Archive of SID

ISSN: 2476-6887; Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(4):183-192

Effect of Different Levels of Choline Chloride on Growth factors, Carcass Compositions, and Liver Enzymes in the Blood of Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*)

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Mohseni M.*[1] *PhD,*
Najarlashgari S.[2] *PhD,*
Golalipour Y.[2] *PhD,*
Esmailnia R.[3] *PhD,*
Moazenzadeh K.[1] *PhD*

How to cite this article
Mohseni M, Najarlashgari S, Golalipour Y, Esmailnia R, Moazenzadeh K. Effect of Different Levels of Choline Chloride on Growth factors, Carcass Compositions, and Liver Enzymes in the Blood of Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*). Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(4):183-192.

[1]International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education & Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
[2]Cold-water Fishes Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon, Iran
[3]Biological Science Faculty, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
[4]Natural Resources Faculty, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Correspondence
Address: International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education & Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
Phone: +98 (11) 54245533
Fax: +98 (11) 54245534
mahmoudmohseni73@gmail.com

Article History
Received: March 19, 2019
Accepted: May 16, 2020
ePublished: June 10, 2020

ABSTRACT

Aims The present study was aimed to evaluate the effect of different levels of choline chloride (ziro, 250, 500, 750, 1000, and 2000mg/kg food) on the growth performance, carcass compositions, and haematology of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*).

Materials & Methods 270 fish pieces weighing 8.82±0.38 in 18, 250-liter fiberglass tanks (15 fish per tank) with 3 repetitions per treatment with one of six experimental diets (control diet, Cho_{250}, Cho_{500}, Cho_{750}, Cho_{1000}, and Cho_{2000}) were fed for 10 weeks.

Findings Final weight, weight gain, specific growth rate index, protein yield ratio, obesity ratio, and feed conversion ratio of fish fed with diet containing appropriate levels of choline (750 to 1000mg/kg choline), were significantly higher than the fish fed with control diet and Cho250 diet ($p \leq 0.05$). There was a significant decrease in the feed conversion ratio of Cho750 and Cho1000 treatments compared to control treatment. It can be acknowledged that the Caspian Sea salmon cannot meet the physiological needs of choline by biosynthesizing choline from the liver or methionine. By increasing choline in the diet, the amount of protein and fat in the carcass increased significantly, but the moisture content of the carcass decreased ($p \leq 0.05$). Also, moderate amounts of fatty liver fish fed with control treatment and Cho250 treatment were significantly lower than other treatments. The results showed a negative relationship between the increase in choline levels and the activity of hepatic blood enzymes ($p \leq 0.05$).

Conclusion In order to increase the growth process, strengthen the immune system, and optimally combine the carcass, the most appropriate amount of choline chloride is 750-1000mg/kg in the diet of Caspian Sea salmon.

Keywords Choline Chloride; Blood Parameter; Nutrient Utilization; Growth Parameters; Caspian Salmon

CITATION LINKS

[1] The inland water fishes of ... [2] Criteria for assessing the conservation status of taxa ... [3] On the status of the critically endangered ... [4] The freshwater fishes of ... [5] Status of the fish fauna in the South ... [6] Seasonal changes of some physiological parameters of ... [7] Evaluation of nutritional quality of the common ... [8] Evaluation of the optimum dietary ... [9] Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body ... [10] The ... [11] Nutrient requirement of domestic ... [12] The influence of neonatal nutrition on behavioral development: A critical ... [13] Choline metabolism and nutritional requirement of lake ... [14] Choline-betaine requirements of rainbow trout ... [15] Choline nutrition of fingerling channel ... [16] Reevaluation of the choline requirement of fingerling channel ... [17] Nutrient requirements ... [18] The nutrition of rainbow ... [19] Requirement of the fingeling grass carp ... [20] Apurified test diet for the eel, Anguilla ... [21] Choline requirement of swim-up rainbow trout ... [22] The optimum dietary indispensable amino acid pattern for ... [23] Influence of different levels of dietary choline on growth rate ... [24] Effect of different levels of choline on growth factors, carcass ... [25] The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in ... [26] Official methods of ... [27] Hematologic and serum biochemical values for ... [28] Analysis of amino acids and biogenic amines in biological ... [29] Official methods of analysis of AOAC ... [30] Choline requirement of hatchery-produced juvenile ... [31] B vitamin requirements of ... [32] Dietary choline requirement for juvenile ... [33] Dietary choline requirement of juvenile hybrid ... [34] Dietary choline requirements of juvenile hybrid ... [35] Dietary choline requirement of juvenile olive ... [36] Dietary choline requirement of juvenile grass ... [37] Dietary choline requirement of juvenile ... [38] Effect of body size on growth, survival, and ... [39] Dietary choline requirement for juvenile blunt ... [40] Human protein metabolism: Its ... [41] Effect of sublethal ... [42] Growth performance, carcass composition and ... [43] The non-specific immune system: Cellular ...

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر سطوح مختلف کولین‌کلراید بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و آنزیم‌های کبدی خون ماهی آزاد پرورشی دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

محمود محسنی * PhD
موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
سلطنت نجارلشگری PhD
مرکز تحقیقات ماهیان سردابی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران
یونس گل‌علیپور PhD
مرکز تحقیقات ماهیان سردابی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران
راحله اسمعیل‌نیا PhD
دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاداسلامی، تنکابن، ایران
کادوسا موذن‌زاده PhD
دانشکده منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده
اهداف: هدف مطالعه حاضر، بررسی تاثیر سطوح مختلف کولین‌کلراید جیره غذایی (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا) بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خون و سرم‌شناسی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) بود.
مواد و روش‌ها: تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی با وزن متوسط ۰/۳۸±۸/۸۲گرم در ۱۸ تانک فایبرگلاس ۲۵۰لیتری (۱۵ عدد ماهی در هر وان) با ۳ تکرار در هر تیمار با یکی از شش جیره آزمایشی (جیره شاهد، Cho_{250}، Cho_{500}، Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000}) به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند.
یافته‌ها: وزن نهایی، وزن کسب‌شده،، شاخص نرخ رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه‌شده با جیره محتوی سطوح مناسب کولین (۷۵۰ تا ۱۰۰۰میلی‌گرم کولین در کیلوگرم)، به‌طور معنی‌داری از ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد و جیره Cho_{250} بالاتر بود ($p\leq0/05$). کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی تیمارهای Cho_{750} و Cho_{1000} نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. می‌توان گفت که ماهی آزاد دریای خزر نمی‌تواند نیازهای فیزیولوژیک کولین خود را با بیوسنتز کولین از کبد و یا متیونین اضافه تامین کند. با افزایش کولین در جیره غذایی، میزان پروتئین و چربی لاشه به‌طور معنی‌داری افزایش ولی رطوبت لاشه کاهش یافت ($p\leq0/05$). همچنین مقادیر متوسط چربی کبد ماهیان تغذیه‌شده با تیمار شاهد و تیمار Cho_{250} به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. نتایج بیانگر رابطه منفی بین افزایش سطح کولین در جیره و میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی خون بود ($p\leq0/05$).
نتیجه‌گیری: به‌منظور دستیابی به افزایش روند رشد، تقویت سیستم ایمنی و ترکیب بهینه لاشه، مناسب‌ترین مقدار کولین‌کلراید به میزان ۷۵۰ تا ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر است.
کلیدواژه‌ها: کولین‌کلراید، شاخص خونی، کارآیی غذا، شاخص‌های رشد، ماهی آزاد دریای خزر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۷
*نویسنده مسئول: mahmoudmohseni73@gmail.com

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) نسبت به معیارهای اتحادیه جهانی حفاظت از طبیعت، در معرض خطر بحرانی و بومی حوضه جنوبی دریای خزر است که در فصل تخم‌ریزی به رودخانه‌های گرگان‌رود، چشمه‌کیله و سفیدرود مهاجرت می‌کند [1, 2-5]. مطالعات نشان می‌دهند که ضریب بازگشت شیلاتی این گونه ارزشمند شیلاتی ٤/٠% است[6]. بنابراین از نظر تنوع زیستی و اقتصادی از ارزش بسیار بالایی برخوردار است. حفاظت و پرورش این ماهی از لحاظ کیفیت گوشت و کسب درآمد، اشتغال‌زایی خصوصاً پرورش در قفس در دریای خزر از یک‌سو و حفظ ذخیره ژنتیکی برای ایران از سوی دیگر، نیاز مبرم انجام مطالعات بنیادی و کاربردی را بیش از پیش نمایان می‌سازد. امروزه با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به منابع پروتئینی متنوع و سالم، آبزی‌پروری نقش مهمی در تامین پروتئین ایفا می‌کند. پرورش و تولید موفق در صنعت آبزی‌پروری، نیازمند استفاده از خوراک کامل و کارآمد با ترکیب بهینه و مناسب است[7, 8]. ماهیان مانند سایر مهره‌داران به‌دلیل فلور باکتریایی روده خود نمی‌توانند مقادیر بسیار زیادی از ویتامین‌های مورد نیاز خود را از طریق بیوسنتز تامین کنند. بنابراین جیره مورد استفاده ماهیان پرورشی می‌بایست تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی که افزایش رشد و بهبود سیستم ایمنی را سبب می‌شوند و همچنین کاهش هزینه تولید را به دنبال خواهند داشت را تامین کند[9, 10]. نیازهای مربوط به ویتامین‌ها در جیره غذایی تحت تاثیر مواردی از جمله اندازه، سن، میزان رشد، شرایط فیزیولوژیک، وضعیت سلامتی، ترکیب جیره غذایی، پایداری جیره در آب، شرایط محیطی و همچنین دسترسی ویتامین‌ها از طریق مصرف مواد غذایی طبیعی و دخالت فلور میکروبی دستگاه گوارش قرار می‌گیرد. افت ویتامین‌های محلول در آب در طول روند فرآوری و ذخیره اجزای جیره‌های نهایی و نفوذ آب در هنگام ورود آنها به آب، از جمله عوامل تاثیرگذار بر دسترسی به ویتامین‌ها در آبزیان پرورشی هستند[10].

کولین، از جمله ویتامین‌های محلول در آب است که در سلامت بسیاری از آبزیان نقش اساسی دارد[11]. متیونین، کولین و بتائین دهنده متیل در واکنش‌های شیمیایی هستند و مشخص شده است که همبستگی معنی‌داری بین این سه ماده وجود دارد. کولین دارای سه وظیفه متابولیکی مهم است: کولین منبع گروه‌های متیل است که در واکنش‌های ترانس‌متیلاسیون دخیل هستند. همچنین به شکل فسفاتیدیل‌کولین، در ساختار غشاهای طبیعی و به‌عنوان استیل‌کولین در کارکردهای مهمی به‌عنوان یک انتقال‌دهنده عصبی نقش دارد. کولین همچنین یک عامل لیپوتروپیک و ضدخونریزی است که وجود آن برای دستیابی به رشد و ضریب تبدیل غذایی مناسب لازم است[12]. علایم کمبود کولین شامل کاهش رشد، اختلالات گوارشی، همراه با اختلال در متابولیزم چربی‌ها، خونریزی در کلیه و روده و افزایش زمان تخلیه معدی در ماهی قزل‌آلا گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

شده است[13]. برخی گونه‌های ماهیان قادر هستند با متیلاسیون اتانول‌آمین، با استفاده از گروه‌های متیلی مربوط به S-آدنوزیل‌متیونین، کولین را سنتز کنند[14]. اگرچه ساخت کولین در داخل بدن آبزیان امکان‌پذیر است، ولی به‌دلیل کندی ساخت این ماده در بدن، مقادیر ساخته‌شده فاقد اهمیت زیستی هستند و باید به‌صورت ماده افزودنی به جیره غذایی آبزیان اضافه شوند[15, 16]. در حال حاضر منابع جامعی درباره مقادیر کمبود کولین در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر در ایران وجود ندارد و مقادیر اضافه‌شده کولین به جیره غذایی براساس نیازهای سایر گونه‌های ماهیان سردآبی به این ماده صورت می‌گیرد. این جیره در حالی تجویز می‌شود که کمبود کولین منجر به کاهش روند رشد و افزایش بیش از حد کولین به جیره غذایی، سبب افزایش هزینه تولید می‌شود. سطوح بهینه کولین رژیم غذایی، در گونه‌های ماهی در محدوده ۳۰۰۰-۵۰میلی‌گرم در کیلوگرم رژیم غذایی است[17]. برای مثال در قزل‌آلای رنگین‌کمان سطوح بهینه کولین بر مبنای رشد و عدم وجود علایم کمبود در حدود ۱۰۰-۵۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی مشخص شد[18]. در حالی که در ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) این سطح بر مبنای رشد، کارآیی غذایی و حجم لیپید کبد، حدود ۳۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره تعیین شد. این تفاوت نشان‌دهنده ارتباط فعالیت آنزیم‌های گوارشی برای هضم کولین با اجزای غذایی جیره خواهد بود[19]. مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) تغذیه‌شده با مقادیر ناکافی کولین اشتهای خود را از دست داد و شاخص‌های رشد در آن کاهش یافت[20]. *پوستون*[21] به این نتیجه رسید که باید در جیره غذایی لاروماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) حدود ۰/۴۳ تا ۱/۳گرم بر کیلوگرم کولین وجود داشته باشد. نتایج مشابه در ماهی آزاد اطلس توسط *رولین* و همکاران[22] گزارش شد. براساس شاخص‌های رشد، درصد بقا و ترکیب بدن میزان کولین در بچه تاس‌ماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) ۱/۷ تا ۳/۲گرم بر کیلوگرم برآورد شد[23]. با توجه به روند رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی خون مقدار مناسب کولین در بچه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با وزن متوسط ۳۷/۷±۰/۶۷گرم را ۱/۵گرم در کیلوگرم جیره غذایی ارزیابی کردند[24]. همچنین وجود ۲ تا ٤گرم در کیلوگرم کولین به‌منظور دستیابی به بالاترین روند رشد و کارآیی غذا، ترکیب بهینه لاشه و بهبود فراسنجه‌های فیزیولوژیک در جیره غذایی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) پرورشی ضروری تعیین شد[24]. از نکات مهم پرورش این ماهی اعمال مدیریت صحیح تغذیه و تامین مواد مغذی ضروری برای بالابردن میزان رشد، درصد بقا و همچنین افزایش سیستم ایمنی است. بر این اساس چنین انتظار می‌رود که استفاده از کولین‌کلراید در جیره غذایی، می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای افزایش ایمنی و مقاومت در برابر شرایط نامناسب و بهبود فراسنجه‌های فیزیولوژیک ماهی آزاد دریای خزر مطرح باشد.

مواد و روش‌ها

جیره‌های غذایی و نحوه تهیه آن

ترکیبات غذایی مورد نیاز آزمایش برای آنالیز به شرکت آزمون سلامت ایرانیان ارسال شدند تا براساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام شود (جدول‌های ۱ و ۲). جیره شاهد (عاری از کولین‌کلراید) و جیره‌های آزمایشی (جیره‌های ۱ تا ۵ شامل ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا) با استفاده از پودر ماهی کیلکای عمل‌آوری‌شده در دمای پایین (به‌عنوان طعم‌دهنده غذا و منبع پروتئینی)، کازئین عاری از ویتامین (USA-Cleveland-Ohio 44122) و روغن سویا و روغن ماهی کیلکا به نسبت مساوی (غذای ماهی خزر؛ ایران) به‌عنوان منبع چربی و دکسترین (USA-Cleveland-Ohio 44122) به‌عنوان منبع کربوهیدرات، شش جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱۳/۸% چربی خام) و با پروتئین خام یکسان (٤۳% پروتئین) با استفاده از نرم‌افزار Lindo 6.1 فرموله و ساخته شدند[24].

جدول ۱) اجزای غذایی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی محتوی سطوح مختلف کولین‌کلراید (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)

ترکیب غذایی و مواد شیمیایی	شاهد	Cho_{250}	Cho_{500}	Cho_{750}	Cho_{1000}	Cho_{2000}
آرد ماهی	۹	۹	۹	۹	۹	۹
آرد گندم	۵	۵	۵	۵	۵	۵
روغن جانوری	۶	۶	۶	۶	۶	۶
روغن گیاهی	۶	۶	۶	۶	۶	۶
مکمل ویتامینی	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی	۲	۲	۲	۲	۲	۲
سلولز[۲]	۵	۴/۷۵	۴/۵	۴/۲۵	۴	۳
کولین‌کلراید	صفر	۰/۲۵	۰/۵۰	۰/۷۵	۱	۲
کازئین[۱]	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
ژلاتین[۱]	۶	۶	۶	۶	۶	۶
بازدارنده	۲	۲	۲	۲	۲	۲
دکسترین[۱]	۲۲	۲۲	۲۲	۲۲	۲۲	۲۲
جمع کل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

[۱]: تجزیه و تحلیل‌شده حاوی ۱۵۰میلی‌گرم کولین بر کیلوگرم ماده خشک؛ [۲]سلولز خالص به‌عنوان پرکننده (فیلر)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲) آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی (درصد)

فاکتورها	شاهد	Cho_2	Cho_3	Cho_4	Cho_5	Cho_6
رطوبت	۹/۲	۹/۲	۹/۵	۹/۳	۹/٤	۹/٤
پروتئین خام	٤۳/۷	٤۳/۳	٤۳/٤	٤۳/۵	٤۳/٦	٤۳/٦
چربی خام	۱۳/۹	۱۳/٤	۱۳/۵	۱۳/٤	۱۳/۳	۱۳/۵
خاکستر	٦/٤۳	٦/٤۵	٦/٤٤	٦/٤٤	٦/۳۹	٦/٤۵
فیبر	۲/۸٤	۲/۷۷	۲/۸۱	۲/۸۲	۲/۸۲	۲/۸۳
انرژی ناخالص (کیلوکالری در کیلوگرم جیره)	۳۳۸۹/۸	۳۳۸۹/۸	۳۳۸۹/۸	۳۳۸۹/۸	۳۳۸۹/٦	۳۳۸۹/۸
کولین اندازه‌گیری‌شده (گرم در کیلوگرم)	۰/٤۵	۰/۳۰۵	۰/۵٤۵	۰/۸۰۳	۱/۲٤	۲/۰۸

مواد خشک قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (Poly Brizer؛ چین) در کارخانه خوراک آبزیان بهدانه شمال به قطر کمتر از ۲۰۰میکرون شکسته شدند. مواد ریزمغذی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ال- کارنیتین به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه همزن (میکسر) دو زبانه (Poly Brizer؛ چین)، کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند و سپس با استفاده از دستگاه پلت‌زن (گرما الکتریک؛ ایران) به محصولاتی به قطر ۲میلی‌متر تبدیل شدند. پلت‌ها با استفاده از دستگاه خشک‌کن طبقاتی (گرما الکتریک؛ ایران) در دمای ۱۰۰°C به‌طور غیرمستقیم به مدت یک ساعت تا رطوبت تقریبی ۱۰%، خشک شدند. بعد از قرارگرفتن به مدت ۲۰ دقیقه در داخل دستگاه خنک‌کننده، از الک (برای جداسازی پلت‌های شکسته و نامناسب) عبور داده شدند. در نهایت جیره‌ها شماره‌گذاری و در محفظه‌های عاری از هوا بسته‌بندی و تا زمان مصرف در دمای ۱۸°C- نگهداری شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها از فریزر خارج و پس از متعادل‌شدن با دمای اتاق، با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهی قرار گرفتند[25].

تهیه ماهیان و نحوه پرورش

تعداد ۵۰۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر حاصل از تکثیر مولدین موجود در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور- تنکابن به‌صورت مجزا به مدت دو هفته به‌منظور سازگاری با شرایط پرورش با جیره شاهد تغذیه شدند. سپس تعداد ۲۷۰ قطعه بچه ماهی (تراکم ۱۵ قطعه در هر واحد آزمایشی، با سه تکرار در هر تیمار)، با میانگین وزن ۸/۸۲±۰/۳۸گرم، به‌طور تصادفی در ۱۸ تانک فایبرگلاس ۲۵۰لیتری (قطر ۹۰ و ارتفاع ٦۰سانتی‌متر) توزیع و در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به‌صورت فواره‌ای) با دبی آب ۵/۸۹لیتر در دقیقه در قالب طرح کاملاً تصادفی متعادل به مدت ۱۰ هفته پرورش داده شدند. میانگین غلظت اکسیژن محلول، pH و دمای آب در طول دوره پرورش به ترتیب ۷/۸±۰/۷میلی‌گرم در لیتر، ۷/۴±۰/۲ و ۱۴/۳±۰/۳°C بود. ماهیان ۳ بار در روز و در ساعات ۸، ۱٦ و ۲٤ تا حد سیری و به‌صورت دستی غذادهی شدند. برای کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی قطع شد. به‌منظور کنترل رشد، سلامتی و محاسبه مقدار غذای مورد نیاز بچه ماهی‌ها طی دوره آزمایش، در مقاطع زمانی ۱۵ روزه، ابتدا تمامی ماهیان با استفاده از محلول پودر گل میخک (۲۰۰ppm) به‌منظور کاهش استرس بیهوش و بلافاصله زیست‌سنجی آنها به‌صورت انفرادی انجام شد[8].

آنالیز اجزا، جیره غذایی و ترکیب بدن

آنالیز تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و جیره‌های آزمایشی براساس روش‌های استاندارد جیره انجام شد[27]. در پایان دوره پرورش پس از ۱۲ ساعت قطع غذادهی به‌منظور اطمینان از تخلیه محتویات شکمی ماهیان، از هر تکرار ۲ قطعه ماهی برای آنالیز ترکیبات تقریبی لاشه و محاسبه شاخص کبدی، به‌طور تصادفی برداشت شدند. لاشه ماهیان، برای آنالیز ترکیبات تقریبی (پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر) پس از خارج‌کردن امعا و احشا، به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه‌گیری اجزای تقریبی بدن و جیره طبق روش AOAC، عمل شد[26]. به همین منظور برای اندازه‌گیری میزان رطوبت موجود در نمونه‌های جیره و ماهی، نمونه‌ها در دمای ۱۰۵°C و به مدت ۲٤ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل (N×٦/۲۵) از روش کجلدال، چربی با روش سوکسله و با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ٦۰°C، به مدت ٤ تا ٦ ساعت، مقدار انرژی موجود در ترکیبات غذایی با استفاده از بمب کالریمتر و خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰°C و به مدت ۹ ساعت اندازه‌گیری شد.

پس از ۱۸ ساعت قطع غذادهی، خونگیری از ساقه دمی به‌صورت تصادفی از ۲ تا ۳ قطعه ماهی از هر تکرار با استفاده از سرنگ‌های ۲میلی‌لیتری، انجام شد. سپس ۰/۵میلی‌لیتر خون به داخل تیوب‌های اپندورف آغشته به ماده ضدانعقاد خون (هپارین) و ۱/۵میلی‌لیتر باقیمانده به داخل تیوب‌های اپندورف غیرهپارینه منتقل و شماره‌گذاری شدند. خون به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ مدل Labofuge (Heraeus sepatech؛ آلمان)، با سرعت ۳۰۰۰دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. سپس سرم حاصل به تیوپ‌های اپندورف منتقل و تا زمان انجام مطالعات سرولوژی در دمای ۸۰°C- نگهداری شد.

در ادامه میزان کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل سرم خون با استفاده از کیت‌های مربوطه (پارس‌آزمون؛ ایران) به روش کالریمتریک با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/VIS 6505 (Jenway؛ انگلستان)، با طول موج ۵۴۰نانومتر اندازه‌گیری شدند. شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید خون (WBC) با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار دو حجره‌ای بر حسب میلی‌متر مکعب

www.SID.ir

Archive of SID

خون برای هر نمونه در دو حجره محاسبه شد. درصد هماتوکریت خون (PVC) با استفاده از سانتریفیوژ میکروهماتوکریت مدل Tuttlingen D-78532 (Hettich؛ آلمان)، با سرعت ۱۰هزار دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه محاسبه شد. مقدار هموگلوبین (Hb) خون نیز به روش کالریمتریک سیانوهموگلوبین و به وسیله محلول معرف در طول موج ۵۴۰نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/VIS 6505 (Jenway؛ انگلستان) و با استفاده از کیت مربوطه (پارس‌آزمون؛ ایران) بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد. سنجش آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) و لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک انجام گرفت[27].

نمونه‌های ۵۰گرمی از جیره‌های ساخته‌شده بلافاصله فریز و برای تعیین غلظت کولین‌کلراید جیره به موسسه بیوتکنولوژی کرج (ABRII) ارسال شدند. میزان غلظت واقعی کولین در جیره‌های غذایی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC؛ Knauer؛ آلمان) به روش اسپکتروفتومتری براساس روش *کوروس* و همکاران[28] با کمی تغییرات استخراج و شناسایی شد. غلظت کولین به ترتیب ۴۵، ۳۰۵، ۵۴۵، ۸۰۳، ۱۲۴۰ و ۲۰۰۸میلی‌گرم در کیلوگرم جیره اندازه‌گیری شد و جیره‌ها به اختصار به نام‌های جیره شاهد، Cho_{250}، Cho_{500}، Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000} نامگذاری شدند.

تعیین شاخص‌های رشد و کبدی

با استفاده از اطلاعات زیست‌سنجی ماهیان هر تانک، شاخص‌های محاسباتی شامل نرخ افزایش وزن (درصد WG)، نرخ رشد ویژه (درصد SGR در روز)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، نسبت بازده پروتئین (PER) و شاخص کبدی (HSI) محاسبه شدند[29].

$$\text{نرخ افزایش وزن} = \frac{\text{وزن نهایی در انتهای آزمایش} - \text{وزن اولیه در ابتدای آزمایش}}{\text{وزن اولیه در ابتدای آزمایش}} \times ۱۰۰$$

$$\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\text{لگاریتم وزن اولیه} - \text{لگاریتم وزن نهایی}}{\text{دوره پرورش}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص وضعیت} = \frac{\text{وزن}}{(\text{طول})^3} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{وزن غذای داده‌شده (گرم)}}{\text{وزن تر تولیدشده (گرم)}}$$

$$\text{شاخص کبدی} = \frac{\text{وزن کبد}}{\text{وزن بدن}} \times ۱۰۰$$

$$\text{نرخ بازده پروتئین} = \frac{\text{وزن تر تولیدشده}}{\text{پروتئین مصرف‌شده}} \times ۱۰۰$$

آنالیز آماری

ابتدا نرمال‌بودن کلیه داده‌های به‌دست‌آمده از شاخص‌های رشد، کارآیی غذا و آنالیز بیوشیمیایی لاشه با استفاده از آزمون آزمون کولموگروف- اسمیرنف و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون کنترل شد. سپس داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد ارزیابی قرار گرفتند. زمانی که اختلاف معنی‌دار مشاهده شد، برای بررسی اختلاف آماری فاکتورهای محاسبه‌شده، مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان ۹۵% ($p\leq ۰/۰۵$) انجام شد. کلیه تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 24 انجام گرفت. داده‌ها در متن به‌صورت میانگین آماری ارایه شده‌اند.

مکمل ویتامینی (برحسب IU یا میلی‌گرم در کیلوگرم)

مکمل ویتامینی شامل د- ال- آلفاتوکوفرول‌استات 60 IU، یو، د- ال- کولکلسیفرول 3000 IU، تیامین ۱۵میلی‌گرم در کیلوگرم، ریبوفلاوین ۳۰میلی‌گرم در کیلوگرم، پیرودوکسین ۱۵میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین B_{12} ۰/۰۵میلی‌گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک‌اسید ۱۷۵میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک ۵میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک ۵۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم، اینوسیتول ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم، بیوتین ۲/۵میلی‌گرم در کیلوگرم و کلسیم پنتوتئات ۵۰میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

مکمل معدنی (بر حسب میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم)

مکمل معدنی شامل کربنات‌کلسیم ۴۰% ۲/۱۵گرم در کیلوگرم، اکسیدمنیزیم ۱/۲۴گرم در کیلوگرم، سیترات‌فریک ۰/۲گرم در کیلوگرم، یدیدپتاسیم ۰/۴میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات‌روی ۰/۴میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات‌مس ۰/۳گرم در کیلوگرم، سولفات‌منگنز ۰/۳گرم در کیلوگرم، کلسیم‌فسفات دوظرفیتی ۵گرم در کیلوگرم، سولفات‌کبالت ۲میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت‌سدیم ۳میلی‌گرم در کیلوگرم، کلریدپتاسیم ۰/۹گرم در کیلوگرم و کلریدسدیم ۰/۴گرم در کیلوگرم بود.

یافته‌ها

تاثیر سطوح مختلف کولین‌کلراید روی برخی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب و شاخص‌های رشد

نتایج پارامترهای کیفی آب هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را میان تیمارهای آزمایشی نشان ندادند ($p\geq ۰/۰۵$). در طول دوره پرورش، هیچ‌گونه مرگ‌ومیری مشاهده نشد. تاثیر سطوح مختلف کولین در پایان ۱۰ هفته پرورش بر شاخص‌های وزن نهایی، نرخ افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جدول ۳ آورده شده است. وزن نهایی ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000} به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ($p\leq ۰/۰۵$). کمترین میزان وزن نهایی در ماهیان تغذیه‌شده در تیمار شاهد مشاهده شد. افزایش میزان کولین‌کلراید در جیره، افزایش مقادیر متوسط WG را نیز به همراه داشت، به‌طوری که بالاترین مقادیر WG در تیمارهای Cho_{750} و Cho_{1000} ملاحظه شد که به‌طور معنی‌داری نسبت به ماهیان تغذیه‌شده با تیمار شاهد و تیمار Cho_{250} بالاتر بود ($p\leq ۰/۰۵$). همچنین با افزایش مقدار کولین‌کلراید بیشتر از سطح ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، میزان WG کاهش می‌یابد که

www.SID.ir

Archive of SID

نشان‌دهنده اثر بازدارنگی آن برای این شاخص است. شاخص رشد ویژه ماهیان Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000} نیز به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های شاهد و Cho_{250} بود ($p\leq ۰/۰۵$).

رابطه معکوس در مقادیر ضریب تبدیل غذایی با میزان کولین‌کلراید مشاهده شد، به‌طوری که تیمار Cho_{1000}، کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی را به خود اختصاص داد. نسبت بازده پروتئین ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای Cho_{750} و Cho_{1000} افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمارهای شاهد، Cho_{250} و Cho_{500} نشان داد. بچه ماهیان تیمار شاهد و Cho_{250} کاهش معنی‌داری را در شاخص کبدی در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$).

ترکیب بدن

در جدول ٤ نتایج مربوط به تاثیرات سطوح مختلف کولین‌کلراید بر ترکیب بدن نشان داده شده است. کمترین میزان پروتئین لاشه متعلق به ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بودند که کاهش معنی‌داری را نسبت به پروتئین لاشه ماهیان تغذیه‌شده با تیمار Cho_{1000} نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$). داده‌های ارایه‌شده بیانگر تاثیرات معنی‌دار سطوح مختلف کولین جیره بر مقادیر چربی و رطوبت لاشه بود. به‌طوری که با افزودن کولین‌کلراید به جیره غذایی ماهیان، میزان چربی به‌طور معنی‌داری افزایش و در مقابل رطوبت لاشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p\leq ۰/۰۵$).

میزان خاکستر لاشه ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد، به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با سایر تیمارها به‌جز ماهیان تغذیه‌شده با تیمار Cho_{2000} بود. همچنین مقادیر متوسط چربی کبد ماهیان تغذیه‌شده با تیمار شاهد و تیمار Cho_{250} به‌طور معنی‌داری نسبت سایر تیمارها کمتر بود ($p\leq ۰/۰۵$).

تاثیر سطوح مختلف کولین‌کلراید بر آنزیم‌های کبدی

نتایج حاصل از تاثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف کولین‌کلراید بر آنزیم‌های کبدی در جدول ٥ ارایه شده است. نتایج بیانگر همبستگی منفی بین افزایش سطح کولین‌کلراید در جیره و میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی خون بود، به‌طوری که اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی خون در سطوح بالای ۷۵۰میلی‌گرم کولین‌کلراید به‌جز آلکالین‌فسفاتاز در مقایسه با تیمار شاهد ملاحظه شد ($p\leq ۰/۰۵$).

تاثیر سطوح مختلف کولین‌کلراید بر برخی از شاخص‌های خونی و سرم شناسی

نتایج حاصل از تاثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف کولین‌کلراید روی برخی پارامترهای خونی در جدول ٦ ارایه شده است. چربی کل به‌صورت معنی‌داری تحت تاثیر سطوح کولین جیره غذایی قرار گرفته است. به‌طوری که بیشترین مقادیر متوسط چربی کل که در تیمار Cho_{2000} مشاهده شد، به فاصله کمی از ماهیان تغذیه‌شده با تیمار Cho_{1000} قرار داشتند که از اختلاف معنی‌دار آماری با سایر تیمار برخوردار بودند.

با افزایش مقادیر کولین‌کلراید تا سطح ۱۰۰۰میلی‌گرم کولین‌کلراید در کیلوگرم جیره، غلظت تری‌گلیسیرید به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که بیشتر از این مقدار، سبب کاهش آن شد.

طبق نتایج، افزودن کولین‌کلراید در سطح ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان هماتوکریت در مقایسه با تیمار شاهد شد. هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری در ماهیان تغذیه‌شده از جیره‌های Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000} در درصد هماتوکریت مشاهده نشد.

میانگین تعداد گلبول قرمز خون ماهیانی که از ۵۰۰ تا ۲۰۰۰میلی‌گرم کولین‌کلراید در کیلوگرم جیره تغذیه کرده بودند، به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بود.

تعداد گلبول‌های سفید خون با میزان کولین‌کلراید جیره غذایی ارتباط معکوس داشتند (جدول ۶). بیشترین و کمترین تعداد گلبول‌های سفید خون به ترتیب در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد و Cho_{1000} مشاهده شد. هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری در ماهیان تغذیه‌شده از جیره‌های Cho_{750}، Cho_{1000} و Cho_{2000} در مقادیر متوسط گلبول سفید خون ملاحظه نشد.

همچنین نتایج بیانگر همبستگی مثبت بین افزایش سطح کولین‌کلراید در جیره و مقادیر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون نظیر آلبومین و پروتئین خام بود. تفاوت معنی‌داری در مقادیر متوسط پروتئین خام ماهیان تغذیه‌شده در تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد، اما اختلاف معنی‌داری بین مقادیر آلبومین ماهیان شاهد و سایر تیمارها وجود داشت.

جدول ۳) شاخص‌های رشد، تغذیه‌ای و شاخص کبدی در بچه ماهیان آزاد پرورشی تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین‌کلراید در پایان هفته دهم پرورش

شاخص	جیره‌های آزمایشی					
	شاهد	Cho_{250}	Cho_{500}	Cho_{750}	Cho_{1000}	Cho_{2000}
وزن اولیه (گرم)	۸/۸۱±۰/۳٤	۸/۸۲±۰/۳۳	۸/۷۹±۰/۲۸	۸/۸۳±۰/۳۹	۸/۸۵±۰/۳۳	۸/۸٦±۰/۳۲
وزن نهایی (گرم)	۲۲/۰٥±۰/٥۲^{c}	۲٤/۷۷±۰/٥۹^{b}	۲٥/۸٥±۰/۹۷^{b}	۲۸/۳٥±۰/۷۷^{a}	۲۸/۷۱±۰/۹۷^{a}	۲۷/٤۷±۱/۱۳^{a}
نرخ افزایش وزن (درصد)	۱٥۰/٥±۱۱/۰^{c}	۱۸۰/۸±٤/۸۰^{b}	۱۹٤/۱±۲/۳۰^{ab}	۲۲۱/۷±۲۰/۷^{a}	۲۲٤/۹±۲۲/۸^{a}	۲۱۰/٥±۲۱/۸^{ab}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۳۱±۰/۰٦^{c}	۱/٤۷±۰/۰۲^{b}	۱/٥٤±۰/۰۱^{ab}	۱/٦۷±۰/۰۹^{a}	۱/٦۸±۰/۱۰^{a}	۱/٦۲±۰/۱۰^{a}
ضریب تبدیل غذا	۱/٦۷±۰/۱۹^{a}	۱/٦٦±۰/۱۱^{ab}	۱/٦۱±۰/۰۷^{ab}	۱/٤٥±۰/۰۲^{bc}	۱/۳۹±۰/۰٦^{c}	۱/٤۸±۰/۱٤^{bc}
نسبت بازده پروتئین	۱/۳۹±۰/۱٦^{b}	۱/٤۰±۰/۱۰^{b}	۱/٤٤±۰/۰٦^{b}	۱/٦٤±۰/۰۲^{a}	۱/٦۷±۰/۰۸^{a}	۱/٥۷±۰/۱٤^{ab}
شاخص کبدی	۱/۱٥±۰/۰٦^{c}	۱/۲٥±۰/۰۷^{c}	۱/٤٦±۰/۱۰^{b}	۱/٥۹±۰/۰۷^{ab}	۱/٦۸±۰/۰٦^{a}	۱/٤۷±۰/۰۷^{b}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p\leq ۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴) ترکیب لاشه (درصد) ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین‌کلراید در پایان هفته دهم پرورش

شاخص‌ها (درصد)	جیره‌های آزمایشی					
	شاهد	Cho_{250}	Cho_{500}	Cho_{750}	Cho_{1000}	Cho_{2000}
پروتئین	۱۷/۰۱±۰/۵٤^{b}	۱۷/۳۹±۰/۹۵^{ab}	۱۷/٤۵±۰/٦۸^{ab}	۱۸/۱۷±۰/٦۵^{ab}	۱۸/۳۵±۰/۳۳^{a}	۱۷/۹۹±۰/۵۵^{ab}
چربی	۷/۱۷±۰/۳۹^{b}	۷/۵٤±۰/٦۰^{ab}	۷/۸۲±۰/۳۸^{ab}	۸/۰٦±۰/۲۰^{a}	۸/۲۲±۰/۱۱^{a}	۸/۱۱±۰/۱۵^{a}
خاکستر	۲/۲۵±۰/۰۸^{a}	۲/۰۷±۰/۰۸^{b}	۱/۸۸±۰/۱۰^{c}	۱/۸٦±۰/۰٦^{c}	۱/۸۱±۰/۰٤^{c}	۲/۱۲±۰/۱٤^{ab}
رطوبت	۷/٤۷±۰/۳۸^{a}	۷/۷٤±۰/۳۲^{a}	۷/٤۸±۰/٤٦^{a}	۷/٤۱/۲۳^{ab}	۷/۳۹±۰/۵۰^{b}	۷/۳۹±۰/۲۹^{b}
چربی کبد	۲۷/۱۵±۱/۱۳^{d}	۳۲/۲۰±۰/٤۹^{c}	۳٤/۳۱±۰/۲۸^{b}	۳٦/۲۱±۰/۸۵^{a}	۳٤/۵۰±۰/۹۱^{ab}	۳٤/٤۷±۱/۵۲^{ab}
چربی ماهیچه	۱٤/۰۱±۰/٤۵^{a}	۱۵/۰۷±۰/۵٦^{a}	۱٦/۵۷±۰/۳٤^{a}	۱٦/٤۳±۰/۲۷^{a}	۱٦/٦۰±۰/۱۱^{a}	۱۷/۱۹±۰/۰۹^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (p≤۰/۰۵).

جدول ۵) میانگین آماری مقادیر آنزیم‌های کبدی سرم خون بچه ماهیان آزاد دریای خزر پرورشی تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین‌کلراید در پایان هفته دهم پرورش

شاخص‌ها	جیره‌های آزمایشی					
	شاهد	Cho_{250}	Cho_{500}	Cho_{750}	Cho_{1000}	Cho_{2000}
آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT; U/L)	۱۲/۳۲±۱/۹۰^{a}	۱۰/۷٤±۱/۱۱^{ab}	۹/۰۷±۰/٤۲^{b}	۸/٦۹±۰/۵٤^{b}	۸/۷٦±۰/۳۷^{b}	۸/۸۷±۰/۳٦^{b}
آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST;U/L)	۲٦۳/٤±۲٦/۸^{a}	۲۵٦/۵±۸/۷^{a}	۲٤٤/۳±۱٦/۱^{a}	۱۸۱/۲±٤/۰^{b}	۱۷٦/۹±۹/۳^{b}	۲۲۸/۱±۱۹/٤^{b}
آلکالین‌فسفاتاز (ALP; U/L)	۷٦٦/۷±۵۰/۸	۷٦۸/٤±۷۷/۷	۷۲۳/۰±۸۳/۳	٦۵۰/۳±۹۷/۳	٦٦٤/۷±۱٤٤/٦	٦۹٤/۰±۲۸/۲
لاکتات‌دهیدروژناز (LDH;U/L)	۹۹٦/۳±۵۲/٤^{a}	۹۱۰/۰±۳۵/۲^{ab}	۹۱۷/۷±٦۱/۹^{ab}	۸۵۹/۳±۱۲/۹^{b}	۸٤۵/٤±۹/۰۷^{b}	۸۵٤/۱±٤۳/۰^{b}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است (p≤۰/۰۵).

جدول ۶) میانگین آماری مقادیر شاخص‌های خونی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی آزاد دریای خزر پرورشی تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین‌کلراید در پایان هفته دهم پرورش

شاخص‌ها	جیره‌های آزمایشی					
	شاهد	Cho_{250}	Cho_{500}	Cho_{750}	Cho_{1000}	Cho_{2000}
چربی کل	۳٦۵/۵±۱۳/۹۵^{d}	٦۵۵/٤±۲۳/۰۵^{c}	۷۱۱/۸±۱۷/۷۵^{c}	۷۲۱/۷±۲۳/۲۱^{c}	۸۵٤/۰±۳۵/۰۸^{b}	۱۰۱۰/٤±۲٦/٤^{a}
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۷٦/۷۰±۱۱/۵۱	۱۷۹/۰۷±۸/٦۵	۱۸۱/۲۳±٦/٦۷	۱۸۵/۹۷±۳/۱۹	۱۹۰/۱۷±۱۷/۰۵	۱۹۱/٤۰±۲/۵۲
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۷۲/۷±۱۸/۰۱^{c}	۱۸۳/۳±۸/۵۰^{bc}	۲۱٤/٦±۹/۵۰^{abc}	۲۱۵/۳±٦/٦٦^{bc}	۲٤۰/۵±۲٤/۰۱^{a}	۲۲۲/٤±۲۵/۵۸^{ab}
هماتوکریت (درصد)	۲۳/۷۰±۰/۵۳^{b}	۲٤/۲۷±۰/۹٦^{b}	۲٤/۱۹±۰/۲۰^{b}	۲٤/۷۳±۰/۵۱^{ab}	۲۵/۹۲±۰/٦۰^{a}	۲٤/۸۳±۰/۵۵^{ab}
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۵/۲۰±۰/۲۷	۵/۷۳±۰/۳۷	۵/۸۹±۰/۲٤	۵/٤۰±۱/۰۰	۵/۹٦±۰/٦۷	۵/۸۱±۰/٤۷^{a}
گلبول‌های قرمز (میلی‌متر مکعب)	۰/۷۰±۰/۰۱^{b}	۰/۷۵±۰/۰۵^{ab}	۰/۸۲±۰/۰۷^{a}	۰/۸٤±۰/۱۱^{a}	۰/۸٤±۰/۰٦^{a}	۰/۸۱±۰/۰٤^{a}
گلبول‌های سفید (میلی‌متر مکعب)	۷۰/۹۳±۱/۸٦^{a}	٦۷/۱۳±۱/٤۳^{ab}	٦۹/٤۵±۱/۵۷^{a}	٦٤/۲۷±۳/۰۵^{bc}	٦۱/۸٦±۳/۰۷^{c}	٦۳/٤۲±۱/٦۱^{bc}
پروتئین (گرم در دسی‌لیتر)	۲/۲۹±۰/۰۹	۲/۵٤±۰/۱۸	۲/۵۸±۰/۳۵	۲/۵٦±۰/۱۱	۲/۵۹±۰/۰۵	۲/٦۱±۰/۹^{a}
آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)	۰/٦۲±۰/۰۱^{b}	۰/۸۱±۰/۰۷^{a}	۰/۷۹±۰/۰۸^{ab}	۰/۸۲±۰/۰٦^{a}	۰/۸۰±۰/۰۸^{a}	۰/۸۵±۰/۰٤^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است (p≤۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر، مقادیر متوسط وزن کسب‌شده، ضریب تبدیل غذا و نسبت بازده پروتئین با افزایش سطح کولین‌کلراید جیره به میزان ۷۵۰ تا ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها (شاهد و Cho_{250}) بهبود یافت. این خود بیانگر استفاده بهینه از کولین‌کلراید در جیره غذایی به‌منظور دستیابی به رشد مناسب است. بنابراین می‌توان اذعان کرد که برخلاف پستانداران که می‌توانند نیازهای فیزیولوژیک کولین خود را با بیوسنتز کولین از کبد و یا متیونین اضافه تامین کنند، احتمالاً ماهی آزاد دریای خزر فاقد چنین توانایی است. کولین به‌عنوان یک دهنده متیل یکی از ترکیبات لسیتین و استیل‌کولین در جانوران به شمار می‌آید[27]. اگر دهنده‌های متیل مانند متیونین و لسیتین به مقدار کافی در جیره موجود باشند، بسیاری از جانوران می‌توانند آن را بسازند، اما برخی از گونه‌های آبزی از جمله ماهی آزاد دریای خزر قادر به ساخت کولین به مقدار رفع نیازهای متابولیک خود نیست[15]. در مطالعه *محسنی* و همکاران[24] اضافه‌کردن ۲ تا ٤گرم کولین در کیلوگرم جیره، منجر به بهبود شاخص‌های رشد و کارآیی غذا، کاهش استرس و بهبود پاسخ‌های ایمنی در فیل‌ماهی جوان پرورشی شد. علاوه بر آن نتایج مطالعات در سایر گونه‌ها از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، سوکلا (*Rachycentron canadum*)، تاس‌ماهی سفید (*Acipenser transmontanus*)، تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) و گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) نیز بیانگر آن بود که کمبود کولین موجب کاهش رشد مطلوب، کارآیی غذا و قابلیت هضم و کاهش بقا خواهد شد[16, 18, 30, 24, 31, 32]. کمترین ضریب تبدیل غذایی متعلق به ماهیان

www.SID.ir

Archive of SID

Cho_{1000} بود. هرچند که با تیمار Cho_{2000} اختلاف معنی‌دار آماری نشان نداد. بنابراین می‌توان بیان کرد که ماهی آزاد دریای خزر همانند قزل‌آلای رنگین‌کمان و سوکلا برای رشد بهینه و ضریب تبدیل غذای مناسب نیاز به کولین در جیره غذایی دارد[14, 32]. در مطالعه حاضر همچنین کاهش روند رشد ماهیان تغذیه‌شده با جیره غذایی محتوی ۲۰۰۰میلی‌گرم کولین (Cho_{2000}) مشاهده شد. روند کلی رشد در این مطالعه با نتایج تحقیقات قبلی روی برخی گونه‌های دیگر مثل هیبرید باس راه‌راه (۸۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، هیبرید تیلاپیا (۲۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و گروپر (۱۵۱۱/۵میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) مشابه بود[33, 34]. همچنین *وون* و همکاران[35] نیز اعلام داشتند که افزایش سطوح کولین مصرفی در جیره غذایی فلوندرهای جوان در حد ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره باعث کاهش رشد این ماهی می‌شود. چنین طیف وسیعی از سطوح کولین از ۱۱۱۵ تا ۸۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره درنتیجه اثرات سمی ممکن است با ویژگی گونه در فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با متابولیزم کولین مرتبط باشد.

در مطالعه حاضر، مقادیر متوسط پروتئین و چربی لاشه به‌طور معنی‌داری از کولین‌کلراید جیره تاثیر پذیرفت. به‌طوری که با افزودن کولین در سطح ۷۵۰ و ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم، میزان پروتئین و چربی لاشه افزایش و در مقابل رطوبت لاشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این در حالی است که میزان این ترکیبات چربی، پروتئین لاشه و چربی کبد، کاهش و میزان خاکستر افزایش معنی‌داری را در سایر تیمارها (شاهد، Cho_{250}، Cho_{500} و Cho_{2000}) نشان داد. نتایج مطالعه *محسنی* و همکاران[25] با دستاورد مطالعه حاضر مطابقت داشت. آنها افزایش معنی‌دار مقادیر متوسط چربی لاشه در فیل‌ماهی جوان پرورشی تغذیه‌شده با سطوح ۲ و ٤گرم کولین در کیلوگرم جیره غذایی نسبت به تیمار شاهد را گزارش کردند. کمترین میزان پروتئین لاشه در مطالعه حاضر در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بود. *هانگ*[23] و *رولین* و همکاران[22] نشان دادند که افزودن کولین به جیره غذایی باعث افزایش مقادیر پروتئین لاشه به ترتیب در گونه‌های تاس‌ماهی سفید و آزادماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) خواهد شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

در مطالعه‌ای دیگر، در ترکیب لاشه سوف (*Perca flavescens*)، چربی لاشه به‌طور معنی‌داری با افزایش کولین در جیره افزایش یافت[36]. نتایج مشابهی از تاس‌ماهی سیبری[24]، تاس‌ماهی سفید[23]، ماهی آزاد اطلس[37] و قزل‌آلای رنگین‌کمان[38] نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد کولین نقش حیاتی در حمل‌ونقل و سوخت‌وساز چربی‌ها داشته باشد، زیرا از تجمع غیرطبیعی چربی در کبد که عارضه کبد چرب نامیده می‌شود، جلوگیری می‌کند[21]. همچنین *کتولا*[13] گزارش کرد که ماهی قزل‌آلای دریاچه‌ای (*Salvelinus namaycush*) تغذیه‌شده با رژیم غذایی فاقد مکمل کولین ضمن دارابودن کبد پرچرب از کاهش معنی‌دار روند رشد برخوردار بود. برخلاف نتایج فوق، نتایج مطالعات *مای* و همکاران[32] اختلاف معنی‌داری را در چربی لاشه ماهی سوکلای تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین نشان نداد. با توجه به نقش اصلی متابولیک و فیزیولوژیک کولین در بدن (نقش متیل‌دهندگی)، این ماده در ساخت موادی چون متیونین و اسیدهای آمینه گلایسین و کارنیتین که باعث پروتئین‌سازی، رشد و همچنین اکسیداسیون چربی‌ها و عدم تجمع آنها در بدن می‌شوند، نقش اساسی را ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر، میزان چربی کبد عموماً با افزایش کولین جیره تا ۷۵۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره افزایش یافت و سپس از روند نزولی برخوردار بود. می‌توان اذعان کرد که کولین به‌عنوان فاکتور چربی‌سوزی (عامل لیپوتروپیک) مانع بیش از حد انباشتن چربی در کبد و توسعه کبد چرب می‌شود[17]. نتایج مطالعات *جیانگ* و همکاران[39] در مورد *Megalobra amblycephala* نشان داد که حجم چربی کبد به‌دلیل افزایش سطح کولین در جیره غذایی کاهش یافت. از سوی دیگر کولین به‌عنوان دهنده متیل می‌تواند بخشی از وظایف متیونین (متیل‌دهندگی) را انجام دهد و بدین ترتیب متیونین بیشتری صرف پروتئین‌سازی و رشد ماهی خواهد شد[39]. به‌طور کلی می‌توان گفت که افزایش پروتئین لاشه از طریق تعادل بین ساخت و تخریب آن سنجیده می‌شود که این امر به وسیله تقابل بین مواد هورمونی، تغذیه‌ای و سایر مسیرهای زیستی، تحت تاثیر قرار می‌گیرد[40]. افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم خون به‌عنوان شاخصی از تخریب کبد است[41]. براساس نتایج مطالعه حاضر، افزودن کولین‌کلراید جیره به ترکیب غذایی ماهی آزاد دریای خزر در سطح ۷۵۰ و ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم منجر به کاهش معنی‌داری در آنزیم‌های کبدی شامل آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و لاکتات‌دهیدروژناز در مقایسه با تیمار شاهد شد. این امر ممکن است به‌دلیل جلوگیری از آسیب‌دیدن کبد در اثر حضور مقادیر بهینه کولین جیره غذایی باشد.

آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیولوژیکی و محیطی از جمله بروز اختلالات در عضلات اسکلتی، نارسایی و اختلالات قلبی، نوع جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب قرار می‌گیرند[40, 41]. احتمالاً افزایش سطح فعالیت این آنزیم در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار فاقد کولین می‌تواند حاکی از بروز آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی به بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت کبد باشد[42]. آنزیم آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلانین‌آمینوترانسفراز نقش مهمی در مراحل نهایی تجزیه پروتئین برای تولید ATP ایفا می‌کند[43]. به عبارت دیگر، افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها، نقش موثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرآیند اکسیداسیون یا گلوکوژنز ایفا می‌کند و می‌تواند شاخص بالینی مناسبی برای تشخیص آسیب‌های وارد به کبد محسوب شود. بنابراین می‌توان گفت که مکمل کولین‌کلراید در شرایط نامناسب محیطی و تغذیه‌ای که ممکن است با استرس‌های خاصی همچون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد، می‌تواند با تاثیر مثبت بر سیستم ایمنی بدن ماهی، باعث مقاومت بیشتر و در نهایت افزایش بازده تولید در واحد

www.SID.ir

Archive of SID

سطح شود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر افزودن مقادیر بهینه کولین‌کلراید در کیلوگرم جیره غذایی، منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در مقادیر متوسط شاخص رشد، کارآیی غذا، ترکیب لاشه، فعالیت آنزیم‌های کبدی (آلانین‌آمینوترانسفراز و آسپارتات‌آمینوترانسفراز)، نسبت به تیمار شاهد شد. بنابراین افزودن میزان ۷۵۰ تا ۱۰۰۰میلی‌گرم کولین‌کلراید، در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر به‌منظور دستیابی به بیشینه رشد، ترکیب بهینه لاشه و افزایش سیستم ایمنی ضروری به نظر می‌رسد. کمتر از این سطوح به‌دلیل فقدان کولین‌کلراید مورد نیاز و عدم توانایی ساخت توسط ماهی و بیشتر از این سطوح نیز به‌دلیل اثر سمیت و همبستگی منفی در ماهی آزاد دریای خزر توصیه نمی‌شود.

تشکر و قدردانی: مطالعه حاضر با حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران در قالب پروژه "بهینه‌سازی و تولید غذای ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)"در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور- تنکابن طراحی و اجرا شد. نویسندگان از کلیه همکارانی که با کمک‌های بی‌دریغ خود پشتیبان این پروژه بودند، سپاسگزاری می‌کنند.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

سهم نویسندگان: محمود محسنی (نویسنده اول)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۴۰%)؛ سلطنت نجارلشگری (نویسنده دوم)، پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۱۵%)؛ یونس گل‌علیپور (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/روش‌شناس (۱۵%)؛ راحله اسمعیل‌نیا (نویسنده چهارم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر کمکی (۱۵%)؛ کادوسا موذن‌زاده (نویسنده پنجم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر کمکی (۱۵%)

منابع مالی: این مطالعه با حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و کارخانه خوراک آبزیان بهدانه شمال انجام شده است.

منابع

1- Abdoli A. The inland water fishes of Iran. 1st Edition. Tehran: Museum of Nature and Wild Life of Iran; 2000. [Persian]
2- Coad BW. Criteria for assessing the conservation status of taxa (as applied to Iranian freshwater fishes). Biologia. 2000;55(5):537-55.
3- Niksirat H, Abdoli A. On the status of the critically endangered Caspian brown trout, Salmo trutta caspius, during recent decades in the southern Caspian Sea basin (Osteichthyes: Salmonidae). Zool Middle East. 2009;46(1):55-60.
4- Armantrout NB. The freshwater fishes of Iran [Dissertation]. Oregon: Oregon State University; 2000.
5- Kiabi BH, Abdoli A, Naderi M. Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. Zool Middle East. 1999;18(1):57-65.
6- Sarvi Moghanlou K, Kalbassi M, Mojazi Amiri B. Seasonal changes of some physiological parameters of Salmo trutta caspiusfingrlings in fresh and brackish water. 2012;65(3);295-305. [Persian]
7- Iuliana A, Aida V, Gabriela G, Aurelia I, Elpida P. Evaluation of nutritional quality of the common carp (Cyprinus carpio) enriched in fatty acids. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology. 2012;36(1):61-73.
8- Mohseni M, Pourali HR, Kazemi R, Bai SC. Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (Huso huso L. 1758). Aquac Res. 2014;45(11):1832-41.
9- Cho SH, Lee SM, Lee SM, Lee JH. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (Scophthalmus maximus L) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquac Nutr. 2005;11(4):235-40.
10- Halver JE. The vitamins. In: Halver JE. Fish nutrition. 2nd Edition. San Diego: Academic Press; 1989. pp. 32-109.
11- NRC (National Research Council). Nutrient requirement of domestic animals. 8th Edition. Washington, D.C.: National Academy Press; 1993.
12- Wauben IP, Wainwright PE. The influence of neonatal nutrition on behavioral development: A critical appraisal. Nutr Rev. 1999;57(2):35-44.
13- Ketola HG. Choline metabolism and nutritional requirement of lake trout (Salvelinus namaycush). J Anim Sci. 1976;43(2):474-7.
14- Rumsey GL. Choline-betaine requirements of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. 1991;95(1-2):107-16.
15- Wilson RP, Poe WE. Choline nutrition of fingerling channel catfish. Aquaculture. 1988;68(1):65-71.
16- Zhang Z, Wilson RP. Reevaluation of the choline requirement of fingerling channel catfish (Ictalurus punctatus) and determination of the availability of choline in common feed ingredients. Aquaculture. 1999;180(1-2):89-98.
17- NRC. Nutrient requirements of fish. Washington, D.C.: National Academy of Science of Washington; 2011.
18- McLaren BA, Keller E, O'donnell DJ, Elvehjem CA. The nutrition of rainbow trout. 1. Studies of vitamin requirements. Arch Biochem. 1947;15:169-78.
19- Wang D, Zhao L, Tan Y. Requirement of the fingeling grass carp (Ctenopharyngodon taellus) for choling. Shuichan Xuebao. 1995;19(2):133-9. [Chinese]
20- Arai S, Nose T, Hashimoto Y. Apurified test diet for the eel, Anguilla japonica. Freshw Fish Res Lab Tokyo. 1971;21:161-78.
21- Poston HA. Choline requirement of swim-up rainbow trout fry. Progress Fish Cultur. 1991;53(4):220-3.
22- Rollin X, Mambrini M, Abboudi T, Larondelle Y, Kaushik SJ. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (Salmo salar L.) fry. Br J Nutr. 2003;90(5):865-76.
23- Yazdani Sadati MA, Sayed Hassani MH, Pourkazemi M, Shakourian M, Pourasadi M. Influence of different levels of dietary choline on growth rate, body composition, hematological indices and liver lipid of juvenile Siberian sturgeon Acipenser baerii Brandt, 1869. J Appl Ichthyol. 2014;30(6):1632-6.
24- Mohseni M, Seyed Hassani MH, Pourali HR, Kazemi R, Hallajan A. Effect of different levels of choline on growth factors, carcass compositions, and haematological-biochemical parameters in juvenile Huso huso. Fish Sci Technol. 2018;7(3):191-7. [Persian]
25- Mohseni M, Hassani MH, Pourali FH, Pourkazemi M, Bai SC. The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, Huso huso. J Appl Ichthyol. 2011;27(2):775-80.
26- AOAC. Official methods of analysis. 16th Edition.

www.SID.ir

Archive of SID

Arlington: Association of Official Analytical Chemists; 1995.
27- Borges A, Scotti LV, Siqueira DR, Jurinitz DF, Wassermann GF. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (Rhamdia quelen). Fish Physiol Biochem. 2004;30(1):21-5.
28- Kőrös Á, Hanczko R, Jambor A, Qian Y, Perl A, Molnar-Perl I. Analysis of amino acids and biogenic amines in biological tissues as their o-phthalaldehyde/ethanethiol/fluorenylmethyl chloroformate derivatives by high-performance liquid chromatography: A deproteinization study. J Chromatogr A. 2007;1149(1):46-55.
29- AOAC International, Horwitz W. Official methods of analysis of AOAC International. 18th Edition. Washington: AOAC International; 2005.
30- Hung SS. Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (Acipenser transmontanus). Aquaculture. 1989;78(2):183-94.
31- Ogino C, Uki N, Watanabe T, Iida Z, Ando K. B vitamin requirements of carp. 4. Requirement for choline. Bull Jpn Soc Sci Fish. 1970;36(11):1140-6.
32- Mai K, Xiao L, Ai Q, Wang X, Xu W, Zhang W, et al. Dietary choline requirement for juvenile cobia, Rachycentron canadum. Aquaculture. 2009;289(1-2):124-8.
33- Griffin ME, Wilson KA, White MR, Brown PB. Dietary choline requirement of juvenile hybrid striped bass. J Nutr. 1994;124(9):1685-9.
34- Shiau SY, Lo PS. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, Oreochromis niloticus× O. aureus. J Nutr. 2000;130(1):100-3.
35- Won S, Lee S, Hamidoghli A, Lee S, Bai SC. Dietary choline requirement of juvenile olive flounder (Paralichthys olivaceus). Aquac Nutr. 2019;25(6):1281-8.
36- Shiau SY, Lo PS. Dietary choline requirement of juvenile grass shrimp (Penaeus monodon). Anim Sci. 2001;72(3):477-82.
37- Twibell RG, Brown PB. Dietary choline requirement of juvenile yellow perch (Perca flavescens). J Nutr. 2000;130(1):95-9.
38- Poston HA. Effect of body size on growth, survival, and chemical composition of Atlantic salmon fed soy lecithin and choline. Progress Fish Cultur. 1990;52(4):226-30.
39- Jiang GZ, Wang M, Liu WB, Li GF, Qian Y. Dietary choline requirement for juvenile blunt snout bream, Megalobrama amblycephala. Aquac Nutr. 2013;19(4):499-505.
40- Liu Z, Barrett EJ. Human protein metabolism: Its measurement and regulation. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;283(6):E1105-12.
41- Banaee M, Mirvaghefei AR, Rafiee GR, Mojazi Amiri B. Effect of sublethal diazinonconcentrations on blood plasma biochemistry. Int J Environ Res. 2008;2(2):189-98.
42- Taati R, Soltani M, Bahmani M, Zamini AA. Growth performance, carcass composition and immunophysiological indices injuvenile great sturgeon (Huso huso) fed oncommercial prebiotic, Immunoster. Iran J Fish Sci. 2011;10(2):324-35.
43- Secombes CJ. The non-specific immune system: Cellular defenses. In: Iwama G, Nakanishi T, editors. The fish immune system. Cambridge: Academic Press; 1996. pp. 63-103.

www.SID.ir