

مقاله پژوهشی

اثرات مجزا و توام جیره غذایی حاوی نانوکیتوزان و اسید فولیک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات شیمیایی بدن بچه فیل ماهی (*Huso huso*)

محمود صمیمی^۱، امیر هوشنگ بحری^{۲*}، فلورا محمدی زاده^۲

DOI: 10.22124/japb.2024.27664.1545

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۳

چکیده

بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای افزایش رشد و ارتقای سلامت آبزیان یکی از مسایل عمده در آبی‌پروری تجاری است. این پژوهش به منظور بررسی اثرات مجزا و توام جیره غذایی حاوی نانوکیتوزان و اسید فولیک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات شیمیایی لاشه بچه فیل ماهیان (*Huso huso*) انجام شد. بچه فیل ماهیان با میانگین وزنی $15/3 \pm 1/56$ گرم در ۱۵ وان فایبرگلاس با تراکم ۲۵ عدد ماهی توزیع و طی مدت ۸ هفته با غلظت‌های متفاوت نانوکیتوزان و اسید فولیک شامل ۰ (شاهد)، ۱ میلی گرم نانوکیتوزان در هر کیلوگرم جیره (تیمار ۱)، ۱ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره (تیمار ۲)، ۱ میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره (تیمار ۳) و ۲ میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره (تیمار ۴) غذادهی شدند. بر اساس نتایج به دست آمده میزان رشد روزانه، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، و شاخص وضعیت در تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به تیمار ۱ و به‌ویژه تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). همچنین اختلاف معناداری در شاخص وضعیت بین تیمار شاهد با تیمارهای دیگر مشاهده شد ($P < 0/05$). بررسی ترکیب شیمیایی لاشه نشان داد که بچه فیل ماهیان تغذیه شده در تیمار ۴ بالاترین مقدار پروتئین خام ($16/76 \pm 0/56$ درصد) و خاکستر ($3/07 \pm 0/16$ درصد) و کمترین درصد چربی خام ($6/48 \pm 0/18$ درصد) را داشتند که نسبت به تیمار ۱ و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در مجموع، استفاده از مکمل خوراکی محتوی سطوح ۱ و ۲ میلی گرم نانوکیتوزان به همراه ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره در غذای بچه فیل ماهی به منظور بهبود عملکرد رشد و ترکیبات شیمیایی لاشه کاملاً مثبت و معنی‌دار ارزیابی شد.

واژگان کلیدی: فیل ماهی، نانوکیتوزان، اسید فولیک، درصد بقاء، ترکیبات شیمیایی لاشه.

۱- دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.
۲- دانشیار گروه شیلات، مرکز تحقیقات فناوری‌های دریایی و شیلاتی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.

* نویسنده مسئول: amirbahri52@yahoo.com

مقدمه

کیلوگرم جیره (Duncan et al., 1993) و برای تیلاپای *Oreochromis aureus* ۰/۸۲ میلی گرم در کیلوگرم جیره (Dugoua, 2013) تعیین شده است. مطالعات به وضوح نشان می‌دهند که اسید فولیک در بسیاری از شرایط پایدار نیست و علاوه بر این، اکسیژن مستقل که پس از تحرک فتوسنتزی تولید می‌شود، می‌تواند میزان اسید فولیک را کاهش دهد. اسید فولیک به راحتی تجزیه شده و به چندین عامل محیطی مانند گرما، نور، بویژه پرتو فرابنفش و اکسیژن حساس است. بنابراین کپسولاسیون آن موجب افزایش پایداری و نیمه عمر آن خواهد شد (Gazzali et al., 2019). کیتوزان یک ماده غیرسمی، زیست تجزیه پذیر و زیست سازگار است که در طیف گسترده‌ای از کاربردهای زیست پزشکی از جمله پانسمان، مهندسی بافت، پوشش ایمپلنت و سیستم‌های انتقال دارو استفاده می‌شود (Yassue-Cordeiro et al., 2018). کیتوزان به دلیل خواص زیستی مطلوب از جمله تجزیه زیستی، فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دامنه کاربردی گسترده‌ای دارد. استفاده از نانوکیتوزان به عنوان محافظت کننده در مواد مغذی مثل ویتامین C در شرایط معده ماهی و

اجزای جیره غذایی ماهیان عبارت هستند از پروتئین و اسیدهای آمینه، چربی، کربوهیدرات، مواد معدنی و ویتامین‌ها. در اغلب مطالعات تغذیه‌ای، نیازهای مواد مغذی برای حداکثرسازی رشد ماهی محاسبه می‌شود، اما اهمیت و نقش ضروری آنها در پیشگیری از بیماری‌ها اغلب نادیده گرفته می‌شود (NRC, 2011).

اسید فولیک (FA) مولکولی کوچک است که تحت عنوان ویتامین B₉ نیز شناخته می‌شود و در فرایندهای بیوشیمیایی بسیار موثر است (Wei et al., 2016). اسید فولیک به شکل‌های طبیعی و مصنوعی در دسترس است. اسید فولیک یک مولکول کوچک کاملاً اکسید شده است که نقش کلیدی در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مانند تکثیر سلولی، بیان ژن، عملکرد غشای سلولی، تشکیل سلول‌های خونی طبیعی، دارد (Dugoua, 2013; Wei et al., 2016). مقدار مورد نیاز اسید فولیک در جیره غذایی برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ۰/۳-۰/۶ میلی گرم در کیلوگرم جیره غذایی (Cowe, 1993 and Woodward, 1993)، گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) ۱/۲ میلی گرم در

مکمل‌های غذایی بر پایه نانو بر این ماهی وجود دارد. از این رو، در مطالعه حاضر برای اولین بار تاثیر سطوح مختلف نانوذرات کیتوزان و اسید فولیک بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات شیمیایی بدن بچه فیل ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از کیتوزان (Sigma-Aldrich، آمریکا) با وزن مولکولی پایین (۱۵۰-۳۱۰ کیلودالتون) استفاده شد. محلول کیتوزان بر اساس روش پیشنهادی Alishahi و همکاران (۲۰۱۰) با حل کردن کیتوزان در محلول استیک اسید ۱ درصد (وزنی/حجمی) به شکلی آماده شد تا محلول شفاف به دست آید. همچنین محلول تری‌پلی‌فسفات سدیم (۵/۰ میلی‌گرم در لیتر) در آب دیونیزه تهیه شد. محلول کیتوزان با حجم مساوی از تری‌پلی‌فسفات سدیم مخلوط شد و تشکیل نانوذرات کیتوزان تری‌پلی‌فسفات سدیم به طور خود به خودی از طریق فرایند ژلاتین یونی تری‌پلی‌فسفات سدیم آغاز شد. سوسپانسیون نانوذرات به آرامی برای مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. نانوذرات کیتوزان-تری‌پلی‌فسفات سدیم-اسید فولیک از طریق

محافظت از واکسن‌های نو ترکیب DNA در روش تجویز خوراکی اخیرا رایج شده است (Yassue-Cordeiro et al., 2018). از آنجا که مقدار زیادی از اسکلت خارجی سخت‌پوستان در صنعت غذاهای دریایی به عنوان محصول جانبی در دسترس است، از این رو، مواد خام برای تولید کیتوزان نسبتا ارزان است و در نتیجه تولید کیتوزان در مقیاس بالا از این منابع زیستی تجدیدپذیر از لحاظ اقتصادی امکان‌پذیر است (Chen and Chen, 2019).

فناوری نانو برای ایجاد انقلاب در کشاورزی و علوم مرتبط با آن، مانند آبی‌پروری و صید آبزیان، پتانسیل شگرفی دارد. کاربردهای فناوری نانو مانند نانوسنسورها، نانوواکسن‌ها و دارورسانی هدفمند، توانایی حل کردن بسیاری از مشکلات مرتبط با سلامت، تولیدمثل و پیشگیری و درمان بیماری‌ها، حتی بیماری‌های آبزیان را دارد. توانایی‌های بالقوه فناوری نانو در صورتی که برای برطرف کردن معضلات و چالش‌های عمده آبی‌پروری به کار گرفته شوند می‌توانند سهم موثری در افزایش درآمد داشته باشند (Alishahi et al., 2010).

با توجه به این که فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های مهم آبی‌پروری در ایران است، با این وجود اطلاعات کمی درباره تاثیر

تشکیل ژلاسیون یونی بین گروه‌های اسید آمینه با بار مثبت کیتوزان-تری‌پلی‌فسفات سدیم و اسید فولیک آماده شد. اسید فولیک برای این منظور در محلول کیتوزان-تری‌پلی‌فسفات سدیم حل شد و سپس مخلوط با ملایمت به وسیله شیکر در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت تکان داده شد. سپس فازهای مخلوط نانوذرات توسط سانتریفیوژ (Hermle, Z323K, آلمان) با سرعت ۱۰,۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از یکدیگر جدا شد. در مرحله بعد فاز بالایی تخلیه و فاز پایینی پس از انجماد و خشک شدن با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (HMD، هند)، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای ترکیب شدن با جیره غذایی ذخیره شد. در این مطالعه اندازه ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) تایید شد. همچنین اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانوذرات با استفاده از Zetasizer (Nano ZS, 3000HSA، انگلستان) مشخص شد (Adel et al., 2024).

این پژوهش در یک دوره ۸ هفته‌ای در پاییز سال ۱۴۰۲ از اوایل آبان ماه تا انتهای آذر در کارگاه تکثیر و پرورش شهدای خیبر بخش خصوصی در شهر تالش (استان گیلان) انجام پذیرفت. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری

ماهیان با شرایط جدید پرورشی، تعداد ۳۷۵ قطعه بچه فیل‌ماهی پرورشی با میانگین وزنی $15/3 \pm 0/7$ گرم در ۱۵ وان فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (هر وان شامل ۲۵ قطعه ماهی) با شرایط یکسان از نظر حجم آب و شاخص‌های کمی و کیفی مشابه به صورت تصادفی توزیع شدند. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول و میزان pH هر هفته توسط دستگاه مولتی‌متر قابل حمل (TPS، استرالیا) اندازه‌گیری شد. در طی دوره پرورش، میانگین اکسیژن محلول $7/2 \pm 0/3$ میلی‌گرم در لیتر، دما $27/3 \pm 0/4$ درجه سانتی‌گراد و pH $8/1 \pm 0/24$ بود. همچنین در رابطه با تامین نور طبیعی داخل سالن از دوره نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در طول دوره پرورش استفاده شد.

پس از سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، بچه فیل‌ماهیان طی مدت ۸ هفته با غلظت‌های متفاوت نانوکیتوزان و اسید فولیک شامل شاهد (جیره پایه بدون افزودنی)، تیمار ۱ (۱ میلی‌گرم کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره)، تیمار ۲ (۱۱ میلی‌گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره)، تیمار ۳ (۱ میلی‌گرم کیتوزان و ۱ میلی‌گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره) و تیمار ۴ (۲ میلی‌گرم کیتوزان

مخلوط به دست آمده در سایه خشک شد و سپس در ظروف پلاستیکی درب دار شماره گذاری شده نگهداری شد. پلت های تهیه شده در ادامه درون کیسه های پلاستیکی درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان مصرف نگهداری شد (Yeganeh and Adel, 2019). در این پژوهش برای تیمار شاهد نیز همان مقدار روغنی که برای تیمارهای دیگر استفاده می شد، اضافه شد تا از نظر مقدار چربی بین تیمارها و شاهد اختلافی وجود نداشته باشد. میزان درصد غذادهی روزانه ماهیان بر حسب وزن توده (بیومس)، دمای آب و میانگین وزن ماهیان تعیین شد. تعداد دفعات غذادهی ۳ بار در روز و در ساعت های ۷، ۱۳ و ۱۷ انجام شد. به طور روزانه ۴۰ درصد آب هر وان از طریق سیفون کردن تعویض شد.

برای بررسی اثرات سطوح مجزا و توام جیره غذایی حاوی نانوکیتوزان و اسید فولیک بر شاخص های رشد فیل ماهی و مقایسه بین تیمارهای مختلف، به فاصله زمانی ۱۵ روز یک بار وزن ماهیان هر تیمار با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل با خطکش با دقت ۱ میلی متر اندازه گیری شد. در این بررسی، نمونه برداری ها به طور کاملاً تصادفی و از ۱۰۰ درصد جمعیت هر تکرار انجام شد. لازم به ذکر

و ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره) غذادهی شدند. در این بررسی به دلیل انحلال بهتر غلظت های متفاوت نانوکیتوزان و اسید فولیک به جیره پایه (جدول ۱)، از روغن سویا به عنوان حلال استفاده شد و به صورت اسپری با ژلاتین بایندر به جیره پایه اضافه و به صورت یکنواخت و همگن مخلوط شد.

جدول ۱: مشخصات جیره پایه

اقلام	مقدار (گرم در کیلوگرم جیره)
روغن سویا	۵۸
پودر ماهی	۴۵۰
آرد ذرت	۸۰
آرد گندم	۷۹
پودر سویا	۲۰۰
لسیتین	۵
گلوکز	۳
مکمل معدنی	۱۰
مکمل ویتامینی*	۱۰

*: پیش مخلوط ویتامین (ترکیب در هر کیلوگرم): ۴۰ میلی گرم ویتامین E، ۶ گرم ویتامین B1، ۸ گرم ویتامین B2، ۴۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۲ گرم ویتامین K3، ۶۰ گرم ویتامین C، ۱۶۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۲ گرم کلسیم پانتوتنات، ۴۰ گرم ویتامین B3، ۴ گرم ویتامین B6، ۸ گرم ویتامین B12، ۲۰ میلی گرم اینوزیتول، ۲۰ میلی گرم BHT.

رابطه ۶:

$$SR (\%) = (N_i / N_f) \times 100$$

N_i : تعداد اولیه ماهیان؛ N_f : تعداد ماهیان باقی مانده.

در انتهای دوره، ۹ قطعه ماهی (۳ ماهی از هر تکرار) به صورت تصادفی انتخاب و برای تعیین تقریبی ترکیب شیمیایی لاشه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. تعیین ترکیبات جیره در آزمایشگاه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۵) انجام شد. اندازه‌گیری پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجلدال، چربی خام به روش سوکسله، رطوبت با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و مقدار خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت صورت گرفت.

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. برای بررسی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از پس‌آزمون توکی (Tukey) در

است که یک روز قبل تا یک روز بعد از زیست‌سنجی غذادهی قطع می‌شد. در این مطالعه، شاخص‌های رشد ماهیان شامل افزایش وزن بدن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد روزانه نسبی (RDGR)، شاخص وضعیت (CF)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و درصد بازماندگی (SR) آنها طبق رابط‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد (Adel et al., 2024).

رابطه ۱:

$$WG (g) = W_f - W_i$$

W_i : وزن ابتدایی (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$SGR (\%/day) = [(LnW_f - LnW_i) / t] \times 100$$

W_i : وزن ابتدایی (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : تعداد روزهای پرورش.

رابطه ۳:

$$RDGR (\%/day) = [(W_f - W_i) / (W_i \times t)] \times 100$$

W_i : وزن ابتدایی (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : دوره پرورش.

رابطه ۴:

$$CF (g/cm^3) = (W / L^3) \times 100$$

W : وزن نهایی (گرم)؛ L : طول کل (سانتی‌متر).

رابطه ۵:

$$FCR = F / (WG)$$

F : مقدار غذای داده شده (گرم)؛ WG : افزایش وزن بدن (گرم).

سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) استفاده شد.

نتایج

اندازه ذرات نانو ذرات کیتوزان حاوی حاوی اسیدفولیک توسط دستگاه زتاسایزر نشان داد که تمامی ذرات قطر ۲۴۲/۵ نانومتر داشتند. توزیع باریک بودن و تک اندازه بودن ذرات تولید شده مبین کارایی مطلوب این روش است.

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه فیل ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مجزا و توام نانوکیتوزان و اسید فولیک در انتهای دوره در جدول ۲ آمده است. بر اساس این نتایج میزان نرخ رشد روزانه نسبی، افزایش وزن بدن، میزان نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و شاخص وضعیت در تیمارهای ۳ (۱) میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره) و ۴ (۲ میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره) نسبت به تیمارهای ۱ (۱ میلی گرم نانوکیتوزان) و به ویژه تیمار شاهد

اختلاف معنی داری را نشان داشت ($P < 0.05$). همچنین اختلاف معناداری در شاخص وضعیت بین تیمار شاهد با تیمارهای مورد مطالعه دیگر مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معناداری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد وجود نداشت ($P > 0.05$; جدول ۲).

در جدول ۳ نتایج بررسی ترکیب شیمیایی لاشه فیل ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی تیمارهای مجزا و توام نانوکیتوزان و اسید فولیک در انتهای دوره نشان داده شده است. در این بررسی فیل ماهیان تغذیه شده در تیمار ۴ بیشترین مقدار پروتئین خام (16.76 ± 0.56) درصد) و خاکستر (3.07 ± 0.16) و کمترین مقدار چربی خام (6.48 ± 0.18 درصد) را داشتند که نسبت به تیمار ۱ و تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$). اما از نظر درصد رطوبت، اختلاف مشاهده شده در تیمارهای حاوی سطوح مختلف نانوذرات کیتوزان با تیمار شاهد معنادار نبود ($P > 0.05$).

جدول ۲: شاخص‌های رشد و بازماندگی در بچه فیل ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در انتهای دوره پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
وزن اولیه (g)	۱۵/۳۰ $\pm$ ۱/۵۶ ^a	۱۵/۳۰ $\pm$ ۱/۵۶ ^a	۱۵/۳۰ $\pm$ ۱/۵۶ ^a	۱۵/۳۰ $\pm$ ۱/۵۶ ^a	۱۵/۳۰ $\pm$ ۱/۵۶ ^a
وزن نهایی (g)	۷۷/۱ $\pm$ ۴/۲۰ ^d	۸۱/۰ $\pm$ ۹/۵۰ ^c	۹۱/۰ $\pm$ ۸/۸۰ ^b	۹۷/۱ $\pm$ ۸/۱۰ ^a	۹۶/۰ $\pm$ ۶/۴۰ ^a
نرخ رشد روزانه نسبی (%/day)	۱/۰۵۹ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۱/۱۰۴ $\pm$ ۰/۰۵ ^b	۰/۹۸۹ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۱/۳۰۸ $\pm$ ۰/۰۴ ^a	۱/۲۴۰ $\pm$ ۰/۰۳ ^a
افزایش وزن بدن (g)	۶۱/۰۷ $\pm$ ۱/۴ ^c	۶۵/۶۸ $\pm$ ۱/۱ ^c	۷۶/۵۶ $\pm$ ۱/۳ ^b	۸۲/۴۰ $\pm$ ۱/۱ ^a	۸۱/۱۰ $\pm$ ۱/۵ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۱۰ ^a	۱/۴۲ $\pm$ ۰/۱۴ ^a	۱/۳۸ $\pm$ ۰/۰۵ ^{ab}	۱/۲۷ $\pm$ ۰/۰۲ ^b	۱/۲۹ $\pm$ ۰/۰۸ ^b
نرخ رشد ویژه (%/day)	۱/۵۸۰ $\pm$ ۰/۰۷ ^{ab}	۱/۵۳۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^{ab}	۱/۴۰۳ $\pm$ ۰/۰۴ ^b	۱/۷۰۹ $\pm$ ۰/۰۵ ^a	۱/۶۷۹ $\pm$ ۰/۰۴ ^a
شاخص وضعیت (g/cm ³)	۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱ ^a	۱/۰۲ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۱/۰۴ $\pm$ ۰/۰۶ ^a	۱/۰۸ $\pm$ ۰/۰۲ ^a	۱/۰۸ $\pm$ ۰/۰۳ ^a
بازماندگی (%)	۹۵/۰۰ $\pm$ ۱/۹۷ ^a	۹۰/۰۰ $\pm$ ۳/۲۳ ^a	۹۶/۶۷ $\pm$ ۱/۰۶ ^a	۹۰/۰۰ $\pm$ ۳/۲۵ ^a	۹۳/۳۳ $\pm$ ۵/۰۳ ^a

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری است ($P < 0.05$).

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی بدن بچه فیل ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در انتهای دوره پرورش (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
پروتئین خام (%)	۱۴/۷۰ $\pm$ ۱/۱۲ ^c	۱۶/۱۸ $\pm$ ۰/۱۸ ^b	۱۶/۲۶ $\pm$ ۰/۲۰ ^b	۱۶/۵۳ $\pm$ ۰/۱۳ ^{ab}	۱۸/۰۰ $\pm$ ۰/۵۶ ^a
چربی خام (%)	۷/۹۶ $\pm$ ۰/۱۶ ^a	۷/۵۶ $\pm$ ۰/۱۰ ^{ab}	۷/۵۳ $\pm$ ۰/۲۴ ^{ab}	۶/۷۶ $\pm$ ۰/۱۶ ^b	۶/۴۸ $\pm$ ۰/۱۸ ^b
خاکستر (%)	۲/۶۰ $\pm$ ۰/۱۳ ^b	۲/۹۰ $\pm$ ۰/۲۰ ^{ab}	۲/۸۴ $\pm$ ۰/۱۰ ^{ab}	۳/۰۵ $\pm$ ۰/۱۵ ^a	۳/۰۷ $\pm$ ۰/۱۶ ^a
رطوبت (%)	۶۴/۶۸ $\pm$ ۲/۱۸ ^a	۶۵/۱۸ $\pm$ ۲/۶۰ ^a	۶۶/۲۶ $\pm$ ۳/۶۰ ^a	۶۸/۵۰ $\pm$ ۱/۵۰ ^a	۶۸/۴۴ $\pm$ ۲/۱۴ ^a

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری است ($P < 0.05$).

بحث

کیتوزان و اسید فولیک به دلیل تامین

ریزمغذی‌های ضروری مورد نیاز در جیره بود که

در نتیجه آن ماهی توانست از انرژی و منابع

افزایش کارایی غذا و بهبود شاخص‌های رشد

در بچه فیل ماهیان دریافت کننده نانوذرات

- پروتئینی جیره به خوبی استفاده کند و عملکرد رشد بهتری نسبت به تیمار شاهد داشته باشد. بررسی Yeganeh Kari و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد مقدار ۳/۷۲ میلی گرم اسید فولیک در کیلوگرم جیره فیل ماهی موجب بهبود معنادار شاخص‌های رشد شامل ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و وزن اکتسابی در مقایسه با تیمار شاهد شد. مشابه با نتایج حاضر مطالعه، Younus و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که استفاده از اشکال میکرو یا نانوکیتوزان در جیره غذایی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) بر شاخص‌های عملکرد رشد شامل درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل در مقایسه با تیمار شاهد معنادار بود. استفاده از نانوکیتوزان-اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در جیره غذایی تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) موجب بهبود شاخص‌های رشد ماهی در مقایسه با تیمار شاهد شد (Yeganeh and Adel, 2019). بررسی‌ها نشان داد که افزودن ۴ میلی گرم اسید فولیک با ۳۰۰ گرم پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* در هر تن غذا بچه ماهیان شپ (*Acipenser nudiventris*) در بهبود روند رشد و کارایی غذا نقش مثبتی را ایفا کرد (Delsoz Khaki et al., 2013). نتایج Oushani و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد که استفاده از نانوکیتوزان همپوشانی شده با Clinoptilolite به‌ویژه در سطح ۰/۵ گرم در کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی در مقایسه با تیمار شاهد شد. در مطالعه‌ای مناسب‌ترین سطح پیشنهادی برای بچه ماهی شپ ۳۱ گرمی، ۵/۵ میلی گرم در کیلوگرم اسید فولیک و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ویتامین C تعیین شد. به طوری که بیشترین میزان وزن‌گیری، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در این تیمار و کمترین میزان این شاخص‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد (Naderi et al., 2012).
- شاخص‌های ریخت‌سنجی (مورفومتریک) مانند شاخص وضعیت، از شاخص‌های مهم ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای و سلامت ماهی هستند (Yeganeh and Adel, 2019).
- انواع روش‌های غذادهی، شاخص‌های محیطی مانند دمای آب و اکسیژن محلول، اندازه و سن آبی، ترکیب اجزای غذایی و مقدار ضریب تبدیل غذایی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Jabeen et al., 2004). بر اساس نتایج مطالعه حاضر ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ۴ (۲)

میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره) بالاترین مقدار پروتئین خام ($19/1 \pm 0/13$) و کمترین درصد چربی خام ($77/5 \pm 0/6$) و خاکستر ($2/56 \pm 0/07$) را داشتند که نسبت به تیمار ۱ (۱ میلی گرم نانوکیتوزان) و تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت. در بررسی مشابه Gheytasi و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که افزودن سطوح مختلف اسانس پوست لیمو با ذرات نانوکیتوزان به ویژه در سطح ۱ درصد خوراک ماهی قزل آلا رنگین کمان موجب افزایش معنادار درصد پروتئین و کاهش درصد چربی لاشه در مقایسه با تیمار شاهد شد. در مطالعه‌ای همسو، Abd El-Naby و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که استفاده از نانوکیتوزان کپسوله شده با آویشن در جیره غذایی ماهی تیلانی نیل (*Oreochromis niloticus*) موجب کاهش معنادار چربی لاشه ماهی شد، همچنین اختلاف معناداری در درصد خاکستر لاشه بین تیمارهای مختلف دیده شد. مطالعه Jamalzad Falah و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد که غلظت مورد نیاز تاس ماهی سبیری به اسید فولیک $1/82-4/41$ میلی گرم در کیلوگرم جیره است که موجب افزایش درصد پروتئین و چربی لاشه در مقایسه با تیمار شاهد شد.

میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره) و تیمار ۳ (۱ میلی گرم نانوکیتوزان + ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره) نسبت به تیمارهای دیگر به ویژه گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد و کمترین میزان را به خود اختصاص داد. بهبود ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جیره‌های غذایی حاوی ۱ میلی گرم از مکمل‌های نانوکپسوله کیتوزان به همراه اسید فولیک احتمالاً به دلیل تاثیراتی است که اسید فولیک بر روی روند فعال سازی اسیدهای آمینه مانند متیونین، سرین، گلیسین، سیستئین و هیستیدین می‌گذارد که همگی آنها برای تسریع رشد سلولی ضروری هستند (Scully, 2014).

درصد و مقدار غذادهی روزانه و ترکیب غذایی جیره از جمله عوامل موثر در میزان ترکیبات شیمیایی لاشه هستند (Jamalzad Falah et al., 2020). همسان نبودن نتایج می‌تواند به علت تفاوت در مواد تشکیل دهنده و نحوه استفاده از ترکیبات در جیره غذایی، تفاوت گونه‌های ماهی مورد مطالعه، طول دوره استفاده از ترکیبات در جیره غذایی و شرایط متفاوت محیط آزمایشی باشد. بررسی آماری مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که فیل ماهیان تغذیه شده در تیمار ۳ (۱ میلی گرم نانوکیتوزان

در مجموع، استفاده از مکمل خوراکی محتوی سطوح ۱ و ۲ میلی گرم نانوکیتوزان به همراه غلظت ۱ میلی گرم اسید فولیک به ازای هر کیلوگرم جیره بچه فیل ماهی به منظور بهبود عملکرد رشد و ترکیبات شیمیایی لاشه و در نهایت کاهش هزینه های پرورشی و افزایش سود حاصل از آن به عنوان یک مکمل خوراکی به پرورش دهندگان این گونه مهم اقتصادی توصیه می شود.

منابع

- Abd El-Naby A.S., Al-Sagheer A.A., Negm S.S. and Naiel M.A. 2020.** Dietary combination of chitosan nanoparticle and thymol affects feed utilization, digestive enzymes, antioxidant status, and intestinal morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 515: 734577. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734577
- Adel M., Sakhaie F., Shekarabi S.P. H., Gholamhosseini A., Impellitteri F. and Faggio C. 2024.** Dietary *Mentha piperita* essential oil loaded in chitosan nanoparticles mediated the growth performance and humoral immune responses in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Fish and Shellfish Immunology*, 145: 109321. doi: 10.1016/j.fsi.2023.109321
- Alishahi A., Mirvaghefi A., Tehrani M.R., Farahmand H., Koshio S., Dorkoosh F.A. and Elsabe M.Z. 2010.** Chitosan nanoparticle to carry vitamin C through the gastrointestinal tract and induce the non-specific immunity system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Carbohydrate Polymers*, 81: 243–251. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.04.028
- AOAC. 1995.** Official Methods of Analysis. Washington, DC, USA; Association of Official Analytical Chemists Press, USA. 697P.
- Chen J. and Chen L. 2019.** Effects of chitosan-supplemented diets on the growth performance, nonspecific immunity and health of loach fish (*Misgurnus anguillicadatus*). *Carbohydrate Polymers*, 225: 115227. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115227
- Cowey C.B. and Woodward B. 1993.** The dietary requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for folic acid. *The Journal of Nutrition*, 123(9): 1594–1600. doi: 10.1093/jn/123.9.1594
- Delsoz Khaki N., Khara H., Mohseni M. and Shenavar Masoleh A. 2013.** Examining the effects of Bactocel probiotic and folic acid on blood and immunity factors of the ship sturgeon (*Acipenser nudiiventris*) fingerling [In Persian]. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 4(6): 47–54. doi: 10.22092/ijfs.2018.114705
- Dugoua J.J. 2013.** Vitamins, minerals, trace elements, and dietary supplements. P: 367–382. In: Mattison D.R. (Ed.). *Clinical Pharmacology During Pregnancy*. Academic Press, UK. doi: 10.1016/B978-0-12-386007-1.00022-2
- Duncan P.L., Lovell R.T., Butterworth Jr C.E., Freeberg L.E. and Tamura T. 1993.** Dietary folate requirement determined for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *The Journal of*

- Nutrition, 123(11): 1888–1897. doi: 10.1093/jn/123.11.1888
- Gazzali A.M., Lobry M., Colombeau L., Acherar S., Azais, H. and Mordon S. 2019.** Stability of folic acid under several parameters. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93: 419–430. doi: 10.1016/j.ejps.2016.08.045
- Gheytsi A., Hosseini Shekarabi S.P., Islami H.R. and Mehrgan M.S. 2021.** Feeding rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, with lemon essential oil loaded in chitosan nanoparticles: Effect on growth performance, serum hemato-immunological parameters, and body composition. *Aquaculture International*, 29(5): 2207–2221. doi: 10.1007/s10499-021-00741-2
- Jabeen S., Salim M. and Akhtar P. 2004.** Feed conversion ratio of major carp *Cirrhinus mrigala* fingerlings fed on cottonseed meal, fishmeal and barley. *Pakistan Veterinary Journal*, 24: 42–45.
- Jamalzad Falah F.J., Islami H.R. and Mehrgan M.S. 2020.** Dietary folic acid improved growth performance, immuno-physiological response and antioxidant status of fingerling Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* (Brandt 1896). *Aquaculture Reports*, 17: 100391. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100391
- Naderi M., Nizami S., Yazdani Sadati M.A. and Khara H. 2012.** The interaction effect of vitamin C and folic acid on the growth factors of ship fish (*Acipenser nudiventris*) [In Persian]. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 15(4): 47–54.
- NRC (National Research Council). 2011.** Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academic Press, USA. 376P. doi: 10.1007/s10499-011-9480-6
- Oushani A.K., Soltani M., Sheikhzadeh N., Mehrgan M.S. and Islami H.R. 2020.** Effects of dietary chitosan and nano-chitosan loaded clinoptilolite on growth and immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 98: 210–217. doi: 10.1016/j.fsi.2020.01.016
- Scully C. 2014.** Haematology. P: 212–275. In: Scully C. (Ed.). *Scully's Medical Problems in Dentistry*. Churchill Livingstone, UK.
- Wei J.J., Zhang F., Tian W.J., Kong Y.Q., Li Q., Yu N. and Chen L.Q. 2016.** Effects of dietary folic acid on growth, antioxidant capacity, non-specific immune response and disease resistance of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Milne-Edwards, 1853). *Aquaculture Nutrition*, 22: 567–574. doi: 10.1111/anu.12275
- Yassue-Cordeiro P.H., Severino P., Souto E.B., Gomes E.L., Yoshida C.M.P. and De Moraes M.A. 2018.** Chitosan-based nano-composites for drug delivery. P: 1–

26. In: Inamuddin Asiri A.M. and Mohammad A. (Eds.). Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery. Woodhead Publishing, UK. doi: 10.1016/B978-0-12-813741-3.00001-7
- Yeganeh Kari A., Ershad Langroudi H., Valipour A. and Alinejad S. 2022.** Fingerling beluga sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) growth, hematological, biochemical parameters and opercular respiratory rate under hypoxia challenge with levels of dietary folic acid. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 21: 1558–1572. doi: 10.22092/ijfs.2023.128564
- Yeganeh S. and Adel M. 2019.** Effects of dietary algae (*Sargassum ilicifolium*) as immunomodulator and growth promoter of juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758). Journal of Applied Phycology, 31(3): 2093–2102. doi: 10.1007/s10811-018-1673-1
- Younus N., Zuberi A., Mahmood T., Akram W. and Ahmad M. 2020.** Comparative effects of dietary micro- and nano-scale chitosan on the growth performance, non-specific immunity, and resistance of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* against *Staphylococcus aureus* infection. Aquaculture International, 28: 2363–2378. doi: 10.1007/s10499-020-00595-0



Research Paper

The effects of separate and combined diet containing nanochitosan and folic acid on growth factors, survival and carcass chemical composition of beluga sturgeon (*Huso huso*) fingerling

Mahmood Samimi¹, Amir Hooshang Bahri^{2*}, Flora Mohammadizadeh²

DOI: 10.22124/japb.2024.27664.1545

Received: June 2024

Accepted: December 2024

Abstract

Improving formulated diets to enhance growth and promote the health of fish is a major issue in commercial aquaculture. This research was conducted to investigate the separate and combined effects of feed containing nanochitosan and folic acid on growth factors, survival and chemical composition of juvenile beluga (*Huso huso*) carcasses. Juvenile fish with an average weight of 15.3 ± 1.56 g were distributed in 15 fiberglass tanks at a density of 25 fish per tank and fed with different concentrations of nanochitosan and folic acid including 0 (control), 1mg nanochitosan per kg diet (treatment 1), 1mg folic acid per kg diet (treatment 2), 1mg nanochitosan + 1mg folic acid per kg (treatment 3) and 2mg nanochitosan + 1mg folic acid per kg (treatment 4) over a period of 8 weeks. Based on the results, the daily growth rate, body weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio and condition factor in treatments 3 and 4 showed significant differences compared to treatments 1 and especially control ($P < 0.05$). Significant differences in the condition factor were also observed between the control and the other treatments ($P < 0.05$). Chemical composition analysis of the carcasses indicated that fish fed in treatment 4 had the highest crude protein content ($16.76 \pm 0.56\%$) and ash ($3.07 \pm 0.16\%$), and the lowest crude fat ($6.48 \pm 0.18\%$), which differed significantly from treatment 1 and control. In conclusion, the use of an oral supplement containing 1 and 2mg of nanochitosan combined with 1mg of folic acid per kg of diet in juvenile beluga was evaluated as having a completely positive and significant effect on growth performance and carcass chemical composition.

Key words: *Huso huso*, Nanochitosan, Folic Acid, Survival Rate, Carcass Chemical Composition.

1- Ph.D. Student in Aquaculture, Department of Fisheries, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.

2- Associate Professor in Fisheries Department, Marine and Fisheries Technologies Research Center, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: amirbahri52@yahoo.com