14(1) 451-458, Spring 2022

Journal of Animal Environment

(AEJ)

Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of livergol drug on growth performance and preservation of fatty liver in Koi (*Cyprinus carpio* var. Koi) fed with diets containing different level of fatty

Mohadeseh Ahmadi [1*]***, Abdolmajid Hajimoradloo*** [2]

[1] *Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran*

[2] *Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*

Key Words

Koi fish
Livergol
Growth index
Fatty liver

Abstract

Introduction: Livergol drug is made from an herbal extract of Mary Magenta. Milk thistle contains flavonoids and has hepatoprotective effects. The purpose of this study was to evaluate the effects of livergol drug on growth indices and prevention of fatty liver disease in different levels of fat in Koi fish diets.

Materials & Methods: For this experiment, 9 diets of different nutrients were prepared with 3 levels of 0, 0.5 and 1% of livergol and three levels of 5, 10 and 20% fat. The fish were fed for 150 days. After the end of breeding period, fish growth indices (end weight, weight gain, specific growth rate, survival rate and food conversion ratio) and samples of fish liver tissue were investigated.

Results: The results of the experiment showed that the final weight, body weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio were significant in the experimental treatments ($P \leq 0.05$). While survival did not show significant difference among treatments ($P \geq 0.05$). The highest growth indices were observed in treatment 8 (fat 20% + livergol 1%). The results of the experiment showed that among all treatments, the highest liver toxicity among the all groups was observed in treatment 6 containing 20% fat and without livergol.

Conclusion: The final result of the study showed that in all dietary fat treatments (5, 10 and 20%), adding livergol drug to the diet was probably due to the presence of silimarin reduced liver lesions in Koi fish.

* Corresponding Author's email: mahdisahmadi6241@gmail.com

Received: 29 December 2020; Reviewed: 31 January 2021; Revised: 2 April 2021; Accepted: 9 May 2021

(DOI): 10.22034/AEJ.2021.282955.2514

مقاله پژوهشی

تاثیر خوراکی افزودنی لیورگل بر شاخص‌های رشد و پیشگیری از عارضه کبد چرب ماهی کوی (*Cyprinus carpio var. Koi*) تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی سطوح مختلف چربی

محدثه احمدی [۱*]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو [۲]

[۱] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
[۲] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

کلمات کلیدی

ماهی کوی
لیورگل
شاخص رشد
کبد چرب

چکیده

مقدمه: لیورگل از عصاره گیاهی خارمریم تهیه می‌شود. خارمریم محتوی فلاوانولیگنان‌ها می‌باشد و دارای اثرات محافظت‌کننده کبدی است. در این آزمایش به بررسی اثرات خوراکی لیورگل بر شاخص‌های رشد و پیشگیری از عارضه کبد چرب در سطوح مختلف چربی جیره ماهی کوی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: برای این آزمایش ۹ جیره غذایی مختلف با ۳ سطح ۰، ۰/۵ و ۱ درصد لیورگل با سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد چربی تهیه گردید. غذادهی به ماهیان به‌مدت ۱۵۰ روز انجام شد. پس از پایان دوره پرورش، شاخص‌های رشد ماهی (وزن انتهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی) و نمونه‌برداری از بافت کبد ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج آزمایش نشان داد وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در میان تیمارهای آزمایشی معنی‌دار بود ($P<0/05$)، درحالی‌که بازماندگی در میان تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). بالاترین شاخص‌های رشد در تیمار ۸ (چربی ۲۰ درصد+داروی لیورگل ۱ درصد) مشاهده شد. هم‌چنین نتایج آزمایش نشان داد که در بین تمام تیمارهای‌آزمایش بیش‌ترین عارضه کبدی در تیمار ٦ که حاوی جیره غذایی ۲۰ درصد چربی و بدون داروی لیورگل بود مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: نتیجه‌نهایی تحقیق نشان‌داد در تمام تیمارهای‌چربی جیره‌غذایی (۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) اضافه کردن داروی لیورگل به جیره غذایی احتمالاً به‌علت وجود سیلی مارین باعث کاهش ضایعات کبدی در ماهی کوی گردید.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mahdisahmadi6241@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹ دی ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱۲ بهمن ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱۳ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش ۱۹ اردیبهشت ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.282955.2514

مقدمه

دلیل اصلی انجام مطالعات وسیع در تغذیه ماهیان، پرورش متراکم ماهی به‌صورت صنعتی می‌باشد. تاکنون به‌منظور تولید جیره‌های غذایی مصنوعی که هم رشد سریع ماهی را فراهم آورد و هم از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه باشد، کوشش‌های فراوانی صورت گرفته است. با توجه به هزینه بالای تامین منابع پروتئینی بایستی تا حدامکان برای تامین انرژی جیره غذایی از منابع غیرپروتئینی شامل چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها استفاده گردد (۱). از طرفی وجود مقادیر کافی این منابع غیرپروتئینی در جیره از اکسیداسیون پروتئین به‌منظور تولید انرژی جلوگیری می‌نماید و پروتئین برای رشد و تولید بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). چربی‌ها دارای بالاترین میزان انرژی (تقریباً ۹/۴ کیلوکالری انرژی به‌ازای هر گرم) در مقایسه با کربوهیدرات‌ها (۴/۱ کیلوکالری انرژی به‌ازای هر گرم) و پروتئین (۵/۶ کیلوکالری انرژی به‌ازای هر گرم) هستند. هم‌چنین چربی‌ها در جیره غذایی به‌عنوان منبعی برای اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی (A، D، E و K) از اهمیت زیادی برخوردارند و سبب سهولت در هضم و جذب این ویتامین‌ها می‌شوند (۳). چربی نقش مهمی را به‌عنوان منبع تامین‌کننده انرژی برای رشد و تکامل ماهیان ایفا می‌کند (۴). چربی بالای جیره هم‌چنین ممکن است باعث افزایش ذخیره چربی در بدن شود. در بیش‌تر ماهیان ذخیره کردن چربی محدود بوده و چربی اضافی در جیره می‌تواند به‌داخل کبد نفوذ کند و در داخل آن تجمع یابد و باعث ایجاد بیماری لیپوئیدوزیس (کبد چرب) گردد (۵). در گونه‌های مختلف ماهی توانایی ذخیره کردن و متابولیسم چربی‌های اضافی موجود در جیره غذایی تا حد زیادی متفاوت است. در کپور ماهیان این توانایی محدود است و چربی اضافی موجود در جیره می‌تواند به‌داخل کبد نفوذ کند و در داخل آن تجمع یابد و باعث ایجاد بیماری لیپوئیدوز گردد (۶). به‌طورکلی غذای مصرفی ماهی باید تمام نیازمندی‌های سوخت و ساز بدن آن‌ها را تامین نماید و متناسب با ویژگی‌های گوارشی باشد تا آنزیم‌های بدن ماهی بتوانند آن‌ها را هضم و جذب نمایند. کمبود هریک از مواد غذایی مثل پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، موادمعدنی و ویتامین‌ها می‌توانند موجب بیماری‌های تغذیه‌ای شوند. از طرف دیگر افزایش بیش از حد مواد فوق در جیره غذایی هم می‌تواند باعث بروز ضایعات مختلف مانند دژنرسانس چربی کبد شود (۷). خارمریم یا Gaertn با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی است یک تا دوساله با رنگ بنفش و خاردار که ساقه‌ای به طول ۱۲۵-۳۵ سانتی‌متر دارد (۸). از میوه‌های (دانه و بذر) خار مریم ماده‌ای به نام سیلی‌مارین که خود شامل چهار ایزومر اصلی به نام‌های سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین، سیلی‌دیانین و سیلی‌کریستین می‌باشد استخراج شده‌اند که بیش‌ترین اثرات گیاه را به این دسته از مواد نسبت داده‌اند (۹). از آن‌جایی‌که آسیب‌های کبدی معمولاً به‌دلیل ایجاد رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی به‌وقوع می‌باشد، محققین ترکیبات خاصی مثل تثبیت‌کننده‌های غشاء، آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی و مصنوعی و مهار کننده‌های مسیر متابولیسم را به‌عنوان مواد محافظ و درمان‌کننده در مقابل مسمومیت‌های کبدی مورد استفاده قرار داده‌اند (۲). مطالعات نشان می‌دهند که گیاهان دارویی می‌توانند به‌دلیل داشتن آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی نقش به‌سزایی در بهبود بیماری‌های کبدی ایفا کنند (۱۰). در این خصوص سیلی‌مارین داروی گیاهی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بوده و سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. به‌علاوه دارای اثرات ضدالتهابی بوده و سبب مقاومت در برابر تخلیه ذخایر گلوتاتیون شده و به‌هنگام آسیب پارانشیم کبد، سنتز پروتئین توسط هپاتوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (۱۱). امروزه آسیب‌های مزمن کبدی یکی از بیماری‌های شایع در جهان است. از علائم مشخصه این عارضه التهاب، نکروز و فیبروزه شدن کبد می‌باشد. اخیراً نقش چربی‌ها و استرس‌های اکسیداتیو در بروز بیماری‌های کبدی به‌اثبات رسیده است. تحقیقات نشان داده‌اند که مصرف مواد غذایی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یا اسیدهای چرب غیراشباع می‌توانند در پیشگیری از این عارضه موثر باشند. اثر محافظت کبدی سیلی‌مارین در چندین تحقیق حیوانی و انسانی گزارش شده است. در این گزارش‌ها آسیب‌های کبدی ایجاد شده توسط تترا کلریدکربن، گالاکتوآمین و الکل توسط سیلی‌مارین محافظت و ترمیم شده است (۱۲). یکی از مهم‌ترین اثرات محافظت کبدی سیلی‌مارین در مهار مسمومیت شدید توسط قارچ‌های سمی آمانیتا فالویدیس می‌باشد. آمانیتین و فالودین در پپتید موجود در قارچ سمی از قوی‌ترین مواد نابودکننده سلول‌های کبدی می‌باشند. سیلی‌مارین اثر محافظت کبدی ۱۰۰ درصد در برابر این مواد سمی را از خود نشان می‌دهد (۱۲). در مطالعات بالینی مصرف سیلی‌مارین در درمان بیماری‌های کبدی ازجمله سیروز، هپاتیت ویروسی و سمی مزمن، کبد چرب و التهاب مجرای صفرا اثرات شفابخشی نشان داده است که ادعا می‌شود این اثرات به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، آنتی لیپید پراکسیداز، آنتی فیبروتیک، ضدالتهاب، تنظیم ایمنی بدن، اثر بازسازی سلولی کبد و کاهش متابولیسم کلسیم توسط سیلی‌مارین می‌باشد. داروی لیورگل قرص‌های روکشدار حاوی گرانول عصاره خشک میوه خار مریم (*Silybum marianum*) می باشد. خار مریم محتوی فلاوانولیگنان‌ها مانند سیلی‌بین، سیلی‌کریستین، سیلی‌دیانین و مشتقات ۲ و ۳ دهیدرو می‌باشد (۱۳). مجموعه این فلاوانولیگنان‌ها را سیلی‌مارین می‌نامند و همگی دارای اثرات محافظت‌کننده کبدی می‌باشند. ماهی کوی از خانواده کپورماهیان (*Cyprinidae*) و بومی شرق آسیا بوده و به‌لحاظ

شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی می‌باشد. ماهی کوی یک ماهی مقاوم است و می‌تواند به‌عنوان یک گونه مناسب جهت مدل‌سازی در مطالعات تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد. هدف از انجام این آزمایش تعیین اثرات اضافه نمودن مقادیر مختلف لیورگل در جیره غذایی حاوی سطوح مختلف چربی روی شاخص‌های رشد و پیشگیری از عارضه کبد چرب در ماهی کوی است.

مواد و روش‌ها

تهیه بچه‌ماهی و پرورش آن جهت آماده‌سازی برای آزمایش: در این آزمایش بچه‌ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. Koi) با میانگین وزنی ۱±۱۰ گرم در مردادسال ۱۳۹۸ از کارگاه تکثیر ماهیان کوی در شهر رشت خریداری شدند. بچه‌ماهیان پس از گذراندن یک دوره ۱۴ روزه برای سازگاری با شرایط محیط پرورش، در تانک‌های ۴۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. بچه‌ماهیان به‌صورت تصادفی در ۹ گروه تیمار تقسیم شدند. برای هر تیمار ۳ تکرار درنظر گرفته شد و در هر تکرار ۱۵ عدد بچه‌ماهی کوی ذخیره گردید. در مجموع از ۴۰۵ بچه‌ماهی کوی استفاده شد. دمای آب در زمان پرورش در حدود ۲۷ درجه سانتی‌گراد بود. ماهی‌ها ۳ نوبت در هر روز به مقدار ۳ درصد وزن بدن به‌صورت دستی تغذیه شدند. غذادهی به ماهیان به‌مدت ۱۵۰ روز انجام گردید. روزانه ۲۰ درصد حجم تانک‌ها به‌منظور خروج فضولات و غذای خورده نشده تعویض شد.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: در این آزمایش به‌منظور بررسی اثرات اضافه نمودن مقادیر مختلف لیورگل (حاوی ۱۴۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین، گل دارو، ایران) در جیره غذایی حاوی سطوح مختلف چربی در پیشگیری از بیماری کبد چرب، ۹ جیره غذایی مختلف با ۳ سطح ۰، ۰/۵ و ۱ درصد داروی لیورگل و سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد چربی به غذای ماهی کوی اضافه شد. مواد تشکیل‌دهنده جیره از کارخانه تولید خوراک دام، طیور و آبزیان تهیه می‌شود. پس از آماده نمودن اقلام مورد نیاز، ۹ جیره آزمایش با مقادیر مختلف داروی لیورگل و چربی ساخته شد. جیره‌های غذایی پس از ساخته شدن، بسته‌بندی و تا زمان مصرف در فریزر در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

جدول ۱: اجزای غذایی و آنالیز جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف چربی همراه با مقادیر مختلف داروی لیورگل در ماهی کوی

اجزای جیره	تیمار شاهد (۵٪ چربی و ۰٪ لیورگل)	تیمار یک (۵٪ چربی و ۰/۵٪ لیورگل)	تیمار دو (۵٪ چربی و ۱٪ لیورگل)	تیمار سه (۱۰٪ چربی و ۰٪ لیورگل)	تیمار چهار (۱۰٪ چربی و ۰/۵٪ لیورگل)	تیمار پنج (۱۰٪ چربی و ۱٪ لیورگل)	تیمار شش (۲۰٪ چربی و ۰٪ لیورگل)	تیمار هفت (۲۰٪ چربی و ۰/۵٪ لیورگل)	تیمار هشت (۲۰٪ چربی و ۱٪ لیورگل)
پودر ماهی	۲۷	۲۷	۲۷	۲۷	۲۷	۲۷	۲۵	۲۵	۲۵
پودر سویا	۱۸/۷	۱۸/۷	۱۸/۷	۲۰	۲۰	۲۰	۲۱/۵	۲۱/۵	۲۱/۵
بایندر	۱	۱	۱	۳	۳	۳	۵	۵	۵
آرد جو	۷/۸۵	۷/۸۵	۷/۸۵	۶/۸۵	۶/۵۵	۶/۳۵	۵	۵	۵
گلوتن	۶/۵۰	۶/۵۰	۶/۵۰	۴	۴	۴	۲/۵	۲/۲	۲
آرد گندم	۲۶/۸	۲۶/۵	۲۶/۳	۲۴	۲۴	۲۴	۲۲/۸	۲۲/۸	۲۲/۸
روغن ماهی	۹	۹	۹	۱۲	۱۲	۱۲	۱۵	۱۵	۱۵
متیونین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
لیزین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
مکمل ویتامینه	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
آنتی‌اکسیدان	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ضدقارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
داروی لیورگل	۰	۰/۵	۱	۰	۰/۵	۱	۰	۰/۵	۱
آنالیز جیره‌ها (درصد)									
پروتئین	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۴۰/۲
چربی	۵	۵	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۲۰	۲۰	۲۰
رطوبت	۶/۱	۶/۱	۶/۱	۶/۱۵	۶/۱۵	۶/۱۵	۶/۹۵	۶/۹۵	۶/۹۵
خاکستر	۴/۸	۴/۸	۴/۸	۴/۶۰	۴/۶۰	۴/۶۰	۴/۱۰	۴/۱۰	۴/۱۰
انرژی(کیلوژول بر کیلوگرم)	۳۸۰۰	۳۸۰۰	۳۸۰۰	۳۸۵۰	۳۸۵۰	۳۸۵۰	۳۹۰۰	۳۹۰۰	۳۹۰۰

زیست‌سنجی، تغذیه ماهیان و محاسبه شاخص‌های رشد ماهی: بچه‌ماهیان هر ۳۰ روز یک‌بار بعد از بی‌هوشی با گل میخک زیست‌سنجی شدند و متعاقباً مقدار غذای متناسب با دوره ۳۰ روزه بعدی محاسبه می‌شد. پس از پایان دوره پرورش، شاخص‌های رشد ماهی (وزن انتهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و میزان بازماندگی آن‌ها از طریق معادلات زیر محاسبه گردید (۱۴):

میانگین وزن نهایی- میانگین وزن ابتدایی= افزایش وزن بدن

[(لگاریتم طبیعی وزن نهایی-لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی)×(طول دوره پرورش)]×۱۰۰= نرخ رشد ویژه (٪)

=میانگین غذای خورده شده×(میانگین وزن به‌دست آمده)= ضریب تبدیل غذایی

[(تعداد تلفات-تعداد کل ماهیان)×تعداد کل ماهیان]×۱۰۰= بازماندگی(٪)

نمونه‌برداری از بافت کبد ماهیان: بچه‌ماهیان به‌مدت ۱۵۰ روز با جیره‌های آزمایش مورد تغذیه قرار گرفتند. نمونه‌برداری از بافت کبد ماهیان در انتهای دوره آزمایش انجام گرفت. برای این کار ۶ ماهی از هر تیمار انتخاب شد. کبدها ابتدا از نظر ظاهری بررسی شده و پس از ثبت وضعیت ظاهری بلافاصله در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده تا به آزمایشگاه آسیب‌شناسی منتقل شوند. در آزمایشگاه آسیب شناسی، از بافت‌ها مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد و پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی اسلایدهای بافتی تهیه شده، از میکروسکوپ نوری (Olympus CX21، ژاپن) مجهز به دوربین با بزرگ‌نمایی ۲۰ استفاده گردید (۱۵).

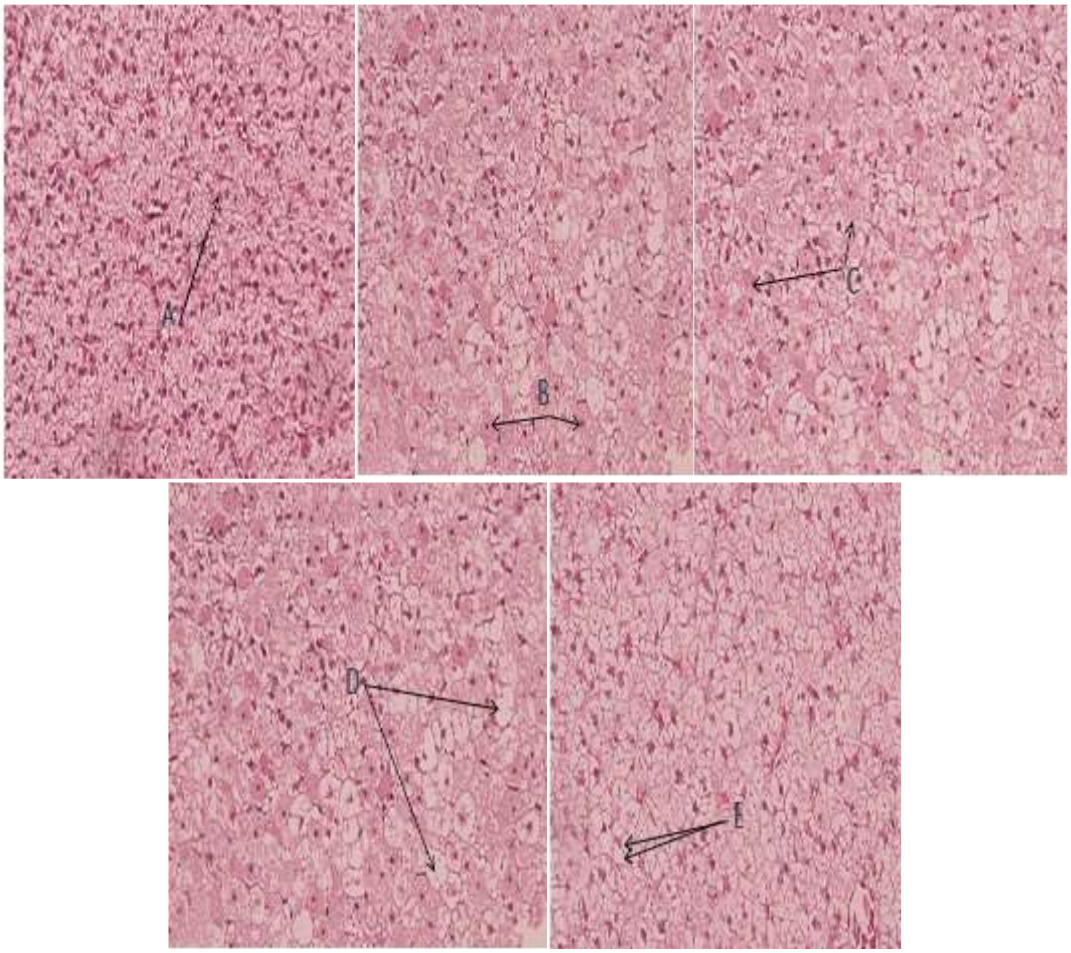
تجزیه و تحلیل های آماری: تمام داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف استاندارد ارائه شده‌اند. پراکنش نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف- اسمیرنوف مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 و با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. از آزمون دانکن به‌منظور مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد (۱۶).

نتایج

شاخص‌های رشد ماهیان کوی تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ بیان شده است. وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در میان تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$) ولی بازماندگی در میان تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). بالاترین وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با جیره آزمایشی هشت (چربی ۲۰ درصد+ داروی لیورگل ۱ درصد) مشاهده شد. در شکل ۱، انواع عوارض هیستوپاتولوژیک کبد ماهی کوی مورد آزمایش نشان داده شده است. انواع و شدت ضایعات کبد در تیمارهای مختلف در جدول ۳ آورده شده است. نتایج به‌دست آمده از جدول ۳ نشان می‌دهد از بین ماهیانی که از جیره غذایی حاوی ۵ درصد چربی تغذیه شدند (تیمار شاهد، تیمار ۱ و تیمار ۲) بیش‌ترین عارضه کبدی در تیمار شاهد که حاوی جیره غذایی ۵ درصد چربی و بدون داروی لیورگل بود مشاهده شد. هم‌چنین از بین ماهیانی که از جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد چربی استفاده کرده بودند (تیمار ۳ تا تیمار ۵) بیش‌ترین عارضه کبدی در تیمار ۳ که حاوی جیره غذایی ۱۰ درصد چربی و بدون داروی لیورگل و کم‌ترین عارضه کبدی در تیمار ۵ که حاوی جیره غذایی ۱۰ درصد چربی+داروی لیورگل ۱ درصد بود؛ مشاهده گردید. هم‌چنین از بین ماهیانی که از جیره غذایی حاوی ۲۰ درصد چربی استفاده کرده بودند (تیمار ۶ تا تیمار ۸) کم‌ترین عارضه کبدی در تیمار ۸ که حاوی جیره غذایی ۲۰ درصد چربی+ داروی لیورگل ۱ درصد بود مشاهده شد. در بین تمام تیمارهای آزمایش بیش‌ترین عارضه کبدی در تیمار ۶ که حاوی جیره غذایی ۲۰ درصد چربی و بدون داروی لیورگل بود مشاهده شد. هم‌چنین در تیمار ۱ و تیمار ۲ که به‌ترتیب حاوی جیره غذایی ۵ درصد چربی+داروی لیورگل ۰/۵ درصد و جیره غذایی ۵ درصد چربی+ داروی لیورگل ۱ درصد بود هیچ‌گونه عارضه کبدی مشاهده نشد.

جدول۲: وضعیت شاخص‌های رشد ماهی کوی در طول دوره تغذیه با جیره‌های آزمایشی

تیمارها	جیره شاهد	جیره یک	جیره دو	جیره سه	جیره چهار	جیره پنج	جیره شش	جیره هفت	جیره هشت
وزن ابتدایی	۱۰/۵۹ ± ۱	۱۰/۶۴ ± ۱/۲	۱۰/۶۴ ± ۱/۲۴	۱۰/۶۳ ± ۰/۹۸	۱۰/۶۵ ± ۱	۱۰/۶۶ ± ۰/۸	۱۰/۶۴ ± ۱	۱۰/۶۶ ± ۱/۲	۱۰/۶۵ ± ۱/۱
وزن انتهایی	۵۲/۲۴ ± ۱/۹^{d}	۵۲/۳۵ ± ۱/۶^{d}	۵۳/۴۲ ± ۱/۷^{cd}	۵۵/۱۹±۱/۳۴^{c}	۵۶/۳۶±۱/۴۰^{b}	۵۷/۱۷±۱/۳۴^{b}	۵۸/۴۰ ±۲/۴۲^{ab}	۵۹/۱۲ ±۲/۱۱^{a}	۶۰/۴۹±۱/۸۵^{a}
افزایش وزن بدن	۴۲/۴۶ ± ۱/۱۳^{f}	۴۲/۲۸ ± ۱/۳۶^{ef}	۴۳/۲۹ ±۱/۳۳^{e}	۴۵/۳۰±۱/۳۴^{d}	۴۶/۴۲±۱/۷۵^{c}	۴۷/۱۶ ±۱/۸۴^{c}	۴۷/۱۵ ± ۱/۷۰^{b}	۴۹/۵۲±۱/۶۹^{ab}	۵۰/۶۲±۱/۷۶^{a}
نرخ رشد ویژه (٪)	۰/۹۴ ± ۰/۰۴^{f}	۱/۰۲ ± ۰/۰۵^{e}	۱/۰۵ ± ۰/۰۳^{de}	۱/۰۵ ±۰/۰۵^{de}	۱/۱۰ ±۰/۰۴^{cd}	۱/۱۱ ± ۰/۰۵^{c}	۱/۱۴ ± ۰/۰۷^{c}	۱/۲۱ ± ۰/۰۴^{b}	۱/۲۷ ± ۰/۰۵^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۷۵ ± ۰/۱۱^{b}	۱/۶۹ ± ۰/۱۵^{b}	۱/۶۵ ± ۰/۱۷^{b}	۱/۵۷ ±۰/۱۲^{ab}	۱/۴۵ ±۰/۱۵^{ab}	۱/۳۸ ±۰/۱۶^{ab}	۱/۴۸ ± ۰/۱۹^{ab}	۱/۳۸ ± ۰/۱۹^{ab}	۱/۲۵ ± ۰/۲۲^{a}
بازماندگی(٪)	۸۸/۳۲ ± ۱/۴۴	۹۱/۴۲ ± ۳/۲۰	۹۲/۵۵ ± ۲/۱۵	۹۱/۲۷ ± ۱/۲۴	۹۱/۱۵ ±۲/۳۲	۹۱/۳۱ ± ۳/۱۲	۹۰/۴۵ ± ۱/۸۶	۹۰/۱۰ ± ۳/۲۰	۹۳/۱۹ ±۲/۲۰



شکل ۱: انواع عوارض هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در کبد ماهی کوی
A (بافت سالم کبد)، B (تورم ابری)، C (دژنره شدن)، D (لیپیدوزیس)، E (نکروز)

جدول ۳: عوارض هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در کبد ماهی کوی در جیره های آزمایشی

تیمارها	ضایعات کبدی			
	تورم ابری	دژنره شدن	چرب شدگی (لیپیدوزیس)	نکروز
شاهد	+	–	–	–
تیمار ۱	–	–	–	–
تیمار ۲	–	–	–	–
تیمار ۳	+	+	+	–
تیمار ۴	+	+	–	–
تیمار ۵	+	–	–	–
تیمار ۶	++	+	+	++
تیمار ۷	+	+	+	–
تیمار ۸	+	+	–	–

عدم مشاهده عارضه (–)، ضعیف (+)، متوسط (++)، شدید (+++)

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در یک مقدار پروتئین ثابت و انرژی قابل هضم بین ۳۸۰۰ تا ۳۹۰۰ کیلوژول بر کیلوگرم جیره، با افزایش میزان چربی تا سطح ۲۰ درصد جیره تمامی شاخص‌های رشد در ماهی کوی بهبود یافتند. افزایش سطح چربی جیره‌های غذایی از ۵ به ۱۰ و ۲۰ درصد هم‌زمان باعث افزایش میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه گردید و رشد بهتر بچه‌ماهیان را به‌دنبال داشته است. افزایش میانگین شاخص‌های فوق متناسب با افزایش سطح چربی جیره‌های غذایی نشان‌دهنده تامین بهتر انرژی مورد نیاز فرآیندهای متابولیسمی بوده و از طریق ایجاد امکان قرار گرفتن پروتئین در مسیر اصلی خود بهبود عملکرد رشد جیره‌های غذایی و درنتیجه رشد بهتر بچه‌ماهی‌ها را به‌دنبال داشته است (۱۷). لذا می‌توان چنین استنباط کرد که افزایش مقدار چربی در جیره‌های

غذایی تا حد معینی که تامین‌کننده نسبت مناسب بین انرژی و پروتئین باشد امکان‌پذیر است. درخصوص ماهی کاراس (*Carassius auratus*) نیز نتایج مشابهی به‌دست آمده و مشخص گردید که افزایش میزان چربی جیره می‌تواند رشد بهتر و راندمان بهتر مصرف غذا را ایجاد نماید (۶). هم‌چنین Neverian و همکاران، در مطالعاتی که بر روی اثرات سطوح مختلف چربی روی شاخص‌های رشد در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام دادند گزارش کردند که بهترین عملکرد رشد در جیره حاوی ۲۰ درصد چربی می‌باشد (۱۸) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. Shymaa و همکاران، گزارش کردند که با افزایش چربی جیره ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) از ۱۰ به ۱۵ درصد، تمامی شاخص‌های رشد افزایش پیدا کرد (۱۹). Schuchardt و همکاران، با تحقیق خود بر روی فیل ماهی (*Huso huso*) به این نتیجه رسیدند که میزان افزایش وزن با افزایش چربی از ۱۰ به ۲۰ درصد در جیره غذایی بهبود یافت (۲۰). Li و همکاران، در مطالعاتی که روی ماهی سیم بدون پوزه (*Megalobrama amblycephala*) انجام دادند نشان دادند که افزایش چربی جیره باعث افزایش رشد در این ماهیان شده است (۲۱). نتایج مطالعات ذکر شده با نتایج به‌دست آمده از تحقیق جاری هم‌خوانی داشت. Chai و همکاران، گزارش دادند که افزایش چربی در جیره ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) از ۱۰ به ۲۰ درصد تفاوت معنی‌داری در میزان افزایش وزن حاصل نگردید (۲۲). نتایج مشابه در مطالعات Yang و همکاران، بر روی ماهی مکنده چینی (*Myxocyprinus asiaticus*) به‌دست آمد که نشان داد با افزایش سطح چربی جیره، شاخص‌های رشد کاهش یافت (۱۴). هم‌چنین Du و همکاران، کم‌ترین میزان کارایی رشد در ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) را در جیره‌های حاوی بیش‌ترین میزان چربی گزارش کردند (۲۳) که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق هم‌خوانی نداشت. تفاوت در نتایج مطالعات فوق و نتایج به‌دست آمده از این تحقیق ممکن است به‌دلیل شرایط مختلف پرورش مانند روش‌های تغذیه‌ای، نوع گونه، اختلاف در اندازه ماهی، دمای آب، فرمول جیره و تراکم ذخیره‌سازی باشد (۲۴). امروزه به‌خوبی مشخص شده که ترکیب شیمیایی و عملکرد رشد در ماهی می‌تواند با تغییر جیره غذایی تحت تاثیر قرار گیرد. Ebrahimi و همکاران، گزارش شده است که سیلی‌مارین سبب افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین می‌شود (۲۵). به‌علاوه این محققین بیان کردند که اثرات سیلی‌مارین در کل دوره پرورش بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار بود. سیلی‌مارین از طریق فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی باعث بهبود اشتها و تحریک ترشح مواد هضمی و نیز بهبود مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌های گوشتی می‌شود (۲۵). براساس یافته‌های پژوهشگران، استفاده از خار مریم و ترکیبات موثر آن، به دلیل اثرات مثبت بر فعالیت دستگاه گوارش و کاهش میکروب‌های بیماری‌زا، باعث افزایش مقاومت حیوانات در برابر تنش‌های گوناگون می‌شود (۲۶). این امر همراه با افزایش جذب مواد مغذی ضروری از جیره بوده که باعث بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک می‌شود (۲۷). این نتایج با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. در این تحقیق بالاترین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۸ که حاوی چربی ۲۰درصد+۱ درصد داروی لیورگل بود مشاهده شد. همان‌طورکه گفته شد چربی جیره نقش مهمی در تامین انرژی و فراهم کردن اسیدهای چرب ضروری برای رشد ماهی برعهده دارد و افزایش چربی جیره تا حد مشخصی باعث افزایش تمامی شاخص‌های رشد می‌شود و از طرفی داروی لیورگل که حاوی سیلی مارین است و سیلی‌مارین از طریق فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی باعث بهبود اشتها و تحریک ترشح مواد هضمی و نیز بهبود مصرف خوراک می‌شود و در کل اثرات مثبتی روی بهبود شاخص‌های رشد دارد. همین عوامل باعث شد که جیره ۸ که حاوی چربی ۲۰ درصد+۱ درصد داروی لیورگل بود، بالاترین معیارهای شاخص رشد را نسبت به تیمارهای دیگر داشته باشد. به‌نظر می‌رسد که جیره‌های کم‌تر از ۲۰ درصد چربی در آزمایش حاضر، به‌دلیل کمبود سطح چربی و عدم تامین انرژی مورد نیاز بدن، توانایی تامین نیاز متابولیسمی ماهی را نداشته باشد لذا بخشی از انرژی مورد نیاز ماهی از طریق قرار گرفتن پروتئین در مسیر کاتابولیسمی تامین شده است که این امر موجبات کاهش رشد در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های کم‌تر از ۲۰ درصد چربی در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ درصد چربی می‌شود. در این تحقیق بهترین ضریب تبدیل غذایی و بالاترین نرخ رشدویژه هم‌زمان با افزایش سطح چربی جیره‌های مورد آزمایش تا سطح ۲۰ درصد نشان‌دهنده بهبود کیفیت غذا و در نتیجه افزایش میزان رشد در این سطح از چربی می‌باشد. افزایش ضریب تبدیل غذایی در سطح ۵ درصد چربی نشان می‌دهد که اولاً، این میزان چربی کم‌تر از نیاز بچه‌ماهی‌ها بوده و عدم تناسب بین میزان انرژی و پروتئین باعث کاهش کیفیت غذا و افزایش ضریب تبدیل آن گردیده است و ثانیاً می‌تواند ناشی از خشن (زبر بودن) و سخت بودن دانه‌های غذایی و درنتیجه بروز مشکل در دریافت غذا و قابلیت هضم و جذب مناسب آن باشد. Golalipour و همکاران، در مطالعه‌ای که روی تاثیر سطوح مختلف چربی روی شاخص‌های رشد در بچه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) انجام دادند گزارش کردند که پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی در جیره محتوی ۲۰ درصد چربی می‌باشد که نشان از کارایی تغذیه و قابلیت هضم عالی جیره بوده و می‌توان اذعان نمود وجود چربی در جیره تاس‌ماهی سیبری باعث بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک می‌شود، زیرا سهم منابع انرژی‌زایی غیرپروتئینی در

جیره افزایش می‌یابد (۲۸). افزایش بهینه چربی در جیره منجر به افزایش ذخیره پروتئین در بدن گشته و این نشان می‌دهد که چربی‌ها در تامین انرژی برای فعالیت‌های متابولیسمی اهمیت ویژه‌ای دارند و درصورت متعادل بودن چربی، پروتئین جیره به‌منظور تامین اسیدهای آمینه ضروری برای سنتز بافت‌های جدید مصرف می‌شود (۲). بیش‌ترین میزان مرگ و میر در ماهیان جوان به‌واسطه آسیب‌های جبران‌ناپذیری چون خونریزی کبد و نیز نکروزه شدن سلول‌های کبدی می‌باشد. بیماری کبد چرب یک بیماری جدی و اغلب کشنده ماهیان پرورشی می‌باشد که قبلاً در کارگاه‌های پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه شده است (۲۹). تغییرات کبدی بسته به‌شدت عارضه و عوارض ثانویه ایجاد شده به ۲ دسته تغییرات برگشت‌پذیر و تغییرات برگشت‌ناپذیر تقسیم می‌شوند. تغییرات برگشت‌پذیر، ضایعاتی هستند که سبب کاهش فعالیت و عملکرد سلول‌ها و بافت‌ها می‌شوند ولی منجر به مرگ سلول نمی‌شوند. از مهم‌ترین ضایعات برگشت‌پذیر در بافت کبد می‌توان به تورم سلولی، چرب شدن کبد (لیپیدوزیس) و دژنرسانس کبد اشاره کرد. در تغییرات برگشت‌ناپذیر کبد، تغییراتی به‌مراتب حادتر و پیش رونده‌تر از دسته قبلی هستند که در صورت برطرف شدن استرس نیز در سلول قابل رؤیت هستند و در موارد حاد منجر به مرگ سلولی می‌شوند. از مهم‌ترین ضایعات برگشت‌ناپذیر در بافت کبد می‌توان به نکروز کبد اشاره کرد. نتایج این بررسی نشان داد که در تمام تیمارهای چربی جیره‌غذایی (۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) اضافه کردن داروی لیورگل به جیره غذایی به‌علت وجود سیلی‌مارین باعث کاهش ضایعات کبدی گردید و نتایج این آزمایش با مطالعه Letteron و همکاران (۳۰) هم‌خوانی داشت. در مطالعه‌ای که Letteron و همکاران، روی اثرات محافظتی سیلی‌مارین در برابر پراکسیداسیون چربی و سمیت کبدی در موش انجام دادند گزارش کردند که سیلی‌مارین به‌عنوان عامل نابودکننده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و باعث کاهش ضایعات کبدی در موش‌ها گردید (۳۰). در ارتباط با اثرات پودر خارمریم بر جوجه‌های گوشتی، مشخص شده است که این گیاه اثرات حفاظتی بر بافت کبد اعمال نموده و از سیروز کبدی جلوگیری می‌نماید و تغییرات متابولیکی مرتبط با آنزیم‌های کبدی را در جهت اصلاح تغییرات نامطلوب سطح چربی خون اعمال می‌نماید (۳۱). اثرات حفاظتی کبد توسط سیلی‌مارین شامل موارد زیر می‌باشد: ۱- خاصیت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، ۲- خاصیت ضداکسیدانی آن چندین برابر ویتامین E است و از این رو محافظ خوبی برای کبد می‌باشد، ۳- سیلی‌مارین از طریق خنثی کردن الکل، گالاکتوزآمین، تتراکلریدکربن و سموم دیگر، کبد را محافظت می‌کند، ۴- سیلی‌مارین سبب سنتز پروتئین‌ها در کبد می‌شود. تاثیر سیلی‌مارین بر ترانس آمینازهای کبدی توسط بسیاری از محققان گزارش شده است. سیلی‌مارین موجب درمان و ترمیم هپاتوسیت‌های آسیب دیده و عملکرد نرمال کبدی می‌شود (۱۲). که با تثبیت غشا و تکثیر مجدد سلول‌های کبدی، کبد را در برابر اثرات مضر و زیان‌آور و انواع سموم و اکسیدان‌ها محافظت می‌کند. Saller و همکاران، در طی تحقیقی بیان کردند که سیلی‌مارین در بازسازی سلول‌های آسیب دیده کبدی و دفع سمیت ایجاد شده در کبد نقش دارد (۳۲). به‌نظر می‌رسد تاثیر محافظت‌کنندگی سیلی‌مارین به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی و مواد موثره موجود در آن باشد که مسئول مهار رادیکال‌های آزاد شرکت‌کننده در پراکسیداسیون لپید شده و از صدمات ایجاد شده جلوگیری می‌کند. نتیجه نهایی تحقیق نشان داد در تمام تیمارهای چربی جیره غذایی (۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) اضافه کردن داروی لیورگل به جیره غذایی احتمالاً به‌علت وجود سیلی‌مارین باعث کاهش ضایعات کبدی در ماهی کوی گردید.

منابع

1. **Abdel-Tawwab, M. and Ahmad, M.H., 2009**. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research. 40(13): 1532-1537.
2. **Hall, P.D.E.L.A.M., Plummer, J.L., Ilsley, A.H., Ahern, M.J., Cmielewski, P.L. and Williams, R.A., 2015.** The pathology of liver injury induced by the chronic administration of alcohol and 'low-dose' carbon tetrachloride in Porton rats. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 9(4): 305-317.
3. **Webster, C.D. and Lim, C., 2002**. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. Auburn, Alabama, USA: CAB International Publishing.
4. **López, B. and Bureau, D.P., 2015**. Effect of dietary lipid levels on performance, body composition and fatty acid profile of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*. Aquaculture. 306(9): 297-309.
5. **Haghighi, A., 2007.** Pathology of fish and shrimp. Editor: Sohrabi Haqdoost, A., Tehran, Iran: Islamic Azad University, Tehran Science and Research Unit, Faculty of Veterinary Science. 411 p. (In Persian)
6. **Spanò, L., Tyler, C.R., Van Aerle, R., Devos, P., Mandiki, S.N.M., Silvestre, F. and Kestemont, P., 2014.** Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). Aquatic Toxicology. 90(5): 535-543.
7. **Ogata, H.Y. and Oku, H., 2016**. The effects of dietary retinoic acid on body lipid deposition in juvenile red sea bream (*Pagrus major*); a preliminary study. Aquaculture. 298(8): 631-640.
8. **Hasanloo, T., Khavari Nejad, R. and Majidi, E., 2007.** Evaluation of Phenotypic Coefficient and Flavonolignan Content in Dried Fruits of Cultivated and Endemic *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Journal of Medicinal Plants. 6(22): 77-90. (In Persian)
9. **Vogel, G., Trost, W., Braatz, R., Odenthal, K.P., Brüsewitz, G., Antweiler, H. and Seeger, R., 2016.** Pharmacodynamics, site and mechanism of action of silymarin, the antihepatoxic principle from *Silybum mar*. (L) Gaertn. 1. Acute toxicology or tolerance, general and

specific (liver-) pharmacology. Arzneimittel-Forschung. 86(4): 201-212.

10. **PourAmir, M., Sajadi, P., Shahabi, S., Rezaei, S. and Samadi, P., 2006.** Effects of food diet of tomato and carrot juices on serum lipids in rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 13(2): 9-15. (In Persian)

11. **Škottová, N., Večevra, R., Urbánek, K., Vávna, P., Walterová, D. and Cvak, L., 2003.** Effects of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol-rich diets. Pharmacological Research. 47(1): 17-26.

12. **Muriel, P. and Mourelle, M., 2016.** Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCI4 liver damage. Journal of Applied Toxicology. 34(6): 365-373.

13. **Naseri, M., 2016.** Maintaining health from the perspective of traditional Iranian medicine. Editor: Parviz, M., Traditional Iranian Medicine. Tehran, Iran. 189 p. (In Persian)

14. **Yang, S.D., Lin, T.S., Liu, F.G. and Liou, C.H., 2007.** Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture. 254(5): 405-413.

15. **Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., Paknejad, H. and Rameshi, H., 2019**. Effect of dietary supplementation with apple cider vinegar and propionic acid on hemolymph chemistry, intestinal microbiota and histological structure of hepatopancreas in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology. 86: 900-905. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.019

16. **Azarin, H., Imanpour, M.R., Karamad, A., Jebeleh, A.R. and Pourmozaffar, S., 2020**. In vitro oocyte maturation and blood-circulating steroid hormones in Sterlet (*Acipenser ruthenus*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). Aquaculture Research. 51(9): 3488-3494. https://doi.org/10.1111/are.14683

17. **Golalipour, Y., Khara, H. and Mohseni, M., 2016.** Effects of Different levels of lipid on liver enzymes, blood hematological and biochemical parameters in Siberian sturgeon (*Acipenser Bearii*). Journal of Animal Environment. 8(1): 229-236. (In Persian)

18. **Neverian, H.A., Mostafazadeh, S. and Toluei, M.H., 2005.** A study on various protein levels on growth indices (SR, WG, RGR, FCR and PER) of *Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901(Advanced fry) Pajouhesh & Sazandegi. 68: 61-68. (In Persian)

19. **Shymaa, M., Shalaby, A.Y., Olfat, M.W. and Saoud, I.P., 2018.** Growth, feed utilization and body composition of white *Rutilus rutilus* juveniles offered diets with various protein and energy levels. Journal of King Saud University. Science. 27: 12-23.

20. **Schuchardt, D., Vergara, J.M., Fernandez, H., Izquierdo, M.S. and Robaina, L., 2018**. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of *Huso huso*. Aquaculture Nutrition. 22(3): 57-66.

21. **Li, X., Jiang, Y., Liu, W. and Ge, X., 2012**. Protein-sparing effect of dietary lipid in practical diets for blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings: effects on digestive and metabolic responses. Fish Physiology and Biochemistry. 38(2): 529-541.

22. **Chai, X.J., Ji, W.X., Han, H., Dai, Y.X. and Wang, Y., 2013**. Growth, feed utilization, body composition and swimming performance of giant croaker, *Nibea japonica* Temminck and Schlegel, fed at different dietary protein and lipid levels. Aquaculture Nutrition. 19(6): 928-935.

23. **Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Wang, J.T., Wang, Y. and Liang, G.Y., 2005**. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Nutrition. 11(2): 139-146.

24. **Sadeghi, A., Imanpour, M.R., Shabani, A., Mazandarani, M. and Bagheri, T., 2018.** Effect of dietary lipid levels on some growth indices and survival rate of gold fish (*Carassius auratus*). Journal of Animal Environment. 10(1): 231-236. (In Persian)

25. **Ebrahimi, R., Mohammadabadi, T., Sari, M., Salari, S., Zamiri, M.J. and Beigi Nasiri, M.T., 2013**. Effect of silymarin against lead induced oxidative stress in broiler chicken. Iranian Journal of Animal Science Research. 5(4): 302-312.

26. **Thyagarajan, S.P., Jayaram, S., Gopalakrishnan, V., Hari, R., Jeyakumar, P. and Sripathi, M.S., 2002**. Herbal medicines for liver diseases in India. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 17: 370-376.

27. **Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A., 2018.** Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science. 90(6): 208-217.

28. **Golalipour, Y., Khara, H. and Mohseni, M., 2017.** Effects of different levels of lipid on growth and body composition of Siberian sturgeon *Acipenser Bearii* Brandt, 1869. Journal of Applied Ichthyological Research. 5(3): 91-102. (In Persian)

29. **Hinton, D.E., Lauren, U.D.J., Holliday, T.L. and Giam, C.S., 2016**. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. Preprints of Papers Presented at National Meeting, Division of Water, Air and Waste Chemistry. American Chemical Society. 12(6): 404-413.

30. **Lettéron, P., Labbe, G., Degott, C., Berson, A., Fromenty, B., Delaforge, M. and Pessayre, D., 2018**. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice: evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain breaking antioxidant. Biochemical Pharmacology. 56(14): 1350-1362.

31. **Sobolová, L., Škottová, N., Veče\vra, R. and Urbánek, K., 2017.** Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharmacological Research. 64(4): 202-213.

32. **Saller, R., Melzer, J., Reichling, J., Brignoli, R. and Meier, R., 2016**. An updated systematic review of the pharmacology of silymarin. Complementary Medicine Research. 18(6): 109-121.