

تعیین نیاز غذایی شاه میگوی چنگال باریک (*Astacus leptodactylus*) جوان به کولین در سامانه آبی پروری مداربسته

رضا جلیلی^۱، ناصر آق^{۲*}، احمد ایمانی^۳، فرزانه نوری^۴

تاریخ دریافت: دی ۹۷

تاریخ پذیرش: بهمن ۹۷

چکیده

کولین یک ماده مغذی ضروری برای سخت‌پوستان است، اما تاکنون درباره نیاز غذایی شاه میگوی چنگال باریک به کولین گزارشی ارائه نشده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین نیاز غذایی شاه میگوهای جوان به کولین به مدت ۱۲ هفته انجام پذیرفت. بدین منظور، شاه میگوهای جوان (میانگین وزن $13/8 \pm 0/9$ گرم) در سیستم پرورش متراکم مداربسته و در ۱۲ مخزن پرورشی ذخیره‌سازی شدند. چهار جیره حاوی سطوح مختلف مکمل تجاری کولین (شامل صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ درصد کولین کلرید) تنظیم شد. نتایج نشان داد کمترین و بیشترین شاخص‌های رشد، بازماندگی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز کل و آمیلاز به ترتیب در شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های غذایی فاقد کولین و حاوی ۰/۲ درصد کولین مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین با افزایش کولین جیره به میزان ۰/۴ و ۰/۸ درصد تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز مشاهده نشد ($P > 0/05$). اختلاف معنی‌داری در شاخص بازماندگی و فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز در بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد کولین به جیره غذایی شاه میگوهای پرورشی در سیستم متراکم متکی به جیره غذایی دستی، سبب بهبود شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌شود.

واژگان کلیدی: نیاز غذایی، کولین، شاه میگوی چنگال باریک، *Astacus leptodactylus*.

۱- دانشجوی دکتری تخصصی تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دانشیار پژوهشی پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۴- استادیار پژوهشی پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول: n.agh@urmia.ac.ir

مقدمه

باشد. کولین همچنین یک عامل موثر در متابولیسم چربی‌ها و ضدخونریزی است و وجود آن برای دستیابی به رشد و ضریب تبدیل غذایی مناسب ضروری است (Saoud et al., 2012).

نتایج بسیاری از مطالعات حاکی از ضرورت استفاده از کولین به جهت دستیابی به رشد بهینه و مطلوب در بسیاری از ماهیان است (Kasper et al., 2000; Shiau and Lo, 2000; Duan et al., 2012; Khosravi et al., 2015). بنابراین کولین به عنوان یک ماده مغذی ضروری برای ماهیان محسوب می‌شود. همچنین کمبود کولین سبب کاهش رشد، بروز کبد چرب به علت نارسایی در متابولیسم چربی‌ها و اختلال در عملکرد غشای سلولی می‌شود (Duan et al., 2012).

گزارش‌های موجود در ارتباط با تعیین نیاز غذایی سخت‌پوستان به کولین بسیار محدود و گاهی مواقع متناقض است. میزان نیاز غذایی کولین برای میگو ۲۰۰۰-۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره توصیه شده است (NRC, 1993). Kanazawa و همکاران (۱۹۷۶) اظهار داشتند میزان نیاز میگوی کروما *Marsupenaeus japonicus* به کولین برای

با توجه به روند رو به رشد صنعت پرورش آبزیان و معرفی روش‌های نوین در پرورش متراکم شاه میگوی چنگال باریک (*Astacus leptodactylus*)، می‌توان به نقش تغذیه و تعیین نیازهای غذایی که از عوامل مهم توسعه موفقیت‌آمیز سیستم‌های پرورش متراکم هستند، اشاره کرد. تغذیه ناکارآمد و هزینه بالای پرورش از موانع مهم توسعه این سیستم‌ها به شمار می‌روند. با این حال این سیستم‌ها برای شاه میگوی قرمز مردابی *Cherax quadricarinatus* موفق عمل کرده‌اند (Manor et al., 2002).

کولین ماده مغذی شبه ویتامینی در ترکیب فسفولیپیدی لیستین و برخی دیگر از چربی‌های پیچیده است که به عنوان یک منبع گروه متیل برای ساخت متابولیت‌های متیلی مختلف و پیشگام در ساخت استیل کولین عمل می‌کند. کولین به شکل فسفاتیدیل کولین، نقش ساختاری مهمی در غشاهای طبیعی و به عنوان استیل کولین کارکردهای مهمی به عنوان انتقال دهنده عصبی دارد. اکثر جانوران قادر به تولید کولین هستند، البته به شرطی که اهداکنندگان گروه متیل مانند متیونین در جیره غذایی آن‌ها وجود داشته

رشد و بقای مناسب بیش از ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی است. Deshimaru و Kuroki (۱۹۷۹) نشان دادند که استفاده از کولین (۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره‌هایی با پایه کازئین و آلبومین در میگوی کروما تاثیر مثبتی در رشد و ترکیب کولین در محتوای بدن میگوها نداشت. He (۱۹۹۳) اظهار داشت افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کولین کلرید به جیره غذایی میگوی سفید *Litopenaeus vannamei* برای دستیابی به رشد بهینه ضروری است. Thompson و همکاران (۲۰۰۳) اظهار داشتند ۵ گرم در کیلوگرم کولین کلرید در جیره‌هایی با مقدار مناسب چربی برای شاه میگوی *Cherax quadricarinatus* کافی به نظر می‌رسد. همچنین کمبود کولین در میگوها سبب کاهش رشد، کاهش اشتها، دیستروفی عضله، لوزالمعده و کبد و همچنین تلفات پس از پوست‌اندازی می‌شود (NRC, 1993).

لسیتین سویا به عنوان مکمل فسفولیپیدی در بسیاری از مطالعات برای تامین نیاز کولین جیره به عنوان منبع فسفاتیدیل کولین در جیره ماهی و سخت‌پوستان مورد استفاده قرار گرفته است (Kanazawa, 1993; Gong et al., 2003; Teshima, 2003).

داده است که استفاده از کولین به منظور دستیابی به بهینه رشد جاندار، هنگامی که از لسیتین سویا در جیره استفاده نشده باشد، ضروری به نظر می‌رسد (Gong et al., 2003). توانایی سخت‌پوستان در ساخت زیستی فسفولیپیدها محدود است و قادر به تامین نیازهای زیستی میگو و لابستر نیست (D'Abramo et al., 1981; Kanazawa et al., 1985). ولی در صورت به کارگیری مقادیر مناسبی از لسیتین در جیره، این ماده می‌تواند بخشی از نیازهای مربوط به کولین را برطرف سازد. تاثیر مثبت لسیتین سویا به عنوان یک منبع فسفولیپیدی به لحاظ قابلیت دسترسی و قیمت تجاری در جیره غذایی میگوی کروما (Teshima et al., 1986)، لابستر (D'Abramo et al., 1981) و سایر گونه‌ها (Teshima, 1997) گزارش شده است. Kanazawa و همکاران (۱۹۸۵) و Teshima (۱۹۹۷) اظهار داشت که تاثیر مثبت مکمل فسفولیپید در جیره غذایی میگوی کروما به علت وجود فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اینوزیتول به همراه اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ است که به عنوان یکی از اجزای مهم سازنده لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا برای انتقال چربی غذا به همولنف، ایفای نقش

استفاده قرار گیرد، افزودن کولین کلرید تاثیر قابل ملاحظه‌ای در شاخص‌های رشدی میگوی کروما ندارد که به شکلی گویای اثر متقابل کولین کلرید و فسفاتیدیل کولین را در جیره میگوی کروما نشان می‌دهد (Michael et al., 2005). نیاز غذایی آبزیان به کولین می‌تواند متاثر از میزان ترکیبات متیل‌دار جیره مانند متیونین باشد. متیونین به عنوان اسیدآمینه ضروری برای گونه‌های جانوری مطرح است. در نتیجه می‌توان انتظار داشت که توجه به اثر متقابل کولین و متیونین جیره به هنگام تعیین نیاز آبزیان به کولین ضروری باشد. بنابراین باید ساخت جیره‌هایی با حداقل متیونین و سیستمین برای مطالعات تعیین نیاز کولین مورد توجه قرار گیرد (Duan et al., 2012).

با توجه به روند رو به رشد صنعت پرورش آبزیان و معرفی روش‌های نوین در پرورش متراکم شاه میگوی چنگال باریک نقش جیره غذایی حیاتی است چرا که این موجودات برای تامین نیازهای غذایی خود متکی به غذای دستی خواهند بود. مطالعات کمی درباره تعیین نیازهای غذایی شاه میگوی چنگال باریک صورت گرفته است. البته، سطح بهینه کولین جیره غذایی برای برخی از سخت‌پوستان مشخص شده است، ولی در ارتباط با سطح

می‌کند. Teshima (۲۰۰۳) نشان داد میگوی کروما برای دستیابی به رشد و بقای مناسب به مکمل فسفولیپیدی جیره مانند فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانول آمین نیاز دارد چرا که ساخت زیستی فسفولیپید، تامین کننده نیازهای حیاتی موجود نیست.

مکمل کولین به شکل کولین کلرید با ۸۶/۸ درصد کولین و نیز فسفاتیدیل کولین با ۱۳ درصد کولین می‌تواند در جیره غذایی آبزیان مورد استفاده قرار گیرد. در این میان، فسفاتیدیل کولین از دسترسی زیستی و زمان آزادسازی بهتری در مقایسه با کولین کلرید برخوردار است (Canty et al., 1996). به طور متوسط ۱ درصد لسیتین جیره می‌تواند ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کولین تامین کند. بنابراین استفاده از ۳ درصد لسیتین در جیره غذایی می‌تواند به میزان ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از نیاز زیستی میگوی سفید را تامین کند (He, 1993). Gong و همکاران (۲۰۰۳) به بررسی اثرات فسفولیپید جیره با استفاده از لسیتین سویا بر نیاز زیستی میگوی سفید به کولین پرداختند و اظهار داشتند که افزودن مکمل کولین کلرید در جیره‌های فاقد لسیتین برای رشد طبیعی ضروری است. زمانی که لسیتین سویا به مقدار کافی در جیره مورد

قلیابیت آب نیز از خرده صدف استفاده شد. علاوه بر این، از سیستم هوادهی مرکزی و بخاری برای تنظیم اکسیژن محلول و دما استفاده شد. سیستم پرورشی به صورت مدار بسته بود و روزانه حدود ۱۰ درصد آب تعویض می‌شد. این میزان تعویض آب به برای ثابت نگه داشتن شاخص‌های کیفی آب لحاظ شد. همچنین میزان جریان ورودی وان‌ها 1 ± 0.2 لیتر در دقیقه و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ روشنایی بود.

شاه میگوها پس از ۲ هفته سازگاری با شرایط پرورش، با چهار جیره غذایی خالص (حاوی کازئین و ژلاتین به عنوان منبع پروتئینی) شامل جیره پایه و ۳ جیره حاوی سطوح مختلف مکمل کولین کلرید (جدول ۱) در سه تکرار و به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. غذادهی به میزان ۴ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز (ساعت‌های ۸ و ۲۲) صورت گرفت. تمام مخازن هر روز صبح از نظر حذف غذاهای باقیمانده، تعداد پوست‌اندازی، مرگ و میر، شستشو و آبگیری مورد رسیدگی قرار می‌گرفتند. به منظور آگاهی از وضعیت رشد شاه میگو و همچنین محاسبه صحیح مقدار غذای روزانه، هر دو هفته یک بار تمام شاه

بهینه آن در جیره غذایی شاه میگوی چنگال باریک به ویژه در شرایط پرورش مترکم اطلاعاتی در دست نیست. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر سطوح مختلف کولین کلرید جیره بر رشد، بقا و فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاه میگوی چنگال باریک به منظور تعیین سطح بهینه آن طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

پرورش شاه میگو

این مطالعه بر روی شاه میگوهای چنگال باریک (*Astacus leptodactylus*) جوان با میانگین وزنی $13/80 \pm 0/9$ گرم با تراکم ۴ عدد در هر وان ($30 \times 20 \times 18$ سانتی‌متر، به ترتیب طول، عرض و ارتفاع) و با نسبت جنسی ۱:۱ به مدت ۱۲ هفته انجام پذیرفت. هر یک از مخازن پرورشی دارای ورودی و خروجی مجزا بودند و میانگین درجه حرارت، اکسیژن، pH، نیتريت، نترات، کلسیم و سختی کل طی دوره پرورش به ترتیب $16/5 \pm 1/2$ درجه سانتی‌گراد، $8/1 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر، $7/8 \pm 0/3$ ، $0/008 \pm 0/003$ میلی‌گرم در لیتر، $0/76 \pm 0/12$ میلی‌گرم در لیتر، $61/2 \pm 2/4$ میلی‌گرم در لیتر و $165 \pm 4/5$ میلی‌گرم $CaCO_3$ در لیتر بود. برای تنظیم pH و

میگوها از مخازن پرورش خارج و با ترازوی حساس (دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند.

جدول ۱: ترکیب اجزای غذایی جیره‌های آزمایشی

گروه‌های آزمایشی				اجزای جیره (%)
۴	۳	۲	۱ (شاهد)	
۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	کازئین
۵	۵	۵	۵	ژلاتین
۵	۵	۵	۵	گلوتن گندم
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	روغن سویا
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	سبوس گندم
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	آرد گندم
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	نشاسته گندم
۵	۵	۵	۵	دکستروز
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	کلسترول
۰/۸	۰/۴	۰/۲	-	کولین کلرید
۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	آستاگزانتین
۱	۱	۱	۱	مکمل ویتامینی*
۱	۱	۱	۱	مکمل معدنی**
۱	۱	۱	۱	ال-لیزین
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	آنتی‌اکسیدان (BHT)
۲/۴	۲/۸	۳	۳/۲	CMC***
۳	۳	۳	۳	دی کلسیم فسفات

*: ترکیب مکمل ویتامینی (در هر کیلوگرم جیره) شامل ویتامین A (۱۶۰۰۰۰ IU)، ویتامین D3 (۴۰۰۰۰۰ IU)، نیاسین (۴۰۰۰ IU)، ریوفلاوین (۸۰۰۰ IU)، پیریدوکسین (۴۰۰۰ IU)، فولیک اسید (۲۰۰۰ IU)، ویتامین B12 (۸۰۰۰ IU)، اینوزیتول (۲۰۰۰ IU)، ویتامین C (۶۰۰۰ IU)، ویتامین B2 (۸۰۰۰ IU)، ویتامین K3 (۲۰۰۰ IU) و ویتامین E (۴۰۰۰ IU).

** : ترکیب مکمل معدنی (در هر کیلوگرم جیره) شامل روی (۱۲/۵ گرم)، آهن (۲۶ گرم)، منگنز (۱۵/۸ گرم)، مس (۴/۲ گرم)، کبالت (۰/۴۸ گرم)، سلنیوم (۲ گرم) و ید (۱ گرم).

***: کربوکسی متیل سلولز

تهیه جیره‌های آزمایشی

در این مطالعه از یک جیره پایه خالص حاوی ۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ درصد چربی استفاده شد. با توجه به نوع آزمایش، برای ساخت جیره‌های مورد نظر از مواد خالص استفاده شد. کازئین و ژلاتین به عنوان منابع اصلی پروتئین و روغن سویا به منظور تامین چربی جیره مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). چهار سطح کولین (شامل صفر، ۰/۲۰، ۰/۴ و ۰/۸) به کمک مکمل کولین (Nutrex، بلژیک) با درصد خلوص ۹۸ درصد در جیره پایه ایجاد شد، تا جیره‌های آزمایشی مورد نظر به دست آید (جدول ۱). همچنین از کربوکسی متیل سلولز (Carboxymethyl Cellulose: CMC) به عنوان پر کننده و جایگزین سطوح مختلف کولین در جیره استفاده شد. پس از آنالیز شیمیایی اجزای سازنده جیره، جیره‌های آزمایشی طبق احتیاجات غذایی شاه میگو چنگال باریک به درشت‌مغذی‌ها، به کمک نرم‌افزار WUFFDA تنظیم شدند. اجزای جیره پس از آسیاب شدن، با یکدیگر مخلوط و سپس به وسیله چرخ گوشت به صورت پلت‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر در آمدند. پلت‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و تا زمان

مصرف در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

تجزیه تقریبی جیره‌های آزمایشی

ابتدا اجزای جیره‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس درصد رطوبت و ماده خشک محاسبه شد (AOAC, 1995). سنجش محتوای پروتئین خام نمونه‌ها (مقدار نیتروژن پروتئین $\times 6/25$) به روش کجلدال (WD40، Behrotest، آلمان) انجام شد. استخراج چربی کل با استفاده از حلال دی‌اتیل اتر صورت پذیرفت. برای تعیین میزان خاکستر نمونه‌ها از کوره الکتریکی (Muffle Furnace، ایران خودساز، ایران) به مدت چهار ساعت در دمای ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. میزان کربوهیدرات نیز از تفاضل ۱۰۰ از مجموع میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر محاسبه شد (AOAC, 1995) (جدول ۲).

شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه

میگوها در پایان دوره نگهداری زیست‌سنجی شدند و شاخص‌های وزن و طول

نهایی میگو و وزن هپاتوپانکراس اندازه‌گیری بازماندگی (SR) و شاخص هپاتوپانکراس شد. سپس شاخص‌های رشد شامل درصد (HPI) طبق رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه شد افزایش وزن (BWI)، رشد ویژه (SGR) و (Michael et al., 2005).

جدول ۲: تجزیه شیمیایی جیره‌های آزمایشی

گروه‌های آزمایشی				ترکیبات (درصد از ماده خشک)
۴	۳	۲	۱	
۳۳/۱	۳۳/۴	۳۳/۲	۳۳/۳	پروتئین
۱۰/۳	۱۰/۲	۱۰/۳	۱۰/۴	چربی
۱۸/۴	۱۹	۱۸	۱۷/۶	خاکستر
۳۸/۲	۳۷/۴	۳۸/۵	۳۸/۷	کربوهیدرات

رابطه ۱:

$$BWI (\%) = [(BW_f - BW_i) / BW_i] \times 100$$

BW_i : وزن اولیه (گرم)؛ BW_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$SGR (\%/day) = [(LnW_f - LnW_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : کل روزهای پرورش (روز).

رابطه ۳:

$$SR (\%) = (N_f / N_i) \times 100$$

N_i : تعداد شاه میگوها در ابتدای آزمایش؛ N_f : تعداد شاه میگوها در انتهای آزمایش.

رابطه ۴:

$$HPI (\%) = (HP / W_f) \times 100$$

HP: وزن هپاتوپانکراس؛ W_f : وزن نهایی.

تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی

تهیه عصاره آنزیمی

برای تهیه عصاره آنزیمی، یک گرم از بافت هپاتوپانکراس در ۹ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، X-100 Triton ۰/۱ درصد در pH ۷/۸ توسط هموژنایزر همگن شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع روئی به دست آمده در ویال‌های یک میلی‌لیتری تقسیم و تا زمان سنجش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Briggs et al., 1988). میزان پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده هپاتوپانکراس شاه میگوها به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد.

تعیین فعالیت آنزیم پروتئاز کل

برای تعیین فعالیت آنزیم پروتئاز کل ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول Azocasein ۲ درصد در Tris-HCl ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷/۵) مخلوط شد و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵ میلی‌لیتر TCA (Trichloroacetic Acid) به آن اضافه شد. نمونه‌ها سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۵۰۰g سانتریفیوژ شدند. فعالیت ویژه آلکالین پروتئاز به ازای مدت انکوباسیون (۱۰ دقیقه) و میزان پروتئین عصاره آنزیمی (میلی‌گرم) محاسبه شد (Garcia-Carreño and Haard, 1993).

تعیین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

برای سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز ابتدا به ۲۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته ۱ درصد اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر معرف رنگی دنیتروسالیسیلیک اسید به آن اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه قرار گرفت. سپس ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. میزان فعالیت آلفا آمیلاز، بر حسب میکرومول مالتوز آزاد شده تحت اثر آنزیم در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (Worthington, 1991).

تعیین فعالیت آنزیم لیپاز

هر سنجش لیپازی شامل ۷ میکرولیتر عصاره آنزیمی به همراه ۸۶ میکرولیتر محلول سدیم کولات (Sodium Cholate) و ۲/۵ میکرولیتر محلول متوکسی اتانول بود. پس از افزودن ۵/۵ میکرولیتر پارانیتروفنیل مریستات به مجموعه فوق و انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Iijima et al., 1998).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بررسی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و به کمک آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون توکی HSD Test انجام شد. البته تمام مفروضات آزمون تحلیل واریانس پیش از انجام تحلیل‌های آماری، مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است که تمامی آزمون‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد

($P < 0/05$) انجام شدند و نتایج نهایی به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شد.

گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

نتایج

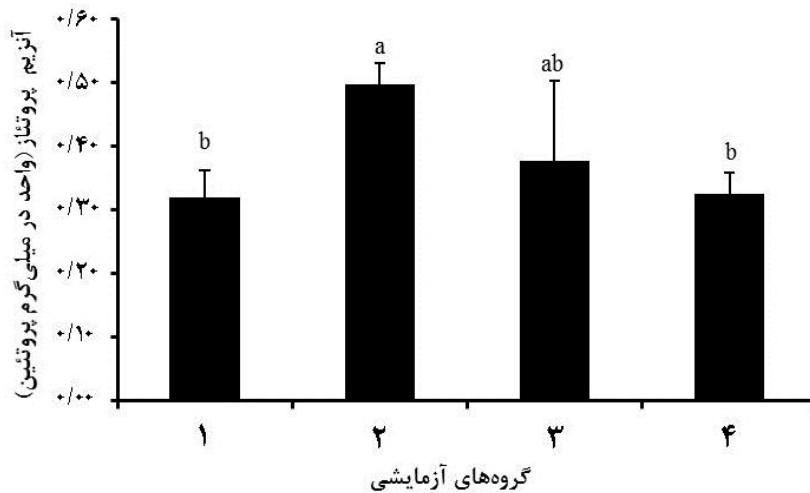
نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و بقای شاه میگوهای چنگال باریک در گروه‌های مختلف آزمایشی در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه شاه میگوهای تغذیه شده با جیره فاقد کولین (گروه آزمایشی ۱) در مقایسه با گروه تغذیه شده با ۰/۲ درصد کولین (گروه آزمایشی ۲) به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($P < 0/05$). همچنین از نظر این شاخص‌ها، میان شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی صفر، ۰/۴ (گروه آزمایشی ۳) و ۰/۸ (گروه آزمایشی ۴) درصد کولین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). از نظر شاخص‌های هپاتوپانکراس و بازماندگی میان

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل در هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در شکل ۱ آمده است. میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در شاه میگوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۲ درصد کولین (گروه آزمایشی ۲، $0/5 \pm 0/0$ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با گروه‌های آزمایشی ۱ و ۴ (گروه آزمایشی صفر و ۰/۸ درصد کولین) به طور معنی‌داری بالا بود ($P < 0/05$). همچنین از نظر میزان فعالیت آنزیم پروتئاز میان شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی صفر، ۰/۴ و ۰/۸ درصد کولین (به ترتیب $0/32 \pm 0/03$ ، $0/38 \pm 0/03$ و $0/3 \pm 0/03$ واحد در میلی‌گرم پروتئین) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۳: شاخص‌های رشد گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش

شاخص	گروه‌های آزمایشی			
	۴	۳	۲	۱
وزن ابتدایی (گرم)	۱۳/۷±۱/۷ ^a	۱۳/۹±۱/۰ ^a	۱۳/۸±۱/۲ ^a	۱۳/۷±۱/۸ ^a
وزن نهایی (گرم)	۲۱/۲±۳/۶ ^{ab}	۲۲/۱±۲/۳ ^{ab}	۲۳/۹±۲/۱ ^a	۱۹/۷±۲/۳ ^b
افزایش وزن (درصد)	۵۳/۳±۲۹/۶ ^{ab}	۵۹/۶±۱۷/۲ ^{ab}	۷۳/۲±۱۵/۸ ^a	۴۲/۳±۱۷/۳ ^b
رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۴±۰/۱ ^{ab}	۰/۵±۰/۱ ^{ab}	۰/۶±۰/۱ ^a	۰/۴±۰/۱ ^b
شاخص هیپاتوپانکراس (درصد)	۷/۸±۰/۹ ^a	۸/۱±۰/۹ ^a	۷/۶±۰/۸ ^a	۷/۳±۰/۶ ^a
بازماندگی (درصد)	۵۰/۰±۱۴/۴ ^a	۵۲/۸±۱۲/۷ ^a	۴۷/۲±۱۲/۷ ^a	۵۰/۰±۸/۳ ^a

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری هستند ($P < 0.05$).

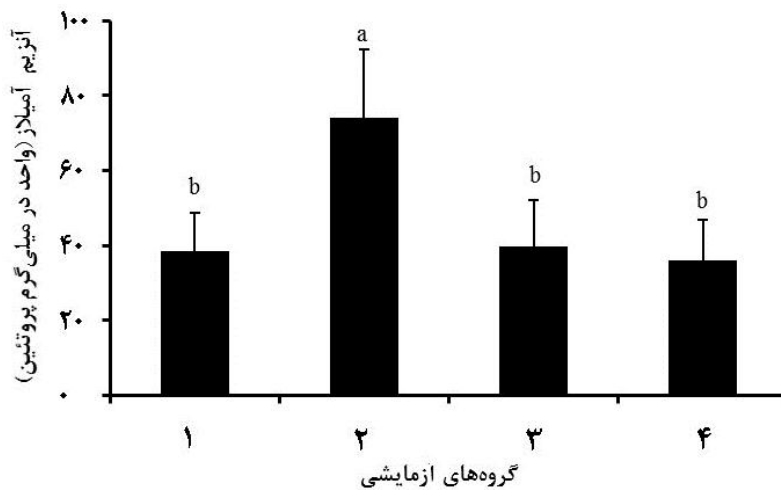


شکل ۱: فعالیت آنزیم پروتئاز هیپاتوپانکراس شاه میگوهای چنگال باریک تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کولین در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری میان گروه‌های آزمایشی است ($P < 0.05$).

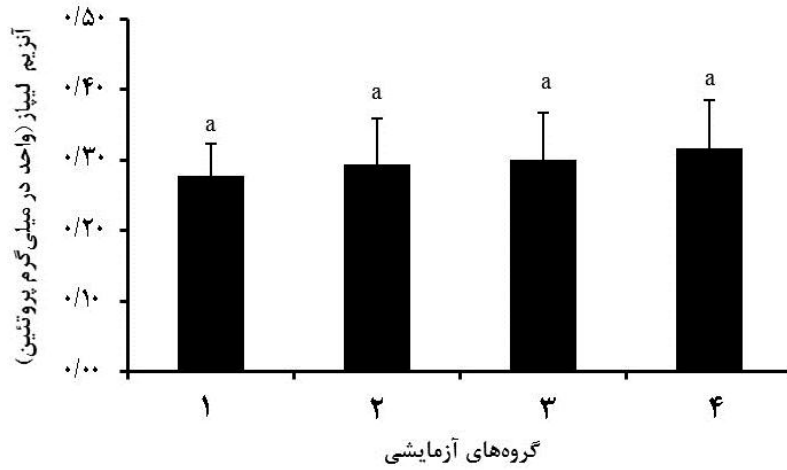
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آمیلاز جیره‌های آزمایشی در شکل ۲ آمده است. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در گروه تغذیه شده

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم لیپاز هیپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کولین در پایان دوره پرورش نشان داد که در میزان فعالیت آنزیم لیپاز گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$ ؛ شکل ۳).

با جیره غذایی ۰/۲ درصد کولین (گروه آزمایشی ۲، $74/2 \pm 18/1$ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در مقایسه با گروه‌های آزمایشی صفر، ۰/۴ و ۰/۸ درصد کولین (گروه‌های آزمایشی ۱، ۳ و ۴ به ترتیب، $38/5 \pm 10/3$ ، $39/6 \pm 12/6$ و $36/1 \pm 10/6$ واحد در میلی‌گرم پروتئین) به طور معنی‌داری بالا بود ($P < 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌داری میان گروه‌های آزمایشی ۱، ۳ و ۴ مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۲: فعالیت آنزیم آمیلاز هیپاتوپانکراس شاه میگوهای چنگال باریک تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کولین در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری میان گروه‌های آزمایشی است ($P < 0.05$).



شکل ۳: فعالیت آنزیم لیپاز هپاتوپانکراس شاه میگوهای چنگال باریک تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کولین در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار آماری میان گروه‌های آزمایشی است ($P < 0.05$).

بحث

(Watanabe and Takeuchi, 1976;)
 Poston, 1991)، ماهی آزاد (Poston,
 Kasper et al., 1991)، تیلایپای نیل (Kasper et al.,
 Geurden et al., 2000)، کپور معمولی (Geurden et al.,
 1995) و فلاندر ژاپنی (*Paralichthys*
olivaceus) (Tago et al., 1999) به اثبات
 رسیده است.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از تاثیر مثبت
 مکمل کولین در جیره غذایی شاه میگو چنگال
 باریک است. در مطالعه حاضر عملکرد رشد و
 فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاه میگوهای تغذیه
 شده با ۲ گرم در کیلوگرم کولین معادل ۰/۲
 درصد جیره غذایی (گروه آزمایشی ۲) به طور
 قابل ملاحظه‌ای بهتر از سایر گروه‌های
 آزمایشی بود.

مطالعه Kanazawa و همکاران (۱۹۷۶)
 روی میگوی کروما که به بررسی اثر سطوح
 مختلف کولین جیره به مدت ۴۰ روز پرداخته
 بود (۲۴، ۱۲۰، ۶۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در
 کیلوگرم)، نشان داد که ۶۰۰ میلی‌گرم در
 کیلوگرم کولین سبب بهبود شاخص های رشد
 و بقا میگوی کروما شد. سطح بهینه کولین
 برای شاه میگو چنگال باریک در مطالعه حاضر
 در مقایسه با میگوی کروما بالا است که این
 می‌تواند به دلیل وجود اختلافات زیستی بین

در اکثر جانوران کولین آزاد می‌تواند به
 وسیله کاتابولیسم فسفاتیدیل کولین ساخته
 شود که به مسیر سیتوزین دی‌فسفات-کولین
 معروف است. میزان انجام این فرآیند ارتباط
 مستقیمی با میزان کولین دریافتی در جیره
 غذایی دارد. در برخی از آبزیان مانند میگوها و
 سایر سخت‌پوستان امکان بر طرف ساختن
 نیازهای زیستی موجود با این مسیر
 متابولیسمی پایین است و باید بخش قابل
 توجهی از نیاز آن‌ها از طریق جیره غذایی
 تامین شود که در این باره مکمل کولین کلرید
 به عنوان یکی از منابع مهم برای دستیابی به
 رشد طبیعی و بقا مطرح است (Gong et al.,
 2003; Michael et al., 2005).

نیاز ضروری سخت‌پوستان به کولین در
 بسیاری از گونه‌ها مانند میگوی کروما
 (Kanazawa et al., 1976; Teshima et
 al., 1982; Camara et al., 1997;
 Michael et al., 2005)، میگوی سفید (He,
 1993; Gong et al., 2003) و لابستر
 (*Homarus americanus*) (D'Abramo et
 al., 1981) گزارش شده است. همین طور نیاز
 به منابع کولین و فسفولیپید جیره غذایی در
 بسیاری از ماهیان مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان

تعیین نیاز کولین در میگوی کروما پرداخته بودند، نشان دادند که این گونه برای رشد بهینه خود نیازی به مکمل کولین در جیره غذایی ندارد.

در مطالعات پیشین تعیین نیاز کولین بیشتر به صورت استفاده از مکمل‌های کولین کلرید و یا لسیتین با سطوح مختلف فسفاتیدیل کولین انجام گرفته است. اطلاعات کمی درباره تعیین نیاز سخت‌پوستان به ویژه شاه میگوی چنگال باریک به مکمل کولین وجود دارد و در اندک مطالعات نیز پژوهشگران بیشتر از مکمل‌های فسفولیپیدی برای تعیین و یا تامین نیاز جاندار به کولین استفاده کرده‌اند. در همین راستا Thompson و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند افزودن ۲-۰/۵ گرم در کیلوگرم لسیتین سویا به همراه ۵ گرم در کیلوگرم مکمل کولین کلرید در جیره شاه میگوی *Cherax quadricarinatus* تاثیر مثبتی بر عملکرد رشد شاه میگوها نداشت. Camara و همکاران (۱۹۹۷) بیان داشتند مقدار ۳۰-۱۵ گرم در کیلوگرم مکمل فسفاتیدیل کولین با خلوص ۹۵ درصد برای رشد میگوی کروما در شرایطی که از مکمل کولین در جیره استفاده نشده باشد، کافی است.

دو گونه، دوره پرورش و نیز فاصله زیاد سطوح کولین در جیره مورد استفاده در مطالعه فوق باشد. He (۱۹۹۳) اظهار داشت استفاده از ۰/۹ گرم در کیلوگرم مکمل کولین کلرید در جیره برای بهبود عملکرد شاخص‌های رشد و بقا میگوی سفید ضروری است. در مطالعه‌ای دیگر بر روی همین گونه سطح بهینه کولین در جیره میگوی سفید برای رشد طبیعی ۸۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شد (Gong et al., 2003). همچنین نتایج مطالعه Shiau و Lo (۲۰۰۱) در ارتباط با سطوح مختلف کولین (صفر، ۰/۳، ۰/۶، ۱، ۲، ۴، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره غذایی میگوی موندون (*Penaeus monodon*) نشان داد وزن نهایی و بازماندگی در میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۷-۴ گرم در کیلوگرم کولین در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری بالاتر بود. همچنین شاخص بازماندگی در میگوهای تغذیه شده با سطوح ۲-۰ گرم در کیلوگرم و نیز ۱۰ گرم در کیلوگرم کولین تفاوت معنی‌داری نداشت. در نهایت آن‌ها حدود بهینه نیاز غذایی میگوی موندون را ۶/۲ گرم در کیلوگرم کولین پیشنهاد دادند (Shiau and Lo, 2001). بر خلاف نتایج مطالعات فوق، Kuroki و Deshimaru (۱۹۷۹) که به

سطح مورد نیاز نیست، بلکه بیانگر حداکثر نیاز غذایی کولین تحت شرایطی است که به مقدار اندکی ساخت زیستی آن صورت گرفته است.

تاکنون هیچ گزارشی درباره تاثیر مکمل کولین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان و سخت‌پوستان ارائه نشده است. نتایج مطالعه حاضر حاکی از افزایش شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز در شاه میگوهای تغذیه شده با ۲ گرم در کیلوگرم کولین جیره در مقایسه با شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های فاقد کولین است.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد با افزایش سطح کولین جیره از ۲ به ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم میانگین شاخص وزن به دست آمده، ضریب رشد ویژه و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آمیلاز کاهش یافت. این نتایج با مطالعه Michael و همکاران (۲۰۰۵) همخوانی داشت. آن‌ها اظهار داشتند افزودن مکمل کولین کلرید یا SPC به جیره‌هایی که دارای مقدار کافی و یا بیش از حد کولین کلرید یا SPC بودند، سبب بهبود شاخص‌های رشدی جاندار نمی‌شود. همین‌طور این اثرات را ناشی از سمت تغذیه‌ای و نیز اثرات آسیب‌شناسی بافتی ناشی از سطوح بالای کولین جیره بیان داشتند (Michael et al.,

نتایج مطالعه Michael و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد اثر متقابلی بین کولین کلرید و فسفاتیدیل کولین جیره وجود داشت و استفاده از ۱/۲-۰/۶ گرم در کیلوگرم کولین کلرید به همراه ۲۰ گرم در کیلوگرم فسفاتیدیل کولین لسیتین سوپا (SPC) سبب بهبود شاخص‌های رشد و ذخیره‌سازی کولین آزاد و فسفاتیدیل کولین کل لاشه شد، اما زمانی که مقدار SPC از ۲۰ به ۴۰ گرم در کیلوگرم افزایش یافت، میزان کولین جیره تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص‌های رشدی جاندار نداشت. Gong و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتند زمانی که ۱/۵ یا ۳ درصد فسفولیپید به جیره اضافه شود، دیگر فقدان کولین جیره تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد رشدی میگوی سفید نخواهد داشت.

Lo و Shiau (۲۰۰۱) با آزمایش اسیدهای آمینه کازئین مورد استفاده در جیره، بیان داشتند مقدار متیونین کازئین ۱/۲۶ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین و سیستئین آن ۰/۱۹ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین بود. با توجه به این که در مطالعه حاضر از کازئین به عنوان منبع پروتئینی که دارای اسید آمینه متیونین است استفاده شد، می‌توان بیان داشت که سطح نیاز بهینه شاه میگوها به کولین نمایانگر حداقل

2005). به همین دلیل برای تعیین مقدار نیاز کمی به کولین باید نسبت سطوح منابع کولین جیره و سایر مواد مغذی مختلف استفاده شده در تنظیم جیره به دقت ارزیابی شود، تا بتوان از این داده‌ها به طور کاربردی در ساخت جیره- های غذایی با هزینه کمتر و همچنین تامین حداقل نیازهای غذایی جاندار استفاده کرد.

منابع

- AOAC. 1995.** Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, AOAC, USA. 1422P.
- Bradford M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Briggs M.R.P., Jauncey K. and Brown J.H. 1988.** The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets. *Aquaculture*, 70: 121–129.
- Camara M.R., Coutteau P. and Sorgeloos P. 1997.** Dietary phosphatidylcholine requirements in larval and postlarval *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture Nutrition*, 3: 39–47.
- Canty D.J., Zeisel S.H. and Jolitz A.J. 1996.** Lecithin and Choline: Research Update on Health and Nutrition. Central Soya Company, Inc., USA. 24P.
- D'Abramo L.R., Bordner C.E., Conklin D.E. and Baum N.A. 1981.** Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobsters. *Journal of Nutrition*, 111: 425–431.
- Deshimaru O. and Kuroki K. 1979.** Requirement of prawn for dietary thiamine, pyridoxine, and choline chloride. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 45: 363–367.
- Duan Y., Zhu X., Han D., Yang Y. and Xie S. 2012.** Dietary choline requirement in slight methionine-deficient diet for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 18(6): 620–627.
- Garcia-Carreno F.L. and Haard N.F. 1993.** Characterization of proteinase classes in langostilla *Pleuroncodes planipes* and crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 17: 97–113.
- Geurden I., Radunz-Neto J. and Bergot P. 1995.** Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 131: 303–314.
- Gong H., Lawrence A.L., Jiang D.H. and Gatlin D.M. 2003.** Effect of dietary phospholipids on the choline requirement of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of World Aquaculture Society*, 34: 289–299.
- He H.Q. 1993.** Evaluation of dietary vitamin requirements of the white-leg shrimp, *Penaeus Vannamei*.

- Ph.D. Thesis, Texas A&M University, USA. 181P.
- Iijima N., Tanaka S. and Ota Y. 1998.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59–69.
- Kanazawa A. 1993.** Essential phospholipids of fish and crustaceans. P: 519–530. In: Kaushik S.J. and Luquet P. (Eds.). *Fish Nutrition in Practice*. INRA Edns, Versailles Cedex, France.
- Kanazawa A., Teshima S. and Sakamoto M. 1985.** Effects of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture*, 50: 39–49.
- Kanazawa A., Teshima S.I. and Tanaka N. 1976.** Nutritional requirements of prawn. V. Requirements for choline and inositol. *Memoris Faculty Fisheries*, 25: 47–51.
- Kasper C.S., White M.R. and Brown P.B. 2000.** Choline is required by tilapia when methionine is not in excess. *Journal of Nutrition*, 130: 238–242.
- Khosravi S., Jang J.W., Rahimnejad S., Song J.W. and Lee K.J. 2015.** Choline essentiality and its requirement in diets for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(5): 647–653.
- Manor R., Segev R., Pimienta M.L., Aflalo E.D. and Sagi A. 2002.** Intensification of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* culture: II. Growout in a separate cell system. *Aquaculture Engineering* 26(4): 263–276.
- Michael F.R., Teshima S., Koshio S., Ishikawa M., Uyan O. and Alam M.S. 2005.** Effects of water-soluble and fat-soluble choline sources on the performances of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* juveniles. *Aquaculture Research*, 36: 1563–1571.
- NRC (National Research Council). 1993.** Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Warm Water Fishes and Shellfishes. National Academy Press, USA. 102P.
- Poston H.A. 1991.** Response of Atlantic salmon fry to feed grade lecithin and choline. *The Progressive Fish-Culturist*, 53(4): 224–228.
- Saoud I.P., Garza de Yta A. and Ghanawai j. 2012.** A review of nutritional biology and dietary requirement of redclaw crayfish *Cherax quadricarinus* (von Martens 1868). *Aquaculture Nutrition*, 18(4): 349–368.

- Shiau S.Y and Lo P.S. 2001.** Dietary choline requirement of juvenile grass shrimp (*Penaeus monodon*). British Society of Animal Science, 72: 477–482.
- Shiau S.Y. and Lo P.S. 2000.** Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. The Journal of Nutrition, 130(1): 100–103.
- Tago A., Yamamoto Y., Teshima S. and Kanazawa A. 1999.** Effects of 1,2-di-20:5-phosphatidylcholine (PC) and 1,2-di-22:6-PC on growth and stress tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. Aquaculture, 179: 231–239.
- Teshima S. 1997.** Phospholipids and sterols. P: 85–107. In: D'Abramo L., Conklin D. and Akiyama D. (Eds.). Advances in World Aquaculture, Vol. 6, Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, USA.
- Teshima S. 2003.** Lipid nutrition of crustaceans. P: 133–167. In: Lee J.S. (Ed.). Aquaculture: Retrospective and Outlook an Aquaculture Summit Asian Fisheries Society, World Aquaculture Society, USA.
- Teshima S., Kanazawa A., Kakuta Y. 1986.** Role of dietary phospholipids in the transport of ¹⁴C cholesterol in the prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52: 719–723.
- Teshima S., Kanazawa A., Sasada H. and Kawasaki M. 1982.** Requirements of larval prawn, *Penaeus japonicus*, for cholesterol and soybean phospholipids. Memoris Faculty Fisheries, 31: 193–199.
- Thompson K.R., Muzinic L.A., Christian T.D., Webster C.D., Manomaitis L. and Rouse D.B. 2003.** Lecithin requirements of juvenile Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition, 9(4): 223–230.
- Watanabe T. and Takeuchi T. 1976.** Evaluation of pollack liver oil as a supplement to diets for rainbow trout. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 42: 893–907.
- Worthington C.C. 1991.** Worthington Enzyme Manual Related Biochemical. Worthington Biochemical Corp, USA. 346P.



Research Paper

Dietary choline requirement of juvenile narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*) in a recirculating aquaculture system

Reza Jalili¹, Naser Agh^{2*}, Ahmad Imani³, Farzaneh Noori⁴

Received: January 2019

Accepted: February 2019

Abstract

It has been shown a dietary choline is essential for several crustacean species. However, the choline requirement of narrow-clawed crayfish has not been reported. Therefore, a 12-week feeding trial was conducted to determine the dietary choline requirement of narrow-clawed crayfish. Juvenile crayfish with an average body weight of 13.8 ± 0.9 g were intensively stocked in an indoor recirculating aquaculture system consisting of 12 tanks. Four experimental diets were formulated to contain graded levels of dietary choline (0, 0.2, 0.4 and 0.8% choline chloride). Results showed a crayfish fed diet with 0.0 and 0.2 % choline produced the highest and the lowest growth indices and enzymes activity including protease and amylase, respectively ($P < 0.05$). With an increase of choline content of experimental diets (0.4 and 0.8 %), no significant improvement was observed regarding growth indices, protease, and amylase activity ($P > 0.05$). However, no significant differences were observed in survival rate and lipase activity of various experimental groups ($P > 0.05$). In conclusion, the results indicated that dietary inclusion of 0.2% choline would improve growth performance and digestive enzymes activity of juvenile narrow-clawed crayfish reared under intensive condition.

Key words: *Nutrient Requirement, Choline, Crayfish, Astacus leptodactylus*.

1- Ph.D. Student of Fisheries Sciences, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

2- Associate Professor in Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

3- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

4- Assistant Professor in Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding Author: n.agh@urmia.ac.ir

