Journal of Aquaculture Sciences 13(24): 138-149 (2025)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۳، شماره ۲۴: ۱۳۸-۱۴۹ (۱۴۰۴)

اثر سطوح مختلف بایل اسید جیره بر عملکرد رشد، بازماندگی و آنزیم‌های گوارشی میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

سمیرا مبارکی[۱]، علیرضا قائدی[۲*]، وحید یگانه[۱]، محمد محمدی[۳]، حبیب سرسنگی علی آباد[۳]، محمد اخوان بهابادی[۳]

[۱]پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور،سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.
[۲]گروه تحقیقات علوم دامی و شیلات، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران.
[۳]مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بافق، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۳ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۹**

چکیده

این پژوهش به‌منظور تعیین سطح مناسب اسیدهای صفراوی در خوراک میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) به‌مدت ۵۶ روز در قالب ۵ تیمار و هر یک با ۳ تکرار انجام گرفت. در هر تکرار ۲۰ عدد میگوی پا سفید غربی با میانگین وزن ۱± ۶ گرم به‌طور تصادفی ذخیره‌سازی شدند. تیمارها عبارت از: جیره خوراکی فاقد مکمل اسید صفراوی (تیمار شاهد)، جیره خوراکی حاوی اسید صفراوی به‌میزان ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا (تیمار ۱)، جیره خوراکی حاوی اسید صفراوی به‌میزان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا (تیمار ۲)، جیره خوراکی حاوی اسید صفراوی به‌میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا (تیمار ۳) و جیره خوراکی حاوی اسید صفراوی به‌میزان ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا (تیمار۴) بودند. در پایان دوره آزمایش برخی شاخص‌های رشد، بازماندگی و آنزیم‌های گوارشی سنجش گردید. براساس نتایج به‌دست آمده بیشترین میانگین وزن را تیمار حاوی ۲ میلی‌گرم و بیشترین میزان بازماندگی را تیمارهای B، C و E با میانگین ۸۸/۳۳٪ و کمترین مربوط به تیمار A با میانگین ۷۵٪ بود، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با تیمار A از نظر آماری مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین فاکتورهای FCR، SGR، WG و ADG تیمارهای مختلف از نظر آماری وجود نداشت ($P>0/05$). درتیمارهایی که با غذای حاوی اسید صفراوی تغذیه شده بودند، بین ۲/۶ تا ۵/۹ درصد نسبت به شاهد افزایش وزن بیشتری داشته‌اند. در بررسی آنزیم‌های گوارشی تیمارهای مختلف مشاهده شد هر چه میزان اسید صفراوی بیشتر شود فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز افزایش می‌یابد اما میزان پروتئین کل با افزایش اسید صفراوی روند کاهشی داشت. فعالیت آنزیم‌های α- آمیلاز، پروتئاز، لیپاز و پروتئین کل بین تیمار A با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). نتایج این تحقیق نشان دادند که دوزهای ۴ و ۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک سبب ایجاد آسیب بافتی و نکروز شدید هپاتوپانکراس می‌گردد درحالی‌که دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا بدون هیچگونه آسیب بافتی می‌تواند وضعیت تغذیه میگوی پاسفید غربی را بهبود بشیده و اثرات مثبت روی پارامترهای رشد و بازماندگی داشته باشد که در این خصوص دوز ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به‌عنوان دوز بهینه معرفی می‌گردد.

کلید واژگان: اسیدهای صفراوی، رشد، ضریب تبدیل خوراک، بازماندگی، آنزیم‌های گوارشی

*نویسنده مسئول aliangler@gmail.com

مقدمه

تغذیه در آبزیان پرورشی به‌دلیل تأثیر بر رشد و بازماندگی، بروز بیماری‌ها، اثرات زیست‌محیطی و توجیه اقتصادی فعالیت تولیدی، حائز اهمیت است. در این میان، برخی از افزودنی‌های خوراک آبزیان نقش مهمی در کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود بازدهی خوراک ایفا می‌نمایند. این مواد موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن آبزیان شده و رشد را در آنها تقویت می‌کنند. در میگو و سایر سخت‌پوستان، چربی‌ها ذخایر آلی هستند و پس از پروتئین‌ها، بیشترین ساختار بیوشیمیایی بدن جاندار را به‌خود اختصاص می‌دهند. در میان چربی‌ها، کلسترول یک استرول اصلی در میگو است که در تمام سلول‌ها و همولنف به‌صورت آزاد یا در ترکیب با اسیدهای چرب وجود دارد (Di Gregorio, 2021). میگو و سایر سخت‌پوستان قادر به ترشح اسیدهای صفراوی و کلسترول نمی‌باشند. آنها به کلسترول نیاز دارند که به هورمون پوست‌اندازی تبدیل شده و اجازه عبور سریع از مراحل مختلف رشد لارو آنها را فراهم کند. سلامت هپاتوپانکراس برای میگو حیاتی است زیرا فعالیت این اندام به‌طور مستقیم بر میزان بقا تأثیرگذار است. استفاده از اسیدهای صفراوی می‌تواند با تأثیر بر آنزیم‌های گوارشی باعث بهبود عملکرد آنها شده و در هضم و جذب چربی‌های موجود در رژیم غذایی در بدن میگو مؤثر باشند (Su, 2021). اسیدهای صفراوی، مولکول‌های درون‌زایی هستند که از کلسترول ساخته می‌شوند. آنها تنظیم‌کننده فرآیندهای فیزیولوژیک متعدد هستند و هضم و جذب مواد غذایی به‌خصوص منابع چربی را در بدن میگو تسهیل می‌کنند. به‌دلیل ساختار آمفی‌پاتیک، اسیدهای صفراوی قادر به حل نمودن چربی‌ها از طریق تشکیل میسل‌ها هستند و می‌توانند هضم چربی، کلسترول و ویتامین‌های محلول در چربی را افزایش داده و نیز قادرند به‌عنوان هورمون‌ها یا مولکول‌های پیام‌دهنده عمل کرده و درنتیجه در تنظیم دفاع آنتی‌اکسیدانی شرکت کرده و پاسخ ایمنی در پستانداران را افزایش دهند. در حال حاضر، با توجه به قیمت بالای کلسترول، استفاده از آن در خوراک میگو از لحاظ اقتصادی مقرون به‌صرفه نمی‌باشد و از این ترکیب در جیره استفاده نمی‌شود. از سوی دیگر، محدودیت فیزیولوژیک میگوها در هضم و جذب چربی سبب کاهش میزان چربی جیره‌های تجاری شده است. بنابراین استفاده از برخی افزودنی‌ها نظیر اسیدهای صفراوی، می‌توانند در راستای جبران کمبود کلسترول جیره و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مورد استفاده قرار گیرند (Hertrampf, 2012). همچنین اسیدهای صفراوی در بدن میگو به‌عنوان یک محافظ قوی برای هپاتوپانکراس عمل می‌کنند و بدین‌ترتیب عملکردهای مختلف این اندام را در میگوی سفید غربی بهبود می‌بخشند (Su *et al*., 2021). بنابراین برای رسیدن به افزایش رشد مطلوب در راستای سیاست‌های توسعه پایدار پرورش میگو، استفاده از افزودنی‌های حاوی اسیدهای صفراوی در خوراک میگو برای حل مشکلات موجود در روند پرورش این آبزی ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی صحت اثر اسید صفراوی بر میگوی وانامی و تعیین دوز مؤثر آن در شرایط محیطی در جنوب کشور است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به‌مدت ۵۶ روز (۸ هفته) در پژوهشکده میگوی کشور واقع در بوشهر انجام شد. طراحی آزمایش و تیماربندی بر روی میگوی سفید غربی به‌طور تصادفی با میانگین وزن ۱±۶ گرم انجام گرفت. میگوهای مورد آزمایش از مزرعه پرورش میگو متعلق به بخش خصوصی در استان بوشهر تهیه و به مخازن فابیرگلاس با گنجایش ۳۰۰ و حجم آبگیری ۲۵۰ لیتر آب دریای فیلتر شده با شوری ۲ ± ۴۳ گرم بر لیتر منتقل شدند. در ابتدا ۳۰۰ قطعه میگو مورد زیست‌سنجی و به‌طور تصادفی در ۱۵ مخزن در قالب ۵ تیمار با ۳ تکرار قرار گرفتند. تیمارهای مورد مطالعه در این آزمایش عبارت بودند از گروه شاهد (E): جیره فاقد مکمل اسید صفراوی و تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح مختلف اسید صفراوی به‌ترتیب، تیمار (A): جیره حاوی ۶ میلی‌گرم، تیمار (B): جیره حاوی ۲ میلی‌گرم، تیمار (C): جیره حاوی ۱ میلی گرم و تیمار (D): جیره حاوی ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا بودند. براساس هماهنگی‌های انجام شده با واحد تحقیق و توسعه شرکت تولید خوراک آبزیان فرادانه، خوراک‌های آزمایشی در این شرکت تولید شد. افزودنی اسید صفراوی (Bile acids) نیز توسط شرکت البرزگستر دارو، نماینده انحصاری شرکت لچنس در ایران، در اختیار شرکت فرادانه قرار گرفت. آب ورودی و خروجی مخازن، سیستم هوادهی، پمپاژ و دما براساس نیاز مخازن و شرایط تراکم میگوها تنظیم گردید. با توجه به سرپوشیده بودن سالن‌ها، اعمال

تنظیمات و کنترل شرایط محیطی آزمایش به سهولت انجام پذیرفت. آب مورد نیاز نیز در ابتدا فیلتر و ضدعفونی شده و پس از اطمینان از سلامت آب، مورد استفاده قرار گرفت. زیست‌سنجی میگوها به‌صورت هفتگی انجام شد و فاکتورهای شوری، اکسیژن، دما و pH در طول دوره ثبت گردید.

نگهداری از میگوها و تغذیه: روزانه طی ۴ مرحله (۷ صبح، ۱۲ ظهر، ۵ عصر و ۹ شب) غذادهی انجام شد. میزان غذای دوره براساس زی‌توده (معمولاً ۶ درصد) اندازه‌گیری و با توجه به میزان مصرف غذا در وعده‌های روزانه تنظیم، تعدیل و ثبت گردید.

نمونه‌برداری: به‌منظور تعیین وضعیت رشد در تیمارها، به‌صورت هفتگی رشد میگوها بررسی و ثبت گردید. برای این منظور از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱گرم استفاده و وزن انفرادی هر یک از میگوها اندازه‌گیری شد. همچنین پس از انجام دوره آزمایش برای بررسی و انجام آنالیزهای آزمایشگاهی از بافت روده در تیمارهای مختلف نمونه‌برداری انجام شد و در شرایط استاندارد به آزمایشگاه انتقال یافت. سنجش آنزیم‌های گوارشی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد.

ارزیابی عملکرد رشد و درصد بقا: به‌منظور سنجش شاخص‌های رشد میگوها در پایان دوره ۸ هفته زیست‌سنجی نهایی انجام شد و در نهایت شاخص‌های رشد براساس فرمول زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (Rick and Stegbauer, 1974):

$$SGR(\%/Day) = \frac{LnWt_1 - LnWt_2}{T} \times 100$$

که SGR، $LnWt_1$، LnWt2 و T به‌ترتیب ضریب رشد ویژه موجود (درصد وزن بدن در روز)، لگاریتم طبیعی وزن بدن موجود در ابتدای آزمایش (گرم)، لگاریتم طبیعی وزن بدن موجود در انتهای آزمایش (گرم) و زمان (روز) است.

میزان رشد نسبی (Relative Growth Rate (RGR:

$$RGR = W_f - W_i / W_i \times 100$$

W_f: وزن نهایی (گرم) و W_i: وزن اولیه (گرم)

درصد بازماندگی Survival Rate(SR) (Ricker, 1975):

$$\text{Survival rate} = (N_t/N) \times 100$$

N: تعداد میگوها در انتهای دوره آزمایش و N_t: تعداد میگوها در ابتدای دوره آزمایش

ضریب تبدیل خوراک (FCR):

$$FCR\ (\text{dry feed gain-1}) = W_t / W_0$$

ضریب تبدیل غذایی= وزن کل غذای مصرف شده/کل وزن به‌دست آمده

هیستوپاتولوژی بافت هپاتوپانکراس: نمونه‌های هپاتوپانکراس بلافاصله پس از برداشت در فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند. سپس با طی مراحل استاندارد آبگیری تدریجی در اتانول، شفاف‌سازی با زایلن و قالب‌گیری در پارافین آماده گردید. برش‌های میکروتومی با ضخامت ۵-۴ میکرون تهیه و روی لام شیشه‌ای منتقل شدند. نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند.

سنجش آنزیم‌های گوارشی: به‌منظور تجزیه‌وتحلیل فعالیت آنزیم‌های گوارشی، پس از سپری شدن دوره تغذیه با غذاهای آزمایشی، به‌مدت ۲۴ ساعت قطع غذادهی انجام شد. سپس از هر تیمار تعداد ۹ قطعه میگو به‌طور تصادفی برداشت شد. روده میگوها در شرایط استریل از بدن جدا و تخلیه گردید و در دمای پایین (حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) در مجاورت با کیسه یخ برای سنجش فعالیت آنزیمی به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه نمونه‌ها در یک محلول بافر سرد حاوی۵۰ میلی‌مول تریس HCL با pH ۸/۰ توسط سانتریفیوژ (۵۰۰/۱۳×g به‌مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) همگن شدند. سپس مایع رویی جمع‌آوری شد و در بخش‌های کوچکتر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Rungruangsak- Torrissen *et al.*, 2007). محتوای پروتئین کل روده توسط سرم آلبومین گاوی به‌عنوان یک استاندارد بر پایه روش برادفورد (Bradford, 1976) مورد سنجش قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی اثر اسیدهای صفراوی بر آنزیم‌های گوارشی، میزان فعالیت آنزیم‌های α- آمیلاز، لیپاز، پروتئاز نیز اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پروتئاز توسط معرف فنل‌فولین براساس روش Anson (۱۹۳۸) اندازه‌گیری گردید. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز با استفاده از محلول آشکارسازی شده نشاسته غیرهیدرولیز شده و بر اساس روش Rick (۱۹۷۴) سنجش شد. فعالیت آنزیم α-آمیلاز مطابق با روش اصلاح شده برنفلد Bernfeld اندازه‌گیری و ثبت شد (Areekijseree, 2004). با استفاده از محلول نشاسته به‌عنوان سوبسترا نیز فعالیت خاص آنزیم آمیلاز به‌صورت میکرومول مالتوز تولید شده بیان شد. در نهایت فعالیت آنزیم لیپاز براساس اندازه

جدول ۱- شاخص‌های آنالیز آب مخازن در طول دوره آزمایش

پارامترها (٪)	تیمارهای آزمایش (میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک)				
	شاهد (E)	۱ (C)	۲ (B)	۴ (D)	۶ (A)
اکسیژن محلول	۷/۹۲±۰/۱۴	۷/۹۳±۰/۱۲	۷/۹۲±۰/۱۱	۷/۹۷±۰/۱۱	۸/۰۹±۰/۰۷
دمای آب	۲۹/۰۹±۰/۳۶	۲۹/۱±۰/۳۶	۲۹/۱±۰/۳۴	۲۹/۱۸±۰/۳۰	۲۹/۱۷±۰/۳۹
شوری	۴۳±۰/۴۷	۴۳/۱±۰/۵	۴۳/۱۱±۰/۵۷	۴۳/۱±۰/۴۷	۴۳/۰±۰/۴۷
pH	۸/۰۴±۰/۱۳	۸/۰۶±۰/۱۴	۸/۰۴±۰/۱۳	۸/۰۴±۰/۱۳	۸/۰۹±۰/۱۲

*(میانگین ±خطای استاندارد) با ۳ تکرار -*حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

جدول ۲- تجزیه‌وتحلیل تقریبی خوراک آزمایشی

پارامترها	تیمارهای آزمایش (میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک)				
(٪)	شاهد(E)	۱ (C)	۲ (B)	۴ (D)	۶ (A)
رطوبت	۱۰/۶۰	۱۰/۷۰	۱۱/۹۱	۱۰/۷۰	۱۱/۴۰
پروتئین	۴۴/۴۹	۴۳/۸۳	۴۴/۲۲	۴۴/۲۶	۴۳/۵۴
چربی	۶/۵۸	۶/۷۹	۷/۰۶	۷/۴۷	۶/۸۰
فیبر	۷/۳۸	۷/۳۶	۷/۳۶	۷/۳۷	۷/۵۵
خاکستر	۱۳/۳۱	۱۳/۲۷	۱۳/۲۸	۱۳/۲۸	۱۳/۱۰

میزان انتشار مولکول‌های اسید چرب ناشی از هیدرولیز آنزیمی تری‌گلیسرید در امولوسیون روغن زیتون اندازه‌گیری و ثبت شد (Areekijseree *et al*., 2004). فعالیت آنزیم های گوارشی به‌صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان می شود.

اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب: شاخص های کیفی آب همچون دما، شوری و اکسیژن محلول هر روز در ساعات ۱۰ الی ۱۱ صبح و pH به‌صورت هفتگی با استفاده از دستگاه مولتی‌پارامتر HQ ۴۰ D از شرکت HACHساخت کشور آلمان اندازه‌گیری و ثبت گردید.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها: این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. در ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون آماری Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت، سپس مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام گرفت. جهت بررسی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار Jamovi انجام گرفت.

نتایج

پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب: به‌منظور عدم تأثیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی بر متغیرهای مورد سنجش در طول دوره آزمایش، فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب ثابت نگه داشته شد. نتایج سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در روزهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است که بر اساس آن اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

آنالیز ترکیبات جیره‌ها: نتایج آنالیز ترکیبات جیره‌های آزمایش براساس درصد رطوبت و درصد ماده خشک در جدول ۲ ارائه شده است.

نتایج حاصل از پارامترهای رشد و بازماندگی: پس از پایان آزمایش و تغذیه میگوها با جیره‌های آزمایشی، نتایج به‌دست آمده نشان دادند که بیشترین میانگین وزن را میگوهای تیمار B حاوی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسید صفراوی با میانگین ۱۶/۰۶ گرم و کمترین وزن را میگوهای تیمار E (شاهد) با میانگین ۱۵/۱۵ گرم دارند. علی‌رغم وجود اختلاف ۰/۹۱ گرم بین تیمار B و تیمار E، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). همچنین بیشترین بازماندگی مربوط به تیمارهای E، C وB حاوی صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسید صفراوی با میانگین ۸۸/۳۳٪ و کمترین آن مربوط به تیمار A حاوی ۶ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل اسید صفراوی با میانگین ۷۵٪ بود. شایان توجه است بین تیمار A با چهار تیمار B، D، C و E از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان برداشت مربوط به تیمار B با ۲۸۳/۴۶ گرم و کمترین مربوط به تیمار A با ۲۳۹/۴۰ گرم بود که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵).

جدول ۳- شاخص‌های رشد میگوی وانامی در پاسخ به سطوح مختلف اسید صفراوی جیره

شاخص‌های رشد و تغذیه	تیمارهای آزمایش (میلیگرم بایل اسید در کیلوگرم خوراک)				
	شاهد (E)	۱ (C)	۲ (B)	۴ (D)	۶ (A)
وزن اولیه	۶/۱۱ ±/۰۲^{a}	۶/۰۸±/۰۵^{a}	^{a}۶/۱۵±/۰۸	۶/۰±۰/۱۱^{a}	۶/۱۹±۰/۲۳^{a}
وزن نهائی	۱۵/۹۹±۰/۵۵^{a}	۱۵/۶±۰/۴۹^{a}	۱۶/۰۶±۰/۴۵^{a}	۱۵/۵۶±۰/۶۶^{a}	۱۵/۱۵±۰/۱۵^{a}
وزن افزوده	۹/۸۸±۰/۵۵^{a}	۹/۵۲±۰/۴۸^{a}	۹/۹۱±۰/۵۳^{a}	۹/۵۶±۰/۷۱^{a}	۸/۹۷±۰/۲۱^{a}
میانگین رشد روزانه	۰/۱۸±۰/۰۱^{a}	۰/۱۷±/۰۱^{a}	۰/۱۸±/۰۱^{a}	۰/۱۷±/۰۱^{a}	۰/۱۶±۰/۰۰^{a}
وزن نهائی	۲۳۹/۴±۶/۰۵^{a}	۲۷۵±۱۵/۶۹^{bc}	۲۸۳/۴±۲/۱۵^{c}	۲۷۴/۹±۱۶/۱^{bc}	۲۵۲/۵±۵/۶۳^{b}
ضریب تبدیل خوراک	۱/۷۵±۰/۰۰^{a}	۱/۷۵±/۰۱^{a}	۱/۷۶±۰/۰۰^{a}	۱/۷۷±۰/۰۲^{a}	۱/۷۹±۰/۰۳^{a}
نرخ رشد ویژه	۱/۷۲±۰/۰۶^{a}	۱/۶۸±۰/۰۶^{a}	۱/۷۱±۰/۰۷^{a}	۱/۷۰±۰/۰۹^{a}	۱/۶±۰/۰۶^{a}
درصد بقاء	۷۵±۴/۰۸^{a}	۸۸/۳±۲/۳^{b}	۸۸/۳±۲/۵^{b}	۸۸/۴±۲/۳^{b}	۸۸/۹±۳/۶^{b}

*(میانگین ±خطای استاندارد) با ۳ تکرار-*حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

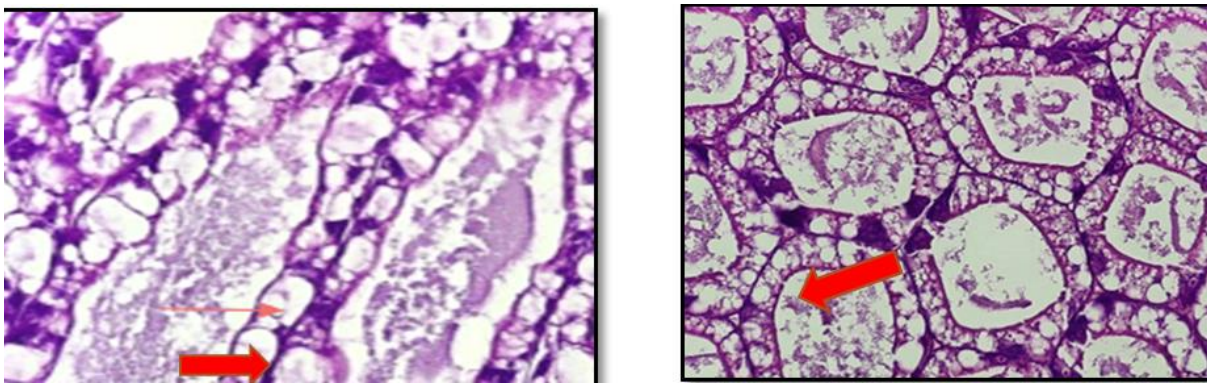
داده‌های مربوط به شاخص‌های رشد و کارایی خوراک در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین ضریب تبدیل غذایی FCR مربوط به تیمار E با ۱/۷۹ و کمترین مربوط به تیمار A و D با ۱/۷۵ بود. با وجود اختلاف چند صدمی بین تیمارها اما از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین نرخ رشد ویژه SGR مربوط به تیمار A با ۱/۷۲ و کمترین آن مربوط به تیمار E با ۱/۶۰ بود که از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). بیشترین افزایش وزن بدن WG مربوط به تیمار B با ۹/۹۱ گرم و کمترین آن مربوط به تیمار E با ۸/۹۷ گرم بود که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند (P>۰/۰۵). بیشترین میانگین رشد روزانه ADG مربوط به تیمارهای A و B با ۰/۱۸گرم و کمترین آن مربوط به تیمار E با ۰/۱۶ گرم بود. از نظر آماری میان این داده‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که بازماندگی در تیمار A (۷۵٪) نسبت به سایر تیمارهای آزمایش کمتر می‌باشد و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد (P<۰/۰۵). همچنین مشاهده می‌شود که با افزایش میزان مکمل اسید صفراوی در خوراک میزان بازماندگی کاهش می‌یابد. بیشترین میزان بیوماس در تیمار B با ۲۸۳/۴ مشاهده گردید که این میزان با تیمار A و E از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

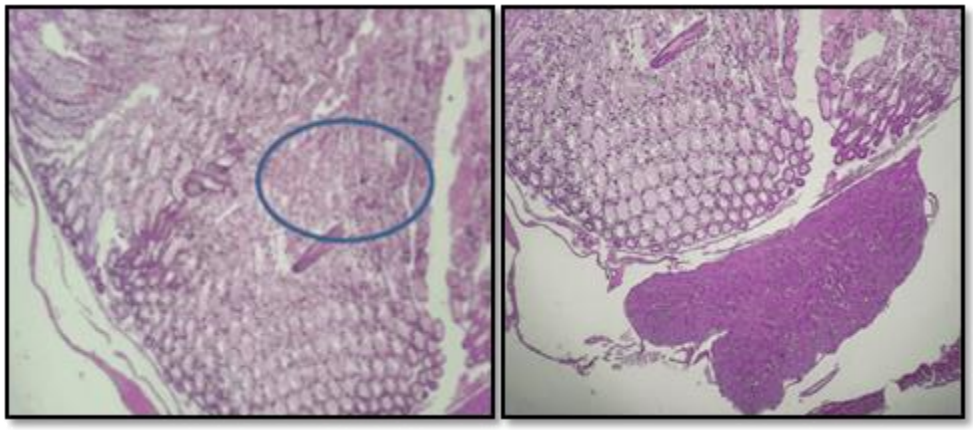
نتایج هیستوپاتولوژی بافت هپاتوپانکراس: براساس مطالعات آسیب‌شناسی میگوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف اسیدهای صفراوی در اندام هپاتوپانکراس میگوی سفید غربی، تغییرات سلولی در آنها مشاهده گردید. در بررسی سلولی بافت هپاتوپانکراس تیمار شاهد (E) که فاقد ترکیبات اسیدهای صفراوی بود، هپاتوپانکراس سالم دارای آرایش بافتی نرمال فاقد آثار نکروز و تجمع هموسیت، سلول‌ها دارای مقادیر فراوان قطرات چربی در سلول‌های Bcell و Rcell بودند. بافت ارگان لنفوئید سالم و فاقد آثار نکروز بود (شکل ۱).

سلول‌های بافت هپاتوپانکراس در تیمار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک مکمل اسید صفراوی سالم، فاقد آثار نکروز و آرایش بافتی نرمال مشاهده گردید. همچنین آثار نکروز و تجمع هموسیت‌ها نیز مشاهده نگردید. سلول‌های لنفوئید ارگان سالم بوده و تجمع قطرات چربی در سلول های Rcell و Bcell مشاهده شد (شکل ۲). همچنین در بررسی B-Gill، عضلات مخطط سالم و فاقد آثار نکروز و دژنرسانس سلولی بودند، تیغه‌های آبششی فاقد آثار نکروز بود. در خصوص آبشش با توجه به شکل های حاصل که ناشی از برش با تیغه غیر تیز می‌باشد، فاقد تغییرات پاتولوژیک می‌باشد. Antenal gland فاقد آثار نکروز و دژنرسانس سلول بودند (شکل ۳). در بررسی بافت هپاتوپانکراس در سلول‌های دارای ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی، آرایش بافتی هپاتوپانکراس در مناطقی به هم ریخته شده که می‌تواند ناشی از اتولیز بافتی باشد. همچنین آثار نکروز بافتی مشاهده می‌گردد. در سایر نقاط توبول‌ها سالم و حاوی مقدار مناسبی از چربی در سیتوپلاسم می باشد. سلول‌های Rcell و Bcell اتساع لوس‌ها مشاهده می‌گردد (شکل ۴).

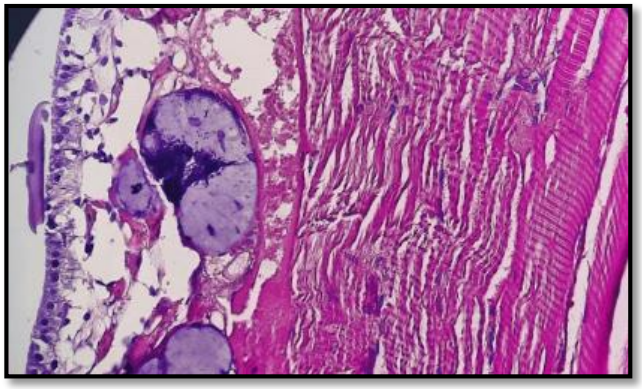
در بررسی ساختار سلولی در تیمار حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک مکمل اسیدهای صفراوی، اتساع شدید توبول‌های هپاتوپانکراس و کاهش شدید قطرات چربی در سلول‌های توبول‌ها مشاهده گردید، همچنین شکل توبول‌ها



شکل ۱- حضور قطرات بزرگ چربی در سلول های Bcell (فلش قرمز رنگ) بزرگنمایی X ٤٠٠



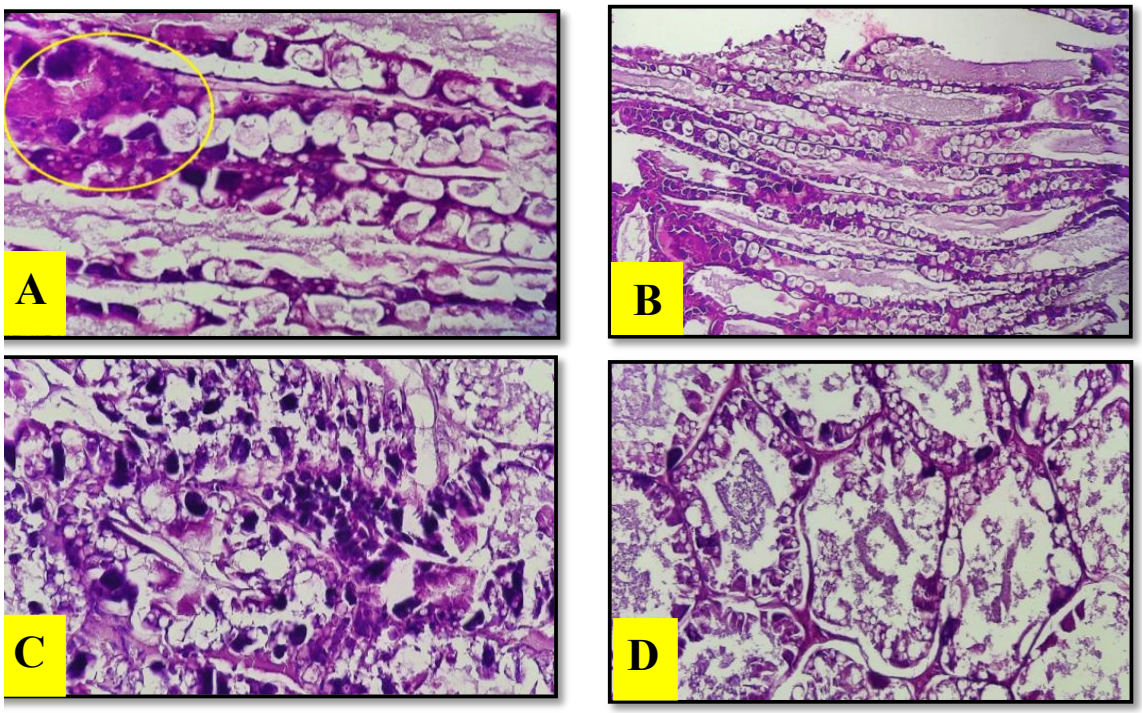
شکل ۲- بافت هپاتوپانکراس به همراه بافت ارگان لنفاوی، (ناحیه لیز بافتی ناشی از فیکساسیون نامناسب احتمالی)، بزرگنمایی X ۱۰۰



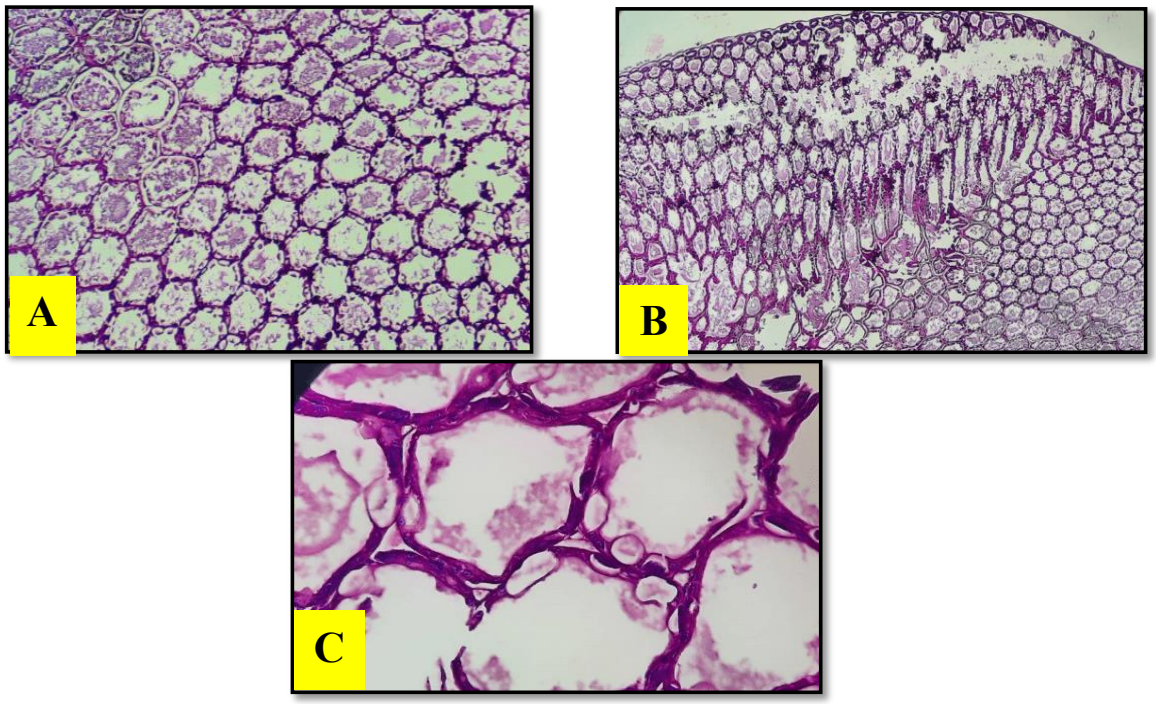
شکل ۳- بافت عضلات مخطط به همراه بافت پوششی زیر کوتیکولی و غدد تگومنتال-بزرگنمائی X ٤٠٠

به‌سمت سنگفرشی مایل می‌باشد. کاهش شدید قطرات چربی در سلول‌های Rcell و Bcell مشاهده گردید. در برخی از نواحی نکروز سلولی، دژنرسانس سلولی و اتساع شدید لوس‌های هپاتوپانکراس اتفاق افتاده است (شکل ۵).

نتایج حاصل از سنجش آنزیم‌های گوارشی: بررسی نتایج حاصل از آنالیز داده‌های به‌دست آمده نشان داد که فعالیت آنزیم α- آمیلاز در تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی بیشترین میزان است و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد E فاقد مکمل اسیدهای صفراوی می‌باشد. بین فعالیت این آنزیم در تیمار B حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی با سایر تیمارهای آزمایش از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در این تحقیق مربوط به تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی می‌باشد. میزان این آنزیم در تیمار B حاوی۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی در مقایسه با تیمار شاهد E فاقد مکمل اسیدهای صفراوی از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری



شکل ٤- نکروز موضعی دربافت هپاتوپانکراس (به هسته سلول‌های پیکنوزه دقت شود) – بزرگنمایی ٤٠٠ (A) اتساع لومن‌های هپاتوپانکراس به‌همراه نکروز موضعی(B)، نکروز شدید و به ریختگی گسترده بافت هپاتوپانکراس (C) و نکروز و کنده شدن سلول‌های هپاتوپانکراس و لامینای پروپریا باقیمانده (D).



شکل ٥- اتساع شدید توبول‌های هپاتوپانکراس و سنگفرشی شدن غدد (A)، نکروز موضعی و کنده شدن بافت به‌همراه اتساع شدید لومن‌های هپاتوپانکراس (B) و اتساع شدید و سنگفرشی شدن لومن‌های هپاتوپانکراس (C)- بزرگنمایی ٤٠٠X

است ($P<0/05$). در حالی‌که آنزیم پروتئاز در تیمارB با سایر تیمارهای C و D از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند ($P>0/05$). کمترین میزان فعایت این آنزیم مربوط به تیمار شاهد E فاقد مکمل اسیدهای صفراوی می‌باشد. آلکالین فسفاتاز از دیگر آنزیم‌های تولید شده در هپاتوپانکراس میگو می‌باشد که در تجزیه پروتئین‌ها نقش مهمی بر عهده دارد. این آنزیم در تیمار شاهد E (فاقد مکمل اسیدهای صفراوی) کمترین میزان و در تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم

جدول ٤- فعالیت آنزیم‌های گوارشی در پاسخ به سطوح مختلف اسید صفراوی جیره

آنزیم‌های گوارشی (میکروگرم در میلی‌گرم پروتئین)	تیمارهای آزمایش (میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک)				
	شاهد (E)	۱ (C)	۲ (B)	۴ (D)	۶ (A)
آلفا آمیلاز	۱۶۵/۲±۲۲/۶^{a}	۲۶۴/۴±۲۳/۱^{b}	۲۹۱/۱۱±۲۹/۰۲^{bc}	۳۸۸/۲±۴/۷^{c}	۹۹۴/۸±۵/۴^{d}
پروتئاز	۹/۱۲±۰/۸۳^{a}	۱۹/۷۷ ±۳/۷۳^{b}	۲۴/۳۹ ±۱/۳۷^{bc}	۲۹/۷۷±۱/۱۶^{c}	۴۲/۹ ±۱/۹۰^{d}
آلکالین فسفاتاز	۱۲/۸۸ ±۱/۶۶^{a}	۱۵/۷۷ ±۱/۱۳^{ab}	۱۶/۰۴ ±۰/۵۶^{ab}	۱۸/۵۵ ±۰/۵۶^{b}	۲۴/۷۷±۱/۴۳^{c}
لیپاز	۲۱/۵۸ ±۱/۱۹^{a}	۳۰/۵۴ ±۶/۱۵^{ab}	۴۲/۵۰±۲/۹۸^{bc}	۵۴/۳±۳/۶^{c}	۱۳۸/۳±۶/۷۷^{d}
پروتئین کل (میلیگرم)	۲۱/۷۵±۰/۳۰^{a}	۹/۳۲±۱/۰۱^{b}	۷/۹۳±۰/۳۳^{bc}	۷/۰۲±۱/۰۱^{bc}	۴/۰۵±۰/۳۳^{c}

*(میانگین ±خطای استاندارد) با ۳ تکرار- *حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

مکمل اسیدهای صفراوی بیشترین میزان را دارد و بین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای A و E از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۵). میزان آلکالین فسفاتاز در تیمار D حاوی ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا مکمل اسیدهای صفراوی با سایر تیمارهای B و C فاقد اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵). فعالیت آنزیم لیپاز نیز در تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایش به‌شدت افزایش یافته است. میزان فعالیت این آنزیم مهم گوارشی، در تیمار B حاوی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی با تیمار شاهد E فاقد مکمل اسیدهای صفراوی و تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری است (P<۰/۰۵). براساس نتایج، مشخص گردید که پروتئین کل در تیمار A حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی بیشترین میزان و در تیمار شاهد E فاقد مکمل اسیدهای صفراوی کمترین مقدار را دارد و بین سایر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵، جدول ۴).

بحث

امروزه دامنه وسیعی از مکمل‌های خوراکی در غذای آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مواد نقش مهمی در افزایش بهره‌وری خوراک، کاهش ضریب تبدیل غذایی و نگهداری وضعیت ظاهری جیره غذایی بر عهده دارند (Ji, 2017) اسیدهای صفراوی که به‌عنوان مکمل‌های خوراکی در تغذیه میگو مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توانند از طریق متلاشی نمودن ذرات چربی (امولسیفایر کردن)، فعال نمودن آنزیم لیپاز و تسهیل در تشکیل ذرات چیلومیکرون (مخلوط پروتئین و چربی) علاوه بر هضم و رهاسازی کلسترول، جذب و انتقال آنها را از روده به هپاتوپانکراس و بافت چربی تسهیل بخشند (Dawood, 2025). همچنین در تولید گلوگز برای ایجاد متابولیسم و سوخت‌وساز تقش اساسی بر عهده دارند (Kumar, 2020). همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی به منزله دسترسی بیشتر و بهتر به مواد تجزیه شده در دستگاه گوارش است و کمک می‌کند هضم و جذب مواد افزایش یابد که در نهایت سبب افزایش فاکتورهای رشد می‌گردد. نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان می‌دهد که میانگین وزن نهایی در تیمارهایی که از اسید صفراوی استفاده نموده‌اند نسبت به تیمار شاهد بیشتر است هر چند این میزان افزایش از نظر آماری معنی‌دار نباشد، با توجه به اینکه در افزایش بیوماس تأثیر می‌گذارد، قابل چشم‌پوشی نمی‌باشد. در صورت احتساب افزایش وزن به‌صورت درصد تیمارهای دارای اسید صفراوی بین ۲/۶ تا ۵/۹ درصد نسبت به شاهد افزایش وزن بیشتری داشته‌اند. همان‌گونه که محققان دیگر هم نشان دادند تغذیه میگوی سفید غربی با جیره غذایی حاوی ۰/۲ درصد نمک اسید صفراوی به‌عنوان جایگزین کلسترول در جیره غذایی منجر به افزایش رشد، افزایش میزان کلسترول در بافت‌های میگو و افزایش پوست‌اندازی در میگوها می‌شود (Ji *et al*., 2017). نتایج این پژوهش نیز افزایش وزن و در نهایت افزایش بیوماس را نشان می‌دهد. استفاده از برخی افزودنی‌ها نظیر اسیدهای صفراوی، می‌توانند در راستای جبران کمبود کلسترول جیره و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مورد استفاده قرار گیرند (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2012). در این پژوهش میزان بقا از ۷۵ تا ۸۸/۳۳ درصد متغیر بود. محققان دیگر با استفاده از میزان ۰/۰۲ و ۰/۰۳گرم اسیدهای صفراوی و میزان متفاوت کلسترول در هر کیلوگرم غذا میزان بقا را بین ۸۶ تا ۹۱ درصد اعلام نموده اند (Su, 2022) که البته این محققان در میزان بقا تیمارهای خود از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را مشاهده ننمودند، اما در این

پژوهش با توجه به اینکه از سطح بالاتری از اسید صفراوی استفاده شده بود، با افزایش میزان اسید صفراوی میزان بقا کاهش یافت و بازماندگی در تیمار حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا مکمل اسید صفراوی با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید.

میزان افزایش وزن بدن، رشد ویژه و میانگین رشد روزانه در این پژوهش با بالا رفتن میزان مکمل اسید صفراوی تا ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش می‌یابد، سپس در دوز ۴ میلی گرم کاهش یافته و مجدد با افزایش مکمل اسید صفراوی به ۶ میلی‌گرم افزایش می‌یابد همین امر موجب رشد کمتر در برخی از تیمارهای آزمایش می‌گردد. میزان شاخص‌های رشد مورد بررسی در این تحقیق در تیمار حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا مکمل اسید صفراوی، افزایش یافته است که این امر به‌دلیل بقای کمتر در میگوهای این تیمار می‌باشد، با توجه به اینکه تراکم ضریب منفی در رشد ایجاد می‌کند و نظر به اینکه با کاهش بقا در تیمار حاوی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا مکمل اسید صفراوی تراکم کاهش یافته، بنابراین میزان رشد در این تیمار از تیمار حاوی ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا مکمل اسید صفراوی کمی بیشتر شده که همین موضوع سبب شده است سه فاکتور میزان افزایش وزن بدن، رشد ویژه و میانگین رشد روزانه که متأثر از وزن نهایی هستند نیز افزایش یابند. مطالعات تأیید کرده است که اسیدهای صفراوی می‌تواند عملکرد رشد در میگوی سفید غربی *L. vannamei* را از طریق امولسیون‌سازی چربی افزایش دهند. نتایج پژوهشی دیگر با مطالعه بر میگوی سفید غربی نشان داد که با افزایش سطح اسید صفراوی در جیره، میزان افزایش وزن بدن و رشد ویژه میگو ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است (Yi-peng, 2023). محققان دیگر نیز نشان دادند که با بالا رفتن میزان اسیدهای صفراوی و کسترول میزان این فاکتورهای رشد افزایش می‌یابد ولی تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین تیمارهای مختلف مشاهده نمی‌شود (Su *et al*., 2022). میزان ضریب تبدیل غذایی با افزایش سطح اسید صفراوی از میزان ۰ تا ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک کاهش می‌یابد، اما از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. نتایج یک تحقیق نشان داده است که با افزایش سطح اسیدهای صفراوی میزان ضریب تبدیل غذایی کاهش می‌یابد، اما این میزان کاهش، تفاوت معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان نمی‌دهد (Su *et al*., 2022). در تحقیق حاضر علی‌رغم اینکه در سه تیمار حاوی ۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل اسیدهای صفراوی بازماندگی حدود ۸۸/۳۳ درصد حاصل گردید، اما به دلیل رشد کمتر در تیمار صفر (شاهد) مقدار بیوماس آن از دیگر تیمارها کمتر است. مطالعه‌ای در زمینه اثر اسید صفراوی بر بیوماس تولید میگو مشاهده نشد که بتوان نتایج را به‌طور دقیق مورد بررسی و مقایسه قرار داد.

هپاتوپانکراس یکی از مهم‌ترین اندام های سخت‌پوستان است. هپاتوپانکراس عمدتاً از چهار نوع سلول تشکیل شده است که سلول‌های E سلول‌های تمایز نیافته هستند، در حالی‌که سلول‌های B، F و R به‌ترتیب مسئول هضم درون‌سلولی، سنتز آنزیم‌های گوارشی و ذخیره‌سازی لیپیدها هستند(Smith, Tabrett *et al*., 2001). بررسی‌های بافت شناسی تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که با افزایش سطح اسید صفراوی در رژیم غذایی میزان سلول‌های R کاهش می‌یابند به‌نظر می‌رسد با توجه به اینکه این سلول‌ها مسئول ذخیره‌سازی لیپیدها در هپاتوپانکراس می‌باشند کاهش آنها دال بر افزایش سوخت‌وساز لیپیدها است و به‌همین دلیل میزان لیپید ذخیره شده در هپاتوپانکراس بسیار اندک می‌باشد. نتایج به‌دست آمده توسط گروهی از محققان نشان داده است که تغییرات ساختاری غیرطبیعی در هپاتوپانکراس در رژیم‌های غذایی با سطح کم کلسترول مشاهده می‌شود که ممکن است به‌دلیل پاسخ اولیه هپاتوپانکراس به گرسنگی یا کمبود کلسترول باشد (Ruiz *et al*., 2019). همچنین نتایج این تحقیق نشان داده است، با افزایش سطوح کلسترول و اسید صفراوی به‌میزان بهینه (۰/۲۵ و ۰/۰۳) در رژیم غذایی، ساختار سلولی بافت هپاتوپانکراس در میگوی سفید غربی*Litopenaeus vannamei* به حالت طبیعی بازگشته است و با افزایش تعداد سلول‌های B و R، روند صعودی فعالیت آنزیم‌های گوارشی مشاهده گردید (Ruiz *et al*., 2019).

بررسی‌ها بر روی آنزیم‌های گوارشی نیز نشان می‌دهد با افزایش سطح اسیدهای صفراوی در رژیم غذایی میزان این آنزیم‌ها نیز افزایش می‌یابد. نتایج یک تحقیق که به بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی سفید غربی می پردازد نشان می‌دهد، مقادیر متفاوت اسیدهای صفراوی در جیره خوراک میگو باعث افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز در هپاتوپانکراس و نیز محتوای اسید صفراوی درهمولنف می

شود (Zhao, 2025). افزودن ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم اسیدهای صفراوی به جیره غذایی می‌تواند شاخص‌های رشد را در میگوی سفید غربی بهبود بخشد (Wang, 2023). در پژوهشی دیگر که به‌منظور مطالعه اثر اسید صفراوی و کلسترول در رژیم غذایی میگوی سفید غربی صورت گرفت، نتایج نشان دادند که میزان آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز با افزایش سطح اسیدهای صفراوی افزایش می‌یابد و این میزان افزایش در فعالیت این آنزیم‌های گوارشی از نظر آماری معنی‌دار است. اما افزایش میزان آنزیم آمیلاز از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد (Su *et al*., 2022). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که فعالیت هر سه آنزیم گوارشی پروتئاز، لیپاز و آمیلاز به‌همراه آلکالین فسفاتاز با افزایش سطح اسیدهای صفراوی افزایش می‌یابند، این در حالی است که میزان پروتئین کل روند نزولی دارد. میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مطالعاتی که بر ماهی‌های دریایی انجام شده است تفاوت معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان نمی‌دهد (Ren, 2025). مکمل اسیدهای صفراوی در خوراک میگو فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز را افزایش می‌دهد و بنابراین موجب افزایش روند لیپولیز می‌گردد (Su *et al*., 2022). در مجموع براساس نتایج حاصل از این تحقیق، میزان بهینه استفاده از مکمل اسید صفراوی در هر کیلوگرم خوراک میگوی سفید غربی ۲ میلی‌گرم می‌باشد. استفاده از اسید صفراوی در رژیم غذایی میگوی سفید غربی اثرات مفیدی بر عملکرد رشد و متابولیسم لیپید خواهد داشت. با کاهش میزان مصرف خوراک در ازای رشد ایجادشده، شاهد افزایش سود اقتصادی پرورش‌دهنده خواهیم بود. به‌طور خلاصه این مطالعه می‌تواند به کاهش مصرف خوراک و هزینه پرورش میگوی سفید غربی کمک کند.

منابع

Anson M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of General Physiology* 22(1), 79-89.

Areekijseree M., Engkagul A., Kovitvadhi U., Thongpan A., Mingmuang M., Pakkong P., Rungruangsak-Torrissen K. 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel, *Hyriopsis* (*Hyriopsis*) *bialatus* Simpson 1900. *Aquaculture* 234(1-4), 575-587.

Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2), 248-254.

Dawood M.A.O., El-Dahan S., Elsaadawy S., Noreldin A.E., Sewilam H. 2025. Effects of dietary bile acid on the growth performance, intestinal health, blood biochemistry, and antioxidative response of Nile tilapia (*Oreochromus niloticus*) fed high-fat diets. *Aquaculture Reports* 40, 102605.

Di Gregorio M.C., Cautela J., Galantini L. 2021. Physiology and physical chemistry of bile acids. *International Journal of Molecular Sciences* 22(4), 1780.

Hertrampf J.W., Piedad-Pascual F. 2012. *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*, Springer Science & Business Media, New York, p. 285.

Ji Y., Gu Y., Liu H., Yang Z., Li C. 2017. The effects of partial replacement of white fish meal by poultry by-product meal and addition of bile acid in feed on growth, digestibility, and serum enzyme activities of the Chinese soft-shelled turtle. *Fisheries Science* 83(1), 83-88.

Kumar R., Ng T.H., Chang C.C., Tung T.C., Lin S.S., Lo C.F., Wang H.C. 2020. Bile acid and bile acid transporters are involved in the pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Cellular Microbiology* 22(1), e13127.

Ren X., Lu X., Wang F., Xu J., Tan Y., Feng A. 2025. Effects of dietary primary bile acids on the growth, intestinal morphology, gene expression, serum metabolites and intestinal microbiota in pearl gentian grouper fed a high lipid diet. *Aquaculture* 595, 741679.

Rick W., Stegbauer H.P. 1974. α-Amylase measurement of reducing groups. *Methods of enzymatic analysis.* Elsevier, p. 884

Rungruangsak-Torrissen K., Fosseidengen J.E. 2007. Effect of artificial feeding on digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte of maturing Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Journal of Food Biochemistry* 31(6), 726-747.

Su C., Li J., Lu Y., Wang Y., Ding Y., Pan L., Zhang M. 2022. Interactive effects of dietary cholesterol and bile acids on the growth, lipid metabolism, immune response and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*: Sparing effect of bile acids on cholesterol in shrimp diets.

Aquaculture 547, 737412.

Su C., Liu X., Li J., Zhang M., Pan L., Lu Y., Wang Y., Ding Y. 2021. Effects of bile acids on the growth performance, lipid metabolism, non- specific immunity and intestinal microbiota of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition* 27(6), 2029-2041.

Wang Y., Xu Z., Li M., Shuai K., Lei L., Li X., Leng X. 2023. Supplemental bile acids in low fishmeal diet improved the growth, nutrient utilization of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports* 28, 101452.

Yi-peng H., Hui-ying B., Chun-ying Y., Qing-man C. 2023. Effect of bile acid on growth performance, digestive enzyme activity and gene expression related to immune metabolism in *Litopenaeus vannamei*. *Feed Research* 46(10), 53-65.

Zhao Y., Chen D., Wang H. 2025. Effects of Bile Acids on Growth Performance, Hepatopancreatic Antioxidant Capacity, Intestinal Immune-Related Gene Expression, and Gut Microbiota of *Penaeus vannamei*. *Animals* 15(2), 240.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 13, No 24, 138-149
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

The effect of formulated feed with different levels of bile acids on growth performance, survival, and digestive enzymes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Samira Mobaraki[1], Alireza Ghaedi*[2], Vahid Yegane[1], Mohammad Mohammadi[3], Habib Sarsangi Aliabad[3], Mohammad Akhavan Bahabadi[3]

[1]Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran.

[2]Department of Animal Science and Aquaculture Research, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shahrekord, Iran.

[3]National Research Center for Saltwater Aquatics, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bafq, Iran.

*Corresponding author: aliangler@gmail.com

Received: 25.Jul.2025 **Accepted: 20.Sep.2025**

Abstract

This study was conducted to determine the appropriate level of bile acids in the diet of Western whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for 56 days in 5 treatments with 3 replications each. In each replication, 20 Western whiteleg shrimp with an average weight of 6±1 g was randomly stocked. The treatments were: diet without bile acid supplementation (control treatment), diet containing 6 mg/kg of bile acid (treatment 1), diet containing 2 mg/kg of bile acid (treatment 2), diet containing 1 mg/kg of bile acid (treatment 3), and diet containing 4 mg/kg of bile acid (treatment 4). At the end of the experimental period, some growth, survival, and digestive enzyme indices were measured. Based on the results obtained, the highest average weight was in the treatment containing 2 mg and the highest survival rate was in treatments B, C and E with an average of 88.33% and the lowest was in treatment A with an average of 75%. There was no statistically significant difference between the different treatments with treatment A (P>0.05). There was also no statistically significant difference between the FCR, SGR, WG and ADG factors of the different treatments (P<0.05). In the treatments that were fed with food containing bile acid, they had a greater weight gain between 2.6 and 5.9 percent compared to the control. In the study of digestive enzymes of the different treatments, it was observed that the higher the amount of bile acid, the higher the activity of digestive enzymes, but the amount of total protein decreased with increasing bile acid. The activity of α-amylase, protease, lipase and total protein enzymes showed a significant difference between treatment A and the control treatment (P<0.05). The results of this study showed that doses of 4 and 6 mg/kg of feed cause tissue damage and severe hepatopancreas necrosis, while doses of 1 and 2 mg/kg of feed can improve the nutritional status of western white shrimp without any tissue damage and have positive effects on growth and survival parameters, in which case a dose of 2 mg/kg of feed is introduced as the optimal dose.

Keywords: Bile acids, Growth, Feed conversion ratio, Survival, Digestive enzymes