

Wpływ zagęszczenia i suplementacji diety o kwasy tłuszczowe na wzrost i przeżywalność raka luizjańskiego (*Procambarus clarkii*)

Kamil Karaban*, Kacper Stęplowski

Wydział Filozofii Chrześcijańskiej, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie
ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

*k.karaban@uksw.edu.pl

Streszczenie

Rak luizjański (*Procambarus clarkii*) jest zarówno gatunkiem konsumpcyjnym jak i akwariowym. Z uwagi na jego wykorzystanie w przemyśle spożywczym, informacje o zwiększeniu przeżywalności i tempa wzrostu osobników młodych są istotne. Jedną z testowanych hipotez była konkurencja o zasoby i ryzyko kanibalizmu u młodych osobników – w związku z tym w eksperymencie badano wpływ zagęszczenia na tempo wzrostu i przeżywalność młodych raków. Drugą z testowanych hipotez dotyczyła suplementacji diety raków o nasycone (palmitynowy) i nienasycone (α -linolenowy) kwasy tłuszczowe. Kwas α -linolenowy uważany jest jako prekursor do wytwarzania DHA, który może mieć znaczenie dla kondycji raków we wczesnej fazie ich wzrostu i docelowo poprawiać jakość mięśni, które stanowią źródło pożywienia. Kwas palmitynowy jest jednym z dominujących kwasów tłuszczowych w ciele raków i podobnie jak kwas α -linolenowy może stanowić dla raków źródło pokarmu. Naprzemienne podawanie kwasów tłuszczowych α -linolenowego i palmitynowego miało na celu określenie, czy raki zareagują na urozmaiconą dietę lepiej niż na dietę z dominacją jednego z kwasów tłuszczowych. W eksperymencie testowano jednocześnie obydwie hipotezy – był zaplanowany dla analizy dwuczynnikową ANOVA.

Rezultaty pokazują, że zagęszczenie i suplementacja kwasów tłuszczowych nie wpływają na śmiertelność raków, powodują natomiast zmiany w tempie wzrostu osobników. Wyższe zagęszczenie stymuluje raki do szybszego wzrostu i osiągania wyższych rozmiarów. Dodawanie w diecie kwasów tłuszczowych palmitynowego lub α -linolenowego powodują szybszy wzrost raków. Interesujące, naprzemienne dodawanie tych kwasów nie daje istotnego efektu.

Słowa kluczowe

rak luizjański, zagęszczenie, kwasy tłuszczowe

1. Wstęp

Rak luizjański (*Procambarus clarkii*, Girard 1852) pochodzi z rejonów południowych Ameryki Północnej. Występuje w wodach śródlądowych Meksyku oraz południowo-wschodnich stanach USA. Pierwotnym miejscem występowania tego gatunku jest

równina przybrzeżna od Florydy do Meksyku; południowy dopływ rzeki Missisipi do Illinois i południowo-zachodniej Indiany (Nagy i in., 2015). W roku 1973 gatunek ten był odnotowany w wodach Portugalii i Hiszpanii a w 1989 występował już na wszystkich kontynentach poza Australią i Arktyką

(Hoobs i inni 1989, Huner i Lindqvist, 1995; Lindqvist i Huner, 1999; Holdich, 2001, Putra i in., 2018). Rozprzestrzenienie gatunku spowodowane było jego hodowlą do celów konsumpcyjnych i ucieczką gatunku ze stawów hodowlanych. Ponadto młode osobniki tego gatunku używane są jako przynęta na ryby, a także hodowany jest jako ozdoba akwariów. Gatunek ten łatwo przystosowuje się do życia w szerokim zakresie siedlisk (Peruzza i in., 2015). Preferuje siedliska o temperaturze wody od 21°C do 30°C, ale znajdujący się również w wodach o średniej rocznej temperaturze 13°C. Udowodniono również, że raki te tolerują zasolenie poniżej 12 ppt, pH w zakresie od 5,8 i natlenienie > 3 ppm. Z uwagi na tak szerokie zakresy, rak luizjański może żyć niemal we wszystkich typach wód śródlądowych – także w okresowo wysychających. Przedstawiciele tego gatunku znajdują się zarówno w jeziorach, stawach, potokach, sezonowo zalewanych trzęsawiskach i moczarach oraz w rowach wypełnionych na dnie błotem lub piaskiem i szczątkami organicznymi (Huner i Barr, 1991).

Dorosłe osobniki raka luizjańskiego dorastają do 12 cm długości ciała, i osiągają masę do 50g. W dobrych warunkach dojrzałość płciową osiągają po ok 3 miesiącach, a długość życia dochodzi do 5 lat. Duża samica może złożyć jednorazowo do 700 jaj, którymi opiekuje się przez ok miesiąc nosząc je na odnóżach odwłokowych (Loureiro, 2015). Przy większym zagęszczeniu dochodzi pomiędzy rakami walk w celu ustalenia hierarchii dominacji. Podczas walk słabsze osobniki często tracą odnóża kroczone oraz szczypcę. Z tego powodu raki dominujące w zbiorniku wodnym mają największe szczypcę, a im niżej w hierarchii, tym bardziej są okaleczone. Najbardziej narażone na ataki są osobniki w trakcie wylinki i świeżo po zrzuceniu pancerza. W tym czasie nowy pancerz jeszcze jest miękki do tego stopnia, że raki ledwo utrzymują się na odnóżach – ich ciało raków jest wtedy łatwe do uszkodzenia czy nawet do zjedzenia (Correia, 2003). Osobniki płci męskiej w stosunku do

innych samców okazują agresję, natomiast w odniesieniu do samic okazują uległość oraz zaloty (Ameyaw-Akumfi i Hazlett, 1975, Issa i in., 1999). W związku z tym zagęszczenie raków powinno mieć niekorzystny wpływ na ich przeżywalność oraz tempo wzrostu młodych osobników. Obecność innych raków wywołuje bowiem stres i większe straty energii.

Raki są organizmami wszystkożernymi, ale wybierają pokarm, którego w danym okresie roku jest najwięcej (Alcorlo i in., 2004; Anastácio i in., 2005; Gherardi i Barbaresi, 2007, 2008; Gutiérrez-Yurrita i in., 1998; Hobbs, 1993; Ilheu i Bernardo, 1993; Pérez-Bote, 2004; Smart i in., 2002, Nystrom, 2002). Badania przeprowadzone na polach ryżowych w okolicy rzeki Tagus w Portugalii pokazały, że latem chętniej wybierały pokarm roślinny a zimą zwierzęcy (Correia, 2003). Znaczną część ich diety stanowią rośliny – w warunkach naturalnych raki odżywiają się kłęczami i korzeniami roślin nadwodnych oraz zielonymi częściami roślin wodnych i przybrzeżnych. Ponadto, raki zjadają detrytus a także pokarm pochodzenia zwierzęcego tj. larwy owadów i płazów, owady i drobne ryby (Gutierrez-Yurrita i inni, 1998; Smart i in., 2002, Alcorlo i in., 2004). W warunkach eksperymentalnych, mając do wyboru różne rodzaje pokarmu, dorosłe osobniki preferują pokarm roślinny, a szczególnie liście pokrzywy (Gherardi i Barbaresi, 2007). Młode osobniki natomiast preferują w diecie większy udział pokarmu zwierzęcego oraz detrytus (Goddard, 1988). U gatunku tego występuje również kanibalizm (Correia, 2003). Zauważono, że podawanie młodym osobnikom wyłącznie pokarmu roślinnego powoduje znaczne spowolnieniem wzrostu w porównaniu do raków karmionych wyłącznie pokarmem zwierzęcym (Paglianti i Gherardi, 2004).

Dodawanie do diety bezkręgowców wodnych wybranych kwasów tłuszczowych powoduje różne reakcje nawet przy użyciu tych samych kwasów. Dodawanie wraz z pokarmem kwasów tłuszczowych palmitynowego i α -linolenowego stułbiom *Hydra oligactis*

i *H. vulgaris* spowodowało niekorzystną reakcję pierwszego gatunku i brak reakcji drugiego. Suplementacja kwasem α -linolenowym wpłynęła niekorzystnie na przeżywalność, rozmnażanie bezpłciowe oraz wielkość potomstwa *H. oligactis*, natomiast *H. vulgaris* nie wykazała negatywnych reakcji na taką samą suplementację ww. kwasów tłuszczowych (Kaliszewicz i in., 2018). Skorupiaki, jako organizmy bardziej zaawansowane ewolucyjnie mogą reagować w inny sposób. Wykorzystują one kwasy tłuszczowe jako źródło energii oraz jako substrat do budowy wybranych struktur biologicznych. Nienasycone kwasy tłuszczowe mogą być zaangażowane w import egzogennych białek w celu wsparcia tworzenia żółtka (Spaziani i in., 1997). W badaniach przeprowadzonych na krewetce rzecznej *Macrobrachium rosenbergii*, gdzie kwas α -linolenowy był podawany jako jedyne źródło tłuszczu, krewetki rosły wolniej niż w kontroli (Reigh i Stickney, 1989). Badania przeprowadzone na morskim gatunku – na młodych krewetkach *Litopenaeus (Penaeus) vannamei*, pokazały natomiast, że kwasy tłuszczowe n-6 i n-9 są dla tych krewetek niezbędne dla prawidłowego wzrostu i rozwoju. Kwasy tłuszczowe n-3 powodowały szybszy wzrost niż n-6 (Lim i in., 1997). Inne badania przeprowadzone na tym gatunku pokazały, że wysoko nienasycone kwasy tłuszczowe (HUFA) takie jak kwas arachidonowy, eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy, podawane młodym osobnikom spowodowały większą masę końcową oraz szybszy przyrost krewetek niż wielonasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) tj. kwas linolowy oraz linolenowy (Gonzalez-Felix i in., 2003). Badania przeprowadzone na krewetkach *Penaeus japonicus*, pokazały, że dodanie do ich diety kwasów linolenowego oraz linolowego jest konieczne dla przyspieszenia przyrostu ich masy. Na tej podstawie ustalono, że kwasy te są niezbędne dla wzrostu krewetek (Kanazawa i in., 1977). Rak luizjański ze względu na szybki wzrost, atrakcyjny smak oraz wysokie wartości odżywcze, jest hodowany do celów konsumpcyjnych. Mięso raków jest bogate w białka

(15,22%) i tłuszcze (1,29%) (El-Sherif i El-Ghafour, 2015). Jest też źródłem jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które stanowią odpowiednio 35,6% i 38% całej zawartości kwasów tłuszczowych (Wen i inni, 2005). W mięśniach raków luizjańskich w największej ilości występują kwas oleinowy (19,8%) oraz kwas palmitynowy (14,3%) (Wen i inni, 2005; Zagłol i Eltadawy, 2009). W związku z tym jednym z kwasów wybranych do eksperymentu był kwas palmitynowy. Jest to kwas nasycony, który z uwagi na jego stężenie w tkankach raków powinien wpływać korzystnie na wzrost raków. Drugi z wybranych do eksperymentu kwasów – α -linolenowy, jest prekursorem kwasów z grupy omega-3. Mogą być z niego syntetyzowane inne związki z tej grupy np. kwasy: dokozaheksaenowy, eikozapentaenowy oraz stearydynowy (Bałasińska i in., 2010).

Pierwszym celem tej pracy jest analiza wpływu zagęszczenia na wzrost i przeżywalność raków *P. clarkii*. Drugim celem natomiast, jest sprawdzenie jak suplementacja diety raków o wybrane kwasy tłuszczowe (palmitynowy i α -linolenowy) wpływa na wzrost i przeżywalność młodych osobników.

2. Materiał i metody

Do eksperymentu laboratoryjnego wybrano młode, 4-dniowe osobniki raka luizjańskiego (*Procambarus clarkii*) o długości ciała 10-11 mm. Raki pochodziły od jednej pary rodziców zakupionych jako młode i rozmnożonych w warunkach laboratoryjnych. Eksperyment został zaplanowany do analizy za pomocą dwuczynnikowej ANOVA. Pierwszą zmienną było zagęszczenie raków. W eksperymencie umieszczono 1 lub 3 osobniki w pojemnikach o powierzchni dna 160cm² i objętości wody 900 ml każdy, co daje zagęszczenie 63 os/m² oraz 189 os/m². Druga zmienna, to suplementacja pokarmu o wybrane kwasy tłuszczowe: (A) α -linolenowy, (B) palmitynowy) i (C) naprzemienne dodawanie obydwóch kwasów. Układ eksperymentu przedstawiony jest w tabeli 1.

Eksperyment trwał 64 dni. Przed uruchomieniem eksperymentu do pojemników nalano 900 ml wody, oraz dodano opadłe liście olszy czarnej (*Alnus glutinosa*) i pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*) a także fragmenty plechy żywego wątrobowca wodnego *Monosolenium tenerum*. Liście olszy i pokrzywy mogą być dla raków źródłem pokarmu, natomiast wątrobowiec nie jest przez nie zjadany – jego zadaniem było tworzenie kryjówek dla raków i wychwytywanie biogenów z wody. Raki karmione były 3 razy w tygodniu rurecznikiem mułowym (*Tubifex* sp.) pociętym na odcinki o długości ok 5 mm. Ciało rurecznika dobrze wchłania różne substancje i jest chętnie zjadany przez organizmy wodne – w tym przez raki. Do wariantów z kwasami tłuszczowymi pocięty rurecznik był moczony w odmierzonej dawce kwasów a następnie dodawany do eksperymentu pęsetą. Ilość rurecznika była dostosowana do ilości raków – w wariantach z 3 osobnikami jedzenia dodawano 3 razy więcej niż w wariantach z jednym osobnikiem. Raki karmione były tak, że pokarmu zawsze zostawało. Za każdym razem, podczas dodawania pokarmu prowadzona była obserwacja przeżywania i wzrostu raków. Notowano każdą wylinkę, która świadczy o wzroście osobnika. Przez cały czas trwania eksperymentu raz w tygodniu wymieniano 1/3 objętości wody z każdego pojemnika w celu usunięcia nadmiaru biogenów. Po pięciu tygodniach od początku trwania eksperymentu i na zakończenie eksperymentu wykonane zostały pomiary długości raków

z dokładnością do 0,5mm. Ponadto, na zakończenie eksperymentu wykonane zostały pomiary masy tych raków, które przeżyły. W trakcie trwania eksperymentu część raków została zabita przez współtowarzyszy, lub zginęła podczas wylinki. Każdy wariant był powtórzony 7 razy, co w efekcie dało 56 pojemników z rakami.

Wyniki

Pomiary długości raków wykonane po 5 tygodniach od założenia eksperymentu wykazały, że raki trzymane w wyższym zagęszczeniu miały większą długość od raków, które były trzymane pojedynczo (Tab. 2). Na tym etapie eksperymentu wynik ten nie był zależny od diety. Dodawanie kwasów tłuszczowych nie powodował istotnych zmian w długości raków po 5 tygodniach jego trwania (Tab. 2). Analiza przeżywalności raków w tym terminie pokazała, brak wpływu zagęszczenia i rodzaju diety na śmiertelność raków (Tab. 2).

Pomiary wykonane po 64 dniach – na koniec eksperymentu pokazały, że zarówno zagęszczenie jak i rodzaj diety mają istotny wpływ na długość raków (Tab. 2). W wariantcie z trzema osobnikami na pojemnik, raki były średnio o 3 mm dłuższe niż w wariantcie z rakami trzymanymi pojedynczo (Rys. 2). Widać również, że raki trzymane pojedynczo przez cały czas trwania eksperymentu praktycznie nie rosły – zmiany długości były minimalne (Rys 1). Suplementacja diety raków o ww. spowodowała szybszy wzrost raków (Tab. 2). Najdłuższe raki były

Tabela 1. Układ eksperymentu

Wariant	Zagęszczenie raków	Suplementacja kwasem tłuszczowym
1A	1 os. / 900 ml wody	Kontrola (brak suplementacji)
1B	1 os. / 900 ml wody	Palmitynowy
1C	1 os. / 900 ml wody	α -linolenowy
1D	1 os. / 900 ml wody	palmitynowy + α -linolenowy
2A	3 os. / 900 ml wody	Kontrola (brak suplementacji)
2B	3 os. / 900 ml wody	palmitynowy
2C	3 os. / 900 ml wody	α -linolenowy
2D	3 os. / 900 ml wody	palmitynowy + α -linolenowy

w wariancie z dodatkiem kwasu α -linolenowego – średnia długość 15,3 mm. Podobny rezultat uzyskano w wariancie z dodatkiem kwasu palmitynowego – średnia długość 15,1 mm. Test *post Hoc* Tukeya pokazał różnice pomiędzy wariantami z tymi kwasami a kontrolą (Tab. 3). Dodawanie naprzemiennie kwasów tłuszczowych nie dało istotnej różnicy w porównaniu z wariantem kontrolnym. Analiza pokazała brak wpływu zagęszczenia i rodzaju diety na przeżywalność raków po 9 tygodniach trwania eksperymentu (Tab. 2).

Dyskusja

Uzyskane w tej pracy wyniki wskazują, że zagęszczenie raków ma istotny wpływ na tempo ich wzrostu – raki trzymane w zagęszczeniu 3 osobniki na 900 ml wody rosły szybciej niż raki trzymane pojedynczo w tej samej objętości wody. Wynika z tego, że w małej objętości wody i przy nadmiarze pokarmu czynnikiem decydującym o szybszym wzroście raków jest konkurencja o zasoby i poczucie zagrożenia ze strony pozostałych raków. Raki trzymane pojedynczo w naszym eksperymencie nie wyczuwały obecności innych raków – co może tłumaczyć ich apatyczność i minimalny wzrost. Wynik ten może być spowodowany

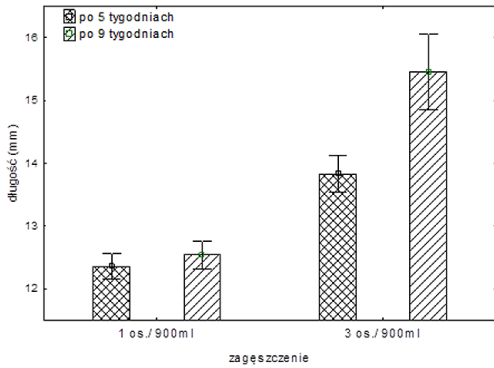
behawiorem raków – u gatunku *P. clarkii* największe osobniki dominują w zbiorniku i w związku z tym mają szansę doczekać się potomstwa. Samce walczą ze sobą o terytorium oraz o dostęp do samic okaleczając się podczas walk. Ucięte szczypce albo odnóża świadczą nie tylko o przegranej walce – ich brak utrudnia pobieranie pokarmu i może uniemożliwiać samcom kopulację – podczas kopulacji samiec przytrzymuje szczypce samicy swoimi szczypcami przyjmując pozycję odpowiednią do jej zapłodnienia. Raki, które szybciej rosną mają więc większe szanse rozrodu w przyszłości. Większa długość to także mniejsze ryzyko kanibalizmu ze strony innych raków. Lutz i Wolters (1986) w 34-dniowych badaniach przeprowadzonych na polach ryżowych uzyskali wynik odwrotny od naszego. Autorzy badali raczki w zagęszczeniu 1, 2, 4, 8 i 16 os./m² i dowiedli, że raczki trzymane pojedynczo rosną większe i osiągają wyższą masę. W trakcie eksperymentu raki trzymane w zagęszczeniu 10 os./m² podwoiły swoją długość, a raki w zagęszczeniu najwyższym (16 os./m²) przyrosły średnio o 0,7 % swojej masy. Raczki w tym eksperymencie nie były karmione – same zdobywały pożywienie. Mogły też wyczuwać obecność innych raków,

Tabela 2. Wpływ zagęszczenia i suplementacji diety o kwasy tłuszczowe na przeżywalność, długość i masę raków – wyniki dwuczynnikowej ANOVA

Parametry	Wpływ zagęszczenia		Wpływ diety	
	$F_{(1,48)}$	p	$F_{(5,39)}$	p
Przeżywalność raków po 5 tygodniach	1,745	0,192	0,567	0,639
Przeżywalność raków po 9 tygodniach	0,556	0,460	1,743	0,170
Długość raków po 5 tygodniach	16,754	> 0,001	1,500	0,226
Długość raków po 9 tygodniach	15,639	> 0,001	4,768	0,006

Tabela 3. Różnice w długości raków po 9 tygodniach suplementacji diety kwasami tłuszczowymi (wynik testu *post Hoc* Tukeya). K – kontrola bez dodatku kwasów, L – α -linolenowy, P – palmitynowy, L+P – naprzemiennie dodawanie kwasów. Istotne różnice pogrubione

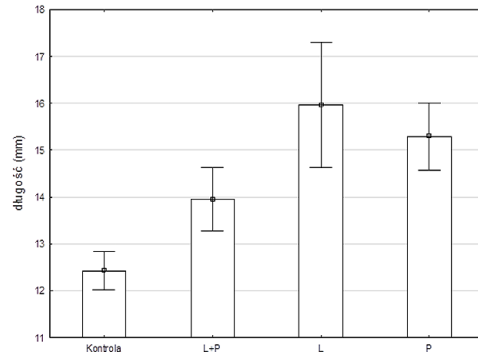
Wariant	L	P	L+P
K	0,007	0,026	0,422
L	-	0,905	0,213
P	-	-	0,520



Rys. 1. Wpływ zagęszczenia na długość raków po 5 i po 9 tygodniach od początku eksperymentu (średnia \pm błąd standardowy)

gdź eksperyment wykonany był w pojemnikach z siatki. W innym eksperymencie – laboratoryjnym, Ramalho i inni (2008) również potwierdzili, że zagęszczenie ma niekorzystny wpływ na wzrost raków. Tutaj jednak raki były karmione tak, że pokarmu wystarczało dla wszystkich. Raki, które trzymane były w zagęszczeniu 20 os./m² rosły o 34% szybciej niż raki z zagęszczenia 100 os./m². W naszym eksperymencie zagęszczenia na metr kwadratowy były wyższe niż w obydwu powyższych pracach, ale w rzeczywistości w pojemnikach raki były trzymane pojedynczo oraz po 3 osobniki na pojemnik. Te, które nie miały towarzystwa praktycznie nie rosły.

Drugi z aspektów zbadany w naszej pracy – suplementacja diety raków kwasami tłuszczowymi powoduje szybszy wzrost długość i przyrost masy raków. Istotny wynik uzyskano w przypadku suplementacji oddzielnie podawanymi kwasami. Pokazuje to, że raki Luizjańskie wykorzystują obydwa kwasy jako źródło do budowania tkanek. Wynik ten potwierdza badania innych autorów pokazujące, że młode raki chętniej wybierają pokarm bardziej energetyczny (bogatszy w kwasy tłuszczowe) (Gutierrez-Yurrita i inni, 1998; Smart i inni, 2002, Alcorlo i inni, 2004). Zaskakujący jest w tym przypadku wynik uzyskany dla naprzemiennego



Rys. 2. Wpływ dodawania kwasów tłuszczowych na średnią długość raków po 9 tygodniach trwania eksperymentu (średnia \pm błąd standardowy)

dodawania kwasów tłuszczowych – brak różnicy w porównaniu z kontrolą i wyraźnie słabszy efekt niż uzyskany w wariantach kwasów podawanych oddzielnie. Może to oznaczać, że raki przywykają do jednego kwasu tłuszczowego i naprzemiennie dodawanie dwóch kwasów może utrudniać ich metabolizowanie.

Podziękowania

Serdecznie dziękujemy Anicie Kaliszewicz, za wsparcie merytoryczne przy zakładaniu eksperymentu i pomoc przy jego prowadzeniu.

Bibliografia

- Alcorlo P., Geiger W., Otero M., 2004, Feeding preferences and food selection of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in habitats differing in food item diversity, *Crustaceana*, 77, 435-453.
- Ameyaw-Akumfi C., Hazlett B.A., 1975, Sex Recognition in the Crayfish *Procambarus clarkii*, *Science* 190, 1225-1226.
- Anastácio, P.M., Parente V.S., and Correia A.M., 2005, Crayfish effects on seeds and seedlings: identification and quantification of damage, *Freshwater Biology* 50, 697-704.
- Bałańska B., Jank M., Kulasek G., 2010, Właściwości i rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt, *Życie weterynaryjne* 2010 85,9, 749-755.

- Correia A.M., 2003, Food choice by the introduced crayfish *Procambarus clarkii*" *Annales Zoologici Fennici* 40, 517-528.
- El-Sherif S.A., El-Ghafour S. A., 2015, Nutritive value of canned River Nile Crayfish (*Procambarus clarkii*) products, Elsevier: Egyptian Journal of Aquatic Research 41, 3, 265-272.
- Girard, C.F., 1852, A Revision of the North American Astaci, with Observations on Their Habits and Geographic Distribution, Proceedings of Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 6, 87-91.
- Goddard J.S., 1988, Food and feeding. In: Freshwater Crayfish Biology Management & Exploitation, in: D.M. Holdich & R.S. Lowery (Eds.), Croom-Helm Timber, pp. 145-166.
- Gherardi F., Barbaresi S., 2007, Feeding preferences of the invasive crayfish, *Procambarus clarkii*, Bull. Fr. Pêche Piscic. 387, 7-20.
- Gherardi F., Barbaresi S., 2008, Feeding opportunism of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*, an invasive species, *Freshwater Crayfish* 16, 77-85.
- González-Fe'lix M.L., Gatlin D.M., Lawrence A.L., Perez-Velazquez M., 2003, Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: II. Effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids on juvenile shrimp growth, survival, and fatty acid composition, TAES Shrimp Mariculture Project, Texas A & M University System, Port Aransas Tx, USA; 2 Department of Wildlife and Fisheries Sciences, Aquaculture Nutrition 9, 115-122.
- Gutiérrez-Yurrita P.J., Sancho G., Bravo M.Á., Baltanás Á., Montes C., 1998, Diet of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in natural ecosystems of the Doñana National Park temporary fresh-water marsh (Spain). *Journal of Crustacean Biology* 18, 1, 120-127.
- Hobbs H.H., Jass J. P., Huner J.V., 1989, A review of global crayfish introductions with particular emphasis on two North American species (Decapoda, Cambaridae), *Crustaceana* 56, 3, 299-316.
- Hobbs, H.H., 1993, Trophic relationships of North American freshwater crayfish and shrimps, Contributions in Biology and Geology, Vol 85. Milwaukee Public Museum, Milwaukee, Wisconsin. 110 pp.
- Holdich, D. M., 2001, *Biology of Freshwater Crayfish*" Oxford: Blackwell Science.
- Huner J.V., Barr J.E., 1991, Red swamp crawfish: biology and exploitation, Louisiana State University. Center for Wetland Resources, Louisiana Sea Grant College Program.
- Huner, J.V., Lindqvist O.V., 1995, Physiological Adaptations of Freshwater Crayfishes That Permit Successful Aquacultural Enterprises, *American Zoologist*, 35, 1, 12-19.
- Ilheu, M., Bernardo J. M., 1993, Aspects of trophic ecology of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii* Girard) in Alentejo, south of Portugal, Proceedings of IV Spanish Limnological Congress: 417-423. (Granada, Spain).
- Issa F.A., Adamson D.J., Edwards D.H., 1999, Dominance hierarchy formation in juvenile crayfish *Procambarus clarkii*, *The Journal of Experimental Biology* 202, 3497-3506.
- Kaliszewicz A., Jarzabek K., Szymańska J., Karaban K., Sierakowski M., 2018, Alpha-Linolenic Acid, but Not Palmitic Acid, Negatively Impacts Survival, Asexual Reproductive Rate, and Clonal Offspring Size in *Hydra oligactis*, *Wiley American Oil Chemists' Society* 53, 4, 447-445.
- Kanazawa A., Tokiwa S., Kayama M., Hirata M., 1977, Essential Fatty Acids in the Diet of Prawn-I Effects of Linoleic and Linolenic Acids on Growth, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 43, 9, 1111-1114.
- Lindqvist O.V., Huner J.V., 1999, Life history characteristics of crayfish: what makes some of them good colonizers? in F. Gherardi and D. M. Holdich (Eds) *Crayfish in Europe as Alien Species. How to Make the Best of a Bad Situation?*, Rotterdam: A. A. Balkema, pp. 23-30.
- Loureiro, T.G., Anastácio P.M.S.G., Araujo P.B., Souty-Grosset C., Almerão M.P., 2015, Red swamp crayfish: biology, ecology and invasion – an overview, *Nauplius*, 23, 1-19.
- Lutz C.G., Wolters W.R., 1986, The Effect of Five Stocking Densities on Growth and Yield of Red Swamp Crawfish *Procambarus clarkii*, *Journal of the World Aquaculture Society* 17, 33-36.
- Nagy R., Fusaro A., and Conard W., 2015, *Procambarus clarkii* USGS Nonindigenous Aquatic Species Database.
- Nyström P., 2002, Ecology. In: Holdich DM (ed) *Biology of Freshwater Crayfish*, School of Life and Environmental Sciences, pp 192-235. University of Nottingham, Nottingham, UK.
- Paglianti A., Gherardi F., 2004, Combined effects of temperature and diet on growth and survival of young-of-year crayfish: a comparison between

- indigenous and invasive species, *Journal of Crustacean Biology*, 24, 1, 140-148.
- Pérez-Bote, J.L., 2004, Feeding ecology of the exotic red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in the Guadiana River (SW Iberian Peninsula), *Crustaceana* 77, 11, 1375-1387.
- Peruzza L., Piazza F., Manfrin C., Bonzi L.C., Battistella S. and Giulianini P.G., 2015, Reproductive plasticity of a *Procambarus clarkii* population living 10°C below its thermal optimum, *Aquatic Invasions* 10, 2, 199–208.
- Putra M.D., Bláha M., Wardiatno Y., Krisanti M., Yonvitner, Jerikho R., Kamal M.M., Mojžišová M., Bystřický P.K., Kouba A., Kalous L., Petrusek A., Patoka J., 2018, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) and crayfish plague as new threats for biodiversity in Indonesia, *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystem* 2018, 1-7.
- Ramalho R.O., Correia A.M., Anastacio P.M., 2008, Effects of density on growth and survival of juvenile Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), reared under laboratory conditions, *Aquaculture Research* 39, 577-586.
- Reigh R.C., Stickney R.R., 1989, Effects of purified dietary fatty acids on the fatty acid composition of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*, *Aquaculture* 77, 2-3, 157-174.
- Smart, A.C., Harper D.M., Malaisse F., Schmitz S., Coley S., de Beaugregard A-C. G., 2002, Feeding of the exotic Louisiana red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Crustacea, Decapoda), in an African tropical lake: Lake Naivasha, Kenya, *Hydrobiologia* 488, 129-142.
- Spaziani E.P., Hinsch G.W., 1997, Variation in selected unsaturated fatty acids during vitellogenesis in the Florida freshwater crayfish *Procambarus paeninsulae*, *Invertebrate Reproduction & Development* 32.
- Wen X., Ku Y., Zhou K., 2007, Starvation on changes in growth and fatty acid composition of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 25, 1, 97-105.
- Zaglol N.F., Eltadawy F., 2009, Study on chemical Quality and Nutritional Value of Fresh Water Crayfish (*Procambarus clarkii*), *Journal of the Arabian Aquaculture Society* 4, 1, 1-18.

Effects of density and dietary supplementation of fatty acids on growth and survivability of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)

Abstract

Red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) is an aquaculture and aquarium species. Due to its use in the food industry, any information on increasing survival and growth rate of juveniles is considered important. One hypothesis tested in our study involved competition for resources and risk of cannibalism in young individuals. We examined the impact of density on the growth rate and survival of juvenile crayfish in a laboratory experiment. The second hypothesis tested concerned the implementation of a crayfish diet with saturated (palmitic) and unsaturated (α -linolenic) fatty acids. α -Linolenic acid is considered a precursor to the production of EPA and DHA, which are a source of food and may be important for the condition of crayfish in the early stages of their growth and ultimately improve the quality of their muscles. Palmitic acid is one of the dominant fatty acids in the body of crayfish and, like α -linolenic acid, can be a source of food for crayfish. The mixed treatment with α -linolenic and palmitic fatty acids was aimed at determining whether crayfish will respond better to a varied diet than a diet dominated by one of the fatty acids. The experiment studied both hypotheses simultaneously, as planned for a two-way ANOVA analysis. Our results show that the density of crayfish and supplementation of fatty acids in their diet do not affect crayfish survivability but cause changes in the growth rate of individuals. Higher density stimulates crayfish to grow faster and reach larger sizes. The addition of palmitic or α -linolenic fatty acids in the diet causes faster growth. Interestingly, the alternating addition of these acids did not cause a significant effect.

Keywords

red swamp crayfish, density, fatty acid