تاثیر جایگزینی پودر ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris* با پودر ماهی بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای چرب میگوی وانامی *Litopenaeus vannamei*

- **سمیه پاکروان**: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **آرش اکبرزاده***: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
- **میرمسعود سجادی**: گروه شیلات، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
- **عبدالمجید حاجی‌مرادلو**: گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **فرزانه نوری**: پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

چکیده

این مطالعه به‌منظور ارزیابی و مقایسه تاثیر جایگزینی پودر ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris* با پودر ماهی بر عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای چرب در میگوی وانامی *Litopenaeus vannamei* صورت گرفت. میگوها با میانگین وزن ۰/۲± ۲/۶ گرم در ۹ تیمار آزمایشی شامل یک تیمار شاهد (تغذیه با جیره بدون پودر جلبک) و هشت تیمار آزمایشی (تغذیه با جیره حاوی سطوح ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد از پودر اسپیرولینا یا کلرلای جایگزین شده با آرد ماهی) قرار گرفتند. پس از هشت هفته تغذیه، وزن پایانی و افزایش وزن در تیمار ۲۵ درصد کلرلا بالاترین مقدار را داشت ($P<0/05$)، اما نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). میزان پروتئین در لاشه میگوهای تغذیه شده با ۱۰۰ درصد اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<0/05$)، ولی اختلاف معنی‌داری در میزان رطوبت، چربی و خاکستر لاشه میگوها مشاهده نشد ($P>0/05$). هم‌چنین مشاهده شد که محتوای اسیدهای‌چرب بلندزنجیر چندغیراشباع از قبیل آلفالینولنیک‌اسید، دکوزاهگزاانوئیک‌اسید، ایکوزاپنتاانوئیک‌اسید، لینولئیک‌اسید و آراشیدونیک‌اسید در تیمارهای تغذیه شده با جلبک‌ها عمدتاً بالاتر از گروه شاهد بود ($P<0/05$). به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا هر دو می‌توانند در جیره میگوی وانامی بدون داشتن اثرات منفی در عملکرد این میگو مورد استفاده قرار بگیرند اما به‌نظر می‌رسد تیمار ۲۵ درصد کلرلا نتایج موفق‌تری به‌همراه دارد.

کلمات کلیدی: ریزجلبک، میگو، عملکرد رشد، پروفیل اسیدچرب

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: akbarzadeh@ut.ac.ir

مقدمه

تغذیه مناسب از دیرباز به‌عنوان یک عامل مهم در افزایش رشد نرمال و حفظ سلامت میگو شناخته شده است. توسعه جیره‌هایی با کیفیت بالا عاملی است که به‌طور قابل توجهی به گسترش انفجاری پرورش میگو در دو دهه اخیر کمک کرده است (Ghaeni و همکاران، ۲۰۱۱). پروتئین گران‌ترین ماده غذایی در جیره‌های غذایی میگوهای پرورشی است و پودر ماهی رایج‌ترین منبع مورد استفاده در جیره‌های تجاری می‌باشد (Oujifard و همکاران، ۲۰۱۲). در سال ۲۰۰۸، میگو با سهم ۲۷/۲ درصد از کل پودرماهی مورد استفاده در غذای آبزیان، بزرگ‌ترین مصرف‌کننده پودرماهی بود و ماهیان دریایی با سهم ۱۸/۸ درصد و سالمون با سهم ۱۳/۷ درصد به‌دنبال آن قرار داشتند (Tacon و همکاران، ۲۰۱۱). امروزه هزینه غذا بیش از نیمی از هزینه‌های عملیاتی متغیر را در بسیاری از فعالیت‌های آبزی‌پروری شامل می‌شود. نوسانات تولید پودرماهی و متعاقب آن، افزایش قیمت پودرماهی در دهه اخیر، تحقیق برای یافتن مواد پروتئینی مناسب و ارزان برای کاهش یا حذف استفاده از پودر ماهی را در جیره‌های آبزیان تشویق نموده است. بنابراین استفاده بالقوه از مواد غذایی غیرمتعارف از قبیل جلبک به‌عنوان جایگزینی برای مواد غذایی گران‌قیمت، مانند پودر ماهی درحال افزایش می‌باشد. جلبک‌ها به‌دلیل محتوای خوب پروتئین، ویتامین و اسیدهای چرب ضروری خود و هم‌چنین به‌دلیل این‌که جایگزین احتمالی منبع پروتئین برای ماهی و میگوی پرورشی هستند، به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری که تولید بالایی از جلبک را دارند مورد توجه هستند (Atanassoff، ۲۰۱۴؛ Lall و Anderson، ۲۰۰۵؛ Badwy و همکاران، ۲۰۰۸). درمیان این جلبک‌ها، ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا به‌دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای آن‌ها محبوبیت دارند، این ریزجلبک‌ها دارای ترکیبات فعال زیستی متعددی هستند که می‌توانند برای استفاده تجاری مفید باشند (Priyadrashani و Rath، ۲۰۱۲). *اسپیرولینا پلاتنسیس Spriulina platensis* ریزجلبکی است که حاوی ۷۱ درصد پروتئین، اسیدهای آمینه، کاروتنوئیدها، کمپلکس ویتامین B، ویتامین E، مس، منگنز، منیزیوم، آهن، سلنیوم و روی (Jalaja Kumari و همکاران، ۲۰۱۱)، اسیدهای چرب ضروری (Munirasu و همکاران، ۲۰۱۴) و رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاروتنوئیدها می‌باشد (Macias-Sancho و همکاران، ۲۰۱۴). این ریزجلبک دیواره سلولی نازکی (۵۰ نانومتر) دارد که شامل ۸۰٪ پکتین و ۲۰٪ سلولز می‌باشد، بنابراین هضم راحت‌تری دارد (Lu و همکاران، ۲۰۰۲). هم‌چنین این ریزجبلک ظرفیت ایمنی را نیز بهبود می‌بخشد (Promya و Chitmanat، ۲۰۱۱). *کلرلا ولگاریس Chlorella vulgaris* نیز ریزجلبکی حاوی ۶۰٪ پروتیئن و ۱۸ اسیدآمینه ضروری و انواع مختلفی از ویتامین‌ها و موادمعدنی است (Radhakrishnan و همکاران، ۲۰۱۴). یکی از خصوصیات منحصر به فرد آن دارا بودن ماده‌ای است که فاکتور رشد کلرلا (*Chlorella* Growth Factor) نامیده می‌شود. کلرلا دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد (Bengwayan و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات متعددی در مورد کاربرد ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا در آبزی‌پروری انجام گرفته و موفقیت‌هایی نیز در پی داشته است. جایگزینی پودر ماهی با اسپیرولینا و کلرلا به‌طور موفقیت‌آمیز در میگوی آب‌شیرین، *Macrobrachium rosenbergii* (Radhakrishnan و همکاران، ۲۰۱۴)، تیلاپیای نیلی *Oreochromis Niloticus* (Badwy و همکاران، ۲۰۰۸)، ماهی قرمز *Carassius auratus* (Shi و همکاران، ۲۰۱۶)، فلاندر زیتونی *Paralichthys olivaceus* (Rahimnejad و همکاران، ۲۰۱۶)، میگوی سفید *Litopenaeus schmitti* (Jaime-Ceballos و همکاران، ۲۰۰۵) و میگوی ببری سبز *Peneaus semisulcatus* (Ghaeni و همکاران، ۲۰۱۱) استفاده شده است. هم‌چنین گزارش شده است که برخی جلبک‌ها با فراهم کردن پروفیل مناسبی از اسیدهای چرب ضروری از نظر فیزیولوژیکی اثرات مثبت بر جانوران دارد (Spolaore و همکاران، ۲۰۰۶). اکبری و همکاران (۱۳۹۵) مشاهده کردند که استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا موجب افزایش سطوح PUFA در ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* می‌شود. تحقیقات مختلف انجام شده در مورد اسپیرولینا و کلرلا نشان دادند که این ریزجلبک‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع پروتینی جایگزین در آبزی‌پروری استفاده شوند، اما به‌نظر می‌رسد در مورد مقایسه این دو ریزجلبک در میگوی وانامی که امروزه اولین گزینه پرورش میگو در ایران و جهان می‌باشد مطالعه‌ای صورت نگرفته است. بنابراین در تحقیق حاضر تلاش شده تا تاثیر این ریزجلبک‌ها در عملکرد رشد، ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای چرب میگوی وانامی در مقایسه با گروه شاهد بررسی و مقایسه گردد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: پودر اسپیرولینا و کلرلا در سال ۱۳۹۳ از شرکت ریزجلبکی پارسیان، رشت، ایران تهیه شد. ترکیبات شیمیایی تقریبی و پروفیل اسیدچرب این پودرها در جدول ۱ (براساس اطلاعات به‌دست آمده از شرکت ریزجلبکی پارسیان) آورده شده است. فرمولاسیون ۹ جیره آزمایشی با جایگزینی سطوح مختلفی از ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا به‌طور جداگانه، با پودر ماهی انجام شد.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی پودر ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris* *

ترکیب تقریبی لاشه (براساس ماده خشک)	اسپیرولینا(درصد)	کلرلا(درصد)
پروتئین	۶۷/۹۲	۵۱/۴۹
چربی	۳/۶۳	۷/۷۵
کربوهیدرات	۱۷/۸۰	۳۱/۶۹
رطوبت	۴/۰۱	۲/۹۷
خاکستر	۶/۶۵	۶/۱۰

* این اطلاعات از شرکت ریزجلبکی پارسیان تهیه شد.

تیمارهای آزمایش شامل تیمار (۰) شاهد (بدون استفاده از پودر جلبک)، ۱)اسپیرولینابا‌جایگزینی ۲۵درصد، ۲)اسپیرولینا با جایگزینی ۵۰درصد، ۳) اسپیرولینا با جایگزینی ۷۵درصد، ۴) اسپیرولینا با جایگزینی ۱۰۰ درصد، ۵) کلرلا با جایگزینی ۲۵ درصد، ۶) کلرلا با جایگزینی ۵۰ درصد، ۷) کلرلا با جایگزینی ۷۵ درصد و ۸) کلرلا با جایگزینی ۱۰۰ درصد بوده است. اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. همه جیره‌های آزمایشی به‌صورت ایزونیتروژن و ایزولیپید فرموله شدند. برای آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، اجزاء باهم مخلوط و سپس پلت (با قطر ۲ میلی‌متر) شدند. جیره‌ها در دمای اتاق خشک و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف، نگه‌داری شدند.

میگو و شرایط پرورش: میگوی وانامی از مزرعه پرورش میگو در گمیشان، گلستان، ایران تهیه شد و به مرکز آموزش و ترویج تکثیر و پرورش آبزیان در گمیشان انتقال یافت. قبل از شروع آزمایش، میگوهای پرورشی به‌مدت یک هفته برای سازگاری با محیط آزمایشی نگه‌داری و با غذای تجاری تغذیه شدند. پس از یک هفته سازگاری، میگوهای سالم با وزن اولیه تقریبا ۰/۲± ۲/۶ گرم بین ۹ تیمار (یک تیمار شاهد، چهار تیمار اسپیرولینا و چهار تیمار کلرلا) با سه تکرار تقسیم شدند. هر تکرار حاوی ۳۰ میگو بود و میگوها به‌طور تصادفی در مخازن فایبرگلاس گرد ۳۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۲۰۰ لیتر) ذخیره شدند. تعویض آب مخازن به‌مقدار ۳۰ درصد و به‌صورت روزانه انجام گرفت. برای هوادهی و تامین اکسیژن به هریک از مخازن یک عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید.دما، شوری و pH آب به‌ترتیب ۱± ۲۶ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ گرم بر لیتر و ۷/۹ بود. هر جیره آزمایشی به‌طور تصادفی به یک گروه میگو با سه تکرار در هر تیمار (۹۰ میگو برای هر تیمار) اختصاص یافت. در طول دوره آزمایش، میگوها به‌میزان ۴ درصد وزن بدن به‌ازای هر روز در دو وعده (ساعت ۱۰:۰۰ و ساعت ۱۸:۰۰) تغذیه شدند.

عملکرد رشد: در شروع دوره آزمایش و هم‌چنین هر دو هفته یک‌بار، تا پایان دوره آزمایش از هر تکرار ۱۰ میگو به‌طور تصادفی نمونه‌برداری شده و میانگین وزن آن‌ها ثبت شد، سپس براساس فرمول‌های زیر پارامترهای مرتبط با عملکرد رشد سنجیده شد (De silva و Anderson، ۱۹۹۵):

وزن اولیه میگو - وزن پایانی میگو :(WG) افزایش وزن

[دوره پرورش (روز) / لگاریتم طبیعی وزن اولیه میگو-لگاریتم طبیعی وزن پایانی میگو]×۱۰۰ :(SGR) نرخ رشد ویژه

افزایش وزن (گرم)/مقدار غذای خورده شده (گرم) :(FCR) ضریب تبدیل غذایی

(تعداد میگوها در ابتدای دوره تغذیه)/ (تعداد میگوهای مرده در طول دوره تغذیه – تعداد میگوها در ابتدای دوره تغذیه) × ۱۰۰ : بقا

ترکیب تقریبی لاشه: در پایان دوره تغذیه، به‌منظور تجزیه ترکیب تقریبی لاشه، ۲۴ ساعت بعد از آخرین غذادهی، پنج عدد میگو از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب شد. ارزیابی ترکیب تقریبی کل لاشه شامل رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر براساس روش‌های استاندارد Association of Official Analytical Chemists (AOAC، ۱۹۹۵) در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. برای اندازه‌گیری رطوبت لاشه، بافت میگو پس از خرد و یکنواخت شدن، در داخل پتری‌دیش‌های شیشه‌ای قرار داده شد و با استفاده از آون (Binder, USA) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۴ ساعت‌خشک‌شد. برای اندازه‌گیری سایر ترکیبات لاشه از نمونه خشک شده استفاده گردید. سنجش پروتئین‌لاشه با استفاده از دستگاه کلدال (Gerhardt, type VAP.40, Germany) و چربی لاشه با استفاده از دستگاه سوکسله (Gerhardt, type SE-416, Germany) انجام شد. برای اندازه‌گیری خاکستر لاشه، نمونه‌ها در بوته‌های چینی ریخته شده و سپس به‌مدت ۸ ساعت در داخل کوره الکتریکی (Nabertherm, Germany)در دمای ۵۵۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند.

پروفیل اسیدهای چرب: ترکیب اسیدهای چرب بافت عضلهٔ ماهیان (سه نمونه از هر تکرار) در انتهای دورهٔ پرورش با استفاده از روش اصلاح شده از Lepage و Roy (۱۹۸۴) در پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه انجام شد. استریفیکاسیون در مخلوط تولوئن/ متانول انجام شد و متیل‌استرهای اسیدچرب با استفاده از هگزان استخراج شد. بعد از تبخیر حلال، متیل استرهای اسیدچرب با حل شدن در ایزواکتان برای تزریق در دستگاه آماده شد. مقادیر اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه Agilent 7890A GC System, USA تعیین شد.

تجزیه آماری: ابتدا نرمال بودن داده‌ها به‌کمک تست کلموگراف اسمیرنوف و برابری واریانس‌ها با استفاده از تست لون مورد بررسی قرار گرفت، سپس میانگین کلیه شاخص‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS موردارزیابی قرار گرفت و تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ در بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی به‌دست آمد. تمام داده‌ها براساس میانگین ±انحراف معیار محاسبه شدند.

جدول۲: ترکیب جیره‌های غذایی دارای جلبک اسپیرولینا *Spriulina platensis*، کلرلا *Chlorella vulgaris* و جیره شاهد (برحسب درصد) و ترکیب شیمیایی آن‌ها ۰) شاهد، ۱) ۲۵درصد اسپیرولینا، ۲) ۵۰ درصد اسپیرولینا، ۳) ۷۵ درصد اسپیرولینا، ۴) ۱۰۰ درصد اسپیرولینا، ۵) ۲۵ درصد کلرلا، ۶) ۵۰ درصد کلرلا، ۷) ۷۵ درصد کلرلا و ۸) ۱۰۰ درصد کلرلا

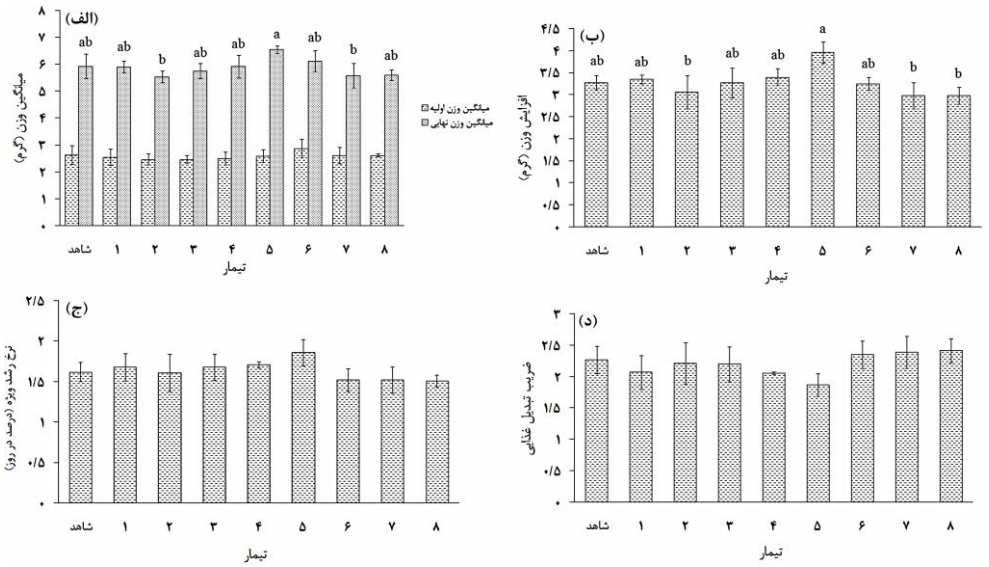
مواد غذایی	جیره غذایی (درصد)								
	شاهد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
پودر ماهی	۴۰	۳۰	۲۰	۱۰	۰	۳۰	۲۰	۱۰	۰
پودر سویا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
پودر اسپیرولینا	۰	۸	۱۵/۵	۲۳	۳۰	–	–	–	–
پودر کلرلا	۰	–	–	–	–	۹/۷۲	۱۹/۴۴	۲۹/۱۶	۳۸/۸۸
نشاسته	۱۴/۷	۱۲/۸۲	۱۱/۷۱	۱۰/۲۶	۸/۸۲	۱۱	۸	۴/۵	۱
ژلاتین	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷
آرد گندم	۶	۶	۶	۶	۶	۶	۶	۶	۶
روغن ماهی	۲	۲/۶	۳/۱۵	۳/۷	۴/۳	۲/۳۳	۲/۶۶	۲/۹۷	۳/۳
روغن کلزا	۲	۲/۶	۳/۱۵	۳/۷	۴/۳	۲/۳۳	۲/۶۶	۲/۹۷	۳/۳
کلسترول	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
لسیتین	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
کولین کلراید	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
مکمل معدنی[1]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل ویتامینه[2]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
ویتامین c	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
پر کننده	۰	۲/۶۸	۵/۱۹	۸/۰۴	۱۱/۲۸	۳/۳۲	۵/۹۴	۹/۰۹	۱۲/۲۲
دی کلسیم فسفات	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
ضد قارچ	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
ترکیب شیمیایی جیره غذایی (درصد)									
پروتیین	۳۷/۶۰	۳۸/۰۳	۳۸/۱۲	۳۸/۲۱	۳۷/۹۷	۳۷/۵۹	۳۷/۵۹	۳۷/۵۹	۳۷/۵۸
چربی	۱۰/۳۷	۱۰/۴۶	۱۰/۴۳	۱۰/۴	۱۰/۴۵	۱۰/۳۸	۱۰/۳۸	۱۰/۳۶	۱۰/۳۶
کربوهیدرات	۲۳/۴۱	۲۳/۱۴	۲۳/۴۷	۲۳/۵	۲۳/۴۵	۲۳/۱۵	۲۳/۵۲	۲۳/۴۴	۲۳/۳۶
انرژی	۳۹۹۷/۶۵	۴۰۱۸/۹۹	۴۰۳۵/۲۳	۴۰۳۹/۰۳	۴۰۲۷/۶۲	۳۹۸۷/۶۷	۴۰۰۳/۳۰	۳۹۹۷/۹۸	۳۹۹۴/۴۳

۱- هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: ۱۸ میلی‌گرم روی، ۰/۶ میلی‌گرم ید، ۷/۸ میلی‌گرم منگنز، ۰/۵ میلی‌گرم کبالت، ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۱/۸ میلی‌گرم مس، ۱۲ میلی‌گرم آهن

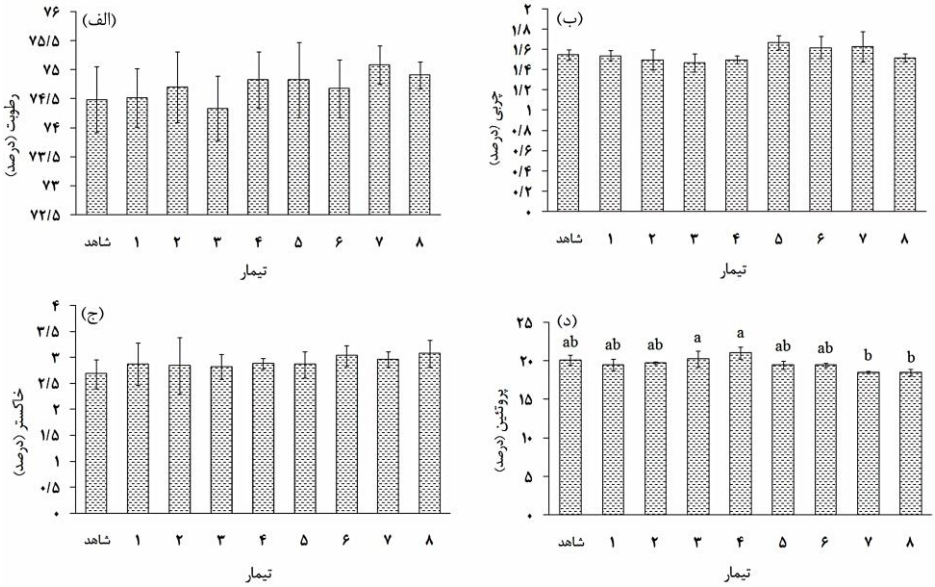
۲- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3؛ ۱۲۰ میلی‌گرم ویتامین E؛ ۲۴ میلی‌گرم ویتامین B_{12}؛ ۱۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۹۰ میلی‌گرم نیاسین، ۲۷ میلی‌گرم اسیدپانتوتنیک، ۳ میلی‌گرم منادیون، ۴/۸ میلی‌گرم اسیدفولیک، ۹ میلی‌گرم پیردوکسین، ۹ میلی‌گرم تیامین، ۰/۴۸ میلی‌گرم بیوتین، ۳۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۲۴ میلی‌گرم کوبالامین، ۱۵۶ میلی‌گرم اسیداسکوربیک، ۹۰ میلی‌گرم اسیدنیکوتینیک، ۷۲ میلی‌گرم اینوزیتول، ۱۵ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت

نتایج

عملکرد رشد: نتایج مربوط به عملکرد رشد در شکل ۱ نشان داده شده است. تمام جیره‌های آزمایشی توسط میگوها مورد پذیرش قرار گرفتند و میزان بقا در همه تیمارها ۱۰۰٪ بود. میانگین وزن اولیه در هیچ‌کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$)، اما در میانگین وزن پایانی و افزایش وزن، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$)، طوری‌که تیمار ۵ تغذیه شده با ۲۵ درصد کلرلا، بالاترین میانگین وزن پایانی و در نتیجه بالاترین میزان افزایش وزن را در مقایسه با گروه شاهد داشت. جایگزینی پودر ماهی با انواع ریزجلبک‌های مورد استفاده در این تحقیق، اختلاف معنی‌داری را در مقادیر نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند ($P>0/05$). به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که در این تحقیق جایگزینی پورد ماهی با ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا هیچ تاثیر منفی بر عملکرد رشد میگوهای آزمایشی نداشته است.



شکل ۱: الف) وزن اولیه و وزن پایانی، ب) افزایش وزن، ج) نرخ رشد ویژه و د) ضریب تبدیل غذایی میگوهای وانامی *Litopenaeus vannamei* در تیمارهای مختلف تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris*



شکل ۲: الف) میزان رطوبت، ب) چربی، ج) خاکستر و د) پروتئین لاشه میگوهای وانامی *Litopenaeus vannamei* در تیمارهای مختلف تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris*

وجود حروف غیرهمسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است. ۰) شاهد، ۱) ۲۵درصد اسپیرولینا، ۲) ۵۰ درصد اسپیرولینا، ۳) ۷۵ درصد اسپیرولینا، ۴) ۱۰۰ درصد اسپیرولینا، ۵) ۲۵ درصد کلرلا، ۶) ۵۰ درصد کلرلا، ۷) ۷۵ درصد کلرلا و ۸) ۱۰۰ درصد کلرلا

ترکیب تقریبی لاشه: ترکیب تقریبی لاشه میگوهای تغذیه شده با سطوح مختلف ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا در شکل۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که رطوبت، چربی و خاکستر جیره‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند اما از نظر مقدار پروتیئن، تیمارهایی که با ۷۵درصدو ۱۰۰درصد اسپیرولینا تغذیه شده بودند درصد پروتین لاشه بالاتری داشتند ($P<0/05$).

پروفیل اسیدچرب: نتایج مربوط به پروفیل اسیدهای چرب در جدول ۳ آورده شده است. مشاهدات نشان داد که در لاشه عمده تیمارهای تغذیه شده با ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا، محتوای اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیراشباع از قبیل آلفالینولنیک‌اسید، دکوزاهگزاانوئیک‌اسید، ایکوزاپنتاانوئیک‌اسید، لینولئیک‌اسید و اسید آراشیدونیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ($P<0/05$).

جدول ۳: پروفیل اسیدهای چرب لاشه میگوی تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ریزجلبک‌های اسپیرولینا *Spriulina platensis* و کلرلا *Chlorella vulgaris*. ۰) شاهد، ۱) ۲۵درصد اسپیرولینا، ۲) ۵۰ درصد اسپیرولینا، ۳) ۷۵ درصد اسپیرولینا، ۴) ۱۰۰ درصد اسپیرولینا، ۵) ۲۵ درصد کلرلا، ۶) ۵۰ درصد کلرلا، ۷) ۷۵ درصد کلرلا و ۸) ۱۰۰ درصد کلرلا

موارد	جیره های غذایی								
	شاهد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
C14:0	۲۹/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۲۴±۰/۰۰^{e}	۰/۲۶±۰/۰۰^{d}	۰/۲۶±۰/۰۰^{d}	۰/۱۸±۰/۰۰^{h}	۰/۲۸±۰/۰۰^{c}	۰/۳۷±۰/۰۰^{a}	۰/۲۳±۰/۰۰^{f}	۰/۲۱±۰/۰۰^{g}
C16:0	۱۷/۹۰±۰/۰۴^{b}	۱۶/۸۶±۰/۱۱^{d}	۱۷/۳۲±۰/۰۶^{c}	۱۷/۳۱±۰/۱۰^{c}	۱۷/۳۸±۰/۰۲^{c}	۱۸/۳۵±۰/۱۱^{a}	۱۶/۶۱±۰/۱۱d	۱۷/۷۲±۰/۱۴^{b}	۱۶/۸۵±۰/۰۳^{d}
C18:0	۱۰/۱۰±۰/۰۳^{de}	۱۱/۱۴±۰/۱۳^{a}	۱۰/۳۰±۰/۰۸^{cd}	۱۰/۷۳±۰/۰۲^{b}	۱۰/۷۵±۰/۰۲^{b}	۱۰/۴۰±۰/۰۵^{c}	۱۰/۲۱±۰/۰۲^{cde}	۱۰/۰۸±۰/۱۱^{e}	۹/۸۱±۰/۰۶^{f}
C20:0	۰/۳۹±۰/۰۴^{b}	۰/۲۷±۰/۰۲^{d}	۰/۳۱±۰/۰۱C^{d}	۰/۵۰±۰/۰۱^{a}	۰/۳۰±۰/۰۰^{cd}	۰/۳۵±۰/۰۱^{bc}	۰/۳۳±۰/۰۱^{c}	۰/۲۱±۰/۰۱^{e}	۰/۳۴±۰/۰۱^{c}
SFA	۲۸/۷۰±۰/۱۲^{b}	۲۸/۵۳±۰/۲۴^{bcd}	۲۸/۲۱±۰/۰۹^{d}	۲۸/۸۲±۰/۰۷^{b}	۲۸/۶۲±۰/۰۱^{bc}	۲۹/۴۰±۰/۱۹^{a}	۲۷/۵۳±۰/۱۰^{e}	۲۸/۲۵±۰/۰۵^{cd}	۲۷/۲۲±۰/۱۱^{e}
C16:1n7	۱/۰۵±۰/۰۰^{a}	۰/۷۷±۰/۰۱^{c}	۰/۷۳±۰/۰۰^{d}	۰/۷۳±۰/۰۲^{d}	۰/۵۵±۰/۰۱^{e}	۰/۹۳±۰/۰۱^{b}	۰/۹۰±۰/۰۰^{b}	۰/۷۷±۰/۰۱^{c}	۰/۷۲±۰/۰۰^{d}
C18:1n7	۲/۸۵±۰/۰۶^{b}	۲/۹۰±۰/۰۳^{b}	۳/۰۸±۰/۰۷^{a}	۲/۷۳±۰/۰۲^{c}	۲/۶۱±۰/۰۲^{d}	۳/۰۶±۰/۰۱^{a}	۳/۰۶±۰/۰۰^{a}	۳/۰۷±۰/۰۰^{a}	۳/۱۲±۰/۰۰^{a}
C18:1n9	۲۰/۷۳±۰/۲۱^{b}	۱۷/۶۳±۰/۱۰^{g}	۱۹/۵۱±۰/۰۷^{c}	۲۱/۷۶±۰/۰۴^{a}	۱۹/۱۶±۰/۰۰^{d}	۱۸/۱۴±۰/۰۶^{f}	۱۸/۵۰±۰/۰۴^{e}	۱۸/۰۹±۰۲۰^{f}	۱۸/۰۲±۰/۰۲^{f}
C20:1n9	۰/۸۵±۰/۰۴^{b}	۰/۷۱±۰/۰۱^{cd}	۱/۰۶±۰/۰۷^{a}	۰/۶۶±۰/۰۱^{d}	۰/۷۸±۰/۰۲^{bc}	۰/۶۲±۰/۰۲^{d}	۰/۷۱±۰/۰۱^{cd}	۰/۷۱±۰/۰۱^{cd}	۰/۸۲±۰/۰۲^{b}
MUFA	۲۵/۴۸±۰/۳۰^{b}	۲۲/۰۲±۰/۱۶^{f}	۲۴/۳۹±۰/۰۳^{c}	۲۵/۸۹±۰/۰۴^{a}	۲۳/۱۱±۰/۰۵^{d}	۲۲/۷۵±۰/۰۳^{e}	۲۳/۱۹±۰/۰۵^{d}	۲۲/۶۵±۰/۰۳^{e}	۲۲/۶۸±۰/۰۱^{e}
C18:2n6 (LA)	۱۳/۹۱±۰/۰۶^{d}	۱۴/۰۵±۰/۰۶^{d}	۱۴/۴۷±۰/۱۰^{c}	۱۳/۵۲±۰/۰۳^{e}	۱۶/۱۰±۰/۰۸^{a}	۱۳/۸۴±۰/۰۶^{d}	۱۴/۹۵±۰/۰۳^{b}	۱۴/۶۶±۰/۱۶^{c}	۱۶/۰۶±۰/۰۵^{a}
C18:3n3(ALA)	۲/۰۴±۰/۰۲^{fg}	۲/۲۲±۰/۰۲^{ef}	۲/۱۱±۰/۰۸^{f}	۱/۸۶±۰/۱۲^{g}	۲/۴۰±۰/۰۵^{d}	۲/۳۸±۰/۰۵^{de}	۴/۴۴±۰/۰۵^{b}	۳/۵۸±۰/۰۲^{c}	۵/۲۳±۰/۰۵^{a}
C20:2n6	۰/۶۴±۰/۰۲^{f}	۰/۸۶±۰/۰۱^{de}	۱/۰۶±۰/۰۱^{c}	۱/۰۵±۰/۱۶^{c}	۱/۲۳±۰/۰۳^{ab}	۰/۸۳±۰/۰۱^{e}	۱/۰۰±۰/۰۱^{cd}	۱/۱۲±۰/۰۱^{bc}	۱/۳۱±۰/۰۱^{a}
C20:3n3	۰/۰۹±۰/۰۰^{e}	۰/۱۹±۰/۰۰^{d}	۰/۱۵±۰/۰۰^{d}	۰/۱۶±۰/۰۰^{d}	۰/۱۸±۰/۰۰^{d}	۰/۲±۰/۰۲^{f}	۰/۵۷±۰/۰۳^{a}	۰/۳۱±۰/۰۰^{c}	۰/۳۶±۰/۰۱^{b}
C20:4n6(ARA)	۳/۲۳±۰/۲۹^{d}	۴/۲۴±۰/۰۳^{a}	۳/۶۰±۰/۱۵^{bc}	۳/۴۸±۰/۰۳^{b}	۳/۵۹±۰/۰۲^{bc}	۳/۵۶±۰/۱۲^{bcd}	۳/۴۶±۰/۰۱^{cd}	۳/۶۱±۰/۰۴^{bc}	۳/۴۷±۰/۰۵^{cd}
C20:5n3 (EPA)	۷/۱۶±۰/۳۹^{e}	۹/۸۶±۰/۰۲^{a}	۸/۳۸±۰/۰۲^{cd}	۸/۱۴±۰/۱۲^{d}	۸/۶۲±۰/۰۸^{bc}	۹/۰۲±۰/۱۳^{b}	۸/۱۳±۰/۰۲^{d}	۸/۵۴±۰/۰۳^{cd}	۸/۶۲±۰/۰۲^{bc}
C22:6n3(DHA)	۷/۰۸±۰/۱۷^{cd}	۱۰/۷۰±۰/۲۳^{a}	۹/۳۲±۰/۰۶^{b}	۷/۰۴±۰/۳۲^{d}	۷/۴۱±۰/۲۴^{cd}	۱۰/۱۵±۰/۰۳^{a}	۹/۰۰±۰/۰۰^{b}	۹/۲۱±۰/۱۷^{b}	۷/۶۴±۰/۲۶^{c}
PUFA	۳۴/۱۹±۰/۳۹^{f}	۴۲/۱۵±۰/۲۵^{ab}	۳۹/۱۲±۰/۳۷^{d}	۳۵/۶۴±۰/۵۱^{e}	۳۹/۵۶±۰/۴۷^{d}	۳۹/۸۳±۰/۲۶^{d}	۴۱/۵۸±۰/۱۵^{bc}	۴۱/۰۶±۰/۲۹^{c}	۴۲/۷۱±۰/۳۸^{a}
Total n-3	۱۶/۳۸±۰/۳۶^{f}	۲۲/۹۸±۰/۲۷^{a}	۱۹/۹۷±۰/۱۱^{c}	۱۷/۲۲±۰/۳۷^{e}	۱۸/۶۳±۰/۳۷^{d}	۲۱/۵۹±۰/۱۴^{b}	۲۲/۱۶±۰/۱۰^{b}	۲۱/۶۵±۰/۱۷^{b}	۲۱/۸۷±۰/۳۴^{b}
Total n-6	۱۷/۸۰±۰/۲۷^{d}	۱۹/۱۶±۰/۰۲^{b}	۱۹/۱۴±۰/۲۶^{b}	۱۸/۴۲±۰/۱۵^{c}	۲۰/۹۳±۰/۱۳^{a}	۱۸/۲۴±۰/۱۷^{cd}	۱۹/۴۱±۰/۰۶^{b}	۱۹/۴۰±۰/۱۲^{b}	۲۱/۸۷±۰/۳۴^{a}
n-3/n-6	۰/۹۲±۰/۰۳^{de}	۱/۱۹±۰/۰۱^{a}	۱/۰۴±۰/۰۰^{c}	۰/۹۳±۰/۰۱^{d}	۰/۸۸±۰/۰۱^{e}	۱/۱۸±۰/۰۱^{a}	۱/۱۴±۰/۰۰^{b}	۱/۱۱±۰/۰۰^{b}	۱/۰۴±۰/۰۱^{c}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است. SFA: اسیدهای چرب اشباع، MUFA: اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، LA: لینولئیک اسید، ALA: آلفا لینولنیک اسید، ARA: آراشیدونیک اسید، EPA: ایکوزا پنتا انوئیک اسید، DHA: دوکوزا هگزا انوئیک اسید، PUFA: اسیدهای چرب بلندزنجیر چند غیراشباع، n-3: اسیدهای چرب امگا ۳، n-6: اسیدهای چرب امگا ۶.

بحث

آبزیان با ارائه مواد غذایی و منبع درآمد بهتر، نقش حیاتی را در بسیاری‌از کشورها ایفامی‌کنند(Direkbusarakomوهمکاران، ۲۰۰۴). در این میان، میگوی وانامی نیز یکی از گونه‌های محبوب و مهم پرورشی است که به‌دلیل نرخ بقای بالاتر و سرعت رشد بیش‌تر در سیستم‌های کشت متراکم مورد توجه می‌باشد (Iba و همکاران، ۲۰۱۴). با توجه به بازار رو به رشد پرورش میگو و اطلاعات اندکی که در مورد پتانسیل استفاده از ریزجلبک‌ها به‌ویژه اسپیرولینا و کلرلا در تهیه جیره میگو وجود دارد، در این تحقیق اثرات جایگزینی پودر ماهی با این دو ریزجلبک مختلف، روی رشد، ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای چرب میگوی وانامی بررسی و مقایسه شد. مطالعه حاضر نشان داد که میگوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۲۵٪ کلرلا به‌طور معنی‌دار، وزن پایانی و افزایش وزن بالاتری را در انتهای دوره پرورشی داشتند. اما مقادیر نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در هیچ‌یک از تیمارهای تغذیه شده با اسپیرولینا و کلرلا، در مقایسه با تیمار شاهد تغییرات معنی‌داری نشان ندادند. هم‌چنین، تغذیه با جیره حاوی ۱۰۰ درصد اسپیرولینا، میزان بالاتری از درصد پروتئین خام را در تجزیه ترکیب تقریبی لاشه میگو نشان داده اما میزان این اختلاف در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار نیست. میزان تغییرات سایر ترکیبات شیمیایی لاشه میگو (رطوبت، چربی و خاکستر) در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بااین‌حال، این نتایج بیانگر این مطلب است که جایگزینی پودر ماهی با ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا نه تنها تاثیر سوء در عملکرد رشد و ترکیب لاشه میگوی وانامی ندارند، بلکه به‌نظر می‌رسد در برخی سطوح موجب افزایش رشد میگو یا افزایش محتوای پروتئین لاشه میگو نیز می‌شوند. این مشاهدات با نتایج مطالعات قبلی که در آن‌ها پودر اسپیرولینا و کلرلا به‌طور جزئی یا کامل در جیره ماهیان و سخت‌پوستان، جایگزین پودر ماهی شده است، مطابقت دارد. بهبود عملکرد رشد یا محتوای پروتئین لاشه بالاتر، در کپورماهیان هندی، *Catla catla* و *Labeo rohita* (Nandeesha و همکاران، ۲۰۰۱)، تیلاپیا *Oreochromis mossambicus* (Olvera-Novoa و همکاران، ۱۹۹۸)، ماهی دم‌شمشیری، *Xiphophorus helleri* (James و همکاران، ۲۰۰۶)، ماهی خاویاری سیبری، *Acipenser baeri* (Palmegiano و همکاران، ۲۰۰۵)، ماهی سفید خاویاری، *Acipenser*

transmontanus(Palmegiano و همکاران، ۲۰۰۸) و میگوی آب‌شیرین، *M. rosenbergii* (Nakagawa و Gomez-Diaz، ۱۹۹۵) که در جیره آن‌ها از اسپیرولینا استفاده شده بود مشاهده گردید. هم‌چنین کلرلای استفاده شده در جیره میگوی آب شیرین *M. rosenbergii* (Maliwat و همکاران، ۲۰۱۶)، ماهی صخره‌ای، *Sebastes schlegeli* (Bail و همکاران، ۲۰۰۱)، ماهی فلاندر، *P. olivaceus*(Rahimnejad و همکاران، ۲۰۱۶) و ماهی قرمز، *C. auratus gibelio* (Xu و همکاران، ۲۰۱۴) موفقیت‌هایی را در عملکرد رشد نشان داده است. به‌نظر می‌رسد مقادیر بالای پروتئین و حضور اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها و موادمعدنی در ترکیب اسپیرولینا و کلرلا، با عملکرد رشد مناسب مشاهده شده در مطالعه حاضر در میگوهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد ارتباط داشته باشد. هم‌چنین اسپیرولینا به‌دلیل نداشتن دیواره سلولی منجر به بهبود هضم و جذب غذا می‌گردد (Nandeesha و همکاران، ۱۹۹۸؛ Becker و Venkatraman، ۱۹۸۴). علاوه‌براین، کلرلا نیز با داشتن نوعی ترکیب زیستی فعال به نام فاکتور رشد کلرلا (Chlorella Growth Factor) موجب بهبود عملکرد رشد می‌گردد (Yamaguchi، ۱۹۹۷؛ Badwy و همکاران، ۲۰۰۸).

در این تحقیق با توجه به این‌که پودر ماهی با ریزجلبک جایگزین شده، بنابراین حصول اطمینان از تامین اسیدهای چرب ضروری میگوها بسیار مهم است. مشاهدات نشان داد که پروفیل اسیدهای چرب لاشه میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف اسپیرولینا و کلرلا در اکثر تیمارها مقادیر بالاتر اسیدهای‌چرب بلندزنجیر چندغیراشباع از قبیل آلفالینولنیک‌اسید، دکوزاهگزاانوئیک‌اسید، ایکوزاپنتاانوئیک‌اسید، اسید لینولئیک و آراشیدونیک‌اسید را در مقایسه با گروه شاهد داشتند. بیش‌ترین مقدار آلفالینولنیک‌اسید و لینولئیک‌اسید در تیمار ۱۰۰ درصد کلرلا و بیش‌ترین مقدار دکوزاهگزاانوئیک‌اسید، ایکوزاپنتاانوئیک اسید و آراشیدونیک اسید در تیمار ۲۵ درصد اسپیرولینا مشاهده شد. بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که اسپیرولینا و کلرلا از نظر منابع اسیدهای چرب، جایگزین مناسبی در رژیم غذایی میگوی وانامی می‌باشند. پیش از این نشان داده شده که مقادیر بالای اسیدهای‌چرب بلندزنجیر چندغیراشباع در لاشه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی اسپیرولینا به‌دلیل مقادیر بالای دکوزاهگزاانوئیک‌اسید، لینولئیک‌اسید و آراشیدونیک‌اسید در این جیره‌ها بوده است (Palmegiano و همکاران، ۲۰۰۵). هم‌چنین مشخص شده که اسپیرولینا به‌عنوان منبع ارزشمند لینولئیک‌اسید می‌تواند ۳۰-۲۰ درصد محتوای اسیدچرب این ریزجلبک را تشکیل دهد (Becker، ۲۰۰۴). بااین‌حال به‌نظر می‌رسد قبل از این، هیچ مطالعه‌ای در مورد تاثیر ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا بر پروفیل اسیدهای چرب میگو صورت نگرفته و تحقیقات متعددی در این زمینه مورد نیاز است.

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثرات مثبت ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا در رشد، ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای‌چرب میگوی وانامی می‌باشد، به‌ویژه به‌نظر می‌رسد استفاده از جیره حاوی ۲۵ درصد کلرلا با ارائه رشد بالاتر و نداشتن اثرات منفی در ترکیبات لاشه و پروفیل اسیدهای‌چرب در میگوی وانامی مناسب‌تر باشد. بنابراین در آینده اگر مشکلات هزینه‌بالای تولید آن‌ها حل شود، ممکن است فرصت مناسبی برای جایگزینی کامل یا ناقص پودر ماهی فراهم آورد. با این‌حال، تایید نتایج این آزمایشات در سیستم‌های پرورشی واقعی نیاز به انجام تحقیقات بیش‌تر و گسترده‌تری دارد.

تشکر و قدردانی

از کارشناسان و پرسنل محترم مرکز آموزش و ترویج تکثیر و پرورش آبزیان گمیشان و هم‌چنین آقای دنیایی مدیرعامل محترم شرکت ریزجلبکی پارسیان، آقای مهندس مرادی و آقای دکتر اصغری به جهت همکاری صمیمانه آن‌ها در انجام این پژوهش کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

۱. **اکبری، پ. و سندک‌زهی، ا.، ۱۳۹۵.** اثر پودر جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis*روی رشد، تغذیه، ترکیب شیمیایی و اسیدهای چرب لاشه ماهی کفال خاکستری Linnaeus *Mugil cephalus*. نشریه شیلات. دوره ۶۹، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۹.

۲. **AOAC (Association of official analytical chemists). 1995.** Official Methods of Analysis. 16th edn, AOAC, Arlington, VA, USA.

۳. **Atanasoff, A.P., 2014.** Replacement of fish meal by ribotricin in diets of carp *Cyprinus carpio*. Macedonian Veterinary Review. Vol. 37, pp: 55-59.

۴. **Badwy, T.M.; Ibrahim, E.M. and Zeinhom, M.M., 2008.** Partial replacement of fish meal with dried microalga (*Chlorella* spp and *Scenedesmus* spp) in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets, 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Egypt.

۵. **Bai1, S.C.; Koo, J.W.; Kim, K.W. and Kim, S.K., 2001.** Effects of *Chlorella* powder as a feed additive on growth performance in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). Aquaculture Research. Vol. 32, pp: 92-98.

۶. **Becker E.W. and Venkataraman, L.V., 1984.** Production and utilization of blue-green algae, *Spirulina* in india. Biomass. Vol. 4, pp:105-125.

۷. **Yamaguchi, K., 1996.** Recent advance in micro-algal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. Journal of Applied Phycology. Vol. 8, pp: 487-490.

۸. **Becker, E.W., 2004.** Micro algae in human and animal nutrition. In: Hand book of microalgal culture (ed. by A. Richmond). Blackwell, Oxford. pp: 312-351.

۹. **Bengwayan, P.T.; Laygo, J.C.; Pacio, A.E.; Poyaoan, J.L.Z.; Rebugio, J.F. and Yuson, A.L.L., 2010.** A comparative study on the antioxidant property of *Chlorella* (*Chlorella* sp.) tablet and glutathione tablet**.** *E*-International Scientific Research Journal. Vol. 2, No. 2, pp: 25-35.

۱۰. **De Silva, S.S. and Anderson, T.A., 1995.** Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, London, UK. 319 P.

۱۱. **Direkbusarakom, S., 2004.** Application of medicinal herbs to aquaculture in Asia. Walailak Journal of Science and Technology. Vol. 1, No. 1, pp: 7-14.

۱۲. **Ghaeni, M.; Matinfar, A.; Soltani, M.; Rabbani, M. and Vosoughi, A., 2011.** Comparative effects of pure *Spirulina* powder and other diets on larval growth and survival of green tiger shrimp, *Peneaus semisulcatus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 10, pp: 208-217.

۱۳. **Iba, W.; Rice, M.A. and Wikfors, G.H., 2014.** Microalgae in Eastern Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) hatcheries: A review on roles and culture environments. Acoustical society of Japan. Vol. 27, pp: 212-233.

۱۴. **Jaime Ceballos B., Villarreal, H.; Garcia, T.; Perez-Jar, L. and Alfonso, E., 2005.** Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *Litopenaeus schmitti* shrimp larvae. Revista de Investigaciones Marinas. Vol. 26, pp: 235-241.

۱۵. **Jalaja Kumari, D.; Babitha, B.; Jaffar, S.K.; Guru Prasad, M. and Ibrahim, M.D., 2011.** Potential health benefits of spirulina platensis. An International J of Advances in Pharmaceutical Science. Vol. 2, No. 4, pp: 417-422.

۱۶. **James R.; Sampath, K.; Thangarathinam, R. and Vasudhevan, I., 2006.** Effect of dietary Spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, *Xiphophorus helleri*. Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh. Vol. 58, pp: 97-104.

۱۷. **Lall, S.P. and Anderson, S., 2005.** Amino acid nutrition of salmonids: Dietary requirements and bioavailability. In: Montero, D.; Basurco, B.; Nengas, I.; Alexis, M.; Izquierdo, M. (Eds). Mediterranean fish nutrition. Zaragoza: Ciheam. *Cahiers* Options Méditerranéennes. Vol. 63, pp: 73-90.

۱۸. **Lepage, G. and Roy, C.C., 1984.** Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J of Lipid Research. Vol. 25, pp: 1391-1396.

۱۹. **Lu, J.; Yoshizaki, G.; Sakai, K. and Takeuchi, T., 2000.** Acceptability of raw Spirulina to larval tilapia *Oreochromis niloticus*. Fisheries **Science**. Vol. 68, pp: 51-58.

۲۰. **Macias Sancho J.; Henrique Poersch, L.; Bauer, W. and Alberto Romano, L., 2014.** Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. Aquaculture. Vol. 426-427, pp: 120-125.

۲۱. **Maliwat, G.C.; Velasquez1, S.; Robil, J.L.; Chan, M.; Traifalgar, R.F.; Tayamen, M. and Ragaza, J.A., 2016.** Growth and immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) postlarvae fed diets containing *Chlorella vulgaris* (Beijerinck). Aquaculture Reserch. pp: 1-11.

۲۲. **Munirasu, S.; Uthayakumar, V.; Ramasubramanian, V. and Kiruba, A., 2014.** Effect of live feed Mesocyclops aspericornis survival, growth, biochemical constituents and energy utilization of the freshwater fish *catla catla*. Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition. Vol. 6, No. 1, pp: 23-31.

۲۳. **Nakagawa H. and Gomez Diaz., G., 1995.** Usefulness of *Spirulina* sp. meal as feed additive for giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Suisan zoshoku. Vol. 43, pp: 521-526.

۲۴. **Nandeesha M.C.; Gangadhara, B., Varghese, T.J. and Keshavanath, P., 1998.** Effect of feeding *Spirulina platensis* on the growth, proximate composition and organoleptic quality of common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Research. Vol. 29, pp: 305-312.

۲۵. **Nandeesha M.C.; Gangadhara, B.; Manissery, J.K. and Venkataraman, L.V., 2001.** Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. Bioresource Technology. Vol. 80, pp: 117-120.

۲۶. **Olvera Novoa M.; Dominguez Cen, L.; Olivera Castillo, L. and Martinez Palacios, C.A., 1998.** Effect of the use of the microalgae *Spirulina maxima* as fish meal replacement in diets for tilapia, *oreochromis mossambicus* (peters), fry. Aquaculture research. Vol. 29, pp: 709-715.

۲۷. **Oujifard, A.; Seyfabadi, J.; Kenari, A.A. and Rezaei, M., 2012.** Fish meal replacement with rice protein concentrate in a practical diet for the Pacific white shrimp, ***Litopenaeus*** *vannamei*. Aquaculture International. Vol. 20, No. 1, pp: 117-129.

۲۸. **Palmegiano G.B.; Agradi, E., Forneris, G., Gai, F.; Gasco, L., Rigamonti, E.; Sicuro, B. and Zoccarato, I., 2005.** *Spirulina* as a nutrient source in diets for growing sturgeon. Aquaculture Research. Vol. 36, pp: 188-195.

۲۹. **Palmegiano G.B.; Gai, F.; Daprà, F.; Gasco, L.; Pazzaglia, M. and Peiretti, P.G., 2008.** Effects of *Spirulina* and plant oil on the growth and lipid traits of white sturgeon fingerlings. Aquaculture Research. Vol. 39, pp: 587-595.

۳۰. **Priyadarshani, I. and Rath, B., 2012.** Commercial and industrial applications of micro algae – A review. Journal of Algal Biomass Utilization. Vol. 3, No. 4, pp: 89-10.

۳۱. **Promya, J. and Chitmanat, C., 2011.** The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). International J of **a**griculture and biology. Vol. 13, pp: 77-82.

۳۲. **Radhakrishnan, S.; Saravana Bhavan, P.; Seenivasan, C.; Shanthi, R. and Muralisankar, T., 2014.** Replacement of fishmeal with *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Azolla pinnata* on non-enzymatic and enzymatic antioxidant activities of *Macrobrachium rosenbergii*. The Journal of Basic & Applied Zoology. Article in press.

۳۳. **Rahimnejad, S.; Park, H.G. and Lee, S.M., 2016.** effects of dietary inclusion of chlorella vulgaris on growth, blood biochemical parameters, and antioxidant enzyme activity in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of the World Aquaculture Society**.**

۳۴. **Shi, X.; Luo, Z.; Chen, F.; Wei1, C.C.; Wu, 1.C.; Zhu, X.M. and Liu, X., 2016.** Effect of fish meal replacement by *Chlorella* meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes' expression for crucian carp *Carassius auratus*. Aquaculture Research. pp: 1-13.

۳۵. **Spolaore, P.; Joannis Cassan, C.; Duran, E. and Isambert, A., 2006.** Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol. 101, No. 2, pp: 87-96.

۳۶. **Tacon, A.G.J.; Hasan, M.R. and Metian, M., 2011.** Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. Food and Agriculture Organization, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 564, Rome.

۳۷. **Xu, W.; Gao, Z.; Qi, Z.; Qiu, Z.; Peng, J.Q. and Shao, R., 2014.** Effect of Dietary *Chlorella* on the Growth Performance and Physiological Parameters of Gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 14, pp: 53-57.