



تأثیر تغذیه با سطوح مختلف *Spirulina platensis* بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه صدف دوکفه‌ای آب شیرین (*Anodonta cygnea*)

فاطمه مصطفائی^۱، حمید علاف نویریان^۲، بهرام فلاحتکار^{۳*}، نادر شعبانی پور^۴

DOI: 10.22124/japb.2023.24701.1500

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۲

چکیده

مطالعه حاضر، به منظور بررسی اثر سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر عملکرد رشد و ترکیبات لاشه صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) انجام پذیرفت. این صدف از منطقه سلکه تالاب انزلی صید و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. پس از سازگاری، ۷۲ عدد صدف (۶ عدد به ازای هر تکرار) با میانگین وزنی $55/80 \pm 3/26$ گرم بین ۱۲ عدد مخزن پلاستیکی سه لیتری آبیگیری شده با آب چاه توزیع شد. صدف‌ها طی ۱۶ هفته با چهار جیره غذایی مختلف شامل C: شاهد (آب سبز تولید شده با آب چاه)، T1: ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا، T2: ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا و T3: ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا تغذیه شدند. طی دوره تغذیه، دمای آب معادل $17/5 \pm 0/45$ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. پس از سپری شدن ۸ و ۱۶ هفته، سه عدد از صدف‌های هر مخزن (تکرار) برای بررسی ترکیبات لاشه شامل پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر جمع‌آوری شد. بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد مشاهده نشد ($P > 0/05$). بررسی ترکیبات تقریبی لاشه در هفته ۸ نشان داد که درصد پروتئین در ابتدای آزمایش به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار T2 و T3 بود ($P < 0/05$). بین مقادیر چربی و خاکستر در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان رطوبت نیز در تیمار شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$). همچنین، پس از اتمام دوره (۱۶ هفته) تغذیه، مقادیر پروتئین، چربی، ماده خشک و خاکستر، به طور معنی‌داری بالاتر از زمان آغاز آزمایش بود ($P < 0/05$). در مجموع، با توجه به نتایج به دست آمده، به دلیل اثرگذاری بر افزایش میزان پروتئین لاشه، مصرف جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی صدف آنودونت توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: پروتئین، چربی، زیست‌سنجی، رطوبت، ریزجلبک.

- ۱- کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۳- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
- ۴- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

یکی از بزرگ‌ترین و شناخته‌شده‌ترین رده‌های نرم‌تنان، جزء گونه‌های ایده‌آل در سیستم‌های آبزی پروری هستند، زیرا پرورش آنها به غذای فرموله و دستی متکی نیست و هزینه تولید در آنها نسبت به گونه‌های گوشتخوار ماهیان به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر است. با وجود این که ذخایر بسیاری از آنها در آب‌های راکد بویژه تالاب‌ها در حال کاهش است، توجه کمتری به این حوزه اختصاص یافته است که از جمله دلایل آن نیازمندی‌ها در جهت دستیابی به استانداردهای بهداشتی برای راهیابی به بازارهای فروش بین‌المللی، پیچیدگی‌ها در دسترسی به صدفچه و آگاهی اندک از نیازهای غذایی و سیستم‌های پرورشی در راستای تولید آنها است (Vakily et al., 1992; FAO, 2022).

دوکفه‌ای آب شیرین، آنودونت، *Anodonta cygnea* در طول سال از شاخه‌های جلبکی سبز، دیاتومه‌ها و سیانوفیتا بیش از شاخه‌های دیگر تغذیه می‌کند. این صدف، فیتوپلانکتون‌های بسیار ریز را فیلتر می‌کند و باعث کاهش جمعیت فیتوپلانکتون‌ها و افزایش شفافیت آب برای استفاده گیاهان، بی‌مهرگان، ماهیان و پرندگان می‌شود. بنابراین، ریزجلبک‌ها منبع تغذیه‌ای اصلی برای بسیاری از گونه‌های

آبزیان منابع پایدار تامین پروتئین با منشا جانوری هستند و تنوع زیستی آنها مزایای تغذیه‌ای متعددی را برای انسان فراهم می‌سازد (Hallstrom et al., 2019). با توجه به آمارهای ارائه شده، سرانه مصرف غذاهای دریایی از ۰/۹ کیلوگرم در سال ۱۹۶۱ به ۲۰/۲ کیلوگرم در سال ۲۰۲۰ افزایش یافته است (FAO, 2022). طی سه دهه گذشته، تولید آبزیان از طریق آبزی‌پروری با رشدی بالغ بر ۶/۷ درصد در سال روبه‌رو بوده است و در حال حاضر حدود نیمی از تمام غذاهای دریایی برای مصرف انسان پرورش داده می‌شود (Edwards et al., 2019; FAO, 2022). غذاهای دریایی نزدیک به ۲۰ درصد پروتئین جانوری را تامین می‌کنند و منبع غنی ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب امگا ۳ به شمار می‌روند که برای حفظ سلامتی انسان ضروری هستند (Bene et al., 2016; Golden et al., 2015).

امروزه، ۴۶۰ گونه آبزی شامل انواع جلبک‌ها و گیاهان دریایی، نرم‌تنان و ماهیان در محیط‌های آب شیرین و دریایی، با استفاده از طیف گسترده‌ای از فناوری‌ها پرورش داده می‌شوند (Troell et al., 2014; Tacon, 2020). در این بین، دوکفه‌ای‌ها به عنوان

سلول‌های اسپیرولینا قادر به تامین تمامی اسیدهای آمینه ضروری برای انسان و جانوران هستند. این ریزجلبک ایمنی را بهبود می‌بخشد و به عنوان افزودنی در جیره آبزیان به صورت پودر و یا غذای زنده باعث افزایش رشد، قابلیت جذب غذا، کیفیت بیوشیمیایی لاشه و پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به استرس و بیماری‌ها در گونه‌های مختلف آبزیان می‌شود و در پزشکی و صنایع دارویی، کشاورزی و حتی تولید بیودیزل نیز کاربرد فراوانی دارد (Plaza et al., 2010).

نتایج مطالعات در زمینه تغذیه دوکفه‌ای‌ها با گونه‌های جلبکی حاکی از افزایش عملکرد رشد و تغذیه آنها بوده است. برای مثال، طی پژوهشی، تغذیه ماسل دریایی *Mytilus galloprovincialis* با جیره حاوی ترکیبی از جلبک‌های *Schizochytrium* sp. و *S. platensis* سبب افزایش رشد آن شد (Langdon and Onal, 1999). همکاران (۲۰۱۵) نیز دریافتند که استفاده از جلبک اسپیرولینا در تغذیه کلم اقیانوس آرام (*Panopea generosa*) سبب افزایش معنی‌دار رشد و ترکیبات اسید چرب می‌شود. در ارتباط با صدف آنودونت، مطالعات بیشتر بر روی اثرات زیست‌محیطی جلبک‌ها و زیست‌شناسی

آبزی، بویژه صدف آنودونت هستند (Kiibus and Kautsky, 1996; Vaughn et al., 2008).

اسپیرولینا (*Spirulina*) یک ریزجلبک سبز-آبی، پرسلولی و مارپیچی شکل است. تنوع گونه‌های اسپیرولینا محدود است که از این بین، دو گونه *Spirulina platensis* و *Spirulina maxima* از اهمیت بیشتری برخوردار هستند (Ronquillo et al., 2006). *S. platensis* دارای ترکیبات فعال زیستی متعددی است که می‌تواند برای استفاده تجاری به کار رود (Priyadarshani and Rath, 2012). *S. platensis* حاوی ۷۱ درصد پروتئین است و ترکیبات مغذی دیگری مانند کاروتنوئید، ویتامین‌های گروه B، ویتامین E، مس، منگنز، منیزیم، آهن، سلنیوم، روی و اسیدهای چرب ضروری را دربرمی‌گیرد (Vidhya et al., 2014). این ریزجلبک دیواره سلولی نازکی (۵۰ نانومتر) دارد که شامل ۸۰ درصد پکتین و ۲۰ درصد سلولز است، بنابراین هضم آن آسان است (Lu and Takeuchi, 2002) و به دلیل داشتن مقادیر بالایی از پروتئین به عنوان یک منبع پروتئینی فاقد کلسترول با چربی و کالری پایین شناخته شده است. به طور کلی، عنوان شده است که

و برای بررسی‌های بعدی به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریای دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان انتقال داده شدند.

سازگاری صدف با محیط آزمایشگاه

تمامی صدف‌ها در یک مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با حجم آبیگری ۴۵۰ لیتر با استفاده از آب چاه به صورت راکد به مدت یک هفته نگهداری شدند تا با شرایط آزمایشگاهی سازگاری یابند. مخازن با استفاده از پمپ هواده (Hailae، چین) هواده‌ی شدند. هواده‌ی از کف هر مخزن انجام شد. سیستم خروجی به نحوی طراحی شد که حجم و ارتفاع آب در تمام مخازن یکسان و قابل کنترل باشد. دوره نوری در زمان انجام آزمایش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. ضمناً سه‌چهارم آب مخازن به صورت هفتگی سیفون و تعویض می‌شد. غذاده‌ی در این مرحله به صورت روزانه و با مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) به میزان ۳ درصد از وزن بدن، روزانه دو بار در ساعت‌های ۸ صبح و ۸ شب صورت گرفت. شفافیت آب پس از غذاده‌ی نشان دهنده مصرف مخمر توسط آنودونت بود.

تغذیه‌ای این گونه متمرکز بوده‌اند. از این رو، مطالعه حاضر به بررسی تاثیر تغذیه مقادیر مختلف *S. platensis* بر شاخص‌های رشد و ترکیبات لاشه آنودونت می‌پردازد. دستیابی به جیره مطلوب با استفاده اسپیرولینا در رژیم غذایی آنودونت، استفاده از پودر خشک اسپیرولینا در شرایط کنترل شده (پرورشی) و گسترش آبی‌پروری و احیای ذخایر آنودونت از طریق جیره غذایی مناسب مانند اسپیرولینا از اهداف این مطالعه است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و انتقال

به منظور انجام آزمایش، در آذر ماه سال ۱۴۰۰، ۸۰ عدد آنودونت (*Anodonta cygnea*) با میانگین وزنی $54/50 \pm 3/64$ گرم به طور تصادفی از منطقه سلکه تالاب انزلی (۳۷°۲۳'۳۶/۹"N و ۴۹°۲۷'۱۱/۰"E) توسط صیادان منطقه صید شدند. بدین صورت که مقداری از بستر تالاب برداشته شد و سپس صدف‌ها جمع‌آوری شدند. برای حمل آسان و حفظ رطوبت و زنده‌مانی، صدف‌ها درون پلاستیک‌های حاوی آب و اکسیژن قرار گرفتند

طرح آزمایش

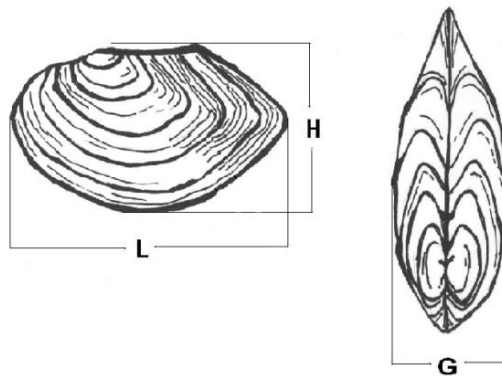
دیجیتال، Consort، بلژیک) به صورت روزانه کنترل و ثبت شد. بر این اساس، در طول دوره آزمایش محدوده pH، دما و اکسیژن به ترتیب $۸/۰۳ \pm ۰/۰۴$ ، $۱۷/۵۱ \pm ۰/۴۵$ درجه سانتی‌گراد و $۸/۱۰ \pm ۰/۶۰$ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد.

نحوه تولید آب سبز

به منظور تولید آب سبز، دو عدد برگ متوسط سالم و شسته نشده کاهو درون آکواریوم ۱۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۷۵ لیتر (آب چاه) زیر نور قرار داده شد. آکواریوم با لامپ‌های ۳۶ وات سفید و زرد هر کدام یک عدد به صورت ۲۴ ساعته نوردهی شد. دما در طول دوره بین ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد بود. انواع مختلف فیتوپلانکتون در مدت ۷ روز در آکواریوم کشت آب سبز شکوفا شدند.

در این آزمایش، از ۱۲ مخزن استوانه‌ای ۳ لیتری با حجم آبگیری ۲/۵ لیتر در محیط سرپوشیده آزمایشگاهی استفاده شد. بعد از انجام عملیات زیست‌سنجی شامل اندازه‌گیری وزن، طول، عرض و ارتفاع، ۷۲ عدد آنودونت با میانگین وزن کل $۵۵/۸۰ \pm ۳/۲۶$ گرم، طول کل $۵/۱۸ \pm ۰/۱۲$ سانتی‌متر، عرض کل $۸/۴۲ \pm ۰/۱۹$ سانتی‌متر و ارتفاع کل $۲/۶۸ \pm ۰/۰۷$ سانتی‌متر، به طور تصادفی جمع‌آوری، شماره‌گذاری و در ۱۲ مخزن با تراکم ۶ عدد صدف در هر مخزن توزیع شد. نحوه زیست‌سنجی در شکل ۱ نشان داده شده است.

در طول دوره آزمایش، ویژگی‌های فیزیوشیمیایی آب مانند دما (با دماسنج جیوه‌ای)، pH و اکسیژن محلول (با مولتی‌متر



شکل ۱: نحوه زیست‌سنجی آنودونت. L: طول. H: عرض. G: ارتفاع (Chojnacki et al., 2007)

اسپیروولینا؛ تیمار سوم (T3): تغذیه با ۱۰۰ میلی لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی لیتر.

سنجش شاخص های رشد

زیست سنجی صدفها در طول دوره پرورش، هر دو هفته یکبار انجام گرفت. بدین صورت که تمامی صدفها در هر تکرار صید و از نظر وزن، طول، عرض و ارتفاع با استفاده از کولیس با دقت $0/1$ میلی متر و ترازوی دیجیتال با دقت $0/01$ گرم بررسی شدند. برای بررسی و مقایسه نرخ رشد بین تیمارها از شاخص های وزن به دست آمده (WG)، نرخ رشد مطلق (AGR)، نرخ رشد نسبی (RGR) و نرخ رشد ویژه (SGR) بر اساس رابطه های ۱ تا ۴ استفاده شد (Chen et al., 2021).

رابطه ۱:

$$WG(g) = W_2 - W_1$$

W_1 : وزن اولیه (گرم)؛ W_2 : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$AGR(g/day) = (W_2 - W_1) / t$$

W_1 : وزن اولیه (گرم)؛ W_2 : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۳:

$$RGR(\%) = [(W_2 - W_1) / W_1] \times \Delta t \times 100$$

شناسایی گونه های فیتوپلانکتون بر اساس ویژگی های ریختی مانند نوع رنگدانه (سبز، قرمز یا قهوه ای)، تحرک، ساختار سلولی (تک سلولی و پرسلولی) و تشکیل پرگنده با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon, Optiphota-2)، ژاپن) انجام گرفت (Islam et al., 2017).

نحوه آماده سازی سوسپانسیون اسپیرولینا

پودر خشک و خالص اسپیرولینا از شرکت گیل فوکا (رشت، ایران) خریداری شد. برای تغذیه صدفها، ۳ گرم از پودر اسپیرولینا توزین و در یک لیتر آب شیرین حل شد. پس از شمارش سلولی توسط لام نئوبار، مقدار مورد نیاز از محلول به دست آمده به تیمارها اضافه شد.

تیمارها

طول مدت آزمایش ۱۶ هفته بود که در چهار گروه آزمایشی هر یک در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای تغذیه ای به شرح زیر برنامه ریزی شدند: تیمار شاهد (C): تغذیه با آب سبز تولید شده با آب چاه، با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی لیتر؛ تیمار اول (T1): تغذیه با ۷۰ درصد آب سبز به همراه ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا؛ تیمار دوم (T2): تغذیه با ۴۰ درصد آب سبز به همراه ۶۰ درصد محلول پودر جلبک

تغذیه از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) و برای شاخص‌های رشد از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) استفاده شد. تمامی داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (IBM، آمریکا) مورد بررسی قرار گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 رسم شد.

نتایج

شناسایی و محاسبه تعداد سلول‌های جلبکی

نتایج بررسی‌ها برای شناسایی جنس، گونه و تعداد سلول‌های جلبکی در نمونه‌های استوک و آب مخازن پرورشی پس از اتمام دوره تغذیه صدف آنودونت در هر یک از تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ آمده است. بر این اساس، در استوک آب سبز، چهار گونه جلبکی مختلف شناسایی شد که بیشترین میزان سلول مربوط به جلبک *Spirulina sp.* بود و در استوک اسپیرولینا، گونه غالب *S. platensis* شناسایی شد.

بررسی شاخص‌های رشد در ۸ هفته ابتدایی

نتایج بررسی شاخص‌های رشد صدف آنودونت طی ۸ هفته تغذیه در جدول ۲ آمده

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ Δt : طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۴:

$$SGR (\%/day) = [(LnW_2 - LnW_1) / t] \times 100$$

W_1 : وزن اولیه (گرم)؛ W_2 : وزن نهایی (گرم)؛ t : طول دوره پرورش (روز).

بررسی تقریبی ترکیبات لاشه

بررسی شاخص‌های ترکیب لاشه شامل پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر، ماده خشک بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) انجام شد. برای بررسی تغییرات ترکیب لاشه در لحظه صفر، پیش از شروع پژوهش ۳ عدد صدف و پس از سپری شدن ۸ و ۱۶ هفته از دوره تغذیه نیز ۳ نمونه از هر تکرار صید شد و پس از قرارگیری در مخازن حاوی یخ برای بیهوشی (Mele et al., 2023) به فریزر -۲۱ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها بر حسب میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شدند. برای کنترل نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد. به منظور مقایسه داده‌های بررسی تقریبی لاشه گروه‌های آزمایشی، قبل و پس از دوره

است. بر این اساس، پس از اتمام هفته هشتم تغذیه، اختلاف معنی‌داری در هیچ کدام از شاخص‌ها شامل وزن نهایی، طول نهایی، عرض نهایی، ارتفاع نهایی، وزن به دست آمده، نرخ رشد مطلق، نرخ رشد نسبی و نرخ رشد ویژه مشاهده نشد ($P > 0.05$).
 بررسی شاخص‌های رشد پس از ۱۶ هفته نتایج بررسی شاخص‌های رشد صدف آندونت طی ۱۶ هفته تغذیه در جدول ۳ آمده است. بر این اساس، پس از اتمام هفته شانزدهم تغذیه، اختلاف معنی‌داری در هیچ کدام از شاخص‌های رشد مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۱: تعداد سلول‌های بررسی شده در استوک‌های جلبکی و مخازن آزمایشی

تعداد سلول‌ها (در میلی‌لیتر)						گونه‌ها
نمونه آب مخازن پرورشی پس از اتمام تغذیه			در استوک و قبل از آغاز تغذیه			
T3	T2	T1	C	اسپیرولینا	آب سبز	
-	-	-	-	-	4×10^5	<i>Scenedesmus acuminatum</i>
-	2×10^4	3×10^4	$1/5 \times 10^5$	-	3×10^5	<i>Scenedesmus sp.</i>
-	-	-	-	-	27×10^5	<i>Spirulina sp.</i>
-	-	-	-	-	3×10^5	<i>Monoraphidium sp.</i>
-	-	-	-	$4/5 \times 10^6$	-	<i>Spirulina platensis</i>
1×10^4	1×10^4	3×10^4	-	-	-	<i>Protozoa</i>

C: تیمار شاهد (تغذیه شده با آب سبز تولید شده با آب چاه با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر). T1: تغذیه شده با ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T2: تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T3: تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا به تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر.

جدول ۲: نتایج زیست‌سنجی و عملکرد شاخص‌های رشد صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) پس از اتمام دوره تغذیه ۸ هفته‌ای (میانگین \pm خطای استاندارد)

تیمارهای آزمایشی				شاخص‌ها
T3	T2	T1	C	
۵۵/۵۷ \pm ۳/۶۰	۵۵/۴۲ \pm ۳/۸۵	۵۵/۴۲ \pm ۳/۸۴	۵۵/۸۰ \pm ۳/۲۶	وزن اولیه (g)
۵۹/۱۸ \pm ۳/۶۳	۵۷/۶۳ \pm ۴/۴۴	۵۸/۲۸ \pm ۳/۳۷	۵۹/۴۰ \pm ۳/۴۵	وزن نهایی (g)
۸/۵۰ \pm ۰/۱۸	۸/۳۵ \pm ۰/۲۰	۸/۴۰ \pm ۰/۱۶	۸/۴۲ \pm ۰/۱۹	طول اولیه (cm)
۸/۷۰ \pm ۰/۱۶	۸/۶۸ \pm ۰/۱۹	۸/۶۲ \pm ۰/۱۶	۸/۶۳ \pm ۰/۱۷	طول نهایی (cm)
۵/۱۷ \pm ۰/۱۴	۵/۰۳ \pm ۰/۰۸	۵/۱۰ \pm ۰/۱۲	۵/۱۸ \pm ۰/۱۲	عرض اولیه (cm)
۵/۶۲ \pm ۰/۱۲	۵/۴۰ \pm ۰/۱۲	۵/۵۰ \pm ۰/۱۲	۵/۴۰ \pm ۰/۱۵	عرض نهایی (cm)
۲/۱۷ \pm ۰/۰۸	۲/۰۳ \pm ۰/۱۱	۲/۱۰ \pm ۰/۰۸	۲/۶۸ \pm ۰/۰۷	ارتفاع اولیه (cm)
۲/۹۸ \pm ۰/۰۷	۳/۰۰ \pm ۰/۱۲	۳/۰۰ \pm ۰/۰۷	۲/۹۵ \pm ۰/۰۹	ارتفاع نهایی (cm)
۳/۶۲ \pm ۰/۴۵	۲/۲۲ \pm ۰/۶۴	۲/۸۷ \pm ۰/۷۲	۳/۶۰ \pm ۰/۵۳	وزن به دست آمده (g)
۰/۰۶ \pm ۰/۰۱	۰/۰۴ \pm ۰/۰۱	۰/۰۵ \pm ۰/۰۱	۰/۰۶ \pm ۰/۰۱	نرخ رشد مطلق (g/Day)
۶/۶۴ \pm ۰/۹۲	۳/۶۹ \pm ۱/۰۳	۵/۷۲ \pm ۱/۹۰	۶/۴۵ \pm ۰/۹۶	نرخ رشد نسبی (%)
۰/۱۱ \pm ۰/۰۲	۰/۰۶ \pm ۰/۰۲	۰/۱۰ \pm ۰/۰۳	۰/۱۱ \pm ۰/۰۲	نرخ رشد ویژه (%/Day)

اختلاف معنی‌داری در هیچ یک از شاخص‌ها بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$). تیمار شاهد (تغذیه شده با آب سبز تولید شده با آب چاه با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر). T1: تغذیه شده با ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T2: تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T3: تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا به تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر.

جدول ۳: نتایج زیست‌سنجی و عملکرد شاخص‌های رشد صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) پس از اتمام دوره تغذیه ۱۶ هفته‌ای (میانگین \pm خطای استاندارد)

تیمارهای آزمایشی				شاخص‌ها
T3	T2	T1	C	
۵۵/۵۷ \pm ۳/۶۰	۵۵/۴۲ \pm ۳/۸۵	۵۵/۴۲ \pm ۳/۸۴	۵۵/۸۰ \pm ۳/۲۶	وزن اولیه (g)
۶۱/۱۵ \pm ۲/۶۸	۵۹/۰۴ \pm ۳/۸۹	۵۹/۷۷ \pm ۳/۱۲	۶۱/۲۲ \pm ۲/۸۵	وزن نهایی (g)
۸/۵۰ \pm ۰/۱۸	۸/۳۵ \pm ۰/۲۰	۸/۴۰ \pm ۰/۱۶	۸/۴۲ \pm ۰/۱۹	طول اولیه (cm)
۹/۱۷ \pm ۰/۱۰	۸/۹۲ \pm ۰/۲۰	۹/۰۲ \pm ۰/۱۸	۹/۱۰ \pm ۰/۱۲	طول نهایی (cm)
۵/۱۷ \pm ۰/۱۴	۵/۰۳ \pm ۰/۰۸	۵/۱۰ \pm ۰/۱۲	۵/۱۸ \pm ۰/۱۲	عرض اولیه (cm)
۵/۷۷ \pm ۰/۱۲	۵/۷۲ \pm ۰/۰۷	۵/۷۸ \pm ۰/۱۰	۵/۷۳ \pm ۰/۱۴	عرض نهایی (cm)
۲/۱۷ \pm ۰/۰۸	۲/۰۳ \pm ۰/۱۱	۲/۱۰ \pm ۰/۰۸	۲/۶۸ \pm ۰/۰۷	ارتفاع اولیه (cm)
۳/۰۵ \pm ۰/۰۶	۳/۰۸ \pm ۰/۱۲	۳/۰۵ \pm ۰/۰۶	۳/۰۵ \pm ۰/۰۸	ارتفاع نهایی (cm)
۵/۵۸ \pm ۱/۰۸	۳/۶۲ \pm ۰/۴۰	۴/۳۵ \pm ۱/۰۰	۵/۴۲ \pm ۰/۷۵	وزن به دست آمده (g)
۰/۰۵ \pm ۰/۰۱	۰/۰۴ \pm ۰/۰۰	۰/۰۴ \pm ۰/۰۱	۰/۰۵ \pm ۰/۰۱	نرخ رشد مطلق (g/Day)
۸/۶۴ \pm ۱/۴۷	۸/۳۱ \pm ۱/۱۳	۷/۳۴ \pm ۱/۲۸	۱۰/۶۵ \pm ۱/۱۵	نرخ رشد نسبی (%)
۰/۰۹ \pm ۰/۰۲	۰/۰۶ \pm ۰/۰۱	۰/۰۷ \pm ۰/۰۲	۰/۰۹ \pm ۰/۰۲	نرخ رشد ویژه (%/Day)

اختلاف معنی‌داری در هیچ یک از شاخص‌ها بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$). تیمار شاهد (تغذیه شده با آب سبز تولید شده با آب چاه با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر). T1: تغذیه شده با ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T2: تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T3: تغذیه شده با 100 میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا به تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر.

بررسی ترکیب تقریبی لاشه

ترتیب در جدول‌های ۴ و ۵ به نمایش درآمده است. مقایسه مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در ابتدا و انتهای آزمایش بود که نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف بود

نتایج بررسی ترکیبات تقریبی لاشه صدف آنودونت پس از ۸ و ۱۶ هفته تغذیه با آب سبز تولید شده با آب چاه و محلول پودر جلبک اسپیرولینا در مقادیر و تیمارهای مختلف به

($P < 0.05$). پس از سپری شدن ۸ هفته از دوره آزمایش، درصد پروتئین در ابتدای آزمایش به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار ۲ و ۳ بوده و درصد رطوبت در ابتدای آزمایش، به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0.05$). بین مقادیر چربی و خاکستر در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). پس از تغذیه، میزان رطوبت نیز در تیمار شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر گزارش شد ($P < 0.05$) و بین تیمارهای T1، T2 و T3 اختلاف معنی‌داری از نظر محتوای رطوبت قابل مشاهده نبود ($P > 0.05$). همچنین، اختلافی در میزان پروتئین پس از تغذیه با آب سبز و اسپیرولینا مشاهده نشد ($P > 0.05$). در بررسی مقادیر ترکیبات تقریبی لاشه پس از ۱۶ هفته و اتمام دوره تغذیه، مقادیر پروتئین، چربی، ماده خشک و خاکستر، پیش از آغاز آزمایش به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای تغذیه‌ای بود ($P < 0.05$) و میزان رطوبت پیش از شروع آزمایش، به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای دیگر گزارش شد ($P < 0.05$).

جدول ۴: ترکیب تقریبی لاشه صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) پس از سپری شدن ۸ هفته از دوره تغذیه (میانگین \pm خطای استاندارد)

شاخص‌ها	تیمارهای آزمایشی				
	T3	T2	T1	C	P
رطوبت (درصد)	۸۴/۱۷ \pm ۰/۶۳ ^b	۸۴/۹۳ \pm ۰/۴۱ ^b	۸۳/۵۷ \pm ۰/۹۲ ^b	۸۰/۶۰ \pm ۰/۴۰ ^c	۸۸/۳۰ \pm ۰/۰۲ ^a
پروتئین خام (درصد)	۱۱/۸۳ \pm ۱/۰۷ ^a	۱۱/۰۰ \pm ۱/۲۹ ^a	۹/۸۷ \pm ۰/۶۰ ^{ab}	۹/۵۷ \pm ۱/۰۷ ^{ab}	۶/۱۶ \pm ۰/۱۸ ^b
چربی خام (درصد)	۱/۵۰ \pm ۰/۰۱	۱/۴۵ \pm ۰/۱۳	۱/۲۴ \pm ۰/۱۳	۱/۲۷ \pm ۰/۲۸	۱/۰۲ \pm ۰/۳۸
خاکستر (درصد)	۱/۳۶ \pm ۰/۲۵	۱/۱۸ \pm ۰/۲۱	۱/۲۲ \pm ۰/۳۲	۰/۹۶ \pm ۰/۲۱	۰/۶۸ \pm ۰/۰۱

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$).
 P: مقادیر شاخص‌های مختلف در شروع آزمایش. C: تیمار شاهد (تغذیه شده با آب سبز تولید شده با آب چاه با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر). T1: تغذیه شده با ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T2: تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T3: تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا به تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر.

جدول ۵: ترکیب تقریبی لاشه صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) پس از سپری شدن ۱۶ هفته دوره تغذیه (میانگین \pm خطای استاندارد).

تیمارهای آزمایشی					شاخص‌ها
T3	T2	T1	C	P	
۷۹/۲۷ \pm ۰/۶۳ ^{bc}	۸۰/۱۳ \pm ۰/۴۱ ^b	۷۶/۷۷ \pm ۰/۹۲ ^c	۷۲/۵۰ \pm ۰/۴۰ ^d	۸۸/۳۰ \pm ۰/۰۲ ^a	رطوبت (درصد)
۱۴/۷۳ \pm ۰/۶۲ ^a	۱۴/۳۷ \pm ۰/۴۵ ^a	۱۴/۲۳ \pm ۰/۵۸ ^a	۱۴/۸۰ \pm ۰/۰۶ ^a	۶/۱۶ \pm ۰/۱۸ ^b	پروتئین خام (درصد)
۴/۷۰ \pm ۰/۱۳ ^a	۴/۶۵ \pm ۰/۱۳ ^a	۴/۴۴ \pm ۰/۲۸ ^a	۴/۴۷ \pm ۰/۳۸ ^a	۱/۰۲ \pm ۰/۳۸ ^b	چربی خام (درصد)
۲/۵۶ \pm ۰/۲۴ ^a	۲/۳۸ \pm ۰/۲۱ ^a	۲/۴۲ \pm ۰/۳۲ ^a	۲/۱۶ \pm ۰/۲۱ ^a	۰/۶۸ \pm ۰/۰۱ ^b	خاکستر (درصد)

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$).
 P: مقادیر شاخص‌های مختلف در شروع آزمایش. C: تیمار شاهد (تغذیه شده با آب سبز تولید شده با آب چاه با تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر). T1: تغذیه شده با ۷۰ درصد آب سبز + ۳۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T2: تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد محلول پودر جلبک اسپیرولینا. T3: تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول پودر جلبک اسپیرولینا به تراکم $4/5 \times 10^6$ سلول در میلی‌لیتر.

بحث

مصرف بالای اسپیرولینا توسط صدف آنودونت

بود.

جیره آبزیان اکتباسی از مواد غذایی مورد استفاده آنها در طبیعت است. گفته می‌شود که در محیط طبیعی، صدف آنودونت عمدتاً از شاخه‌های مختلف جلبک سبز، دیاتومه‌ها و سیانوفیتا تغذیه می‌کند که در بردارنده جنس‌هایی مانند *Scenedesmus*، *Chlorella*، *Cyclotella* و *Spirulina* هستند (Salavatian et al., 2019). از طرفی هنگام تغذیه آنودونت، ذرات آب از طریق مژک‌ها به میان رشته‌های آبششی هدایت شده، برای هضم و جذب، جداسازی می‌شوند (Chen et al.,

در مطالعه حاضر، پودر خشک جلبک اسپیرولینا برای تغذیه صدف آنودونت به شکل کامل و ترکیب شده با آب سبز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، شناسایی و شمارش سلول‌های جلبکی در استوک آب سبز نشان‌دهنده چهار گونه مختلف بود که بیشترین میزان آن را *Spirulina* sp. و *Scenedesmus acuminatum* تشکیل داده بود. بررسی محتوای جلبکی آب مخازن پس از دوره تغذیه بیانگر عدم وجود جلبک اسپیرولینا در چهار تیمار مختلف بود. این امر احتمالاً به دلیل

است (Leonardos and Lucas, 2000; Brown and Robert, 2002; Gouda et al., 2006). در این مطالعه مشاهده شد که تغذیه با جیره‌های مختلف جلبکی اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد صدف آنودونت ایجاد نکرد، با این وجود نرخ رشد طی ۱۶ هفته تغذیه، روندی صعودی داشت. ترکیبات مغذی جیره می‌تواند تا حد زیادی بر میزان رشد دوکفه‌ای‌ها اثرگذار باشد (Carvalho et al., 2004). در مطالعه حاضر، یکی از دلایل عدم بروز اختلاف در شاخص‌های رشد میان تیمارهای غذایی، می‌تواند به علت ترکیبات مغذی نسبتاً برابر در جیره‌های مورد استفاده یعنی پودر جلبک اسپیرولینا و آب سبز حاوی گونه‌های مختلف جلبکی باشد. در مقابل، Yang و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که رشد اویستر مرواریدساز (*Pinctada fucata martensii*) با افزایش میزان پروتئین جیره، افزایش یافت و هنگامی که میزان پروتئین بالاتر یا پایین‌تر از حد بهینه بود، کاهش یافت. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده از افزایش سرعت رشد آنودونت با جیره‌هایی با پروتئین بالا شامل *Cyclotella sp.* و *Scenedesmus dimorphus* در پژوهش Chen و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد. از طرفی، به نظر می‌رسد که جلبک‌های موجود در

(2015). بنابراین، این صدف توسط گزینش غیرانتخابی از فیتوپلانکتون‌های بسیار ریز تغذیه می‌کند. یافته‌ها این پژوهش نیز نشان داد که گونه *S. platensis* به دلیل اندازه کوچک سلول (۸ میکرومتر) و ویژگی‌های بیوشیمیایی و مغذی مطلوب می‌تواند گزینه مناسبی برای تغذیه صدف آنودونت به عنوان یک گونه دوکفه‌ای مهم در تالاب انزلی باشد.

بجز توجه به فرآیند تولید ریزجلبک‌ها، این جیره‌ها باید نیازمندی‌های آنودونت جوان را برطرف سازند که به معنی فراهم کردن انرژی لازم برای فعالیت‌های متابولیکی و رشد است. نتایجی که از این مطالعات به دست می‌آید را می‌توان در شناسایی، انتخاب گونه و تراکم ریزجلبک در جیره دوکفه‌ای‌ها به کار برد.

ریزجلبک‌ها نسبت به مواد آلی هضم‌پذیری بیشتری دارند و از مواد مغذی بیشتری نسبت به جیره‌های قدیمی و رایج در تولید آنودونت برخوردار هستند (Prado et al., 2020). نتایج بسیاری از مطالعات بیانگر اثرات مثبت جیره‌های مبتنی بر ریزجلبک‌ها بر رشد و نمو دوکفه‌ای‌ها هستند (Packer et al., 2016; Chen et al., 2017). در این راستا، دستیابی به ترکیب بهینه‌ای از گونه‌های جلبکی در جیره دوکفه‌ای‌ها مورد توجه بسیاری از مطالعات بوده

۸/۲۵ سانتی متر و ۵۸/۰۳ گرم به دست آمد که تقریباً همسو با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر است. میانگین عرض پوسته بر اساس ارزیابی زیست‌سنجی صدف آنودونت در دریاچه‌ای واقع در کشور لهستان در نواحی مختلف برابر با ۷۰-۹۰ میلی‌متر گزارش شده است (Chojnacki et al., 2007). Bascinar و همکاران (۲۰۰۹) که مطالعه‌ای را در زمینه رشد و بازدهی گوشت آنودونت در دریاچه Cildir ترکیه انجام دادند، میانگین وزن کل را ۶۴/۸ گرم گزارش کردند.

پژوهشگران دریافته‌اند که استفاده از جیره حاوی ترکیبی از سه جلبک *Selenastrum*، *Chlorella* و *Cyanophyta* می‌تواند برطرف کننده نیاز غذایی و حفظ رشد طبیعی در صدف آنودونت باشد (Carvalho et al., 2004). با این حال، استفاده از ریزجلبک‌های *Chaetoceros*، *Skeletonema costatum*، *muelleri* و کنسانتره جلبکی به ترتیب در تغذیه *Ostrea edulis*، *Pinctada margaritifera* و *Pteria penguin* سبب افزایش معنی‌دار رشد شد (Rodhouse et al., 1983; Martinez-Fernandez and Southgate, 2007; Wassnig and Southgate, 2016). Zhu و همکاران (۲۰۰۶)

آب سبز و استوک اسپیرولینا به دلیل اندازه ریز و ساختار دیواره سلولی به طور یکسانی در طول دوره مورد تغذیه صدف آنودونت قرار گرفتند. به همین دلیل روند رشد در تمامی تیمارها یکسان بود. آنودونت‌ها قادر به تفکیک ذرات غذایی بر اساس ویژگی‌هایی مانند اندازه و شکل، ارزش غذایی و غشای سلولی هستند و تمایل بالایی به مصرف جلبک‌هایی با اندازه سلول بین ۲۰-۱۰ میکرون دارند (Espinosa et al., 2010). از آنجایی که جلبک‌های *Spirulina* و *Scenedesmus* از اندازه سلولی کوچکی برخوردار هستند (Guedes and Malcata, 2012) به راحتی در تمامی تیمارها مورد مصرف صدف آنودونت قرار گرفتند. البته نحوه عمل‌آوری ذرات معلق و بسیاری از مکانیسم‌های نهفته در این فرآیند در حال‌های از ابهام قرار دارد (Rosa et al., 2013).

بر اساس نتایج، وزن و طول نهایی پس از ۸ هفته تغذیه به ترتیب ۵۹/۰۴ گرم و ۸/۹۲ سانتی‌متر بود که با یافته‌های Allaf Noverian و همکاران (۲۰۲۲) در رابطه با اثر سطوح مختلف شوری بر آنودونت مطابقت داشت. بر طبق مطالعات انجام شده میانگین کل طول و وزن آنودونت تالاب انزلی در مطالعه Salavatian و همکاران (۲۰۱۹) به ترتیب

رشد و تغذیه آنودونت طی دوره پرورش دارند (Chen et al., 2021). طی یک بررسی، اثرات گونه‌های مختلف جلبکی شامل سیانوباکتری *Microcystis aeruginosa* و جلبک سبز *Scenedesmus obliquus* بر پتانسیل رشد و پاسخ‌های فیزیولوژیک ماسل *Anodonta woodiana* ارزیابی شد. نتایج نشان دهنده مصرف بالای جلبک *M. aeruginosa* و انرژی *S. obliquus* کسب شده از آن در مقایسه با *S. obliquus* بود (Liu et al., 2014).

مقادیر چربی، پروتئین و عناصر نادر در گونه‌های مختلف ریزجلبکی متفاوت است (Schulze et al., 2019; Shanmugam et al., 2020). در آبی‌پروری، جیره‌های ریزجلبکی سبب اثرگذاری بر ترکیبات مغذی، محتوای اسید چرب و عناصر نادر موجودات پرورشی می‌شوند (Katiyar and Arora, 2020) و می‌توانند بر رشد، نمو، نرخ بقا و محتوای مغذی بدن سخت‌پوستان و نرم‌تنان اثرگذار باشند (Xu et al., 2012; Da Costa et al., 2016). آنودونت‌ها، پروتئین، چربی، کربوهیدرات و ترکیبات دیگر را از پلانکتون‌ها به دست می‌آورند و آنها را برای ادامه حیات مصرف می‌کنند. ارزش غذایی گونه‌های جلبکی مختلف به عنوان جیره غذایی نرم‌تنان مورد مطالعه

نشان دادند که مصرف *Scenedesmus sp.* سبب افزایش نرخ رشد در *Hyriopsis cumingii* شد. Chen و همکاران (۲۰۱۹) نیز دریافتند که بیشترین نرخ رشد آنودونت *S. dimorphus* پس از تغذیه با *H. cumingii* رخ داد. مطالعاتی نیز بیانگر کارکرد بهتر جیره‌های مبتنی بر ترکیب ریزجلبکی نسبت به مصرف تک گونه‌ای هستند (Wong and Levinton, 2004; Gao et al., 2006). برای مثال، ماسل جوان *M. galloprovincialis* در معرض پودر خشک *Schizochytrium sp.* *S. platensis* (Sp) و *H. pluvialis* (SZ)، به صورت تک گونه و ترکیبی از آنها به همراه جلبک‌های زنده (*Isochrysis affinis galbana*) قرار گرفت. رشد ماسل پس از تغذیه با ترکیب جلبکی (۵۰:۵۰) از جلبک زنده و SZ:Sp به طور معنی‌داری بالاتر از تغذیه به طور کامل با جلبک زنده بود. البته بررسی تغذیه با ترکیبی از گونه‌های جلبکی نیازمند مطالعات بیشتری در آنودونت است (Langdon and Onal, 1999).

علت نتایج ضد و نقیض در مطالعات را می‌توان تفاوت در اندازه سلولی، ضخامت دیواره، ترکیبات مغذی و اسیدهای چرب ضروری ریزجلبک‌ها دانست که نقش مهمی در عملکرد

قرار گرفته است، اما پژوهش‌های اندکی بر نیازمندی‌های غذایی آنودونت‌های جوان متمرکز بوده‌اند (Stromgren and Cary, 1984).

در این پژوهش، یافته‌ها در ارتباط با محتوای پروتئین لاشه صدف آنودونت پس از اتمام دوره تغذیه‌ای در تیمار ۲ و ۳ (مقادیر بالای اسپیرولینا) بالاتر بود، اما مقادیر چربی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. ترکیبات جیره می‌توانند نقش اثرگذاری بر محتوای مواد مغذی بافت بدن موجودات مختلف از جمله دوکفه‌ای‌ها داشته باشند (Pettersen et al., 2010). به نظر می‌رسد که درصد بالای پروتئین جیره حاوی اسپیرولینا می‌تواند دلیلی بر بالاتر بودن محتوای پروتئین بدن صدف آنودونت باشد. در این رابطه، Chen و همکاران (۲۰۲۱) دریافته‌اند که مقادیر ترکیبات لاشه ماسل *H. cumingii* تحت تاثیر ترکیبات مغذی جلبک‌های مصرفی بود به نحوی که پروتئین لاشه در تیمارهای تغذیه شده با *Cyclotella* sp. و *Scenedesmus dimorphus* بالا و پس از تغذیه با *Monoraphidium contortum* کاهش یافت. علاوه بر این، ترکیبات بدن آنودونت شامل پروتئین، گلیکوژن و چربی تحت تاثیر زیستگاه، فصول مختلف و دسترسی و تمایل به غذا متفاوت است. برای مثال، محتوای گلیکوژن در

Mytilus edulis در انتهای تابستان و پاییز به بالاترین میزان خود رسید و در زمستان کاهش یافت. این در حالی است که میزان پروتئین بافت در طول زمستان افزایش یافت. زمانی که تغذیه متوقف شد، پروتئین و گلیکوژن کاهش یافتند اما چربی و اسیدهای چرب ضروری در سطح بهینه‌ای در بافت ثابت ماندند (Pleissner et al., 2012).

این مطالعه نشان داد که درصد رطوبت بدن صدف آنودونت در ابتدای آزمایش، به طور معنی‌داری بالاتر از پایان دوره تغذیه بود و پس از اتمام دوره تغذیه نیز در تیمار شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود. در مطالعه‌ای، ترکیبات بدن ماسل *H. cumingii* پس از تغذیه با جلبک‌ها به شکل تکی یا ترکیبی با یکدیگر بررسی شد. بر اساس نتایج، مصرف *S. dimorphus* و *M. contortum* اختلاف معنی‌داری در چربی و رطوبت ایجاد نکرد و رشد با محتویات رطوبت همبستگی منفی داشت، بدین معنی که با افزایش وزن در صدف محتوای رطوبت کاهش یافت (Chen et al., 2021). در مطالعه حاضر نیز بین مقادیر رطوبت و چربی بافت صدف آنودونت در شاهد (آب سبز حاوی گونه‌های مختلف از جمله *Scenedesmus* sp.) و گروه‌های تغذیه‌ای حاوی مقادیر مختلف

جلبک اسپیرولینا) و T3 (تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون پودر جلبک اسپیرولینا) در بافت صدف آنودونت باشد.

در مجموع، در مطالعه حاضر اثر تغذیه صدف آنودونت با ریزجلبک اسپیرولینا و آب سبز در تراکم مشخص بر شاخص‌های رشد و ترکیبات بدن مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت. پس از پایان تغذیه مشاهده شد که صدف آنودونت قادر به مصرف ریزجلبک اسپروولینا بود، به نحوی که نرخ رشد طی ۱۶ هفته افزایش یافت و دلیل آن اندازه کوچک و ضخامت اندک دیواره سلولی بود که به راحتی توسط صدف مورد تغذیه و مصرف قرار گرفت. اگرچه بین سطوح مختلف اسپیرولینا و آب سبز در جیره صدف آنودونت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، نتایج نشان داد که با افزایش مقادیر اسپیرولینا به جای آب سبز در جیره، درصد پروتئین لاشه آنودونت نسبت به تیمار شاهد و مقادیر ثبت شده پیش از شروع تغذیه افزایش یافت. از این رو، میزان پروتئین لاشه به دلیل بالا رفتن میزان جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی صدف آنودونت مورد قبول واقع می‌شود. بنابراین، مصرف پودر خشک جلبک اسپیرولینا به تنهایی در جیره غذایی صدف آنودونت برای افزایش کیفیت لاشه و دستیابی به رشد بهینه توصیه می‌شود و می‌توان از این

اسپیرولینا اختلافی وجود نداشت که همسو با مطالعه یاد شده است. همچنین، در مطالعه Allaf Noverian و همکاران (۲۰۲۲) مبنی بر تاثیر سطوح مختلف شوری بر رشد و بقای آنودونت تالاب انزلی، پس از گذشت ۸ هفته بین مقادیر پروتئین، چربی و رطوبت قبل و پس از آزمایش اختلافی مشاهده نشد.

به طور کلی، جیره‌های جلبکی مناسب برای دوکفه‌ای‌ها باید اندازه و ریخت‌شناسی مناسبی داشته باشند تا در آبشش فیلترکنندگان باقی بمانند، هضم‌پذیری بالایی داشته باشند، ترکیبات مغذی آنها تمامی نیازهای غذایی را پوشش دهد، مسمومیت ایجاد نکنند و سبب افزایش رشد موجودات شوند (Laing and Millican, 1992). تمامی این موارد بیانگر تفاوت در محتوای تغذیه‌ای گونه‌های مختلف جلبکی است و پاسخ فیزیولوژیکی متفاوتی را در دوکفه‌ای‌ها ایجاد می‌کند (Tremblay et al., 2007; Gonzalez-Araya et al., 2013). جلبک اسپیرولینا حاوی ۷۰-۶۰ درصد پروتئین در ماده خشک خود است که ارزش زیستی بالایی دارد (Holman and Malau-Aduli, 2013) و می‌تواند دلیلی برای افزایش درصد پروتئین در تیمارهای T2 (تغذیه شده با ۴۰ درصد آب سبز + ۶۰ درصد سوسپانسیون پودر

جیره برای گسترش تولیدات صدف آنودونت به عنوان گونه‌ای مهم از نظر اکولوژی و آبی‌پروری در تالاب انزلی تحت شرایط کنترل شده بهره برد.

پایه دانشگاه گیلان استفاده شد و از این رو از همکاری مدیریت و کارکنان آن دانشکده تشکر و قدردانی می‌شود.

تشکر و قدردانی

در این پژوهش از امکانات کارگاهی و آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم

منابع

- Allaf Noverian H., Moosapour M. and Moloodi Siahmazgi S.M. 2022.** The effect of different salinity on growth performance, survival and environmental shock on Anzali wetland freshwater mussel (*Anodonta cygnea*). *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 9(4): 21–34. doi: 10.22124/JAPB.2021.17990.1399
- AOAC. 2005.** Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists. Association of Official Agricultural Chemists, USA. P: 24–39.
- Arney B., Liu W., Forster I.P., McKinley R.S. and Pearce C.M. 2015.** Feasibility of dietary substitution of live microalgae with spray-dried *Schizochytrium* sp. or *Spirulina* in the hatchery culture of juveniles of the Pacific geoduck clam (*Panopea generosa*). *Aquaculture*, 444: 117–133. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.014
- Bascinar N.S., Duzgunes E., Misir D.S., Polat H. and Zengin B. 2009.** Growth and flesh yield of the swan mussel [*Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758)] (Bivalvia: Unionidae) in Lake Cildir (Kars, Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 127–132. doi: 10.4194/trjfas.2009.0201
- Bene C., Barange M., Subasinghe R., Pinstруп-Andersen P., Merino G., Hemre G.I. and Williams M. 2015.** Feeding 9 billion by 2050-Putting fish back on the menu. *Food Security*, 7: 261–274. doi: 10.1007/s12571-015-0427-z
- Brown M. and Robert R. 2002.** Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 207: 289–309. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00742-6
- Carvalho F., Lima P., Goncalves F., Russel-Pinto F. and Machado J. 2004.** Development of suitable maintenance diet for *Anodonta cygnea*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35: 189–198. doi: 10.1111/j.1749-7345.2004.tb01074.x
- Chen J.Q., Haws M.C., Fong Q.S. and Leung P. 2017.** Economic feasibility of producing oysters using a small-scale Hawaiian fishpond model. *Aquaculture Reports*, 5: 41–51. doi: 10.1016/j.aqrep.2016.12.001
- Chen Q., Jiang X., Han Q., Sheng P., Chai Y., Peng R., Jiang M., Mao Z. and Wu S. 2021.** Growth, calcium content, proximate composition, and fatty acid composition of triangle sail mussel (*Hyriopsis cumingii*) fed five different microalgal diets.

- Aquaculture, 530: 1–12 (735719). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735719
- Chen X., Liu H., Su Y. and Yang J. 2015.** Morphological development and growth of the freshwater mussel *Anodonta woodiana* from early juvenile to adult. *Invertebrate Reproduction and Development*, 59: 131–140. doi: 10.1080/07924259.2015.1047039
- Chen X., Zhang M., Zhang J., Bai Z. and Li J. 2019.** miR-4504 is involved in nacre color formation in *Hyriopsis cumingii*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 517: 210–215. doi: 10.5555/20193409118
- Chojnacki J., Lewandowska A. and Rosinska B. 2007.** Biometrics of the mussel *Anodonta cygnea* (L.) inhabiting in 2005 the Binowo and Bobolin Lakes near Szczecin. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 36: 21–27. doi: 10.2478/v10009-007-0017-2
- Da Costa F., Petton B., Mingant C., Bougaran G., Rouxel C., Quere C., Wikfors G.H., Soudant P. and Robert R. 2016.** Influence of one selected *Tisochrysis lutea* strain rich in lipids on *Crassostrea gigas* larval development and biochemical composition. *Aquaculture Nutrition*, 22: 813–836. doi: 10.1111/anu.12301
- Edwards P., Zhang W., Belton B. and Little D.C. 2019.** Misunderstandings, myths and mantras in aquaculture: Its contribution to world food supplies has been systematically over reported. *Marine Policy*. 106: 103–134. doi: 10.1016/j.marpol.2019.103547
- Espinosa E.P., Perrigault M., Ward J.E., Shumway S.E. and Allam B. 2010.** Microalgal cell surface carbohydrates as recognition sites for particle sorting in suspension-feeding bivalves. *The Biological Bulletin*, 218: 75–86. doi: 10.1086/BBLv218n1p75
- FAO 2022.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Italy. 266P.
- Gao Q.F., Shin P.K., Lin G.H., Chen S.P. and Cheung S.G. 2006.** Stable isotope and fatty acid evidence for uptake of organic waste by green-lipped mussels *Perna viridis* in a polyculture fish farm system. *Marine Ecology Progress Series*, 317: 273–283. doi: 10.3354/meps317273
- Golden C.D., Allison E.H., Cheung W.W.L., Dey M.M., Halpern B.S., McCauley D.J., Smith M., Vaitla B., Zeller D. and Myers S.S. 2016.** Nutrition: Fall in fish catch threatens human health. *Nature*, 534: 317–320.
- Gonzalez-Araya R., Quillien V. and Robert R. 2013.** The effects of eight single microalgal diets on sex-ratio and gonad development throughout European flat oyster (*Ostrea edulis* L.) conditioning.

- Aquaculture, 400: 1–5. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.02.036
- Gouda R., Kenchington E., Hatcher B. and Vercaemer B. 2006.** Effects of locally-isolated micro-phytoplankton diets on growth and survival of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) larvae. *Aquaculture*, 259: 169–180. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.050
- Guedes A.C. and Malcata F.X. 2012.** Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. P: 59–78. In: Muchlisin Z. (Ed.). *Aquaculture*. IntechOpen, UK. doi: 10.5772/30576
- Hallstrom E., Bergman K., Mifflin K., Parker R., Tyedmers P., Troell M. and Ziegler F. 2019.** Combined climate and nutritional performance of seafoods. *Journal of Cleaner Production*, 230: 402–411. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.04.229
- Holman B.W.B. and Malau-Aduli A.E.O. 2013.** *Spirulina* as a livestock supplement and animal feed. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97: 615–623. doi: 10.1111/j.1439-0396.2012.01328.x
- Islam H., Alamin M., Hasan M.S., Mondal S. and Hossain M.M.M. 2017.** Fish culture in indoor-tank using green water technology. *Journal of Entomology Zoology Studies*, 5: 2498–2502. doi: 10.22271/j.ento.2017.v5.i6ah.2901
- Katiyar R. and Arora A. 2020.** Health promoting functional lipids from microalgae pool: A review. *Algal Research*, 46: 1–15. (101800). doi: 10.1016/j.algal.2020.101800
- Kiibus M. and Kautsky N. 1996.** Respiration, nutrient excretion and filtration rate of tropical freshwater mussels and their contribution to production and energy flow in Lake Kariba, Zimbabwe. *Hydrobiologia*, 331: 25–32. doi: 10.1007/BF00025404
- Laing I. and Millican P.F. 1992.** Indoor nursery cultivation of juvenile bivalve molluscs using diets of dried algae. *Aquaculture*, 102: 231–243. doi: 10.1016/0044-8486(92)90151-A
- Langdon C. and Onal E. 1999.** Replacement of living microalgae with spray-dried diets for the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquaculture*, 180: 283–294. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00197-0
- Leonardos N. and Lucas I.A. 2000.** The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture*, 182: 301–315. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00269-0
- Lu J. and Takeuchi T. 2002.** Taste of tilapia, on growth, fertility, coloration and eucocytes count *Oreochromis niloticus*, fed solely on raw *Spirulina platensis* in red swordtail, *Xiphophorus helleri*.

- Fisheries Sciences, 68: 987–988. doi: 10.2331/fishsci.68.sup1_987
- Liu Y., Hao A., Iseri Y., Kuba T. and Zhang Z. 2014.** A comparison of the mussel *Anodonta woodiana*'s acute physiological responses to different algae diets. *Journal of Clean Energy Technologies*, 2: 126–131. doi: 10.7763/JOCET.2014.V2.106
- Martinez-Fernandez E. and Southgate P.C. 2007.** Use of tropical microalgae as food for larvae of the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture*, 263: 220–226. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.09.040
- Mele I., McGill R.A., Thompson J., Fennell J. and Fitzner S. 2023.** Ocean acidification, warming and feeding impacts on biomineralization pathways and shell material properties of *Magallana gigas* and *Mytilus* spp. *Marine Environmental Research*, 186: 1–8 (10592). doi: 10.1016/j.marenvres.2023.105925
- Packer M.A., Harris G.C. and Adams S.L. 2016.** Food and feed applications of algae. P: 217–247. In: Bux F. and Chisti Y. (Eds.). *Algae Biotechnology*. Springer, Switzerland. doi: 10.1007/978-3-319-12334-9_12
- Petterson A.K., Turchini G.M., Jahangard S., Ingram B.A. and Sherman C.D. 2010.** Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae. *Aquaculture*, 309(1-4): 115–124. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.024
- Plaza M., Santoyo S., Jaime L., Reina G.G.B., Herrero M., Senorans F.J. and Ibanez E. 2010.** Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51: 450–455. doi: 10.1016/j.jpba.2009.03.016
- Pleissner D., Eriksen N.T., Lundgreen K. and Riisgard H.U. 2012.** Biomass composition of blue mussels, *Mytilus edulis*, is affected by living site and species of ingested microalgae. *International Scholarly Research Notices*, 2012: 1–12. doi: 10.5402/2012/902152
- Prado P., Cabanes P., Catanese G., Carella F., Carrasco N., Grau A., Hernandis S., Garcia-March J.R., Tena J., Caiola N. and Andree K.B. 2020.** Growth of juvenile *Pinna nobilis* in captivity conditions: Dietary and pathological constraints. *Aquaculture*, 522: 1–15 (735167). doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735167
- Priyadarshani I. and Rath B. 2012.** Commercial and industrial applications of micro algae- A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4): 89–100.
- Rodhouse P.G., Roden C. and Somerville-Jacklin M.E. 1983.**

- Nutritional value of micro-algal mass cultures to the oyster *Ostrea edulis* L. *Aquaculture*, 32: 11–18. doi: 10.1016/0044-8486(83)90265-X
- Ronquillo J.D., Siasho T. and McKinley R. 2006.** Early developmental stages of green tiger prawn (*Peneaus semisulcatus*) de Haan. *Aquatic Sciences*, 560: 175–196. doi: 10.1007/s10750-005-1448-y
- Rosa M., Ward J.E., Shumway S.E., Wikfors G.H., Pales-Espinosa E. and Allam B. 2013.** Effects of particle surface properties on feeding selectivity in the eastern oyster *Crassostrea virginica* and the blue mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 446: 320–327. doi: 10.1016/j.jembe.2013.05.011
- Salavatian S., Valipour A., Jamili S., Sayyad Borani M., Ehteshamei F., Ghorbani S.A., Fallahi Kapourchali M., Parvaneh Mogaddam D., Amiri Sendesi S.A., Ramzani Mamodani M.R., Jamalzad Fallah F and Mahisefat F. 2019.** The study of food dietary *Anodonta cygnea* in Anzali Wetland. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 28: 79–94. doi: 10.22092/ISFJ.2019.118891
- Schulze P. S., Hulatt C.J., Morales-Sanchez D., Wijffels R.H. and Kiron V. 2019.** Fatty acids and proteins from marine cold adapted microalgae for biotechnology. *Algal Research*, 42: 1–9 (101604). doi: 10.1016/j.algal.2019.101604
- Shanmugam S., Mathimani T., Anto S., Sudhakar M.P., Kumar S.S. and Pugazhendhi A. 2020.** Cell density, lipidomic profile, and fatty acid characterization as selection criteria in bioprospecting of microalgae and cyanobacterium for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 304: 1–4 (123061). doi: 10.1016/j.biortech.2020.123061
- Stromgren T. and Cary C. 1984.** Growth in length of *Mytilus edulis* L. fed on different algal diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 76: 23–34. doi: 10.1016/0022-0981(84)90014-5
- Tacon A.G.J. 2020.** Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000-2017. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 28: 43–56. doi: 10.1080/23308249.2019.1649634
- Tremblay R., Cartier S., Miner P., Pernet F., Quere C., Moal J., Muzellec M.L., Mazuret M. and Samain J.F. 2007.** Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture*, 262: 410–418. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.10.009
- Troell M., Naylor R.L., Metian M., Beveridge M., Tyedmers P.H., Folke C., Arrow K.J., Barrett S., Crepin A.S., Ehrlich P.R. and Gren A. 2014.** Does aquaculture

- add resilience to the global food system? Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111: 13257–13263. doi: 10/1037/pnas.1404067111
- Vakily J.M. 1992.** Determination and comparison of bivalve growth rate with emphasis on Thailand and other tropical areas. International Center for Living Aquatic Resources Management, Philippines. 125P.
- Vaughn C.C., Nichols S.J. and Spooner D.E. 2008.** Community and food web ecology of freshwater mussels. Journal of the North American Benthological Society, 27(2): 41–55. doi: 10.1899/07-058.1
- Vidhya K., Uthayakumar V., Muthukumar S., Munirasu S. and Ramasubramanian V. 2014.** The effects of mixed algal diets on population growth, egg productivity and nutritional profiles in cyclopoid copepods (*Thermocyclops hyalinus* and *Mesocyclops aspericornis*). The Journal of Basic and Applied Zoology, 67: 58–65. doi: 10.1016/j.jobaz.2014.08.003
- Wassnig M. and Southgate P.C. 2016.** The effects of stocking density and ration on survival and growth of winged pearl oyster (*Pteria penguin*) larvae fed commercially available microalgae concentrates. Aquaculture Reports, 4: 17–21. doi: 10.1016/j.aqrep.2016.05.004
- Wong W.H. and Levinton J.S. 2004.** Culture of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) fed both phytoplankton and zooplankton: A microcosm experiment. Aquaculture Research. 35: 965–969. doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01107.x
- Xu J., Zhou H., Yan X., Zhou C., Zhu P. and Ma B. 2012.** Effect of unialgal diets on the composition of fatty acids and sterols in juvenile ark shell *Tegillarca granosa* Linnaeus. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 3973–3980. doi: 10.1021/jf300620e
- Yang C., Hao R., Du X., Wang Q., Deng Y. and Sun R. 2019.** Response to different dietary carbohydrate and protein levels of pearl oysters (*Pinctada fucata martensii*) as revealed by GC-TOF/MS-based metabolomics. Science of the Total Environment, 650: 2614–2623. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.023
- Zhu A., Chen W., Luan J., Liu J. and Liang S. 2006.** A study on feeding habits and ingestion rate of *Hyriopsis cumingii* (in Chinese). Acta Hydrobiologica Sinica, 30(2): 244–246.



Research Paper

The effect of feeding with different levels of *Spirulina platensis* on growth indices and carcass composition of freshwater bivalve mussel (*Anodonta cygnea*)

Fatemhe Mostafaei¹, Hamid Alaf Novirian², Bahram Falahatkar^{3*}, Nader Shabanipour⁴

DOI: 10.22124/japb.2023.24701.1500

Received: June 2023

Accepted: September 2023

Abstract

The present study was conducted in order to investigate the effect of different levels of *Spirulina platensis* on the growth performance and composition of *Anodonta cygnea* carcass. These mussels were caught from Selka area of Anzali lagoon and transferred to the laboratory. After acclimatization, 72 mussels (6 per replicate) with an average weight of 55.80 ± 3.26 g were distributed among twelve 3-liter plastic tanks filled with well water. Mussels, during 16 weeks, were fed with four different diets including C: control (green water produced with well water), T1: 70% green water + 30% *Spirulina* powder solution, T2: 40% green water + 60% *Spirulina* powder solution and T3: 100 mL *Spirulina* powder solution. During the feeding period, water temperature was recorded as 17.51 ± 0.45 °C. After 8 and 16 weeks, 3 mussels from each tank (replicate) were collected to measure carcass composition including protein, fat, moisture and ash contents. Based on the results, no significant difference was observed in growth indices. Examining the proximate composition of the carcass in week 8 showed the percentage of protein at the beginning of the experiment was significantly lower than T2 and T3 treatments ($P < 0.05$). No significant difference was observed between the amounts of fat and ash in different treatments ($P > 0.05$). The amount of moisture in the control treatment was significantly lower than the other treatments ($P < 0.05$). Also, after the end of the feeding period (16 weeks), the protein, fat, dry matter and ash contents were significantly more than the beginning of experiment ($P < 0.05$). In conclusion, according to the obtained results, it is recommended to use *Spirulina* in the diet of *Anodonta* mussel due to its effect on increasing the amount of carcass protein.

Key words: Protein, Fat, Biometry, Moisture, Microalgae.

1- M.Sc. in Aquaculture, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

2- Associate Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan Sowmeh Sara, Iran.

3- Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.

4- Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding email: falahatkar@guilan.ac.ir

