

کاربرد بتائین در افزایش رشد و بهبود سیستم ایمنی در تغذیه بچه فیلماهی پرورشی (*Huso huso*)

محمود محسنی^{*۱}

^۱ مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

چکیده

امروزه به منظور کاهش هزینه تولید استفاده از منابع پروتئینی گیاهی متعارف و غیرمتعارف به عنوان جایگزین آرد ماهی در جیره‌های آبزیان بسیار متداول می‌باشد، جیره‌های به دست آمده به طور معمول بسیار کمتر برای گونه‌های پرورشی مطبوع می‌باشند. از این رو است که برای غلبه بر این مشکلات (حداقل از لحاظ دلپذیری) این جیره‌ها با جاذبه‌های تغذیه‌ای از جمله بتائین غنی می‌گردند. در این راستا به منظور تاثیر بتائین در افزایش روند رشد، کاهش تلفات و بهبود سیستم ایمنی در تغذیه بچه فیلماهی پرورشی (*Huso huso*) تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی با وزن متوسط 0.61 ± 0.04 گرم در ۱۵ تانک فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری در هر تیمار با یکی از ۵ جیره آزمایشی محتوی سطوح مختلف مکمل بتائین (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد) در حد سیرایی به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. وزن نهایی، وزن کسب شده، شاخص رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه شده از جیره محتوی ۱/۵ تا ۲ درصد بتائین در انتهای دوره پرورش، بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) از ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی ۰/۵ درصد بتائین مناسبتر بود. با افزودن بتائین به جیره غذایی ماهیان، میزان پروتئین لاشه به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین اضافه کردن ۱/۵ تا ۲/۵ درصد بتائین، منجر به کاهش معنی‌دار در مقادیر متوسط فعالیت آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) نسبت به تیمار حاوی ۰/۵ درصد بتائین گردید. در صورتیکه بیشترین مقادیر لایزوزیم و ایمونوگلوبولین کل (IgM) در ماهیان تغذیه شده از تیمار حاوی ۲ درصد بتائین ثبت گردید ($P < 0.05$). نتایج مطالعه حاضر نشان داد، اضافه نمودن بتائین به ترتیب در سطوح ۱/۵ و ۲ درصد موجب افزایش شاخص‌های رشد و بهبود پاسخهای ایمنی در ماهی می‌گردد.

کلمات کلیدی: بتائین، رشد، کارایی غذا، فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی، فیلماهی

* نویسنده مسئول: mahmoudmohseni73@gmail.com

مقدمه

یکی از اصول مهم که به دنبال افزایش چشمگیر در میزان تولید خوراک باید رعایت شود تولید خوراک با کیفیت است که بتواند تقریباً همه نیازهای غذایی آبزیان پرورشی را فراهم کند. طبق نظر متخصصین تغذیه آبزیان، مصرف بهینه جاذب غذایی یکی از راه‌های افزایش تولید است، بطوریکه کمبود این مواد پر ارزش می‌تواند عملکرد، بهره‌وری و سودآوری را کاهش دهد. از این رو است که برای غلبه بر این مشکلات (حداقل از لحاظ دلپذیری) این جیره‌ها با جاذبهای تغذیه‌ای غنی می‌گردند. در این رابطه، همانند بتائین، اسیدهای آمینه آزاد از جمله ال- آلانین، ال- گلوتامیک اسید، ال- آرژنین و گلیسین که در آب بسیار محلول بوده و به راحتی پخش می‌شوند، دارای خصوصیات جاذب تغذیه‌ای هستند. آلانین، گلوتامیک اسید و گلیسین اسیدهای آمینه غیرضروری بوده و ال- آرژنین اسید آمینه ضروری برای ماهی است (Polat and Beklevik, 1998).

بتائین به نامهای تری متیل گلیسین، N تری میتیل گلیسین، گلیسین بتائین، گلیکول بتائین $1\text{-carboxy-N, N, N-trimethylmethanaminium}$ یک آمینواسید اشتقاقی غیرسمی و طبیعی محلول در آب که ترکیبات آن در آب پخش شده و سبب تحریک گیرنده‌های بویایی و چشایی ماهی می‌گردد که تقریباً در بدن تمامی موجودات زنده ساخته می‌شود، ولی فقط در بعضی از مهره‌داران و تعداد محدودی از گیاهان، این ماده را به مقدار زیاد در بدن خود ذخیره می‌کنند (Loguercio et al., 2007). بتائین یک ترکیب مهم در مسیره‌های متابولیکی آمینواسیدهای سولفور به حساب می‌آید (Kasper et al., 2000). نقش فیزیولوژیک بتائین به عنوان یک محافظ اسمزی آلی (Osmoprotactant) و یا یک دهنده متیل از طریق ترانس میتلیشن، که در آن ممکن است نیازها را تا حدی برای دیگر دهنده‌های متیل (مانند متیونین، کولین و غیره) کاهش دهد و در سوخت و ساز پروتئین و چربی شرکت کند.

یکی از اصول مهم که به دنبال افزایش چشمگیر در میزان تولید خوراک باید رعایت شود تولید خوراک با کیفیت است که بتواند همه نیازهای غذایی آبزیان پرورشی را فراهم کند، این امر با توجه به استفاده از منابع پروتئینی گیاهی متعارف و غیرمتعارف به عنوان جایگزین آرد ماهی

به منظور کاهش هزینه تولید در جیره‌های آبزیان بسیار مهم می‌باشد. طبق نظر متخصصین تغذیه، مصرف بهینه جاذب غذایی یکی از راه‌های افزایش تولید است، بطوریکه کمبود این مواد پر ارزش می‌تواند عملکرد، بهره‌وری و سودآوری را کاهش دهد. از این رو است که برای غلبه بر این مشکلات (حداقل از لحاظ دلپذیری) این جیره‌ها با جاذبهای تغذیه‌ای غنی می‌گردند. در این رابطه، همانند بتائین، اسیدهای آمینه آزاد از جمله ال- آلانین، ال- گلوتامیک اسید، ال- آرژنین و گلیسین که در آب بسیار محلول بوده و به راحتی پخش می‌شوند، دارای خصوصیات جاذب تغذیه‌ای هستند. آلانین، گلوتامیک اسید و گلیسین اسیدهای آمینه غیرضروری بوده و ال- آرژنین اسید آمینه ضروری برای ماهی است (Coutinho et al., 2012).

مراکز پرورش ماهی به علت عدم تعادل مناسب جیره (به ویژه تعادل هیدرات‌های کربن و پروتئین‌ها و نیز استفاده از چربی‌های اشباع) با مشکلات کبدی در ماهیان پرورشی خود روبرو هستند که به طور مستقیم و غیرمستقیم فاکتورهای رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این راستا بتائین به دلیل ویژگی‌هایی همانند خاصیت متیل دهنده‌گی، ترمیم آسیب‌های کبدی، جلوگیری از تجمع چربی در کبد، بهبود کارایی کبد (Loguercio et al., 2007)، تنظیم‌کننده فشار اسمزی و تسهیل متابولیسم چربی‌ها و محرک رشد (Rumsey, 1991) می‌تواند در امر تغذیه بسیار مفید و ارزشمند باشد. مطالعات Rumsey (۱۹۹۱) نشان داد میزان ۱/۵ گرم بتائین در کیلوگرم جیره می‌تواند بیش از نیمی از نیاز کولین در جیره قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را تأمین نماید. در حال حاضر منبع جامعی درباره کمیت بتائین در جیره غذایی تاسماهیان تجاری کشور وجود ندارد و مقادیر اضافه شده آن به جیره غذایی این گونه‌ها بر اساس منابع ارائه شده در گونه‌های سردآبی است، در حالیکه کمبود بتائین در جیره غذایی منجر به کاهش روند رشد و افزایش بیش از حد آن در جیره غذایی، هزینه تولید غذا را افزایش می‌دهد.

مواد ریز مغذی از قبیل ال- کارنتین با پودر گندم بمدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه هم زن (Twin- Shell) کاملاً با یگدیگر مخلوط شدند. سپس مجدداً مخلوط حاصل به سایر ترکیبات اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر در مخلوط کن (Pooya Notash Machinery Co., Mashhad, Iran) استفاده از دستگاه پلت زن (CPM California Pellet) استفاده از دستگاه پلت زن (Mill Co., San Francisco, Ca, USA) با توجه به اندازه دهان ماهی به قطر ۴ میلی متر پلت شدند. سپس پلت‌ها در خشک‌کن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تا جاییکه رطوبت آنها به کمتر از ۱۰ درصد برسد، خشک شدند. جیره‌ها پس از خشک‌شدن شماره‌گذاری شده و در محفظه‌های عاری از هوا بسته‌بندی و تا زمان مصرف در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها خارج و پس از متعادل شدن با دمای اتاق با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهیان قرار گرفت (Mohseni *et al.*, 2011).

تهیه ماهیان و نحوه پرورش: تعداد ۱۵۰ عدد بچه فیلماهی با وزن متوسط $0.56 \pm 4/6$ گرم (میانگین \pm انحراف معیار)، بطور تصادفی در ۱۵ تانک فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری (قطر ۱۰۰ سانتیمتر، ۵۳ سانتیمتر ارتفاع و حجم مفید آب ۳۵۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (بصورت فواره‌ای) با دبی آب ۳/۸۸ لیتر در دقیقه (آب رودخانه سفیدرود) در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر بمدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. ماهیان ۴ بار در روز در فواصل زمانی منظم در ساعات ۸-۱۴-۲۰ و ۲ صبح تا حد سیرایی (به میزان ۲ تا ۳ درصد وزن بدن) به صورت دستی غذادهی شدند. به منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی ماهیان قطع گردید. زیست‌سنجی ماهیان بصورت انفرادی دو با در هر ماه انجام و قبل از آن ماهیان توسط محلول ۲۰۰ پی پی ام پودر گل میخک (Mohseni *et al.*, 2007) بیهوش می‌شدند.

پرورش فیلماهی (*Huso huso*) صنعت نسبتاً جدیدی در ایران به شمار می‌آید. تعیین نیازمندی غذایی آن، اولین گام موثر در جهت تولید جیره غذایی کم هزینه با کارایی بالا در رشد ماهیان محسوب می‌شود. با توجه به مطالب ارائه شده، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف بتائین بر روند رشد و سیستم ایمنی بچه فیلماهی پرورشی (*Huso huso*) طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

جیره‌های غذایی و نحوه تهیه آن: اقلام جیره پایه (جیره شاهد) در جدول ۱ نشان داده شده است (Mohseni *et al.*, 2014). به منظور تهیه جیره‌های غذایی، ابتدا ترکیبات غذایی مورد نیاز جهت آنالیز به آزمایشگاه (آنالیز غذایی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور و موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر) منتقل گردید تا بر اساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام گردد (جدول ۱). با استفاده از پودر ماهی کیلکا عمل‌آوری شده در دمای پائین (بعنوان طعم دهنده غذا) و کازئین عاری از ویتامین (کارخانه بهپاک- مشهد) بعنوان منبع پروتئینی، روغن ذرت و روغن ماهی کیلکا (Industry Fish Meal) (Khazar) به نسبت مساوی بعنوان منبع چربی و دکسترین (Glougosan industry, Iran, Ghazvin) بعنوان منبع کربوهیدرات، پنج جیره آزمایشی (Mohseni *et al.*, 2014) ایزوکالریک (۱۲/۵٪ چربی خام) و با پروتئین خام یکسان (۴۲ درصد پروتئین) محتوی سطوح مختلف بتائین (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد) فرموله و استفاده گردید.

مواد خشک قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (Damico mill (Damico Co, Tehran, Iran) به سایز کمتر از ۸۰۰ میکرون تبدیل شدند. برای تهیه سطوح مختلف بتائین، مکمل بتائین (با خلوص ۹۶ درصد بتائین) در میکسر (مخلوط کننده) مکمل معدنی و ویتامینی اضافه گردید (Yilmaz, 2005)، سپس با سایر

ضریب چاقی (CF; Condition Factor)، نسبت بازده پروتئین (PER; Protein Efficiency Ratio) و شاخص کبدی (HSI; Hepatosomatic index) محاسبه شد (Otubusin *et al.*, 2009).

تعیین شاخص‌های رشد و کبدی: استفاده از اطلاعات زیست‌سنجی هر تانک، فاکتورهای محاسباتی شامل وزن کسب شده (WG; Weight Gain %)، شاخص رشد ویژه (SGR %/day; Specific Growth Rate)، ضریب تبدیل غذایی (FCR; Feed Conversion Ratio)

$100 \times \text{وزن ابتدایی} / (\text{وزن انتهایی} - \text{وزن ابتدایی}) = \text{میزان افزایش وزن (WG/\%)}$

$100 \times \text{دوره پرورش به روز} / (\text{لگاریتم وزن ابتدایی} - \text{لگاریتم وزن انتهایی}) = \text{نرخ رشد ویژه (SGR; \% / \text{day})}$

$100 \times \text{طول کل ماهی (سانتی متر)}^3 / \text{وزن نهایی ماهی (گرم)} = \text{شاخص وضعیت (CF)}$

$\text{افزایش وزن بدن به گرم} / \text{وزن غذای خورده شده به گرم} = \text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)}$

$100 \times \text{وزن بدن به گرم} / \text{وزن کبد به گرم} = \text{شاخص کبدی (HSI)}$

$\text{پروتئین مصرف شده به گرم} / \text{افزایش وزن بدن به گرم} = \text{نرخ بازده پروتئین (PER)}$

میلی‌لیتر باقیمانده به داخل اپندروف غیرهپارینه شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات آنزیم‌های کبدی، نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال گردید. جهت انجام مطالعات فاکتورهای بیوشیمیایی (سرولوژی)، خون وجود در لوله‌های فاقد ماده ضدانعقاد هپارین توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus Sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در اپندروف‌های تازه ریخته و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سنجش آنزیم ALT، AST و LDH به روش رنگ‌سنجی کینتیک و ALP به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (Borges *et al.*, 2004).

روش اندازه‌گیری فاکتورهای ایمنی خون: در پایان دوره پرورش جهت بررسی سیستم ایمنی و شاخص‌های خونی از ۳۰ درصد جمعیت ماهیان هر وان بصورت تصادفی خون‌گیری و شاخص‌هایی چگون Igm (Immunoglobulin Total) و لایزوزیم اندازه‌گیری گردید. Igm سرم بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر بوسیله دستگاه نفلومتری Minineph (Binding site- انگلستان) و با استفاده از کیت آزمایشگاهی Binding site به روش نفلومتری و سنجش میزان لایزوزیم در نمونه‌های خون بر اساس روش توصیه شده توسط Ellis در سال ۱۹۹۰ اندازه‌گیری گردید.

آنالیز اجزا، چیره غذایی و ترکیب بدن فیله‌های:

آنالیز تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و چیره‌های آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد چیره (AOAC 1995) انجام شد. نمونه چیره در ۱۰۵ درجه سانتیگراد بمدت حدوداً ۹ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، برای اندازه‌گیری رطوبت خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل (N×۶/۲۵) با استفاده از روش کدال استخراج، چربی با روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت استخراج، میزان انرژی موجود در ترکیبات غذایی بوسیله بمب کالریمتر و خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت اندازه‌گیری شدند. از ۳۰ درصد جمعیت ماهیان پس از گذشت ۱۸ ساعت از زمان قطع تغذیه و بیهوش نمودن ماهیان توسط محلول ۲۰۰ پی‌پی‌ام پودر گل‌میخک، با استفاده از سرنگ‌های ۲ میلی‌لیتر از باله دم ماهیان به منظور بررسی آنزیم‌های کبدی شامل سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) خونگیری بعمل آمد. بعد از گرفتن ۲ میلی‌لیتر خون توسط سرنگ از ورید ساقه دم این ماهیان، ۰/۵ میلی‌لیتر خون به داخل تیوب‌های آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و ۱/۵

آنالیز آماری

آنالیز آماری (Kolmogorov-Smirnov)، نتایج به وسیله آزمون چند دامنه دانکن با سطح اطمینان ۰/۹۵ بررسی شد. اختلاف معنی دار آماری با سطح $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. داده های این مطالعه بصورت $Mean \pm SD$ نشان داده شده است.

تحقیق حاضر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار و در ۵ تیمار غذایی با سطوح مختلف بتائین در بچه فیلماهیان مورد بررسی قرار گرفت. پس از کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده ها (به وسیله آزمون

جدول ۱: اجزای غذایی و ترکیب شیمیایی جیره شاهد مورد استفاده برای بچه فیلماهیان پرورشی

مقادیر (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)					ترکیبات غذایی
۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰	کازئین
۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	گلوتن گندم
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	آرد ماهی
۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	دکسترین
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	متیونین
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	لایزین
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	مکمل ویتامینی
۵	۵	۵	۵	۵	مکمل معدنی
۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	روغن ذرت
۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	روغن ماهی
۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵	بتائین
۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	سلولز
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	جمع کل

آنالیز تقریبی جیره های آزمایشی (درصد)

۰/۵ درصد	۱ درصد	۱/۵ درصد	۲ درصد	۲/۵ درصد	
۱۰/۳	۱۰	۱۰/۱	۱۰/۴	۱۰/۴	رطوبت
۴۱/۷	۴۱/۴	۴۱/۲	۴۱/۹	۴۱/۷	پروتئین خام
۱۲/۵	۱۲/۹	۱۲/۸	۱۲/۶	۱۲/۵	چربی خام
۱۹/۸	۲۰/۱	۱۹/۹	۱۹/۸	۱۹/۸	انرژی خام (مگاژول در کیلوگرم)

¹Analyzed to contain 150 mg choline /kg dry matter

جیره ۰/۵ درصد بتائین بالاتر بود. شاخصهای رشد متأثر از افزایش وزن بدن می‌باشند که این فاکتور نیز خود وابسته به خوشخوراکی غذا و افزایش غذاگیری است. احتمالاً ترکیب فوق سبب تحریک سیستم بویایی فیل ماهی که در اطراف لب قرار دارد، می‌گردد و در تحریک پذیری تغذیه مؤثر و در نتیجه افزایش غذاگیری سبب افزایش وزن گردید. سوداگر (۱۳۸۴) افزایش فاکتورهای رشد فیل ماهی را به دلیل افزایش خوش خوراکی غذا در نتیجه استفاده از بتائین و متیونین بیان نمود. همچنین ثابت شد که استفاده از موادی نظیر اسید آمینه آسپارتیک و آلانین سبب تحریک گیرنده‌های چشایی و افزایش تحریک‌پذیری نسبت به تغذیه و مؤثر بر فاکتورهای رشد فیل ماهی می‌شود (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳). استفاده از ۱/۵-۱ درصد بتائین در جیره قزل‌آلای آتلانتیک (*Salmo salar*) منجر به افزایش ۱۲ درصدی شاخص رشد ویژه و کاهش ۶۰ درصدی مرگ و میر ماهیان در آب شور گردید (Virtanen et al., 1998).

در مطالعه حاضر، مقادیر متوسط ضریب تبدیل غذایی، میزان کارایی پروتئین و ضریب چاقی با افزایش سطح بتائین جیره به میزان بالای ۱ درصد بطور قابل ملاحظه‌ای نسبت به سایر تیمارها بهبود یافت. این خود بیانگر نیاز استفاده بهینه از بتائین جیره غذایی برای رشد است. Xue و Cui (۲۰۰۱) جایگزینی بتائین در جیره غذایی ماهی کپور جوان (*Carassius auratus gibelio*) را باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی دانستند. Przybyl و همکاران (1999) با اضافه نمودن بتائین به میزان ۰/۲ درصد در جیره غذایی لارو کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، افزایش شاخصهای رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و میزان تلفات را گزارش نمودند.

مکمل ویتامینی (برحسب IU یا میلی‌گرم در کیلوگرم):

د- ال - آلفا توکوفرول استات ۶۰ IU . یو،
د- ال - کولکلسیفرول ۳۰۰۰ IU . تیامین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ، ریبوفلاوین ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، پیروکسین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین B12 ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اینوسیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیوتین ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتات ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم.

مکمل معدنی (بر حسب میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم):

کربنات کلسیم ۴۰ درصد ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدید پتاسیم ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبالت ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم، کلرید سدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم.

نتایج و بحث:

تأثیر سطوح مختلف بتائین بر شاخصهای رشد: در طول دوره پرورش، هیچگونه مرگ و میری مشاهده نشد. تاثیر سطوح مختلف بتائین در پایان ۱۲ هفته پرورش بر شاخصهای وزن نهایی، وزن کسب شده، شاخص رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جدول ۲ آورده شده است. وزن نهایی بدن (گرم)، وزن کسب شده و شاخص رشد ویژه، ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد بتائین در جیره غذایی بطور معنی داری ($P \leq 0/05$) از ماهیان تغذیه شده با

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های رشد و کارایی غذا بچه فیلماهیان پرورشی در تیمارهای آزمایشی با مقادیر مختلف بتائین در طی ۱۲ هفته

شاخصها	جیره های آزمایشی				
	۰/۵ درصد	۱ درصد	۱/۵ درصد	۲ درصد	۲/۵ درصد
وزن نهایی (گرم)	۷۶/۶±۹/۱۲ ^b	۱۰۲/۵±۷/۱۴ ^{ab}	۱۱۸/۴±۱۰/۴۹ ^a	۱۲۰/۴±۸/۳۹ ^a	۱۱۱/۹±۱۰/۶ ^a
وزن کسب شده (درصد)	۱۹۵۱±۴۸۸ ^b	۱۹۶۴±۴۳۳ ^{ab}	۲۴۴۲±۱۱ ^a	۲۵۷۷±۳۱۶ ^a	۲۳۸۵±۴۹۷ ^a
شاخص رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۷۸±۰/۳۵ ^b	۳/۱۶±۰/۱۶ ^{ab}	۳/۵۸±۰/۲۳ ^a	۳/۶۵±۰/۱۸ ^a	۳/۵۵±۰/۲۹ ^a
ضریب تبدیل غذا	۱/۷۸±۰/۲۵ ^a	۱/۴۱±۰/۱۵ ^b	۱/۲۶±۰/۱۵ ^b	۱/۲۵±۰/۱۳ ^b	۱/۲۹±۰/۲۱ ^b
ضریب چاقی	۰/۴۴±۰/۰۹ ^b	۰/۵۸±۰/۰۶ ^a	۰/۶۷±۰/۰۹ ^a	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a

میانگین (± انحراف معیار)، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهاست ($P \leq 0/05$).

عضلانی کاربرد دارند. این دو آنزیم شاخص خوبی برای ضایعات کبدی در ماهی می‌باشند. در مطالعه حاضر مکمل بتائین بطور معنی‌داری باعث کاهش سطح این دو آنزیم در سرم فیلماهی گردید. آنزیم‌های کبدی مذکور به عنوان شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آنها می‌تواند متاثر از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان باشد (Racicot et al., 1975). نتایج یافته‌های علمی نشان داد، بتائین با قدرت متیل دهنده‌گی بالا (وظیفه اصلی) بعنوان یک لیپوتروپیک عمل کرده و سبب جلوگیری از تجمع چربی در کبد می‌شود (Kasper et al., 2002). مقادیر آلکالین فسفاتاز، با مقادیر متوسط مکمل بتائین جیره غذایی ارتباط معکوس داشتند. مقادیر متوسط آلکالین فسفاتاز خون فیلماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد بتائین بطور معنی پائینتر از ماهیان تغذیه شده با جیره ۰/۵ و ۱ درصد بتائین بودند. این امر ممکن است به دلیل جلوگیری از آسیب دیدن کبد در اثر حضور مقادیر بهینه بتائین جیره غذایی باشد. در ماهی قزل آلا و خاویاری افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز

تاثیر سطوح مختلف بتائین بر آنزیم های کبدی: نتایج حاصل از تاثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف بتائین روی برخی پارامترهای خونی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصله، اختلاف معنی داری را در میزان فعالیت آنزیم های کبدی خون (ALT، AST و ALP) در تیمارهای آزمایشی که با سطوح متفاوت بتائین تغذیه نموده بودند، نشان دادند. آنزیم‌های سرمی موجودات در شرایط مناسب فیزیولوژیک دارای سطح مشخصی در سرم می‌باشند و سطح سرمی این آنزیم‌ها تحت تاثیر عوامل گوناگون قرار می‌گیرد که احتمالاً عواملی که باعث آسیب‌های بافتی به ویژه بافت‌های کبد، قلب و عضلات شوند، منجر به افزایش این آنزیم‌ها می‌شوند (Lihninger, 1975). افزایش سطح آنزیم‌های سرمی نشان دهنده آشفته‌گی سلولی و ورود آنزیم‌ها از سیتوپلاسم سلول‌ها به سرم می‌باشد. ALT گلوتامیک پیروویک ترانس آمیناز (SGPT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) یا گلوتامیک اکسالوستات ترانس آمیناز (SGOT) دو آنزیم انتقال دهنده گروه آمین هستند که در برخی از بافت‌های بدن تولید می‌شوند، ولی امروزه به عنوان دو آنزیم برای تشخیص تخریب سلول‌های کبدی و

بدنبال برخی استرس‌ها، مثل استرس شوری، سموم محیطی و بیماری‌های عفونی گزارش شده است (Bucher & Hofer, 1990; Xu *et al.*, 2012). آلكالین فسفاتر یکی از مطمئن‌ترین نشانه‌های حیاتی

هیپاتیک جهت ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی در ماهی می‌باشد (Mozanzadeh *et al.*, 2015).

جدول ۳: میانگین مقادیر آنزیم‌های کبدی سرم خون (میانگین \pm انحراف معیار) بچه فیلماهیان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف بتائین در پایان در ۱۲ هفته

جیره های آزمایشی					شاخصها
۲/۵ درصد	۲ درصد	۱/۵ درصد	۱ درصد	۰/۵ درصد	
۶۴۲/۱ \pm ۶۷/۴ ^b	۶۴۱/۷ \pm ۴۹/۶ ^b	۶۵۰/۲ \pm ۴۷/۴ ^b	۶۶۵/۸ \pm ۶۵/۸ ^b	۷۶۶/۸ \pm ۴۴/۹ ^a	(ALT; U/L)
۲۲/۳ \pm ۲/۴ ^b	۲۴/۸ \pm ۲/۶ ^b	۲۴/۴ \pm ۲/۷ ^b	۲۵/۴ \pm ۲/۵ ^b	۳۲/۲ \pm ۳/۷ ^a	(AST; U/L)
۵۹۷/۶ \pm ۳۹/۳ ^c	۵۰۹/۸ \pm ۲۹/۴ ^c	۶۳۸/۷ \pm ۳۴/۷ ^c	۷۳۶/۵ \pm ۵۱/۶ ^b	۷۳۹/۴ \pm ۳۲/۲ ^a	(ALP; U/L)
۳۶۷/۴ \pm ۹/۴ ^b	۳۴۹/۲ \pm ۹/۸ ^b	۳۴۸/۹ \pm ۱۱/۸ ^b	۳۴۹/۶ \pm ۱۵/۳ ^a	۴۳۹/۷ \pm ۱۴/۵ ^a	(LDH; U/L)

میانگین (\pm انحراف معیار)

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار آماری است ($P \leq 0/05$).

تخریب جداره باکتری‌ها، فعال سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه خواری در ماهی می‌شود. افزایش میزان

فعالیت لایزوزیم سرم گویای بهبود وضعیت ایمنی ماهی است و افزایش آن به مقابله بهتر سیستم ایمنی ماهی در برابر عوامل عفونی و استرس‌زا کمک می‌نماید. افزایش فعالیت لایزوزیم متعاقب تجویز برخی محرک‌های ایمنی، واکسن‌ها و برخی پروبیوتیک‌ها در ماهی مشاهده شده است (Alishahi *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر بهبود معنی‌دار میزان IgM سرم خون ماهیان تغذیه شده با بتائین نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد که با نتایج Taati و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد.

ج: تاثیر سطوح مختلف بتائین بر متوسط پلاسما لایزوزیم و ایمونوگلوبولین: تفاوت معنی دار آماری در مقادیر متوسط پلاسما لایزوزیم و ایمونوگلوبولین در میان تیمارهای مختلف مشاهده شد ($P \leq 0/05$). مقادیر متوسط لایزوزیم فیلماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد بتائین بطور معنی بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۰/۵ درصد بتائین بودند. میانگین مقادیر متوسط ایمونوگلوبولین در ماهیان تغذیه شده محتوی ۰/۵ درصد بتائین بطور معنی داری پائینتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴).

افزایش ایمنی به عنوان یک استراتژی مهم در آبروی پروری مطرح می‌باشد. لایزوزیم از مهمترین اجزای ایمنی غیراختصاصی ماهی محسوب می‌شود که موجب

جدول ۴: میانگین مقادیر متوسط پلاسما لایوزیم و ایمونوگلوبولین (میانگین \pm انحراف معیار) بچه فیلماهیان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف بتائین در ۱۲ هفته

جیره‌های آزمایشی					شاخصها
۲/۵ درصد	۲ درصد	۱/۵ درصد	۱ درصد	۰/۵ درصد	
$39/8 \pm 4/3^a$	$48/6 \pm 5/2^a$	$33/4 \pm 6/5^{ab}$	$22/3 \pm 3/2^b$	$18/4 \pm 4/1^c$	لایوزیم (unit ml^{-1})
$49/5 \pm 2/6^{ab}$	$58/2 \pm 3/3^a$	$48/7 \pm 4/1^{ab}$	$37/1 \pm 5/7^b$	$32/0 \pm 3/3^c$	ایمونوگلوبولین کل (mg ml^{-1})

میانگین (\pm انحراف معیار)

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار آماری است ($P \leq 0/05$).

منابع

اسدی، م.، آذری تاکامی، ق.، سجادی، م.م.، معزی، م. و نیرومند، م. ۱۳۸۹. اثر روتیفر غنی شده با بتائین و غذای کنسانتره حاوی بتائین روی رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس در لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم. شماره ۳. صفحات ۱۰-۱.

سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پاتوماریف، س.آ.، محمودزاده، ه.، عابدیان، ع. و حسینی، س.ع. ۱۳۸۳. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین بعنوان جاذب غذایی بر شاخص های رشد و بازماندگی فیلماهی جوان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲. صفحات ۵۰-۴۱.

سوداگر، م.، ۱۳۸۴. بررسی مقایسه ای تاثیر افزایش برخی از مواد جاذب (بتائین، متیونین و مخلوط بتائین+ متیونین) در جیره غذایی فیلماهیان پرورشی بمنظور افزایش تحریک غذاگیری و بالا بردن میزان رشد و بازماندگی، پایان نامه دوره تخصصی (Ph.D) رشته شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۷۹ صفحه.

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی، ر. و علیزاده، م.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه تعیین احتیاجات غذایی فیلماهی از مرحله لاروی تا مرحله عرضه به بازار. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۲۲۴ صفحه.

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، فلاحی کپورچالی، م.، سپهداری، ا.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، سید حسینی، م. ح.، کاظمی، ر.

توصیه ترویجی

بتائین به شدت در آب محلول بوده و بنابراین ترکیب قابل انتشاری است که می‌تواند پیاز بویایی ماهیان را تحریک نماید. به عنوان نتیجه کلی بتائین، به عنوان جاذب های غذایی (در ۱/۵ تا ۲ درصد جیره) در گونه‌های فیلماهی (*Huso huso*)، می‌تواند نقش مؤثری در ارتقای سیستم ایمنی، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی و همچنین افزایش روند رشد و کارایی تغذیه در فیلماهی جوان پرورشی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در قالب طرح مصوب شورای تحقیقات و فناوری استان گیلان- شهرستان رشت (با حمایت مالی استانداری استان گیلان) با عنوان "بهینه سازی جیره غذایی با هدف افزایش شاخص های رشد، بهبود کارایی تغذیه و ارتقای سیستم ایمنی تاسماهیان پرورشی (فاز اول: فیلماهی و تاسماهی سبیری)" با شماره مصوب: ۹۴۱۰۴-۳۲-۳۲-۴ در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر انجام شده است. از کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه دست یاری دادند و با کمکها و زحمات بیدریغشان در شرایط سخت بزرگترین پشتیبان ما بودند، کمال تشکر را دارم.

- Lihninger, A., 1975. Biochemistry: Molecular Basis of Cell Structure and Function. Worth Publishers, Inc, 1104p.
- Mohseni, M., Hassani, M.H., Pourali, F.H., Pourkazemi, M., Bai, S.C., 2011. The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, *Huso huso*. Journal of Applied Ichthyology, 27: 737-742.
- Mohseni, M., Pourali, H.R., Kazemi, R. and Bai, Sunhchal C., 2014. Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (*Huso huso* L. 1758). Aquaculture Research, 45: 1832-1841.
- Mohseni, M., Sajjadi M., Pourkazemi, M., 2007. Growth performance and body composition of sub yearling Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*, Borodin, 1987), fed different dietary protein and lipid levels. Journal of Applied Ichthyology, 23: 204-208.
- Mozanzadeh, M., Marammazi, J., Yaghoubi, M., Yavari, V., Agh, N. and Gisbert, E., 2015. Somatic and physiological responses to cyclic fasting and re-feeding periods in sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*, Valenciennes 1830). Aquaculture Nutrition. <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12379>.
- Polat, A., Beklevik, G., 1999. The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives, In: Feed Manufacturing in the Mediterranean Regiaon: Recent Advances in Research and Technology Zaragoza (Brufu, J. and Tacon, A.eds), CIHEAM, IAMZ, Spain. 217-220.
- Przybyt, A., Mazurkiewicz, J., Madziar, M., Hallas, M., 1999. Effects of betaine addition on selected indices of carp fry rearing in ponds. Archives of Polish Fisheries, 7(2): 321-328.
- حلاجیان، ع. و صالحی، م.، ۱۳۹۳. گزارش نهایی پروژه مطالعه پرورش گوشتی فیل ماهی (*Huso huso*) با استفاده از جیره‌های مختلف غذایی. موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان تاسماهیان دریای خزر. ۱۳۹ صفحه.
- نیرومند، م. سجادی، م.م.، یحیوی، م. و اسدی، م. ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف بتائین جیره بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان در تحت تنش های محیطی. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۱. صفحات ۱۴۶-۱۳۵.
- Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M. and Razi jalali, M., 2010. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research*, 4: 189-195.
- AOAC, 1995. 16th edn. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical chemist, Vol. I, Washington, DC, USA, 1234 pp.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F. and Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemical*, 30: 21- 25.
- 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.
- Coutinho, F., Peres, H., Guerreiro, I., Pousao-Ferreira, P. and Oliva-Teles, A., 2012. Dietary protein requirement of Sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) juveniles. *Aquaculture*, 35: 391-397.
- Kasper, C.S., White, M.R. and Brown, P.B., 2002. Betaine can replace choline in diets for juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquatics* 205, 119-126.

- Racicot, J.G., Gaudet, M. and Leray, C. 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection. *Journal of Fish Biology*, 7: 825-835.
- Rumsey, G.L., 1991. Choline-betaine requirements of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 95: 107-116.
- Taati, R., Soltani, M., Bahmani, M., Zamini, A.A., 2011. Growth performance, carcass composition immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, Immunoster. *Irani J Fish Sci.* 10:324-335.
- Virtanen, E., Junial, M. and Soivio, A., 1989. Effect of food containing betaine Amino acid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 83:109-122.
- Xu, Q., Wang, C., Zhao, Z. and Luo, L., 2012. Effects of Replacement of Fish Meal by Soy Protein Isolate on the Growth, Digestive Enzyme Activity and Serum Biochemical Parameters for Juvenile Amur Sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25, 1588.
- 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.

Function of dietary addition of betaine on growth performance and improve immune system in beluga, *Huso huso*

Mohseni M.¹

¹International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Abstract

A feeding trial was conducted to examine the effects of dietary supplementation of betaine (0.5, 1, 1.5, 2 & 2.5 % Betaine kg-1 diet) on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haematological-biochemical parameters in beluga, *Huso huso*. 300 fish with average weight of 4.6 ± 0.61 g were fed to triplicate groups of experimental diets for 12wk. Significant higher weight gain, specific growth rate, protein efficiency ratio, condition factor and feed efficiency ratio were observed in fish fed diet supplemented with optimum levels of Betaine than that of fish of control dietary group. The best growth performance and nutrient utilization was observed in fish fed diets containing 1.5 -2 % Betaine kg-1 diet ($p < 0.05$). liver enzymes (Alanine aminotransferase and Aspartate aminotransferase) in fish fed diet containing 1.5 and 2 % Betaine kg-1 diet were significantly higher than those of fish fed basal diet. Based on the results of this study, could say that increased levels of Betaine in the diets of juvenile beluga up to 1.5-2 % kg-1 diet, improved growth performance, feed utilization and haematological- biochemical parameters.

Keywords: Betaine, Growth, Nutrient utilization, Blood Parameters, Beluga, *Huso huso*

*Corresponding author: mahmoudmohseni73@gmail.com