

تأثیر سطوح مختلف بتائین جیره بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

در تحت تنش‌های محیطی

محمد نیرومند^{(۱)*}؛ میر مسعود سجادی^(۲)؛ مازیار یحیوی^(۳) و محمد اسدی^(۴)

mohamad_niromand@yahoo.com

۱ و ۲- دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس صندوق پستی: ۳۹۹۵

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۷۹۱۵۹/۱۳۱۱

۴- دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس صندوق پستی: ۳۹۹۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۹

چکیده

این تحقیق به مدت چهار هفته به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف بتائین جیره بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در تحت تنش‌های محیطی انجام شد. این آزمایش در قالب چهار جیره با سطوح مختلف بتائین شامل صفر (C)، ۰/۴ درصد (B_{۰/۴})، ۰/۸ درصد (B_{۰/۸}) و ۱/۲ درصد (B_{۱/۲}) بطور جداگانه در چهار تیمار و هر تیمار شامل سه تکرار انجام شد. در هر تکرار چهار عدد بچه ماهی با وزن متوسط 0.67 ± 0.15 گرم ذخیره‌سازی و روزانه طی ۵ وعده غذایی شدند. میزان غذایی روزانه ۴ تا ۴/۵ درصد وزن بدن بود. بررسی فاکتورهای رشد و بازماندگی نشان داد که تیمار B_{۰/۴} نسبت به تیمار شاهد و B_{۱/۲} بطور معنی‌داری باعث افزایش درصد وزن بدن، NPU، PER، بازماندگی و بهبود FCR گردید. البته تیمار B_{۰/۴} بجز در مورد درصد افزایش وزن در دیگر موارد مذکور تفاوت معنی‌داری با تیمار B_{۰/۸} نداشت ($P < 0.05$). مقدار پروتئین لاشه تیمار B_{۰/۴} از دو تیمار کنترل و B_{۱/۲} بطور معنی‌داری بیشتر بود اما با تیمار B_{۰/۸} تفاوت معنی‌داری نداشت. تفاوت معنی‌داری در مقدار چربی، خاکستر و ماده خشک لاشه، بین تیمارها مشاهده نشد ($P < 0.05$). کلیه تیمارهای حاوی بتائین از نظر مقاومت در برابر pH بالا و پایین (۱۰/۸ و ۳/۸) و مقاومت در برابر دمای بالا (۲۴ درجه سانتیگراد) بطور معنی‌داری از تیمار کنترل بهتر بودند. همچنین تیمار B_{۰/۴} از لحاظ مقاومت در برابر شوری بالا (۳۵ ppt) و تیمار B_{۰/۸} از لحاظ مقاومت در برابر کمبود اکسیژن (۹ دقیقه خارج از آب) بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بهتر بودند ($P < 0.05$). آزمایش حاضر نشان داد که اضافه نمودن بتائین (در سطح ۰/۴ درصد) به جیره می‌تواند تأثیر مطلوبی بر فاکتورهای رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان داشته باشد.

کلمات کلیدی: سیستم ایمنی، قزل‌آلای رنگین کمان، *Oncorhynchus mykiss*، شرایط محیطی، تغذیه، رشد

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از جیره غذایی با کیفیت بالا سبب می‌شود تا ماهی‌ها با صرف غذای کمتر در مدت زمانی کوتاه‌تر، به وزن بازاری رسیده و به این ترتیب هزینه‌های تولید بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش یابد. ضرورت این امر در مناطقی که دمای آب پرورشی پایین بوده و مدت زمان رسیدن بچه ماهی به وزن بازاری بیش از یک سال بطول می‌انجامد؛ بیشتر نمایان می‌شود. در این راستا می‌توان با افزودن برخی از مکمل‌ها به جیره قزل‌آلا، اثر آنها را روی بهبود فاکتورهای رشد بررسی کرد. یکی از این مکمل‌ها بتائین است که در بسیاری از ماهیان و سخت‌پوستان سبب افزایش رشد و بازماندگی شده است (Carr & Chaney, 1976; Takaoka *et al.*, 1995; Papatryphon & Soares Jr, 2000a; Tiril *et al.*, 2008). بسیاری از محققین اعلام کرده‌اند که جیره‌هایی که سبب افزایش رشد و بازماندگی می‌شوند؛ باعث بالا رفتن مقاومت موجود در برابر شرایط استرس‌زای محیطی نیز خواهند شد (Treberg & Driedzic, 1998; Saoud & Davis, 2007; Paibulkichakul *et al.*, 1997; Kontara *et al.*, 2005). بتائین با بالا رفتن مقاومت ماهی در برابر شرایط استرس‌زای محیطی، می‌تواند در مدت زمان مشابه، تعداد بیشتری ماهی را در واحد سطح پرورش داد و به این ترتیب از حداقل فضای موجود در پرورش، حداکثر استفاده را برد و بدین ترتیب هزینه‌های تولید را کاهش داد. بتائین بعنوان تنها دهنده مستقیم گروه متیل، نقشی مهم در تامین این گروه در بدن دارد (Polat & Beklevik, 1999; Papatryphon & Soares Jr, 2000b). این ماده از طریق متیل دهنده‌گی می‌تواند در واکنش‌های ترانس متیلاسیون برای ساخت موادی مانند کراتین، فسفاتیدیل کولین، کارنیتین، آدرنالین، متیونین و متیل پورین‌ها مورد استفاده قرار گیرد؛ این مواد در متابولیسم پروتئین و انرژی نقش کلیدی دارند (Polat & Beklevik, 1999; Tiril *et al.*, 2008). بتائین در نهایت تبدیل به اسید آمینه گلایسین می‌شود که یک اسید آمینه مهم در سنتز پروتئین و رشد عضلات است (گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲). بتائین با تأثیر بر هموسیستئین، باعث تبدیل این ماده به متیونین می‌شود؛ بدین ترتیب هموسیستئین که یک ماده سمی بوده و باعث تصلب دیواره رگها می‌شود؛ از خون حذف گردیده (Hankey & Eikelboom, 1999) و بدن نیز دچار کمبود متیونین نمی‌شود (de Zwart *et al.*, 2003). بتائین بطور

غیرمستقیم با تولید کارنیتین باعث هضم اسیدهای چرب بلند زنجیره شده و به این ترتیب از بروز نارسایی‌های کبدی جلوگیری می‌کند (گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲). همچنین بتائین بعنوان حامی فرآیند اسمزی معرفی شده است و در آب شور باعث بالا رفتن میزان مقاومت و بازماندگی آبی می‌شود (گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲). با توجه به مطالب فوق، در تحقیق حاضر، اثر بتائین افزوده شده به جیره، بر رشد، بازماندگی، ترکیب شیمیایی بدن و مقاومت بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر استرس‌های کمبود اکسیژن، شوری بالا، pH بالا و پایین و دمای بالا، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق به مدت ۳۱ روز در کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌آلای ۲۲ بهمن واقع در روستای شش پیر شهرستان سپیدان انجام شد. بچه ماهی‌های مورد استفاده در این آزمایش دارای میانگین (\pm انحراف معیار) وزنی 0.167 ± 0.115 گرم بودند. در این تحقیق از چهار ترفاف که در داخل هر کدام سه سینی قرار گرفته بود، استفاده شد. هر ترفاف یک تیمار بوده و از هر کدام از سینی‌های داخل آن، بعنوان یک تکرار استفاده شد. در واقع این آزمایش شامل چهار تیمار و هر تیمار در برگزیده سه تکرار بود. این ترفافها از لحاظ ارتفاع از سطح زمین و میزان نور دریافتی، در شرایط کاملاً یکسانی قرار داشته و نزدیک هم قرار گرفته بودند. میزان آب ورودی به هر یک از آنها نیز $29/28$ لیتر در دقیقه بود. در داخل هر سینی ۴۰ عدد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان قرار داده شد و دمای متوسط آب ۱۰ درجه سانتیگراد و pH آب نیز بین $7/8$ و 8 در نوسان بود. برای ذخیره دار کردن سینی‌ها، ابتدا بچه ماهی‌ها را با محلول 150 ppm پودر گل میخک بیهوش کرده و پس از اندازه‌گیری وزن با ترازوی دیجیتالی با دقت 0.01 گرم و اندازه‌گیری طول، با کولیس (با دقت 0.02 میلیمتر)، به آب تازه و پر اکسیژن منتقل شدند. در پایان دوره نیز پس از ۲۴ ساعت قطع غذاهای به همین ترتیب کار زیست‌سنجی انجام شد. در طول دوره نیز هر ۱۲ روز یکبار، میانگین وزن ماهی‌های هر سینی اندازه‌گیری شد.

غذای استفاده شده در این تحقیق غذای SFTO تولید گروه بتا بندرعباس (کارخانه تولید خوراک دام، طیور و آبزیان هرمز دام، واقع در بندرعباس شهرک صنعتی ایسین) بود. بتائین در ۴

ضریب رشد ویژه یا SGR با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$SGR = \frac{(\ln W_1 - \ln W_0)}{t} * 100$$

که در آن:

t = تعداد روزهای آزمایش

ضریب تبدیل غذایی یا FCR توسط فرمول زیر محاسبه شد:

$$FCR = \frac{DF}{WM}$$

که در آن:

DF = کل غذای خشک مصرف شده (گرم)

WM = افزایش وزن مرطوب (گرم)

بازده مصرف پروتئین یا PER توسط فرمول زیر محاسبه شد (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳):

$$PER = \frac{WM}{EP}$$

که در آن:

EP = مقدار پروتئین خورده شده (گرم)

WM = افزایش وزن مرطوب (گرم)

میزان بهره‌برداری از پروتئین خالص یا NPU توسط فرمول زیر محاسبه شد (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳):

$$NPU = \frac{BPG}{EP} * 100$$

BPG = مقدار افزایش پروتئین بدن (گرم)

EP = مقدار پروتئین خورده شده (گرم)

درصد بازماندگی یا SVR توسط فرمول زیر محاسبه شد (Felix & Sudharsan, 2004):

$$SVR\% = \frac{S - D}{S} * 100$$

که در آن:

S = تعداد نمونه‌های مورد آزمایش

D = تعداد تلفات

پس از پایان آزمایش، ماهی‌های هر تیمار دو بار در معرض آزمونهای تنش کمبود اکسیژن، شوری بالا، دمای بالا و pH بالا و پایین قرار گرفتند. برای جلوگیری از بروز اشتباه در

سطح صفر (تیمار شاهد)، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد پس از حل شدن در آب بصورت اسپری به این غذا اضافه شد؛ این غذا سپس در معرض هوای آزاد و در سایه خشک گردید و به این ترتیب برای هر یک از چهار تیمار، یک نوع غذای خاص تهیه شد و در طول دوره، ماهی‌ها روزانه بین ۴/۵ تا ۴ درصد وزن بدنشان در قالب ۵ وعده، غذادهی شدند. لازم بذکر است وزن ماهی‌های هر سینی، بجز روز اول و روز آخر آزمایش، در روز دوازدهم و بیست و چهارم دوره نیز اندازه‌گیری شده و براساس این اندازه‌گیری‌ها، وزن ماهیان هر تکرار در طول دوره بصورت روزانه نیز محاسبه و میزان جیره روزانه آنها تعیین گردید. با توجه به وزن کم بچه ماهی‌ها، میزان غذای مورد نیاز هر وعده، بسیار ناچیز (بطور متوسط در کل دوره ۰/۴ گرم) بود؛ به همین دلیل غذای هر سینی در هر وعده، پس از اندازه‌گیری بوسیله ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ گرم)، به آهستگی و با صرف وقت نسبتاً زیادی در سطح آب پخش می‌گردید. بطوریکه غذادهی به همه سینی‌ها در هر وعده حدود یک ساعت طول می‌کشید.

در پایان دوره آزمایش، ۲۵ گرم نمونه ماهی از هر تکرار انتخاب شد و پس از کشته شدن بوسیله محلول ۲/۵ گرم در لیتر پودر گل میخک و شستشوی ماهی‌های مرده با آب تمیز، به کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌داری که شماره تکرار روی آن درج شده بود، منتقل گردیدند و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد فریز شدند و با فاصله زمانی کمتر از ۱۰ ساعت پس از مرگ به آزمایشگاه آنالیز لاشه منتقل گردیدند. در روز اول تحقیق به همین روش یک نمونه ۲۵ گرمی از ماهی‌ها تهیه شده و به همراه غذای مورد استفاده در آزمایش به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، میزان ماده خشک، خاکستر، چربی و پروتئین نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

درصد افزایش وزن بدن توسط فرمول زیر محاسبه شد:

- میانگین وزن نهایی هر تکرار (گرم) = میانگین افزایش وزن بدن میانگین وزن اولیه هر تکرار (گرم)

$$WG\% = \frac{W_1 - W_0}{W_1} * 100$$

که در آن:

WG% = درصد افزایش وزن بدن

W0 = میانگین وزن اولیه (گرم)

W1 = میانگین وزن نهایی (گرم)

از هر تیمار ۱۰ عدد بچه ماهی بطور همزمان در تشت آب قرار داده شد؛ دمای آب تشت ۲۴ درجه سانتیگراد بود که ماهی‌ها مدت زمان ۳۰ دقیقه را در این دما سپری نمودند. سپس ماهی‌ها به آب تازه و پر اکسیژن برگردانده شده و بعد از چند دقیقه میزان بازماندگی تیمارها با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت (علوی یگانه و همکاران، ۱۳۸۳؛ آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۴).

این تحقیق در قالب طرح بلوکهای کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با تجزیه واریانس یکطرفه (one-way-ANOVA) و سپس مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. داده‌ها از ابتدا نرمال بودند و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد تعیین گردید. برای ثبت داده‌ها از برنامه نرم‌افزاری Excel استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان درصد افزایش وزن بدن در تیمار B_{۰.۴} بطور معنی‌داری از تیمار شاهد و بقیه تیمارها بیشتر بود (جدول ۱). اگر چه افزودن بتائین به جیره باعث بهبود ضریب رشد ویژه تیمارهای حاوی بتائین شد اما تفاوت معنی‌داری بین این تیمارها و تیمار شاهد مشاهده نشد (f=4.785, d.f.=3, P<0.05). میزان FCR در تیمار B_{۰.۴} بطور معنی‌داری نسبت به تیمارهای شاهد و B_{۱/۲} بهبود پیدا کرد اما تفاوت معنی‌داری با تیمار B_{۰.۸} نداشت (f=1.914, d.f.=3, P>0.05). میزان PER در تیمار B_{۰.۴} بطور معنی‌داری از تیمار شاهد و B_{۱/۲} بیشتر بود اما با تیمار B_{۰.۸} تفاوت معنی‌داری نداشت (f=6.403, d.f.=3, P<0.05). همچنین تیمار B_{۰.۸} بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بیشتر بود. میزان NPU نیز در تیمار B_{۰.۴} و B_{۰.۸} بطور معنی‌داری از تیمار کنترل و تیمار B_{۱/۲} بیشتر بود (f=14.688, d.f.=3, P<0.05) (جدول ۱).

نتیجه‌گیری، هر ماهی فقط یکبار مورد آزمایش تنش قرار گرفت و سی دقیقه پس از پایان تنش میزان بازماندگی آنها بررسی شد.

در این آزمایش ۱۰ عدد بچه ماهی از هر تیمار در معرض تنش کمبود اکسیژن قرار گرفتند؛ به این ترتیب که ماهی‌های تیمارها بطور همزمان و جداگانه در خارج از آب و در هوا به مدت ۹ دقیقه نگاه داشته شده، سپس به آب تازه برگردانده شدند و تلفات بچه ماهی‌ها و در نتیجه میزان مقاومت آنها در برابر کمبود اکسیژن مورد بررسی قرار گرفت (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۴).

برای انجام آزمون تنش شوری، دما و pH، یک تشت آب با ظرفیت ۵ لیتر بوسیله توری ریز به چهار قسمت مساوی تقسیم شد و شماره تیمارها از یک تا چهار بترتیب روی لبه تشت در هر یک از چهار قسمت مذکور درج گردید.

در آزمون تنش pH پایین ابتدا pH آب توسط اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال به ۳/۸ رسانده شد و از هر تیمار ۱۰ عدد بچه ماهی بطور همزمان در تشت آزمایش رهاسازی شده و بعد از گذشت ۱۳۵ دقیقه، ماهی‌ها به آب تازه و پر اکسیژن منتقل شده و پس از چند دقیقه میزان بازماندگی آنها مورد مقایسه قرار گرفت. این آزمایش یکبار دیگر نیز تکرار شد (علوی یگانه و همکاران، ۱۳۸۳).

در آزمون تنش pH بالا ابتدا pH آب با استفاده از کریستالهای سود (NaOH) به ۱۰/۸ رسانده شد. ماهی‌ها به مدت ۷ دقیقه در معرض این pH قرار گرفتند؛ سپس به آب تازه و پر اکسیژن منتقل شده و میزان تلفات آنها با یکدیگر مقایسه گردید. این آزمایش یکبار دیگر نیز تکرار شد (علوی یگانه و همکاران، ۱۳۸۳).

از آنجا که ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تا شوری ۳۰ ppt را تحمل می‌کند (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۵) لذا شوری آب به ۳۵ ppt رسانده شد و بطور همزمان ۱۰ عدد بچه ماهی از هر تیمار در آب تشت رهاسازی شد. آزمایش، ۲ ساعت بطول انجامید؛ سپس ماهی‌ها به آب تازه منتقل گردیدند و در نهایت میزان بازماندگی تیمارها مورد مقایسه قرار گرفت (Krogdahl et al., 2004; Singer et al., 2007).

جدول ۱: میانگین شاخص‌های رشد در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف بتائین، طی دوره ۳۰ روزه آزمایش ($n=3$; میانگین \pm انحراف معیار)

شاخص	تیمار	C شاهد	B _{۰/۴}	B _{۰/۸}	B _{۱/۲}
درصدافزایش وزن بدن (WG%)	۱۵۰/۵۶ \pm ۱۴/۸ ^b	۱۷۵/۸۲ \pm ۵/۲۱ ^a	۱۵۵/۹۴ \pm ۲/۲۷ ^b	۱۵۱/۳۶ \pm ۹/۸۷ ^b	
ضریب رشد ویژه (SGR)	۳/۱۴ ^a	۳/۳۶ ^a	۳/۲۷ ^a	۳/۲۱ ^a	
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۱/۵۰ ^b	۱/۳۵ ^a	۱/۴۰ ^{ab}	۱/۴۷ ^b	
بازده مصرف پروتئین (PER)	۱/۶۳ ^c	۱/۸۲ ^a	۱/۷۴ ^{ab}	۱/۶۶ ^{bc}	
میزان بهره از پروتئین خالص (NPU)	۲۰/۵۵ ^b	۲۵/۷۰ ^a	۲۳/۸۵ ^a	۲۱/۱۴ ^b	
درصد بازماندگی (SVR)	۹۵/۱۷ \pm ۲/۲۵ ^b	۹۹/۱۷ \pm ۱/۴۴ ^a	۹۶/۱۷ \pm ۱/۲۶ ^{ab}	۹۵/۸۳ \pm ۱/۴۴ ^b	

حروف لاتین غیرمشابه بالای اعداد در هر ردیف، نشانه معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها می‌باشد ($P<0.05$).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان بازماندگی نهایی تیمار B_{۰/۴} بطور معنی‌داری از تیمار شاهد و تیمار B_{۱/۲} بیشتر بود؛ اما با تیمار B_{۰/۸} تفاوت معنی‌داری نداشت ($f=3.477$, d.f.=3, $P>0.05$) (جدول ۱).
نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان افزایش پروتئین لاشه در تیمار B_{۰/۴} بطور معنی‌داری از تیمار شاهد و تیمار B_{۱/۲} بیشتر بود؛ اما با تیمار B_{۰/۸} تفاوت معنی‌داری نداشت ($f=5.642$, d.f.=3, $P<0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲: میزان پروتئین، چربی، خاکستر و ماده خشک لاشه (برحسب گرم) در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف بتائین، طی دوره ۳۰ روزه آزمایش ($n=3$; میانگین \pm انحراف معیار)

شاخص	تیمار	C	B _{۰/۴}	B _{۰/۸}	B _{۱/۲}
پروتئین	۹/۲۵ \pm ۱/۰۵ ^{bc}	۱۰/۷۰ \pm ۰/۱۷ ^a	۱۰/۰۱ \pm ۰/۳۶ ^{ab}	۸/۸۱ \pm ۰/۵۱ ^c	
چربی	۳/۴۵ \pm ۰/۹۴ ^a	۲/۹۷ \pm ۰/۱۵ ^a	۳/۲۷ \pm ۰/۰۵ ^a	۳/۳۲ \pm ۰/۵۴ ^a	
خاکستر	۱/۶۴ \pm ۰/۲۵ ^a	۱/۷۵ \pm ۰/۱۲ ^a	۱/۶۰ \pm ۰/۰۱ ^a	۱/۶۹ \pm ۰/۱۸ ^a	
ماده خشک	۱۵/۳۳ \pm ۲/۳۶ ^a	۱۵/۹۵ \pm ۰/۶۶ ^a	۱۵/۷۴ \pm ۰/۲۹ ^a	۱۴/۵۲ \pm ۱/۵۱ ^a	

حروف لاتین غیرمشابه بالای اعداد هر ردیف، نشانه معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها می‌باشد ($P<0.05$).

از لحاظ میزان افزایش چربی، خاکستر و ماده خشک لاشه، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($f=0.418, d.f.=3, P>0.05$) (جدول ۲). میزان مقاومت در برابر کمبود اکسیژن در تیمار $B_{.18}$ بطور معنی‌داری در سطح ۵ درصد از تیمار شاهد و تیمار $B_{.12}$ بیشتر بود، اما تفاوت معنی‌داری با تیمار $B_{.14}$ نداشت ($f=7.518, d.f.=3, P<0.05$) (جدول ۳). میزان مقاومت در برابر pH بالا و پایین در کلیه تیمارهای بتائینی بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بیشتر بود ($f=8.409, d.f.=3, P<0.05$) (جدول ۳).

میزان مقاومت در برابر تنش شوری در تیمار $B_{.14}$ بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بیشتر بود، اما تفاوت معنی‌داری با دو تیمار $B_{.12}$ و $B_{.18}$ نداشت ($f=6.875, d.f.=3, P<0.05$). میزان مقاومت در برابر تنش دمایی بالا در تیمارهای $B_{.12}$ و $B_{.14}$ بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بیشتر بود ($f=6.918, d.f.=3, P<0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: میزان بازماندگی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف بتائین طی دوره ۳۰ روزه آزمایش، در برابر آزمونهای تنش ($n=2$; میانگین \pm انحراف معیار)

شاخص	تیمار	C	$B_{.14}$	$B_{.18}$	$B_{.12}$
کمبود اکسیژن به مدت ۹ دقیقه	۸۶/۶۷ \pm ۱/۶۵ ^b	۸۸/۸۱ \pm ۱/۳۷ ^{ab}	۹۲/۵۹ \pm ۲/۲۵ ^a	۸۵/۰۲ \pm ۱/۱۹ ^b	
خارج از آب	صفر ^b	۶۰ \pm ۶۱/۹۷ ^a	۵۰ \pm ۱۵/۵۵ ^a	۴۰ \pm ۱۱/۳۱ ^a	
pH بالا (۱۰/۸)	۸۳ \pm ۴/۷۱ ^b	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	
pH پایین (۳/۸)	۳۳/۳۳ \pm ۷/۵۴ ^b	۶۶/۶۷ \pm ۸/۸۰ ^a	۵۰ \pm ۶/۵۱ ^{ab}	۵۰ \pm ۶/۲۵ ^{ab}	
شوری بالا (۳ppt)	۱۶/۶۷ \pm ۶/۶۰ ^c	۳۳/۳۳ \pm ۴/۷۱ ^{ab}	۲۵ \pm ۴/۹۵ ^{bc}	۴۱/۶۶ \pm ۶/۵۹ ^a	
دمای بالا (۲۴ درجه سانتیگراد)					

حروف لاتین غیرمشابه بالای اعداد هر ردیف، نشانه معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها می‌باشد ($P<0.05$).

بحث

این تحقیق نشان داد که افزودن بتائین بخصوص در سطح ۰/۴ درصد بطور معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشد، شامل افزایش نسبی وزن بدن، بازده مصرف پروتئین (PER)، میزان بهره برداری از پروتئین خالص (NPU) و کاهش ضریب تبدیل غذایی و همچنین افزایش میزان پروتئین لاشه گردید. بتائین دارای سه گروه متیل است. اولین گروه متیل در ترکیب با هموسیستئین، تبدیل به متیونین می‌شود (Malinow, 1994).

دومین گروه متیل بصورت غیرمستقیم باعث تبدیل هموسیستئین به متیونین می‌گردد (گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲). سومین گروه متیل به جای متیونین وظیفه متیل دهنده‌گی را در بدن انجام داده و سبب می‌شود که اسید آمینه با ارزشی مثل متیونین بعنوان متیل‌دهنده عمل نکرده و بصورت مستقیم وارد چرخه سنتز پروتئین شود. پس بتائین از طرفی باعث تبدیل هر چه بیشتر هموسیستئین به متیونین شده

نکرده و از بروز بیماریها و آسیب‌های کبدی ناشی از افزایش چربی‌ها در بدن جلوگیری شود. با کبد سالم سطح ایمنی بدن بالا رفته و موجود در برابر شرایط تنش‌زا مقاوم‌تر می‌شود و به این ترتیب میزان بازماندگی افزایش می‌یابد (Selhub, 1999; Barak et al., 1983; Chambers, 1995).

در این تحقیق میزان مقاومت تیمارهای حاوی بتائین در برابر کمبود اکسیژن از تیمار کنترل بیشتر بود. Virtanen و همکاران (۱۹۸۹) و Clarke و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که اضافه کردن یک درصد بتائین به غذای قزل‌آلای رنگین کمان، سطح بتائین ماهیچه را ۵ تا ۸ میلی‌مول در کیلوگرم افزایش می‌دهد اگر چه این مقدار سهم کوچکی در فعالیت‌های اسمزی کلی دارد اما ممکن است برای ثبات میتوکندری کافی باشد. زمانی که ماهی در معرض تنش کمبود اکسیژن قرار می‌گیرد دیگر اکسیژنی به سلول نرسیده و سلولها از طریق گلیکولیز بی‌هوازی تولید انرژی می‌کنند؛ از آنجا که میزان بتائین در سلولهای ماهیانی که در جیره غذایی آنها بتائین اضافه شده، ۵ تا ۸ میلی‌مول در کیلوگرم افزایش می‌یابد شاید مقاوم‌تر بودن ماهی‌های تیمار بتائین نسبت به گروه کنترل بدلیل تاثیر بتائین موجود در سلول بر گلیکولیز بی‌هوازی باشد به این صورت که مدت زمان بیشتری باعث تداوم چرخه تولید انرژی می‌شود. مقاوم‌تر بودن ماهیان تیمار بتائین نسبت به تیمار کنترل در برابر کمبود اکسیژن را شاید بتوان به این صورت بیان کرد که بتائین ممکن است باعث انحلال بیشتر اکسیژن در پلاسماي خون شده یا اینکه بتائین باعث افزایش میل ترکیبی هموگلوبین با اکسیژن شده باشد یا بطور کلی سبب بالا رفتن کشش اکسیژنی سرخرگهای ماهیان در برابر شرایط استرس کمبود اکسیژن شود.

در این تحقیق میزان مقاومت تیمارهای حاوی بتائین در برابر تنش‌های دمایی بالا، pH پایین و pH بالا، بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بیشتر بود؛ همچنین مقاومت تیمار B.۴ در برابر تنش شوری بالا بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بالاتر بود. با قرار گرفتن ماهی در معرض تنش دمایی بالا، شدت سوخت و ساز بدن بالا رفته و نیاز اکسیژنی افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش دمای آب، میزان اکسیژن محلول در آن کاهش می‌یابد. pH

و از طرف دیگر سبب می‌شود که تمام ظرفیت متیونین وارد مسیر سنتز پروتئین گردد و به این ترتیب میزان پروتئین لاشه زیاد شود. بتائین در انتها تبدیل به گلايسين می‌شود که یک اسید آمینه مهم در سنتز پروتئین و رشد عضلات می‌باشد (گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲).

اثر بتائین بعنوان یک فاکتور افزایش‌دهنده رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Can & Sener, 1992; Polat & Beklevik, 1999; Tiri et al., 2008; Clarke et al., 1994)، ماهی آزاد چینوک (Castro et al., 1998)، تیلایپای جوان (Kasper et al., 2001)، لارو گربه ماهی آفریقایی (Yilmaz, 2005)، فیل‌ماهی جوان (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳)، ماهی کپور (Przybyl et al., 1999)، میگوی مونودون (Papatryphon & Soares Jr., 2000a)، میگوی سفید هندی (Jasmine et al., 1993) و میگوی روزنبرگی (Felix & Sudharsan, 2004) گزارش شده است.

در این تحقیق میزان بازماندگی تیمارهای حاوی بتائین از تیمار شاهد بیشتر بود اما فقط تیمار B.۴ بطور معنی‌داری از تیمار شاهد بهتر بود. اثر بتائین بعنوان افزایش‌دهنده میزان بازماندگی در قزل‌آلای رنگین کمان، ماهی آزاد اقیانوس اطلس و ماهی آزاد چینوک (Virtanen et al., 1994; Clarke et al., 1994)، در ماهی Coho salmon (Castro et al., 1998)، در ماهی Major carp (Shankar et al., 2008)، در فیل ماهی جوان (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۳) و در ماهی کپور (Przybyl et al., 1999) گزارش شده است.

بتائین یک متیل دهنده است و گروههای متیل نقش‌های مختلفی را در انجام وظایف حیاتی (فعالیت‌های کلیه، قلب و سیستم عصبی) و سیستم ایمنی (مثل دفاع سلولی و واکنش‌های دفع سموم) ایفا می‌نمایند و به این ترتیب باعث افزایش مقاومت موجود زنده در برابر تنش‌ها و بالا رفتن میزان بازماندگی می‌شوند (Selhub, 1999; Barak et al., 1983; Chambers, 1995).

بتائین بطور غیرمستقیم باعث متابولیسم اسیدهای چرب بلند زنجیره شده و باعث می‌شود که چربی‌ها در بدن تجمع

مهندس پروانه مقدم و مهندس مریم برنجکار که در انجام مراحل عملی تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

آذری تاکامی، ق.؛ مشکینی، س.؛ رسولی، ع. و امینی، ف.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات تغذیه ای ناپلیوسهای *Artemia urmiana* غنی شده با ویتامین C روی رشد، درصد بقا و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی در لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۶۶، صفحات ۲۵ تا ۳۲.

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 بر شاخص‌های رشد و بازماندگی فیل ماهی جوان. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۲، صفحات ۴۱ تا ۵۰.

علوی یگانه، م.ص.؛ عابدیان، ع.؛ رضایی، م. و محمدی آزر، ح.، ۱۳۸۳. افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی pH و دما در لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان از طریق تغذیه با مکمل پودر گاماروس. مجله علوم دریایی ایران، صفحات ۵۷ تا ۶۶.

گروه علمی و تحقیقی بیوشم، ۱۳۸۲. بتافین. شرکت بیوشم، تهران.

نفیسی بهابادی، م.، ۱۳۸۵. راهنمای عملی تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان، تهران.

Barak A.J., Beckenhauer H.C. and Tuma D. J., 1996. Betaine, ethanol, and the liver: A review. Alcohol, 13:395–398.

Bath R.N. and Eddie F.B., 1979. Ionic and respiratory regulation in rainbow trout during rapid transfer to sea water. Journal of Comparative Physiology, 134:351–357.

پایین نیز باعث حل شدن فلزات سنگین مثل آهن و قرار گرفتن این فلزات روی آبشش ماهی و به تبع آن کاهش تبادلات اکسیژنی می‌شود (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۵). در pH بالای آب نیز آمونیاکی که در اثر متابولسیم ترکیبات نیتروژن‌دار (پروتئین) در بدن ماهی تولید می‌شود؛ در محیط آب باقی می‌ماند. با افزایش غلظت آمونیاک در محیط آب، توانایی آبششها برای دفع آن کاهش می‌یابد و غلظت آمونیاک در خون ماهی بالا رفته و ظرفیت تبادل اکسیژنی نیز کاهش می‌یابد و این فرایند افزایش نیاز اکسیژنی بافتها را بدنبال خواهد داشت (نفیسی بهابادی، ۱۳۸۵). در ارتباط با تنش شوری نیز Stagg و همکاران (۱۹۸۹) گزارش کردند که در ساعات اولیه انتقال ماهی آزاد به آب دریا، کشت اکسیژن سرخرگها کاهش و غلظت اسید لاکتیک افزایش می‌یابد؛ همچنین Bath و Eddie (۱۹۷۹) بیان کردند که در ماهی قزل‌آلا در ۵ ساعت پس از انتقال ماهی به آب دریا میزان حمل اکسیژن خون تا ۳۰ درصد کاهش می‌یابد. با توجه به این توضیحات زمانی که ماهی در معرض هر یک از تنش‌های دمای بالا، pH پایین و بالا و شوری بالا قرار می‌گیرد در واقع در معرض استرس کمبود اکسیژن قرار گرفته است. شاید مقاوم‌تر بودن ماهیان تیمارهای حاوی بتائین نسبت به تیمار شاهد، در برابر این تنش، به همان دلایلی باشد که سبب می‌شوند ماهی در برابر آزمون کمبود اکسیژن مقاومت بیشتری از خود نشان دهد.

آزمایش حاضر نشان داد که افزودن بتائین در سطح ۰/۴ درصد به جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلا در دمای پایین، باعث افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود و به این ترتیب بچه ماهی در مدت زمان کمتری به وزن بچه ماهی قابل عرضه به بازار می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات آقای مهندس مسعود نیکوکار مدیر مرکز تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای ۲۲ بهمن واقع در منطقه شش پیر شهرستان سپیدان فارس، همچنین آقای ابودر قاسمی و خانمها مهندس معصومه سمیعی، مهندس زهرا چیت‌ساز،

- Can K. and Sener E., 1992.** The effect of Betaine-added starter feeds on the growth of Rainbow trout (*O. mykiss*, W. 1792) fry. *Journal of Aqua Products*, 1:95-104.
- Carr W.E.S. and Chaney T.B., 1976.** Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, *Lagodon rhomboides*: Characterization and identification of stimulatory substances extracted from shrimp. *Comparative and Biochemistry Physiology*, 54A:437-441.
- Castro H., Battaglia J. and Virtanen E., 1998.** Effects of FinnStim on growth and sea water adaptation of Coho salmon. *Aquaculture*, 168:423-429.
- Chambers S.T., 1995.** Betaine: Their significance for bacteria and the renal tract. *Clinical Science*, 88:25-27.
- Clarke W.C., Virtanen E., Blackburn J. and Higgs D.A., 1994.** Effects of dietary Betaine / amino acid additive on growth and seawater adaptability in yearling Chinook salmon. *Aquaculture*, 121:137-145.
- de Zwart F.J., Slow S., Payne R.J., Lever M., George P.M., Gerrard J.A. and Chambers S.T., 2003.** Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. *Food Chemistry*, 83:197-204.
- Felix N. and Sudharsan M., 2004 .** Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*, 10:193-197.
- Hankey G.J. and Eikelboom J.W., 1999.** Homocysteine and vascular disease. *The Lancet*, 354:407-413.
- Jasmine G.I., Pillai S.P. and Athithan S., 1993.** Effect of feeding stimulants on the biochemical composition and growth of Indian white prawn *Penaeus indicus*. In: (M. Carrillo, L. Dahle, J. Morales, P. Sorgeloos, N. Svennevig & J. Wyban eds), From discovery to commercialization, Oostende Belgium European-Aquaculture Society, Torremolinos, Spain. 19:139P.
- 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.
- Kontara E., Lavens P. and Sorgeloos P., 1997.** Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *penaeus monodon* postlarvae. In: (P. Lavens, E. Iaspers, & I. Roeland eds.), Larvi 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium. Europe Aquaculture Society, Ghent. pp.204-208.
- Krogdahl A., Sundby A. and Olli J.J., 2004.** Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) digest and metabolize nutrients differently. Effect of water salinity and dietary starch level. *Aquaculture*, 229:335-360.
- Malinow M. R., 1994.** Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *Journal of Internal Medicine*, 236:603-617.
- Paibulkichakul C., Piyatiratitivorakul S., Kittakoop P., Viyakam V., Fast A.W. and Menasveta P., 1998.** Optimal dietary levels of lecithin and

- cholesterol for black tiger prawn *Penaeus monodon* larvae and postlarvae. *Aquaculture*, 167:273-281.
- Papatryphon E. and Soares Jr. J.H., 2000a.** The effect of dietary feeding stimulants on growth performance of striped bass, *Morone saxatilis*, fed-a plant feedstuff-based diet. *Aquaculture*, 185:329-338.
- Papatryphon E. and Soares Jr. J.H., 2000b.** Identification of feeding stimulants for striped bass, *Morone saxatilis*. *Aquaculture*, 185:339-352.
- Polat A. and Beklevik G., 1999.** The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives. *In:* (J. Brufu & A. Tacon eds). *Feed manufacturing in the Mediterranean region: Recent advances in research and technology Zaragoza. CIHEAM, IAMZ, Spain. pp.217-220.*
- Przybyl A., Mazurkiewicz J., Madziar M. and Hallas M., 1999 .** Effect of betaine addition on selected indices of carp fry Rearing in ponds. *The August Cieszkowski Agricultural University in Poznan. Archives of Polish fisheries*, 7:321-328.
- Saoud I.P. and Davis D.A., 2005.** Effect of betaine supplementation to feeds of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at extreme salinities. *North American Journal of Aquaculture*, 67:351-353.
- Selhub J., 1999.** Homocysteine metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 19:217-246.
- Shankar R., Murthy H.S., Pavadi P. and Thanuja K., 2008.** Effect of betaine as a feed attractant on growth, survival and feed utilization in fingerlings of the Indian major carp *Labeo rohita*. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bemidgheh*. 60:95-99.
- Singer T.D., Raptis S., Sathiyaa R., Nichols J.W., Playle R.C. and Vijayan M.M., 2007.** Tissue-specific modulation of glucocorticoid receptor expression in response to salinity acclimation in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 146:271-278.
- Stagg R.L., Talbot F.B.E. and Williams M., 1989.** Seasonal variations in osmoregulatory and respiratory responses to seawater exposure of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) maintained in fresh water. *Aquaculture*, 82:219-228.
- Takaoka O., Takii K., Nakamura M., Kumai H. and Takeda M., 1995.** Identification of feeding stimulants for tiger puffer. *Fisheries Sciences*, 61:833-836.
- Tiril S.U., Alagil F., Yagci F.B. and Aral O., 2008.** Effects of betaine supplementation in plant protein based diets on feed intake and growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Israeli Journal of Aquatics. Bamidgheh*. 60(1):57-64.
- Treberg J.R. and Driedzic W.R., 2007.** The accumulation and synthesis of betaine in winter skate. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 147:475-483.
- Virtanen E., Junnila M. and Soivio A., 1989.** Effects of food containing betaine/aminoacid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 83:109-122.

- 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 Animal Science, 29:309-314.

Effects of dietary Betaine on growth, survival, body composition and resistance of fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under environmental stress

Niroomand M.^{(1)*}; Sajadi M.M.⁽²⁾; Yahyavi M.⁽³⁾ and Asadi M.⁽⁴⁾

Mohamad_niromand@yahoo.com

1,2- Basic Science Faculty, Hormuzgan University, P.O.Box: 3995 Bandar Abbas, Iran

3- Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, P.O.Box: 79159-1311 Bandar Abbas, Iran

4- Agriculture and Natural Resources Faculty, Hormuzgan University, P.O.Box: 3995

Bandar Abbas, Iran

Received: May 2010

Accepted: February 2011

Keywords: Immunity system, Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Environmental stresses, Feeding

Abstract

A four-week trial was conducted to evaluate the effects of different levels of dietary Betaine on growth, survival and resistance to salinity (35ppt), temperature (24°C), hypoxia and high and low pH stresses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Four levels of Betaine as 0 (control), 0.4% (B_{0.4}), 0.8% (B_{0.8}) and 1.2% (B_{1.2}) were used with three replicates. Forty fish (0.67±0.15g) were stocked in each replicate and fed at 4-4.5% of body weight, five times daily. Results showed that there were significant differences in growth, survival, NPU, PER and FCR between B_{0.4}, B_{1.2} and control diet (P<0.05). Carcass analysis showed that there was higher protein in the carcass of fish fed with diet B_{0.4} compared to control and B_{1.2} diet. There were no significant differences in carcass protein content between B_{0.4} and B_{0.8}. Also, no significant differences were found in carcass crude fat, ash and dry matter among different treatments (P>0.05). Resistances to high and low pH (10.8 & 3.8) and to high temperature (24°C) were significantly better in fish fed with Betaine containing diets compared to the control diet. Resistance to high salinity in B_{0.4} was significantly better than the control diet and resistance to hypoxia in diet B_{0.8} was significantly better than the control (P<0.05). The results showed that dietary supplementation of Betaine (0.4%) have positive effects on growth factors, survival, body composition and resistance to environmental stresses in rainbow trout.

*Corresponding author