

تأثیر عملکرد سطوح مختلف کولین و چربی جیره غذایی بر پارامترهای رشد و ترکیب بیوشیمیایی فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

چکیده

این مطالعه باهدف بررسی اثر سطوح مختلف کولین و چربی جیره بر فاکتورهای رشد، شاخص‌های تغذیه و ترکیب بیوشیمیایی بدن ماهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*) انجام گردید. تعداد ۳۳۶ قطعه ماهی کپور با میانگین وزن 0.11 ± 0.01 گرم از مهرماه سال ۱۳۹۵ به مدت ۸ هفته، در ۲۴ مخزن ۲۰۰ لیتری حاوی ۱۴ قطعه ماهی در هر مخزن، با جیره حاوی ۴ سطح ۰، ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین و دو سطح ۵ و ۱۰ درصد چربی جیره تغذیه شد. جیره‌های آزمایشی از نظر پروتئین یکسان بودند. شاخص رشد افزایش وزن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR) و شاخص احشایی (VSI) فاقد اختلاف معنی‌داری بین تیمارها بود ($P > 0.05$) ولی در وزن نهایی بدن (FW)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص‌های کبدی (HSI) اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت ($P < 0.05$). ترکیب بیوشیمیایی فیله به‌جز میزان چربی تحت تأثیر چربی و کولین نبوده و بین تیمارها اختلاف معنی‌دار دیده نشد ($P > 0.05$). با توجه به نتایج این مطالعه و با در نظر گرفتن میزان کولین موجود در جیره سطح پیشنهادی کولین و چربی به ترتیب ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۵ درصد خواهد بود.

واژگان کلیدی: کولین، رشد، ترکیب بیوشیمیایی بدن، کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*).

سعید بقایی جزه^۱

ابراهیم رجب‌زاده قطرمی^{*۲}

حمید محمدی آذرم^۳

سید محمد موسوی^۴

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

*مسئول مکاتبات:

rajabzadeh@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۸۰۴۰۸۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۷

این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

مقدمه

هدف اصلی کلیه روش‌ها و ترندها در صنعت آبزی‌پروری دسترسی به حداکثر میزان رشد و بازماندگی است که در کوتاه‌ترین زمان ممکن منجر به حداکثر میزان تولید گردد. غذا و مدیریت تغذیه آبزیان پرورشی در دسترسی به حداکثر میزان رشد و سلامتی آبزیان نقش کلیدی دارند (Somanath et al., 2000). امروزه اولویت اصلی در پرورش آبزیان افزایش کارایی جیره‌های غذایی و استفاده از روش‌های بهبود فرآیند هضم مواد مغذی موجود در جیره‌های غذایی می‌باشد (Francis et al., 2005). با توجه به اینکه ماهی ترجیحاً از پروتئین جیره به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند، اما گنجانیدن مناسب منابع غیر پروتئینی نظیر چربی و کربوهیدرات به‌عنوان منبع انرژی اثرات مفیدی به دنبال داشته که موجب



بهبود بازده خوراک و کاهش هزینه خوراک می‌گردد (Watanabe, 1982; Li *et al.*, 2012b). مکمل‌های چربی به‌جای کربوهیدرات به‌عنوان منبع انرژی به‌راحتی توسط ماهی متابولیزه و مورد استفاده قرار می‌گیرند (Schuchardt *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2005; martin *et al.*, 2007). در محدوده خاص، افزایش سطح چربی جیره موجب بهبود بازده خوراک در گونه‌هایی از ماهی شده است (Cho *et al.*, 2005). باین‌حال، چربی بالای جیره‌ها معمولاً منجر به تجمع چربی در ماهی می‌گردد (Stowell and Gatlin, 1992; Lee *et al.*, 2005). که ممکن است سلامت و میزان تولید را تحت تأثیر قرار دهد (Santos *et al.*, 1996; Arzel *et al.*, 1994; Stephan *et al.*, 2004). بنابراین احتمال ایجاد مشکل در رشد و سلامتی ماهی وجود دارد (Lu *et al.*, 2013b). کولین یک ماده مغذی ضروری برای مهره‌داران که به عملکرد مختلف بیولوژیکی در بدن کمک و دارای نقش محوری در حفظ ساختار سلول و انتقال و حرکت چربی در داخل و خارج سلول است و توسط جیره غذایی تأمین می‌شود (Blusztajn, 1998). کولین در بیوسنتز فسفاتیدیل کولین که برای تشکیل غشاهای زیستی ضروری است، مورد نیاز می‌باشد (Zeisel *et al.*, 1986). مطالعات متعددی روی چندین گونه از ماهیان نشان داده است که کولین در جیره غذایی برای رشد بهینه و همچنین جهت جلوگیری از رسوب چربی کاربرد داشته است (Hung, 1989; Criag and Gatlin, 1997; Jiang *et al.*, 2013). کولین در جیره غذایی برای رشد مناسب و استفاده خوراک توسط گونه‌های آبی مورد نیاز است، همچنین باعث عملکرد مناسب کبد می‌گردد (Shiau and Lo, 2000; Twibell and Brown, 2000). کولین دارای چند عملکرد متابولیکی مهم بوده که این عملکردها عبارت است از الف- به‌عنوان یک بخش مهمی از فسفولیپیدها که یک منبع حساس گروه‌های متیل و پیش ساز استیل کولین که نقش انتقال‌دهنده عصبی دارد (Zeisel, 1990; NRC, 1993). ب- کولین یک چربی سوز و عامل ضد خونریزی، جلوگیری کننده بیش‌ازحد چربی و توسعه کبد چرب است (Halver and Hardy, 2002). سنتز کولین در داخل بدن آبزیان امکان‌پذیر است، ولی ازلحاظ سرعت آن قدر آهسته است که مقادیر سنتز شده اهمیت زیست‌شناختی ندارد و در بسیاری از آبزیان کمبود کولین در جیره غذایی موجب بی‌اشتهایی و کاهش رشد و بقای کم می‌شود (Wilson and Poe, 1988; Hung, 1989; Zhang and Wilson, 1999). در مطالعاتی کمبود کولین در جیره منجر به عقب‌ماندگی رشد و بهره‌وری ضعیف خوراک در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Ogino *et al.*, 1970)، سوف زرد (*Perca flavescens*) (Twibell and Brown, 2000) و سوکلا نوجوان (*Rachycentron canadum*) (Mai *et al.*, 2009). در حال حاضر، ماهی کپور معمولی بانام علمی *Cyprinus carpio* به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی گرم آبی به شمار رفته ابتدا بومی آسیای مرکزی بوده که طی قرن‌ها متمادی در نواحی مختلف جهان گسترش پیدا کرده است (Kohlman *et al.*, 2003). در اغلب کشورها به علت صرفه اقتصادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که پس از امور و فیتوفاگ سومین تولید آبی‌پروری دنیا به میزان ۴/۱ میلیون تن محسوب می‌شود (FAO, 2018). این ماهی از طعم و مزه مطلوبی برخوردار است و به علت پایین بودن سطح تغذیه آن در زنجیره غذایی و صرفه اقتصادی در اغلب کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (وثوقی و احمدی، ۱۳۶۵؛ وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳). لذا با توجه به موارد ذکر شده در این مطالعه به بررسی اثر سطوح مختلف کولین و چربی بر روی شاخص‌های رشد، تغذیه و ترکیب بیوشیمیایی بدن ماهی کپور معمولی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از مهرماه سال ۱۳۹۵ طی یک دوره ۵۶ روزه در سوله خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام گردید. تعداد ۳۳۶ قطعه ماهی جوان کپور معمولی با وزن تقریبی ۰/۸۱ ± ۳۴/۵۴ گرم به‌طور تصادفی در ۲۴ تانک فایبر گلاس با حجم تقریبی ۲۰۰ لیتر آب، به تعداد ۱۴ قطعه ماهی به ازای هر تانک به‌طور تصادفی تقسیم شد. طی دو هفته عملیات سازگاری و عادت دهی با جیره پایه مورد آزمایش (فاقد کولین) صورت گرفت. عوامل کیفی آب، همچون دمای آب در طول دوره ۲۷/۵ ± ۰/۵ درجه سانتی‌گراد، pH = ۸ ± ۰/۳ و اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)

۱ ± ۴/۴ بود. تعویض روزانه آب به میزان ۱۰ درصد حجم تانک، ماهی‌ها روزانه طی دو نوبت (ساعات ۱۰ صبح و ۱۶ بعدازظهر) در حد سیری غذایی شد. جیره‌های غذایی ساخته شده دارای حداقل مقدار کولین بودند از این رو جهت ساخت آن‌ها از اقلام غذایی شامل آرد گندم، گلوتن ذرت (به‌عنوان منبع پروتئین)، سبوس گندم، روغن ماهی، روغن گیاهی سویا، مکمل معدنی و ویتامینه و بایندر استفاده گردید. این مواد با یکدیگر کاملاً مخلوط شده و پس از اضافه نمودن کولین (کولین کلراید با درصد خلوص ۶۰ درصد، شرکت سازنده MIAVIT GmbH- Germany) به جیره در سطوح مختلف تیمارها، خوراک به‌صورت پلیت درآورده و پس از خشک کردن مورد استفاده قرار گرفت. جیره‌های آزمایشی این تحقیق با ۴ سطح کولین (۰، ۵۰۰، ۱۵۰۰، ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در دو سطح چربی (۵ و ۱۰ درصد) در قالب طرح کاملاً تصادفی، با ۳ تکرار برای هر تیمار در طی یک دوره ۸ هفته‌ای به شرح ذیل اجرا شد:

۱. جیره غذایی فرموله شده بدون مکمل کولین با سطح چربی ۵ درصد.
۲. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد.
۳. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد.
۴. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد.
۵. جیره غذایی فرموله شده بدون مکمل کولین با سطح چربی ۱۰ درصد.
۶. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد.
۷. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد.
۸. جیره غذایی فرموله شده حاوی ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد.

جدول ۱: اجزای جیره غذایی مورد استفاده در مطالعه حاضر.

ترکیبات جیره (درصد)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
آرد گندم	۲۵/۸۰	۲۵/۷۱	۲۵/۵۵	۲۵/۳۰	۱۸/۶۲	۱۸/۵۴	۱۸/۳۷	۱۸/۱۲
گلوتن ذرت	۴۱/۳۳	۴۱/۳۳	۴۱/۳۳	۴۱/۳۳	۴۲/۴۵	۴۲/۴۵	۴۲/۴۵	۴۲/۴۵
سبوس گندم	۲۳/۹۶	۲۳/۹۶	۲۳/۹۶	۲۳/۹۶	۲۳/۹۶	۲۵	۲۵	۲۵
روغن ماهی	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۳/۹۶	۳/۹۶	۳/۹۶	۳/۹۶
روغن سویا	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۳/۹۶	۳/۹۶	۳/۹۶	۳/۹۶
مکمل ویتامینه ۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی ۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
بایندر	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
کولین کلراید ۶۰ درصد	۰	-/۰.۸۳	۰/۲۵	-/۰.۵	۰	-/۰.۸۳	-/۰.۲۵	-/۰.۵
ترکیب بیوشیمیایی (درصد وزن خشک)								
پروتئین خام	۳۲	۳۱/۹۹	۳۱/۹۷	۳۱/۹۴	۳۲	۳۱/۹۹	۳۱/۹۷	۳۱/۹۴
چربی خام	۵	۵	۵	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
ماده خشک	۹۱/۳۵	۹۱/۲۷	۹۱/۱۲	۹۰/۹۰	۹۲/۰۱	۹۱/۹۴	۹۱/۷۹	۹۱/۵۷
انرژی (کیلوکالری در صد گرم)	۲۷۰	۲۷۰	۲۷۰	۲۶۹	۳۰۷	۳۰۷	۳۰۶	۳۰۶
کولین (میلی‌گرم در صد گرم)	۸۵	۱۳۴	۲۳۴	۳۸۴	۸۰	۱۳۰	۲۲۹	۳۷۹

^۱ شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، ایران). هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس ویتامینه حاوی ۱۶۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ IU ویتامین D₃، ۴۰ گرم ویتامین E، ۲ گرم ویتامین K₃، ۶ گرم تیامین، ۸ گرم ریبوفلاوین، ۱۲ گرم کلسیم پنتوتونات، نیاسین ۴۰ گرم، پیریدوکسین ۴ گرم، اسید فولیک، ۲ گرم، سیانو کوبالامین ۸ گرم، ۰/۲۴ گرم H₂، ۶۰ گرم ویتامین C، ۲۰ گرم اینوزیتول و ۲۰ گرم BHT می‌باشد.

^۲ شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، ایران). هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس معدنی حاوی ۲۶ گرم آهن، ۱۲/۵ گرم روی، ۲ گرم سلنیوم، ۴۸۰ میلی‌گرم کبالت، ۴/۲ گرم مس، ۱۵/۸ گرم منگنز، ۱ گرم ید می‌باشد.

زیست‌سنجی ماهیان تیمارها در ابتدا و انتهای دوره آزمایش توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم انجام گردید ابتدا بیهوشی ماهیان با پودر گل میخک (۳۰ گرم در لیتر) انجام شد. شاخص‌های رشد و تغذیه شامل شاخص‌های افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، میزان بازماندگی، وزن نسبی کبد، وزن نسبی امعاء و احشاء، بازده غذایی، ضریب تبدیل غذایی، بازده خوراک بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه شدند (Tacon, 1990).

افزایش وزن بدن (Weight gain) (رابطه ۱):

رابطه ۱: وزن اولیه - وزن نهایی = (WG)

ضریب رشد ویژه (Specific growth rate) (رابطه ۲):

رابطه ۲: $100 \times \text{دوره پرورش به روز} = (W1 \text{ Ln} - W2 \text{ Ln}) = (\text{SGR})$

درصد بازماندگی (Survival rate) (رابطه ۳):

رابطه ۳: $100 \times \text{تعداد ماهیان} / \text{تعداد ماهیان باقی‌مانده} = (\text{SR})$

وزن نسبی کبد (Hepatosomatic index) (رابطه ۴):

رابطه ۴: $100 \times \text{وزن کل بدن} / \text{وزن کبد} = \text{HSI}$

وزن نسبی امعاء و احشاء (Vesceral somatic index) (رابطه ۵):

رابطه ۵: $100 \times \text{وزن کل بدن} / \text{وزن احشاء} = \text{VSI}$

بازده غذایی (Feed efficiency) (رابطه ۶):

رابطه ۶: $\text{وزن اولیه بدن} - \text{میانگین} - \text{میانگین وزن نهایی بدن} / \text{مقدار غذای مصرفی} = \text{FE}$

ضریب تبدیل غذایی (Feed conversion ratio) (رابطه ۷):

رابطه ۷: $\text{غذای مصرف‌شده} / \text{افزایش وزن} = \text{FCR}$

از هر تکرار ۴ ماهی را پس از شستشو، تخلیه شکم، جداسازی پوست و گوشت از لاشه‌ها، آن‌ها را باهم چرخ نموده و به‌صورت یکنواخت درآورده و یک نمونه با وزن ۲۰ گرم (Moopan, 1999) تهیه کرده و از هر تیمار ۳ نمونه جدا نموده. میزان ۱۰ گرم از نمونه چرخ شده فیله ماهی در داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از ۲۴ ساعت از آون خارج و میزان رطوبت اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990). پروتئین خام به روش کج‌لدال تعیین گردید. چربی خام به روش استخراج اتر و برای تعیین میزان خاکستر از طریق سوزاندن ماده آلی در دمای ۵۵۰ سانتی‌گراد و سپس اندازه‌گیری ترکیبات غیر آلی تعیین شد (AOAC, 1990). تجزیه و تحلیل آماری نتایج با نرم‌افزار SPSS از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه One-way-ANOVA، دوطرفه Two-way-ANOVA و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج اثر کولین و چربی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر شاخص‌های رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. وزن نهایی (FW) در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیشترین وزن نهایی در تیمار ۲ با مقدار $(67/05 \pm 0/26)$ گرم، کمترین آن در تیمار ۵ $(61/37 \pm 2/28)$ گرم بوده است. افزایش وزن بدن (WG) بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین افزایش وزن بدن در تیمار ۲ با مقدار $(32/12 \pm 0/72)$ گرم و کمترین در تیمار ۵ با میزان $(27/37 \pm 1/84)$ گرم بود. از نظر شاخص رشد ویژه (SGR) تفاوت معنی‌داری در تیمارها وجود نداشت ($P > 0.05$). بیشترین نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار ۲ $(1/17 \pm 0/04)$ درصد و کمترین در تیمار ۵ $(1/05 \pm 0/05)$ درصد بوده است. بر اساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه چربی و کولین جیره به‌تنهایی و به‌صورت متقابل فاقد اثر معنی‌دار بر شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بود ($P > 0.05$). در نتایج درصد بازماندگی بین تیمارها تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). بیشترین بازماندگی در تیمار ۶ به میزان ۱۰۰ درصد مشاهده گردید.

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (سال ۱۳۹۵). (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$)

تیمار	نوع جیره	وزن نهایی (گرم) (FW)	افزایش وزن بدن (گرم) (WG)	درصد نرخ رشد ویژه (SGR)%	درصد بازماندگی (SUR)%
۱	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۵ درصد	$64/74 \pm 1/43^{ab}$	$30/39 \pm 0/91^{n.s}$	$1/13 \pm 0/01^{n.s}$	$97/6 \pm 2/4^{n.s}$
۲	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$67/05 \pm 0/26^b$	$32/12 \pm 0/72$	$1/17 \pm 0/04$	$95/2 \pm 2/4$
۳	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$62/63 \pm 1/71^{ab}$	$28/04 \pm 1/92$	$1/06 \pm 0/06$	$97/6 \pm 2/4$
۴	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$62/8 \pm 1/29^{ab}$	$28/44 \pm 1/9$	$1/08 \pm 0/07$	$92/83 \pm 4/12$
۵	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$61/37 \pm 2/28^a$	$27/37 \pm 1/84$	$1/05 \pm 0/05$	$95/2 \pm 2/4$
۶	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$65/00 \pm 1/48^{ab}$	$30/09 \pm 1/23$	$1/11 \pm 0/03$	$100 \pm 0/00$
۷	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$63/75 \pm 1/59^{ab}$	$28/8 \pm 1/94$	$1/07 \pm 0/06$	$97/6 \pm 2/4$
۸	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$62/61 \pm 1/94^{ab}$	$28/35 \pm 1/45$	$1/07 \pm 0/03$	$95/23 \pm 4/76$
	چربی	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
	کولین	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
	چربی \times کولین	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0.05$).

ns اختلاف معنی‌داری در تیمارها دیده نشد.

نتایج اثر کولین و چربی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر شاخص‌های تغذیه در طول دوره‌ی مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. ضریب تبدیل غذایی (FCR)، در تیمار ۴ با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۴ ($3/13 \pm 0/24$) و کمترین در تیمار ۶ ($2/09 \pm 0/08$) مشاهده شد. بازده خوراک (FE) در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). بیشترین بازده خوراک در تیمار ۶ ($0/48 \pm 0/02$) درصد و کمترین آن در تیمار ۴ ($0/33 \pm 0/03$) درصد بود. بر اساس نتایج واریانس دوطرفه متغیر کولین به‌طور معنی‌داری بر روی ضریب تبدیل غذایی و بازده خوراک اثرگذار بوده است ($P > 0.05$) ولی چربی جیره به‌تنهایی و همچنین به‌صورت ترکیبی تأثیری نداشته است ($P < 0.05$).

در میزان شاخص احشایی در تمامی تیمارها در هر دو سطح چربی تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$). بیشترین مقدار شاخص احشایی در تیمار یک ($14/47 \pm 0/84$) درصد و کمترین میزان در تیمار ۸ ($12/71 \pm 0/82$) درصد دیده شد. میزان شاخص کبدی در تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین شاخص کبدی در تیمار ۳ ($2/16 \pm 0/25$) درصد و کمترین در تیمار ۸ ($1/44 \pm 0/06$) درصد بوده است. بر اساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه متغیر چربی به‌طور معنی‌داری بر روی شاخص کبدی اثرگذار بود ولی تأثیری بر روی شاخص احشایی نداشته است همچنین کولین جیره به‌تنهایی و کولین و چربی به‌صورت ترکیبی فاقد اثر معنی‌دار بر شاخص‌های احشایی و کبدی نداشتند ($P > 0.05$).

جدول ۳: شاخص‌های احشایی، کبدی و تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (سال ۱۳۹۵). (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$).

تیمار	نوع جیره	شاخص احشایی VSI (درصد)	شاخص کبدی HSI (درصد)	ضریب تبدیل غذایی FCR	بازده خوراک FE (درصد)
۱	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۵ درصد	$14/47 \pm 0/84^{n.s}$	$1/71 \pm 0/2^{ab}$	$2/33 \pm 0/06^a$	$0/43 \pm 0/01^b$
۲	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$14/47 \pm 0/64$	$2/0 \pm 0/13^b$	$2/22 \pm 0/14^a$	$0/45 \pm 0/03^b$
۳	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$13/63 \pm 0/1$	$2/16 \pm 0/25^b$	$2/46 \pm 0/16^a$	$0/41 \pm 0/03^{ab}$
۴	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$14/41 \pm 0/72$	$2/06 \pm 0/15^b$	$3/13 \pm 0/24^b$	$0/33 \pm 0/03^a$
۵	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$13/64 \pm 0/32$	$1/97 \pm 0/17^b$	$2/48 \pm 0/06^a$	$0/4 \pm 0/01^{ab}$
۶	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$13/53 \pm 0/34$	$1/74 \pm 0/13^{ab}$	$2/09 \pm 0/08^a$	$0/48 \pm 0/02^b$
۷	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$13/54 \pm 0/43$	$1/73 \pm 0/06^{ab}$	$2/43 \pm 0/16^a$	$0/41 \pm 0/03^b$
۸	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$12/71 \pm 0/82$	$1/44 \pm 0/06^a$	$2/52 \pm 0/26^a$	$0/4 \pm 0/04^{ab}$
	چربی	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
	کولین	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$
	کولین×چربی	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P < 0.05$).

نتایج اثر کولین و چربی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*C. carpio*) بر ترکیب بیوشیمیایی فیله در طول دوره‌ی مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان پروتئین در تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P > 0.05$). بیشترین پروتئین در تیمار ۱ با مقدار ($16/54 \pm 0/59$) درصد و کمترین در تیمار ۳ ($15/57 \pm 0/38$) درصد مشاهده شد. میزان خاکستر در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین میزان خاکستر در تیمار ۲ ($1/12 \pm 0/25$) درصد و کمترین آن در تیمار ۳ ($0/87 \pm 0/18$) درصد بود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس دوطرفه چربی و کولین جیره به‌تنهایی و به‌صورت ترکیبی فاقد اثر معنی‌دار بر روی میزان پروتئین، چربی و خاکستر بود ($P > 0.05$). میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). بیشترین چربی مربوط به تیمار هشتم ($4/55 \pm 0/31$) درصد و کمترین مربوط به تیمارهای ششم به میزان ($3/48 \pm 0/01$) درصد بود. طبق نتایج واریانس دوطرفه تفاوت معنی‌داری در خصوص اثرگذاری چربی دیده نشد ($P > 0.05$) ولی کولین به‌تنهایی و اثر تعاملی کولین و چربی به‌طور معنی‌داری اثرگذار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴: ترکیب بیوشیمیایی فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (سال ۱۳۹۵). (درصد وزن تر) (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$).

تیمار	نوع جیره	پروتئین (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)
۱	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۵ درصد	$16/54 \pm 0/34^{n.s}$	$3/64 \pm 0/25^{ab}$	$1/1 \pm 0/09$	n.s
۲	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$16/26 \pm 0/64$	$4/05 \pm 0/29^{abc}$	$1/12 \pm 0/14$	$75/93 \pm 0/78$
۳	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$15/57 \pm 0/22$	$4/0 \pm 0/12^{abc}$	$0/87 \pm 0/1$	$77/02 \pm 0/73$
۴	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۵ درصد	$16/12 \pm 0/57$	$4/0 \pm 0/04^{abc}$	$0/97 \pm 0/08$	$76/56 \pm 0/72$
۵	جیره فرموله شده، بدون مکمل کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$16/38 \pm 0/38$	$4/06 \pm 0/03^{abc}$	$1/09 \pm 0/09$	$76/12 \pm 0/66$
۶	جیره فرموله شده + ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$16/32 \pm 0/26$	$3/48 \pm 0/01^a$	$1/07 \pm 0/06$	$76/27 \pm 0/72$
۷	جیره فرموله شده + ۱۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$16/31 \pm 0/41$	$4/15 \pm 0/03^{bc}$	$0/91 \pm 0/07$	$76/65 \pm 0/3$
۸	جیره فرموله شده + ۳۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین با سطح چربی ۱۰ درصد	$15/79 \pm 0/31$	$4/55 \pm 0/31^c$	$1/02 \pm 0/07$	$75/65 \pm 0/4$
	چربی	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
	کولین	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$
	کولین×چربی	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

ns اختلاف معنی‌داری در تیمارها دیده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

کولین یک ماده مغذی محلول در آب در دسته ویتامین‌ها بوده که در انتقال چربی و جلوگیری از تجمع چربی در کبد دخالت داشته و برای ماهیان ضروری است. همچنین به‌عنوان جزئی از فسفاتیدیل کولین، استیل کولین و به‌عنوان دهنده گروه متیل عمل می‌کند (Griffin et al., 1994). کولین در راستای عملکرد طبیعی سلول‌ها اهمیت حیاتی دارد (Zeisel and Blusztajn, 1994; Al-Humadi et al., 2019). بیشتر حیوانات قادر به سنتز کولین با استفاده از دهنده‌های متیل نظیر متیونین و لسیتین موجود در جیره هستند، اما اکثر ماهی‌ها قادر به سنتز آن

به مقدار کافی برای تأمین نیازهای متابولیکی نمی‌باشند (Wilson and Poe, 1988). در مرحله جنینی، کولین برای توسعه مغز جنین حیاتی است. همچنین در مراحل رشد کمبود طولانی‌مدت کولین در جیره منجر به کبد چرب و آسیب کبد و عضله می‌گردد (Zeisel, 2006b). کمبود کولین همچنین موجب کاهش دسترسی به متیونین و منجر به افزایش سطح هموسیستین (Hcy) به‌عنوان یک عامل خطر برای بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود (da Costa et al., 2005). در مطالعه حاضر با استفاده از جیره غذایی حاوی دو سطح چربی ۵ و ۱۰ درصد با میزان کولین به‌کاررفته به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در غذا، مقدار افزایش وزن (WG) و میانگین وزن نهایی (FW) در هر دو سطح چربی افزایش داشته است نتایج افزایش وزن با نتایج Li و همکاران (۲۰۱۶)، Adjoumani و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت به‌طوری‌که با افزایش میزان کولین در سطح چربی ۵۰ گرم در کیلوگرم منجر به افزایش وزن نهایی در ماهی سیم پوزه کند (*Megalobrama amblycephal*) گردید. همچنین نتایج نشان داده که کمبود کولین معمولاً منجر به کاهش تغذیه، کاهش رشد و کاهش بازماندگی در (*Ictalurus punctatus*) Zhang et al., 1999 و (*Rachycentron canadum*) Mai et al., 2009 می‌شود. در تحقیق Yazdani Sadati و همکاران (۲۰۱۴) میزان کولین جیره در روند افزایش وزن ماهی استروژن *Acipenser baerii* تأثیرگذار بود. Hung (۱۹۸۹)، در مطالعه‌ای افزایش پارامترهای رشد همزمان با افزایش سطح کولین در جیره‌های غذایی *Acipenser transmontanus* را بیان داشته که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارند.

مقدار کولین در جیره غذایی بر ضریب تبدیل غذایی تأثیر مستقیم داشته به‌طوری‌که در این مطالعه میزان ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین در هر دو سطح چربی موجب بهبود FCR و با افزایش مقادیر کولین، منجر به افزایش FCR شد که با نتایج Li و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت. افزودن کولین همزمان با سطح مناسب چربی در خوراک می‌تواند منجر به بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهی گردد، اما چربی بیش‌ازحد ممکن است موجب افت در عملکرد رشد شود (Jauncey, 1982). بیان شده است کولین در ساخت فسفولیپیدها و استیل کولین نقش داشته و می‌تواند سوخت‌وساز چربی در بدن را بهبود بخشیده و در نتیجه باعث کاهش اثرات مضر ناشی از جیره غذایی پرچرب شود (Zeisel et al., 1986; Michael and Koshio, 2008). اما نتایج نشان داد که این‌گونه ماهی نمی‌تواند رژیم غذایی با کولین و چربی نسبتاً بالا را تحمل کند. همچنین میزان کولین و چربی مناسب در جیره غذایی موجب بهبود نرخ رشد ویژه در سطوح ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر دو سطح چربی شد که با نتایج Yazdani Sadati و همکاران (۲۰۱۴) بر ماهی استروژن (*Acipenser baerii*) همخوانی داشت. همچنین طبق نتایج تحقیق Duan و همکاران (۲۰۱۲) سطح مطلوب کولین منجر به افزایش نرخ رشد ویژه در جیره ماهی کاراس جوان (*Carassius auratus gibelio*) گردید که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشته است.

مقدار شاخص کبدی در تیمارهای با سطح چربی ۵ درصد با افزایش کولین، روند افزایشی داشت اما در تیمارهای با سطح چربی ۱۰ درصد با افزایش میزان کولین میزان HSI کاهشی بوده است. به نظر می‌رسد نقش فسفولیپیدها در سنتز لیپوپروتئین‌ها و نتیجتاً افزایش انتقال چربی‌ها از انتروسیت‌های روده به سایر بخش‌های بدن موجب افزایش شاخص HSI شده است. میزان شاخص امعا و احشاء با افزایش میزان کولین در سطح چربی ۱۰ درصد منجر به کاهش میزان چربی امعا و احشاء گردید ولی این شاخص در سطح چربی ۵ درصد تغییرات کم و محدود داشته است هرچند اختلاف معنی‌داری در تمامی تیمارها دیده نشد. افزایش چربی خوراک ممکن است منجر به رسوب چربی در بافت‌های امعا و احشاء گردد، در نتیجه تجمع چربی در بدن افزایش‌یافته ولی کولین در سطوح چربی بالا منجر به کاهش میزان چربی در امعا و احشاء گردیده است. نتایج مشابهی در ماهی سیم دریایی قرمز *Pagrosomus major* (Takeuchi et al., 1991)، تیلاپای موزامبیک (*mossambicus*) Peres and Oliva- (EI-Dahhar and Lovell, 1995) و سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax L.*) (Teles, 1999) و ماهی جوان شانک سیاه (*Acanthopagrus schlegelii*) توسط Jin و همکاران، ۲۰۱۹ مطابق نتایج تحقیق حاضر گزارش شده است. با توجه به اینکه شاخص‌های HSI و VSI در سطح چربی ۱۰ درصد با افزایش سطح کولین کاهش‌یافته، تأییدی است که مصرف بالای مکمل کولین در رژیم غذایی باعث کاهش رسوب چربی در بافت احشایی و بدن گردیده این نتیجه توسط دو فرضیه قابل توجیه می‌باشد. اول کولین، به‌عنوان جزء برجسته فسفاتیدیل کولین، نقش محوری در سنتز لیپوپروتئین‌ها داشته و تجمع غیرطبیعی چربی در بافت‌های

مختلف (از طریق حذف تری گلیسرولها در سلولهای کبدی از طریق بسته‌بندی داخل لیپوپروتئین‌ها) جلوگیری می‌کند (and Mookerjea, 1992; Kuksis 1978; Zeisel, 1988, 1992). دوم کولین می‌تواند سرعت اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت‌های مختلف سرعت بخشیده، در نتیجه کاتابولیسم چربی افزایش یافته، به تبع آن منجر به کاهش تجمع چربی بدن می‌شود (Corredor et al., 1967).

میزان پروتئین در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی میزان چربی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کولین بوده که با مطالعه Twibell and Brown (۲۰۰۰) بر اثرگذاری کولین بر مقدار چربی لاشه ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*) گزارش داده بود، مطابقت داشت. در حالی که در مطالعه Mai و همکاران (۲۰۰۹) اختلاف معنی‌داری در ترکیب کل بدن سوکلا (*Rachycentron canadum*) تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف کولین وجود نداشت. Tocher و همکاران، ۲۰۰۸ بیان کردند فسفولیپیدها در سنتز لیپوپروتئین‌ها و جلوگیری از استئوزیس (steatosis) روده شرکت می‌کنند و در نتیجه باعث افزایش انتقال چربی‌ها از دستگاه گوارش به بافت‌ها می‌شوند. لازم به ذکر است که علل تفاوت نتایج در خصوص ترکیب بیوشیمیایی بدن در گونه‌های مختلف ماهی به عواملی مانند نوع غذا (Anderson and Desilva, 2003)، اندازه یا سن ماهی، وضعیت تولیدمثلی، موقعیت جغرافیایی و فصل (درجه حرارت آب، شوری) می‌باشد (Alasalvar et al., 2002; Periago et al., 2005).

نتیجه‌گیری داده‌ها نشان داد که افزودن کولین همزمان با افزایش مناسب سطح چربی در خوراک می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد و FCR ماهی گردد، اما چربی بیش از حد ممکن است موجب افت در عملکرد رشد گردد. لذا با توجه به نتایج حاصل شده، تیمار با سطح کولین ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، با درصد چربی ۵ توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به دلیل حمایت از تحقیق فوق در غالب رساله دکتری تخصصی شبيلات تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

- و ثوقی، غ. و احمدی، م.، ۱۳۶۵. ماهی و ماهیگیری (ترجمه). مرکز نشر دانشگاهی. ۲۹۱ ص.
- و ثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۳. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۷ ص.
- Al-Humadi, A., Al-Humadi, H. and Liapi, C. 2019. Novel insight on the impact of choline-deficiency in sepsis. Annal of Research Hospitals, 3: 1-12.
- Adjoumani, J. J. Y., Abasubong, K. P., Phiri, F., Xu, C., Liu, W. and Zhang, D., 2019. Effect of dietary betaine and choline association on lipid metabolism in blunt snout bream fed a high-fat diet. Aquaculture Nutrition, 25(5): 1017-1027.
- Anderson, T. and De Silva, S., 2003. Nutrition. In: Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants (Lucas, J.S. & Southgate, P.C. eds), pp. 146-171. Blackwell Publishing Nutrition, Oxford.
- Arzel, J., Martinez Lopez, F. X., M. etailier, R., Stephan, G., Viau M., Gandemer, G. and Guillaume, J. 1994. Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. Aquaculture, 123: 361-375.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1990. Official Methods of Analysis, pp. 1298. AOAC, Arlington, VA.

- Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., Zubcov, E., Shahidi, F. and Alexis, M., 2002.** Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid, and trace mineral composition. *Food Chemistry*, 79: 145-150.
- Blusztajn, J. K., 1998.** Choline, a vital amine *Science*. *Science*, 281: 794-795.
- Cho, S. H., Lee, S. M., Lee, S. M. and Lee, J. H., 2005.** 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. *Aquaculture Nutrition*, 11: 235-240.
- Corredor, C., Mansbach, C. and Bressler, R., 1967.** Carnitine depletion in the choline-deficient state. *Biochimica et Biophysica Acta*, 144: 366-374.
- Criag, S. R., Gatlin III, D. M., 1997.** Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. *Aquaculture*, 151: 259-267.
- 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: 139-146.
- Davis, R. A., Engelhorn, S. C., Pangburn, S. H., 1979.** Very low-density lipoprotein synthesis and secretion by cultured rat hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 254 (6): 2010-2016.
- da Costa, K. A., Gaffney, C. E., Fisher, L. M. and Zeisel, S. H., 2005.** Choline deficiency in mice and humans is associated with increased plasma homocysteine concentration after a methionine load. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 440-4.
- El-Dahhar, A. A. and Lovell, R. T., 1995.** Effect of protein to energy ratio in purified diets on growth performance, feed utilization and body composition of Mozambique tilapia, (*Oreochromis mossambicus*) Peters. *Aquaculture Research*, 26: 451-457.
- Francis, G., Makkar, H. P. S. and Becker, K., 2005.** Quillaja saponins-a natural growth promoter for fish. *Animal Feed Science and Technology*, 121: 147-157.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497509.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2018.** The state of fisheries and aquaculture in the world. Rome. 227P.
- Griffin, M. E., Wilson, K. A., White, M. R., and Brown, P. B., 1994.** Dietary choline requirement of juvenile hybrid striped bass. *Journal of Nutrition*, 124: 1685-1689.
- Grigorakis, K., Alexis, M. N., Taylor, K. D. A. and Hole, M., 2002.** Comparison of wild and cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 477-484.
- Craig, S. R., and Gatlin, D. M., 1996.** Dietary choline requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Journal of Nutrition*, 126: 1696-1700.
- Hung, S. S. O., 1989.** Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 78: 183-194.
- Halver, J. E. and Hardy, R. W., (Eds) 2002.** The vitamins. In: *Fish Nutrition*, 3rd edn. Academic Press, San Diego, pp. 61-140.
- Jauncey, K. and Ross, B., 1982.** A Guide to Tilapia Feed and Feeding. Institute of Aquaculture, University of Sterling, Scotland.
- Jiang, G. Z., Wang, M., Liu, W. B., Li, G. F. and Qian, Y., 2013.** Dietary choline requirement for juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture Nutrition*, 19: 499-505.
- Jin1, M., Pan, T., Tocher, D. R., Betancor, M. B., Monroig, O., Shen, Y., Zhu, T., Sun, P., Jiao, L. and Zhou, Q., 2019.** Dietary choline supplementation attenuated high-fat diet-induced inflammation through regulation of lipid metabolism and suppression of NFκB activation in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Journal of Nutritional Science*, 1-11.
- Kuksis, A. and Mookerjea, S., 1978.** Choline. *Nutrition Reviewers*, 36: 201-207.

Kohlman, K., Murakaeva, A., Kersten, P., 2003. Genetic variation and structure of common carp populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mtDNA marker. *Aquatic Living Resources*, 16: 421-431.

Lee, S. M., Jeon, I. G. and Lee, J. Y., 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 211: 227-239.

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

Li, J. Y., Li, X. F., Xu, W. N., Zhang, C. N. and Liu, W. B., 2016. Effects of dietary choline supplementation on growth performance, Lipid deposition and intestinal enzyme activities of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-lipid diet. *Aquaculture Nutrition*, 181-190.

Lee, S. M., Jeon, I. G. and Lee, J. Y., 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 211: 227-239.

Lu, K. L., Xu, W. N., Li, X. F., Liu, W. B., Wang LN. and Chang, CN., 2013b. Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport, and tissue lipid uptake in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed a high-fat diet. *Aquaculture*, 408: 160-168.

Martins, D. A., Valente, L. M. P. and Lall, S. P., 2007. Effects of dietary lipid level on growth and lipid utilization by juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus, L.*). *Aquaculture*, 263:150-158.

Michael, F. R. and Koshio, S., 2008. Biochemical studies on the interactive effects of dietary choline and inositol in juvenile Kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) Bate. *Aquaculture*, 285: 179-183.

Mai, K., Xiao, L., Ai, Q., Wang, X., Xu, W., Zhang, W., Liufu, Z. and Ren, M., 2009. Dietary choline requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 289: 124-128.

Moopan., 1999. Manual if Oceanographic observation and pollutant analysis methods, ROPME, Kuwait.

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC.

Ogino, C., Uki, N., Watanabe, T., Lida, Z. and Ando, K., 1970. B vitamin requirement of carp: requirement for choline. *Bulletin of Japanese Society for Science of Fish*, 36, 1140-1146.

Olofsson, S. O., Stillemark-Billton, P. and Asp, L., 2000. Intracellular assembly of VLDL: two major steps in separate cell compartments. *Trend in Cardiovascular Medicine*, 10: 338-345.

Peres, H. and Oliva-Teles, A., 1999. Influence of temperature on protein utilization in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 170: 337-348.

Periago, M. J., Ayala, M. D., Lopez-Albors, O., Abdel, I., Martinez, C., Garcia-Alcazar, A., Ros, G. and Gil, F., 2005. Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 249: 175-188.

Rueda-Jasso, R., Conceicao, L. E. C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Rees, J. F., Soares, F., Dinis, M. T. and Sorgeloos, P., 2004. Effect of dietary non-protein energy levels on the condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 417-433.

Stowell, S. L. and Gatlin, D. M. III., 1992. Effects of dietary pantothenic acid and lipid levels on growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 108: 177-188.

Santos, D. J., Burkow, I. C. and Jobling, M., 1993. Patterns of growth and lipid deposition in cod, *Gadus morhua*. Fed natural prey and fish-based feeds. *Aquaculture*, 110: 173-189.

Stephan, G., Dreanno, C., Guillaume, J. and Arzel, J., 1996. Incidence of different amounts of proteins, lipids and carbohydrates in diets on the muscle lipid composition in the turbot (*Scophthalmus Maximus*). *Ichtyo physiologica Acta*, 19: 11-30.

Shiau, S. Y. and Lo, P. S., 2000. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) *Journal of Nutrition*, 130: 100-103.

- Schuchardt, D., Vergara, J. M., Fernandez-Palacios, H., Kalinowski, C. T., Hernandez-Cruz, C. M., Izquierdo, M. S. and Robaina, L., 2008.** Effects of different dietary protein and lipid levels on growth feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 14: 1-9.
- Somanath, P. R., Suraj, K. and Gandhi, K. K., 2000.** Caprine sperm acrosome reaction: promotion by progesterone and homologous zona pellucida. *Small Ruminant Research*, 37: 279-286.
- Tocher, D.R., Bendiksen, E. A., Campbell P. J. and Bell J. G., 2008.** The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280: 21-34.
- Takeuchi, T., Shiina, Y. and Watanabe, T., 1991.** Suitable protein and fat levels in a diet for fingerling of red sea bream (*Pagrus major*). *Nippon Suisan Gakk*, 57: 293-299.
- Tacon, A. G. J., 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Redmond, Washington: Argent Laboratories Press. 208
- Twibell, R. G. and Brown, P. B., 2000.** Dietary choline requirement of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Journal of Nutrition*, 130: 95-99.
- Watanabe, T., 1982.** Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73B: 3-15.
- Wilson, R. P., 1994.** Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124: 67-80.
- Wilson, R. P. and Poe, W. E., 1988.** Choline nutrition of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 68: 65-71.
- Wang, J. T., Liu, Y. J., Tian, L. X., Mai, K. S., Du, Z. Y., Wang, Y. and Yang, H. J., 2005.** Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 249: 439-447.
- Yazdani sadati, M. A., Sayed Hassani, M. H., Pourkazemi, M. and Shakourian, M. M., 2014.** 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. *Journal of Applied Ichthyology*, 1632-1636
- Y. Duan, Y., Zhu, X., Han, D., Yang, Y. and Xie, Y., 2012.** Dietary choline requirement in a slight methionine-deficient diet for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*, 620-627.
- Zeisel, S. H., Char, D. and Sheard, N. F., 1986.** Choline, phosphatidylcholine, and sphingomyelin in human and bovine milk and infant formulas. *Journal of Nutrition*, 116: 50-58.
- Zeisel, S. H., 1988.** 'Vitamin-like' molecules. In: *Modern Nutrition and Health and Disease* (Shils, M. & Young, V. eds), pp. 440-452. Lea & Febiger, Philadelphia, PA.
- Zeisel, S. H., 1990.** Choline deficiency. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1: 332-344.
- Zeisel, S. H., 1992.** Choline: an important nutrient in brain development, liver function, and carcinogenesis. *Journal of American College of Nutrition*, 11: 473-481.
- Zeisel, S. H., 2006b.** Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Annual Review of Nutrition*, 26: 229-50.
- Zeisel S. H. and Blusztajn J. K., 1994.** Choline and human nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 14: 269-96.
- Zhang, Z. and R. P. Wilson., 1999.** Reevaluation of the choline requirement of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and determination of the availability of choline in common feed ingredients. *Aquaculture*, 180: 89-98.