

تعیین نیاز غذایی شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) به فسفولیپید

در سیستم پرورش مدار بسته

رضا جلیلی^۱، ناصر آق^۲، احمد ایمانی^۱، فرزانه نوری^۲

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

۲- پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ایران. n.agh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: فسفولیپیدها به عنوان نیاز غذایی در جیره غذایی آبزیان از جمله سخت پوستان مطرح می باشد، اما تاکنون در خصوص نیاز غذایی شاه میگوی آب شیرین به فسفولیپید گزارشی ارائه نشده است. بر همین اساس این مطالعه با هدف ارزیابی نیاز غذایی شاه میگوهای جوان به فسفولیپید به مدت ۱۲ هفته انجام پذیرفت.

روش کار: شاه میگوهای جوان (میانگین وزنی $13/80 \pm$ گرم) در سیستم پرورش متراکم مدار بسته و در ۱۸ مخزن پرورشی با ۱۰٪ تعویض آب روزانه، هوادهی و پناهگاه ذخیره سازی شدند. هم چنین تصفیه آب توسط فیلترهای مکانیکی و زیستی انجام پذیرفت. شش جیره خالص حاوی ۳۰٪ پروتئین و ۱۰٪ چربی به همراه شش سطح مکمل تجاری لسیتین (شامل صفر، ۰/۵، ۰/۸۸، ۱/۱۶ و ۱/۳۳ درصد فسفولیپید) تنظیم شد. کازئین و ژلاتین به عنوان منابع اصلی پروتئین در جیره آزمایشی استفاده گردید.

یافته ها: نتایج آزمایش نشان داد که میانگین شاخص های رشد و فعالیت آنزیم آمیلاز در کلیه تیمارهای آزمایشی نسبت به جیره شاهد به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0/05$) ولی فعالیت آنزیم لیپاز فقط در شاه میگوهای تغذیه شده با ۰/۵ درصد فسفولیپید با تیمار شاهد اختلاف معنی دار داشت. استفاده از سطوح مختلف فسفولیپید باعث افزایش بازماندگی در کلیه تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد گردید ولی اختلاف معنی داری ایجاد ننمود ($P > 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن ۰/۵ درصد فسفولیپید به جیره غذایی شاه میگوهای پرورشی در سیستم متراکم متکی به جیره غذایی دستی سبب بهبود شاخص های رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی می گردد.

واژه های کلیدی: تعیین نیاز، فسفولیپید، شاه میگوی آب شیرین، *Astacus leptodactylus*.

مقدمه

می نمایند. تغذیه به کمک غذاهای پلت یا مواد جانبی حاصل از صید صورت می گیرد. البته مدیریت و پایش سلامتی، کیفیت آب و تغذیه ضروری است. شاخص های کیفیت آب نظیر اکسیژن محلول، درجه حرارت، pH، مواد معدنی و غیره بایستی در حد مطلوب حفظ شوند. عوامل مهم توسعه موفقیت آمیز این سیستم ها شامل:

(۱) تغذیه کارآمد، (۲) مواد اولیه مقرون به صرفه جهت ساخت سیستم، (۳) طراحی مطلوب سیستم جهت حفظ کیفیت مناسب آب و (۴) حداقل اثر ممانعتی تراکم

پرورش متراکم و انفرادی شاه میگوها از نظر تکنیکی امکان پذیر است. این سیستم شامل یک یا چند مخزن پرورش است که ممکن است به صورت عمودی روی هم قرار گرفته و به یک مخزن اصلی جمع آوری آب متصل باشند. گاهی مواقع یک صافی زیستی نیز جهت حفظ کیفیت آب پرورشی در سامانه تعبیه می شود. موجود در واحدهای مجزا پرورش داده می شود تا میزان تعاملات اجتماعی و هممنوع خواری به حداقل برسد، هر چند در برخی مواقع در سیستم ها اقدام به پرورش گروهی

پرورش می‌باشند. تغذیه ناکارآمد و هزینه بالای عملیات از موانع مهم عدم توسعه این سیستم‌ها به شمار می‌روند. با این حال این سیستم‌ها برای شاه میگوهای جنس *Homarus* موفق عمل کرده‌اند (۱۷). کمبود اطلاعات در زمینه احتیاجات غذایی شاه میگوی آب شیرین منجر به محدودیت توسعه پرورش نیمه متراکم و متراکم آن گردیده است. پیشرفت‌های اخیر در پرورش سایر گونه‌های سخت‌پوستان به ویژه میگوهای پنایده، لابسترا و میگوهای آب شیرین با درک زیست‌شناسی، تغذیه و احتیاجات غذایی آن‌ها مرتبط می‌باشد. تلاش‌ها جهت پرورش متراکم شاه میگوی آب شیرین در استخرهای خاکی و مخازن پرورشی با منابع غذایی طبیعی محدود، سبب افزایش تقاضا برای جیره‌های مصنوعی مناسب جهت تأمین نیازهای غذایی این موجود شده است (۳۲). بنابراین تعیین نیازهای غذایی شاه میگوی آب شیرین در راستای پرورش آن در محیط‌های مصنوعی ضرورت یافته است. چربی‌ها و اسیدهای چرب ضروری از مهم‌ترین مواد غذایی هستند که ضمن تأثیر مستقیم بر رشد، تأمین انرژی، تشکیل غشای سلولی و عملکرد سیستم ایمنی موجود زنده، در جذب سایر مواد مغذی نظیر ویتامین‌های محلول در چربی و رنگدانه‌ها و هم چنین دیگر فرآورده‌های متابولیکی نقش دارند (۱۱). به علاوه این مواد منبع استرول‌ها و فسفولیپیدهای ضروری هستند. استرول‌ها علاوه بر دارا بودن وظایف متعدد زیستی، به عنوان آغازگر ساخت برخی ویتامین‌ها و هورمون‌ها نیز محسوب می‌شوند (۵). شاه میگوها همانند سایر بندپایان قادر به ساخت استرول‌ها در بدن خود نیستند (۲۸، ۲۷). نیاز غذایی به فسفولیپیدها به ویژه فسفاتیدیل کولین (PC) به شکل لسیتین سویا، برای لاروها و مراحل جوانی میگوهای دریایی ثابت شده است (۷). فسفولیپیدهای سویا ترکیبی از فسفاتیدیل کولین (PC)، فسفاتیدیل اتانول آمین (PE)، فسفاتیدیل اینوزیتول (PI) و

اسید فسفاتیدیک (PA) به نسبت‌های مختلف می‌باشند. متخصصین تغذیه معتقدند که فسفاتیدیل کولین ماده فعال اصلی بوده و دارای اثر تحریک‌کنندگی رشد می‌باشد. برخی از گونه‌ها نیازمند حضور فسفولیپیدها در جیره هستند (۱). نیاز به PC احتمالاً به دلیل سرعت پایین ساخت آن‌ها باشد، چرا که در زمان رشد سریع، جوابگوی نیاز غذایی حیوان نخواهد بود (۷). فسفاتیدیل کولین مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده لیوپروتئین‌های حامل چربی‌ها به ویژه کلسترول می‌باشد. چنین انتظار می‌رود که برخی گونه‌ها نظیر میگوی بزرگ آب شیرین نیاز خود را از طریق سایر اقلام غذایی مرتفع کرده و نیازی به مکمل فسفولیپیدی ندارد (۷). با این حال میگوی کروما (*Marsupenaeus japonicus*) جهت رشد بهینه خود نیازمند فسفولیپیدها است. میزان بهینه آن برای میگوی کروما ۱ درصد جیره تعیین شده است (۲۱). لابستر آمریکایی (*Homarus americanus*) نیازمند ۷/۵ درصد (وزن خشک جیره) لسیتین سویا در جیره تهیه شده بر مبنای کازئین می‌باشد. کمبود آن باعث کاهش شدید بقاء و اختلال در فرآیند پوست‌اندازی می‌شود. در این حالت بخشی از پوسته قدیمی به پوسته جدید متصل بوده و حیوان قادر به خروج از پوسته قدیمی نمی‌باشد (۲۹، ۶). فسفولیپیدها در گوارش و جذب یا انتقال چربی‌ها به ویژه کلسترول از هپاتوپانکراس به همولنف نقش دارند. این که سخت‌پوستان قادر به ساخت فسفولیپیدهایی نظیر فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانول آمین هستند، نشان می‌دهد که (۱) میزان ساخت آن‌ها کفاف نیازمندی متابولیکی این جانوران را نمی‌دهد یا (۲) برخی فسفولیپیدهای خاص که برای ساخت لیوپروتئین‌های حامل کلسترول و سایر چربی ضروری هستند به میزان کافی ساخته نمی‌شوند (۲۹، ۲۶). بنابراین، افزودن فسفولیپیدها (لسیتین) به عنوان یک مکمل ضروری در جیره غذایی سخت‌پوستان جهت افزایش رشد و بقا در

مواد و روش ها

پرورش شاه میگو

این مطالعه روی شاه میگوهای جوان با میانگین وزنی 20 ± 2 گرم با تراکم ۴ عدد در هر تانک ($30 \times 20 \times 18$ به ترتیب طول، عرض و ارتفاع)، به عبارتی ۶۶ عدد در مترمربع و با نسبت جنسی ۱:۱ به مدت ۱۲ هفته انجام پذیرفت. هر یک از مخازن پرورشی دارای ورودی و خروجی مجزا بوده و میانگین درجه حرارت ($^{\circ}\text{C}$)، اکسیژن (ppm)، pH، نیتريت (ppm)، نیترات (ppm)، کلسیم (ppm) و سختی کل ($\text{mg CaCO}_3/\text{l}$) طی دوره پرورش به ترتیب $1/2 \pm 16/5$ ، $0/2 \pm 0/8$ ، $3/1 \pm 7/8$ ، $0/008 \pm 0/12$ ، $4/76 \pm 2/0$ ، $61/2 \pm 0/03$ بود. سیستم پرورشی به صورت مدار بسته بود و روزانه حدود ۱۰٪ آب تعویض می گردید. همین طور میزان جریان ورودی تانکها $2 \pm 0/2$ لیتر در دقیقه، دوره نوری شامل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ روشنایی و جهت تنظیم pH و قلیائیت آب نیز از صدف های دریایی استفاده گردید، علاوه بر این، از سیستم هوادهی مرکزی و بخاری آکوارיום برای تنظیم اکسیژن محلول و دما استفاده شد. شاه میگوها پس از سازگاری با شرایط پرورش، با شش جیره غذایی خالص شامل جیره پایه و ۵ جیره حاوی سطوح مختلف مکمل لسیتین (Sigma. P3644) در سه تکرار و به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. غذادهیه میزان ۴٪ وزن بدن و ۲ بار در روز (ساعت ۸ و ۲۲) صورت گرفت. تمام مخازن هر روز صبح از نظر حذف غذاهای باقی مانده، تعداد پوست اندازی، مرگ و میر، شستشو و آبگیری مورد رسیدگی قرار گرفتند. به منظور آگاهی از وضعیت رشد شاه میگو و هم چنین محاسبه صحیح مقدار غذایروانه، هر دو هفته یک بار تمام شاه میگوها از مخازن پرورش خارج و با ترازوی حساس (دقت $0/001 \text{ g}$) توزین شدند.

تهیه جیره های آزمایشی

برخی از گونه ها مانند لابستر آمریکایی (۸)، خرچنگ مردابی قرمز (*Procambarus clarkia*) (۲۳)، میگوی موزی (*Penaeus merguensis*) (۳۰) و میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (۱۲، ۱۳) گزارش شده است. همین طور این نتایج مغایر با برخی گزارش ها در خصوص ناکارآمدی مکمل های فسفولیپیدی در بهبود شاخص های رشدی و بقا در میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) (۴، ۱۸) می باشد. به طور کلی، سطوح مکمل لسیتین سویای جیره جهت تامین نیاز فسفولیپید و میزان رشد و بقا بهینه در جیره خالص برای سخت پوستان آب شیرین بسته به گونه و شیوه پرورش آن بسیار متغیر، ۸-۰/۵ درصد، می باشد (۱۵). متأسفانه هنوز اطلاعات کافی در زمینه میزان نیازمندی واقعی شاه میگوی آب شیرین (*Astacu sleptodactylus*)، که برخی مواقع به آن خرچنگ دراز آب شیرینی نیز اطلاق می شود، به استرول ها و فسفولیپیدها وجود ندارد. پرورش متراکم شاه میگوی آب شیرین یکی از مباحث مهم در زمینه تنوع بخشی و هم چنین توسعه پایدار صنعت پرورش آبزیان است، چرا که جیره های غذایی ۳۰-۷۰٪ هزینه های جاری آبرزی پروری را شامل می شود. بدیهی است که در شرایط پرورش متراکم، نقش جیره غذایی حیاتی بوده و موجودات جهت دریافت نیازهای غذایی خود به غذای دستی متکی خواهد بود. مطالعات کمی در خصوص تعیین نیازهای غذایی و تنظیم جیره خرچنگ دراز آب شیرین صورت گرفته است. لسیتین یکی از مکمل های غذایی گران قیمتی است، که تعیین سطوح مورد نیاز شاه میگوها جهت کاهش قیمت تمام شده جیره غذایی ضروری است. در همین راستا، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر سطوح مختلف لسیتین سویا بر رشد، بقا و فعالیت آنزیم های گوارشی شاه میگوی آب شیرین تغذیه شده با جیره های خالص انجام گرفت.

دستگاه کروماتوگرافی گاز- مایع (GLC) انجام شد (جدول ۲) (۵).

تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی تهیه عصاره آنزیمی

برای تهیه عصاره آنزیمی یک گرم بافت از هپاتوپانکراس در ۹ میلی لیتر بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار، X-100Triton ۰/۱ درصد در pH ۷/۸ توسط هموژنایزر (مدل D 500) همگن گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C در ۳۰۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل Z36HK) گردیدند. سوپرناتانت حاصل در ویال‌های یک میلی لیتری تقسیم و تا زمان سنجش در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۴). میزان پروتئین محلول نمونه های هموژن شده هپاتوپانکراس شاه میگوها به روش Bradford (1976) سنجیده شد.

تعیین فعالیت آنزیم پروتئاز کل

جهت تعیین فعالیت آنزیم پروتئاز کل ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره خام آنزیمی با ۰/۵ میلی لیتر محلول Azocasein دو درصد در Tris-HCl ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۵) مخلوط و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه، ۰/۵ میلی لیتر TCA (Trichloroacetic Acid) به آن اضافه گردید. نمونه ها سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۵۰۰ g سانتریفیوژ شدند. فعالیت ویژه آلکالین پروتئاز به ازای مدت انکوباسیون (۱۰ دقیقه) و میزان پروتئین عصاره آنزیمی (میلی گرم) محاسبه گشت (۱۰).

تعیین فعالیت آنزیم لیپاز

هر سنجش لیپازی شامل ۷ میکرولیتر عصاره خام آنزیمی به همراه ۸۶ میکرولیتر محلول Sodium cholate و ۲/۵ میکرولیتر محلول متوکسی اتانول بود. پس از افزودن ۵/۵ میکرولیتر پارا نیترو فیل مریستات به مجموعه فوق و انکوباسیون نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

در این مطالعه از یک جیره پایه خالص حاوی ۳۳٪ پروتئین و ۱۰٪ چربی استفاده شد. با توجه به نوع آزمایش، برای ساخت جیره های مورد نظر از مواد خالص استفاده گردید. کازئین و ژلاتین به عنوان منابع اصلی پروتئین و روغن سویا و ماهی کیلکا به منظور تأمین چربی مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱). شش سطح فسفولیپید (شامل صفر، ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸) به کمک مکمل لستین در جیره پایه ایجاد، تا جیره های آزمایشی مورد نظر به دست آید (جدول ۱). پس از آنالیز شیمیایی اجزای سازنده جیره، جیره های آزمایشی طبق احتیاجات غذایی ماهی شاه میگو آب شیرین به کمک نرم افزار WUFFDA تنظیم شدند. اجزای جیره پس از آسیاب شدن، با یک دیگر مخلوط و سپس به وسیله چرخ گوشت به صورت پلت هایی با قطر ۳ میلی متر در آمدند. پلت ها در دمای آون ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردیده و تا زمان مصرف در یخچال (۴°C) نگهداری شدند.

تجزیه تقریبی جیره های آزمایشی

جیره ها و اجزای آن تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۱۰۵°C خشک گردیدند. سپس درصد رطوبت و ماده خشک محاسبه شد (۱). محتوی پروتئین خام نمونه ها (N×۶/۲۵) به روش کجلدال (Behrotest WD40, Germany) انجام شد. استخراج چربی کل با استفاده حلال دی اتیل اتر صورت پذیرفت. سرانجام میزان کربوهیدرات از تفاضل صد از مجموع میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر محاسبه گردید (۱). ترکیب اسیدهای چرب جیره با استریفیکاسیون در ترکیب محلول استیل کلراید و متانول با استفاده از دستگاه Agilent7890A GC System, USA با مقایسه زمان های تثبیت استاندارد متیل استرهای اسید چرب تعیین شد (۲۰). آنالیز فسفولیپید و کلاسه های چربی با استفاده از

مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس ۵ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه و جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آلفا آمیلاز، برحسب میکرو مول مالتوز آزاد شده تحت اثر آنزیم در دقیقه به ازای میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۳۳).

به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (۱۶).

تعیین فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز

جهت سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز ابتدا به ۲۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی ۲۵۰ میکرو لیتر نشاسته یک درصد اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۰/۵ میلی لیتر از معرف رنگی دنیتروسالسیلیک اسید به آن اضافه گردیده و به

جدول ۱- ترکیب اجزای غذایی جیره های آزمایشی (بر حسب درصد)

| اجزای جیره | | | | | | گروه های آزمایشی |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|----------------------------|
| ۱ (شاهد) | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | |
| ۲۵ | ۲۵ | ۲۵ | ۲۵ | ۲۵ | ۲۵ | کازئین |
| ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ژلاتین |
| ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | گلوتن گندم |
| ۰ | ۱ | ۲ | ۴ | ۶ | ۸ | لسیتین |
| ۱/۵ | ۱/۵ | ۱/۵ | ۱/۵ | ۱/۵ | ۱/۵ | روغن ماهی کیلکا |
| ۸ | ۷ | ۶ | ۴ | ۲ | ۰ | روغن سویا |
| ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۱۰ | سبوس گندم |
| ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | آرد گندم |
| ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۵ | نشاسته گندم |
| ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ | دکستروز |
| ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | کلسترول |
| ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | کولین کلراید |
| ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ | آستاگرانترین |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | بتائین |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | مکمل ویتامینی ^۱ |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | مکمل معدنی ^۲ |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ال- متیونین |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ال- لیزین |
| ۰/۱ | ۰/۱ | ۰/۱ | ۰/۱ | ۰/۱ | ۰/۱ | آنتی اکسیدان (BHT) |
| ۲/۲ | ۲/۲ | ۲/۲ | ۲/۲ | ۲/۲ | ۲/۲ | CMC ^۳ |
| ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | دی کلسیم فسفات |

۱- ترکیب مکمل ویتامینی (IU / کیلو گرم غذا): ویتامین A ۱۶۰۰۰۰، ویتامین D3 ۴۰۰۰۰۰، نیاسین ۴۰۰۰، ریوفلاوین ۸۰۰۰، پیریدوکسین ۴۰۰۰، فولیک اسید ۲۰۰۰، ویتامین B12 ۸۰۰۰، اینوزیتول ۲۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰، ویتامین B2 ۸۰۰۰، ویتامین K3 ۲۰۰۰، ویتامین E ۴۰۰۰۰،
 ۲- ترکیب مکمل معدنی (گرم/کیلو گرم غذا): روی ۱۲/۵، آهن ۲۶، منگنز ۱۵/۸، مس ۴/۲، کبالت ۰/۴۸، سلنیوم ۲،
 ۳- کربوکسی متیل سلولز

جدول ۲- تجزیه شیمیایی جیره های آزمایشی

| گروه های آزمایشی | | | | | | |
|--|------|------|------|------|------|------------------------------|
| ۶ | ۵ | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ | |
| ۳۳/۰ | ۳۳/۲ | ۳۳/۳ | ۳۳/۰ | ۳۳/۱ | ۳۳/۳ | پروتئین (% ماده خشک) |
| ۱۰/۳ | ۱۰/۴ | ۹/۹ | ۱۰/۲ | ۱۰/۵ | ۱۰/۱ | چربی (% ماده خشک) |
| ۳۸/۳ | ۳۸/۸ | ۳۸/۴ | ۳۷/۸ | ۳۸/۱ | ۳۸/۵ | کربوهیدرات (% ماده خشک) |
| پروفیل اسیدهای چرب ضروری (درصد از محتوای کل چربی جیره غذایی) | | | | | | |
| ۲۰/۶ | ۲۱/۸ | ۲۳/۰ | ۲۴/۲ | ۲۴/۸ | ۲۵/۴ | ۱۸:۱ اسید اولئیک -۹ |
| ۵۱ | ۴۸/۶ | ۴۷/۷ | ۴۹/۳ | ۴۶/۵ | ۴۰/۷ | ۱۸:۲ اسید لینولئیک -۶ |
| ۴/۹۴ | ۵/۲۰ | ۵/۴۶ | ۵/۷۲ | ۵/۸۵ | ۵/۹۸ | ۱۸:۳ اسید لینولئیک -۳ |
| ۰/۱۱ | ۰/۱۰ | ۰/۱۴ | ۰/۱۲ | ۰/۱۳ | ۰/۱۱ | ۲۰:۴ اسید آراشیدونیک -۶ |
| ۰/۸۵ | ۰/۸۶ | ۰/۸۲ | ۰/۸۶ | ۰/۸۵ | ۰/۸۴ | ۲۰:۵ اسید ایکوزاپنتانوئیک -۳ |
| ۲/۰۶ | ۲/۰۵ | ۲/۰۸ | ۲/۱۱ | ۲/۰۵ | ۲/۰۳ | ۲۲:۶ اسید دکوزاهگزانوئیک -۳ |

ترکیب فسفولیپید و کلاسه های چربی (% چربی)

| | | | | | | |
|-------|------|------|------|------|------|-----------------------|
| ۶/۸۷ | ۶/۱۰ | ۵/۱۰ | ۲/۷۰ | ۱/۴۳ | - | فسفاتیدیل کولین |
| ۳/۰۰ | ۲/۲۰ | ۲/۱۰ | ۱/۲۰ | ۰/۵۷ | - | فسفاتیدیل اتانول آمین |
| ۳/۳۹ | ۳/۳۴ | ۱/۵۶ | ۱/۱۷ | ۰/۵۰ | - | فسفاتیدیل اینوزیتول |
| ۱۳/۲۶ | ۱۱/۶ | ۸/۷۶ | ۵/۰۷ | ۲/۵۰ | - | فسفولیپید کل |
| ۱۵/۴ | ۱۵/۳ | ۱۴/۵ | ۱۷/۲ | ۱۵/۰ | ۱۳/۶ | کلسترول |
| ۶/۴ | ۷/۱۹ | ۴/۶۰ | ۳/۴۶ | ۲/۱۶ | ۰/۸۳ | اسیدهای چرب آزاد |
| ۵۳/۵ | ۵۱/۶ | ۶۱/۰ | ۶۳/۵ | ۶۸/۵ | ۷۶/۷ | تری گلیسیرید |

رگرسیون میان درصد لسیتین جیره غذایی و شاخص های مورد مطالعه از رگرسیون چند متغیره استفاده شد. البته تمام مفروضات آنالیز واریانس و هم چنین رگرسیون پیش از انجام تحلیل های آماری، مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است که تمامی آزمون ها در سطح معنی داری کمتر از ۵ درصد تفسیر شدند و نتایج نهایی به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ گزارش گردید.

نتایج

نتایج شاخص های رشد و بقا شاه میگوهای گروه های مختلف آزمایشی در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که شاخص وزن و طول نهایی، درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه شاه میگوهای تغذیه شده با جیره فاقد لسیتین (جیره آزمایشی ۱) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی به طور معنی داری پایین بود ($P < 0.05$)، هم-

شاخص های رشد و کارایی تغذیه

شاخص های فوق طبق روابط زیر محاسبه گردیدند:
 درصد افزایش وزن (%) = $100 \times \frac{\text{وزن اولیه بدن} - \text{وزن}}{\text{وزن}}$
 اولیه بدن - وزن نهایی بدن)
 میزان رشد ویژه (درصد در روز) = $100 \times [(\text{لگاریتم وزن اولیه (گرم)} - \text{لگاریتم وزن ثانویه (گرم)}) / \text{طول دوره پرورش (روز)}]$
 ضریب تبدیل غذایی = $\frac{\text{غذای مصرفی (گرم)}}{\text{وزن زنده به دست آمده (گرم)}}$

بازماندگی (%) = $100 \times (\text{تعداد اولیه} / \text{تعداد نهایی})$

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

بررسی آماری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین توکی Tukey's HSD test انجام شد. هم چنین برای تعیین ارتباط

گرم پروتئین) روند افزایشی داشت ولی با افزایش میزان فسفولیپید جیره در گروه های آزمایشی ۴، ۵ و ۶ (به ترتیب، 0.24 ± 0.05 ، 0.24 ± 0.04 و 0.26 ± 0.05 واحد در میلی گرم پروتئین) در مقایسه با گروه آزمایشی ۳ (گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد فسفولیپید) به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آمیلاز هیپاتوپانکراس

شاه میگوهای گروه های مختلف پس از ۱۲ هفته تغذیه با جیره های آزمایشی در نمودار ۳ آمده است. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در گروه تغذیه شده با جیره غذایی فاقد لسیتین (جیره آزمایشی ۱، 32.6 ± 0.81 واحد در میلی گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی به طور معنی داری پایین بود ($P < 0.05$). هم-چنین در بین گروه های آزمایشی ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ (به ترتیب، 56.2 ± 5.90 ، 52.2 ± 3.89 ، 48.7 ± 4.75 ، 57.5 ± 8.86 و 55.4 ± 9.44 واحد در میلی گرم پروتئین) اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم لیپاز هیپاتوپانکراس

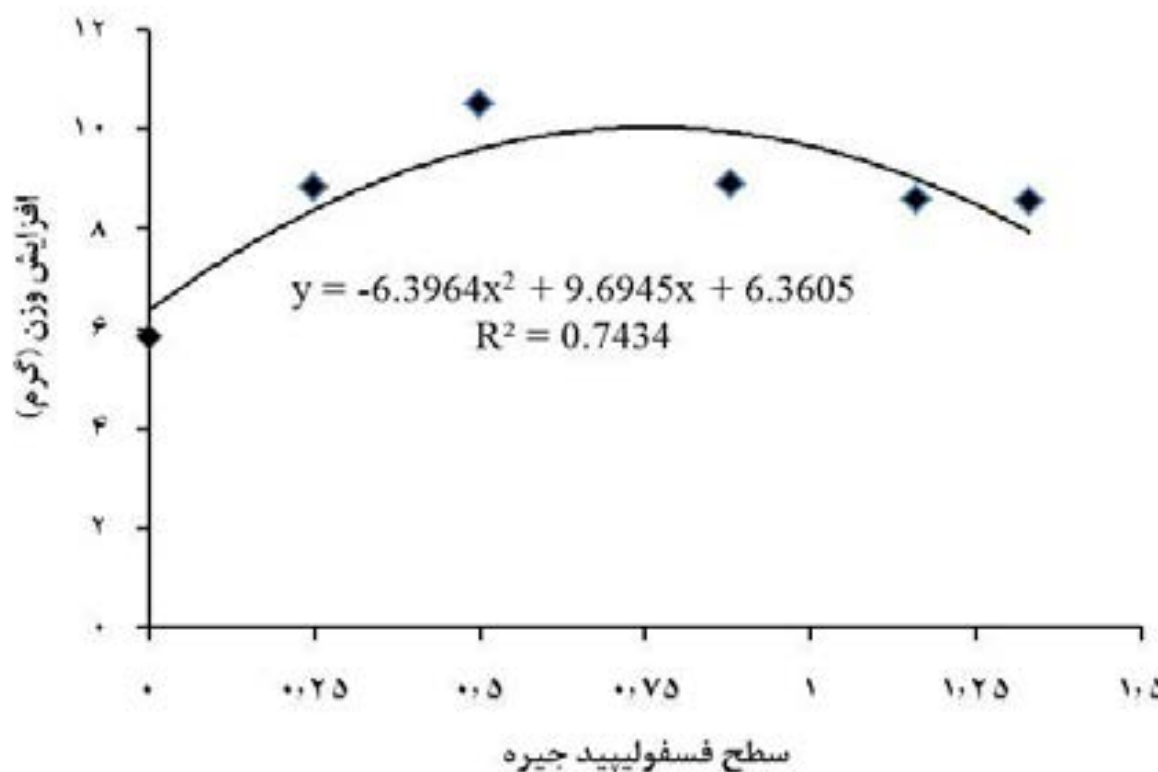
شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپید در پایان دوره پرورش نشان داد که میانگین فعالیت آنزیم لیپاز در شاه میگوهای تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد فسفولیپید (گروه آزمایشی ۳، 0.40 ± 0.05 واحد در میلی گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی به طور معنی داری بالا بود ($P < 0.05$). ولی میان سایر گروه های آزمایشی ۱، ۲، ۴، ۵ و ۶ از این نظر (به ترتیب، 0.28 ± 0.05 ، 0.32 ± 0.01 ، 0.32 ± 0.05 ، 0.32 ± 0.05 و 0.33 ± 0.05 واحد در میلی گرم پروتئین) اختلاف معنی-داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$ ، نمودار ۴).

چنین در بین سایر گروه های آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). میانگین وزن و طول نهایی، افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در گروه شاه میگوهای تغذیه شده با ۰/۵ درصد فسفولیپید بالا بود. ولی اختلاف معنی داری با سایر گروه های آزمایشی به جز گروه آزمایشی فاقد فسفولیپید نداشت. هم-چنین استفاده از سطوح مختلف فسفولیپید اختلاف معنی داری را در شاخص میزان بازماندگی در بین گروه های آزمایشی ایجاد نکرد ($P > 0.05$). رابطه بین میزان فسفولیپید جیره و میانگین افزایش وزن شاه میگوها در پایان دوره پرورش در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می شود همبستگی مثبتی بین این متغیرها وجود دارد ($r^2 = 0.743$ ، $P < 0.05$). شاه میگوهای تغذیه شده با جیره فاقد فسفولیپید کم ترین رشد را داشته و با افزایش سطح فسفولیپید جیره تا ۰/۵ درصد روند صعودی رشد و پس از آن روند نزولی مشاهده گردید. در این ارتباط با استفاده از روش رگرسیون کوادراتیک، میزان بهینه فسفولیپید در جیره نزدیک به ۰/۵ درصد برآورد شود. بر اساس روش فوق رابطه $y = -0.063x^2 + 0.966x + 6.36$ برای بیان ارتباط میان سطوح مختلف فسفولیپید جیره غذایی و افزایش وزن تیمارهای مختلف به دست آمد. البته، میان سایر شاخص های مورد مطالعه و سطوح فسفولیپید جیره غذایی ارتباط معنی داری مشاهده نگردید. نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل هیپاتوپانکراس شاه میگوهای گروه های مختلف پس از ۱۲ هفته تغذیه با جیره های آزمایشی در نمودار ۲ گزارش شده است. میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در بین گروه های آزمایشی اختلاف معنی داری با گروه شاهد (گروه آزمایشی ۱) نداشت ($P > 0.05$). میانگین فعالیت آنزیم گوارشی پروتئاز با افزایش سطوح فسفولیپید جیره از صفر به ۰/۵ درصد در تیمار ۱، ۲ و ۳ (به ترتیب، 0.32 ± 0.05 ، 0.37 ± 0.10 و 0.54 ± 0.25 واحد در میلی

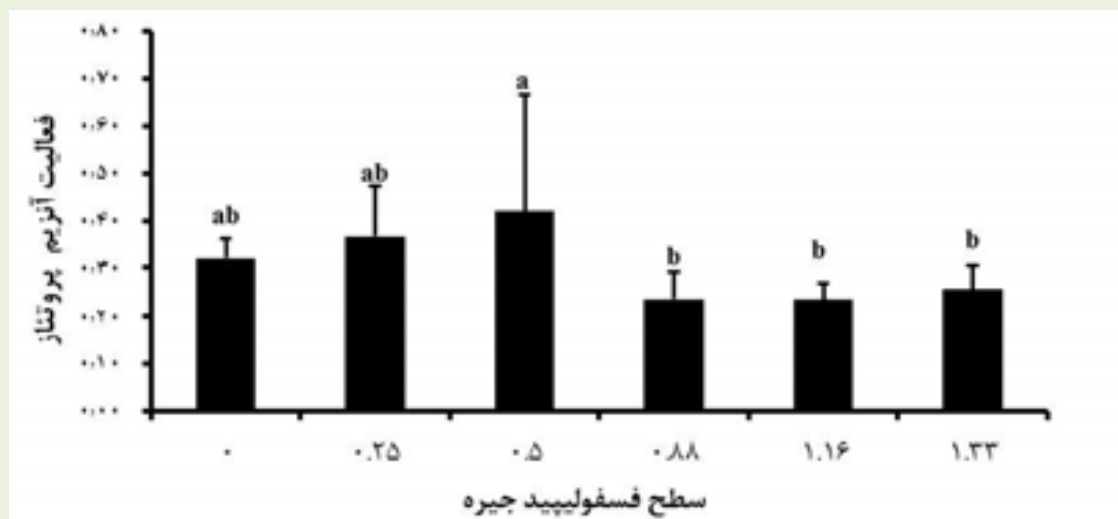
جدول ۳- شاخص های رشد گروه های آزمایشی در انتهای دوره پرورش

| گروه های آزمایشی | | | | | |
|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ |
| a | a | a | a | a | a |
| وزن ابتدایی (گرم) | ۱۳/۸±۱/۰۱ | ۱۳/۷±۱/۳۵ | ۱۳/۹±۱/۲۲ | ۱۳/۶±۱/۸۷ | ۱۳/۷±۱/۶۴ |
| وزن نهایی (گرم) | ۱۹/۶±۲/۳۹ | ۲۲/۶±۲/۳۶ | ۲۴/۳±۳/۳۵ | ۲۲/۷±۱/۲۷ | ۲۲/۴±۰/۴۴ |
| طول کل (سانتی متر) | ۸/۸۶±۰/۱۹ | ۹/۱۵±۰/۱۷ | ۹/۲۴±۰/۱۵ | ۹/۰۱±۰/۳۴ | ۸/۹۱±۰/۲۹ |
| افزایش وزن (درصد) | ۴۲/۳±۱۷/۳ | ۶۳/۹±۱۷/۱ | ۷۶/۰±۲۴/۳ | ۶۴/۴±۹/۲۰ | ۶۲/۱۵±۴/۳۵ |
| رشد ویژه (درصد در روز) | ۰/۳۸±۰/۱۴ ^b | ۰/۵۴±۰/۱۱ ^a | ۰/۶۲±۰/۱۴ ^a | ۰/۵۵±۰/۰۶ ^a | ۰/۵۴±۰/۰۳ ^a |
| شاخص کبدی | ۷/۳۰±۰/۶۲ | ۷/۲۲±۱/۰۱ | ۷/۳۳±۱/۰۱ | ۷/۲۳±۰/۶۴ | ۷/۵۰±۱/۱۵ |
| بازماندگی (%) | ۷۵/۰±۸/۳۳ | ۸۶/۱±۹/۶۲ | ۸۸/۹±۴/۸۱ | ۸۳/۳±۸/۳۳ | ۸۶/۱±۴/۸۱ |

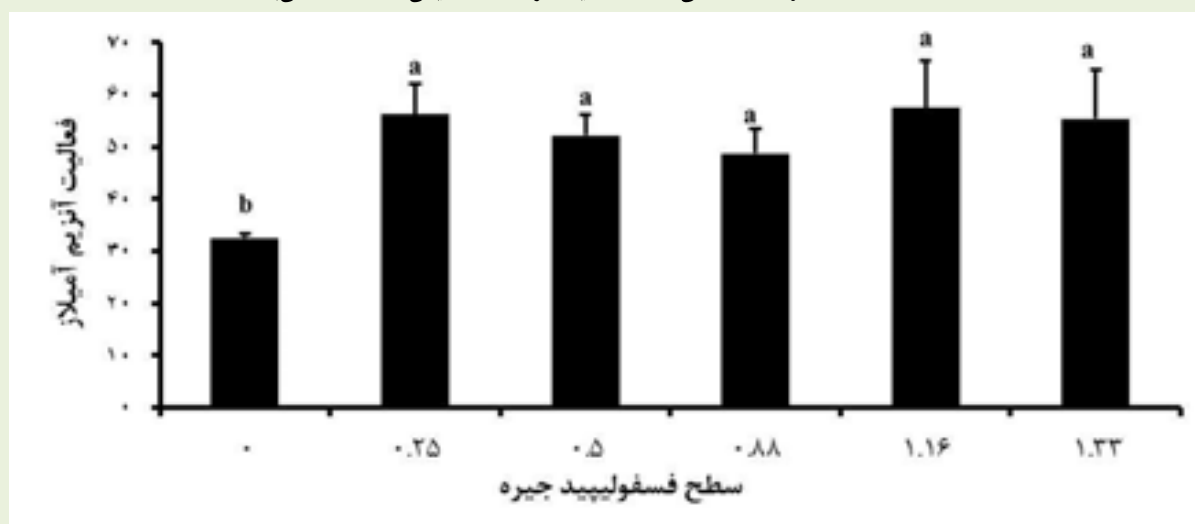
مقادیر ارائه شده در جدول نشان دهنده میانگین ± خطای معیار، می باشند. اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ هستند.



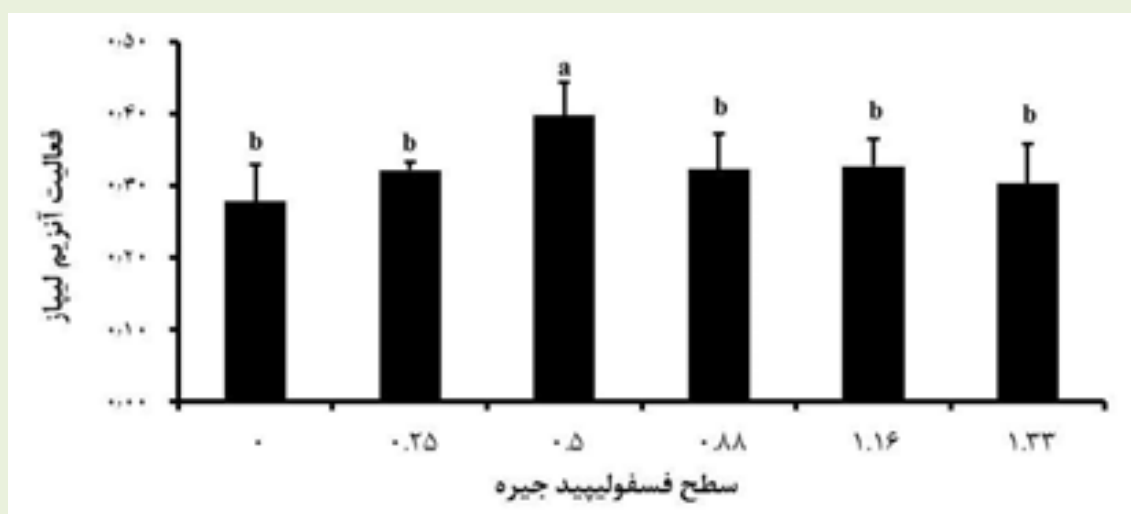
نمودار ۱- رگرسیون کوادراتیک میان میزان فسفولیپید جیره غذایی و میزان افزایش وزن شاه میگوهای تیمارهای مختلف در پایان آزمایش



نمودار ۲. فعالیت آنزیم پروتئاز کل هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپید در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار آماری میان گروه های آزمایشی در $P < 0.05$ می باشد.



نمودار ۳. فعالیت آنزیم آمیلاز هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپید در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار آماری میان گروه های آزمایشی در $P < 0.05$ می باشد.



نمودار ۴. فعالیت آنزیم لیپاز هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپید در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار آماری میان گروه های آزمایشی در $P < 0.05$ می باشد.

بحث و نتیجه گیری

لستیتین جیره غذایی از مواد مغذی ضروری برای سخت پوستان محسوب می شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد افزودن مکمل فسفولیپید از ۰/۲۵ تا ۱/۳۳ درصد جیره تغییری در شاخص های رشدی شاه میگوی آب شیرین ایجاد نکرد. ولی فقدان فسفولیپید باعث کاهش رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی (گروه آزمایشی ۱) گردید. هم چنین سطح بهینه فسفولیپید جیره بر اساس شاخص های مذکور ۰/۵ درصد تعیین شد. در مطالعه حاضر میزان رشد، درصد افزایش وزن و بازماندگی شاه میگو ها در سیستم پرورش مدار بسته در مقایسه با برخی مطالعات که بر روی این گونه انجام شده بالاتر بود (۳۱، ۹)، که می تواند نشان دهنده کارایی سیستم پرورش مدار بسته مورد استفاده در این پژوهش و نیز کیفیت و مقبولیت بالای جیره های آزمایشی نزد شاه میگوها باشد. فسفولیپیدهای لستیتین سویا ترکیبی از فسفاتیدیل کولین (PC)، فسفاتیدیل اتانول آمین (PE)، فسفاتیدیل اینوزیتول (PI) و فسفاتیدیک اسید هستند که استفاده از آن در جیره غذایی موجودات سبب بهبود رشد و کارایی تغذیه ای می شود. سطوح مختلف فسفاتیدیل کولین (۷/۵، ۱۲/۵ و ۲۱/۷) باعث افزایش شاخص های رشد میگو و انامی *L. Vann amei* نگردید که احتمال می رود گروه های دیگری از فسفولیپید ها به غیر PC می تواند باعث بهبود شاخص های رشدی میگوها گردد (۱۲). در مطالعه حاضر ترکیب لستیتین مورد استفاده PC (۵۴/۵٪)، PE (۲۲/۴٪) و PI (۲۳٪) به همراه سایر ترکیبات بود. توانایی ساخت فسفولیپیدهایی مانند PC در سخت پوستان به اثبات رسیده است. در صورتی که برخی از سخت پوستان برای بهبود شاخص های رشد و بقا نیاز به افزودن مکمل فسفولیپید در جیره غذایی هستند. افزودن ۷/۵٪ لستیتین سویا به جیره خالص با پایه کازین برای بقای لایستر آمریکایی ضروری می باشد. هم چنین فقدان لستیتین سویا

در جیره سبب می شود لایسترها فرآیند پوست اندازی موفق را طی نکنند که باعث کاهش شدید میزان بازماندگی می گردد (۶). نیاز فسفولیپیدی میگوی سفید غربی تغذیه شده با جیره نیمه خالص برای افزایش رشد ۵-۳٪ مکمل لستیتین در جیره غذایی می باشد (۱۲). فقدان لستیتین در جیره شاه میگوی *Procambaru sclarkii* باعث کاهش شاخص های رشد و وزن به دست آمده در مقایسه با افراد تغذیه شده با ۶٪ لستیتین در جیره غذایی می گردد (۲۳). هم چنین افزودن لستیتین سویا به جیره نیمه خالص میگوی آب شیرین *M. rosenbergii* تا ۱۰٪ به همراه ۶٪ روغن ماهی سبب بهبود رشد میگوهای آب شیرین می گردد (۱۵). علاوه بر این، جیره غذایی فاقد لستیتین حاوی ۶٪ روغن کبد ماهی کاد (۰/۴۵٪ فسفولیپید) به لحاظ شاخص های رشد و بقا با میگوهای آب شیرین (*M. rosenbergii*) که ۵٪ لستیتین در جیره غذایی خود دریافت کرده بودند، تفاوت معنی داری نداشت به همین علت می توان اظهار داشت که لستیتین سویا به عنوان یک مکمل ضروری در جیره غذایی نیمه خالص میگوی آب شیرین مطرح نیست (۴). در همین راستا افزودن ۱ و ۲٪ لستیتین سویا به جیره غذایی با پایه پروتئین کازئین و یا پودر خرچنگ سبب بهبود شاخص های رشد و بازماندگی میگوی آب شیرین نشده است (۱۸). لایستر آمریکایی دارای ظرفیت محدودی در سنتز PC می باشد، اما افزودن مکمل لستیتین در جیره هایی که از پروتئین پودر خرچنگ به جای کازئین استفاده شده است، ضروری به نظر نمی رسد (۱۹). در کل، در ارتباط با ضرورت استفاده از مکمل لستیتین در جیره سخت پوستان آب شیرین و دریایی و نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر چند نکته قابل بحث وجود دارد: نخست آن که کارایی مکمل فسفولیپید و در نتیجه سطح نیاز غذایی آن می تواند تحت تاثیر سطح کلسترول موجود در جیره غذایی قرار گیرد. نیاز غذایی شاه میگو آب شیرین به

آمریکایی استفاده گردد، سطوح مختلف فسفولپید جیره سبب بهبود شاخص های رشدی در مقایسه با جیره هایی با پایه پروتئین کازئین نمی شود (۱۹). در صورتی که قابلیت هضم پروتئین و اسید آمینه کازئین در جیره خرچنگ چینی *Eriocheir sinensis* مشابه پودر ماهی، پودر میگو و سویامی باشد (۲۴). نتایج شاخص های رشد مطالعه حاضر نیز می تواند حاکی از مقبولیت و کیفیت متناسب جیره از لحاظ منابع پروتئینی و ترکیب اسیدهای آمینه باشد. تاکنون گزارشی از اثرات فسفولپیدها بر روی فعالیت آنزیم های گوارشی در سخت پوستان صورت نگرفته است. استفاده از فسفولپیدها در جیره غذایی برخی ماهیان مانند ماهی سوف (۱۴) و قرل آلای رنگین کمان (۲) حاکی از افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی می باشد که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم خوانی دارد. به طور کلی لستین سبب بهبود عملکرد آنزیم های پانکراسی برای هضم بیشتر می گردد. فسفولپیدها به واسطه افزایش لیزوفسفولپیدها و به شکل غیر مستقیم با افزایش سطح سیتوکینین سبب تحریک ترشح آنزیم های پانکراسی می شود. که این نیز می تواند سبب بهبود مصرف و نیز کارکرد تغذیه ای گردد. نتایج مطالعات زیادی حاکی از بهبود عملکرد هضم و جذب چربی ها با افزودن مکمل لستین به جیره می باشد (۱۴)، (۲). با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می توان اظهار داشت که شاه میگوی آب شیرین همانند سایر سخت پوستان برای بهبود شاخص های رشد و بازماندگی به مکمل فسفولپیدی جیره غذایی نیاز دارد. بنابر این لازم است در تنظیم جیره غذایی برای این گونه، از لستین سویا به عنوان مکمل فسفولپیدی استفاده گردد. به علاوه بر اساس نتایج رشد و بازماندگی، میزان ۰/۵ درصد فسفولپید با منشا لستین سویا در جیره غذایی مورد استفاده جهت پرورش متراکم این گونه توصیه می شود

کلسترو ل ناشناخته است و از سوی دیگر در سایر سخت پوستان فقدان کلسترو ل سبب کاهش رشد و بقا آنها می گردد (۱۹). میزان نیاز میگوی سفید غربی *L. vann* *amei* به لستین در جیره های فاقد کلسترو ل ۳٪ می باشد (۱۲). شاخص های رشد و بقا در میگوی ژاپنی *P. japonicus* تغذیه شده با سطوح مختلف فسفولپید به همراه مکمل کلسترو ل در جیره غذایی تغییر قابل ملاحظه ای نداشت (۲۸). وجود کلسترو ل در جیره می تواند سطح مورد نیاز لستین را کاهش دهد (۱۳)، ولی در مطالعه حاضر با وجود ۰/۵ کلسترو ل در جیره شاخص رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی در جیره آزمایشی فاقد فسفولپید کاهش یافت و با افزایش میزان فسفولپید بهبود عملکرد رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی مشاهده گردید. نکته دوم این که کارایی مکمل فسفولپیدی و یا به عبارتی میزان نیاز موجود به لستین می تواند تحت تاثیر میزان کولین جیره غذایی باشد. کولین به عنوان شبه ویتامین مهم در بهبود شاخص های رشد و بقا در جیره برخی از سخت پوستان مطرح می باشد. میگوی چینی (*Penaeus chinensis*) به ۰/۴٪ کولین برای بهبود شاخص های رشد و بقا نیاز دارد (۲۲). در مطالعه حاضر نیز ۰/۵٪ کولین کلراید به جیره غذایی اضافی گردید، که این مقدار برای تامین نیاز شاه میگوها کافی به نظر می رسد. هم چنین، استفاده از مقدار فسفولپید کافی در جیره غذایی سبب افزایش هضم و جذب چربی ها می شود. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که افزودن لستین به جیره غذایی سبب افزایش انتقال چربی ها به همولنف می شود (۲۷). در مطالعه حاضر نیز استفاده از سطوح مختلف فسفولپید جیره افزایش میزان فعالیت آنزیم های گوارشی را به دنبال داشته است. هم چنین منبع تامین پروتئین در جیره غذایی می تواند بر کارایی فسفولپیدها موثر باشد. چنان چه از پودر خرچنگ به عنوان منبع پروتئینی در جیره غذایی لایستر

منابع

1. AOAC. (1995). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 16th edn. AOAC, Arlington, VA, USA.
2. Azarm, H.M., Abedian Kenari, A., Hedayati, M. (2012). Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Aquaculture Research, 1–11.
3. 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.
4. Briggs, M.R.P., Jauncey, K., Brown, J.H. (1988). The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets. Aquaculture, 70; 121–129.
5. Chen, H.Y., Jenn, J.S. (1991). Combined effects of dietary phosphatidyl choline and cholesterol on the growth, survival and body lipid composition of marine shrimp, *Penaeus penicillatus*. Aquaculture, 96; 167–178.
6. Conklin, D.E., D'Abramo, L.R., Bordner, C.E., Baum, N.A. (1980). A successful purified diet for the culture of juvenile lobsters: the effect of lecithin. Aquaculture, 21; 243–249.
7. D'Abramo, L.R., New, M.B. (2000). Nutrition, feeds and feeding. In: New, M.B., Cotroni, W.V. (Eds.), Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science, Oxford, pp. 203–216.
8. D'Abramo, L.R., Bordner, C.E., Conklin, D.E., Baum, N.A. (1981). Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobsters. J. Nutrition, 111; 425–431.
9. Farhadi, A., Jensen, M.A. (2015). Effects of photoperiod and stocking density on survival, growth and physiological responses of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*). Aquaculture Research, 1–10.
10. Garcia-Carreno, F.L., Haard, N. F. (1993). Characterization of proteinase classes in *Langostilla pleuroncodes planipes* and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. Journal of Food Biochemistry, 17; 97–113.
11. Goddard, S. (1996). Feed management in Intensive Aquaculture. Chapman & Hall, 165p.
12. Gong, H., Lawrence, A.L., Gatlin, D.M., Jiang, D.H., Zhang, F. (2001). Comparison of different types and levels of commercial soybean lecithin supplemented in semi-purified diets for juvenile *Litopenaeus vannamei* Boone. Aquaculture Nutrition, 7; 11–17.
13. Gong, H., Lawrence, A.L., Jiang, D.H., Gatlin, D.M. (2000). Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* Active components of soybean lecithin. Aquaculture, 190; 325–342.
14. Hamza, N., Mhetlia, M., Khemisa, I.B., Cahub, C., Kestemont, P. (2008). Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. Aquaculture, 275(1–4), 274–282.
15. Hilton, J.W., Harrison, K.E., Slinger, S.J. (1984). A semi-purified diet for *Macrobrachium rosenbergii* and the lack of need for supplemental lecithin. Aquaculture, 37; 209–215.
16. Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. (1998). Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiol. Biochem, 18; 59–69.
17. Jussila, J. (1997). Physiological responses of astacid and parastacid crayfishes (Crustacea: Decapoda) to conditions of intensive culture. Doctoral Dissertation, Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences 67, Finland.
18. Kanazawa, A. (1993). Essential phospholipids of fish and crustaceans. In: Fish Nutrition in Practice (Kaushik, S.J. & Luquet, P., eds), pp. 519–530. INRA Edns, Versailles Cedex, France.
19. Kean, J.C., Castell, J.D., Boghen, A.G., D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. (1985). A re-evaluation of the lecithin and cholesterol requirements of juvenile lobster *Homarus americanus* using crab protein-based diets. Aquaculture, 47; 143–149.
20. Lepage, G., Roy, C.C. (1984). Improved recovery of fatty acid through direct trans esterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research, 25; 1391–1396.
21. Liao I.C., F.G. Liu. (1989). A brief review of nutritional studies for *Penaeus monodon*. advances in tropical aquaculture. IFREMER Actes de Colloque, 9; 355–380.
22. Liu, T.B., Li, A.J., Zhang, J.M. (1993). Studies on vitamin nutrition for the shrimp *Penaeus chinensis*: 10. Studies on the choline chloride and inositol requirements in the shrimp *Penaeus chinensis*. J. Ocean Univ.

Qingdao-Qingdao Haiyang Daxue Xuebao, 23; 67-74.

23. Lochmann, R.L., McClain, W.R., Gatlin, D.M. (1992). Evaluation of practical feed formulations and dietary supplements for redswamp crayfish. J. World Aquacult. Soc, 23; 217-227.

24. Mu, Y.Y., Lam, T.J., Guo, J.Y., Shim, K.F. (2000). Protein digestibility and amino acid availability of several protein sources for Juvenile chinese hairy crab *Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards (Decapoda, Grapsidae). Aquacult. Res, 31; 757-765.

25. Olsen, R.E., Henderson, R.J. (1989). The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. J Exp Mar Biol Ecol, 129; 189-197.

26. Teshima, S. (1997). Phospholipids and sterols. In: Advances in World Aquaculture, Vol. 6, Crustacean Nutrition (ed. by Conklin D'Abramo & Akiyama), pp. 85-107. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

27. Teshima, S., Kanazawa, A., Kakuta, Y. (1986). Role of dietary phospholipids in the transport of ¹⁴C cholesterol in the prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 52; 719-723.

28. Teshima, S., Kanazawa, A., Sasada, H., Kawasaki, M. (1982). Requirements of larval prawn, *Penaeus japonicus*, for cholesterol and

soybean phospholipids. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 31; 193-199.

29. Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Christian, T.D., Webster, C.D., Manomaitis, L., Rouse, D.B. (2003). Lecithin requirements of juvenile australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition, 9; 223-230.

30. Thongrod, S., Boonyaratpalin, M. (1998). Cholesterol and lecithin requirement of juvenile banana shrimp *Penaeus merguensis*. Aquaculture, 161; 315-321.

31. Valipour, A., Shariatmadari, F., Abedian, A., Seyfabadi S. J., Zahmatkesh, A. (2011). Growth, molting and survival response of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus*, fed two sources of dietary oils. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(3); 505-518.

32. Wolf, Y.S. (2004). Growth and macro nutritional requirements of signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana) in aquaculture. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

33. Worthington, C.C. (1991). Worthington on enzyme manual related Biochemical, 3th edn, pp, 212-215. Freehold, New Jersey.



Dietary Phospholipids Requirement of Juvenile Narrow-Clawed Crayfish (*Astacus leptodactylus*) in a Recirculation Aquaculture System

R. Jalili¹, N. Agh², A. Imani¹, F. Noori²

1. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, I.R. Iran

2. Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, I.R. Iran. n.agh@urmia.ac.ir

Received: 2019.16.8

Accepted: 2019.22.10

Abstract

Introduction & Objective: Phospholipid has been shown to be required in the diets of several crustacean species, but there are no reports of dietary phospholipids requirements for narrow-clawed crayfish. **Material and Methods:** A 12-week feeding trial was conducted to evaluate phospholipid requirements of narrow-clawed crayfish. Juvenile crayfish (20 ± 2 g mean weight) were intensively stocked in an indoor recirculating aquaculture system consisting of 18 rectangular fiberglass tanks with 10% daily water exchange under constant aeration and PVC shelters. Water was recirculated through biological and mechanical filters. Six experimental diets with 30% crude protein and 10% crude lipid were formulated to contain graded levels of soya bean lecithin (0, 0.25, 0.5, 0.88, 1.16 and 1.33 % phospholipids). Casein and gelatin were used as primary sources of protein in experimental diets.

Results: Result showed final body weight, WG, SGR and amylase activity significantly decreased in crayfish received diet devoid of phospholipid supplement (Diet 1) in comparison to other experimental groups ($P < 0.05$). However, no significant differences were observed among other feeding groups in this regard ($P > 0.05$). Moreover, crayfish fed with diet containing 0.5% phospholipid had the highest weight gains, protease and lipase activity. Regarding survival rates of various experimental groups, there were no significant differences amongst groups ($P > 0.05$).

Conclusion: Results indicated that dietary supplementation with 0.5% phospholipids improved growth performance and digestive enzymes activity of juvenile narrow-clawed crayfish.

Keywords: Requirement determination, Phospholipid, Crayfish, *Astacus leptodactylus*.