فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۷، جلد ۱۲، شماره ۴، پائیز۹۸، صفحه ۳۵ تا ۴۷
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

تعیین نیازغذایی شاه میگوی آب شیرین(*Astacus leptodactylus*) به فسفولیپید در سیستم پرورش مداربسته

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 آبزی‌پروری، 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 ۱±۱۳/۸۰ گرم) در سیستم پرورش متراکم مداربسته و در ۱۸ مخزن پرورشی با ۱۰٪ تعویض آب روزانه، هوادهی و پناهگاه ذخیره‌سازی شدند. هم‌چنین 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، ۰/۲۵، 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.

یافته‌ها: 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($P<۰/۰۵$) ولی فعالیت آنزیم لیپاز فقط در شاه میگوهای تغذیه شده با ۰/۵ درصد فسفولیپید با تیمار شاهداختلاف 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($P>۰/۰۵$).

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

پرورش متراکم و انفرادی شاه میگوها از نظر تکنیکی امکان‌پذیر 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 جمع‌آوری 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 می‌شود تا میزان تعاملات اجتماعی و همنوع‌خواری به حداقل برسد، هر چند در برخی مواقع در سیستم‌ها اقدام به پرورش گروهی می نمایند. تغذیه به کمک غذاهای پلت یا مواد جانبی حاصل از صید صورت می‌گیرد. البته مدیریت و پایش سلامتی، کیفیت آب و تغذیه ضروری است. شاخص‌های کیفیت آب نظیر اکسیژن محلول، درجه حرارت، pH، مواد معدنی و غیره بایستی در حد مطلوب حفظ شوند. عوامل مهم توسعه موفقیت‌آمیز این سیستم‌ها 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 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 پنائیده، لابسترها و میگوهای آب شیرین با درک زیست شناسی، 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 واسیدهای چرب ضروری از مهم‌ترین مواد غذایی هستند که ضمن تاثیر مستقیم بر رشد، تأمین انرژی، تشکیل غشای سلولی و عملکرد سیستم ایمنی موجود زنده، در جذب سایر مواد مغذی نظیر ویتامین‌های محلول درچربی و رنگدانه‌ها و هم چنین دیگر فرآیندهای 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 نسبت های مختلف می‌باشند. متخصصین تغذیه معتقدند که فسفاتیدیل کولین ماده فعال اصلی بوده و دارای اثر تحریک کنندگی رشد می‌باشد. برخی از گونه‌ها نیازمند حضور فسفولیپیدها در جیره هستند(۱). نیاز به PC احتمالاً به دلیل سرعت پایین ساخت آن ها باشد، چرا که در زمان رشد سریع، جوابگوی نیاز غذایی حیوان نخواهد بود(۷). فسفاتیدیل کولین مهم ترین جزء تشکیل دهنده لیپوپروتئین‌های 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 برمبنای کازئین می باشد. 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 آن ها کفاف نیازمندی متابولیکی این جانوران را نمی‌دهد یا (۲) برخی فسفولیپیدهای خاص که برای ساخت لیپوپروتئین‌های 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 سخت پوستان جهت افزایش رشد و بقا در

برخی از گونه ها مانند لابستر آمریکایی(۸)، خرچنگ مردابی قرمز(*Procambarus clarkia*)(۲۳)، میگوی موزی(*Penaeus merguiensis*)(۳۰) و میگوی سفید غربی(*Litopenaeus vannamei*)(۱۳، ۱۲) گزارش شده است. همین طور این نتایج مغایر با برخی گزارش ها در خصوص ناکارآمدی مکمل های فسفولیپیدی در بهبود شاخص‌های رشدی و بقا در میگوی آب شیرین(*Macrobrachium rosenbergii*)(۱۸، ۴) 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). متاسفانه 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 می‌شود، به استرول‌ها 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 آبزی 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.

مواد و روش ها

پرورش شاه میگو

این مطالعه روی شاه میگوهای جوان با میانگین وزنی ۲ ± ۲۰ گرم با تراکم ۴ عدد در هر تانک(۱۸×۲۰×۳۰ 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(C°)، اکسیژن(ppm)، pH، نیتریت(ppm)، نیترات(ppm)، کلسیم(ppm) و سختی کل(mg $CaCO_3$/l) طی دوره پرورش به ترتیب۱/۲ ± ۱۶/۵، ۰/۲ ± ۰/۸،۳/۱ ± ۷/۸، ۰/۰۰۳ ± ۰/۰۰۸، ۰/۱۲ ± ۲/۰،۴/۷۶ ± ۶۱/۲ و ۴/۵±۱۶۵ بود. سیستم پرورشی به صورت مدار بسته بود و روزانه حدود ۱۰ ٪ آب تعویض می‌گردید. همین طور میزان جریان ورودی تانک‌ها ۰/۲±۲ لیتر در دقیقه، دوره نوری شامل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ روشنایی و جهت تنظیم pH و قلیاییت آب نیز از صدف های دریایی استفاده گردید، علاوه بر این، از سیستم هوادهی مرکزی و بخاری آکواریوم برای تنظیم اکسیژن محلول و دما استفاده شد. شاه میگوها پس ازسازگاری با شرایط پرورش، با شش جیره غذایی خالص شامل جیره پایه و۵ جیره حاوی سطوح مختلف مکمل لسیتین(Sigma. P3644) در سه تکرار و به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. غذادهیبه میزان ۴ ٪وزن بدن و ۲ بار در روز (ساعت ۸ و ۲۲) صورت گرفت. تمام مخازن هر روز صبح از نظرحذف غذاهای باقی‌مانده، تعداد پوست اندازی، مرگ و میر، شستشو و آبگیری مورد رسیدگی قرار گرفتند. به منظور آگاهی ازوضعیت رشد شاه میگو و هم-چنین محاسبه صحیح مقدار غذایروزانه، هر دو هفته یک بار تمام شاه میگوها از مخازن پرورش خارج و با ترازوی حساس(دقت ۰/۰۰۱ g) توزین شدند.

تهیه جیره های آزمایشی

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 جیره مورد استفاده قرار گرفتند(جدول۱). شش سطح فسفولیپید(شامل صفر، ۱ ،۲،۴، ۶ و ۸) به کمک مکمل لسیتین در جیره 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 یک‌دیگر 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 سانتی‌گراد خشک گردیده و تا زمان مصرف در یخچال(۴°C) نگهداری شدند.

تجزیه تقریبی جیره‌های 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 زمان‌های تثبیت استاندارد متیل استرهای اسید چرب تعیین شد(۲۰). آنالیز فسفولیپید و کلاسه‌های چربی با استفاده از 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 دقیقهدر دمای ۴°C در ۳۰۰۰۰g سانتریفیوژ (مدل Z36HK) گردیدند. سوپرناتانت حاصل در ویال‌های یک میلی‌لیتری 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. نمونه‌ها سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت g ۶۵۰۰ 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 نیتروفنیل مریستات به مجموعه فوق و انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

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 میکرولیتر عصاره آنزیمی ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته یک درصد اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۰/۵ میلی لیتر از معرف رنگی دنیتروسالیسیلیک اسید به آن اضافه گردیده و به 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).

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

اجزای جیره	گروه های آزمایشی					
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴	۵	۶
کازئین	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵
ژلاتین	۵	۵	۵	۵	۵	۵
گلوتن گندم	۵	۵	۵	۵	۵	۵
لسیتین	۰	۱	۲	۴	۶	۸
روغن ماهی کیلکا	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
روغن سویا	۸	۷	۶	۴	۲	۰
سبوس گندم	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
آرد گندم	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
نشاسته گندم	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
دکسترین	۵	۵	۵	۵	۵	۵
کلسترول	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
کولین کلراید	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
آستاگزانتین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
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	۱	۱	۱	۱	۱	۱
آنتی اکسیدان(BHT)	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
CMC[۳]	۲/۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲
دی کلسیم فسفات	۲	۲	۲	۲	۲	۲

۱-ترکیب مکمل ویتامینی (IU / کیلوگرم غذا) : ویتامین A ۱۶۰۰۰۰۰، ویتامین D3 ۴۰۰۰۰۰، نیاسین ۴۰۰۰، ریبوفلاوین ۸۰۰۰، پیریدوکسین ۴۰۰۰، فولیکاسید ۲۰۰۰، ویتامین B12 ۸۰۰۰، اینوزیتول ۲۰۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰۰، ویتامین B2 ۸۰۰۰، ویتامین K3 ۲۰۰۰ ، ویتامین E ۴۰۰۰۰،

۲-ترکیب مکمل معدنی(گرم/کیلوگرم غذا) : روی ۱۲/۵، آهن ۲۶، منگنز ۱۵/۸، مس ۴/۲، کبالت ۰/۴۸، سلنیوم ۲، ید ۱.

۳- کربوکسی متیل سلولز

جدول ۲- تجزیه شیمیایی جیره های آزمایشی

	گروه های آزمایشی					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
پروتئین (٪ ماده خشک)	۳۳/۳	۳۳/۱	۳۳/۰	۳۳/۳	۳۳/۲	۳۳/۰
چربی (٪ ماده خشک)	۱۰/۱	۱۰/۵	۱۰/۲	۹/۹	۱۰/۴	۱۰/۳
کربوهیدرات (٪ ماده خشک)	۳۸/۵	۳۸/۱	۳۷/۸	۳۸/۴	۳۸/۸	۳۸/۳
پروفیل اسیدهای چرب ضروری (درصد از محتوای کل چربی جیره غذایی)						
n18:1 اسید اولئیک ۹-	۲۵/۴	۲۴/۸	۲۴/۲	۲۳/۰	۲۱/۸	۲۰/۶
n18:2 اسید لینولئیک ۶-	۴/۰۷	۴۶/۵	۴/۹۳	۴۷/۷	۴۸/۶	۵۱
n18:3 اسید لینولنیک ۳-	۵/۹۸	۵/۸۵	۵/۷۲	۵/۴۶	۵/۲۰	۴/۹۴
n20:4 اسید آراشیدونیک ۶-	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۰	۰/۱۱
n20:5 اسید ایکوزاپنتانوئیک ۳-	۰/۸۴	۰/۸۵	۰/۸۶	۰/۸۲	۰/۸۶	۰/۸۵
n22:6 اسید دکوزاهگزانوئیک ۳-	۲/۰۳	۲/۰۵	۲/۱۱	۲/۰۸	۲/۰۵	۲/۰۶
ترکیب فسفولیپید و کلاسه های چربی (٪ چربی)						
فسفاتیدیل کولین	-	۱/۴۳	۲/۷۰	۵/۱۰	۶/۱۰	۶/۸۷
فسفاتیدیل اتانول آمین	-	۰/۵۷	۱/۲۰	۲/۱۰	۲/۲۰	۳/۰۰
فسفاتیدیل اینوزیتول	-	۰/۵۰	۱/۱۷	۱/۵۶	۳/۳۴	۳/۳۹
فسفولیپید کل	-	۲/۵۰	۵/۰۷	۸/۷۶	۱۱/۶	۱۳/۲۶
کلسترول	۱۳/۶	۱۵/۰	۱۷/۲	۱۴/۵	۱۵/۳	۱۵/۴
اسیدهای چرب آزاد	۰/۸۳	۲/۱۶	۳/۴۶	۴/۶۰	۷/۱۹	۶/۴
تری گلیسیرید	۷۶/۷	۶۸/۵	۶۳/۵	۶۱/۰	۵۱/۶	۵۳/۵

شاخص های رشد و کارایی تغذیه

شاخص‌های فوق طبق روابط زیر محاسبه گردیدند:

درصد افزایش وزن (٪)=۱۰۰×وزن اولیه بدن / (وزن اولیه بدن – وزن نهایی بدن)

میزان رشد ویژه (درصد در روز) = ۱۰۰×[(لگاریتم وزن اولیه(گرم)–لگاریتم وزن ثانویه (گرم)]/طول دوره پرورش(روز)

ضریب تبدیل غذایی = غذای مصرفی (گرم)/وزن زنده به دست آمده(گرم)

بازماندگی (٪)=۱۰۰× (تعداد اولیه/ تعداد نهایی)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بررسی آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و به کمک آنالیز واریانس یک طرفه(One-way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین توکی Tukey'HSD test انجام شد. هم‌چنین برای تعیین ارتباط رگرسیونی میان درصد لسیتین جیره غذایی و شاخص‌های مورد مطالعه از رگرسیون چند متغیره استفاده شد. البته تمام مفروضات آنالیز واریانس و هم‌چنین رگرسیون پیش از انجام تحلیل‌های آماری، مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است که تمامی آزمون‌ها در سطح معنی داری کمتر از ۵ درصد تفسیر شدند و نتایج نهایی به صورت Mean±SD گزارش گردید.

نتایج

نتایج شاخص های رشد و بقا شاه میگوهای گروه‌های 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 گروه‌های آزمایشی به طور معنی داری پایین بود($P<0/05$)، هم-

چنین در بین سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نشد(P>۰/۰۵). 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. هم‌چنین استفاده از سطوح مختلف فسفولیپید اختلاف معنی داری را در شاخص میزان بازماندگی در بین گروه های آزمایشی ایجاد نکرد(P>۰/۰۵). 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=۰/۷۴۳،P<۰/۰۵). شاه میگوهای تغذیه شده با جیره فاقد فسفولیپید کم‌ترین رشد را داشته و با افزایش سطح فسفولیپید جیره تا ۰/۵درصد 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 به۰/۵ درصد برآوردشود. 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 شاخص‌های مورد مطالعه و سطوح فسفولیپید جیره غذایی ارتباط معنی‌داری مشاهده نگردید.

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل هپاتوپانکراس شاه‌میگوهای گروه‌های مختلف پس از ۱۲ هفته تغذیه با جیره‌های 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>۰/۰۵). میانگین فعالیت آنزیم گوارشی پروتئاز با افزایش سطوح فسفولیپید جیره از صفر به ۰/۵ درصد در تیمار ۱، ۲ و ۳(به ترتیب، ۰/۳۲±۰/۰۵، ۰/۳۷±۰/۱۰ و ۰/۵۴±۰/۲۵ واحد در میلی گرم پروتئین) روند افزایشی داشت ولی با افزایش میزان فسفولیپید جیره در گروه های آزمایشی ۴، ۵ و ۶(به ترتیب، ۰/۲۴±۰/۰۵، ۰/۲۴±۰/۰۴ و ۰/۲۶±۰/۰۵ 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<۰/۰۵).

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آمیلاز هپاتوپانکراس

شاه‌میگوهای گروه‌های 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، ۰/۸۱±۳۲/۶ واحد در میلی گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی به طور معنی داری پایین بود(P<۰/۰۵). هم-چنین در بین گروه‌های آزمایشی ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶(به ترتیب، ۵/۹۰±۵۶/۲، ۳/۸۹±۵۲/۲، ۴/۷۵±۴۸/۷، ۸/۸۶±۵۷/۵، و ۹/۴۴±۵۵/۴ واحد در میلی گرم پروتئین) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید(P>۰/۰۵).

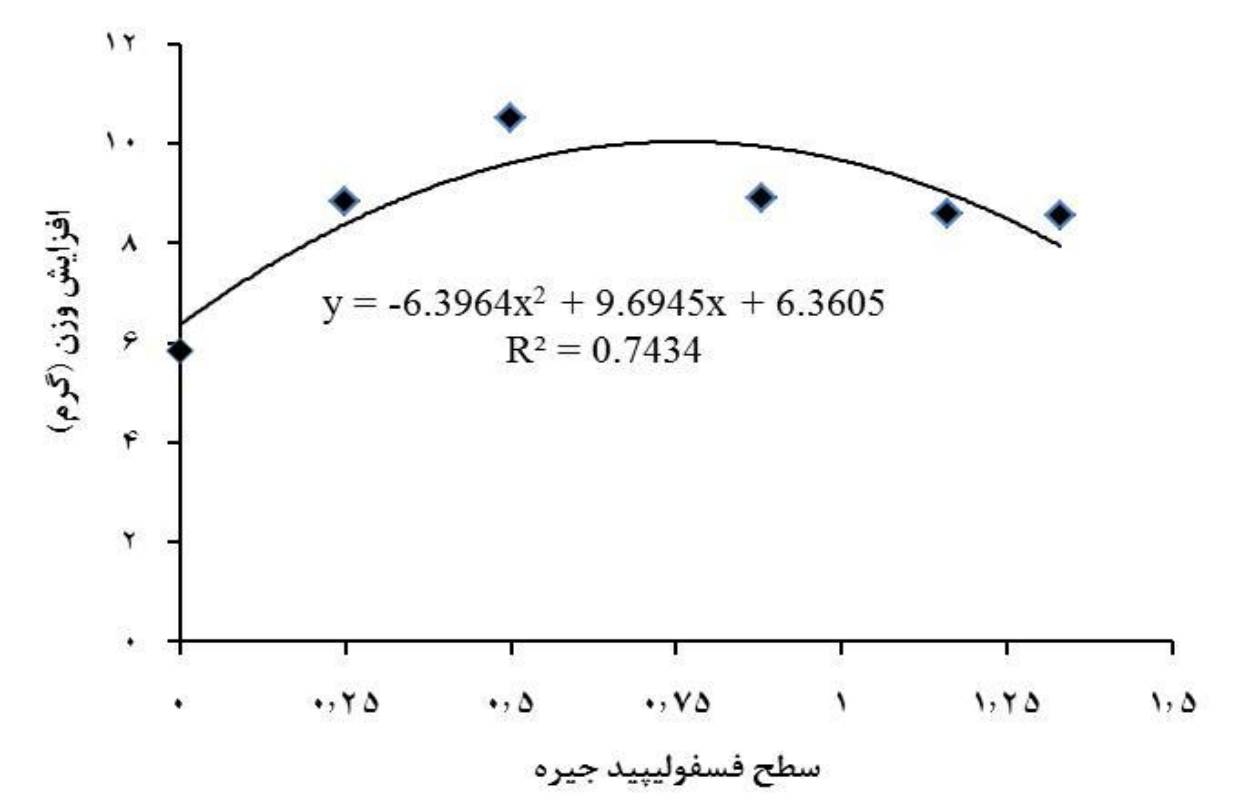
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم لیپاز هپاتوپانکراس

شاه‌میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپید در پایان دوره پرورش نشان داد که میانگین فعالیت آنزیم لیپاز درشاه میگوهای تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰/۵ درصد فسفولیپید(گروه آزمایشی ۳، ۰/۰۵±۰/۴۰ واحد در میلی گرم پروتئین) در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی به طور معنی داری بالا بود(P<۰/۰۵). ولی میان سایر گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۴، ۵ و ۶ از این نظر(به ترتیب، ۰/۰۵±۰/۲۸، ۰/۰۱±۰/۳۲، ۰/۰۵±۰/۳۲، ۰/۳۹±۰/۳۳، و ۰/۰۵±۰/۳۰ واحد در میلی گرم پروتئین) اختلاف معنی-داری مشاهده نگردید(P>۰/۰۵، نمودار ۴).

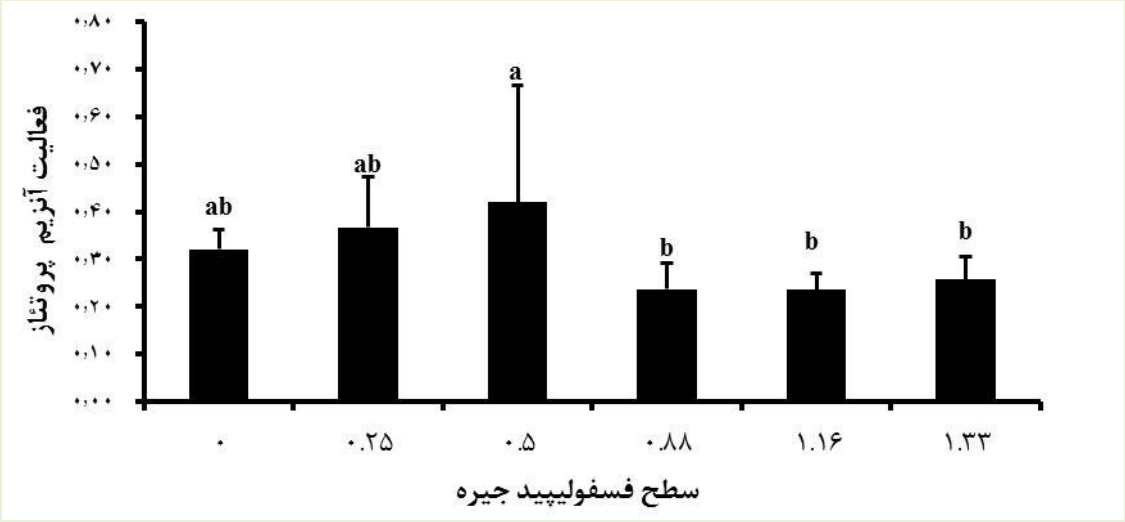
جدول ۳- شاخص های رشد گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش

	گروه های آزمایشی					
	۱	۲	۳	٤	٥	٦
وزن ابتدایی (گرم)	a ۱۳/۸±۱/۰۱	a ۱۳/۷±۱/۳٥	a ۱۳/۹±۱/۲۲	a ۱۳/٦±۱/۸۷	a ۱۳/۷±۱/٦٤	a ۱۳/۹±۱/۲۸
وزن نهایی (گرم)	b ۱۹/٦±۲/۳۹	a ۲۲/٦±۲/۳٦	a ۲٤/۳±۳/۳٥	a ۲۲/۷±۱/۲۷	a /٤±۰/٦۰ ۲۲	a ۲۲/٤±۰/٤٤
طول کل (سانتی متر)	b ۸/۸٦±۰/۱۹	ab ۹/۱٥±۰/۱۷	a ۹/۲٤±۰/۱٥	ab ۹/۰۱±۰/۳٤	ab ۸/۹۱±۰/۲۹	ab ۸/۹٥±۰/۳۳
افزایش وزن (درصد)	b ٤۲/۳±۱۷/۳	a ٦۳/۹±۱۷/۱	a ۷٦/۰±۲٤/۳	a ٦٤/٤±۹/۲۰	a ٦۲/۱٥±٤/۳٥	a ٦۲/۰±۳/۲۱
رشد ویژه (درصد در روز)	b ۰/۳۸±۰/۱٤	a ۰/٥٤±۰/۱۱	a ۰/٦۲±۰/۱٤	a ۰/٥٥±۰/۰٦	a ۰/٥٤±۰/۰۳	a ۰/٥۳±۰/۰۲
شاخص کبدی	a ۷/۳۰±۰/٦۲	a ۷/۲۲±۱/۰۱	a ۷/۳۳±۱/۰۱	a ۷/۲۳±۰/٦٤	a ۷/٥۰±۱/۱٥	a ۷/۲۰±۰/۳٤
بازماندگی (٪)	a ۷٥/۰±۸/۳۳	a ۸٦/۱±۹/٦۲	a ۸۸/۹±٤/۸۱	a ۸۳/۳±۸/۳۳	a ۸۳/۳±۸/۳۳	a ۸٦/۱±٤/۸۱

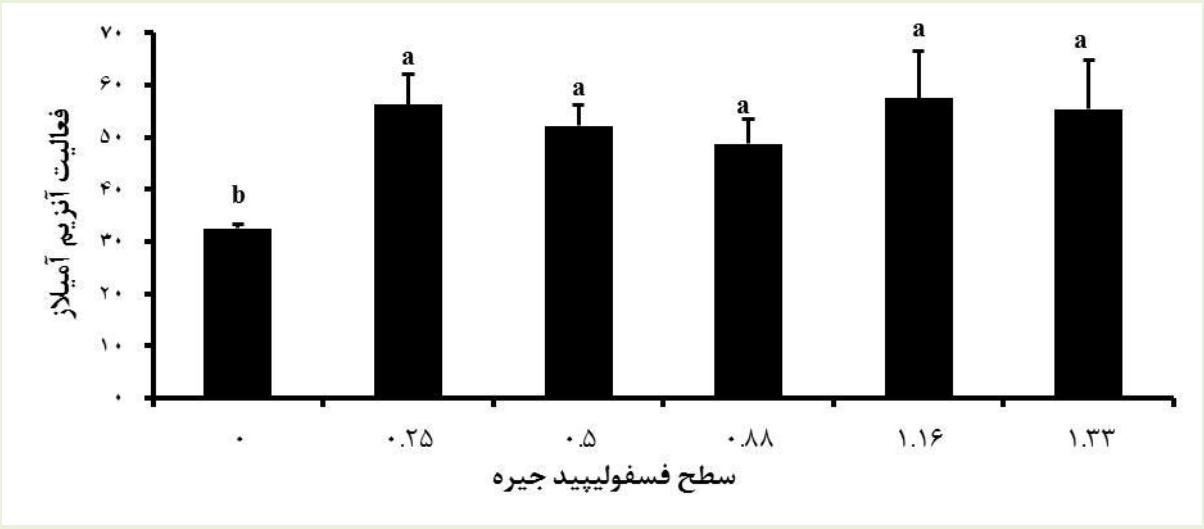
مقادیر ارائه شده در جدول نشان دهنده میانگین±خطای معیار، می باشند. اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار در سطح $p<۰/۰٥$ هستند.



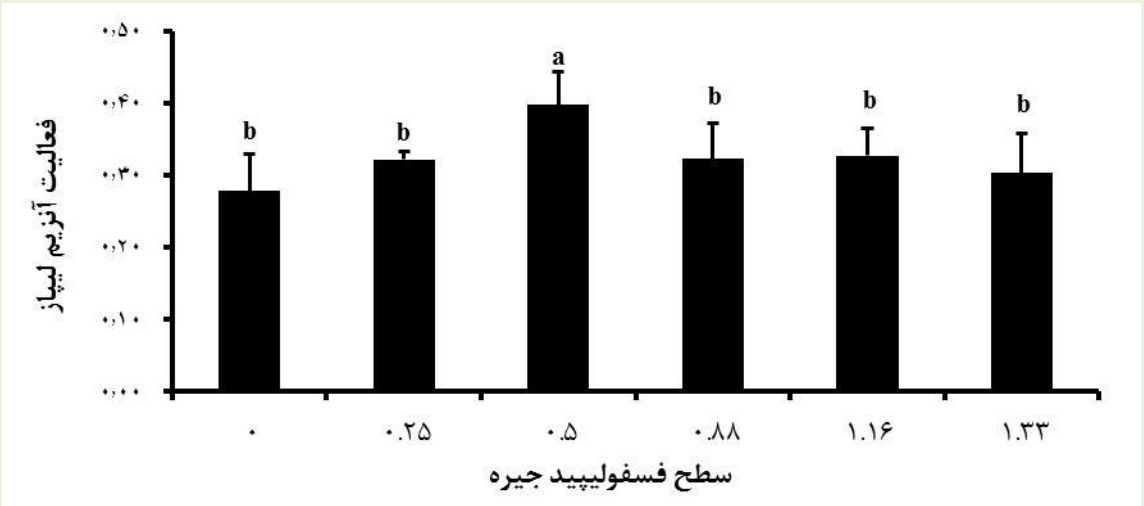
نمودار ۱- رگرسیون کوادراتیک میان میزان فسفولیپید جیره غذایی و میزان افزایش وزن شاه میگوهای تیمارهای مختلف در پایان آزمایش



نمودار۲. فعالیت آنزیم پروتئاز کل هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپد در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری میان گروه‌های آزمایشی در $P<۰/۰۵$ می‌باشد.



نمودار۳. فعالیت آنزیم آمیلاز هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپد در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری میان گروه‌های آزمایشی در $P<۰/۰۵$ می‌باشد.



نمودار٤. فعالیت آنزیم لیپاز هپاتوپانکراس شاه میگوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف فسفولیپد در پایان آزمایش. حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری میان گروه‌های آزمایشی در $P<۰/۰۵$ می‌باشد.

بحث ونتیجه گیری

لسیتین جیره‌غذایی از مواد مغذی ضروری برای سخت پوستان محسوب می‌شود. 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. هم‌چنین سطح بهینه فسفولیپید جیره بر اساس شاخص‌های مذکور ۰/۵ درصد تعیین شد. در مطالعه حاضر میزان رشد، درصد افزایش وزن و بازماندگی شاه میگو ها در سیستم پرورش مداربسته 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 لسیتین 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 وانامی *L. Vann amei* نگردیدکه احتمال می رود گروه‌های دیگری از فسفولیپید ها به غیر PC می تواند باعث بهبود شاخص های رشدی میگوها گردد(۱۲). در مطالعه حاضر ترکیب لسیتین 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٪ لسیتین سویا به جیره خالص با پایه کازیین برای بقای لابستر آمریکایی ضروری می باشد. هم‌چنین فقدان لسیتین سویا در جیره سبب می شود لابسترها فرآیند پوست اندازی موفقی را طی نکنند که باعث کاهش شدید میزان بازماندگی می‌گردد(۶). نیاز فسفولیپیدی میگوی سفید غربی تغذیه شده با جیره نیمه خالص برای افزایش رشد ۵-۳٪ مکمل لسیتین در جیره غذایی می باشد(۱۲). فقدان لسیتین در جیره شاه میگوی*Procambaru sclarkii* باعث کاهش شاخص های رشد و وزن به دست آمده در مقایسه با افراد تغذیه شده با ۶٪ لسیتین در جیره غذایی می گردد(۲۳). هم‌چنین افزودن لسیتین 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 لسیتین حاوی ۶٪ روغن کبد ماهی کاد(۰/۰۴۵ فسفولیپید) به لحاظ شاخص‌های رشد و بقا با میگوهای آب شیرین(*M. rosenbergii*)که ۵٪ لسیتین در جیره غذایی خود دریافت کرده بودند، تفاوت معنی داری نداشت به همین علت می توان اظهار داشت که لسیتین سویا به عنوان یک مکمل ضروری در جیره غذایی نیمه خالص میگوی آب شیرین مطرح نیست(۴). در همین راستا افزودن ۱ و ۲٪ لسیتین 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). لابستر آمریکایی دارای ظرفیت محدودی در سنتز PC می‌باشد، اما افزودن مکمل لسیتین در جیره‌هایی 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 لسیتین در جیره سخت پوستان آب شیرین و دریایی و نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر چند نکته قابل بحث وجود دارد: نخست آن‌که 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

کلسترول ناشناخته است و از سوی دیگر در سایر سخت پوستان فقدان کلسترول سبب کاهش رشد و بقا آن‌ها می‌گردد(۱۹). میزان نیاز میگوی سفید غربی *L. vann amei* به لسیتین در جیره های فاقد کلسترول ۳٪ می باشد(۱۲). شاخص های رشد و بقا در میگوی ژاپنی *P. japonicus* تغذیه شده با سطوح مختلف فسفولیپید به همراه مکمل کلسترول در جیره غذایی تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت(۲۸). وجود کلسترول در جیره می-تواند سطح مورد نیازلسیتین را کاهش دهد(۱۳)، ولی در مطالعه حاضر با وجود ۰/۵ کلسترول در جیره شاخص رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی در جیره آزمایشی فاقد فسفولیپید کاهش یافت و با افزایش میزان فسفولیپید بهبود عملکرد رشد و فعالیت آنزیم های گوارشی مشاهده گردید. نکته دوم این‌که کارایی مکمل فسفولیپیدی و یا به عبارتی میزان نیاز موجود به لسیتین می‌تواند 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. هم‌چنین، استفاده از مقدار فسفولیپید کافی در جیره غذایی سبب افزایش هضم و جذب چربی‌ها می شود. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که افزودن لسیتین به جیره غذایی سبب افزایش انتقال چربی‌ها به همولنف می شود(۲۷). در مطالعه حاضر نیز استفاده از سطوح مختلف فسفولیپید جیره افزایش میزان فعالیت آنزیم های گوارشی را به دنبال داشته است. هم‌چنین منبع تامین پروتئین در جیره غذایی می-تواند بر کارایی فسفولیپیدها موثر باشد. چنان چه از پودر خرچنگ به عنوان منبع پروتئینی در جیره غذایی لابستر آمریکایی استفاده گردد، سطوح مختلف فسفولیپید 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 اسیدآمینه کازئین در جیره خرچنگ چینی *Eriocheir sinensis* مشابه پودر ماهی، پودر میگو و سویامی باشد(۲۴). نتایج شاخص های رشد مطالعه حاضر نیز می‌تواند حاکی از مقبولیت و کیفیت متناسب جیره از لحاظ منابع پروتئینی و ترکیب اسیدهای آمینه باشد. تاکنون گزارشی از اثرات فسفولیپیدها بر روی فعالیت آنزیم های گوارشی در سخت پوستان صورت نگرفته است. استفاده از فسفولیپیدها در جیره غذایی برخی ماهیان مانند ماهی سوف(۱۴) و قزل آلای رنگین کمان(۲) حاکی از افزایش فعالیت آنزیم های گوارشی می باشد که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. به طور کلی لسیتین سبب بهبود عملکرد آنزیم‌های پانکراسی برای هضم بیشتر می گردد. فسفولیپیدها به واسطه افزایش لیزوفسفولیپیدها و به شکل غیر مستقیم با افزایش سطح سیتوکنین 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 لسیتین 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 فسفولیپیدی جیره غذایی نیاز دارد. بنابر این لازم است در تنظیم جیره غذایی برای این گونه، از لسیتین سویا به عنوان مکمل فسفولیپیدی استفاده گردد. به علاوه بر اساس نتایج رشد وبازماندگی، میزان ۰/۵ درصد فسفولیپید با منشا لسیتین سویا در جیره غذایی مورد استفاده جهت پرورش متراکم این گونه توصیه می‌شود

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 cholesteroland lecithin requirements of juvenile prawn(*Macro brachium 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 bodylipid 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 survivalof 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 LangostillaPleuroncodesplanipes 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., Kestemontc, 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 cholesterolrequirements of juvenile lobster Homarus *americanus* using crabprotein-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 nutritionfor the shrimp *Penaeus chinensis*: 10. Studies on the cholinechloride 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 merguiensis*. 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). Worthingt 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. Jalili[1], **N. Agh[2]**, A. Imani[1], F. Noori[2]

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

Inroduction & 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 tankswith 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 lipidwere formulated to containgraded 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 proteinin experimental diets.

Results: Result showed final body weight, WG, SGR and amylase activitysignificantly decreased in crayfish received diet devoids 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). Moreove, crayfish fed with diet containing % 0.5 phospholipidhad the highest weight gains, protease and lipase activity. Regarding survival rates of various experiental 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-clawe crayfish.

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