



## اثر جایگزینی نسبی کنجاله سویا با کنجاله پنبه دانه و افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تثبیت فسفر و نیتروژن در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد

سید مرتضی حسینی<sup>۱\*</sup>، حبیب اله کشیری<sup>۲\*</sup>، عباسعلی آقایی مقدم<sup>۱</sup>، بهروز قره‌وی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات پنبه کشور، گرگان، ایران

### چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۰۳/۰۶/۰۱

پذیرش: ۰۳/۰۷/۳۰

نویسنده مسئول مکاتبه:

سید مرتضی حسینی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، گرگان، ایران.

ایمیل: seyeyedmorteza.hoseini@gmail.com

هدف از اجرای این پروژه بررسی اثر افزودن کنجاله پنبه دانه و مخلوط اسیدهای آلی به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، توجیه اقتصادی و تثبیت نیتروژن و فسفر در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. به این منظور ۶ تیمار متشکل از ۶ جیره غذایی با ۳ تکرار در قالب یک طرح فاکتوریل ۳×۲ در نظر گرفته شد که در آن دو سطح کنجاله پنبه دانه شامل صفر و ۱۵ درصد و ۳ سطح مخلوط اسید آلی (مخلوط اسید لاکتیک، اسید سیتریک و سوربات پتاسیم به نسبت مساوی) صفر ۰/۵ و ۱ درصد به جیره غذایی اضافه شد. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به تعداد ۲۷۰ قطعه و با میانگین وزنی ۰/۳۵ ± ۱۴/۰ گرم در ۱۸ آکوارיום حاوی ۴۰ لیتر آب و با تراکم ۱۵ ماهی در هر آکوارיום ذخیره سازی شد. جیره‌های غذایی فوق به مدت ۸ هفته و روزانه ۳ تا ۴ درصد بیومس در اختیار ماهی‌ها قرار گرفتند. آکواریوم‌ها مجهز به سیستم نیمه مداربسته شامل هواده، فیلتر فیزیکی، فیلتر زیستی و فیلتر UV بودند و روزانه ۳۰ درصد تعویض آب در خلال دوره آزمایش انجام شد. پس از پایان دوره آزمایش نمونه برداری از عضله ماهی انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر وزن نهایی، تولید ماهی در واحد حجم آب و هزینه تمام شده خوراک نداشت اما باعث کاهش معنی‌دار نرخ رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد. همچنین افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت. افزودن کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر مقدار فسفر و نیتروژن عضله ماهی نداشت؛ ولی افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی باعث افزایش معنی‌دار فسفر عضله ماهی شد. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که کنجاله پنبه دانه می‌تواند به میزان ۱۵ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شود. این مقدار کنجاله پنبه دانه اگرچه باعث کاهش معنی‌دار رشد و افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی می‌شود، ولی از نظر اقتصادی اثر معنی‌داری بر تولید ماهی قزل‌آلا ندارد. همچنین، افزودن اسیدهای آلی در سطح ۰/۵ تا ۱ درصد به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا اگرچه اثر مثبتی بر رشد، کارایی و قیمت تمام شده خوراک ندارد، ولی باعث افزایش فسفر عضله ماهی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جیره غذایی، کنجاله پنبه دانه، بازده اقتصادی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

### ۱ | مقدمه

شامل می‌شود، بنابراین وجود جیره‌های غذایی با کارایی بالا، یکی از عوامل تضمین‌کننده پایداری این صنعت خواهد بود. در سالهای اخیر به دلیل رشد تولیدات آبی پروری در کشور، تامین نهاده‌های تولید غذای آبزیان با

ماهی قزل‌آلا با بیش از ۲۰۸ هزار تن تولید سالانه در کشور، سهم بالایی در تولیدات آبی پروری کشور دارد. یکی از چالش‌های پرورش قزل‌آلا در کشور، جیره غذایی آن است. جیره غذایی بخش عمده هزینه تولید قزل‌آلا را

افزایش پروتئین آن تا بالای ۳۵ درصد می‌شود که مناسب استفاده در جیره ماهی خواهد شد. با این کار قیمت هر کیلوگرم کنجاله پنبه دانه به ۲۵۰ هزار ریال خواهد رسید. با توجه به قیمت کنجاله پنبه دانه و دسترسی آن در کشور، استفاده از آن در فرمولاسیون جیره غذایی آبزیان می‌تواند مد نظر قرار گیرد تا سهم کنجاله سویا در جیره غذایی کاهش یابد. با این حال، کنجاله پنبه دانه محدودیت‌هایی برای استفاده در جیره آبزیان دارد که می‌توان به وجود گوسیپول (Shen et al., 2020; Ye et al., 2022; Fu et al., 2022)، فیتات (Lim and Lee, 2009; Ahmad et al., 2021) و کاهش قابلیت هضم، فراهمی زیستی لیزین و متیونین (Lou et al., 2006; Cheng and Hardy, 2002; Sintayehu et al., 1996) اشاره نمود. لذا، ارائه راهکارهایی که نقاط ضعف کنجاله پنبه را بر طرف نماید می‌تواند منجر به افزایش سهم آن در جیره آبزیان کشور شود؛ علی‌الخصوص که در برخی موارد افزودن کنجاله پنبه به جیره آبزیان باعث بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدن شده است (Liu et al., 2021).

اسیدهای آلی با تاثیر بر اسیدیته خوراک از رشد عوامل میکروبی و قارچی جلوگیری می‌کنند و در نهایت ریسک تولید سموم ناشی از رشد عوامل باکتریایی و قارچی کاهش می‌یابد که به دنبال این موضوع کیفیت و بهره‌وری خوراک در سطح مطلوب حفظ خواهد شد (Ng and Koh, 2017). استفاده از این ترکیبات در جیره می‌تواند باعث بهبود فلور باکتریایی روده، توسعه ساختار روده، افزایش ایمنی روده ای و افزایش هضم و جذب مواد مغذی شود (Hoseini et al., 2022). افزودن اسیدهای آلی به جیره های مبتنی بر پروتئین گیاهی باعث افزایش عملکرد جیره، افزایش نرخ تثبیت فسفر در بدن ماهی و افزایش سلامت و ایمنی ماهی شده است (Lim et al., 2015). با این وجود، تا کنون اثر اسیدهای آلی در جیره‌های حاوی کنجاله پنبه دانه در ماهی بررسی نشده است. لذا در این تحقیق، اثر مخلوط اسیدهای آلی (اسید لاکتیک، اسید سیتریک و سوربات پتاسیم) بر عملکرد جیره غذایی مبتنی بر پروتئین گیاهی (کنجاله پنبه دانه یا کنجاله سویا)، نرخ تثبیت نیتروژن و فسفر در عضله ماهی و توجیه اقتصادی جیره در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انگشت قد بررسی شد.

چالش‌های متعددی روبرو بوده است. کنجاله سویا یک منبع پروتئینی معمول در فرموله کردن جیره غذایی آبزیان است زیرا ترکیب آن ثابت است و مقدار بسیاری از اسیدهای آمینه های آن برای ماهی مناسب است (Matani Bour et al., 2018). استفاده از اقلام غذایی در جیره آبزیان به موارد مختلفی علاوه بر کیفیت آنها بستگی دارد. مثلاً در دسترس بودن در کشور و سازگاری با استراتژی‌های کشاورزی و اقتصادی کشور از این موارد است. بخش زیادی از کنجاله سویای مورد نیاز کشور وارداتی بوده به طوری که در سال ۱۴۰۲ برای واردات کنجاله یا دانه سویا به کشور بیش از ۲/۵ میلیارد دلار ارز دولتی تخصیص داده شده است (https://tn.ai/3122660). قیمت کنجاله سویا در سال ۱۴۰۳ حدود ۲۰۰ هزار ریال در هر کیلوگرم بوده که با تبدیل آن به نرخ ارز غیر دولتی، قیمت هر کیلوگرم به بیش از ۴۰۰ هزار ریال می‌رسد. با توجه به میزان تولید قزل‌آلای کشور، سالانه حدود ۲۵۰ هزار تن خوراک قزل‌آلا در کشور تولید می‌شود که به طور متوسط ۲۵ درصد آن (معادل ۶۲۰۰۰ تن) را کنجاله سویا تشکیل می‌دهد. صنعت آبزی‌پروری می‌تواند با نگاه به منابع داخلی کشور، میزان وابستگی به واردات کنجاله سویا و خروج ارز را کاهش دهد.

یکی از محصولات داخلی که می‌تواند در جیره غذایی آبزیان استفاده شود، کنجاله پنبه دانه است. تولید سالانه پنبه دانه در کشور متغیر است و در سال ۱۴۰۳ حدود ۱۲۵ هزار تن می‌باشد (isna.ir/xdRqGN). در حال حاضر بخش زیادی از این محصول به صورت خام در پرورش دام سنگین مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، بخشی از این محصول برای روغن‌کشی استفاده می‌شود و سهم آن رو به افزایش است. کنجاله پنبه دانه بسته به نوع فرآیند روغن‌کشی می‌تواند بین ۲۰-۵۰ درصد پروتئین داشته باشد (Jobling, 2012). در حال حاضر بخش عمده کنجاله پنبه دانه کشور به روش استخراج با حلال روغن‌کشی می‌شود و کنجاله حاصل از آن دارای پوسته بوده و حدود ۲۵ درصد پروتئین و ۳۰ درصد فیبر دارد و به قیمت ۱۹۰ هزار ریال به فروش می‌رسد. ولی استخراج روغن کنجاله پنبه دانه به روش پرس کردن باعث کاهش قابل توجه مقدار فیبر و افزایش پروتئین آن خواهد شد، زیرا دانه ها قبل از پرس باید پوسته‌گیری شوند. به این ترتیب کاهش فیبر کنجاله به ۵ درصد باعث



## ۲ | مواد و روش‌ها

### تهیه کنجاله پنبه دانه مناسب جیره آبزیان

به منظور اجرای این پروژه، مقداری تخم پنبه کرکدار خریداری شد و با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ اقدام به کرک‌گیری آنها گردید. سپس دانه‌های کرک‌گیری شده در یک سبد با آب شیر شسته شدند تا اسید حذف گردد. پس از خشک شدن نسبی دانه‌ها در برابر باد پنکه در دمای اتاق (۶ ساعت)، پوسته‌گیری جزئی آنها توسط یه دستگاه مخلوط کن آشپزخانه انجام شد و پوسته‌های جدا شده توسط وزش باد از بقیه دانه‌ها جدا شدند. در مجموع

در این روش چیزی حدود ۲۰ درصد دانه‌ها پوسته‌گیری شدند. سپس مخلوط دانه‌های پوسته‌گیری شده و پوسته-گیری نشده توسط آسیاب آشپزخانه آرد شدند و برای اجرای پروژه استفاده شدند. قبل از انجام پروژه، ترکیب شیمیایی کنجاله پنبه دانه، کنجاله سویا، پودر گوشت کشتارگاه طیور و پودر ماهی کیلکا تعیین گردید (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی اقلام غذایی (درصد) مورد استفاده در این تحقیق

رطوبت	پروتئین خام	چربی خام	فیبر خام	خاکستر خام
۹/۱	۳۳/۲	۲۷/۲	۴/۱۳	۳/۵
-	۴۲/۱	-	-	-
-	۵۹/۱	۲۲/۹	-	-
-	۷۲/۷	۹/۶	-	-

### تهیه جیره‌های غذایی

اسید لاکتیک مایع (خلوص ۸۵ درصد)، اسید سیتریک بدون آب (خلوص ۹۹ درصد) و سوربات پتاسیم (خلوص ۹۹ درصد) با گرید غذایی از بازار داخل خریداری شدند که از کشور چین وارد شده بودند. در این تحقیق ۶ تیمار آزمایشی متشکل از ۶ جیره غذایی در نظر گرفته شد که سه جیره آن بدون کنجاله پنبه دانه و حاوی ۲۵ درصد کنجاله سویا و مقادیر صفر، ۰/۵ و ۱ درصد مخلوط اسیدهای آلی (مقدار مساوی از اسید لاکتیک، اسید سیتریک و سوربات پتاسیم) بوده و سه جیره دیگر حاوی

۱۵ درصد کنجاله پنبه دانه و مقادیر صفر، ۰/۵ و ۱ درصد مخلوط اسیدهای آلی بود (فاکتوریل  $2 \times 3$ ). مقدار کنجاله پنبه بر اساس رفرنس‌های موجود انتخاب شد که نشان می‌دهند جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد کنجاله پنبه دانه اثر معنی‌داری بر رشد ماهی قزل‌آلا ندارند ولی مقادیر بالاتر آن باعث کاهش رشد و قابلیت هضم می‌شوند (Cheng and Hardy, 2002). فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار WUFFDA انجام شد و در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- فرمولاسیون، ترکیب شیمیایی (درصد) و قیمت تمام شده جیره‌های مورد استفاده در تحقیق

جیره حاوی کنجاله پنبه دانه	جیره شاهد	قیمت هر کیلوگرم <sup>۱</sup>	
۲۳/۵	۲۳/۴	۱۸۰۰۰۰	آرد گندم
۱۲	۲۵	۳۵۰۰۰۰	آرد کنجاله سویا
۱۷/۳	۱۶/۴	۸۰۰۰۰۰	پودر ماهی کیلکا
۱۵	۰	۲۵۰۰۰۰	آرد کنجاله پنبه دانه
۲۵	۲۵	۲۰۰۰۰۰	پودر گوشت کشتارگاه طیور
۳/۵	۵/۵	۱۸۰۰۰۰۰	روغن کلزا
۱/۷	۲/۸	۱۸۰۰۰۰۰	روغن آفتابگردان
۱	۱	۱۰۰۰۰۰۰	مکمل معدنی
۰/۵	۰/۵	۱۰۰۰۰۰۰	مکمل ویتامینی
۰/۲۵	۰/۲۵	۱۷۹۰۰۰۰	متیونین
۱/۲۵	۰/۱۵	۹۱۰۰۰۰	لیزین
			ترکیب شیمیایی
	۹/۵		رطوبت
۴۱/۷	۴۱/۴		پروتئین خام
۱۷/۹	۱۷		چربی خام
۷/۰	۷/۷		خاکستر
۴/۰۰	۳/۲۰		فیبر خام
۰/۷۲	۰/۶۶		فسفر کل
۱۶۶۰	-		گوسپول کل (میلی گرم در کیلوگرم)
۱۲۱	-		گوسپول آزاد (میلی گرم در کیلوگرم)
۴۳۱۵۵۰	۴۹۳۵۶		قیمت تمام شده (ریال)

<sup>۱</sup> قیمت‌ها مربوط به زمان خریداری نهاده‌ها است (آذر ۱۴۰۲)

مخلوط مواد جیره اضافه شد (مقدار صفر، ۵ و ۱۰ میلی لیتر از مقدار آب ذکر شده در بالا کسر و به جای آن مخلوط اسیدهای آلی افزوده شد). خمیر حاصله توسط چرخ گوشت با دای ۳ میلی متر به صورت رشته‌ای درآمد و روی ورق‌های روزنامه پهن شد. برای خشک کردن رشته‌ها، از وزش باد پنکه به مدت ۲۴-۴۸ ساعت استفاده شد. سپس رشته‌های خشک شده در اندازه‌های مناسب خرد شدند تا پلت‌های غذایی تهیه شوند. پروفایل اسید آمینه (جدول ۳) و پروفایل اسید چرب (جدول ۴) جیره-های غذایی پیش از شروع آزمایش تعیین گردید.

به منظور تولید جیره‌های غذایی، ابتدا اقلام جیره با الک یک میلی متری الک شدند تا مواد درشت و زائد از آنها خارج شود. سپس، پودر ماهی، پودر گوشت، آرد گندم، آرد کنجاله سویا و کنجاله پنبه دانه به مقدار لازم توزین شده و در یک تشت با هم به خوبی مخلوط شدند. در ادامه روغن کلزا و آفتابگردان به میزان مناسب توزین شده و به مخلوط قبلی اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه به خوبی مخلوط شدند. در انتها نیز سایر مواد جیره توزین شده و در ۳۵۰ میلی لیتر آب حل شده و به یک کیلوگرم مخلوط قبلی اضافه و به خوبی هم زده شدند. مخلوط اسیدهای آلی نیز در این مرحله با آب جایگزین و به

آنالیز ترکیب شیمیایی جیره‌ها به روش (AOAC, 2005) انجام شد. به این منظور، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند تا مقدار رطوبت به دست آید. برای اندازه‌گیری پروتئین نمونه‌ها از روش کلدال و محاسبه مقدار نیتروژن استفاده شد. مقدار نیتروژن به‌دست آمده در ضریب ۶/۲۵ ضرب شد تا مقدار پروتئین

جدول ۳- پروفیل اسیدهای آمینه جیره‌های (درصد جیره) مورد استفاده

جیره حاوی کنجاله پنبه دانه	جیره شاهد	
۲/۹	۲/۸	آرزینین
۲/۸	۲/۸	گلاسیسین
۲	۲/۱	سرین
۱	۱	هیستیدین
۱/۵	۱/۶	ایزولوسین
۲/۲	۲/۴	لوسین
۲/۵	۲/۵	لیزین
۱	۱	متیونین
۰/۷۶	۰/۵۲	سیستئین
۱/۷	۱/۷	فنیل آلانین
۰/۹۴	۱/۱	تیروزین
۱/۴	۱/۵	ترئونین
۰/۴۶	۰/۴۸	تریپتوفان
۱/۹	۱/۹	والین

جدول ۴- پروفیل اسیدهای چرب (درصد از روغن جیره) جیره‌های مورد استفاده

جیره حاوی کنجاله پنبه دانه	جیره شاهد	
۰/۸۶	۰/۶۷	C14:0
۰/۰۷	۰/۱۲	C14:1n5
۲۱/۲	۱۹/۹	C16:0
۲/۴	۲/۵	C16:1n7
۵/۹	۶/۸	C18:0
۳۱	۳۴	C18:1n9
۰	۱/۵	C18:1n7
۳۲	۲۶/۷	C18:2n6cis
۱/۶	۲/۴	C18:3n3
۰/۴۲	۰/۴۸	C20:0
۰/۵۶	۰/۷۷	C20:1n9
۰/۱۱	۰/۱۶	C20:2n6
۰/۴۲	۰/۴۹	C20:4n6
۰/۰۴	۰	C20:3n3
۰/۶۳	۰/۶۵	C20:5n3
۰/۲۴	۰/۳۳	C22:0
۰/۰۹	۰/۳۱	C22:1n9
۲/۳	۲/۴	C22:6n3
۰/۲۱	۰/۵۰	C24:0
۰	۰	C24:1n9
۲۸/۸	۲۶/۷	مجموع اشباع
۳۴/۱	۳۹/۲	مجموع تک غیر اشباع
۳۲/۵	۲۷/۴	مجموع n-6
۴/۶	۵/۵	مجموع n-3
۰/۷۸	۰/۸۲	نسبت اشباع:غیر اشباع چندگانه

شد (Nagul *et al.*, 2015).

برای ارزیابی عملکرد اقتصادی جیره‌های غذایی از شاخص-های تولید ماهی در واحد حجم آب و هزینه تمام شده خوراک استفاده شد:

تولید ماهی در واحد حجم (کیلوگرم در متر مکعب) = بیومس نهایی آکواریوم ÷ حجم آب آکواریوم  
 هزینه تمام شده خوراک (ریال به ازای هر کیلوگرم ماهی تولید شده) = (قیمت تمام شده جیره × ضریب تبدیل غذایی جیره) ÷ بیومس تولید شده

داده‌ها در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. به این منظور ابتدا پراکنش نرمال و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون‌های Shapiro-Wilk و Levene تایید شد. سپس از آزمون two-way ANOVA و Duncan برای بررسی اثر استفاده از کنجاله پنبه دانه و اسیدهای آلی در جیره استفاده شد. بررسی اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) انجام و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

### ۳ | نتایج

افزودن کنجاله پنبه دانه و اسیدهای آلی به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر مقدار مصرف خوراک، وزن نهایی و بقاء ماهی و میزان تولید ماهی در واحد حجم آب و هزینه تمام شده خوراک نداشت (جدول ۵). نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن با افزودن کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی به طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای کنجاله سویا کاهش یافت ( $p = 0.012$ )؛ به ترتیب ۳/۹ و ۶/۸ درصد). ضریب تبدیل غذایی با افزودن کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p = 0.012$ )؛  $p = 0.001$  در برابر ۱/۰۵). افزودن کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی اثر معنی‌داری بر مقدار فسفر و نیتروژن عضله ماهی نداشت (شکل ۳؛  $p > 0.05$ ). افزودن اسید آلی به جیره غذایی باعث افزایش مقدار فسفر عضله ماهی شد ( $p = 0.012$ ) ولی اثر معنی-داری بر مقدار نیتروژن عضله نداشت (شکل ۱؛  $p > 0.05$ ).

تصفیه و گردش آب (شامل فیلتر فیزیکی، بستر باکتریایی و لامپ یو وی) طراحی شد به طوریکه میزان تعویض آب روزانه ۳۰ درصد حجم آکواریوم‌ها بود. شستشوی فیلترهای نمدی آکواریوم‌ها و سیفون مواد زائد کف آکواریوم‌ها به صورت روزانه می‌شد. نظافت سطوح داخلی آکواریوم‌ها هفته-ای یک بار انجام می‌شد. ماهی‌ها به مدت ۸ هفته با جیره-های غذایی مختلف تغذیه شدند و نرخ غذادهی روزانه ۳-۴ درصد بود که در دو وعده در اختیار ماهی‌ها قرار می‌گرفت. در طول دوره، دما ( $12/3 \pm 0/88$  درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول ( $7/33 \pm 0/65$  میلی‌گرم در لیتر)، pH ( $7/89 \pm 0/28$ )، آمونیاک غیر یونیزه ( $0/01 \pm 0/23$  میلی‌گرم در لیتر) و نیترات ( $1/77 \pm 15/1$  میلی‌گرم در لیتر) آب با استفاده از دستگاه (Hach (HQ40D, Loveland, Colorado, USA) & Palintest (Model 7100, Palintest House, Kingsway, Team Valley, Gateshead, Tyne & Wear, NE11 0NS, United Kingdom) اندازه‌گیری شدند. در انتهای دوره پرورش سه ماهی از هر آکواریوم صید و در محلول میخک (۳ گرم در لیتر) بیهوش شدند. بخشی از عضله پشتی ماهی جدا شد و تا زمان اندازه‌گیری میزان فسفر و نیتروژن در فریزر ۲۰-درجه سانتی‌گراد منجمد گردید.

در پایان دوره شاخص‌های رشد و کارایی جیره بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

درصد افزایش وزن = (افزایش وزن در طول دوره/وزن اولیه) × ۱۰۰

نرخ رشد ویژه =  $100 \times$  (لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن اولیه) / تعداد روزهای پرورش

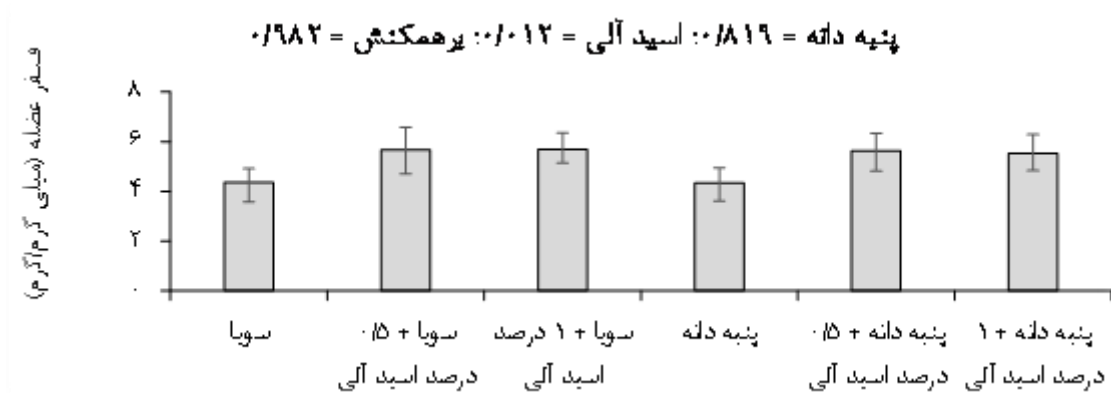
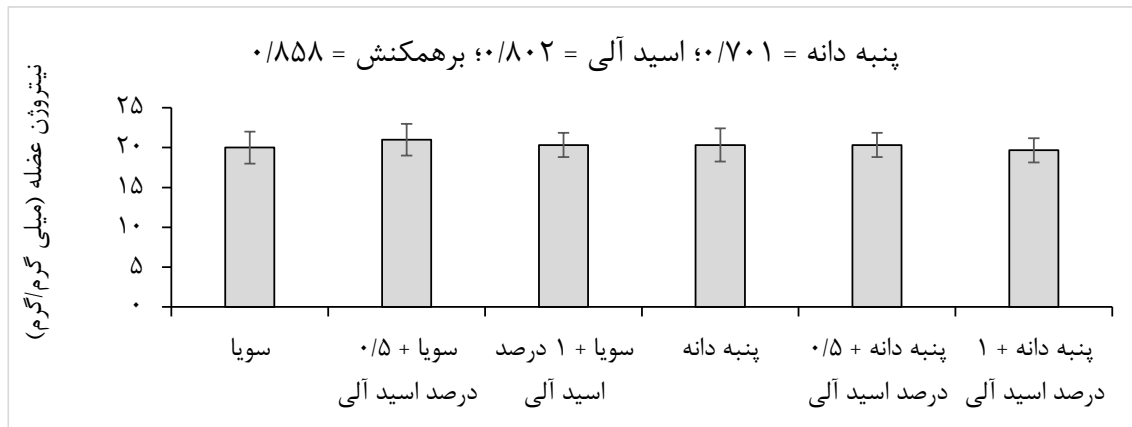
ضریب تبدیل غذا = غذای خورده شده در طول دوره / افزایش وزن در طول دوره

اندازه‌گیری نیتروژن در نمونه‌های عضله ماهی با استفاده از روش کلدال انجام گردید. فسفر نمونه‌ها نیز به روش مولیبدنیوم بلو و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil CE2041, Italy) در طول موج ۶۹۰ نانومتر اندازه‌گیری

جدول ۱۰- شاخص‌های رشد، کارایی جیره، بقاء و تولید ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پس از ۸ هفته پرورش با جیره های غذایی مختلف

برهمکنش	تیمارهای آزمایشی								p-value
	سویا	سویا + اسید آلی (۰/۵)	سویا + اسید آلی (۱)	پنبه دانه	پنبه دانه + اسید آلی (۰/۵)	پنبه دانه + اسید آلی (۱)	پنبه دانه	پنبه دانه	
وزن اولیه (گرم)	۱۴/۲ ± ۰/۳۷	۱۳/۸ ± ۰/۰۸	۱۴/۰ ± ۰/۴۸	۱۴/۰ ± ۰/۳۵	۱۴/۰ ± ۰/۰۸	۱۴/۴ ± ۰/۰۸	۱۴/۰ ± ۰/۵۳	۱۴/۰ ± ۰/۵۳	۰/۲۵۱
وزن نهایی (گرم)	۴۵/۸ ± ۱/۴۶	۴۶/۰ ± ۲/۴۵	۴۸/۰ ± ۲/۹۸	۴۴/۶ ± ۲/۲۲	۴۵/۵ ± ۰/۷۸	۴۴/۴ ± ۲/۴۴	۴۴/۴ ± ۲/۴۴	۴۴/۴ ± ۲/۴۴	۰/۵۵۵
تراکم اولیه (گرم در لیتر)	۵/۳۱ ± ۰/۱۴	۵/۱۸ ± ۰/۰۳	۵/۲۵ ± ۰/۱۸	۵/۲۵ ± ۰/۱۳	۵/۳۸ ± ۰/۰۳	۵/۲۳ ± ۰/۲۰	۵/۲۳ ± ۰/۲۰	۵/۲۳ ± ۰/۲۰	۰/۲۵۱
تراکم نهایی (گرم در لیتر)	۱۷/۲ ± ۰/۵۵	۱۷/۲ ± ۰/۹۲	۱۷/۹ ± ۱/۱۲	۱۶/۷ ± ۱/۲۱	۱۷/۱ ± ۰/۲۹	۱۶/۷ ± ۰/۹۱	۱۶/۷ ± ۰/۹۱	۱۶/۷ ± ۰/۹۱	۰/۵۵۵
غذای مصرفی (گرم/آکواریوم)	۴۸۸ ± ۲۵/۶	۴۷۹ ± ۱۷/۰	۴۹۶ ± ۱۶/۷	۴۸۰ ± ۲۷/۳	۴۹۲ ± ۳/۹۰	۴۸۲ ± ۲۳/۴	۴۸۲ ± ۲۳/۴	۴۸۲ ± ۲۳/۴	۰/۵۳۱
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۱۰ ± ۰/۰۱	۲/۱۴ ± ۰/۰۹	۲/۱۹ ± ۰/۰۵	۲/۱۰ ± ۰/۰۹	۲/۰۶ ± ۰/۰۲	۲/۰۷ ± ۰/۰۳	۲/۰۷ ± ۰/۰۳	۲/۰۷ ± ۰/۰۳	۰/۳۹۴
افزایش وزن (درصد)	۲۲۴ ± ۲/۰۵	۲۳۳ ± ۱۶/۲	۲۴۱ ± ۱۰/۲	۲۱۸ ± ۱۵/۲	۲۱۷ ± ۳/۸۰	۲۱۸ ± ۶/۱۶	۲۱۸ ± ۶/۱۶	۲۱۸ ± ۶/۱۶	۰/۳۶۹
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۳ ± ۰/۰۲	۰/۹۹ ± ۰/۰۴	۰/۹۸ ± ۰/۰۴	۱/۰۵ ± ۰/۰۴	۱/۰۵ ± ۰/۰۲	۱/۰۶ ± ۰/۰۲	۱/۰۶ ± ۰/۰۲	۱/۰۶ ± ۰/۰۲	۰/۳۵۷
بقاء (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	-
هزینه تمام شده خوراک	۷۳۴ ± ۱/۰۹	۷۱۴ ± ۶/۵۶	۶۷۶ ± ۶/۹۹	۶۸۰ ± ۷/۸۱	۶۶۵ ± ۲/۱۷	۶۸۵ ± ۴/۷۲	۶۸۵ ± ۴/۷۲	۶۸۵ ± ۴/۷۲	۰/۵۴۶

(هزار ریال به ازای هر کیلوگرم ماهی تولید شده)



شکل ۱- محتوای نیتروژن و فسفر در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پس از ۸ هفته پرورش با جیره های غذایی مختلف

## ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

تغذیه شده بالاتر بوده و معادل تیماری است که با جیره فاقد کنجاله پنبه دانه و مبتنی بر پودر ماهی تغذیه شده است (Lee et al., 2002). بررسی پارامترهای دیگر در آن تحقیق نشان داد که رشد ماهی و کارایی جیره غذایی بهتر در تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوسپیپول با افزایش قابلیت هضم پروتئین جیره و افزایش کارایی پروتئین جیره همراه بوده است و ارتباطی با نرخ تثبیت فسفر و آهن در بدن ماهی نداشته است. همچنین، مقدار گوسپیپول تثبیت شده در بدن ماهی‌ها در تیماری که رشد و کارایی جیره بالاتری داشت، بالاتر بوده است که مشخصاً نشان می‌دهد مقدار گوسپیپول جیره دلیل تفاوت مشاهده شده در شاخص‌های رشد کارایی جیره نبوده است. در تحقیقی که توسط آقای و همکاران (Lashto Aghaei et al., 2013) انجام شد مشخص شده است قابلیت هضم ماده خشک و چربی کنجاله پنبه دانه (رقم بدون گوسپیپول) به طور معنی‌داری کمتر از کنجاله سویا است؛ اگرچه حتی جایگزینی کامل کنجاله سویا با کنجاله پنبه دانه اثر معنی‌داری روی رشد ماهی و کارایی جیره نداشت. لذا کاهش رشد مشاهده شده در تیمارهای کنجاله پنبه دانه تحقیق حاضر می‌تواند به دلیل کاهش قابلیت هضم مواد مغذی جیره باشد که نیاز به بررسی بیشتر دارد. همچنین، اثر خصوصیات فیزیکی مدفوع ماهی‌ها بر کیفیت آب (مانند بار میکروبی و مقدار مواد آلی معلق و محلول آب) نیز باید مد نظر قرار گیرد و در تحقیقات آتی بررسی شوند.

فیتات یک کمپلکس ۶ گانه فسفر است که نقش مهمی به عنوان ذخیره فسفر در گیاهان دارد. این ترکیب برای ماهی‌ها غیر قابل هضم است زیرا ماهی‌ها قابلیت تولید آنزیم فیتاز را ندارند و فیتات موجود در جیره بدون جذب از روده بزرگ دفع می‌شود. فیتات تمایل قوی به عناصر ریز مغذی مانند کلسیم، آهن و روی دارد و جذب آن‌ها را از روده کوچک کاهش می‌دهد. هنگامی که آهن و روی با فیتات پیوند می‌خورند، رسوبات نامحلولی تشکیل می‌دهند و در روده‌ها به‌طور قابل توجهی کمتر جذب می‌شوند. وجود فیتات در جیره‌های غذایی ماهی می‌تواند منجر به بروز علائم کمبود فسفر، کلسیم آهن و روی شود. ۶۳ و ۸۲ درصد فسفر کل موجود در کنجاله پنبه دانه و سویا، به شکل فیتات است و بر این اساس کنجاله

کنجاله پنبه دانه یک منبع پروتئینی قابل دسترس برای فرمولاسیون جیره غذایی آبزیان است؛ با این وجود در حال حاضر سهم کمی در خوراک آبزیان دارد (استعلام از شرکت فرادانه با بیش از ۷۰ هزار تن تولید خوراک قزل‌آلا در سال، نشان داد که اصلاً از کنجاله تخم پنبه در جیره غذایی قزل‌آلا استفاده نمی‌کنند). اگرچه مطالعات پیشین نشان داده‌اند که کنجاله پنبه دانه می‌تواند در مقادیر زیادی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن ۵۰ گرم (Luo et al., 2006) و یا پیش مولدین (Lee et al., 2006) استفاده شود، ولی مقدار استفاده از آن در وزن‌های پایین کمتر بوده است و در واقع مقدار مناسب چیزی حدود ۱۰-۱۵ درصد جیره غذایی بوده است (Lee et al., 2002; Cheng and Hardy, 2002).

اگرچه مهم‌ترین مشکل استفاده از کنجاله پنبه دانه به حضور گوسپیپول در ترکیب آن نسبت داده می‌شود، نتایج این تحقیق و مطالعات پیشین نشان می‌دهند که موارد دیگری نیز باید مد نظر قرار گیرند. مقدار گوسپیپول آزاد موجود در جیره غذایی حاوی کنجاله پنبه دانه در این تحقیق معادل ۱۲۱ میلی گرم در کیلوگرم بود که برابر با میزانی است که در جیره حاوی ۱۰ درصد کنجاله پنبه دانه توسط چنگ و هاردی (Cheng and Hardy, 2002) گزارش شد و اثر معنی‌داری در رشد و کارایی جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از وزن ۱۱ گرم تا ۵۰ گرم نداشت. با این حال افزودن ۱۵ درصد کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی (معادل ۱۶۵ میلی گرم گوسپیپول آزاد در کیلوگرم جیره) در مطالعه چنگ و هاردی (Cheng and Hardy, 2002) باعث کاهش رشد و کارایی جیره غذایی شد که با کاهش معنی‌دار نرخ تثبیت نیتروژن در بدن ماهی همراه بوده است. همچنین، تحقیق انجام شده روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با وزن اولیه ۱ گرم نشان داد که افزودن ۱۵ درصد کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی بسته به منشاء پنبه دانه اثر متفاوتی بر رشد ماهی و کارایی جیره غذایی دارد ولی ارتباط مستقیمی با مقدار گوسپیپول آن ندارد. در آن تحقیق مشخص شد که رشد ماهی و کارایی جیره غذایی در تیماری با جیره غذایی حاوی ۱۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوسپیپول کل تغذیه شده از تیماری که با جیره غذایی حاوی ۱۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوسپیپول کل

meal based diets on growth performance and proximate composition of *Labeo rohita* fingerlings. Braz J Biol, 83: e247791.

AOAC. 2005. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

Cheng Z.J., Hardy R.W. 2002. Apparent digestibility coefficients and nutritional value of cottonseed meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 212: 361-372.

Cheng Z.J., Hardy R.W., Verlhac V., Gabaudan J. 2004. Effects of microbial phytase supplementation and dosage on apparent digestibility coefficients of nutrients and dry matter in soybean product-based diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J World. Aquacult Soci, 35(1): 1-15.

Fu S., Qian K., Liu H., Song F., Ye J. 2022. Effects of fish meal replacement with low-gossypol cottonseed meal on the intestinal barrier of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). Aquacult Res, 53: 285-299.

Hoseini S.M., Rajabiesterabadi H., Abbasi M., Khosraviani K., Hoseinifar S.H., Van Doan H. 2022. Modulation of humoral immunological and antioxidant responses and gut bacterial community and gene expression in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by dietary lactic acid supplementation. Fish. Shellfish. Immunol, 125: 26-34.

Jobling M. 2012. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp.

Khajepour F., Hosseini S.A. 2012. Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in Beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. Anim Feed Sci Technol, 171: 68-73.

Lashto Aghaei G., Yosefi S., Sepahdari A., Hossieni M.R., Haghghi M., Salehi H., Farzanfar A. 2013. Possibility study on using an Iranian cottonseed meal variety instead of soybean meal in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. Final report of research project. Iranian Fisheries Science Research Institute

Lee K.J., Dabrowski K., Blom J.H., Bai S.C., Stromberg P.C. 2002. A mixture of cottonseed meal, soybean meal and animal byproduct mixture as a fish meal substitute: growth and tissue gossypol enantiomer in juvenile rainbow

پنبه دانه حاوی ۵/۳ و کنجاله سویا حاوی ۷/۸ گرم در کیلوگرم فیتات هستند (Riche and Brown, 1996).

همچنین، ضریب قابلیت هضم ظاهری فسفر کنجاله پنبه دانه و کنجاله سویا برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۱۰۰-۱۳۰ گرمی) به ترتیب ۵۵ (Cheng and Hardy, 2002) و ۴۰ (Cheng and Hardy, 2004) درصد گزارش شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۱۵ درصد کنجاله پنبه دانه به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثری بر محتوای فسفر عضله ماهی نداشت که می‌تواند نشانه‌ای از عدم تغییر قابلیت هضم فسفر جیره باشد. با این حال افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی منجر به افزایش فسفر عضله ماهی شد که احتمالاً به دلیل افزایش هضم فسفر جیره در نتیجه کاهش pH دستگاه گوارش یا تغییر فلور میکروبی و افزایش فراهمی رستی فسفر توسط میکروبه‌ها باشد. در راستای این نتایج، افزودن اسید سیتریک به جیره غذایی فیل ماهی باعث افزایش مقدار فسفر در عضله ماهی شد (Khajepour and Hosseini, 2012). افزودن اسید سیتریک و اسید فرمیک به جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش قابلیت هضم فسفر و تثبیت آن در بدن ماهی شده است (Vielma et al., 1997; Sugiura et al., 1998).

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که کنجاله پنبه دانه می‌تواند به میزان ۱۵ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شود. این مقدار کنجاله پنبه دانه اگرچه باعث کاهش معنی‌دار رشد و افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی می‌شود، ولی از نظر اقتصادی اثر معنی‌داری بر تولید ماهی قزل‌آلا ندارد. همچنین، افزودن اسیدهای آلی در سطح ۰/۵ تا ۱ درصد به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا اگرچه اثر مثبتی بر رشد، کارایی و قیمت تمام شده خوراک ندارد، ولی باعث افزایش فسفر عضله ماهی می‌شوند.

## ۶ | ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

## REFERENCES

Ahmad B., Hussain S.M., Ali S., Arsalan M., Tabassum S., Sharif, A. 2021. Efficacy of acidified phytase supplemented cottonseed

- orthophosphate revisited: Opening the black box. *Anal Chim Act*, 890: 60-82.
- Ng W.K., Koh C.B. 2017. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Rev Aquacult*, 9: 342-368.
- Riche M., Brown P.B. 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 142: 269-282.
- Shen J., Liu H., Tan B., Dong X., Yang Q., Chi S., Zhang S. 2020. Effects of replacement of fishmeal with cottonseed protein concentrate on the growth, intestinal microflora, haematological and antioxidant indices of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Aquacult Nutr*, 26: 1119-1130.
- Sintayehu A., Mathies E., Meyer-Burgdorff K.H., Rosenow H., Günther K.D. 1996. Apparent digestibilities and growth experiments with tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed soybean meal, cottonseed meal and sunflower seed meal. *J Appl Ichthyol*, 12: 125-130.
- Sugiura S.H., Dong F.M., Hardy R.W. 1998. Effects of dietary supplements on the availability of minerals in fish meal; preliminary observations. *Aquaculture*, 160: 283-303.
- Vielma J., Lall S.P. 1997. Dietary formic acid enhances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult Nutr*, 3(4): 265-268.
- Ye G., Dong X., Yang Q., Chi S., Liu H., Zhang H., Zhang S. 2020. Low-gossypol cottonseed protein concentrate used as a replacement of fish meal for juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂): Effects on growth performance, immune responses and intestinal microbiota. *Aquaculture*, 524: 735-744.
- trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Anim Physiol Anim Nutr*, 86: 201-213.
- Lee K.J., Rinchard J., Dabrowski K., Babiak I., Ottobre J.S., Christensen J.E. 2006. Long-term effects of dietary cottonseed meal on growth and reproductive performance of rainbow trout: three-year study. *Anim Feed Sci Technol*, 126: 93-106.
- Lim S.J., Lee K.J. 2009. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 290: 283-289.
- Lim, C., Lückstädt, C., Webster, C.D., Kesius, P. 2015. Organic acids and their salts. In: *Dietary nutrients, additives, and fish health*, Wiley-Blackwell, NJ, USA. 305-319.
- Liu H., Zhou M., Dong X., Tan B., Du T., Zhang S., Liu, H. 2021. Liver immune parameters, complement pathway, inflammatory factor and TOR genes expression of silver sillago, *Sillago sihama*, fed with diets replacing fish meal with low-gossypol cottonseed meal. *Aquacult Nutr*, 27: 1934-1945.
- Luo L., Xue M., Wu X., Cai X., Cao H., Liang Y. 2006. Partial or total replacement of fishmeal by solvent-extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult Nutr*, 12: 418-424.
- Matani Bour H.A., Esmaeili M., Abedian Kenari A. 2018. Growth performance, muscle and liver composition, blood traits, digestibility and gut bacteria of beluga (*Huso huso*) juvenile fed different levels of soybean meal and lactic acid. *Aquacult Nutr*, 24: 1361-1368.
- Nagul, E.A., McKelvie, I.D., Worsfold, P., Kolev, S.D. 2015. The molybdenum blue reaction for the determination of

## نحوه استناد به مقاله:

حسینی س.م.، کشیری ح.، آقای مقدم ع.، قروی ب. اثر جایگزینی نسبی کنجاله سویا با کنجاله پنبه دانه و افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تثبیت فسفر و نیتروژن در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۳. ۱۲(۲): ۶۸-۷۸.

Hoseini S.M., Kashiri H., Aghaeimogaddam A., Behrouz Gh. The effect of partial replacement of soybean meal with cottonseed meal and addition of organic acids to the diet on growth indicators, phosphorus and nitrogen retention in rainbow trout muscle. *Journal of Applied Ichthyological Research*, University of Gonbad Kavous. 2024, 12(2): 68-78.

## The effect of partial replacement of soybean meal with cottonseed meal and addition of organic acids to the diet on growth indicators, phosphorus and nitrogen retention in rainbow trout muscle

Hoseini S.M<sup>1</sup>., Kashiri H<sup>2</sup>., Aghaeimogaddam A<sup>1</sup>., Behrouz Gh<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.

<sup>2</sup> Cotton Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.

<b>Type:</b> Original Research Paper	<b>Abstract</b> The aim of this study was to investigate the effect of adding cottonseed meal and a mixture of organic acids to the diet on growth parameters, economic justification, and nitrogen and phosphorus retentions in rainbow trout. For this purpose, six triplicate treatments consisting of six diets were considered in a 3 × 2 factorial design, where two levels of cottonseed meal (0% and 15%) and three levels of organic acid mixture (a mixture of lactic acid, citric acid, and potassium sorbate in equal proportions) at 0%, 0.5%, and 1% were added to the diets. A total of 270 rainbow trout with an average weight of 14.0 ± 0.35 g were stocked in 18 aquaria containing 40 L of water, with a density of 15 fish per aquarium. The above diets were offered to the fish for 8 weeks at a daily rate of 3 to 4 % of biomass. The aquariums were equipped with a semi-closed system including aeration, physical filter, biological filter, and UV filter, with a daily water exchange of 30% during the experimental period. After the feeding trial, sampling of the fish muscle was conducted. The results of this study showed that adding cottonseed meal to the diet had no significant effect on final weight, fish production per unit volume of water, or feed cost; however, it significantly reduced the growth rate and increased feed conversion ratio. Additionally, adding organic acids to the diet had no significant effect on fish growth parameters. The addition of cottonseed meal to the diet did not significantly affect the phosphorus and nitrogen content in the fish muscle; however, adding organic acids to the diet significantly increased the phosphorus content in the fish muscle. Overall, the results indicated that cottonseed meal could be used at a level of 15% in rainbow trout diet. Although this amount of cottonseed meal significantly reduces growth and increases feed conversion ratio, it does not have a significant economic impact on trout production. Furthermore, adding organic acids at levels of 0.5% to 1% to the trout diet, while having no positive effect on growth, efficiency, or feed cost, does increase the phosphorus content in the fish muscle.  <b>Keywords:</b> Diet, cottonseed meal, economic efficiency, rainbow trout.
<b>Paper History:</b> Received: 22-08-2024 Accepted: 21-10- 2024	
<b>Corresponding author:</b>  Hoseini S.M. Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.  <b>Email:</b> seyyedmorteza.hoseini@gmail.com	