



Effect of Different Levels of Choline on Growth factors, Carcass Compositions, and Haematological-Biochemical Parameters in Juvenile *Huso huso*

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Mohseni M.^{*1} PhD,
Seyed Hassani M.H.¹ MSc,
Pourali H.R.¹ PhD,
Kazemi R.¹ PhD,
Hallajan A.¹ MSc

How to cite this article

Mohseni M, Seyed Hassani M H, Pourali H R, Kazemi, Hallajan A. Effect of Different Levels of Choline on Growth factors, Carcass Compositions, and Haematological-Biochemical Parameters in Juvenile *Huso huso*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018 ;7(3):191-197.

¹Caspian Sea International Sturgeon Research Institute, Agriculture Research & Education Organization (AREEO), Rasht, Iran

*Correspondence

Address: Caspian Sea International Sturgeon Research Institute, Agriculture Research & Education Organization (AREEO), Rasht, Iran
Phone: +98 (13) 34533721
Fax: -
mahmoudmohseni73@gmail.com

Article History

Received: November 30, 2015
Accepted: August 08, 2018
ePublished: September 22, 2018

ABSTRACT

Aims The breeding of *Huso huso* is a relatively new industry in Iran. The aim of this study was to investigate the effect of different levels of choline on growth factors, carcass composition, and haematological-biochemical parameters in juvenile beluga (*Huso huso*).

Materials & Methods In this experimental study, 150 *Huso huso* in control, Cho₂, Cho₄, Cho₆, and Cho₈ treatments consisting of 0, 2, 4, 6, and 8g/kg⁻¹ choline of food with 3 replicates per treatment were fed for 12 weeks to evaluate growth performance, carcass composition, and some haematological and serological parameters. The data were analysed by analysis of one way variance and Duncan test, using SPSS 24 software.

Findings The final weight, weight gain, specific growth rate index, protein efficiency ratio, obesity coefficient, and feed conversion ratio of fish fed with diet containing appropriate levels of choline (2-4g/kg⁻¹) were significantly better than fish fed with other diets. The highest growth and food efficiency was observed in fish fed with Cho₄. With increasing choline in fish diet, body fat and protein concentrations significantly increased, but carcass moisture decreased. Also, addition of 2-4g/kg⁻¹ choline to diet caused a significant difference in the mean number of red and white cells, the activity of liver enzymes (alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase), albumin, and total blood protein compared with control treatment.

Conclusion In order to achieve the best growth and optimal carcass composition of juvenile beluga, the most suitable amount of choline is 2-4g/kg⁻¹ in the fish diet.

Keywords Choline; Blood Parameters; Nutrient; Growth Factors; Beluga

CITATION LINKS

[1] Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates ... [2] A rapid method of total lipid extraction and ... [3] Methods of extraction composition and stability of vitamin A and other components in dogfish (*Squalus acanthias*) ... [4] A quantitative lipid extraction method for residue analysis of fish ... [5] Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products ... [6] Extraction of fish oil using green extraction methods ... [7] Mackerel (*Scomber scombrus*) oil extraction and evaluation ... [8] Choline metabolism and nutritional requirement of ... [9] Choline nutrition of fingerling channel ... [10] Choline requirement of hatchery-produced ... [11] Reevaluation of the choline requirement of fingerling ... [12] Influence of different levels of dietary choline on ... [13] Dietary protein requirement of sharpsnout sea ... [14] Nutrient requirements and feeding of finfish for ... [15] Development of a reference diet for use in indispensable ... [16] The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare ... [17] Effects of feeding rate and frequency on growth ... [18] Official methods of analysis of the association ... [19] Schalm's veterinary ... [20] Hematologic and serum biochemical ... [21] The nutrition of rainbow trout, studies ... [22] B vitamin requirements of carp. 4. requirement ... [23] Dietary choline requirement for juvenile cobia, *Rachycentron* ... [24] Choline-betaine requirements of rainbow trout ... [25] Surplus dietary tryptophan reduces plasma cortisol and noradrenaline ... [26] The importance of betaine and some attractive substances ... [27] Human protein metabolism: Its measurement and ... [28] Dietary choline requirement of juvenile grass shrimp ... [29] Biological indicators of aquatic ecosystem ... [30] Haematology and some blood chemical parameters ... [31] Growth performance, carcass composition ... [32] Serum biochemical parameter of ... [33] Haemato-immunological responses to dietary yeast ... [34] Laboratory handbook on ... [35] Toxicity studies of nonylphenol on rosy ... [36] Effect of sub-lethal diazinon concentrations ... [37] The non-specific immune system ... [38] Cytosolic aspartate aminotransferase from ... [39] Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish ...

تاثیر سطوح مختلف کولین بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون فیلماهی جوان پرورشی

محمود محسنی* PhD

موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

میرحامد سیدحسینی MSc

موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

حمیدرضا پورعلی PhD

موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

رضوان‌اله کاظمی PhD

موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

علی حلاجیان MSc

موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

چکیده

اهداف: پرورش فیلماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) صنعت نسبتاً جدید در ایران به شمار می‌آید. هدف این پژوهش، بررسی تاثیر سطوح مختلف کولین بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون فیلماهی جوان پرورشی بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر، ۱۵۰ قطعه بچه‌فیلماهی در تیمارهای شاهد، Cho_2 ، Cho_4 ، Cho_6 و Cho_8 به‌ترتیب شامل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ گرم کولین در هر کیلوگرم غذا با ۳ تکرار در هر تیمار به‌منظور بررسی عملکرد رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خون و سرم‌شناسی آنها به‌مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 24 از طریق آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و دانکن صورت گرفت.

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 (۲ تا ۴ گرم در کیلوگرم) به‌طور معنی‌داری از ماهیان تغذیه‌شده با سایر جیره‌ها مناسب‌تر بود. بالاترین رشد و کارایی غذا در ماهیان تغذیه‌شده با تیمار Cho_4 مشاهده شد. با افزایش کولین در جیره غذایی ماهیان به‌طور معنی‌داری میزان پروتئین و چربی لاشه افزایش، ولی رطوبت لاشه کاهش یافت. همچنین افزودن ۲ تا ۴ گرم کولین در کیلوگرم به جیره منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در میانگین تعداد یاخته‌های قرمز و سفید، فعالیت آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز)، آلبومین و پروتئین تام خون نسبت به تیمار شاهد شد.

نتیجه‌گیری: به‌منظور دستیابی به بیشترین رشد و ترکیب پهنه لاشه فیلماهی جوان پرورشی، مناسب‌ترین مقدار کولین، ۲ تا ۴ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی است.

کلیدواژه‌ها: کولین، شاخص‌های خونی، غذا، شاخص‌های رشد، فیلماهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۲۰

*نویسنده مسئول: mahmoudmohseni73@gmail.com

مقدمه

امروزه با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و نیاز انسان‌ها به منابع پروتئینی متنوع و سالم، آبی‌پروری نقش مهمی ایفا می‌کند. در این میان آبی‌پروری تاسماهیان به‌دلیل قدرت بالای سازگاری اکولوژیک و توانایی همزیستی با ماهیان استخوانی از نظر پرورش به شکل سودمندی می‌تواند به این مهم کمک کند [1، 2]. با توجه به نقش تغذیه در آبی‌پروری و توسعه ساخت و تولید جیره غذایی ماهیان از محصولات تجاری که بخش هنگفتی از

هزینه‌های کل پرورش را شامل می‌شود، پرورش و تولید موفق ماهیان نیازمند استفاده از خوراک کامل و کارآمد با ترکیب بهینه و مناسب است [3، 4]. ماهیان مانند دیگر 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 باید تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری (پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی) را که در افزایش رشد و سیستم ایمنی و کاهش هزینه تولید نقش دارند، تامین نماید [5، 6].

کولین از جمله ویتامین‌هایی است که در سلامت بسیاری از آبزیان نقش اساسی دارد [7]. 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 متابولیک، پیش‌برنده (کاتالیزور؛ انتقال‌دهنده عصبی استیل‌کولین) و کاتالیزور بتائین به‌صورت فسفاتیدیل‌کولین، تثبیت‌کننده متیل برای واکنش‌های متیل‌سازی و عامل لیپوتروپیک (ممانعت‌کننده تجمع چربی در کبد) و ضدخونریزی بوده و وجود آن برای دستیابی به رشد و ضریب تبدیل غذایی مناسب در ماهیان لازم است [8]. اگر چه ساخت کولین در داخل بدن آبزیان امکان‌پذیر است، ولی به‌دلیل کندی ساخت این ماده در بدن، مقادیر ساخته‌شده فاقد اهمیت زیستی است و باید به‌صورت ماده افزودنی به جیره غذایی آبزیان اضافه شود [9-11].

در حال حاضر منابع جامعی درباره مقادیر کمی کولین در جیره غذایی تجاری تاسماهیان ایران وجود ندارد و مقادیر اضافه‌شده کولین به جیره غذایی این گونه‌ها براساس نیازهای گونه‌های 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. مطالعات اندکی در خصوص تعیین نیازمندی تاسماهیان به ویتامین‌های مختلف انجام و منتشر شده است. یزدانی و همکاران [12] تاثیر سطوح مختلف کولین (صفر، ۱/۵، ۳ و ۷ گرم در کیلوگرم) را بر روند رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی خون تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با وزن متوسط $37/67 \pm 0/67$ به‌مدت ۱۲ هفته بررسی کرده‌اند. ماهیان تغذیه‌شده با مقادیر ناکافی کولین اشتها خود را از دست دادند، شاخص‌های رشد کاهش یافت و آنان مقدار ۱/۵ گرم کولین در کیلوگرم جیره بچه‌تاسماهی سیبری را مناسب ارزیابی کرده‌اند. براساس شاخص‌های رشد، درصد بقا و ترکیب بدن میزان کولین در بچه‌تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*)، ۱/۷ تا ۳/۲ گرم در کیلوگرم برآورد شده است [10].

پرورش فیلماهی (*Huso huso*) صنعت نسبتاً جدید در ایران به شمار می‌آید و اطلاعات در مورد مدیریت مناسب پرورش و نیازمندی‌های غذایی این گونه محدود است. تعیین احتیاجات غذایی آن، اولین گام موثر برای تولید جیره غذایی کم‌هزینه با کارایی بالا در رشد ماهیان محسوب می‌شود. اضافه‌نمودن ریزمغذی‌ها در غذای فرموله سبب افزایش بهبود کیفیت غذای مصرفی، به‌حداقل‌رساندن زمان غذاگیری ماهی، کاهش زمان ماندگاری غذا در آب و در نتیجه سبب کاهش و ازبین‌رفتن مواد مغذی موجود در غذا شده است [13] که به‌تبع آن آلودگی آب نیز به حداقل می‌رسد [14، 15]. بنابر مطالب ذکرشده، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر سطوح مختلف کولین بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون فیلماهی

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، ترکیبات غذایی مورد نیاز آزمایش برای آنالیز به آزمایشگاه (مرکز تحقیقات علوم دامی؛ ایران) ارسال شد تا براساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام شود (جدول ۱ و ۲). جیره شاهد (عاری از کولین کلراید) و جیره‌های آزمایشی (جیره‌های ۱ تا ۴) با استفاده از پودر ماهی کیلکای عمل‌آوری‌شده در دمای پایین (به‌عنوان طعم‌دهنده غذا و منبع پروتئینی)، کازئین عاری از ویتامین (سیگما-آلدیج؛ ایالات متحده) و گلوتن گندم (بهپاک مشهد؛ ایران) به‌عنوان منبع پروتئینی، روغن ذرت و روغن ماهی کیلکا (غذای ماهی خزر؛ ایران) به نسبت مساوی به‌عنوان منبع چربی و دکسترین (گلکوسان قزوین؛ ایران) به‌عنوان منبع کربوهیدرات، ۵ جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱۲/۵٪) چربی خام و با پروتئین خام یکسان (۴۲٪ پروتئین) فرموله و ساخته شدند [3].

جدول ۱ اجزای غذایی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی محتوی سطوح مختلف کولین کلراید (گرم بر کیلوگرم)

ترکیبات غذایی	شاهد	Cho ₂	Cho ₄	Cho ₆	Cho ₈
کازئین ^۱	۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰	۳۵۰
گلوتن گندم	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰
آرد ماهی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
دکسترین	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
متیونین	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
لیزین	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
کولین کلراید	۰	۲	۴	۶	۸
مکمل ویتامینی	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
مکمل معدنی	۵	۵	۵	۵	۵
سلولز ^۲	۲۵	۲۳	۲۱	۱۹	۱۷
روغن گیاهی	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
روغن جانوری	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰

^۱ سلولز خالص به‌عنوان پرکننده استفاده شد

جدول ۲ آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی بچه‌فیل‌ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

ترکیب	جیره شاهد	Cho ₂	Cho ₄	Cho ₆	Cho ₈
رطوبت	۱۰۳	۱۰۰	۱۰۱	۱۰۴	۱۰۴
پروتئین خام	۴۱۷	۴۱۴	۴۱۲	۴۱۹	۴۱۷
چربی خام	۱۲۵	۱۲۹	۱۲۸	۱۲۶	۱۲۵
انرژی خام (مگاژول در کیلوگرم)	۱۹/۸	۲۰/۱	۱۹/۹	۱۹/۸	۱۹/۸
کولین (گرم در کیلوگرم)	۰/۲۵	۲/۳۵	۴/۲۳	۶/۵۵	۸/۴۵

مواد خشک قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (دامیکور؛ ایران) به قطر کمتر از ۸۰۰ میکرون شکسته شدند. مواد ریزمغذی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ال-کارنیتین با پودر گندم به‌مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه همزن دوزبانه (Twin-Shell) کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. سپس مجدداً مخلوط حاصل به سایر ترکیبات اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه دیگر با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن (پویانتاش مشهد؛ ایران) مخلوط شدند.

محصول نهایی با استفاده از دستگاه پلت‌زن مدل CL series (شرکت CPM؛ ایالات متحده) به غذای فرموله به قطر ۴ میلی‌متر تبدیل شد. سپس پلت‌ها با استفاده از خشک‌کن غذا و در دمای ۳۰°C تا رطوبت تقریبی ۱۰٪ خشک شدند. جیره‌ها پس از خشک‌شدن، 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

تهیه ماهیان و نحوه پرورش: تعداد ۱۵۰ قطعه بچه‌فیل‌ماهی به‌طور تصادفی با میانگین وزنی ۸۶/۷۲±۲/۱۴ گرم در ۱۵ وان (۵ تیمار غذایی با سه تکرار در هر تیمار) فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری (به قطر ۱۰۰ و ارتفاع ۵۳ سانتی‌متر و حجم مفید آب ۳۵۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به‌صورت فواره‌ای) با دبی آب ۳/۸۸ لیتر در دقیقه (آب رودخانه سفیدرود) در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر به‌مدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. میانگین غلظت اکسیژن محلول، pH و دمای آب در طول دوره پرورش به‌ترتیب ۷/۸±۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، ۷/۳±۰/۲ و ۲۱/۸±۰/۸°C بود.

ماهیان ۴ بار در روز و در ساعات ۸، ۱۴، ۲۰ و ۲۴ بامداد تا حد سیری و به‌صورت دستی غذادهی شدند [17]. همه تیمارها در دوره نوری طبیعی (D:۱۰ L:۱۴) قرار داشتند. به‌منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی ماهیان قطع شد. برای زیست‌سنجی و نمونه‌برداری، ماهیان با محلول پودر گل میخک (۲۰۰ ppm) بیهوش شدند [3].

آنالیز اجزا، جیره غذایی و ترکیب بدن فیل‌ماهی: آنالیز تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و جیره‌های آزمایشی براساس روش‌های استاندارد جیره انجمن رسمی شیمی‌دانان تجزیه (AOAC) [18] انجام شد. پس از ۱۲ ساعت قطع غذادهی به‌منظور اطمینان از تخلیه محتویات شکمی ماهیان در پایان دوره پرورش از هر تکرار ۳ عدد ماهی به‌طور تصادفی برداشت شد. به‌منظور محاسبه شاخص کبدی، کبد از بدن جدا شد. برای آنالیز لاشه (پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر) نیز پس از خارج‌کردن امعا و احشا، لاشه ماهیان به آزمایشگاه ارسال شد. برای اندازه‌گیری رطوبت نمونه‌های جیره و ماهی، نمونه‌ها در دمای ۱۰۵°C و به‌مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل (N×۶/۲۵) از روش کج‌دال، چربی با روش سوکسله و با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰°C و به‌مدت ۴ تا ۶ ساعت، میزان انرژی موجود در ترکیبات غذایی با استفاده از بمب کالری‌متر و خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰°C و به‌مدت ۹ ساعت اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌های ۵۰ گرمی از جیره‌های ساخته‌شده بلافاصله فریز و برای تعیین غلظت کولین کلراید جیره (موسسه بیوتکنولوژی کرج؛ ایران) فرستاده شدند. میزان غلظت واقعی کولین در جیره‌های غذایی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC؛ شرکت Knauer؛ آلمان) به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. غلظت کولین به‌ترتیب ۰/۲۵، ۲/۳۵، ۴/۲۳، ۶/۵۵ و ۸/۴۵ گرم در کیلوگرم جیره برآورد شد که به اختصار در متن با نام‌های جیره شاهد، Cho₂، Cho₄، Cho₆ و Cho₈ معرفی شدند.

به‌منظور بررسی شاخص‌های خونی (CBC)، بیوشیمیایی (پروتئین کل و آلبومین) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، ۱۸ ساعت پس از قطع غذادهی با استفاده از سرنگ‌های ۲ سی‌سی از ۲ تا ۳ قطعه ماهی، خونگیری از ساقه دمی به عمل آمد. سپس ۵/۰ سی‌سی از خون به داخل تیوب‌های اپندورف آغشته به ماده ضدانعقاد خون (هپارین) و ۵/۰ سی‌سی باقیمانده به داخل تیوب‌های اپندورف غیرهپارینه شماره‌گذاری‌شده برای انجام مطالعات خونی و سرولوژی منتقل شد. در این مطالعه تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، تعداد

در کیلوگرم، سولفات کبالت ۲ میلی گرم در کیلوگرم، سلتیت سدیم ۳ میلی گرم در کیلوگرم، کلریدیتاسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم و کلریدسدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم تشکیل شده بود.

تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS 24 انجام شد. پس از کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای بررسی تفاوت شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان بین جیره‌های مختلف استفاده شد. طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل در سه تکرار روی بچه‌فیل ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

تأثیر سطوح مختلف کولین کلراید بر برخی از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب و شاخص‌های رشد: پارامترهای کیفی آب اختلاف معنی‌داری در طول دوره پرورش نسبت به یکدیگر نشان ندادند. در طول دوره پرورش، مرگ‌ومیری مشاهده نشد. وزن نهایی بدن ماهیان تغذیه‌شده با تیمار Cho₄ (شامل ۴ گرم کولین در کیلوگرم جیره) به طور معنی‌داری از ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های شاهد، Cho₆ و Cho₈ بالاتر بود. وزن کسب‌شده و شاخص رشد ویژه ماهیان تیمار Cho₄ نیز به طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های شاهد و Cho₈ بود. همچنین اختلاف معنی‌داری در این شاخص‌ها بین تیمارهای Cho₂، Cho₄ و Cho₆ مشاهده نشد. در شاخص‌های ضریب چاقی و نسبت بازده پروتئین ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین کلراید به استثنای ماهیان تیمار شاهد که به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر تیمارها بود، در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای Cho₆ و Cho₈ به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر تیمارها بود. همچنین بالاترین مقدار متوسط ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

ترکیبات بدن: کمترین میزان پروتئین لاشه متعلق به ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بود که به طور معنی‌داری نسبت به پروتئین لاشه ماهیان تغذیه‌شده با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود. سطوح مختلف کولین جیره بر مقادیر چربی و رطوبت لاشه تأثیر معنی‌داری داشت، به طوری که با افزودن کولین کلراید به جیره غذایی ماهیان، میزان چربی به طور معنی‌داری افزایش و در مقابل رطوبت لاشه به طور معنی‌داری کاهش یافت. در میزان خاکستر لاشه ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف غذایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

میانگین تعداد گلبول قرمز خون فیل ماهیان تغذیه‌شده با سطوح ۲ و ۴ گرم کولین در کیلوگرم به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بود، اما میانگین تعداد گلبول سفید خون با مقادیر متوسط مکمل کولین کلراید جیره غذایی رابطه معکوسی داشت (جدول ۵).

گلبول‌های سفید خون (WBC)، درصد هماتوکریت (PCV) و مقدار هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی متداول اندازه‌گیری شد [19].

برای انجام مطالعات سرولوژی، خون با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ مدل Labofuge (Heraeus sepatch؛ آلمان) با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم حاصل به تیوپ‌های اپندورف‌ها منتقل و تا زمان آزمایش در دمای ۸۰°C - نگهداری شد. اندازه‌گیری شاخص‌های سرولوژی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (پارس‌آزمون، ایران) و به وسیله دستگاه اتوآنالایزر Euro lyser (Euro lyser؛ بلژیک) صورت گرفت. آلبومین به روش بروموکرزول سبز و پروتئین تام به روش بیوره اندازه‌گیری شد. سنجش آنزیم ALT و AST نیز به روش رنگ‌سنجی کینتیک صورت گرفت [20].

تعیین شاخص‌های رشد و کبدی: با استفاده از اطلاعات زیست‌سنجی ماهیان هر وان، شاخص‌های محاسباتی شامل وزن کسب‌شده (WG)، شاخص رشد ویژه (SGR/day)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، نسبت بازده پروتئین (PER) و شاخص کبدی (HIS) محاسبه شد:

$$WG (\%) = \text{وزن ابتدایی} - \text{وزن انتهایی}$$

$$SGR (\%) = \frac{\text{لگاریتم وزن ابتدایی} - \text{لگاریتم وزن انتهایی}}{\text{دوره پرورش}} \times 100$$

$$CF = \frac{\text{وزن}}{\text{طول}^3} \times 100$$

$$FCR = \frac{\text{وزن غذای داده‌شده}}{\text{وزن تر تولیدشده}}$$

$$HSI (\%) = \frac{\text{وزن کبد}}{\text{وزن بدن}} \times 100$$

$$PER = \frac{\text{وزن تر تولیدشده}}{\text{پروتئین مصرف‌شده}} \times 100$$

مکمل ویتامینی شامل د-آل-آلفاتوکوفرول استات ۶۰ واحد بین‌المللی، یو، د-آل-کولکلسیفرول ۳۰۰ واحد بین‌المللی، تیامین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ریبوفلاوین ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، پیروودوکسین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین B12 ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اینوسیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیوتین ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و کلسیم پنتوتئات ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

مکمل معدنی نیز از کرینات کلسیم ۴۰٪ ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسیدمنیزیم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدیدیتاسیم ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دوظرفیتی ۵ گرم

جدول ۳) میانگین شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه و شاخص کبدی بچه‌فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف در پایان ۱۲ هفته

شاخص‌ها	شاهد	Cho ₂	Cho ₄	Cho ₆	Cho ₈
شاخص‌های رشد					
وزن نهایی (گرم)	۲۶۶/۷۰±۹/۱۳ ^c	۳۲۹/۵۰±۷/۱۴ ^{ab}	۳۴۲/۹۰±۱۰/۴۹ ^a	۳۲۲/۷۰±۸/۳۹ ^b	۳۲۳/۳۰±۱۰/۶۰ ^b
وزن کسب‌شده (درصد)	۲۱۰/۶۰±۱۱/۹۰ ^c	۲۸۵/۹۱±۱۰/۳۰ ^{ab}	۲۹۴/۵۰±۱۱/۵۰ ^a	۲۸۱/۴۱±۹/۳۰ ^{ab}	۲۷۲/۲۰±۱۴/۶۰ ^b
شاخص رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۶۲±۰/۰۵ ^c	۱/۹۳±۰/۰۲ ^a	۱/۹۶±۰/۰۴ ^a	۱/۹۱±۰/۰۳ ^{ab}	۱/۷۸±۰/۰۶ ^b
ضریب تبدیل غذا	۱/۸۱±۰/۰۵ ^a	۱/۰۱±۰/۰۳ ^c	۱/۰۲±۰/۰۴ ^c	۱/۲۵±۰/۰۳ ^b	۱/۳۱±۰/۰۳ ^b
ضریب چاقی	۰/۴۴±۰/۰۹ ^b	۰/۵۸±۰/۰۶ ^a	۰/۶۷±۰/۰۹ ^a	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a
نسبت بازده پروتئین	۱/۱۶±۰/۰۱ ^b	۱/۴۷±۰/۰۸ ^a	۱/۵۳±۰/۰۷ ^a	۱/۴۳±۰/۰۹ ^a	۱/۴۰±۰/۰۱ ^a
شاخص کبدی	۳/۹۰±۰/۲۹ ^a	۳/۹۶±۰/۱۵ ^a	۳/۸۶±۰/۲۴ ^a	۳/۸۹±۰/۲۲ ^a	۳/۴۰±۰/۳۸ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵)

جدول ۴) ترکیب لاشه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کولین کلراید در پایان دوره پرورش بچه‌فیل‌ماهیان (گرم در کیلوگرم وزن تر)

شاخص‌ها	شاهد	Cho ₂	Cho ₄	Cho ₆	Cho ₈
پروتئین	۱۴/۶۰±۰/۵۴ ^b	۱۶/۴۰±۰/۴۰ ^a	۱۶/۲۰±۰/۳۹ ^a	۱۶/۲۰±۰/۳۱ ^a	۱۵/۷۰±۰/۵۵ ^a
چربی	۸/۳۶±۰/۵۴ ^b	۹/۲۴±۰/۱۶ ^a	۹/۱۴±۰/۱۶ ^a	۹/۰۷±۰/۳۲ ^a	۸/۹۷±۰/۳۹ ^{ab}
رطوبت	۷۵/۶±۱/۳۱ ^b	۷۳/۲۰±۱/۵۹ ^a	۷۳/۹۰±۱/۳۲ ^a	۷۴/۱۰±۱/۳۱ ^a	۷۴/۷۰±۱/۵۱ ^{ab}
خاکستر	۱/۰۹±۰/۱۱	۱/۰۶±۰/۰۵	۱/۰۲±۰/۰۷	۱/۰۴±۰/۰۴	۱/۰۵±۰/۰۹

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵).

جدول ۵) میانگین آماری شاخص‌های خونی، آنزیم‌های کبدی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف کولین

شاخص‌ها	شاهد	Cho ₂	Cho ₄	Cho ₆	Cho ₈
شاخص‌های خونی					
هماتوکریت (درصد)	۲۳/۶±۰/۳۱ ^b	۲۵/۹±۰/۳۲ ^a	۲۴/۳±۰/۹۶ ^{ab}	۲۴/۷±۰/۵۱ ^{ab}	۲۴/۲±۰/۲۹ ^{ab}
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۵/۲۰±۰/۵۴	۵/۷۳±۰/۵۵	۵/۸۹±۰/۳۹	۵/۴۰±۰/۸۹	۵/۹۶±۰/۶۷
گلبول‌های قرمز (میلی‌متر مکعب)	۰/۷۰±۰/۰۴ ^b	۰/۸۴±۰/۰۱ ^a	۰/۸۲±۰/۰۷ ^a	۰/۷۴±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۷۶±۰/۱۱ ^{ab}
گلبول‌های سفید (میلی‌متر مکعب)	۷۰/۹±۱/۸۱ ^a	۶۴/۳±۳/۰۵ ^{bc}	۶۱/۶±۳/۰۷ ^c	۶۹/۵±۱/۵۷ ^a	۶۷/۱±۱/۴۳ ^{ab}
آنزیم‌های کبدی					
آلانین آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)	۷۱۰/۳±۸۰/۶ ^b	۶۷۰/۹±۹۱/۴۰ ^a	۶۶۷/۶±۵۰/۷ ^a	۶۶۰/۲±۷۳/۳ ^a	۶۴۳/۸±۹۰/۸ ^a
آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)	۳۱/۵۸±۲/۵۶ ^b	۲۴/۵۵±۳/۶۳ ^a	۲۵/۶۳±۵/۸۵ ^a	۲۴/۵۳±۴/۷۵ ^a	۲۲/۳۳±۳/۲۵ ^a
شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون					
پروتئین (گرم در دسی‌لیتر)	۲/۲۹±۰/۲۱ ^b	۲/۵۴±۰/۱۹ ^a	۲/۵۸±۰/۳۵ ^a	۲/۵۶±۰/۴۵ ^a	۲/۵۹±۰/۱۹ ^a
آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)	۰/۶۲±۰/۰۹ ^b	۰/۸۱±۰/۰۷ ^a	۰/۸۲±۰/۰۹ ^a	۰/۷۹±۰/۰۸ ^a	۰/۸۰±۰/۰۸ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵).

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف کولین بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهی جوان پرورشی انجام شد. مقادیر متوسط وزن کسب‌شده، کارایی غذا و میزان کارایی پروتئین با افزایش سطح کولین کلراید جیره به میزان ۲ تا ۴ گرم در کیلوگرم به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بهبود یافت. کولین به‌عنوان یک دهنده متیل یکی از ترکیبات لسیتین و استیل‌کولین در جانوران به شمار می‌آید^[۷]. 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 قادر به ساخت کولین به مقدار رفع نیازهای متابولیک خود نیستند^[۹]. نتایج مطالعه *یزدانی‌سادتی* و همکاران^[۱۲] نشان داده است که استفاده از مقدار ۱۵۰ تا ۷۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید در کیلوگرم جیره می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد در بچه‌تاسماهی سیبری شود. علاوه بر آن نتایج مطالعات در سایر گونه‌ها از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)^[۲۱] و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)^[۲۲] نیز بیانگر آن بوده که کمبود کولین موجب کاهش روند رشد شده است. همچنین نتایج برخی دیگر از تحقیقات نشان داده که کمبود کولین موجب تحت فشار قرارگرفتن تغذیه، کمبود رشد و کاهش بقا در تاسماهی سفید^[۱۰]، گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)^[۱۱] و سوکلا (*Rachycentron canadum*)^[۲۳] شده است.

طبق یافته‌ها وزن نهایی ماهیان تیمار Cho₄ به‌طور معنی‌داری از ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های شاهد، Cho₆ و Cho₈ بیشتر بود. این خود بیانگر استفاده بهینه از کولین در جیره غذایی برای دستیابی به رشد مناسب است. بنابراین می‌توان اذعان نمود، برخلاف پستانداران که می‌توانند نیازهای فیزیولوژیک کولین خود را با بیوسنتز کولین از کبد یا متیونین اضافه تامین کنند، ماهیان خاویاری فاقد چنین توانایی هستند. در فیل‌ماهی نیز همانند تاسماهی سیبری^[۱۲]، قزل‌آلای رنگین‌کمان^[۲۴] و سوکلا^[۲۳] برای دستیابی به رشد مطلوب و قابلیت هضم بالا بایستی کولین به

جیره غذایی ماهی اضافه شود.

در بررسی حاضر، مقادیر متوسط پروتئین و چربی لاشه به‌طور معنی‌داری از کولین کلراید جیره تأثیر پذیرفت، به‌طوری که با افزودن کولین، میزان پروتئین و چربی لاشه افزایش و رطوبت لاشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مطالعه حاضر با نتایج پژوهش *یزدانی‌سادتی* و همکاران^[۱۲] همخوانی داشت. آنان افزایش معنی‌دار مقادیر متوسط چربی لاشه در تاسماهی سیبری تغذیه‌شده با سطوح ۱/۵ و ۳/۵ گرم کولین در کیلوگرم جیره غذایی را نسبت به تیمار شاهد گزارش کرده‌اند. بر خلاف نتایج فوق، نتایج مطالعات *مای* و همکاران^[۲۳] اختلاف معنی‌داری را در چربی لاشه ماهی سوکلا تغذیه‌شده با سطوح مختلف کولین نشان نداده 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^[۱۲].

با توجه به نقش اصلی متابولیک و فیزیولوژیک کولین در بدن (نقش متیل‌دهندگی)، این ماده در ساخت موادی چون متیونین و اسیدهای آمینه گلیسین و کارنیتین نقش اساسی ایفا می‌نماید که باعث پروتئین‌سازی، رشد و همچنین اکسیداسیون چربی‌ها و عدم تجمع آنها در بدن می‌شوند^[۲۵]. 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^[۲۶]. به‌طور کلی می‌توان گفت که افزایش پروتئین لاشه از طریق تعادل بین ساخت و تخریب آن سنجیده می‌شود که این امر به‌وسیله تقابل بین مواد هورمونی، تغذیه‌ای و سایر مسیرهای زیستی تحت تأثیر قرار می‌گیرد^[۲۷]. در این بررسی کمترین میزان پروتئین لاشه متعلق به ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد بود. نتایج مطالعات *هونگ* و همکاران^[۱۰] و *شیائو و لو*^[۲۸] نشان داده که افزودن کولین به جیره غذایی باعث افزایش مقادیر پروتئین لاشه به‌ترتیب در گونه‌های تاسماهی سفید و آزادماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) شده است که مطالعه حاضر با آن همخوانی داشت.

در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد

از محدودیت‌های مطالعه حاضر، مشکل تهیه بچه‌فیل‌ماهی بود. پیشنهاد می‌شود اثرات سطوح مختلف کولین در اوزان مختلف و همچنین در سایر گونه‌های تاسماهیان مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

به‌منظور دستیابی به بیشترین رشد و ترکیب بهینه لاشه فیل‌ماهی جوان پرورشی، مناسب‌ترین مقدار کولین، ۲ تا ۴ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی است.

تشکر و قدردانی: نگارندگان از کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه با کمک‌های بی‌دریغشان پشتیبان ما بودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تأییدیه اخلاقی: پژوهش حاضر در قالب طرح مصوب شورای تحقیقات و فناوری استان گیلان- شهرستان رشت "با عنوان بهینه‌سازی جیره غذایی با هدف افزایش شاخص‌های رشد، بهبود کارایی تغذیه و ارتقای سیستم ایمنی تاسماهیان پرورشی (فاز اول: فیل‌ماهی و تاسماهی سیبری) با شماره مصوب ۹۴۱۰۴-۳۲-۳۲ در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر انجام شد.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: محمود محسنی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۶٪)؛ میرحامد سیدحسینی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۵٪)؛ حمیدرضا پورعلی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۱۵٪)؛ رضوان‌اله کاظمی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۷٪)؛ علی حلاجیان (نویسنده پنجم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۷٪)

منابع مالی: با حمایت مالی استانداری استان گیلان انجام شده است.

منابع

- 1- Pourkazemi M. Caspian sea sturgeon conservation and fisheries: Past present and future. J Appl Ichthyol. 2006;22(s1):12-6.
- 2- Mohseni M, Sajjadi M, Pourkazemi M. Growth performance and body composition of sub-yearling Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*, Borodin, 1987), fed different dietary protein and lipid levels. J Appl Ichthyol. 2007;23(3):204-8.
- 3- 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.
- 4- Aprodu I, Vasile A, Gurau G, Ionescu A, Paltenea E. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. Ann Univ Dunarea de Jos Galati Fascicle VI Food Technol. 2012;36(1):61-73.
- 5- 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.
- 6- Halver JE. The vitamins. In: Halver JE, editor. Fish nutrition. 2nd Edition. Cambridge: Academic Press; 1989. pp. 32-109.
- 7- National Research Council (U.S.). Subcommittee on Coldwater Fish Nutrition. Nutrient Requirements of

گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی موجود و افزایش میزان آنها نشان‌دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد^[29]. در صورتی که در مطالعه حاضر بیشترین و کمترین میزان گلبول سفید خون به‌ترتیب در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد و Cho_4 مشاهده شد. این مساله در ظاهر بیانگر سرکوب سیستم ایمنی است، اما با توجه به عدم اندازه‌گیری سایر شاخص‌های سیستم ایمنی همانند فعالیت آنزیم لیزوزیم و انفجار تنفسی در این مورد نمی‌توان نظر قطعی را بیان داشت.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از رابطه مثبت بین سطح کولین‌کلراید در جیره و مقادیر برخی از پارامترهای سرمی خون نظیر آلبومین و پروتئین تام بود. میزان پروتئین تام و آلبومین می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهیان را به تصویر بکشد^[30]. به‌طور کلی افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به‌دلیل واکنش‌های غیراختصاصی در ماهی باشد^[31]. اما در تحقیق حاضر، کاهش آلبومین و پروتئین تام در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها می‌تواند ناشی از اختلال در عملکرد کبد و کلیه باشد. افزایش سطوح پروتئین کل در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح بالای کولین بیانگر افزایش ساخت پروتئین در کبد از طریق سنتز اسیدهای آمینه توسط کولین بوده، در واقع هر چه میزان پروتئین کل و آلبومین بالاتر باشد، ماهی از وضعیت سلامت بیشتری برخوردار است^[32, 33].

آنزیم‌های کبدی معرف سلامت کبد است و عمدتاً تحت تاثیر آسیب‌های بافتی افزایش پیدا می‌کنند. AST و ALT در بافت‌های مختلفی نظیر کبد^[34]، قلب، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه، پانکراس، طحال، گلبول‌های قرمز و آبشش ماهی‌ها^[35] یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها غالباً داخل میتوکندری به‌ویژه در سلول‌های کبدی قرار دارند. لذا هر گونه آسیب خفیف، التهاب یا نکروز سلول‌های کبد موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و افزایش سطح آن در پلاسما می‌شود.

در مطالعه حاضر، افزودن کولین‌کلراید به جیره غذایی فیل‌ماهیان جوان پرورشی سبب کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی خون (AST و ALT) در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح متفاوت کولین‌کلراید نسبت به تیمار شاهد شد. نتایج مطالعات علمی نشان داده است که آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی از جمله بروز اختلالات در عضلات اسکلتی، نارسایی و اختلالات قلبی^[36]، نوع جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب^[31] قرار می‌گیرند. احتمالاً افزایش سطح فعالیت این آنزیم در پلاسما ماهی‌های تحت تیمار فاقد کولین می‌تواند حاکی از بروز آسیب‌های هیستوپاتولوژیک به بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت کبد باشد^[37]. آنزیم‌های AST و ALT نقش مهمی در مراحل نهایی تجزیه پروتئین به‌منظور تولید آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) ایفا می‌کنند^[38]. به عبارت دیگر، افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها نقش موثری در استفاده از اسیدهای آمینه در فرآیند اکسیداسیون یا گلوکوژنز دارد و می‌تواند شاخص بالینی مناسبی برای تشخیص آسیب‌های وارده به کبد محسوب شود^[39]. بنابراین می‌توان اذعان نمود، مکمل کولین‌کلراید با تاثیری که می‌تواند روی سیستم ایمنی بدن ایجاد کند باعث مقاومت بیشتر آبزیان می‌شود و تحت شرایط نامناسب محیطی و تغذیه‌ای که ممکن است با استرس‌های خاصی همچون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد، موثر واقع می‌شود و در نهایت ممکن است باعث افزایش بازده تولید شود.

- 24- Rumsey GL. Choline-betaine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 1991;95(1-2):107-16.
- 25- Koopmans S.J, Ruis M, Dekker R, Diepen H, Korte M, Mroza Z. Surplus dietary tryptophan reduces plasma cortisol and noradrenaline concentrations and enhances recovery after social stress in pigs. *Physiol Behav*. 2005;85(4):469-78.
- 26- Polat A, Beklevik G. The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives. *CIHEAM-IAMZ*. 1999;37:217-20.
- 27- Liu Z, Barrett EJ. Human protein metabolism: Its measurement and regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283(6):E1105-12.
- 28- Shiao Sh, Lo P.S. Dietary choline requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Anim Sci*. 2001;72(3):477-82.
- 29- Marshall Adams S, editor. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Maryland: American Fisheries Society; 2002.
- 30- Svetina A, Matasin Z, Tofant A, Vucemilo M, Fijan N. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Vet Hung*. 2002;50(4):459-67.
- 31- Taati R, Soltani M, Bahmani M, Zamini AA. Growth performance, carcass composition and immunophysiological indices in juvenile great sturgeon (*Huso huso*) fed on commercial prebiotic, *Immunoster*. *Iran J Fish Sci*. 2011;10(2):324-35.
- 32- Yousefian M, Sheikholeslami A, Kor Davood M. Serum biochemical parameter of male, immature and female Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aust J Basic Appl Sci*. 2011;5(5):476-81.
- 33- Kumar Jha A, Pal AK, Sahu NP, Kumar S, Mukherjee SC. Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA, ω -3 fatty acid and β -carotene in *Calta calta* juveniles. *Fish Shellfish Immunol*. 2007;23(5):917-27.
- 34- Shanmugam S. Laboratory handbook on biochemistry. New Delhi: PHI Learning Pvt Ltd; 2010.
- 35- Bhattacharya H, Xiao Q, Lun L. Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (*Puntius conchionius*): A biochemical and histopathological evaluation. *Tissue Cell*. 2008;40(4):243-9.
- 36- Banaee M, Mirvagefi AR, Rafei GR, Majazi Amiri B. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *Int J Environ Res*. 2008;2(2):189-98.
- 37- Secombes CJ. The non-specific immune system: Cellular defenses. In: Iwama G, Nakanishi T, editors. The fish immune system: Organism, pathogen, and environment. Cambridge: Academic Press; 1997. pp. 63-103.
- 38- Petrović S, Ozretić B, Krajnović-Ozretić M. Cytosolic aspartate aminotransferase from the grey mullet (*Mugil auratus* Risso) red muscle: Isolation and properties. *Int J Biochem Cell Biol*. 1996;28(8):873-81.
- 39- Venkateswara Rao J. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pestic Biochem Physiol*. 2006;86(2):78-84.
- Domestic Animals, Issue 16. Nutrient requirement of swine. Washington DC: National Academy Press; 1993. p.63.
- 8- Ketola HG. Choline metabolism and nutritional requirement of lake trout (*Salvelinus namaycush*). *J Anim Sci*. 1976;43(2):474-7.
- 9- Wilson RP, Poe WE. Choline nutrition of fingerling channel catfish. *Aquaculture*. 1988;68(1):65-71.
- 10- Hung SSO. Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*. 1989;78(2):183-94.
- 11- 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.
- 12- Yazdani Sadati MA, Sayed Hassani MH, Pourkazemi M, Shakorian 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.
- 13- Coutinho F, Peres H, Guerreiro I, Pousão-Ferreira P, Oliva-Teles A. Dietary protein requirement of sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) juveniles. *Aquaculture*. 2012;356-357:391-7.
- 14- Webster CD, Lim C, editors. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. Wallingford: CABI; 2002. p. 418.
- 15- Marcouli PA, Alexis MN, Andriopoulou A, Iliopoulou-Georgoudaki J. Development of a reference diet for use in indispensable amino acid requirement studies off gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquac Nutr*. 2004;10(5):335-43.
- 16- Mohseni M, Hassani MHS, 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.
- 17- Mohseni M, Pourkazemi M, Bahmani M, Falahatkar B, Pourali HR, Salehpour M. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. *J Appl Ichthyol*. 2006;22(s1):278-83.
- 18- Association of official analytical chemists. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. 16th Volume. 1th Edition. Washington DC: The Association; 1995.
- 19- Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, editors. Schalm's veterinary hematology. Hoboken: Wiley; 2000. p. 32.
- 20- Borges A, Scotti LV, Siqueira DR, Jurinitz DF, Wassermann GF. Hematologic and serum biochemical values for *jundia* (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiol Biochem*. 2004;30(1):21-5.
- 21- Mc Laren BA, Keller E, et al. The nutrition of rainbow trout, studies of vitamin requirements. *Arch Biochem*. 1947;15(2):169-78.
- 22- 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.
- 23- 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.