



Original Research Paper

The evaluation of dietary substitution of fishmeal with marine microalgae *Arthrospira platensis* meal on growth parameters, nutrient digestibility, immunity and stress of narrow clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*)

Omid Safari ^{*1}, Saeed Zahedi ¹, Fatemeh Davoudi Sefidkahi ¹, Maryam Ameri ², Marina Paolucci ³

¹ Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

² Industrial Microbial Biotechnology Department, Research Institute for Industrial Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research, Mashhad, Iran

³ Department of Sciences and Technologies, University of Sannio, Benevento, Italy

Key Words

Arthrospira biomass
Fishmeal
Growth performance
Immunity
Crayfish

Abstract

Introduction: This study aimed to evaluate the effect of the dietary substitution of *Arthrospira platensis* meal on growth, immunity, nutrient digestibility and stress tolerance of narrow clawed crayfish, *Pontastacus leptodactylus*.

Materials & methods: Different levels of *Arthrospira* microalgae meal were 0, 25, 50, 75 and 100%. Narrow clawed crayfish with an average initial weight of 4.24 ± 0.09 g were selected in a completely randomized design with three replications for 63 days.

Results: The obtained results showed that higher juvenile final weights (24.35 g) were observed by 75% fishmeal substitution with *Arthrospira* meal. Moreover, specific growth rate ($2.78\% \text{ day}^{-1}$), and protein efficiency ratio (3.24) had higher values in 75% fishmeal substitution with *Arthrospira* diet compared to the control ($p < 0.05$). In contrast, feed conversion ratio (1.91) was lowest in animals fed on diets containing 75% *Arthrospira* meal replacement with fishmeal ($p < 0.05$). Productive protein value (59%), *in vivo* apparent digestibility coefficients of organic matter (83.17%), and *in vivo* apparent digestibility coefficients of crude protein (92%) significantly increased compared to the control ($p < 0.05$). Phenoloxidase, superoxide dismutase, nitric oxide synthase, and lysozyme, as well as amylase, lipase, and alkaline protease activities were improved with an increase in the dietary inclusion level of *Arthrospira* meal. Besides, *Lactobacillus* count and *Escherichia coli* count showed increasing and decreasing trends during the increase in the level of fishmeal replacement, respectively ($p < 0.05$). Finally, two-slope straight broken line regression models estimated that the appropriate level of substitution of fishmeal (%) with *Arthrospira* meal to reach the highest specific growth rate and weight gain, and the best feed conversion ratio could be 76.84%, 80.24%, and 88.91%, respectively.

Conclusion: In conclusion, the results showed the fishmeal replacement with *A. platensis* meal in the range of 76-89% as a reliable protein alternative in the aquafeed industry.

* Corresponding Author's email: omidsafari@um.ac.ir

Received: 21 May 2024; Reviewed: 22 June 2024; Revised: 22 August 2024; Accepted: 24 September 2024

(DOI): [10.22034/AEJ.2023.414257.3028](https://doi.org/10.22034/AEJ.2023.414257.3028)

مقاله پژوهشی

ارزیابی جایگزینی پودر ماهی با پودر ریز جلبک آرتروسپیرا (*Arthrospira platensis*) بر شاخص‌های عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، ایمنی و استرس در خرچنگ چنگال باریک (*Pontastacus leptodactylus*)

امید صفری^{۱*}، سعید زاهدی^۱، فاطمه داودی سفیدکوهی^۱، مریم عامری^۲، مارینا پائولوچی^۳

^۱ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲ گروه بیوتکنولوژی میکروبی صنعتی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، سازمان جهاد دانشگاهی، مشهد، ایران

^۳ گروه علوم و فناوری، دانشگاه سانیو، بنونتو، ایتالیا

کلمات کلیدی

چکیده

زیست توده آرتروسپیرا
پودر ماهی
عملکرد رشد
ایمنی
خرچنگ

مقدمه: این مطالعه با هدف بررسی اثر جایگزینی پودر ماهی با سطوح مختلف پودر ریز جلبک آرتروسپیرا (*Arthrospira platensis*) بر عملکرد رشد، ایمنی، قابلیت هضم مواد مغذی و تحمل استرس در خرچنگ چنگال باریک (*Pontastacus leptodactylus*) انجام شود. **مواد و روش‌ها:** سطوح مختلف پودر ریز جلبک آرتروسپیرا ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بود. خرچنگ چنگال باریک با میانگین وزن اولیه 0.9 ± 0.24 گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به مدت ۶۳ روز انتخاب گردیدند.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین میزان وزن نهایی ($24/3$ گرم) در سطح جایگزینی ۷۵ درصد پودر ماهی با پودر ریز جلبک آرتروسپیرا مشاهده شد ($p < 0.05$)؛ هم‌چنین این سطح از جایگزینی بیشترین میزان رشد ویژه ($2/78$ درصد در روز) و میزان کارایی پروتئین ($3/24$) و کمترین ضریب تبدیل غذایی ($1/91$) را نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد ($p < 0.05$). ارزش تولیدی پروتئین (59 درصد)، ضرایب قابلیت هضم ظاهری درون‌تنی ماده آلی ($83/17$ درصد) و پروتئین خام (92 درصد) نیز در سطح جایگزینی ۷۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری از خود نشان داد ($p < 0.05$). با افزایش سطوح جایگزینی پودر ماهی با پودر ریز جلبک آرتروسپیرا فعالیت فنل اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، نیتریک اکسید سینتاز و لیزوزیم همولنف و هم‌چنین فعالیت‌های آمیلاز، لیپاز و آلکالین پروتئاز هپاتوپانکراس بهبود یافتند. در حالی که تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس و اشیریشیا کلی به ترتیب روند افزایشی و کاهشی را با توجه به افزایش سطوح جایگزینی نشان دادند ($p < 0.05$). در نهایت معادله رگرسیون خط شکسته نشان داد که سطح مناسب جایگزینی پودر ماهی با پودر ریز جلبک آرتروسپیرا جهت دستیابی به بیشترین میزان رشد ویژه، افزایش وزن بدن و بهترین ضریب تبدیل غذایی به ترتیب $76/84$ ، $80/24$ و $88/91$ درصد بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، نتایج نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر ریز جلبک آرتروسپیرا در محدوده ۷۶-۸۹ درصد، می‌تواند به‌عنوان یک منبع پروتئینی مطمئن در صنعت تولید غذای آبزیان باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: omidsafari@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ خرداد ۱۴۰۳؛ تاریخ داوری: ۲ تیر ۱۴۰۳؛ تاریخ اصلاح: ۱ شهریور ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۳ مهر ۱۴۰۳

(DOI): 10.22034/AEJ.2023.414257.3028

مقدمه

صنعت آبی پروری در دهه‌های اخیر توسعه چشمگیری داشته و هم‌راستا با تولید محصولات آبی پروری، مصرف آن‌ها نیز افزایش یافته است. در طی سال‌های ۲۰۱۷-۱۹۶۱، میزان مصرف جهانی محصولات آبی پروری (۳/۱ درصد) بیش تر از میزان مصرف محصولات حیوانات مزرعه‌ای (۲/۱ درصد) و هم‌چنین میزان رشد جمعیت انسانی (۱/۶ درصد) بوده است (۱). تولید ماهیان باله‌دار در طی سال‌های ۲۰۱۸-۲۰۰۰ با کاهش جزیی همراه بوده، در حالی که تولید سخت‌پوستان روندی به‌رشدی را نشان داده است و کارشناسان آینده امیدوارکننده‌ای را در زمینه پرورش و توسعه آن‌ها پیش‌بینی می‌کنند (۱). امروزه صنعت تولید غذای آبزیان با مشکل تأمین پایدار مواد اولیه جیره‌های غذایی مواجه شده است. در نتیجه، استفاده از فرمولاسیون جدید خوراک بسیار مهم تلقی شده و جایگزینی اقلام غذایی به‌عنوان یک راه حل معقول پیشنهاد می‌شود (۲). در بحث جایگزینی باید موارد بسیاری از جمله قیمت مناسب، تثبیت و نگه‌داری خوب مواد مغذی، خوش طعم بودن و قابلیت هضم قابل قبول در نظر گرفته شود تا رشد و ایمنی حیوان تضمین شود (۳). با توجه به اهمیت پودر ماهی در جیره غذایی آبزیان و افزایش تقاضای جهانی آن، جایگزینی پودر ماهی با منابع جدید به‌عنوان یکی از اهداف راهبردی ضروری در صنعت تولید غذای آبزیان مطرح می‌باشد. جایگزینی پودر ماهی با موجودات تک سلولی (Single-cell ingredients (SCI؛ ریزجلبک‌ها، قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها) در این زمینه مورد توجه بوده و چشم‌انداز امیدوارکننده‌ای را نشان داده است (۱). موجودات تک سلولی به‌عنوان منابع پروتئینی و چربی و هم‌چنین به دلیل ارزش شناخته شده به‌عنوان مواد ایمن در فرمولاسیون جیره‌های غذایی آبزیان به کار برده می‌شوند. یکی از بهترین ایده‌ها در جایگزینی پودر ماهی، استفاده از ریزجلبک‌های دریایی (مانند کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*))، آرتروسپیرا، هماتوکوکوس پلویالیس (*Haematococcus pluvialis*) و شیزوکیتریوم (*Schizochytrium* sp) می‌باشد و مطالعات انجام شده تا به امروز نتایج دلگرم‌کننده‌ای را در این زمینه به همراه داشته‌اند (۳). به نظر می‌رسد این گونه‌ها منابع پروتئینی پایدار و سالم‌تری هستند و کم‌ترین اثر ردپای اکولوژیک را بر جای می‌گذارند (۱، ۴، ۵). ریزجلبک‌های دریایی با دارا بودن رنگدانه‌های مختلف، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری (امگا ۳ و امگا ۶)، قابلیت هضم مناسب پروتئین، کربوهیدرات‌های عملکردی و پپتیدهای زیست فعال به‌عنوان افزودنی و مکمل‌های غذایی مطرح هستند

(۶). میزان تولید جهانی ریزجلبک آرتروسپیرا در طی سال‌های ۲۰۱۸-۲۰۰۵ از ۴۸/۵ هزار تن به ۶۹/۶ هزار تن افزایش یافته است (۱). آرتروسپیرا ریزجلبک رشته‌ای از گروه سیانوباکترها، غنی از پروتئین بوده و به‌عنوان یک رنگدانه طبیعی در جیره غذایی گونه‌های پرورشی استفاده می‌شود (۱، ۴). تاکنون جایگزینی جزئی و کامل موفقیت‌آمیز پودر ماهی با پودر ریزجلبک آرتروسپیرا در برخی از گونه‌های مختلف سخت‌پوستان از جمله شاه میگوی رودخانه‌ای (*Macrobrachium rosenbergi*) (۷)، *Litopenaeus schmitti* (۸) و میگوی پاسفیدغربی (*L. vannamei*) (۹) گزارش شده است. یافته‌های Pakravan و همکاران، در حذف کامل پودر ماهی با پودر ریزجلبک آرتروسپیرا در جیره غذایی میگوی پاسفید غربی (۲/۶ گرم) نشان داد که این جایگزینی هیچ تاثیری بر عملکرد رشد این گونه نداشته است و سطح جایگزینی ۵۰ درصد با پودر ریزجلبک آرتروسپیرا منجر به تغییر فعالیت تریپسین و کیمو تریپسین میگوها شد (۴). از دلایل بهبود میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر جلبک گونه آرتروسپیرا می‌توان به عدم حضور دیواره سلولی، پروفیل مناسب اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و فیکوسیانین به‌عنوان ترکیبات غذا-داروی موجود در این جلبک اشاره نمود. کارایی گنجاندن پودر آرتروسپیرا به جای پودر ماهی در جیره‌های آبزیان به عواملی هم چون گونه آرتروسپیرا، روش کشت و نوع فرآوری آن و هم‌چنین به نوع رژیم غذایی، مرحله زندگی و غیره حیوانات پرورشی (ماهی یا سخت‌پوستان) بستگی دارد. بنا بر مطالعات انجام شده، هیچ اطلاعاتی در مورد استفاده از پودر آرتروسپیرا در جیره غذایی خرچنگ چنگال باریک در دسترس نیست. با توجه به ارزش اقتصادی زیاد خرچنگ چنگال باریک و رشد سالانه آن (۲/۵ درصد طی سال‌های ۲۰۲۵-۲۰۲۰) (۱۰)، مطالعات بیش‌تری جهت تولید موثر این گونه‌های ارزشمند نیاز است. از این‌رو، این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا بر شاخص‌های عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، ایمنی و مقاومت در برابر باکتری در خرچنگ چنگال باریک نوجوان انجام شد.

مواد و روش‌ها

خرچنگ‌های نوجوان: ۳۳۰ قطعه خرچنگ چنگال باریک با میانگین وزن $4/24 \pm 0/09$ گرم از یک سد آبی (منطقه تربت حیدریه، خراسان رضوی، ایران) در شرایط پرورش گسترده صید شدند. دوره سازگاری ده روز به طول انجامید که در آن خرچنگ‌ها در ۱۵ مخزن

یونیزه، $0.06 <$ میلی گرم در لیتر و محتوای نیتريت، $0.06 <$ میلی گرم در لیتر به صورت هفتگی پایش شدند (۱۱). دوره نوری به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی بوده است. در طی این آزمایش، غذادهی خرچنگ‌ها سه نوبت در روز (۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰) به میزان چهار درصد وزن بدن انجام شد. هر ۲۱ روز، زیست سنجی انجام و میزان غذای داده شده اصلاح گردید.

تهیه جیره‌های غذایی: جیره غذایی تیمار شاهد از مخلوط کردن اقلام غذایی به گونه‌ای که توسط Safari و همکاران گزارش شده بود (۱۱)، آماده شد (جدول ۱).

۱۰۰۰ لیتری (۲۲ خرچنگ در هر مخزن) نگه‌داری و با جیره شاهد غذادهی شدند. میزان تعویض روزانه آب ۳۰ درصد به صورت ثابت و براساس مطالعات قبلی انجام شده در شرایط آزمایشگاهی بوده که برای خرچنگ‌های نوجوان مناسب بود. ۲۲ لوله پلاستیکی (شعاع ۲ سانتی متر و طول ۱۴ سانتی متر) در داخل هر مخزن قرار داده شد که خرچنگ‌های نوجوان برای مخفی شدن از آن استفاده می‌کردند. در این آزمایش دمای مخازن پرورشی حدود $25/5$ درجه سانتی‌گراد بود. اکسیژن محلول، 16 ± 0.35 میلی گرم در لیتر؛ pH، 7.1 ± 0.32 ؛ سختی، 138 ± 6 میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم؛ آمونیاک غیر

جدول ۱: اقلام و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی خرچنگ‌های نوجوان حاوی سطوح مختلف جایگزینی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا (درصد)

آرتروسپیرا	شاهد	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	اقلام جیره (گرم در کیلوگرم)
۳۵۰	۲۶۲/۵	۱۷۵	۸۷/۷	۰	۰	پودر ماهی ^۱
۰	۷۸/۹	۱۵۷/۹	۲۳۶/۸	۳۱۵/۷	۰	پودر اسپیرولینا ^۲
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	پودر سویا ^۱
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	گلوتن ذرت ^۱
۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	آرد گندم ^۱
۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰	نشاسته ذرت ^۱
۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	روغن ماهی ^۱
۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	روغن کانولا ^۱
۵	۵	۵	۵	۵	۵	لسیتین سویا ^۱
۵	۵	۵	۵	۵	۵	گلوکوز آمین ^۳
۵	۵	۵	۵	۵	۵	کلسترول ^۴
۵	۵	۵	۵	۵	۵	کولین کلراید ^۴ (۷۰ درصد)
۵	۵	۵	۵	۵	۵	ویتامین C مقاوم ^۴
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	مکمل ویتامینی ^۴
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	مکمل معدنی ^۴
۴/۹	۴/۹	۴/۹	۴/۹	۴/۹	۴/۹	ضد قارچ ^۱
۳۴/۳	۸/۶	۱۷/۱	۲۵/۷	۳۴/۳	۳۴/۳	کربوکسی متیل سلولز ^۳
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	ایتر بیوم اکسید ^۳
ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)^۵						
۹۲۲	۸۲۹/۳۹	۸۳۰/۰۸	۸۲۹/۸۷	۸۲۹/۵۵	۸۲۹/۲۴	ماده خشک
۶۸۴	۳۸۱/۲۵	۳۸۱/۳۳	۳۸۱/۳۸	۳۸۱/۳۶	۳۸۱/۳۹	پروتئین خام
۳۱	۱۳۷/۰۱	۱۳۶/۷۴	۱۳۶/۴۸	۱۳۶/۶۲	۱۳۵/۹۵	چربی خام
۱۱	۳۶/۷	۳۷/۶	۳۸/۵	۳۹/۳	۴۰/۲	فیبر خام
۲۵۳	۲۷۴/۳۳	۲۷۴/۴۱	۲۷۳/۵۱	۲۷۲/۲۷	۲۷۱/۷	عصاره عاری از ازلت ^۵
۱۸/۴۲	۱۴/۵۸	۱۴/۵۳	۱۴/۵۲	۱۴/۵۴	۱۴/۵۵	انرژی ناخالص (مگا ژول در کیلوگرم)
-	۴۳	۵۸	۷۲	۸۶	۱۰۰	نسب پروتئین گیاهی به میزان کل پروتئین (درصد)
۸۲/۷۱	۱۱/۷۱	۱۲/۱۳	۱۲/۵۵	۱۲/۹۶	۱۳/۳۸	اسیدهای چرب اشباع کوتاه زنجیره (درصد) ^۶
۴/۱۳	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	اسیدهای چرب غیر اشباع تک زنجیره ^۶ (درصد)
۳/۹۸	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷	اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره ^۶ (درصد)
۰/۸۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند ^۶ (درصد)
۰/۹۹	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	امگا ۳ (درصد)
۹/۲۷	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷	امگا ۶ (درصد)
۰/۱۱	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	امگا ۳/امگا ۶

۱ شرکت تولید غذای آبزیان سرآمد، ایران: ۶۱/۸ درصد پروتئین خام، ۳/۱ درصد چربی خام، ۳/۱ درصد خاکستر و ۱۹/۴۳ مگاژول در کیلوگرم انرژی ناخالص؛ ۲ ACECR، ایران: ۳ Sigma، آلمان؛ ۴ کیمیا رشد، ایران؛ ۵ تمام ترکیبات شیمیایی اقلام غذایی و جیره‌های آزمایشی به جز عصاره عاری از ازلت طبق دستورالعمل AOAC اندازه‌گیری شد. عصاره عاری از ازلت = ماده خشک - (پروتئین خام + چربی خام + فیبر خام + خاکستر)؛ ۶ داده‌ها به صورت درصد کل متیل استرهای اسید چرب بیان شد. * ترکیبات مکمل معدنی (میلی گرم در کیلوگرم): منیزیم (۱۰۰)، روی (۶۰)، آهن (۴۰)، مس (۵)، کبالت (۰/۱)، ید (۰/۱) و آنتی اکسیدان (۱۰۰). * ترکیبات مکمل ویتامینی (میلی گرم در کیلوگرم): E (۳۰)، K (۳)، تیامین (۲)، ریبوفلاوین (۷)، پیریدوکسین (۳)، پانتوتنیک اسید (۱۸)، نیاسین (۴۰)، فولاسین (۱/۵)، کولین (۶۰۰)، بیوتین (۰/۷) و سیانوکوبالامین (۰/۰۲)

دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک و در نهایت در کیسه‌های نایلونی ضد آب قرار داده شد و تا زمان استفاده در فریزر نگهداری گردید.

شاخص‌های عملکرد رشد و کارایی تغذیه: پس از ۲۴

ساعت قطع غذادهی، خرنج‌ها در روز ۶۳ از دوره پرورش وزن شدند. شاخص‌های رشدی برحسب میزان غذای خورده شده اصلاح شد. میزان زنده‌مانی، شاخص‌های عملکرد رشد و کارایی تغذیه به شرح زیر محاسبه شد (۲، ۳، ۱۱):

$$100 \times (\text{تعداد اولیه ماهیان} \div \text{تعداد نهایی ماهیان}) = (\text{درصد}) \text{ میزان زنده‌مانی}$$

$$(\text{گرم}) \text{ وزن اولیه} - (\text{گرم}) \text{ وزن نهایی} = (\text{گرم}) \text{ افزایش وزن}$$

$$= (\text{درصد}) \text{ افزایش وزن بدن}$$

$$100 \times [(\text{وزن اولیه (گرم)}) \div (\text{میانگین وزن اولیه (گرم)} - \text{میانگین وزن نهایی (گرم)})]$$

$$= (\text{درصد / روز}) \text{ میزان رشد ویژه}$$

$$100 \times [(\text{طول دوره آزمایش}) \div (\text{لگاریتم وزن اولیه}) - (\text{لگاریتم وزن نهایی})]$$

$$= (\text{درصد وزن بدن در روز}) \text{ مصرف اختیاری غذا}$$

$$100 \times [(\text{زمان} \times \text{وزن میانگین}) - (\text{غذای مصرف شده (گرم ماده خشک)})]$$

$$= \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\text{مقدار غذای خورده شده در طول دوره پرورش (گرم)} \div (\text{افزایش وزن ماهی (گرم)}) =$$

$$= \text{میزان بازده پروتئین}$$

$$\text{پروتئین مصرفی (گرم)} / \text{وزن تر تولید شده (گرم)}$$

$$= (\text{درصد}) \text{ ارزش تولیدی پروتئین}$$

$$100 \times [(\text{درصد پروتئین مصرفی}) \div (\text{پروتئین اولیه بدن} - \text{پروتئین نهایی بدن})]$$

پودر آرتروسپیرا (IBRC-M 50177) توسط گروه بیوتکنولوژی میکروبی-صنعتی سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی تهیه شد. زیست توده آرتروسپیرا در سه ظرف شیشه‌ای ۱۲۰ لیتری با شوری ۱۰ گرم در لیتر با دوره نوری، ۱۸:۶ و شدت نور، ۷۰۰۰ لوکس تولید شد. فرمول شیمیایی کود پرورش، ۱۲:۱۲:۳۶ پتاسیم: فسفر: نیتروژن بوده است. پس از ۲۱ روز، آرتروسپیرا پرورش یافته از طریق الک ۵۰ میکرومتری جمع‌آوری و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه فریز درایر (Freeze-dried) خشک گردید. در پایان در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی و جهت تجزیه و تحلیل بیش‌تر در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. جیره‌های شاهد و آزمایشی به ترتیب با سطوح مختلف جایگزینی (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا فرموله شدند (جدول ۲). اقلام خوراکی در ابتدا خرد شدند (کم‌تر از ۲۵۰ میکرومتر). سپس به میزان ۳۰ درصد وزنی آب به مخلوط اضافه شد و پس از ایجاد همگنی از دستگاه اکسترودر (با قطر چشمه ۲ میلی‌متر، سرعت ۰/۱۳ کیلوگرم بر دقیقه، یک منطقه حرارتی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت سیلندر مخلوط کننده ۱۶۰ دور بر دقیقه عبور داده شد (شرکت فردان ماشین، خراسان رضوی، ایران). در ادامه روغن ماهی اضافه گردید. خوراک حاصل در

جدول ۲: ترکیب اسید آمینه (گرم در کیلوگرم بر اساس ماده خشک) جیره‌های آزمایشی خرنج‌های نوجوان حاوی سطوح مختلف جایگزینی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا

اسید آمینه ضروری (EAAs)	شاهد	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	پودر ماهی	پودر آرتروسپیرا
آرژنین	۰/۱۲۰	۱۹/۰۰	۱۷/۹۹	۱۶/۹۷	۱۵/۹۶	۳۹	۳۰/۴
هیستیدین	۱۲/۱۱	۱۰/۵۰	۸/۸۹	۷/۲۸	۵/۶۶	۲۵	۷/۳
ایزولوسین	۱۸/۶۶	۱۸/۲۷	۱۷/۸۸	۱۷/۴۹	۱۷/۱۰	۳۶/۲	۳۵/۲
لوسین	۳۳/۹۴	۳۲/۹۵	۳۱/۹۷	۹۹/۳۰	۳۰/۰۰	۴۸/۴	۴۱/۲
لایزین	۲۰/۰۳	۱۸/۸۳	۱۷/۶۲	۱۶/۴۲	۱۵/۲۱	۴۳/۹	۳۳/۴
متیونین	۶/۶۳	۶/۹۰	۷/۱۷	۷/۴۳	۷/۷۰	۱۲/۳	۱۷
فنیل آلانین	۱۹/۰۰	۱۷/۹۵	۱۶/۹۱	۱۵/۸۶	۱۴/۸۲	۳۰/۸	۲۰/۹
تروئونین	۱۴/۷۶	۱۴/۰۹	۱۳/۴۳	۱۲/۷۶	۱۲/۰۹	۲۸/۳	۲۲/۹
تریپتوفان	۰/۶۱	۰/۶۰	۰/۵۹	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۸۹	۰/۸۷
والین	۲۰/۸۰	۱۹/۸۰	۱۸/۸۱	۱۷/۸۱	۱۶/۸۲	۳۹/۸	۳۱/۵
مجموع اسیدهای آمینه ضروری	۱۶۶/۵۶	۱۵۸/۹۰	۱۵۱/۲۶	۱۴۳/۶۰	۱۳۵/۹۴	۳۰۴/۵۹	۲۴۰/۶۷
اسیدهای آمینه غیر ضروری (NEAAs)							
آلانین	۲۳/۵۵	۲۳/۰۴	۲۲/۵۵	۲۲/۰۴	۲۱/۵۴	۴۱	۳۹/۱
آسیار تیک	۳۱/۲۶	۲۹/۶۸	۲۸/۱۱	۲۶/۵۳	۲۴/۹۵	۵۸	۴۴/۳
سیستئین	۴/۷۷	۵/۵۵	۶/۳۴	۷/۱۲	۷/۹۰	۹	۱۹/۹
گلوتامیک	۶۳/۸۳	۶۲/۳۴	۶۰/۸۶	۵۹/۳۷	۵۷/۸۹	۸۳	۷۳/۲
گلايسین	۱۹/۹۸	۱۸/۰۴	۱۶/۱۰	۱۴/۱۵	۱۲/۲۱	۴۳	۲۲/۰۳
پرولین	۲۲/۹۱	۲۱/۹۴	۲۰/۹۷	۱۹/۹۹	۱۹/۰۲	۲۷	۱۷/۶
سربین	۱۴/۵۰	۱۴/۵۱	۱۴/۵۳	۱۴/۵۵	۱۴/۵۶	۲۲	۲۴/۶
تیروزین	۱۳/۱۷	۱۳/۱۷	۱۳/۱۶	۱۳/۱۵	۱۳/۱۵	۲۱	۲۳/۲
مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری	۱۹۳/۹۷	۱۸۸/۲۷	۱۸۲/۶۰	۱۷۶/۹۱	۱۷۱/۲۱	۳۰۴/۰۰	۲۶۴/۹۳
مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری	۳۶۰/۵۳	۳۴۷/۱۸	۳۳۳/۸۷	۳۲۰/۵۱	۳۰۷/۱۵	۶۰۸/۵۹	۵۰۵/۶۰

در *Micrococcus lysodeikticus* در ۵۳۰ نانومتر به دست آمد (۱۶). در نهایت، میزان فعالیت های آنزیمی با استفاده از میزان پروتئین محلول استاندارد شد.

فعالیت آنزیم های گوارشی: در روز ۶۳ از آزمایش، ۱۵ خرچنگ به ازای هر تیمار (پنج موجود به ازای هر تکرار) به آزمایشگاه منتقل شدند. این خرچنگ ها همان نمونه هایی بودند که در تجزیه و تحلیل همولنف استفاده شدند. پس از بی هوشی خرچنگ ها به کمک یخ هپاتوپانکراس جدا و به آرامی با آب مقطر شسته شد و با دستمال کاغذی خشک گردید. هپاتوپانکراس های جدا شده (۳۰ گرم در ۷۰ میلی لیتر آب مقطر) توسط هموژنایزر هموژن شدند. بخش هموژن شده به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی حاصله سریعاً در نیتروژن مایع نگهداری شد. نشاسته (۱۷)، آلفا-فیتیل کاپریلات (۱۸) و آروکازین (۱۹) جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم های گوارشی آمیلاز، لیپاز و آلکالین پروتئاز به ترتیب در طول های موج ۵۵۰، ۵۴۰ و ۳۶۶ نانومتر استفاده گردید. واحد آنزیمی برحسب واحد در میلی گرم پروتئین بیان گردید.

تجزیه و تحلیل میکروبی: در روز ۶۳ آزمایش، ۱۲ خرچنگ زنده بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی از هر تیمار نمونه برداری گردید. سپس، خرچنگ ها با کمک یخ تمیز، بی حس شده و با کلرید بنزاکونیوم (Benzalkonium chloride) (۱/۰ درصد به مدت یک ساعت) شسته شدند. هپاتوپانکراس با دقت با کمک تیغ اسکالپل برداشت شد و با محلول کلرید سدیم (۹/۰ وزنی-حجمی) در دستگاه هموژنایزر یکنواخت شد و در نهایت ترکیب حاصله به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد، یک نمونه ۱۰۰ میکرولیتری به ترتیب روی پلت های کانت آگار (Merck، آلمان)، پلت دمن (De Man)، روگوساوشارپ (Merck، آلمان) و سیب زمینی دکستروز آگار (Merck، آلمان) و مک کانکی آگار (Merck، آلمان) جهت سنجش کل باکتری های هوای، لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus*)، اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) و قارچ استفاده شد. پلت ها به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه نگه داری شدند و زمانی شمارش آغاز گردید که تعداد کلنی به ۳۰ تا ۳۰۰ عدد رسید (۲).

چالش (مواجهه) درون تنی توسط باکتری ها: در روز ۶۴ آزمایش، به ۱۲ شاه میگو در هر تیمار دو میلی لیتر سوسپانسیون حاوی 1×10^8 سلول در میلی لیتر آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) ATCC ۴۹۱۴۱ تزریق شد (۲۰، ۲۱). خرچنگ های تزریق شده گرسنه بودند و پس از ۴۸ ساعت میزان زنده ماندی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی و ترکیب شیمیایی بدن:

پس از ۵۵ روز تغذیه با جیره های آزمایشی، مدفوع خرچنگ ها از روز ۵۶ تا ۶۲ دوره آزمایش، باسیفون کردن جمع آوری شد. سپس نمونه های جمع آوری شده در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت (۱۵ گرم مدفوع خشک شده برای هر تکرار) جهت تجزیه و تحلیل بیش تر خشک گردید. ضرایب قابلیت هضم ظاهری درون تنی ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و انرژی ناخالص جیره های آزمایشی، از طریق روابط زیر محاسبه شدند (۱۱):

(درصد) ضریب قابلیت هضم ظاهری = ((میزان ماده مغذی در جیره آزمایشی × میزان نشانگر موجود در مدفوع / میزان ماده مغذی در مدفوع × میزان نشانگر موجود در جیره آزمایشی) - ۱) × ۱۰۰
میزان ماده نشانگر (۰/۱ گرم بر کیلوگرم ایتربیوم اکسید) در جیره غذایی و مدفوع بود. میزان ماده خشک، پروتئین خام (نیتروژن × ۶/۲۵)، چربی خام، خاکستر و فیبر خام خرچنگ ها (۹ موجود از هر تیمار)، اقلام غذایی، جیره ها و مدفوع براساس روش های استاندارد انجام شد (۱۲). از دستگاه طیف سنج (GBC Integra XL:ICP-OES) ICP (استرالیا) جهت تعیین اکسید ایتربیوم در جیره ها و مدفوع استفاده گردید. ترکیب اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه پودر آرتروسیپرا و جیره های آزمایشی براساس روش های ذکر شده توسط Lepage و Roy (۱۳) و Cohen و همکاران (۱۴) اندازه گیری شد.

شاخص های همولنف و اندازه گیری فعالیت های فنل اکسیداز

(PO)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، نیتریک اکسید سینتاز (NOS) و لیزوزیم (LYZ): در پایان دوره آزمایش، پس از یک روز قطع غذادهی، ۱۵ خرچنگ از هر تیمار برداشته شد. مطابق با دستورالعمل اخلاق پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد (IR.UM.REC. 1401.140)، خرچنگ ها با محلول گل میخک (۵/۰ گرم در لیتر) بی هوش شدند. همولنف برداشت و در میکروتیوب ها به دو روش (الف) بدون ماده ضدانعقاد و (ب) با ۰/۴ میلی لیتر آلزور (Alsever) به عنوان ماده ضدانعقاد در دمای اتاق ذخیره شد. پلاسما با متانول تثبیت و به روش می-گرووناد-گیمسا (May Grunwald-Giemsa) رنگ آمیزی شد. سپس تعداد کل همولنف (THC)، هیالین (HC)، گرانولار کوچک (SGC) و بزرگ (LGC) با استفاده از لام نئوبار انجام شد (۱۵). نمونه های سرم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. فنل اکسیداز (PO)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و نیتریک اکسید سینتاز (NOS) به ترتیب در طول موج های ۴۹۰، ۵۵۰ و ۵۸۰ نانومتر با توجه به روش هایی که قبلاً توضیح داده شد، اندازه گیری شدند (۱۱). علاوه بر این، لیزوزیم (LYZ) با کاهش جذب نسبت به سوسپانسیون

چربی خام (۸۷-۸۶ درصد) و انرژی ناخالص (۸۷/۱۷-۸۷/۳۳ درصد) در تیمارهای جایگزینی ۷۵ و ۱۰۰ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

شاخص‌های همولنف و فعالیت آنزیم سرم: تغذیه خرچنگ‌های

نوجوان با جیره‌های حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا (۲۵ تا ۱۰۰ درصد)، تعداد THC، $10^5 \times 178-118$ سلول در میلی‌لیتر؛ SGC، $10^5 \times 39-25$ سلول در میلی‌لیتر؛ LGC، $10^5 \times 48-25$ سلول در میلی‌لیتر؛ بیش‌تری را نسبت به تیمار شاهد (به ترتیب ۱۱۱، ۲۰ و $10^5 \times 19$ سلول در میلی‌لیتر) نشان دادند ($p < 0.05$). مقدار HC در خرچنگ‌های نوجوان ($10^5 \times 90-83$ سلول در میلی‌لیتر) تیمارهای ۱۰۰-۵۰ درصد جایگزینی پودر ماهی به‌طور قابل توجهی در مقایسه با خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره غذایی شاهد و جایگزینی ۲۵ درصد پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا افزایش یافت ($p < 0.05$). کم‌ترین میزان فعالیت PO سرم (۲/۰۳ واحد در دقیقه) در خرچنگ‌های تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). جایگزینی ۱۰۰-۵۰ درصدی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا منجر به افزایش فعالیت‌های SOD، NOS و LYZ سرم در مقایسه با خرچنگ‌هایی شد که از جیره‌های غذایی تیمار شاهد و سطح جایگزینی ۲۵ درصد پودر آرتروسیپرا تغذیه شده‌اند ($p < 0.05$) (جدول ۴).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی: با افزایش سطوح جایگزینی پودر

ماهی با پودر آرتروسیپرا (۱۰۰-۲۵ درصد)، افزایش قابل توجهی در فعالیت آمیلاز نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). علاوه بر این، فعالیت‌های لیپازیم ($10^3 \times 5-8$ واحد در میلی‌گرم) و آلکالین پروتئاز ($10^3 \times 7-4$ واحد در میلی‌گرم) در تیمارهای جایگزینی ۱۰۰-۵۰ درصد، نسبت به تیمار شاهد و تیمار جایگزینی ۲۵ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). بیش‌تری میزان فعالیت‌های آمیلاز، لیپاز و آلکالین پروتئاز در خرچنگ‌های نوجوانی که با سطوح جایگزینی ۷۵ و ۱۰۰ درصد پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا تغذیه شده بودند، مشاهده گردید (جدول ۵).

تجزیه و تحلیل میکروبی: با افزایش سطح جایگزینی پودر

ماهی با پودر آرتروسیپرا، تعداد باکتری لاکتوباسیلوس روده از $10^7/87$ به 10^3 Log CFU g⁻¹ نسبت به تیمار شاهد ($10^7/4$ Log CFU g⁻¹) افزایش یافت. با افزایش مقدار جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا در جیره‌های آزمایشی، تعداد باکتری اشیریشیا کلی روده طی دوره آزمایشی ۶۳ روزه کاهش یافت (جدول ۶).

چالش درون تنی توسط باکتری‌ها: تمام سطوح جایگزینی

پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا (۲۵-۱۰۰ درصد) سبب افزایش میزان زنده‌مانی خرچنگ‌های نوجوان پس از تزریق آئروموناس هیدروفیلا نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0.05$). در این راستا، پس از چالش ۲ روزه، خرچنگ‌های نوجوانی که با بیش‌ترین سطوح جایگزینی (۷۵-۱۰۰ درصد) تغذیه شدند، حداکثر میزان زنده‌مانی را نسبت به سایر تیمارها از خود نشان دادند ($p < 0.05$) (شکل ۳).

تحلیل آماری: جهت تبدیل تمامی داده‌های درصدی از روش

Arcsinus استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با آزمون Leven بررسی شد. سپس از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده گردید. هم‌چنین ضمن مشاهده اختلاف معنی‌دار، از آزمون چند دامنه‌ای Duncan جهت مقایسه تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارها استفاده شد ($p < 0.05$). علاوه بر این از نرم‌افزار XLSTAT ۲۰۱۲ برای ایجاد روابط رگرسیون استفاده شد. با استفاده از معادله رگرسیون خط شکسته، مقدار ایده‌آل جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا به‌دست آمد (۲۲). تمام داده‌های ارائه شده در این مطالعه به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شد.

نتایج

میزان زنده‌مانی، عملکرد رشد و کارایی تغذیه: در طول

دوره پرورش میزان زنده‌مانی خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی پودر آرتروسیپرا نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($p < 0.05$)؛ به گونه‌ای که بیش‌ترین میزان زنده‌مانی در سطوح جایگزینی ۷۵ و ۱۰۰ درصد پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا مشاهده شد ($p < 0.05$). علاوه بر این، نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا در سطوح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) سبب بهبود شاخص‌های عملکرد رشد در خرچنگ‌های نوجوان (وزن نهایی، میزان رشد ویژه، مصرف اختیاری غذا و ضریب تبدیل غذایی) و میزان بازده پروتئین و ارزش تولیدی پروتئین شده است. در بین سطوح مختلف جایگزینی، بیش‌ترین میزان وزن نهایی (۲۴/۳۵ گرم)، رشد ویژه (۲/۷۸ درصد در روز)، بازده پروتئین (۳/۲۴) و ارزش تولیدی پروتئین (۵۹ درصد) و هم‌چنین کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی (۱/۹۱) در جایگزینی ۷۵ درصد پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۳). براساس معادله رگرسیون خط شکسته بهترین سطوح جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا جهت رسیدن به حداکثر میزان رشد ویژه، افزایش وزن و حداقل ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب ۷۶/۸۴، ۸۰/۲۴ و ۸۸/۹۱ درصد بوده است (شکل‌های ۱ و ۲).

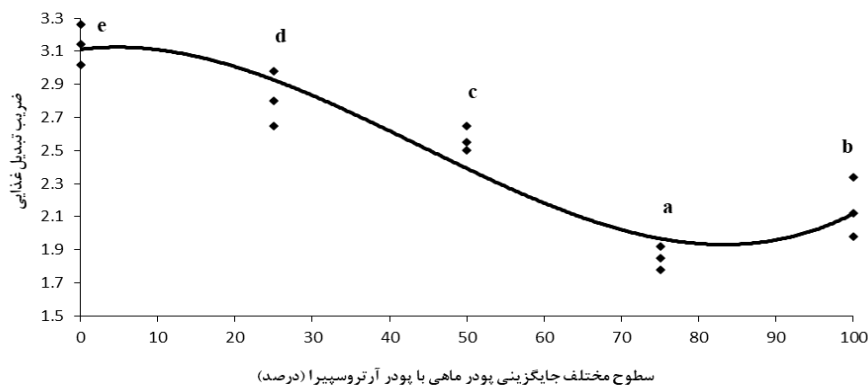
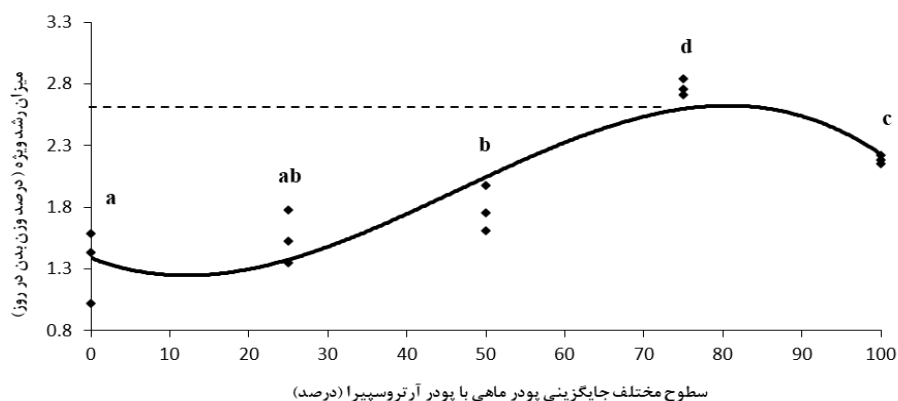
قابلیت هضم درون تنی ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام

و انرژی ناخالص: با تغییر جزئی سطوح جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا از ۲۵ به ۷۵ درصد، مقدار قابلیت هضم درون تنی ماده آلی از ۶۸ به ۸۳/۱۷ درصد افزایش یافت. تیمار جایگزینی ۷۵ درصد دارای بیش‌ترین مقدار قابلیت هضم درون تنی پروتئین خام (۹۲ درصد) بود. علاوه بر این، حداکثر مقدار قابلیت هضم درون تنی

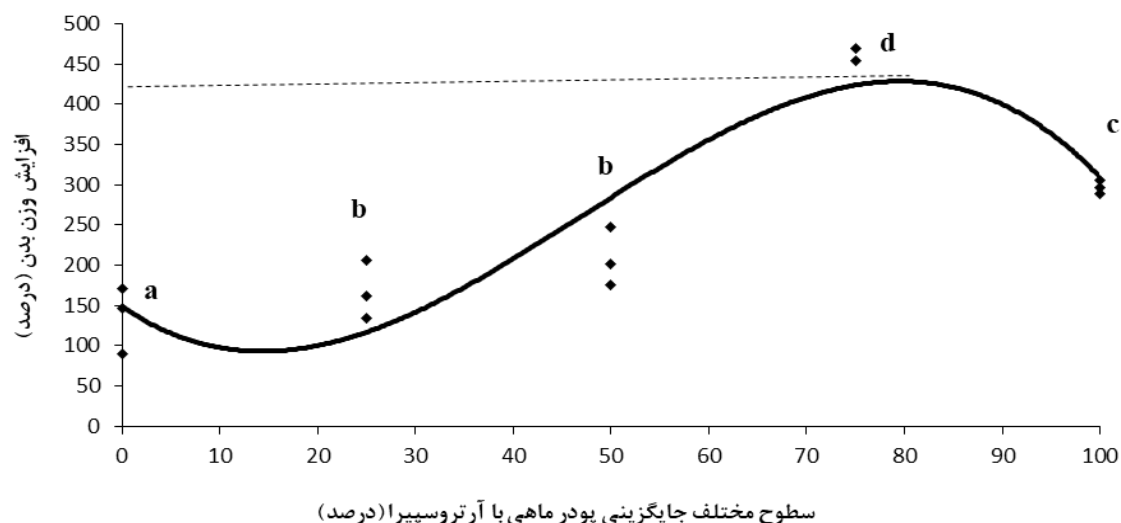
جدول ۳: شاخص‌های عملکرد رشد، کارایی تغذیه و ضرایب قابلیت هضم ظاهری خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر آرتروسیپرا (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) به‌جای پودر ماهی در طی ۶۳ روز

سطح معنی‌داری		خطای استاندارد		جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با آرتروسیپرا (درصد)					شاخص
رگرسیون خطی	رگرسیون درجه دو	آنوا	خطای استاندارد	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	شاهد	
۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۵۹۲	۰/۰۰۳	۴/۲۴	۴/۲۴	۴/۲۵	۴/۲۴	۴/۲۴	وزن اولیه (گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۳۴۵	۱۶/۸۳ ^c	۲۴/۳۵ ^d	۱۳/۱۰ ^b	۱۱/۳۵ ^{ab}	۱۰/۰۱ ^a	وزن نهایی (گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۲/۸۲۸	۹۵ ^b	۹۵ ^b	۸۰ ^{ab}	۷۵ ^{ab}	۶۵ ^a	زنده‌مانی (درصد)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۷۷۴	۱۲/۵۹ ^c	۲۰/۱۱ ^d	۸/۸۵ ^b	۷/۱۰ ^b	۵/۷۷ ^a	افزایش وزن (گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۰۷	۲/۱۹ ^c	۲/۷۷ ^d	۱/۷۸ ^b	۱/۵۵ ^{ab}	۱/۳۵ ^a	رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۷	۲/۹۸ ^d	۳/۱۵ ^e	۲/۷۴ ^c	۲/۱۰ ^b	۱/۹۸ ^a	مصرف اختیاری غذا (درصد وزن بدن در روز)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۷۴	۲/۱۵ ^b	۱/۹۱ ^a	۲/۵۰ ^c	۲/۸۱ ^d	۳/۱۴ ^e	ضریب تبدیل غذایی
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۱۳۱	۲/۴۳ ^{bc}	۳/۲۴ ^c	۲/۰۶ ^{ab}	۱/۹۲ ^{ab}	۱/۱۰ ^a	میزان بازده پروتئین
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۶۴۱	۵۱ ^c	۵۹ ^d	۴۸ ^c	۴۰ ^b	۳۴ ^a	ارزش تولیدی پروتئین (درصد)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۳۷۹	۷۹/۷ ^c	۸۳/۱۷ ^d	۷۲/۰۷ ^c	۶۸ ^b	۶۱ ^a	قابلیت هضم درون تنی ماده آلی (درصد)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۴۹۹	۹۰ ^d	۹۳ ^e	۸۵/۳۳ ^c	۸۱ ^b	۷۷ ^a	قابلیت هضم درون تنی پروتئین خام (درصد)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۴۱۴	۸۶ ^d	۸۷ ^d	۷۵ ^c	۶۹ ^b	۶۳ ^a	قابلیت هضم درون تنی چربی خام (درصد)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۳۵۷	۸۷/۳۳ ^d	۸۸/۱۷ ^d	۷۹/۱۷ ^c	۷۲/۱۷ ^b	۶۶ ^a	قابلیت هضم درون تنی انرژی ناخالص (درصد)

* داده‌های ارائه شده میانگین $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. * حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0.05$)



شکل ۱. تخمین میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا در جیره غذایی خرچنگ‌های نوجوان با کمک داده‌های (الف) میزان رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز) و (ب) ضریب تبدیل غذایی؛ با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیون خط شکسته در سه تکرار ($p < 0.05$)



شکل ۲: تخمین میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسیپرا در جیره غذایی خرچنگ‌های نوجوان با کمک داده‌های افزایش وزن بدن (درصد)، با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیون خط شکسته در سه تکرار ($p < 0.05$)

جدول ۴: تعداد کل همولنف (THC)، هیالین (HC)، گرانولار کوچک (SGC) و بزرگ (LGC) و میزان فعالیت فنل اکسیداز (PO)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، نیتریک اکسید سینتاز (NOS) و لیزوزیم (LYZ) خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر آرتروسیپرا (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) به جای پودر ماهی در طی ۶۳ روز درجه

سطح معنی داری		خطای استاندارد	جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با آرتروسیپرا (درصد)					شاهد	
			۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	صفر		
رگرسیون درجه دو	رگرسیون خطی	آنوا							
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۷۴۸	۱۷۸d	۱۷۹d	۱۳۵c	۱۱۸b	۱۱۱a	THC ($10^5 \times$ سلول بر میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۷۴۸	۹۰c	۹۷d	۸۳b	۷۵a	۷۳a	HC ($10^5 \times$ سلول بر میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۶۵۷	۳۹c	۴۵d	۳۵c	۲۵b	۲۰a	SGC ($10^5 \times$ سلول بر میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۸	۰/۶۶۳	۴۸d	۵۲d	۳۵c	۲۵b	۱۹a	LGC ($10^5 \times$ سلول بر میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۰	۵d	۶e	۴c	۳b	۲/۰۳a	PO (واحد در دقیقه)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۵۱	۳/۸۷b	۵/۲۳c	۳/۹۰b	۲/۵۳a	۱/۹۷a	SOD (واحد در دقیقه)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۳۲	۳/۸۰b	۴/۸۰c	۳/۵۷b	۲/۳۷a	۱/۹۷a	NOS (واحد در دقیقه)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۲۳	۷/۵۰c	۸/۴۰d	۵/۸۷b	۴/۳۳a	۳/۹۰a	LYZ (واحد در دقیقه)

* داده‌های ارائه شده میانگین $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. * حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0.05$)

جدول ۵: میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر آرتروسیپرا (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) به جای پودر ماهی در طی ۶۳ روز

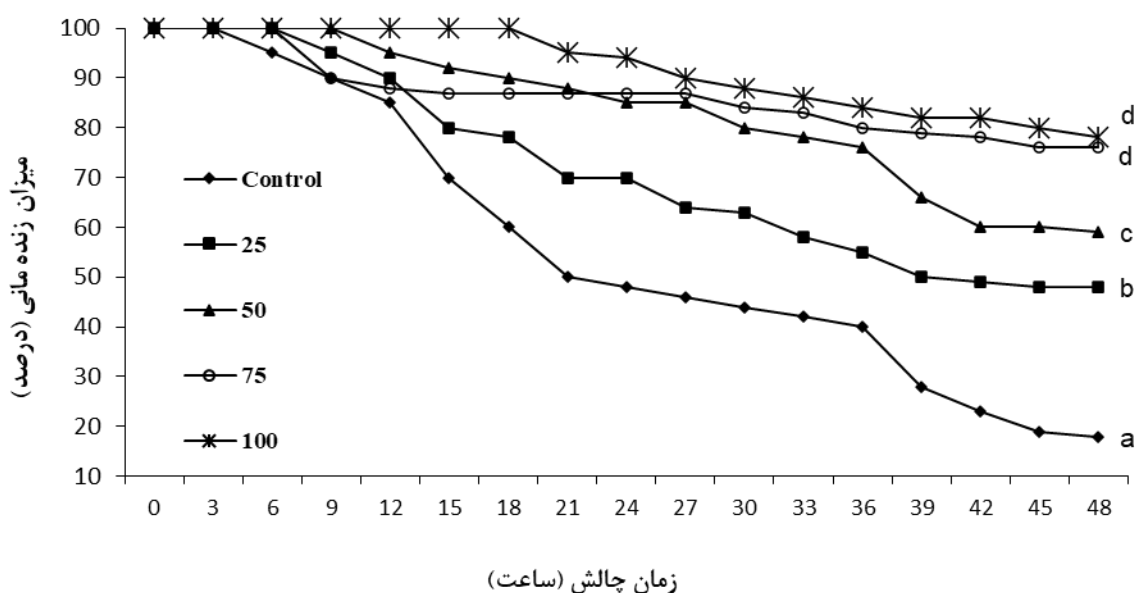
سطح معنی داری		خطای استاندارد	جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با آرتروسیپرا (درصد)					شاهد	
			۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	صفر		
رگرسیون درجه دو	رگرسیون خطی	آنوا							
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۱۱	۹/۰۰d	۹/۱۰d	۶/۰۰c	۳/۸۷b	۱/۷۳a	آمیلاز (واحد در میلی گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۶	۸/۰۳c	۹/۰۳c	۵/۰۳b	۴/۰۳ab	۳/۰۷a	لیپاز (واحد در میلی گرم)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۳	۷/۸۳c	۸/۰۰c	۴/۵۳b	۲/۴۳a	۱/۹۷a	آلکالین پروتئاز (واحد در میلی گرم)

* داده‌های ارائه شده میانگین $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. * حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0.05$)

جدول ۶: تعداد جوامع میکروبی روده در خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر آرتروسپیرا (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) به جای پودر ماهی در طی ۶۳ روز

سطح معنی داری		خطای استاندارد		جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با آرتروسپیرا (درصد)					تعداد کل باکتری‌های هوازی (Log CFU g-1)
رگرسیون خطی	رگرسیون درجه دو	آنوا	خطای استاندارد	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	شاهد	
۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۳۴۵	۰/۰۱۲	۶/۳۲ ^a	۶/۳۴ ^a	۶/۳۴ ^a	۶/۳۴ ^a	۶/۳۲ ^a	تعداد کل باکتری‌های هوازی (Log CFU g-1)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۷	۳/۰۰ ^d	۲/۹۹ ^d	۲/۳۶ ^c	۱/۸۷ ^b	۰/۷۴ ^a	لاکتوباسیلوس‌ها (Log CFU g-1)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۸۹ ^a	۰/۹۰ ^a	۰/۹۷ ^b	۱/۱۱ ^c	۱/۲۴ ^d	اشریشیا کلی (Log CFU g-1)
۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۷۸۴	۰/۰۰۸	۰/۴۵ ^a	۰/۴۴ ^a	۰/۴۳ ^a	۰/۴۵ ^a	۰/۴۴ ^a	قارچ‌ها (Log CFU g-1)

*داده‌های ارائه شده میانگین $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد. *حروف لاتین غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0.05$)



شکل ۳: میزان زنده ماندن (درصد) خرچنگ‌های نوجوان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد)، در طی ۴۸ ساعت پس از تزریق آئروموناس هیدروفیلا در سه تکرار ($p < 0.05$).

با پودر آرتروسپیرا در خرچنگ‌های چنگال باریک جهت رسیدن به حداکثر میزان رشد ویژه (۲/۷۸ درصد در روز)، وزن نهایی (۴۲۹/۵۴ درصد) و حداقل ضریب تبدیل غذایی (۱/۹۱)، ۷۶/۸۴ تا ۸۱/۹۹ درصد جایگزینی بوده است. تغذیه میگوی پا سفید غربی (۲۴)، شاه میگوی رودخانه‌ای (۲۵)، دو گونه اصلی از کپور ماهیان هندی *Catla catla* و *Labeo rohita* (۲۶)، تیلاپای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) (۲۷)، ماهی دم شمشیری سبز (*Xiphophorus helleri*) (۲۸)، تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) (۲۹) و تاس‌ماهی سفید (*A. transmontanus*) (۳۰) با پودر آرتروسپیرا اثرات نامطلوبی بر رشد این گونه‌ها نداشته است. این نتایج ممکن است مرتبط با وجود

بحث

توجه به فرمولاسیون جیره، روش‌های تولید آن و هم‌چنین وابستگی کم‌تر به استفاده از پودر ماهی، از عوامل ضروری جهت دستیابی به تولید پایدار گونه‌های مختلف ماهیان باله‌دار و پوسته‌داران می‌باشد (۱۱، ۲۳). در این مطالعه جایگزینی پودر ماهی (جزئی یا کامل) با پودر آرتروسپیرا در غذای خرچنگ‌های نوجوان سبب بهبود زنده‌مانی، عملکرد رشد (وزن نهایی، رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و کارایی تغذیه (کارایی پروتئین و ارزش تولیدی پروتئین) شد. با توجه به معادله رگرسیون خط شکسته، بهترین سطح جایگزینی پودر ماهی

پروتئین خام زیاد و اسیدهای آمینه ضروری و ارزش غذایی زیاد پودر آرتروسپیرا باشد (۱۱). در مطالعه حاضر، میزان پروتئین خام پودر آرتروسپیرا (۷۰/۵ درصد) بیش تر از پودر ماهی (۶۱/۷ درصد) بوده است؛ هر چند نباید میزان زیاد رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را در این گونه نادیده گرفت (۴). در مطالعات همبستگی و ارتباط بین پروتئین و چربی خام جیره غذایی با میزان تثبیت مواد مغذی و هم‌چنین شاخص‌های عملکرد رشد گزارش شده است (۴، ۳۱). جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا، ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های غذایی به‌ویژه محتوای امگا ۳ و امگا ۶ را تغییر نداد؛ علت این امر را می‌توان به وجود چربی کم پودر آرتروسپیرا به‌عنوان یک مکمل پروتئینی نسبت داد (۴). پذیرش سطوح زیاد استفاده از پودر آرتروسپیرا در جیره غذایی خرچنگ چنگال باریک ممکن است به رژیم غذایی گیاه‌خوار تا همه چیزخوار بودن آن‌ها مربوط باشد و دانستن این که در چه سنی توانایی گنجاندن این مقدار و پذیرش آن‌ها در جیره غذایی دارند، ضروری است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که خرچنگ‌های آزمایشی با وزن اولیه حدود ۴ گرم می‌توانند گنجاندن سطوح زیاد پودر آرتروسپیرا در جیره را با روندهای کاهشی امگا ۳ و امگا ۶ تحمل کنند. جایگزینی پودر آرتروسپیرا میزان ضرایب قابلیت هضم ظاهری درون تنی ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و انرژی ناخالص و هم‌چنین آمیلاز و لیپاز و آلکالین پروتئاز را افزایش داد. در میگوی پا سفید غربی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ درصد پودر آرتروسپیرا، فعالیت آنزیم‌های دستگاه گوارش (تریپسین و کیموتریپسین) افزایش یافت (۴). در گونه *Parribacus japonicus* افزایش فعالیت تریپسین در هنگام استفاده از جیره غذایی حاوی ریز جلبک گزارش شده است (۳۲)؛ علت این امر ممکن است ناشی از کمبود دیواره سلولی و متعاقباً افزایش فراهمی زیستی ترکیبات تغذیه‌ای آرتروسپیرا باشد. هم‌چنین مواردی از جمله کیفیت مناسب پروتئین ریزجلبک‌های دریایی و در دسترس بودن اسیدهای آمینه آزاد (۴، ۳۲) ممکن است مسیرهای بیوشیمیایی که آنزیم‌های گوارشی را فعال می‌کنند، اثرگذار باشند (۴، ۳۲، ۵۳). جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا سبب افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش قابل توجهی در تعداد اشریشیا کلی شد. استفاده از جیره‌های غذایی حاوی ریزجلبک‌ها جهت تقویت میکروب‌های مفید دستگاه گوارش و تولید آنزیم‌های گوارشی درون‌زا پیشنهاد شده است (۳۳، ۳۴). اثر مهارکننده پودر آرتروسپیرا در شرایط آزمایشگاهی بر رشد عوامل بیماری‌ز مانند استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی توسط Kaushik و Chauhan عنوان شده است (۳۵). عصاره (متانولی و آبی) پودر آرتروسپیرا باعث کاهش رشد کاندیدا آلبیکنس و در مقابل افزایش رشد لاکتوکوکوس لاکتیس شده است. فعالیت‌های ضدباکتریایی و

ضدقارچی آرتروسپیرا احتمالاً به وجود آلکالوئیدها و لیپوپلی ساکاریدها مربوط می‌باشد (۳۶). اثر مثبت مکمل آرتروسپیرا بر فلور روده ماهی دم‌شمشیری سبز گزارش شده است (۲۸). گمان می‌شود که افزایش فلور میکروبی در دستگاه گوارش منجر به هضم بهتر غذا می‌گردد. تفاوت مشاهده شده بین قابلیت هضم خرچنگ‌ها در شرایط درون تنی از مواد مغذی (ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام) و انرژی ناخاص جیره‌های آزمایشی با تیمار شاهد را می‌توان به محتوای کربوهیدراتی پودر آرتروسپیرا به‌عنوان یک بستر پری‌بیوتیک مناسب برای باکتری‌های مفید دستگاه گوارش نسبت داد. پری‌بیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها ایمنی جانوران آبی (سیستم ایمنی سیستمیک و موضعی) را از طریق مسیرهای خاصی به دلیل ماهیت بازدارندگی خود در دستگاه گوارش تقویت می‌کنند؛ این کار از طریق رقابت برای مکان‌های اتصال، کاهش میزان pH، ترشح اسیدهای آلی و آنتی‌بیوتیک‌های تولید شده از میکروفلور مفید انجام می‌شود (۳۷، ۳۸، ۵۴). نتایج به‌دست آمده اثرات مثبت جایگزینی را بر شاخص‌های اندازه‌گیری همولنف خرچنگ چنگال باریک (THC، HC، SGC و LGC) نشان داد. هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (SOD، PO، NOS)، فعالیت‌های لیپوزیم و افزایش مقاومت در برابر یک باکتری گرم منفی فرصت‌طلب با تزریق آئروموناس هیدروفیلا مشاهده شد. شمارش هموسیت‌ها می‌تواند یک نشانگر زیستی سلامت در سخت‌پوستان از طریق سمیت سلولی و تنظیم مسیرهای بیوشیمیایی سیستم پروفنول اکسیداز در نظر گرفته شود (۳۹). اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، از جمله اسیدهای استیک، پروپیونیک و به‌ویژه اسیدهای بوتیرات به‌عنوان محصولات نهایی سین‌بیوتیک‌ها (۴۰) می‌توانند به نحوی پارامترهای رشد و ایمنی گونه‌های پرورش یافته را بهبود بخشند (۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵). علاوه بر این، بوتیرات می‌تواند قابلیت هضم درون تنی مواد مغذی و انرژی ناخالص را افزایش داده (۲۰، ۴۶) و به‌عنوان منبع انرژی مناسب میکروبی‌ها در دستگاه گوارش (۴۴)، کارایی تغذیه را افزایش داده (۴۷) و با تحریک مسیرهای ایمنی، در نهایت میزان را در برابر عوامل استرس‌زا محافظت کند (۴۴، ۴۸). نقش اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه جهت افزایش تولید چربی و حفظ مواد مغذی قابل توجه می‌باشد (۴۹)؛ بنابراین بوتیرات می‌تواند بیان ژن مرتبط با *Salmonella sp* را کاهش دهد (۵۰)؛ هرچند، میزان بوتیرات در دستگاه گوارش خرچنگ اندازه‌گیری نشد و ایجاد ارتباط در این رابطه در مطالعه امکان‌پذیر نیست. پاسخ‌های ایمنی مشاهده شده و بهبود کلی شاخص‌هایی هم‌چون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های همولنف خرچنگ در هنگام جایگزینی پودر آرتروسپیرا را می‌توان به وجود 1- β -3-گلوکان نسبت داد که می‌تواند در تعامل بین فلور باکتریایی دستگاه گوارش و پودر آرتروسپیرا به‌عنوان یک

آرتروسپیرا در جیره خرچنگ چنگال باریک توصیه می شود. تحقیقات بیش تری جهت مطالعه مکانیسم های احتمالی زیربنای مسیرهای ایجاد پیام و تعدیل ایمنی مشاهده شده در طول جایگزینی پودر آرتروسپیرا و مهم تر از آن اشکال و سطوح گنجاندن آن نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله توسط معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد به شماره ۲/۵۰۱۷۶ مورد حمایت مالی قرار گرفته است.

منابع

1. **FAO. 2020.** The state of world fisheries and aquaculture, sustainability in action. Rome, Italy.
2. **Safari, O., Paolucci, M. and Motlagh, H.A., 2017.** Effects of synbiotics on immunity and disease resistance of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). Fish Shellfish Immunol. 64. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.049>.
3. **Glencross, B.D., Booth, M. and Allan, G.L., 2007.** A feed is only as good as its ingredients - A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquac Nutr. 13(1): 17-34. <https://doi.org/10.1111/j.1365.2095.2007.00450.x>.
4. **Pakravan, S., Akbarzadeh, A., Sajjadi, M.M., Hajimoradloo, A. and Noori, F., 2017.** Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. Aquac. Res. 48(11): 5576-5586. <https://doi.org/10.1111/are.13379>.
5. **Bélanger, A., Sarker, P.K., Bureau, D.P., Chouinard, Y. and Vandenberg, G.W., 2021.** Apparent Digestibility of Macronutrients and Fatty Acids from Microalgae (*Schizochytrium* sp.) Fed to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): A Potential Candidate for Fish Oil Substitution. Animals. 11(2): 456. <https://doi.org/10.3390/ani11020456>.
6. **Kim, S.K., 2011.** Marine medicinal foods, implications and applications, macro and microalgae; in Advances in food and nutrition research. Academic Press.
7. **Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Shanthi, R. and Muralisankar, T., 2014.** Replacement of fishmeal with *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Azolla pinnata* on non-enzymatic and enzymatic antioxidant activities of *Macrobrachium rosenbergii*. J. Basic Appl. Zool. 67: 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2013.12.003>.

سین بیوتیک نقش داشته باشد. بنابراین، می توان حدس زد که فعالیت باکتری های مفید در دستگاه گوارش افزایش یافته و در نهایت اسیدهای آلی روده تولید شده است. اثربخشی اسیدهای آلی در فرآیندهای گوارشی به خوبی ثابت شده که از جمله آن می توان به بهبود عملکرد روده و معده با فعالیت آنزیم ها و تغییر حلالیت مواد معدنی اشاره کرد. یافته های مطالعه حاضر نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با سطوح مختلف پودر آرتروسپیرا، میزان زندهمانی خرچنگ چنگال باریک را در مواجهه با آنرومونس هیدروفیلا بهبود بخشید. مکانیسم های دفاعی در گونه های سخت پوستان کاملاً به ایمنی ذاتی بستگی دارد و زمانی ایجاد می شود که الگوهای مولکولی مرتبط با عوامل بیماری زا توسط پروتئین های محلول یا سطح سلول در میزبان شناسایی شود. در این شرایط، مکانیسم های موثر سلولی یا هومورال برای نابودی پاتوژن های مهاجم فعال می شوند (۵۱). یکی دیگر از عوامل حیاتی و تأثیرگذار در ایمنی خرچنگ، تغذیه آن ها بوده است. در طول چالش با آنرومونس هیدروفیلا، مرگ و میر خرچنگ ها در زمان تغذیه با سین بیوتیک هایی مانند انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) + گالاتو الیگوساکارید یا پدیو کوکوس اسیدی لاکتیس (*Pediococcus acidilactici*) + گالاتو الیگوساکارید (۴۸) و هم چنین حتی برخی از پری بیوتیک ها (مانان-الیگوساکارید و فروکتو-الیگوساکارید) (۱۱) به میزان قابل توجهی کاهش یافت. در این راستا، تنظیم مثبت ژن های مرتبط با ایمنی غیر اختصاصی در خرچنگ *Procambarus clarkii* تغذیه شده با پلی ساکاریدهای *Agaricus bisporus* (ABPs) تأیید شد و افزودن ۰/۵-۰/۶ گرم در کیلوگرم از آن به خوراک، میزان زندهمانی آن را پس از قرار گرفتن در معرض آنرومونس هیدروفیلا افزایش داد (۵۲). میزان زندهمانی بیش تر خرچنگ های تزریقی در تیمارهای آزمایشی ممکن است به وجود برخی مواد شیمیایی در ترکیب پودر آرتروسپیرا مربوط باشد. ترکیب اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب مناسب، ویتامین ها، رنگدانه ها و مواد معدنی می تواند منجر به چنین نتایجی شود که در میکرو و ماکرو جلبک های دریایی گزارش شده است (۶). با این حال، سوالات زیادی در ارتباط با بهترین شکل استفاده (کنجاله، کنسانتره پروتئین، و ایزوله)، سطوح مکمل و فناوری آماده سازی پودر آرتروسپیرا جهت استفاده در رژیم غذایی گونه های سخت پوستان وجود دارد. به طور کلی در طول دوره آزمایش ۶۳ روزه، خرچنگ های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۷۵ درصد جایگزینی پودر ماهی با پودر آرتروسپیرا عملکرد رشد و شاخص های کارایی تغذیه ای بهتری را نشان دادند. نتایج به وضوح نشان داد که پودر آرتروسپیرا به طور بالقوه می تواند سبب بهبود ایمنی خرچنگ چنگال باریک در برابر تزریق آنرومونس هیدروفیلا شود. براساس نتایج فوق، جایگزینی پودر ماهی با پودر

- relationship with molting. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 130(3): 331-338. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00437-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00437-7).
20. Safari, O., Shahsavani, D., Paolucci, M. and Mehraban, M., 2014. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, nutrient digestibility, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture.* 432: 192-203. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.012>.
 21. Sang, H.M., Ky, L.T. and Fotedar, R., 2009. Dietary supplementation of mannan oligosaccharide improves the immune responses and survival of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) when challenged with different stressors. *Fish Shellfish Immunol.* 27(2): 341-348. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.06.003>.
 22. Zar, J.H., 2007. Biostatistical Analysis. 5th edn, Journal of Chemical Information and Modeling. 5th edn. Prentice Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ, USA. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
 23. Nazari, H., Salarzadeh, A., Safari, O. and Yahyavi, M., 2018. Screening of selected feedstuffs by juvenile pacu, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). *Aquac Nutr.* <https://doi.org/10.1111/anu.12807>.
 24. Hanel, R., Broekman, D., Graaf, S. and Schnack, D., 2007. Partial replacement of fishmeal by lyophilized powder of the microalgae *Spirulina platensis* in Pacific white shrimp diets. *Mar. Biol.* 1: 1-5. <https://doi.org/10.2174/1874450800701010001>.
 25. Nakagawa, H. and Gomez-Diaz, G., 1995. Usefulness of *Spirulina* sp. meal as feed additive for giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Suisan zoshoku.* 43: 521-526.
 26. Nandeesha, M., Gangadhara, B., Manissery, J. and Venkataraman, L., 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. *Bioresour. Technol.* 80: 117-120. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00085-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00085-2).
 27. Olvera-Novoa, M.A., Dominguez-Cen, L.J., Olivera Castillo, L. and Martínez-Palacios, C.A., 1998. Effect of the use of the microalga *Spirulina maxima* as fish meal replacement in diets for tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), fry. *Aquac. Res.* 29(10): 709-715.
 28. James, R., Sampath, K., Thangarathinam, R. and Vasudhevan, I., 2006. Effect of dietary *Spirulina* level in growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Isr. J. Aquac. Bamidgeh.* 58: 97-104. <https://doi.org/10.46989/001c.20433>.
 29. Palmegiano, G.B., Agradi, E., Forneris, G., Gai, F., Gasco, L., Rigamonti, E., Sicuro, B. and Zoccarato, I., 2005. *Spirulina* as a nutrient source in diets for growing
 8. Jaime-Ceballos, B., Villareal, H., Garcia, T., Pérez Jar, L. and Alfonso, E., 2005. Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *Litopenaeus schmitti* shrimp larvae. *Rev. Invest. Mar.* 26: 235-241.
 9. Macias Sancho, J., Henrique Poersch, L., Bauer, W., Alberto Romano, L., Wasielesky, W. and Borges Tesser, M., 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. *Aquaculture.* 426-427: 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.028>
 10. Industry ARC. 2021. Crayfish Market - Industry Analysis, Market Size, Share, Trends, Application Analysis, Growth And Forecast 2020-2025. Available from: <https://www.industryarc.com/Research/Crayfish-Market-Research-507371>.
 11. Safari, O., Shahsavani, D., Paolucci, M. and Mehraban, M., 2014. Screening of selected feedstuffs by sub-adult narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture.* 420-421. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.009>.
 12. AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18th edn. Edited by Association of Official Analytical Chemists. Maryland, USA: AOAC International.
 13. Lepage, G. and Roy, C.C., 1984. Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification. *J Lipid Res.* 25: 1391-1396.
 14. Cohen, Z., Von Shak, A. and Richmond, A., 1988. Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *J. Phycol.* 24: 328-332.
 15. Pousti, I. and Adib Moradi, M., 2004. Comparative histology and histotechnique, 4th ed. Tehran: University of Tehran Publishing. 610. (In Persian)
 16. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays, in Stolen, J.S., et al. (eds) *Techniques in Fish Immunology.* 101-103.
 17. Coccia, E., Varricchio, E. and Paolucci, M., 2011. Digestive Enzymes in the Crayfish *Cherax albidus*: Polymorphism and Partial Characterization. *Int. J. Zool.* 1-9. <https://doi.org/10.1155/2011/310371>.
 18. López-López, S., Nolasco, H. and Vega-Villasante, F., 2003. Characterization of digestive gland esterase-lipase activity of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*, Comparative Biochemistry and Physiology Part B. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 135(2): 337-347. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00087-3).
 19. Fernández Gimenez, A.V., García-Carreño, F.L., Navarrete del Toro, M.A. and Fenucci, J.L., 2001. Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and

- and Söderhäll, K., 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. 191(1): 45-52. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-X).
40. Safari, O. and Paolucci, M., 2018. Effect of in vitro selected synbiotics (galactooligosaccharide and mannanoligosaccharide with or without *Enterococcus faecalis*) on growth performance, immune responses and intestinal microbiota of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* lep. *Aquac Nutr*. 24(1): 247-259. <https://doi.org/10.1111/anu.12553>.
 41. Scheppach, W., 1994. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*. 35(1): S35-38. https://doi.org/10.1136/gut.35.1_suppl.s35
 42. Cummings, J.H. and Macfarlane, G.T., 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br J Nutr*. 87(2): S145-151. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002530>.
 43. Schley, P.D. and Field, C.J., 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *Br J Nutr*. 87(2): S221-230. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002541>.
 44. Maslowski, K.M. and Mackay, C.R., 2011. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat. Immunol*. 12(1): 5-9. <https://doi.org/10.1038/ni0111-5>.
 45. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M., Ringoe, E. and Merrifield, D., 2015. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Aquac Nutr*. 23. <https://doi.org/10.1111/anu.12373>.
 46. Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y., 2011. Single or combined effects of fructo-and mannan oligo saccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichth*. *Aquac Nutr*. 17(4): <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00863.x>.
 47. Buentello, J.A., Neill, W.H., Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on the growth, feed efficiency and non-specific immunity of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* fed soybean-based diets. *Aquac Res*. 41(3): 411-418. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02178.x>
 48. Safari, O. and Paolucci, M., 2017. Modulation of growth performance, immunity, and disease resistance in narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) upon synbiotic feeding. *Aquaculture*. 479. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.049>.
 49. Marcil, V., Delvin, E., Seidman, E., Poitras, L., Zoltowska, M., Garofalo, C. and Levy, E., 2002. Modulation of lipid synthesis, apolipoprotein biogenesis, and lipoprotein assembly by butyrate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 283(2): 340-346. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00000.2002>.
 - sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquac. Res*. 36: 188-195. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01209.x>
 30. Palmegiano, G., Gai, F., Daprà, F., Gasco, L., Pazzaglia, M. and Peiretti Pier, G., 2008. Effects of *Spirulina* and plant oil on the growth and lipid traits of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) fingerlings. *Aquac. Res*. 39: 587-595. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01914.x>.
 31. Kim, S.S., Kim, K.W., Lee, B.J. and Lee, K.J., 2013. Effects of Dietary Supplementation of *Spirulina* and Quercetin on Growth, Innate Immune Responses, Disease Resistance Against *Edwardsiella tarda*, and Dietary Antioxidant Capacity in the Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Aquatic Sci*. 16(1): 7-14. <https://doi.org/10.5657/FAS.2013.0007>.
 32. Le Vay, L., Rodríguez, A., Kamarudin, M.S. and Jones, D.A., 1993. Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*. 118(3-4): 287-297. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90463-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90463-9).
 33. Reitan, K.I., Rainuzzo, J.R., Øie, G. and Olsen, Y., 1993. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*. 118(3-4): 257-275. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90461-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90461-7).
 34. Anand, P., Kohli, M.P.S., Dam Roy, S., Sundaray, J.K., Kumar, S., Sinha, A., Pailan, Gh. and Munilkumar, S., 2013. Effect of dietary supplementation of periphyton on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 392-395. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.01.029>.
 35. Kaushik, P. and Chauhan, A., 2008. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian J Microbiol*. 48(3): 348-352. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0043-0>.
 36. De Mule, M.C.Z., De Caire, G.Z. and De Cano, M.S., 1996. Bioactive substances from *Spirulina platensis* (Cyanobacteria). *Phyton*. 58: 93-96. https://biblioteca.digital.exactas.uba.ar/collection/paper/document/paper_00319457_v58_n_p93_DeMule.
 37. Manning, T.S. and Gibson, G.R., 2004. Prebiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 18(2): 287-298. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2003.10.008>.
 38. Li, P., Burr, G.S., Gatlin, D.M.3rd, Hume, M.E., Patnaik, S., Castille, F.L. and Lawrence, A.L., 2007. Dietary supplementation of short-chain fructo oligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *J Nutr*. 137(12): 2763-2768. <https://doi.org/10.1093/jn/137.12.2763>.
 39. Johansson, M.W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K.

- org/10.1152/ajpgi.00440.2001.
50. **Van Immerseel, F., Russell, J.B., Flythe, M.D., Gantois, I., Timbermont, L., Pasmans, F., Haesebrouck, F. and Ducatelle, R., 2006.** The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathol.* 35(3): 182-188. <https://doi.org/10.1080/03079450600711045>. PMID: 16753609.
 51. **Vazquez, L., Alpuche, J., Maldonado, G. and Agundis, C., 2009.** Pereyra-Morales A, Zenteno E. Review: Immunity mechanisms in crustaceans. *Innate Immun.*; 15(3): 179-188. <https://doi.org/10.1177/1753425909102876>.
 52. **Zhu, X., Xu, N., Liu, Y., Ai, X. and Yang, Y., 2022.** The effects of *Agaricus bisporus* polysaccharides enriched diet on growth, nonspecific immunity and disease resistance in crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquac Rep.* 24: 101168. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101168>.
 53. **Nazari, H., Salarzadeh, A., Safari, O. and Yahyavi, M., 2021.** Replacement of dietary fishmeal for canola meal on the growth performance, digestibility, digestive enzyme activities and hemato immunological responses in pacu, *Piaractus brachipomus* (Cuvier, 1818). *J. Anim. Environ.* 13(1): 347-362. <https://doi.org/10.22034/AEJ.2023.396645.2968>. (In Persian)
 54. **Jabari, S., Imanpoor, M., Taghizadeh, V., Safari, O. and Ahmadnia Motlagh, H., 2015.** Effects of different levels of *Pediococcus acidilactici* in the diet on survival rate of broodstocks, cyst and naupli production, immunological enzymes and coloy count of digestive tract of *Artemia franciscana*. *J. Anim. Environ.* 7(3): 189-198. (In Persian)