بررسی تأثیر کیتوزان تولید شده از پوسته‌ی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) بر شاخص‌های رشد و انگل دستگاه گوارش در بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) پرورشی

محمد صادق خاکشور[۱]
جمیله پازوکی[۲*]

۲،۱. گروه زیست‌شناسی و زیست‌فناوری دریا و آبزیان، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

***مسئول مکاتبات:**
Mskh.mbio@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش : ۱۳۹۶/۰۸/۱۴
کد مقاله : ۱۳۹۶۰۴۰۵۲۳
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

در این مطالعه کیتوزان از پوسته‌ی خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) استخراج و به‌عنوان مکمل غذایی در بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) مورداستفاده قرار گرفت. برای این منظور ۳۶۰ عدد بچه ماهی (میانگین وزن ۰/۱۳ ± ۰/۸ گرم) از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهرستان فیروزکوه تهیه و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایش (دانشگاه شهید بهشتی) سازگار شدند. بچه ماهی‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و با ۳ تکرار تقسیم شدند (به ازای هرماهی ۲ لیتر آب). تیمارها به ترتیب با جیره‌های غذایی بدون کیتوزان (شاهد)، ۰/۱ درصد (تیمار ۱)، ۱ درصد (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد (تیمار ۳) کیتوزان و به مدت ۴۰ روز تغذیه شدند (دوره‌ی مطالعه ۴۰ روز). نمونه‌برداری از تیمارها به‌منظور تعیین شاخص‌های رشد و فراوانی انگل‌های لوله‌ی گوارش هر ۲۰ روز (۱۰ قطعه ماهی) انجام شد. همچنین در روز ۴۰ مطالعه درصد ماندگاری، فلور باکتریایی لوله‌ی گوارش بچه ماهی‌ها و آب آکواریوم تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری‌ها بیشترین طول و وزن، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب رشد روزانه، فاکتور وضعیت، ضریب بازده غذایی و کمترین ضریب تبدیل غذایی از تیمار تغذیه شده با ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) به دست آمد که با شاهد و دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P \leq ۰/۰۵$). شاخص‌های رشد دیگر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. فراوانی انگلی (سستود بوتریوسفالوس) و فلور باکتریایی در لوله‌ی گوارش و فلور باکتریایی آب آکواریوم تیمار تغذیه شده با ۱ درصد کیتوزان به‌طور معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵$) کمتر از دیگر تیمارها بود. به‌طورکلی می‌توان کیتوزان را به‌عنوان یک محرک رشد و سلامت طبیعی و بدون اثرات جانبی برای تکثیر و پرورش ماهی و بخصوص ماهی کپور علف‌خوار معرفی نمود.

واژگان کلیدی: محرک‌های رشد، سخت‌پوستان، شاخص‌های رشد، سلامت، کپور علف‌خوار.

مقدمه

بیماری‌ها و تلفات به‌خصوص در مراحل اولیه‌ی زندگی به‌عنوان مهم‌ترین مشکل در توسعه‌ی صنعت آبزی‌پروری مطرح می‌باشند (Kiruba *et al*., 2013; Tafi *et al*., 2015; Bharathi and Kunda, 2009). شرایط محیط پرورشی تا حدودی باعث ضعف در سیستم ایمنی و کاهش مقاومت ماهی‌ها در برابر بیماری‌ها می‌شود (Tafi *et al*., 2015). بنابراین تقویت سیستم ایمنی و بهبود شاخص‌های رشد در این مرحله و به‌خصوص در گونه‌های باارزش اقتصادی بسیار ضروری به نظر می‌رسد (Meshkini *et al*., 2012). تاکنون گزارش‌های متعددی از تأثیر این محرک‌ها بر روی رشد و سلامت انواع ماهی‌ها و دیگر آبزیان ثبت شده است (Meshkini *et al*., 2012). کیتوزان یکی از محرک-

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

های رشد و سیستم ایمنی است که در برخی مطالعات برای افزایش رشد و سلامت گونه‌های مختلف آبزیان مورد استفاده قرارگرفته است (Tafi *et al*., 2015). ازآنجایی‌که کنترل بیماری‌ها در صنعت پرورش ماهی با استفاده از واکسیناسیون و ترکیبات شیمیایی صورت می‌گیرد که دارای اثرات جانبی متعددی می‌باشند (Meshkini *et al*., 2012; Kean *et al*., 2005)، در این مطالعه اثر کیتوزان استخراج‌شده از پوسته‌ی خرچنگ به‌عنوان محرک رشد و سیستم ایمنی ماهی کپور علف‌خوار استفاده شد. کیتوزان با خاصیت تقویت‌کنندگی رشد و سیستم ایمنی اثرات جانبی و نامطلوب ناچیزی روی آبزیان دارد (Kean *et al*., 2005). استفاده‌ی بیش‌ازحد از این روش‌ها و ترکیبات در طی زمان باعث ایجاد مقاومت دارویی در اجتماعات باکتریایی، تجمع این مواد در بدن ماهی، ایجاد خطرات بهداشتی برای مصرف‌کنندگان و آلودگی محیط‌زیست شده است (Vahedi and Ghodratizadeh, 2011; Tafi *et al*., 2015). بنابراین علاقه به استفاده از روش‌های جایگزین ازجمله محرک‌های طبیعی رشد و سیستم ایمنی برای افزایش مقاومت ماهی‌ها در برابر بیماری‌ها و رسیدن به رشد بهتر در آبزی‌پروری رو به افزایش است (Meshkini *et al*., 2012; Vahedi and Ghodratizadeh, 2011). محرک‌های رشد و سیستم ایمنی گروهی از ترکیبات زیستی می‌باشند که با تسهیل عمل بیگانه‌خواری سلول‌های فاگوسیت‌کننده و افزایش فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها، افزایش فعالیت لیزوزیمی و پاسخ آنتی‌بادی در بدن ماهی علاوه بر بهبود رشد مکانیسم‌های دفاعی ماهی را نیز بهبود می‌بخشند (Gopalakannam ahd Arul, 2006). مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد محرک‌هایی مانند گلوکان، لاکتوفرین، پپتیدوگلیکان، لوامیزول، کیتین و کیتوزان، ویتامین‌ها و بسیاری از مشتقات گیاهی و جانوری باعث تحریک سیستم ایمنی و بهبود رشد ماهی می‌شوند (Vahidi and Ghodratizadeh, 2011). کیتوزان مهم‌ترین مشتق کیتین می‌باشد که به‌وفور در پوسته‌ی سخت‌پوستان وجود دارد. کیتوزان در زمینه‌های مختلفی ازجمله دارویی، بهداشتی، کشاورزی و آبزی‌پروری کاربرد دارد (Vahedi and Ghodratizadeh, 2011). کیتوزان به‌عنوان تقویت‌کننده‌ی رشد و سیستم ایمنی ماهی در برخی مطالعات گزارش شده است (Kiruba *et al*., 2013). در مطالعات Cuesta و همکاران (۲۰۰۳) و Gopalakannam و Arul (۲۰۰۶) تأثیر کیتین روی فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی بررسی‌شده است. تأثیر کیتوزان روی فاکتورهای رشد و سلامت ماهی کپور معمولی و ماهی کپور هندی به ترتیب توسط Maqsood و همکاران (۲۰۱۰) و Kiruba و همکاران (۲۰۱۳) موردبررسی قرار گرفته است. از جمله مطالعات صورت گرفته در ایران نیز می‌توان به Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) و Etisamipour و همکاران (۲۰۱۳) اشاره کرد که تأثیر کیتوزان روی فاکتورهای رشد و خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موردبررسی قرار داده‌اند. با توجه به اینکه امروزه کپور ماهیان به‌عنوان یکی از عمده‌ترین گونه‌های ماهیان گرم‌آبی پرورشی در بیشتر نقاط جهان شناخته می‌شوند، ماهی کپور علف‌خوار برای این مطالعه انتخاب شد (Tafi *et al*., 2015). ازآنجایی‌که یکی از منابع بالقوه کیتوزان پوسته‌ی خرچنگ بوده و حجم بالایی از پوسته‌ی خرچنگ گونه‌ی *Portunus segnis* در آب‌های جنوبی ایران وجود دارد، این گونه برای تهیه‌ی کیتوزان انتخاب شد. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی تأثیر مقادیر مختلف کیتوزان استخراج‌شده از پوسته‌ی خرچنگ مذکور در جیره‌ی غذایی بچه ماهیان کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) به‌عنوان تقویت‌کننده سلامت و شاخص‌های رشد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خرچنگ شناگر آبی (*Portunus segnis*) در قالب صید ضمنی و با استفاده از تور ترال کف از آب‌های دور از ساحل بندرعباس در تابستان ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. پس از شستشو و حذف ناخالصی‌های نمونه‌ها، پوسته‌ی آن‌ها به‌صورت دستی جدا، خشک (۵۵ درجه سانتی‌گراد) و پودر (۲۵۰ میکرون) گردید. خالص‌سازی کیتوزان از پوسته‌ی خرچنگ در طی چهار مرحله انجام شد. حذف ترکیبات معدنی با استفاده از Hcl (کمپانی مرک) ۱ نرمال با نسبت ۱:۲۰ (w/v) پودر به اسید به مدت‌زمان ۳۰ دقیقه در دمای محیط انجام شد. NaoH ۵ درصد (کمپانی مرک)

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

در شرایط psi/121°C ۱۵ به مدت ۱۰ دقیقه و با نسبت ۱:۲۰ (w/v) برای حذف ترکیبات پروتئینی استفاده شد. حذف ترکیبات رنگدانه‌ای کیتین استخراج شده با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۰/۳۲ درصد با نسبت ۱:۲۰ (w/v) در دمای محیط و به مدت ۳ دقیقه صورت گرفت. با استفاده از هیدروکسید سدیم ۵۰ درصد، نسبت ۱:۲۰ (w/v) پودر به باز و مدت‌زمان ۲۰ دقیقه در شرایط psi/121°C ۱۵ کیتین به کیتوزان تبدیل شد. در پایان هر مرحله محلول با کاغذ فیلتر (Whatman No. 3) صاف و با آب مقطر برای رسیدن به pH خنثی با استفاده از قیف بوخنر شستشو و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Bolat *et al*., 2010). درصد رطوبت، خاکستر، ترکیبات معدنی و پروتئینی کیتوزان استخراج شده اندازه‌گیری شد (Alishahi *et al*., 2011). اندازه‌گیری درصد داستیله به روش Ming Tsung و همکاران (۲۰۰۸) و محاسبه‌ی وزن مولکولی کیتوزان نیز با استفاده از روش Mirzadeh و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.

در این تحقیق تعداد ۳۶۰ عدد بچه ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) میانگین وزن ۰/۱۳ ± ۰/۸ گرم و طول ۰/۱۷ ± ۴/۰۲ سانتی‌متر از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرم آبی شهرستان فیروزکوه خریداری شد. بچه ماهی‌ها در کیسه‌های پلاستیکی با حجم ۱ به ۳ آب و اکسیژن بسته‌بندی‌شده و به آزمایشگاه (تحقیقات و بیوتکنولوژی آبزیان دانشگاه شهید بهشتی) منتقل شدند. بلافاصله بچه ماهی‌ها با استفاده از محلول ۵ درصد نمک طعام به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و به مخازن ۳۰۰ لیتری (هرماهی ۲ لیتر) انتقال داده شدند. قبل از شروع آزمایش اصلی بچه ماهیان به مدت ۲ هفته در مخزن ۳۰۰ لیتری نگهداری شدند تا با شرایط جدید سازگار شوند. در طی دوران سازگاری سلامت ماهی‌ها موردبررسی قرار گرفت. در این مدت مانند آزمایش اصلی بچه ماهی‌ها با غذای تجاری بیومار سایز ۴ روزی ۲ بار (ساعت ۸ و ۱۶) تغذیه شدند. بر اساس توده‌ی زنده بچه ماهیان در مخزن و شرایط دمایی مقدار غذای روزانه محاسبه شد (۵ درصد توده‌ی زنده‌ی ماهیان) (Kean *et al*., 2005). پس از اتمام دوره‌ی سازگاری (۲ هفته) بچه ماهی‌ها به‌صورت تصادفی در قالب ۴ تیمار (یک تیمار شاهد و ۳ تیمار آزمایشی) و در ۳ تکرار در آبزی‌دان‌های ۱۰۰ لیتری حاوی ۶۰ لیتر آب و ۳۰ قطعه ماهی (هرماهی ۲ لیتر آب) تقسیم شدند. همه‌ی آکواریوم‌ها در شرایط یکسان پرورش شامل ۱۲ ساعت دوره‌ی روشنایی و ۱۲ ساعت دوره‌ی تاریکی بودند. در طول ۴۰ روز مطالعه آب آکواریوم‌های پرورشی با دبی ۱۵ لیتر بر دقیقه تصفیه و میانگین دما (۲±۱۲ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (۱±۸ ppm) و pH آب (۰/۳ ±۷/۵) به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد (Meshkini *et al*., 2012).

جیره‌ی غذایی برای ۳ تیمار آزمایشی به ترتیب حاوی ۱/۵ درصد کیتوزان (۱۵ گرم کیتوزان در هر کیلوگرم غذای تجاری)، ۱ درصد کیتوزان (۱۰ گرم کیتوزان در هر کیلوگرم غذای تجاری) و ۰/۱ درصد کیتوزان (۱ گرم کیتوزان در هر کیلوگرم غذای تجاری) با استفاده از ترازوی دیجیتال و با دقت ۰/۰۱ گرم وزن و تهیه شد. کیتوزان وزن شده به نسبت ۱ درصد در اسید استیک ۱ درصد با حجم یکسان حل‌شده و به‌طور جداگانه روی غذاهای ۳ تیمار آزمایشی اسپری شد (Kiruba *et al*., 2013). به غذای تیمار شاهد فقط حجم یکسان با ۳ تیمار آزمایشی از اسید استیک با غلظت ۱ درصد اضافه شد. جیره‌های مختلف غذایی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Kiruba *et al*., 2013; Tafi *et al*., 2015).

به‌صورت روزانه میزان تلفات در هر یک از تیمارها شمارش و ثبت گردید. زیست‌سنجی بچه ماهی‌ها در هر تیمار (۱۰ ماهی) به ترتیب در ابتدای دوره (روز صفر)، روزهای بیستم و چهلم (روز آخر) مطالعه انجام گرفت. قبل از انجام هر مرحله زیست‌سنجی بچه ماهیان به مدت ۲۴ ساعت غذادهی نشدند تا لوله‌ی گوارش آن‌ها به‌طور کامل تخلیه گردد. بچه ماهی‌های انتخاب‌شده با استفاده از خط کش مدرج با دقت ۱ میلی‌متر و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم به ترتیب طول و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد (Eatisamipour *et al*., 2013). لوله‌ی گوارش ماهی‌های انتخاب‌شده از هر تیمار در روز ۲۰ و ۴۰ مطالعه پس از زیست‌سنجی به‌طور کامل ازنظر انگل‌های داخلی موردبررسی قرار گرفت. همچنین لوله‌ی گوارش ماهی‌های نمونه‌برداری شده در روز ۴۰ مطالعه در هاون چینی با استفاده از NaCL ۹/. درصد هموژن شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت-های سریالی در دامنه‌ی 10^{-1} تا 10^{-7} روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هنتون آگار (شرکت مرک) به‌منظور مقایسه‌ی فلور باکتریایی

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

کشت داده شد. همین عمل با ۰/۱ میلی‌لیتر از آب آکواریوم‌های هر تیمار در روز ۴۰ مطالعه انجام شد. پلیت‌های کشت‌شده از لوله‌ی گوارش و آب آکواریوم تیمارهای مختلف به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. درنهایت مقایسه‌ی فراوانی اجتماعات باکتریایی ۳ تیمار آزمایشی با تیمار شاهد با توجه به ضریب رقیق‌سازی صورت گرفت (Sahandi *et al*., 2016).

شاخص‌های رشد ماهی‌ها به شرح زیر محاسبه گردید (Bahrambeigi *et al*., 2014; Mohammadi *et al*., 2013; Sahandi *et al*., 2016; Eatisamipour *et al*., 2013):

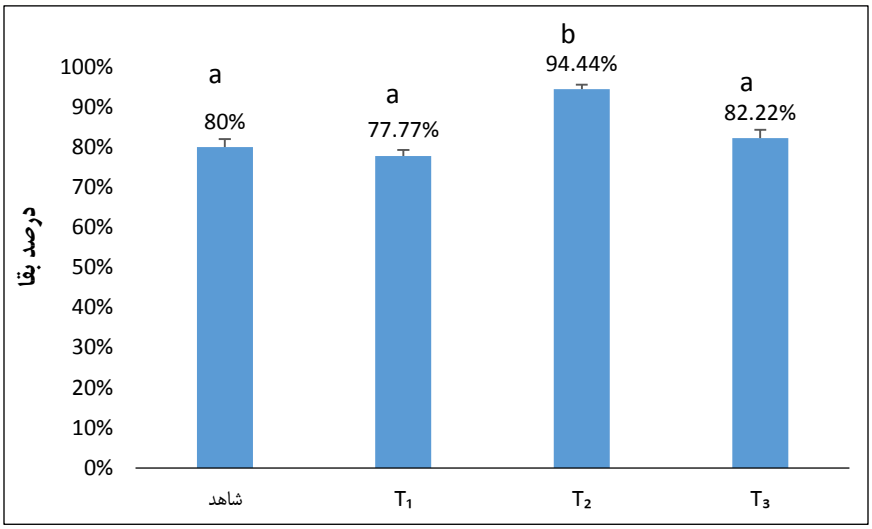
درصد افزایش وزن بدن	$BWG(\%)=(Wf-Wi/Wi)\times100$	Wf وزن نهایی ماهی (گرم) و Wi وزن اولیه‌ی ماهی (گرم)
ضریب تبدیل غذایی	$FCR(\%)=f/(Wf-Wi)$	f میزان غذای مصرفی (گرم)
ضریب رشد ویژه	$SGR(\%)=100\times(\ln Wf-\ln Wi)/t$	t دوره‌ی پرورش (روز)
ضریب رشد روزانه	$DGC(\%)=[Wf^{\%333}- Wi^{\%333}/t]\times100$	t دوره‌ی پرورش (روز)
فاکتور وضعیت	$CF(\%)=W/L^3\times100$	W وزن ماهی (گرم) و L طول ماهی (cm)
ضریب بازده غذایی	$FER(\%)=(Wf/DF)\times100$	DF کل غذای داده‌شده (گرم)

برای رسم نمودارها از برنامه Excel ورژن ۲۰۱۳ استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور مقایسه‌ی واریانس‌ها در ارتباط با شاخص‌های رشد، فراوانی انگل‌ها، درصد زنده‌مانی و فلور باکتریایی تیمارهای مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه و از آزمون Tukey جهت بررسی اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد استفاده شد. کلیه‌ی داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

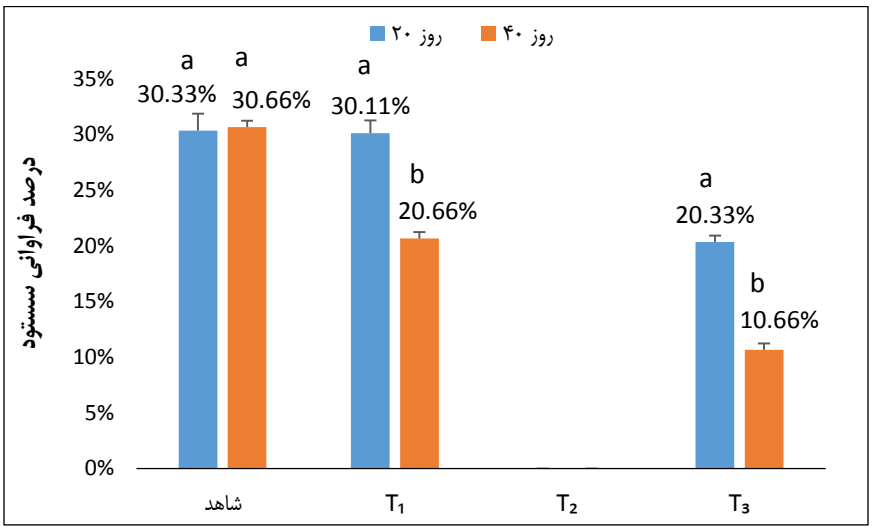
نتایج

درصد بقاء بچه ماهی‌ها در تیمارهای آزمایشی و شاهد پس از ۴۰ روز در شکل ۱ آورده شده است. درصد بقاء بچه ماهی‌ها در تیمار ۲ (۱ درصد کیتوزان) به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها بود ($P \leq ۰/۰۵$). بااین‌وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱، ۳ و شاهد در این خصوص مشاهده نشد ($P \leq ۰/۰۵$). در لوله‌ی گوارش بچه ماهی‌های نمونه‌برداری شده در روز ۲۰ و ۴۰ مطالعه فقط انگل سستود مشاهده شد. همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده‌شده است در تیمار ۲ هیچ انگل سستودی در نمونه‌های روز ۲۰ و ۴۰ مطالعه مشاهده نشد.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۱: درصد بقاء بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی بدون کیتوزان (شاهد)، با ۰/۱ درصد کیتوزان (تیمار ۱)، ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد کیتوزان (تیمار ۳) پس از ٤٠ روز.



شکل ۲: درصد آلودگی بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی بدون کیتوزان (شاهد)، با ۰/۱ درصد کیتوزان (تیمار ۱)، ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد کیتوزان (تیمار ۳) به انگل سستود بوتریوسفالوس.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

جدول ۱: فلور باکتریایی لوله‌ی گوارش بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی بدون کیتوزان (شاهد)، با ۰/۱ درصد کیتوزان (تیمار ۱)، ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد کیتوزان (تیمار ۳) به همراه آب آکواریوم تیمارهای مختلف.

تیمارها	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
لوله‌ی گوارش (گرم)	۹/۲۵× ۱۰ ^{۷} ± ۴/۲۲	۸/۶× ۱۰ ^{۷} ± ۵/۶	۴/۱۱× ۱۰ ^{۵}± ۳/۵۲	۱/۹× ۱۰ ^{۶} ± ۱/۸۳
آب آکواریم (میلی‌لیتر)	۹/۸۵× ۱۰ ^{۷} ± ۶/۶۲	۹/۱× ۱۰ ^{۷} ±۷/۳	۴/۴۱× ۱۰ ^{۵}± ۴/۲۲	۲/۵× ۱۰ ^{۶} ± ۲/۶۱

جدول ۲: شاخص‌های رشد بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) پس از ۲۰ روز تغذیه با جیره‌های غذایی بدون کیتوزان (شاهد)، با ۰/۱ درصد کیتوزان (تیمار ۱)، ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد کیتوزان (تیمار ۳).

شاخص‌های زیستی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن (گرم)	۱/۵۳ ± ۰/۱۹	۱/۵± ۰/۱۳	۱/۷۱± ۰/۱۱	۱/۵۴± ۰/۱۶
طول (سانتی‌متر)	۵/۱۵± ۰/۱۶	۵/۱۱ ± ۰/۱۸	۵/۲۵ ± ۰/۱۹	۵/۱۳ ± ۰/۱۵
افزایش وزن بدن (BWG) (٪)	۹۱/۲۵± ۱۱/۱	۸۷/۵± ۱۳/۴	۱۱۳/۷۵± ۱۵/۶	۹۲/۵± ۱۱/۲
ضریب تبدیل غذایی (FCR) (٪)	۱/۸۲ ± ۰/۰۴	۱/۹ ± ۰/۰۷	۱/۴۶ ± ۰/۰۶	۱/۷۹ ± ۰/۰۹
ضریب رشد ویژه (SGR) (٪)	۳/۶۵ ± ۰/۱۱	۳/۵ ± ۰/۱۹	۴/۵۵ ± ۰/۲۱	۳/۷ ± ۰/۱۹
ضریب رشد روزانه (DGC) (٪)	۱/۱۲ ± ۰/۱۱	۱/۰۸ ± ۰/۱۲	۱/۳۳ ± ۰/۰۷	۱/۱۳ ± ۰/۰۸
فاکتور وضعیت (CF) (٪)	۱/۱۲ ± ۰/۰۵	۱/۱۱ ± ۰/۰۵	۱/۱۸ ± ۰/۰۶	۱/۱۴ ± ۰/۰۶
ضریب بازده غذایی (٪)	۱/۰۸ ± ۰/۰۶	۱/۱ ± ۰/۰۷	۱/۲۱ ± ۰/۰۳	۱/۰۹ ± ۰/۰۵

جدول ۳: شاخص‌های رشد بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) پس از ۴۰ روز تغذیه با جیره‌های غذای بدون کیتوزان (شاهد)، با ۰/۱ درصد کیتوزان (تیمار ۱)، ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد کیتوزان (تیمار ۳).

شاخص‌های زیستی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن (گرم)	۲/۸۹ ± ۰/۲۵	۲/۹۳± ۰/۱۸	۳/۲۳± ۰/۳۱	۲/۹± ۰/۱۶
طول (سانتی‌متر)	۶/۳۲± ۰/۱۴	۶/۳۶ ± ۰/۱۸	۶/۴۷ ± ۰/۲۱	۶/۳۳ ± ۰/۱۵
افزایش وزن بدن (BWG) (٪)	۲۶۱/۲۵± ۱۹/۱	۲۶۶/۲۵± ۱۷/۴	۳۰۲/۵± ۲۱/۶	۲۶۲/۵± ۱۵/۵
ضریب تبدیل غذایی (FCR) (٪)	۱/۲۷ ± ۰/۰۸	۱/۲۴ ± ۰/۰۵	۱/۰۹ ± ۰/۱	۱/۲۶ ± ۰/۱۱
ضریب رشد ویژه (SGR) (٪)	۵/۲۲ ± ۰/۳۲	۵/۳۲ ± ۰/۴۶	۶/۰۷ ± ۰/۲۴	۵/۲۵ ± ۰/۲۱
ضریب رشد روزانه (DGC) (٪)	۱/۲۳ ± ۰/۰۷	۱/۲۵ ± ۰/۰۹	۱/۳۵ ± ۰/۱۱	۱/۲۴ ± ۰/۰۷
فاکتور وضعیت (CF) (٪)	۱/۱۴ ± ۰/۰۴	۱/۱۳ ± ۰/۰۳	۱/۱۸ ± ۰/۰۸	۱/۱۴ ± ۰/۰۴
ضریب بازده غذایی (٪)	۱/۰۸ ± ۰/۰۶	۱/۱ ± ۰/۰۷	۱/۲۱ ± ۰/۰۳	۱/۰۹ ± ۰/۰۵

نتایج مربوط به فراوانی فلور باکتریایی در لوله‌ی گوارش و آب آکواریوم در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده‌شده است. فلور باکتریایی در لوله‌ی گوارش بچه ماهی‌های تیمار ۲ به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد و دیگر تیمارها بود ($P \leq ۰/۰۵$). فراوانی فلور باکتریایی در ستون آب تیمارهای مختلف کاملاً منطبق بر نتایج لوله‌ی گوارش بچه ماهی‌ها در تیمارهای مختلف بود. نتایج حاصل از سنجش شاخص‌های رشد در روز

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

۲۰ و ۴۰ پرورش به ترتیب در جدول ۲ و ۳ آورده شده است. در روزهای ۲۰ و ۴۰ بیشترین طول و وزن، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب رشد روزانه، فاکتور وضعیت، ضریب بازده غذایی و کمترین ضریب تبدیل غذایی از تیمار تغذیه‌شده با ۱ درصد کیتوزان (تیمار ۲) به دست آمد که با شاهد و دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P \leq ۰/۰۵$). شاخص‌های رشد دیگر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از محرک‌های رشد و سیستم ایمنی باهدف بهبود رشد و کاهش تلفات در آبزی‌پروری در سال‌های اخیر موردتوجه قرارگرفته است. بازده هر نوع از محرک‌های رشد و سلامت در پرورش ماهی‌ها تحت تأثیر روش استفاده از آن‌ها می‌باشد (Vahedi and Ghodratizadeh, 2011). استفاده از یک محرک با روش‌های مختلف (تزریق، خوراکی، غوطه‌وری و غیره) می‌تواند نتایج متفاوتی را در برداشته باشد. بااین‌وجود به نظر می‌رسد که استفاده از این محرک‌ها به‌عنوان مکمل غذایی بهترین روش باشد که هم استرس کمتری به ماهی وارد می‌شود و هم می‌توان تعداد زیادی ماهی را با کمترین هزینه و انرژی موردمطالعه قرارداد (Kiruba *et al*., 2013; Maqsood *et al*., 2015). با این تفاسیر در این مطالعه کاربرد کیتوزان به‌عنوان مکمل خوراکی روی بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) مورد مطالعه قرار گرفت. در مطالعه‌ی حاضر درصد زنده‌مانی بچه ماهی‌ها از ۸۰ درصد (شاهد) به ۹۴/۴۴ درصد (۱ درصد کیتوزان در جیره‌ی غذایی) افزایش یافت. در مطالعه‌ی Gopalakannan و Arul (۲۰۰۶) بازماندگی ۸۰ درصد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از غلظت ۱ درصد کیتوزان به‌صورت مکمل غذایی گزارش‌شده است که با نتایج این مطالعه هم سو می‌باشد. تأثیر معنی‌دار کیتوزان برافزایش رشد و بقاء برخی آبزیان ازجمله قزل آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Eatisamipour *et al*., 2013; Sahandi *et al*., 2016; Fazaei *et al*., 2015)، قزل‌آلای جویباری (*Salvelinus fontinalis*) (Tafi *et al*., 2015) و میگوی پا سفید (*Litopeneus vannamei*) (Tafi *et al*., 2015) گزارش شده است که نتایج مطالعه‌ی حاضر را تأیید می‌کند. در برخی مطالعات درصد بقاء ۹۲/۵ درصد (Kiruba *et al*., 2013)، ۹۹/۵ درصد (Sahandi *et al*., 2015) و ۸۰ درصد (Eatisamipour *et al*., 2013) را با استفاده از ۱ درصد کیتوزان به‌عنوان مکمل غذایی گزارش کرده‌اند. همچنین گزارشاتی از دیگر محرک‌های رشد و سیستم ایمنی (عصاره‌های گیاهی) بر بهبود رشد و بقای کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) (Alishahi *et al*., 2010)، کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Peddie *et al*., 2002) گزارش‌شده است.

در آبزی‌پروری غلظت و مدت‌زمان استفاده از محرک‌های رشد و سیستم ایمنی بسیار مهم می‌باشد (Meshkini *et al*., 2012). در مطالعه‌ی Robertsen و همکاران (۱۹۹۴) فعالیت ماکروفاژی ماهی با تزریق ۱-۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر گلوکان به‌مراتب بهتر از تزریق ۱۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آن گزارش شد. آن‌ها همچنین نشان دادند که غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر گلوکان هیچ تأثیر مثبتی روی فعالیت ماکروفاژی ماهی ندارد و غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر حتی اثرات منفی نیز دارد (Robertsen *et al*., 1994). در مطالعه‌ی حاضر نیز غلظت ۱ درصد کیتوزان بهترین بازده را در درصد بقاء بچه ماهی‌ها و شاخص‌های رشد داشت و غلظت ۱/۵ درصد کیتوزان هیچ اثر مثبتی روی شاخص‌های رشد و سلامت ماهی نداشت. در مطالعه‌ی مشابه Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) نیز کیتوزان با غلظت ۰/۲۵ درصد در جیره‌ی غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بازده بهتری نسبت به غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد روی شاخص‌های رشد و سیستم ایمنی داشته است. کیتوزان احتمالاً باعث استفاده‌ی بهینه از مقدار غذای مصرفی توسط ماهی‌ها شده و پرت غذایی را به‌ویژه در غلظت ۱ درصد کمتر می‌کند (Mohammadi *et al*., 2013). هرچند دلیل کاهش بازده محرک‌های رشد و سیستم ایمنی از جمله کیتوزان در رژیم

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

غذایی ماهی‌ها هنگام استفاده از مقادیر بالا به‌صورت خوراکی به‌طور دقیق مشخص نشده است، اما احتمال می‌رود در چنین شرایطی با عدم مصرف کامل و انباشت این ترکیبات باعث ایجاد یک بازخورد منفی در بدن ماهی‌ها می‌شود. بنابراین استفاده از مقادیر زیاد و طولانی‌مدت از محرک‌های رشد و سلامت می‌تواند باعث کاهش اثر آن‌ها شود (Tafi *et al*., 2015). احتمالاً تأثیر کمتر غلظت ۱/۵ درصد کیتوزان نسبت به ۱ درصد آن در مطالعه‌ی حاضر و دیگر مقالات مشابه نیز همین امر باشد.

کنترل جمعیت میکروبی در مراحل اولیه‌ی زیست آبزیان در طی پرورش از موارد ضروری است. فلور میکروبی لوله‌ی گوارش ماهی نقش مهمی در سلامت و فعالیت‌های فیزیولوژیکی بازی می‌کند (Sahandi *et al*., 2016). برخی محرک‌های رشد و ایمنی به‌عنوان مکمل‌های مفید باعث بهبود و تعادل میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند (Hooper *et al*., 2001). در مطالعه‌ی حاضر غلظت ۱ درصد کیتوزان به‌طور معنی-داری فراوانی باکتریایی و انگلی (سستود) را در لوله‌ی گوارش و آب آکواریوم کاهش داد. گزارشی از استفاده از کیتوزان برای کاهش فلور میکروبی و انگلی لوله‌ی گوارش انواع ماهی تاکنون نشده است. اما در مطالعه‌ی Sahandi و همکاران (۲۰۱۶) استفاده از دیگر محرک‌های رشد و ایمنی (باکتری‌های پروبیوتیک ها) باعث بهبود فلور باکتریایی لوله‌ی گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شده است که با نتایج Tookmechi و همکاران (۲۰۱۲) و Mohammadi و همکاران (۲۰۱۳) هم‌خوانی دارد.

محرک‌های رشد ازجمله کیتوزان با افزایش مقاومت ماهی در برابر انواع استرس‌ها، پاتوژن‌ها و انگل‌های داخلی و خارجی به بهبود رشد و بقای آن‌ها کمک می‌کند (Mohammadei *et al*., 2013). این اثر می‌تواند به‌طور مستقیم به‌واسطه‌ی بهبود وضعیت فیزیولوژی ماهی به دنبال اثرات ماده‌ی محرک ایمنی باشد و هم می‌تواند به‌طور غیرمستقیم باعث بهبود وضعیت ایمنی، کاهش ایجاد آلودگی‌ها، عفونت‌ها و هدایت انرژی به سمت تولید پروتئین بیشتر و رشد ماهی شود که با نتایج حاصل از شاخص‌های رشد مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد (Alishahi *et al*., 2010; Mohammadi *et al*., 2004). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که جیره‌ی غذایی مکمل شده با ۱ درصد کیتوزان به‌طور معنی‌داری در طی دوره‌ی ۴۰ روزه‌ی پرورش باعث بهبود درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، ضریب رشد روزانه، فاکتور وضعیت، ضریب بازده غذایی و کاهش ضریب تبدیل غذایی بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngoden idella*) شده است. در مطالعه‌ی Kiruba و همکاران (۲۰۱۳) نیز استفاده از ۱ درصد کیتوزان به‌عنوان مکمل غذایی باعث بهبود شاخص‌های رشد در ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) شده است (Kiruba *et al*., 2013). مطالعات اندکی در مورد استفاده از کیتوزان در جهت بهبود شاخص‌های رشد ماهی ثبت‌شده است. بیشترین گزارش‌های مربوط به باکتری‌های پروبیوتیک و ترکیبات گیاهی به‌عنوان محرک رشد می‌باشد و استفاده از کیتوزان روشی نسبتاً نو محسوب می‌شود (Mohammadi *et al*., 2013; Bahrambeigi *et al*., 2014). در مطالعه‌ی Bahrambeigi و همکاران (۲۰۱۴) با استفاده از برخی پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل غذایی در پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تفاوتی بین شاهد و انواع تیمار در انواع شاخص‌های رشد مشاهده نشد (Bahrambeigi *et al*., 2014). در مطالعه‌ی مشابه دیگری نیز با استفاده از عصاره گیاه اسفرزه در جیره‌ی غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف و شاهد گزارش نشد (Mohammadi *et al*., 2013). نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه و اندک مقالات مشابه در مورداستفاده از کیتوزان به‌عنوان محرک رشد و سلامت نسبت به برخی دیگر از محرک‌های رشد امیدوارکننده‌تر می‌باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که کیتوزان علاوه بر کاهش آلودگی میکروبی و انگلی ماهی‌ها، ضریب تبدیل غذایی را در آن‌ها بالا برد. اما ازآنجایی‌که غلظت، مدت‌زمان در نقش و تأثیر مکمل‌ها در رژیم غذایی بسیار مهم می‌باشد هر چهار غلظت کیتوزان نتایج متفاوتی نشان دادند که نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد. علاوه بر هزینه‌ی نسبتاً پایین، یکی دیگر از مزایای استفاده از کیتوزان این است که این پلیمر جزئی از ترکیبات طبیعی جیره‌ی غذایی ماهی نیست و پایداری بالایی دارد. این ویژگی کارکردن با غلظت‌های مشخص کیتوزان را نسبت به دیگر ترکیبات حلال مانند ویتامین‌ها که در مقادیر بسیار کم در جیره‌های غذایی استفاده می‌شوند و نسبت به بسیاری از فاکتور نیز حساس می‌باشند را راحت‌تر می‌کند (Vahedi and Ghodratizadeh, 2011).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

استفاده از محرک‌های رشد و سیستم ایمنی به‌منظور بهبود شاخص‌های رشد و سلامت ماهی‌ها نیاز به مطالعات بیشتر بر روی گونه‌های مختلف ماهی دارد تا بتوان برخی نتایج متفاوت در مطالعات مختلف را تفسیر نمود. بااین‌حال می‌توان ازجمله دلایل اختلاف در نتایج تحقیقات مختلف را به نوع گونه‌ی پرورشی، اندازه و سن گونه، شرایط بهداشتی محیط و سیستم پرورشی، نوع تغذیه‌ی ماهی‌ها، مواد اولیه‌ی بکار رفته در تهیه‌ی جیره‌ی غذایی، نوع و غلظت و خلوص محرک رشد ذکر نمود (Eatisamipour *et al*., 2013; Bahrambeigi *et al*., 2013). اما با توجه به بهبود قابل‌ملاحظه در شاخص‌های رشد و سلامت و درصد بقای بچه ماهی‌های کپور علف‌خوار در این مطالعه (خصوصاً در غلظت ۱ درصد کیتوزان) می‌توان استفاده از کیتوزان را به‌عنوان یک محرک رشد و سلامت طبیعی برای پرورش ماهی ازنظر اقتصادی توجیه نمود. ازآنجایی‌که آلودگی میکروبی و انگلی در بدن ماهی‌ها و همچنین آب آکواریوم در تیمارهای تغذیه‌شده با کیتوزان و مخصوصاً غلظت ۱ درصد کاهش قابل‌توجهی داشت، علاوه بر رشد بهتر ماهی کاهش آلودگی و مرگ میر ماهی را نیز می‌توان به خواص ضد میکروبی کیتوزان مربوط دانست. همچنین تحقیق حاضر به‌عنوان آغاز مطالعات آینده روی انواع کیتوزان با منشأ مختلف و همچنین مشتقات آن‌ها با خلوص و غلظت‌های متفاوت به‌منظور استفاده در پرورش ماهی‌ها و سایر آبزیان می‌باشد.

منابع

Alishahi, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M. R., Farahmand, H. and Shojaosadati, S. A., 2011. Enhancement and Characterization of Chitosan Extraction from the Wastes of Shrimp Packaging Plants. Journal of Polymer and the Environment, 19(3):776–783.

Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, N., Reyghan, R., Mesbah, M. and Razi jalali, M., 2010. Effect of dietary Aloe vera on species and nonspecies immunity of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 4(3): 85-91.

Bahrambeigi, M., Agh, N., Noori, F. and Jalili, R., 2014. Effect of using symbiotic *Lactobacillus plantarum* and xylooligosaccharides prebiotic on growth induces in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Scientific Research Journal of Animal Environment, 6(1): 43-50.

Bharathi, P. C. and Kunda, S. K., 2011. haematoimmunilogical responses to dietary omega fatty acid fed to fingerlings of fish *Labeo rohita*. International Journal of Pure and Applied Sciencea and Technology, 7: 87-97.

Bolat, Y., Sengul, B., Ali, G., Levent, L., Seval, B. K., Soner, C. and Habil Ugur, K., 2010. Chitin-chitosan yield of freshwater crab (*PotamonPotamios*, Oliver 1804) shell. Pakistan Veternary Journal, 30(4): 227-231.

Cuesta, A. M., Esteban, A. and Meseguer, J., 2003. In vitro effect of chitin particles on the innate cellular immune system of gilhead sea bream (*Sparus aurata* L). Fish and Shellfish Immunology, 15: 1-11.

Eatisamipour, M., Zamini, A. A. and Farokhroz, M., 2013. Delibration of indicators of growth of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*) fed with prebiotic yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisia*). Journal of Aquatic Animals and Fisheries, 4(6): 1-10.

Fazaei, Z., Sajjadi, M.M., Sourinejad, I. and Asadi, R., 2015. Vitamin C supplementation to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet and analysis of growth indices, survival and carcass composition at two different stocking densities. Journal of Veterinary Research, 70(1): 55-62.

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 hydrophyla* infection in pond. Aquaculture, 255: 179-187.

Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P.G. and Gordon, J. I., 2001. Molecular analysis of commensal Host-Microbial relationship in the intestine. Sciences, 291: 881-884.

Kean, T., Roth, S. and Thanou, M., 2005. Trimethylated chitosan as nonviral gene delivery vectors: cytotoxicity and transfection efficiency. Journal of Control Release, 103(3): 643-653.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Kiruba, A., Venkatachalam, R., Venkatachalam, U. and Subramani, M., 2013. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, hematological, biologicaland and immunological responses of Indian major Carp *Labeo rohita*. International research journal of pharmacy, 4(5): 141-147.

Maqsood, S., Singh, P., Samoon, M. H. and Balange, A. K., 2010. Effect of dietary chitosan on non-specific immune response and growth of *Cyprinus carpio* challenged with *Aeromonas hydrophila*. International Aquatic Research, 2: 77-85.

Meshkini, S., Tafi, A.A., Tukmechi, A. and FarhangPajuh, F., 2012. Effect of chitosan on hematological parametersand stress resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinary Research Forum, 3(1): 49-54.

Ming-Tsung, Y., Joan-Hwa, Y. and Jeng-Leum, M., 2008. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymers, 75(1): 15-21.

Mirzadeh, H., Yaghobi, N., Amanpour, S., Ahmadi, H., Mohaghebi, M. A. and Hormozi, F., 2002. Preparation of chitosan derived from shrimp shell of Persian Gulf as blood haemostasis agents. Iranian Polymer Journal, 11: 63-68.

Mohammad-Azarm, H., Abedian-Kenari, A. and Abtahi, A., 2004. The effects of protexin probiotic on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Iranian Journal of Material Science, 3(3): 69-75.

Mohammadi, J. M., Alishahi, M., Aramoon, A., Jehantigh, R., Khaje Jopash, E., Zarifjoo, M. and Dehdar, H., 2013. Effects of Plantago ovate extract on growth parameters, Liver and Spleen of juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Experimental Animal Biology, 4(8): 31-41.

Peddie, S., Zou, J. and Secombes, C. J., 2002. Immunostimulation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. Veterinary Immunololgy Immunopathology, 86: 101-113.

Robertsen, B., Ehgstad, R.E. and Jorgensen, J. B., 1994. B-glucan as immunostimulants in fish. In: Stolen JS, Fletcher TC. Eds. Modulators of Fish Immune Responses, 1: 83-99.

Sahandi, J., Jafaryan, H., Soltani, M. and Ebrahimi, P., 2016. The study of growth indexes and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae fed supplemented diet with bifidobacter probiotic. Experimental Animal Biology, 3(15): 41-51.

Tafi, A. A., Meshkini, S. and Tukmechi, A., 2015. Effect of chitosan on some immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and enhance resistance against a pathogenic *Aeromonas hydrophila* fallowing experimental infection. Journal of Animal Reseach, 26(4): 468-477.

Tookmechi, A., Shamsi, H., Delshad, R. and Ghasemi Moghanjoei, A., 2012. Dietary administration of Vitamin C and *Lactobacillus rhamnosus* in combination enhanced the growth of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Fisheries Science Research, 21(3): 13-22.

Vahedi, S. and Ghodratizadeh, S., 2011. Effect of chitin supplemented diet on innate immune response of rainbow trout. World Journal of Fish and Marine Sciences, 3(6): 509-513.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]