

تأثیر جایگزینی سطوح مختلف آرد سویا با آرد ماهی بر برخی از پارامترهای

بیوشیمیایی همولنف در خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)

سید مهدی حسینی فرد^(۱)؛ مراد شاکر خشرودی^(۲)؛ سیده حوری بیکیایی^(۳)؛ نرمین عزت رحیمی^(۴)

و مجید رازقی منصور^{(۵)*}

Razeghi2036@yahoo.com

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، گروه شیلات، بابل، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم شهر، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، قائم شهر، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، بابل، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۱

کلمات کلیدی: تغذیه، سخت پوستان، جیره غذایی، فاکتورهای خونی

روش های صیادی و تقلیل میزان صید جانبی، تولید جهانی پودر ماهی از رشد خوبی برخوردار نمی باشد. از سوی دیگر افزایش تقاضا برای مصرف آن در جیره غذایی، خواه در پرورش حیوانات اهلی خشکی زی مانند طیور یا در پرورش ماهی باعث ایجاد محدودیت هایی در تأمین آن شده است (نبی زاده، ۱۳۸۶). در نتیجه به علت عدم دسترسی مداوم و نیز نوسانات قیمتی شدید آن (جانمحمدی و همکاران، ۱۳۸۸). و به منظور کاهش وابستگی به آرد ماهی و بویژه تعدیل هزینه های تولید یا به عبارتی اقتصادی نمودن تولید (صفری و همکاران، ۱۳۸۶)، پژوهش های فراوانی در حوزه آبرزی پروری توسط متخصصین تغذیه برای جایگزینی قسمتی از آرد ماهی یا کل آن با آرد

از میان ترکیبات موجود در جیره های غذایی، آرد ماهی به عنوان منبع اصلی پروتئین در جیره غذایی ماهیان گوشتخوار و سخت پوستان می باشد که از جمله ویژگی های بارز آن، می توان به کیفیت بالای تغذیه ای، قابلیت هضم پذیری بالا (Muzinic *et al.*, 2004)، محتوای بالای پروتئین مخصوصاً ترکیب آمینو اسید آن بویژه لیزین و متیونین، برخورداری از اسیدهای چرب امگا ۳، دارا بودن مواد معدنی و خوش خوراکی قابل قبول آن اشاره کرد (Alvarez *et al.*, 2007). اما در سالهای اخیر بدلیل مختلفی از قبیل عدم دسترسی مداوم، نوسانات قیمتی شدید (جانمحمدی و همکاران، ۱۳۸۸)، افزایش تقاضا، کاهش ذخایر ماهیان مورد نیاز به عنوان ماده اولیه برای تولید این ماده، بهبود

همکاران (۱۹۹۵) روی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) Lee و Lim (۲۰۰۹) روی طوطی ماهی (*Oplegnathus fasciatus*)، Ye و همکاران (۲۰۱۱) روی کفشک ماهی ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و تقی‌زاده و همکاران (۱۳۸۹) روی فیل ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) اشاره کرد. از آنجا که همولنف بعنوان یک مایع بیولوژیک مهم قابل دسترس در تعداد زیادی از گونه‌های آبزیان از جمله انواع گونه‌های میگو همانند خون نقش مهمی در تبادلات یونی و حمل و نقل مواد و انجام بسیاری از فعالیت‌های شیمیایی مورد نیاز بدن بر عهده دارد، لذا مطالعه و سنجش ترکیبات بیوشیمیایی آن می‌تواند حائز اهمیت باشد (خواجه، ۱۳۸۵). در نتیجه با توجه به توضیحات فوق و همچنین به علت عدم اطلاعات کافی در مورد اثر آرد سویا بر فاکتورهای بیوشیمیایی همولنف سخت‌پوستان، این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پروتئین گیاهی (آرد سویا) بر پارامترهای بیوشیمیایی، آنزیم‌های سرمی و پارامترهای یونی همولنف خرچنگ دراز آب شیرین انجام گرفت. این تحقیق از تاریخ ۸۹/۶/۱ الی ۸۹/۷/۲۹ در مرکز تحقیقات شیلاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل (رجه) انجام گرفت. بدین منظور ۱۰۵ عدد شاه میگوی آب شیرین با میانگین $\pm 8/96$ معیار) وزنی $21/81 \pm 2/98$ گرم، طول کل $45 \pm 0/45$ سانتیمتر و طول کاراپاس $4/59 \pm 0/23$ سانتیمتر در ۱۵ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۷ عدد در هر حوضچه به مدت ۶۰ روز به میزان ۴-۳ درصد وزن توده زنده که در طول دوره آزمایش متغیر بود مورد تغذیه قرار گرفتند. باید خاطر نشان کرد که حجم هر یک از حوضچه‌ها ۱۱۰ لیتر بود که با ۸۰ لیتر آب پر می‌گردید. در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب انجام گرفت که شامل دما (23 ± 1) درجه سانتیگراد، اکسیژن ($6-6/5$ میلی‌گرم در لیتر)، آمونیاک ($0/25-0/5$ میلی‌گرم در لیتر)، سختی ($360-350$ میلی‌گرم در لیتر)، نیتريت ($0/2$ میلی‌گرم در لیتر) و pH ($7/8-7/5$) بود. به منظور بررسی اثر جیره‌های آزمایشی روی فاکتورهای بیوشیمیایی همولنف خرچنگ‌ها، طرح آماری کاملاً تصادفی شامل سطوح متفاوت پروتئین آرد سویا (۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد) و یک گروه شاهد حاوی ۱۰۰ درصد آرد ماهی که در مجموع شامل ۵ تیمار و ۱۵ تکرار بودند، طراحی شد. همچنین برای یکسان بودن شرایط آزمایش در کل تیمارها، تمامی جیره‌ها بطور یکسان با سطح پروتئین ۴۰ درصد ساخته شدند (جداول ۱ و ۲).

پروتئین‌های گیاهی ارزانتر بدون اینکه اثرات منفی روی رشد و سلامت گونه‌های پرورشی داشته باشد صورت گرفته است که از انواع این پروتئین‌های گیاهی می‌توان به آرد سویا اشاره کرد. از جمله دلایل استفاده از آرد سویا در آبی پروری را می‌توان به دارا بودن مواد مغذی (قبادی و همکاران، ۱۳۸۸)، مقدار پروتئین بالا (تقریباً ۴۰ درصد)، پروفایل اسیدهای آمینه عالی، قیمت پایین و در دسترس بودن آن اشاره کرد (Hasanuzzaman et al., 2009). همچنین آرد سویا نسبت به آرد ماهی دارای پایداری بیشتری نسبت به فساد و اکسایش می‌باشد (قبادی و همکاران، ۱۳۸۸). استفاده از آرد سویا به جای آرد ماهی در جیره غذایی سخت‌پوستان زیادی گزارش شده است. از انواع سخت‌پوستان می‌توان به گونه خرچنگ دراز آب شیرین یا شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) اشاره کرد. این گونه از نوع سخت‌پوستان ده پا بوده (خدابنده و شکری، ۱۳۸۸) و از گونه‌های بومی و با اهمیت در سواحل جنوبی دریای خزر می‌باشد (زحمتکش و همکاران، ۱۳۸۳). قابلیت پرورش بالا در شرایط نامساعد زیست محیطی، رشد سریع نسبت به سایر گونه‌های هم جنس خود (زمانی کیاسج محله و همکاران، ۱۳۸۶)، ارزش غذایی قابل توجه، عادات غذایی ویژه و رژیم غذایی ارزان، بازار پسندي، تقاضای زیاد، ارزش تجاری و اقتصادی بالا و بویژه کاهش جمعیت آن در منابع آبی طبیعی بر اثر برداشت بی‌رویه از ذخایر، از جمله ویژگی‌های بارز و قابل توجهی است که باعث شده است امروزه در برخی کشورها اقدامات جدی جهت تکثیر و پرورش آن صورت گیرد (ولی پور، ۱۳۸۵). اما با توجه به جدید بودن پرورش این گونه تحقیقات چندانی در مورد تعیین جیره غذایی مناسب و اثر آن روی پارامترهای ایمنی و بیوشیمیایی همولنف انجام نگرفته است. لذا برای پرورش این گونه با ارزش باید جیره‌ای لحاظ شود که تمامی نیازهای موجود را با کمترین هزینه ممکن تأمین نماید. با وجود تحقیقات گسترده در مورد اثرات جایگزینی آرد سویا به جای آرد ماهی در جیره غذایی بر عملکرد رشد، تغذیه و بازماندگی گونه‌های مختلف سخت‌پوستان، اطلاعات بسیار محدودی در مورد اثرات انواع پروتئین‌های گیاهی بویژه آرد سویا روی فاکتورهای بیوشیمیایی همولنف سخت‌پوستان وجود دارد که می‌توان به تحقیق Hu و همکاران (۲۰۱۱) روی میگوی *Litopenaeus vannamei* اشاره نمود. از جمله تحقیقات صورت گرفته در مورد اثر جیره‌های حاوی آرد سویا روی پارامترهای خونی ماهیان می‌توان به تحقیقات Rumsey و همکاران (۱۹۹۴) و Kaushik و

جدول ۱: مشخصات درصد ترکیبات مواد اولیه خوراکی در جیره های آزمایشی خرچنگ دراز آب شیرین

(*Astacus leptodactylus*)

۱۰۰	۷۰	۵۰	۳۰	صفر (شاهد)	تیمار (سطح سویا درصد)	مواد اولیه
۱۱/۶	۱۳	۸	۸	۷		کازئین
۰/۵۹	۶/۰۲	۳	۵/۲۹	۱۱/۵۸		دکستروز
۰	۱۴/۵	۲۶/۵	۳۷	۵۲/۱۹		آرد ماهی
۷۳	۵۰	۴۰	۲۳/۰۵	---		آرد سویا
۱	۲/۵	۷/۵	۸	۱۰		آرد گندم
۰/۷۰	۲	۳	۷/۵	۹		آرد ذرت
۰/۳۰	۱	۱	۱	۱		سلولز
۵/۸۰	۴	۳/۹۹	۳/۱۵	۲/۱۴		روغن ماهی
۲	۲	۲	۲	۲		مخلوط ویتامین
۲	۲	۲	۲	۲		مخلوط مواد معدنی
۱	۱	۱	۱	۱		ویتامین E
۱	۱	۱	۱	۱		ویتامین C
۱	۱	۱	۱	۱		کولین کلراید
۱	۱	۱	۱	۱		پودر شاه میگو

جدول ۲: تجزیه تقریبی جیره های آزمایشی مورد استفاده خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*)

۱۰۰	۷۰	۵۰	۳۰	صفر (شاهد)	تیمار (سطح سویا درصد)	شاخص (درصد)
۴۲/۶۴	۴۵/۴۳	۴۷/۸۹	۴۴/۴۷	۴۴/۱۱		پروتئین
۹/۰۳	۷/۷۳	۶/۹۳	۶/۹۳	۹/۸۳		چربی
۱/۹۸	۲/۴۳	۲/۶۷	۲/۲۰	۲/۹۶		خاکستر
۹۳/۹۸	۸۵/۹۴	۹۵	۹۵	۹۳/۳		ماده خشک
۲/۰۶	۱/۶۸	۱/۸۶	۱/۶۹	۲/۶۰		فیبر

آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و لیپو پروتئین زنجیره سبک (LDL) به روش رنگ سنجی کینتیک صورت گرفت (Borges *et al.*, 2004). همچنین اوره به روش آنزیمی اوره آز-گلوتامات دهیدروژناز (Urease - GLDH)، کلسیم به روش ارتوکروزول فتالئین (Orthe - cresolphthalein)، فسفر به روش اولتراویوله فسفر مولیبدات (uv) (خواجه و همکاران، ۱۳۸۵). سدیم و پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر و آهن با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شدند.

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری شامل محاسبه میانگین و انحراف معیار با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 18) صورت پذیرفت و مقادیر $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج حاصل از تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت پروتئین گیاهی (آرد سویا) روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی همولنف خرچنگ دراز آب شیرین در جدول ۳ ارائه گردیده است. بیشترین میزان گلوکز در تیمار شاهد بدست آمد که از اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود ($P < 0.05$). اما با افزایش میزان آرد سویا در جیره میزان کلسترول، تری گلیسرید، کراتینین و پروتئین تام کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$).

در پایان دوره پرورش، نمونه‌گیری از همولنف شاه میگوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مختلف به جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی صورت گرفت. بدین منظور به جهت جلوگیری از استرس ۲۴ ساعت قبل از تهیه همولنف، تغذیه شاه میگوها قطع گردید و سپس ۵ عدد خرچنگ به ازای هر تکرار که از نظر ظاهر سالم و فاقد نشانه‌های بیماری بودند بطور تصادفی انتخاب و در ادامه برای جلوگیری از ورود آب به نمونه همولنف، شاه میگوها کاملاً خشک گردیده و از بین جفت ۴ و ۵ پاهای راه روی نمونه‌گیری انجام شد و سپس نمونه‌های همولنف به لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد برای جداسازی سرم منتقل گشته و در ادامه با استفاده از سانتریفوژ یخچال دار در ۵ درجه سانتیگراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتیگراد) تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی، سرم جداسازی و با استفاده از دستگاه Autoanalyser طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی انجام شد. گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Cholestrol oxidase)، تری گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، کراتینین به روش رنگ سنجی ژافه (Jaffe) و پروتئین تام به روش بیوره (Biuret) اندازه‌گیری گردید. سنجش آنزیم آلانین

جدول ۳: مقادیر برخی پارامترهای بیوشیمیایی (میانگین \pm انحراف معیار) همولنف خرچنگ دراز آب شیرین تغذیه شده با سطوح متفاوت پروتئین گیاهی (سویا)

تیمار (سطح سویا درصد)	صفر (شاهد)	۳۰	۵۰	۷۰	۱۰۰
شاخص					
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۳۱ \pm ۲/۲۱ ^a	۱۳ \pm ۲/۰۲ ^b	۱۴ \pm ۱/۸۹ ^b	۱۲ \pm ۳/۱ ^b	۱۱ \pm ۳/۲ ^b
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۱۳ \pm ۱۱/۶۸ ^a	۸۰ \pm ۹/۳۰ ^b	۶۱ \pm ۸/۸۱ ^{bc}	۶۶ \pm ۷/۲۵ ^b	۴۲ \pm ۸/۲۶ ^c
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۴۸ \pm ۸ ^a	۲۳ \pm ۵/۳۱ ^b	۲۶ \pm ۶/۲۳ ^b	۲۴ \pm ۴/۱۱ ^b	۱۹ \pm ۳/۲۱ ^b
کراتینین (میلی گرم در دسی لیتر)	۰/۵۰ \pm ۰/۰۳ ^a	۰/۲۰ \pm ۰/۰۱ ^c	۰/۲۰ \pm ۰/۰۰ ^c	۰/۴۰ \pm ۰/۰۸ ^b	۰/۲۰ \pm ۰/۰۱ ^c
پروتئین تام (گرم در دسی لیتر)	۲/۶۰ \pm ۰/۳۰ ^a	۱/۲۰ \pm ۰/۲۰ ^b	۰/۷۰ \pm ۰/۰۹ ^c	۰/۷۰ \pm ۰/۱۲ ^c	۰/۵۰ \pm ۰/۰۰ ^c

میانگین‌های در یک ردیف که دارای حروف مشابه یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند ($P > 0.05$). و آنهایی که فاقد حروف مشترک هستند دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

میزان اوره و کلسیم بدون هیچ گونه تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P>0/05$). همچنین با کاهش آرد سویا در جیره میزان سدیم نیز در تیمار حاوی ۳۰ درصد پروتئین آرد سویا کاهش یافت ($P>0/05$). کاهش معنی داری در میزان پتاسیم و فسفر با افزایش میزان آرد سویا در جیره در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید ($P<0/05$). همچنین میزان آهن هم در تیمار حاوی ۳۰ درصد پروتئین آرد سویا از کاهش معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود ($P<0/05$).

جدول ۴ تأثیر جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت پروتئین گیاهی (آرد سویا) را روی برخی آنزیم‌های سرمی همولنف در خرچنگ دراز آب شیرین نشان می‌دهد. براساس نتایج با افزایش میزان آرد سویا در جیره میزان AST، ALT، LDH و LDL کاهش یافت که از تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند ($P<0/05$). مقادیر برخی پارامترهای یونی همولنف خرچنگ دراز آب شیرین تغذیه شده با سطوح متفاوت پروتئین گیاهی در جدول ۵ ارائه شده است. براساس نتایج با افزایش سطح سویا در جیره

جدول ۴: میانگین مقادیر برخی آنزیم‌های سرمی (میانگین \pm انحراف معیار) همولنف خرچنگ دراز آب شیرین تغذیه شده با سطوح متفاوت پروتئین گیاهی (سویا)

تیمار (درصد سطح سویا)	صفر (شاهد)	۳۰	۵۰	۷۰	۱۰۰
ALT	۵ \pm ۰/۵۰ ^a	۵ \pm ۰/۲۶ ^a	۳ \pm ۰/۴۲ ^c	۴ \pm ۰/۱۹ ^b	۲ \pm ۰/۳۱ ^d
AST	۵ \pm ۰/۸۵ ^a	۵ \pm ۰/۸۱ ^a	۵ \pm ۰/۴۱ ^a	۲ \pm ۰/۲۳ ^c	۲/۴۰ \pm ۰/۱۲ ^b
LDH	۲۱ \pm ۲/۱ ^a	۲۵ \pm ۲/۸۳ ^a	۵ \pm ۰/۸۱ ^b	۵ \pm ۱/۰۵ ^b	۷ \pm ۱/۰۲ ^b
LDL	۶۴ \pm ۲/۱۹ ^a	۵۶ \pm ۳/۰۶ ^b	۵۳ \pm ۲/۷۵ ^b	۵۰ \pm ۱/۸۹ ^b	۳۵ \pm ۴/۲ ^c

میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آنها مشابه یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند ($P>0/05$). و آنهایی که فاقد حروف مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P<0/05$).

جدول ۵: مقادیر برخی پارامترهای یونی (میانگین \pm انحراف معیار) همولنف خرچنگ دراز آب شیرین تغذیه شده با سطوح متفاوت پروتئین گیاهی (سویا)

تیمار (درصد سطح سویا)	صفر (شاهد)	۳۰	۵۰	۷۰	۱۰۰
Bun	۵ \pm ۰/۲۰ ^a	۴ \pm ۰/۴۱ ^a	۳ \pm ۰/۳۷ ^a	۴ \pm ۰/۲۸ ^a	۳ \pm ۰/۳۴ ^a
Ca	۲۶ \pm ۱/۵۴ ^a	۲۴ \pm ۱/۸۲ ^a	۲۴ \pm ۰/۹۱ ^a	۲۱ \pm ۰/۲۳ ^a	۲۰ \pm ۱/۰۲ ^a
Na	۱۸۴ \pm ۲۱ ^a	۱۵۶ \pm ۱۵ ^a	۱۶۶ \pm ۱۸ ^a	۱۶۶ \pm ۲۵ ^a	۱۶۴ \pm ۱۳ ^a
K	۵/۱۰ \pm ۰/۸۲ ^a	۴/۵۳ \pm ۰/۷۵ ^{ab}	۴/۲۰ \pm ۰/۶۸ ^{ab}	۳/۹۰ \pm ۰/۵۹ ^b	۴/۰۰ \pm ۰/۳۴ ^b
Fe	۹۳ \pm ۱۲ ^a	۳۹ \pm ۱۰ ^b	۵۲ \pm ۶ ^{ab}	۴۱ \pm ۳ ^b	۵۹ \pm ۱۴ ^b
P	۲ \pm ۰/۵۱ ^a	۱/۵۰ \pm ۰/۴۸ ^b	۱/۱۰ \pm ۰/۳۹ ^c	۱/۱۰ \pm ۰/۴۵ ^c	۱/۰۰ \pm ۰/۳۷ ^c

میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آنها مشابه یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی دارند ($P>0/05$) و آنهایی که فاقد حروف مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P<0/05$).

شاخص‌های همولنف میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که میزان پروتئین پلاسما در میگوهایی که از جیره حاوی نوکلئوتید استفاده کردند، نسبت به گروه شاهد ۳۱/۴ درصد افزایش داشت. براساس نتایج تحقیق جاری با افزایش سطح سویا در جیره میزان اوره و کلسیم بدون هیچ گونه تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ($P > 0/05$). به طور کلی کلسیم یک عنصر ضروری برای سخت‌پوستان و جانوران دارای اسکلت کلسیمی است. این عنصر نقش قابل توجهی در اعمال حیاتی سخت‌پوستان بویژه در پوست‌اندازی، تنظیم اسمزی و یونی، سیستم ایمنی و لخته شدن خون و رشد ایفا می‌نماید (زحمتکش و همکاران، ۱۳۸۶). مقادیر کلسیم همولنف نیز احتمالاً همانند برخی دیگر از پارامترهای همولنف تحت تأثیر عوامل و شرایط مختلف از جمله نقل و انتقالات کلسیم اسکلتی به همولنف و مراحل رشد و پوست اندازی دستخوش تغییر و نوسان می‌گردد (خواجه و همکاران، ۱۳۹۰). عدم تعادل بین غلظت پتاسیم و سدیم در همولنف میگوها می‌تواند سبب افزایش مرگ و میر در میگوها شود. چون در داخل سلولها غلظت پتاسیم رابطه مستقیمی با غلظت سدیم دارد (باقری و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج مطالعه حاضر کاهش معنی‌داری را در میزان پتاسیم و فسفر با افزایش میزان آرد سویا در جیره در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0/05$). Pratoomchate و همکاران (۲۰۰۲) تغییر مقادیر فسفر را با مراحل پوست‌اندازی مرتبط دانستند. مضافاً به اینکه نباید شرایط محیطی و تغذیه‌ای و همچنین اختلافات گونه‌ای را در اختلاف مقادیر فسفر در گونه‌های مختلف از نظر دور داشت. براساس نتایج مطالعه حاضر، جایگزینی آرد سویا به جای آرد ماهی در جیره غذایی خرچنگ دراز آب شیرین، منجر به تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، LDH و LDL گردید به این صورت که با افزایش سطح سویا در جیره میزان این آنزیمها نیز کاهش یافت ($P < 0/05$). اما Ye و همکاران (۲۰۱۱) تفاوت معنی‌داری را از نظر میزان فعالیت ALT و AST در ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت آرد سویا در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نکردند. بطور کلی آنزیم‌های سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار می‌گیرند. برای مثال نوع جیره غذایی، دمای آب، سن ماهی و شوری آب در میزان

چندین عامل متفاوت از قبیل نیازمندی متفاوت هر گونه به اسیدهای آمینه، قابلیت هضم، ترکیبات جیره‌های غذایی و وارسته‌های مختلف پروتئین‌های گیاهی می‌توانند در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی با آرد ماهی تأثیرگذار باشند (تقی زاده و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش سطح سویا در جیره میزان گلوکز کاهش یافت به طوری که تیمار ۱۰۰ درصد آرد سویا در مقایسه با تیمار شاهد از تفاوت معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0/05$). که با نتایج تقی زاده و همکاران (۱۳۸۹) مطابقت داشت. Yang و Kuo (۱۹۹۹) نیز استرس ناشی از تغذیه و استرس دست کاری و حمل و نقل را بر تغییرات میزان گلوکز مؤثر می‌دانند. همچنین Shimizu و همکاران (۲۰۰۱) بر این اعتقادند که میزان گلوکز همولنف تحت تأثیر گونه، جیره، فصل و مراحل پوست اندازی متفاوت می‌باشد. Racotta و Palacios (۱۹۹۸) مراحل رشد، پوست اندازی و استرس را از عوامل مؤثر بر میزان کلسترول دانستند. همچنین با توجه به عدم سنتز کلسترول در بدن میگو، میزان کلسترول همولنف به مقدار آن در جیره غذایی بستگی دارد و کمبود آن در جیره غذایی موجب کاهش میزان آن در همولنف خواهد شد (Sanchez et al., 2001). به طور کلی یکی از مزایای استفاده از آرد سویا در جیره غذایی کاهش میزان کلسترول و تری گلیسرید می‌باشد که در تحقیق حاضر هم با افزایش میزان سویا در جیره، میزان کلسترول و تری گلیسرید از کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود ($P < 0/05$). در همین راستا Hu و همکاران (۲۰۱۱) اثر نسبت‌های مختلف روغن ماهی منهدان، روغن سویا و روغن لیستین سویا را بر فاکتورهای بیوشیمیایی همولنف میگوی *Litopenaeus vannamei* مورد ارزیابی قرار دادند و افزایش معنی‌داری را در میزان کلسترول و تری گلیسرید در میگوهای تغذیه شده با ۳ در صد روغن لیستین سویا نسبت به سایر تیمارها مشاهده نمودند. Chen و Cheng (۱۹۹۸) افزایش وزن و اندازه میگو را بر میزان پروتئین همولنف مؤثر دانسته و اشاره داشتند که میزان پروتئین همولنف با افزایش اندازه سخت‌پوست افزایش می‌یابد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح سویا در جیره میزان پروتئین تام نیز کاهش یافت ($P < 0/05$). که با نتایج Ye و همکاران (۲۰۱۱) مشابهت داشت. اوجی فرد و همکاران (۱۳۸۷) تأثیر نوکلئوتید جیره را بر

تقی زاده، و؛ ایمانپور، م.ر؛ اسعدی، ر؛ چمن آرا، و. و شربتئی، س.، ۱۳۸۹. تأثیر جایگزینی پروتئین گیاهی به جای آرد ماهی روی شاخص های رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل ماهی جوان. مجله علمی شیلات ایران، سال نوزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۴۲-۳۳.

جانمحمدی، ح؛ تقی زاده، ا. و مالکی مقدم، م. ر.، ۱۳۸۸. تأثیر جایگزینی آرد ماهی با پودر ضایعات کشتارگاهی طیور بر رشد و صفات لاشه در تغذیه ماهی قزل آلی رنگین کمان. مجله پژوهشهای علوم دامی، جلد ۱، سال ۱۹، شماره ۲، صفحات ۱۳۶-۱۲۵.

خدابنده، ص. و شکری، ن.، ۱۳۸۸. مطالعه فرا ساختار و عمل غدد سبز در خرچنگ دراز آب شیرین (*Astacus leptodactylus*). مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۲، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، صفحات ۱۳۶-۱۲۴.

خواجه، غ.، ۱۳۸۵. الگوی الکتروفورتیکی پروتئینهای همولنف میگوی پرورشی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله دامپزشکی ایران، سال دهم، شماره ۱۲، بهار ۱۳۸۵، صفحات ۴۸-۴۰.

خواجه، غ؛ اکبری، س. و سلیمی فرد، ه؛ ۱۳۸۵. بررسی میزان برخی پارامترهای بیوشیمیایی همولنف میگوی پرورشی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵، صفحات ۱۲۷-۱۲۰.

خواجه، غ؛ سلیمی فرد، ه. و سبزواری زاده، م؛ ۱۳۹۰. مطالعه برخی پارامترهای بیوشیمیایی همولنف میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*). پرورشی در منطقه حله استان بوشهر. مجله دامپزشکی ایران، دوره هفتم شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۲۵-۱۹.

زحمتکش، ع؛ پوررضا، ج؛ عابدیان کناری، ع؛ شریعتمداری، ف؛ ولی پور، ع. و کریم زاده، ک؛ ۱۳۸۳. تعیین نیاز فسفر در جیره غذایی شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*). مجله علوم و فنون دریایی ایران، پاییز و زمستان ۱۳۸۳، سال سوم، دوره چهارم، صفحات ۳۶-۲۵.

آنزیمهای سرمی و فعالیت آنها مؤثر است (غیائی و همکاران، ۱۳۸۹). براساس یافته‌های موجود در این بررسی و یافته‌های دیگر پژوهشگران مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند شرایط محیطی، شرایط تغذیه‌ای، مراحل پوست‌ندازی، روشهای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی (خواجه و همکاران، ۱۳۹۰)، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روشهای اندازه‌گیری و ... (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۰). می‌توانند بر فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی همولنف سخت‌پوستان تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند. در مجموع با توجه به میزان آنزیم ALT و AST که به عنوان شاخص‌های سلول‌های کبدی در هیاتوپانکراس مطرح هستند و از سوی با توجه به قیمت پایین آرد سویا نسبت به آرد ماهی و نظر به اینکه در اکثر پارامترهای سرمی اختلاف معنی‌داری بین سطح ۳۰ درصد پروتئین آرد سویا با تیمار شاهد مشاهده نگردیده است در نتیجه جیره حاوی ۳۰ درصد پروتئین آرد سویا می‌تواند اثرات مثبتی را روی اکثر پارامترهای بیوشیمیایی و یونی همولنف خرچنگ دراز آب شیرین ایفا نماید.

منابع

اکرمی، ر؛ قلیچی، ا. و احمدی فر، ا.، ۱۳۹۰. تأثیر پربیوتیک اینولین جیره غذایی بر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶، شماره ۲، صفحات ۱۳۶-۱۳۱.

اوجی فرد، ا؛ عابدیان کناری، ع؛ نفیسی بهابادی، م؛ قاعدنیا، ب. و محمودی، ن.ا.، ۱۳۸۷. تأثیر نوکلئوتید جیره بر رشد، بقا و برخی شاخص‌های همولنف میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). مجله علوم و فنون دریایی ایران، بهار و تابستان ۱۳۸۷، سال هفتم، دوره یکم و دوم، صفحات ۳۱-۲۱.

باقری، د؛ رفیعی، غ؛ مجازی امیری، ب؛ میرواقفی، ع. و دهقانی، ع.، ۱۳۸۹. تأثیرات شوری محیط بر میزان اسمولاریته و سطوح یونی همولنف میگوی سفید غربی *Litopenaeus vannamei*. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۱۶۱-۱۷۲.

- Borges A., Scotti LV., Siqueira DR., Jurinitz D.F. and Wassermann GF., 2004.** Hematologic and serum biochemical values for jundia' (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemical*, 30:21-25.
- Cheng S.Y. and Chen J.C., 1998.** Effects of nitrite exposure on the hemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and water content of *Penaeus japonicus*. *Aquatic Toxicology*, 44:129-139.
- Hasanuzzaman AF., Siddiqui N. and Chisty AH., 2009.** Optimum replacement of fishmeal with soybean meal in diet for *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879) cultured in low saline water. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9:17-22.
- Hu Y., Tan B., Mai K., Ai Q., Zhang L. and Zheng S., 2011.** Effects of dietary menhaden oil, soybean oil and soybean lecithin oil at different ratios on growth, body composition and blood chemistry of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 19(3):459-473.
- Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., Sumpter J., Fauconneau B. and Laroche M., 1995.** Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133(3-4):257-274.
- Kuo C.M. and Yang Y.H., 1999.** Hyperglycemic responses to cold shock in the freshwater giant prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 169:49-54.
- زمانی کیاسنج محله، ح.؛ هادوی، م. و خوش خلق، م.، ۱۳۸۶. اثرات سطوح مختلف زئولیت موجود در جیره غذایی روی شاخص‌های رشد شاه میگوی جوان آب شیرین (*Astacus leptodactylus*). *مجله علمی شیلات ایران*، شماره ۳، صفحات ۸۷-۸۲.
- صفری، ا.؛ بلداجی، ف.؛ حاجی مرادلو، ع.؛ یغمایی، ف. و علامه، س.ک.، ۱۳۸۶. تأثیر جایگزینی کنجاله کانولا بجای آرد ماهی بر رشد، جذب عناصر مغذی و هورمون‌های تیروئیدی در جیره قزل‌آلای رنگین کمان پروراری (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، جلد چهاردهم، شماره پنجم، آذر و دی ۱۳۸۶، صفحات ۱۳۹-۱۲۹.
- غیائی، ف.؛ میرزرگر، س.س.؛ سالار آملی، ج.؛ باهنر، ع. و ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، ۱۳۸۹. مطالعه پارامترهای خونی و بیوشیمی‌سرمی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) متعاقب مواجهه با غلظت کم کادمیوم. *مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران*، دوره ۶۵، شماره ۱، صفحات ۶۶-۶۱.
- قبادی، ش.؛ متین فر، ع.؛ نظامی، ش.ع. و سلطانی، م.، ۱۳۸۸. عملکرد مکمل آنزیمی آویزایم بر جایگزینی آرد ماهی با آرد سویا و تأثیر آن رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله شیلات*، سال سوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۸، صفحات ۲۲-۱۱.
- نبی‌زاده، پ.، ۱۳۸۶. مطالعه تأثیر سطوح مختلف کنجاله پنبه دانه بجای پودر ماهی در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. *مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی*، شماره ۳، سال اول، پاییز ۱۳۸۶، صفحات ۶۶-۵۹.
- Alvarez, J.S., Llamas A.H., Galindo J., Fraga I., Garcia T. and Villarreal H., 2007.** Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus schmitti* (Pe' rez-Farfante & Kensley 1997). *Aquaculture Research*, 38:689-695.

- Lim S.J. and Lee K.J., 2009.** Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 290 (3-4):283-289.
- Muzinic LA., Thompson K.R., Morris A., Webster C.D., Rouse D.B. and Manomaitis L., 2004.** Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewer's grains with yeast in practical diets for Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture*, 230:359-376.
- Pratoomchate B., Sawangwong P., Pakkong P. and Machado J., 2002.** Organic compound variations in haemolymph, epidermal tissue and cuticle over the molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131:243-255.
- Racotta I.S. and Palacios E., 1998.** Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture*, 29:351-359.
- Rumsey G.L., Siwicki A.K., Anderson D.P. and Bowser P.R., 1994.** Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41(3-4):323-339.
- Sanchez A., Pascual C., Sanchez A., Vargas-Albores F., Moullac G.L. and Rosas C., 2001.** Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: The effect of acclimation. *Aquaculture*, 198:13-28.
- Shimizu C., Kurt S., Klimpel R. and Burnc J.C., 2001.** In vitro hemolymph analysis an evaluation of newly formulated media for culture of shrimp cells (*Penaeus stylirostris*) *Cellular DevelopmentBiology of Animal* 37:322-329.
- Ye J., Liu X., Wang Z. and Wang K., 2011.** Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture International*, 19:143-153.

The effects of different levels of soybean meal replaced by fish meal on biochemical parameters hemolymph of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*)

Hosseinifard S.M.¹ ; Shaker Khoshroudi M.² ; Beikae S.H.³ ; Ezzatrahimi N.⁴ and Razeghi Mansour M.^{5*}

Razeghi2036@yahoo.com

1- Department of Fisheries, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran

2,5-Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Young Researchers Club, Qaemshahr, Iran

3,4-Islamic Azad University, Babol Branch, Young Researchers Club, Babol, Iran

Received: November 2012

Accepted: March 2013

Keywords: Feeding, Crustacean, Diet, Crustacean, Hematology factors

Abstract

The present study examined the effects of different levels of plant protein (soybean meal) on biochemical parameters hemolymph of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*). For this purpose, the effects of different levels of soybean meal protein including 0%, 30%, 50%, 70%, and 100% diet on some biochemical parameters and ion hemolymph of freshwater crayfish were evaluated after 60 days of trial. Sampling of 75 samples crayfish with apparently healthy hemolymph was carried out at the end of the testing period. Based on the results, with increasing soybean meal in the diet, the amount of glucose, cholesterol, triglyceride, creatinin and total protein had a significant decrease compared to the control group. A significant difference was observed in the amount of serum enzymes activities between control group and the other treatments. The amount of Bun, calcium, and sodium were not significantly different between treatments. Also, the amount of K, Fe and P in the diets containing soybean meal had a significant decrease compared with the control group.

*Corresponding author