

اثر اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانو کیتوزان اسید فرمیک بر میزان بازماندگی، پارامترهای رشد و ترکیب لاشه در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تأثیر اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک بر روی فاکتورهای رشد و کیفیت لашه بچه ماهی کپور معمولی انجام شد. در این تحقیق بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی تعداد ۴۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با متوسط وزن 16.5 ± 0.5 گرم (۱۰-۱۵ گرم) هر یک با ۳ تکرار استفاده شد. تیمارها شامل سه تیمار تقدیم شده با محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک، سه تیمار اسید فرمیک، سه تیمار نمک پتاسیم دی فرمات به همراه غذای تجاری در سطوح 0.25% ، 0.5% و 0.75% درصد بود و یک گروه نیز به عنوان شاهد، غذای تجارتی بدون افزودنی دریافت کردند. غذاهی به مدت ۸ هفته به صورت ۳ بار در روز تا حد سیری انجام شد. در انتهای دوره ترکیب لاشه و شاخص‌های رشد موربدرسی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که افزودن اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در سطح بالای 0.75% درصد به جیره غذایی ماهی کپور معمولی اثر منفی در افزایش وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در مقایسه با شاهد داشته است ($P < 0.05$) و از طرفی بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمارهای اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات و محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در سطح بالای 0.75% درصد به جیره غذایی ماهی کپور معمولی در مقایسه با شاهد نیز مشاهده شد ($P < 0.05$). در این تحقیق میزان پروتئین و میزان چربی در بین تیمارهای موردمطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی داری داشته ($P < 0.05$) و تأثیر مطلوب جیره‌های بکار رفته در سطح 0.25% درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک مشاهده شد. نتایج نشان داد درصد بازماندگی در بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشته است ($P > 0.05$). لذا به جهت بهبود ترکیب بیوشیمیایی بدن استفاده از 0.25% درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره‌های غذایی ماهی کپور معمولی توصیه می‌شود.

وازگان کلیدی: ماهی کپور معمولی، اسید فرمیک، نمک پتاسیم دی فرمات، نانوکیتوزان، *Cyprinus carpio*.

*مسئول مکاتبات:

azarmhamid@gmail.com

تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش : ۱۳۹۷/۰۷/۱۷

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۶۷۳:

این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

مقدمه

هدف نهایی انواع فعالیت‌های آبزی پروری، افزایش بازده تولید، ارتقای کیفیت محصول و افزایش میزان سوددهی می‌باشد. یکی از روش‌های افزایش تولید در آبزی پروری، کنترل بیماری بوده که در این زمینه می‌توان به استفاده از مکمل‌های تقویت اینمنی و رشد، پروبیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی (آنتمیکوتیک‌ها) اشاره کرد. در دو دهه اخیر مصرف داروهای ضد میکروبی برای درمان عفونت‌های مختلف ماهیان

به خصوص بیماری‌های باکتریایی افزایش یافته است که این مسئله سبب بروز مقاومت باکتریایی، تجمع این مواد در بدن ماهیان پرورشی، ایجاد خطرات بهداشتی برای مصرف‌کنندگان و نیز آلودگی محیط‌زیست می‌گردد (Aoki, 1992). لذا در جیره غذایی ماهیان می‌توان موادی به‌غیراز آنتی‌بیوتیک‌ها را افزود که با استفاده از آن‌ها، میزان رشد ماهیان بیشتر شده و طی زمان کمتری به محصول نهایی با همان کیفیت و چسبا باکیفیت بالاتری دست‌یافته. این مواد تحت عنوان محرک‌های رشد شناخته‌شده‌اند. از ترکیباتی که به عنوان جایگزین مواد ضد میکروبی مطرح می‌باشد می‌توان به اسیدهای آلی اشاره نمود. اسیدهای آلی می‌توانند به عنوان یک محرک رشد مورداستفاده قرار گیرد و درنتیجه باعث کاهش هزینه تولید شود (Luckstadt, 2008). همچنین مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد محرک‌هایی مانند کیتین (Chitin) و کیتوزان باعث تحریک سیستم ایمنی ماهی می‌شوند. این محرک‌ها سبب تسهیل عمل بیگانه‌خواری سلول‌های فاگوسیت کننده و افزایش فعالیت ضد باکتریایی آنها می‌شوند (Jiang and Li, 2001).

اسید فرمیک یک اسید آلی ضعیف و غیر سمی است که از سال ۱۹۴۶ میلادی به عنوان یک افزودنی غذایی به کار می‌رود (Malone, 2000; Xie *et al.*, 2003). از آن به عنوان محافظت‌کننده مواد غذایی استفاده شده است زیرا باعث کاهش باکتری‌ها در غذا می‌شود (Luckstadt, 2008). اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها قادر به مهار رشد میکروبی در غذا و درنتیجه حفظ تعادل میکروبی در دستگاه گوارش می‌باشند (Freitag, 2007). اسیدهای آلی ترکیباتی هستند که بین یک تا هفت اتم کربن دارند و به طور گسترده در گیاهان و حیوانات وجود دارند. این ترکیبات طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند. اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش سبب بهبود اثر آنزیم‌ها بر مواد غذایی و فراهم شدن مواد غذایی بیشتری برای حیوانات پرورشی می‌شوند که نتیجه آن کاهش مواد غذایی جذب نشده مناسب برای رشد باکتری‌ها است (Eidelsburger, 1998). اسیدهای آلی در دستگاه گوارش به دو صورت عمل می‌کنند، از طریق کاهش سطح pH در مده و جداسازی اسید از سلول باکتری (Liu, 2001). همچنین وجود اسیدهای آلی در غذا باعث افزایش ترشح آنزیم‌های پانکراسی و درنتیجه افزایش هضم‌پذیری مواد معدنی خواهد شد (Luckstadt, 2008). Skinner و Walder (1991) نشان دادند افزودن اسید فرمیک به جیره غذایی می‌تواند نوع و تعداد میکروب‌های روده را تحت تأثیر قرار دهد و سبب افزایش رشد، کاهش تلفات و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردد. اطلاعات موجود در مورد اثرات مفید جیره‌های حاوی اسیدهای آلی و نمک‌هایشان روی کارایی رشد در ماهیان متفاوت بوده و به نظر می‌رسد به عواملی همچون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک‌هایشان و یا ترکیب آن‌ها بستگی دارد. همچنین ترکیبات جیره‌های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل‌دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می‌باشند (Lim *et al.*, 2000).

پتاسیم دی فرمات (با نام تجاری فورمی) نمک مخصوص اسید فرمیک است که ویژگی‌های اسیدی و نمکی را باهم دارد. پتاسیم دی فرمات، نمک کربیستالی اسید فرمیک است. این نمک شکل تغییر‌یافته پتاسیم فرمات ساده است که یک پیوند هیدروژنی قوی بین پتاسیم فرمات و اسید فرمیک آزاد باعث به وجود آمدن آن شده است. در کربیستال پتاسیم دی فرمات، در ازای هر مولکول پتاسیم فرمات یک مولکول اسید وجود دارد (Diebold and Eidelsburger, 2006). پتاسیم دی فرمات اولین جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های خوارکی است که در اتحادیه اروپا مورد تأیید قرار گرفت (Falcao-E-Cunha *et al.*, 2007). تحقیقات بسیاری اثرات مثبت پتاسیم دی فرمات را بر عملکرد رشد، بهبود صعودی افزایش وزن و ضریب تبدیل خوارک در آبزیان تأیید کرده است. Windisch و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که استفاده از پتاسیم دی فرمات می‌تواند اثراتی مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها بر رشد و سلامتی حیوان داشته باشد.

در سال‌های اخیر، تحقیقاتی در رابطه با اثرات تغذیه‌ای اسیدهای آلی و پتاسیم دی فرمات انجام‌شده و اثرات مثبت این افزودنی‌ها بر عملکرد و ضریب تبدیل خوارک مورد تأیید قرار گرفته است. در این مورد، اسید فرمیک بیشتر موردنمود توجه بوده است. مکانیسم عمل آن‌ها از طریق ترشح آنزیم‌های گوارشی و افزایش بقا مواد مغذی و همچنین بهبود قابلیت هضم مواد مغذی اعمال می‌گردد که درنهایت به بهبود ضریب تبدیل خوارک و افزایش وزن روزانه منجر می‌شود. مزایای اقتصادی این افزودنی‌ها کاهش هزینه خوارک و کاهش طول دوره پرورش و سن عرضه به

بازار است. همچنین مشخص شده است که آنیون‌های اسیدی با عناصر کلسیم، فسفر، میزیم و روی ترکیب شده و باعث افزایش قابلیت هضم این عناصر می‌گردند (Partanen and Mroz, 1999).

Krome و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده نمودند که فاکتورهای رشد در بچه ماهیان کپور معمولی که در جیره غذایی آن‌ها اسید فرمیک و نمک پتاسیم فرمات به کاررفته بود در مقایسه با گروه شاهد به صورت مساوی و یا بیشتر بود. Luckstadt و Christiansen (۲۰۰۸) بررسی نمودند که افزودن پتاسیم دی‌فرمات (نمک اسید فرمیک) در سطح ۱/۴ درصد به جیره غذایی ماهی قزل آلا ضربی رشد ویژه (SGR) بالاتری نسبت به گروه شاهد داشته است. همچنین باعث بهبود ضربی تبدیل غذایی (FCR) نسبت به گروه شاهد نیز شده است.

Ramli و همکاران (۲۰۰۵) پتاسیم دی‌فرمات را به عنوان محرك رشد در جیره غذایی ماهی تیلاپیا به کاربردند. در این مطالعه ماهی‌ها شش بار در روز با جیره غذایی همراه با پتاسیم دی‌فرمات در سطوح (۰، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۰ درصد) در طی دوره ۸۵ روز تغذیه شدند. جیره غذایی شامل ۳۲ درصد پروتئین خام، ۲۵ درصد کربوهیدرات، ۶ درصد چربی و ۱۰ درصد فیبر بود. در طول این دوره پتاسیم دی‌فرمات به طور معنی‌داری باعث افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن (LWG) بهبود ضربی تبدیل غذایی (FCR) و نسبت کارایی پروتئین (PER) شد. علاوه بر آن نسبت کارایی پروتئین (PER) به دلیل افزودن نمک پتاسیم دی‌فرمات به طور قابل توجهی بهبود یافت. سطوح ۰/۰ و ۰/۵ درصد پتاسیم دی‌فرمات نسبت به سایر گروه‌ها بهبود بهتری را نشان دادند. بقا و زندگانی در چالشی که در روز ۱۰ تا ۳۰ این دوره با باکتری *Vibrio anguillarum* انجام شد به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود و این تأثیر وابسته به دز بود. محققین نتیجه گرفتند که کاربرد پتاسیم دی‌فرمات در سطح ۰/۰ درصد برای کنترل *V. anguillarum* در ماهی تیلاپیا بسیار مؤثر می‌باشد (Ramli et al., 2005).

Zhou و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای، افزایش وزن نهایی در ماهی تیلاپیا هیرید (*O. niloticus* × *O. aureus*) که به جیره غذایی آنها پتاسیم دی‌فرمات (KDF) در سطح ۳ گرم بر کیلوگرم افزوده شده بود به میزان ۱۱/۸ درصد گزارش نمودند، آن‌ها همچنین اعلام نمودند که افزودن سطوح بالاتر مکمل KDF به جیره غذایی ماهی تیلاپیا هیرید نتایج مثبتی از لحاظ بهبود عملکرد رشد ندارد.

همچنین کیتوzan به عنوان یکی از محرك‌های رشد و یک نوع پلی ساکارید با خاصیت تحریک رشد و تقویت ایمنی در آبزیان بوده که از نظر ساختار شیمیایی پلیمری از گلوکز آمین (Glucosamin) می‌باشد و از استیل زدایی (Deacetylation) کیتین به دست می‌آید. کیتوzan نسبت به کیتین حلالیت بیشتری در آب و سایر حلال‌های قطبی دارد. این ماده دارای بار الکتریکی مثبت بوده که همین امر سبب ایجاد پیوند با غشاء‌های حاوی بار منفی می‌شود (Kim and Rajapakes, 2005; Romoren et al., 2002). کیتوzan، پلی مر بتا (۱۰۴) ان-استیل دی گلوکز آمین است که از استیل زدایی کیتین استخراج شده از سخت‌پوستان، به تازگی حشرات و قارچ‌ها تولید می‌شود (Laskin et al., 2008). همچنین استفاده از نانوذرات در تحقیقات دهه‌ی اخیر جایگاه ویژه‌ای یافته است. کوچک نمودن اندازه‌ی اجزای مواد بیولوژیک در حد نانو، توان زیستی آن‌ها را به صورت فزاینده‌ای افزایش می‌دهد که این اثر در مورد مواد بیولوژیک پلی مری مثل کیتین و کیتوzan قابل توجه است و در بعضی تحقیقات کاهش اندازه‌ی ذرات در حد نانو افزایش معنی‌دار اثر بیولوژیک آن‌ها را باعث شده است (Bar-Ilan et al., 2009, Sharifzadeh et al., 2012). از طرفی با به کاربردن موادی مانند کیتوzan و یا نانو کیتوzan به همراه اسیدهای آلی در جیره غذایی آبزیان می‌توان اثر سینرژیستی کیتوzan را که خود نیز دارای خاصیت تحریک رشد و تقویت ایمنی در آبزیان بوده دنبال کرد. آزمایش‌های انجام گرفته بر خصوصیات تقدیمه‌ای نشان داده‌اند که کیتوzan غیر سمتی و از نظر بیولوژیکی ایمن است و از طرفی اثر ضد میکروبی بر انواع میکرووارگانیسم‌ها دارد (Jiang and Li, 2001). مخرمها و کپک‌ها حساسیت زیادی به این ماده دارند و پس از آن‌ها باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی حساسیت کمتری دارند. کیتوzan به عنوان عامل باکتریوسیسید یا باکتریوستاتیک عمل می‌کند ولی تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که اثر کیتوzan بیشتر به صورت عاملی باکتریوستاتیک است (Raafat et al., 2008). از طرفی به کارگیری فناوری نانو می‌تواند باعث افزایش کارایی و ارتقای پایداری مواد پوشش دار شود. کاهش اندازه‌ی ذرات و کوچکترشدن منفذ پوشش‌ها باعث افزایش کارایی آن‌ها در مقایسه با پوشش‌های خوراکی معمولی می‌شود. مطالعات نشان داده است که کاربرد پوشش‌های نانومولسیون کیتوzan باعث افزایش ماندگاری بیشتر مواد در مقایسه با کیتوzan

می شود (Eshghi *et al.*, 2012; Mohammadhosseini *et al.*, 2012) در مطالعات انجام شده توسط Esmaeili و همکاران (۲۰۱۴) و بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و همکاران (۲۰۰۸) بر روی کفشک ماهی زیتونی (*Parallichthys olivaceus*) و همکاران (۲۰۱۳) بر روی کپور روهو (*Labe rohita*) نشان داده شده است که کاربرد کیتوزان در جیره غذایی منجر به بهبود عملکرد رشد می شود، در صورتی که استفاده از سطوح مختلف کیتوزان (۲، ۵ و ۱۰ درصد) بر رشد گونه های تیلاپیا (*Orechromis auratus*) و شیا و یا (*Orechromis niloticus*) نه تنها باعث افزایش رشد این ماهی نشده است بلکه موجب کاهش رشد آن گردیده است (Shiau and Ya, 1999).

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با نام علمی (*Common carp*) ابتدا بومی آسیای مرکزی بوده است (پیغان و عبدالله مشایی، ۱۳۸۷). این ماهی طی قرن های متتمادی به نواحی مختلف جهان گسترش طبیعی پیدا کرده و یا توسط انسان منتقل شده است. کپور معمولی به دلیل قابلیت تحمل بالا در مقابل نوسانات محیطی و استفاده از محدوده وسیعی از مواد غذایی قابل دسترس جزو گونه های مهم پرورشی بوده و تقریباً در سراسر دنیا پرورش داده می شود (Tokur *et al.*, 2006). همچنین این گونه به عنوان یکی از گونه های مهم پرورشی در ایران نیز محسوب می شود.

به همین منظور تحقیق حاضر باهدف کاربرد اسید فرمیک، نمک آن (پتاسیم دی فرمات) و محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی به منظور افزایش رشد و بهبود ترکیب لشه ماهی کپور معمولی صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

برای انجام این پژوهش تعداد ۴۵۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی (با متوسط وزن $16/5 \pm 0/5$ گرم) از مرکز شهید ملکی در ۲۰ کیلومتری شهر اهواز تهیه شده و با استفاده از کپسول اکسیژن و مخازن مخصوص حمل آبزیان همراه با هواهی مداوم به آزمایشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. قبل از ذخیره سازی، تانک ها کاملاً ضدغونی و با آب شستشو داده شده و خشک شدند، سپس تانک ها با آب شهری پر شدند و پس از دو روز هواهی شدید ماهیان به طور کاملاً تصادفی بین ۳۰ تانک پلی اتیلن با حجم ۳۰۰ لیتر توزیع شدند (۱۵ عدد ماهی در هر تانک). دوره نوری با شرایط طبیعی روز (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) تنظیم و داخل هر تانک نیز یک سنگ هوا برای تأمین اکسیژن قرار داده شد. پارامترهای آب شامل دما، اکسیژن محلول و pH با استفاده از مولتی متر مدل HQ40d ساخت آلمان اندازه گیری و اطلاعات آن ها ثبت گردید (جدول ۱).

جدول ۱: برخی از ویژگی های کیفی اندازه گیری شده در آب مورد استفاده.

ویژگی	میانگین دما (سانتی گراد)	اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر)	پهاش
نمونه آب	۲۵-۲۶	۵-۶	۷/۵-۷/۸

به منظور حفظ کیفیت آب، هر دو روز یک بار حدود ۲۵ درصد حجم آب تعویض شد. تانک ها روزانه از لحاظ مرگ و میر بررسی شدند. دوره هی سازگاری ماهیان جهت سازگار شدن با شرایط جدید به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش در خود تانک ها به طول انجامید. در این مطالعه تیمارهای آزمایشی ۱۰ گروه (سه گروه محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد، سه گروه اسید فرمیک به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد، سه گروه نمک پتاسیم دی فرمات به همراه غذای تجاری در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد و یک گروه غذای پلت تجاری ماهی کپور که از شرکت ۲۱ بیضاء شیراز تهیه شده بود

به عنوان شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از آن، غذادهی به تعداد ۳ بار در روز به روش دستی و تا حد سیری به مدت هشت هفته تعذیه شدند. هوادهی در زمان غذادهی قطع و پس از ۲۰ دقیقه مجدداً انجام شد.

برای تهیه نانوکیتوزان اقدام به استخراج کیتین از پوسته‌های جمع‌آوری شده از میگو نموده به‌این‌ترتیب که ابتدا پوسته‌ها با آب تمیز شسته و در آون با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک و سپس در هاون خرد شدند. سپس بهمنظور کانی‌زدایی و حذف مواد معدنی از پوسته میگو از اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال در دو مرحله استفاده گردید. سپس با شستشو pH به حد ۷ رسانده شده و در آون خشک گردید. نهایتاً با استفاده از محلول سود یک نرمال پروتئین‌ها حذف و رنگبری کیتین حاصل با اتانول ۹۶ درجه انجام شد (Abdou *et al.*, 2008, Rodde *et al.*, 2008). جهت داستیله کردن کیتین و تبدیل آن به کیتوزان از محلول غلیظ سود استفاده شد. بدین منظور هر گرم از کیتین با ۱۵ میلی‌لیتر محلول سود ۵۰ درصد مخلوط شده و به مدت ۲۰ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس کیتوزان تهیه شده با مقدار کافی آب مقطر شستشو شده تا pH آن به حد خنثی برسد. کیتوزان حاصل در آون خشک و سپس به‌وسیله آسیاب پودر شد (Abdou *et al.*, 2008; Rodde *et al.*, 2008). جهت تعیین درصد داستیلاسیون کیتوزان به‌دست‌آمده از روش آنالیز عنصری استفاده شد. در این روش میزان عناصر کربن و نیتروژن کیتوزان تهیه شده به‌وسیله دستگاه آنالیز عناصر (Elemental Analyzer, PerkinElmer, Model 2400SII) اندازه‌گیری شد. همچنین جهت تعیین وزن مولکولی کیتوزان از ارتباط بین ویسکوزیتهٔ ذاتی محلول کیتوزان و وزن مولکولی استفاده شد. تبدیل کیتوزان به نانوکیتوزان به روش ژلاسیون یونوتروبیک انجام شد. بدین منظور ۴ میلی‌لیتر محلول سدیم تری‌پلی‌فسفات دو درصد به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان در اسید فرمیک یک درصد (یک گرم کیتوزان در ۱۰۰ سی سی محلول اسید فرمیک یک درصد) که بر روی همزن مغناطیسی در حال هم زدن بود، افزوده شده و عمل هم زدن به مدت دو ساعت ادامه یافت (Du *et al.*, 2009). شکسته شدن پیوندهای بین واحدهای پلیمر کیتوزان باعث تبدیل این ماده به واحدهای در حد نانو می‌گردد. پس از این مدت محلول نانوکیتوزان به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سونیکاتور قرار گرفت. بهمنظور تعیین مشخصات نانوکیتوزان تولید شده، توزیع میزان پتانسیل زتا و اندازه نانوذرات کیتوزان به‌وسیله دستگاه زetasizer (Zetasizer Nano-ZS-900, Malvern Instruments) در پایان دوره، در پایان دوره، ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری به جهت کاهش استرس غذادهی قطع شد. سپس بهمنظور زیست‌سننجی کل ماهی‌های هر تکرار با عصاره گل میخک با مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شده و به صورت جدا از هم‌وزن می‌شدند.

برای بررسی عملکرد جیره‌های مورد آزمایش بر رشد ماهیان و مقایسه بین تیمارها پس از ۸ هفته شاخص‌های رشد و تعذیه‌ای با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Gibson and Roberfroid, 1995).

$$(گرم) وزن اولیه بدن - (گرم) وزن نهایی بدن = (افزایش وزن بدن)$$

$$100 \times \{ طول دوره ((گرم) لگاریتم طبیعی وزن اولیه بدن پرورش (روز) / (گرم) لگاریتم طبیعی وزن نهایی بدن)\} = (SGR) درصد نرخ رشد ویژه$$

$$\text{تعداد کلی ماهیان در انتهای دوره} / (\text{گرم}) \text{ وزن کلی ماهیان در انتهای دوره} = (FAW) \text{ میانگین وزن نهایی}$$

$$\text{تعداد بچه ماهیان در انتهای دوره} / \text{تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره} = (SUR) \text{ بازماندگی}$$

$$(گرم) افزایش وزن بدن / (گرم) مقدار غذای خورده شده = (FCR) ضریب تبدیل غذا$$

$$2 / \text{تعداد روزهای پرورش} \times (\text{وزن نهایی ماهیان} + \text{وزن اولیه ماهیان}) / 100 \times \text{غذای خورده شده بر اساس وزن خشک} = (DFI\%) \text{ غذای دریافتی روزانه}$$

$$\text{تعداد} \times (\text{وزن نهایی ماهیان} + \text{وزن اولیه ماهیان}) / 100 \times \text{پروتئین خورده شده بر اساس وزن خشک} = (DPI\%) \text{ پروتئین دریافتی روزانه} \\ 2 / \text{روزهای پرورش}$$

$$(گرم) مقدار پروتئین غذای خورده شده / (گرم) میزان افزایش وزن بدن = (PER) ضریب کارایی پروتئین$$

در انتهای آزمایش بهمنظور تعیین ترکیب لашه، از هر تکرار به تعداد ۵ عدد ماهی بعد از اعمال یک روز گرسنگی برداشت شد و تمام لاشه ماهیان در داخل فریزر -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شده تا آنالیز لاشه روی آن صورت گیرد. سنجش میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر لاشه ماهیان به روش AOAC (1995) انجام شد.

برای تعیین میزان رطوبت، از طریق خشک نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت، خاکستر نمونه‌ها با سوزاندن نمونه و از بین بردن مواد آلی و باقیمانده مواد معدنی در دمای در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت، پروتئین کل با استفاده از دستگاه کجلدال اتوماتیک با ضرب میزان نیتروژن به دست آمده در عدد $6/25$ و چربی کل ماهیان از روش سوکسله با استفاده از حلال اندازه- گیری شد (AOAC, 2005).

این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. کلیه داده‌ها به صورت میانگین داده \pm خطای استاندارد بیان شده است. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk و همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون Leven بررسی شد و سپس از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) استفاده شد، وجود تفاوت معنی‌دار در داده‌ها در سطح احتمال $p \leq 0.05$ با پس‌آزمون Duncan's بررسی شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش نوزدهم انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر شاخص‌های رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد وزن نهایی (FAW) ماهی کپور معمولی در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). به طوری که گروه شاهد، تیمارهای سوم و چهارم بیشترین وزن نهایی (گرم) ($61/41 \pm 0.61$ ، $61/56 \pm 0.61$ و $61/63 \pm 0.61$) و تیمارهای هشتم، نهم و دهم کمترین وزن نهایی (گرم) ($58/49 \pm 0.49$ و $58/38 \pm 0.38$ ، $58/28 \pm 0.28$ و $58/22 \pm 0.22$) را در بین تیمارها داشتند.

نتایج این تحقیق نشان داد شاخص‌های افزایش وزن بدن (WG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در تمام تیمارها (به استثنای تیمارهای هشتم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). به طوری که افزایش وزن بدن (WG، گرم) در تیمار چهارم بیشترین مقدار ($14/11 \pm 0.14$) و در تیمارهای هشتم و دهم به ترتیب کمترین مقدار ($64/76 \pm 0.64$ و $64/76 \pm 0.64$) را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. همچنین نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمار چهارم بیشترین مقدار ($0.01/0.94 \pm 0.01$) و در تیمارهای ۸ و ۱۰ کمترین مقدار ($0.04/0.71 \pm 0.04$ و $0.02/0.66 \pm 0.02$) را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. همچنین یافته‌های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که جیره‌های غذایی بکار رفته تأثیری در نتایج درصد بازماندگی نداشته است ($P > 0.05$).

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (میانگین ± خطای استاندارد، $n=3$).

گروه	نوع جیره	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	نرخ رشد (WG)	درصد بازماندگی (SGR)	ویژه (GR)	درصد (SUR)
۱(شاهد)	غذای تجاری	۲۷/۵۶±۰/۶۱ ^a	۱۰/۸۳±۰/۵۷ ^{ab}	۰/۸۹±۰/۳۷ ^{ab}	۹۷/۷۶±۲/۲۳ ^a		
۲	غذای تجاری + ۰٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	۲۶/۰۸±۰/۰۵ ^{ab}	۹/۳±۰/۰۰ ^{abc}	۰/۷۸±۰/۰۰ ^{abc}	۱۰۰±۰/۰۰ ^a		
۳	غذای تجاری + ۰٪ اسید فرمیک	۲۷/۶۷±۰/۶۱ ^a	۱۱/۱۳±۰/۷۹ ^{ab}	۰/۹۱±۰/۰۵ ^{ab}	۹۷/۷۶±۲/۲۳ ^a		
۴	غذای تجاری + ۰٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۲۷/۶۳±۰/۰۶ ^a	۱۱/۳۳±۰/۱۴ ^a	۰/۹۴±۰/۰۱ ^a	۱۰۰±۰/۰۰ ^a		
۵	غذای تجاری + ۰٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	۲۵/۸۸±۰/۰۹۵ ^{ab}	۹/۴±۰/۰۹ ^{abc}	۰/۸۰±۰/۰۶ ^{abc}	۱۰۰±۰/۰۰ ^a		
۶	غذای تجاری + ۰٪ اسید فرمیک	۲۵/۶۳±۰/۷۱ ^{ab}	۹/۲۳±۰/۸۵ ^{abc}	۰/۸۰±۰/۰۶ ^{abc}	۹۱/۱۰±۰/۸۷ ^a		
۷	غذای تجاری + ۰٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۲۵/۶۹±۰/۰۶ ^{ab}	۹/۲±۰/۴ ^{abc}	۰/۷۹±۰/۰۴ ^{abc}	۹۶/۶۵±۳/۳۵ ^a		
۸	غذای تجاری + ۰٪ محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک	۲۴/۳۱±۰/۰۵۸ ^b	۷/۹۶±۰/۶۴ ^c	۰/۷۱±۰/۰۴ ^c	۹۷/۷۶±۲/۲۳ ^a		
۹	غذای تجاری + ۰٪ اسید فرمیک	۲۵/۳۲±۰/۳۸ ^b	۸/۹±۰/۲۶ ^{bc}	۰/۷۷±۰/۰۲ ^{bc}	۹۵/۵۶±۴/۴۳ ^a		
۱۰	غذای تجاری + ۰٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۲۴/۲۲±۰/۰۴۹ ^b	۸/۲۳±۰/۷۶ ^c	۰/۶۶±۰/۰۲ ^c	۹۳/۳۰±۰/۰۰ ^a		

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($P<0.05$)

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر شاخص‌های تغذیه در طول دوره مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درصد غذای دریافتی روزانه (DFI) در بین تیمارهای موردمطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0.05$). بر این اساس تیمار دهم بیشترین (۱/۶۶±۰/۰۴) غذای دریافتی روزانه را در مقایسه با تیمار شاهد (۰/۰۲±۰/۰۴) نشان داد ($P<0.05$). همچنین بررسی نتایج (جدول ۳) مشخص نمود که تیمار هشتم و نهم (۰/۵۹ و ۰/۵۷) در درجه دوم از نظر دریافت غذای روزانه قرار گرفتند. از طرفی شاخص درصد پروتئین دریافتی روزانه (DPI) در بین تیمارهای موردمطالعه (به جزء تیمارهای هشتم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>0.05$). بیشترین مقدار درصد پروتئین دریافتی روزانه (DPI) در تیمار دهم (۰/۰۱±۰/۰۵) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد (۰/۰۰±۰/۰۴۵) بود.

بررسی نتایج (جدول ۳) نشان داد که ضریب کارایی پروتئین (PER) در تمام تیمارهای موردمطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P>0.05$). بهطوری که کمترین میزان ضریب کارایی پروتئین در تیمار دهم (۰/۱۰±۰/۱۰) و بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد، سوم و چهارم به ترتیب در مقادیر (۰/۱۵، ۰/۹۰±۰/۰۸ و ۰/۸۳±۰/۰۳) مشاهده شد. نتایج حاصل از این تحقیق (جدول ۳) نشان داد ضریب تبدیل غذایی (FCR)، در تمام تیمارهای موردمطالعه (به جزء تیمارهای هشتم، نهم و دهم) در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0.05$). بهطوری که بیشترین ضریب غذایی (FCR)، در تیمار دهم (۰/۱۵±۰/۰۲) و کمترین به ترتیب در تیمارهای شاهد و سوم و چهارم (۰/۱۲، ۰/۶۶±۰/۰۵ و ۰/۷۰±۰/۰۵) مشاهده شد.

جدول ۳: شاخص‌های تغذیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با جیره‌های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (میانگین ± خطای استاندارد، n=۳).

گروه	نوع جیره	غذایی تجاري	غذای دریافتی	ضریب کارایی	ضریب تبدیل (FCR)
		روزانه% (DFI)	بروتئین دریافتی (DPI)	بروتئین (PER)	غذایی (DPI)
۱ (شاهد)	غذایی تجاري	۱/۴۰±۰/۰۲ ^c	۰/۴۵±۰/۰۰ ^c	۱/۹۰±۰/۱۵ ^a	۱/۶۶±۰/۱۲ ^c
۲	غذایی تجاري + ۰/۲۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱/۵۲±۰/۰۳ ^{abc}	۰/۴۹±۰/۰۱ ^{abc}	۱/۶۰±۰/۰۰ ^{ab}	۱/۹۵±۰/۰۵ ^{bc}
۳	غذایی تجاري + ۰/۲۵٪ اسید فرمیک	۱/۵۰±۰/۰۱ ^{bc}	۰/۴۸±۰/۰۰ ^{abc}	۱/۸۳±۰/۰۸ ^a	۱/۷۰±۰/۰۵ ^c
۴	غذایی تجاري + ۰/۲۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱/۴۸±۰/۰۰ ^{bc}	۰/۴۷±۰/۰۰ ^{bc}	۱/۹۳±۰/۰۳ ^a	۱/۶۰±۰/۰۰ ^c
۵	غذایی تجاري + ۰/۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱/۵۰±۰/۰۵ ^{bc}	۰/۴۸±۰/۰۱ ^{abc}	۱/۶۶±۰/۱۷ ^{ab}	۱/۹۳±۰/۲۰ ^{bc}
۶	غذایی تجاري + ۰/۵٪ اسید فرمیک	۱/۴۶±۰/۱۰ ^{bc}	۰/۴۷±۰/۰۳ ^{bc}	۱/۵۳±۰/۱۶ ^{ab}	۲/۱۲±۰/۲۸ ^{bc}
۷	غذایی تجاري + ۰/۰٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱/۵۳±۰/۰۲ ^{abc}	۰/۴۹±۰/۰۱ ^{abc}	۱/۵۵±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۰۰±۰/۰۰ ^{bc}
۸	غذایی تجاري + ۰/۷۵٪ محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک	۱/۵۹±۰/۰۰ ^{ab}	۰/۵۱±۰/۰۰ ^{ab}	۱/۳۰±۰/۰۵ ^{bc}	۲/۳۶±۰/۰۶ ^{ab}
۹	غذایی تجاري + ۰/۷۵٪ اسید فرمیک	۱/۵۷±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۵۰±۰/۰۰ ^{abc}	۱/۴۰±۰/۱۱ ^{bc}	۲/۲۶±۰/۲۳ ^b
۱۰	غذایی تجاري + ۰/۷۵٪ نمک پتاسیم دی فرمات	۱/۶۶±۰/۰۴ ^a	۰/۵۳±۰/۰۱ ^a	۱/۱۰±۰/۱۰ ^c	۲/۸۵±۰/۱۵ ^a

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایشی است (P<0/05)

نتایج حاصل از اثر اسید فرمیک و نمک آن (پتاسیم دی فرمات)، محلول نانو کیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی کپور معمولی بر ترکیب لاشه در طول دوره مطالعه در جدول ۴ نشان داده شده است.

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین در تمام تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمار دهم) در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشته است (P>0/05). به طوری که میزان پروتئین در تیمار دهم (۱۸/۰۹±۰/۵۵ درصد) نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود (P<0/05). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی داری داشت (P<0/05). بر این اساس بیشترین میزان چربی در تیمار پنجم (۱۵/۳۳±۰/۵۵ درصد) و کمترین در تیمار هشتم (۱۰/۹۱±۰/۲۲) در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. بررسی نتایج در جدول ۴ نشان داد که میزان خاکستر در بین تیمارهای مورد مطالعه (به جزء تیمارهای چهارم، پنجم، نهم و دهم) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نداشت (P>0/05). بیشترین مقدار خاکستر در تیمار دوم (۷/۳۹±۰/۰۴) در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. کمترین میزان خاکستر را تیمار دهم (۴/۳۴±۰/۲۹) به خود اختصاص داده است.

همچنین نتایج حاصل از این تحقیق در انتهای دوره آزمایش نشان داد، درصد رطوبت از لحاظ سطح آماری، در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری نداشته است (P>0/05).

جدول ۷: ترکیبات لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با جیره های مختلف آزمایشی به مدت ۸ هفته (درصد وزن تر) (میانگین \pm خطای استاندارد، $n=3$).

گروه	نوع جیره	پروتئین (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)
۱ (شاهد)	غذای تجاری	۱۵/۹۳ \pm ۰/۰۵ ^{bcd}	۱۲/۸۴ \pm ۰/۴۷ ^b	۷/۰۲ \pm ۰/۰۱ ^{ab}	۶۶/۱۱ \pm ۱/۲۵ ^a
۲	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ محلول نانو کیتوzan در اسید فرمیک	۱۷/۳۷ \pm ۰/۰۲ ^{ab}	۱۳/۴۴ \pm ۰/۱۶ ^b	۷/۳۹ \pm ۰/۰۴ ^a	۶۶/۷۳ \pm ۰/۰۹ ^a
۳	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ اسید فرمیک	۱۶/۰۳ \pm ۰/۰۷ ^{bcd}	۱۴/۷۷ \pm ۰/۶۸ ^a	۵/۲۴ \pm ۰/۰۲ ^{bc}	۶۷/۳۴ \pm ۱/۰۵ ^a
۴	غذای تجاری + ۰/۲۵٪ نمک پتابسیم دی فرمات	۱۵/۷۱ \pm ۰/۰۳ ^{cd}	۱۴/۶۳ \pm ۰/۰۳ ^a	۴/۷۵ \pm ۰/۰۱ ^c	۶۶/۵۳ \pm ۰/۷۵ ^a
۵	غذای تجاری + ۰/۰۵٪ محلول نانو کیتوzan در اسید فرمیک	۱۶/۹۶ \pm ۰/۰۶ ^{abc}	۱۵/۲۳ \pm ۰/۰۵ ^a	۴/۹۷ \pm ۰/۰۹ ^c	۶۶/۹۹ \pm ۱/۱۸ ^a
۶	غذای تجاری + ۰/۰۵٪ اسید فرمیک	۱۶/۴۶ \pm ۰/۰۲ ^{bcd}	۱۲/۶۳ \pm ۰/۱۵ ^b	۶/۰۵ \pm ۰/۰۶ ^{abc}	۶۸/۰۴ \pm ۰/۳۹ ^a
۷	غذای تجاری + ۰/۰۵٪ نمک پتابسیم دی فرمات	۱۵/۲۵ \pm ۰/۰۱ ^d	۱۵/۱۱ \pm ۰/۰۱ ^a	۵/۱۹ \pm ۰/۰۴ ^{bc}	۶۵/۶۸ \pm ۰/۲۴ ^a
۸	غذای تجاری + ۰/۰۷۵٪ محلول نانو کیتوzan در اسید فرمیک	۱۶/۹۶ \pm ۰/۰۳ ^{abc}	۱۰/۹۱ \pm ۰/۲۲ ^c	۵/۱۵ \pm ۰/۰۸ ^{bc}	۶۷/۰۹ \pm ۰/۶۸ ^a
۹	غذای تجاری + ۰/۰۷۵٪ اسید فرمیک	۱۵/۱۶ \pm ۰/۰۳ ^d	۱۴/۸۳ \pm ۰/۰۳ ^a	۴/۷۹ \pm ۰/۰۴ ^c	۶۵/۵۲ \pm ۰/۰۹ ^a
۱۰	غذای تجاری + ۰/۰۷۵٪ نمک پتابسیم دی فرمات	۱۸/۰۹ \pm ۰/۰۵ ^a	۱۲/۳۶ \pm ۰/۰۳ ^b	۴/۳۴ \pm ۰/۰۲ ^c	۶۶/۳۴ \pm ۱/۰۳ ^a

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی است ($P<0.05$)

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای هشتم، نهم و دهم (سطوح بالای افزودنی در جیره غذایی) کمترین مقادیر وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه را در بین سایر تیمارها داشته اند که در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بوده است. لذا مقدار وزن نهایی (گرم) در تیمارهای هشتم، نهم و دهم به ترتیب $۰/۵۸$ ، $۰/۳۱\pm ۰/۲۴$ ، $۰/۴۹$ و $۰/۳۸$ ، $۰/۳۲\pm ۰/۲۴$ ، افزایش وزن بدن (WG، گرم) به ترتیب $۰/۶۴$ ، $۰/۶۶\pm ۰/۰۲$ و $۰/۶۸$ بوده است. از طرفی بررسی نتایج شاخص های تغذیه ای نشان داد که تیمار دهم بیشترین درصد غذای دریافتی روزانه ($۰/۰۴\pm ۰/۰۱$) را در مقایسه با تیمار شاهد ($۰/۰۲\pm ۰/۰۰$) نشان داد و تیمارهای هشتم و نهم ($۰/۰۰\pm ۰/۰۰$ و $۰/۰۱\pm ۰/۰۱$) در درجه دوم از نظر دریافت غذای روزانه قرار گرفتند. همچنین مقدار درصد پروتئین دریافتی روزانه در تیمار دهم ($۰/۰۱\pm ۰/۰۰$) بیشترین مقدار بوده که در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری داشته است. از طرفی مقدار ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد ($۰/۱۲\pm ۰/۰۱$) در مقایسه با تیمارهای هشتم ($۰/۰۱\pm ۰/۰۴$) اختلاف معنی داری داشته است. همچنین ضریب کارایی پروتئین در تیمارهای هشتم، نهم ($۰/۰۲\pm ۰/۰۰$) و دهم ($۰/۰۱\pm ۰/۰۱$) اختلاف معنی داری را نشان داد. همچنین ضریب کارایی پروتئین در تیمارهای هشتم، نهم و دهم در مقایسه با سایر تیمارها کاهش یافته است که با گروه شاهد نیز دارای تفاوت معنی داری بوده است. به طوری که کمترین میزان ضریب کارایی پروتئین در تیمار دهم ($۰/۰۱\pm ۰/۰۱$) مشاهده شد.

اطلاعات موجود در مورد اثرات مقید جیره های حاوی اسیدهای آلی و نمک هایشان در جیره بر روی کارایی رشد در ماهیان متناقض بوده و به نظر می رسد به عواملی همچون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک هایشان و یا ترکیب آن ها بستگی دارد. همچنین ترکیبات جیره های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می باشند (Strom و Ringo, 2000). (lim et al., ۱۹۹۴) بیان نمودند جیره های حاوی اسید آلی (اسید لاکتیک و اسید پروپیونیک) باعث افزایش وزن در ماهی چار (*Salvelinus alpinus*) در مقایسه با گروه شاهد (فائد اسید آلی) می شود. Sudagar و همکاران (۲۰۱۰) نیز در طی مطالعه ای اعلام نمودند استفاده از اسید آلی به عنوان ماده جاذب در جیره غذایی فیل ماهیان جوان به میزان ۵ ، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم باعث افزایش وزن نهایی و بهبود معنی دار نرخ رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و کاهش ضریب تبدیل غذایی می گردد. Krome و

همکاران (۲۰۱۸) مشاهده نمودند که فاکتورهای رشد در بچه ماهیان کپور معمولی که در جیره غذایی آنها اسید فرمیک و نمک پتاسیم فرمات به کاررفته بود در مقایسه با گروه شاهد به صورت مساوی و یا بیشتر بود. Wing-Keong و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ی خود بیان نمودند که اختلاف معنی‌داری در میزان رشد و غذای مصرفی و هضم پذیری بین جیره‌های حاوی اسید آلی و گروه شاهد (فاقد اسید آلی) در ماهی تیلاپیا مشاهده نشد.

لذا به نظر می‌رسد احتمالاً استفاده از مقادیر بالای اسید فرمیک و یا نمک آن از طریق اثرگذاری بر مقدار pH دستگاه گوارشی منجر به اختلال در هضم و جذب غذای دریافتی و درنتیجه کاهش کارایی غذا، کارایی پروتئین دریافتی، افزایش ضربی تبدیل غذایی و درنتیجه کاهش رشد شده است. از طرفی سطح پایین مکمل‌های افزودنی نیز نتوانسته‌اند شاخص‌های رشد را نسبت به گروه شاهد افزایش دهند؛ که ممکن است دلیل این موضوع وضعیت فیزیولوژیک دستگاه گوارشی ماهی کپور باشد. چراکه تحقیقات محققین نشان از اثرگذاری مؤثر اسیدهای آلی و نمک‌های آن در ماهیان گوشتخوار دارد.

Zaki و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که وجود کیتوزان در جیره‌ی غذایی باعث افزایش رشد، پاسخ ایمنی غیراختصاصی، کاهش مرگومیر و بهبود عملکرد رشد ماهی (*Dicentrarchus labrax*) گردید. Arul Gopalakannan و (۲۰۰۶) گزارش نمودند که کیتوزان با افزایش قابلیت هضم و جذب غذا باعث رشد بیشتر و کاهش ضربی تبدیل غذایی در گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌شود. همچنین بهبود شاخص‌های تغذیه‌ای از جمله ضربی تبدیل غذایی ماهیان در اثر استفاده خوراکی از کیتوزان توسط Keferstein و (۱۹۹۷) هم گزارش شده است؛ اما نتایج حاصل از تحقیق حاضر با یافته‌های سایر محققین در خصوص کاربرد نانوکیتوزان به عنوان محرك رشد در جیره غذایی گونه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، همخوانی نداشت و مشخص گردید که استفاده از سطوح بالای محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک (۷۵/۰ درصد) در جیره غذایی منجر به کاهش معنی‌دار کارایی غذا و پروتئین دریافتی و درنتیجه کاهش سرعت رشد ویژه در ماهیان شده است. بیان شده است استفاده از نانوکیتوزان به عنوان افزودنی غیرقابل هضم می‌تواند تأثیراتی بر سلامت و تعییر در نوع و تعداد باکتری‌های روده داشته باشد (آفت‌گرد و همکاران، ۱۳۹۰). لذا به نظر می‌رسد استفاده از محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در سطوح بالا، از طریق اثرگذاری بر قابلیت هضم جیره‌های غذایی و فلور لومن روده منجر به اختلال در کارایی مواد مغذی دریافتی مانند پروتئین و چربی جیره غذایی و درنتیجه کاهش رشد در ماهیان شده است.

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین در تیمار دوم حاوی ۲۵/۰ درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در مقایسه با گروه شاهد بهبودیافته است. همچنین بررسی نتایج در جدول ۴ نشان داد که میزان خاکستر در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر بوده‌اند و در تیمار دوم، مقدار آن ($۰/۰۴\pm ۰/۳۹$) در مقایسه با سایر تیمارها بالاتر بود. همچنین میزان درصد رطوبت از لحاظ سطح آماری، در بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. Wang و Li (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای تأثیر کیتوزان و نانوکیتوزان را بر روی رشد، بازماندگی و کیفیت لашه تیلاپیا (*Oreochromis nilotica*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مکمل نانوکیتوزان در جیره‌غذایی باعث بهبود کیفیت گوشت تیلاپیا (*Oreochromis nilotica*) شده است.

لذا باید توجه داشت که رشد و ترکیبات شیمیایی بدن ماهی می‌تواند تحت تأثیر مستقیم تعییرات منابع غذایی قرار گیرد (Kang,ombe et al., 2007)؛ بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از سطوح متفاوت اسید فرمیک، نمک اسید فرمیک یا محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک می‌تواند از طریق اثرگذاری بر پارامترهای تغذیه‌ای مانند مقدار غذای دریافتی بر ترکیب لاشه ماهیان مانند پروتئین و خاکستر اثرگذار باشد. میزان چربی در بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ سطح آماری اختلاف معنی‌داری داشت. بر این اساس کمترین میزان چربی در تیمار هشتم حاوی ۷۵/۰ نانوکیتوزان محلول در اسید فرمیک ($۰/۹۱\pm ۰/۲۲$) در مقایسه با شاهد ($۰/۴۷\pm ۰/۸۴$) مشاهده شد، که دلیل این امر را می‌توان در نقش مانع کنندگی کیتوزان در سطوح بالای مصرف، از جذب کامل چربی‌های جیره غذایی در دستگاه گوارش جستجو کرد (Shiau and Ya, 1999). به عبارت دیگر این امکان وجود دارد که سطوح بالای نانوکیتوزان با کاهش دادن جذب چربی‌ها، باعث کاهش چربی لاشه ماهیان

شده است. این نکته که کیتوزان در انسان هم با مکانیسم جلوگیری از جذب چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها در روده به عنوان یک ماده خد چاقی مطرح است (Melinda, 2012)، می‌تواند تأثیر دیگری بر نقش نانوکیتوزان در سطوح بالا بر کاهش چربی بدن باشد. همچنین نتایج متفاوت به دنبال استفاده از نانوکیتوزان در حیوانات مختلف تحت تأثیر اختلاف گونه‌ای، اندازه‌ی ذرات نانوکیتوزان، میزان و مدت استفاده از آن و همچنین شرایط محیطی متفاوت انجام تحقیق می‌باشد.

به طور کلی با توجه به نتایج تحقیق حاضر استفاده از ۰/۲۵ درصد محلول نانوکیتوزان در اسید فرمیک در جیره غذایی، برای بهبود کیفیت لاشه ماهیان کپور معمولی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به لحاظ حمایت مالی از این پژوهه در قالب رساله دکتری تخصصی قدردانی می‌شود.

منابع

آفتتابگرد، م، زمینی، ع. و ارشاد لنگرودی، ه. ۱۳۹۰. تأثیر پری بیوتیک ایمنواستر بر شاخص‌های رشد، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن بچه ماهیان انگشت قد ماهی سفید دریایی خزر (*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۱۲-۱۰۰.

پیغان، رو. و عبدالله مشایی، م. ۱۳۸۷. مدیریت مزارع پرورشی ماهی گرمایی، بهداشت و تغذیه ماهی‌ها. چاپ دوم، انتشارات دریاسر، تهران، ۲۶۴ ص.

Aathi, K., V. Ramasubramanian, V. Uthayakumar and Munirasu, S., 2013. Effect of supplemented diet on survival, growth, hematological, biochemical and immunological responses of indian major carp labeo rohita. International Research Journal of Pharmacy, 4(5):141-147.

Abdou, E. S., Nagy, S. A. and Elsabee, Z. M., 2008. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource Technology, 99: 1359-1367.

Aoki, T., 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: Shariff M., Subasighe R.P. and Arthur J.R., (Eds), Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 519-529.

Bar-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V. E. and Furgeson, D. Y., 2009. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos, Small, 5(1): 1897-1910.

Cha, S. H., Lee, J. S., Song, C. B., Lee, K. J. and Jeon, Y. J., 2008. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 278:110-118.

Christiansen, R. and Luckstadt, C., 2008. Effects of different dosages of potassium diformate in fishmeal on the performance of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Abstract CD-Rom, World Aquaculture Society, 19-23 May, Busan, Korea.

Diebold, G. and Eidelsburger, U., 2006. Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. Wageningen Academic publishers. Wageningen the Netherlands, pp. 311-327.

Du, W. L., Niu, S., Xu, Y. L., Xu, Z. R. and Fan, C. L., 2009. Antibacterial activity of chitosan tri polyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. Carbohydrate Polymers, 75: 385-389.

Eidelsburger, O., 1998. In recent advances in nutrition. Nottingham University press, Nottingham. pp. 93-106.

Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badii, F., Mohammadhosseini, Z., Ahmadi Some'e, K. and Ghanati, K., 2012. The effect of nano-emulsion coating on the shelf life and post-harvest quality characteristics of strawberry fruit. MS Thesis, Shahid Beheshti University. (In Farsi)

- Esmaeili Rad, A., Alishahi, M., Ghorbanpour, M. and Zarei, M., 2014.** The effects of oral administration of extracted chitosan from white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on hematological and growth indices in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 69(4):385-393. (In Farsi).
- Falcao-E-Cunha, L., Castro-Solia, L., Maertens, L., Marounek, M., Pinheiro, V., Freire, J. and Mourao, J.L., 2007:** Alternatives to antibiotic growth promoters in rabbit feeding: a review. World Rabbit Science, 15: 127-140.
- Freitag, M., 2007.** Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Acidifiers in Animal Nutrition—a guide for feed preservation and acidification to promote animal production. (eds. Luckstadt C.). Nottingham University Press, U.K. pp 1 – 11.
- Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B., 1995.** Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125:1401-1412.
- Gopalakannan, A. and Arul, V., 2006.** Immunomodulatory effects of dietary intake of Chitin, Chitosan and Levamisol and immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in pond. Aquaculture, 255:179-187.
- Jiang, Y. and Li, Y., 2001.** Effects of chitosan on postharvest life and quality of longan fruit. Food Chemistry, 73: 139-143.
- Kakuta, I. and Kurokura, H., 1995.** Defensive effect of orally administered bovine lactoferrin against Cryptocaryon irritans infection of red seabream. Jornal of Fish Pathology, 30: 289–290.
- Kangombe, J., Likongwe, J.S., Eda, H. and Mtimuni, J.P., 2007.** Efect of varying dietary energy level on feed intake, feed conversion, whole body composition and growth of Malawian tilapia. Aquaculture Research, 38: 373-380.
- Kim, S.K. and Rajapakes, N., 2005.** Enzymatic production biological activities of chitosan oligosacharides (COS): A review. Carbohydrate Polymers, 62: 357-368.
- Krome, C., Schuele, F., Jauncey, K. and Focken, U., 2018.** Influence of a sodium formate/formic acid mixture on growth of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) fed different fishmeal replacement levels of detoxified Jatropha curcas kernel meal in practical, mixed diets. Journal of Applied Aquaculture, 30(2): 137-156.
- Laskin, A.I. Gadd, G.M. and Sariaslani, S., 2008.** Advances in applied microbiology. Vol.63. pp: 153. Academic Press.
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture, 185:313-327.
- Liu, Y. G., 2001.** Using organic acids to control salmonella in poultry production. Common wealth Veterinary Congress, October 10, 1 – 4.
- Luckstadt C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3(044): 1-8.
- Malone, L.J., 2000.** Basic concepts of chemistry, 6th edition. Wiley Inter Science, 639 pp.
- Melinda, M., 2012.** Dietary Supplements for Improving Body Composition and Reducing Body Weight. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 22: 139 -154.
- Mohammadhosseini, Z., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badi i,F. and Ahmadi Some'e, K., 2012.** Effects of chitosan based nano- emulsion coating on the changes of bioactive compounds, antioxidant activity and some qualitative features of orange and blood orange during storage. MS Thesis, Shahid Beheshti University. (In Farsi)
- Partanen, K.H. and Mroz, Z., 1999.** Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutrition on Research Reviews, 12: 117-145.
- Raafat, D., von Bargen, K., Haas, A. and Sahl, H. G., 2008.** Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. Applied and Environmental Microbiology, 74, 3764-3773.
- Ramli N, Heindl U and Sunanto S. 2005.** Effect of potassium-diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract CD-Rom World Aquaculture Society, 9–13 May; Bali, Indonesia; 2005.

- Reilly, A. and Keferstein, F., 1997.** Food safety hazards and the application of the principles of the hazard analysis and critical control point (HACCP) for their control in aquaculture production. *Aquaculture Research*, 28: 735-752.
- Ringo, E. and Strom, E., 1994.** Micro flora of arctic charr (*Salvelinus alpinus*) Gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal micro flora. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 623-629.
- Rodde, R.H., Einbu, A. and Varum, K. M. 2008.** A seasonal study of the chemical composition and chitin quality of shrimp shells obtained from northern shrimp (*Pandalus borealis*). *Carbohydrate Polymers*, 71: 388-393.
- Romoren, K., Thu, B. J. and Evensen, O., 2002.** Immersion delivery of plasmid DNAII, A study of the potential of a chitosan based delivery system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Jornal of Controlled Release*, 85: 215-225.
- Sharifzadeh, M. B., Hosseinzadeh, M. J. and Younesi, H., 2012.** Whey Processing with nano chitosan, *World Applied Sciences Journal*, 19 (4): 530-537.
- Shiau, S.Y. and Ya, Y.P., 1999.** Dietary supplementation of chitin and Chitosan depresses growth in Tilapia, *Orechromis niloticus*×*Orechromis auratus*. *Aquaculture*, 179: 439-446.
- Skinner, J.T., and Walder, P., 1991.** Fumaric and propionic acids enhances performance of broiler chickens. *Poultry Science*, 70:1444-1447.
- Sudagar M., Hosseinpoor Z., Hosseini A., 2010.** The use of citric acid as attractant in diet of grand sturgeon (*Huso huso*) fry and its effects on growing factors and survival rate. *AAACL Bioflux*, 3: 311-316.
- Tokur B., Ozkutuk S., Atici E., Ozyurt G., Ozyurt C.E., 2006.** Chemical and sensory quality changes of fish fingers,made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18C). *Food Chemistry*, 99: 335-341.
- Wang, Y. and Li, J. 2011.** Effects of chitosan nanoparticles on survival, growth and meat quality of tilapia, *Oreochromis nilotica*. *Nanotoxicology*, 5(3): 425–431.
- Windisch, W.M., Gotherbarm, G.G. and Roth, F.X., 2001.** Effect of potassium diformat in combination with different amounts and sources of excessive dietary copper on production performance in weaning piglets. *Archives of animal nutrition*, 54(2): 87-100.
- Wing-Keong, N., Koh, C.B., Sudesh, K. and Siti-Zahrah, A., 2009.** Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research*. 40(13):1490-1500.
- Xie, S., Zhang, L. and Wand, D., 2003.** Effects of several organic acids on the feeding behaviour of tilapia nilotica. *Journal of Applied Ichthyology*, 19: 255- 257.
- Zaki, M.A., Salem, M. El-S., Gaber, M.M. and Nour, A.M., 2015.** Effect of Chitosan Supplemented Diet on Survival, Growth, Feed Utilization, Body Composition & Histology of Sea Bass(*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Engineering and Technology*, 3: 38-47.
- Zhou, Z., Liu, Y., He, S., Shi, P., Gao, X., Yao, B. and Ringo, E. 2009.** The effects of dietary potassium diformate on growthperformance, feed conversion and intestinal microbiota of hybridtilapia. *Aquaculture*, 291: 89-94.

