مقاله علمی – پژوهشی:

اثر سطوح مختلف مکمل اسید صفراوی (Runeon 1) در جیره بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سیدعبدالحمید حسینی[۱]، علیرضا قائدی*[۲]، رقیه محمودی[۱]، منصور شریفیان[۳]

*aliangler@gmail.com

۱-مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

۲-بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱٤۰۳

چکیده

این مطالعه جهت بررسی تـأثیر سطوح مکمل رونئون ۱ حاوی ۳۰ درصد اسید صفراوی در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طراحی شد. بدین منظور، جیره‌های حاوی ۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم مکمل اسید صفراوی فرموله و ساخته شد. تعداد ۶۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن ۵±۵۲ گرم در قالب ۴ تیمار (هر یک با ۳ تکرار) در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۸۰۰ لیتر به مدت ۷۵ روز ذخیره گردید. براساس نتایج میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم زیر ۱ به‌دست آمد که نشان‌دهنده بهترین عملکرد در بین تیمارهای آزمایشی بود ($P>0/05$). وزن نهایی (۷/۲۸±۱۸۷/۳۳ گرم) در تیمار مذکور نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). همچنین ضریب رشد ویژه، ضریب چاقی، میزان کارایی پروتئین و درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم نسبت به سایر تیمارها از افزایش نسبی برخوردار بود ($P>0/05$). تیمارهای دریافت‌کننده مکمل اسید صفراوی نسبت به تیمار شاهد دارای میزان پروتئین بیشتر و خاکستر کمتری بودند. همچنین تیمارهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم میزان رطوبت بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($P<0/05$). از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم نیز گلوکز، تری گلیسیرید، آلبومین و لاکتات دهیدروژناز در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد، اما میزان کلسترول، پروتئین تام و گلوبولین در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<0/05$). آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به گروه کنترل و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، آنزیم آلانین ترانس آمیناز در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). بهبود نسبی شاخص‌های رشد و تغذیه و ترکیبات لاشه و تغییرات برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، بیانگر عملکرد مثبت اضافه نمودن اسید صفراوی به میزان ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است این در حالی است که تأثیرات افزایش آنزیم‌های کبدی در تیمار مذکور می‌بایست مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.

لغات کلیدی: مکمل اسید صفراوی، شاخص‌های رشد و تغذیه، فاکتورهای بیوشیمیایی سرم، قزل‌آلای رنگین کمان

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

امنیت غذایی و تغذیه، اولویت اصلی بخش‌های تولیدکننده مواد غذایی در سراسر جهان است. پیش‌بینی می‌شود، مصرف مواد غذایی تا سال ۲۰۵۰ تا ۶۰ درصد افزایش یابد، زیرا جمعیت جهان از ۷/۷ میلیارد فعلی به ۹/۷ میلیارد نفر افزایش می‌یابد. در نتیجه، صرفه‌جویی در منابع و تغذیه پایدار جمعیت جهان برای کل صنعت غذا و خوراک ضروری است (Saiprasad *et al*., 2023a). آبزی‌پروری از جمله اصلی‌ترین بخش‌های تولیدکننده غذا در جهان بوده که در سال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته و با تبدیل شدن به یک بخش اقتصادی پررونق با سرعت زیادی نسبت به سایر بخش‌های تولید پروتئین حیوانی در حال پیشرفت است (Das *et al*., 2017).

از مهم‌ترین اهداف صنعت آبزی‌پروری به‌ویژه تولید ماهی قزل‌آلا می‌توان رشد سریع، بهبود کارایی تغذیه، عملکرد رشد و ارتقاء سطح ایمنی آبزیان را قلمداد نمود (Soltani *et al*., 2019). استفاده از جیره غذایی مناسب یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها به منظور نیل به این اهداف است. تغذیه ماهیان با جیره‌هایی که نیازهای غذایی را برآورده نمی‌کند، فقط بر رشد و راندمان غذایی آنها تأثیر نمی‌گذارد بلکه سبب افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌زا، بروز عوارض کمبود مواد مغذی، تغییرات رفتاری و آسیب‌های بافتی می‌شود (Trichet, 2012). مطالعات زیادی ثابت کرده‌اند که سطح مناسب چربی و کربوهیدرات در جیره به‌خوبی می‌تواند کاهش استفاده از منابع پروتئینی را به‌دنبال داشته باشد بدون این‌که عملکرد رشد و سلامت ماهی دچار اختلال گردد (Li *et al*., 2017; Wang *et al*., 2019). زیرا چربی‌ها به عنوان یک منبع انرژی با چگالی بالا عمل می‌کنند که ماهیان به‌خوبی می‌توانند آنها را جذب کنند. همچنین کربوهیدرات‌ها نیز یک منبع انرژی ارزان‌تر از چربی‌ها و پروتئین‌ها هستند که به عنوان تثبیت‌کننده جیره نیز کاربرد دارند (Kamalam *et al*., 2017) .بنابراین، از آن‌جایی‌که آبزی‌پروری از رژیم غذایی پرانرژی (پرچرب) برای تقویت رشد و کاهش ضایعات نیتروژن استفاده می‌کند، ماهیانی که رژیم غذایی آنها سرشار از چربی‌های غذایی است، دچار استرس متابولیک می‌شوند و در نتیجه انباشت چربی‌ها، رشد متوقف می‌گردد (Zhou *et al*., 2018; Ding *et al*., 2020). با این‌حال، مطالعات بسیاری ثابت کرده‌اند که مصرف طولانی‌مدت و زیاد چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌تواند منجر به اختلال در متابولیسم چربی، تجمع بیش از حد چربی در کبد و در نتیجه ایجاد بیماری کبد چرب شود و بر وضعیت فیزیولوژیک و رشد ماهی تأثیرگذار باشد (Lin *et al*., 2018; Jin *et al*., 2019a; Ding *et al*., 2020; Jin *et al*., 2020; Wang *et al*., 2020; Wang *et al*., 2021). بنابراین، استفاده از مواد افزودنی کاربردی در خوراک، یک راه مؤثر برای کاهش استرس متابولیک کبدی و بهبود سلامت ماهی است. همچنان که تاکنون افزودنی‌های خوراکی مانند ال-کارنیتین، کولین، عصاره‌های گیاهی و ... اثرات مثبتی بر اختلالات متابولیک ماهی از خود نشان داده‌اند (Jin *et al*., 2019a; Jin *et al*., 2019b; He *et al*., 2021; Liu *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021).

اسیدهای صفراوی از جمله این مواد افزودنی هستند که به طور طبیعی از کلسترول در کبد ساخته می‌شوند. آنها نه‌تنها به عنوان دترجنت‌های فیزیولوژیک مطرح هستند که جذب و انتقال چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد مغذی را تسریع می‌بخشند بلکه به عنوان مولکول‌های سیگنالی، گیرنده‌های هسته‌ای را فعال می‌کنند (Wang *et al*., 2023) و باعث تنظیم متابولیسم و سلامتی ماهی می‌شوند (Romano *et al*., 2020). اسیدهای صفراوی در ماهیان نه‌تنها باعث مراقبت از کبد و جلوگیری از بروز بیماری کبد چرب می‌شوند بلکه افزایش ۱۰ درصدی میانگین وزن را نیز به‌دنبال خواهد داشت (El-Shenawy *et al*., 2020). همچنین این مکمل‌ها می‌توانند ظرفیت هضم و جذب لیپیدها را ارتقاء دهند و با بهبود ضریب تبدیل غذایی، به تقویت رشد ماهی کمک کنند (Ding *et al*., 2020). از دیگر مزایای استفاده از مکمل‌های صفراوی در جیره، امکان هضم و جذب مقادیر بالاتر چربی و ابقاء پروتئین جهت رشد است (Craig *et al*., 2017).

در حال حاضر، با توجه به قیمت بالای کلسترول، امکان استفاده از آن در جیره وجود ندارد و مقرون به صرفه نیست. همچنین محدودیت فیزیولوژیک ماهیان در هضم و جذب

چربی سبب کاهش میزان چربی جیره‌های تجاری شده است. بنابراین، استفاده از افزودنی با نام تجاری Runeon که حاوی غلظت‌های ۳۰ و ۷۵ درصد اسیدهای صفراوی است، می‌تواند برای جبران کمبود کلسترول جیره مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

محل انجام آزمایش

این تحقیق با همکاری شرکت البرز دارو گستر به مدت ۷۵ روز با پرورش ماهیان تیمارهای مختلف در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج انجام گرفت. تأمین آب از طریق چشمه با دمای ۰/۷±۱۱/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۰/۴±۷ میلی‌گرم در لیتر، سختی ۲۲±۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و میزان pH برابر با ۰/۲±۷/۸ و تعویض آب مخازن (جریان آب) به صورت ثقلی صورت پذیرفت. سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و تجزیه‌وتحلیل ترکیبات لاشه در آزمایشگاه رویان‌پژوه (شهرکرد) انجام شد.

تهیه جیره‌های آزمایشی و تیماربندی

خوراک ماهی به صورت تجاری در شرکت کیمیاگران تغذیه تولید شده و افزودنی‌ها در خط تولید به آن اضافه شد. بدین‌ترتیب، جیره‌های حاوی سطوح ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید صفراوی مکمل Runeon 1 حاوی ۳۰ درصد اسیدصفراوی به‌ترتیب به عنوان تیمار ۱، ۲ و ۳ فرموله شد و تیمار شاهد نیز بدون هیچگونه مکمل افزودنی بود (Wang *et al*., 2023). با توجه به وزن ماهیان مورد استفاده در این مطالعه (۵±۵۲ گرم) از خوراک پیش پرواری ۲ (EXF_2) با حداقل پروتئین ۴۰ درصد و چربی ۱۶ درصد، استفاده شد.

آماده‌سازی سیستم پرورشی

این تحقیق در ۱۲ عدد مخزن فایبرگلاس با گنجایش ۲۰۰۰ لیتر در سالن سرپوشیده شماره ۳ مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج همراه با شرایط محیطی کنترل شده و یکسان انجام گرفت. تانک‌های فایبرگلاس قبل از آبگیری با ماده ضدعفونی کننده فرمالین با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ضدعفونی و شستشو گردید. سپس هر مخزن به میزان ۸۰۰ لیتر آبگیری شد. تأمین آب هر مخزن به روش ثقلی و اکسیژن‌دهی از طریق ریزش آبشاری آب صورت گرفت.

ذخیره‌سازی ماهیان

تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۵±۵۲ گرم پس از طی دوره آداپتاسیون از مخزن ذخیره بهگزینی، بیومتری و به درون تانک‌های فایبرگلاس منتقل گردید. همزمان با این کار تعداد ۲۰ به صورت تصادفی جهت تعیین ترکیب بیوشیمیایی اولیه لاشه جداسازی و در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

غذادهی

ماهیان به مدت ۷۵ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. تغذیه ماهیان بر اساس زیست توده (۲/۱ درصد وزن بدن)، درجه حرارت آب و طبق توصیه کارخانه سازنده خوراک (شرکت کیمیاگران تغذیه) به تعداد ۴ بار در روز با غذای رشد ۱ انجام شد (Madani, 2015). بیومتری ماهیان جهت تعیین میزان غذای مصرفی هر دو هفته انجام و شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی شامل دما، اکسیژن و pH آب طی دوره پرورش با استفاده از دستگاه مولتی پارامتر مدل WTW مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت.

نمونه‌برداری

در پایان دوره آزمایش ماهیان پس از بیهوشی با پودر گل میخک با استفاده از تخته بیومتری و ترازوی دیجیتال بیومتری شدند. از هر تکرار دو ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از طریق ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری هپارینه شده انجام شد. نمونه خون استحصال شده پس از چند دقیقه جهت تهیه سرم به سانتریفیوژ یخچال دار (اپندورف آلمان) با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انتقال یافت. مایع رویی جداسازی شده و در میکروتیوب‌های حاوی برچسب به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد مرکز تحقیقات یاسوج منتقل و جهت انجام

تجزیه‌وتحلیل‌های مربوطه به آزمایشگاه رویان پژوه (شهرکرد) ارسال گردید. همچنین تعداد ۲ ماهی از هر مخزن بعد از بیهوشی به‌وسیله پودر گل میخک با دوز ۱۵۰ قسمت در میلیون آسان‌کشی شدند و بخشی از عضله برای تجزیه‌وتحلیل ترکیبات لاشه، جداسازی و توزین گردید. فیله‌های جداسازی شده بر فویل آلومینیومی درون آون (بایندر آلمان) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان رسیدن به وزن ثابت برای محاسبه میزان رطوبت قرار داده شد. سپس نمونه‌های خشک شده درون کیسه‌های زیپ‌دار برای تجزیه‌وتحلیل میزان خاکستر، چربی و پروتئین به آزمایشگاه ارسال گردید.

شاخص‌های رشد و تغذیه

شاخص‌های رشد و تغذیه تیمارهای آزمایشی شامل ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین، میزان رشد ویژه، شاخص وضعیت و درصد افزایش وزن بدن طبق رابطه‌های ذیل اندازه‌گیری شد:

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$ (ضریب تبدیل غذایی)[1]

F: غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)، Wf: وزن نهایی (گرم)، Wi: وزن اولیه (گرم)

$$PER = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$ (میزان کارآیی پروتئین)[2]

BWf: وزن نهایی (گرم)، BWi: وزن اولیه (گرم): AP: میزان پروتئین مصرفی

$$\%SGR = \frac{Ln W_f - Ln W_i}{t_2 - t_1} \times 100$$ (میزان رشد ویژه)[3]

Wf: وزن نهایی (گرم)، Wi: وزن اولیه (گرم)، $(t_2 - t_1)$: تعداد روزهای آزمایش

$$CF = (W/L^3) \times 100$$ (فاکتور وضعیت)[4]

W: وزن ماهی (وزن‌تر به گرم)، L: طول ماهی (سانتی متر)

$$\%WGP = WG_f - WG_i / WG_i \times 100$$ (درصد افزایش وزن بدن)[5]

WGf: وزن نهایی (گرم)، WGi: وزن اولیه (گرم)

[1]Feed Conversion ratio (FCR)
[2]Protein efficiency ratio (PER)
[3]Specific growth rate (SGR)
[4]Condition factor(CF)
[5]Weight gain percentage (WGP)

تجزیه‌وتحلیل شیمیایی ترکیبات لاشه

قبل از شروع آزمایش تعداد ۲۰ ماهی به صورت تصادفی برای تعیین ترکیب بیوشیمیایی اولیه لاشه جداسازی و در فریزر ۸۰- نگهداری شد. در انتهای دوره آزمایش نیز ترکیبات لاشه تیمارهای مختلف (۲ عدد بچه ماهی از هر تکرار) به طور تصادفی انتخاب و شاخص‌هایی مانند رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر با استفاده از روش استاندارد AOAC تجزیه‌وتحلیل شد (AOAC, 2005). برای اندازه‌گیری رطوبت جیره از آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد، برای سنجش پروتئین خام از روش کجلدال در سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون و ضرب کردن میزان نیتروژن به‌دست آمده از هر گرم ماده خشک در عدد ۶/۲۵ استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان چربی خام از سوکسله و حلال اتر و خاکستر نیز با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت محاسبه شد.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز سرم با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت دلتا درمان پارت اندازه‌گیری شد. مقادیر این آنزیم‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر با استفاده از روش رنگ سنجی تعیین شد (Tripathi and Verma, 2004). جهت اندازه‌گیری مقدار گلوکز، کلسترول کل و تری‌گلیسیرید سرم از روش طیف‌سنجی با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت دلتا درمان پارت و دستگاه اتوآنالایزر در طول موج ۵۴۶ نانومتر استفاده گردید (Rifai *et al.*, 1999). برای اندازه‌گیری میزان آلبومین از روش برموکرزول گرین و کیت‌های تشخیصی شرکت دلتا درمان پارت استفاده گردید. پروتئین نیز با استفاده از کیت استاندارد تخمین پروتئین شرکت دلتا درمان پارت و به روش فتومتریک محاسبه شد. میزان گلوبولین سرم از تفریق میزان آلبومین از پروتئین محاسبه گردید (Thomas, 1998).

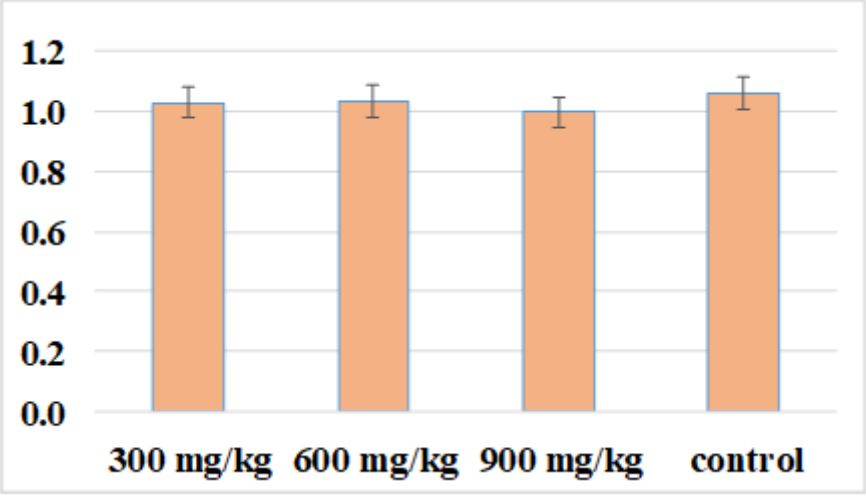
روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

مقایسه آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ استفاده شد. و برای بررسی معنی‌داری بودن تفاوت میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج

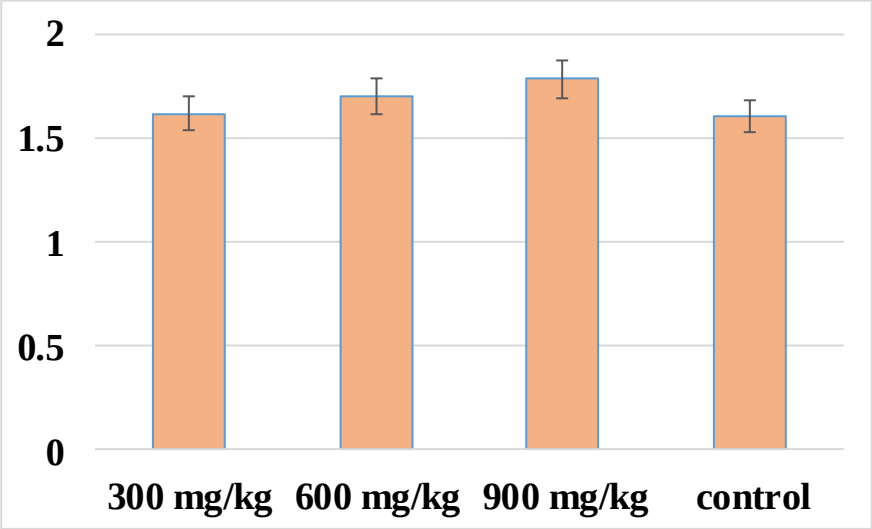
شاخص‌های رشد و تغذیه

میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار ۳ زیر ۱ بدست آمد که نشان دهنده بهترین عملکرد در بین تیمارهای آزمایشی بود (شکل ۱). همچنین بالاترین میزان ضریب رشد ویژه (SGR) نیز در تیمار مذکور به‌دست آمد که با میزان ۱/۰±۷۸/۰۵ نسبت به گروه شاهد با میزان ۱/۶±۰/۰۲ دارای افزایش بود (شکل ۲). میزان وزن نهایی در تیمارهای آزمایشی ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب ۱۷۳/۸۵±۱۰/۱۴، ۱۷۸/۰۲±۷/۱۶ و ۱۸۷/۳۳±۷/۲۸ و در تیمار شاهد ۱۷۲/۳۷±۳/۳۶ گرم به‌دست آمد که این میزان در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<0/05$). میزان کارایی پروتئین، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار ۱ و شاهد دارای افزایش بود که این افزایش از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P>0/05$) (جدول ۱).



شکل ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار (خطوط بالای نمودارها) ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای آزمایشی

Figure 1: Comparison of mean and standard deviation (error bars) of Food Conversion Ratio (FCR) in dietary treatments



شکل ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار (خطوط بالای نمودارها) ضریب رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی

Figure 2: Comparison of mean and standard deviation (error bars) of Specific Growth Ratio (SGR) of in dietary treatments

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشد ماهیان قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه‌ای (میانگین ± انحراف معیار)

Table 1: Comparison of growth indices of rainbow trout in dietary treatments (Mean ± SD)

Parameter	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Initial Weight (g)	52.82±1.16 [a]	50.72±2.14 [a]	53.70±1.71 [a]	52.25±0.86 [a]
Final Weight (g)	173.85±10.1 [ab]	178.02±7.16 [ab]	187.33±7.28 [a]	172.37±3.36 [b]
Final Length (cm)	24.31±1.16 [a]	24.55±0.37 [a]	25.07±0.37 [a]	24.31±0.23 [a]
Protein Efficiency Ratio	2.21±0.17 [a]	2.20±0.13 [a]	2.27±0.12 [a]	2.14±0.04 [a]
Condition Factor	1.20±0.02 [a]	1.20±0.01 [a]	1.18±0.00 [a]	1.19±0.01 [a]
Weight Gain Percentage	229±14.90 [a]	251.54±23.71 [a]	249.01±17.06 [a]	229.89±4.09 [a]

حروف کوچک غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد است.

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

ترکیبات بیوشیمیایی لاشه

در جدول ۲ تجزیه‌وتحلیل ترکیبات بدن ماهیان قزل‌آلا در پایان دوره آزمایش ارائه شده است. میزان پروتئین خام در تیمارهای تغذیه شده با مکمل اسید صفراوی به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود. هر چند در بین تیمارهای اسید صفراوی نیز تیمار ۱ با میزان ۰/۴۲±۶۲/۴۷ درصد افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). میزان چربی خام نیز در تیمار ۱ نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). کمترین میزان خاکستر در تیمارهای ۲ و ۳ به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). بالاترین میزان رطوبت نیز در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵).

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهیان نشان داد که گلوکز، تری گلیسیرید، آلبومین و لاکتات دهیدروژناز در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). این در حالی است که میزان کلسترول در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد دارای افزایش که در مورد تیمار ۳ این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین آنزیم

آسپارتات ترانس آمیناز در تیمار ۳ نسبت به تیمارهای شاهد و ۱ دارای اختلاف معنی‌دار و آنزیم آلانین ترانس آمیناز در تیمار ۳ دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). نتایج در مورد آنزیم آلکالین فسفاتاز حاکی از افزایش معنی‌دار در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارهاست (P<۰/۰۵). پروتئین تام و گلوبولین نیز در تیمار مذکور دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه ترکیب لاشه ماهیان قزل‌آلا در تیمارهای تغذیه‌ای (میانگین ± انحراف معیار)

Table 2: Comparison of carcass composition of rainbow trout in dietary treatments (Mean ± SD)

Parameter (%)	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Protein	62.47±0.42 [a]	59.55±0.9 [b]	58.67±0.51 [ab]	58.30±0.58 [c]
Fat	26.86±0.69 [b]	29.95±0.58 [a]	30.53±0.41 [a]	30.33±0.72 [a]
Ash	8.18±0.2[b]	7.52±0.31 [c]	7.46±0.12 [c]	8.88±0.56 [a]
Moisture	73.95±0.44 [a]	73.83±0.52 [a]	72.81±0.1 [b]	72.92±0.47 [b]

حروف کوچک غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد است.

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

جدول ۳: اثرات تیمارهای غذایی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (میانگین ± انحراف معیار)

Table 3: Effects of dietary treatments on the Serum Biochemical Factors of Rainbow trout (Mean ± SD)

Parameter	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Glucose	106.16±6.03 [a]	110.5±9.53 [a]	104.33±9.93 [a]	103.83±9.45 [a]
Triglycerides	478.16±74.6 [a]	438.66±32.06 [a]	493.83±83.99 [a]	361.16±62.77 [a]
Cholesterol	283.66±17.32 [ab]	278.83±15.39 [ab]	304.83±21.78 [a]	248.66±9.67 [b]
Aspartate Transaminase	278.5±23.96 [b]	343.83±36.17 [ab]	417±47.71 [a]	248.16±48.28 [b]
Alanine Aminotransferase	10.16±1.22 [ab]	10±.73 [ab]	12.5±1.25 [a]	8.5±.61[ab]
Alkaline Phosphatase	689.33±73.01 [a]	471.83±54.1 [b]	516.33±50.42 [b]	519.5±40.52 [b]
Albumin	1.96±0.11 [a]	1.93±0.04 [a]	2.03±0.04 [a]	1.86±0.04 [a]
Lactate Dehydrogenase	1642±467.74 [a]	3269.16±724.4 [a]	2646.16±745.51 [a]	1556.83±279.89 [a]
Total Protein	4.38±0.23 [ab]	4.26±0.15 [ab]	4.93±0.46 [a]	3.88±0.11 [b]
Globulin	2.41±0.15 [ab]	2.33±0.14 [ab]	2.9±0.47 [a]	2.01±0.1 [b]

حروف کوچک غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد است.

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

بحث

با توجه به عملکردهای فیزیولوژیک متعدد اسیدهای صفراوی در حیوانات، این مواد در سال‌های اخیر به عنوان یک افزودنی جدید خوراکی در صنعت آبزی‌پروری مجاز شده و توجه فزآینده‌ای را به‌خود معطوف نموده است (Yao *et al.*, 2021). استفاده طولانی‌مدت از رژیم‌های غذایی پرچرب به منظور بهبود استفاده از پروتئین و بهره‌وری آبزیان می‌تواند منجر به بروز اثرات نامطلوب مانند رسوب غیرطبیعی چربی و مشکلات سلامتی شود و رشد ماهی را کاهش دهد (Tan *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022). مطالعات انجام گرفته بر گونه‌های گوشتخوار مانند بأس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) نشان داد که اسیدهای صفراوی می‌توانند اثرات منفی رژیم‌های غذایی پرچرب را از طریق بهبود هضم و جذب چربی، ظرفیت آنتی اکسیدانی و وضعیت سلامت روده کاهش دهند (Yin *et al.*, 2021). همچنین مطالعه بر کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) نشان داد که مکمل اسیدهای صفراوی می‌تواند تنوع میکروبیوتای روده را افزایش دهد و عملکرد ایمنی را بهبود بخشد (Xiong *et al.*, 2018; Peng *et al.*, 2019). بنابراین، با توجه به مشکلات استفاده از چربی‌ها در ماهیان، فرموله کردن جیره‌های غذایی که بتواند کارایی خوراک را بهبود بخشد و باعث رشد سریع ماهی گردد، بسیار ضروری است.

در این مطالعه اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه نشان داد که میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم زیر ۱ به‌دست آمد که نشان‌دهنده بهترین عملکرد در بین تیمارهای آزمایشی است. همچنین ضریب رشد ویژه، میزان کارایی پروتئین و درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم نسبت به سایر تیمارها از افزایش نسبی برخوردار بود. در مطالعه Yujie و همکاران (۲۰۲۳) درصد افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در ماهیان هامور مرجانی (*Plectropomus leopardus*) بعد از تغذیه با جیره حاوی ۰/۳ درصد اسید صفراوی در مقایسه با گروه شاهد بعد از ۱۰ هفته افزایش معنی‌داری را نشان داد. علاوه‌برآن، ضریب تبدیل غذایی نیز در ماهیان تغذیه شده با سطح مذکور بهبود نسبی به‌دنبال داشت (Yujie *et al*., 2023). طی مطالعه Saiprasad و همکاران (۲۰۲۳b) ضریب تبدیل غذایی با افزودن اسید صفراوی به جیره تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) به طور معنی‌داری افزایش و درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و فعالیت پروتئاز کاهش نشان داد. بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی اسید صفراوی تجاری در ماهی کفال (*Liza ramada*) نشان داد که رشد در گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسید صفراوی به‌ویژه در سطح ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش داشت. همچنین تجزیه‌وتحلیل ترکیبات لاشه حاکی از کاهش میزان رطوبت و افزایش پروتئین خام بود (Abdel Tawwab *et al*., 2023). در مطالعه Yin و همکاران (۲۰۲۱) هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان افزایش وزن بدن ماهی بأس دهان‌بزرگ تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۹ درصد اسید صفراوی مشاهده نشد همان‌طوری‌که مکمل‌های غذایی حاوی سطوح کم اسید صفراوی نتوانست عملکرد رشد را در سیم دریایی (*Sparus microcephalus*) (Jin *et al*., 2019a) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Hang *et al*., 2022) بهبود بخشند. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که سطوح بالاتر اسید صفراوی باعث بهبود شاخص‌های رشد می‌شوند این در حالیست که رژیم غذایی حاوی اسید صفراوی بیش از حد (۱/۸ درصد)، بر عملکرد رشد ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) تأثیر منفی دارد (Kortner *et al*., 2016). این نشان می‌دهد که غلظت بهینه و بیش از حد اسید صفراوی در جیره می‌تواند مختص گونه باشد.

همچنین هیچ تأثیر قابل‌توجهی بر رشد یا کارایی تغذیه ماهی سیاه (*Acanthopagrous schlegelii*) تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۰۲ درصد اسید صفراوی مشاهده نشد. این می‌تواند به دلیل استفاده از رژیم غذایی با چربی کمتر یا سطوح اسید صفراوی خیلی کم بوده باشد. با این‌حال، دانستن نوع اسید صفراوی در مطالعات برای درک بهتر علل احتمالی بیشتر مفید خواهد بود. بنابراین، بهتر است نوع مناسب اسید صفراوی انتخاب گردد (Jin *et al*., 2019a). در واقع، استفاده از اسیدهای صفراوی در جیره غذایی می‌تواند اثرات مضری بر رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای داشته باشد که این می‌تواند به دلیل استفاده از سطوح بیش از حد یا به‌کارگیری انواع نامناسب اسید صفراوی باشد. برای مثال، افزودن نمک صفراوی گاو به میزان ۱/۸ درصد در یک رژیم غذایی مبتنی بر پودر ماهی باعث کاهش رشد ماهی آزاد اطلس بعد از ۷۷ روز گردید (Kortner *et al*., 2016). به عقیده Kortner و همکاران (۲۰۱۶) اثر منفی نمک‌های صفراوی گاو به دلیل غیرکونژگه و در نتیجه آبگریزتر بودن آنهاست که منجر به سمّیت سلولی بالاتر و همچنین کاهش خوش طعمی رژیم غذایی می‌گردد. مکمل اسیدهای صفراوی علاوه بر کاهش تجمع چربی در کبد ماهی، باعث بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ایمنی می‌شوند و مرگ سلولی را کاهش می‌دهند و از این طریق باعث سلامت کبد می‌گردند. مکمل اسیدهای صفراوی در یک رژیم غذایی با چربی و کربوهیدرات بالا باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید کبدی می‌شوند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را در ماهی بأس دهان بزرگ و شوریده را بهبود می‌بخشد (Guo *et al*., 2020; Ding *et al*., 2020; Yin *et al*., 2021). مطابق با نتایج این مطالعه، تجزیه‌وتحلیل ترکیبات لاشه در ماهی کفال (*Liza ramada*) تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی اسید صفراوی تجاری حاکی از کاهش میزان رطوبت و افزایش پروتئین خام بود (Abdel Tawwab *et al*., 2023). نتایج در مورد تأثیر اسیدهای صفراوی بر میزان پروتئین خام در ماهیان متناقض است به‌طوری‌که اسیدهای

صفراوی رژیم غذایی به طور قابل‌توجهی محتوای پروتئین خام کل بدن را در ماهی کپور علفخوار افزایش دادند که این می‌تواند به دلیل کاهش میزان گلوتامات دهیدروژناز استخوانی باشد که در کاتابولیسم اسید آمینه و پروتئین نقش دارند و عامل رشد شبه انسولین-۱ را تنظیم می‌کند و در نهایت سنتز پروتئین را برای رشد جسمی افزایش می‌دهد (Zhou *et al*., 2018). در مقابل در ماهی تیلاپیای نیل با افزایش اسیدهای صفراوی میزان پروتئین خام عضلانی به طور معنی‌داری کاهش نشان داد که می‌تواند به دلیل کاهش رشد و اثرات سایتوتوکسیک باشد (Jiang *et al*., 2018). در قزل‌آلای رنگین‌کمان نمک‌های صفراوی گاو (۱/۵ درصد) به طور قابل‌توجهی هضم پروتئین را کاهش می‌دهد، ولی بر محتوای پروتئین کل بدن تأثیری ندارد (Yamamoto *et al*., 2007). بنابراین، هنگام استفاده از اسیدهای صفراوی در جیره باید به نوع اسید صفراوی و سطح به‌کار گرفته شده توجه ویژه داشت، زیرا سطح بیش از حد اثرات سمّی را در سلول‌ها نشان می‌دهد (Romano *et al*., 2020) و باعث اختلال در گردش کبدی، تجمع کلسترول، استرس اکسیداتیو، آسیب میتوکندری و نکروز سلولی می‌گردد (Jiang *et al*., 2018; Peng *et al*., 2019). همچنین کمترین میزان چربی خام در تیمار ۱ و کمترین میزان خاکستر نیز در تیمارهای ۲ و ۳ به‌دست آمد. به طور کلی، رسوب کمتر چربی در کبد یا احشاء نشان‌دهنده عملکرد بالاتر فیله در وزن‌های مشابه است. شایان ذکر است، تغییرات میزان چربی خام لاشه به گونه ماهی، محتوای چربی رژیم غذایی و سطح اسیدهای صفراوی نسبت داده می‌شود (Yujie *et al*., 2023).

تجزیه‌وتحلیل نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهیان نشان داد که گلوکز، تری گلیسرید، آلبومین و لاکتات دهیدروژناز در بین تیمارهای آزمایشی، اختلاف معنی داری نشان نمی‌دهند درحالی‌که میزان کلسترول، پروتئین تام وگلوبولین در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری نشان داد. سطح گلوکز ماهیان قزل‌آلا در این مطالعه در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد. می‌توان گفت، فقدان اختلاف معنی‌دار در محتوای گلوکز سرم، حاکی از عدم تأثیر منفی بر سوخت‌وساز انرژی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است (Soltanzadeh *et al*., 2016). شایان ذکر است، مراحل مختلف آزمایش (پرورش، غذادهی، بیومتری و نمونه‌برداری)، در شرایط خوب و بدون استرس انجام گرفت. طی مطالعه Saiprasad و همکاران (۲۰۲۳b) پروتئین کل و کلسترول تام با افزودن اسید صفراوی به جیره تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی اسید صفراوی تجاری در ماهی کفال (*Liza ramada*) نشان داد که در گروه شاهد، کلسترول تام و تری‌گلیسیرید میزان بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها نشان دادند (Abdel Tawwab *et al*., 2023). همچنین Jiang و همکاران (۲۰۱۸) دریافتند که افزایش اسیدهای صفراوی به‌خصوص کولیک اسید در تیلاپیای نیل به طور معنی‌داری باعث افزایش کلسترول سرم، HDL و LDL می‌گردد زیرا هموستازی کلسترول کل بدن با جذب کلسترول خارجی، بیوسنتز کلسترول درونی و از طریق ارتباط با لیپوپروتئین‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از آن‌جایی‌که در مطالعه حاضر هیچ کلسترولی در رژیم‌های غذایی آزمایشی ارائه نشده، بنابراین کلسترول در ماهیان از بیوسنتز درون‌زا به‌دست آمده است.

محتوای پروتئین کل سرم با وضعیت غذیه‌ای و فیزیولوژی ماهی در ارتباط است (Miata, 2007; Peres *et al*., 2014). محتوای پروتئین کل سرم شاخص کلیدی در سوخت‌وساز جیره غذایی و کاهش آن ناشی از کاهش در هضم و سوخت و ساز جیره غذایی است (Soltanzadeh *et al*., 2016). در مطالعه حاضر، سطح پروتئین کل سرم در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد. پروتئین کل سرم و گلبولین، شاخص‌های خوبی برای تخمین فعالیت سیستم ایمنی در ماهیان هستند. تحقیقات نشان می‌دهد که بهبود عملکرد کبد و سایر ارگان‌های بدن که سنتز اجزاء پلاسما را به‌عهده دارند، منجر به افزایش سطح پروتئین‌های سرم خون می‌شود (Metwally, 2009). بنابراین، با توجه به نقشی که اسیدهای صفراوی در بهبود عملکرد سیستم ایمنی ایفاء می‌کنند، می‌توان گفت که افزایش پروتئین‌های سرم در نتیجه افزایش گلبول‌های سفید که منبع مهم تولید انواع

ترکیبات بیوشیمیایی است (لایزوزیم، شاخص‌های کمپلمان و پپتیدهای ضدباکتریایی)، افزایش می‌یابد (Misra *et al*., 2006). در نظر گرفتن این نکته نیز ضروری است که اسیدهای صفراوی به عنوان یک عامل سایتوتوکسیک برای سلول‌های کبدی شناخته شده‌اند (Malhi *et al*., 2010) که در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است که رژیم غذایی حاوی مکمل لیتوکولیک اسید منجر به کلستاز داخل کبدی و انفارکتوس صفرا در موش می‌گردد (Woolbright *et al*., 2014). همچنین تجمع اسید صفراوی واسطه اصلی آسیب کلستاتیک کبد انسان شناخته شده است (Woolbright *et al*., 2015). بنابراین، مطالعه آسیب‌های بافتی در حین کار بر اسیدهای صفراوی ضروری است.

فعالیت آنزیمی سرم اطلاعاتی مهّم در خصوص وضعیت عملکرد اندام‌های مختلف، به عنوان بخشی از غلظت آنزیم‌های سرمی و خارج سلولی ارائه می‌دهند (Peres *et al*., 2014). در مطالعات صورت گرفته، نوسانات در آنزیم‌ها اهمیّت پاسخ‌های فیزیولوژیک به خوراک را روشن می‌سازد و اهمیّت بررسی آنها به عنوان نشانگر زیستی در پیش‌بینی تأثیر خوراک بر عملکرد اندام‌ها را تأیید می‌نماید (Peres *et al*., 2013; 2014; Mozanzadeh *et al*., 2015). آنزیم‌های آلانین ترانس آمیناز و آسپارتات ترانس آمیناز مهم‌ترین آمینوترانسفرازهای شناخته شده در کبد ماهیان است. آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به گروه شاهد و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، آنزیم آلانین ترانس آمیناز در تیمار ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد. بررسی اثرات رژیم غذایی حاوی اسید صفراوی تجاری در ماهی کفال (*Liza ramada*) نشان داد که آنزیم‌های کبدی مانند آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های حاوی اسید صفراوی در مقایسه با گروه‌های بدون اسید صفراوی به طور قابل‌توجهی کمتر است (Abdel Tawwab *et al*., 2023). آنها از سلول‌های آسیب‌دیده کبد آزاد می‌شوند (Nelson and Cox, 2003). افزایش آنزیم‌های کبدی سرم را علاوه بر نقص در عملکرد کبد، در نتیجه تأثیر منفی بر سوخت‌وساز پروتئین (Peres *et al*., 2014; Ye *et al*., 2019)، نشان‌دهنده نقص روده و مجرای صفراوی عنوان کرده‌اند (Obomanu *et al*., 2009; Yu *et al*., 2010; Kashkooli *et al*., 2011). همچنان که در مطالعه Zhang و همکاران (۲۰۲۲) کاهش فعالیت آمینوترانسفراز سرمی خون در تیمار آزمایشی را به عنوان بهبود عملکرد کبد و مرتبط با کاهش آسیب اکسیداتیو کبد از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از مکمل در خوراک مطرح نمودند.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و بهبود نسبی شاخص‌های رشد و تغذیه، بیانگر عملکرد مثبت اضافه نمودن اسید صفراوی به میزان ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است، این در حالی است که تأثیرات افزایش آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در تیمار مذکور می‌بایست مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج برای فراهم کردن امکانات انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Latif, H.M.R., Basuini, M.F.E., Nokrashy, A.M., Khaled, A.A., Kord, M., Soliman, A., Zaki, M., Nour, A.F., Labib, E.M.H. and Khalil, H.S., 2023. Effects of exogenous bile acids (BAs) on growth, lipid profile, digestive enzymes, and immune responses of thinlip mullet, *Liza ramada*. *Scientific Reports*, 13:22875. DOI:10.1038/s41598-023-49788-6

AOAC, 2005. Official Methods of Analysis (18 Ed.). Gaithersburg: MD: Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 935 P.

Craig, S., Helfrich, L.A., Kuhn, D. and Schwarz, M.H., 2017. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperation Extension. 6 P

Das, S., Mondal, K. and Haque, S.J.G., 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(2):422-429.

Ding, T., Xu, N., Liu, Y., Du, J., Xiang, X., Xu, D. and Ai, Q., 2020. Effect of dietary bile acid (BA) on the growth performance, body composition, antioxidant responses and expression of lipid metabolism-related genes of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed high-lipid diets. *Aquaculture*, 518, 734768. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734768

El-Shenawy, A.M., Abeer, E.K.M., Alsokary, E.T. and Gad, D.M., 2020. Impact of carbohydrate to lipid ratio and bile salts supplementation on performance, body gain and body composition of Nile tilapia fish. *International Journal Fisheries and Aquatic Studi*es, 8(3):88-97. DOI:10.22271/fish

Guo, J.L., Kuang, W.M., Zhong, Y.F., Zhou, Y.L., Chen, Y.J. and Lin, S.M., 2020. Effects of supplemental dietary bile acids on growth, liver function and immunity of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed high-strach diet. *Fish and Shellfish Immunology*, 97:602-607. DOI:10.1016/j.fsi.2019.12.087

Hang, Y., Fu, Y., Jin, C. X., and Hua, X. M., 2022. Effects of supplemental amino acids and bile acid in a completely replaced fish meal by enzymatically hydrolysed soybean meal diet on growth performance, liver health and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 53(9):3297–3308. DOI:10.1111/are.15837

He, C., Jia, X., Zhang, L., Gao, F., Jiang, W., Wen, C. and Zhang, D., 2021. Dietary berberine can ameliorate glucose metabolism disorder of *Megalobrama amblycephala* exposed to a high-carbohydrate diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 499–513. DOI:10.1007/s10695-021-00927-8

Jiang, M., Wen, H., Gou, G.W., Liu, T.L., Lu, X. and Deng, D.F., 2018. Preliminary study to evaluate the effects of dietary bile acids on growth performance and lipid metabolism of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed plant ingredient-based diets. *Aquaculture Nutrition*, 24, 1175–1183. DOI:10.1111/anu.12656

Jin, M., Pan, T., Cheng, X., Zhu, T.T., Sun, P., Zhou, F. and Zhou, Q., 2019a. Effects of supplemental dietary l-carnitine and bile acids on growth performance, antioxidant and immune ability, histopathological changes and inflammatory response in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*) fed high-fat diet. *Aquaculture*, 504, 199-209. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.01.063

Jin, M., Pan, T., Tocher, D.R., Betancor, M.B., Monroig, O., Shen, Y. and Zhou, Q., 2019b. Dietary choline supplementation attenuated high-fat diet-induced inflammation through regulation of lipid metabolism and suppression of NFκB activation in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii). Journal of Nutritional Science*, DOI:10.1017/jns.2019.34

Jin, M., Zhu, T., Tocher, D.R., Luo, J., Shen, Y., Li, X. and Zhou, Q., 2020. Dietary fenofibrate

caused by high-lipid diet. *Aquaculture Nutrition*, 8998849. DOI:10.1155/2022/8998849

Lin, S.M., Shi, C.M., Mu, M.M., Chen, Y.J. and Luo, L., 2018. Effect of high dietary starch levels on growth, hepatic glucose metabolism, oxidative status and immune response of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Fish and Shellfish Immunology*, 78, 121–126. DOI:10.1016/j.fsi.2018.04.046

Liu, Y., Liu, N., Wang, A., Chen, N. and Li, S., 2021. Resveratrol inclusion alleviated highdietary- carbohydrate-induced glycogen deposition and immune response of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *British Journal of Nutrition*, 127, 165–176. DOI:10.1017/S0007114521000544

Madani, P., 2015. principles of Salmon farming. Avayehodhod Publishers, Tehran. 128 P.

Malhi, H., Guicciardi, M.E. and Gores, G.J., 2010. Hepatocyte death: a clear and present danger. *Physiological reviews*, 90(3):1165-1194. DOI:10:1152/physrev.00061.2009.

Metwally, M.A.A., 2009. Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1 (1):56-64.

Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. and Meher, P.K., 2006. The immunomodulatory effects of tuftsin on the non-specific immune system of Indian Major carp, *Labeo rohita*. *Fish and shellfish immunology*, 20:728-738. DOI:10.1016/j.fsi.2005.09.004

Mozanzadeh, M.T., Marammazi, J.G., Yavari, V., Agh, N., Mohammadian, T. and Gisbert, E., 2015. Dietary n−3 LC-PUFA requirements in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). attenuated high-fat-diet-induced lipid accumulation and inflammation response partly through regulation of pparα and sirt1 in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Developmental & Comparative Immunology*, 109, 103691. DOI:10.1016/j.dci.2020.103691

Kamalam, B.S., Medale, F. and Panserat, S., 2017. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: new insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. *Aquaculture*, 467, 3–27. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.02.007

Kashkooli, O.B., Dorcheh, E.E., Mahboobi-Soofiani, N. and Samie, A., 2011. Long-term effects of propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(3):315-318. DOI:10.1016/j.ecoenv.2010.10.014

Kortner, T.M., Penn, M.H., Bjrkhem, I., Masoval, K. and Krogdahl, A., 2016. Bile components and lecithin supplemented to plant based diets do not diminish diet related intestinal inflammation in Atlantic salmon. *BMC Veterinary Research*, 12(1):190. DOI:10.1186/s12917-016-0819-0

Li, W., Wen, X., Huang, Y., Zhao, J., Li, S. and Zhu, D., 2017. Effects of varying protein and lipid levels and protein-to-energy ratios on growth, feed utilization and body composition in juvenile Nibea diacanthus. *Aquaculture Nutrition*, 23, 1035–1047. DOI:10.1111/anu.12471

Li, T., Yan, X.B., Dong, X.H., Pan, S.M., Tan, B.P. and Zhang, S., 2022. Choline alleviates disorders of lipid metabolism in hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*)

Aquaculture, 448, pp.151-161. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.06.007

Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2003. Lehninger Principles of Biochemistry. 3rd Edition, Worth Publishers Incorporated., New York. pp 626- 845.

Obomanu, F.G., Gabriel, U.U., Edori, O.S. and Emetonjor, J.N., 2009. Biomarker enzymes in muscle tissue and organs of Clarias gariepinus after intramuscular injection with aqueous extracts of *Lepidagathis alopecuroides* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(12):995-1001. DOI:.5897/JMPR.9000309

Peng, X. R., Feng, L., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y. and Jiang, J., 2019. Supplementation exogenous bile acid improved growth and intestinal immune function associated with NF-kB and TOR signalling pathways in on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): enhancement the effect of protein-sparing by dietary lipid. *Fish and Shellfish Immunology*, 92, 552–569. DOI:10.1016/j.fsi.2019.06.047

Peres, H., Santos, S. and Oliva-Teles, A., 2013. Selected plasma biochemistry parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(3):630-636. DOI:https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.02049.x

Rifai, N., Bachorik, P.S., and Albers, J.J., 1999. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins.In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry.WBSaunders, Philadelphia, Pennsylvania, 809-861

Romano, N., Kumar, V., Yang, G., Kajbaf, K., Rubio, M.B., Overturf, K. and Hardy, R., 2020. Bile acid metabolism in fish: disturbances caused by fishmeal alternatives and some mitigating effects from dietary bile inclusions. *Review in Aquaculture*, 12, 1792–1817. DOI:10.1111/raq.12410

Saiprasad, B., Satkar, S.G., Ujjania, V.K., Kinnera, T., and Savaliya, B., 2023a. Bile acids in aquaculture nutrition: Enhancing growth, nutrient utilization, and sustainability. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 8(2):421-424. DOI:10.33545/26174693.2024.v8.i2Sf.615

Saiprasad, B., Parimal, S., Narottam, P., Shamna, N., Pankaj, K., Mritunjoy, P., Prasanta, J., Raghuvaran, N. and Bhava, T., 2023b. Bile Acid Improves Growth, Lipid Utilization and Antioxidative Status of Genetically Improved Farmed Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed With Varying Protein-lipid Diets Reared in Inland Saline Water. *Animal Feed Science and Technology*, 115677 P. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2023.115677

Soltani, M., Lymbery, A., Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, P., 2019. Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*, 11(4):1325-1341. DOI:10.1111/raq.12295

Soltanzadeh, S., Esmaeili Fereidouni, A., Ouraji, H. and Khalili, K.J., 2016. Growth performance, body composition, hematological, and serum biochemical responses of beluga (*Huso huso*) juveniles to different dietary inclusion levels of faba bean (*Vicia faba*) meal. *Aquaculture International*, 24, pp. 395-413. DOI:10.1007/s10499-015-9933-4

Tan, X.H., Sun, Z.Z., and Ye, C.X., 2019. Dietary lycium barbarum extract administration improved growth, meat quality and lipid metabolism in

hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *E. fuscoguttatus*♀) fed high lipid diets. *Aquaculture*, 504, 190–198. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.01.044

Thomas, L., 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt. 1727 P

Trichet, V.V., 2012. Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research*, 41:356-372. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02374.x.

Tripathi, G. and Verma, P., 2004. Fenvalerate-induced changes in a catfish, *Clarias batrachus*: metabolic enzymes, RNA and protein, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(1):75-79. DOI:10.1016/j.cca.2004.05.005

Wang, L., Zhang, W., Gladstone, S., Ng, W.K., Zhang, J. and Shao, Q., 2019. Effects of isoenergetic diets with varying protein and lipid levels on the growth, feed utilization, metabolic enzymes activities, and antioxidative status and serum biochemical parameters of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture*, 513, 734397. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734397

Wang, L., Sun, Y., Xu, B., Sagada, G., Chen, K., Xiao, J. and Shao, Q., 2020. Effects of berberine supplementation in high starch diet on growth performance, antioxidative status, immune parameters and ammonia stress response of fingerling black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture* 527, 735473. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735473

Wang, L., Xu, B., Sagada, G., Ng, W.K., Chen, K., Zhang, J. and Shao, Q., 2021. Dietary berberine regulates lipid metabolism in muscle and liver of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fed normal or high-lipid diets. *British Journal of Nutrition*, 125, 481–493. DOI:10.1017/S0007114520003025

Wang, L., Sagada, J., Wang, C., Liu, R., Li, Q., Zhang, C. and Yan, Y., 2023. Exogenous bile acids regulate energy metabolism and improve the health condition of farmed fish. *Aquaculture*, 562:1-10. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.738852

Woolbright, B.L., Li, F., Xie, Y., Farhood, A., Fickert, P., Trauner, M., and Jaeschke, H., 2014. Lithocholic acid feeding results in direct hepato toxicity independent of neutrophil function in mice. *Toxicology Letters*, 228, 56–66. DOI:10.1016/j.toxlet.2014.04.001

Woolbright, B.L., Dorko, K., Antoine, D.J., Clarke, J.I., Gholami, P., Li, F. and Jaeschke, H., 2015. Bile acid-induced necrosis in primary human hepatocytes and in patients with obstructive cholestasis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 283, 168–177. DOI:10.1016/ j.taap.2015.01.015

Xiong, F., Wu, S. G., Zhang, J., Jakovlic, I., Li, W. X. and Zou, H., 2018. Dietary bile salt types influence the composition of biliary bile acids and gut microbiota in grass carp. *Frontiers in Microbiology*, 9. DOI:10.3389/fmicb.2018.02209

Yamamoto, T., Goto, T., Tanaka, N., Furuita, H., Sugita, T., and Suzuki, N., 2007. Supplemental effects of essential amino acids and bile salts to a high-fat diet containing soybean meal, corn gluten meal and squid meal for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Science*, 55:115–123. DOI:10.11233/aquaculturesci1953.55.115

Yao, T., Gu, X., Liang, X., Fall, F.N., Cao, A., Zhang, S. and Xue, M., 2021. Tolerance assessment of dietary bile acids in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed a high plant protein diet. *Aquaculture* 543, 737012. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737012

Ye, H., Xu, M., Liu, Q., Sun, Z., Zou, C., Chen, L., Su, N. and Ye, C., 2019. Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance, feed utilization and physiological status of juvenile obscure puffer, *Takifugu obscurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 216, pp.75-81. DOI:10.1016/j.cbpc.2018.11.006

Yin, P., Xie, S., Zhuang, Z., He, X., Tang, X., Tian, L. and Niu, J., 2021. Dietary supplementation of bile acid attenuate adverse effects of high-fat diet on growth performance, antioxidant ability, lipid accumulation and intestinal health in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 531, 735864. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735864

Yu, J.H., Han, J.J. and Park, S.W., 2010. Haematological and biochemical alterations in Korean catfish, *Silurus asotus*, experimentally infected with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, 41(2), pp. 295-302. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02331.x

Yujie, G., Yifan, Y., Jie, H., Yuejia, S., Qingjun, W., Dingqian, G. and Shengpeng, W., 2023. Effect of dietary bile acids supplementation on growth performance, feed utilization, intestinal digestive enzyme activity and fatty acid transporters gene expression in juvenile leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*). *Frontiers in Marine Science*, 10:1-11. DOI:10.3389/fmars.2023.1171344

Zhang, Y., Feng, H., Liang, X.-F., He, S., Lan, J. and Li, L., 2022. Dietary bile acids reduce liver lipid deposition via activating farnesoid X receptor, and improve gut health by regulating gut microbiota in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*). *Fish and Shellfish Immunology*, 121, 265–275. DOI:10.1016/j.fsi.2022.01.010

Zhou, J.S., Chen, H.J., Ji, H., Shi, X.C., Li, X.X., Chen, L.Q. and Yu, H.B., 2018. Effect of dietary bile acids on growth, body composition, lipid metabolism and microbiota in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition*, 24, 802–813. DOI:10.1111/anu.12609.

Effect of different dietary bile acid supplementation (Runeon 1) levels on growth, performance, carcass composition, and serum biochemical factors in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Hosseini S.A.[1]; Ghaedi A.[2*]; Mahmoudi R.[1]; Sharifian M.[3]

[*]aliangler@gmail.com

1-Shahid Motahary Cold water Fishes Genetic and breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Yasoj, Iran.
2-Animal Science Research Department, Chaharmahal o bakhtiari Agriculture and Natural Resources and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran
3-Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Introduction

Ensuring food and nutritional security is a top issue for global food-producing sectors among the projections of a 60% increase in food consumption by 2050 due to population growth. To address this challenge sustainably, the food and feed industry must conserve resources while feeding a growing population (Saiprasad *et al*., 2023a). This rapid expansion of aquaculture has led to increased demand for protein sources for feed production (Wang *et al*., 2023) and straining the supply of natural protein ingredients, such as fishmeal and plant protein sources. As a necessary way to reduce protein inclusion levels in aquaculture feed, lipids and carbohydrates are extensively used. Lipids can serve as an energy source with high energy density, and fish has good lipid absorption and utilization ability. Carbohydrate is a cheaper energy source than lipids and protein, which also serves as a swelling and stabilizer agent in fish feed (Kamalam *et al*., 2017). However, numerous studies have demonstrated that long-time ingestion of a high lipid/carbohydrate diet causes disturbance of lipid metabolism, excessive hepatic lipid accumulation, and mitochondria stress, thus inducing fatty liver disease and affecting the physiological condition and growth of fish (Ding *et al*., 2020; Jin *et al*., 2019a; Jin *et al*., 2020; Lin *et al*., 2018; Wang *et al*., 2021; Wang *et al*., 2020). Using functional feed additives is an effective way to relieve hepatic metabolic stress and improve fish health which has drawn considerable attention in the aquaculture nutrition field. Up to now, L-carnitine (Jin *et al*., 2019a), choline (Jin *et al*., 2019b), herb extract (He *et al*., 2021; Liu *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021), and other feed additives showed positive effects on fish metabolic disorder. Bile acids (BAs) play important roles in lipid metabolism. They are synthesized from cholesterol exclusively by the liver. In the intestine, BAs act as detergents to emulsify and facilitate the absorption of dietary fats

and lipid-soluble vitamins. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of dietary BA supplementations on growth performance, carcass biochemical composition and Biochemical Factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Methodology

A 75- day feeding experiment was conducted to investigate the effects of dietary bile acids (BAs, Roneon 30%) on nutritional index, growth, carcass biochemical composition, Biochemical Factors and economic return coefficient of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). An experiment was designed with four treatments each with three replicates. Experimental diets were made by supplementing a control diet (BA0) with 300, 600 and 900 mg bile acid (BA) kg^{-1} diet, respectively. 600 juvenile rainbow trout average initial weight of 52±5 g (±SD) were assigned to twelve 2000 L experimental tanks. Fish were sampled on day 75 and growth performance indices including Food conversion ratio (FCR), Protein efficiency ratio (PER), Specific growth rate (SGR), Condition factor (CF), and Weight gain percentage (WGP) were compared among the treatments. Also carcass composition (protein, fat, ash, moisture) and bichemical factors of serum including Aspartate transaminase enzyme (AST), Alanine transaminase enzyme (ALT), Alkaline phosphatase enzyme (ALP), Lactate Dehydrogenase, Glucose, Triglyceride, Albumin and total protein were analyzed.

Results

At the end of the experiment food conversion ratio, (<1) in the treatment of 900 mg/kg showed the best performance among the experimental treatments. The final weight (187.33±7.28 g) had a significant difference compared to other treatments(P<0.05). Specific growth rate, Condition factor, Protein efficiency ratio and Weight gain percentage were improved in fish fed with diets 600 and 900 mg/kg bile acid supplementation compered with other treatments. Also Treatments receiving bile acid supplementation had more crude protein and less ash than the control treatment and the 300 and 600 mg treatments had higher moisture content than other treatments (P<0.05). Glucose, Triglyceride, Albumin and Lactate Dehydrogenase did not change by the addition of bile acid supplementation (P>0.05). Cholesterol content was significantly higher in fish fed diet containing 900 mg/kg bile acid supplementation compared with control group (P< 0.05). Aspartate transaminase enzyme in the treatment of 900 mg/kg compared to the control group and 300 mg/kg, Alanine transaminase enzyme in the treatment of 900 mg/kg and Alkaline phosphatase enzyme in the treatment of 300 mg/kg compared to other treatments showed significant differences (P<0.05) (Tables 1- 3).

Table 1: Comparison of growth indices of rainbow trout in dietary treatments (Mean ± SD)

Parameter	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Initial Weight (g)	52.82±1.16 [a]	50.72±2.14 [a]	53.70±1.71 [a]	52.25±0.86 [a]
Final Weight (g)	173.85±10.1 [ab]	178.02±7.16 [ab]	187.33±7.28 [a]	172.37±3.36 [b]
Final Length (cm)	24.31±1.16 [a]	24.55±0.37 [a]	25.07±0.37 [a]	24.31±0.23 [a]
Protein Efficiency Ratio	2.21±0.17 [a]	2.20±0.13[a]	2.27±0.12 [a]	2.14±0.04 [a]
Condition Factor	1.20±0.02 [a]	1.20±0.01 [a]	1.18±0.00 [a]	1.19±0.01 [a]
Weight Gain Percentage	229±14.90 [a]	251.54±23.71 [a]	249.01±17.06 [a]	229.89±4.09 [a]

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

Table 2: Comparison of carcass composition of rainbow trout in dietary treatments (Mean ± SD)

Parameter (%)	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Protein	62.47±0.42 [a]	59.55±0.9 [b]	58.67±0.51 [ab]	58.30±0.58 [c]
Fat	26.86±0.69 [b]	29.95±0.58 [a]	30.53±0.41 [a]	30.33±0.72 [a]
Ash	8.18±0.2 [b]	7.52±0.31 [c]	7.46±0.12 [c]	8.88±0.56 [a]
Moisture	73.95±0.44 [a]	73.83±0.52 [a]	72.81±0.1 [b]	72.92±0.47 [b]

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

Table 3: Effects of dietary treatments on the Serum Biochemical Factors of Rainbow trout (Mean ± SD)

Parameter	T1 (300 mg/kg)	T2 (600 mg/kg)	T3 (900 mg/kg)	Control (0 mg/kg)
Glucose	106.16±6.03 [a]	110.5±9.53 [a]	104.33±9.93 [a]	103.83±9.45 [a]
Triglycerides	478.16±74.6 [a]	438.66±32.06 [a]	493.83±83.99 [a]	361.16±62.77 [a]
Cholesterol	283.66±17.32 [ab]	278.83±15.39 [ab]	304.83±21.78 [a]	248.66±9.67 [b]
Aspartate Transaminase	278.5±23.96 [b]	343.83±36.17 [ab]	417±47.71 [a]	248.16±48.28 [b]
Alanine Aminotransferase	10.16±1.22 [ab]	10±.73 [ab]	12.5±1.25 [a]	8.5±.61 [ab]
Alkaline Phosphatase	689.33±73.01 [a]	471.83±54.1 [b]	516.33±50.42 [b]	519.5±40.52 [b]
Albumin	1.96±0.11 [a]	1.93±0.04 [a]	2.03±0.04 [a]	1.86±0.04 [a]
Lactate Dehydrogenase	1642±467.74 [a]	3269.16±724.4 [a]	2646.16±745.51 [a]	1556.83±279.89 [a]
Total Protein	4.38±0.23 [ab]	4.26±0.15 [ab]	4.93±0.46 [a]	3.88±0.11 [b]
Globulin	2.41±0.15 [ab]	2.33±0.14 [ab]	2.9±0.47 [a]	2.01±0.1 [b]

Different lowercase letters in the same row indicate statistically significant differences (P<0.05).

Discussion and conclusion

The changes of serum biochemical factors as well as the relative improvement of growth and nutrition factors indicated the positive performance of using 900 mg/kg bile acid supplementation in the diet of juvenile rainbow trout, while the effects of increasing Liver enzymes, the Serum Biochemical Factors in the mentioned treatment should be studied and investigated. Bile acid supplementation could also enhance crude protein and decrease of ash and moisture in treatment of 900 mg/kg while bile type, level and fish species must be considered. This study discusses these aspects in regard to fish nutrition to help increase the inclusion of dietary fishmeal alternatives and thus enhance aquaculture sustainability.

Conflict of Interest

We wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this study.

Acknowledgements

We wish to express our thanks to the chairman and experts of Shahid Motahhari Genetic and Breeding Center of Coldwater Fishes, Yasouj, Iran.