييد قرار داده‌اند. در يک مطالعه كاهش ميزان پروتئين در جيره غذايي ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان از ۴۷/۹ درصد به ۳۸/۴ درصد، با كاهش ۵۰ درصدي دفع نيتروژن (Schuster *et al.*, 1992) همراه بود. نتايج مشابهي از طريق كاهش پروتئين جيره غذايي از ۴۵ درصد به ۳۸ درصد در اين گونه گزارش شده است كه متعاقب آن مقادير آمونياک و نيتريت مجددا كاهش يافت (Gelineau *et al.*, 2002). محققين ديگري نيز اين نتايج را در ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان گزارش كرده‌اند كه در همه موارد كاهش مصرف پروتئين با كاهش توليد آلاينده‌ها همراه بوده است (Schuster and Stelz, 1998; Yigit *et al.*, 2002).



شكل ۲- نمايش رابطه همبستگي بين ميانگين نيتروژن كل غير آلي تجمعي در آب و كل نيتروژن پروتئيني ورودي از طريق غذا

شكل ۳ مويد اين نكته است كه در شرايط برابر در ميزان دريافت نيتروژن (پروتئين)، تيمار سوم، به طور معني‌داري كمتر از ساير تيمارها، آلاينده‌هاي نيتروژني توليد كرده است. با توجه به ثابت بودن سطح انرژي در جيره‌هاي غذايي واضح است كه در تيمار سوم نسبت پروتئين به انرژي دريافتي در وعده غذايي صبح كمتر بوده و با توجه به اين كه اوج فعاليت تغذيه‌اي اين گونه در آغاز روز است (Sanchez-Vazquez and Tabata, 1998; Bolliet *et al.*, 2000)، مي‌توان اين گونه نتيجه گرفت كه امكان تامين انرژي از پروتئين در اين تيمار كمتر از تيمار مقابل آن يعني تيمار دوم بوده است. در يک مطالعه (Gelineau *et al.*, 1998) ، در وعده غذايي صبح، ميزان تامين انرژي از چربي بيشتر از پروتئين بوده و در وعده غذايي نيمه شب ميزان تامين انرژي از پروتئين افزايش يافت.



شکل ۳- نتايج آزمون کوواريانس با ميانگين‌هاي تصحيح شده براي نيتروژن تجمعي بعد از حذف اثر نيتروژن ورودي از طريق غذا. در اين حالت ميزان نيتروژن غذاي ورودي براي همه تيمارها يکسان شده است (سطوح معني دار توسط آزمون بنفروني ايجاد شدند)

در واقع در مطالعه مذکور آمين‌زدايي کمتري در صبح انجام شده است. از طرفي در آزمايش ديگري (Gelineau *et al.*, 2002) مقدار عددي دريافت پروتئين[1] در ماهيان قزل‌آلاي‌رنگين‌کماني که در وعده غذايي صبح، جيره غذايي با سطح انرژي بالاتر را دريافت کرده بودند (نسبت پروتئين به انرژي کمتر در صبح) از تيمار مقابل آن، بالاتر بود. اين موارد نشان دهنده بازده مطلوب‌تر استفاده از پروتئين در اين رژيم غذايي (تيمار ۳) مي‌باشد.

همانگونه که قبلاً نيز اشاره شد کارآيي پروتئين در آبزيان علاوه بر غلظت آن در جيره غذايي به سطوح منابع غير پروتئيني تامين کننده انرژي در جيره غذايي (چربي و کربوهيدرات) و همچنين قابليت هضم آن‌ها بستگي دارد. توازن بهينه پروتئين و انرژي در جيره غذايي بسيار حائز اهميت است زيرا کمي يا زيادي منابع غير پروتئيني انرژي (Cho and Bureau, 1995; Lee *et al.*, 2002) ممکن است باعث کاهش نرخ رشد شود.

در مطالعه‌اي که در ماهي *Rhamdia quelen* انجام گرفت، نشان داده شد که با افزايش پروتئين جيره غذايي و يا کاهش انرژي قابل هضم، فعاليت آنزيم‌هاي آمينو ترانسفراز و دهيدروژناز کبد زياد و به تبع آن غلظت اسيدهاي آمينه آزاد، آمونياک و اوره در پلاسماي خون افزايش يافت که اين امر تحت تاثير تجزيه اسيدهاي آمينه است (Melo *et al.*, 2006). با اين تفاصيل و با توجه به نکته‌اي که ماهي قزل‌آلاي‌رنگين‌کمان فعاليت تغذيه‌اي بيشتري (Sanchez-Vazquez-Tabata, 1998; Bolliet *et al.*, 2000) در صبح دارد، نتايج ارائه شده در شکل ۳، اين گونه تفسير مي‌شود که زمان ارائه غذا در تيمار سوم موجب متعادل‌تر شدن نسبت پروتئين قابل هضم دريافتي به انرژي قابل هضم گشته و در نتيجه پروتئين کمتري تجزيه شده است. زيرا وعده غذايي صبح در اين تيمار حاوي نسبت کمتر پروتئين به انرژي بوده است، اما در تيمار اول و دوم اين نسبت بالاتر بوده و تجزيه اسيدهاي آمينه بيشتري صورت گرفته است. در مطالعه‌اي که در مورد نسبت پروتئين به انرژي انجام گرديد، نشان داده شد که کاهش اين نسبت، موجب بهبود ذخيره پروتئين مي‌گردد (Yigit *et al.*, 2002). اين امر به دليل آمين‌زدايي کمتر اسيدهاي آمينه به منظور تامين انرژي است.

کاهش درصد پروتئين جيره غذايي در يک وعده غذايي (تيمارهاي دوم و سوم) اختلاف معني‌داري به لحاظ شاخص‌هاي رشد و ضريب تبديل غذايي با تيمار اول

[1] Protein gain

ايجاد نكرد. با اين حال در مورد توليد آلاينده‌هاي نيتروژني در نسبت‌هاي برابر مصرف پروتئين، تيمار سوم آلودگي كمتري ايجاد نمود. در واقع كاهش ميزان پروتئين در وعده غذايي صبح مي‌تواند موجب افزايش كنترل ماهي بر حفظ نسبت متوازن پروتئين به انرژي مصرفي شود.

در هر حال جهت بررسي اثر زمان ارائه جيره‌هايي با درصد متفاوت پروتئين، مطالعه آنزيم‌هاي آمينوترانسفراز كبدي و همچنين بررسي مقادير دفعي نيتروژن از طريق مدفوع و به شكل ساير تركيبات نيتروژني مانند اوره و ميزان آنها در پلاسماي خون در مطالعات آينده مي‌تواند نتايج دقيق‌تري را در اين زمينه ارائه نمايد.

همچنين با افزايش اختلاف بين درصد پروتئين جيره‌هاي غذايي مي‌توان اثرات احتمالي اين روش تغذيه بر متغيرهاي رشد را نيز با دقت بيشتري مورد مطالعه قرار داد.

References

- APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed., American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C.

- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture 176, 227-235.

- Azevedo, P. A., Lesson, S., Cho, C.Y., Bureau, D. P., 2004. Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: diet, species and size effects. Aquaculture 234, 393-414.

- Baras, E., Melard, C., Grignard, J. C., Thoreau, X., 1996. Comparison of food conversion by pirapatinga (*Piaractus brachypomus*) under different feeding times. The Progressive Fish-Culturist 58, 59-61.

- Bergero, D., Forneris, G., Palmegiano, G. B., Zoccarato, I., Gasco, L., Sicuro, B., 2001. A description of ammonium content of output waters from trout farms in relation to stocking density and flow rates. Ecological Engineering 17, 451-455.

- Bolliet, V., Cheewasedtham, C., Houlihan, D., Gelineau, A., Boujard, T., 2000. Effect of feeding time on digestibility, growth performance and protein metabolism in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: interactions with dietary fat levels. Aquatic Living Resources 13(2), 107-113.

- Cho, C. Y., Bureau, D. P., 1995. Determination of the energy requirements of fish particular with reference to salmonids. Journal of Applied Ichthyology 11, 141-163.

- Cowey[a], C. B., 1995. Intermediary metabolism in fish with reference to output of end products of nitrogen and phosphorus. Water Science Technology 31(10), 21-28.

- Cowey[b] C. B., 1995. Protein and amino acid requirement: A critique of methods. Journal of Applied Ichthyology 11, 199-204.

- Farhangi, M., Carter, C. G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). Aquaculture Research 32 (1), 329-340.

- Gelineau, A., Medale, F., Boujard, T., 1998. Effect of feeding time on post prandial nitrogen excretion and energy expenditure in rainbow trout. Journal of Fish Biology 52, 655-664.

- Gelineau, A., Bolliet, V., Corraze, G., Boujard, T., 2002. The combined effects of feeding time and dietary fat levels on feed intake, growth and body composition in rainbow trout. Aquatic Living Resources 15, 225-230.

- Heinen, J. M., Hankins, J. A., Adler, P. R., 1996. Water quality and waste production in a recirculating trout-culture system with feeding of a higher-energy or a lower energy diet. Aquaculture Research 27, 699-710.

- Jobling, M., Koskela, J., Pirhonen, J., 1998. Feeding time, feed intake and growth of Baltic salmon, *Salmo salar*, and brown trout, *Salmo trutta*, reared in monoculture and duoculture at constant low temperature. Aquaculture 163, 73-84.

- Kadri, S., Metcalfe, N. B., Huntingford, F. A., Thorpe, J. E., 1991. Daily feeding rhythms in Atlantic salmon in sea cages. Aquaculture 92, 219-224.

- Lee, M. S., Geon, I. J., Lee, Y. J., 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquaculture 211, 227-239.
- Leung, K. M. Y., Chu, J. C. W., Wu, R. S. S., 1999. Interacting effects of water temperature and dietary protein levels on post-prandial ammonia excretion by the areolated grouper *Epinephelus areolatus* (Forskal). Aquaculture Research 30, 793-798.
- Melo J. F. B., Lundstedt, L. M., Meton, I., Baanante, I. V., Moraes, G., 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolise of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 145 (2), 181-187.
- Petterson, D. S., Harris, D. J., Rayner, C. J., Blakeney, A. B., Choct, M., 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. Australian Journal of Agricultural Research 50, 775-787.
- Sanchez-Vazquez, F. J., Tabata, M., 1998. Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout. Journal of Fish Biology 52, 255-267.
- Schuster, C., Stelz, H., SchmitzSchlang, O., 1992. Nitrogen and COD loading in waste water by trout production under influence of protein content in fish feed. Deustsche Tierarztlich Wochenschrift 99, (12), 504-507.
- Schuster, C., Stelz, H., 1998. Reduction in the make up water in semi closed recirculating aquaculture systems. Aquacultural Engineering 17, 167-174.
- Spieler, R. E., 1992. Feeding – entrained circadian rhythms in fishes. In Rhythms in Fishes (Ali, A., Ed). Plenum Press, New York, pp 137-147.
- Verbeeten, B. G., Carter, C. G., Purser, G. J., 1999. The combined effect of feeding time and ration on growth performance and nitrogen metabolism of green back flounder. Journal of Fish Biology 55, 1328-1343.
- Yigit, M., Yardim, O., Koshio, S., 2002. The protein sparing effects of high lipid levels in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, with special reference to reduction of total nitrogen excretion. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 54(2), 79-88.

Effect of Two Different Dietary Protein Levels and Feeding Time on Nitrogenous Waste Production in a Semi-recirculating Rearing System of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

M. Bakhtiyari[1], M. Farhangi[*2], A. Imani[3], S. Kamal[1] and G. Rafiee[4]
[1] M. Sc graduate of Fisheries Sciences, University of Tehran, I.R. Iran
[2] Assistant professor, University of Tehran, I.R. Iran
[3] Ph. D. student of Fisheries Sciences, University of Tehran, I.R. Iran
[4] Associate professor, University of Tehran, I.R. Iran
(Received: 21/07/2009 , Accepted: 27/12/2011)

Abstract
The present study aimed to investigate the effect of lowering dietary protein level at different feeding times on nitrogenous wastes production of rainbow trout in a semi-recirculating system**.** Accordingly, two diets one with higher protein level (41.5%), diet A and the other one with lower protein level (36.5%), diet B were used at two different feeding times, to comprise 4 distinct treatments. Treatment one received diet A at both morning and evening feeding times. Treatment two was fed with diet A in the morning and diet B in the evening, while third treatment was fed exactly opposite as compared with treatment two. Treatment four received diet B at both morning and evening feeding times. The average total nitrogen and total ammonia, nitrite and nitrate were used as indices of nitrogenous wastes production throughout the experiment. Decreased dietary protein levels from treatment one to treatment four did not pose desirable effects on growth, FCR and survival rate, however, a positive correlation was observed between nitrogen intake (protein) and nitrogenous wastes production ($P<0.05$; $r=0.81$). Decreased dietary protein level in one meal (treatments two and three) caused no significant difference to growth and FCR compared to treatment one, however third treatment resulted in lower nitrogenous wastes production ($P<0.05$).

Keyword: Dietary protein levels, Feeding time, Feed conversion ratio, Nitrogenous wastes, Rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*)

*Corresponding author: Tel: +982612245909 Fax: +982612245909 E-mail: farhangi@nrf.ut.ac.ir