

## اثر بتافین و سیلی مارین بر شاخص‌های خونی، سرمی و رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد بابایی<sup>۱</sup>، مهران جواهری بابلی<sup>۲\*</sup>، مجتبی علیشاهی<sup>۳</sup> و مهدی شمسایی<sup>۴</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، پست الکترونیک: mehranjavaheri@gmail.com

۳- دانشیار، گروه دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۴- استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۱

### چکیده

در پرورش ماهی قزل‌آلا تغذیه از اهمیت خاصی برخوردار است. در این راستا استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود رشد و سلامت و کارایی کبد مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه حاضر اثر مقایسه‌ای پودر سیلی مارین و بتافین بر رشد، بقا، شاخص‌های خونی و آنزیم‌های ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بتافین به‌طور معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد شامل ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازدهی پروتئین، افزایش وزن روزانه و درصد بازماندگی گردید. در میان شاخص‌های خونی فقط گلبول‌های سفید در هر دو تیمار بتافین و سیلی مارین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند، اما بقیه شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری میان تیمارها نداشتند. آنزیم‌های سرمی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در دو تیمار سیلی مارین و بتافین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند. مطالعه نشان داد که بتافین هم در بهبود شاخص‌های رشد و هم در بهبود برخی شاخص‌های کبدی مؤثر بوده است، ولی سیلی مارین تأثیر چندانی در شاخص‌های رشد نداشته ولی در بهبود برخی شاخص‌های کبدی مؤثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: بتافین، سیلی مارین، قزل‌آلای رنگین‌کمان، آنزیم‌های سرمی، شاخص‌های خونی.

### مقدمه

توسعه کمی این صنعت در کشور، این صنعت هنوز از بسیاری جهات با چالش روبروست که میزان پایین نرخ رشد، بالا بودن ضریب تبدیل غذایی، کم بودن میزان مقاومت ماهی نسبت به بیماری، تلفات بالای دوره پرورش، کیفیت لاشه (بالا بودن نسبت چربی به پروتئین) و ... از آن جمله‌اند که فاکتورهای تغذیه‌ای و به‌ویژه کیفیت خوراک بیشترین تأثیر را در این بین دارند. از این‌رو بکار بردن

در پرورش ماهی قزل‌آلا نیز نظیر سایر گونه‌های آبزیان، امر تغذیه دارای اهمیت خاصی است. اهمیت غذا و تغذیه در پرورش ماهی قزل‌آلا از دو جنبه تأمین نیازهای کامل غذایی برای رشد مناسب و سریع و نیز ایجاد وزن مطلوب در پایان دوره پرورش برای افزایش بازده اقتصادی پرورش این ماهی مطرح می‌باشد (Harikrishnan et al., 2003). با وجود

(Milk thistle) با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی از خانواده Asteraceae است (Pepping, 1999). سیلی مارین خود مجموعه‌ای از مواد شامل: silychristin, silybinT و silydianin می‌باشد (Fraschini et al., 2002). این دو ماده در بهبود کارایی کبد نقش مؤثری دارند (Loguercio et al., 2007؛ Ergun, 2003؛ Schönfeld et al., 1997)، از طرفی بیشتر کارگاه‌های پرورشی به علت عدم تعادل مناسب جیره (به ویژه تعادل هیدرات‌های کربن و پروتئین‌ها و نیز استفاده از چربی‌های اشباع) با مشکلات کبدی در ماهی پرورشی خود روبرو هستند که به طور مستقیم و غیرمستقیم فاکتورهای رشد ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از طرفی بنایی و همکاران (۱۳۸۹) اثر عصاره خوراکی سیلی مارین بر کنترل و کاهش سطح گلوکز و کلسترول خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را مثبت ارزیابی کردند. علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که عصاره خارمریم تغییر معنی‌داری در تیترا پادتن ضد آنتروموناس هیدروفیلا در ماهی قزل‌آلا تغذیه شده با خوراک حاوی عصاره خارمریم نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. همچنین مدنی و همکاران (۱۳۸۵) گزارش کردند که عصاره پلی‌فنلی گیاه خارمریم سبب کاهش میزان فعالیت آمینو ترانسفرازهای سرمی در تغذیه موش صحرایی گردید. با توجه به وجود چنین گزارش‌هایی از تأثیر مثبت این دو ماده بر رشد و مقاومت حیوانات خونگرم و گزارش‌های معدود در این زمینه در ماهیان، بررسی تأثیر این دو ماده در بهبود شاخص‌های رشد و آرزیم‌های کبدی ماهی قزل‌آلا هدف این تحقیق قرار گرفت. از طرفی بیشتر تحقیقات انجام شده بر نقش خصوصیات مشتقات گیاهی در تحریک سیستم ایمنی ماهی‌ها در تعامل با عوامل بیماری‌زای باکتریایی، انگلی و قارچی متمرکز بوده‌است و کمتر به تأثیر این گیاهان بر سلامت ماهی‌ها توجه شده‌است. در حالی‌که پیش از تجویز تأثیر این مشتقات گیاهی، معمولاً تأثیر آنها بر سلامت اغلب جانوران آزمایشگاهی مورد مطالعه و بررسی قرار می‌گیرد. بنابراین اطلاعات و دانش ما درباره استفاده از گیاهان دارویی در صنعت آبی‌پروری بسیار محدود می‌باشد و تنها

روشهایی که بتواند به بهبود کیفیت پرورش این ماهی در کشور کمک نماید، ضروری به نظر می‌رسد (Higgs et al., 1995).

در طی سالهای اخیر تلاشهای زیادی برای استفاده از داروهای گیاهی در صنعت آبی‌پروری انجام شده که در مواردی نیز موفقیت‌آمیز بوده‌است، اما در این تحقیقات کمتر به تأثیر این گیاهان دارویی بر سلامت ماهی‌ها توجه شده‌است.

با توجه به تکامل بیشتر ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی و جایگاه ویژه محرک‌های ایمنی در تحریک ایمنی غیراختصاصی، استفاده از محرک‌های ایمنی در آبزیان ارجحیت بیشتری نسبت به حیوانات خونگرم دارد (Swain et al., 2006؛ Zapata et al., 2006). در بین محرک‌های ایمنی مختلف، محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی بیشتر در دسترس بوده و خطر کمتری برای محیط و جانور دارند و از قیمت پایین‌تری نیز برخوردارند (Raa, 1996). از این رو به نظر می‌رسد استفاده از محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و حتی واکسیناسیون در پیشگیری و کنترل بیماری‌ها در ماهی باشد (Sakai, 1999؛ Rao et al., 2004؛ Jain & Wu, 2004).

بتافین انیدرات جزء فعال بتافین عصاره طبیعی گیاه چغندرقد است. بتافین با نام علمی بتائین (Betaine) یا تری‌متیل‌گلیسین ماده‌ای ضد درد طبیعی و محلول در آب می‌باشد. این ماده به شکل بلورهای قهوه‌ای روشن، غیرسمی و از نظر شیمیایی یک مولکول با ثبات است (افشار مازندران، ۱۳۸۱). بتافین به دلیل ویژگی‌هایی همانند خاصیت متیل‌دهندگی، ترمیم آسیب‌های کبدی و جلوگیری از تجمع چربی در کبد، تنظیم‌کننده فشار اسمزی و تسهیل متابولیسم چربی‌ها و محرک رشد (Ozori, 2001)؛ (Rumsey, 1991) و نیز سیلی مارین به دلیل خواصی مانند پیشگیری و ترمیم سیروزهای کبدی، تسهیل متابولیسم چربی‌ها و محرک رشد و تحریک ایمنی در امر تغذیه مورد توجه قرار گرفته‌است. سیلی مارین ماده مؤثره گیاه خارمریم

(۱) وزن نهایی-وزن اولیه = شاخص رشد (Bucher & Hofer, 1990)

(۲) فاکتور وضعیت (Condition Factor) (Bucher & Hofer, 1990)

$$CF = [W / L^3] \times 1000$$

(۳) ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio) (Bucher & Hofer, 1990)

$$FCR =$$

افزایش وزن بدن به گرم/مقدار غذای خورده شده به گرم  
(۴) ضریب رشد ویژه (Specific Growth Ratio) (Bucher & Hofer, 1990)

$$SGR = [Ln w_2 - Ln w_1] / \text{دوره پرورش به روز} \times 100$$

(۵) نسبت بازده پروتئین (Protein Efficiency Ratio) (Otubusin et al., 2009)

مقدار پروتئین مصرفی به گرم/افزایش وزن بدن به گرم  
(۶) شاخص کبدی (Hepatosomatic index) (Ozori, 2001)

$HIS = 100 \times \text{وزن بدن به گرم} / \text{وزن کبد به گرم}$   
(۷) درصد بازماندگی (Otubusin et al., 2009)

$SR = 100 \times \text{تعداد ماهیان اولیه} / \text{تعداد ماهیان نهایی}$   
(۸) افزایش رشد روزانه (Otubusin et al., 2009)

$$= \text{نرخ رشد روزانه (DGR)}$$

طول دوره آزمایش / (وزن اولیه - وزن نهایی)

برای اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر بعد از پایان دوره ۶۰ روزه پرورش و پس از ۲ روز قطع غذایی از هر تکرار ۵ نمونه برای فاکتورهای هماتولوژی، ۳ نمونه برای آزمایش‌های آنزیم‌های سرمی و ۵ نمونه برای شاخص کبدی تهیه گردید. نمونه‌های خونگیری شده لوله‌های آزمایش در درون جعبه‌های مخصوص گذاشته و به آزمایشگاه هماتولوژی دانشگاه چمران فرستاده شد. هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین و انجام ساتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه و جذب نوری

با تأثیر مثبت یا منفی آنها در مواجهه و درمان بیماری‌های شایع خلاصه شده‌است، بی‌آنکه مطالعه‌ای در رابطه با اثرات سوء جانی احتمالی این ترکیب‌ها انجام شود (Alishahi & Buchmann, 2006). از این رو در طی این آزمایش شاخص‌های خونی و سرمی برای بررسی اثرات این دو ماده به‌عنوان آزمایش‌های تکمیلی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

تعداد ۵۴۰ قزل‌آلای رنگین‌کمان با متوسط وزن اولیه  $25 \pm 2$  گرم از بچه ماهیان موجود در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی دیمه تهیه و به‌طور تصادفی به ۹ تانک فایبرگلاس به تعداد ۶۰ قطعه برای هر تکرار معرفی شدند (Bucher & Hofer, 1990; Duran et al., 1987). در ابتدای دوره پرورش به‌منظور سازگار شدن با شرایط آزمایش غذایی هر یک از تکرارها با غذای پلت شده بر مبنای سیری و طی ۴ وعده، صبح ۲ وعده و عصر ۲ وعده انجام شد. بعد از دو هفته و سازگار شدن ماهیان منتقل شده به تانک‌های فایبرگلاس با شرایط آزمایش به مرور تغذیه با جیره‌های آزمایشی پلت شده FFT2 (از شرکت رشد دانه) آغاز شد (Xue & Cui, 2001). آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با دو تیمار آزمایشی و یک گروه شاهد شامل ماهیان تغذیه شده با جیره ۱ گرم پودر بذر این گیاه یا پودر سیلی مارین (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰) در کیلوگرم جیره و ۱۰ گرم بتائین در کیلوگرم جیره (Ratriyanto et al., 2009) انجام شد. در طول دوره پرورش، میانگین دمای آب در تانک‌های پرورشی معادل  $1 \pm 9$  درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن آب در تانک‌های پرورشی معادل  $5/9 - 8$  قسمت در میلیون و نوسانهای pH در طول دوره پرورش به دلیل جریان دائمی آب تانک‌ها کم و بین  $7/8 - 7/9$  در تغییر بود. به‌منظور بررسی میزان شاخص‌های بچه ماهیان، ۳ بار در طول دوره ۶۰ روزه، سنجش وزنی و طول کل ۲۰ نمونه بچه ماهیان که به صورت تصادفی صید می‌شدند، بررسی شد. این شاخص‌ها از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

(ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) با روش توصیه شده براساس شرکت سازنده کیت اندازه‌گیری شد. برای انجام کارهای آماری از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ و برای بررسی تفاوت میانگین تیمارها با هم از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از آزمون تکمیلی دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵٪ استفاده شد.

### نتایج

نتایج حاصل از تأثیر جیره‌های غذایی بر شاخص‌های رشد به صورت جدول‌های ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ تا ۳ آمده‌است.

محلول در طول موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر و میزان هموگلوبین برحسب گرم در دسی‌لیتر (Feldman et al., 2000; Bucher & Hofer, 1990)، حجم فشرده گلبولی با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفیوژ ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه (Bucher & Hofer, 1990; Feldman et al., 2000)، شمارش کلی گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید ماهی با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار (Thomas & Nurthy, 1976)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه گردید (Ylmaz, 2005). آنزیم‌های سرمی شامل آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز

جدول ۱- میانگین شاخص‌های وزن اول دوره، وزن میان‌دوره، وزن پایان دوره، وزن گیری میان‌دوره، وزن گیری کل دوره ماهیان قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) تیمارهای مختلف در دوره پرورش (گرم)

وزن اول دوره (گرم)	وزن میان‌دوره (گرم)	وزن پایان دوره (گرم)	وزن گیری میان‌دوره (گرم)	وزن گیری کل (گرم)	
۳۴/۷۶ a	۵۶/۷۵ b	۸۷/۶۶ b	۲۱/۹۹ a	۵۳ b	بتافین
۳۳/۱۳ a	۵۲/۷۹ a	۷۵/۹۸ a	۱۹/۶۶ a	۴۳ a	سیلی مارین
۳۵/۱۸ a	۵۲/۸۴ a	۷۷/۶ a	۱۷/۲۳ b	۴۲ a	کنترل

- حروف همسان عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر همسان اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۰/۰۵ است.

جدول ۲- میانگین شاخص ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده پروتئین، میانگین رشد روزانه، شاخص کبدی و درصد بازماندگی ماهیان قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) تیمارهای مختلف در دوره پرورش (گرم)

ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	نسبت بازده پروتئین	میانگین رشد روزانه	شاخص کبدی	درصد بازماندگی
۰/۶۷ a	۱/۵۷ b	۱/۶۱ b	۱/۸۸ b	۱/۱۳ b	۹۸/۸ a
۰/۶ a	۱/۹۲ a	۱/۳۴ a	۰/۷۱ a	۰/۹۸ a	۹۸/۳ a
۰/۵۷ b	۱/۹۹ a	۱/۲۸ a	۰/۷۱ a	۱/۱۵ b	۹۸/۸ b

- حروف همسان عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر همسان اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

تیمار شاهد و سیلی مارین مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۲). میزان ضریب رشد ویژه (SGR) در هر دو تیمار بتافین و سیلی مارین افزایش معنی داری نسبت به تیمار کنترل داشت ( $p < 0/05$ ). از طرفی این فاکتور در تیمار بتافین نیز از تیمار سیلی مارین بیشتر بود ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲).

درصد بازماندگی در طول دوره نیز در تیمار بتافین و کنترل نسبت به تیمار سیلی مارین تفاوت معنی داری نشان داد ( $p < 0/05$ )، ولی بین تیمار بتافین و کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۲).

شاخص کبدی (HSI) در تیمار سیلی مارین و بتافین نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد که فقط در مورد تیمار سیلی مارین این کاهش معنی دار بود ( $p < 0/05$ ) (جدول ۲). از میان آنزیم‌های سرمی مورد بررسی، ALP فاقد تفاوت معنی دار بین تیمارهای مورد بررسی بود ( $p \geq 0/05$ )، ولی ALT و AST هر دو در تیمارهای بتافین و سیلی مارین به طور معنی داری کمتر از تیمار کنترل بودند ( $p < 0/05$ )، ولی عملکرد این دو ماده بر روی آنزیم نامبرده تفاوت معنی داری با هم نداشتند ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۳ و شکل‌های ۱ تا ۳).

همان‌طور که در جدول ۳ مشخص است تفاوت معنی داری بین فاکتورهای مورد بررسی بجز تعداد گلبول‌های سفید خونی مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ). در مورد تعداد گلبول‌های سفید خونی افزایش معنی داری در تیمارهای سیلی مارین و بتافین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ( $p < 0/05$ )، ولی از نظر آماری عملکرد این دو ماده تفاوت معنی داری با هم نداشتند ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۳).

میانگین وزن میان دوره نشان‌دهنده تفاوت معنی دار تیمار بتافین با دو تیمار دیگر است. در صورتی که بین تیمار سیلی مارین و کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $p \geq 0/05$ ). از طرفی میانگین وزن انتهای دوره نیز نشان‌دهنده افزایش معنی دار وزن تیمار بتافین نسبت به تیمار کنترل و سیلی مارین بود ( $p < 0/05$ ). در صورتی که بین تیمار کنترل و سیلی مارین تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۱).

میزان وزن‌گیری در ۳۰ روز اول دوره در تیمارهای سیلی مارین و بتافین بیشتر از تیمار شاهد بود ( $p < 0/05$ )، ولی تفاوت معنی داری بین تیمار سیلی مارین و بتافین مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۱). میزان وزن‌گیری در کل دوره در تیمار بتافین به‌طور معنی داری بیشتر از کنترل و سیلی مارین بود ( $p < 0/05$ )، ولی دو تیمار سیلی مارین و کنترل تفاوت معنی داری با هم نداشتند ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۱). میانگین رشد روزانه (DGR) در تیمار بتافین به‌طور معنی داری نسبت به دو تیمار دیگر افزایش نشان داد ( $p < 0/05$ )، ولی تفاوت معنی داری بین تیمار شاهد و سیلی مارین مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۲). ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمار بتافین به‌طور معنی داری نسبت به دو تیمار دیگر کاهش نشان داد ( $p < 0/05$ )، ولی تفاوت معنی داری بین تیمار شاهد و سیلی مارین مشاهده نگردید ( $p \geq 0/05$ ) (جدول ۲). نسبت بازده پروتئین (PER) در تیمار بتافین به‌طور معنی داری نسبت به دو تیمار دیگر افزایش نشان داد ( $p < 0/05$ )، ولی تفاوت معنی داری بین

جدول ۳- میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) تیمارهای مختلف

در دوره پرورش (Mean±SD)

گلبولهای سفید (میلی متر مکعب)	RBC (میلی متر مکعب)	Hb (گرم در دسی لیتر)	PCV (%)	
۳۵۳۳±۱۲۰ b	۰/۰۸±۰/۴۹ a	۶/۵۳±۱/۶ a	۳۵/۷۲±۵/۰۹ a	بتافین
۳۲۱۶±۹۳۸ b	۱/۹۳±۰/۲۴ a	۶/۶۵±۰/۹۵ a	۳۸/۹۴±۴/۵۸ a	سیلی مارین
۲۵۷۲±۵۰۷ a	۱/۸۷±۰/۳۲ a	۶/۶۳±۱/۸۴ a	۳۸/۱۱±۹/۶۷ a	کنترل

- حروف همسان عدم اختلاف معنی دار و حروف غیرهمسان اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

pcv = حجم فشرده گلبولی، Hb = هموگلوبین، RBC = شمارش کلی گلبول‌های قرمز

جدول ۴- میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) تیمارهای مختلف

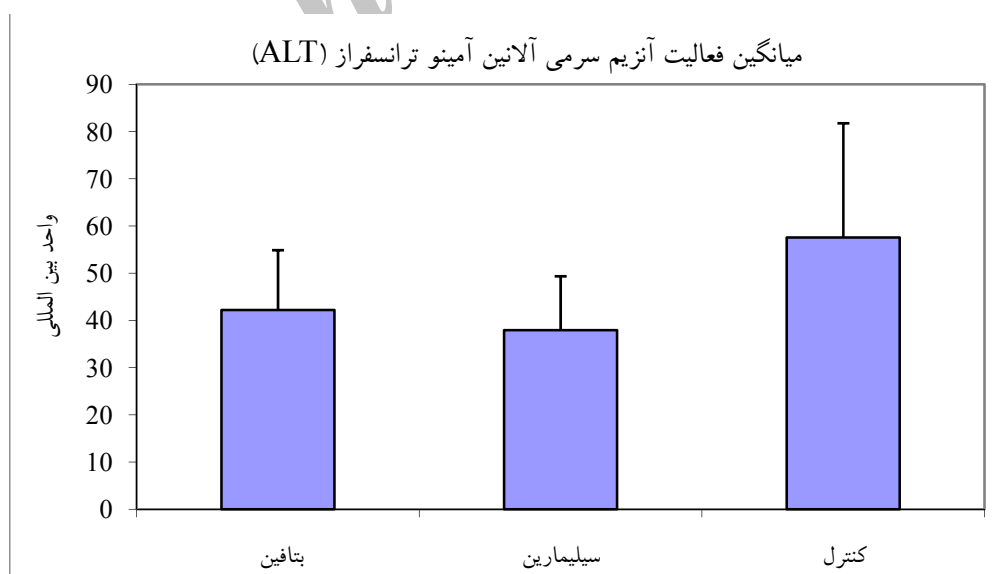
در دوره پرورش (Mean±SD)

MCHC (%)	MCH (پیکوگرم)	MCV (فمتولیترا)	
۱۸/۸۸±۶/۵۷ a	۳۲/۹±۱۰/۷۵ a	۱۸۰/۸۳±۵۲/۸۷ a	بتافین
۱۶/۱۵±۲/۳۷ a	۳۲/۶۸±۵/۷۸ a	۲۰۲/۸۴±۲۴/۳۷ a	سیلی مارین
۱۸/۴±۶/۲۲ a	۳۶/۸۳±۱۲/۴۸ a	۲۰۹/۸۴±۵۸/۱۳ a	کنترل

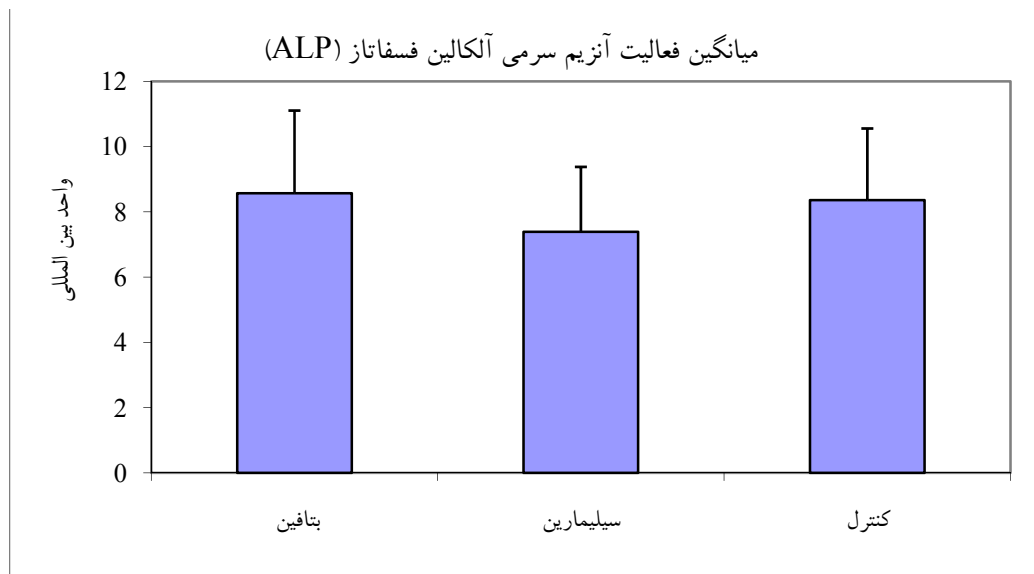
- حروف همسان عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرهمسان اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ است.



شکل ۱- تغییرات سطح AST (آسپاراتات آمینوترانسفراز) در ماهیان تحت تیمارهای مورد بررسی طی ۶۰ روز



شکل ۲- تغییرات سطح ALT (آلانین آمینوترانسفراز) در ماهیان تحت تیمارهای مورد بررسی طی ۶۰ روز



شکل ۳- تغییرات سطح ALP (آلکالین فسفاتاز) در ماهیان تحت تیمارهای مورد بررسی طی ۶۰ روز

## بحث

بتافین تأثیر پذیرفتند. البته Rumsey (۱۹۹۱) که بر روی قزل آلاهی ۳/۲-۱/۴ گرم کار کرده، بیان کرد که این امکان وجود دارد با افزایش سن قزل آلا سنتز کولین در بدن افزایش یابد و یا نیاز به کولین کمتر شود (Harikrishnan *et al.*, 2003). Castro و همکاران (۱۹۹۸) در آزمایشی به تأثیر مثبت بتافین بر SGR، FCR و SR در ماهی آزاد نقره‌ای پرداختند. این آزمایش در دو مرحله آب شیرین و آب شور انجام شد و تأثیرات معنی‌دار بتافین فقط در آب دریا مشاهده گردید.

Virtanen و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از همین ترکیب (۹۷٪ بتائین + ۳٪ آمینواسید) در جیره قزل آلاهی رنگین کمان به افزایش ۱۲٪ نرخ رشد ویژه (SGR) و کاهش ۶۰٪ مرگ و میر در مرحله آب شور اشاره کردند. آنان مقدار مناسب این ترکیب را ۱/۵٪-۱٪ کل جیره پیشنهاد کردند و نیز استفاده حداقل ۱٪ ترکیب مذکور را در هنگام انتقال ماهی آزاد به دریا ضروری دانستند.

Penafloreda (۱۹۹۶) از ترکیب بتافین با آمینواسید در جیره میگو (*Penaeus monodon*) استفاده کرده و اثر مثبت آن را در جیره گیاهی بر وزن‌گیری، SGR، غذاگیری و FCR توضیح داد ( $p < 0.05$ ), اگرچه اختلاف معنی‌داری در SR

مقایسه تأثیر قطعی بتافین با تیمار کنترل و سیلی‌مارین نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار وزن تیمار بتافین به میزان  $87/66 \pm 5/96$  گرم بود. در صورتی که بین تیمار کنترل به میزان  $77/6 \pm 6/02$  گرم و سیلی‌مارین به میزان  $75/98 \pm 5/85$  گرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲). میانگین وزن‌گیری در کل دوره در تیمار بتافین به میزان  $53 \pm 6/02$  گرم به طور معنی‌داری بیشتر از کنترل و سیلی‌مارین بود ( $p < 0.05$ ), ولی دو تیمار سیلی‌مارین به میزان  $43 \pm 6/46$  گرم و کنترل به میزان  $42 \pm 6/32$  گرم تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ( $p \geq 0.05$ ) (جدول ۱). Rumsey (۱۹۹۱) بیان کرد که بتافین می‌تواند حداکثر ۵۰٪ نیازهای کولینی قزل آلا را برآورده کند و وجود کولین را به دلیل پیش‌ساز بودن برای ترکیب‌هایی مثل استیل کولین ضروری می‌داند (Glencross *et al.*, 2004). اما برخلاف عقیده Rumsey (۱۹۹۱) و Kasper و همکاران Nile (۲۰۰۲) در آزمایشی بر روی ماهی‌های جوان Tilapia قابلیت جایگزینی کامل بتافین را به جای کولین اثبات می‌کند (Tacon, 2004). در این آزمایش افزایش وزن و مصرف غذا به طور معنی‌داری با نسبت‌های کولین و

همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که بتافین به میزان ۲٪ نقش مهمی در فعالیتهای اسمولتیکی و متیل‌دهندگی در ماهی آزاد برای حرکت از آب شیرین به آب شور دارد ولی با وجود تفاوت‌هایی بین گروه تیمار شده و شاهد، فاکتورهای رشد در این دو تیمار را از نظر آماری معنی‌دار ندانستند.

Przybyt و همکاران (۱۹۹۹) با اضافه نمودن بتافین به میزان ۲٪ در جیره غذایی نوزاد ماهی کپور افزایش وزن بدن، افزایش PER، افزایش SGR، کاهش ضریب تبدیل غذایی به میزان ۱/۲۲ و بالاترین بقاء را گزارش نمودند. Normand و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر بتافین روی ماهی *Leporinus macrocephalus* با وجود مشاهده تفاوت‌هایی بین گروه تیمار شده و شاهد، فاکتورهای رشد در این دو تیمار را از نظر آماری معنی‌دار ندانستند. Ylmaz (۲۰۰۵) بیان کرد که جایگزینی بتافین در جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی در مرحله پیش لاروی هیچ تأثیری بر روی میزان رشد و بقاء ندارد، اما در مرحله پست لارو تأثیر قوی بر روی میزان رشد و بقاء نشان داد. آنزیم‌های سرمی موجودات در شرایط مناسب فیزیولوژیک دارای سطح مشخصی در سرم می‌باشند و سطح سرمی این آنزیم‌ها تحت تأثیر عوامل گوناگون قرار می‌گیرد که احتمالاً عواملی که باعث آسیب‌های بافتی (به‌ویژه بافت‌های کبد، قلب و عضلات) شوند منجر به افزایش این آنزیم‌ها می‌شوند (Lihninger, 1975). افزایش سطح آنزیم‌های سرمی نشان‌دهنده آشفتگی سلولی و ورود آنزیم‌ها از سیتوپلاسم سلول‌ها به سرم می‌باشد. به‌طوری که در انسان و برخی حیوانات خونگرم از این آنزیم‌ها به‌عنوان معرف‌های آسیب‌های بافتی خاص استفاده می‌شود. در ماهی قزل‌آلا افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) بدنال برخی استرس‌ها، مثل استرس شوری و سموم محیطی و بیماری‌های عفونی گزارش شده‌است (Bucher & Hofer, 1990; Thomas & Nurthy, 1976). در این تحقیق افزودن بتافین و سیلی مارین به خوراک با وجود بهبود برخی فاکتورهای رشد و تأثیر بر برخی فاکتورهای خونی، بر سطح ALP سرم خون ماهی قزل‌آلا تأثیر معنی‌داری نداشت (۰/۰۵ > p). هرچند کمترین میزان آنزیم در تیمار سیلی مارین مشاهده گردید. با وجود این گزارش‌های مختلفی

بدست نیامد. Harpaz (۱۹۹۷) نتیجه مشابهی از آزمایش خود در سال ۱۹۹۲ با استفاده از بتافین در جیره *Macrobrachium rosenbergi* به افزایش رشد ۱۷ درصدی در تیمار حاوی بتافین بدست آورد. Daston (۱۹۹۳) بر تأثیر بتافین و سدیم کلراید در جیره، بر سازگاری *Salmo salar* پرداخت و استفاده از بتافین را بر میزان رشد و تعادل یونی بی‌تأثیر دانست. Kubitza و همکاران (۱۹۹۷)، در آزمایشی به‌منظور شناسایی مواد اشتهاآور در جیره ماهی‌های جوان از آمینو اسیدها، نوکلئوتیدها و بتافین در سه بخش جداگانه آزمایش بعمل آوردند و بیان کردند که بتافین و آمینو اسیدها نمی‌توانند نقش چندانی در تحریک اشتهای ماهیان جوان ایفا نمایند. Kanazawa (۱۹۹۲) در تحقیقات خود از تأثیر مثبت بتافین به همراه کازئین و آلانین و پرولین در تغذیه میگو یاد کرد. جیره غذایی مطلوب با به حداقل رساندن مصرف انرژی متابولیکی میگو باعث کاهش هزینه جیره شد (Kasper et al., 2002). Altun و همکاران (۲۰۰۵) افزودن بتافین در جیره غذایی تیلایا را موجب بهبود رشد، کاهش مرگ و میر، حفاظت از سلولها در برابر فشارهای اسمولتیکی و بهبود سازش با آب شور دانستند (۰/۰۵ < p). Oyaas و همکاران (۱۹۸۴) گزارش کردند که بتافین مهمترین اسمولیت تأثیرگذار و متحرک برای رشد در کشت سلول‌های پستانداران است که با انواع استرس‌های اسمزی مواجه می‌باشد. از طرفی Saoud و Davis (۲۰۰۵) بیان کردند که جایگزینی بتافین در جیره غذایی میگوی پارس سفید (*Litopenaeus vannamei*) در دو تیمار با شوری ۵/۰٪ و ۵۰٪ سبب کاهش رشد و بقاء می‌گردد. Kasper و همکاران (۲۰۰۲) با جایگزینی کامل بتافین در جیره غذایی به جای کولین کلراید در ماهی تیلایا افزایش معنی‌دار مصرف غذا، وزن نهایی و بقاء را گزارش نمودند. Gomes و همکاران (۱۹۹۵) با جایگزینی بتافین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا به جای آرد ماهی سبب افزایش میزان رشد شدند. Xue و Cui (۲۰۰۱) جایگزینی بتافین در جیره غذایی ماهی کپور جوان را باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی دانستند. Genc و



درصد چربی لاشه و عضلات را کاهش می‌دهد. سیلی‌مارین نیز در پیشگیری و درمان آسیبهای توکسیک - متابولیک کبد ناشی از مواد مختلف و نیز محافظت از سلولهای کبدی بکار می‌رود (Schümann *et al.*, 2003). البته درمان و پیشگیری از بیماری‌های کبدی بیشترین کاربرد این ماده است (Schümann *et al.*, 2003; Loguercio *et al.*, 2007). سیلی‌مارین خواص بازدارندگی بر علیه چربیهای نامناسب خون را دارد (Schönfeld *et al.*, 1997). مطالعات متعددی حکایت از آن دارد که سیلی‌مارین پیشرفت سرطان کبد، تومورها و پروستات را مهار می‌کند و کلیه‌ها را در برابر مسمومیت‌ها از جمله داروی سیسپلایین محافظت و موجب کاهش قند خون در بیماری دیابت نوع دوم می‌شود (Fraschini *et al.*, 2002). هرچند میزان کاهش این دو آنزیم زیاد نبوده و هنوز در محدوده طبیعی قرار دارند، ولی با توجه به یکسان بودن شرایط در تمام تیمارها می‌توان همین میزان کاهش را نیز احتمالاً دلیلی بر بهبود کارایی کبدی به‌دنبال تجویز این دو ماده دانست. شاخص کبدی (HSI) نیز به‌طور معنی‌داری در این گروه‌ها کاهش نشان داده‌است. هرچند مطالعات بافت‌شناسی در مورد کبد این ماهی‌ها انجام نشده، ولی احتمالاً کبد این ماهی‌ها دارای درجاتی از آسیب‌ها بوده‌است (Matsuda *et al.*, 2005). در مورد اندیس‌های گلبولی گزارش‌های محدودی از تأثیر این دو ماده بر تعداد و یا اندازه گلبول‌های قرمز و افزایش هموگلوبین و هماتوکریت وجود دارد که البته برخی از این گزارش‌ها افزایش این فاکتورها (Ekanem & Yusuf, 2008) و برخی گزارش‌های دیگر کاهش این فاکتورها (Harikrishnan *et al.*, 2003) را گزارش نموده‌اند. البته برخی گزارش‌ها نیز عدم تأثیر بر این فاکتورها را گزارش نموده‌است (Tatina *et al.*, 2010). تجویز خوراکی بتافین و سیلی‌مارین تأثیری در فاکتورهای خونی مورد مطالعه شامل (تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت و میزان هموگلوبین) و نیز اندیس‌های گلبولی (شامل حجم متوسط گلبولی MCV، وزن متوسط هموگلوبین گلبولی MCH و نیز نسبت غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول‌های قرمز MCHC) نداشت ( $p \geq 0.05$ ). بنابراین به نظر می‌رسد که این دو ماده تأثیری در فعالیت خونسازی (گلبول‌های قرمز) ندارند

از بهبود عملکرد کبدی به‌دنبال تجویز سیلی‌مارین (Penafloida, 1996) وجود دارد. از طرفی تحقیقات مختلف نشان داده که این دو ماده تأثیری در سطح ALP سرم نداشتند (Junnila, 2000; Kidd & Head, 2005). ALT یا گلوتامیک پیروویک ترانس آمیناز (SGPT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) یا گلوتامیک اکسالوستات ترانس آمیناز (SGOT) دو آنزیم انتقال‌دهنده گروه آمین هستند که در برخی از بافت‌های بدن تولید می‌شوند، ولی امروزه به‌عنوان دو آنزیم برای تشخیص تخریب سلول‌های کبدی و عضلانی کاربرد دارند. این دو آنزیم شاخص خوبی برای ضایعات کبدی در ماهی می‌باشند و در کلیه و آبشش و قلب نیز فعالیت بالایی دارند. در برخی گزارش‌ها افزایش چندین برابری این دو آنزیم در آسیب‌های کبدی و عفونتها گزارش شده‌است (Duran *et al.*, 1987). البته در کپور ماهیان این آنزیم تحت تأثیر فاکتورهای محیطی نیز قرار دارد. آسیب‌های حاد و مزمن کبدی در ماهی قزل‌آلا باعث افزایش این دو آنزیم می‌گردد. در این تحقیق هر دو ماده بتافین و سیلی‌مارین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش سطح این دو آنزیم در سرم ماهی قزل‌آلا گردیدند ( $p < 0.05$ ). Junnila (2000) افزود که حضور بتافین در جیره، با قدرت متیل‌دهندگی بالا (وظیفه اصلی) به‌عنوان یک لیپوتروپیک عمل کرده و سبب جلوگیری از تجمع چربی در کبد می‌شود (Kasper *et al.*, 2002).

Barak و همکاران (۱۹۹۳) از بتافین اغلب به‌عنوان یک ترکیب چربی‌دوست نام می‌برند، زیرا توانایی کمک کردن به فرایندهایی را که بر روی چربی‌ها در کبد انجام می‌شود، دارند. در مجموع این خاصیت موجب تسهیل ورود چربی‌ها به متابولیسم بدن شده و کاهش چربی‌های بدن را باعث می‌شود. این خاصیت در دامپروری و آبی‌پروری بسیار مطلوب بوده و سبب افزایش کیفیت لاشه و بالا رفتن نسبت گوشت به چربی می‌گردد، ضمن اینکه در طیور چربیهای محوطه شکمی ضایعات محسوب می‌شوند. در آبیان نیز چربی‌های این ناحیه در تغذیه انسانی هیچ استفاده‌ای ندارد. این خاصیت بتافین سبب پیشگیری و یا بهبود سندروم کبد چرب و دیگر بیماری‌ها و آسیب‌های کبدی ناشی از افزایش چربی‌های کبدی شده و

کبدی مؤثر است. در این تحقیق با توجه به اینکه سیلی مارین و بتافین سبب افزایش گلبول‌های سفید شده، می‌توان نتیجه گرفت که هر دو باعث افزایش تحریک سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا می‌شوند. یکی از معضلات مهمی که پرورش‌دهندگان ماهیان سردابی در زمستان با آن مواجه هستند بیماری کبد چرب (لیپوئیدوز) و بیماری شبه سرطان کبدی (هپاتوم کبدی) می‌باشد. بنابراین با توجه به اینکه سیلی مارین و بتافین در بهبود برخی شاخص‌های کبدی مؤثرند، می‌توان از هر دوی آنها در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا استفاده کرد.

### منابع مورد استفاده

- افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۱. راهنمای عملی دارویی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبریان. انتشارات نوربخش، تهران، ۲۱۶ صفحه.
- بنایی، م.، میروافقی، ع.، رفیعی، غ. و سورد گومیل، آ.، ۱۳۸۹. تأثیر تجویز خوراکی سیلی مارین بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). شیلات (منابع طبیعی ایران)، ۴۶۳(۴): ۲۸۶-۲۷۱.
- علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م. و اسمعیلی‌راد، ا.، ۱۳۹۰. تأثیر تجویز خوراکی عصاره خارمریم (*Silybum marianum*) بر پاسخهای ایمنی ماهی کپور معمولی. تحقیقات دامپزشکی، ۶۶(۳): ۲۶۳-۲۵۵.
- مدنی، ح.، عسگری، ص.، نادری، غ. و طالب‌الحسینی، م.، ۱۳۸۵. اثر حفاظتی کبدی عصاره پلی‌فنلی خارمریم (*Silybum marianum*) و همیشه‌بهار (*Callendula officinalis*) در موش صحرایی. زیست‌شناسی، ۱۹(۲): ۱۶۳-۱۵۷.
- Alishahi, M. and Buchmann, K., 2006. Temperature dependent protection against *Ichthyophthirius multifiliis* following immunization of rainbow trout using live theronts. *Disease Aquatic Organism*, 72: 269-273.
- Altun, T., Celik, F., Genc, A., Karadag, H. and Hunt, A.O., 2005. Effects of betaine on acclimation of tilapia (*Oreochromis aureus*) to sea water. The 7th Balkan Conferences on Operational Research. Constanta, Romania, 25-28 May: 53.
- Barak, A.J., Beckenhauer, H.C., Junila, M. and Tuma, D.J., 1993. Dietary betaine promotes generation of

و فاکتورهای خونی وابسته به گلبول‌های قرمز تحت تأثیر تجویز خورکی این دو ماده به مدت دو ماه قرار نگرفتند. با وجود مشاهده بهبود برخی فاکتورهای خونی بدنبال تجویز سیلی مارین در ماهی کپور معمولی (مطالعات منتشر نشده تیم تحقیق)، عدم تأثیر این ماده در ماهی قزل‌آلا می‌تواند به دلیل تفاوت‌های گونه‌ای این دو ماهی باشد. البته در مورد بتافین نیز بهبود فاکتورهای خونی وابسته به گلبول‌ها بدنبال تجویز محرک‌های رشد و ایمنی گزارش‌های محدودی وجود دارد (Ekanem & Yusuf, 2008) این محرک رشد تأثیری در فعالیت خون‌سازی و طول عمر گلبول‌ها ندارد. البته لازم به ذکر است که عدم تأثیر محرک‌های رشد و ایمنی بر فاکتورهای خونی نیز در برخی گزارش‌ها مشاهده می‌شود (Tatina et al., 2010).

در بین فاکتورهای خونی مورد بررسی فقط تعداد گلبول‌های سفید خونی تحت تأثیر تجویز خوراکی بتافین و سیلی مارین قرار گرفته بود، به طوری که ماهی‌های هر دو تیمار نسبت به تیمار شاهد افزایش تعداد لکوسیت‌ها را نشان دادند ( $p < 0.05$ ). تأثیر این دو ماده بر تعداد گلبول‌های سفید را می‌توان به خواص تحریک ایمنی این دو ماده نسبت داد. درباره تأثیر محرک‌های رشد و ایمنی بر افزایش لکوسیت‌های ماهی گزارش‌های متعددی وجود دارد (Thrall, 2004). به عنوان مثال تجویز گلوکان و لیپوپلی ساکارید در ماهی کپور معمولی، افزایش تعداد و نسبت گلبول‌های سفید را باعث شده است (Tacon, 2004). Tatina و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش تعداد لکوسیت‌های تاس ماهی را بدنبال استفاده از ویتامین E و C به عنوان محرک ایمنی گزارش نمودند. Harikrishnan و همکاران (۲۰۰۳) تأثیر افزودن محرک‌های رشد گیاهی بر تعداد و نسبت لکوسیت‌های ماهی طلایی را گزارش کردند.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که در اثر جایگزینی بتافین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا هم در بهبود شاخص‌های رشد و هم در بهبود برخی شاخص‌های کبدی مؤثر است، ولی سیلی مارین تأثیر چندانی در فاکتورهای رشد نداشته اما در بهبود برخی شاخص‌های

- Harikrishnan, R., Rani, M.N. and Balasundaram, C., 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*, 221: 41-50.
- Harpaz, S., 1997. Analysis of betafine-induced feeding behavior in the prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture*, 456: 225-231.
- Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Prendergast, A.F., Beames, R.M., Hardy, R.W., Riley, W. and Deacon, G., 1995. Use of rapeseed/canola protein products in finfish diets: 130-156. Lim, C.E. and Sessa, D.J., (Eds.). *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. Amer Oil Chemists Society Press, Champaign, 294p.
- Jain, J. and Wu, Z., 2004. Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Shellfish Immunol*, 16(2): 185-191.
- Junnila, M., 2000. Betaine as a lipotropic agent and as an alleviator of osmotic stress. M. Junnila Publisher, 108p.
- Kanazawa, A., 1992. Last finding in prawn feeding in Japan. *Proceeding of the Aquaculture Nutrition Workshop, Salamander Bay: 15-17 April 1991*: 64-71.
- Kasper, C.S., White, M.R. and Brown, P.B., 2002. Betaine can replace choline in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 205: 119-126.
- Kidd, P. and Head, K.A., 2005. Review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin phosphatidylcholine complex (Siliphos). *Alternative Medicine Review*, 10(3): 193-203.
- Kubitzka, F., Lovshin, L.L. and Lovell, R.T., 1997. Identification of feed enhancers for juvenile largemouth bass (*micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 148(2-3): 191-200.
- Lihninger, A., 1975. *Biochemistry: Molecular Basis of Cell Structure and Function*. Worth Publishers, Inc, 1104p.
- Loguercio, C., Federico, A., Trappoliere, M., Tuccillo, C., de Sio, I., Di Leva, B., Niosi, M., D'Auria, M.V., Capasso, R. and Del Vecchio, B.C., 2007. The effect of a silybinvitamin E-phospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Digestive Diseases and Science*, 52: 2387-2395.
- Matsuda, T., Ferreri, K., Todorov, I., Kuroda, Y., Smith, C.V. and Kandeel, F., 2005. Silymarin protects pancreatic  $\beta$ -cells against cytokine-mediated toxicity: Implication of c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase and Janus kinase/signal transducer and activator of hepatic S-adenosylmethionine and protect the liver from ethanol induced fatty infiltration. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17(3): 552-555.
- Bucher, F and Hofer, R., 1990. Effect of domestic wastewater on serum enzyme activities of brown trout (*Salmo trutta*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 97(2): 381-385.
- Castro, H., Battaglia, J. and Virtanen, E., 1998. Effect of finnstim on growth and sea water adaptation of *Coho salmon*. *Aquaculture*, 168: 423-429.
- Daston, J., 1993. Effect of dietary betaine and sodium chloride on seawater adaptation of *Atlantic salmon parr*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 4: 673-677.
- Duran, A., Apricio, L.B., Reglero, A. and Diaz, J., 1987. Changes in serum enzymes of *Sprolegnia* infected brown trout, *Salmo trutta*. *Journal of Fish Diseases*, 10(6): 505-507.
- Ekanem, J.T. and Yusuf, O.K., 2008. Some biochemical and 12 haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on trypanosoma brucei-infected rats. *African Journal of Biotechnology*, 3: 153-157.
- Ergun, S., Yigit, M. and Türker, A., 2003. Growth and feed consumption of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to different photoperiods. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 55: 132-138.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jain, N.C., 2000. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed. Baltimore Lippincott Williams & Wilkins, 1344p.
- Frascini, F., Demartini, G. and Esposti, D., 2002. *Pharmacology of silymarin*. *Clinical Drug Investigation*, 22(1): 51-65.
- Genc, M.A., Tekelioglu, N., Yilmaz, E., Hunt A.O. and Yanar, Y., 2000. Effect of dietary betaine on growth performance and body composition of *Oreochromis aureus* reared in fresh and dead water comparative study. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(12): 1185-1188.
- Glencross, B.D., Hawkins, W.E. and Curnow, J.C., 2004. Nutritional assessment of Australian canola meals. II. Evaluation of the influence of the canola oil extraction method on the protein value of canola meal fed to the red seabream (*Pagrus auratus*, Paulin). *Aquaculture Research*, 35: 25-34.
- Gomes, E.F., Rema, P. and Kaushik, S.J., 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130: 177-186.

- North American Journal of Aquaculture, 67: 351-353.
- Schönfeld, V.J., Weisbrod, B. and Müller, M.K., 1997. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties, protects exocrine pancreas from cyclosporine toxicity. Cellular and Molecular Life Sciences, 53(11-12): 917-920.
  - Schümann, J., Prockl, J., Kiemer, A.K., Vollmar, A.M., Bang, R. and Tiegs, G., 2003. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. Journal of Herpetology, 39(3): 333-340.
  - Swain, P., Dash, S., Sahoo, P.K., Routray, P., Sahoo, S.K., Gupta, S.D., Meher, P.K., and Sarangi, N., 2006. Non-specific immune parameters of brood Indian major carp *Labeo rohita* and their seasonal variations. Fish & Shellfish Immunology, 22: 38-43.
  - Tacon, A.G.J., 2004. Aquaculture 2002: over 50 million tonnes and climbing. International Aquafeed, Directory and Buyers' Guide 2004. Perendale publishers, cheltenham, UK, 2-8.
  - Tatina, M., Bahmani, M., Soltani, M., Abtahi, B. and Gharibkhani, M., 2010. Effects of different levels of dietary vitamins C and E on some of hematological and biochemical parameters of sterlet (*Acipenser ruthenus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science, 5: 1-11.
  - Thomas, P.G. and Nurthy, T.L., 1976. Studies on the impact of a few organic pesticides on certain fish enzymes. Orissa university Agricultural Technology in India, 46: 619-624.
  - Thrall, M.A., Baker, D.C. and Lassen, E.D., 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Wiley, 618p.
  - Virtanen, E., Junila, M. and Soivio, A., 1998. Effect of food containing betaine/amino acid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon. Aquaculture, 83: 109-122.
  - Xue, M. and Cui, Y., 2001. Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile, gibel carp *Carassius auratus gibelio*, fed, diets with or without partial replacement of fish, meal by meat and bone meal. Aquaculture, 198: 281-292.
  - Yilmaz, E., 2005. The effect of two chemo- attractants and different first feeds on the growth performances of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) at different larval stages. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29: 309-314.
  - Zapata, A., Diez, B., Cejalov, T., Gutierrez-de Frias, C. and Cortes, A., 2006. Ontogeny of immune system of fish. Fish Shellfish Immunology, 20: 126-136.
  - transcription pathways. Journal of Endocrinology, 146(1): 175-185.
  - Normand, E.B., Barreto, R.E., Carvalho, R.F. and Delicio, H.C., 2006. Effects of betaine on the growth of the fish piaucu, *Leporinus macrocephalus*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 49: 705-755.
  - Otubusin, S.O., Ogunleye, F.O. and Agbebi, O.T., 2009. Feeding Trials using local protein sources replace fishmeal in pelleted feeds in Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) culture. European Journal of Scientific Research, 31: 142-147.
  - Oyaas, K., Elingsen, T.E., Dyrset, N. and Levine, D.W., 1984. Utilization of osmoprotective compounds by hybridoma cell exposed to hyper osmotic stress. Biotechnology and Bioengineering, 43: 77-89.
  - Ozori, R.O., 2001. Dietary L-carnitine and energy and lipid metabolism in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. PhD. Dissertation no. 3029. Wageningen University, Netherlands.
  - Penaflores, V.E., 1996. Growth survival and feed conversion of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) fed a betaine /amino acid additive. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 48: 3-9.
  - Pepping, J., 1999. Milk thistle: *Silybum marianum*. American Journal of Health-System Pharmacy, 56: 1195-1195.
  - Przybyt, A., Mazurkiewicz, J., Madziar, M. and Hallas, M., 1999. Effects of betaine addition on selected indices of carp fry rearing in ponds. Archives of Polish Fisheries, 7(2): 321-328.
  - Raa, J., 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science, 4(3): 229-288.
  - Rao, V.Y., Romesh, M., Singh, A. and Chakrabarti, R., 2004. Potentiation of antibody production in Indian major carp *Labeo rohita*, rohu, by *Achyranthes aspera* as a herbal feed ingredient. Aquaculture, 238: 67-73.
  - Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E. and Eklund, M., 2009. Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in mono gastric animal. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22(10): 1461-1476.
  - Rumsey, G., 1991. Cholin- betaine requirement of rainbow trout. Aquaculture, 95: 107-116.
  - Sakai, M., 1999. Current research status of fish immune stimulants. Aquaculture, 172: 63-92.
  - Saoud, I.P. and Davis, D.A., 2005. Effects of betaine supplementation to feeds of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at extreme salinities.

## Effect of betafin and silymarin on hematological, serum biochemical parameters and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

M. Babai<sup>1</sup>, M. Javaheri Baboli<sup>2\*</sup>, M. Alishahi<sup>3</sup> and M. Shamsaie<sup>4</sup>

1- Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Fisheries Science, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

E-mail: mehranjavaheri@gmail.com

3- Department of Veterinary, Chamran University, Ahvaz, Iran

4- Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran

Received: December 2012

Revised: February 2014

Accepted: February 2014

### Abstract

Nutrition is critical in trout fish farming. In this regard, the use of medical plants to improve the growth and health of the liver is considered. This experiment was conducted to investigate the comparative effects of silymarin and betafin on the growth, some hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Five hundred and forty rainbow trouts (mean weight  $35\pm 2$ gr) were treated with control diet, 1gr silymarine powder per kg diet and 10gr per kg diet betafin during 60 days. Results showed that betafin significantly improved growth indices including weight gain, specific growth rate, food conversion rate, protein efficiency ratio, daily growth rate, and survival rate compared with silymarin and control groups. RBC, Hb, PCV and globular indices showed no significant differences among three groups, nevertheless WBC increased in silymarine and betafin groups as compared to control. AST and ALT index except ALP index decreased significantly in betafin and silymarine groups. GSI index decreased in silymarine group as compared to others. Generally, it can be concluded that betafin improved growth and liver indices. Silymarine had no effect on growth, whereas it was effective in improving liver indices.

**Keywords:** Betafin, silymarine, *Oncorhynchus mykiss*, serum enzyme, hematological parameters.