



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 10, No. 2, 2024, pages: 49-65
DOI: 10.22124/janb.2024.27573.1245



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effects of taurine on growth performance, body composition and physiological responses of western white shrimp, *Litopenaeus vannamei* broodstock

Vahid Morshedi^{1*}, Mahmoud Nafisi Bahabadi^{1,2*}, Mansour Torfi Mozanzadeh³, Amin Oujifard^{1,2}, Naser Agh³, Khalegh Maniei², Ahmad Ghasemi¹, Nehzat Bakhshi¹, Hadi Ebrahimi¹, Shirin Hamedi¹, Rezvan Tamadoni², Reza Bagherpour², Fatemeh Solimani¹

1- Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

2- Faculty of Nano and Bio Science and Technology, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

3- South Iran Aquaculture Research Centre, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension (AREEO), Ahwaz, Iran

4- Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran

Received 08 April 2024

Revised 12 June 2024

Accepted 15 June 2024

KEYWORDS

Western white shrimp
Taurine
Haemolymph
Biochemical parameters
Growth performance
Body composition
Digestive enzymes

ABSTRACT

Introduction: The white shrimp, *Litopenaeus vannamei* has become a popular species for aquaculture worldwide due to its euryhaline nature and commercial importance. In aquaculture, the balance of nutrients in the diet of aquatic animals guarantees optimal growth and health improvement. Taurine (Tau = 2-aminoethanesulfonic acid) is an amino sulfonic acid, which has been proven to be conditionally essential for some aquatic animals when these animals are fed with diets containing high plant protein levels, due to taurine deficiency in plant-based protein sources. Tau has been also implicated in osmoregulation, modulation of neurotransmitters, hormone release, and antioxidation.

Materials and Methods: A 30-day feeding study was conducted to determine the effects of supplementing the Tau in the diet of broodstock western white shrimp. Hawaiian domesticated shrimp stocks were transferred to Aquatic Research Laboratory, Persian Gulf University, from a private greenhouse pond (Delvar, Bushehr, Iran). Shrimp broodstock were disinfected with formalin (100 ppm, 30 s). Following two weeks of acclimatization to the husbandry system, the shrimp broodstock were placed in two 4000-L circular fiberglass tanks. A total of 180 shrimp broodstock with mean initial weight of 30.37 ± 2.36 g, were stocked into 18 black circular polyethylene tanks with a capacity of 250 L. Six isonitrogenous and isolipidic diets were supplemented with

graded amounts of Tau including 0 (control), 2, 4, 6, 8, and 10 g/kg (T₂, T₄, T₆, T₈ and T₁₀ respectively). To evaluate the effects of Tau on growth, body composition, digestive enzymes, and haemolymph biochemical parameters, sampling was taken at the end of the experiment.

Results and discussion: The results showed that final weight, specific growth rate, weight gain, condition factor, and survival of shrimp fed with the supplemented diets with Tau had no significant differences than the control group ($p>0.05$). The protein content in the shrimp muscle of T₆ was higher than T₄ and the control group ($p<0.05$). The obtained results showed that hyaline cells in the haemolymph of T₁₀ upraised, while semi-granular rate (%) decreased compared to the control group ($p<0.05$). However, other haemolymph indices and metabolites in the treatments fed with Tau-supplemented diets did not show significant differences compared to the control group ($p>0.05$). The present results showed that lipase activity upraised by increasing Tau levels in the treatments ($p<0.05$). The results show that the growth performance of broodstock was not influenced by dietary Tau during the shrimp maturation process. It may be attributed to the preference of the broodstock shrimp for gonadal growth rather than for somatic growth.

Conclusion: The obtained results indicated that supplementing the broodstock diet with 6-10 g/kg Tau has beneficial effects on the protein content in the muscle and haemolymph biochemical indices, especially hemocyte cells and digestive enzyme activities of white shrimp broodstock during the maturation process.

*Corresponding author: nafisi@pgu.ac.ir; v.morshedi@pgu.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

اثرات اسید آمینه نورین جیره غذایی بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و پاسخ های فیزیولوژیک مولدین میگوی سفید
غربی (*Litopenaeus vannamei*)

وحید مرشدی^{۱*}، محمود نفیسی بهابادی^{۱،۲*}، منصور طرفی موزان زاده^۳، امین اوجی فرد^{۱،۲}، ناصر آق^۴، خالق مانعی^۲،
احمد قاسمی^۱، نهضت بخشی^۱، هادی ابراهیمی^۱، رضوان تمدنی^۲، شیرین حامدی^۱، رضا باقرپور^۲، فاطمه سلیمانی^۱

۱- پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، بوشهر

۲- دانشکده علوم و فناوری نانو و زیستی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، بوشهر

۳- تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات آبی‌پروری جنوب ایران، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، اهواز،
خوزستان

۴- پژوهشکده آرتیمیا و آبی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

برای بررسی اثرات تورین بر شاخص‌های رشد، ترکیبات لاشه، آنزیم‌های گوارشی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف میگوهای سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مولد (میانگین وزن اولیه $2/36 \pm 30/37$ گرم)، شش جیره غذایی دارای پروتئین و چربی یکسان با سطوح تورین صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم در کیلوگرم تهیه و نمونه‌برداری در پایان ۳۰ روز آزمایش انجام شد. بر اساس نتایج، وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، افزایش وزن بدن، شاخص وضعیت و میزان بازماندگی میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی تورین تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشتند ($P > 0/05$). میزان پروتئین عضله در مولدهای تغذیه شده با جیره حاوی ۶ گرم تورین نسبت به تیمار ۴ گرم تورین و گروه شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0/05$). درصد یاخته‌های هیالین و سمی‌گرانولار در همولنف میگوهای مولد تغذیه شده با ۱۰ گرم تورین جیره غذایی به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب افزایش و کاهش یافتند ($P < 0/05$). با وجود این، دیگر شاخص‌های همولنف و متابولیت‌ها در میگوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی تورین در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($P > 0/05$). فعالیت آنزیم گوارشی لپاز با افزایش سطح تورین جیره غذایی به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0/05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن تورین به جیره میگوهای مولد در سطح ۶-۱۰ g/kg اثرات مثبت معنی‌دار بر میزان پروتئین عضله، شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوهای سفید غربی مولد طی دوره رسیدگی جنسی دارد.

مقدمه

(Govahi et al. 2014). بنابراین، تغذیه میگو یکی از عوامل مهم و مؤثر بر کیفیت گناده‌ها و همچنین، یک مرحله بسیار حساس برای تولید انبوه لاروهای با کیفیت در آبزی‌پروری است که تحقیقات برای تولید جیره غذایی تجاری با کیفیت و کارایی مطلوب را اجتناب‌ناپذیر می‌کند (Andrino et al. 2012).

یکی از این مواد مغذی که در سال‌های اخیر در صنعت آبزی‌پروری توجه زیادی به آن شده، اسید آمینه تورین است. به نظر می‌رسد که نقش فیزیولوژیک اسیدآمینه تورین در مرحله بلوغ و لاروی آبزیان به دلیل سطح بسیار زیاد این اسیدآمینه آزاد در تخم و کیسه‌زده آبزیان بسیار حیاتی است. علاوه بر این، اسیدهای آمینه از ترکیبات مهم ویتلوژن‌ها در زرده بوده که در زمان رشد جنین، اندام‌زایی و تولید انرژی بسیار اهمیت دارند (Salze and Davis, 2015).

تحقیقات اندک انجام شده در زمینه اثرات تغذیه‌ای تورین بر عملکرد رشد و فیزیولوژی میگوهای دریایی نشان می‌دهد که اسیدآمینه تورین برای رشد میگو در مرحله لاروی و جوانی بسیار مهم است (El-Sayed et al. 2013). استفاده از مکمل تورین به میزان ۰/۴ تا ۰/۸٪ برای میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) منجر به افزایش رشد این گونه نسبت به سطوح پایین‌تر (صفر و ۰/۲٪) شد (Shi-Yen and Ben-Shan, 1994). سطح مورد نیاز تورین در جیره غذایی میگوی سفید در مرحله جوانی در حدود ۰/۱۷٪ است (Yue et al. 2012). با وجود این، هیچ مطالعه‌ای در زمینه اثرات تورین جیره غذایی بر تولیدمثل میگو انجام نشده است و تحقیقات اندک انجام شده بر روی ماهیان نشان داده‌اند که افزودن اسیدآمینه تورین به جیره غذایی سبب تسریع در رسیدگی جنسی و بهبود عملکرد تولیدمثل در ماهی گیش دم زرد (*Seriola quinqueradiata*)، تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) و گیش کالیفرنایی (*Seriola dorsalis*) می‌شود (Matsunari et al. 2006; Al-Feky et al. 2019; Salze et al. 2016). مطالعات نشان داده است که بهبود کیفیت تغذیه مولدها منجر به افزایش کیفیت تخمک می‌شود. لذا، استفاده از مکمل‌های غذایی مانند

در حال حاضر صنعت آبزی‌پروری سریع‌ترین رشد را در بخش تولید غذا داشته و در طی ۵۰ سال گذشته تولید آن از ۱ میلیون تن در سال به بیش از هشتاد میلیون تن در سال رسیده است (FAO, 2020). سخت‌پوستان نه تنها یک منبع غذایی پروتئینی هستند، بلکه تولید و تجارت آنها منبع درآمد مهمی برای افراد دخیل در زنجیره تولید بوده و نقشی پر رنگ در پیشرفت اقتصادی کشورهای در حال توسعه دارند. سخت‌پوستان دارای ارزش صادراتی بالا هستند؛ به طوری که تولیدکنندگان و صادرکنندگان سخت‌پوستان از فروش محصولات خود در بازارهای جهانی ارزآوری بالا دارند.

میگوی سفید غربی با نام علمی *Litopenaeus vannamei* یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی میگو در ایران و جهان است. این میگو به علت مزایای قابل توجه در پرورش مانند تراکم‌پذیری، میزان بازماندگی بالا، نیاز پروتئینی کمتر نسبت به دیگر گونه‌های پرورشی، تحمل بالای شوری و دما و مقاومت در برابر بیماری به تمام نقاط جهان انتقال یافته است (Wyban et al. 1995). به طوری که تولید جهانی میگوی سفید غربی از حدود ۱۵۰ هزار تن در سال ۲۰۰۰ به بیش از ۶/۴ میلیون تن در سال ۲۰۲۳ با ارزش حدود ۶۹ میلیارد دلار آمریکا رسیده است (Villarreal, 2023). در حال حاضر، تکثیر این گونه بر پایه جمعیت‌های مولد اهلی پرورش یافته در محیط‌های دارای امنیت زیستی استوار است. با وجود این، تکثیر مولدهای پرورش یافته در اسارت تا حدود زیاد غیر قابل پیش بینی بوده که این مسئله به دلیل کمبود مواد مغذی در جیره غذایی و یا شرایط نامناسب محیطی برای تکثیر است (Palacios et al. 2000; Alday-Sanz, 2010). در مراکز تکثیر میگو، میگوهای برای تکامل تخمدان‌ها باید قطع پایه چشمی شوند، اما به دلیل اینکه تکامل تخمدان بعد از قطع پایه چشمی بسیار سریع است، لذا تنها انرژی و مواد مغذی جیره غذایی برای تکامل سریع تخمدان‌ها کافی نیست. از سوی دیگر، به دلیل اینکه معمولاً مولدها در کارگاه‌های تکثیر تحت استرس دستکاری و تراکم زیاد هستند، حساسیت آنها نسبت به بیماری‌ها افزایش می‌یابد

اسید آمینه تورین نه تنها سبب افزایش هماوری، درصد ناپلیوس های تولید شده و بازماندگی در مراحل لاروی شده، بلکه منجر به بهبود شاخص های رشد و سلامت مولدها طی مراحل تکثیر خواهد شد. بنابراین، تعیین سطح مطلوب تورین در جیره غذایی مولدهای میگو و به کارگیری آن در جیره غذایی فرموله می تواند راندمان تولید پست لارو را در مراکز تکثیر میگو افزایش دهد. با توجه به اینکه اثر تورین جیره بر آبیان تحت تأثیر عوامل مختلف مانند گونه آبی، سن، اجزای جیره و میزان دیگر اسیدهای آمینه جیره است (Kim et al. 2008)، لذا مطالعه حاضر برای بررسی اثرات تورین بر شاخص های رشد، ترکیب لاشه، آنزیم های گوارشی و شاخص های بیوشیمیایی همولف انجام شد.

مواد و روش ها

شرایط آزمایش

این مطالعه در سالن تحقیقات ماهیان دریایی پژوهشکده خلیج فارس-دانشگاه خلیج فارس، بوشهر انجام شد. مولدهای میگوی سفید غربی در مزارع سایت بندر دلوار استان بوشهر پرورش یافتند و مولدسازی آنها نیز در استخرهای گلخانه ای حاکی ۰/۱ هکتاری سایت انجام شد. در ابتدای آزمایش، پس از انتقال مولدها با مخازن در بسته مخصوص حمل آبیان به سالن پژوهشکده، آنها در محلول فرمالین ۱۰۰ ppm به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی شدند. پس از مراحل ضد عفونی، طی دو هفته برای سازگاری با شرایط سالن رسیدگی جنسی در مخازن گرد ۴ تنی فایبرگلاس با دیواره تیره رنگ نگهداری و دو مرتبه در روز با جیره تجاری (شرکت فرادانه، شهرکرد، ایران) تغذیه شدند. آب دریا (۴۰ ppt) ابتدا به مخزن رسوب گیر فایبرگلاس ۴۰ مترمکعبی پمپاژ می شد. پس از رسوب مواد اولیه و عبور از فیلتر شنی، آب موجود با کلر (۱۵ ppm) ضد عفونی شده و قبل از توزیع بین مخازن پرورشی و تعدیل شوری با اضافه کردن آب شیرین (۳۵ ppt)، در مخزن فایبرگلاسی به حجم ۲۰ متر مکعب ذخیره شد.

طراحی آزمایش

پس از سازگاری میگوها با شرایط سالن، ۱۸۰ قطعه مولد میگو ($2/36 \pm 30/37$ گرم) در شش تیمار با سه تکرار در ۱۸ مخزن گرد از جنس پلی اتیلن با حجم ۳۰۰ لیتر و دیواره تیره رنگ توزیع شدند. آبیگری هر یک از مخازن با ۲۵۰ لیتر آب ضد عفونی شده دریا بود. روزانه بیش از ۵۰٪ آب از طریق سیفون کردن برای برداشت ضایعات حاصل از پوست اندازی، باقیمانده های غذایی و مدفوع تعویض شد. در هر مخزن یک عدد بخاری آکواریوم ۳۰۰ وات برای تنظیم دما قرار گرفت و مخازن با توری پنجره ای پوشیده شدند. هر تیمار با ۳۰ عدد میگوی مولد ماده (با سن ۹ تا ۱۰ ماه) به نسبت ۱ نر به ۱ ماده و با ۳ تکرار با تراکم ۱۰ قطعه در هر مخزن به اجرا گذاشته شد. دمای هوای سالن نیز به کمک سیستم گرمایشی در ۳۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. دما، پی اچ، شوری و اکسیژن محلول آب به ترتیب $28/9 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد، $8/2 \pm 0/4$ ، $3/1$ ، $35/2 \pm 3/1$ گرم در لیتر و ۸۰-۷۰٪ اشباع ثبت شد. نور سالن نیز به وسیله لامپ های فلورسنت بر اساس ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی تنظیم شد. برای تقویت ذخیره غذایی هپاتوپانکراس و تخمدان، قبل از رسیدگی کامل تخمک و شکل گیری کامل زرده همزمان با شروع زرده سازی (Stage II)، میگوها با جیره غذایی مناسب هر تیمار تغذیه شدند. در تغذیه آنها از پلت های آزمایشی به قطر ۳ میلی متر و به میزان ۵٪ وزن بدن دو مرتبه در روز (ساعات ۹:۰۰ و ۱۴:۰۰) به مدت ۳۰ روز استفاده شد.

تهیه جیره های آزمایشی

در تهیه جیره های آزمایشی از نرم افزار WUFFFDA (شرکت Evan Thomson، جورجیا، آمریکا، نسخه ۲) استفاده شد. فرمولاسیون، ترکیبات شیمیایی و ترکیب اسیدهای آمینه جیره های ساخته شده برای مولدهای میگوی سفید غربی در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. جیره میگوها براساس پودر ماهی، پودر میگو، ژلاتین، مخمر، گلوتن ذرت و گندم به عنوان منابع اصلی پروتئین تنظیم شد. از روغن ماهی، کانولا و لسیتین به عنوان منابع چربی برای تهیه جیره هایی با پروتئین و لیپید یکسان در تیمارها استفاده شد (جدول ۱). به این ترتیب اسید آمینه

روغن‌ها، لسیتین و مواد ریز مغذی به مخلوط اضافه شد. پس از این مواد از چرخ گوشت با قطر چشمه ۳ میلی‌متر عبور داده شده و رشته‌های خارج شده بر روی سینی‌های توری فلزی ریخته شدند و در خشک‌کن با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. در نهایت، پلت‌های غذایی در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی و در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تورین در شش سطح صفر (شاهد)، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم در کیلوگرم به جیره غذایی افزوده شد. اجزای خشک جیره غذایی نظیر پودر ماهی، پودر میگو، گلوتن ذرت و گندم ابتدا آسیاب شده و با الک ۰/۵ میلی‌متری غربال شده و سپس تمامی مواد اولیه بر اساس فرمول نوشته شده توزین شدند. برای ساخت جیره‌ها مواد اولیه درون همزن برقی ریخته شد. سپس کلیه مواد اولیه به مدت ۳۰ دقیقه کاملاً هم زده شدند تا مخلوطی همگن تهیه شد. در مرحله بعد

جدول ۱ اقلام و آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی

Table 1 Ingredients and proximate analysis of the experimental diets

Ingredients (g/kg) ^a	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Fish meal ^b	360	360	360	360	360	360
Shrimp meal ^b	120	120	120	120	120	120
Wheat gluten meal ^b	120	120	120	120	120	120
Corn gluten meal ^b	120	120	120	120	120	120
Beef gelatin	25	25	25	25	25	25
Yeast	20	20	20	20	20	20
Fish oil ^b	26	26	26	26	26	26
Canola oil	26	26	26	26	26	26
Soy lecithin ^c	10	10	10	10	10	10
Cholesterol ^d	2	2	2	2	2	2
Vitamin and mineral premix ^e	23	23	23	23	23	23
Vitamin C ^f	3	3	3	3	3	3
Di-calcium phosphate ^b	15	15	15	15	15	15
Cellulose	10	8	6	4	2	0
Taurine ^f	0	2	4	6	8	10

Proximate analysis (g/100 g of diet)

Crude protein	49.2 ± 0.6	49.5 ± 0.4	49.3 ± 0.4	49.8 ± 0.7	50.2 ± 0.6	50.1 ± 0.5
Crude lipid	14.0 ± 0.1	13.5 ± 0.1	13.3 ± 0.2	13.6 ± 0.2	13.7 ± 0.1	13.5 ± 0.2
Crude ash	14.1 ± 0.2	14.0 ± 0.1	13.9 ± 0.3	13.9 ± 0.4	13.8 ± 0.3	13.1 ± 0.1
Moisture	10.1 ± 0.2	9.6 ± 0.1	9.6 ± 0.2	9.7 ± 0.3	10.1 ± 0.2	9.6 ± 0.1

^aComposition of ingredients [fish meal (520 g/kg crude protein, 180 g/kg crude lipid), shrimp meal (380 g/kg crude protein, 80 g/kg crude lipid), wheat gluten meal (500 g/kg crude protein, 30 g/kg crude lipid), corn gluten meal (520 g/kg crude protein, 30 g/kg crude lipid), beef gelatin (850 g/kg crude protein, 42 g/kg crude lipid).

^bHavorash (Bushehr, Iran).

^cBehpak Industrial Company, Behshahr, Mazandaran, Iran.

^dMerck, Germany.

^eVitamin A, 5,000,000 IU; vitamin D3, 500,000 IU; vitamin E, 3000 mg; vitamin K₃, 1500 mg; vitamin B₁, 6000 mg; vitamin B₂, 24,000 mg; vitamin B₅, 52,000 mg; vitamin B₆, 18,000 mg; vitamin B₁₂, 60,000 mg; Folic acid, 3000mg; nicotinamide 180,000 mg; antioxidant, 500 mg, copper, 3000 mg; zinc, 15,000 mg; manganese, 20,000 mg; Iron, 10,000 mg; potassiumiodate, 300 mg, career up to1 kg, Damloran Pharmaceutical Company, Broujerd, Iran.

^fSumchun Pure Chemical, South Korea.

جدول ۲ سنجش اسید آمینه های جیره های آزمایشی

Table 2 Amino acids analysis of the experimental diets

Ingredients ^a	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Amino acid profile (g/100 g of diet)						
Arginine	1.2	1.3	1.3	1.2	1.3	1.3
Histidine	1.4	1.4	1.6	1.5	1.5	1.6
Isoleucine	1.0	1.2	1.2	1.0	1.1	1.2
Leucine	4.0	3.8	3.7	3.9	3.8	3.9
Lysine	3.3	3.6	3.4	3.5	3.5	3.5
Methionine	1.1	1.0	0.9	1.0	0.9	0.9
Phenylalanine	2.7	2.4	2.5	2.7	2.5	2.5
Threonine	1.3	1.4	1.3	1.4	1.5	1.4
Valine	1.3	1.3	1.1	1.2	1.3	1.3
Aspartate	3.9	4.1	4.0	4.3	4.2	4.2
Glutamate	7.2	7.5	8.0	7.3	7.8	7.6
Serine	3.6	3.6	3.5	3.4	3.5	3.6
Glycine	5.3	5.5	5.8	5.1	5.5	5.6
Alanine	2.1	2.4	2.2	2.4	2.4	2.3
Proline	4.0	3.6	3.7	4.0	3.8	3.8
Cysteine	1.6	1.5	1.5	1.6	1.5	1.5
Tryptophan	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2
Tyrosine	1.1	1.0	1.1	1.0	0.9	1.1
Taurine	0.2	0.5	0.7	0.9	1.2	1.4

مرحله ۲: تخمدان در حال توسعه (بلوغ ابتدایی)؛ لوب های میانی و پیشین غیرقابل مشاهده اند، قطر لوب پسین با قطر روده برابر است.

مرحله ۳: تخمدان تقریباً توسعه یافته (تقریباً بالغ)؛ لوب های میانی و جلویی کاملاً توسعه یافته اند و قطر لوب خلفی از قطر روده بیشتر است.

مرحله ۴: تخمدان توسعه یافته (بالغ)؛ تخمدان به رنگ سبز زیتونی است. توده تخمدان در ناحیه اولین و دومین بند شکمی کاملاً متورم و اصطلاحاً به شکل الماس دیده می شود. تخمدان ها در زمان تخم ریزی و بلوغ کامل، به علت رشد زیاد، تمام قسمت پشتی بدن را در بر می گیرند. تخمدان ها به طور دو طرفه متقارن، حاشیه داخلی آن تا حدودی به هم متصل و در سرتاسر طول بدن جانور از پایه روستروم تا تلسون ادامه می یابد. هر نیمه تخمدان دارای سه قسمت پیشین، میانی و پسین است. لوب پیشین در منطقه سر، لوب میانی دارای شش لوب جانبی انگشت مانند در مناطق کاردیاک و سینه است. لوله تخمکبر، باریک و کوتاه

رسیدگی جنسی و تکامل تخمدان مولدها

پس از ۳۰ روز تغذیه مولدهای میگو با جیره های آزمایشی حاوی سطوح صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم اسید آمینه تورین در کیلوگرم جیره غذایی، قطع پایه چشمی مولدهای ماده انجام شد. برای قطع پایه چشمی، پایه چشمی چپ آنها با روش سوزاندن قطع شد (Alday-Sanz, 2010). پس از قطع پایه چشمی، روزانه با تاباندن نور چراغ قوه به سطح پشتی و کنار بدن و مشاهده اندازه، حجم و رنگ توده تخمدان، مراحل رسیدگی جنسی آنها ارزیابی شد تا تکامل تخمدان ها مشخص شود (میگوهای مرحله ۲ جنسی بین ۴ تا ۱۲ روز طول کشید تا به مرحله ۴ جنسی برسند). مراحل رسیدگی جنسی بر اساس کلید شناسایی ۵ مرحله ای مشاهده و ثبت شدند (Alday-Sanz, 2010):

مرحله ۱: تخمدان توسعه نیافته؛ که تخمدان در این مرحله کوچک و شفاف است و قطر لوب پسین کمتر از قطر روده است.

بعد از تکامل تخمدانی مولدهای ماده در پایان آزمایش و پس از ۲۴ ساعت قطع تغذیه، قرارگیری مولدها در آب یخ برای کاهش استرس نمونه برداری از همولنف و بافت عضله و روده انجام شد. برای بررسی شاخص‌های رشد، در انتهای ۳۰ روز تغذیه با جیره های آزمایشی تمام مولدها با دقت ۰/۰۱ گرم برای سنجش وزن و با دقت ۱ میلی‌متر برای درازای کل (نوک روستروم تا انتهای تلسون) به صورت انفرادی زیست‌سنجی شدند و شاخص‌های رشد شامل نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن (WG)، شاخص وضعیت (K) و بازماندگی (Survival) با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد (Marcouli et al. 2006):

$$\text{SGR} = \frac{(\text{وزن ابتدایی (گرم)} \times 100) - (\text{وزن انتهایی (گرم)})}{\text{مدت زمان پرورش}}$$

$$\text{WG} = \frac{(\text{وزن ابتدایی (گرم)} - \text{وزن انتهایی (گرم)})}{\text{طول انتهایی (سانتی متر)}} \times 100$$

$$\text{K} = \frac{(\text{وزن انتهایی (گرم)})^3}{\text{تعداد اولیه میگو} \times 100}$$

$$\text{Survival} = \frac{\text{تعداد نهایی میگو}}{\text{تعداد اولیه میگو} \times 100}$$

میگو ابتدا توسط دستگاه فریزدرایر خشک شده و سپس هضم اسیدی شدند. برای هضم اسیدی نمونه‌های فریزدرای شده به مدت ۲۴ ساعت با اسیدکلریدریک ۶ نرمال در آن با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از انشقاق اسیدهای آمینه از ماده O-phthaldialdehyde برای نشان‌دار کردن آنها استفاده شد (Lindroth and Mopper, 1979). سطح اسیدهای آمینه با استفاده از دستگاه HPLC (Knauer, Germany) دارای ستون C18 بررسی شد (جدول ۲).

بررسی شاخص‌های همولنف

بعد از ۲۴ ساعت قطع تغذیه و قرار دادن مولدها در آب یخ برای کاهش استرس، از پایه اولین جفت پای شنا در بند اول شکمی از ۳ مولد ماده از هر مخزن با استفاده از سرنگ انسولین حاوی ۰/۴ میلی لیتر ماده ضد انعقاد خنک (۱۰ میلی مولار تریس کلراید، ۲۵۰ میلی مولار ساکارز و ۱۰۰ میلی مولار سیترات سدیم، pH: 7.6) همولنف‌گیری شد. قسمتی از همولنف برای بررسی یاخته‌های خونی در یخچال نگهداری شد و قسمت دیگر در ۶۰۰۰ دور به مدت ۱۰

است و از نوک ششمین لوب جانبی، تخمدان را ترک کرده و از طریق منافذ تناسلی موجود در کوکسای سومین جفت پای حرکتی به بیرون باز می‌شود. لوب پسین در سراسر طول شکم تا تلسون گسترش یافته است.

مرحله ۵: پس از تخم‌ریزی؛ تخمدان‌ها قابل مشاهده نیستند و تنها اثر شبیح مانندی از تخمدان‌ها دیده می‌شود. این مرحله تقریباً شبیه به مرحله اول است.

نمونه برداری و سنجش شاخص‌های رشد

سنجش ترکیب بیوشیمیایی عضله

ترکیبات شیمیایی لاشه با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (AOAC, 1990). سه قطعه میگو از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و قسمتی از عضله برای بررسی ترکیب شیمیایی به ظرف نمونه‌برداری منتقل شد و تا زمان انجام سنجش‌های مربوطه (درصد رطوبت، خاکستر، چربی، پروتئین) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان رطوبت توسط خشک کردن نمونه‌ها در آن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت سنجش شد. برای محاسبه پروتئین خام، پس از هضم نمونه‌ها (شرکت Buchi، نیوکاسل، آمریکا، مدل K438) با استفاده از روش کلدال تعیین شد (شرکت Beher، اشتوتگارد، آلمان، مدل K 20). خاکستر با سوزاندن لاشه در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت اندازه‌گیری شد. درصد چربی خام از طریق حل کردن در کلروفرم و متانول استخراج شد و میزان چربی به روش سوکسله (شرکت Beher، اشتوتگارت، آلمان، مدل SMX 100) تعیین شد. برای بررسی پروفیل اسیدهای آمینه در پایان آزمایش نمونه‌های غذا و تخمدان

سنجش شد. نشاسته تحت تأثیر آنزیم تجزیه شده و تولید مالتوز می‌کند که از طریق رنگ‌سنجی و تغییر شدت رنگ در معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید و با طول موج ۵۸۰ نانومتر قابل سنجش است.

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آزمون‌های آماری، ابتدا نرمال بودن تمام داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون Levene بررسی شد. سپس با روش آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین شاخص‌های مورد بررسی با پس‌آزمون توکی و با استفاده از نرم افزار SPSS (شرکت IBM، نیویورک، آمریکا) انجام شد. در تمام بررسی‌ها، سطح معنی‌دار بودن تفاوت‌ها، $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

بر اساس نتایج گردآوری شده در جدول ۳، افزودن تورین در جیره غذایی مولدهای میگوی سفید غربی اثری بر شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، درازای نهایی، WG، SGR، K و درصد بازماندگی میگو در این مرحله نداشت و اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای تغذیه شده با تورین از نظر شاخص‌های رشد مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنان که در جدول ۴ آمده است، میزان رطوبت عضله در میگوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۴ گرم تورین به طور معنی‌دار بیش از جیره حاوی ۶ گرم تورین بود ($p < 0.05$)، اما اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد و دیگر تیمارهای تورین نشان ندادند ($p > 0.05$). همچنین، مولدهای تغذیه شده با جیره حاوی ۶ گرم تورین دارای بیشترین میزان پروتئین در عضله بودند و اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد و تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۴ گرم تورین (دارای کمترین میزان پروتئین) نشان دادند ($p < 0.05$). دیگر فراورده‌های عضله از جمله چربی و خاکستر در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی تورین و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($p > 0.05$).

نتایج بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف مولدهای مطالعه حاضر در جدول ۵ نشان داد که سطوح مختلف

دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما برای بررسی متابولیت‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای بررسی‌های خون شناختی، گسترش همولنف بر روی لام تهیه شد و با متانول فیکس و با استفاده از گیمسا رنگ‌آمیزی به عمل آمد. سپس در بزرگنمایی ۱۰۰ با استفاده از میکروسکوپ نوری درصد یاخته‌های گرانولار، سمی‌گرانولار و هیالین تعیین شد (Xian et al. 2009). همچنین، برای بررسی متابولیت‌ها در همولنف از دستگاه اتوآنالایزر (شرکت Technicon، نیویورک، آمریکا، مدل RA-1000) و کیت‌های تجاری تشخیص طبی (پارس آزمون، تهران، ایران) استفاده شد. گلوکز (گلوکز اکسیداز)، لاکتات (محصول نهایی گلیکولیز بی‌هوازی) و فسفر به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. کلر و سدیم توسط دستگاه فلیم فتومتر (شرکت PG Instruments، ویسوفت، انگلیس، مدل FP910) اندازه‌گیری شد. برای بررسی اسمولالیت کل از دستگاه اسمومتر (شرکت Knauer، برلین، آلمان، مدل Knauer 7400) استفاده شد.

سنجش آنزیم‌های گوارشی

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در پایان آزمایش، از هر تکرار تعداد ۳ قطعه میگو به‌طور تصادفی انتخاب و در داخل یخ و تحت شرایط استریل روده این میگوها جدا و به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و عصاره آنزیمی تهیه شد. مقدار پروتئین محلول عصاره‌های آنزیمی با روش Bradford (۱۹۷۶) سنجش شد. سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از محلول سوبسترای آزوکازئین ۱/۵٪ در ۵۰ میلی مولار بافر Tris/HCl در pH = ۷/۵ انجام شد و در نهایت، میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت Unico، ویسکانسین، آمریکا، مدل ۲۱۰۰) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Garcia-Carreno et al. 1993). فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p-nitrophenylemyristate و به طریق اسپکتروفتومتری و در طول موج ۴۰۵ نانومتر انجام شد (Iijima, 1998). فعالیت آنزیم آمیلاز براساس روش Bernfeld (۱۹۹۵) و با استفاده از سوبسترای نشاسته

اثرات تورین استفاده شده در جیره غذایی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی مولدهای میگو در جدول ۶ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده سطوح مختلف تورین جیره تأثیر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز بین تیمارهای مختلف تغذیه‌شده با تورین و گروه شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). با وجود این، فعالیت آنزیم لیپاز با بالا رفتن سطح تورین در جیره، نسبت به گروه شاهد روند افزایشی نشان داد ($p < 0.05$).

تورین جیره تأثیری بر میزان پروتئین کل، گلوکز، لاکتات، سدیم، کلر، سدیم، فسفر، اسمولالیت و همولف آنها نداشت و اختلاف معنی‌دار بین این تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). درصد یاخته‌های هیالین در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰ گرم تورین در کیلوگرم به طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود ($p < 0.05$), در حالی که درصد یاخته‌های سمی‌گرانولار در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰ گرم تورین در کیلوگرم کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$).

جدول ۳ شاخص‌های رشد مولدین میگو (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 3 Growth indices of shrimp broodstock (*Litopenaeus vannamei*) fed the experimental diets (mean \pm SEM)

Growth parameters	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Initial body weight (g)	29.4 \pm 0.9	29.4 \pm 0.9	29.4 \pm 0.9	29.4 \pm 0.9	29.4 \pm 0.9	29.4 \pm 0.9
Initial length (cm)	16.5 \pm 0.2	16.5 \pm 0.2	16.5 \pm 0.2	16.5 \pm 0.2	16.5 \pm 0.2	16.5 \pm 0.2
Final body weight (g)	34.4 \pm 0.9	36.1 \pm 0.8	35.4 \pm 1.1	34.9 \pm 1.0	37.5 \pm 0.8	33.3 \pm 3.3
Final length (cm)	17.2 \pm 0.1	17.2 \pm 0.1	17.2 \pm 0.2	17.1 \pm 0.1	17.4 \pm 0.1	17.2 \pm 0.1
WG (%)	19.5 \pm 2.8	23.7 \pm 2.9	20.3 \pm 3.9	18.8 \pm 3.4	27.6 \pm 2.9	19.7 \pm 3.0
SGR (%/day)	0.5 \pm 0.1	0.65 \pm 0.1	0.62 \pm 0.1	0.55 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.58 \pm 0.1
K	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0
Survival (%)	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0

جدول ۴ ترکیب شیمیایی عضله مولدهای میگو (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 4 Muscle chemical composition of shrimp broodstock (*Litopenaeus vannamei*) fed the experimental diets (mean \pm SEM).

Body composition (% wet weight)	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Moisture	74.50 \pm 0.50 ^{ab}	73.70 \pm 0.20 ^{ab}	75.30 \pm 0.40 ^a	72.60 \pm 0.13 ^b	73.40 \pm 0.20 ^{ab}	73.90 \pm 0.28 ^{ab}
Protein	20.21 \pm 0.20 ^{bc}	21.10 \pm 0.20 ^{abc}	19.55 \pm 0.32 ^c	22.10 \pm 0.71 ^a	21.40 \pm 0.20 ^{ab}	21.00 \pm 0.30 ^{abc}
Fat	0.52 \pm 0.19	0.51 \pm 0.14	0.71 \pm 0.14	0.70 \pm 0.16	0.50 \pm 0.17	0.80 \pm 0.10
Ash	1.3 \pm 0.21	1.5 \pm 0.12	1.5 \pm 0.20	1.5 \pm 0.21	1.3 \pm 0.10	1.6 \pm 0.20

Note: Different superscripts in the same row denote statistically significant differences ($p < 0.05$).

جدول ۵ فراسنجه‌های بیوشیمیایی و الکترولیت‌های همولف مولدهای میگو (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 5 Biochemical parameters and hemolymph electrolytes of shrimp broodstock (*Litopenaeus vannamei*) fed the experimental diets (mean \pm SEM)

Biochemical parameters	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Total protein (g/dL)	7.61 \pm 0.55	8.82 \pm 0.80	8.31 \pm 0.13	8.62 \pm 0.17	8.00 \pm 0.12	8.33 \pm 0.11

Glucose (mg/dL)	41.50 ± 1.41	39.82 ± 0.30	40.51 ± 0.5	41.40 ± 0.82	41.00 ± 0.42	41.8 ± 0.25
Lactate (mg/dL)	47.60 ± 0.70	46.21 ± 0.31	47.51 ± 1.18	48.22 ± 0.68	47.20 ± 0.41	50.55 ± 0.90
Phosphorus (mg/dL)	1.80 ± 0.4	1.91 ± 0.4	1.90 ± 0.3	2.00 ± 0.10	1.9 ± 0.11	2.00 ± 0.12
Sodium (mg/dL)	325.50 ± 2.01	328.51 ± 4.90	329.00 ± 4.00	323.00 ± 0.91	315.00 ± 5.80	314.5 ± 0.90
Chloride (mg/dL)	176.00 ± 4.01	181.50 ± 1.30	182.50 ± 1.30	181.00 ± 1.51	178.00 ± 5.20	176.50 ± 6.06
Osmolality (mosmol/kg)	444.00 ± 2.91	451.50 ± 1.52	450.00 ± 2.30	472.00 ± 4.01	456.00 ± 6.05	449.00 ± 4.00
Hyaline cells (%)	57.50 ± 1.60 ^b	59.50 ± 0.30 ^{ab}	61.00 ± 1.70 ^{ab}	63.50 ± 0.31 ^{ab}	60.00 ± 1.12 ^{ab}	65.00 ± 1.51 ^a
Semigranular cells (%)	26.00 ± 0.61	27.00 ± 1.10	27.50 ± 1.32	24.00 ± 0.00	27.00 ± 0.60	24.50 ± 1.52
Granular cells (%)	16.50 ± 1.00 ^a	13.50 ± 1.50 ^{ab}	13.00 ± 0.65 ^{ab}	12.50 ± 0.35 ^{ab}	13.00 ± 0.60 ^{ab}	10.50 ± 0.30 ^b

Note: Different superscripts in the same row denotes statistically significant differences (p<0.05)

جدول ۶ فعالیت آنزیم‌های گوارشی مولدهای میگو (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (میانگین ± خطای استاندارد)

Table 6 Digestive enzymes activities of shrimp broodstock (*Litopenaeus vannamei*) fed the experimental diets (mean ± SEM)

Digestive enzymes	Taurine (g/kg)					
	0	2	4	6	8	10
Total protease (mU/mg protein)	45.70 ± 0.35	41.46 ± 0.50	46.79 ± 0.90	48.11 ± 0.13	46.64 ± 0.85	45.14 ± 0.28
Amylase (U/mg protein)	0.23 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.17 ± 0.00	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.00	0.21 ± 0.00
Lipase (U/mg protein)	0.76 ± 0.09 ^b	0.88 ± 0.04 ^b	1.08 ± 0.36 ^a	1.04 ± 0.23 ^a	0.96 ± 0.47 ^{ab}	1.16 ± 0.23 ^a

Note: Different superscripts in the same row denote statistically significant differences (p<0.05).

نتایج، To و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که با افزودن مکمل اسید آمینه تورین به میزان ۰/۲٪ در جیره غذایی پست‌لارو میگوی سفید غربی (جیره حاوی ۰/۹٪ چربی)، عملکرد رشد و تغذیه نسبت به دیگر تیمارها و گروه شاهد افزایش نشان داد. Yue و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که افزودن مکمل اسید آمینه تورین به میزان ۱/۷ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی سرشار از پروتئین‌های گیاهی منجر به بهبود رشد، کارایی تغذیه و افزایش غلظت اسید آمینه تورین در بافت‌های عضله، هپاتوپانکراس و کل بدن میگوی سفید غربی جوان با متوسط وزن اولیه ۰/۵ گرم شد. بهبود عملکرد رشد و تغذیه در جیره‌های غذایی حاوی تورین ممکن است نتیجه ویژگی‌های جذب خوراکی تورین مانند وزن مولکولی کم، حلالیت در آب و خاصیت آمفوتریک آن باشد (Salze and Davis, 2015). در مطالعه حاضر و مطالعات انجام شده بر روی مولدها اختلاف معنی‌داری در عملکرد رشد طولی و وزنی آنها مشاهده نمی‌شود؛ اما در دیگر مطالعات مذکور بر روی پست‌لاروهای میگو و بچه‌ماهیان، اثرات مثبت افزودن اسید آمینه تورین به جیره اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای تغذیه شده با تورین و گروه شاهد را موجب شده است. بنابراین، نتایج مذکور بیشتر بر

بحث

در مطالعه حاضر سطوح مختلف اسید آمینه تورین اثر مثبتی بر شاخص‌های رشد مولدهای میگوی سفید غربی نداشت. به نظر می‌رسد این مسئله به دلیل هدایت انرژی و مواد مغذی برای تکامل جنسی آنها باشد؛ به عبارت دیگر آنها برای توسعه رشد گنادی خود بیشتر انرژی و مواد مغذی دریافتی از غذا را مصرف می‌کنند؛ درحالی که پست‌لاروها و میگوهای جوان این انرژی را برای رشد سوماتیک (بدنی) مصرف می‌کنند که خود این مسئله ممکن است سبب عدم تغییر شاخص‌های رشد مولدها در اثر افزودن مکمل تورین باشد. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، Arshadi و همکاران (۲۰۱۸) سطوح مختلف نوکلئوتید جیره را بر شاخص‌های رشد و تولیدمثل میگوی سفید غربی بررسی کردند. این محققان گزارش کردند که در پایان آزمایش سطوح ۲ تا ۶ گرم در کیلوگرم نوکلئوتید نتوانست بر شاخص‌های رشد مولدهای میگوی سفید غربی شامل وزن بدن، درازا، نرخ رشد ویژه و بازماندگی تأثیر معنی‌دار بگذارد. علاوه بر این، مطالعه Shi و همکاران (۲۰۲۳) در بچه میگوی سفید غربی نشان دادند که افزودن تورین به جیره تأثیری بر روی میزان بقا و عملکرد رشد نسبت به گروه شاهد نداشت. برخلاف این

مختلف تورین و گروه شاهد تغییر نکردند. مشابه نتایج مطالعه حاضر در تحقیقات Shi و همکاران (۲۰۲۳) در میگوی سفید غربی گزارش شد که ترکیب شیمیایی لاشه شامل چربی و رطوبت در بین تیمارهای مختلف تورین و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در مقابل، Saleh و همکاران (۲۰۲۰) در بچه‌ماهی سی‌باس اروپایی و Hoseini و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای بر روی ماهی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) نشان دادند که جیره حاوی تورین منجر به کاهش محتوای چربی لاشه شد. به‌علاوه، مطالعات نشان داده‌اند که تورین در سوخت و ساز چربی‌ها نقش دارد و با تحریک سنتز اسیدهای صفاوی و تخریب کلسترول، جذب چربی روده را افزایش می‌دهد (Huxtable, 1992). در مطالعه Yun و همکاران (۲۰۱۲) نیز استفاده از اسیدآمینه تورین در جیره ماهی کفشک اقیانوس اطلس کاهش چربی لاشه را به‌همراه داشته است؛ اگرچه در برخی گونه‌ها از جمله ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) افزایش چربی لاشه در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف تورین نیز مشاهده شده است (Espe et al. 2012). تضاد بین نتایج مطالعات در زمینه ترکیب بیوشیمیایی لاشه ممکن است به‌دلیل تفاوت در روش‌های انجام آزمایش، شرایط محیطی، ویژگی‌های فیزیولوژیک موجود و پاسخ خاص هر گونه به استفاده از تورین در جیره باشد (Salze and Davis, 2015).

در تکثیر و پرورش میگو، تغییرات شرایط محیطی، زیست‌سنجی، پوست‌اندازی، انتقال و قطع پایه چشمی مولدها از جمله عوامل استرس‌زا برای میگو به‌شمار می‌روند. در مطالعه حاضر، افزایش سطح تورین در جیره غذایی منجر به افزایش یاخته‌های ایمنی هیالین و کاهش درصد یاخته‌های سمی گرانولار در میگوهای مولد شده است. نتایج مطالعات محققان ثابت کرده است که تورین با تنظیم تکثیر یاخته‌های ایمنی و ممانعت از ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، واسطه‌ای قدرتمند در پاسخ‌های ایمنی در پستانداران است (Salze and Davis, 2015). قابلیت زیست یاخته‌های هموسیت و درصدهای متفاوت آن‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند و در این شرایط است که یاخته‌های گرانولار و سمی گرانولار می‌توانند به یاخته‌های

این نکته تأکید می‌کند که ضروری بودن اسید آمینه تورین در جیره غذایی و تأثیرگذاری آن به گونه آبی، مرحله زندگی آبی (جوی و بلوغ)، جیره غذایی، اندازه و تاریخچه تغذیه بستگی دارد (Salze and Davis, 2015).

ترکیب بیوشیمیایی عضله بدن میگوهای پنایده تنوع زیادی دارد که به چندین عامل از جمله گونه، اندازه، جنسیت، فصل و رسیدگی جنسی بستگی دارد؛ اما بدون شک اختلاف اصلی در ترکیب بیوشیمیایی آبی را باید در رابطه با غذای دریافتی یا تغذیه آبی و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه دانست (Salam and Davies, 1994). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان پروتئین عضله در میگوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۶٪ تورین بیش از گروه شاهد بود که نشان‌دهنده افزایش کارایی پروتئین جیره غذایی و ترسیب بیشتر اسیدهای آمینه و پروتئین در این گروه است. با توجه به اینکه در سخت‌پوستان طی روند بلوغ جنسی انتقال انرژی از عضله به گنادها انجام می‌شود، احتمالاً این الگوی تغییرات پروتئین عضله طی روند بلوغ جنسی بیشتر به‌دلیل افزایش چرخه پوست‌اندازی و تغییرات سوخت و ساز بوده است (Abraham, 2005). به‌علاوه، افزایش میزان پروتئین در عضله مولدهای میگوی تغذیه شده با ۰/۶٪ تورین را می‌توان به اثرات تحریک‌کنندگی تورین بر افزایش سنتز و ذخیره پروتئین نسبت داد (Li et al. 2009). مشابه نتایج مطالعه حاضر، در تحقیقات Shi و همکاران (۲۰۲۳) در میگوی سفید غربی و Saleh و همکاران (۲۰۲۰) در بچه‌ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) درصد پروتئین لاشه در تمام گروه‌های تغذیه شده با تورین در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. در مطالعه Qi و همکاران (۲۰۱۲) نیز مشاهده شد که مکمل تورین در جیره غذایی می‌تواند محتوای پروتئین کل بدن را در ماهی کفشک اقیانوس اطلس (*Scophthalmus maximus*) افزایش دهد. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، To و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که افزودن مکمل اسیدآمینه تورین به میزان ۰/۲ تا ۰/۶٪ در جیره غذایی میگوی سفید غربی تأثیری بر میزان پروتئین و رطوبت لاشه ندارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیگر فراسنجه‌های شیمیایی لاشه مولدین میگو شامل چربی و خاکستر در بین تیمارهای

افزایش یافت. مطالعات قبلی به خوبی نشان داده‌اند که تورین تولید اسیدهای صفراوی را القا می‌کند و همچنین با اسیدهای صفراوی ترکیب می‌شود تا اسیدهای تائوروکولیک تشکیل شود و در نتیجه لیپاز نمکی-صفراوی را فعال کند (Kim et al., 2007; Chatzifotis et al. 2008). در مطالعه Chatzifotis و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شد که مصرف ۲٪ تورین در جیره ماهی *Dentex dentex* فعالیت آنزیم لیپاز را در کبد افزایش می‌دهد که نشان‌دهنده تأثیر تورین بر بهبود سوخت و ساز چربی است؛ اگرچه در این مطالعه میزان چربی عضله تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر افزودن تورین به جیره تغییراتی نشان نداد. یافته‌های مطالعه Dehghani و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که فعالیت آنزیم آمیلاز در بچه‌ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) تحت تأثیر اضافه کردن تورین به جیره قرار نگرفت، اما فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز کل و لیپاز روده در جیره‌های غذایی حاوی تورین نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است و این مسئله نشان می‌دهد که تورین با تأثیر بر آنزیم‌های گوارشی، سرعت رشد و مصرف خوراک را در ماهی شانک زرد باله تنظیم می‌کند. به طور مشابه گزارش شده است که مصرف تورین، فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز روده را در ماهی کپور سیاه، *Mylopharyngodon piceus* (Zhang et al. 2018) و کفشک توربوت (Zhang et al. 2019) افزایش داد، اما فعالیت آنزیم‌های پروتئازی روده تحت تأثیر اضافه کردن تورین به جیره قرار نگرفت. این محققان در ادامه بیان کردند که افزودن تورین به جیره با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بهبود هضم و جذب مواد غذایی و متعاقباً بهبود عملکرد رشد را به دنبال داشت. از آنجا که داده‌های مربوط به آنزیم‌های گوارشی نسبت به میزان پروتئین محلول در بافت‌های مدنظر بیان می‌شوند، این مسئله مقایسه بین بافت‌ها را دشوار می‌کند، زیرا محتوای پروتئین محلول بافت‌ها متفاوت است. علاوه بر این، احتمال اینکه برخی از آنزیم‌های دیگر در فعالیت‌های مشاهده شده نقش داشته باشند، را نمی‌توان رد کرد (Chatzifotis et al. 2008). با توجه به تأثیر تورین بر بهبود سوخت و ساز چربی در مطالعه حاضر سطوح مختلف

هیالین تبدیل شوند که این تبدیل از طریق از دست دادن گرانول‌ها طی یک فرآینده پپیچیده انجام می‌شود (Cardenas et al. 2004). این تغییرات در مطالعات انجام شده توسط محققان بر روی میگوی سفید غربی (Li et al. 2010)، میگوی مانتیس (*Squilla mantis*) (Gallo et al. 2011) و میگوی ببری سیاه گزارش شده است (Xian et al. 2013). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز فرآیند تبدیل یاخته‌های سمی گرانولار به هیالین با افزودن ۱٪ تورین به جیره مولدهای میگو فعال شده است و کاهش معنی‌دار یاخته‌های سمی گرانولار و افزایش یاخته‌های هیالین در تیمار مذکور را توجیه می‌کند. با وجود این، تحقیقات بیشتر بر روی مکانیسم‌های تبدیل این یاخته‌ها نیاز است تا با قطعیت بیشتر در مورد تغییرات یاخته‌های هموسیت بتوان اظهار نظر کرد. مشابه پژوهش حاضر، داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش Zhou و همکاران (۲۰۱۷) روی میگوی سفید غربی نشان داد که تورین منجر به افزایش یاخته‌های ایمنی هیالین شده است، اما درصد یاخته‌های سمی گرانولار در میگوها تغییری نشان نداد که این موضوع نشان‌دهنده تأثیر مثبت تورین بر سلامت عمومی میگوی سفید غربی است. مطالعه Shi و همکاران (۲۰۲۳) بر روی پست‌لارو میگوی سفید غربی نشان داد که افزودن تورین به جیره بهبود پاسخ ایمنی را نسبت به گروه شاهد به همراه داشت و این محققان میزان ۰/۴٪ را بهترین سطح تورین در جیره میگوی سفید غربی معرفی کردند. مشابه نتایج پژوهش حاضر، نتایج مطالعه To و همکاران (۲۰۲۱) روی میگوی سفید غربی نشان داد که درصد یاخته‌های هیالین در تیمارهای تغذیه شده با تورین نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد. بنابراین، با توجه به افزایش درصد یاخته‌های هیالین در همولنف به نظر می‌رسد که مصرف تورین در جیره مولدهای میگو به افزایش ایمنی یاخته‌ای کمک قابل توجهی کرده است و می‌توان نتیجه گرفت که افزودن سطوح مناسب تورین به جیره غذایی می‌تواند به حفظ سلامت و وضعیت فیزیولوژیک میگو کمک کند.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر سطوح مختلف تورین جیره تأثیر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز نشان نداد. با وجود این، فعالیت آنزیم لیپاز تحت تأثیر تورین جیره

لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی تخم و ناپلیوس‌ها و نهایتاً اثرات آن بر میزان تولید و کیفیت پست‌لارو حاصله می‌تواند در آینده تکمیل‌کننده مطالعه حاضر و دیگر مطالعات مشابه باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پروژه مصوب با کد ۹۶۰۱۱۲۹۷ بوده که با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور انجام شده است. همچنین نویسندگان مقاله از دانشگاه خلیج فارس و کارکنان ایستگاه تحقیقاتی دریایی پژوهشکده خلیج فارس برای فراهم کردن امکانات پرورشی برای این آزمایش نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

- Abraham, J. 2005. Studies on some aspects of the reproductive physiology of *Metapenaeus monoceros* (Fabricius). Doctor of philosophy, Central Marine Fisheries Research Institute. University of Kochi, India, 175 p.
- Alday-Sanz, V. 2010. The Shrimp Book. U. K. Nottingham University Press. UK, 899 p.
- Al-Feky, S.S.A., El-Sayed, A.F.M., Ezzat, A.A. 2014. Dietary taurine improved reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock. *Aquaculture Nutrition* 22: 392-399. doi: 10.1111/anu.12256.
- Andrino, K.G.S., Augusto, E., Serrano, J., Valeriano, L., Corre, J. 2012. Effects of dietary nucleotides on the immune response and growth of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Asian Fisheries Science* 25: 180-192. doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101352.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1141 p.
- Arshadi, A., Yavari, V., Oujifard, A., Mousavi, S.M., Gisbert, E., Mozanzadeh, M.T. 2018. Dietary nucleotide mixture effects on reproductive and performance, ovary fatty acid profile and biochemical parameters of female Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 24: 515-523. doi: 10.1111/anu.12584.
- Bernfeld, P. 1995. *Amylase*. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O (Eds), *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, 149-158.
- Bradford, 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: 248-254.
- Cardenas, W., Dankert, J.R., Jenkins J.A. 2004. Flow cytometric analysis of crayfish haemocytes activated by lipopolysaccharides. *Fish & Shellfish Immunology* 17: 223-233. doi: 10.1016/j.fsi.2003.03.001.

تورین جیره افزایش فعالیت آنزیم لیپاز را در مولدهای میگو به همراه داشت.

به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که طی مراحل بلوغ جنسی در میگو مسیر طبیعی تولید تورین در بدن جواگویی نیاز موجود نبوده است و برای تأمین نیازهای فیزیولوژیک نیازمند تورین است. در مطالعه حاضر، عملکرد رشد مولدهای میگو تحت تأثیر تورین جیره قرار نگرفت. این مسئله احتمالاً به تمایل رشد و توسعه گنادی نسبت به رشد بدنی در مولدها نسبت داده می‌شود. در نهایت، استفاده از اسید آمینه تورین به میزان ۱۰-۶ گرم در کیلوگرم جیره اثرات مثبت معنی‌دار بر میزان پروتئین بافت، شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف به‌خصوص یاخته‌های هموسیت و فعالیت آنزیم‌های گوارشی مولدهای میگوی سفید غربی طی رسیدگی جنسی دارد. بررسی اثرات سطوح انتخابی تورین جیره مولدهای میگو بر عملکرد تولید مثل از جمله درصد

- Chatzifotis, S., Polemitou, I., Divanach, P., Antonopouliou, E. 2008. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. *Aquaculture* 275: 201-208. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.12.013.
- El-Sayed, A-F.M. 2013. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? A comprehensive review. *Reviews in Aquaculture* 5: 1-15. doi: 10.1111/raq.12042.
- Espe, M., Ruohonen, K., El-Mowafi, A. 2012. Effect of taurine supplementation on the metabolism and body lipid-to-protein ratio in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Research* 43: 349-360. doi: 10.1111/j.1365-109.2011.02837.x
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. FAO, Rome. doi: 10.4060/ca9229en.
- Gallo, C., Schiavon, F., Ballarin, L. 2011. Insight on cellular and humoral components of innate immunity in *Squilla mantis* (Crustacea, Stomatopoda). *Fish & Shellfish Immunology* 31: 423-431. doi: 10.1016/j.fsi.2011.06.013.
- Garcia-Carreno, F.L., Haard, N.F. 1993. Characterization of proteinase classes in Langostilla *Pleuroncodes planipes* and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. *Journal of Food Biochemistry* 17: 97-113. doi: 10.1111/j.1745-4514.1993.tb00864.x
- Govahi, M., Afsharnasb, M., Motalbei, M.A.A., Haghighi, A. 2014. Multiple infections in shrimp *Litopenaeus vannamei* broodstock in commercial hatcheries in Khuzestan Province. *Iranian Journal of Fisheries Science* 13: 869-885. doi: 10.22092/ijfs.2018.114402.
- Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., Eskandari, S., Amirahmadi, M., Soudagar, M. 2017. The effect of dietary taurine on growth performance and liver histopathology in Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) fed plant-based diet. *Aquaculture Research* 48: 4184-4196. doi: 10.1111/are.13238.
- Huxtable, R.J. 1992. Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews* 72: 101-163.
- Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from hepatopancreas of red sea bream *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry* 18: 59-69. doi: 10.1023/A:1007725513389.
- Kim, S.-K., Matsunari, H., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Murata, Y., Ishihara, K., 2007. Effect of different dietary taurine levels on the conjugated bile acid composition and growth performance of juvenile and fingerling Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 273: 595-601. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.10.031.
- Kim, S.K., Matsunari, H., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Furuita, H., Murata, Y., Goto, T. 2008. Comparison of taurine biosynthesis ability between juveniles of Japanese flounder and common carp. *Amino Acids* 35: 161-168. doi: 10.1007/s00726-007-0600-6.
- Li, P., Mai, K., Trushenski, J., Wu, G. 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids* 37: 43-53. doi: 10.1007/s00726-008-0171-1.
- Li, C.C., Yeh, S.T., Chen, J.C. 2010. Innate immunity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* weakened by the combination of a *Vibrio alginolyticus* injection and low-salinity stress. *Fish & Shellfish Immunology* 28: 121-127. doi: 10.1016/j.fsi.2009.10.003.
- Matsunari, H., Hamada, K., Mushiake, K., Takeuchi, T. 2006. Effects of taurine

- levels in broodstock diet on reproductive performance of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science* 72: 955-960. doi: 10.1111/j.1444-2906.2006.01243.x.
- Palacios, E., Ibarra, A.M., Racotta, I.S. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185: 353-371. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00362-2.
- Qi, G., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Liufu, Z., Yun, B., Zhou, H. 2012. Effects of dietary taurine supplementation to a casein-based diet on growth performance and taurine distribution in two sizes of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 358: 122-128. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.06.018.
- Saleh, N.E., Wassef, E.A., Ashry, A.M. 2020. Is a taurine supplement necessary in fishmeal-based feeds for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Aquaculture International* 28: 321-333. doi: 10.1007/s10499-019-00464-5
- Salam, A., Davies, P.M.C. 1994. Body composition of northern pike, *Esox lucius* L., in relation to body size and condition factor. *Journal of Fisheries Research* 19: 193-204. doi: 10.1016/0165-7836(94)90038-8.
- Salze, G.P., Davis, D.A. 2015. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture* 437: 215-229. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.006
- Salze, G.P., Davis, D.A., Stuart, K., Drawbridge, M. 2019. Effect of dietary taurine in the performance of broodstock and larvae of California yellowtail *Seriola dorsalis*. *Aquaculture* 511: 734262. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734262
- Shi, M., Yao, X., Qu, K., Liu, Y., Tan, B., Xie, S. 2023. Effects of taurine supplementation in low fishmeal diet on growth, immunity and intestinal health of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports* 32: 101713. doi: 10.1016/j.aqrep.2023.101713
- Shi-Yen, S., Ben-Shan, C. 1994. Grass shrimp, *Penaeus monodon*, growth as influenced by dietary taurine supplementation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108A: 137-142. doi: 10.1016/0300-9629(94)90065-5.
- To, V.A., Liou, C.H., Yang, S.D. 2021. Can dietary with a taurine supplement improve lipid utilization, growth performance, haemolymph parameters and immune responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)? *Aquaculture Research* 52: 6612-6625. doi: 10.1111/are.15532.
- Villarreal, H. 2023. Shrimp farming advances, challenges, and opportunities. *Journal of the World Aquaculture Society* 54: 1092-1095. doi: 10.1111/jwas.13027
- Wyban, J., Walsh, W.A., Godin, D.M. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138: 267-279. doi: 10.1016/0044-8486(95)00032-1.
- Xian, J.A., Wang, A.L., Tian, J.X., Huang, J.W., Ye, C.X., Wang, W.N., Sun, R.Y. 2009. Morphologic, physiological and immunological changes of haemocytes from *Litopenaeus vannamei* treated by lipopolysaccharide. *Aquaculture* 298: 139-145. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.10.008.
- Xian, J.A., Miao, Y.T., Li, B., Guo, H., Wang, A.L. 2013. Apoptosis of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Comparative Biochemistry and Physiology* 164A: 301-306. doi: 10.1016/j.cbpa.2012.10.008

- Yue, Y.R., Liu, Y.J., Tian, L.X., Gan, L., Yang, H.J., Liang, G.Y. 2012. Effects of replacing fish meal with soybean meal and peanut meal on growth, feed utilization and haemolymph indexes for juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture Research* 43: 1687-1696. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02976.x.
- Yun, B.A., Ai, Q.H., Mai, K.S., Xu, W., Qi, G.S., Luo, Y.W. 2012. Synergistic effects of dietary cholesterol and taurine on growth performance and cholesterol metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed high plant protein diets. *Aquaculture* 324: 85-91. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.10.012.
- Zhang, J., Ai, Q., Mao, P., Tian, Q., Zhong, L., Xiao, T., Chu, W. 2018. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant status of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fed with low fish meal diet. *Aquaculture Research* 49: 3187-3195. doi: 10.1111/are.13783.
- Zhang, Y., Wei, Z., Liu, G., Deng, K., Yang, M., Pan, M., Gu, Z., Liu, D., Zhang, W., Mai, K. 2019. Synergistic effects of dietary carbohydrate and taurine on growth performance, digestive enzyme activities and glucose metabolism in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture* 499: 32-41. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.082.
- Zhou, M., Wu, Z., Liang, R., Gu, N. 2017. Effects of dietary taurine, carnitine and cholesterol supplementation on growth performance and immunological status of *Litopenaeus vannamei* under cold exposure. *Aquaculture Research* 48: 1279-1290. doi: 10.1111/are.12970.