



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 9, No. 2, 2023, pages: 1-8
DOI: 10.22124/janb.2023.24805.1209



Effect of different levels of choline chloride on intestinal bacterial flora in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry

Ali Hajibeglou^{1*}, Abdolrahman Mokhmi¹, Abdolmajid Hajimoradloo¹, Hossein Rahmani²

1- Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

2- Part Pishsaz Poya Company, Aq-Qala County, Golestan, Iran

Received 04 April 2023

Revised 07 June 2023

Accepted 10 June 2023

KEYWORDS ABSTRACT

Choline
chloride
*Oncorhynchus
mykiss*
Fingerling
Intestinal
microbial flora

The present study was designed and conducted to investigate the effects of varying levels of choline chloride on the microbial flora of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fry. A total of 750 fish were fed with diets containing 0 (control), 250 (Cho₂₅₀), 500 (Cho₅₀₀), 1000 (Cho₁₀₀₀), and 2000 (Cho₂₀₀₀) mg of choline chloride per kg of feed for 90 days. The required feed was obtained from the 21 Bayza Company. The amount of microbial flora and final weight was significantly higher in the Cho₁₀₀₀ and Cho₂₀₀₀ than in the control group. The addition of choline to the diet effectively improved the microbial flora. The most suitable amount of choline chloride was between 1000 and 2000 mg/kg in the diet of rainbow trout.

*Corresponding author: alihajibeglou@gmail.com





"مقاله پژوهشی"

تأثیر سطوح مختلف کولین کلراید بر فلور باکتریایی روده بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان
(*Oncorhynchus mykiss*)

علی حاجی بگلو^{۱*}، عبدالرحمان مخمی^۱، عبدالمجید حاجی مرادلو^۱، حسین رحمانی^۲

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، گلستان

۲- شرکت پارت پیش ساز پویا، آق قلا، گلستان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

کلمات کلیدی

چکیده

مطالعه حاضر برای بررسی تأثیر سطوح مختلف کولین کلراید بر فلور میکروبی روده بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طراحی و اجرا شد. در این آزمایش ۷۵۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از زمان تغذیه آغازین در قالب یک گروه شاهد و ۴ گروه آزمایشی با جیره غذایی حاوی ۲۵۰ (Cho250)، ۵۰۰ (Cho500)، ۱۰۰۰ (Cho1000) و ۲۰۰۰ (Cho2000) میلی‌گرم کولین کلراید در کیلوگرم جیره به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. برای ساخت جیره‌های غذایی از خوراک شرکت ۲۱ بیضاء استفاده شد. میزان فلور میکروبی روده و وزن نهایی در تیمار Cho1000 و Cho2000 به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). در نهایت، افزودن کولین کلراید به جیره شیوه‌ای اثرگذار بوده و برای دستیابی به بهبود فلور میکروبی روده، مناسب‌ترین مقدار کولین کلراید ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است.

مقدمه

طور مستقیم با تغییرات چربی کبد در ۱۵ زن مرتبط بود که در معرض جیره‌های غذایی به‌خوبی کنترل‌شده قرار گرفتند و در آن، سطوح کولین دستکاری شده بود (Spencer et al. 2011). برخی از باکتری‌های روده ماهی باید از کولین برای تولید فسفاتیدیل کولین استفاده کنند (Geiger et al. 2013).

بیشتر حیوانات می‌توانند کولین را از طریق متیله کردن فسفاتیدیل اتانول‌آمین (توسط فسفاتیدیل اتانول‌آمین-N-متیل ترانسفراز کبدی کاتالیز می‌شود) و هیدرولیز فسفاتیدیل کولین (حاوی مقادیر قابل توجه اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیره مانند دکوزاهگزانوئیک اسید و آرشیدونیک اسید) در مسیر سیستیدین-۵-دی‌فسفیت-کولین که در تمامی یاخته‌های بدن شکل گرفته، از نو بسازند. بنابراین، اگرچه تولید کولین در داخل بدن آبزیان امکان‌پذیر است، ولی به دلیل کندی ساخت این ماده در بدن، مقادیر ساخته شده اهمیت زیستی کمی دارند (Duan et al. 2012; Fagone and Jackowski, 2015; Khosravi et al. 2013) و باید به‌صورت ماده افزودنی به جیره غذایی آبزیان اضافه شوند (Mohseni et al. 2018). این جیره در حالی تجویز می‌شود که کمبود کولین منجر به خونریزی روده در ماهی قزل‌آلا (Wilson and Poe, 1988) و افزایش بیش از حد کولین به جیره غذایی آبزیان، سبب افزایش هزینه تولید می‌شود (Mohseni et al. 2018).

سطوح بهینه کولین رژیم غذایی، در گونه‌های ماهی در محدوده ۳۰۰-۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی است (NRC, 2011). برای مثال Poston (۱۹۹۱) به این نتیجه رسید که باید در جیره غذایی نوزاد ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) حدود ۰/۴۳ تا ۱/۳ گرم در کیلوگرم کولین وجود داشته باشد. Hung (۱۹۸۹) پیشنهاد کرد که تاسماهی سفید، *Acipenser transmontanus*، نیاز به کولین بین ۱۷۰۰ تا ۳۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی دارند. نتایج تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد این میزان برای ماهیان مختلف یکسان نیست. به همین جهت، با توجه به اهمیت قزل‌آلابی رنگین کمان در صنعت

تولیدات پایدار ذخایر ماهی و محصولات شیلاتی که از نظر زیستی و اقتصادی محصولات پرسود به شمار می‌آیند، در سراسر جهان به رسمیت شناخته شده‌اند (Das et al. 2021). این تولیدات به عنوان یک منبع مهم پروتئینی و ریز مغذی‌های ضروری مانند اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند امگا-۳ و امگا-۶ برای انسان مورد نیاز است (Carbone and Faggio, 2016). مقبولیت ماهی توسط انسان بیشتر به دلیل قابلیت هضم آسان، وجود اسیدهای آمینه مناسب، ویتامین‌ها مانند A، D₃ و B₁₂، مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر، ید، سلنیوم، آهن، روی و مقدار قابل توجهی تورین و کولین است (Lund, 2013). کولین به عنوان یک ماده مغذی ضروری برای مهره‌داران در حال رشد و جوان از جمله ماهی شناخته می‌شود (Das et al. 2020). کولین در بدن ماهی‌ها نقش عمده‌ای در حفظ یکپارچگی ساختار غشاهای یاخته‌ای، انتقال عصبی کولینرژ^۱، سیگنال‌دهی غشایی، انتقال چربی و کلسترول و سوخت و ساز توسط لیپوپروتئین‌ها ایفا می‌کند. متابولیت‌های کولین از جمله بتائین (اهدا کننده گروه متیل، مسئول متیلاسیون هموسیستئین به متیونین، اسمولیت کلیوی^۲)، استیل کولین (انتقال دهنده عصبی)، فسفاتیدیل کولین و اسفنگومیلین (یک واحد ساختمانی از غشاهای زیستی)، گلیسروفسفوکولین و فسفوکولین (ذخیره‌سازی درون‌یاخته‌ای کولین) نیز از نظر فعالیت در عملکرد فیزیولوژی ماهی نقش دارند (Das et al. 2021). همچنین، مسئول سیگنال‌دهی آپوپتوتیک در یاخته‌های عصبی و کبد و انتقال لیپوپروتئین‌ها از یاخته‌های کبدی است. بنابراین، از سرطان‌زایی یاخته‌های کبدی جلوگیری می‌کند (Das et al. 2022). علاوه بر این، کولین یک ماده مهم برای دی‌متیل‌آمین و تری‌متیل‌آمین در باکتری‌های روده است. فسفاتیدیل کولین به عنوان جزئی از دیواره یاخته‌ای باکتری در بین حدود ۱۰٪ باکتری‌ها شناسایی شده است (Liu et al. 2022). تأثیر کولین بر ساختار باکتریایی روده گزارش شده است. در یک تحقیق انسانی، سطوح گاما پروتئوباکتری‌ها^۳ و اریسپلوتریشیا^۴ به-

^۲ اسمولیت ارگانیکی که به کلیه اجازه می‌دهد، آب را از طریق لوله‌های کلیه با جذب کند.

^۳ Gammaproteobacteria

^۴ Erysipelotrichia

^۱ Cholinergic: در عصب‌شناسی به همه بخش‌های دستگاه عصبی که در طول عملکرد خود از استیل کولین استفاده می‌کنند گفته می‌شود.

یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (حاجی‌بگلو و همکاران، ۱۳۹۳). برای دسترسی به خوراک تازه، ساخت جیره‌ی غذایی معمولاً هر ۴ هفته یک‌بار انجام شد.

ماهی‌ها روزانه دو نوبت (۱۰ صبح و ۱۶ عصر) در حد سیری غذایی می‌شدند (Taylor et al. 2006). میزان غذای مورد استفاده در هر وعده برای هر مخزن با استفاده از ترازو با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری می‌شد. به منظور توزیع یکنواخت غذا، برای کاهش تلاطم آب و افزایش زمان ماندگاری غذا در آب، در طی مدت غذایی، هواده‌ی در مخازن قطع می‌شد و پس از گذشت مدت زمان ۴۰ تا ۵۰ دقیقه بعد از غذایی، در صورتی که غذای مصرف نشده‌ی وجود داشت از طریق سیفون کردن از مخزن خارج می‌شد. سپس هواده‌ها وصل می‌شد.

سنجش فلور میکروبی روده

برای این منظور بچه‌ماهیان را با آب سترون شستشو داده، سپس ناحیه شکمی را با استفاده از تیغ جراحی سترون شکافته و روده آنها پس از جداسازی، برای همگن‌سازی به هاون چینی استریل منتقل شد. مقدار ۱ گرم از بافت همگن‌شده روده به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد تا مخلوط همگن ۱:۱۰ آن به‌دست آید. به همین ترتیب، رقت‌ها بر مبنای ۱۰ از نمونه‌ی اولیه تهیه شد. بعد از مشخص کردن بهترین رقت، نمونه به محیط کشت نوترینت آگار (NA) منتقل شد (Mahious et al, 2006). پلیت-ها به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق و در شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. تعداد باکتری‌ها در هر یک از نمونه‌ها بر اساس لگاریتم واحد پرگنه Log CFU (تعداد کلنی × عکس ضریب رقیق‌سازی) شمارش و تعیین شد (Sneath, 1986).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک آزمون واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 انجام شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

آبزی‌پروری کشور تحقیق حاضر انجام شد تا نیاز غذایی کولین را برای پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان به منظور بهبود فلور میکروبی روده و استفاده از خوراک و کاهش هزینه خوراک ماهی تعیین کند.

مواد و روش‌ها

منبع آب و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب

منبع آب مورد استفاده در این تحقیق چشمه بود. فراسنجه-هایی مانند دمای آب، میزان اکسیژن و pH به طور روزانه با استفاده از دماسنج، اکسیژن متر و pH متر در طی دوره، سنجش و ثبت شد. تلفات احتمالی به طور روزانه جمع‌آوری و ثبت شد. عوامل کیفی آب، همچون دمای آب در طی دوره $15/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد، $8 \pm 0/3$ pH و اکسیژن محلول $1 \text{ mg/L} \pm 9/2$ بود.

تهیه ماهی و پودر کولین کلراید

بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (زرین‌گل، علی‌آباد، استان گلستان، ایران) و پودر کولین کلراید از شرکت پارت پیش-ساز پویای گلستان واقع در شهرک صنعتی آق‌قلا (گلستان، ایران) تهیه شد.

طراحی آزمایش

بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان از زمان تغذیه آغازین (وزن شروع: $0/129$ گرم) در قالب یک گروه شاهد و ۴ گروه آزمایشی (هر گروه با ۳ تکرار) با جیره غذایی حاوی ۲۵۰ (Cho250)، ۵۰۰ (Cho500)، ۱۰۰۰ (Cho1000) و ۲۰۰۰ (Cho2000) میلی‌گرم کولین کلراید در کیلوگرم جیره به مدت ۹۰ روز (وزن پایان: $3/87$ گرم) تغذیه شدند. تغذیه ماهیان با استفاده از جیره تجاری شرکت ۲۱ بیضاء (شیراز، ایران) انجام شد. خوراک آسیاب شده و نسبت‌های ذکر شده کولین به خوراک تجاری افزوده، و کاملاً با هم مخلوط شد. سپس، با اضافه کردن تدریجی آب، مخلوطی خمیری شکل به دست آمد. در نهایت، خمیر بدست آمده از یک الک عبور داده شد و به صورت گلوله‌هایی درآورده شد که می‌توانست در دهان ماهی قرار بگیرد. در نهایت پلت‌های حاصل در آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. سپس جیره ساخته شده در ظروف در بسته و غیر قابل نفوذ نسبت به هوا قرار داده و پس از شماره‌گذاری در

نتایج

گروه شاهد افزایش یافت ($p < 0.05$). همچنین، میزان وزن نهایی در تیمار Cho_{1000} ($4/4 \pm 0.15$) و Cho_{2000} (0.2) نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($p < 0.05$) ($4/41 \pm$).

در این مطالعه، تأثیر معنی داری از نظر میزان فلور میکروبی روده در بین گروه‌های دریافت کننده کولین دیده نشد ($p > 0.05$)، ولی فلور میکروبی روده در تیمار Cho_{1000}

جدول ۱ میزان فلور میکروبی روده بچه ماهی قزل آلابی رنگین کمان با جیره‌های آزمایشی (میانگین \pm انحراف معیار)

تیمارها	وزن اولیه (g)	وزن نهایی (g)	بقا (%)	فلور میکروبی روده (Log CFU/g)
کنترل	0.129 ± 0.005	3.87 ± 0.21^b	$97/86 \pm 0.8$	$2/05 \pm 0.69^b$
جیره غذایی حاوی 250 mg/kg کولین	0.13 ± 0.003	3.89 ± 0.21^b	$97/90 \pm 1/01$	$2/78 \pm 0.54^{ab}$
جیره غذایی حاوی 500 mg/kg کولین	0.13 ± 0.006	3.91 ± 0.2^b	$97/53 \pm 1/5$	$2/91 \pm 0.27^{ab}$
جیره غذایی حاوی 1000 mg/kg کولین	0.12 ± 0.004	$4/40 \pm 0.15^a$	$98/16 \pm 0.76$	$3/07 \pm 0.47^a$
جیره غذایی حاوی 2000 mg/kg کولین	0.13 ± 0.001	$4/41 \pm 0.2^a$	98 ± 1	$3/19 \pm 0.14^a$

داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($p < 0.05$).

بحث

میکروبیوتای روده اثر بگذارد، زیرا یک بستر مهم برای تولید تری‌متیل آمین توسط باکتری‌های روده است (Wang et al. 2011). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از کولین به‌طور معنی داری سبب افزایش تعداد فلور میکروبی روده بچه ماهی قزل آلابی رنگین کمان می‌شود. البته باید توجه داشت که در تمامی ماهیانی که تحت تیمار کولین کلراید قرار گرفتند، میزان فلور باکتریایی روده بالاتر از گروه شاهد بود. نتایج مشابهی در اثر افزودن کولین به جیره غذایی گورخر ماهی (*Danio rerio*) مشاهده شد که ترکیب میکروبیای روده و فراوانی میکروب‌های خاص را در هنگام کمبود کولین تغییر داد و این تغییر می‌تواند به نقش کولین در سوخت و ساز چربی کبد مرتبط باشد (Liu et al. 2022). جامعه میکروبی روده به عنوان یک دستگاه درون ریز شناخته شده است که می‌تواند سوخت و ساز چربی کبد میزبان را تعدیل کند (Schoeler and Caesar, 2019).

در تأیید نتایج حاضر، Li و همکاران (2016)، به بررسی اثرات مکمل کولین در جیره غذایی بر فعالیت آنزیم‌های روده ماهی *Megalobrama amblycephala* پرداختند. ماهی‌ها با 4 جیره غذایی با دو سطح چربی (50 و 150 گرم در کیلوگرم) به مدت 8 هفته تغذیه شده بودند. فعالیت لیپاز روده و لیپوپروتئین لیپاز، به طور قابل توجهی افزایش یافت. نتیجه این مطالعه نشان داد که مصرف کولین اضافی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های روده را بهبود ببخشد.

بر اساس نتایج، میزان وزن به دست آمده از این تحقیق، بهترین عملکرد رشد در تیمار Cho_{1000} و Cho_{2000} مشاهده شد. این نتایج نشان دهنده این است که ماهی قزل آلابی رنگین کمان در صورت وجود مقادیر بهینه و مناسب کولین ممکن است از وزن مناسب برخوردار شود. بهبود عملکرد رشد را می‌توان به صورت جزئی، تحت تأثیر افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، خصوصاً لیپاز و آلکالین فسفاتاز دانست (Li et al. 2016). نتایج حاصل مطابق با نتایج Li و همکاران (2016) روی ماهی *Megalobrama amblycephala* و Mohseni و همکاران (2018) روی ماهی دریای آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*) بود که گزارش کردند که افزایش وزن در ماهی متناسب با افزایش میزان کولین جیره انجام شده است.

فلور میکروبی روده، مجموعه‌ای از ریزموجودات ساکن در دستگاه گوارش است که به طور مستقیم در بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژی طبیعی میزبان، از وضعیت تغذیه‌ای تا پاسخ‌های رفتاری، دخالت دارد (Qiu et al. 2017). میکروفلور روده در سوخت و ساز مواد مغذی، توسعه دستگاه ایمنی، محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا و جلوگیری از بروز بسیاری از بیماری‌های مزمن در میزبان نقش مهمی بازی می‌کند (Zhong et al. 2022). عوامل زیادی بر ریزموجودات روده تأثیر می‌گذارد، مانند محیط، خوراک و غیره (Wang et al. 2018). کولین جیره نیز می‌تواند بر

می‌توان عنوان کرد افزودن کولین به جیره غذایی به‌طور مؤثر باعث تجمع باکتری در روده بچه ماهی می‌شود. این امر ممکن است به نقش کولین در سوخت و ساز چربی کبد مرتبط باشد و با افزایش نقل و انتقال چربی‌ها، از تجمع غیرطبیعی آنها در کبد جلوگیری می‌کند. کولین در جیره باعث افزایش تولید فسفاتیدیل کولین و به طبع آن، افزایش ساخت لیپوپروتئین‌ها با دانسیته (چگالی) بسیار پایین می‌شود (Soleimani, 2014). با وجود این، تحقیقات بیشتری در زمینه افزودن کولین به جیره غذایی باید انجام شود تا با رفع نواقص احتمالی و بررسی همه‌جانبه، بتوان به بهترین راهکار و دستورالعمل استفاده از این مکمل غذایی در صنعت آبزی‌پروری و برای هر یک از گونه‌های آبزیان دست یافت.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از کولین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در مقادیر متوسط فلور میکروبی روده نسبت به تیمار شاهد شد. بنابراین، افزودن ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به منظور دستیابی به بهبود فلور میکروبی روده ضروری به نظر می‌رسد. کمتر از این سطوح به دلیل فقدان کولین کلراید مورد نیاز و عدم توانایی تولید توسط ماهی و بیشتر از این سطوح نیز به دلیل احتمال اثر سمیت در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه نمی‌شود.

منابع

Carbone, D., Faggio, C. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology* 54: 172-178.

Das, S., Patra, A., Mandal, A., Mondal, N.S., Dey, S., Kole, D., Mondal, A.K., Ghosh, A.R. 2021. Study on impacts of direct supplementation of choline into semi-intensive fish culture system based on

همچنین، Wu و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود به بررسی اثر کولین بر ظرفیت‌های دستگاه و فرایند جذب و بیان ژن راپاماسین (TOR) و eIF4E- (4E-BP2) binding protein 2 در روده کپور معمولی جوان (*Cyprinus carpio*) پرداختند. در مجموع، ۱۲۰۰ کپور جوان با میانگین وزن اولیه ۷/۹۴ گرم و با ۶ جیره غذایی نیمه خالص حاوی ۱۶۵ (گروه شاهد)، ۳۱۰، ۶۰۷، ۸۹۶، ۱۱۶۷ و ۱۸۲۰ میلی‌گرم کولین در کیلوگرم جیره غذایی به مدت ۶۵ روز تغذیه شدند. الگوهای متفاوت در درازای روده، درازای نسبی روده، وزن روده، ارتفاع پرزهای روده‌ای در سه بخش روده، فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین در روده و هپاتوپانکراس، فعالیت α -آمیلاز و کراتین کیناز در روده، فعالیت Na^+/K^+ ATPase در ناحیه انتهایی روده و بیان نسبی ژن TOR در این ناحیه و بیان ژن 4E-BP2 در عضله افزایش نشان دادند. این در حالی است که فعالیت لیپاز در روده، فعالیت Na^+/K^+ ATPase در قسمت جلویی روده و روده میانی، بیان ژن TOR در عضله و هپاتوپانکراس و بیان ژن 4E-BP2 در قسمت جلویی روده، روده میانی و ناحیه انتهایی روده، بر عکس بودند. فعالیت آلکالین فسفاتاز و γ گلوتامیلترانس پپتیداز، در بخش‌های مختلف روده در میان گروه‌های غذایی تفاوت معنی‌داری نداشتند. این نتایج نشان داد که کولین جیره غذایی می‌تواند تقویت دستگاه گوارش و توانایی جذب و تنظیم بیان ژن TOR و 4E-BP2 را در روده بهبود دهد و در نهایت، نیاز کولین در جیره غذایی کپور، ۵۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به شکل کولین کلراید برآورد شد.

در این مطالعه نتایج نیز حاکی از بهبود وضعیت فلور میکروبی روده در گروه‌های دریافت کننده کولین بود که

haematopoietic alterations. Environmental and Sustainability Indicators 9: 100089.

Das, S., Patra, A., Mandal, A., Mondal, N.S., Dey, S., Mondal, A.K., Dey, A.K., Ghosh, A.R. 2022. Choline chloride induces growth performance of Indian major carps and air-breathing fish species with an outcome of quality food-fish under a semi-intensive culture

- system: A biochemical investigation. *ACS Omega* 7: 14579-14590.
- Das, S., Patra, A., Mandal, A., Mondal, N.S., Ghosh, A.R. 2020. Supplementation of choline chloride directly in the pond water induced enhanced growth performance in Indian major carps and air-breathing fishes. *International Journal of Fisheries and Aquatic Research* 5: 34-41.
- Duan, Y., Zhu, X., Han, D., Yang, Y., Xie, S. 2012. Dietary choline requirement in slight methionine-deficient diet for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition* 18: 620-627.
- Fagone, P., Jackowski, S. 2013. Phosphatidylcholine and the CDP-choline cycle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1831: 523-532.
- Geiger, O., López-Lara, I.M., Sohlenkamp, C. 2013. Phosphatidylcholine biosynthesis and function in bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1831: 503-513.
- Hajibeglou, A., Sudagar, M., Hoseini, S.A. and Jafari, S.M. 2015. Effect of different levels of ethanol extract of *Corchorus olitorius* on reproductive and growth factors in sword tail (*Xiphophorus helleri*). *Journal of Animal Environment* 6: 47-56.
- Hung, S.S. 1989. Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture* 78: 183-194.
- Khosravi, S., Jang, J.W., Rahimnejad, S., Song, J.W., Lee, K.J. 2015. Choline essentiality and its requirement in diets for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28: 647-653.
- Li, J.Y., Li, X.F., Xu, W.N., Zhang, C.N., Liu, W.B. 2016. Effects of dietary choline supplementation on growth performance, lipid deposition and intestinal enzyme activities of blunt snout bream *Megalobrama amblycephal* fed high-lipid diet. *Aquaculture Nutrition* 22: 181-190.
- Liu, W., Guo, X., Chen, Y., Tang, Y., Xiao, H., Wang, Y., Li, S., Zhou, Z. 2022. Effects of choline chloride on intestinal microbiota and its association with liver fat accumulation in zebrafish. *Aquaculture Reports* 24: 96-101.
- Lund, E.K. 2013. Health benefits of seafood; is it just the fatty acids?. *Food Chemistry* 140: 413-420.
- Mahious, A., Gatesoupe, F., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International* 14: 219-229.
- McDowell, L.R. 2000. *Vitamins in Animal and Human Nutrition*. Wiley-Blackwell 816 p.
- Mohseni, M., Seyed Hassani, M.H., Pourali, H.R., Kazemi, R., Hallajan, A. 2018. Effect of different levels of choline on growth factors, carcass compositions, and haematological-biochemical parameters in juvenile *Huso huso*. *Fisheries Science and Technology* 7: 191-197.
- Poston, H.A. 1991. Choline requirement of swim-up rainbow trout fry. *The Progressive Fish-Culturist* 53: 220-223.
- Qiu, L., Yang, D., Tao, X., Yu, J., Xiong, H., Wei, H. 2017. *Enterobacter aerogenes* ZDY01 attenuates choline-induced trimethylamine N-oxide levels by remodeling gut microbiota in mice. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 1491-1499.
- Schoeler, M., Caesar, R. 2019. Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 20: 461-472.
- Soleimani, L. 2014. Comparison of bioavailability of commercial choline varieties for broilers. Master's thesis. Tehran University of Agriculture and Natural Resources Campus, Karaj.
- Sneath, P.H. 1986. Endospore-forming Gram-positive rods and cocci. *Bergey's*

- Manual of Systematic Bacteriology 2: 1104-1207.
- Spencer, M.D., Hamp, T.J., Reid, R.W., Fischer, L.M., Zeisel, S.H., Fodor, A.A. 2011. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology* 140: 976-986.
- Taylor, J.F., North, B.P., Porter, M.J.R., Bromage, N.R., Migaud, H. 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 256: 216-234.
- Wang, A.R., Ran, C., Ringø, E., Zhou, Z.G. 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture* 10: 626-640.
- Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B.J., Koeth, R., Levison, B.S., DuGar, B., Feldstein, A.E., Britt, E.B., Fu, X., Chung, Y.M., Wu, Y. 2011. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 472: 57-63.
- Watanabe, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68: 242-252.
- Wilson, R.P., Poe, W.E. 1988. Choline nutrition of fingerling channel catfish. *Aquaculture* 68: 65-71.
- Wu, P., Feng, L., Kuang, S.Y., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Jiang, W.D., Li, S.H., Tang, L., Zhou, X.Q. 2011. Effect of dietary choline on growth, intestinal enzyme activities and relative expressions of target of rapamycin and eIF4E-binding protein2 gene in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture* 317: 107-116.
- Zhong, W., Hu, L., Zhao, Y., Li, Z., Zhuo, Y., Jiang, X., Li, J., Zhao, X., Che, L., Feng, B., Lin, Y. 2022. Effects of dietary choline levels during pregnancy on reproductive performance, plasma metabolome and gut microbiota of sows. *Frontiers in Veterinary Science* 8: 771228.